

文章编号: 1000-7032(2018)04-0589-06

核酸适体传感法检测中药材中黄曲霉毒素 B1

曾云龙^{1*}, 程圆昕¹, 易守军², 张 敏¹, 何 盼¹, 赵 敏¹, 唐春然¹

(1. 湖南科技大学化学化工学院 理论有机和功能分子教育部重点实验室, 湖南 湘潭 411201;

2. 湖南科技大学 材料科学与工程学院, 湖南 湘潭 411201)

摘要: 以自组方法, 构建了金纳米粒子/核酸适体/CdTe 量子点复合物荧光传感体系, 金纳米粒子使复合物中量子点荧光猝灭。样品溶液中存在黄曲霉毒素 B1 (AFB1) 时, 复合物中核酸适体选择性地与 AFB1 结合, 并释放出量子点, 使体系的荧光得到恢复, 其荧光强度随加入样品中 AFB1 的量增大而增大。AFB1 浓度在 0.005 ~ 2.00 ng/mL 范围与体系荧光强度恢复呈良好线性关系, 检测限为 1.2 pg/mL。该法用于连翘、山楂和甘草等中药材中痕量 AFB1 测定, 取得了满意结果。

关键词: 核酸适体; 量子点; 测定; 中药材; 黄曲霉毒素 B1

中图分类号: O611.4 文献标识码: A DOI: 10.3788/fjxb20183904.0589

A Novel Aptasensor Assay for Aflatoxin B1 in Traditional Chinese Medicine

ZENG Yun-long^{1*}, CHENG Yuan-xin¹, YI Shou-jun², ZHANG Min¹,
HE Pan¹, ZHAO Min¹, TANG Chun-ran¹

(1. Key Laboratory of Theoretical Organic Chemistry and Functional Molecule, Ministry of Education,

School of Chemistry and Chemical Engineering of Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China;

2. School of Materials Science and Engineering of Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

* Corresponding Author, E-mail: yunlongzeng1955@126.com

Abstract: The nanocomposites of Au nanoparticles/aptamers/quantum dots were constructed by self-assembly. Fluorescence of CdTe quantum dots can be quenched by Au nanoparticles in the nanocomposites. The fluorescence of the system can recover when aflatoxin B1 (AFB1) is added to the assay solution, specific interactions between AFB1 and the aptamer cause release of the quantum dots. A linear fluorescence signal response to AFB1 concentration is obtained over a wide AFB1 concentration range of 0.005 – 2.00 ng/mL with a detection limit of 1.2 pg/mL. The proposed method has been employed in the determination of trace AFB1 in forsythia suspense, hawthorn and radix liquiritiae successfully.

Key words: aptasensor; quantum dots; determination; traditional chinese medicine; aflatoxin B1

1 引 言

中药是中国医药学的瑰宝, 是中医治疗疾病

的物质基础, 对人类的文明和进步做出了伟大贡献。世界卫生组织调查显示: 世界范围内约 70% ~ 80% 的人口在一级疾病治疗中使用过传统药物,

收稿日期: 2017-08-15; 修订日期: 2017-10-17

基金项目: 国家自然科学基金(21475040)资助项目

Supported by National Natural Science Foundation of China(21475040)

其中主要是中草药^[1]。由于西药显示出各种副作用,以及中药对疾病尤其是重大疾病如癌症以及重度烧烫伤等均能显示出高的疗效,欧美等发达国家开始使用植物药,从而引发植物药中药材在国际市场的持续升温。真菌毒素是某些真菌的代谢物,具有强毒性,尤其是黄曲霉毒素。黄曲霉毒素对中药材污染很普遍^[2-5],但中药材中微量黄曲霉毒素一般不表现出急性毒性,然而它们在人体内有较强的蓄积性,具有致癌、致畸、致突变、肝毒性等。黄曲霉毒素 B1 (AFB1) 是目前已知最强的化学致癌物,其潜在危害巨大,严重影响中药的安全性。为了保证药用安全,中药材中 AFB1 为必检项目。欧州药典规定草药中 AFB1 限量为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,韩国药典规定为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,中国药典为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

目前,黄曲霉毒素检测方法主要有色谱法和酶联免疫法等^[6-9]。酶联免疫法灵敏、选择性高,但所用抗原/抗体和酶的价格高,且易失活而失效;薄层色谱扫描法存在不够灵敏、重现性低、操作繁琐以及有机溶剂耗量大的缺点;色谱法及色质联用法技术要求高、所需试剂纯度高、仪器设备昂贵、分析成本高,不易普及。因此,非常有必要发展简单、快速、灵敏、准确的中药材黄曲霉毒素检测方法。核酸适体具有特异性高、稳定、价格低的显著优势。近年来,基于核酸适体的生物传感法^[10-11]广泛用于环境监测、疾病诊断和食品中毒物残留分析,然而,用于检测中药(材)中痕量真菌毒素残留的报道较少。CdTe 量子点优异的光学特性使其广泛应用于化学生物传感^[12-14]。本文拟利用核酸适体对黄曲霉毒素 B1 呈现的高特异性,以 CdTe 量子点为荧光探针,建立几种中药材中黄曲霉毒素 B1 的简单、快速、灵敏的核酸适体传感检测新方法。

2 实 验

2.1 主要试剂与仪器

巯基修饰的 AFB1 核酸适体 (Apt): HS-5'-AAAAAAGTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGCCCTTCGCTAGGCCACACA-3'^[11]由生工生物工程(上海)股份有限公司提供,黄曲霉毒素 B1 (AFB1)、黄曲霉毒素 B2 (AFB2)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON)、伏马毒素 B1 (FB1)、赭曲霉毒素 A (OTA)、玉米赤霉烯酮 (ZEN) (北京华安麦科生

物技术有限公司),氯化镉、硼氢化钠、半胱胺盐酸盐、氯金酸、柠檬酸钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钾、三(2-羧基乙基)膦盐酸盐 (TCEP)、 TeO_2 等均为分析纯(上海阿拉丁生化科技股份有限公司),其他试剂均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

RF-5301PC 荧光分光光度计(日本岛津公司);TG16B 台式高速离心机(湖南凯达科学仪器有限公司);KQ-50DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);78-1 磁力加热搅拌器(金坛市双捷实验仪器厂)。

2.2 实验方法

2.2.1 CdTe 量子点的制备

CdTe 量子点的制备参照文献[15]方法并稍做改进。取 1.92 mmol CdCl_2 和 5.76 mmol 半胱胺盐酸盐置于 250 mL 圆底烧瓶中,在磁力搅拌下用 160 mL 二次蒸馏水溶解,调节 pH = 6.0,得到 Cd 前体溶液;再取 0.96 mmol 二氧化碲于 20 mL 二次水中,并向其中加入 7.68 mmol 的硼氢化钠,磁力搅拌下置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中避光反应 1 h,得紫色透明的 Te 前体溶液;将刚制备的 Te 前体溶液加入到 Cd 前体溶液中并在室温下搅拌反应 2 h,然后迅速转移至 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中回流反应 3 h,得到 192 mL 红色透明的半胱胺(巯基乙胺)修饰的 CdTe 量子点 (CdTe QDs)。CdTe QDs 的浓度为 5 mmol/L(按 Te 量计),避光保存。临用时,先对 CdTe QDs 纯化。以乙醇将 CdTe QDs 沉降,离心分离,弃去离心液;沉淀用 50% 乙醇溶液洗涤,离心分离,弃去离心液,如此处理 3 次后,超声分散到二次水中即得到纯化的巯基乙胺修饰的 CdTe QDs,避光保存,备用。

2.2.2 金纳米粒子的制备

金纳米粒子按文献[16]方法以柠檬酸钠还原氯金酸制备。取 250 mL 0.1 mmol HAuCl_4 溶液置于洁净的烧杯中,在剧烈搅拌下加热至沸腾,然后迅速加入 5 mL 38.8 mmol 柠檬酸钠,溶液颜色由浅黄变为酒红色,继续反应 30 min 后冷却至室温。AuNPs 的浓度按文献[17]方法测定为 2.7 nmol/L。

2.2.3 金纳米粒子表面修饰核酸适体

依据文献[18]方法,以巯基修饰的核酸适体对金纳米粒子进行表面修饰。先将巯基 AFB1 核酸适体用 10 mmol/L TCEP (Apt: TCEP = 1:5) 活

化1 h,然后将活化的 Apt 与 2.6 nmol/L AuNPs 混合,再加入 500 mmol/L pH 3.0 酒石酸-HCl 缓冲溶液,在室温下轻摇孵化 30 min,转至 10 000 r/min 离心 25 min 除去未修饰到金纳米粒子表面的 Apt,再用 pH 为 7.0 的 10 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液(PBS)冲洗,如此 3 次,得到 Apt 修饰的金纳米粒子(AuNPs/Apt),将其分散至水中,4 °C 下储存备用。

2.2.4 AFB1 分析程序

巯基乙胺修饰的 CdTe QDs 2 mmol/mL 与 AuNPs/Apt 在 10 mmol/L PBS(pH 7.2) 溶液中混合反应 10 min,离心除去过量的 CdTe 量子点,得到 AuNPs/Apt/CdTe QDs 复合物。测定体系荧光强度;然后,向 AuNPs/Apt/CdTe QDs 复合物体系中加入不同浓度的 AFB1 (0 ~ 2.0 ng/mL),混匀,测定体系的荧光光谱。并按同样的方法,向 AuNPs/Apt/CdTe QDs 复合物中加入其他真菌毒素(AFB2、FB1、OTA、ZEN 和 DON),进行传感器的选择性实验,AFB1 的浓度为 1.0 ng/mL,其他真菌毒素的浓度均为 10 ng/mL,以 460 nm 为激发波长,测定荧光发射光谱(最大发射波长为 575 nm)。所有的光谱测定都在室温下 10 mmol/L 磷酸二氢钠-磷酸氢二钾(PBS, pH7.2)缓冲溶液中进行。所得数据均为三次测定平均值。

2.2.5 中药材中 AFB1 分析

取中药材样品研碎粉末 5 g(过 3 号筛),准确称定,准确加 70% 甲醇溶液 50 mL,超声处理 30 min,离心 5 min(离心速度 4 000 r/min),准确吸取上清液 10 mL,用水稀释至 20 mL,摇匀,即得供试品溶液。

取供试品溶液适量置于 AuNPs/Apt/CdTe QDs 复合物分散体系中,混匀,再加入 PBS 缓冲溶液,摇匀,孵化 10 min,测定体系的荧光光谱,确定中药材中 AFB1 含量。

用 RF-5301PC 型荧光分光光度计测荧光强度(F)。同时做 AFB1 试剂空白(F_0)。测定时激发波长选用 460 nm,激发和发射狭缝都设置为 5.0 nm。

3 结果与讨论

3.1 方法原理

金纳米粒子具有强烈的荧光猝灭功能^[19]。在本工作中,我们选用 CdTe 量子点作为荧光探

针,金纳米粒子为荧光猝灭剂。先将带负电荷的巯基-AFB1 核酸适体修饰金纳米粒子表面形成 AuNPs/Apt;带正电荷的 CdTe QDs 通过静电作用在 AuNPs/Apt 表面自组装形成 AuNPs/Apt/CdTe QDs 复合物,并使 CdTe QDs 荧光猝灭。向体系中加入 AFB1 时,Apt 选择性地与 AFB1 作用,并释放出 CdTe QDs,体系荧光恢复。图 1 表明,加入的 AFB1 量越大,释放出的 CdTe QDs 就越多,体系荧光强度就越大,依据荧光强度与 AFB1 的关系,可以建立一种基于 CdTe 量子点荧光恢复的核酸适体荧光传感检测 AFB1 的新方法。

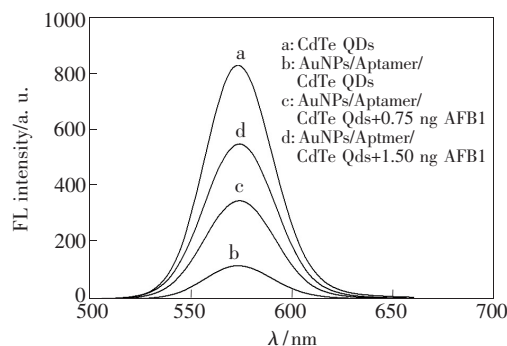


图1 金纳米粒子/核酸适体/CdTe 量子点 + 黄曲霉素 B1 体系的荧光光谱

Fig. 1 Fluorescence spectra of AuNPs/aptamer/CdTeQDs + AFB1

3.2 核酸适体用量的影响

在 Apt: AuNPs 的摩尔浓度比为 50:1 ~ 300:1 范围,制备 AuNP/Apt 复合物,然后向 AuNPs/Apt 复合物体系中加入过量的 CdTe QDs,离心分离除去未自组装的 CdTe QDs,再将 AuNPs/Apt/CdTe QDs 分散至二次水中,测其荧光发射光谱曲线。结果见图 2。从图 2 可知,Apt: AuNPs 在 175:1 ~

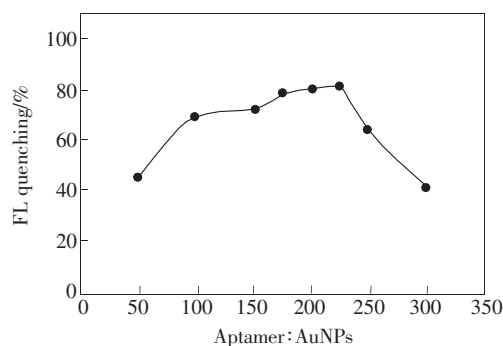


图2 核酸适体与金纳米粒子的量比对体系荧光猝灭的影响

Fig. 2 Influence of aptamer and AuNPs molar ratio on fluorescent quenched

225:1 范围,体系荧光均能有效猝灭,而 225:1 时猝灭程度最大。

考察 Apt 修饰量对 CdTe QDs 的猝灭后,体系中加入 AFB1 的荧光恢复情况。在 Apt: AuNPs 为 175:1、200:1 和 225:1 复合物体系中,CdTe QDs 荧光恢复分别为 75.9%、79.3% 和 81.6%。因此,Apt: AuNPs 为 225:1 有更为有效的荧光猝灭和荧光恢复。所以在后续实验中选择 Apt 的用量为 AuNPs 的 225 倍,依此确定 AuNPs/Apt/CdTe QDs 之比为 1:225:900(量比,CdTe QDs 浓度以 Te 量计算)。

3.3 pH 及盐的浓度的影响

在 pH 4.0 ~ 9.0 范围,研究了 pH 对体系荧光恢复的影响。在 pH 4.0 ~ 7.0 时,体系荧光随 pH 升高而显著增强;pH 7.0 ~ 7.5 范围,体系荧光缓慢增强,且在 pH 7.5 时达到最大值;之后随 pH 值的增大而逐渐降低,当达到 pH 9.0 时体系荧光强度显著下降。故在后续实验中,控制体系 pH 值为 7.2。

体系荧光强度随 pH 值的改变而变化的现象主要是 CdTe QDs 对 H^+ 离子敏感。在酸性条件下,量子点表面氨基接受质子,引起荧光猝灭,随 pH 值的升高,氨基接受的质子明显减少,荧光强度显著提高;在碱性条件下,由于量子点表面的氨基存在,彼此间可以形成氢键,从而引发团聚现象,使荧光猝灭,体系的荧光强度显著降低。

考察了 NaCl 对体系荧光的影响。实验表明,NaCl 浓度在 50 mmol/L 时,对体系荧光无明显影响。

3.4 孵化时间的影响

在室温下,考察了孵化时间对荧光恢复的影响。实验结果显示,孵化时间达到 5 min 时,体系荧光迅速恢复并在 1 h 内荧光强度无明显变化,继续延长孵化时间,体系荧光强度不再变化。故确定孵化时间为 5 min。

孵化实验表明,溶液中 AFB1 迅速与纳米复合物中的 Apt 结合并释放出 CdTe QDs,使体系荧光强度迅速恢复并达到平衡,为样品中 AFB1 的快速检测提供了保证。

3.5 其他真菌毒素物的影响

控制 AFB1 浓度为 1.0 ng/mL,其他真菌毒素的浓度为 10 ng/mL,进行了方法的选择性实验,结果见图 3。从图 3 可知,AFB1 核酸适体对

AFB1 呈现高选择性,其他真菌毒素无明显干扰。

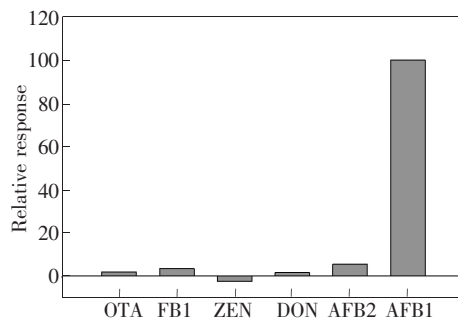


图 3 核酸适体传感分析的选择性,AFB1 为 1.0 ng/mL,其余真菌毒素浓度为 10 ng/mL。

Fig. 3 Selectivity of the aptasensor assay, concentration of AFB1: 1.0 ng/mL, others: 10.0 ng/mL.

3.6 标准曲线和检出限

在 10 mmol/L PBS (pH = 7.2) 纳米复合物 (AuNPs/Apt/CdTe QDs 比为 1:225:900) 分散液中,分别依次加入不同浓度的 AFB1 标准溶液,孵化 5 min,测定体系荧光光谱,结果见图 4。从图 4 可知,随着 AFB1 的浓度增大,体系荧光强度也随之增强,但最大荧光发射波长不变;进一步研究表明,体系的荧光恢复程度 γ ($\gamma = F - F_0$) 与 AFB1 浓度在 0.005 ~ 2.0 ng/mL 范围内呈现出良好的线性关系(图 4),其线性回归方程为 $y = 27.71 +$

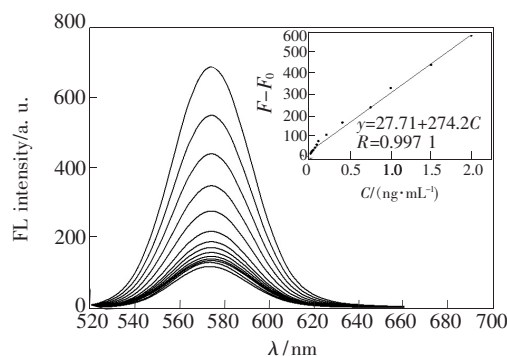


图 4 体系的荧光强度随 AFB1 浓度 (0, 0.005, 0.010, 0.020, 0.040, 0.060, 0.080, 0.10, 0.20, 0.40, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00 ng/mL) 的变化情况。插图: $F - F_0$ 与 AFB1 的浓度在 0.005 ~ 2.0 ng/mL 范围内成良好的线性关系。

Fig. 4 Dependence of FL intensity on the concentration of AFB1 (0, 0.005, 0.010, 0.020, 0.040, 0.060, 0.080, 0.10, 0.20, 0.40, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 ng/mL). Inset shows the linear relationship between $F - F_0$ and AFB1 concentration within the range of 0.005 ~ 2.0 ng/mL.

274.2C(C为AFB1的浓度,单位:ng/mL),相关系数为0.997 1,方法检出限($3\sigma/k$)为1.2 pg/mL。

3.7 分析应用

将所构建的核酸适体传感体系应用于连翘、

表1 3种中药材样品中AFB1的检测

Tab.1 Detection of AFB1 in three kind of Chinese traditional medicines ($n=3$)

中药材 样品	测定量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	加入量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率/ %	相对标准差/ %
连翘1	0.005 5	0.005	105.5	3.5
连翘2	0.001 2	0.001	104.2	3.2
山楂1	0.86	1.0	102.8	2.8
山楂2	0.63	0.5	97.6	4.9
山楂3	2.5	5.0	103.2	2.5
甘草1	13.5	15.0	101.5	1.6
甘草2	5.8	5.0	102.8	2.4
甘草3	11.4	10.0	102.5	2.2
甘草4	2.6	5.0	97.3	3.3

甘草和山楂等中药材中的 AFB1 检测,结果如表1所示。

从表1可知,甘草污染严重,山楂也有一定的污染,连翘仅是轻微污染。另外,回收率和 RSD 的结果表明,该传感体系适用于中药材中残留黄曲霉毒素 B1 的检测。

4 结 论

以黄曲霉毒素 B1 核酸适体、金纳米粒子和 CdTe 量子点制备了 AuNPs/Apt/CdTeQDs 核酸适体复合物;金纳米粒子使复合物中量子点荧光猝灭,而黄曲霉毒素 B1 与复合物中核酸适体高选择性地结合并释放出量子点,使其荧光恢复,据此,建立了一种高选择性、高灵敏测定黄曲霉毒素 B1 的传感分析方法。该方法在实际样品分析中的回收率在 97.3% ~ 105.5%,相对标准差小于 5%,能满足中药材中痕量黄曲霉毒素 B1 的检测要求。

参 考 文 献:

- [1] 韩铮. 中药材中常见真菌毒素分析方法学及代谢动力学研究 [D]. 杭州:浙江大学, 2011.
HANG Z. *Study on The Analytical Methodology and Pharmacokinetics of Mycotoxins in Traditional Chinese Medicines* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011. (in Chinese).
- [2] 张鑫, 王福, 陈鸿平, 等. 中药材真菌及真菌毒素污染研究现状 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(11):2381-2388.
ZHANG X, WANG F, CHEN H P, *et al.*. Research progress on fungi and mycotoxin infection of chinese medicinal materials [J]. *World Sci. Technol.—Modern. Trad. Chin. Med. Mater. Med.*, 2015, 17(11):2381-2388. (in Chinese)
- [3] KATERERE D R, STOCKENSTROM S, THEMBO K M, *et al.*. A preliminary survey of mycological and fumonisin and aflatoxin contamination of African traditional herbal medicines sold in South Africa [J]. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2008, 27(11): 793-798.
- [4] RIZZO I, VEDOYA G, MAURUTTO S, *et al.*. Assessment of toxigenic fungi on Argentinean medicinal herbs. *Microbiol [J]. Research*, 2004, 159 (2):113-120.
- [5] ASHIQ S, HUSSAIN M, AHMAD B. Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants; a review [J]. *Fungal Gene Biol.*, 2014, 66:1-10.
- [6] LIU L, JIN H, SUN L, *et al.*. Determination of aflatoxins in medicinal herbs by high- performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Phytochem. Anal.*, 2012, 23(5): 469-476.
- [7] 李宁侠, 唐招平, 马宁. 超高效液相色谱-质谱法同时检测中药酒剂中多种真菌毒素的污染水平 [J]. 现代中药研究与实践, 2017, 31(2):57-63.
LI N X, TANG Z P, MA N. Simultaneous determinations of multi-residue mycotoxins in Chinese medicine health wines by ultra high performance liquid chromatography-tan-dem mass spectrometry [J]. *Chin. Med. J. Res. Prac.*, 2017, 31(2): 57-63. (in Chinese).
- [8] WEN J, KONG W J, HU Y C, *et al.*. Multi-mycotoxins analysis in ginger and related products by UHPLC-FLR detection and LC-MS/MS confirmation [J]. *Food Control*, 2014, 43(8):82-87.
- [9] PAEK S H, LEE S H, CHO J H, *et al.*. development of rapid one-step immuno-chro- matographic assay [J]. *Methods*,

2000, 22(1):53-60.

- [10] WANG B, CHEN Y F, WU Y Y, *et al.*. Aptamer induced assembly of fluorescent nitrogen-doped carbon dots on gold nanoparticles for sensitive detection of AFB1 [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2016, 78:23-30.
- [11] GUO X D, WEN F, ZHENG N, *et al.*. Development of an ultrasensitive aptasensor for the detection of aflatoxin B₁ [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2014, 56:340-344.
- [12] 孙琳, 张秋艳, 李珍珍, 等. CdTe 量子点功能化玻片的制备及其对 Pb²⁺ 浓度的检测 [J]. *发光学报*, 2015, 36(3):339-347.
- SUN L, ZHANG Q Y, LI Z Z, *et al.*. Preparation of CdTe quantum dots modified wafer and its application in Pb²⁺ detection [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2015, 36(3):339-347. (in Chinese).
- [13] 李满秀, 张强, 赵三虎, 等. 基于 CdTe 量子点荧光猝灭-恢复方法测定依诺沙星的研究 [J]. *发光学报*, 2016, 37(4):467-472.
- LI M X, ZHANG Q, ZHAO S H, *et al.*. Enoxacin detection based on CdTe quantum-dot-based OFF-ON fluorescent probe [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2016, 37(4):467-472. (in Chinese).
- [14] 谢宪, 于梅花, 王益林, 等. 抗坏血酸还原亚碲酸钠水相合成 CdTe 量子点 [J]. *高等学校化学学报*, 2015, 36(4):608-613.
- XIE X, YU M H, WANG Y L, *et al.*. Aqueous synthesis of CdTe quantum dots *via* ascorbic acid reducing sodium tellurite [J]. *Chem. J. Chin. Univ.*, 2015, 36(4):608-613. (in Chinese).
- [15] 秦元斌, 杨曦, 于俊生. 巯基乙胺稳定的水溶性 CdTe 纳米粒子的合成与表征 [J]. *无机化学学报*, 2006, 22(5):851-855.
- QIN Y B, YANG X, YU J S. Synthesis and characterization of CdTe nanoparticles stabilized by cysteamine [J]. *Chin. J. Inorg. Chem.*, 2006, 22(5):851-855. (in Chinese)
- [16] WANG B, ZHU Q K, LIAO D L, *et al.*. Perylene probe induced gold nanoparticle aggregation [J]. *J. Mater. Chem.*, 2011, 21:4821-4826.
- [17] JIN R C, WU G S, LI Z, *et al.*. What controls the melting properties of DNA-linked gold nanoparticle assemblies [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125:1643-1654.
- [18] ZHANG X, SERVOS M R, LIU J W. Instantaneous and quantitative functionalization of gold nanoparticles with thiolated DNA using a pH-assisted and surfactant-free route [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134:7266-7269.
- [19] SAHA K, AGASTI S S, KIM C Y, *et al.*. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing [J]. *Chem. Rev.*, 2012, 112:2739-2779.



曾云龙 (1955 -), 男, 湖南邵东人, 博士, 教授, 2007 年于湖南大学获得博士学位, 主要从事量子点荧光材料的合成及在化学生物传感中的应用的研究。

E-mail: yunlongzeng1955@126.com