

适配体在生物毒素检测中的应用进展

王 耀<sup>1,2</sup>,李少珍<sup>1,2</sup>,游 一<sup>3</sup>,王 珊<sup>4</sup>,李志娟<sup>4</sup>,胡晓飞<sup>2</sup>,王方雨<sup>2\*</sup>

(1.河南科技大学 食品与生物工程学院/食品加工与安全国家实验教学示范中心,河南 洛阳 471023;  
2.河南省农业科学院 河南省动物免疫学重点实验室,河南 郑州 450002; 3.河南省农业科学院  
畜牧兽医研究所,河南 郑州 450002; 4.河南安必诺检测技术有限公司,河南 郑州 450001)

**摘要:**食物中毒是一类重要的食源性疾病,近年来由生物毒素引起的食物中毒事件频繁出现,引起了社会广泛关注,对于食品中生物毒素的快速、高效检测提出了更高要求。在众多快速检测技术中,基于适配体的检测方法是目前的研究热点之一。作为新型识别工具,适配体具有特异性强、亲和力和力高、制备成本低等明显优势,已被应用于食品中有害物质的识别检测。对适配体及其在各类生物毒素检测中的应用进行综述,并对该技术存在的问题及其发展方向进行探讨,以期促进基于适配体的检测方法在生物毒素快速检测中得到进一步的推广和应用。

**关键词:**适配体;生物毒素;检测

**中图分类号:** S859.84      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2018)02-0001-06

Application Progress of Aptamer in Biotoxin Detection

WANG Yao<sup>1,2</sup>, LI Shaozhen<sup>1,2</sup>, YOU Yi<sup>3</sup>, WANG Shan<sup>4</sup>, LI Zhijuan<sup>4</sup>, HU Xiaofei<sup>2</sup>, WANG Fangyu<sup>2\*</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology/National Demonstration Center for Experimental Food Processing and Safety Education, Luoyang 471023, China; 2. Henan Key Laboratory of Animal Immunology, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 3. Animal Husbandry and Veterinary Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;  
4. Henan Anbinuo Inspection Technology Co. Ltd., Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Food poisoning is an important foodborne disease. In recent years, food poisoning caused by biotoxins has been aroused the social widespread interest, thus the rapid and efficient detection of biotoxins in food has raised higher requirements. In many rapid detection techniques, the detection method based on the aptamer is one of the research focus. As a new recognition tool, aptamer has the advantages of strong specificity, high affinity and low cost of preparation. In this paper, the aptamer and its application in various biological toxin detection were reviewed, and the existing problems and development direction of the technology were discussed, so as to promote the application aptamer-based method in the rapid detection of biotoxins.

**Key words:** Aptamer; Biotoxins; Detection

生物毒素是动物、植物、微生物分泌代谢或半生物合成产生的、不可自复制的有毒化学物质,对其他生物物种具有毒害作用,按其来源可以将其分为微生物毒素、植物毒素和动物毒素。生物毒素在食品

中的含量通常比较低,但其危害大、毒性强、难以控制,且生物毒素可以在众多环节影响食品安全:一是误食含有有毒成分的菌类、植物、动物及其加工制品;二是加工前毒素成分没有被完全去除;三是加工

收稿日期:2017-08-22

基金项目:河南省2016年财政预算项目;河南省基础与前沿项目(142300413222);河南科技大学博士科研启动基金项目(13480062);河南省高等学校重点科研项目(18B550001)

作者简介:王 耀(1986-),男,河南三门峡人,讲师,博士,主要从事食品安全检测研究。  
E-mail:wangyao@haust.edu.cn

\* 通讯作者:王方雨(1978-),男,河南南阳人,副研究员,博士,主要从事食品安全检测研究。E-mail:sprinkle.w@126.com

过程中毒素成分没有被完全破坏。近几年,生物毒素中毒事件频繁发生,其导致的死亡人数位列各类食物中毒首位<sup>[1]</sup>。因此,研究针对食品中生物毒素的检测方法显得尤为重要。目前,应用于食品中生物毒素检测的传统方法有毛细管电泳法(Capillary electrophoresis, CE)<sup>[2-4]</sup>、高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[5-8]</sup>、酶联免疫法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[9-12]</sup>、质谱法(Mass spectrometry, MS)<sup>[13-15]</sup>等,这些方法在生物毒素检测中发挥了重大的作用,但均存在一定的局限性,如 CE 和 HPLC 的样品预处理和仪器使用较复杂、ELISA 的抗体稳定性难以保证、MS 操作复杂等。因此,简便快速、特异稳定的生物毒素检测技术是研究人员所追求的目标。适配体作为一种新型识别分子,具有很强的特异性和稳定性,能够作为 ELISA 方法中抗体的一种代替物,也可以作为化学和生物传感器检测方法中的识别元件<sup>[16]</sup>。因此,基于适配体的检测方法成为快速检测技术的研究热点之一,目前部分适配体已成功应用于食品安全检测方法的建立<sup>[17-20]</sup>。综述了以生物毒素为靶标的适配体在检测分析中的应用,以期对相关研究者提供参考,促进基于适配体的快速检测方法的应用与发展。

## 1 适配体简介

适配体又称为适配子,是通过指数富集的配基系统进化技术(Systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选出来的寡聚核苷酸片段<sup>[21]</sup>,其长度一般不超过 100 nt<sup>[22]</sup>。它能特异结合蛋白质或其他小分子物质,该寡聚核苷酸片段可以是 DNA,也可以是 RNA<sup>[23-24]</sup>。

适配体可通过化学途径在体外合成,不需要免疫生物体,因此,也被称为“化学抗体”<sup>[25]</sup>。但与传统抗体相比,核酸适配体拥有许多优势<sup>[26-27]</sup>:(1)靶分子范围非常广泛,可以是小分子物质如金属离子、氨基酸等,也可以是大分子物质如酶、抗体等,甚至是完整的病毒、细菌等;(2)特异性强,适配体和靶分子结合时会发生适应性折叠,通过氢键、静电作用、范德华力等作用形成发夹、茎环、G-四聚体等特殊的三维结构,使得适配体可以识别靶分子上细微的差别;(3)亲和力高,适配体与靶分子的解离常数一般在微摩尔到纳摩尔范围内,甚至达到皮摩尔;(4)分子量较小,一般由 25~80 个碱基组成,可以接近免疫球蛋白难以接近的区域;(5)性质稳定,寡聚核苷酸片段的变性和复性是可逆的,可以干粉形

式保存数年;(6)筛选周期短,其筛选不依赖于生物体,通常一个核酸适配体的筛选周期为 2~3 个月;(7)易修饰、标记,且可反复使用等。

用于适配体筛选的 SELEX 技术是利用分子生物学技术体外构建单链 DNA 或 RNA 文库,再将文库与靶分子进行孵育,把不与靶分子结合和与靶分子亲和力低的 DNA 或 RNA 分子洗去,然后进行聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)扩增,通过反复的体外扩增与筛选后,与靶分子结合并且具有高亲和力和特异性的核酸适配体就从文库中筛选出来(图 1)<sup>[28-31]</sup>。随着 SELEX 技术的迅速发展,已经有毛细管电泳 SELEX<sup>[32]</sup>、荧光磁珠 SELEX<sup>[33-34]</sup>、自动化 SELEX<sup>[35]</sup>、消减 SELEX<sup>[36]</sup>、细胞 SELEX<sup>[37]</sup>等方法的报道。但是 SELEX 仍然是一个复杂的筛选过程,没有统一的标准化流程,扩增的过程中经常会产生非特异性的片段,较难分离出高亲和力、特异性强的适配体,所以如何高效率地分离出亲和力高、特异性强的适配体仍需进行深入研究。

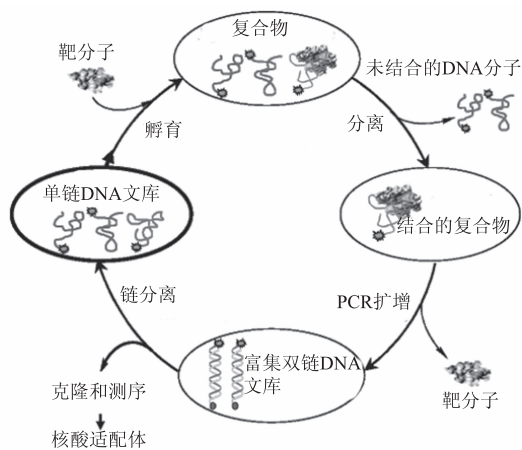


图 1 适配体的筛选过程

## 2 适配体的筛选方法

SELEX 技术总体来说包括 4 个方面:结合、分离、洗脱、扩增<sup>[38]</sup>,通过不断地循环富集得到靶标的适配体,在这个过程中,只要高效、快速地分离与靶标结合的单链核酸就能大大提高筛选的效率。其分离过程通常包括预先固定靶标法、预先固定单链核酸库法和非固定的直接分离法<sup>[39]</sup>。

### 2.1 固定靶标分离法

固定靶标分离法通常是通过吸附、共价键或者生物素-亲和素特异性的相互作用等方式,将靶标固定在磁珠、微孔板、层析柱等固相载体上。与核酸库孵育之后,特异性识别靶标的单链核酸就会与靶标结合在一起,将不与靶标结合的单链核酸、与靶标

结合力弱的单链核酸洗脱掉,从而实现了靶标核酸复合物与非结合靶标的单链核酸的分离。

2.2 固定核酸库分离法

利用 ssDNA 易修饰的特点,用 ssDNA 修饰生物素,用固相载体修饰链霉亲和素,通过生物素-亲和素的特异性相互作用,ssDNA 就被固定在了固相载体上,而 ssDNA 的序列可以与核酸库的部分序列互补,这样核酸库通过 ssDNA 固定在了固相载体上,当样品中含有靶标时,核酸库中的部分单链核酸就会与靶标特异结合,从而从固相载体脱落下来,如此便得到了靶标与核酸的复合物,实现了分离。

2.3 直接分离法

无论是固定靶标还是固定核酸库,都会改变分子的天然构象,且还需考虑固相载体是否参与相互作用,故发展了既不固定靶标也不固定核酸库的直接分离法。直接分离法中靶标与核酸库是在自由溶液中的进行的,直接将靶标与核酸的复合物分离出来,最大程度地保持了分子的天然构象,且减少了固相载体的干扰。

上述分离方法已经成功用于核酸适配体的筛选,如磁珠固定靶标<sup>[40]</sup>、硝酸纤维素膜固定靶标<sup>[41]</sup>、微珠固定核酸库<sup>[42]</sup>、直接分离<sup>[43-44]</sup>等,随着这些分离方法的不断成熟,将会筛选出越来越多的高亲和力的核酸适配体,作为探针或者检测元件用于生物化学、分子生物学、分析化学、医学、药学、生物信息学等领域。

3 适配体在生物毒素检测中的应用

3.1 微生物毒素检测

微生物毒素包括细菌毒素和真菌毒素,是危害较大的生物毒素,它可以污染食品生产过程中的各个环节。食用被微生物毒素污染的食物,将会对人体健康造成危害。如食用被金黄色葡萄球菌肠毒素污染的食物,轻则引起恶心、呕吐和腹泻,重则引起中毒性休克;桔青毒素具有肝毒性、肾毒性、生殖毒性,可以诱导细胞产生畸变和凋亡,食用被桔青毒素污染的食物,可引起肾脏肿大、肾小管扩张甚至上皮细胞变性坏死等症状。目前,已有多种微生物毒素的核酸适配体被筛选出来。Degrasse<sup>[45]</sup>筛选出一条能够跟金黄色葡萄球菌肠毒素 B (SEB) 特异结合的单链 DNA 适配体,并成功用于 SEB 的检测,显示出了良好的灵敏度,这种快速、低成本的检测方法可以广泛应用于食品中 SEB 的检测。张亚军等<sup>[46]</sup>利用荧光染料可以特异地与双链 DNA 结合后产生荧光来检测桔青毒素,当筛选的桔青毒素适配体与桔青

毒素结合后,与适配体的互补链不再结合,开发出一种基于适配体的、非荧光标记的检测桔青毒素的方法,解离常数为 0.06 μmol/L。桂海雯等<sup>[47]</sup>同样将荧光染料和核酸适配体结合起来定量检测伏马毒素 B<sub>1</sub>,伏马毒素 B<sub>1</sub> 核酸适配体结合伏马毒素 B<sub>1</sub> 后,将不再与其互补链结合,而未与伏马毒素 B<sub>1</sub> 结合的核酸适配体与其互补链杂交形成双链 DNA,然后被荧光染料识别,最终根据荧光强弱间接反映伏马毒素 B<sub>1</sub> 的浓度。张勇等<sup>[48]</sup>把赭曲霉毒素 A 的适配体与便携式血糖仪结合起来构建一个生物传感器,可以快速、定量检测赭曲霉毒素 A,最低检出限是 2.69 μg/kg,该方法实现了自主检测,为定量检测赭曲霉毒素 A 提供了一种新思路。利用核酸适配体作为探针或者作为生物传感器元件所建立的生物毒素检测方法有很多,表 1 列举了近 3 a 微生物毒素的适配体检测方法。

表 1 微生物毒素的适配体检测方法

靶标	基质	检出限	参考文献
棒曲霉毒素	苹果汁	0.1 ng/mL	[49]
棒曲霉毒素	苹果汁	0.086 ng/mL	[50]
黄曲霉毒素 B <sub>1</sub>	婴幼儿米粉	25 fg/mL	[51]
黄曲霉毒素 B <sub>1</sub>	花生油	1.4 nmol/L	[52]
黄曲霉毒素 M <sub>1</sub>	婴幼儿米粉	1.7 ng/mL	[53]
黄曲霉毒素 M <sub>1</sub>	牛奶	5.0 ng/kg	[54]
玉米赤霉烯酮	玉米	0.01 ng/mL	[55]
T-2 毒素	啤酒	107 pmol/L	[56]
肠毒素 A	牛奶	8.7 ng/mL	[57]

3.2 植物毒素检测

植物毒素包括植物天然内因毒素和植物天然外因毒素,现在已经发现的植物毒素超过了 1 000 种,主要是植物体内代谢生成的有毒化学成分或者植物富集的某些特殊化学成分<sup>[58-59]</sup>。如果误食这些有毒的植物或者被植物毒素污染的食物则会引起食物中毒,严重的甚至导致死亡。如相思子毒素,它通过抑制细胞内蛋白质的合成而导致细胞死亡;食用了含有蓖麻毒素的食物将会因循环衰竭而死亡。He 等<sup>[60]</sup>设计出了一种基于核酸适配体的表面增强拉曼散射法来检测液体食品中的蓖麻毒素,与传统免疫检测方法相比,该方法易操作且灵敏度较高,在磷酸缓冲液中的检出限是 10 ng/mL,在橘子汁中的检出限是 50 ng/mL,在牛奶中的检出限是 100 ng/mL,是一种简单、快速、灵敏的蓖麻毒素检测新方法。Hu 等<sup>[61]</sup>设计出了一种基于适配体的比色传感器法来检测相思子毒素,利用相思子毒素的适配体可以被吸附在金纳米粒子的表面上的特性,形成适配体-金纳米粒子复合物,从而提高金纳米粒子在过氧化

氢( $H_2O_2$ )存在下催化 3,3',5,5' - 四甲基联苯胺(TMB)的能力,当加入相思子毒素的时候,适配体特异性结合相思子毒素而从金纳米粒子表面脱落,导致金纳米粒子的催化能力降低,引起溶液的颜色发生变化,可以通过肉眼或者紫外可见光光度计来检测,以此来检测相思子毒素,检出限是 0.05 nmol/L。该方法所用适配体不需要修饰,简单、灵敏度高且成本低,可以推广应用于检测食品中的相思子毒素。Eissa 等<sup>[62]</sup>首次从单链寡核苷酸库中成功得到了高亲和力的双鞭甲藻毒素-2(Double whip dinoflagellates toxin-2, BTX-2)的 DNA 适配体,并设计成电化学传感器来检测 BTX-2,该方法用到了高灵敏度的法拉第阻抗谱和成本低的电化学传感器,具有高度的稳定性和成本低的优势,有望取代当前复杂的免疫学方法来检测 BTX-2。

### 3.3 动物毒素检测

动物毒素是指动物体分泌的可引起中毒的物质,是动物生存的基本手段之一,而食用了被动物毒素污染的食品或者误食含有毒素的动物则会引起严重的食物中毒。如存在于河豚体内的河豚毒素,人体中毒之后手指、舌、唇会有刺痛感,严重者呼吸困难、昏迷,最后死于呼吸衰竭。邵碧英等<sup>[63]</sup>以河豚毒素(Tetrodotoxin, TTX)适配体为探针建立了快速筛选检测 TTX 的 DNA 适配体-荧光染料法,该方法对适配体和 TTX 结合的磷酸盐缓冲液 pH 值以及荧光染料结合所需时间进行了优化,检出限达到了  $10^{-6}$  mol/L。Lauridsen 等<sup>[64]</sup>建立了一步法筛选  $\alpha$ -银环蛇毒素适配体,经过 PCR 扩增后筛选,成功得到了  $\alpha$ -银环蛇毒素适配体,解离常数为 7.58 mmol/L,由于该方法得到的适配体亲和力较低,所以限制了其应用。Ye 等<sup>[65]</sup>经过 10 轮筛选出了对  $\beta$ -银环蛇毒素具有高亲和力的 DNA 适配体,经测试该适配体对  $\alpha$ -银环蛇毒素和其他蛇毒素不具有亲和力,具有较强的特异性,可以用于建立  $\beta$ -银环蛇毒素检测方法。

## 4 小结与展望

综上所述,适配体自问世以来发展迅速,特别是 SELEX 技术和其他技术的结合,使适配体在食品安全检测研究中作用显著,与其他分析检测方法相比,基于适配体的检测方法具有易操作、检测时间短、灵敏度高、成本低等优势,可广泛应用于食品中生物毒素的检测。但目前适配体仍主要应用于微生物毒素的检测,用于植物毒素和动物毒素检测的报道相对较少。

适配体在生物毒素检测领域虽然具有很多优势,但仍面临着一些挑战。第一,食品基质较为复杂,除检测靶标之外的其他物质繁多,基质效应将影响适配体与生物毒素结合的灵敏度和特异性,如何针对不同食品设定标准的前处理程序,是建立适配体检测方法所面临的问题;第二,亲和力高、特异性强的适配体不易获得,目前 SELEX 技术虽然较为成熟,但程序仍较为复杂,如何快速、简单、高效地筛选适配体仍需深入研究;第三,适配体在筛选过程中,其与靶标的亲和力变化仍缺乏准确有效的监测方法;第四,适配体的筛选大多针对某一个靶标进行,不利于同类型多靶标检测方法的建立,如果能对同类靶标相同基团的适配体筛选进一步研究,将大大提高检测效率。总之,适配体在生物毒素检测领域的应用仍需进一步的研究。随着适配体与传感检测、层析检测等快速检测技术的不断融合,未来的生物毒素检测技术将向快速灵敏、稳定特异的高通量检测方向发展,适配体在食品安全检测中也将发挥更为重要的作用。

### 参考文献:

- [1] 卢爱民,卢波君,曹德康,等.餐饮业食品安全保障中常见生物毒素的检测与控制[J].武警医学,2014,25(6):620-622.
- [2] 吕国平,魏秀萍,卫沛楠,等.基于毛细管电泳的 MLVA 分型方法在金黄色葡萄球菌食物中毒中的应用[J].卫生研究,2013,42(5):814-817.
- [3] Ginterová P, Sokolová B, Ondra P, et al. Determination of mushroom toxins ibotenic acid, muscimol and muscarine by capillary electrophoresis coupled with electrospray tandem mass spectrometry[J]. Talanta, 2014, 125(11): 242-247.
- [4] 王晓琳,杜红珍,李增宁,等.毛细管电泳-化学发光联用法检测粮食中的伏马菌素 B1[J].中国食品卫生杂志,2015,27(4):382-385.
- [5] 谢刚,王松雪,张艳.超高效液相色谱法快速检测粮食中黄曲霉毒素的含量[J].分析化学,2013,41(2):223-228.
- [6] Dong J, Ying B, Huang S, et al. High-performance liquid chromatography combined with intrinsic fluorescence detection to analyse melittin in individual honeybee (*Apis mellifera*) venom sac[J]. Journal of Chromatography B, 2015, 1002:139-143.
- [7] 梁桂娟,张琼,杨波.高效液相色谱-荧光检测法检测大米中的赭曲霉毒素 A[J].中国酿造,2015,34(8):136-138.
- [8] 莫瑾,龚强,周慧平,等.高效液相色谱-串联质谱法

- 检测茶叶中的赭曲霉毒素 A[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 182-187.
- [9] 黄玉柳, 黄国秋, 叶欣宇, 等. 酶联免疫法快速检测贝类中腹泻性贝类毒素[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(11): 93-94.
- [10] Stanker L H, Scotcher M C, Cheng L, *et al.* A monoclonal antibody based capture ELISA for botulinum neurotoxin serotype B; Toxin detection in food[J]. *Toxins*, 2013, 5(11): 2212-2226.
- [11] Costa P R, Robertson A, Quilliam M A. Toxin profile of gymnodinium catenatum (dinophyceae) from the portuguese coast, as determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Marine Drugs*, 2015, 13(4): 2046-2062.
- [12] 谢体波, 刘红, 陆苇, 等. 间接竞争 ELISA 检测试剂盒测定粮油食品中的黄曲霉毒素 B1[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(7): 2834-2839.
- [13] 张艳萍, 傅晓航. 液相色谱-质谱法检测水产品中腹泻性贝类毒素[J]. 浙江科技学院学报, 2015, 27(6): 492-495.
- [14] 陈剑刚, 朱炳辉, 梁素丹, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定贝类产品中麻痹性贝类毒素[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(1): 4-8.
- [15] 梁晶晶, 沈丹, 张玉. 酶联免疫法测定婴幼儿配方乳粉中黄曲霉毒素 M1 的方法研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(4): 163-166.
- [16] Toh S Y, Citartan M, Gopinath S C B, *et al.* Aptamers as a replacement for antibodies in enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2015, 64: 392-403.
- [17] 徐敦明, 吴敏, 邹远, 等. 核酸适体技术在食品安全分析中的应用[J]. 分析化学, 2011, 39(6): 925-933.
- [18] Li X F, Zhang X W. Aptamer-based technology for food analysis[J]. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2014, 175(1): 603-624.
- [19] 卢军利, 葛玮东, 孙建霞, 等. 核酸适配体技术在食品有害物检测中的研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2015, 17(2): 151-158.
- [20] 谭建锡, 陈盼, 莫瑾, 等. 指数富集的配体系统进化技术研究进展及在食品检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 80-84.
- [21] Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase[J]. *Science*, 1990, 249(4968): 505.
- [22] Ellington A D, Szostak J W. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands[J]. *Nature*, 1990, 346: 818-822.
- [23] Liu X, Zhang X. Aptamer-based technology for food analysis[J]. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2015, 175(1): 603-624.
- [24] 姚远, 张波. 核酸适配体及其应用研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2014(8): 1011-1013.
- [25] 于寒松, 隋佳辰, 代佳宇, 等. 核酸适配体技术在食品重金属检测中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(15): 228-233.
- [26] 田育佼. 应用消减 SELEX 技术筛选乙肝表面抗原特异性核酸适配体[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- [27] Yüce M, Ullah N, Budak H. Trends in aptamer selection methods and applications[J]. *Analyst*, 2015, 140(16): 5379-5399.
- [28] Huang R, Xi Z, He N. Applications of aptamers for chemistry analysis, medicine and food security[J]. *Science China Chemistry*, 2015, 58(7): 1122-1130.
- [29] 云雯, 陈世奇, 马丽, 等. 基于核酸适配体的生物传感技术在食品安全领域中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013(14): 395-399.
- [30] 徐龙峰, 王丽. 核酸适体筛选方法的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2015, 28(4): 429-433.
- [31] Drabovich A P, Berezovski M, Victor Okhonin A, *et al.* Selection of smart aptamers by methods of kinetic capillary electrophoresis[J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78(9): 3171-3178.
- [32] Yang J, Bowser M T. Capillary electrophoresis-SELEX selection of catalytic DNA aptamers for a small-molecule porphyrin target[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(3): 1525-1530.
- [33] Kiani Z, Shafiei M, Rahimi-Moghaddam P, *et al.* *In vitro* selection and characterization of deoxyribonucleic acid aptamers for digoxin[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 748: 67-72.
- [34] Zhou N, Wang J, Zhang J, *et al.* Selection and identification of streptomycin-specific single-stranded DNA aptamers and the application in the detection of streptomycin in honey[J]. *Talanta*, 2013, 108: 109-116.
- [35] Hybarger G, Bynum J, Williams R F, *et al.* A microfluidic SELEX prototype[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, 384(1): 191-198.
- [36] Wei C, Liu J, Su D, *et al.* Identification of ssDNA aptamers specific to clinical isolates of *Streptococcus mutans* strains with different cariogenicity[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2016, 33(6): 563-572.
- [37] Ara M N, Hyodo M, Ohga N, *et al.* Development of a novel DNA aptamer ligand targeting to primary cultured tumor endothelial cells by a cell-based SELEX method[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50174.
- [38] 满燕, 吕雪飞, 张玉奎, 等. 核酸适配体及其在生物医学研究中的应用[J]. 航天医学与医学工程, 2013, 26(6): 485-490.

- [39] Duan N, Gong W, Wu S, *et al.* An ssDNA library immobilized SELEX technique for selection of an aptamer against ractopamine[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 961:100-105.
- [40] Escolano J M, Díaz-Durán B, DeMiguel-Ramos M, *et al.* Selection of aptamers to *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae* surface specific proteins and affinity assay using thin film AlN resonators[J]. *Sensors and Actuators B( Chemical)*, 2017, 246:591-596.
- [41] Amaya-González S, de-los-Santos-Álvarez N, Miranda-Ordieres A J, *et al.* Aptamer-based analysis: A promising alternative for food safety control[J]. *Sensors*, 2013, 13(12):16292-16311.
- [42] Gragoudas E S, Adamis A P, Cunningham Jr E T, *et al.* Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration[J]. *New England Journal of Medicine*, 2004, 351(27):2805-2816.
- [43] 栗坤, 修尘林, 高立明, 等. 琼脂磁珠消减 SELEX 技术筛选 HIV gp41 抗原适配体[J]. *南方医科大学学报*, 2016, 36(12):1592-1598.
- [44] Wang L, Liu X, Zhang Q, *et al.* Selection of DNA aptamers that bind to four organophosphorus pesticides[J]. *Biotechnology Letters*, 2012, 34(5):869-874.
- [45] Degrasse J A. A single-stranded DNA aptamer that selectively binds to *Staphylococcus aureus* enterotoxin B[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e33410.
- [46] 张亚军, 金庆日, 邵春艳, 等. 基于适体技术的桔青毒素检测方法的建立[J]. *菌物学报*, 2016, 35(2):209-216.
- [47] 桂海雯, 金庆日, 张亚军, 等. 基于荧光染料 PicoGreen 和核酸适配体的伏马毒素 B1 检测方法[J]. *生物工程学报*, 2015, 31(9):1393-1400.
- [48] 张勇, 郑楠, 文芳, 等. 适配体传感器结合便携式血糖仪定量检测赭曲霉毒素 A 的方法研究[J]. *中国农业科技导报*, 2016, 18(1):182-188.
- [49] 段诺, 张维潇, 吴世嘉, 等. 基于适配体识别 - 可视化检测棒曲霉毒素的方法[J]. *中国科学(化学)*, 2016, 46(3):268-273.
- [50] 张维潇. 基于适配体识别的棒曲霉毒素检测方法研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- [51] 郭晓东. 黄曲霉毒素适配体传感器检测方法建立及其稳定性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014.
- [52] Lu Z, Chen X, 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(3/4):571-578.
- [53] 陈璐. 基于适配体的食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 和 M<sub>1</sub> 的生物传感器检测方法研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2015:29-40.
- [54] Istamboulié G, Paniel N, Zara L, *et al.* Development of an impedimetric aptasensor for the determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk[J]. *Talanta*, 2016, 146:464-469.
- [55] 贾寅, 杨宏伟. 胶体金快速定量法检测粮食中玉米赤霉烯酮[J]. *粮食科技与经济*, 2016, 41(1):35-38.
- [56] 陈秀娟. 镰刀菌毒素核酸适配体的筛选及分析应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015:86-97.
- [57] Huang Y, Chen X, Xia Y, *et al.* Selection, identification and application of a DNA aptamer against *Staphylococcus aureus* enterotoxin A[J]. *Analytical Methods*, 2014, 6(3):690-697.
- [58] 齐洪雨, 邱念伟. 常见植物性食品毒素概述[J]. *现代农业科技*, 2015(7):302-303.
- [59] 任列花, 张登福. 对食用植物中天然毒素的初探[J]. *农产品加工学刊*, 2010, 217(8):85-88.
- [60] He L, Lamont E, Veeregowda B, *et al.* Aptamer-based surface-enhanced Raman scattering detection of ricin in liquid foods[J]. *Chemical Science*, 2011, 2(8):1579-1582.
- [61] Hu J, Ni P, Dai H, *et al.* Aptamer-based colorimetric biosensing of abrin using catalytic gold nanoparticles[J]. *Analyst*, 2015, 140(10):3581-3586.
- [62] Eissa S, Siaz M, Zourob M. Aptamer-based competitive electrochemical biosensor for brevetoxin-2[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 69:148-154.
- [63] 邵碧英, 陈彬, 陈文炳, 等. 河豚毒素 DNA 适配子的制备及应用[J]. *食品科学*, 2014, 35(24):205-208.
- [64] Lauridsen L H, Shamaileh H A, Edwards S L, *et al.* Rapid one-step selection method for generating nucleic acid aptamers: Development of a DNA aptamer against  $\alpha$ -bungarotoxin[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e417021.
- [65] Ye F, Zheng Y, Wang X, *et al.* Recognition of *Bungarus multicinctus* venom by a DNA aptamer against  $\beta$ -bungarotoxin[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105404.