

基于核酸外切酶 III 及 DNAzyme 的铅离子荧光传感器的研究

刘涛* 李丹 梁杰 汪秀妹

(福建省新型污染物生态毒理效应与控制重点实验室,莆田学院环境与生物工程学院,莆田 351100)

摘要 利用 DNAzyme 及核酸外切酶 III (Exo III) 构建了荧光生物传感器用于检测铅离子 (Pb^{2+})。DNAzyme 与底物探针结合并在 Pb^{2+} 辅助作用下切割底物,使发夹结构的底物探针在环上修饰有 RNA 碱基处断裂,切割断裂底物探针后,DNAzyme 被释放,继续与下一个底物探针结合并切割,利用 DNAzyme 可循环反复催化裂解底物的特性实现循环反应。底物探针被切割断裂后,形成的 Y 字形探针可与信标探针结合并打开其发夹结构,产生荧光信号,同时在 Exo III 的作用下降解,从 3' 端开始切割水解被打开的信标探针,释放出底物探针,继续与下一个信标探针结合切割,形成第二步的循环信号放大。经过两步的循环反应,荧光信号得到不断增强,从而达到高灵敏检测的目的。200 μ L 反应体系在 37 $^{\circ}$ C 反应 60 min 后,其荧光信号与 Pb^{2+} 浓度在 0.05 ~ 200 nmol/L 范围内呈良好的线性关系,检出限为 0.01 nmol/L。用于实际样品中 Pb^{2+} 的检测,加标回收率为 96.3% ~ 108.3%。本方法具有简单、快速、高选择性、高灵敏的特点,在 Pb^{2+} 检测方面有良好的应用潜力。

关键词 铅离子; 脱氧核酸酶; 核酸外切酶 III; 荧光生物传感器

1 引言

铅离子 (Pb^{2+}) 作为一种常见重金属污染物,可通过皮肤、消化系统和呼吸系统进入血液,并且可在人体器官和组织中积累,导致神经、生殖、心血管系统疾病和发育障碍,特别是对于儿童发育健康影响最大^[1-3]。近年来,随着我国新能源汽车产业的迅速发展及电动助力车、电动自行车行业的大量需求,铅蓄电池产量迅速增长^[4]。铅蓄电池产量迅速增加的同时,在铅蓄电池的生产、使用及废电池回收等环节都有可能产生污染。因此,建立简单、快速、高灵敏的 Pb^{2+} 检测方法,对环境及生物样品的分析检测有重要的意义。

Pb^{2+} 的常规分析方法主要包括电感耦合等离子质谱法^[5,6]、原子吸收光谱法^[7] 和原子发射光谱法^[8]、原子荧光光谱法^[9,10]、及电化学法^[11] 等;这些方法可实现对铅的特异性、高灵敏检测,但多需要昂贵精密的仪器,且操作步骤复杂,需专业人员进行操作,检测成本较高。近年来,生物传感器的快速发展为金属离子检测提供了简单、快速、低成本的方法。DNA 分子的磷酸根阴离子骨架易与金属阳离子结合,且具有高稳定性、易合成、易修饰、可在体外进行序列筛选等优点,被广泛用于构建金属离子生物传感器^[12]。 Pb^{2+} 传感器的设计中常使用 G-四链体^[13,14] 及 DNAzyme 两种 DNA 分子。G-四链体是由富含鸟嘌呤碱基的单链 DNA 片段在特定金属离子的作用下折叠形成的特殊的 DNA 二级结构^[15]。 Pb^{2+} 可与 G-四链体特异性结合,并维持其结构的稳定^[16],基于该性质发展了多种 Pb^{2+} 传感器^[17,18]。除 Pb^{2+} 外, K^+ 、 Na^+ 、 Sr^{2+} 及 Ba^{2+} 等^[12] 金属离子也可与 G-四链体结合,并发挥与 Pb^{2+} 相似的功能,因此可能对 Pb^{2+} 检测产生干扰。

DNAzymes 是对特定底物具有高催化活性的功能核酸,在特定金属离子的辅助作用下可催化底物链断裂^[19],基于此,建立了各种类型的 Pb^{2+} 传感器。Zhang 等^[20] 将 8-17DNAzyme 及其底物结合形成一条单链并组装在金电极表面,设计了一种简单、高灵敏的电化学检测 Pb^{2+} 的方法;李宸葳等^[21] 利用 GR-5 DNAzyme 结合 G-四链体,设计了一种高灵敏的比色传感器用于检测 Pb^{2+} 。尽管基于 DNAzyme 的催化切割反应,建立了多种电化学及比色传感器实现了对 Pb^{2+} 的灵敏检测,但电化学方法多需对电极进行抛光处理及固定 DNA 探针的操作,而比色法的反应步骤较为繁琐,多需额外的显色步骤,对操作的要

求较高, 不便于简单快速检测。荧光法单操作简, Zhang 等^[22]利用 DNAzyme 结合分子信标及催化放大策略开发了一系列高灵敏、低背景的金属离子荧光检测方法。核酸工具酶如核酸外切酶、限制性内切酶及聚合酶等被广泛应用于 DNA 传感器的构建^[24~28], 常被用于信号放大, 如赵永席等^[23]利用 DNA 限制性内切酶建立了一种荧光循环放大策略, 实现 Pb^{2+} 高灵敏检测。

本研究利用 DNAzyme 可循环反复催化裂解底物的特性^[22]及核酸外切酶Ⅲ辅助循环放大两种信号放大策略, 构建了一种简单、快速、高灵敏、高特异性的荧光 DNA 生物传感器, 用于检测 Pb^{2+} 。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

CaryEclipse 分子荧光光谱仪(美国瓦里安公司); DK-S22 恒温水浴锅(上海精宏公司); Ultrapure 实验室纯水系统(上海和泰公司)。

所有 DNA 序列均由上海生工生物有限公司合成, 序列见表 1; 铅标准溶液及其它金属离子标准溶液均购自国家有色金属及电子材料分析测试中心; 核酸外切酶Ⅲ(ExoⅢ)购自 NEB 公司, 其它试剂均为分析纯, 购自阿拉丁试剂公司。

表 1 DNA 探针序列

Table 1 DNA sequences used in this work

探针名称 Probe name	碱基序列(5'-3') Sequence(5'-3')
DNAzyme	CATCTCTTCT CCGAGCCGGTCGAA ATAGTTGGTAAAA
底物探针 Substrate probe	<u>GCTGGCCACCACATCTACAGCACCAACTAT/rA/GGAAGAGATGTTCACTCCA</u> <u>GTGGTGCCACGCTTTTTT</u>
信标探针 Molecular beacon probe (MB)	BHQ1-CAATCTACAGCACCATTTTTTTTTTCTCTTTCACCTGCTGTAGATTGGACTGA-FAM
信标探针 1 MB probe 1	BHQ1-CAATCTACAGCACCTTTTTTTTTTCTCTTCTGCTGTAGATTGGACTGA-FAM
信标探针 2 MB probe 2	BHQ1-CAATCTACAGCACTTTTTTTTTTCTCTTCTGTGCTGTAGATTGGACTGA-FAM
信标探针 3 MB probe 3	BHQ1-CAATCTACAGCTGTTTTTTTTTCTCTTCTTTTCTGTAGATTGGACTGA-FAM
信标探针 4 MB probe 4	BHQ1-CAATCTACAGGTGTTTTTTTTTCTCTTCTTTTCTGTAGATTGGACTGA-FAM

注: /rA/表示核糖腺苷酸; 下划线表示彼此互补

Note: /rA/stands for ribonucleoside; the underlined part represent the sequences complementary to each other.

2.2 实验方法

2.2.1 DNA 发夹探针预处理 底物探针及信标探针用 10 mmol/L TE 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl; 1 mmol/L EDTA, 100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L $MgCl_2$, pH = 7.4)溶解, 配制成浓度为 1 μ mol/L 的储存液。将两种探针溶液在 90℃ 孵育 10 min, 自然冷却至室温, 以确保探针形成发夹结构。

2.2.2 Pb^{2+} 的检测 取 40 μ L 信标探针、20 μ L 底物探针及 10 μ L 8-17DNAzyme 于 0.5 mL 离心管, 依次加入 20 μ L NE 缓冲液 1(10 mmol/L Bis-Tris-丙烷-HCl, 10 mmol/L $MgCl_2$, 1 mmol/L DTT, pH = 7.0)、16 U ExoⅢ、20 μ L 不同浓度的 Pb^{2+} 溶液、90 μ L 缓冲液, 于 37℃ 孵育 60 min。反应结束后, 测定荧光光谱, 激发波长 494 nm, 扫描范围 500 ~ 600 nm。

3 结果与讨论

3.1 实验原理

构建的检测 Pb^{2+} 的荧光传感器原理如图 1 所示。反应过程分为两步, 首先, DNAzyme 与底物探针结合, 在 Pb^{2+} 辅助作用下切割底物, 使发夹结构的底物探针在环上修饰有 RNA 碱基处断裂, 发夹结构破坏后, 受到碱基配位个数的影响, 在反应温度下, DNAzyme 与断裂后的底物不能稳定结合, 进而被释放, 继续与下一个底物探针结合, 并再次切割, 如此循环反复进行, 利用 DNAzyme 可循环反复催化裂解底物的特性实现第一步的循环放大。底物探针被切割断裂后, 形成的 Y 字形探针可与信标探针杂交结合, 并打开其发夹结构, 使荧光基团与淬灭基团分离, 从而发出荧光信号, 同时在 ExoⅢ 的作用下降解, 从 3' 端开始切割被打开的信标探针, 释放出底物探针, 继续与下一个信标探针结合切割, 形成第二步的循

环信号放大。经过两步的循环反应,单个 Pb^{2+} 产生的信号被持续放大,从而达到高灵敏检测的目的。 Pb^{2+} 不存在时, DNAzyme 虽可与底物探针结合,但不能被断裂,不能引发第一步反应;同时,由于空间位阻及碱基杂交个数的影响,游离的底物探针无法与信标探针结合,不能产生荧光信号。

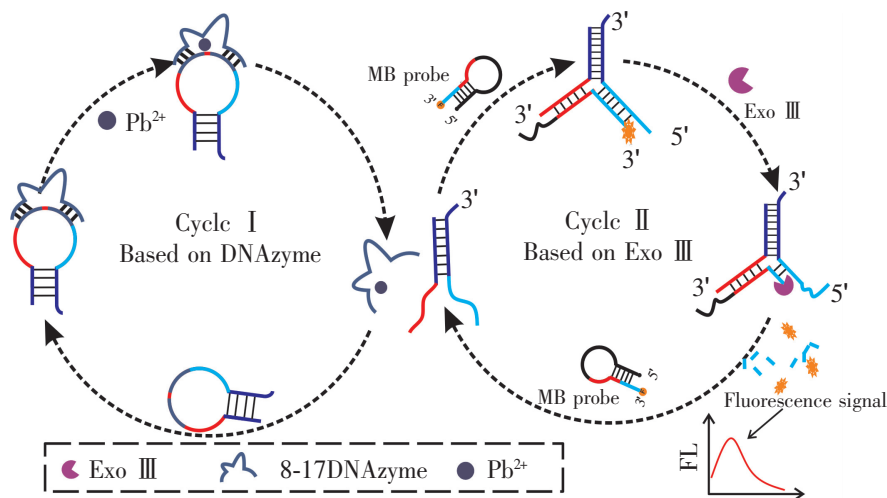


图 1 基于 DNAzyme 及 Exo III 辅助循环放大策略构建的铅离子荧光传感器示意图

Fig. 1 Schematic illustration of fluorescence DNAzyme sensor for detection of Pb^{2+} based on DNAzyme cleavage and exonuclease III (Exo III) assistant amplification strategy

3.2 方案可行性验证

对构建的外切酶 III 辅助基于 DNAzyme 的信号放大策略 Pb^{2+} 检测传感器的可行性进行了验证。如图 2 所示,不存在 Pb^{2+} 的空白对照组的荧光信号很低;当 Pb^{2+} 存在时,与空白背景组相比,荧光信号显著增强,且对不同浓度 Pb^{2+} 的荧光响应值也不同。以上结果表明,构建的 Pb^{2+} 传感体系设计方案可行。

3.3 实验条件优化

3.3.1 信标探针碱基杂交个数的优化 发夹结构的信标探针中碱基的杂交个数对于整个反应体系荧光信号的产生有重要影响,因此首先对信标探针序列进行了优化,结果见图 3。信标探针中碱基杂交个数过多,会造成底物形成的 Y 型探针与之结合困难,荧光信号降低;信标探针碱基杂交个数较少,会造成整个体系的背景信号偏高。由图 3 可见,当信标探针中碱基杂交个数为 12 时结果最优。

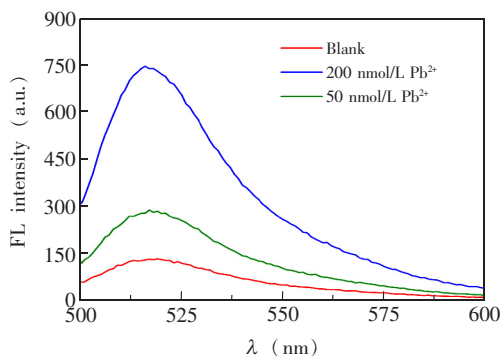


图 2 传感器的可行性验证结果

Fig. 2 Feasibility testing results of biosensing strategy

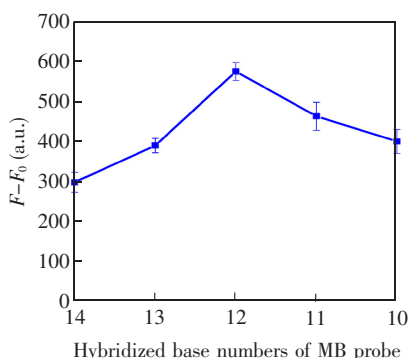


图 3 信标探针碱基杂交个数优化

Fig. 3 Influence of numbers of hybridized bases of MB probe

3.3.2 反应时间的优化 反应时间对荧光信号有重要的影响,反应时间不足,会造成荧光信号强度低;反应时间过长,可能会造成背景信号上升。对反应时间进行了优化,每间隔 10 min 测定样品组及对照组的荧光信号强度。如图 4A 所示,60 min 前,荧光信号随着时间延长而增强;60 min 后,随时间延长,

荧光信号虽有所增加,但是背景信号也开始增强。因此,选择 60 min 为检测体系的反应时间。

3.3.3 反应温度的选择 反应温度主要对 Exo III 活性以及 DNA 探针的结合有影响,在 25℃ ~ 40℃ 范围内对反应温度进行了优化,如图 4B 所示,在 25℃ ~ 37℃ 范围内,荧光信号强度随温度升高而增加,这是由于随着反应温度升高,外切酶的活性增加;反应温度高于 37℃ 时,随温度升高,荧光信号显著下降,原因是高使酶的活性降低,同时也会造成 DNAzyme 与底物探针的结合能力减弱,使其对底物的切割效率降低。因此,为获得最佳的实验效果,反应温度选择 37℃。

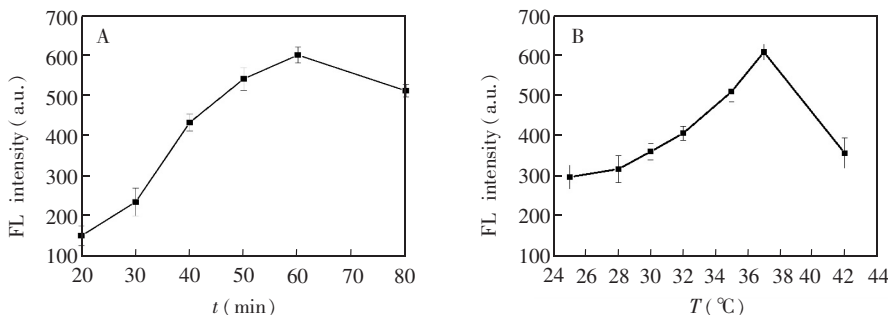


图4 (A)反应时间和(B)反应温度的优化

Fig. 4 Optimization of reaction time (A) and reaction temperature (B)

3.4 传感器的特异性分析

分别采用 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 及 Cr^{3+} 等金属离子考察了传感器对 Pb^{2+} 的选择性, Pb^{2+} 浓度为 200 nmol/L, 其它金属离子浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, 结果如图 5A 所示。与 Pb^{2+} 产生的荧光信号相比, 其它金属离子产生的荧光信号可以忽略不计, 表明所构建的传感器对 Pb^{2+} 具有良好的选择性。同时, 为进一步验证其特异性, 测定了 Pb^{2+} (浓度 200 nmol/L) 与其它金属离子 (Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} , 浓度均为 10 $\mu\text{mol/L}$) 共存时传感器的响应, 如图 5B 所示, 其它金属离子的存在对 Pb^{2+} 的检测无明显影响, 进一步表明构建的传感器有良好的选择性。

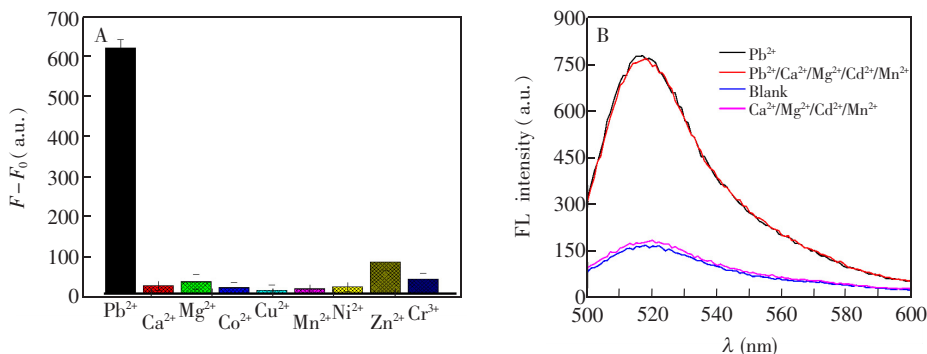


图5 传感器对 Pb^{2+} 的特异性分析:(A)传感器对不同离子的响应;(B) Pb^{2+} 与其它离子共存时传感器的响应

Fig. 5 Selectivity of the sensor towards Pb^{2+} : (A) Response of the sensor toward different metal ions;

(B) Response of the sensor in the presence of Pb^{2+} and other metal ions

3.5 Pb^{2+} 的定量分析

在最优的实验条件下,测定了不同 Pb^{2+} 浓度时体系的荧光信号。如图 6 所示, Pb^{2+} 浓度在 0.05 ~ 200 nmol/L 范围内,其荧光信号强度和 Pb^{2+} 浓度呈线性相关,线性相关系数 $R^2 = 0.998$,检出限为 0.01 nmol/L ($S/N = 3$),远低于我国生活饮用水卫生标准 (GB5749-2006) 中 Pb^{2+} 限值 0.01 mg/L (~50 nmol/L),也低于文献报道的 Pb^{2+} 传感器^[20~23](表 2)。

3.6 实际水样分析 <https://engine.scichina.com/doi/10.19756/j.issn.0253-3820.191491>

为了进一步验证构建的 Pb^{2+} 传感器在实际样品中的应用性能,分别采集自来水与校园内湖水,经过

0.22 μm 滤膜过滤后,测定 Pb^{2+} 含量,结果见表 3。所采集的样品未检出 Pb^{2+} ,加标回收率为 96.3% ~ 108.3% 之间。

表 2 不同 Pb^{2+} 传感器检测性能比较

Table 2 Comparison of different sensing methods for detection of Pb^{2+}

方法 Method	反应机制 Mechanism	线性范围 Linear range	检出限 Detection limit	参考文献 References
电化学 Electrochemistry	基于二茂铁标记的单链 DNAzyme Based on single-stranded DNAzyme with ferrocene beacon	0.0005 ~ 5 $\mu\text{mol/L}$	0.25 nmol/L	[20]
比色分析 Colorimetric analysis	纳米金修饰 DNAzyme 及纳米多孔金电极信号方法 DNAzyme modified with AuNPs coupling with nanoporous Au modified electrode	0.025 ~ 2.5 $\mu\text{mol/L}$	10.1 nmol/L	[21]
荧光分析 Fluorescence analysis	DNAzyme 循环反应催化切割分子信标 Multiple catalytic turnovers of DNzyme, catalyzed cleavage the molecular beacons	3 ~ 200 nmol/L	0.6 nmol/L	[22]
荧光分析 Fluorescence analysis	基于核酸切割酶与脱氧核酶的荧光循环放大系统 Based on nicking enzyme-mediated enzymatic recycling amplification fluorescence sensors	0.8 ~ 100 nmol/L	0.1 nmol/L	[23]
荧光分析 Fluorescence analysis	8-17DNAzyme 循环切割及外切酶 III 辅助信号放大 8-17DNAzyme multiple turnover reactions and exonuclease III assisted signal amplification	0.05 ~ 200 nmol/L	0.01 nmol/L	本方法 This method

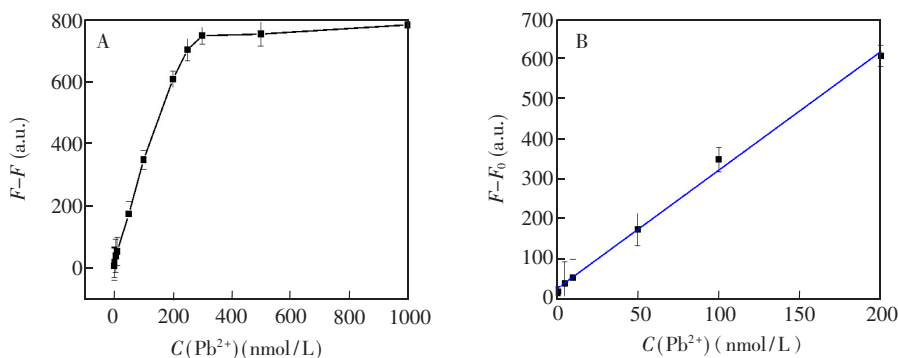


图 6 (A) 不同浓度 Pb^{2+} 条件下传感器的荧光信号值; (B) 检测 Pb^{2+} 的校正曲线

Fig. 6 (A) Response of fluorescence signal of sensor toward different concentrations of Pb^{2+} ; (B) Linear calibration curve for detection of Pb^{2+}

表 3 实际水样中 Pb^{2+} 加标回收实验结果

Table 3 Recovery of Pb^{2+} spiked in real water samples ($n=3$)

样品 Samples	初始值 Original (nmol/L)	加标量 Added (nmol/L)	检测值 Found (nmol/L)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%, $n=3$)
自来水 Tap water	0	5	5.3	106	7.6
		50	48.1	96.3	3.8
		100	108.3	108.3	5.4
湖水 Lake water	0	5	4.9	98.0	6.3
		50	52.0	104.0	8.6
		100	106.7	106.7	4.5

4 结论

利用金属 DNAzyme 可循环切割底物的特性及核酸外切酶 III 不需特定识别序列对双链 DNA 水解的性质,设计构建了两步循环信号放大的 Pb^{2+} 生物传感器,实现了对 Pb^{2+} 的高灵敏检测。此传感器具有简单、快速、特异性高、灵敏度高等特点,在实际样品检测中具有良好的应用前景。

References

- 1 Needleman H. *Annu. Rev. Med.*, **2004**, 55: 209–222
- 2 Godwin H A. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2001**, 5(2): 223–227
- 3 Meyer P A, McGeehin M A, Falk H. *Int. J. Hyg. Environ. Health.*, **2003**, 206(4-5): 363–369
- 4 ZHOU Jing, LIU Jia-Hong, SUN Meng, ZHANG Ying, YI Xiao-Juan. *China Resources Comprehensive Utilization*, **2018**, 36(8): 152–154
周晶, 刘佳泓, 孙猛, 张莹, 易晓娟. *中国资源综合利用*, **2018**, 36(8): 152–154
- 5 Fetter N, Blichert-Toft J, Télouk P, Albarède F. *Chem. Geol.*, **2019**, 511(20): 112–122
- 6 Feisal N A S, Hashim Z, Jalaludin J, How V, Hashim J H, Azmi W N F W, Annual Z F, Shaharudin R. *J. Environ. Anal. Toxicol.*, **2019**, 9(1): 598
- 7 SU Yao-Dong, LI Jing, HUANG Yan, CHEN Long-Wu. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **2006**, 26(3): 564–566
苏耀东, 李静, 黄燕, 陈龙武. *光谱学与光谱分析*, **2006**, 26(3): 564–566
- 8 ZHU Zhen-Ke, CHEN Jian-Guo, JIN Xian-Zhong, CHEN Shao-Hong, GE Xuan-Ning, WEI Dan-Yi. *Journal of Instrumental Analysis*, **2010**, 29(6): 599–602
朱振科, 陈建国, 金献忠, 陈少鸿, 葛宣宁, 魏丹毅. *分析测试学报*, **2010**, 29(6): 599–602
- 9 Zhou Q X, Zhao N, Xie G H. *J. Hazard. Mater.*, **2011**, 189(1-2): 48–53
- 10 Ho S K, Cheung N H. *Anal. Chem.*, **2005**, 77(1): 193–199
- 11 Dragoë D, Spătaru N, Kawasaki R, Manivannan A, Spătaru T, Tryk D A, Fujishima A. *Electrochim. Acta*, **2006**, 51(12): 2437–2441
- 12 Zhou W H, Saran R, Liu J W. *Chem. Rev.*, **2017**, 117(12): 8272–8325
- 13 Lin Z, Li X, Kraatz H B. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(17): 6896–6901
- 14 Yu Z, Zhou W, Han J, Li Y, Fan L, Li X. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(19): 9375–9380
- 15 Hänsel-Hertsch R, Antonio M D, Balasubramanian S. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2017**, 18(5): 279–284
- 16 Smirnov I, Shafer R H. *J. Mol. Biol.*, **2000**, 296(1): 1–5
- 17 Li T, Wang E K, Dong S J. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(4): 1515–1520
- 18 Zhang D J, Han J, Li Y C, Fan L Z, Li X H. *J. Phys. Chem. B*, **2016**, 120(27): 6606–6611
- 19 Zhang X B, Kong R M, Lu Y. *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2011**, 4: 105–28
- 20 Zhang Y L, Xiao S X, Li H Z, Liu H J, Pang P F, Wang H B, Wu Z, Yang W R. *Sens. Actuators B*, **2016**, 222: 1083–1089
- 21 LI Chen-Wei, LIN Sheng-Hao, DU Zai-Hui, SUN Chun-Yan, XU Wen-Tao. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2019**, 47(9): 1427–1432
李宸葳, 林晟豪, 杜再慧, 孙春燕, 许文涛. *分析化学*, **2019**, 47(9): 1427–1432
- 22 Zhang X B, Wang Z, Xing H, Xiang Y, Lu Y. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(12): 5005–5011
- 23 ZHAO Yong-Xi, QI Lin, YANG Wei-Jun, WEI Shuai, WANG Ya-Ling. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2012**, 40(8): 1236–1240
赵永席, 齐林, 杨卫军, 魏帅, 王亚玲. *分析化学*, **2012**, 40(8): 1236–1240
- 24 Hiratani M, Ohara M, Kawano R. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(4): 2312–2317
- 25 He M Q, Wang K, Wang W J, Yu Y L, Wang J H. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(17): 9292–9298
- 26 Zhang Y, Li C C, Tang B, Zhang C Y. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(14): 7684–7692
- 27 Wang D, Chai Y, Yuan Y, Yuan R. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(17): 8951–8956
- 28 Xu Q, Ma F, Huang S Q, Tang B, Zhang C Y. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(13): 7077–7083

A Fluorescence Biosensor for Lead Ion Detection Based on DNAzyme and Exonuclease III

LIU Tao* , LI Dan, LIANG Jie, WANG Xiu-Mei

(Fujian Provincial Key Laboratory of Ecology-Toxicological Effects & Control for Emerging Contaminants College of Environmental and Biological Engineering, Putian University, Putian 351100, China)

Abstract A fluorescence sensor for Pb^{2+} detection was developed on the basis of a DNAzyme cleavage and exonuclease III assistant amplification strategy. In the presence of Pb^{2+} , the DNAzyme hybridized with substrate strand and catalyzed the hydrolytic cleavage of the substrate strand, and then the DNAzyme released from the substrate strand and bound another substrate strand to trigger another cycle of hydrolytic cleavage. The DNAzymes were used as catalysts for amplified sensing through multiple turnover reactions. The substrate probe was cleaved and broken to form a Y-shaped probe which could hybridize and open the molecular beacon, resulting in the increase of the fluorescence signal. At the same time, exonuclease III catalytically digested the molecular beacon from 3'-end and released the Y-shaped substrate strand. The released Y-shaped substrate strand could directly hybridize with another molecular beacon to generate fluorescence signal, and thus was further recognized and cleaved by exonuclease III from the second step of cyclic signal amplification. Accompanying with each cleavage toward molecular probe by exonuclease III, the fluorescence signal was accumulated, which resulted in a cyclic amplification format for the fluorescence response toward Pb^{2+} detection. The fluorescence response was detected in a 200 μ L reaction system that was incubated at 37°C for 60 min. The linear range for detection of Pb^{2+} was 0.05–200 nmol/L with a detection limit of 0.01 nmol/L, and the recoveries of environmental water samples were 96.3%–108.3%. This method had many advantages such as simple operation, rapid detection, high selectivity and high sensitivity, and showed great application potential in Pb^{2+} detection.

Keywords Lead ion (II); DNAzyme; Exonuclease III; Fluorescence biosensor

(Received 11 August 2019; accepted 10 December 2019)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31801462), the Scientific Research Foundation of Fujian Provincial Education Department (No. JT180466) and the Scientific Research Foundation of Putian University (No. 2017015).