

识别小分子的核酸适配体筛选及亲和力表征方法研究

提名者：黄石市人民政府

提名意见：该项目研究成果符合 2023 年湖北省自然科学奖申报条件，提交成果均为 2021 年 6 月 30 日以前发表，同意申报。

项目简介：本项目专门针对小分子开展新型核酸适配体筛选和亲和力表征研究。通过构建文库固定-荧光定量 PCR 监测-高通量测序-非标记表征组合筛选策略，可以实现筛选过程的可视化监测、核酸适配体的快速表征，大大提高了筛选效率。已经成功筛选了盐酸克伦特罗、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯、5 羟甲基糠醛等小分子的核酸适配体。在通过对筛选工艺进行系统比较研究，发现国产化磁珠、树脂可以达到进口产品的同等效果，筛选成本可节约 90%。同时，通过简单的非标记表征方法，可以快速获得高亲和力核酸适配体。以氯霉素、三聚氰胺、多巴胺的核酸适配体为模型，发现小分子与金纳米颗粒的结合抑制了适配体与小分子的结合，提出了纳米金/小分子/适配体体系变色的新机理。这个新原理的发现，与前期用金纳米颗粒来表征核酸适配体与靶标结合的机理均不同，为用比色法来表征适配体与小分子间的结合特性提供了新视觉。同时，以两种不同识别性能的多巴胺核酸适配体为研究模板，提出多方法相互佐证的核酸适配体亲和力表征系统。通过本项目提出的新理论，为避免假阳性核酸适配体的发现提供理论支撑，为核酸适配体鉴定提供了新理论基础。本项目在 2021 年 6 月 30 日前已发表研究论文 7 篇，SCI 论文 5 篇，中文论文 2 篇。本项目相关的研究成果已获国家发明专利 2 项。

项目提出的筛选技术被同行采纳应用，解决了识别小分子新型核酸适配体发现效率低的难题。同时，本项目提出的金纳米颗粒/小分子/核酸适配体相互作用新机制，为解决核酸适配体表征中假阳性适配体的发现提供理论基础。通过以两种模型核酸适配体为研究对象，验证了多种亲和力表征方法，提出优良核酸适配体的发现必须结合多种表征方法。其中，关于金纳米颗粒/小分子/核酸适配体相互作用新机制的研究成果于 2020 年发表，在 WOS 的引用次数为 101 次。

代表性论文专著目录：

1. Liu XX, He F, Zhang F, Zhang ZJ, Huang ZC, Liu JW. Dopamine and melamine binding to gold nanoparticles dominates their aptamer-based label-free colorimetric

sensing. Anal. Chem. 2020, 92(13): 9370-9378.

2. **Liu XX**, Lu Q, Chen SR, Wang F, Hou JJ, **Xu ZL**, Meng C, Hu TY, Hou YY. Selection and

identification of novel aptamers specific for clenbuterol based on ssDNA library immobilized SELEX and gold nanoparticles biosensor. Molecules 2018, 23(9): 2337.

3. **Tao XQ**, **He F**, **Liu XX**, Zhang F, Wang X, Peng YY, Liu JW. Detection of chloramphenicol with an aptamer-based colorimetric assay: critical evaluation of specific and unspecific binding of analyte molecules. Microchimica Acta 2020, 187:668.

4. 陈思锐, **侯建军**, **刘细霞***, 王芳, 张 婷, 陆 琪. 基于核酸适配体的微囊藻毒素 LR 纳米金生物传感检测方法的建立及其识别机制研究. 食品质量安全检测学报, 2019, 10(17): 5748-5753.

5. 陈思锐, 王芳, 孟晨, **刘细霞***, **侯建军**, 陆琪. 基于核酸适配体建立的小分子危害物检测技术研究进展. 食品质量安全检测学报, 2018, 9(16): 4187-4192.

主要完成人: 刘细霞、侯建军、徐振林、何凡、陶晓奇

主要完成单位: 湖北师范大学、华南农业大学、西南大学