研究论文

磁分离结合 CdTe 发光量子点标记黄曲霉毒素 B1 免疫检测新方法

李 响[1]， 李向丽[2]， 谭贵良[3]， 吴世嘉[1]， 王周平[*1]

（1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；2. 中山火炬职业技术学院，广东 中山 528436；3. 中山市质量计量监督检测所，广东 中山 523290）

摘要：将发光量子点标记技术与磁分离富集技术相结合，基于竞争免疫分析，成功构建了黄曲霉毒素 B1（AFB1）免疫检测新方法。首先合成了巯基丙酸包覆的 CdTe 发光量子点，同时采用水热法合成了氨基化磁性纳米粒子，通过 TEM 成像、荧光光谱、XRD、红外光谱等分别对其进行了表征。随后以 AFB_1 人工抗原功能化磁性纳米粒子作为捕获探针，以发光量子点标记免疫球蛋白 G（二抗）作为信号探针，基于磁性纳米粒子表面 AFB_1 人工抗原和样品中 AFB_1 与 AFB_1 单克隆抗体之间的竞争免疫结合，建立了 AFB_1 新型检测方法。实验优化条件下，荧光强度与黄曲霉毒素 B_1 质量浓度在 0.1~100 ng/mL 范围内呈良好的线性关系，检测限为 0.03 ng/mL。实际样品中加标回收实验结果表明，新方法准确性良好。

关键词：发光量子点；磁分离；竞争免疫分析；黄曲霉毒素 B_1

中图分类号：TS 201.6　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2013)03—0258—07

A New Immunoassay Method for Aflatoxin B_1 Using CdTe Luminescent Quantum Dots as Labels

LI Xiang[1]， *LI Xiang-li*[2]， *TAN Gui-liang*[3]， *WU Shi-jia*[1]， *WANG Zhou-ping*[*1]

（1. Food College，JiangnanUniversity，Wuxi 214122，China；2. Department of Biomedicine，Zhongshan Torch Technology College，Zhongshan 528436，China；3. Zhongshan Supervision Testing Institute of Quality & Metrology，Zhongshan 528403，China）

Abstract：Combining Quantum dot fluorescence labeled technique，magnetic separation technology and competitive immunoassay technology，a new immune detection method of aflatoxin B_1（AFB_1）was constructed. Primarily，the cadmium telluride quantum dots（CdTe QDs）were prepared in aqueous phase，magnetic nanoparticles were prepared by using hydrothermal synthesis，and characterized by TEM，fluorescence spectra，XRD and Infrared spectroscopy. Then taking AFB_1 artificial antigen functionalized magnetic nanoparticles as capture probes，Luminescent quantum dot

收稿日期：2012-04-12

基金项目：国家“十二五”科技支撑计划项目（2012BAK08B01）；江苏省科技支撑计划项目（BE2011621）；广东省科技计划项目（2011B031500025）；教育部“新世纪优秀人才支持计划”（NCET-11-0663）；博士点基金项目（20110093110002）。

*通信作者：王周平（1974—），男，陕西宝鸡人，理学博士，教授，博士研究生导师，主要从事食品营养与安全检测研究。

E-mail：wangzp@jiangnan.edu.cn

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

labeled antibody as signal probes, based on the competitive immune principle, established a novel detection method for AFB_1. Under the optimum conditions, the fluorescence intensity was linear in the range of 0.1 ng/mL~100 ng/mL of standardized AFB_1 with the detection limit of 0.03 ng/mL. This method has been proven to be higher accuracy.

Keywords: quantum dots, magnetic separation, competitive immunoassay, aflatoxin B_1

黄曲霉广泛存在于土壤、灰尘、植物及其果实上,食品原材料特别容易受黄曲霉毒素污染。各类黄曲霉毒素中,以黄曲霉毒素 B_1 的毒性最大,且有致癌性,许多国家规定了黄曲霉毒素在食品中的极限值,因此对黄曲霉毒素的检测也成为食品安全领域的研究重点之一。传统的黄曲霉毒素检测方法,如薄层层析法、高效液相色谱法、微柱法、酶联免疫吸附法等各有其优缺点,因此有必要发展更简便灵敏的新型检测方法。利用半导体纳米晶体进行荧光生物标记是近年来的研究热点之一[1]。半导体量子点通常是由两种或两种以上的Ⅰ~Ⅶ、Ⅱ~Ⅵ或Ⅲ~Ⅴ族元素组成,而目前较成熟的量子点是由Ⅱ~Ⅵ或Ⅲ~Ⅴ族元素组成,如 CdSe、CdS、ZnS[2-3]等,它们简便易得,分析稳定性高[4]。量子点在生物、医药、食品等方面的应用主要是对细胞标记[5-6]以及基于 DNA 的标记检测,其突出特点是灵敏度高[7]。

本研究中采用水相合成法制备巯基丙酸包裹的 CdTe 量子点,将量子点标记在免疫抗体上,基于竞争免疫反应并结合磁性纳米材料的磁分离富集作用,有效地提高了检测灵敏度,开发了一种黄曲霉毒素 B_1 的新型高灵敏检测方法。实验将 AFB_1 人工抗原(AFB1-BSA)与氨基化 Fe_3O_4 磁性纳米粒子结合,制备 AFB_1 人工抗原功能化 Fe_3O_4 磁性纳米粒子作为捕获探针(AFB_1-BSA-Fe_3O_4 NPs)。同时将 CdTe 量子点与羊抗兔-IgG(二抗)结合,构建荧光信号探针(IgG-CdTe QDs)。竞争免疫反应中,标准黄曲霉毒素 B_1 或样品中的黄曲霉毒素 B_1 与 AFB_1-BSA-Fe_3O_4 NPs 竞争性结合 AFB_1 单克隆抗体(一抗);随后施加外源磁场分离富集形成的一抗与捕获探针的免疫复合物,再加入荧光信号探针,通过一抗与二抗的免疫亲和,形成捕获探针-一抗-显示探针的免疫复合物,磁分离富集纯化后测定荧光强度,以此来定量目标物质 AFB_1 含量。新方法将发光量子点标记技术、荧光分析技术、磁分离富集技术与竞争免疫分析技术有机结合,具有特异性强、灵敏度高、分析时间短、操作简便等特点。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

巯基丙酸、对乙基-N,N-二甲基丙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、黄曲霉毒素 B_1 单克隆抗体、羧甲基羟胺半盐酸盐,购于 Sigma Aldrich 公司;黄曲霉毒素 B_1,购于北京泰勒奇科技有限公司;碲粉,购于 Alfa Aesar 公司;羊抗兔 IgG、SP132582 透析袋,购于上海生工生物工程技术服务有限公司;SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒,购于碧云天生物技术研究所;薄层层析硅胶板,购于上海上邦实业有限公司;氯仿、甲醇、N,N-二甲基甲酰胺、吡啶、四氢呋喃、水合氯化镉、硼氢化钠、质量分数 25%的戊二醛,以及无水乙醇、丙酮、氯化钠、氯化钾、十二水合磷酸氢二钠、磷酸二氢钾等,购自国药集团上海化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器

UV2300 型双光束紫外可见分光光度计,上海天美科学仪器有限公司制;F-7000 型荧光分光光度计,日本岛津制;Zenyth3100 型荧光/化学发光分析仪,奥地利 Anthos 制;5430R 台式高速冷冻离心机,德国 Ceppendorf 制;Biorad 电泳仪,美国 Bio-Rad 伯乐公司制;Biorad 凝胶成像仪,美国 Bio-Rad 伯乐公司制;DF-101s 集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限责任公司制;HYG-Ⅱa 回转式恒温调速摇瓶柜,上海欣蕊自动化设备有限公司制;DF-101S 型集热式磁力加速搅拌器,江苏省金坛市通济仪器厂制;KJ-300 型超声波清洗器,无锡科杰电子仪器公司制;荧光倒置显微镜,日本 Olympus 制;JEM2100 型透射电镜,日本 JEOL 公司制;傅里叶红外光谱仪,美国 Bio-Rad 公司制;Waters Platform ZMD 4000 ESI 质谱仪,美国 Waters 公司制;另有 Dmax-IIIB X-射线衍射仪等。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 试验步骤

2.1 材料准备

2.1.1 *CdTe 量子点的合成与表征* 借鉴 Zhang,李太山等的方法[8-9]并加以改进,制备 CdTe 发光量子点,具体步骤如下。

1)碲氢化钠的合成:在 50 mL 的圆底烧瓶中一次加入 0.031 9 g 碲粉(0.025 mmol)、0.038 0 g 硼氢化钠(1 mmol)、5 mL 超纯水,通入氮气,磁力搅拌至变成淡紫色溶液待用。

2)巯基丙酸-镉配合物的制备:在 250 mL 的三口烧瓶中一次加入 200 mL 超纯水,0.114 2 g 水合氯化镉(0.5 mmol)、0.109 2 g 巯基丙酸(1.2 mmol),充分溶解后,用 1 mol/L NaOH 调节溶液的 pH 值至 11.2,之后通氮气约 30 min。

3)碲化镉量子点的制备:将已经制备的碲氢化钠溶液加入至巯基丙酸-镉配合物溶液中,通氮气,120 ℃恒温搅拌回流计时,取 12 h 后的样品,利用透射电镜表征其形貌,通过荧光分光光度计、紫外可见分光光度计对 CdTe 发光量子点光谱性质进行表征。

2.1.2 *CdTe 量子点与羊抗兔 IgG 的结合* 借鉴 Clapp,So 等的方法[10-13]并加以改进,制备 CdTe 量子点与羊抗兔 IgG 复合物,具体方法为:取 200 μL CdTe 量子点加入 2 mg/mL 的 EDC 50 μL,室温下混合 5 min,37 ℃振荡反应 15~20 min,再加入 2 mg/mL 的 NHS 25 μL,室温下振荡反应 15 min,再加入 2 mg/mL 的羊抗兔 IgG 200 μL,37 ℃振荡反应 2 h,6 000 r/min 离心 15 min,弃去上清液。用 PBS 清洗一次,同样条件再次离心去上清液,重悬于 100 μL 超纯水中,以除去未反应的羊抗兔 IgG,4 ℃保存。

2.1.3 *氨基化磁性纳米粒子的制备* 实验中采用了水热溶剂法[14-15]制备氨基化 Fe_3O_4 磁性纳米粒子,以六合水氯化高铁为铁源,1,6-己二胺作为氨基功能化试剂,无水醋酸钠为碱,乙二醇为溶剂和还原剂,通过 198 ℃反应成功制备了氨基化磁性纳米粒子,并利用 TEM 和 Dmax-IIIB X-射线衍射仪(XRD)对其形貌和组成进行了表征。

2.1.4 *磁性纳米粒子与人工抗原 AFB1-BSA 的结合与表征* 10 mg 的 MNPs(Fe_3O_4 磁性纳米颗粒)分散在 5 mL 的 0.01 mol/L 的 PBS 溶液中超声 20 min,加入 1.25 mL 质量分数 25%的戊二醛和 100 mg 的硼氢化钠,在室温下振荡 1 h,通过外部磁场将 Fe_3O_4 富集,用 PBS 缓冲液冲洗除去未完全吸附的戊二醛,溶于 5 mL PBS。取 2 mg/mL 磁性纳米粒子 150 μL,加入 50 μL 1.4 mg/mL 的 AFB1-BSA,在室温下振荡 6 h,通过磁力收集产物,并用 PBS 清洗 3 次。用 2 mg/mL 的 BSA 溶液 200 μL 重悬产物,室温下保存 6 h,封闭没有结合人工抗原的结合位点。磁力收集产物,产物重悬于 200 μL 超纯水中并保存于 4 ℃待用,用荧光倒置显微镜和 UV2300 紫外可见分光光度计对其进行表征。

2.2 实验条件优化

2.2.1 *磁性纳米粒子与人工抗原(AFB1-BSA)结合的浓度优化* 磁性纳米粒子 Fe_3O_4 溶液浓度较大时颜色黑,容易遮蔽荧光强度从而影响测量。将人工抗原分别与质量浓度为 1、2、5、10 mg/mL 的磁性纳米粒子结合。取 200 μL 结合浓度不同的 MNPs-AFB_1-BSA,加入 200 μL 稀释 200 倍的 AFB_1 单克隆抗体,37 ℃下反应 2 h,清洗后在体系中加入作者制备的二抗量子点复合物原液 200 μL,37 ℃下反应 2 h,清洗后重悬于 100 μL 超纯水中,测定荧光强度并作图。

2.2.2 *羊抗兔 IgG 与量子点结合浓度的优化* 在本实验中发现碲化镉量子点纳米粒子表面所连接的羊抗兔-IgG 的浓度对测定时的荧光强度影响较大。为了研究此影响因素,将荧光纳米粒子与不同浓度的羊抗兔-IgG 结合,选取质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、5.0 mg/mL 的羊抗兔-IgG 溶液 200 μL,分别加入至 1.5 mL 的离心管中,用 2.1.2 节所述方法将量子点与羊抗兔 IgG 结合,并加入后续的反应步骤中,测定最终荧光强度并作图。

2.2.3 *AFB_1 单克隆抗体的结合浓度优化* 本实验中所建立的免疫竞争反应模式是通过结合磁性纳米材料上的人工抗原和标准黄曲霉毒素 B_1 竞争结合 AFB_1 单克隆抗体而实现的,因此适宜的 AFB_1 单克隆抗体溶液浓度是本实验检测的关键。因此对 AFB_1 单克隆抗体的包被液浓度进行了优化。分别取相对于 AFB_1 单克隆抗体原液稀释了 200、500、1 000、2 000、5 000、10 000 倍的溶液 200 μL,加入到 200 μL Fe_3O_4 磁性纳米粒子与人工抗原复合物体系中,37 ℃反应 2 h,加入作者制备的二抗量子点复合物原液,37 ℃下反应 2 h,清洗重悬于 100 μL 超纯水中测定荧光强度并作图。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2.3 *QDs-羊抗兔 IgG 复合物浓度的优化* 加入 AFB1 人工抗原功能化磁性纳米粒子溶液 200 μL 至 1.5 mL 的离心管中,共 8 管,后加入 200 μL 稀释 1 000 倍的 AFB_1 单克隆抗体,37 ℃摇床 2 h,外加磁力富集,弃去上清液,并用 0.01 mol/L 的 PBS 溶液清洗 3 次,得到沉淀物,取不同稀释倍数的二抗复合物溶液各 200 μL,稀释倍数分别为原液、2 倍、5 倍、10 倍、50 倍、100 倍,分别加入上述离心管摇床内 37 ℃反应 2 h。使用外加磁力富集,弃去上清液,沉淀物重悬于 100 μL 超纯水中,测定重悬液的荧光强度并作图。

2.3 黄曲霉毒素 B_1 的检测

2.3.1 *免疫反应* 取磁性纳米粒子与 AFB1 人工抗原复合物(MNPs-AFB_1-BSA)溶液 200 μL 置于 1.5 mL 的离心管中,加入标准黄曲霉毒素 B_1 100 μL(空白组中加入 100 μL 超纯水),再加入 200 μL 稀释 1 000 倍的AFB_1 单克隆抗体,用 0.01 mol/L 的 PBS 溶液定容至 1.0 mL,37 ℃恒温 2 h,外加磁力使磁性纳米粒子富集,弃去上清液,并用 PBS 缓冲液冲洗 3 次,磁富集得到沉淀物,用质量分数 2%的 BSA 溶液孵育以封闭人工抗原剩余结合位点。加入作者中制备的 CdTe 发光量子点与羊抗兔 IgG 的结合物,稀释 2 倍后置 200 μL 的离心管中,用 0.01 mol/L 的 PBS 溶液定容至 1.0 mL,超声处理 10 min 增大磁性纳米粒子分散度,3 7℃恒温静置 2 h。利用外加磁力使纳米粒子富集,弃去上清液,沉淀物用 100 μL 超纯水重悬,测定重悬液的荧光强度。

2.3.2 *标准曲线* 对标准黄曲霉毒素 B_1 进行梯度稀释,根据 2.3.1 的实验步骤,测定最终的荧光强度,作出标准曲线,得出黄曲霉毒素 B_1 与所测荧光强度的线性关系以及最低检测限。

2.3.3 *检测方法的应用* 取市售玉米粉,加入不同浓度的黄曲霉毒素 B_1,用甲醇水法提取玉米粉中的黄曲霉毒素 B_1,采用本文方法测定荧光强度。将检测到的荧光强度代入建立好的线性方程,计算黄曲霉毒素 B_1 含量,和之前加入的量进行比较,计算回收率以评价该方法的准确性。

3 结果与讨论

3.1 CdTe 量子点的制备与表征

按照实验方法制备了 CdTe 发光量子点,并采用 TEM 和荧光光谱对其进行表征。由图 1 可知,CdTe 量子点的粒径为 5 nm 左右,呈球形,分散性良好。图 2 为反应 12 h 的 CdTe 量子点荧光光谱,在 360 nm 的激发光下,CdTe 量子点的最大发射波长为 560 nm。

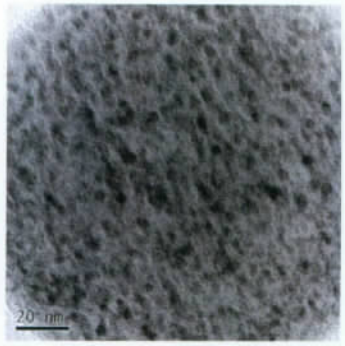


图 1 CdTe 量子点的透射电镜图

Fig. 1 TEM image of CdTe QDs

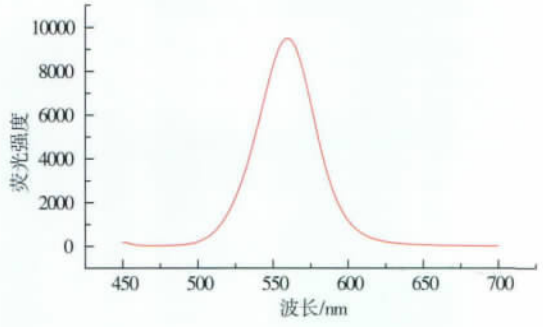


图 2 CdTe 量子点的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectrum of CdTe QDs

3.2 氨基化磁性纳米颗粒的表征

由 TEM(图 3)可知,实验所制备的氨基化磁性纳米颗粒粒径在 35~55 nm,由 X-衍射(图 4)可知,制备出来的是尖晶石型 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒,峰形符合 JCPDS 卡 82-1533,其窄而强的衍射峰充分说明了磁性纳米颗粒具有良好的结晶性[16]。

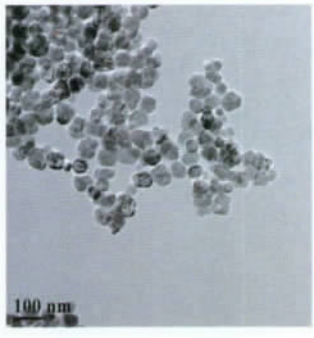


图 3 Fe_3O_4 纳米颗粒的 TEM 图

Fig. 3 TEM image of the prepared Fe_3O_4 nanoparticles

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

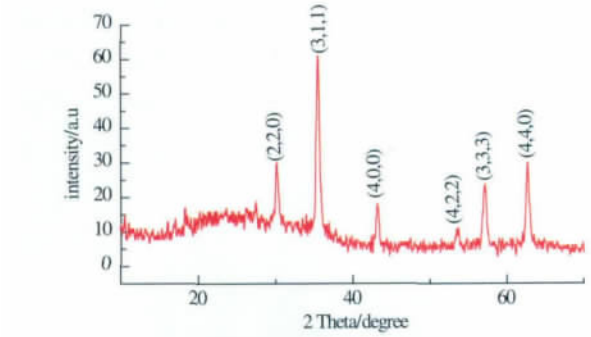


图 4 Fe_3O_4 纳米颗粒的 XRD 图

Fig. 4 XRD patterns of the prepared Fe_3O_4 nanoparticles and the standard data for Fe_3O_4

3.3 磁性纳米粒子和人工抗原 AFB_1–BSA 的结合与表征

黄曲霉毒素 B_1 在紫外线照射下产生荧光，与磁性纳米粒子相连的 AFB_1–BSA 经过清洗与磁富集，磁珠溶液在荧光显微镜下有荧光显示，如图 5 所示。表明磁性纳米粒子与 AFB_1–BSA 成功偶联。

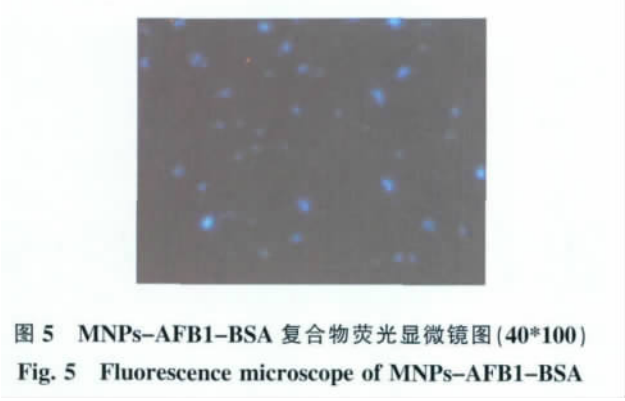


图 5 MNPs–AFB1–BSA 复合物荧光显微镜图(40*100)

Fig. 5 Fluorescence microscope of MNPs–AFB1–BSA

由图 6 所示，在波长 280 nm 和 360 nm 处，200 μL 人工抗原 AFB_1–BSA 原液紫外吸收和与磁性纳米材料结合富集后上清液紫外吸收相比较有一定差值，表明有部分 AFB_1–BSA 已经成功连接到了磁性纳米粒子上。

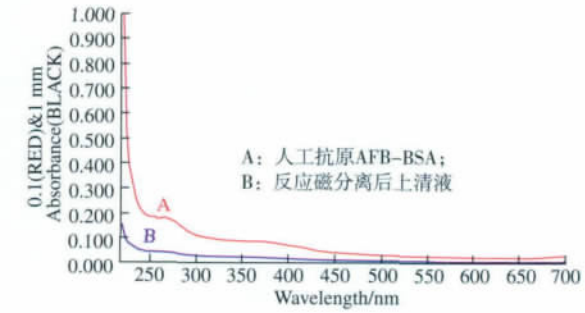


图 6 紫外可见吸收图谱

Fig. 6 Ultra-visible (UV) absorption spectrum

3.4 实验条件优化

3.4.1 磁性纳米粒子与人工抗原结合的浓度优化

实验考察了不同浓度磁性纳米粒子 Fe_3O_4 溶液与人工抗原结合时系统荧光强度的变化情况。结果发现(图 7)，磁性纳米粒子质量浓度为 1、5、10 mg/mL 时，荧光强度均低于 2 mg/mL 的，分析原因可能是磁珠浓度过高时，磁珠的黑色对荧光造成了遮蔽效应。故实验中选择 2 mg/mL 的磁性纳米粒子溶液。

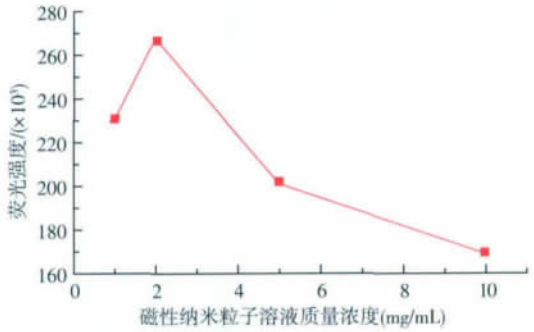


图 7 不同质量浓度磁性纳米粒子溶液与人工抗原结合荧光强度的关系曲线

Fig.7 Fluorescence intensity of different concentration Fe_3O_4 combined with AFB1–BSA

3.4.2 羊抗兔 IgG 与量子点结合浓度的优化

实验考察了不同浓度羊抗兔 IgG 与量子点结合时系统荧光强度的变化情况。结果发现(图 8)，羊抗兔 IgG 的质量浓度为 0.1、0.5、1、1.5、2、5 mg/mL，测定的荧光强度随羊抗兔 IgG 的量的增大而增大；当羊抗兔 IgG 的质量浓度超过 1 mg/mL 时，最终荧光强度升高并趋于稳定。故实验选用 1 mg/mL 的羊抗兔 IgG 溶液与量子点结合。

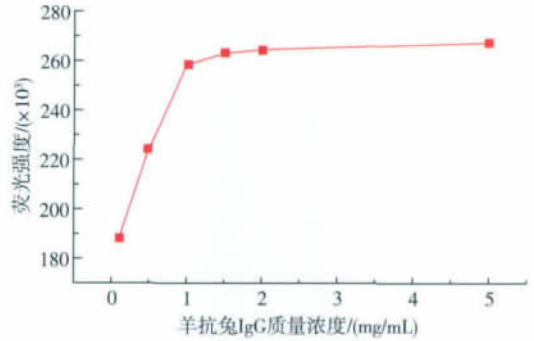


图 8 不同质量浓度羊抗兔 IgG 与量子点结合荧光强度的关系曲线

Fig. 8 Fluorescence intensity of different concentration goat anti-rabbit IgG coated with QDs

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3.4.3 AFB_1 单克隆抗体的结合浓度优化 实验也考察了 AFB_1 单克隆抗体的结合浓度对系统荧光强度的影响。由图 9 可知,AFB_1 单克隆抗体稀释 10 000、5 000、1 000 倍时,荧光强度上升,稀释倍数小于 1 000 时荧光强度趋于稳定,此时 AFB_1 单克隆抗体趋于饱和,故选择 AFB_1 稀释 1 000 倍作为最佳反应浓度。

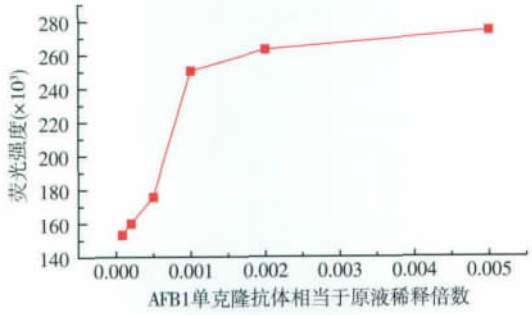


图 9 不同质量浓度的 AFB_1 单克隆抗体孵育前后荧光强度差值的关系曲线

Fig. 9 Fluorescence intensity of monoclonal antibodies incubation of AFB_1 of different concentration

3.4.4 QDs-羊抗兔 IgG 浓度的优化

实验进一步考察了 QDs-羊抗兔 IgG 复合物浓度对系统荧光强度的影响。CdTe 发光量子点与 1 mg/mL 羊抗兔 IgG 反应后将其复合物稀释 0、2、5、10、50、100 倍作为优化条件,将横坐标设定为反应中加入的羊抗兔 IgG 质量浓度,纵坐标为荧光强度。由图 10 可知,复合物原液与稀释 2 倍的溶液复合物最终荧光强度较高且比较稳定,故本次实验选择稀释 2 倍的溶液复合物。

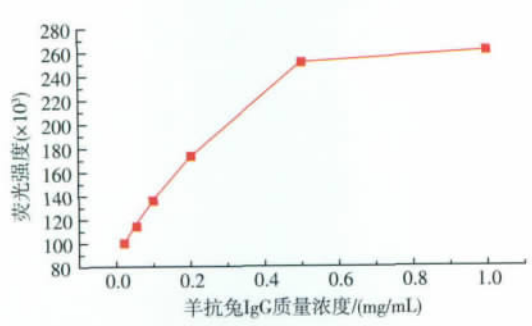


图 10 QDs-羊抗兔 IgG 不同稀释倍数与荧光强度的关系曲线

Fig. 10 Fluorescence intensity curve of QDs- goat anti-rabbit IgG in different concentration

3.5 标准曲线

在实验选定的最佳条件下,荧光强度与黄曲霉毒素 B_1 质量浓度在 0.1~100 ng/mL 范围内呈良好的线性关系(图 11),线性方程为 I_F=-1 333.35[AFB_1]+267 752(R^2= 0.996 8),检出限为 0.1 ng/mL。7 次测量 50 ng/mL 标准黄曲霉毒素 B1 以评估该方法的精密度,相对标准偏差为 3.0%。

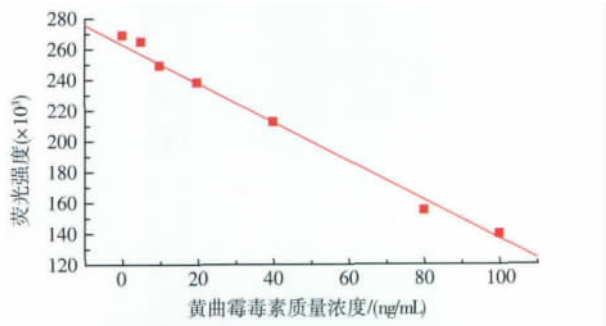


图 11 黄曲霉毒素 B_1 质量浓度与荧光强度的关系曲线

Fig. 11 Standard curve for AFB1 and fluorescence intensity

3.6 玉米样品中黄曲霉毒素 B_1 的检测

按照实验部分所述,实验中考察了所建立的方法,由表 1 可知,玉米粉样品中黄曲霉毒素 B_1 的加标回收率为 88.0%~98.8%,表明本实验所建立的新型检测技术的准确性高,可以用于实际样品中黄曲霉毒素 B_1 的检测。

表 1 玉米粉样品中黄曲霉毒素 B_1 的检测回收率

Table 1 Recovery rate of AFB, in compowder samples

编号	初始浓度	加入质量浓度/(ng/mL)	检出质量浓度/(ng/mL)	回收率/%
0	0	0.5	0.44	88.0
1	0	5	4.43	88.6
2	0	10	9.21	92.1
3	0	40	38.44	96.1
4	0	70	69.13	98.8
5	0	100	97.57	97.6

4 结 语

基于生物功能化磁性纳米粒子的有效分离富集、发光量子点的高效荧光标记,结合竞争免疫分析技术,成功建立了黄曲霉毒素 B_1 的新型检测方法。首先在水相中合成 CdTe 发光量子点,并采用水热法合成了磁性纳米粒子,以 AFB_1 人工抗原功能化磁性纳米粒子作为捕获探针,以发光量子点标记羊抗兔 IgG 作为信号探针,基于竞争免疫原理,建立了 AFB_1 的新型检测方法。实验优化条件下,荧光

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

强度与 AFB_1 质量浓度在 0.1~100 ng/mL 范围内呈良好的线性关系,检测限为 0.03 ng/mL。同时通过检测玉米中 AFB1 的情况来评价该方法的准确性,显示了该法良好的应用前景。

参考文献:

[1] Bruchez Jr M,Moronne M,Gin P,et al. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels [J]. **Science**,1998,281(5385):2013-2016.

[2] Murray C B,Norris D J,Bawendi M G. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE(E=sulfur,selenium,tellurium) semiconductor nano-crystallite[J]. **J Am Chen Soc**,1993.115(19):8706-8715.

[3] Peng Z A,Peng X G. Formation of high-quality CdTe,CdSe and CdS nanocrystals using CdO as precursor[J]. **J Am Chem Soc**,2001,123(1):183-184.

[4] Rajh T,Micic O I,Nozik A J. Synthesis and characteristics of surface-modified colloidal CdTe quantum dots [J]. **The Journal of Physical Chemistry**,1993,97(46):11999-12003.

[5] Wu X,Wu H,Hu J,et al. Immunofluorescent Labeling of cancer marker and other cellular targets with semiconductor quantum dots[J]. **Nat Biotechnol**,2003,21(1):41-46.

[6] Medintz I L,Trammell S A,Mattoussi H,et al. Reversible modulation of quantum dot photoluminescence using a protein-bound photochromic fluorescence resonance energy tranfer aceeptor[J]. **J Am Chem Soc**,2004,126(1):30-31.

[7] Zhang C Y,Yeh H C,Kuroki M T,et al. Single-Quantum-Dot-Based DNA nanosensor[J]. **Nature Materials**,2005,4(11):826-831.

[8] **李太山,刘绍璞,刘忠芳,等**. CdTe **纳米晶溶液的荧光和共振瑞利散射特性及** CdTe **纳米晶与氨基糖苷类抗生素相互作用**[J]. **中国科学** B,2008,38(9):798-807.
LI Tai-shan,LIU Shao-pu,LIU Zhong-fang,et al. Properties of fluorescence and Resonance rayleigh scatlering of CdTe nanocrystals and interaction between CdTe nanocrystals and Aminoglycosides [J]. Scientia Sinica B,2008,38 (9):798-807.(in Chinese)

[9] Zhang H,Zhou Z,Yang B,et al. The influence of carboxyl groups on the photoluminescence of mercaptocarboxylic acid-stabilized CdTe nanoparticles[J]. **J Phys Chem B**,2003,107(1):8-13.

[10] Hua X F,Liu T C,Cao Y C,et al. Characterization of the coupling of quantum dots and immunoglobulin antibodies [J]. **Anal Bioanal Chem**,2006,386(6):1665-1671.

[11] Xing Y,Chaudry Q,Shen C,et al. Bioconjugated quantum dots for multiplexed and quantitative immunohistochemistry [J]. **Nat Protoc**,2007,2(5):1152-1165.

[12] Clapp A R,Goldman E R,Mattoussi H. Capping of CdSe-ZnS quantum dots with DHLA and subsequent conjugation with proteins[J]. **Nat Protoc**,2006,1(3):1258-1266.

[13] So M K,Loening A M,Gambhir S S,et al. Creating self-illuminating quantum dot conjugates [J]. **Nat Proto**,2006,1 (3):1160-1164.

[14] Deng H,Li XL,Peng Q,et al. Monodisperse magnetic single-crystal ferrite microspheres [J]. **Angew Chem Int Edit**,2005,44:2782-2785.

[15] Wang L Y,Bao J,Wang L,et al. One pot synthesis and bioapplication of amine-functionalized magnetite nanoparticles and hollow nanospheres[J]. **Chem Eur**,2006,12:6341-6347.

[16] **李民勤,徐慧显,何炳林**. **葡萄糖磁性豪微粒的制备**[J]. **高等学校化学学报**,1996,17:147-150.
LI Min-qin,XU Hui-xian,HE Bing-lin. Preparation of glucose magnetic nanosomes[J]. Chemical Journal of Chinese University,1996,17:147-150.(in Chinese)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net