

基于磁性层状双氢氧化物和核酸外切酶 I 的新型大肠杆菌荧光传感器构建

何佳璘, 吴源益, 刘天, 肖玉梅, 何苗, 王开勇, 杨懿

西南医科大学 公共卫生学院(泸州 646000)

【摘要】目的 基于磁性层状双氢氧化物(magnetic layered double hydroxide, MLDH)对修饰在单链和双链 DNA 上的羧基荧光素(6-carboxyfluorescein, FAM)的高效淬灭,以及核酸外切酶 I (exonuclease I, Exo I)对单链 DNA 的选择性降解作用,建立测定大肠杆菌的荧光传感器。**方法** 将不同浓度的大肠杆菌特征 DNA 与 FAM 标记的互补 DNA 探针杂交,形成 FAM-双链 DNA,加入 Exo I 选择性降解剩余探针,再加入 MLDH 吸附并淬灭 FAM-双链 DNA。通过磁铁分离上清液与 MLDH,测量上清液的荧光强度。**结果** 在最优实验条件下,本法检测大肠杆菌特征 DNA 的线性范围为 0.05 ~ 30 nmol/L,相关系数(R^2)为 0.997,检测限(3σ)为 0.025 nmol/L,对江水、自来水和茶饮料中大肠杆菌 DNA 的回收率为 85.4% ~ 118%,相对标准偏差小于 5%。**结论** 利用 MLDH 的荧光淬灭能力和 Exo I 对单链 DNA 的选择性水解能力成功构建了测定大肠杆菌的新型荧光传感器,与传统大肠杆菌检测方法相比,所建新型传感器灵敏度高、选择性好、准确度高,能实现对大肠杆菌的快速检测。

【关键词】 磁性层状双氢氧化物;核酸外切酶 I;荧光传感器;大肠杆菌;DNA 检测

【中图分类号】 R115

文献标志码 A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.05.004

A novel fluorescent sensor for *Escherichia coli* detection based on magnetic layered double hydroxide and exonuclease I

HE Jialin, WU Yuanyi, LIU Tian, XIAO Yumei, HE Miao, WANG Kaiyong, YANG Yi

School of Public Health, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

【Abstract】 Objective A fluorescent sensor for the determination of *Escherichia coli* was established, based on the efficient quenching of 6-carboxyfluorescein (FAM) modified on both single-stranded DNA and double-stranded DNA by magnetic layered double hydroxide (MLDH) quenchers, and the selective degradation of single-stranded DNA by exonuclease I (Exo I). **Methods** Different concentrations of *Escherichia coli* characteristic DNA were hybridized with FAM-labeled DNA probes. The remaining single-stranded DNA probes were selectively hydrolyzed by Exo I. Then, MLDH quenchers were added to adsorb and quench the formed FAM-labeled double-stranded DNA. Finally, the supernatant was separated from MLDH quenchers with the help of an external magnet and its fluorescence intensity was measured. **Results** Under optimal experimental conditions, the linear range of *Escherichia coli* characteristic DNA was 0.05–30 nmol/L, the correlation coefficient (R^2) was 0.997, and the detection limit (3σ) was 0.025 nmol/L. The recoveries for *Escherichia coli* characteristic DNA in river water, tap water and tea ranged from 85.4% to 118% with the relative standard deviations less than 5%. **Conclusion** A novel fluorescent sensor for *Escherichia coli* detection was successfully established. Compared to traditional *Escherichia coli* detection methods, the proposed sensor exhibited high sensitivity, good selectivity, and high accuracy, which realized rapid detection of *Escherichia coli*.

【Key words】 Magnetic layered double hydroxide; Exonuclease I; Fluorescent sensor; *Escherichia coli*; DNA detection

大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7, *E. coli* O157:H7) 是频繁引起食物中毒的食源性致病菌,严重威胁食品安全,因此需要构建高效、简便、经济的检测方法^[1-3]。聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、DNA 微阵列和等温扩增技术等传统检测方法需要昂贵的仪器以及专业的技术人员^[4-6],而荧光传感器具有灵敏度高、简便、成本低、反应迅速等特点^[7-8],因而在大肠杆菌检测上具有良好应用潜力^[9-12]。

在荧光传感器中,基于纳米荧光淬灭剂和荧光基团之间的“开”“关”转换是最常用的传感策略^[13-14]。层状双氢氧化物(layered double hydroxide, LDH)合成步骤简单、原料易得、制备成本低,且对核酸上修饰的荧光染料具有快速淬灭能力^[15-17],故能被用作荧光淬灭材料。然而,为避免 LDH 干扰荧光信号测定,需要通过离心将常规 LDH 淬灭剂从溶液中分离出来,因此会增加检测工作的繁琐度。

基金项目:四川省自然科学基金(2022NSFSC1490);泸州市科技计划项目(2021-JYJ-72)

通信作者:杨懿, E-mail: yangyi@swmu.edu.cn

引用本文:何佳璘, 吴源益, 刘天, 等. 基于磁性层状双氢氧化物和核酸外切酶 I 的新型大肠杆菌荧光传感器构建[J]. 西南医科大学学报, 2024, 47(5): 384-388. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.05.004.

本研究以羧基荧光素(6-carboxyfluorescein, FAM)修饰的单链DNA(single-stranded DNA, ssDNA)为探针(P),以Zn/Ni/Al-磁性层状双氢氧化物(magnetic layered double hydroxide, MLDH)为荧光淬灭剂,以核酸外切酶I(exonuclease I, Exo I)为靶标分辨元件,利用探针和靶标ssDNA的高特异性碱基互补配对,以及Exo I对ssDNA的选择性降解作用,创新性地构建测定*E. coli*特征DNA(T)的荧光传感器。如图1所示,在靶标ssDNA存在的情况下,靶标ssDNA与其互补5'-FAM-ssDNA探针结合成双链DNA(double-stranded DNA, dsDNA),此时FAM-dsDNA不被Exo I降解而被MLDH吸附发生荧光淬灭,表现为荧光值很低;当体系中不含靶标ssDNA时,5'-FAM-ssDNA探针被Exo I酶切释放出FAM荧光基团,游离的FAM不被MLDH淬灭,表现为荧光值很高。利用这一传感机制,实现对*E. coli*的检测分析。

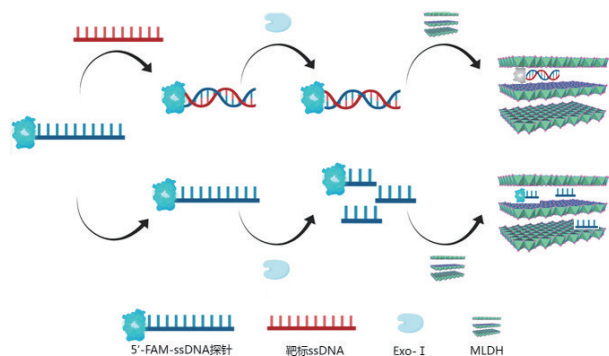


图1 荧光传感原理示意图

Figure 1 The detection principle of the fluorescent sensor

1 材料与试验方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 Synergy H1 多功能荧光酶标仪(美国伯腾仪器有限公司),J-HH-6A 恒温水浴锅(上海LNB仪器有限公司),96孔黑色酶标板(美国康宁公司),无菌水样取样袋(广东环凯生物科技有限公司),纯水仪Milli-Q系统(美国Millipore公司),SCIENTZ-10N 冷冻干燥机(宁波新芝生物科技有限公司),天平(瑞士梅特勒-托利多国际有限公司),GL-88B 旋涡混合器(海门其林贝尔仪器制造有限公司),SB-5200DTD 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.1.2 试剂 Exo I 和 $10 \times$ Exo I 缓冲液购自上海生工生物工程股份有限公司。分析纯的氯化锌、氯化铝六水合物、氯化镍六水合物、四氧化三铁、氯化钠、氯化镁、氢氧化钠和碳酸钠均购自上海麦克林生化科技有限公司。Tris-HCl 溶液(1 mol/L, pH = 7.6)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。实验用水为 Milli-Q 系统(美国 Millipore 公司)制备的超纯水。反应缓冲液为 Tris-HCl 缓冲液(10 nmol/L, pH = 7.4, 含 100 mmol/L

NaCl 和 4 mmol/L $MgCl_2$)。实验所用 DNA 均由上海生工生物工程股份有限公司合成和纯化,序列见表1。其中 P 为 FAM 标记的探针序列, T 为大肠杆菌特征 DNA 序列, MT1 为 T 的单碱基错配序列, MT2 为 T 的三碱基错配序列, MT 为 T 的碱基完全错配序列。

表1 本研究所用DNA序列

Table 1 The DNA sequences used in this work

序列名称	碱基序列
P	5'-FAM-CAG TTG GCG GCG TAG ATT AT-3'
T	5'-ATA ATC TAC GCC GCC AAC TG-3'
MT1	5'-ATA ATC TAC ACC GCC AAC TG-3'
MT2	5'-ATA AAC TAC ACC GCA AAC TG-3'
MT	5'-TGC AGT GAC AAA TGT GCC GCC A-3'

1.2 实验方法

1.2.1 磁性层状双氢氧化物的制备 称取 0.3 g 四氧化三铁,分散于 150 mL 水中,使其均匀悬浮 20 min。称取 0.32 g 碳酸钠和 0.48 g 氢氧化钠溶于 100 mL 水中配制为碱性溶液,加入到悬浮液中使 pH 为 10,保持 5 min^[18-19]。称取氯化锌 0.5 g、氯化镍 0.3 g、氯化铝 0.26 g,溶于 100 mL 水中制成盐溶液,将盐溶液加入到悬浮液中,再加入碱性溶液,使 pH 范围在 9.5 ~ 10 之间,搅拌 5 min,用磁铁分离。用水和乙醇清洗制得的磁性材料,真空冷冻干燥即得到锌镍铝物质的量浓度比为 3:1:1 的磁性层状双氢氧化物。

1.2.2 荧光检测方法 室温下将 160 μ L Tris-HCl 缓冲液加至 EP 管中,加入 8 μ L 浓度为 1 μ mol/L 的 P 溶液使其终浓度为 40 nmol/L,再加入 8 μ L 不同浓度(0.05 ~ 30 nmol/L)的 T 溶液,混匀后杂交 10 min。加入 30 U Exo I 和 20 μ L Exo I 缓冲液,混匀后于 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,加入 4 μ L 浓度为 10 mg/mL 的 MLDH 使其终浓度为 0.2 mg/mL,配置成总体积为 200 μ L 的反应体系。反应 10 min 后用磁铁分离上清液,将上清液加在 96 孔黑色酶标板中,用酶标仪测定其荧光强度。激发波长为 480 nm,扫描 510 ~ 600 nm 的发射光谱并记录 520 nm 的荧光强度值,步幅为 1,增益为 110。

2 结果

2.1 荧光传感条件优化

2.1.1 Exo I 用量 在 40 nmol/L P 溶液中分别加入 0、1、5、10、20、30 和 50 U Exo I,于 37 $^{\circ}$ C 水浴 60 min 后加入 0.2 mg/mL MLDH,反应 10 min 后用磁铁分离,测定上清液的荧光强度。如图 2A 所示,上清液的荧光强度随着酶用量增加而升高,并在酶用量为 30 U 时趋于稳定,故 Exo I 的用量选定为 30 U。

2.1.2 酶切反应时间 在 40 nmol/L P 溶液中加入 30 U Exo I,于 37 $^{\circ}$ C 分别水浴 5、10、20、30、45 和 60 min,然后加入 0.2 mg/mL MLDH,反应 10 min 后用磁铁分离,

测定上清液的荧光强度。如图2B所示,上清液的荧光强度随着酶切时间的增加而升高,并在酶切时间为30 min时趋于稳定,故选定酶切时间为30 min。

2.1.3 MLDH 用量 在40 nmol/L P溶液中加入30 U Exo I,于37 °C水浴30 min,分别加入0.05、0.1、0.2、0.3和0.5 mg/mL MLDH,反应10 min后用磁铁分离,测定上清液的荧光强度。如图2C所示,上清液的荧光强度随着MLDH用量增加而降低,并在MLDH用量为

0.2 mg/mL时趋于稳定,故0.2 mg/mL MLDH足够淬灭所用探针的荧光信号。

2.1.4 淬灭反应时间 在40 nmol/L P溶液中加入30 U Exo I,于37 °C水浴30 min,加入0.2 mg/mL MLDH,分别反应1、3、5、7和10 min后用磁铁分离,测定上清液的荧光强度。如图2D所示,上清液的荧光强度随着淬灭时间的增加而降低,反应3 min后趋于稳定,故MLDH吸附反应3 min即可完成对探针的荧光淬灭。

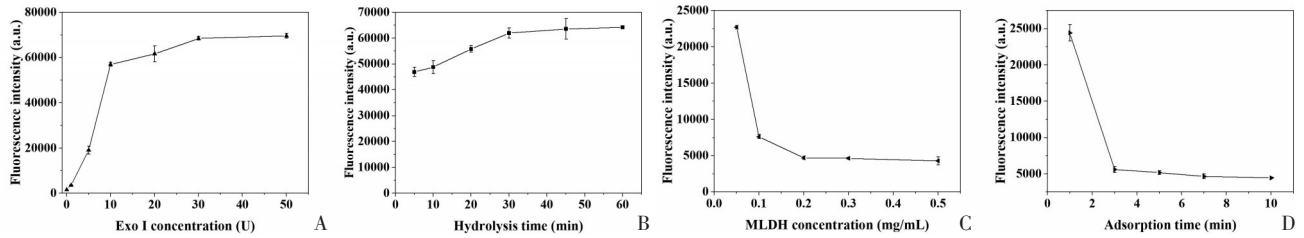


图2 传感条件对上清液荧光强度的影响

Figure 2 Effect of sensing conditions on the fluorescence intensity of the supernatant

注:A:Exo I用量(0~50 U);B:酶切时间(5~60 min);C:MLDH用量(0.05~0.5 mg/mL);D:淬灭反应时间(1~10 min)。

2.2 所建传感器的检测范围和灵敏度

在优化条件下,将所建荧光传感器用于*E. coli*特征DNA的定量分析。图3A显示了该传感器在不同浓度T存在下的荧光发射光谱。由图可见,在0~50 nmol/L浓度范围内,随着T浓度的增加,荧光强度显著降低。如图3B所示,在(0.05~30)nmol/L范围内,荧光强度与T的浓度呈线性关系,相关线性方程为 $F = -1703.2 C_T + 54760$ ($R^2 = 0.9978$),其中F为520 nm处的荧光强度, C_T 为T浓度(nmol/L)。检出限(limit of detection, LOD)是指不含T的空白溶液在3倍标准差处的荧光信号对应的浓度,根据 $3\sigma/S$ (σ 为空白溶液测量值的标准差, S 为线性方程的斜率)计算得到本法对*E. coli*特征DNA的LOD为0.025 nmol/L。

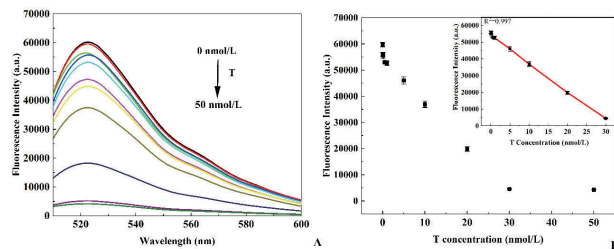


图3 所建传感器的检测范围及灵敏度

Figure 3 Detection range and sensitivity of the proposed sensor

注:A:所建传感器测定不同浓度T的荧光发射光谱;B:所建传感器的荧光检测信号与T浓度的关系及线性曲线。

2.3 所建传感器的特异性

通过比较所建传感器检测靶标序列和错配序列的荧光信号来评估所建传感器的特异性。在相同条件下,用所建传感器检测靶标DNA(T)、单碱基错配靶标(MT1)、三碱基错配靶标(MT2)、完全错配靶标(MT)和空白溶液。结果如图4所示,MT1、MT2和MT荧光响应

值明显高于T,MT2、MT和空白溶液的荧光响应值相近,故所建传感器具有良好的特异性。

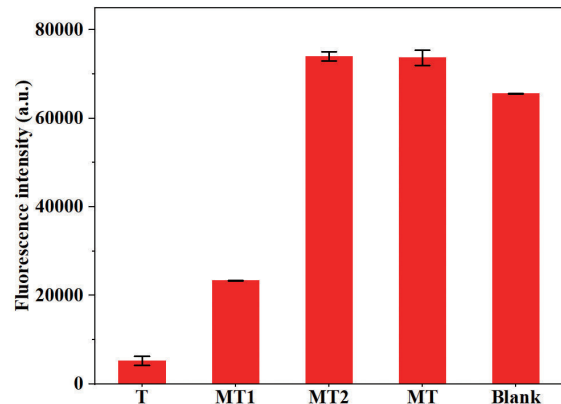


图4 所建传感器对靶标DNA及其错配序列的荧光响应

Figure 4 Specificity of the proposed sensor for target DNA and its mismatched sequences

2.4 所建传感器的实际样品分析

为了验证所建荧光传感器在实际样品检测中的应用效果,采集沱江水、长江水、自来水和茶饮料样品并进行回收试验。分别向不同样品中加入0.50、5.00和20.0 nmol/L T,用所建荧光传感器检测T含量。结果如表2所示,回收率为85.4%~118%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均小于5%,表明该传感器检测实际水样中*E. coli*的准确度高,精确度好,适用于实际样品中*E. coli*分析。

3 讨论

即时监测大肠杆菌等食源性致病微生物是保障公众健康的必要措施,对食源性致病微生物特异性核酸片段的高效分析是实现其快速检测的有效手段。传统

表2 所建荧光传感器对实际样品中大肠杆菌 DNA 的回收率
Table 2 Recoveries of *E. coli* DNA in real sample by the proposed fluorescent sensor

样品名称	背景值	加标浓度(nmol/L)	检出浓度(nmol/L)	回收率(%)	RSD(% , n = 3)
沱江水	未检出	0.50	0.53	106	1.52
		5.00	5.90	118	0.37
		20.0	19.9	99.5	3.60
长江水	未检出	0.50	0.52	105	2.02
		5.00	4.86	97.2	4.71
		20.0	20.3	102	3.16
自来水	未检出	0.50	0.53	106	3.54
		5.00	5.85	117	4.28
		20.0	19.4	97.0	3.52
茶饮料	未检出	0.50	0.49	98.9	1.58
		5.00	4.76	95.1	4.74
		20.0	17.1	85.4	1.54

的核酸检测技术多以PCR为基础,存在步骤繁琐、成本高、对操作人员要求高等缺点。近年来,荧光传感器因其灵敏度高、操作简单、成本低、反应迅速等特点而在核酸检测领域受到广泛关注。其中,基于纳米荧光淬灭剂和荧光基团之间的“开”“关”转换是最常用的传感策略^[13]。多种不同类型的纳米材料已被应用为荧光淬灭剂,例如金纳米颗粒^[20]、碳纳米管^[21]和石墨烯^[22]等。但是这些材料往往造价昂贵、合成步骤复杂,使其实际应用受到限制。LDH是一种合成步骤简单、原料易得、制备成本低、比表面积大的二维层状纳米材料^[15-16,23-24],在催化、吸附、农业和电子领域有众多应用^[25-27]。LDH的表层由带正电荷的二价或三价金属氢氧化物构成,层间由水分子和阴离子来平衡电荷,其通式为 $[M_{(1-x)}^{2+}M_x^{3+}(OH)_2]^{x+}A_n^{n-} \cdot mH_2O$,式中 M^{2+} 指二价金属阳离子, M^{3+} 指三价金属阳离子, A^n 指电荷平衡阴离子。近年来,LDH被发现对人体无毒副作用,对核酸上修饰的荧光染料具有快速淬灭能力^[16,28],故能被用作高效、便宜、安全的荧光淬灭材料。目前,已有利用LDH来构建荧光传感器的相关报道^[13,29-30]。然而,为避免LDH干扰荧光信号测定,需要通过离心将常规LDH淬灭剂从溶液中分离出来,此步骤增加了检测工作的繁琐度。若能为LDH淬灭剂引入磁性内核,制备具有磁性的MLDH,将便于快速分离上清液以供检测。

本研究以MLDH为荧光淬灭剂,结合Exo I对ssDNA的选择性降解作用,构建测定目标DNA的新型荧光传感器。在外磁场辅助下,MLDH可与上清液快速分离,从而显著提升检测过程的便捷度。此外,MLDH的合成过程简单,热稳定性和化学稳定性高,在大肠杆菌检测中的应用尚未见报道。然而,MLDH无法分辨单双链DNA。由于Exo I可以从3'到5'方向特异性降解ssDNA,而对dsDNA无活性^[16,29,31]。因此,可将Exo I用于单双链DNA的传感分辨元件。与传统荧光检测法相比,本研究所建传感器更加具有高效、经济、便

捷的特点。

通过实验探索,本研究确定使用30 U Exo I酶切30 min,并采用0.2 mg/mL MLDH吸附3 min,可完成对目标DNA的检测。所建传感器对*E. coli*特征DNA的检测范围为0.05 nmol/L ~ 30 nmol/L,检出限为0.025 nmol/L,对实际样品的回收率为85.4% ~ 118%。上述结果表明,本法具有灵敏、准确、特异性高等优点。同时,本法具有普适性,通过更换探针序列即可实现对其他目标DNA的测定,为核酸快速检测提供了一种新策略。

4 结论

本研究所用Zn/Ni/Al-MLDH新型荧光淬灭剂对FAM标记的核酸序列具有高效淬灭作用,以MLDH为淬灭剂显著简化了检测步骤,缩短了分析时间。本研究利用MLDH的荧光淬灭能力和Exo I对单链DNA的选择性水解能力建立的新型荧光传感器具有特异、快捷、灵敏、高效、经济等特点,可实现对大肠杆菌的快速检测。该传感体系无需繁琐的材料合成与交联步骤,有望突破常见荧光纳米传感器分析步骤繁琐、耗时长、成本高、灵敏度不足等难题,为核酸检测提供了一种新技术、新方法。

5 参考文献

- [1] OH M, CEVALLOS-URENA A, KIM BS. Bacteriophages PECP14, PECP20, and their endolysins as effective biocontrol agents for *Escherichia coli* O157: H7 and other foodborne pathogens[J]. Int J Food Microbiol, 2024, 409: 110460.
- [2] BAI ZZ, XU XB, WANG C, et al. A comprehensive review of detection methods for *Escherichia coli* O157: H7[J]. Trac Trends Anal Chem, 2022, 152: 116646.
- [3] SUN HM, WANG M, LIU YT, et al. Regulation of flagellar motility and biosynthesis in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7[J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2110822.
- [4] 魏婉晴,孔梁宇,胡瑞瑞,等. 大肠杆菌O157: H7实时荧光定量PCR快速检测试剂盒的组建及活菌检测[J]. 现代食品科技,

- 2022,38(1): 94-103.
- [5] 史智扬,刘和平,汪华,等. 寡核苷酸阵列芯片快速鉴定大肠杆菌 O₁₅₇: H₇ 初步研究[J]. 中国热带医学, 2006, 6(12): 2117-2119,2126.
- [6] 徐文文,宋惠月,梁玉林,等. 环介导等温扩增技术检测不同乳制品常见食源性致病菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 546-551.
- [7] 夏岚,张远华,付琦峰. 绿色来源荧光碳点的合成及应用进展[J]. 西南医科大学学报, 2023, 46(5): 450-455,463.
- [8] 张燕军,李洁丽,张凯. 有机小分子过氧化氢荧光探针研究进展及发展方向与应用前景[J]. 西南医科大学学报, 2023, 46(6): 541-546.
- [9] ZHOU ZQ, ZHANG YZ, GUO MZ, *et al.* Ultrasensitive magnetic DNAzyme-copper nanoclusters fluorescent biosensor with triple amplification for the visual detection of *E. coli* O157: H7[J]. Biosens Bioelectron, 2020, 167: 112475.
- [10] HU XT, LI YX, XU YW, *et al.* Green one-step synthesis of carbon quantum dots from orange peel for fluorescent detection of *Escherichia coli* in milk[J]. Food Chem, 2021, 339: 127775.
- [11] ZHONG YF, BAO GM, QIU M, *et al.* Highly selective and sensitive fluorescent biosensor for the detection of serotonin and its metabolite by Eu³⁺-Doped Metal-Organic framework[J]. Chem Eng J, 2022, 442: 136272.
- [12] 王森,沈飞,何学明,等. 生物传感器技术在大肠杆菌内毒素检测中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(13): 48-55.
- [13] WU YY, LIU SH, XIAO YM, *et al.* A versatile fluorescence sensor for DNA detection based on layered double hydroxides and exonuclease III[J]. New J Chem, 2023, 47(28): 13228-13234.
- [14] WU T, LI X, FU Y, *et al.* A highly sensitive and selective fluorescence biosensor for hepatitis C virus DNA detection based on δ -FeOOH and exonuclease III-assisted signal amplification[J]. Talanta, 2020, 209: 120550.
- [15] ZAKARIA SA, AHMADI SH, AMINI MH. Chemiresistive gas sensors based on layered double hydroxides (LDHs) structures: a review[J]. Sens Actuata A Phys, 2022, 346: 113827.
- [16] WANG KY, LIU T, ZHAN RJ, *et al.* Rapid fluorescent determination of DNA based on trimetallic zinc nickel aluminum-layered double hydroxides and carboxytetramethylrhodamine[J]. Anal Lett, 2022, 55(9): 1482-1494.
- [17] 曾鹏,聂江波,邓雪儿,等. 基于层状双金属氢氧化物/碳纳米管复合材料的双酚A电化学传感器的构建及应用[J]. 分析科学学报, 2023, 39(05): 501-508.
- [18] CHEN XT, MI F, ZHANG H, *et al.* Facile synthesis of a novel magnetic core-shell hierarchical composite submicrospheres Fe₃O₄@CuNiAl-LDH under ambient conditions[J]. Mater Lett, 2012, 69: 48-51.
- [19] FANG TH, XIAO H, ZHAO LF, *et al.* Magnetic ternary layered double hydroxides for efficient removal of 1-naphthalene acetic acid from waters: Adsorption behavior and mechanism[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2023, 11(2): 109490-109500.
- [20] MIAO XM, CHENG ZY, MA HY, *et al.* Label-free platform for microRNA detection based on the fluorescence quenching of positively charged gold nanoparticles to silver nanoclusters[J]. Anal Chem, 2018, 90(2): 1098-1103.
- [21] LIU P, JIAO YC, CHAI XZ, *et al.* High-performance electric and optical biosensors based on single-walled carbon nanotubes[J]. J Lumin, 2022, 250: 119084.
- [22] SETLEM SK, MONDAL B, RAMLAL S. A fluorescent aptasensor for the detection of Aflatoxin B1 by graphene oxide mediated quenching and release of fluorescence[J]. J Microbiol Methods, 2022, 193: 106414.
- [23] SOHRABI H, DEZHAKAM E, NOZHOORI E, *et al.* Advances in layered double hydroxide based labels for signal amplification in ultrasensitive electrochemical and optical affinity biosensors of glucose[J]. Chemosphere, 2022, 309(Pt 1): 136633.
- [24] SOHRABI H, DEZHAKAM E, KHATAEE A, *et al.* Recent trends in layered double hydroxides based electrochemical and optical (bio) sensors for screening of emerging pharmaceutical compounds[J]. Environ Res, 2022, 211: 113068.
- [25] SHARMA A, KUMARI S, SHARMA S, *et al.* Layered double hydroxides: an insight into the role of hydrotalcite-type anionic clays in energy and environmental applications with current progress and recent prospects[J]. Mater Today Sustain, 2023, 22: 100399-100422.
- [26] SOHRABI H, KHATAEE A, GHASEMZADEH S, *et al.* Layer double hydroxides (LDHs) - based electrochemical and optical sensing assessments for quantification and identification of heavy metals in water and environment samples: a review of status and prospects[J]. Trends Environ Anal Chem, 2021, 31: e00139.
- [27] BAI L, LIU Y, JIA QQ, *et al.* Quenching modification of NiFe layered double hydroxides as efficient and highly stable electrocatalysts for the oxygen evolution reaction[J]. J Colloid Interface Sci, 2024, 653(Pt A): 108-116.
- [28] REN ML, ZENG WL, LI ZH, *et al.* CoAl-layered double hydroxide nanosheet-based fluorescence assay for fast DNA detection[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2020, 240: 118618.
- [29] ABDOLMOHAMMAD-ZADEH H, ZAMANI-KALAJAHI M. A turn-on/off fluorescent sensor based on nano-structured Mg-Al layered double hydroxide intercalated with salicylic acid for monitoring of ferric ion in human serum samples[J]. Anal Chim Acta, 2019, 1061: 152-160.
- [30] YANG SJ, LIU MY, DENG FJ, *et al.* A novel fluorescent DNA sensor system based on polydopamine modified MgAl-layered double hydroxides[J]. Colloid Interface Sci Commun, 2020, 37: 100294.
- [31] 马鹏飞,齐硕,吕艳,等. 基于二氧化锰纳米片和核酸外切酶I构建荧光适配体传感器检测氯霉素[J]. 食品与机械, 2021, 37(4): 53-57.

(利益冲突:无)

(收稿日期:2023-10-23;修回日期:2024-04-05)