

# 聚胸腺嘧啶-铜纳米簇/适体-金纳米粒子荧光探针用于微囊藻毒素-LR 传感分析

蒙化<sup>1</sup>, 阿华英<sup>1</sup>, 罗平馨<sup>1</sup>, 张艳丽<sup>1</sup>, 高连训<sup>1</sup>,  
王红斌<sup>1</sup>, 杨文荣<sup>1,2</sup>, 庞鹏飞<sup>1</sup>

(1. 云南民族大学云南省教育厅功能纳米材料基化学生物传感科技创新团队, 昆明 650504;  
2. 迪肯大学生命与环境科学学院, 澳大利亚吉朗 3217)

**摘要** 采用 DNA 模板法合成了聚胸腺嘧啶-铜纳米簇[poly(T)-CuNCs]/适体-金纳米粒子 (aptamer-AuNPs) 荧光探针, 用于微囊藻毒素-LR (MC-LR) 的高灵敏传感检测. 设计了 3 条 DNA 核苷酸链: MC-LR 适体链 (aptamer) 和 2 条聚胸腺嘧啶单链 DNA [poly(T) S1 和 (poly(T) S2)]. 以 poly(T) S1 和 poly(T) S2 为模板, 利用抗坏血酸 (AA) 还原 Cu<sup>2+</sup>, 合成了具有粉红色荧光的 poly(T) S1-CuNCs 和 poly(T) S2-CuNCs. 两端巯基标记的 aptamer 通过 Au-S 键与 AuNPs 相连形成 AuNPs-aptamer-AuNPs 共轭物, 后者与 poly(T)-CuNCs 杂交形成 dsDNA-CuNCs, 双链结构中 CuNCs 与 AuNPs 之间由于荧光共振能量转移 (FRET) 导致体系荧光猝灭. 加入目标物 MC-LR 后, MC-LR 会与 dsDNA-CuNCs 中的 aptamer 特异性结合, 引起双链结构解体, poly(T)-CuNCs 释放至溶液中, 体系荧光得以恢复. 基于此, 构建了一种“off-on”型荧光探针用于 MC-LR 检测, 该方法对 MC-LR 的线性范围为 1 ng/L~500 μg/L, 检出限为 0.3 ng/L (S/N=3). Poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针制备简单、选择性强, 可用于实际水样中 MC-LR 定量分析.

**关键词** 微囊藻毒素-LR; 聚胸腺嘧啶-铜纳米簇; 适体-金纳米粒子; 荧光探针

中图分类号 O657.3 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20250008

## Fluorescent Probe for Detection of Microcystin-LR Based on Poly(thymidine)-Copper Nanoclusters and Aptamer-Gold Nanoparticles

MENG Hua<sup>1</sup>, A Huaying<sup>1</sup>, LUO Pingxin<sup>1</sup>, ZHANG Yanli<sup>1\*</sup>, GAO Lianxun<sup>1</sup>,  
WANG Hongbin<sup>1</sup>, YANG Wenrong<sup>1,2</sup>, PANG Pengfei<sup>1\*</sup>

(1. Functional Nanomaterial-based Chemical and Biological Sensing Technology Innovation Team of Department of Education of Yunnan Province, Yunnan Minzu University, Kunming 650504, China;

2. School of Life and Environmental Sciences, Deakin University, Geelong 3217, Australia)

**Abstract** A fluorescent probe of poly(thymidine)-copper nanoclusters/ aptamer-gold nanoparticles (poly(T)-CuNCs/ aptamer-AuNPs) was constructed for highly sensitive sensing detection of microcystin-LR (MC-LR) using DNA template method. Three DNA nucleotides were designed, including MC-LR aptamer, and two poly(thymidine)

收稿日期: 2025-01-08. 网络首发日期: 2025-03-05.

联系人简介: 张艳丽, 女, 博士, 教授, 主要从事化学与生物传感方面的研究. E-mail: ylzhang@ymu.edu.cn

庞鹏飞, 男, 博士, 教授, 主要从事荧光传感分析方面的研究. E-mail: pfpang@aliyun.com

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 21565031, 21665027)、云南省科技厅基础研究计划项目(批准号: 202001AT070012)和云南民族大学研究生科研创新基金(批准号: 2024SKY135)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21565031, 21665027), the Basic Research Project of Yunnan Provincial Science and Technology Department, China (No. 202001AT070012) and the Graduate Research Innovation Project of Yunnan Minzu University, China (No. 2024SKY135).

ssDNA (poly(T) S1 and poly(T) S2). Using poly(T) S1 and poly(T) S2 as templates, poly(T) S1-CuNCs and poly(T) S2-CuNCs with pink fluorescence were synthesized by reducing  $\text{Cu}^{2+}$  with ascorbic acid (AA). Aptamer labeled with thiol groups at two both ends were linked with AuNPs through Au—S bonds to form AuNPs-aptamer-AuNPs bioconjugates. AuNPs-aptamer-AuNPs hybridized with poly(T)-CuNCs to form dsDNA-CuNCs. Fluorescence resonance energy transfer (FRET) occurred between CuNCs and AuNPs in the dsDNA-CuNCs structure, leading to fluorescence quenching of dsDNA-CuNCs. In the presence of target MC-LR, MC-LR specifically bonded with aptamer in dsDNA-CuNCs, resulting in the dissociation of dsDNA structure. The poly(T)-CuNCs were released into the solution, restoring the system's fluorescence. An "off-on" type of fluorescent probe was constructed for the detection of MC-LR. The linear range for MC-LR detection is 1 ng/L—500  $\mu\text{g/L}$ , with a detection limit of 0.3 ng/L (S/N=3). The proposed fluorescent aptamer probe possesses the advantages of simple preparation, high selectivity, and can be applied for quantitative detection and analysis of MC-LR in real water samples.

**Keywords** Microcystin-LR; Poly(thymine)-copper nanoclusters; Aptamer-gold nanoparticles; Fluorescent probe

近年来,由于不可持续工业发展导致生态系统中水污染物浓度增加,进而引起或刺激蓝藻水华的形成,对淡水水域生态系统和公众健康构成巨大威胁<sup>[1,2]</sup>.蓝藻水华暴发期间水体中会释放多种环境毒素,如微囊藻毒素(MC)、结瘤菌素和蚜虫毒素等,其中微囊藻毒素-LR(MC-LR)是毒性最强、浓度最高和最具代表性的微囊藻毒素.MC-LR是一种七肽单环肝毒素,不能被一般蛋白质或多肽水解酶降解,具有很强的致癌作用<sup>[3]</sup>.近年研究证实,MC-LR可抑制肝细胞中蛋白磷酸酶活性,诱导细胞角蛋白过度磷酸化,导致动物肝功能衰竭<sup>[4]</sup>.因此,世界卫生组织(WHO)明确规定,饮用水中微囊藻毒素的最大残留阈值为1  $\mu\text{g/L}$ <sup>[5]</sup>.同时,由于微囊藻毒素通常存在于水生生物容易接触的湖泊中,易于导致水生食物受到微囊藻毒素污染.因此,有必要建立超灵敏、高选择性的方法来监测环境水体和水生食品中的微囊藻毒素含量.近年来,研究者已发展了多种不同的方法和技术用于检测微囊藻毒素-LR,如酶联免疫吸附检验法(ELISA)<sup>[6,7]</sup>、高效液相色谱法(HPLC)<sup>[8,9]</sup>、蛋白磷酸酶抑制检验法(PPIA)<sup>[10]</sup>以及比色和电化学传感分析法<sup>[11-15]</sup>等.然而,这些传统方法大多需要专业人员的操作、昂贵的仪器设备和耗时的分析过程,限制了其推广和普及,如在线和远程检测分析.

荧光传感分析技术因其响应快、成本低、灵敏度高及抗干扰能力强而受到广泛关注<sup>[16]</sup>.金属纳米团簇(MNCs)<sup>[17,18]</sup>、碳点(CDs)<sup>[19,20]</sup>和量子点(QDs)<sup>[21,22]</sup>等通常被用作构建荧光传感平台的荧光纳米材料,考虑到合成制备、表面功能化、生物相容性、低毒性和光致发光性能等,MNCs作为荧光纳米材料受到关注<sup>[17,23]</sup>.MNCs是一种由几个到几百个原子组成的水溶性分子聚集体,是介于单个原子或分子与大颗粒之间的过渡形式.这些MNCs粒子在尺寸接近电子费米波长时表现出类似分子的特征,赋予其重要的桥梁作用——孤立的金属原子和等离子体金属纳米颗粒之间缺失的联系<sup>[24-26]</sup>.由于能级离散,MNCs与较大的金属纳米颗粒具有截然不同的电学、光学和化学性质,一个显著特征是它们强烈的光致发光性能.在各种类型的MNCs中,DNA-金属纳米团簇(DNA-MNCs)因其易于制备合成、良好的生物相容性、高量子产率、可调的荧光发射波长、大的斯托克斯位移和高的光学稳定性等而受到特别关注,已用于光电催化、传感分析、生物成像和生物医疗等领域<sup>[27-30]</sup>.相对于其它贵金属纳米簇,铜是一种相对丰富、低成本的金属,且铜纳米簇独特的红色荧光(相对于蓝色和绿色荧光金属纳米簇)在生物传感和体内/外生物成像方面具有一定优势<sup>[31]</sup>.

本文以聚胸腺嘧啶为模板,利用氧化还原法制备了聚胸腺嘧啶-铜纳米簇,再耦合适体-金纳米粒子构建了荧光适体探针,用于微囊藻毒素-LR的荧光传感检测分析.设计了3条DNA核苷酸链,2条聚胸腺嘧啶单链DNA作为模板合成具有粉红色荧光的poly(T)-CuNCs,巯基标记MC-LR适体链(aptamer)与AuNPs之间通过Au—S键连接形成aptamer-AuNPs,二者杂交后形成dsDNA-CuNCs.由于双链结构中存在荧光共振能量转移,导致体系荧光猝灭.目标物MC-LR可与dsDNA-CuNCs中aptamer特异性结合,引起双链结构解体,使得体系荧光恢复,据此构建了一种“off-on”型荧光适体探针用于水体中微囊藻毒素-LR的快速、准确检测.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

微囊藻毒素-LR(MC-LR)和微囊藻毒素-RR(MC-RR),北京伊普瑞斯科技有限公司;四水合氯金酸( $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )、3-(N-吗啡啉)丙磺酸(MOPS)、盐酸三-(2-羧乙基)膦(TCEP)、五水合硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )、二水合柠檬酸三钠( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )和抗坏血酸(AA),上海国药集团化学试剂有限公司;十二水合磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )和二水合磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ),广东光华科技股份有限公司.实验所用试剂均为分析纯,实验设计的3条DNA核苷酸链由宝生物工程(大连)有限公司(大连TaKaRa公司)合成,并经高效液相色谱(HPLC)纯化,冻干,DNA碱基序列分别如下: aptamer: 5'-HS-GGCGCCAAACAGGACCACCATGACAATTACCCATAACCACCTCATTATGCCCCATCTCCGC-SH-3', poly(T) S1: 5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTATGGGGCATAATGAGGTGGTA-3', poly(T) S2: 5'-ATTGTCATGGTGGTCTCTGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-3';实验所用其它试剂均为分析纯,实验用水为高压灭菌去离子水.

F-7000型荧光光谱仪,日本株式会社日立制作所;UV-2600i型紫外-可见分光光度计,日本岛津制作所;JEM-2100型透射电子显微镜,日本电子株式会社;Biorad ChemiDoc XRS+化学发光凝胶成像仪,美国Bio-Rad公司;WFH-203B型暗箱式三用紫外分析仪,上海驰唐电子有限公司;HX-10F型恒温金属浴,上海沪析实业有限公司;TGL-16G型高速离心机,上海安亭科学仪器厂.

### 1.2 实验过程

1.2.1 poly(T)-CuNCs的制备 参照文献[32,33]方法,以poly(T) DNA为模板制备了poly(T)-CuNCs.分别移取1  $\mu\text{L}$  poly(T) S1(200  $\mu\text{mol/L}$ )和poly(T) S2(200  $\mu\text{mol/L}$ ),与8  $\mu\text{L}$  10 mmol/L Tris-HCl(pH=7.4, 0.5 mol/L NaCl)缓冲液混合,于95  $^\circ\text{C}$ 金属浴中退火5 min,迅速置于冰水浴中冷却10 min.加入10  $\mu\text{L}$  10 mmol/L MOPS缓冲液(pH=7.5, 150 mmol/L NaCl)和5  $\mu\text{L}$  1.8 mmol/L  $\text{CuSO}_4$ 溶液,用旋涡仪振荡15 s,再加入5  $\mu\text{L}$  5 mmol/L AA溶液,混匀后室温下避光反应10 min,得到poly(T)-CuNCs.

1.2.2 AuNPs和 aptamer-AuNPs的制备 参照文献[34]方法制备 Aptamer-AuNPs.首先,采用柠檬酸钠还原法制备 AuNPs,取10 mL 2.5 mmol/L  $\text{HAuCl}_4$ 溶液加热至沸,迅速加入2 mL 20 mmol/L 柠檬酸钠溶液,溶液颜色由黄色转变为酒红色,继续加热20 min,自然冷却至室温,加入1 mL 1 mol/L NaCl溶液,“老化”20 min.然后,将1  $\mu\text{L}$  aptamer(200  $\mu\text{mol/L}$ )与20  $\mu\text{L}$  15 mmol/L TCEP(pH=7.4)混合,静置反应1 h,加入20  $\mu\text{L}$ 上述制备的AuNPs溶液,室温下避光孵育24 h,用0.1 mol/L NaCl溶液“老化”处理24 h,以15000 r/min离心10 min,所得红色沉淀用10 mmol/L Tris-HCl缓冲液(pH=7.4, 0.5 mol/L NaCl)洗涤,将产物溶于Tris-HCl缓冲液(10 mmol/L, pH=7.4, 0.5 mol/L NaCl),于4  $^\circ\text{C}$ 保存备用.

1.2.3 荧光探针的制备 为了获得最佳性能的荧光探针,控制poly(T) S1, poly(T) S2和 aptamer的摩尔比为1:1:1,将制备的poly(T)-CuNCs溶液与Aptamer-AuNPs溶液等体积混合,于45  $^\circ\text{C}$ 孵育2.5 h,得到poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs荧光探针溶液.

1.2.4 MC-LR的检测分析 在制得的Poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs荧光探针溶液中,加入5  $\mu\text{L}$ 不同浓度的MC-LR储备液,于28  $^\circ\text{C}$ 孵育70 min,室温下测定其荧光光谱.荧光激发和发射狭缝均设置为5 nm,光电倍增管电压为700 V,扫描速率为1200 nm/min,在340 nm激发波长下,记录Poly(T)-CuNCs/ aptamer-AuNPs(最大发射波长610 nm)的荧光发射光谱.

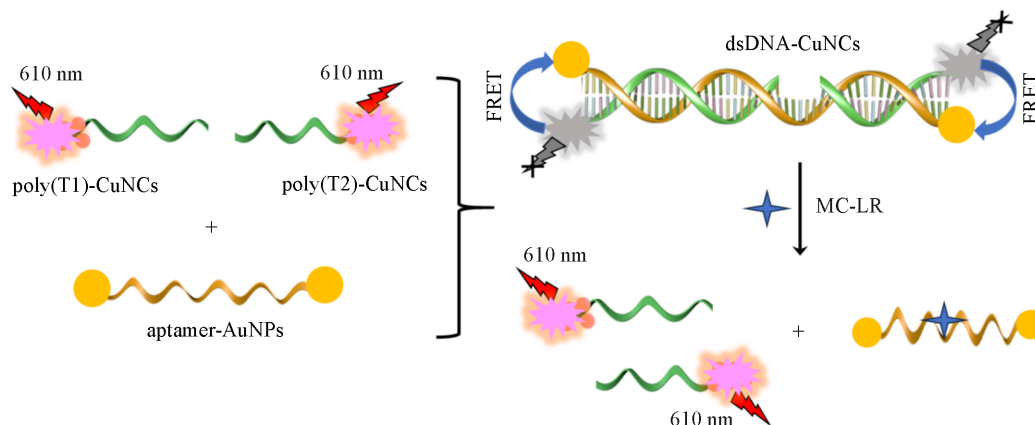
对于实际水样(自来水和河流水)中MC-LR的检测,将河流水经10000 r/min转速离心10 min后,用0.22  $\mu\text{m} \times 13$  mm微孔滤膜过滤,同上述步骤测定MC-LR浓度,并进行加标回收实验,计算加标回收率.

## 2 结果与讨论

### 2.1 Poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光探针的检测原理

Poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光探针的制备过程和检测 MC-LR 原理如 Scheme 1 所示. 本文设计

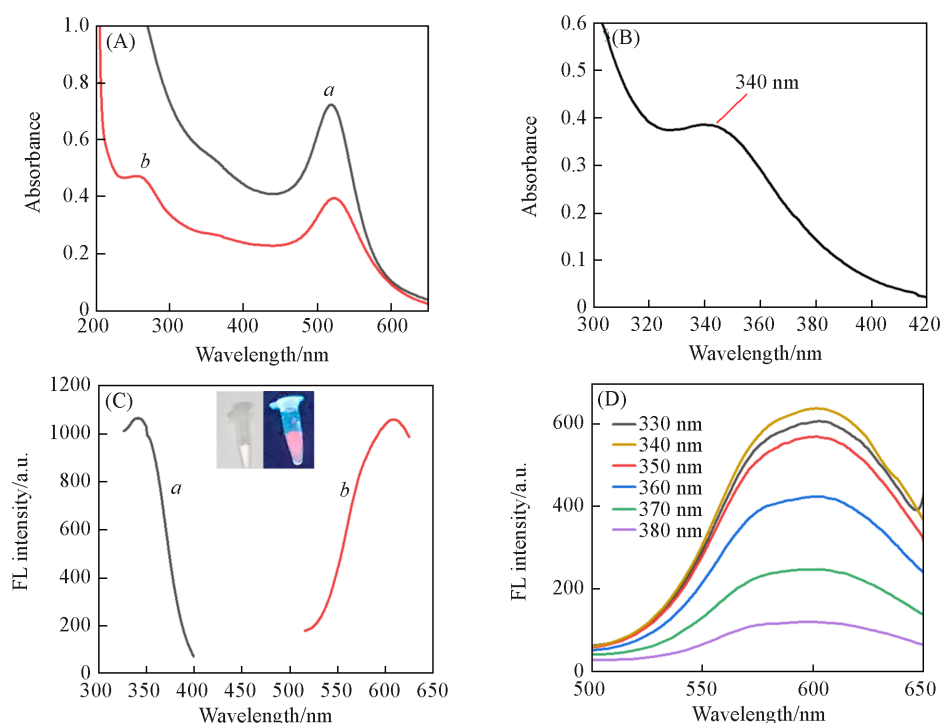
了3条DNA核苷酸链: MC-LR 适配链 (aptamer) 和2条聚胸腺嘧啶单链 DNA S1 [poly (T1)] 和 S2 [poly (T2)]. 以 poly (T1) 和 poly (T2) 为模板, 利用抗坏血酸 (AA) 还原  $\text{Cu}^{2+}$ , 得到具有粉红色荧光的 poly (T1)-CuNCs 和 poly (T2)-CuNCs. 对 aptamer 链两端进行巯基标记, 可分别与 AuNPs 连接形成 AuNPs-aptamer-AuNPs 共轭物. AuNPs-aptamer-AuNPs 与 poly (T1)-CuNCs 和 poly (T2)-CuNCs 通过杂交反应形成 dsDNA-CuNCs, dsDNA-CuNCs 结构中 CuNCs 与 AuNPs 之间存在荧光共振能量转移 (FRET), 导致 dsDNA-CuNCs 荧光猝灭. 加入目标物 MC-LR 后, MC-LR 可与 dsDNA-CuNCs 中 aptamer 特异性结合, 引起 dsDNA 双链结构解体, 单链 poly (T1)-CuNCs 和 poly (T2)-CuNCs 释放至溶液中, 引起体系荧光恢复. 因此, 基于 poly (T)-CuNCs 和 aptamer-AuNPs 体系探针荧光恢复而实现对 MC-LR 的定量分析.



**Scheme 1** Schematic illustration of principle of fluorescent probe for MC-LR detection based on poly(T)-CuNCs and aptamer-AuNPs

## 2.2 Poly(T)-CuNCs 和 aptamer-AuNPs 的表征

采用柠檬酸钠还原法制备 AuNPs, 其 TEM 照片如图 S1 所示 (见本文支持信息). 合成的 AuNPs 呈球形, 分散均匀, 平均直径大小为  $(14.4 \pm 0.06)$  nm. 图 1(A) 为 AuNPs 和 aptamer-AuNPs 的紫外-可见吸收



**Fig. 1** UV-Vis absorption spectra(A) of AuNPs(a) and aptamer-AuNPs(b), UV-Vis absorption spectrum of poly(T)-CuNCs(B), fluorescent excitation(a) and emission(b) spectra(C), and fluorescent emission spectra dependent of excitation wavelength(D)

光谱图, 可见, AuNPs 在 519 nm 处呈现其特征峰(谱线 *a*); 修饰 aptamer 后, AuNPs 的特征峰红移至 523 nm, 且在 260 nm 处出现 aptamer 的特征吸收峰(谱线 *b*), 表明 aptamer-AuNPs 制备成功. 图 1(B) 为 poly(T)-CuNCs 的紫外-可见吸收光谱图, poly(T)-CuNCs 在 340 nm 处有 1 个特征吸收峰. 图 1(C) 为 poly(T)-CuNCs 的荧光激发和发射光谱图, 最大激发波长为 340 nm(谱线 *a*), 最大发射波长为 610 nm(谱线 *b*), 在可见光下无色, 在 365 nm 紫外光下呈粉红色荧光[图 1(C)]. 图 1(D) 为 poly(T)-CuNCs 在不同激发波长下的荧光光谱, 最大激发波长为 340 nm, 与图 1(B) 中的特征吸收峰波长一致. TEM 表征结果(图 S2, 见本文支持信息)显示, 合成的 poly(T)-CuNCs 为均匀分散球形, 平均粒径为 2.6 nm. 以上结果表明, 合成了用于构建荧光适体探针的 poly(T)-CuNCs 和 aptamer-AuNPs.

### 2.3 Poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光探针的可行性研究

利用琼脂糖凝胶电泳 (AGE) 对 3 条 DNA 链杂交形成 dsDNA 进行了验证(图 S3, 见本文支持信息). 图 S3 中泳道 1 为 20 bp DNA Marker, 泳道 2 与泳道 3 分别为 poly(T) S1 和 poly(T) S2, 泳道 4 为 aptamer, 泳道 5 为 3 条链的混合液, 泳道 5 中出现了不同于其它泳道的新明亮条带, 根据其位置说明 3 条 DNA 链杂交成功. 此外, 为了验证 poly(T)-CuNCs 和 aptamer-AuNPs 荧光适体探针检测 MC-LR 的可行性, 探究了不同体系荧光强度的变化. 图 2(A) 对比了 poly(T)-CuNCs(谱线 *a*)、poly(T)-CuNCs+aptamer-AuNPs(谱线 *b*) 和 poly(T)-CuNCs+aptamer-AuNPs+MC-LR(谱线 *c*) 荧光光谱. 可见, poly(T)-CuNCs 单独存在时具有较强的荧光强度(谱线 *a*); poly(T)-CuNCs 与 aptamer-AuNPs 杂交形成 dsDNA 后, 体系荧光显著猝灭(谱线 *b*); 加入 10  $\mu\text{g/L}$  目标物 MC-LR 后, 体系荧光恢复(谱线 *c*). 图 2(B) 为 aptamer-AuNPs 的紫外-可见吸收光谱(谱线 *a*) 和 poly(T)-CuNCs 的荧光光谱(谱线 *b*), 两条曲线存在明显交叉重叠, 表明 aptamer-AuNPs 与 poly(T)-CuNCs 之间可能发生了荧光共振能量转移. 以上结果表明, 基于 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针检测 MC-LR 的方案是可行的.

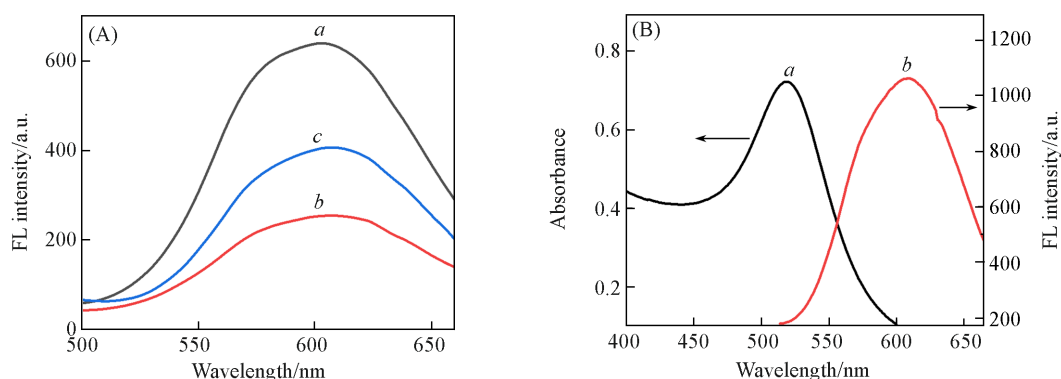


Fig. 2 Fluorescent spectra of poly(T)-CuNCs(*a*), poly(T)-CuNCs+aptamer-AuNPs(*b*), and poly(T)-CuNCs+aptamer-AuNPs+MC-LR(10  $\mu\text{g/L}$ )(*c*)(A), UV-Vis absorption spectrum of aptamer-AuNPs (*a*) and fluorescent spectrum of poly(T)-CuNCs(*b*)(B)

### 2.4 实验条件的优化

为了获得最优的荧光传感分析性能, 对 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光探针的合成条件和检测条件(包括 MOPS 缓冲液 pH 值、 $\text{Cu}^{2+}$  和 AA 浓度、反应时间、杂化温度和时间以及 MC-LR 孵育温度和时间)进行了优化(图 S4, 见本文支持信息). 首先, 探究了 MOPS 缓冲液 pH 值对合成 poly(T)-CuNCs 荧光强度的影响, 当 pH=7.5 时, 荧光强度达最高[图 S4(A), 见本文支持信息]. 加入  $\text{Cu}^{2+}$  和 AA 的浓度分别为 1.8 mmol/L 和 5 mmol/L, 反应 10 min 时, poly(T)-CuNCs 的荧光强度均达到最高值[图 S4(B)~(D), 见本文支持信息]. 当 poly(T)-CuNCs 和 aptamer-AuNPs 的杂交温度和杂交时间分别为 45  $^{\circ}\text{C}$  和 2.5 h 时, 体系荧光猝灭程度达到稳定[图 S4(E)和(F), 见本文支持信息]. 最后, 对检测 MC-LR 时的孵育温度和时间进行了优化, 发现当孵育温度和时间分别为 28  $^{\circ}\text{C}$  和 70 min 时, 体系荧光强度恢复达到最大值[图 S4(G)和(H), 见本文支持信息]. 因此, 实验选择 pH=7.5 的 MOPS, 1.8 mmol/L  $\text{Cu}^{2+}$ , 5 mmol/L AA, 反应时间 60 min, poly(T)-CuNCs 和 aptamer-AuNPs 杂交温度和时间分别为 45  $^{\circ}\text{C}$  和 2.5 h, MC-LR

孵育温度和时间分别为 33 °C 和 70 min, 作为 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针的最佳制备条件和分析检测条件.

### 2.5 MC-LR 的定量分析

在优化的实验条件下, 测定了 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 探针对不同浓度 MC-LR 的荧光光谱图. 如图 3(A) 所示, 随着目标物 MC-LR 浓度的增加, poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 探针的荧光强度逐渐恢复. 探针荧光恢复强度与 MC-LR 浓度在 0.001~500  $\mu\text{g/L}$  范围内呈现良好的线性关系[图 3(B)], 其线性回归方程为  $F=32.75\lg c_{\text{MC-LR}}+369.01$ , 检出限为 0.3  $\text{ng/L}$  ( $S/N=3$ ), 相关系数  $R^2=0.9919$ . 以上结果表明, 构建的 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针可用于 MC-LR 的定量检测分析. 表 S1 (见本文支持信息) 对比了本文方法与其它荧光方法检测 MC-LR 的线性范围和检出限, 可见, 该荧光适体探针具有较宽的线性范围和较低的检出限.

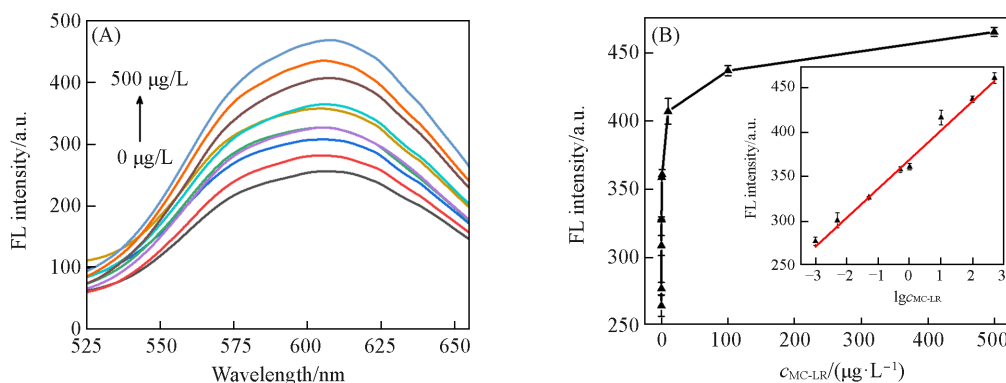


Fig. 3 Fluorescent spectra(A) of poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs aptamer probe incubation with different concentrations of MC-LR and relationship curves between fluorescent intensity and MC-LR concentrations(B)

Inset in (B) is the plot of fluorescent intensity vs. logarithm value of MC-LR concentrations.

### 2.6 荧光适体探针的选择性和重现性

为了探究 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针的特异性和抗干扰能力, 考察了 MC-LR 和一些常见干扰物对荧光探针的影响. 如图 4(A) 所示, MC-LR 浓度为 10  $\mu\text{g/L}$ , 其它干扰物 (MC-RR, glucose,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ) 浓度为 100  $\mu\text{g/L}$  时, poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 探针仅对 MC-LR 表现出明显的荧光响应, 对其它干扰物及其混合物的荧光变化可忽略不计 (图中  $F$  和  $F_0$  分别为有无干扰物或目标物时探针的荧光强度). 图 4(B) 示出了 5 次独立实验测定的 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 探针对 10  $\mu\text{g/L}$  MC-LR 的响应重现性结果, 其相对标准偏差  $\text{RSD}=3.5\%$ . 以上测试结果表明, poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针具有良好的选择性和重现性, 可用于实际样品 MC-LR 的分析检测.

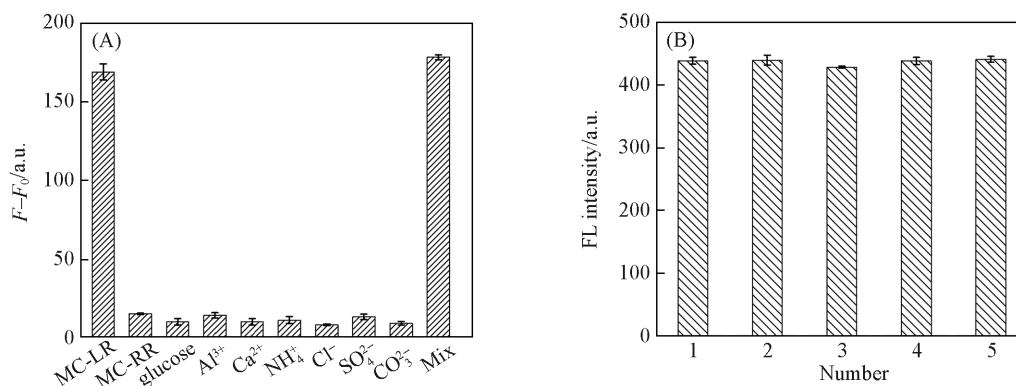


Fig. 4 Selectivity(A) and reproducibility(B) of poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs fluorescent aptamer probe

## 2.7 实际水样中 MC-LR 的检测

为了进一步验证 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针对于实际水样中 MC-LR 分析的实用性,选择湖水和河水 2 种水样作为实际分析水样,将 2 种水样离心处理后,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,采用标准加入法测定探针荧光强度并计算回收率,实验结果列于表 1。可见,制备的荧光适体探针对于实际水样中 MC-LR 测定的回收率为 92.6%~105.4%,其相对标准偏差 RSDs=1.7%~5.4%。以上结果表明, poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 荧光适体探针可用于实际环境水样中 MC-LR 的检测分析。

**Table 1 Determination results of MC-LR using poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs fluorescent aptamer probe in real water samples( $n=3$ )<sup>\*</sup>**

Sample	Added/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Found/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	RSD(%)	Recovery(%)
River water	0	ND	—	—
	1	0.93	5.4	92.6
	10	9.80	2.2	98.0
	100	105.41	1.7	105.4
Lake water	0	ND	—	—
	1	1.01	2.0	100.6
	10	9.75	4.3	97.5
	100	102.70	3.1	102.7

\* ND: not detected.

## 3 结 论

采用 DNA 模板法构建了聚胸腺嘧啶-铜纳米簇耦合适体-金纳米粒子荧光适体探针,应用于水体中微囊藻毒素-LR 的高灵敏传感检测。以聚胸腺嘧啶单链 DNA 为模板,利用抗坏血酸还原铜离子,合成了具有粉红色荧光的 poly(T)-CuNCs,与 aptamer-AuNPs 杂交形成 dsDNA-CuNCs,双链结构中 CuNCs 与 AuNPs 之间由于荧光共振能量转移作用,导致体系荧光猝灭。存在目标物 MC-LR 时,MC-LR 与 dsDNA-CuNCs 中的 aptamer 特异性结合,导致 dsDNA-CuNCs 双链结构解体转变为 poly(T)-CuNCs,体系荧光恢复,基于 poly(T)-CuNCs/aptamer-AuNPs 探针荧光恢复可实现对 MC-LR 的定量分析。该“off-on”型荧光适体探针具有制备简单、灵敏度和选择性高等特点,为环境水体中 MC-LR 的快速、准确和定量检测提供了一种新方法。

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20250008>。

## 参 考 文 献

- [1] Shi K., Zhang Y. L., Qin B. Q., Zhou B. T., *Sci. Bull.*, **2019**, *64*(20), 1540—1556
- [2] Steffen M. M., Belisle B. S., Watson S. B., Boyer G. L., Wilhelm S. W., *J. Great Lakes Res.*, **2014**, *40*(2), 215—225
- [3] Vogiazzi V., de la Cruz A., Mishra S., Shanov V., Heineman W. R., Dionysiou D. D., *ACS Sens.*, **2019**, *4*, 1151—1173
- [4] Singh S., Srivastava A., Oh H. M., Ahn C. Y., Choi G. G., Asthana R. K., *Toxicol.*, **2012**, *60*, 878—894
- [5] World Health Organization, *Guidelines for Drinking-water Quality-4<sup>th</sup> ed.*, **2011**, 344—346
- [6] Liu J. C., Yang Y. H., Zhu Q., Wang Z. H., Hu G. J., Shi H. C., Zhou X. H., *Sci. Technol.*, **2021**, *55*, 12984—12993
- [7] Chen L. M., Tan R. Y., Zhou Y. M., Zhang L. Q., Zhang S. S., Li X. Y., Cong Y., Li H. M., Sun P. P., Ueda H., Dong J. H., *Microchem. J.*, **2020**, *158*, 105325
- [8] Stoyneva-Gärtner M. P., Uzunov B. A., Descy J. P., Gärtner G., Draganova P. H., Borisova C. I., Pavlova V., Mitreva M., *Mar. Freshwater Res.*, **2020**, *71*, 606—616
- [9] Qian Z. Y., Li Z. G., Ma J., Gong T. T., Xian Q. M., *Talanta*, **2017**, *173*, 101—106
- [10] Posse E. J. A., González C., Carriquiriborde P., Nadra A., Gasulla J., *Talanta*, **2023**, *255*, 124174
- [11] Pang P. F., Lai Y. Q., Zhang Y. L., Wang H. B., Conlan X. A., Barrow C. J., Yang W. R., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2020**, *93*, 637—646
- [12] Chen Z., Dong N., Wang Y., Li Y. Q., Li W. J., Liu D., You T. Y., *Sens. Actuators B*, **2024**, *419*, 136437
- [13] Guo J. F., Wang G. D., Zou J., Lei Z., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2023**, *415*, 3559—3569
- [14] Zhang Y. L., Lai Y. Q., Teng X., Pu S. F., Yang Z., Pang P. F., Wang H. B., Yang C., Yang W. R., Barrow C. J., *Anal. Methods*,

- 2020, 12, 1752—1758
- [15] Zhang Y. L., Zhu Z. Y., Teng X., Lai Y. Q., Pu S. F., Pang P. F., Wang H. B., Yang C., Barrow C. J., Yang W. R., *Talanta*, **2019**, 202, 279—284
- [16] Shibata A., Higashi S. L., Ikeda M., *Polym. J.*, **2022**, 54, 751—766
- [17] Zhao Z. Y., Li Y. T., *Colloids Surf. B*, **2020**, 195, 111244
- [18] Wang M. K., Su X. G., *J. Instrum. Anal.*, **2021**, 40(6), 805—815(王孟珂, 苏星光. 分析测试学报, **2021**, 40(6), 805—815)
- [19] Dhiman R., Kumar J., Singh M., *Anal. Sci.*, **2024**, 40, 1387—1396
- [20] Wang X. Y., Yu J. L., Ji W., Arabi M., Fu L. W., Li B. W., Chen L. X., *ACS Appl. Nano Mater.*, **2021**, 4, 6852—6860
- [21] Guo Y. M., Wang R. Q., Wei C. W., Li Y. J., Fang T. C., Tao T., *Food Chem.*, **2023**, 415, 135749
- [22] Singh R., Kumar S., Bera S., Bhunia S. K., *ACS Appl. Nano Mater.*, **2023**, 6, 19526—19550
- [23] Gao W. X., Zhao H. G., Shang L., *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2024**, 180, 117919
- [24] Lin Z. K., Goswami N., Xue T. T., Chai O. J. H., Xu H. J., Liu Y. X., Su Y., Xie J. P., *Adv. Funct. Mater.*, **2021**, 31(51), 2105662
- [25] Tao Y., Li M. Q., Ren J. S., Qu X. G., *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44, 8636—8663
- [26] Song X. R., Goswami N., Yang H. H., Xie J. P., *Analyst*, **2016**, 141, 3126—3140
- [27] Baghdasaryan A., Bürgi T., *Nanoscale*, **2021**, 13, 6283—6340
- [28] Shahsavari S., Hadian-Ghazvini S., Saboor F. H., Oskouie I. M., Hasany M., Simchi A., Rogach A. L., *Mater. Chem. Front.*, **2019**, 3, 2326—2356
- [29] Wang J. Y., Liu Z., Zhang Q., Sun C. Y., Li H. X., *Chem. J. Chinese Universities*, **2022**, 43(6), 20220010(王君咏, 刘争, 张茜, 孙春燕, 李红霞. 高等学校化学学报, **2022**, 43(6), 20220010)
- [30] Lai Y. Q., Teng X., Zhang Y. L., Wang H. B., Pang P. F., Yang C., Barrow C. J., Yang W. R., *Anal. Methods*, **2019**, 11(28), 3584—3589
- [31] An Y., Ren Y., Bick M., Dudek A., Waworuntu E. H. W., Tang J., Chen J., Chang B., *Biosens. Bioelectron.*, **2020**, 154, 112078
- [32] Qin G. X., Zhao S. L., Huang Y., Jiang J., Liu Y. M., *Biosens. Bioelectron.*, **2013**, 46, 119—123
- [33] Zhang Y. L., Lai Y. Q., Teng X., Pu S. F., Yang Z., Pang P. F., Wang H. B., Yang C., Yang W. R., Barrow C. J., *Anal. Methods*, **2020**, 12, 1752—1758
- [34] Wang H. B., Zhang H. D., Chen Y., Ou L. J., Liu Y. M., *Anal. Methods*, **2015**, 7, 6372—6377

(Ed.: F, K)