



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107290284 B

(45)授权公告日 2019.07.26

(21)申请号 201710431619.1

(22)申请日 2017.06.09

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107290284 A

(43)申请公布日 2017.10.24

(73)专利权人 江南大学  
地址 214122 江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道1800号江南大学食品学院

(72)发明人 徐丽广 胥传来 匡华 刘丽强  
马伟 宋珊珊 吴晓玲 胡拥明

(74)专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所  
(普通合伙) 32104  
代理人 时旭丹 张仕婷

(51)Int.Cl.  
G01N 21/21(2006.01)  
G01N 33/53(2006.01)  
B22F 1/02(2006.01)  
B82Y 5/00(2011.01)  
B82Y 30/00(2011.01)  
B82Y 40/00(2011.01)

(56)对比文件  
CN 102382816 A,2012.03.21,

CN 104259453 A,2015.01.07,  
CN 106290166 A,2017.01.04,  
CN 104985176 A,2015.10.21,  
CN 103487378 A,2014.01.01,  
CN 102426230 A,2012.04.25,  
CN 103776772 A,2014.05.07,  
CN 102879336 A,2013.01.16,  
Lijuan Tang et al.Chirality-based Au@  
Ag Nanorod Dimers Sensor for  
Ultrasensitive PSA Detection.《Appl.  
Mater. Interfaces》.2015,第7卷  
方俊杰等.DNA 损伤传感器制备及其用于饲料中黄曲霉毒素B1的快速检测.《现代食品科技》.2014,第30卷(第8期),  
Wei Ma et al.Chiral Inorganic  
Nanostructures.《Chem. Rev》.2017,第117卷  
Ping-xiao Wu et al.The protective  
effect of layered double hydroxide  
against damage to DNA induced by heavy  
metals.《Applied Clay Science》.2014,第100  
卷

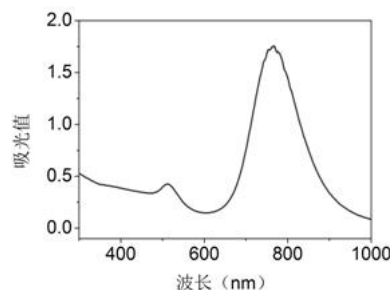
审查员 张煜欣

权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称  
刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA  
损伤检测的方法

(57)摘要  
一种制备刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA损伤检测的方法,属于分析化学技术领域和食品安全技术领域。本发明步骤为:(1)金纳米棒的合成;(2)刺状型铂包覆金纳米棒的合成;(3)刺状型铂包覆金纳米棒表面定向核酸功能化;(4)构建刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体;(5)生物毒素对DNA的预损伤;(6)刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体对DNA损伤的检测。等离子手性光谱学信号可成功应用于生物传感检测领域。利用核酸进行组装形成刺状铂包裹的金纳

米棒二聚体产生可见光/近红外区域的圆二色光谱信号进而用于生物毒素及其代谢物对DNA损伤的检测。



CN 107290284 B

1. 一种制备刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA损伤检测的方法,其特征在于步骤为:刺状型铂包裹金纳米棒的合成;刺状铂包裹的金纳米棒结构表面定向核酸功能化;构建刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体;生物毒素对DNA的预损伤;刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体对DNA损伤的检测,具体工艺为:

(1) 刺状型铂包裹金纳米棒的合成方法

向5mL的金纳米棒溶液中,加入50  $\mu\text{M}$ 的碘化钠,后加入10mL的0.05M的十六烷基三甲基溴化铵后,混匀,随后加入500  $\mu\text{L}$ 的0.2 mM的硝酸银溶液,混匀,再加入500  $\mu\text{L}$ 的0.1M的抗坏血酸溶液,混匀,70 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h后,加入480  $\mu\text{L}$ 的0.1M的盐酸和440  $\mu\text{L}$  2mM的氯铂酸,在70 $^{\circ}\text{C}$ 孵育反应4h后,6500rpm离心10 min,弃上清,采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散,待用;

(2) 刺状型铂包裹金纳米棒表面定向核酸功能化

① 刺状型铂包裹金纳米棒对其进行端面封闭:取上述制备好的10 nM的刺状型铂包裹金纳米棒2 mL,加入30  $\mu\text{L}$ 的1 mM的二硫苏糖醇溶液,混匀,振摇反应4h,采用6000rpm离心5min,弃上清,用2 mL的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物,4 $^{\circ}\text{C}$ 保藏、备用;

② 刺状型铂包裹金纳米棒侧面定向修饰DNA2:取上述处理过的刺状型铂包裹金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物的溶液300  $\mu\text{L}$ 加入3  $\mu\text{L}$ 的10  $\mu\text{M}$ 的巯基修饰的DNA2,混匀,25 $^{\circ}\text{C}$ 、振摇反应8h,6000rpm离心5min,去上清,用300  $\mu\text{L}$ 的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散刺状型铂包裹金纳米棒-二硫苏糖醇-DNA2的复合物,并且采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液清洗一次,4 $^{\circ}\text{C}$ 保藏、备用;

③ 刺状型铂包裹金纳米棒侧面定向修饰DNA3:取上述处理过的刺状型铂包裹金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物的溶液300  $\mu\text{L}$ 加入3  $\mu\text{L}$ 的10  $\mu\text{M}$ 的巯基修饰的DNA3,混匀,25 $^{\circ}\text{C}$ 、振摇反应8h,6000rpm离心5min,去上清,用300  $\mu\text{L}$ 的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液对刺状型铂包裹金纳米棒-二硫苏糖醇-DNA3的复合物进行分散,并且采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液清洗一次,4 $^{\circ}\text{C}$ 保藏、备用;

(3) 核酸功能化的刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体的制备

取50  $\mu\text{L}$ 上述制备的DNA2和DNA3侧面定向修饰的刺状铂包裹的金纳米棒进行混合、漩涡混匀,加入0.5  $\mu\text{L}$ 的10  $\mu\text{M}$  DNA1、漩涡混匀,室温孵育8h后,借助核酸特异性杂交反应,使得DNA2及 DNA3分别修饰的刺状铂包裹的金纳米棒形成侧面组装二聚体;

DNA损伤检测所用的碱基序列:

DNA 1:5' - ACCGGAGGCC CATCCTCACC -3' ,

DNA 2:5' -SH-GGCCTCCGGT-3' ,

DNA 3:5' - GGTGAGGATG-SH -3' ;

(4) 生物毒素对DNA的预损伤

10  $\mu\text{M}$ 的DNA1和10、5、1、0.1、0.01  $\mu\text{mol/L}$ 的黄曲霉毒素B1进行混合,室温反应2.5 h,将预损伤的DNA1放置在4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备用;同时,对于黄曲霉毒素B1的代谢产物黄曲霉毒素M1及黄曲霉毒素M2按照黄曲霉毒素B1的步骤及相同的浓度,和DNA1进行孵育2.5 h,将预损伤后的DNA1放置在4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备用;

(5) 刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体对DNA损伤的检测

采用圆二色光谱学信号对黄曲霉毒素B1及其代谢产物黄曲霉毒素M1及黄曲霉毒素M2进行检测,绘制摩尔椭圆度~黄曲霉毒素B1、M1及 M2的浓度标准曲线:取50  $\mu$ L上述制备的DNA2及DNA3侧面定向修饰的刺状铂包裹的金纳米棒进行混合、漩涡混匀,加入经过步骤4处理过的预损伤的DNA1 0.5 $\mu$ L,漩涡混匀,室温孵育8h后,借助核酸特异性杂交反应,使得DNA2及 DNA3分别修饰的刺状铂包裹的金纳米棒形成侧面组装结构;

由于加入的黄曲霉毒素B1或者其代谢产物M1及 M2的浓度的不同,黄曲霉毒素和相应的DNA1中的鸟嘌呤形成黄曲霉毒素-鸟嘌呤的加合物,进而使得DNA2及 DNA3无法与DNA1进行特异性的核酸识别杂交,导致刺状铂包裹的金纳米棒形成的二聚体的产率不同进而引起等离子圆二色光谱学信号产生差异,利用圆二色光谱仪测定不同黄曲霉毒素浓度下的组装产物的摩尔椭圆度,根据855 nm波长下测定的不同黄曲霉毒素浓度的摩尔椭圆度,绘制黄曲霉毒素浓度的标准曲线。

## 刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA损伤检测的方法

### 技术领域

[0001] 一种制备刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA损伤的检测方法,属于分析化学技术领域及食品安全技术领域。

### 背景技术

[0002] DNA是生命体的重要遗传物质,但是DNA损伤是在生物体内经常发生的事情。外源性的化学或者生物物质及其代谢物,例如生物毒素及其代谢物,经常会对细胞中的DNA造成氧化(碱基氧化、碱基脱落或单、双链断裂)和/或碱基修饰(碱基加合物、碱基甲基化或形成嘧啶二聚体)等在内的结构性损伤。此类损伤的DNA很容易造成基因突变甚至造成机体的癌变。因此,开展DNA损伤检测对与环境监测和食品安全(特别是跨境食品安全)等都密切相关,目前急需发展针对DNA损伤产物的高特异性、高灵敏的新型快速检测技术,实现外源性的化学与生物物质对DNA损伤的程度进行准确和定量分析。

[0003] 圆二色光谱的产生是由于体系中的手性物质对左右圆偏振光的吸收不同。目前,圆二色光谱主要是通过测量生物大分子的光谱学信号,从而对其二级或者三级结构进行解析。近年来,手性纳米组装超结构成为人们关注的研究热点问题,特别是自从我们在2009年成功构建了具有类似有机手性碳的等离子纳米手性四面体结构以来,等离子手性光学活性已经成功吸引了大量科学界和工业界的关注。

[0004] 生物分子的圆二色光谱学信号主要是位于紫外区域,天然的生物分子的圆二色光谱学信号位于可见光区域。而等离子手性圆二色光谱学信号不同于生物分子的圆二色光谱学信号,其不仅仅在传统的生物分子往往处于的紫外区域具有较强的光谱学信号,其还在可见光/近红外区域产生了极强的圆二色光谱学信号,并且更为重要的是,等离子手性信号的灵敏度要远远高于目前检测分析中最灵敏的放射性传感信号。我们通过研究发现,该等离子手性无机纳米组装体在可见光/近红外区域的信号的强度和信号的光谱学位置与纳米级组装基元的元素、尺寸、构型和其相应的产率息息相关,充分说明了等离子手性光谱学信号可成功应用于生物传感检测领域。利用核酸进行组装形成刺状铂包裹的金纳米棒二聚体产生可见光/近红外区域的圆二色光谱学信号进而用于生物毒素及其代谢物对DNA损伤的检测尚属空白。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体的制备方法,构建了利用等离子圆二色光谱学信号检测DNA损伤的新技术。

[0006] 本发明的技术方案,一种制备刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA损伤的检测方法。本发明的主要实施步骤为:(1)金纳米棒的合成;(2)刺状型铂包覆金纳米棒的合成;(3)刺状铂包裹的金纳米棒结构表面定向核酸功能化;(4)构建刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体;(5)生物毒素对DNA的预损伤;(6)刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体对DNA损伤的检测。

[0007] 具体步骤为：

[0008] (1) 金纳米棒的合成

[0009] 按照专利《一种具有表面增强拉曼活性的自组装材料的制备方法》(专利号: ZL 201010605799.9)的方法合成长径比约为3.0的金纳米棒。简单的步骤如下：

[0010] ① 晶种合成: 28.0℃下取0.1 mL的预先配置的2 g/L的三水合四氯金酸加入到1 mL的0.2 M的十六烷基三甲基溴化铵溶液中, 此时, 溶液颜色由无色变成黄褐色。然后向上述混合体系中加入0.12 mL的新配制的0.01 M 硼氢化钠溶液快速搅拌2分钟。溶液颜色即由黄褐色变为浅棕色。将上述合成的晶种放入28.0℃的水浴锅中静置反应30分钟, 使未完全参与晶种合成的硼氢化钠消耗殆尽, (一是硼氢化钠进一步还原体系中未完全反应的金离子而被消耗, 二是在静置反应过程中硼氢化钠由于水解导致其含量进一步降低), 制备的晶种要在合成后4小时内进行下一步反应。

[0011] ② 金纳米棒生长过程: 晶种合成完成以后, 进行金纳米棒的生长。5 mL的2 g/L的三水合四氯金酸加入到5 mL 0.2 M的十六烷基三甲基溴化铵中后加入4 mL的超纯水, 混匀。0.125 mL的0.01 M 硝酸银溶液加入到上述混合体系中, 混匀, 随后将65 μL的0.1 M 抗坏血酸溶液加入上述体系溶液, 28.0℃下剧烈搅拌反应2分钟, 溶液由褐色变成无色。最后, 加入0.05 mL的晶种溶液轻柔搅拌混匀20秒。28.0℃反应2小时后溶液的颜色为土褐色。合成的金纳米棒溶液经过10000转每分钟离心10分钟, 弃上清, 采用0.005 M的十六烷基三甲基溴化铵溶液将沉淀进行重分散, 清洗一次, 最终将金纳米棒溶液分散在与初始等体积的溶液中, 室温静置保存, 以便进行下一步的表征及实验需求。

[0012] (2) 刺状型铂包覆金纳米棒的合成方法

[0013] 向5mL的金纳米棒溶液中, 加入50 μM的碘化钠, 后加入10mL的0.05M的十六烷基三甲基溴化铵后, 混匀, 随后加入500 μL的0.2 mM的硝酸银溶液, 混匀, 再加入500 μL的0.1M的抗坏血酸溶液, 混匀, 70℃孵育1 h后, 加入480 μL的0.1M的盐酸和440 μL 2mM的氯铂酸, 在70℃孵育反应4h后, 6500rpm离心10 min, 弃上清, 采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散, 待用;

[0014] (3) 刺状型铂包覆金纳米棒表面定向核酸功能化

[0015] ① 刺状型铂包覆金纳米棒对其进行端面封闭: 取上述制备好的10 nM的刺状型铂包覆金纳米棒2 mL, 加入30 μL的1 mM的二硫苏糖醇溶液, 混匀, 振摇反应4h, 采用6000rpm离心5min, 弃上清, 用2 mL的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物, 4℃保藏、备用;

[0016] ② 刺状型铂包覆金纳米棒侧面定向修饰DNA2: 取上述处理过的刺状型铂包覆金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物的溶液300 μL加入3 μL的10 μM的巯基修饰的DNA2, 混匀, 25℃、振摇反应8h, 6000rpm离心5min, 去上清, 用300 μL的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散刺状型铂包覆金纳米棒-二硫苏糖醇-DNA2的复合物, 并且采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液清洗一次, 4℃保藏、备用;

[0017] ③ 刺状型铂包覆金纳米棒侧面定向修饰DNA3: 取上述处理过的刺状型铂包覆金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物的溶液300 μL加入3 μL的10 μM的巯基修饰的DNA3, 混匀, 25℃、振摇反应8h, 6000rpm离心5min, 去上清, 用300 μL的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液对刺状型铂包覆金纳米棒-二硫苏糖醇-DNA3的复合物进行分散, 并且采用5 mM的十六烷基三

甲基溴化铵溶液清洗一次,4℃保藏、备用;

[0018] (4)核酸功能化的刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体的制备

[0019] 取50 μL上述制备的DNA2和DNA3侧面定向修饰的铂包裹的刺状金纳米棒进行混合、漩涡混匀,加入0.5 μL的10 μM DNA1、漩涡混匀,室温孵育8h后,借助核酸特异性杂交反应,使得DNA2和DNA3分别修饰的刺状铂包裹的金纳米棒形成侧面组装二聚体;

[0020] 表一 DNA损伤检测所用的碱基序列

[0021]

| 编号    | 序列(5' -3')            | 长度 |
|-------|-----------------------|----|
| DNA 1 | ACCGGAGGCC CATCCTCACC | 20 |
| DNA2  | SH-GGCCTCCGGT         | 10 |
| DNA 3 | GGTGAGGATG-SH         | 10 |

[0022] (5)生物毒素对DNA的预损伤

[0023] 10 μM 的DNA1和10、5、1、0.1、0.01 μmol/L的黄曲霉毒素B1进行混合,室温反应2.5 h,将预损伤的DNA1放置在4℃冰箱,备用;同时,对于黄曲霉毒素B1的代谢产物黄曲霉毒素M1及黄曲霉毒素M2按照黄曲霉毒素B1的步骤及相同的浓度,和DNA1进行孵育2.5 h,将预损伤后的DNA1放置在4℃冰箱,备用;

[0024] (6)刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体对DNA损伤的检测

[0025] 采用圆二色光谱学信号对黄曲霉毒素B1及其代谢产物黄曲霉毒素M1和黄曲霉毒素M2进行检测,绘制摩尔椭圆度~黄曲霉毒素B1、M1及 M2的浓度标准曲线:取50 μL上述制备的DNA2和DNA3侧面定向修饰的铂包裹的刺状金纳米棒进行混合、漩涡混匀,加入经过步骤5处理过的预损伤的DNA1(0.5 μL),漩涡混匀,室温孵育8h后,借助核酸特异性杂交反应,使得DNA2及DNA3分别修饰的铂包裹的刺状金纳米棒形成侧面组装结构;

[0026] 由于加入的黄曲霉毒素B1或者其代谢产物M1及M2的浓度的不同,黄曲霉毒素和相应的DNA1中的鸟嘌呤形成黄曲霉毒素-鸟嘌呤的加合物,进而使得DNA2及DNA3无法与DNA1进行特异性的核酸识别杂交,导致刺状铂包裹的金纳米棒形成的二聚体的产率不同进而引起等离子圆二色光谱学信号产生差异,利用圆二色光谱仪测定不同黄曲霉毒素浓度下的组装产物的摩尔椭圆度,根据855 nm波长下测定的不同黄曲霉毒素浓度的摩尔椭圆度,绘制黄曲霉毒素浓度的标准曲线。

[0027] 本发明的有益效果:我们通过研究发现,该等离子手性无机纳米组装体在可见光/近红外区域的信号的强度和信号的光谱学位置与纳米级组装基元的元素、尺寸、构型和其相应的产率息息相关,充分说明了等离子手性光谱学信号可成功应用于生物传感检测领域。利用核酸进行组装形成刺状铂包裹的金纳米棒二聚体产生可见光/近红外区域的圆二色光谱信号进而用于生物毒素及其代谢物对DNA损伤的检测尚属空白。

## 附图说明

[0028] 图1合成的金纳米棒的电镜照片。

[0029] 图2 合成的金纳米棒的紫外/可见光谱图。

[0030] 图3 刺状铂包裹的金纳米棒二聚体的电镜照片。

[0031] 图4 刺状铂包裹的金纳米棒二聚体的圆二色光谱图。

[0032] 图5 黄曲霉毒素B1的等离子圆二色光谱检测方法的标准曲线。

### 具体实施方式

[0033] 实施例1制备刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA的损伤检测

[0034] (1) 金纳米棒的合成

[0035] 按照专利《一种具有表面增强拉曼活性的自组装材料的制备方法》(专利号: ZL 201010605799.9)的方法合成长径比约为3.0的金纳米棒。简单的步骤如下:

[0036] ① 晶种合成: 28.0℃下取0.1 mL的预先配置的2 g/L的三水合四氯金酸加入到1 mL的0.2 M的十六烷基三甲基溴化铵溶液中,此时,溶液颜色由无色变成黄褐色。然后向上述混合体系中加入0.12 mL的新配制的0.01 M硼氢化钠溶液快速搅拌2min。溶液颜色即由黄褐色变为浅棕色。将上述合成的晶种放入28.0℃的水浴锅中静置反应30min,使未完全参与晶种合成的硼氢化钠消耗殆尽,(一是硼氢化钠进一步还原体系中未完全反应的金离子而被消耗,二是在静置反应过程中硼氢化钠由于水解导致其含量进一步降低),制备的晶种要在合成后4h内进行下一步反应。

[0037] ② 金纳米棒生长过程:晶种合成完成以后,进行金纳米棒的生长。5 mL的2 g/L的三水合四氯金酸加入到5 mL 0.2 M的十六烷基三甲基溴化铵中后加入4 mL的超纯水,混匀。0.125 mL的0.01 M硝酸银溶液加入到上述混合体系中,混匀,随后将65 μL的0.1 M抗坏血酸溶液加入上述体系溶液,28.0℃下剧烈搅拌反应2min,溶液由褐色变成无色。最后,加入0.05 mL的晶种溶液轻柔搅拌混匀20s。28.0℃反应2h后溶液的颜色为土褐色。合成的金纳米棒溶液经过10000rpm离心10min,弃上清,采用0.005 M的十六烷基三甲基溴化铵溶液将沉淀进行重分散,清洗一次,最终将金纳米棒溶液分散在与初始等体积的溶液中,室温静置保存,以便进行下一步的表征及实验需求。

[0038] (2) 刺状型铂包覆金纳米棒的合成方法

[0039] 向5mL的金纳米棒溶液中,加入50 μM的碘化钠,后加入10mL的0.05M的十六烷基三甲基溴化铵后,混匀,随后加入500 μL的0.2 mM的硝酸银溶液,混匀,再加入500 μL的0.1M的抗坏血酸溶液,混匀,70℃孵育1 h后,加入480 μL的0.1M的盐酸和440 μL 2mM的氯铂酸,在70℃孵育反应4h后,6500rpm离心10 min,弃上清,采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散,待用。

[0040] (3) 刺状型铂包覆金纳米棒表面定向核酸功能化

[0041] ① 刺状型铂包覆金纳米棒对其进行端面封闭:取上述制备好的10 nM的刺状型铂包覆金纳米棒2 mL,加入30 μL的1 mM的二硫苏糖醇溶液,混匀,振摇反应4小时,采用6000rpm离心5min,弃上清,用2 mL的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物,4℃保藏、备用。

[0042] ② 刺状型铂包覆金纳米棒侧面定向修饰DNA2:取上述处理过的刺状型铂包覆金纳米棒-二硫苏糖醇的复合物的溶液300 μL加入3 μL的10 μM的巯基修饰的DNA2,混匀,25℃、振摇反应8h,6000rpm离心5min,去上清,用300 μL的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液分散刺状型铂包覆金纳米棒-二硫苏糖醇-DNA2的复合物,并且采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液清洗一次,4℃保藏、备用。

[0043] ③ 刺状型铂包覆金纳米棒侧面定向修饰DNA3:取上述处理过的刺状型铂包覆金纳

米棒和二硫苏糖醇的复合物的溶液300  $\mu\text{L}$ 加入3  $\mu\text{L}$ 的10  $\mu\text{M}$ 的巯基修饰的DNA3,混匀,25  $^{\circ}\text{C}$ 。振摇反应8h,6000rpm离心5min,去上清,用300  $\mu\text{L}$ 的5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液对刺状型铂包覆金纳米棒-二硫苏糖醇-DNA3的复合物进行分散,并且采用5 mM的十六烷基三甲基溴化铵溶液清洗一次,4 $^{\circ}\text{C}$ 保藏、备用。

[0044] (4)核酸功能化的刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体的制备

[0045] 取50  $\mu\text{L}$ 上述制备的DNA2和DNA3侧面定向修饰的铂包裹的刺状金纳米棒进行混合、漩涡混匀,加入0.5  $\mu\text{L}$ 的10  $\mu\text{M}$  DNA1、漩涡混匀,室温孵育8h后,借助核酸特异性杂交反应,使得DNA2和DNA3分别修饰的刺状铂包裹的金纳米棒形成侧面组装二聚体。

[0046] 表一 DNA损伤检测所用的碱基序列

[0047]

| 编号   | 序列(5' -3')            | 长度 |
|------|-----------------------|----|
| DNA1 | ACCGGAGGCC CATCCTCACC | 20 |
| DNA2 | SH-GGCCTCCGGT         | 10 |
| DNA3 | GGTGAGGATG-SH         | 10 |

[0048] (5)生物毒素对DNA的预损伤

[0049] 10  $\mu\text{M}$  的DNA1和10、5、1、0.1、0.01  $\mu\text{mol/L}$ 的黄曲霉毒素B1进行混合,室温反应2.5 h,将预损伤的DNA放置在4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备用。同时,对于黄曲霉毒素B1的代谢产物黄曲霉毒素M1及黄曲霉毒素M2按照黄曲霉毒素B1的步骤及相同的浓度,和DNA1进行孵育2.5 h,将预损伤后的DNA放置在4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备用。

[0050] (6)铂包裹的刺状金纳米棒手性二聚体对DNA损伤的检测;

[0051] 采用圆二色光谱学信号对黄曲霉毒素B1及其代谢产物黄曲霉毒素M1及黄曲霉毒素M2进行检测,绘制摩尔椭圆度~黄曲霉毒素B1、M1及M2的浓度标准曲线:取50  $\mu\text{L}$ 上述制备的DNA2及DNA3侧面定向修饰的铂包裹的刺状金纳米棒进行混合、漩涡混匀,加入经过步骤5处理过的预损伤的DNA1(0.5  $\mu\text{L}$ )、漩涡混匀,室温孵育8h后,借助核酸特异性杂交反应,使得DNA2及DNA3分别修饰的铂包裹的刺状金纳米棒形成侧面组装结构。

[0052] 由于加入的黄曲霉毒素B1或者其代谢产物M1及M2的浓度的不同,黄曲霉毒素和相应的DNA1中的鸟嘌呤形成黄曲霉毒素-鸟嘌呤的加合物,进而使得DNA2及DNA3无法与DNA1进行特异性的核酸识别杂交,导致铂包裹的刺状金纳米棒形成的二聚体的产率不同进而引起等离子圆二色光谱学信号产生差异。利用圆二色光谱仪测定不同黄曲霉毒素浓度下的组装产物的摩尔椭圆度,根据855 nm波长下测定的不同黄曲霉毒素浓度的摩尔椭圆度,绘制黄曲霉毒素浓度的标准曲线。

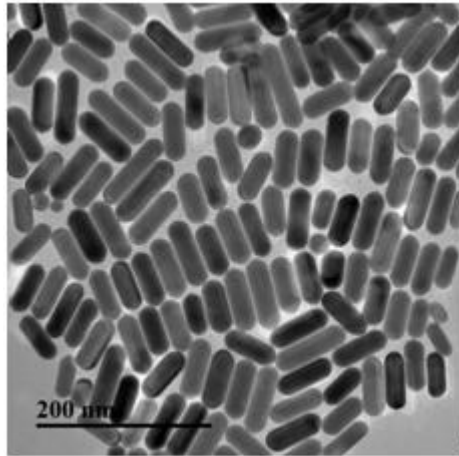


图1

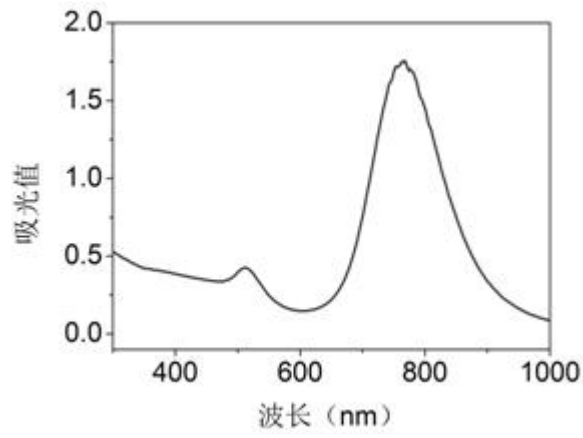


图2

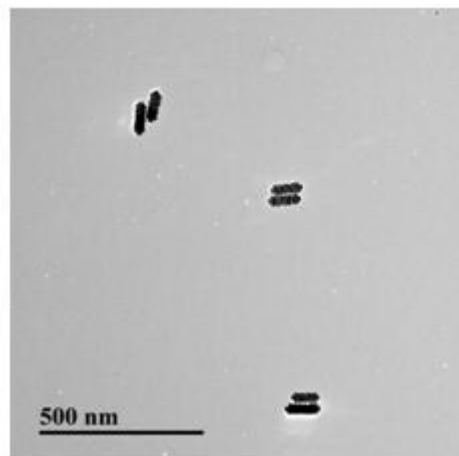


图3

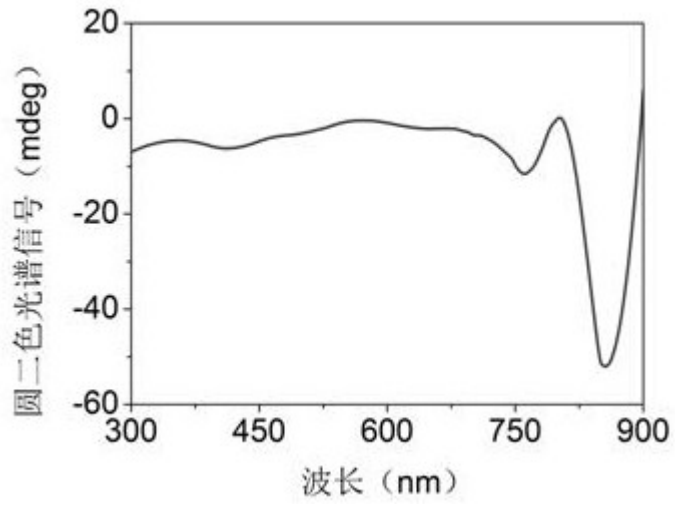


图4

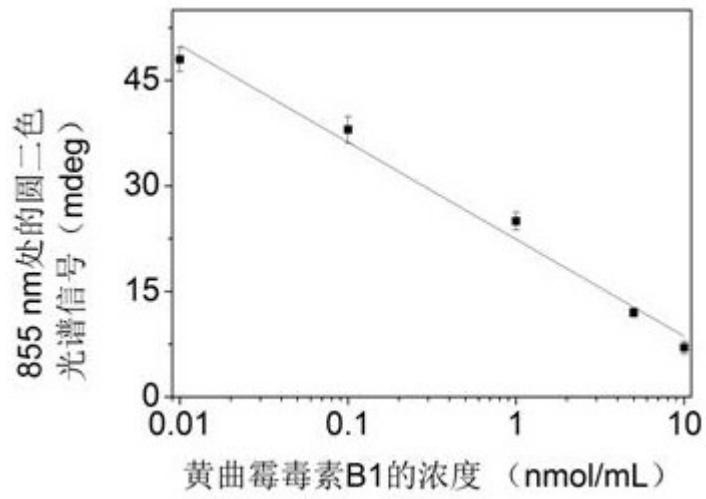


图5

|                |   |         |            |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA损伤检测的方法   |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN107290284B</a>  | 公开(公告)日 | 2019-07-26 |
| 申请号            | CN2017110431619.1   | 申请日     | 2017-06-09 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 江南大学  |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 江南大学  |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 江南大学  |         |            |
| [标]发明人         | 徐丽广<br>胥传来<br>匡华<br>刘丽强<br>马伟<br>宋珊珊<br>吴晓玲<br>胡拥明                        |         |            |
| 发明人            | 徐丽广<br>胥传来<br>匡华<br>刘丽强<br>马伟<br>宋珊珊<br>吴晓玲<br>胡拥明                        |         |            |
| IPC分类号         | G01N21/21 G01N33/53 B22F1/02 B82Y5/00 B82Y30/00 B82Y40/00                 |         |            |
| CPC分类号         | B22F1/025 B82Y5/00 B82Y30/00 B82Y40/00 G01N21/21 G01N33/5308 G01N2021/216 |         |            |
| 审查员(译)         | 张煜欣   |         |            |
| 其他公开文献         | CN107290284A  |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>                            |         |            |

摘要(译)

一种制备刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体用于DNA损伤检测的方法，属于分析化学技术领域和食品安全技术领域。本发明步骤为：(1)金纳米棒的合成；(2)刺状型铂包覆金纳米棒的合成；(3)刺状型铂包覆金纳米棒表面定向核酸功能化；(4)构建刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体；(5)生物毒素对DNA的预损伤；(6)刺状铂包裹的金纳米棒手性二聚体对DNA损伤的检测。等离子手性光谱学信号可成功应用于生物传感检测领域。利用核酸进行组装形成刺状铂包裹的金纳米棒二聚体产生可见光/近红外区域的圆二色光谱信号进而用于生物毒素及其代谢物对DNA损伤的检测。

