一步法修饰纸表面以捕获DNA探针：其方法、机理、及应用

分析化学 (/news/tag/12) 由 X-MOL发布于 2020-06-12

近日，**美国德克萨斯大学埃尔帕索分校**（The University of Texas at El Paso, UTEP）的**李秀军**（XiuJun Li）（点击查看介绍 (http://www.x-mol.com/university/faculty/46687)）团队报道了一种简单、通用、低成本的**一步法用于纸的表面修饰以固定DNA探针**，实现了方便、快捷、高效的**纸芯片基因微阵列**（paper-based DNA microarray）。该团队系统进一步研究了DNA分子在纸表面的固定机理，并应用于对病原体（*Giardia lamblia*）的快速、灵敏、低成本的检测。

基因微阵列（DNA microarray）或基因芯片技术在很多领域，尤其是疾病诊断，发挥了重要的作用。传统的基因芯片主要依赖于玻片载体，通过对玻片的修饰，核酸探针将以共价键或非共价键的作用固定在玻片表面，从而实现对目标核酸的检测。然而，玻片载体的表面修饰离不开危险性化学清洗溶液（例如piranha solution），昂贵的专业设施（例如cleanroom），而且处理过程通常比较复杂，且成本高、耗时长，极大地限制了其在即时检测（POCT）中的应用。因此，许多科研工作者致力于研发简单、快捷、低成本的基因芯片载体。近年来，纸芯片因具有独特的三维多孔结构和较低的制作成本，受到众多研究者的青睐。以纸芯片为载体的基因分析技术在环境监测、食品安全监控、即时检测等许多领域都有较好的应用前景。然而，这些方法通常利用多步交联反应（cross-linking reaction）固定生物分子或探针，并依赖于对生物分子（例如DNA）的功能化修饰（胺基、巯基等），阻碍了其更加广泛的应用。

为解决以上问题，李秀军团队研发了一种简单、通用、低成本的一步法，用于修饰纸表面并捕获无需功能化的核酸探针（图1）。此方法的设计基于以下设想：利用纸表面的羟基与APTMS（3-aminopropyl trimethoxysilane）的三甲氧基硅烷反应，引入质子化的胺基，因此导致纸表面带正电；此外，由于DNA探针分子的磷酸基团带有负电荷，探针分子将通过静电吸引作用固定在APTMS修饰过的纸上，通过DNA分子杂交，目标物（Cy3标记）将被分析检测。为验证这一设想，作者采用了多种表征手段，分别验证APTMS修饰过程和DNA分子固定过程。首先，通过对比未修饰的纸，修饰过的纸与常用的荧光探针（荧光素）反应导致荧光增强约30倍，证明了APTMS修饰之后，大量胺基存在于纸表面。其次，X射线光电子能谱分析（XPS）和红外光谱分析（FT-IR）证明了对纸表面修饰后，胺基的引入有利于DNA分子在纸上的固定。

(https://www.x-mol.com/ref/1019)

(https://www.x-mol.com/ref/1091)

(https://www.x-mol.com/ref/1023)

(https://www.x-mol.com/ref/1018)

(https://www.x-mol.com/ref/1021)

(https://www.x-mol.com/ref/1022)

(https://www.x-mol.com/ref/982)

求职 (/recruitment/jobs) 发Paper (/8Paper/list) 文献直达 (/zd) 登录 (/login) 注册 (/register/index)
首页 (/) 资讯 (/news) 期刊 (/paper)

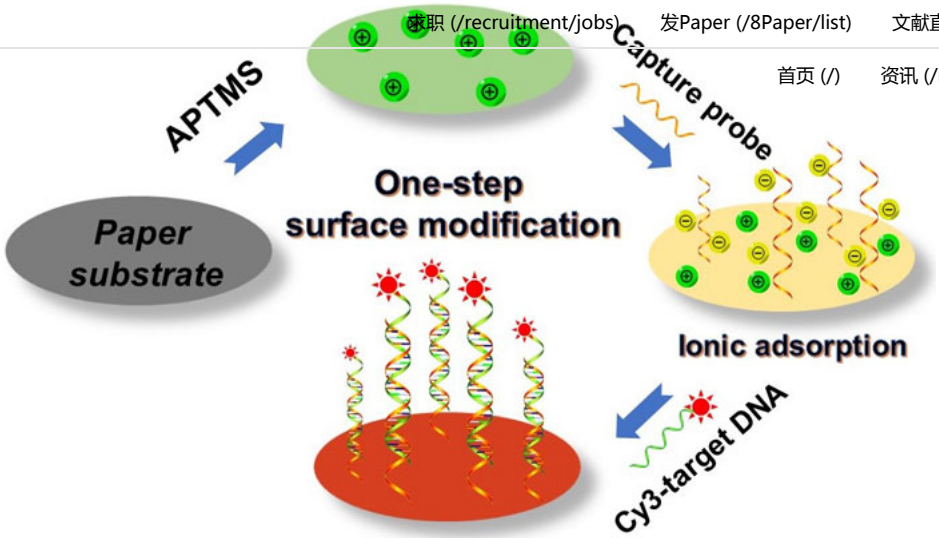

图1. 一步法修饰的纸表面通过离子吸附原理固定并检测DNA。

为进一步探究DNA分子在纸上的捕获机理，作者研究了不同pH体系对DNA在纸上的固定效率的影响。实验发现（图2A-B），DNA固定效率取决于不同pH下，两个因素的相互作用：纸表面质子化胺基的正电荷与DNA分子磷酸基团的负电荷。在pH大于胺基pK_a（11.0）时，纸表面的正电荷减少，且占主导作用，不利于DNA固定，因此pH越高，DNA固定效率越低。另一方面，pH小于11.0时，纸表面保持正电，DNA固定效率取决于磷酸基团的负电荷的多少，由于磷酸根的pK_a（2.1、7.2、12.5）值分别对应不同的离子（$H_2PO_4^-$、HPO_4^{2-}、PO_4^{3-}），因此pH越高，在纸上固定的DNA分子越多。在pH（7.0-11.0），DNA的固定效率达到最大值，为最优pH条件。此结果也验证了此方法的机理：DNA分子是通过异电荷离子吸附作用固定在APTMS修饰的纸上。

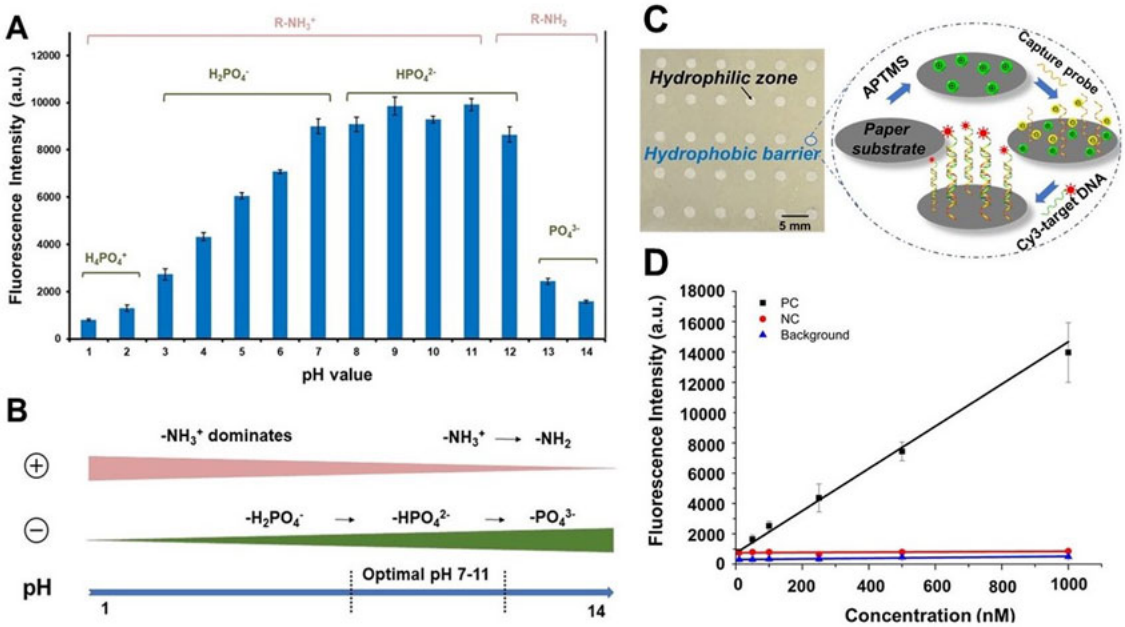

图2. 利用一步法修饰的纸固定DNA分子的机理研究及应用。（A）不同pH对DNA分子在纸上固定效率的影响，以及（B）纸表面和DNA分子的电荷、离子存在形式随pH的变化。（C）一步法修饰的纸芯片，（D）及其在定量检测病原体DNA的应用。

此外，通过对比分析不同基因芯片载体（纸和玻片），以及不同表面修饰方法（一步修饰法和常用的多步交联反应修饰法），该研究证明了纸载体在固定DNA时优于传统的玻片载体，单次检测成本由$18降至$0.06。而且，对比多步交联反应修饰方法，一步修饰法无需复杂、耗时（3 h vs 0.5 h）的步骤，以及对DNA分子的功能化，即可获得相同水平的DNA纸上固定效率。通过此方法，修饰后的纸芯片被应用于特异性检测食源性贾第虫病原体（图2C-D），检测范围在10-1000

跟Nature、Science文章学绘图 点击查看 (https://www.x-mol.com/ref/932)
新功能 期刊版块 登录后可隐藏1h前已浏览文章 (https://www.x-mol.com/ref/862)
中洪博元 高端医学科研服务 (https://www.x-mol.com/ref/981)
课题组网站 新增 自定义项目 模块设置功能 风格多样 (https://www.x-mol.com/ref/138)
新版X-MOL期刊搜索和高级搜索功能介绍 欢迎大家提出宝贵意见 >> (https://www.x-mol.com/ref/691)
ACS材料视界 材料学最新文章解读专栏 立即查看 (https://www.x-mol.com/ref/598)
X-MOL已收录6500种期刊 包括预印本chemRxiv, medRxiv bioRxiv和计算机领域arXiv 欢迎建议您想收录的期刊 >> (https://www.x-mol.com/ref/644)
2020年化学与精细化工广东省实验室—香港大学 联合培养博士生招生启事 (https://www.x-mol.com/ref/1024)

招聘 (/recruitment/jobs) 发Paper (/paper/list) 文献直达 (/zd) 登录 (/login) 注册 (/register/index)
首页 (/) 资讯 (/news) 期刊 (/paper)

nM，检测限为22 nM，从而实现了通用（无需对DNA探针分子特定功能化修饰）、快速（检测时间缩短至1/6）、灵敏（灵敏度提至30倍）、低成本（成本降至1/300）的定量DNA检测。鉴于DNA探针、DNA适配体在生物分析中的广泛使用，该方法将为纸芯片在基因分析检测，尤其是疾病和病原体的即时检测方面，提供广阔的应用前景。

这一研究成果近期发表在***Analytical Chemistry*** 上，文章的第一作者**周婉**，目前博士在读。此外，该团队正在开展该方法的拓展应用。

原文（扫描或长按二维码，识别后直达原文页面，或点此查看原文 (https://www.x-mol.com/xref/acs-analchem-0c00317)）：

One-Step Surface Modification to Graft DNA Codes on Paper: The Method, Mechanism, and Its Application

Wan Zhou, Mengli Feng, Alejandra Valadez, XiuJun Li*

Anal. Chem., **2020**, *92*, 7045−7053, DOI: 10.1021/acs.analchem.0c00317

李秀军博士简介

李秀军，美国德克萨斯大学埃尔帕索分校（The University of Texas at El Paso，缩写UTEP）终身副教授，2008年于加拿大西门菲莎大学（Simon Fraser University，SFU）取得博士学位，2008至2009年在美国加州大学伯克利分校（UC Berkeley）从事博士后研究，2010年至2011年在哈佛大学（Harvard University）师从著名的George Whitesides教授从事博士后研究，2012年初就职于UTEP。

李秀军课题组的研究领域是面向微流控生物芯片和纳米技术在生物分析、生物医学和环境方面的应用，特别是专注于低成本诊断、病原体和癌症标志物的快速检测、纳米生物传感器、组织工程和单细胞分析等领域的创新和研发；在相关领域发表SCI论文87余篇，包括以通讯作者身份发表*Chem. Sci.*、*Adv. Drug Deliv. Rev.*、*TRAC-Trend Anal. Chem.*、*Appl. Catal. B-Environ.*、*Nanaoscale*、*Anal. Chem.*、*Chem. Commun.*、*Biosens. Bioelectron.*、*Lab Chip* 等，发明专利16项，并在Elsevier出版专著Microfluidic Devices for Biomedical Applications；担任Nature Publishing Group旗下Scientific Reports和Micromachines等多家期刊的资深编辑，Lab Chip 和 Analyst 的Advisory Board成员；曾获得“Bioanalysis Young Investigator Award” (2014)、Outstanding Faculty Research Mentoring Award（2018和2016两次）、NIH BUILDING Scholar Mentoring Award (2017)、UT STARS Award (2012)、Dean of Graduate Studies Convocation Medal from SFU (2009)以及中国国家优秀自费留学生奖（2004）等。

李秀军

http://www.x-mol.com/university/faculty/46687 (http://www.x-mol.com/university/faculty/46687)

课题组链接

http://li.utep.edu (http://li.utep.edu)

(https://www.x-mol.com/ref/211)
(https://www.x-mol.com/ref/168)
(https://www.x-mol.com/ref/210)
(https://www.x-mol.com/ref/151)
(https://www.x-mol.com/ref/209)
(https://www.x-mol.com/ref/162)
(https://www.x-mol.com/ref/143)
(https://www.x-mol.com/ref/118)
(https://www.x-mol.com/ref/130)

如果篇首注明了授权来源，任何转载需获得来源方的许可！如果篇首未特别注明出处，本文版权属于 **X-MOL**（ x-mol.com (/) ），未经许可，谢绝转载！

结构形貌 | 成分含量 | 材料性能

(https://www.x-mol.com/ref/65)

友情链接：

(http://www.chem-station.com/cn/)

我有话说~~

评论

微信扫一扫，关注我们的公众账号!

客服邮箱：service@x-mol.com (mailTo:service@x-mol.com)

官方微信：X-molTeam2

邮编：100098

地址：北京市海淀区知春路56号中航科技大厦

扫一扫下载APP

X-MOL公众号

Copyright © 2014-2020 北京衮雪科技有限公司 All Rights Reserved 京ICP备11026495-2号 (http://www.beian.miit.gov.cn/)

京公网安备 11010802027423号 (http://www.beian.gov.cn/portal/registerSystemInfo?recordcode=11010802027423)