



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103773856 B

(45) 授权公告日 2016.05.18

(21) 申请号 201410005177.0

(22) 申请日 2014.01.02

(73) 专利权人 广东省生态环境与土壤研究所
地址 510650 广东省广州市天源路 808 号

(72) 发明人 陈俊华 周顺桂 温俊林

(74) 专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有
限公司 44205

代理人 郑莹

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68(2006.01)

(56) 对比文件

CN 102207502 A, 2011.11.05,
Junhua Chen, et al. Disposable Strip
Biosensor for Visual Detection of Hg²⁺
Based on Hg²⁺-Triggered Toehold Binding
and Exonuclease III-Assisted Signal
Amplification. 《Analytical Chemistry》. 2014,
第 86 卷 3108-3114.

Xuan F, et al. Conformation-dependent
exonuclease III activity mediated by
metal ions reshuffling on thymine-rich
DNA duplexes for an ultrasensitive

electrochemical method for Hg²⁺ detection.
《Anal Chem.》. 2013, 第 85 卷 (第 9
期), 4586-4593.

Yuqing He et al. visual detection
of Hg²⁺ in aqueous solution using gold
nanoparticles and thymine-rich hairpin DNA
probes. 《Biosens Bioelectron.》. 2012, 第 26
卷 (第 11 期), 4464-4470.

Shi L, et al. An ultrasensitive
electrochemical sensing platform for
hg²⁺ based on a density controllable
metal-organic hybrid microarray.

《Biosensors and Bioelectronics》. 2013,

Chia-Chen Chang et al. an amplified
surface Plasmon resonance “turn-on” sensor
for mercury ion using gold nanoparticles.
《biosensors and bioelectronics》. 2011, 第 30
卷 (第 1 期), 235-240.

审查员 曲凯

权利要求书2页 说明书6页
序列表2页 附图2页

(54) 发明名称

一种汞离子的超灵敏检测方法及检测试剂盒

(57) 摘要

本发明公开了一种汞离子的超灵敏检测方法
及检测试剂盒。本发明将基于核酸外切酶 III 介
导的信号放大技术与试纸条检测技术相结合, 构
建一种痕量汞离子的快速检测方法。本方法具有
很高的灵敏度, 对汞离子的检测限为 10pM, 检测
结果直观, 肉眼可见, 检测过程方便、迅速, 可用于
汞离子的实地现场检测; 此外, 本发明的检测方法
具有很好的特异性, 常见的其他金属离子对检测
不产生影响; 构建得到的检测试纸条使用起来
省时、省力, 检测速度快且操作简单方便, 检测结
果直观, 肉眼可见, 不需要使用任何仪器。

CN 103773856 B

1. 一种汞离子的超灵敏检测方法,包括如下步骤

(1)构建茎环结构DNA:所述茎环结构DNA的3'端延伸,凸出在茎环结构外,凸出部分含有T碱基;

(2)构建辅助DNA:所述辅助DNA的5'端含有T碱基,在有汞离子存在时能与茎环结构DNA的3'端通过形成T-Hg²⁺-T复合物互补,从而打开茎环结构DNA,并形成含有3'平末端的部分互补的双链DNA;

(3)将待检样品与茎环结构DNA、辅助DNA混合后,静置反应;

(4)往步骤(3)的反应液中加入核酸外切酶III,在有汞离子存在的情况下,茎环结构DNA和辅助DNA通过T-Hg²⁺-T复合物互补,形成含有3'平末端的部分互补双链DNA,核酸外切酶III能与部分互补的双链DNA中的3'平末端结合,从而开始切割反应,释放单核苷酸以及汞离子,最后释放出单链DNA,所述单链DNA含有茎环结构DNA的环状区和5'端茎状区;

(5)通过检测步骤(4)释放出的单链DNA来判断待检样品中是否含有汞离子;

在汞离子存在的情况下,辅助DNA的5'段与茎环结构DNA的3'端的凸出部分及部分茎状区互补,且辅助DNA的3'末端有至少4个碱基不能与茎环结构DNA互补形成平末端。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述茎环结构DNA中,环状区部分的碱基数为9~12,茎状区部分的碱基数为18~21个,茎状区的碱基数比环状区的碱基数多。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述茎环结构DNA的突出部分以及辅助DNA的5'端均含有1~5个T碱基。

4. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,步骤(5)采用电化学法、荧光法、比色法、电化学发光法或试纸条法检测释放出的单链DNA。

5. 根据权利要求1或4所述的检测方法,其特征在于,步骤(5)采用试纸条法检测释放出的单链DNA,所述试纸条包括样品垫、金标垫、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜以及吸水纸;

所述金标垫上喷射有金标DNA探针1,所述金标DNA探针1与茎环结构DNA的环状区互补;

所述检测区上固定有DNA探针2,所述DNA探针2与茎环结构DNA的5'端茎状区互补;

所述质检区上固定有DNA探针3,所述DNA探针3与DNA探针1互补。

6. 一种汞离子的超灵敏检测试剂盒,其包括:

(1)茎环结构DNA:所述茎环结构DNA的3'端延伸,凸出在茎环结构外,凸出部分含有T碱基;

(2)辅助DNA:所述辅助DNA的5'端含有T碱基,在有汞离子存在时能与茎环结构DNA的3'端通过形成T-Hg²⁺-T复合物互补,从而打开茎环结构DNA,形成含有3'平末端的部分互补的双链DNA;

(3)核酸外切酶III;

(4)检测试纸条;

在汞离子存在的情况下,辅助DNA的5'段与茎环结构DNA的3'端的凸出部分及部分茎状区互补,且辅助DNA的3'末端有至少4个碱基不能与茎环结构DNA互补形成平末端。

7. 根据权利要求6所述的检测试剂盒,其特征在于所述检测试纸条包括样品垫、金标垫、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜以及吸水纸;

所述金标垫上喷射有金标DNA探针1,所述金标DNA探针1与茎环结构DNA的环状区互补;

所述检测区上固定有DNA探针2,所述DNA探针2与茎环结构DNA的5'端茎状区互补;
所述质检区上固定有DNA探针3,所述DNA探针3与DNA探针1互补。

8.根据权利要求7所述的检测试剂盒,其特征在于,所述DNA探针2用链霉亲和素与生物素修饰。

9.根据权利要求7所述的检测试剂盒,其特征在于,所述DNA探针3用链霉亲和素与生物素修饰。

一种汞离子的超灵敏检测方法及其检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于分析化学技术领域,具体涉及一种核酸外切酶III介导的信号放大用于痕量汞离子的快速检测方法。

背景技术

[0002] 汞离子(Hg^{2+})是一种普遍存在的重金属污染源,对人体危害严重,是环境监测的重要指标。汞离子接触可不同程度地对健康造成一系列有害影响,包括肾脏衰竭、大脑受损、神经系统以及免疫系统损伤。美国环境保护署规定饮用水中汞离子的最大允许量不得超过10nM。目前,汞离子的常规检测方法主要有原子吸收法、原子荧光光谱法、电感耦合等离子体发射光谱法等。但是这些方法操作繁琐,需要麻烦的前处理、专门的分析技术人员以及昂贵的仪器,不利于现场快速分析检测。近年来,利用汞离子能与DNA中的胸腺嘧啶(thymine, T)特异性地结合,形成T- Hg^{2+} -T复合物,设计了一系列传感器用于汞离子的检测(Ono, A and Togashi, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, 43, 4300-4302)。但是潜在的缺点是检测灵敏度低,难以满足环境样品检测的需要,因此需要通过信号放大来提高检测灵敏度。

[0003] 核酸外切酶III(exonuclease III, Exo III)能从双链DNA中的3'末端开始逐步切去单核苷酸。该酶的最适底物是双链DNA中的平齐末端或3'凹陷末端DNA,对单链DNA没有活性,也不能切割双链DNA中的3'突出末端(Zuo, X.; Xia, F.; Xiao, Y and Plaxco, K. W. *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 1816-1818)。

发明内容

[0004] 针对现有技术中所存在的不足,本发明的目的在于将基于核酸外切酶III介导的信号放大技术与试纸条检测技术相结合,构建一种痕量汞离子的快速检测方法。该方法具有很高的灵敏度和特异性,操作简单,检测迅速,检测过程无需使用任何仪器。

[0005] 本发明所采取的技术方案是:

[0006] 一种汞离子的超灵敏检测方法,包括如下步骤

[0007] (1)构建茎环结构DNA:所述茎环结构DNA的3'端适当延伸,凸出在茎环结构外,凸出部分含有T碱基;

[0008] (2)构建辅助DNA:所述辅助DNA的5'端含有T碱基,在有汞离子存在时能与茎环结构DNA的3'端通过形成T- Hg^{2+} -T复合物互补,从而打开茎环结构DNA,并形成含有3'平末端的部分互补的双链DNA;

[0009] (3)将待检样品与茎环结构DNA、辅助DNA混合后,静置反应;

[0010] (4)往步骤(3)的反应液中加入核酸外切酶III,在有汞离子存在的情况下,茎环结构DNA和辅助DNA通过T- Hg^{2+} -T复合物互补,形成含有3'平末端的部分互补双链DNA,核酸外切酶III能与部分互补的双链DNA中的3'平末端结合,从而开始切割反应,释放单核苷酸以及汞离子,最后释放出单链DNA,所述单链DNA含有茎环结构DNA的环状区和5'端茎状区;

[0011] (5)通过检测步骤(4)释放出的单链DNA来判断待检样品中是否含有汞离子。

[0012] 在汞离子存在的情况下,辅助DNA的5'段与茎环结构DNA的3'端的突出部分及部分茎状区互补,且辅助DNA的3'末端有至少4个碱基不能与茎环结构DNA互补形成平末端。

[0013] 作为优选的,所述茎环结构DNA中,环状区部分的碱基数为9~12,茎状区部分的碱基数为18~21个,茎状区的碱基数比环状区的碱基数多。

[0014] 作为优选的,所述茎环结构DNA的突出部分以及辅助DNA的5'端均含有1~5个T碱基。

[0015] 步骤(5)可采用电化学法、荧光法、比色法、电化学发光法或试纸条法检测释放出的单链DNA。

[0016] 作为优选的,步骤(5)采用试纸条法检测释放出的单链DNA,所用试纸条包括样品垫、金标垫、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜以及吸水纸;

[0017] 所述金标垫上喷射有金标DNA探针1,所述金标DNA探针1与茎环结构DNA的环状区互补;

[0018] 所述检测区上固定有DNA探针2,所述DNA探针2与茎环结构DNA的5'端茎状区互补;

[0019] 所述质检区上固定有DNA探针3,所述DNA探针3与DNA探针1互补。

[0020] 一种汞离子的超灵敏检测试剂盒,其包括:

[0021] (1)茎环结构DNA:所述茎环结构DNA的3'端适当延伸,凸出在茎环结构外,凸出部分含有T碱基;

[0022] (2)辅助DNA:所述辅助DNA的5'端含有T碱基,在有汞离子存在时能与茎环结构DNA的3'端通过形成T-Hg²⁺-T复合物互补,从而打开茎环结构DNA,形成含有3'平末端的部分互补的双链DNA;

[0023] (3)核酸外切酶III;

[0024] (4)检测试纸条。

[0025] 所述检测试纸条包括样品垫、金标垫、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜以及吸水纸;

[0026] 所述金标垫上喷射有金标DNA探针1,所述金标DNA探针1与茎环结构DNA的环状区互补;

[0027] 所述检测区上固定有DNA探针2,所述DNA探针2与茎环结构DNA的5'端茎状区互补;

[0028] 所述质检区上固定有DNA探针3,所述DNA探针3与DNA探针1互补。

[0029] 所述DNA探针2用链霉亲和素与生物素修饰。

[0030] 所述DNA探针3用链霉亲和素与生物素修饰。

[0031] 下面举例介绍一下本发明方法的技术原理:

[0032] 如图1所示,茎环结构的DNA包含有4个功能区域,分别是1、2、4、和2*区域,其中2和2*是互补的,形成茎环结构的茎状区;4为茎环结构的环状区。在DNA中,5'端用小正方形表示,3'端用箭头表示。茎环结构DNA的3'端适当延伸,凸出在茎环结构外,即为1区域。在1区域中含有1~5个T碱基。辅助DNA包含有3个区域(1*、2*和3*),其中在区域1*中也含有1~5个T碱基。在有Hg²⁺存在时,茎环结构DNA的1区域通过形成T-Hg²⁺-T复合物与辅助DNA的1*区域结合,在茎环结构DNA的3'末端形成平末端,并开始介导DNA链置换反应,打开茎环结构,使辅助DNA的2*区域和茎环结构DNA的2区域结合,形成更长的部分互补的双链DNA(1*和1互补,2*和2互补)。然后加入核酸外切酶III(Exo III)进行信号放大(图1,反应b)。Exo III能

与部分互补的双链DNA中的3'平末端结合,从而开始切割反应,释放单核苷酸以及汞离子,最后释放出单链DNA(包含2*区域、4区域以及部分2区域)。同时由于部分互补双链DNA中的辅助DNA3'端的3*区域不与茎环结构DNA互补形成平末端,因此Exo III不会切割辅助DNA。最终,切割反应后辅助DNA被释放出来,汞离子也被释放出来,从而可以开始下一轮的反应(图1,反应c)。最后形成大量的单链DNA,可采用电化学法、荧光法、比色法、电化学发光法或试纸条法检测释放出的单链DNA。下面将介绍其中的试纸条法。

[0033] 如图2所示,检测试纸条包含4个部分:样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水纸,这四个部分从左到右依次固定于胶板上(如图2所示)。DNA探针1(DNAprobe1)的5'端用巯基(-SH)修饰,固定在金纳米颗粒(AuNPs)上,形成的AuNPs-DNA probe1复合物喷射在金标垫上。硝酸纤维素膜上划有两个检测区域:检测区和质控区,其中检测区固定的是链霉亲和素(SA)-生物素(biotin)-DNA探针2(SA-biotin-DNA probe2),质控区固定的是链霉亲和素(SA)-生物素(biotin)-DNA探针3(SA-biotin-DNA probe3)。其中DNA probe1的4*区域与茎环结构DNA的4区域是互补的;DNA probe2的2区域与茎环结构DNA的2*区域是互补的;DNAprobe3与DNAprobe1互补。

[0034] 将上面得到的单链DNA滴于试纸条的样品垫,通过毛细管迁移作用向前移动,经过金标垫时,单链DNA的4区域与DNAprobe1的4*区域杂交,形成复合物。该复合物继续往前移动,通过检测区时,单链DNA的2*区域会与固定在检测区的SA-biotin-DNA probe2相互作用,从而抓住该复合物,使其在检测区聚集。聚集的金纳米颗粒形成肉眼可见的红色区域。过量的AuNPs-DNA probe1复合物会与质控区上的DNAprobe3杂交,在质控区聚集,从而质控区也呈红色。也就是说有汞离子存在时候,检测区和质控区都显示红色。当没有汞离子存在时,茎环结构的DNA和辅助DNA不会相互作用,Exo III无法作用于茎环结构DNA,因而没有单链DNA形成。从而检测区没有红色出现,而质控区始终显示红色,表明组装的试纸条可用。

[0035] 本发明的有益效果是:

[0036] (1)Exo III能介导信号放大过程,使汞离子可不断循环,达到高灵敏检测的目的;

[0037] (2)本发明所述的汞离子的检测方法具有很高的灵敏度,对汞离子的检测限为10pM,检测结果直观,肉眼可见,检测过程方便、迅速,可用于汞离子的实地现场检测;

[0038] (3)本发明所述的汞离子检测方法具有很好的特异性,常见的其他金属离子对检测不产生影响;

[0039] (4)本发明的试纸条检测方法使用起来省时、省力,检测速度快且操作简单方便,不需要使用任何仪器,不需要专业的技术人员,无须培训即可推广使用。

附图说明

[0040] 图1为Exo III介导的信号扩增示意图;

[0041] 图2为试纸条检测示意图;

[0042] 图3为对不同浓度的汞离子检测的结果图;

[0043] 图4为特异性实验结果图。

具体实施方式

[0044] 下面结合实施例对本发明作进一步的说明,但并不局限于此。

[0045] 实施例1一种汞离子的超灵敏检测试剂盒的构建

[0046] 一、茎环结构DNA与辅助DNA的设计

[0047] 茎环结构DNA的序列如SEQ ID NO:1所示,其结构如下:

AGTCTAGGATTCGGCGTG GGTAAAGACACA CACGCCGAATCCTAGACT
 2* 4 2

[0048]

ACTTTTCG
 1

[0049] 其中,其中2和2*是互补的,构成茎环结构的茎状区;4为茎环结构的环状区;1区域用于启动DNA链置换反应。

[0050] 辅助DNA的序列如SEQ ID NO:2所示,结构如下:

CGTAAAGT AGTCTAGGATTCGGCGTG AAAAAA

[0051]

 1* 2* 3*

[0052] 辅助DNA的1*区域通过形成T-Hg²⁺-T复合物与茎环结构DNA的1区域结合,从而开始介导DNA链置换反应,打开茎环结构,使辅助DNA的2*区域和茎环结构DNA的2区域结合,形成更长的部分互补的双链DNA。另外辅助DNA的1*可以和茎环结构DNA的1区域形成3'平末端。

[0053] 二、试纸条的设计及组装

[0054] 下面试纸条所用到的DNA探针的序列如表1所示。

[0055] 表1

名称	序列(从5'端到3'端)	序列号
DNA 探针 1	SH-AAAAAA <u>TGTGTCTTAAACC</u> AAAAAA 4*	SEQ ID NO:3
DNA 探针 2	<u>CACGCCGAATCCTAGACT</u> -Biotin 2	SEQ ID NO:4
DNA 探针 3	Biotin- <u>GGTAAAGACACA</u> AAAAAA 4	SEQ ID NO:5

[0057] 其中,DNA探针1的4*区域与茎环结构DNA的4区域互补,DNA探针2的2区域与茎环结构DNA的2*区域互补,DNA探针3与DNA探针1互补。

[0058] 试纸条的组装步骤如下:

[0059] (1)金纳米颗粒(胶体金,AuNPs)的制备:在500mL的圆底烧瓶中加入250mL0.01%的HAuCl₄溶液,磁力搅拌加热至沸腾,然后向上述溶液中快速加入10mL1%的柠檬酸三钠溶液,溶液20秒内变为蓝色,60秒后变为酒红色,继续煮沸10分钟,停止加热,继续搅拌直至冷却。胶体金溶液4℃避光保存备用。

[0060] (2)金标核酸的制备:用100μL超纯水溶解10D巯基修饰的DNAprobe1,加入到10倍浓缩的胶体金溶液中,4℃反应过夜。然后加入10%的BSA封闭1小时,再加入NaCl和SDS,使其终浓度分别为150mM和0.01%,4℃反应过夜。然后12000转/分钟离心20分钟,弃去上清,

沉淀用1mL的重悬液(20mMNa₃PO₄,5%BSA,0.25%Tween和10%的蔗糖)重悬,重复洗三次后用1mL的重悬液制成悬浮液备用。

[0061] (3)样品垫的处理:将玻璃纤维浸泡在0.25%TritonX-100,0.05M Tris-Ac,0.15M NaCl溶液中4个小时后,37°C烘干备用。

[0062] (4)金标垫的制备:将本发明制备的金标核酸探针1(AuNPs-DNA probe1)喷射在玻璃纤维上,37°C干燥2小时,制成金标垫,备用。

[0063] (5)硝酸纤维素膜上检测区和质控区的制备:将15μL浓度为1.2mg/ml的链霉亲和素与15μL浓度为100μM生物素(biotin)修饰的DNA探针2混合,室温反应1小时,用划膜喷金仪喷射于硝酸纤维素膜上检测区,37°C干燥1小时即制得检测区。将15μL浓度为1.2mg/ml的链霉亲和素与15μL浓度为100μM生物素(biotin)修饰的DNA探针3混合,室温反应1小时,用划膜喷金仪喷射于硝酸纤维素膜上质控区,37°C干燥1小时即制得质控区。

[0064] (6)试纸条的组装:将样品垫、含有胶体金标记的DNA探针1的金标垫、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜以及吸水纸依次固定在胶板上,相邻部分彼此重叠2mm,经切割成宽4mm后既得到本发明所述的检测试纸条。

[0065] 实施例2

[0066] 利用实施例1构建的试剂盒检测样品,步骤如下:

[0067] (1)先用Tris-Ac缓冲液(20mM,含有50mM的NaCl,10mM Mg(Ac)₂,pH7.4)分别溶解茎环结构DNA和辅助DNA。

[0068] (2)把500nM的茎环结构DNA和300nM的辅助DNA混合,再加入待检样品,混匀,室温放置30分钟。在这一步,如果待检样品中存在Hg²⁺,辅助DNA的1*区域通过形成T-Hg²⁺-T复合物与茎环结构DNA的1区域结合,开始介导DNA链置换反应,打开茎环结构,使辅助DNA的2*区域和茎环结构DNA的2区域结合,形成更长的部分互补的双链DNA(1*和1互补,2*和2互补)。并且,茎环结构DNA的3'末端形成平末端。

[0069] (3)向(2)中加入30U的Exo III,室温反应30分钟。在Hg²⁺存在的情况下,辅助DNA与茎环结构DNA的1区域结合形成3'平末端,Exo III能与部分互补的双链DNA中的3'平末端结合,从而开始切割反应,释放单核苷酸以及汞离子,最后释放出单链DNA(包含茎环结构DNA的2*区域、4区域以及部分2区域)。

[0070] (4)将步骤(3)的反应液滴加到试纸条的样品垫上,进行检测。反应液通过毛细管迁移作用向前移动,经过金标垫时,单链DNA的4区域与DNA探针1的4*区域杂交,形成复合物。该复合物继续往前移动,通过检测区时,单链DNA的2*区域会与固定在检测区的SA-biotin-DNA探针2相互作用,从而抓住该复合物,使其在检测区聚集。聚集的金纳米颗粒形成肉眼可见的红色区域。过量的AuNPs-DNA探针1复合物会与质控区上的DNA探针3杂交,在质控区聚集,从而质控区也呈红色。也就是说有汞离子存在时,检测区和质控区都显示红色。当没有汞离子存在时,茎环结构的DNA和辅助DNA不会相互作用,Exo III无法作用于茎环结构DNA,因而没有单链DNA形成。从而检测区没有红色出现,而质控区始终显示红色,表明组装的试纸条可用。

[0071] 实施例3

[0072] 对不同浓度的汞离子的检测:

[0073] 配制汞离子标准溶液,浓度分别为10pM,100pM,1nM,10nM,100nM和500nM,室温保

存。

[0074] 采用实施例2的方法对不同浓度的汞离子溶液进行检测,将反应液(50 μ L)滴加到试纸条的样品垫上,室温检测,10分钟后观察试纸条的检测区和质控区的颜色变化。

[0075] 从图3的检测结果可以看出,10pM汞离子存在时,可在试纸条的检测区观察到明显的红色区域,其检测限为10pM,远远低于美国环境保护署规定饮用水中汞离子的最大允许量10nM。并且,随着汞离子浓度的增加(从10pM到100nM),检测区的颜色也逐渐增加。当汞离子浓度超过500nM时,颜色变化趋于饱和。同时,质控区在各种情况下都呈红色,说明试纸条体系运行正常,结果可信。

[0076] 实施例4

[0077] 对不同离子的检测:

[0078] 配制500nM不同离子的标准溶液,它们分别是 pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Sn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Ca^{2+} 和 Ag^{+} 。

[0079] 将500nM不同的离子标准溶液和10nM汞离子标准溶液分别采用实施例2的方法进行检测,将反应液(50 μ L)滴加到试纸条的样品垫上,室温检测,10分钟后观察试纸条的检测区和质控区的颜色变化。

[0080] 从图4的检测结果可以看出,500nM的 pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Sn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Ca^{2+} 和 Ag^{+} 对检测没有影响,试纸条的检测区没有出现红色区域;只有当加入汞离子后才会出现在试纸条的检测区出现红色区域。这证明该方法对汞离子的检测具有很好的特异性。

[0081] 以上实施例表明,本发明的汞离子检测方法具有很高的灵敏度,对汞离子的检测限为10pM,检测结果直观,肉眼可见,检测过程方便、迅速,可用于汞离子的实地现场检测;此外,本发明的检测方法具有很好的特异性,常见的其他金属离子对检测不产生影响;构建得到的检测试纸条使用起来省时、省力,检测速度快且操作简单方便,检测结果直观,肉眼可见,不需要使用任何仪器。

[0082] 以上实施例仅为介绍本发明的优选案例,对于本领域技术人员来说,在不背离本发明精神的范围内所进行的任何显而易见的变化和改进,都应被视为本发明的一部分。

- <110> 广东省生态环境与土壤研究所
- <120> 一种汞离子的超灵敏检测方法及检测试剂盒
- <130>
- <160> 5
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 56
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <400> 1
 agtctaggat tcggcgtggg ttaagacaca cacgccgaat cctagactac ttttcg 56
- <210> 2
- <211> 32
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <400> 2
 cgттааgtag tctaggattc ggcgtgaaaa aa 32
- <210> 3
- <211> 24
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <400> 3
 aaaaaatgtg tcttaaccaa aaaa 24
- <210> 4
- <211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 4

cacgccgaat cctagact

18

<210> 5

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 5

ggttaagaca caaaaaaa

18

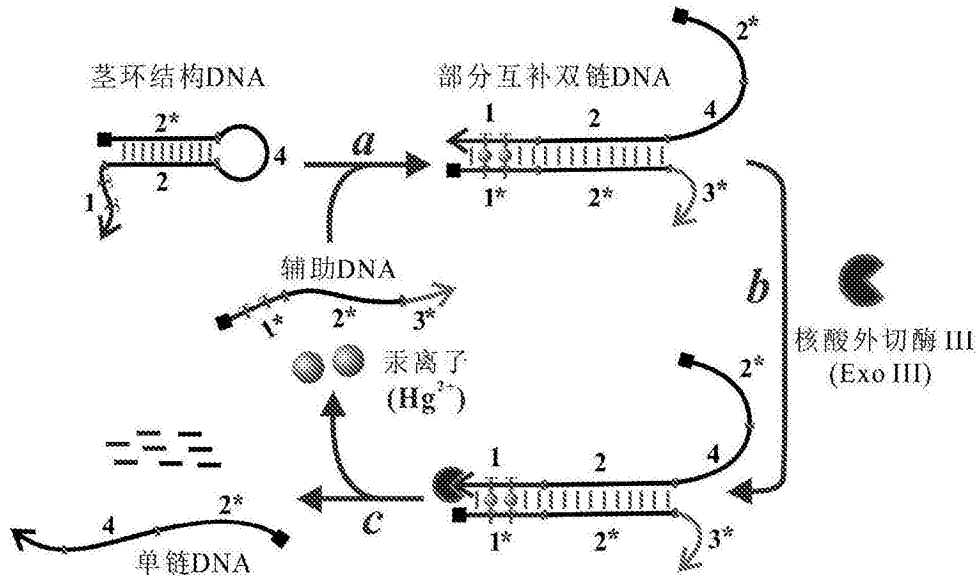


图1

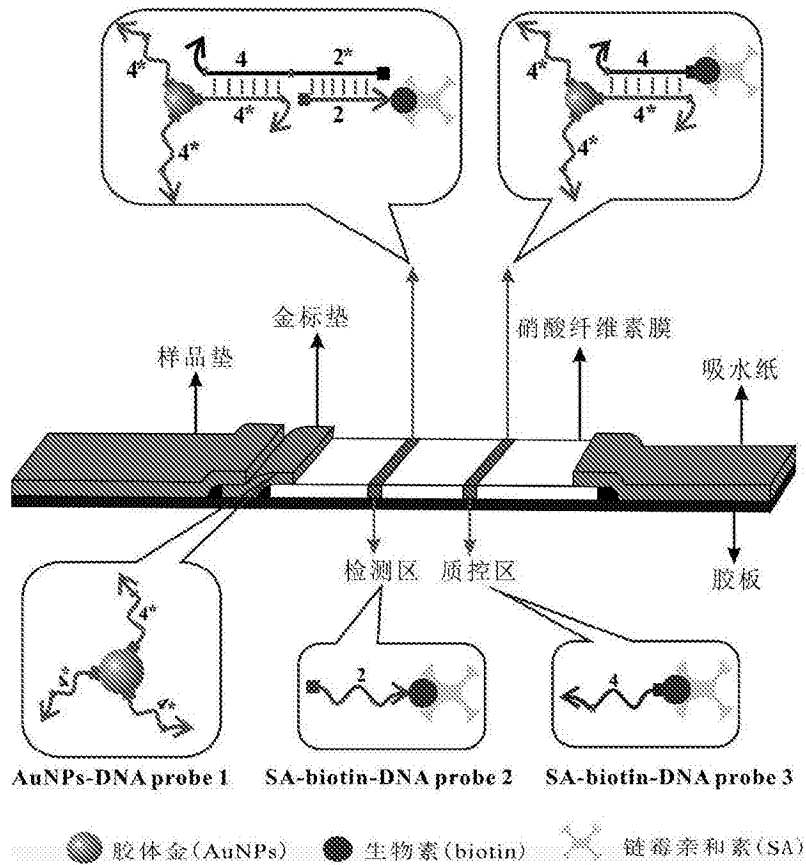


图2

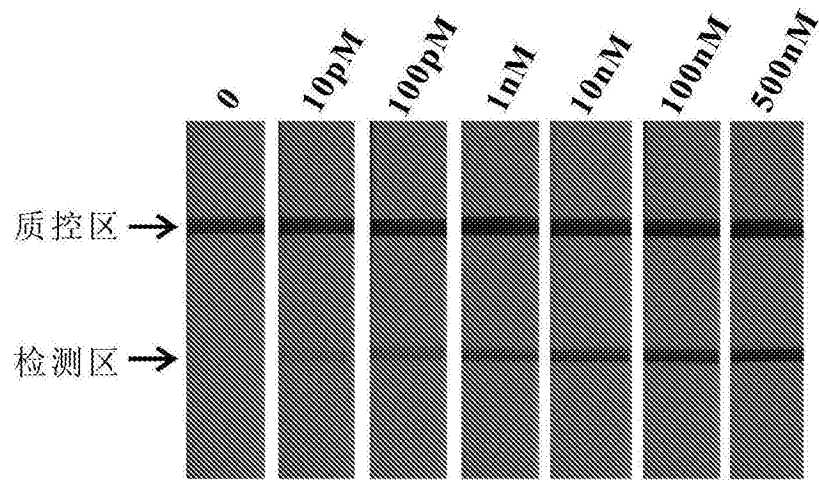


图3

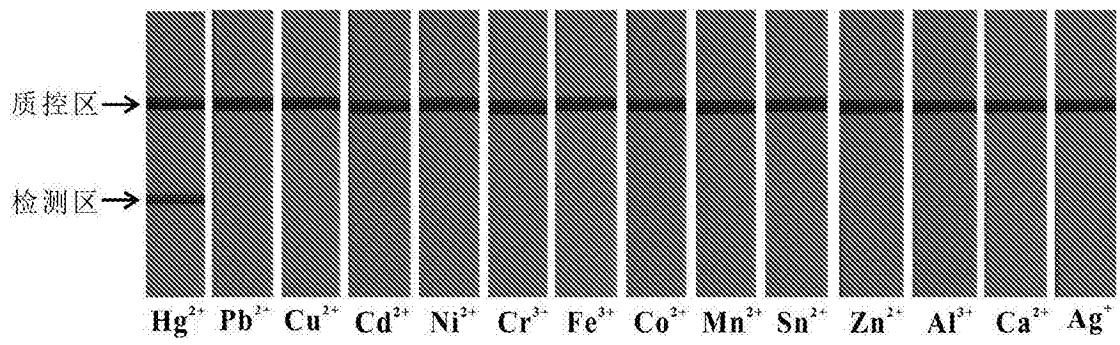


图4