

适配体功能化的 DNA 水凝胶的制备及其在食品安全小分子快速检测中的应用

边亚兰^{1,2}, 李光华^{1,2}, 高志贤^{2*}, 康维钧^{1*}

(1. 河北医科大学公共卫生学院, 河北省环境与人体健康重点实验室, 石家庄 050017;
2. 军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所, 天津 300050)

摘 要: DNA 水凝胶是具有三维聚合物网络的高保水性材料。研究人员设计了多种 DNA 水凝胶交联制备方法, 并通过向其中引入其他功能分子或与其他类型的功能材料相互结合, 构建了具有优异性能的 DNA 水凝胶, 受到了广泛关注。适配体是基于指数富集的配体系统进化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)技术从随机寡核苷酸文库中筛选获得的对目标物质具有良好特异性与亲和力的寡核苷酸序列。适配体功能化的 DNA 水凝胶具有靶向范围广、稳定性好、易于修饰、操作简单和成本低等优点, 得到了广泛应用。本文概述了构建适配体功能化的 DNA 水凝胶的基本设计原则与分类, 重点介绍了适配体功能化的 DNA 水凝胶在食品安全检测中的最新策略, 最后, 讨论了适配体功能化的 DNA 水凝胶面临的挑战以及对未来的展望, 旨在为其在食品安全领域的应用提供参考。

关键词: 适配体; 纯 DNA 水凝胶; 杂化 DNA 水凝胶; 核酸扩增

Preparation of aptamer functionalized DNA hydrogel and its application in the rapid detection of small molecules in food safety

BIAN Ya-Lan^{1,2}, LI Guang-Hua^{1,2}, GAO Zhi-Xian^{2*}, KANG Wei-Jun^{1*}

(1. Hebei Key Laboratory of Environment and Human Health, School of Public Health, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Institute of Environmental Medicine and Operational Medicine, Academy of Military Medicine, Academy of Military Sciences, Tianjin 300050, China)

ABSTRACT: DNA hydrogels are highly water-retaining materials with three dimensional polymer networks. Researchers have designed a variety of DNA hydrogels cross-linking preparation methods and constructed DNA hydrogels with excellent properties by introducing other functional molecules into them or combining with other types of functional materials, which have attracted wide attention. Aptamer is an oligonucleotide sequence with good specificity and affinity for a target substance, which is screened from a random oligonucleotide library based on a systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) technique. The aptamer-functionalized DNA hydrogel has the advantages of wide targeting range, good stability, easy modification, simple operation and low cost,

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFB3201300)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2021YFB3201300)

***通信作者:** 高志贤, 研究员, 主要研究方向为食品安全快速检测。E-mail: gaozhx@163.com

康维钧, 教授, 主要研究方向为卫生理化检验。E-mail: kangwj158@163.com

***Corresponding author:** GAO Zhi-Xian, Professor, Tianjin Institute of Environmental and Operational Medicine, No.1, Dali Road, Heping District, Tianjin 300050, China. E-mail: gaozhx@163.com

KANG Wei-Jun, Professor, Hebei Medical University, No.361, East Zhongshan Road, Shijiazhuang, Hebei Province 050017, China. E-mail: kangwj158@163.com

and has been widely used. This review summarized the basic design principles and classification of aptamer functionalized DNA hydrogels, focused on the latest strategies of aptamer functionalized DNA hydrogels in food safety testing, and finally discussed the challenges faced by aptamer functionalized DNA hydrogels and the prospects for the future, in order to provide reference for their application in the field of food safety.

KEY WORDS: aptamer; pure DNA hydrogel; hybrid DNA hydrogel; nucleic acid amplification

0 引言

DNA 水凝胶是一种高保水材料(含水量高达 95%), 具有类似于细胞外基质的三维(3D)网络结构, 涵盖纳米到宏观尺寸, 广泛应用于医药和生物传感领域中^[1]。作为交联聚合物网络, DNA 水凝胶通常通过化学连接或物理纠缠来构建。根据 DNA 水凝胶的组成可分为两类^[2]: 仅由 DNA 构建块制造的纯 DNA 水凝胶^[3], 以及与不同材料结合作为主链的混合 DNA 水凝胶^[4]。根据 DNA 水凝胶对环境特点响应可分为非响应型和刺激响应型水凝胶。非响应型水凝胶指被动吸收水分并膨胀, 而刺激响应水凝胶是通过特殊功能单元修饰的聚合物来构建的, 这些功能单元可以快速感知周围环境(如 pH、温度、光^[5-6])的变化并做出相应的响应等。由于其优异的生物相容性^[2]、可控的生物降解性、可调节的机械性能、优异的蛋白酶稳定性、令人满意的自愈能力和环境刺激反应性^[4], 此外多个功能性 DNA 基序(如适配体、DNA 酶和反义 DNA 等)已被引入交联聚合物网络, 使 DNA 水凝胶具有响应各种环境刺激的额外能力。基于以上优势, DNA 水凝胶在药物传递系统^[7]、传感器^[8]、细胞培养基质^[9]和食品安全^[10]中受到广泛关注, 特别是在传感领域, DNA 水凝胶和不同的传感平台相结合, 对重金属离子、毒素和蛋白质等产生反应, 生物分子被转化为 DNA 水凝胶材料特性的变化, 可以灵敏高效检测目标物。因此, DNA 水凝胶被认为是多重响应刺激的极佳平台。

20 世纪 70 年代末, 随着 Watson-Crick 碱基配对的发现和全自动化学合成的发展, DNA 碱基序列承担遗传信息载体和蛋白质合成的翻译码, 并作为一种功能材料广泛应用于生物、化学、计算机科学和医学等领域^[11-13]。适配体是通过一种称为指数富集配体系统进化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)的迭代筛选方法从随机库中选择的单链寡核苷酸分子, 对离子^[14-15]、病毒^[16]和细胞^[17]在内的靶向分子识别都具有好的特异性, 故被称为化学抗体。适配体在功能上与传统抗体相当, 并且具有以下优势: (1)适配子具有高度选择性, 并且解离常数低, 即使在非常低的浓度下, 适配体也可以特异性识别底物的变化; (2)适配体容易功能化修饰, 并具有聚合酶链反应定向扩增的能力; (3)物理尺寸相对较小、结构灵活^[18-20]、化学生产迅速; (4)在广泛的温度、溶剂和 pH 范围内都是稳定的^[21]。基于以上优点, 将适配体作为特

异性识别元件应用于生物传感器, 操作简便快速, 经济效益良好, 可以有效提高检测的灵敏度, 特异性及稳定性。适配体功能化的 DNA 水凝胶具有 DNA 水凝胶和适配体的优势, 得到了广泛的应用, 特别是根据靶制备的适配体功能化 DNA 水凝胶在食品安全检测方面表现良好。

张开宇等^[22]综述了 DNA 水凝胶在重金属离子检测、核酸检测、葡萄糖检测、蛋白质和代谢小分子检测; 简雪婷等^[23]重点分析和阐述了 DNA 水凝胶的设计和构建方法以及内部交联机制; 毕研慧等^[24]主要综述了智能 DNA 水凝胶在生物医学特别是生化分析中的应用。而本文概述了 DNA 水凝胶的制备方法, 重点综述了适配体功能化的 DNA 水凝胶在食品安全快速检测中的应用, 最后, 对适配体功能化的 DNA 水凝胶的前景进行了总结和展望, 旨在为其在食品安全领域的应用提供新思路。

1 DNA 水凝胶的制备

1.1 纯 DNA 水凝胶的制备

1.1.1 支链 DNA 自组装

2006 年纯 DNA 水凝胶被首次报道^[25], 在该研究中, 研究人员设计了 3 种类型的支链 DNA 单体(X-DNA、Y-DNA 和 T-DNA)作为交联剂和交联底物, 在 T4 DNA 连接酶的作用下相互杂交、连接形成 DNA 水凝胶。所合成的 DNA 水凝胶是一种柔软的材料, 机械性能易于调节, 并且具有良好的生物降解性和生物相容性。DNA 水凝胶的大小、形状以及内部结构都可以通过改变初始 DNA 单体的浓度和类型来调节, 以满足不同应用的需要。由于上述 DNA 水凝胶的合成过程是基于双螺旋形成以及酶催化连接, 因此合成速度缓慢, 故刘冬生教授课题组^[26]提出通过形成分子间 I 基序结构, 将 Y 形 DNA 纳米结构(Y 单元)组装, 成功制备出快速 pH 响应 DNA 水凝胶。水凝胶是通过形成 Y 单元间 I 基序结构交联单个类型的 DNA Y 单元构建块而形成的。I 基序的快速转化使这种 DNA 凝胶能够快速响应环境 pH 变化, 实现凝胶到非凝胶状态的切换, 进而达到物质负载和释放的目的。此 DNA 水凝胶除了具有 pH 响应性, 还具有温度依赖性, 这是该系统的一个独特优势, 特别是对于未来的食品安全检测中, 例如将水凝胶作为食品外包装, 当食品腐败变质时, 包装变化可及时显示食品状态。

在支链 DNA 自组装中, 高浓度 DNA 自组装需要大量化

学合成的脱氧寡核苷酸参与组成,会造成不可避免的累积误差,并且高昂的制作成本也限制了 DNA 水凝胶的应用。

1.1.2 核酸扩增

核酸扩增制备纯 DNA 水凝胶可以有效解决 DNA 自组装相关的不可避免的累积误差和成本限制,其主要包括杂交链式反应(hybridization chain reaction, HCR)、滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)、多引物链扩增等。

杂交链式反应是一个等温、无酶、熵驱动的自发 DNA 组装过程,其中目标分析物引发级联反应,形成具有许多重复单元的刻痕双螺旋 DNA 分子。作为一种有效的扩增策略,杂交链式反应在 DNA 水凝胶制备中表现良好,其中钳位杂交链式反应策略通过刺激触发夹探针之间的杂交事件,在少量引发剂的引导下形成 3D 网络水凝胶^[27]。基于钳位 HCR 的可控性特征,樊春海团队^[28]开发了一种基于钳制 HCR 使用少量 DNA 引发剂触发宏观水凝胶形成的新策略,即通过简单的修饰,基于 HCR 的 DNA 杂交可以高效和可控地诱导 3D 网络的自组装。该策略优势在于杂交反应精确地围绕引发剂链开始,并且在凝胶化过程中可以实现空间和时间控制。基于上述优势,在未来可以通过 DNA 引发剂的灵活设计,使其与功能性核酸结合可以在食品安全检测中实现应用。

滚环扩增过程是在恒定温度下进行的,需要少量的环状 DNA 模板,在该过程中,聚合酶 phi29 催化 DNA 链的延伸和移位以扩增 DNA, DNA 随后通过各种交联策略形成 3D 水凝胶网络,包括 DNA 链的缠结、多引物链扩增、DNA 链之间的杂交以及与功能部分的杂交^[29]。滚环扩增制备的 DNA 水凝胶网络的高可编程性有效实现细胞捕获和释放,以及提供有利的微环境来保持捕获的细胞的高活力。例如仰大勇团队^[30]开发了一种通过双 RCA 物理交联制备 DNA 水凝胶用来捕获干细胞。DNA 水凝胶是通过双滚环扩增法使两股超长 DNA 链的缠绕和自组装构建的。首先含有适配体序列的长链 DNA-1 与干细胞具有高亲和力,确保与干细胞的特异性锚定;而长链 DNA-1 和长链 DNA-2 之间的杂交使细胞锚定的 DNA 链交叉链接形成 3D 水凝胶,从而实现细胞包膜和分离。该策略相较于传统细胞捕获优势在于体内直接植入的可注射性以及几乎不会对干细胞造成损害,但其捕获及释放时间过长,不利于高效应用。基于 DNA 分子的可编程性和分子识别能力,未来可设计具有不同结构和特定功能的 DNA 网络,以捕获食品安全小分子并为其捕获提供通用方法。

1.2 杂化 DNA 水凝胶的制备

尽管纯 DNA 水凝胶显示出一些独特的性质,但仍存在局限性。DNA 的内在性质决定了纯 DNA 水凝胶的高合成成本和负电荷的积累,此外, DNA 分子中的可用功能很少,限制了进一步的修饰并降低了多功能性。因此,越来越多的研究人员转向杂化 DNA 水凝胶。

杂化 DNA 水凝胶是一种不完全由 DNA 组成的凝胶材料,即 DNA 链与不同聚合物或纳米颗粒(金属纳米颗粒、碳质纳米颗粒和等离子体纳米颗粒等)结合形成水凝胶。这种水凝胶既克服了纯 DNA 水凝胶的高合成成本和可用功能性很少的缺点,又保留了生物相容性和低毒性,以及智能和可编程特性、化学灵活性、多官能团、稳定性等优点。

1.2.1 聚合物-DNA 杂化水凝胶

聚合物-DNA 杂化水凝胶是指通过将接枝在亲水聚合物链上的 DNA 分子作为相互作用节点交联而形成的,其中最常见的是将单链 DNA 接枝到聚丙烯酰胺链上,随后基于 AT 之间的碱基互补配对交联形成 DNA 水凝胶。例如 2008 年,谭蔚泓团队^[31]报道了适配体功能化的杂化 DNA 水凝胶,并将其命名为“基于适配体-靶相互作用的靶响应水凝胶”,即聚丙烯酰胺链用作骨架来构建水凝胶网络。主要制备了两种具有代表性的 DNA 水凝胶,其中一种是通过将两条互补的 DNA 链分别接枝到聚丙烯酰胺链上并通过碱基配对交联而形成的。另一种是引入连接链,该连接链与两条线性链上的修饰 DNA 互补,从而使它们交联形成 DNA 水凝胶。DNA 聚丙烯酰胺链已被用于构建各种功能水凝胶,这些水凝胶已被应用于许多领域,特别是在刺激响应系统中。

除了聚丙烯酰胺作为骨架外,还有研究者利用 G-四聚体聚乙二醇制备了具有高生物相容性和生物降解性的杂化 DNA 水凝胶。2019 年日本一研究团队^[32]提出利用 G-四聚体作为聚乙二醇网络交联点制备 Na⁺响应 DNA 水凝胶。将聚乙二醇-寡脱氧核苷酸共轭,其中 4 个脱氧鸟苷残基系于聚乙二醇两端,合成寡核苷酸并用作大分子单体。当与等体积的细胞培养基混合时,聚乙二醇-寡脱氧核苷酸溶液在 Na⁺存在下变成刚性水凝胶。在 DNA 水凝胶中培养的成纤维细胞在一周内保持球形,但仍然存活,没有增殖。该研究表明添加其他允许细胞黏附的基质,如胶原和水凝胶基质,可以解决这个问题并促进细胞增殖。本系统具有高生物相容性和生物降解性,可以提供高效的存储细胞。

1.2.2 纳米粒子-DNA 杂化水凝胶

除了聚合物主链,一些研究还引入了纳米颗粒、量子点、金属有机框架石墨烯和磁性材料等,以赋予混合水凝胶额外的功能性和多功能性。全燮团队^[33]建立了靶向响应石墨烯-DNA 水凝胶,可用于抗生素检测。通过将石墨烯片、腺苷和适配体物理混合在一起,可以轻松制备水凝胶,避免耗时的固定或修饰过程以及高温和高压消耗,并且目标物的定量检测是在温和条件下通过简单快速的凝胶化、浸泡和荧光检测过程实现的。与先前报道的方法相比,水凝胶传感平台被认为具有一定的热稳定性或化学稳定性,这将在实际环境样品中获得有前景的应用。基于该设计原理,该传感器显示出通用的检测功能和潜在的多目标检测

可能性。

2019 年印度团队提出了新的策略^[34], 提出了碳点、原卟啉 IX 和 DNA 的新型杂化水凝胶。原卟啉 IX 和碳点分别与富含胞嘧啶的单链 DNA 的磷酸末端共价偶联。通过向碳点-DNA 和原卟啉 IX-DNA 结合物形成插入 I 基序结构以组装碳点-原卟啉 IX-DNA 水凝胶, 其中碳点充当水凝胶中的交联剂以及能量供体以激发光敏剂。这项研究为通过智能水凝胶制剂解决光敏剂在抗菌光动力疗法应用中的持续释放提供了一个有前景的策略, 以解决光敏剂的自猝灭和溶解问题。

1.3 适配体功能化的 DNA 水凝胶的制备

在水凝胶中使用 DNA 适配体作为交联剂, 可以成功制备识别目标物的 DNA 水凝胶。适配体通过与聚合物^[31](如聚丙烯酰胺)化学偶联以构建水凝胶; 或者通过化学或物理方法整合到颗粒表面, 并与预凝胶溶液混合以形成颗粒/水凝胶复合物^[34]。适配体具有高度选择性, 对目标具有亲和力, 解离常数低(K_d s, $1 \times 10^{-12} \sim 1 \times 10^{-9}$ M), 因此适配体即使在非常低的浓度下也能特异性地识别目标物, 并诱导水凝胶结构的改变。

2 DNA 水凝胶在食品安全快速检测技术中的应用

2.1 真菌毒素的检测

黄曲霉毒素、赭曲霉毒素是食品中常见的真菌毒素, 其常见的检测方法主要有高效液相色谱法、质谱法等。传统检测方法需要复杂的仪器、高素质的人员和复杂的样品处理。DNA 水凝胶用于样品的快速检测时, 无需样品预处理, 相比于大型分析仪器, 具有响应时间短、操作简便、灵敏度高优势。

2.1.1 赭曲霉毒素的检测

赭曲霉毒素是由几种曲霉和青霉产生的次生代谢产物^[35], 其中赭曲霉毒素 A (ochratoxin, OTA)广泛存在于谷物、豆类、啤酒等中^[36-37]。不同的国家已经确定了食品中 OTA 的最大耐受水平^[38-40]。因此, OTA 的检测在食品中的分析和人体生物样品中的生物监测起着非常重要的作用。2019 年吴世嘉团队^[41]基于滚环扩增产物的自组装, 开发了一种灵敏的荧光 DNA 水凝胶适配体传感器, 用于啤酒中 OTA 的检测。将适配体、引物和靶点的竞争性结合模式整合到 DNA 水凝胶中用于 OTA 检测。OTA 适配体首先与引物互补, 形成杂交产物。然后, 在 OTA 存在下, 适配体倾向于与 OTA 结合, 这将使引物释放。释放的引物可以与挂锁探针杂交形成环形模板, 通过加入连接酶、聚合酶和 dNTP 启动 RCA 反应。将 Cy3-dUTP 与 dNTP 一起添加可获得荧光 DNA 水凝胶, 并且 DNA 水凝胶的荧光强度与 OTA 质量浓度呈正相关, 线性范围为 0.05~100 ng/mL,

OTA 检出限为 0.01 ng/mL。荧光 DNA 水凝胶适配体传感器在啤酒样品中显示出良好的特异性和稳定性。所制备的 DNA 水凝胶适配体传感器在食品安全检测 OTA 方面显示出巨大的潜在应用前景。2020 年意大利研究团队^[42]提出了一种携带 OTA 捕获适配体的顺磁性微珠 DNA 生物传感器。捕获适配体两端分别与磁球和引物相连, 在 OTA 存在下能够触发等温滚环扩增反应, 后者产生具有过氧化物酶活性的自催化单元, 在合适的底物存在下, 生成肉眼可见的蓝色产物。结果表明, 该生物传感器对 OTA 的检测具有较高的灵敏度和选择性, 并且所提出的生物传感器已成功用于检测自然污染的大鼠尿液中的 OTA。首次成功应用适配体传感器检测生物中的 OTA, 表明它可用于真菌毒素生物监测和个体暴露评估。

2.1.2 黄曲霉毒素的检测

黄曲霉毒素是黄曲霉和寄生曲霉的次级代谢产物, 黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)是毒性最高的最常见代谢物, 通常在坚果、谷物、咖啡和啤酒等农产品中检测到^[43]。许多国家已经确定了食品中 AFB₁ 的最大耐受水平^[44]。AFB₁ 的灵敏分析方法对于满足食品安全要求至关重要。杨朝勇团队^[45]提出将微流控与水凝胶结合, 用于 AFB₁ 的定量、快速、便携和无仪器检测。使用 AFB₁ 适配体及其两条短互补 DNA 链作为交联剂制备 AFB₁ 反应水凝胶。为了目视检测 AFB₁, 水凝胶预加载有金纳米粒子, 引入 AFB₁ 后, 适配体与 AFB₁ 结合, 导致水凝胶破裂并释放金纳米粒子, 上清液从无色变为红色。为了降低检出限并将方法扩展到定量分析, 将距离读出体积条形图芯片与预加载有铂纳米颗粒的 AFB₁-响应水凝胶组合。在 AFB₁ 存在的情况下, 水凝胶崩塌并释放铂纳米粒子, 铂纳米粒子可催化 H₂O₂ 分解生成 O₂。增加的气体压力移动体积条形图芯片中的红色墨水条, 并提供距离与 AFB₁ 浓度之间的定量关系, 检出限为 1.77 nmol/L。AFB₁ 响应水凝胶与基于距离读出体积条形图芯片的组合提供了一种用户友好设备, 该设备在快速、便携式、选择性和定量检测真实样品中的 AFB₁ 方面具有巨大潜力, 以确保食品安全并避免随后的经济损失。在此之后, 又提出基于手持式 pH 计^[46]、电子天平^[47]等与水凝胶结合用于黄曲霉毒素的检测, 极大推动了食品安全检测。

2.1.3 其他毒素的检测

微囊藻毒素是蓝藻产生的毒性最大的一种毒素, 由于其对水环境和人类健康的危害, 已成为世界上主要的环境问题之一^[48-49]。王琨团队^[50]将 3D 钴基氧化物修饰的硼和氮共掺杂石墨烯水凝胶催化剂涂覆在电极表面, 构建了用于微囊藻毒素检测的具有协同催化诱导的传感器。该传感系统可以方便、快速、廉价地检测水样, 具有很强的特异性, 实际水样的检测证明了该方法在食品安全和生态环境中的普遍适用性。

2.2 重金属的检测

随着现代工业活动的增加,有毒重金属污染已成为一个全球性的重大问题。汞、铅等重金属是严重的污染物,如贝类中汞污染,松花蛋中铅超标等,低浓度也会对人体健康造成严重的影响。因此,常规检测重金属离子是必不可少的。

2.2.1 汞的检测

汞离子(Hg^{2+})是一种重金属污染物,很容易与含氮、硫和氧的生物分子形成复合物,从而对器官、神经和免疫系统造成直接和持久的毒性^[51]。加拿大一研究团队^[52]提出一种聚丙烯酰胺水凝胶的传感器,基于功能化的胸腺嘧啶 DNA,能够同时检测和去除水中的汞。通过在两个胸腺嘧啶碱基之间选择性结合 Hg^{2+} ,诱导发夹结构,在加入 SYBR Green I 染料后,观察到绿色荧光。然而,在没有 Hg^{2+} 的情况下,添加染料会产生黄色荧光。该传感器已用于检测并去除安大略湖水样中的 Hg^{2+} 。

2.2.2 铅的检测

铅是一种剧毒的重金属,铅离子可以与酶的巯基结合或取代其他必需的金属离子,从而影响广泛的生物系统^[53]。2021 年 CHU 等^[54]设计了一步法制备 Pb^{2+} 响应的纯 DNA 水凝胶材料,以实现一种新的无标记 Pb^{2+} 生物传感策略。该传感器引入 Pb^{2+} 依赖的 DNA 酶链和底物链制备 DNA 水凝胶。样品中 Pb^{2+} 的存在激活水凝胶骨架中的酶链并触发底物的裂解,从而破坏水凝胶结构。崩塌水凝胶释放的 DNA 片段容易测量,用于定量 Pb^{2+} 浓度。通过使用构建水凝胶的 DNA 分子作为信号输出,成功地消除了嵌入或标记信号分子的需要。新开发的基于纯 DNA 水凝胶的 Pb^{2+} 无标记检测方法简单、易于读出,且具有成本效益。

2.3 抗生素的检测

链霉素是一种氨基糖苷类抗生素,链霉素残留经常出现在农产品和食品中,如鸡蛋、肉类和牛奶。因此,食品中链霉素检测的灵敏和便携方法是必要的。徐志祥团队^[55]开发了基于表面增强拉曼光谱的 DNA 水凝胶,用于食品中链霉素残留的超灵敏测定。该方法将金纳米棒阵列和基于 DNA 水凝胶的信号放大相结合为链霉素定量分析提供了高灵敏度和良好的特异性,检出限为 $4.85 \times 10^{-3} \text{ nmol/L}$ 。

卡那霉素是动物源性食品和自然环境中常见的抗生素污染物之一,颜娟团队^[56]开发了基于表面增强拉曼光谱的 DNA 水凝胶传感系统,通过 DNA 水凝胶网络来捕获拉曼信号分子,用于食品中卡那霉素残留的超灵敏测定。在卡那霉素存在下,适配体的双链 DNA 结构被破坏,释放的引物用于构建两种部分互补的环状挂锁探针, DNA 水凝胶网络是通过两条 RCA 生成的单链 DNA 链的缠绕和自组装形成的,在此过程中拉曼信号分子被缠绕捕获,最后,通过 DNA 水凝胶的定量成功地实现了卡那霉素定量。基于 RCA 的 DNA 水凝胶和表面增强拉曼光谱技术的创新融合,

该方法在现场检测和定量痕量食品污染物方面具有潜在的应用前景。

DNA 水凝胶具有响应时间短、步骤简单、灵敏度高、操作简便等优势,还可用于有机磷农药^[57]、激素等方面的检测^[57-58],在食品质量安全方面发挥重要作用。

3 展望

本文综述了适配体功能化 DNA 水凝胶的设计原理、制备方法和在食品快速检测方面应用。值得注意的是,适配体功能化的 DNA 水凝胶不仅显示了 DNA 水凝胶的优点,如生物相容性、生物降解性、可调节的机械性能、蛋白酶稳定性、自愈能力,而且还显示了适配体的独特性质,如靶标范围广、特异性好、低毒、易改性、稳定性好。适配体的引入拓宽了应用范围,消除了非特异性影响,实现了可控的结合和解离。但就其应用而言,适配体功能化 DNA 水凝胶依然存在不少的挑战:(1)在许多应用中,缺乏针对各自靶点的特定适配体限制了进一步的研究。因此,需要针对不同靶点开发方便有效的适配体选择方法。(2)当前高成本和复杂的设计是制备适配体功能化 DNA 水凝胶的挑战,这极大地限制了其潜在应用。因此,应致力于开发高产率和通用型适配体功能化 DNA 水凝胶。(3)需要深入研究以了解适配体功能化 DNA 水凝胶的动力学,特别是其结合和解离,以实现合理的水凝胶设计。尽管适配体功能化 DNA 水凝胶的构建和应用在过去二十年中已经取得了巨大进展,但它仍然是一个相对年轻的领域,有更广阔的应用前景。

参考文献

- [1] MO F, JIANG K, ZHAO D, *et al.* DNA hydrogel-based gene editing and drug delivery systems [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 2021, 168: 79–98.
- [2] ZHAO L, LI L, YANG G, *et al.* Aptamer functionalized DNA hydrogels: Design, applications and kinetics [J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 194: 113597.
- [3] CHEN J, ZHU Y, LIU H, *et al.* Tailoring DNA self-assembly to build hydrogels [J]. *Top Curr Chem (Cham)*, 2020, 378(2): 32.
- [4] ZHAO L, YANG G, ZHANG X, *et al.* Development of aptamer screening against proteins and its applications [J]. *Chin J Anal Chem*, 2020, 48(5): 560–572.
- [5] SIMETH NA, MENDOZA P, DUBACH VRA, *et al.* Photoswitchable architecture transformation of a DNA-hybrid assembly at the microscopic and macroscopic scale [J]. *Chem Sci*, 2022, 13(11): 3263–3272.
- [6] CHEN M, WANG Y, ZHANG J, *et al.* Stimuli-responsive DNA-based hydrogels for biosensing applications [J]. *J Nanobiotechnol*, 2022, 20(1): 40.
- [7] CASCONI S, LAMBERTI G. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: A review [J]. *Int J Pharmaceut*, 2020, 573: 118803.
- [8] GUO Z, GU H, HE Y, *et al.* Dual dynamic bonds enable biocompatible

- and tough hydrogels with fast self-recoverable, self-healable and injectable properties [J]. *Chem Eng J*, 2020, 388: 124282.
- [9] XIA Y, WU H, TANG D, *et al.* Graphene oxide nanosheet-composited poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogel for cell sheet recovery [J]. *Macromol Res*, 2019, 27(7): 679–685.
- [10] XUE Z, ZHANG Y, YU W, *et al.* Recent advances in aflatoxin B₁ detection based on nanotechnology and nanomaterials-A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1069: 1–27.
- [11] LI F, LYU D, LIU S, *et al.* DNA hydrogels and microgels for biosensing and biomedical applications [J]. *Adv Mater*, 2019, 32(3): 1806538.
- [12] CHEN Z, HU L, ZHANG B, *et al.* Artificial intelligence in aptamer-target binding prediction [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7): 3605.
- [13] XUE J, CHEN F, BAI M, *et al.* Aptamer-functionalized microdevices for bioanalysis [J]. *Acs Appl Mater Inter*, 2021, 13(8): 9402–9411.
- [14] ŞAHİN S, CAGLAYAN MO, ÜSTÜNDAĞ Z. A review on nanostructure-based mercury(II) detection and monitoring focusing on aptamer and oligonucleotide biosensors [J]. *Talanta*, 2020, 220: 121437.
- [15] GUO W, ZHANG C, MA T, *et al.* Advances in aptamer screening and aptasensors' detection of heavy metal ions [J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 166.
- [16] KWON J, LEE Y, LEE T, *et al.* Aptamer-based field-effect transistor for detection of avian influenza virus in chicken serum [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(7): 5524–5531.
- [17] DING P, WANG Z, WU Z, *et al.* Aptamer-based nanostructured interfaces for the detection and release of circulating tumor cells [J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(16): 3408–3422.
- [18] LOEBEL C, RODELL CB, CHEN MH, *et al.* Shear-thinning and self-healing hydrogels as injectable therapeutics and for 3D-printing [J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(8): 1521–1541.
- [19] OSTROVIDOV S, SALEHI S, COSTANTINI M, *et al.* 3D bioprinting in skeletal muscle tissue engineering [J]. *Small*, 2019, 15(24): 1805530.
- [20] TRACHMAN RJ, FERRÉ-D'AMARÉ AR. Tracking RNA with light: Selection, structure, and design of fluorescence turn-on RNA aptamers [J]. *Q Rev Biophys*, 2019, 52: e8.
- [21] DI Y, WANG P, LI C, *et al.* Design, bioanalytical, and biomedical applications of aptamer-based hydrogels [J]. *Front Med*, 2020, 7: 456.
- [22] 张开宇, 高国伟, 李延生, 等. DNA 水凝胶在生物传感中的应用和发展[J]. *化学进展*, 2021, 33(10): 1887–1899.
- ZHANG KY, GAO GW, LI YS, *et al.* Development and application of DNA hydrogel in biosensing [J]. *Prog Chem*, 2021, 33(10): 1887–1899.
- [23] 简雪婷, 冯晓伟, 熊苑伶, 等. DNA 水凝胶的设计与构建[J]. *高分子材料科学与工程*, 2021, 37(5): 102–108.
- JIAN XT, FENG XY, XIONG WL, *et al.* Design and construction of DNA hydrogels [J]. *Polym Mater Sci Eng*, 2021, 37(5): 102–108.
- [24] 毕研慧, 韩翠燕, 郭玮玮. 智能 DNA 水凝胶在生化分析中的应用[J]. *中国科学: 化学*, 2019, 49(5): 766–775.
- BI YH, HAN CY, GUO WW. Smart DNA hydrogels for biosensing applications [J]. *Sci Sin (Chim)*, 2019, 49(5): 766–775.
- [25] UM SH, LEE JB, PARK N, *et al.* Enzyme-catalysed assembly of DNA hydrogel [J]. *Nat Mater*, 2006, 5(10): 797–801.
- [26] CHENG E, XING Y, CHEN P, *et al.* A pH-triggered, fast-responding DNA hydrogel [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2009, 48(41): 7660–7663.
- [27] WU J, LV J, ZHENG X, *et al.* Hybridization chain reaction and its applications in biosensing [J]. *Talanta*, 2021, 234: 122637.
- [28] WANG J, CHAO J, LIU H, *et al.* Clamped hybridization chain reactions for the self-assembly of patterned DNA hydrogels [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 56(8): 2171–2175.
- [29] YAO C, ZHANG R, TANG J, *et al.* Rolling circle amplification (RCA)-based DNA hydrogel [J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(12): 5460–5483.
- [30] YAO C, TANG H, WU W, *et al.* Double rolling circle amplification generates physically cross-linked DNA network for stem cell fishing [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(7): 3422–3429.
- [31] YANG H, LIU H, KANG H, *et al.* Engineering target-responsive hydrogels based on aptamer–target interactions [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130(20): 6320–6321.
- [32] TANAKA S, YUKAMI S, HACHIRO Y, *et al.* Application of DNA quadruplex hydrogels prepared from polyethylene glycol-oligodeoxynucleotide conjugates to cell culture media [J]. *Polymers-Basel*, 2019, 11(10): 1607.
- [33] TAN B, ZHAO H, DU L, *et al.* A versatile fluorescent biosensor based on target-responsive graphene oxide hydrogel for antibiotic detection [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 83: 267–273.
- [34] KUMARI S, RAJIT PS, MANDAL D, *et al.* Carbon dot-DNA-protoporphyrin hybrid hydrogel for sustained photoinduced antimicrobial activity [J]. *J. Colloid Interf Sci*, 2019, 553: 228–238.
- [35] LI X, MA W, MA Z, *et al.* The occurrence and contamination level of ochratoxin A in plant and animal-derived food commodities [J]. *Molecules*, 2021, 26(22): 6928–6928.
- [36] KHOI CS, CHEN JH, LIN TY, *et al.* Ochratoxin A-induced nephrotoxicity: Up-to-date evidence [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20): 11237.
- [37] CHEN X, GAO D, SUN F, *et al.* Nanomaterial-based aptamer biosensors for ochratoxin A detection: A review [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2022, 414(9): 2953–2969.
- [38] IMAOKA T, YANG J, WANG L, *et al.* Microphysiological system modeling of ochratoxin A-associated nephrotoxicity [J]. *Toxicology*, 2020, 444: 152582.
- [39] COVARELLI L, BECCARI G, MARINI A, *et al.* A review on the occurrence and control of ochratoxigenic fungal species and ochratoxin A in dehydrated grapes, non-fortified dessert wines and dried vine fruit in the mediterranean area [J]. *Food Control*, 2012, 26(2): 347–356.
- [40] QUINTELA S, VILLARAN MC, LOPEZ DAI, *et al.* Ochratoxin A removal from red wine by several oenological fining agents: Bentonite, egg albumin, allergen-free adsorbents, chitin and chitosan [J]. *Food Addit Contam A*, 2012, 29(7): 1168–1174.
- [41] HAO L, WANG W, SHEN X, *et al.* A fluorescent DNA hydrogel aptasensor based on the self-assembly of rolling circle amplification products for sensitive detection of ochratoxin A [J]. *J. Agric Food Chem*, 2020, 68(1): 369–375.
- [42] SANTOVITO E, GRECO D, ASCANIO V, *et al.* Development of a DNA-based biosensor for the fast and sensitive detection of ochratoxin A in urine [J]. *Anal Chim Acta*, 2020, 1133: 20–29.
- [43] GUAN Y, CHEN J, NEPOVIMOVA E, *et al.* Aflatoxin detoxification using microorganisms and enzymes [J]. *Toxins (Basel)*, 2021, 13(1): 46.

- [44] KÖPPEN R, KOCH M, SIEGEL D, *et al.* Determination of mycotoxins in foods: Current state of analytical methods and limitations [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2010, 86(6): 1595–1612.
- [45] MA Y, MAO Y, HUANG D, *et al.* Portable visual quantitative detection of aflatoxin B₁ using a target-responsive hydrogel and a distance-readout microfluidic chip [J]. *Lab Chip*, 2016, 16(16): 3097–3104.
- [46] ZHAO M, WANG P, GUO Y, *et al.* Detection of aflatoxin B₁ in food samples based on target-responsive aptamer-cross-linked hydrogel using a handheld pH meter as readout [J]. *Talanta*, 2018, 176: 34–39.
- [47] TANG L, HUANG Y, LIN C, *et al.* Highly sensitive and selective aflatoxin B₁ biosensor based on exonuclease I-catalyzed target recycling amplification and targeted response aptamer-crosslinked hydrogel using electronic balances as a readout [J]. *Talanta*, 2020, 214: 120862.
- [48] MASSEY IY, WU P, WEI J, *et al.* A mini-review on detection methods of microcystins [J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(10): 641.
- [49] SHI L, DU X, LIU H, *et al.* Update on the adverse effects of microcystins on the liver [J]. *Environ Res*, 2021, 195: 110890.
- [50] YUAN R, WEN Z, YOU F, *et al.* Catalysis-induced performance enhancement of an electrochemical microcystin-LR aptasensor based on cobalt-based oxide on a B,N co-doped graphene hydrogel [J]. *Analyst (London)*, 2021, 146(8): 2258–2574.
- [51] HÄDER D, BANASZAK AT, VILLAFANE VE, *et al.* Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 713: 136586.
- [52] DAVE N, CHAN MY, HUANG PJ, *et al.* Regenerable DNA-functionalized hydrogels for ultrasensitive, instrument-free mercury(II) detection and removal in water [J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(36): 12668–12673.
- [53] GUNDACKER C, FORSTHUBER M, SZIGETI T, *et al.* Lead (Pb) and neurodevelopment: A review on exposure and biomarkers of effect (BDNF, HDL) and susceptibility [J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2021, 238: 113855.
- [54] CHU J, CHEN C, LI X, *et al.* A responsive pure DNA hydrogel for label-free detection of lead ion [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1157: 338400.
- [55] WANG X, CHEN C, WATERHOUSE GIN, *et al.* Ultra-sensitive detection of streptomycin in foods using a novel SERS switch sensor fabricated by AuNRs array and DNA hydrogel embedded with DNzyme [J]. *Food Chem*, 2022, 393: 133413.
- [56] CHEN Q, TIAN R, LIU G, *et al.* Fishing unfunctionalized SERS tags with DNA hydrogel network generated by ligation-rolling circle amplification for simple and ultrasensitive detection of kanamycin [J]. *Biosens Bioelectron*, 2022, 207: 114187.
- [57] CHEN J, HAN T, FENG X, *et al.* A poly(thymine)-templated fluorescent copper nanoparticle hydrogel-based visual and portable strategy for an organophosphorus pesticide assay [J]. *Analyst*, 2019, 144(7): 2423–2429.
- [58] WANG J, GUO Q, YAO Z, *et al.* A low-field nuclear magnetic resonance DNA-hydrogel nanoprobe for bisphenol A determination in drinking water [J]. *Microchim Acta*, 2020, 187(6): 333.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



边亚兰, 硕士, 主要研究方向为卫生理化检验。

E-mail: bianyalan2020@163.com



高志贤, 研究员, 主要研究方向为食品安全快速检测。

E-mail: gaozhx@163.com



康维钧, 教授, 主要研究方向为卫生理化检验。

E-mail: kangwj158@163.com