



引用格式:姜利英,刘帅,张培,等. 基于核酸适体传感器的黄曲霉毒素 B1 检测研究进展 [J]. 轻工学报,2017,32(2):40-47.

中图分类号:TP212.3;Q524 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.007

文章编号:2096-1553(2017)02-0040-08

基于核酸适体传感器的黄曲霉毒素 B1 检测研究进展

Research progress of aflatoxin B1 detection based on nucleic acid aptasensor

姜利英,刘帅,张培,任林娇,闫艳霞,郑晓婉,陈青华,
姜素霞

JIANG Li-ying, LIU Shuai, ZHANG Pei, REN Lin-jiao, YAN Yan-xia,
ZHENG Xiao-wan, CHEN Qing-hua, JIANG Su-xia

郑州轻工业学院 电气信息工程学院, 河南 郑州 450002

College of Electric Information Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou
450002, China

关键词:

黄曲霉毒素 B1; 核酸
适体传感器; 血糖仪;
样品预处理

Key words:

aflatoxin B1; nucleic
acid aptasensor;
glucose meter;
sample pretreatment

摘要:食物中存在毒性和致癌性较强的黄曲霉毒素 B1 (AFB1), 目前常规的检测方法有薄层色谱法、高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法和免疫分析法, 但都存在一定局限性. 基于核酸适体传感器的 AFB1 检测研究取得了一定成果, 基于电化学核酸适体传感器、光学核酸适体传感器和 PCR 核酸适体传感器的 3 种新型检测技术各有利弊, 将血糖仪作为检测仪器、与核酸适体传感器相结合检测 AFB1 的思路有待实验验证. 未来基于生物识别元件和磁性材料的磁亲和固相萃取法与核酸适体传感器相结合进行 AFB1 检测, 有望获得突破.

收稿日期:2016-09-01

基金项目:国家自然科学基金项目(61002007);河南省科技创新人才计划项目(124100510001)

作者简介:姜利英(1981—),女,河南省郾城市人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为生物传感器及检测微系统.

Abstract: There is a high toxicity and carcinogenicity of aflatoxin B1 (AFB1) in food. Current detection of aflatoxin B1 is performed by a variety of methods including thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, liquid chromatography-tandem mass spectrometry and immunoassay, but they all have some limitations. AFB1 detection research had obtained certain achievements based on nucleic acid aptasensor. The three new detection technology based on the electrochemical nucleic acid aptasensor, optical nucleic acid aptasensor and PCR nucleic acid aptasensor had advantages and disadvantages. A new idea in which glucose meter was used as a detection instrument and combined with nucleic acid aptasensor for AFB1 qualitative analysis were to be experimental veried. Combining nucleic acid aptasensor with magnetic nanoparticle united with bio-recognition elements as the adsorbent for solid phase extraction (SPE) was expected to be a breakthrough in the future.

0 引言

1993年,黄曲霉毒素 AFT (Aflatoxin) 被世界卫生组织的癌症研究机构划定为一类致癌物。目前已鉴定分离出 AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1, AFM2, AFP1, AFQ1 和 AFH1 等 10 多种黄曲霉毒素,它们都是二氢呋喃氧杂萜邻酮的衍生物,但具体结构不同,毒性大小也有差异,其中黄曲霉毒素 B1 (Aflatoxin B1, AFB1) 的毒性和致癌性最强^[1-3]。AFB1 主要对肝脏产生毒害,可导致肝癌、食道癌等严重疾病。AFB1 的强毒性、高致癌性和存在的广泛性,对人类健康和牲畜安全造成了严重的威胁。包括我国在内的许多国家和组织对其在食物中的检出限制定了控制标准和检测方法^[4]。如我国现行标准中对小麦、大麦等谷物的 AFB1 限量为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 而欧盟更加严格地限定为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。为达到对 AFB1 检测的低检出限和高选择性要求,在实际检测中往往需要注意样品预处理问题^[5]和检测方法的合理选择。

随着科学技术的进步,尤其是核酸适体^[6-8]的发现,核酸适体传感器这一新型检测技术吸引了越来越多的科研人员关注。

核酸适体是一段寡聚核苷酸,能够特异性结合蛋白质或其他小分子物质,具有低成本、高稳定性、易修饰、易合成、不需要活体动物或细胞、可重复利用等许多优点。因此,利用核酸适体与靶物质的高效特异性结合来代替免疫分析

方法中抗原-抗体的特异性结合,进而制备核酸适体传感器来检测靶物质,具有重要的研究价值与广阔的研究前景。起初,核酸适体传感器主要集中于对赭曲霉毒素 A (OTA) 和伏马菌素 B1 (FB1) 的检测,这是由于针对其他毒素的可利用适体有限。2010 年加拿大的 Neventures 生物科技有限公司取得了针对 AFB1 和玉米烯酮的核酸适体专利^[9],开启了 AFB1 核酸适体传感器的研究热潮。本文拟对不同核酸适体传感器检测 AFB1 的原理和检测结果进行探讨,以为为进一步研究提供参考。

1 AFB1 的常规检测方法

研究人员基于 AFB1 的物理、化学、光学和生物等特性,利用色谱、质谱、荧光分析、免疫分析等检测分析技术研究出不同的 AFB1 检测分析方法。可分离定量检测 AFB1 的方法主要有薄层色谱法 TLC^[10-12] (thin layer chromatography)、高效液相色谱法 HPLC^[13-15] (high performance liquid chromatography)、液相色谱-串联质谱法 LC-MS^[16-18] (liquid chromatography-tandem mass spectrometry) 和免疫分析方法。

薄层色谱法是将 AFB1 从样品中提取、净化后,在薄层板上展开,用紫外灯照射,根据 AFB1 发出的荧光强度检测其含量。该方法设备成本低、操作简单、易于推广,但是样品的预处理较繁琐,且在薄层板上展开时容易受到杂质干扰,测量精确度较低,耗费时间较长。

高效液相色谱法采用高压系统将 AFB1 缓冲液等液体流动相泵入装有固定相的色谱柱,在柱内分离出待测组分,然后使用荧光检测器进行检测与分析.由于采用色谱柱分离,该方法具有较高的精确度,而且可以实现对多种黄曲霉毒素的同时检测,有利于提高检测效率.但该方法需使用高压系统等设备,对操作人员的技术水平要求较高.

液相色谱-串联质谱法综合了液相色谱的高效分离和质谱的精确测量的优点,可进行更为可靠的 AFB1 定性和定量测量.与高效液相色谱法相比,液相色谱-串联质谱法同样具有同时对多个目标进行定性和定量检测的功能,精确度和灵敏度更高,并且不需要进行衍生等复杂处理.但是该方法设备昂贵,需要专业的操作技能,不易推广.

免疫分析方法包括酶联免疫法(ELISA)^[19-21]、免疫层析法(ICA)^[22-23]、放射免疫法(RIA)^[24-25]、免疫荧光法^[26].这类检测方法检测 AFB1 普遍具有特异性强、样品预处理简单、检测周期短等优点.近年来一些用于 AFB1 检测的商用试剂盒和试剂纸的出现,使得检测更加方便快捷.但是 AFB1 的抗体制备比

较繁琐且成本高,抗体的运输与贮存也有较苛刻的条件要求,因而一定程度上限制了该类免疫分析方法的应用与发展.

2 基于核酸适体传感器的 AFB1 检测

核酸适体传感器主要由识别元件和换能器组成,其传感原理如图 1 所示.传感器以核酸适体作为识别元件,分析物被核酸适体识别并发生高特异性和强亲和力结合,引起核酸适体空间构象的变化,进而产生一系列物理、化学、光学等变化,相应的换能器将变化信息转变成可定量处理的标准电信号,再经过放大并输出,最终检测出待测物浓度.

根据换能器的不同转换原理,目前检测 AFB1 的核酸适体传感器主要分为 3 种,即电化学核酸适体传感器、光学核酸适体传感器和 PCR 核酸适体传感器.

2.1 电化学核酸适体传感器

电化学核酸适体传感器的构造与检测过程主要包括 4 步,即适体固定→适体与目标结合→将电化学信息变化转为可测信号→可测信号的放大显示.研究者针对这 4 步提出了各种策略和方法来构建新型的电化学适体传感器^[27],

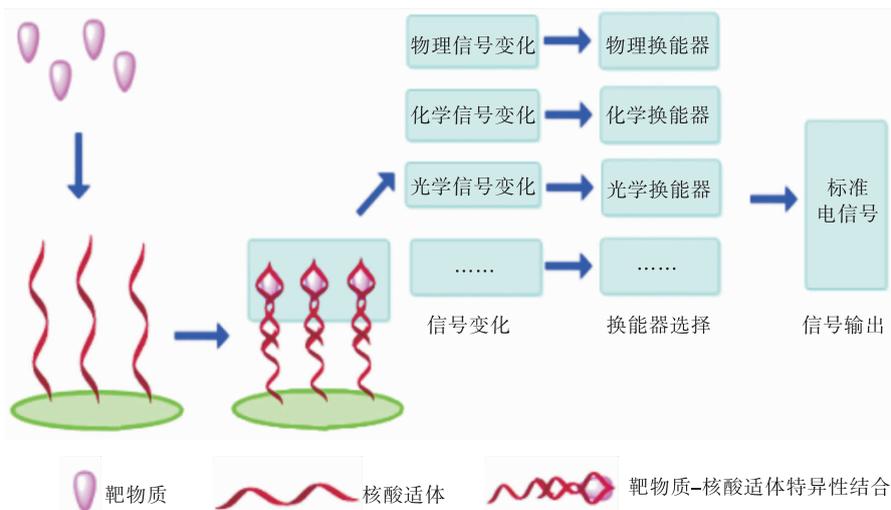


图 1 核酸适体传感器的传感示意图

Fig. 1 Schematic of sensor principle based on nucleic acid aptasensor

以提高检测的灵敏度和特异性. G. Evtugyn 等^[28] 针对适体固定过程,用电聚合的中性红和环芳烃修饰玻碳电极, DNA 适体通过共价作用力固定在环芳烃上,构造出一种新型电化学适体传感器来检测 AFB1. 针对适体识别目标后导致的电化学信号变化,一方面采用循环伏安法(CV)测量阴极探针峰值电流的减少,另一方面采用电化学阻抗谱法(EIS)测量电子转移电阻的增加. 两种检测方法的线性范围分别为 $0.1 \sim 100 \text{ nmol/L}$ 与 $0.05 \sim 100 \text{ nmol/L}$,检出限分别为 0.1 nmol/L 与 0.05 nmol/L . Y. Seok 等^[29] 针对适体的固定,构建了一种新型的采用比色法检测 AFB1 的核酸适体传感器. 其中 DNA 适体与 DNA 型酶裂开的两条 DNA 单链结合,构成 G 四联体. 该四联体在氯化铁血红素存在的条件下可以起到过氧化物酶的催化作用,并且催化作用有显色反应. 当 AFB1 出现并与适体竞争结合时,该 G 四联体裂开,失去催化作用,无显色反应. 此传感器的检测范围为 $0.1 \sim 10^4 \text{ ng/mL}$,肉眼的检出限为 0.1 ng/mL ,吸收光谱法的检出限为 0.054 ng/mL . 通过肉眼便可观察到颜色变化,使该传感器的使用更加简单和方便. G. Castillo 等^[30] 针对适体与目标的结合过程,将树枝状聚酰胺高分子(PAMAM)固定在修饰有半胱氨酸(Cys)的金电极上来构造新型传感器. Cys-PAMAM 层与 Cys 层、巯基十一酸(MUA)层和 MUA-PAMAM 层等其他固定层相比,更适合用来产生灵敏的可再生信号. 采用 CV 法和 EIS 法测试的线性范围为 $0.4 \sim 10 \text{ nmol/L}$,检出限为 0.4 nmol/L . W. L. Zheng 等^[31] 针对电化学信号的放大过程,采用了两重信号放大策略来提高检测的灵敏度,达到对痕量 AFB1 的检测:一重放大用端粒酶来延长固定在纳米金表面的 ssDNA 探针,使信号响应范围相应扩大;二重放大用核酸外切酶 III 来水解适体识别 AFB1 后形成的 dsDNA 末端,使结合

的 AFB1 分离,重新进入识别 - 敏感系统,进行信号放大. 用 CV 法进行检测,该传感器的线性范围为 $0.6 \times 10^{-4} \sim 100 \text{ pg/mL}$,检出限为 $0.6 \times 10^{-4} \text{ pg/mL}$.

电化学核酸适体传感器使用的电化学换能器具有诸多优点,如快速和可靠的响应,与常规测量装置有较好的兼容性,小型化现场应用和低测量成本等,近年来吸引了越来越多的关注. 研究人员针对其检测过程的 4 个主要步骤,不断进行结构和方法创新来构建新型电化学适体传感器,成为当前研究的热点.

笔者课题组针对一般检测设备较昂贵这一现象,构思了一种利用血糖仪检测 AFB1 的电化学核酸适体传感器,并将在下一步进行实验验证. 血糖仪的使用不仅可以大幅降低检测成本,而且便于进行现场检测. 该传感器的设计与检测原理如图 2 所示:待检测的 AFB1 加入 96 微孔板后,被固定在微孔板上的 AFB1 抗体为抗原 - 抗体的特异性结合所捕获,再加入修饰有蔗糖酶的 AFB1 适体;适体与 AFB1 通过适体与靶物质间的强亲和力结合,充分反应后,冲洗

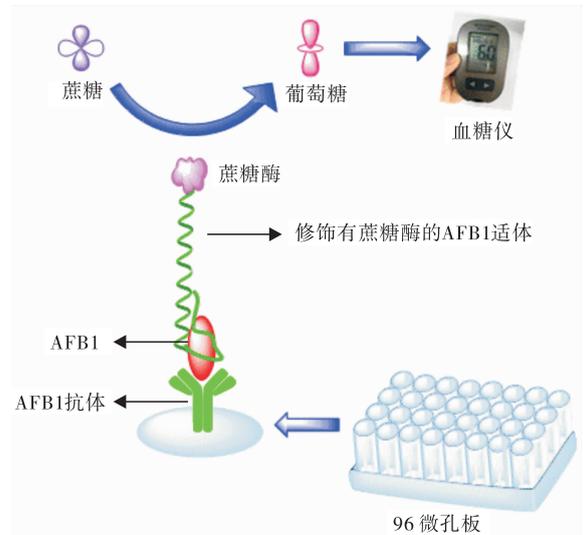


图 2 利用血糖仪检测 AFB1 的电化学核酸适体传感器设计

Fig. 2 The design of AFB1 electrochemical nucleic acid aptasensor based on the detection of glucometer

掉未结合的适体,再加入适量蔗糖;蔗糖被适体上修饰的蔗糖酶水解为葡萄糖,建立起葡萄糖与待测 AFB1 浓度之间的线性关系,并通过血糖仪检测葡萄糖浓度来间接检测 AFB1 浓度。

2.2 光学核酸适体传感器

光学核酸适体传感器通过换能器先将适体与目标物的特异性结合转换为荧光信号的变化,再通过荧光信号的变化强度来计算 AFB1 的浓度. 光学核酸适体传感器中较常见的是构建荧光淬灭系统来进行荧光变化测量,从而测量 AFB1 的浓度. B. Wang 等^[32] 基于纳米金和荧光掺氮碳量子点 (N. C-dots) 的荧光淬灭系统,构建了一种新型的光学核酸适体传感器:带电的 N. C-dots 通过静电作用力组装在核酸适体与纳米金的耦合物上,量子点的荧光被纳米金高效淬灭;当 AFB1 加入分析溶液时,其与适体的竞争性结合将导致量子点脱离纳米金,荧光恢复,荧光增加的强度与加入的 AFB1 浓度呈正相关. 此传感器检测的线性范围为 5 pg/mL ~ 2 ng/mL,检出限为 5 pg/mL. Z. S. Lu 等^[33] 则采用基于氧化石墨烯和 CdTe 量子点的荧光淬灭系统来检测 AFB1:将 AFB1 核酸适体通过配体变换反应连接到 CdTe 量子点表面,量子点的荧光可以被氧化石墨烯高效淬灭,加入 AFB1 后其荧光恢复,而荧光强度反映 AFB1 的浓度. 在磷酸盐缓冲液和花生油中做实验评估,结果表明该传感器具有很好的选择性和较宽的动态响应,在缓冲液体系中检测范围为 3.2 nmol/L ~ 320 μ mol/L,检出限为 1 nmol/L;在油溶液中检测范围为 1.6 nmol/L ~ 160 μ mol/L,检出限为 1.4 nmol/L.

采用荧光淬灭系统的光学核酸适体传感器在检测中往往需要使用荧光光谱仪等较昂贵的设备,且需要专业人员操作. W. B. Shima 等^[34] 针对在人类疾病诊断、环境危害和食物样品中对霉菌毒素的现场检测要求,研究了一种简单、

快速、便捷的量油尺分析方法,用来现场检测 AFB1 的浓度,全部检测过程可在 30 min 内完成. 该分析方法基于修饰有生物素的 AFB1 适体对目标物和修饰有 cy-5 的互补 DNA 探针的竞争结合作用,将亲和素和 cy-5 的抗体作为捕获剂固定在硝酸纤维素膜的检测线和对照线上来构造分析平台:没有 AFB1 加入时,对照线和检测线都发光;加入 AFB1 后,对照线仍发光但检测线不发光,以此达到快速检测 AFB1 的目的. 在最优条件下,此方法对缓冲液中 AFB1 的检测范围为 0.1 ~ 10 ng/mL,检出限为 0.1 ng/mL;对玉米样品中 AFB1 的检测范围为 0.3 ~ 10 ng/mL,检出限为 0.3 ng/mL. 对已知 AFB1 浓度的样品进行验证实验,结果表明:该方法获得的结果与 ELISA 测得的结果具有很好的 consistency.

光学核酸适体传感器凭借操作简单和高灵敏度等特点,在化学和生物医学研究领域得到广泛应用. 近年来,石墨烯因其优良的化学惰性、便于修饰和抗光漂白等特性被广泛关注^[35],表明研究基于石墨烯及其衍生物的荧光适体传感器具有巨大的潜力.

2.3 PCR 核酸适体传感器

实时荧光定量核酸扩增技术 (RT-qPCR) 是在聚合酶链式反应 (PCR) 体系中加入 Taqman 和 SYBR Green 等荧光基团,利用荧光信号累积实时监测整个 PCR 扩增反应中每个循环扩增产物的变化,通过扩增产物的荧光信号达到设定的阈值时所经过的扩增循环次数 (C_t 值) 和标准曲线的分析对起始模板进行定量检测,起始模板数量的对数值与 C_t 值呈线性关系. RT-qPCR 技术的应用使得传感器的灵敏度明显提高,并以其操作简单和检测时间短而得到研究人员的关注. 研究人员最初应用该技术对代谢产生 AFT 的菌落数量进行检测. A. Rodríguez 等^[36] 采用 RT-qPCR 技术,分别利用

Taqman 荧光探针和 SYBR Green 荧光染料作为荧光定量试剂来跟踪与 AFB1 合成有关的 O-甲基转移酶基因. 两种方法中该基因的复制数量与 Ct 值都呈现良好的线性关系,在花生、调味品和腊肠中的检测范围为 1 ~ 4 log CFU/g,检出限为 1 log CFU/g. R. E. Levin^[37] 对使用 RT-qPCR 技术检测代谢产生 AFB1 霉菌的多种方法进行了综述. 为了进一步直接检测食物中 AFB1 的含量, D. Babu 等^[38] 结合免疫磁珠和 RT-qPCR 技术构造了新型传感器检测 AFB1, 并使得样品的检出限由 10 ng/mL 降低到 0.1 ng/mL. 为进一步提高传感器灵敏度, X. D. Guo 等^[39] 利用 RT-qPCR 技术,用适体作识别探针,其互补单链 DNA 作为 PCR 扩增的模板来产生信号,对被测信号进行有效放大. 在没有 AFB1 出现时, AFB1 适体的互补单链 DNA 通过碱基互补配对结合在固定于 PCR 管中的适体上;加入 AFB1 后, AFB1 与适体的竞争性结合使得互补的单链 DNA 脱离并进行扩增,进而使阈值循环数增加,变化量与加入的 AFB1 浓度呈正相关. 在最优条件下,其检测范围为 $5 \times 10^{-5} \sim 5$ ng/mL,检出限为 25 fg/mL. 该超灵敏的检测技术在对霉菌毒素进行高通量筛选和定量检测方面具有良好的应用前景.

RT-qPCR 技术的使用使得核酸适体传感器的灵敏度得到很大提高,受到人们越来越多的青睐. 它不仅可以实现多通道检测,而且随着检测速度和便携式发展潜力的提高,在疾病诊断和环境监测等领域的现场检测方面也将发挥更大的作用.

3 结论与展望

近年来,食品安全问题一直都是人们关注的焦点,而核酸适体传感器凭借其诸多优点在生物、医疗、环境与食品检测中的应用越来越广泛,本文对用于检测严重威胁人类健康安全的

AFB1 的 3 类核酸适体传感器进行了综述. 目前,核酸适体传感器检测 AFB1 的研究工作取得了一定的成果,但还有诸多问题有待解决,如免疫亲和柱等经典的样品预处理方法操作繁琐、费时、重现性差,已成为分析检测的瓶颈之一. 针对该问题,研究人员建立了基于生物识别元件和磁性材料的磁亲和固相萃取法^[40-41],使用表面修饰有抗体或核酸适体的磁亲和固相萃取吸附剂来提高样品预处理精度. 采用该萃取法进行样品预处理,并结合核酸适体传感器进行 AFB1 检测,有望成为 AFB1 样品预处理方法的一种新突破.

参考文献:

- [1] HOVE M, VAN P C, NJUMBEE E, et al. Review on the natural co-occurrence of AFB1 and FB1 in maize and the combined toxicity of AFB1 and FB1[J]. Food Control, 2016, 59: 675.
- [2] POAPOLATHEP S, IMSILP K, MACHII K, et al. The effects of curcumin on aflatoxin B1-induced toxicity in rats[J]. Biocontrol Science, 2015, 20(3): 171.
- [3] AIKO V, PRASAD E, MEHTA A. Decomposition and detoxification of aflatoxin B1 by lactic acid[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(6): 1959.
- [4] LIU J, SUN L H, ZHANG G C, et al. Aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in feed ingredients and complete feed from central China[J]. Food Additives and Contaminants, 2016, 9(2): 91.
- [5] ZHANG Q, RAN C C, CHEN D, et al. Determination of aflatoxin B1, B2, G1, G2 in Ben Lan granules by HPLC-FLD after multi-pretreatment clean-up[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(19): 3780.
- [6] NEZLIN R. Use of aptamers in immunoassays[J].

- Molecular Immunology, 2016, 70: 149.
- [7] DARMOSTUK M, RIMPELOVA S, GBELCOVA H, et al. Current approaches in SELEX: An update to aptamer selection technology [J]. Biotechnology Advances, 2015, 33(6): 1141.
- [8] LATIL S M, COLLETTE C H, GUILLIER L, et al. Duplex RT-qPCR for the detection of hepatitis E virus in water, using a process control [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 157(2): 167.
- [9] LE L C, CRUZ-AGUADO J A, PENNER G A. DNA ligands for aflatoxin and zearalenone: 201001292 [P]. 2011-02-24.
- [10] WANKHEDE S B, MAHAJAN A, CHITLANGE S. A simple TLC-densitometric method for the estimation of labetalol hydrochloride in tablets [J]. Journal of Planar Chromatography-Modern TLC, 2012, 25(2): 145.
- [11] HOELTZ M, WELKE J E, NOLL I B, et al. Photometric procedure for quantitative analysis of aflatoxin B1 in peanuts by thin-layer chromatography using charge coupled device detector [J]. Química Nova, 2010, 33(1): 43.
- [12] CASTRO L D, VARGAS E A. Determining aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in maize using florisil clean up with thin layer chromatography and visual and densitometric quantification [J]. Ciências Tecnologia de Alimentos, 2001, 21(1): 115.
- [13] HEPSAG F, GOLGE O, KABAK B. Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method [J]. Food Control, 2014, 38: 75.
- [14] SADEGH M, SANI A M, GHIASVAND R. Determination of aflatoxin B1 in animal feed in Mashhad, Iran [J]. Bio Technology, 2013, 7(9): 334.
- [15] LI W G, XU K L, XIAO R, et al. Development of an HPLC-based method for the detection of aflatoxins in Pu-erh Tea [J]. International Journal of Food Properties, 2015, 18(4): 842.
- [16] HAN Z, ZHAO Z Y, SONG S Q, et al. Establishment of an isotope dilution LC-MS/MS method revealing kinetics and distribution of cooccurring mycotoxins in rats [J]. Analytical Methods, 2012, 4(11): 3708.
- [17] 康绍英, 周兴旺, 张继红, 等. 液相色谱-串联质谱法同时检测食品中的4种黄曲霉毒素 [J]. 食品与机械, 2013, 29(2): 77.
- [18] ESHELLI M, HARVEY L, EDRADE E R, et al. Metabolomics of the bio-degradation process of aflatoxin B1 by actinomycetes at an initial pH of 6.0 [J]. Toxins, 2015, 7(2): 439.
- [19] AGHAIE A, AASKOV J, CHINIKAR S, et al. Frequency of west nile virus infection in iranian blood donors [J]. Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion, 2016, 32(3): 343.
- [20] GROSSMANN K, ROBER N, HIEMANN R, et al. Simultaneous detection of celiac disease-specific IgA antibodies and total IgA [J]. Autoimmunity Highlights, 2016, 7(1): 2.
- [21] LIU J W, LU C C, LIU B H, et al. Development of novel monoclonal antibodies-based ultrasensitive enzyme-linked immunosorbent assay and rapid immunochromatographic strip for aflatoxin B1 detection [J]. Food Control, 2016, 59: 700.
- [22] REN M L, XU H Y, HUANG X L, et al. Immunochromatographic assay for ultrasensitive detection of aflatoxin B1 in maize by highly luminescent quantum dot beads [J]. ACS Applied Materials and Interfaces, 2014, 6(16): 14215.
- [23] LI X, LI P W, ZHANG Q, et al. Multi-component immunochromatographic assay for simultaneous detection of aflatoxin B1, ochratoxin A and zearalenone in agro-food [J]. Biosens Bioel-

- electron,2013,49:426.
- [24] HUM G, LEE J, TAYLOR S D et al. Cyclic five-membered phosphinate esters as transition state analogues for obtaining phosphohydrolase antibodies [J]. Canadian Journal of Chemistry, 2000,78(5):642.
- [25] WU Z J, ZHANG Y X. Radioimmunoassay of antiarrhythmic peptide and its application [J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology, 2003,23(1):44.
- [26] ZHANG B Y, SONG H X, CHEN T, et al. A microfluidic platform for multi-antigen immunofluorescence assays [J]. Applied Mechanics and Materials, 2012,108(1):200.
- [27] 姜利英,陈青华,王云龙,等.用于检测小分子靶标的电流型适配体传感器进展研究[J].郑州轻工业学院学报,2011,26(2):56.
- [28] EVTUGYN G, PORFIREVA A, STEPANOVA V, et al. Electrochemical aptasensor based on polycarboxylic macrocycle modified with neutral red for aflatoxin B1 detection [J]. Electroanalysis, 2014,26(10):2100.
- [29] SEOK Y, BYUN J Y, SHIM W B, et al. A structure-switchable aptasensor for aflatoxin B1 detection based on assembly of an aptamer/split DNAzyme [J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 886:182.
- [30] CASTILLO G, SPINELLA K, POTURNAYOVÁ A, et al. Detection of aflatoxin B1 by aptamer-based biosensor using PAMAM dendrimers as immobilization platform [J]. Food Control, 2015, 52:9.
- [31] ZHENG W L, TENG J, CHENG L, et al. Heteroenzyme-based two-round signal amplification strategy for trace detection of aflatoxin B1 using an electrochemical aptasensor [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2016,80:574.
- [32] WANG B, CHEN Y, WU Y, et al. Aptamer induced assembly of fluorescent nitrogen-doped carbon dots on gold nanoparticles for sensitive detection of AFB1 [J]. Biosens Bioelectron, 2015,78:23.
- [33] LU Z S, CHEN X J, WANG Y, et al. Aptamer based fluorescence recovery assay for aflatoxin B1 using a quencher system composed of quantum dots and graphene oxide [J]. Microchimica Acta, 2015,182(3):571.
- [34] SHIMA W B, KIMA M J, MUNA H, et al. An aptamer-based dipstick assay for the rapid and simple detection of aflatoxin B1 [J]. Biosens Bioelectron, 2014,62:288.
- [35] 姜利英,肖小楠,周鹏磊,等.基于氧化石墨烯荧光适配体传感器的胰岛素检测[J].分析化学,2016,44(2):310.
- [36] RODRÍGUEZ A, RODRIGUEZ M, LUQUE M, et al. Real-time PCR assays for detection and quantification of aflatoxin-producing molds in foods [J]. Food Microbiol, 2012,31(1):89.
- [37] LEVIN R E. PCR detection of aflatoxin producing fungi and its limitations [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012,156(1):1.
- [38] BABU D, MURIANA P M. Sensitive quantification of aflatoxin B1 in animal feeds, corn feed grain, and yellow corn meal using immunomagnetic bead-based recovery and real-time immunoquantitative-PCR [J]. Toxins, 2014,16(12):3223.
- [39] 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.
- [40] 颜小飞,汪懋华,温新华,等.免疫磁分离技术结合阻抗测量法快速检测禽流感病毒[J].分析化学,2013,41(6):817.
- [41] WU X M, HU J, ZHU B H, et al. Aptamer-targeted magnetic nanospheres as a solid-phase extraction sorbent for determination of ochratoxin A in food samples [J]. Journal of Chromatography A, 2011,1218(41):7341.