



基于免疫磁珠和荧光量子点的纳米生物传感器快速检测氟喹诺酮

沈亚芳¹, 何雅雯¹, 傅迎春¹, 李延斌^{1,2,*}

¹生物系统工程与食品科学学院, 浙江大学, 杭州 310058

²Department of Biological and Agricultural Engineering, University of Arkansas, AR 72701, USA

摘要

氟喹诺酮药物 (FQs) 是人工合成的第三代喹诺酮类抗菌药, 具有抗菌谱广、药效强等优点, 目前已广泛应用于医学和兽医学。然而过量使用这些抗生素不仅会污染环境, 更会对人体造成潜在影响, 因此实现对氟喹诺酮类药物的快速灵敏检测十分必要。本文采用免疫磁珠 (IMBs) 和量子点 (QDs) 标记技术, 以恩诺沙星 (ENR) 为目标物, 开发了一种快速检测食品中抗生素的生物传感器。我们利用抗体修饰的免疫磁珠特异性捕获样品中的恩诺沙星, 然后加入量子点标记的恩诺沙星类似物 (QDs-BSA-ENR) 与磁珠表面的剩余位点结合, 经磁分离后检测磁珠-量子点复合物的荧光强度从而实现恩诺沙星的定量检测 (图1)。该法基于待检测的恩诺沙星与量子点标记的恩诺沙星类似物对免疫磁珠的竞争性结合, 结合免疫磁珠的高效分离效率和量子点的优良光学特性, 初步实现对氟喹诺酮的快速、灵敏及特异性检测。通过修饰不同的抗体/适配体等生物识别元件及制备相应的量子点标记竞争物, 该法亦可望实现对其他小分子药物的快速检测及多种抗生素类药物的同时检测。

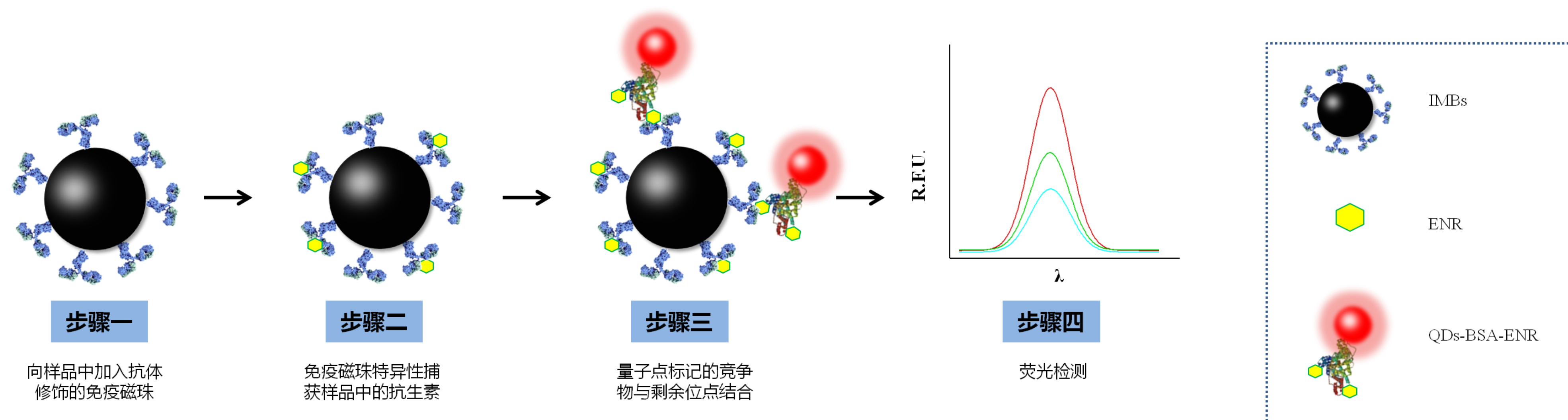


图1. 基于免疫磁珠和荧光量子点的纳米生物传感器检测恩诺沙星的原理示意图

结果和讨论

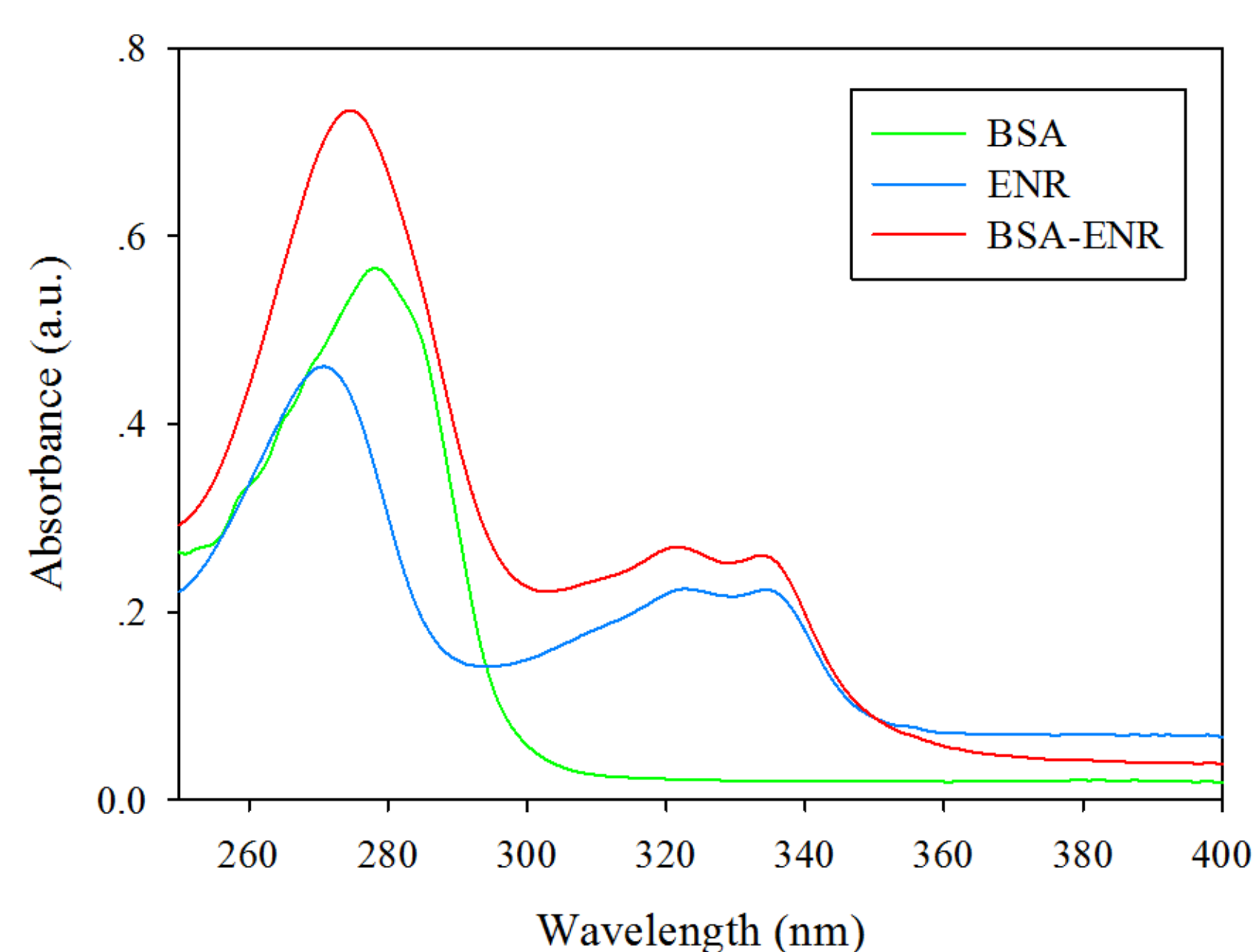


图2. ENR、BSA和BSA-ENR紫外扫描图谱

恩诺沙星的吸收峰主要集中在271 nm, 322 nm和334 nm左右, 载体蛋白BSA在278 nm处有最大吸收峰, 而BSA-ENR的吸收峰为275 nm, 322 nm和334 nm, 由于BSA与ENR二者吸收峰的叠加效应, 使ENR-BSA出现的特征峰与ENR和BSA纯品相比, 有一定的位移, 据此判定ENR-BSA的成功合成。

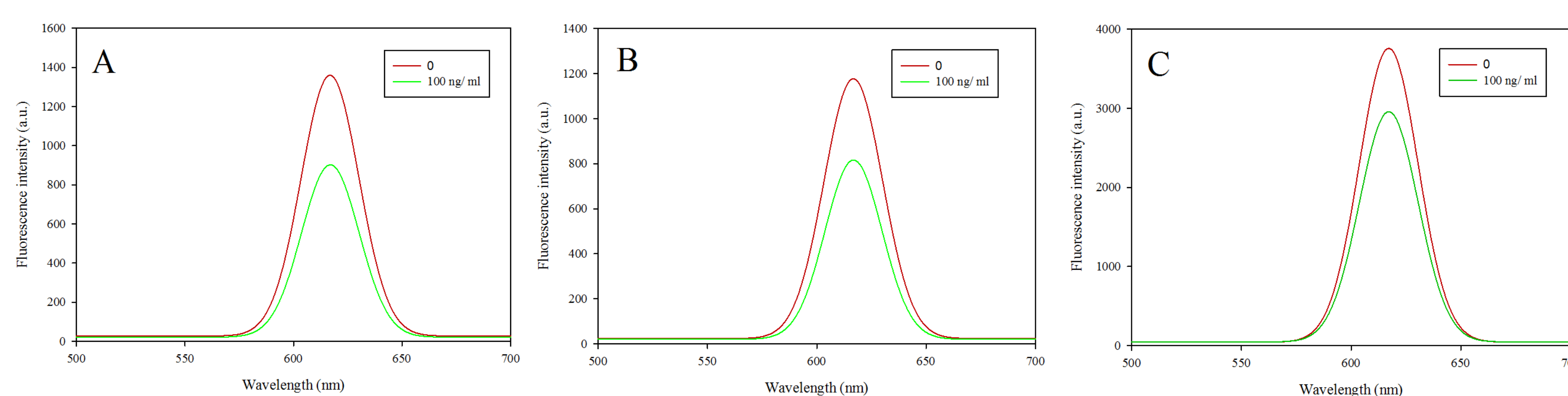


图4. 基于免疫磁珠和荧光量子点的纳米生物传感器检测鸡肉样品中的恩诺沙星, 恩诺沙星浓度为100 ng/ml

(A) 对照, PBS缓冲液; (B) 鸡肉样品, 采用乙腈-0.1 M NaOH提取恩诺沙星, 样品经正己烷除脂后进行检测; (C) 鸡肉样品, 采用PBS-超声法提取恩诺沙星, 提取液经0.45 μm纤维素滤膜过滤后进行检测

利用免疫磁珠和荧光量子点方法能实现实际鸡肉样品中恩诺沙星的检测。采用PBS-超声法提取恩诺沙星进行检测时, 非特异性吸附严重, 这可能是由于样品中大量存在蛋白质和脂类物质; 而采用乙腈-0.1 M NaOH提取恩诺沙星, 再经正己烷脱脂后, 检测性能与在PBS缓冲体系中的性能无明显差异, 进一步说明了该方法可以很好地应用于实际样品的检测。

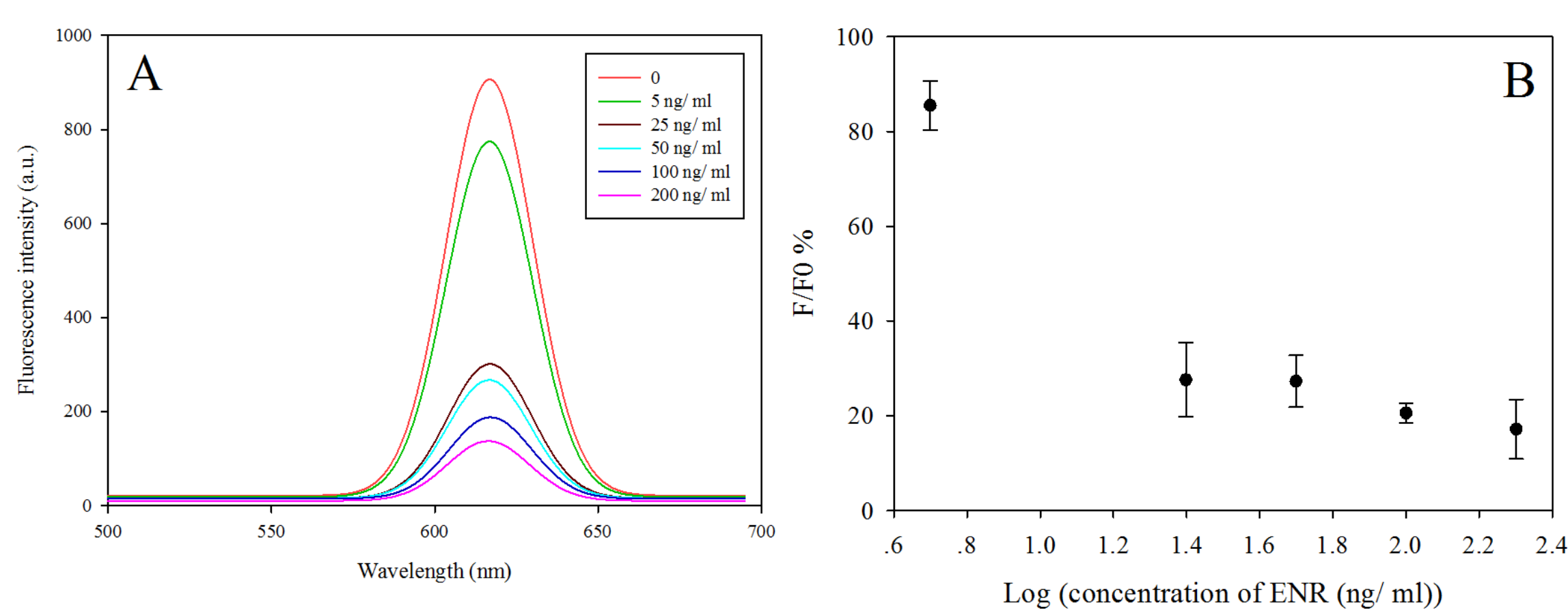


图3. 基于免疫磁珠和荧光量子点的纳米生物传感器检测PBS缓冲液中不同浓度的恩诺沙星

(A) 添加不同浓度的恩诺沙星的荧光光谱图; (B) 荧光信号与恩诺沙星浓度的关系图

对不同浓度的恩诺沙星进行荧光检测, 荧光信号强度随着恩诺沙星浓度的提高而下降, 说明待检测的恩诺沙星与量子点标记的恩诺沙星类似物能够竞争性结合免疫磁珠表面的结合位点。

结论

- 利用免疫磁珠和荧光量子点构建了一种基于竞争法的纳米生物传感器, 利用该传感平台可以实现对氟喹诺酮类抗生素的快速检测。该生物传感器在实际鸡肉样品中具有优异的检测性能, 由此具备现场快速检测的潜力。
- 后期将结合自研的便携荧光检测仪在家禽生产链进行现场检测。

致谢

沃尔玛百货公司国际合作研究项目“优质优禽计划”(0402-70013-21-0000)

参考文献

- Yu H. W., Jang A., Kim L. H., et al., Environ. Sci. Technol., 2011, 45:7804-7811.
Li N., Chow A. M., Ganesh H. V. S., et al., Anal. Chem., 2013, 85:9699-9704.

Contact: yanbinli@zju.edu.cn