

铅离子诱导PS2. M构象改变特性及其 氩非标记比色传感检测新方法

刘红文 季颖 宋春丽 田刚 李诗雅 杨桂英 吕昌银*

(南华大学公共卫生学院, 衡阳 421000)

摘要 以氩辐射衰变最终形成稳定的子体铅作为目标检测物,建立了检测氩累积浓度的核酸适配体生物分析新方法。 K^+ 诱导富G单链核苷酸PS2. M形成反平行G-四链体四链体,辅因子血红素与G-四联链体结合,形成具有过氧化物酶活性的稳定复合物,催化TMB- H_2O_2 体系发生显色反应。同时加入 Pb^{2+} 时, Pb^{2+} 诱导PS2. M形成结构更加稳定的“缺口”型反平行G-四链体, K^+ 和血红素游离在溶液之中,体系吸光度响应值急剧降低。基于此构建了一种基于 Pb^{2+} 诱导PS2. M构象改变的过氧化物酶活性“Turn-off”型比色传感器。在 $5.0 \times 10^{-9} \sim 1.8 \times 10^{-7}$ mol/L范围内,吸光度降低值 ΔA 与 Pb^{2+} 浓度呈线性关系,线性回归方程为 $\Delta A = 0.36 + 0.13C$, $R = 0.9987$ 。本方法对 Pb^{2+} 的检出限为3.76 nmol/L ($S/N=3$),氩的检出限为 1.96×10^3 Bq \cdot h/m³ ($S/N=3$)。本方法灵敏、准确,样品溶液可直接检测,操作简单,避免了现场进行氩辐射剂量测量的放射性危害,为环境中氩的检测提供了新方法。

关键词 氩; 子体铅; 核酸适配体; G-四链体; 构象转变; 比色传感

1 引言

氩是天然放射系中唯一无色、无嗅、无味的气体放射性元素,半衰期为3.82天,是室内放射性气体污染物的主要存在形式^[1,2]。经过一系列短寿命子体链的衰变,氩产生的稳定子体²¹⁰Pb半衰期长达21年^[3]。室内氩照射和吸烟具有协同效应,是导致肺癌的第二大杀手^[4,5]。世界卫生组织与国际癌症研究机构已将氩列为19种致癌物质之一^[6]。研究表明,21世纪以来我国室内平均氩浓度较20世纪80年代和90年代分别上升了57%和42%^[7],室内氩污染的危害受到越来越多的关注。因此,科学有效地采集和检测室内中的氩浓度,建立经济、有效、简便/快捷的检测氩的累积辐射剂量的方法具有重要的卫生学意义^[8]。

近年来,核酸适配体(Aptamer)已经广泛应用于生命科学、临床诊断、药物筛选和环境科学等领域^[9-11]。在重金属离子的检测中,核酸适配体得到了充分应用,Liu^[12]和Jiang^[13]等利用 Hg^{2+} 可以形成T-Hg-T结构,实现对 Hg^{2+} 的高特异性和高灵敏度的检测。Lu等^[14]通过 Pb^{2+} 能诱导富G核酸链-TBAA特异性形成G-四链体结构,从而实现 Pb^{2+} 的高特异性和高灵敏度的可视化检测。邓欢等^[15]将门控制效应和核酸适配体结合,构建检测 Pb^{2+} 的电化学传感器。Long^[16]与Deng^[17]等基于 Pb^{2+} 诱导核酸适配体PW17和T30695构型改变导致体系荧光强度变化,开展了氩的非标记荧光传感生物分析新方法研究。

G-四链体构象的稳定性与其所结合的阳离子种类有关,不同构型G-四链体与Hemin结合后催化活性差异明显,表现出不同的过氧化物酶活性^[18-20]。Kong研究组基于G-四链体与Hemin结合具有过氧化物酶活性,催化ABTS- H_2O_2 系统显色,构建了 Ag^+ 、 Hg^{2+} 等重金属的检测平台^[21-23]。本研究根据氩辐射衰变特点,结合 Pb^{2+} 的现代分析技术,研究了 K^+ 和 Pb^{2+} 诱导PS2. M分别形成不同结构G-四链体的特性,建立了一种基于 Pb^{2+} 诱导PS2. M构象改变的过氧化物酶活性“Turn-off”型比色传感器,实现了 Pb^{2+} 和氩的灵敏检测。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

UV-2550紫外-可见分光光度计(日本岛津仪器公司); J-815圆二色谱光谱仪(日本Jasco公司);

2017-08-05 收稿; 2018-03-31 接受

本文系国家自然科学基金项目(No. 81473021)和湖南省研究生科研创新项目(No. CX2017B557)资助

* E-mail: lchy1955@163.com

AB204-S 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); PB-20(PB-S)型精度酸度计(德国赛多利斯公司); 氦室(南华大学核工业第六研究所); 混合纤维素膜(Merck Milipore 公司)。

冰醋酸(HAc,天津市福晨化学试剂厂); 三羟甲基氨基甲烷(Tris)、KCl(上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 铅标准溶液(100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$,中国计量科学院); 富含鸟嘌呤的寡核苷酸链PS2. M(5'-GTGGGTAGGGCGGTTGG-3',上海生工生物工程股份有限公司合成); 氯化血红素(Hemin)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB,上海西格玛奥德里奇贸易有限公司); HCl、 H_2O_2 (广东光华科技股份有限公司); 实验用水均为灭菌超纯水(电阻率为 18.25 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

2.2 氦样本的采样方法^[16]

以 10 mL 0.2% (V/V) 冰醋酸作为吸收液,以直径 70 mm、高 17 mm 一次性塑料培养皿为收集器,在平皿口加封混合纤维素膜(孔径为 0.8 μm ,Milipore 公司); 设定采样时间,将采样器放入氦室,被动式采集含铅样本。采样后密封状态、室温放置 4 天,经过氦的半衰期,用 0.2% 醋酸定容至 10 mL,混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,待测。

2.3 Pb^{2+} 标准溶液的紫外可见光谱测定^[19]

在反应管中,依次加入一定浓度的 Pb^{2+} 标准溶液、50 μL 100 mmol/L Tris-HAC 缓冲液(pH=5.0)、10 μL 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ K^{+} 标准溶液、20 μL 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$ Hemin 试剂和 50 μL 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ PS2. M溶液,充分混匀后,在室温下反应 20 min。然后加入 30 μL 5 mmol/L TMB 及 20 μL 100 mmol/L H_2O_2 ,混匀,室温下放置 35 min后,加入 50 μL 终止液(2 mol/L HCl),用超纯水定容至 500 μL ,混匀,用 UV-2550 紫外-可见分光光度计测定。

3 结果与讨论

3.1 比色传感原理

根据氦最终衰变成为子体铅,²¹⁰Pb 的半衰期达 21 年的特点,本研究以子体铅作为目标检测物,研究建立氦浓度的核酸适配体生物分析新方法。氦是一种气态放射物质,密度 9.73 g/m^3 ,易溶于水,本研究选择稀醋酸作为吸收液,并用微孔混和纤维素膜覆盖采样器进气口,排除了空气干扰物,氦衰变后的子体铅与稀醋酸发生化学反应,生成 Pb^{2+} 。

如图 1 所示,未加入 Pb^{2+} 时, K^{+} 诱导 PS2. M 形成反式平行 G-四链体,该四链体与辅因子血红素(Hemin)结合,形成稳定的具有过氧化物酶活性的复合物,催化 TMB- H_2O_2 系统氧化显色。当体系中同时引入 Pb^{2+} 和 K^{+} 时,这两种离子竞争与 PS2. M 的反应,但由于 Pb^{2+} 与之作用能力更强,诱导 PS2. M 发生构象改变,形成结构更加稳定的 G-四链体,抑制了 K^{+} 的诱导能力,使辅因子血红素游离在溶液之中,抑制了 TMB- H_2O_2 体系氧化还原反应的进行,体系吸光度急剧降低。据此,建立基于 Pb^{2+} 诱导的 PS2. M 构象改变的比色法检测 Pb^{2+} 和氦^[19]。

3.2 紫外-可见光吸收光谱和圆二色谱表征

由图 2 可见,单独 TMB+ H_2O_2 体系不发生显色反应(曲线 c); 曲线 a 在 451 nm 处有最大吸收峰,说明 K^{+} 诱导 PS2. M 形成的 G-四链体结合血红素的复合物具有类过氧化物酶活性,对 TMB- H_2O_2 氧化还原反应具有明显的催化作用; 曲线 b 在 451 nm 处吸光度明显降低,其原因是 Pb^{2+} 将 K^{+} 从已经形成的反式平行 G-四链体中竞争出去,使 PS2. M 构象发生改变,辅因子血红素游离在溶液之中,抑制了 TMB- H_2O_2 体

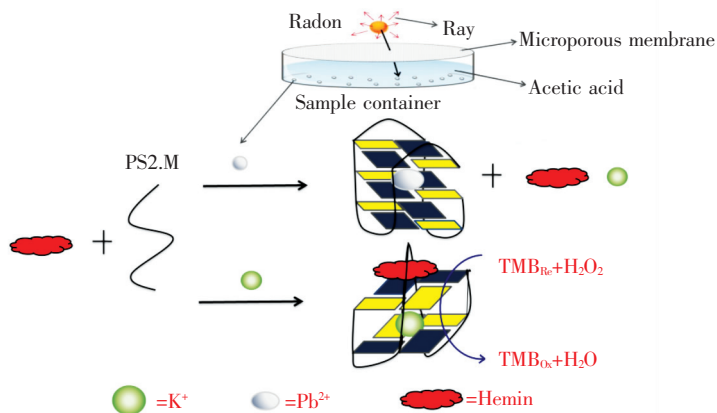


图1 铅离子诱导PS2. M构象改变原理图

Fig. 1 Schematic diagram of Pb^{2+} -induced conformational changes of PS2. M

系的氧化还原反应,体系吸光度响应值急剧降低。

圆二色谱测定结果如图 3 所示,体系溶液中只有 PS2. M 时,在 260 nm 处出现一个正峰,加入 K^+ 后,在 295 nm 处出现一个正峰,符合 K^+ 诱导 PS2. M 形成反平行 G-四链体结构的特征^[24]。在 PS2. M 中加入 Pb^{2+} 后,在 265 nm 处有一个负峰,312 nm 处出现一个正峰,这是被 Pb^{2+} 诱导形成反平行 G-四链体的峰的典型谱特征^[24~26]。当向 PS2. M 溶液中同时加入 K^+ 和 Pb^{2+} 时,295 nm 处的正峰消失,只在 312 nm 处出现正峰,且“PS2. M + K^+ + Pb^{2+} ”体系和“PS2. M + Pb^{2+} ”体系的圆二色谱图形非常接近,说明 K^+ 和 Pb^{2+} 竞争与 PS2. M 反应, Pb^{2+} 的存在,抑制了 K^+ 诱导 PS2. M 构象改变的能力,也说明了 Pb^{2+} 与 PS2. M 结合形成的 G-四链体结构更稳定、更容易形成^[24]。

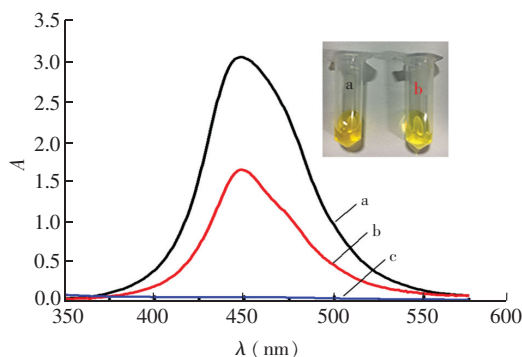


图 2 不同体系的紫外-可见吸收光谱图,插图为相应的光学照片

Fig. 2 UV visible absorption spectra of the system: (a) K^+ + PS2. M + Hemin + TMB + H_2O_2 ; (b) Pb^{2+} + K^+ + PS2. M + Hemin + TMB + H_2O_2 ; (c) TMB + H_2O_2 ; Inset is corresponding optical photographs. K^+ , 200 nmol/L; PS2. M, 100 nmol/L; Hemin, 1 μ mol/L; TMB, 300 μ mol/L; H_2O_2 , 4 mmol/L

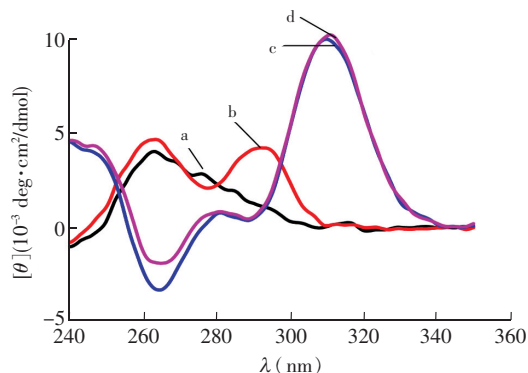


图 3 不同体系的圆二色谱图

Fig. 3 Circular dichroism spectra of different systems: (a) 10 μ mol/L PS2. M; (b) 10 μ mol/L PS2. M + 10 mmol/L K^+ ; (c) 10 μ mol/L PS2. M + 10 μ mol/L Pb^{2+} ; (d) 10 μ mol/L PS2. M + 10 mmol/L K^+ + 10 μ mol/L Pb^{2+}

3.3 实验条件优化

改变 Tris-HAc 缓冲液的 pH 值,考察 pH 值对反应体系的影响。结果表明,pH 值对体系吸光度变化值 (ΔA) 影响较大。pH=4.0~5.0 时,随 pH 值增大, ΔA 值逐渐上升; pH=5.0~7.5 时,随 pH 值增大, ΔA 值逐渐下降,因此选择 pH=5.0 的 Tris-HAc 溶液维持体系的酸性。在 pH=5.0 条件下进行 Tris-HAc 缓冲液用量的优化,结果表明,当 Tris-HAc 缓冲液终浓度为 10 mmol/L 时体系吸光度值变化最显著。

TMB 作为一种显色剂,其用量对体系吸收值有一定影响。实验结果表明,用量为 0.3 mmol/L 时体系吸光度值变化显著且反应稳定。Hemin 作为辅助因子,用量为 1 μ mol/L 时,体系吸光度值变化最显著。

Pb^{2+} 与 K^+ 竞争诱导 PS2. M 发生构象改变需要一定的反应时间。实验表明,加入 PS2. M 20 min 后, ΔA 值逐渐增大;当时间超过 20 min 后, ΔA 值变化比较平缓,故选择 20 min 作为 PS2. M 最佳孵育时间。考察了 TMB 与 H_2O_2 显色时间对实验的影响,最终选择在反应 40 min 后加入 HCl 终止反应。

3.4 共存干扰物的影响

如图 4 所示,10 倍浓度的 Bi^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 NH_4^+ 以及 Cr^{3+} 和 Hg^{2+} 对 160 nmol/L Pb^{2+} 测定的干扰很小。由于本方法通过采集氦的子体铅进行氦的检测,采样时,在采样器进气口加封 0.8 μ m 的混和纤维素微孔膜,保证气体氦可以辐射进入采样容器,以利于采集子体铅,阻止了空气中其它颗粒干扰物进入采样容器。因此,这些干扰物质在样品采集时大部分已被排除在容器外,其可能产生的影响被进一步降低,不干扰测定。

3.5 标准曲线与检出限

测定 Pb^{2+} 系列标准溶液的吸光度值 A 及未加 Pb^{2+} 的试剂空白溶液的吸光度值 A_0 。计算各反应的

$\Delta A (=A_0 - A)$ 值, 绘制标准曲线。如图 5 所示, 体系的吸光度差值 ΔA 与 Pb^{2+} 浓度在 $0.5 \times 10^{-8} \sim 1.8 \times 10^{-7}$ mol/L 范围内呈良好的线性关系, 回归方程为 $\Delta A = 0.36 + 0.13C_{Pb}$ (10^{-8} mol/L), 相关系数 $R=0.9987$ 。对空白溶液平行测定 11 次, 计算空白溶液的标准偏差为 $s_b = 0.165$, 按照 $C_L = 3s_b/k$ 计算出 Pb^{2+} 的检出限为 3.76 nmol/L。

3.6 氩累积浓度的测定和模型建立

按照采样方法, 在南华大学核六所氩实验室采集累积浓度分别为 0.71、1.45、3.54、6.57、10.17、13.78、17.60、21.70 和 25.25 (10^4 Bq · h/m³) 的氩辐射样品溶液, 采用本方法进行测定, 结果如表 1。 ΔA 值随着氩累积浓度的增加而增大, 根据 Pb^{2+} 的标准曲线回归方程 $\Delta A = 0.36 + 0.13C_{Pb}$ (10^{-8} mol/L), 可

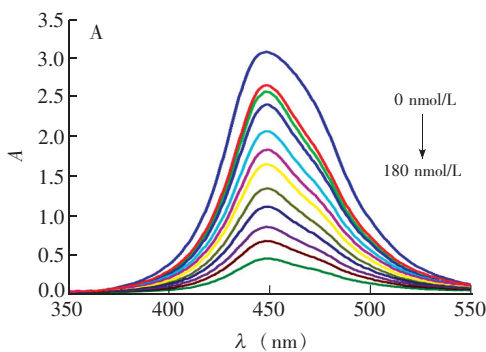


图 5 (A) 不同浓度 Pb^{2+} 时体系的吸收光谱; (B) 测定 Pb^{2+} 的标准曲线

Fig.5 (a) Absorption spectra of system in the presence of different concentrations of Pb^{2+} ; (B) Calibration curve for detection of Pb^{2+}

得知样品中 Pb^{2+} 含量也逐渐增加。由图 6 可见, 在一定范围内, 氩浓度与 ΔA 值呈现良好的线性关系: $\Delta A = 0.089C_{Rn} + 0.59$, $R=0.9906$ 。由此可建立氩的累积浓度与子体铅之间的定量测定模型。本方法对氩的检测范围为 $7.10 \times 10^3 \sim 1.02 \times 10^5$ Bq · h/m³, 检出限为 1.96×10^3 Bq · h/m³ (3σ)。

表 1 样品中 Pb^{2+} 的检测结果

Table1 Determination results of Pb^{2+} in the samples

Sample	氩浓度 C_{Rn} (Bq · h/m ³)	吸光度 A (a. u.)	样品值 Found (nmol/L)	加标量 Added (nmol/L)	测得值 Total found (nmol/L)	相对标准偏差 RSD (%, n=6)	回收率 Recovery (%)
1	0.71×10^4	0.6162	19.70	40.00	58.43	3.3	96.8
2	1.45×10^4	0.7032	28.49	40.00	69.96	3.0	103.7
3	3.54×10^4	0.9549	45.40	40.00	86.47	2.7	102.7
4	6.57×10^4	1.2458	67.47	40.00	109.13	2.2	104.2
5	10.17×10^4	1.4458	82.64	40.00	121.60	2.3	97.4
6	13.78×10^4	1.4965	86.49	40.00	127.05	2.1	101.4
7	17.60×10^4	1.5713	92.17	40.00	131.50	2.2	98.3
8	21.70×10^4	1.6182	95.73	40.00	134.66	2.3	97.3
9	25.25×10^4	1.6933	101.43	40.00	140.25	3.0	97.0

'Found' and 'Added' refer to the final concentration.

3.7 样品分析与方法学比较

我国 GB/T18883-2002《室内空气质量标准》规定, 室内空气应无毒、无害、无异常嗅味, 其中放射性

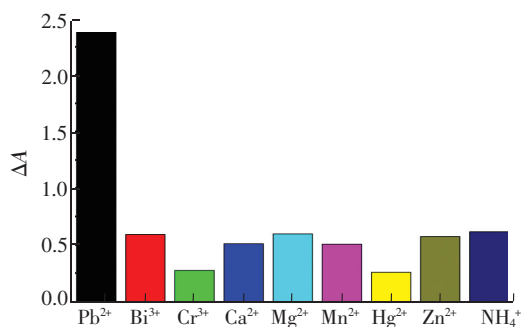
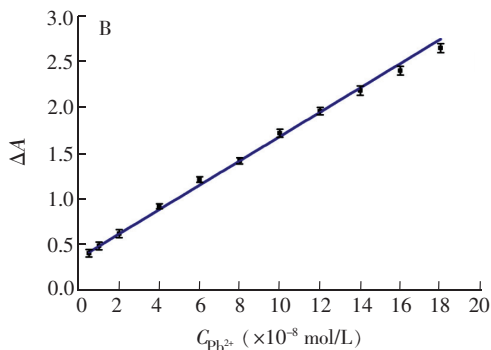


图 4 共存物质对测定体系的影响

Fig.4 Responses of the established Pb^{2+} sensor in the presence of foreign substances. Concentration of metal ion of Bi^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , NH_4^+ , Cr^{3+} and Hg^{2+} : $1.6 \mu\text{mol/L}$; Pb^{2+} : 160 nmol/L



参数氡(^{222}Rn)年平均值 $400 \text{ Bq}/\text{m}^3$ (标准值), 达到此水平建议采取干预行动以降低室内氡浓度。径迹蚀刻法是中国国家标准方法, 对氡累积浓度的检出限为 $2.1 \times 10^3 \text{ Bq} \cdot \text{h}/\text{m}^3$ [27], 本方法对氡累积浓度的检出限为 $1.96 \times 10^3 \text{ Bq} \cdot \text{h}/\text{m}^3$ ($< 2.1 \times 10^3 \text{ Bq} \cdot \text{h}/\text{m}^3$), 检出限更低。

按照采样方法, 采集了 2 个氡样本, 用本方法与美国 RAD7 测氡仪进行对比测定。结果如表 2, 对两种方法 t 检验结果表明, 在可信区间为 95% 的范围内, 计算出 $t_1 = 1.35$, $t_2 = 0.59$, 均小于理论值 $t_{0.05(10)} = 2.228$, 按照 $\alpha = 0.05$ 的水平接受 H_0 , 即差异没有统计学意义, 可认为两种方法测定结果的总体均数相同, 证明本方法测定的结果可靠。

4 结论

以氡辐射衰变最终形成稳定的子体铅作为目标检测物, 建立了检测氡累积浓度的核酸适配体生物分析新方法。本方法仪器设备简单、操作简单快速、抗干扰能力强、灵敏度高, Pb^{2+} 的检出限为

$3.76 \text{ nmol}/\text{L}$, 氡的检出限为 $1.96 \times 10^3 \text{ Bq} \cdot \text{h}/\text{m}^3$ 。在核科学和物理学中, 一般针对氡辐射产生的 α 射线测定氡的累积浓度。本方法避免了现场进行氡辐射剂量测量的放射性危害, 具有良好的应用潜能。

References

- Inácio M, Soares S, Almeida P. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, **2017**, DOI: 10.1016/j.jrras.2017.02.002
- Midhun M, Rejith R S, Samuel M, Jojo P J, Sahoo B K. *International Journal of Pure and Applied Physics.*, **2017**, 13(1): 172-178
- Kendall G M, Smith T J. *J. Radiol. Prot.*, **2002**, 22(4): 389-406
- ZHANG Dong-Sheng, ZHANG Wei, MA Li-Qiang, WANG Xu-Feng, FAN Gang-Wei. *Journal of China University of Mining & Technology*, **2016**, 45(6): 1083-1097
张东升, 张炜, 马立强, 王旭锋, 范钢伟. *中国矿业大学学报*, **2016**, 45(6): 1083-1097
- McCull N P, Green B M R, Dixon D W, Fey R, Meara J R, Harrison J D, Cooper J R. *Centre for Radiation, Chemical and Environmental Hazards*. London: Health Protection Agency, **2010**
- Klervi L, Maria S, Ladislav T, Nezahat H, Margot T, Bernd G, Michaela K, Dominique L. *Radiat. Res.*, **2011**, 176(3): 375-387
- TIAN Rong, LIU Ying-Yun. *Journal of Environmental Engineering Technology*, **2016**, (1): 35-42
田蓉, 刘迎云. *环境工程技术学报*, **2016**, (1): 35-42
- Kreuzer M, Fenske N, Schnelzer M, Walsh L. *Br. J. Cancer*, **2015**, 113: 1367-1369
- Farokhzad O C, Jon S, Khademhosseini A, Tran T N, Lavan D A, Langer R. *Cancer Res.*, **2004**, 64(21): 7668-7672
- Hernandez R, Valles C, Benito A M, Maser W K, Rius F X, Riu J. *Biosens. Bioelectron.*, **2014**, 54: 553-557
- Kikuchi K, Umehara T, Nishikawa F, Fukuda K, Hasegawa T, Nishikawa S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2009**, 386(1): 118-123
- Liu B. *Biosens Bioelectron.*, **2008**, 24(4): 762-766
- Jiang Z, Fan Y, Chen M, Liang A, Liao X, Wen G, Shen X, He X, Pan H, Jiang H. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(13): 5439-5445

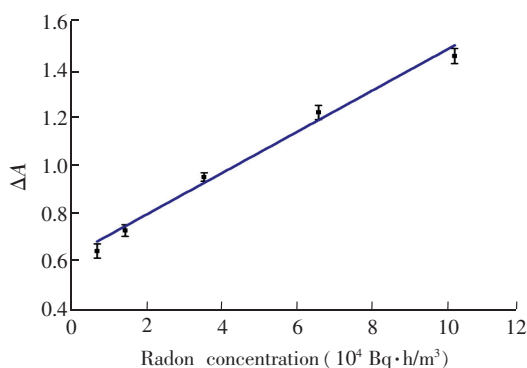


图 6 氡累积浓度与吸光度强度的关系

Fig. 6 Correlation curve of absorbance intensity and radon concentration

表 2 氡样品的检测结果 ($n=6$)

Table 2 Determination results of radon in samples ($n=6$)

样品 Sample	方法 Method	测得值 Found ($\times 10^3 \text{ Bq} \cdot \text{h}/\text{m}^3$)	相对标准偏差 RSD (%, $n=6$)	t 检验 t test
1	本方法 This method	8.37	2.9	1.35
	RAD7	8.06	2.7	
2	本方法 This method	14.61	2.7	0.59
	RAD7	14.40	2.2	

- 14 Lu Y, Li X, Wang G, Tang W. *Biosens. Bioelectron.*, **2013**, 39(1): 231–235
- 15 DENG Huan, SUN Mi, WEI Xiao-Ping, LI Hong-Zeng, LI Jian-Ping. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2016**, 44(6): 888–892
邓欢, 孙觅, 魏小平, 黎洪增, 李建平. *分析化学*, **2016**, 44(6): 888–892
- 16 Long M, Deng H, Tian G, Song C, Liu H, Shen Y, Lv C. *Anal. Chim. Acta*, **2016**, 936: 202–207
- 17 Deng H, Long M, Tian G, Song C, Liu H, Hu L, Lv C. *RSC Adv.*, **2016**, 43(6): 37254–37257
- 18 Arola A, Vilar R. *Curr. Top. Med. Chem.*, **2008**, 8(15): 1405–1415
- 19 Li T, Wang E, Dong S. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(4): 1515–1520
- 20 Jing T, Dai Y, Ma X J, Huang B B. *Chinese Optic*, **2016**, 9(1): 1–15
荆涛, 戴瑛, 马晓娟, 黄柏标. *中国光学*, **2016**, 9(1): 1–15
- 21 Kong D M, Xu J, Shen H X. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(14): 6148–6153
- 22 Zhou X H, Kong D M, Shen H X. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(3): 789–793
- 23 Li T, Wang E, Dong S. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131(42): 15082–15083
- 24 Smirnov I, Shafer R H. *J. Mol. Biol.*, **2000**, 296(1): 1–5
- 25 Smirnov I, Kotch F, Pickering I, Davis J, Shafer R. *Biochemistry*, **2002**, 41(40): 12133–12139
- 26 GB/T16146-2015, *Requirements for Control of Indoor Radon and Its Progeny*. National Standards of the People's Republic of China
室内氡及其子体控制要求. 中华人民共和国国家标准. GB/T 16146-2015
- 27 GB/T18883-2002, *Indoor Air Quality Standard*. National Standards of the People's Republic of China
室内空气质量标准. 中华人民共和国国家标准. GB/T18883-2002
- 28 GB/T 14582-1993, *Standard Methods for Radon Measurement in Environmental Air*. National Standards of the People's Republic of China
环境空气中氡的标准测量方法. 中华人民共和国国家标准. GB/T 14582-1993

Pb²⁺-Induced Allosteric PS2. M as A Label-Free Colorimetric Sensor for Detection of Cumulative Radon Radiation

LIU Hong-Wen, JI Ying, SONG Chun-Li, TIAN Gang, LI Shi-Ya, YANG Gui-Ying, LYU Chang-Yin*
(School of Public Health, University of South China, Hengyang 421000, China)

Abstract A new sensitive method for detection of cumulative radon radiation based on the lead was established. PS2. M which stabilized by K⁺ with hemin as a co-factor exhibits superior peroxidase-like activity, and can effectively catalyze the H₂O₂-mediated oxidation of TMB. In the presence of Pb²⁺, K⁺-stabilized PS2. M DNazymes are induced to undergo a conformational change, because Pb²⁺ has a higher efficiency with regard to stabilizing G-quadruplexes than K⁺, accompanied by a decrease of catalytic activity and a sharp decrease of readout signal. In the work, a novel "turn-off" model of colorimetry-Pb²⁺ biosensor based on superior peroxidase-like activity of G-quadruplex for Pb²⁺ analysis was developed. The fading degree of reaction system (ΔA value) was linearly related to Pb²⁺ concentration in the range of $5.0 \times 10^{-9} - 1.8 \times 10^{-7}$ mol/L. The linear regression equation was $\Delta A = 0.36 + 0.13C$ (10^{-8} mol/L), with $R = 0.9987$. The detection limits of lead and radon were 3.76 nmol/L ($S/N = 3$) and 1.96×10^3 Bq · h/m³ ($S/N = 3$), respectively. The method exhibited good selectivity, high sensitivity and convenient operation, and could avoid the radioactive hazard in determination of the radon in environment.

Keywords Radon; Lead; Aptamer; G-quadruplex; Conformation transformation; Colorimetric sensor

(Received 5 August 2017; accepted 31 March 2018)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81473021) and Graduate Student Research Innovation Project in Hunan Province, China (No. CX2017B557).