

# 基于 $\text{T-Hg}^{2+}\text{-T}$ 及 G 四聚体自身熄灭能力的 “Turn on”型单标记 DNA 荧光探针 用于碘离子的检测

朱 颖, 刘 沛, 羊小海, 何磊良, 李清照, 王 青,  
王柯敏, 黄 晋, 刘剑波

(湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室, 化学化工学院,  
生物纳米与分子工程湖南省重点实验室, 长沙 410082)

**摘要** 利用 G 四聚体可以熄灭荧光的特性以及  $\text{T-Hg}^{2+}\text{-T}$  的特殊结构, 发展了一种简便的“Turn on”型碘离子检测新方法. 设计了一条 5'端标有荧光基团的富 T 序列, 3'端采用能形成 G 四聚体的富 G 序列代替传统的熄灭基团. 加入汞离子后, 富 T 序列形成  $\text{T-Hg}^{2+}\text{-T}$  机构发生折叠, G 四聚体靠近荧光基团, 发生光诱导电子转移, 使荧光被熄灭. 若加入碘离子, 碘离子会与汞离子形成较稳定的配合物, 汞离子从 DNA 上被竞争下来, 探针的荧光得以恢复, 且荧光强度与 50 ~ 500 nmol/L 的碘离子呈良好线性关系, 检出限为 30 nmol/L. 本方法选择性好, 10 倍于碘离子浓度的其它常见阴离子干扰较小. 检测自来水样中碘离子的回收率为 92% ~ 109%, 相对标准偏差  $\text{RSD} < 4\%$  ( $n=4$ ).

**关键词** 碘离子; 荧光; DNA 探针; G 四聚体

中图分类号 O657

文献标识码 A

doi: 10.7503/cjcu20120358

碘是人体必需的微量元素之一, 可以维持人体基本生命活动和脑垂体的生理功能, 促进人体发育. 碘缺乏会危害婴儿脑发育和成人脑的功能, 严重缺乏将导致碘缺乏病, 如甲状腺肿大和克汀病等<sup>[1,2]</sup>. 因此, 发展一种高灵敏高选择性的能用于检测食品、药剂及生物样品中碘离子的简便方法具有重要意义. 目前, 检测碘的传统方法较多, 包括原子吸收光谱法<sup>[3]</sup>、毛细管电泳<sup>[4]</sup>、离子选择性电极<sup>[5]</sup>、离子色谱法<sup>[6]</sup>、气相色谱-质谱法(GC-MS)<sup>[7]</sup>和电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)<sup>[8]</sup>等. 但这些方法大都较为复杂, 成本较高, 费时且难以实现在线实时监测.

近年来, 荧光探针由于具有高灵敏度、高选择性和简便快速等优点, 被广泛用于各种物质的检测<sup>[9~13]</sup>. 迄今, 已发展了多种基于碘离子重金属效应的“Turn off”型碘离子荧光传感器, 这些荧光物质包括咪唑<sup>[14]</sup>、苯并咪唑类衍生物<sup>[15,16]</sup>、含咪唑的共轭聚合物<sup>[17]</sup>、阳离子聚乙烯衍生物<sup>[18]</sup>以及硫脲型配体修饰的量子点<sup>[19]</sup>等. 对于荧光检测, “Turn on”模式优于“Turn off”模式, 因为“Turn off”容易被样品中存在的其它荧光熄灭剂干扰而造成假阳信号, 导致较低的信背比. 然而, 由于碘离子的重原子效应的影响, 构建一种“Turn on”型的碘离子荧光传感器较难.

由于碘离子与某些金属离子具有较强的配位作用, 研究人员发展了基于碘离子配位化学的“Turn on”型碘离子荧光传感器<sup>[20~22]</sup>, 如 Lin 等<sup>[21]</sup>合成了香豆素吡啶酮并作为荧光探针用于碘离子的检测, 当加入铜离子时, 该复合物的荧光被熄灭, 再加入碘离子, 荧光得以恢复, 碘离子的检出限为 107

收稿日期: 2012-04-16.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 91027000, 20805012)、科技部国际合作重大项目(批准号: 2010DFB30300)和教育部“新世纪优秀人才支持计划”(批准号: NCET-09-0338)资助.

联系人简介: 王柯敏, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事纳米及分子水平上的生物分析化学及纳米生物研究.

E-mail: kmwang@hnu.edu.cn

羊小海, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事纳米及分子水平上的生物分析化学研究.

E-mail: yangxiaohai@hnu.edu.cn

nmol/L; Mahapatra 等<sup>[22]</sup>合成了咪唑缩氨基硫脲荧光探针用于碘离子的检测,当加入汞离子时,该复合物的荧光被熄灭,再加入碘离子,荧光得以恢复,碘离子的检出限为 250 nmol/L.

近年来,金属离子与核酸间的相互作用被广泛研究<sup>[23]</sup>,发现汞离子能够特异性地与胸腺嘧啶作用形成 T-Hg<sup>2+</sup>-T 结构<sup>[24,25]</sup>,并基于此发展了多种检测汞离子的核酸探针传感器<sup>[26-29]</sup>,Wu 等<sup>[30]</sup>合成了一种蒽和胸腺嘧啶的复合物(An-T)并用于碘离子的检测,当加入汞离子,形成 An-T-Hg<sup>2+</sup>-T-An 复合物导致蒽的荧光被熄灭,再加入碘离子,荧光得以恢复,检出限为 126 nmol/L. 此类荧光传感器的数量还较少,发展更灵敏、更简便的碘离子荧光“Turn on”型传感器非常必要.

富含 G 碱基的单链 DNA 能通过分子内氢键的相互作用形成特定的二级结构,这种结构被命名为 G 四聚体<sup>[31]</sup>. 而 G 四聚体中的鸟嘌呤具有较低的氧化电势(1.25 V vs. SCE),可作为多种荧光基团的电子给体,处于激发态的荧光基团接受电子后发生荧光熄灭<sup>[32]</sup>,在一定的距离内可与多种染料发生能量共振转移<sup>[33,34]</sup>.

我们<sup>[35]</sup>设计了一种基于 G 四聚体中鸟嘌呤固有的熄灭能力的新型单标核酸探针,实现了对汞及半胱氨酸的高灵敏和高特异性检测. 由于碘离子与汞离子之间能形成稳定的配位化合物,因此本文将该探针用于碘离子的检测. 该方法的原理如图 1 所示. 首先设计一条 5'端标有荧光基团 6-羧基荧光素(FAM)的富 T 序列,3'端采用能形成 G 四聚体的富 G 序列代替传统的熄灭基团,当有汞离子存在时,富 T 序列发生折叠,使 G 四聚体靠近荧光基团,发生光诱导电子转移, FAM 的荧光被部分熄灭. 此时若加入碘离子,由于碘离子能够与汞离子形成稳定的配位化合物,折叠结构被破坏,使 FAM 的荧光得以恢复,从而实现对碘离子的高灵敏、高特异性检测.

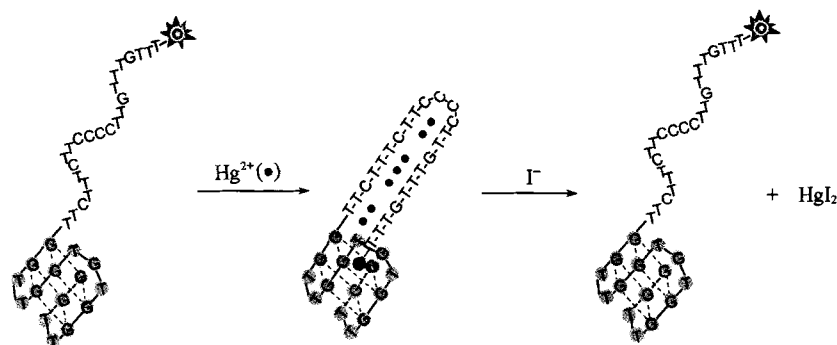


Fig. 1 Schematic of a single-labeled “turn on” fluorescent oligonucleotide probe for iodide detection based on T-Hg<sup>2+</sup>-T and the inherent quenching ability of G-quadruplex

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

荧光探针(序列为 5'-FAM-TTTGTTTGTCCCCCTTCTTTCTTGGTTGCTGTGTTG-3')由大连宝生物有限公司合成; 3-(*N*-吗啉)丙烷磺酸(MOPS)购于上海 Sigma 公司; 硝酸钠、硝酸钾、硝酸汞、浓硝酸、碘化钾、氟化钾、氯化钠、溴化钠、硫酸钠、醋酸钠、碳酸钠、碳酸氢钠、磷酸钠、磷酸二氢钠、磷酸二氢钠和草酸钠均为分析纯试剂. Hg<sup>2+</sup>的母液用体积分数为 0.5% 的 HNO<sub>3</sub> 溶解少量 Hg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 配制而成,加入 HNO<sub>3</sub> 调 pH 至 6.0 以防止 Hg<sup>2+</sup>形成 HgO 颗粒沉淀. I<sup>-</sup>的母液用超纯水溶解 KI 后滴加少量 NaOH 配制而成,储存于棕色瓶中备用. 缓冲溶液为 10 mmol/L MOPS 溶液(pH=7.0, 10 mmol/L MOPS+400 mmol/L NaNO<sub>3</sub>+20 mmol/L KNO<sub>3</sub>). 实验用水均为 Millipore 超纯水系统纯化的超纯水(18.2 MΩ·cm).

日本 Hitachi F-4500 型荧光分光光度计; 美国 Thermo Neslab 恒温水浴循环器.

### 1.2 实验步骤

1.2.1 碘离子的检测 向 MOPS 缓冲液中加入终浓度为 50 nmol/L 的荧光探针,总体积为 500 μL. 将溶液置于 95 °C 下恒温 10 min,使荧光探针的二级结构被完全解旋;将溶液自然冷却到 25 °C 孵育过夜,

转移到比色皿中, 在 25 ℃ 下, 置于荧光分光光度计中扫描 505 ~ 600 nm 波长范围内的荧光光谱(激发波长为 488 nm, 激发狭缝为 5 nm, 发射狭缝为 10 nm). 然后向其中加入 1 μL Hg<sup>2+</sup> 溶液, 终浓度为 1 μmol/L, 待荧光强度稳定后, 在 25 ℃ 下扫描荧光光谱. 再向其中分别加入 1 μL 不同浓度的 I<sup>-</sup> 溶液, 待荧光强度稳定后, 于 25 ℃ 下扫描荧光光谱.

1.2.2 实际水样中碘离子的检测 实际水样取至自来水. 首先取 200 μL 含荧光探针的 MOPS 缓冲液和一定浓度汞离子的混合溶液, 于 95 ℃ 恒温 10 min, 使荧光探针的二级结构被完全解旋; 然后使溶液自然冷却到 25 ℃ 孵育过夜. 将 250 μL 实际水样与 50 μL 含一定浓度碘离子的溶液混合后, 再与之前孵育好的 200 μL 荧光探针-汞离子溶液混合, 使总体积为 500 μL, 荧光探针终浓度为 50 nmol/L, 汞离子终浓度为 1 μmol/L, 缓冲体系为 10 mmol/L MOPS+400 mmol/L NaNO<sub>3</sub>+20 mmol/L KNO<sub>3</sub>, pH = 7.0, 实际水样稀释因子为 2.0. 在室温下孵育 1 h 后测定其荧光光谱.

2 结果与讨论

2.1 碘离子对荧光探针的影响

碘离子具有重原子效应, 因此考察了高浓度的碘离子对荧光探针荧光强度的影响. 结果表明, 在碘离子浓度为 50 μmol/L 时, 对荧光探针的荧光无明显影响(见图 2).

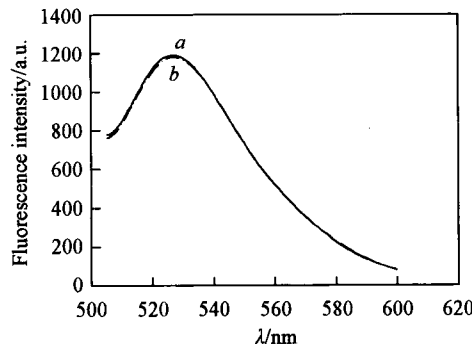


Fig. 2 Effect of iodide on the fluorescence probe  
a. 50 nmol/L probe; b. 50 nmol/L probe+50 μmol/L iodide. λ<sub>ex</sub> = 488 nm.

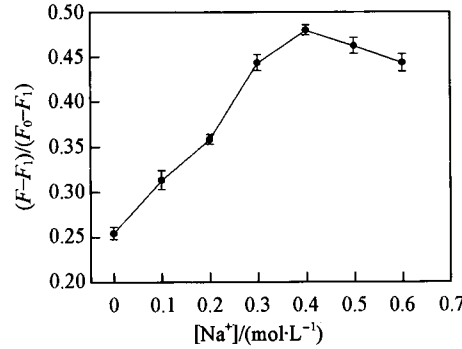


Fig. 3 Optimization of Na<sup>+</sup> concentration  
λ<sub>ex</sub> = 488 nm; λ<sub>em</sub> = 526 nm.

2.2 实验条件的优化

2.2.1 硝酸钠浓度的选择 在 DNA 杂交体系中, 离子强度对分子探针的稳定性及灵敏度具有重要的影响, 故考察了 0 ~ 0.6 mol/L 硝酸钠对探针灵敏度的影响. 在含有不同浓度硝酸钠的传感体系中加入 1 μmol/L 汞离子后, 再加入 500 nmol/L 碘离子, 荧光恢复的效果用荧光恢复的程度  $[(F-F_1)/(F_0-F_1)]$  来评价 ( $F_0$  为 50 nmol/L 荧光探针的初始荧光值;  $F_1$  为加入 1 μmol/L 汞离子后的荧光值;  $F$  为加入一定浓度碘离子后的荧光值). 结果表明, 当硝酸钠浓度为 0.4 mol/L 时, 荧光恢复率最高(见图 3), 因此实验选取硝酸钠的浓度为 0.4 mol/L.

2.2.2 汞离子浓度的选择 所制备的分子探针是一个“Turn on”型探针, 汞离子对荧光熄灭的程度将直接影响荧光恢复的强度. 在传感体系中加入 0.5 ~ 2.0 μmol/L 汞离子后, 再加入 200 nmol/L 碘离子, 考察了不同浓度的汞离子对实验的影响. 结果(图 4)表明, 当汞离子浓度为 1 μmol/L 时, 荧光恢复的绝对值最大, 因此实验选取汞离子的浓度为 1 μmol/L.

2.2.3 pH 值的选择 本实验中荧光基团 FAM 受 pH 值的影响较大, 且汞离子也易受 OH<sup>-</sup> 的干扰,

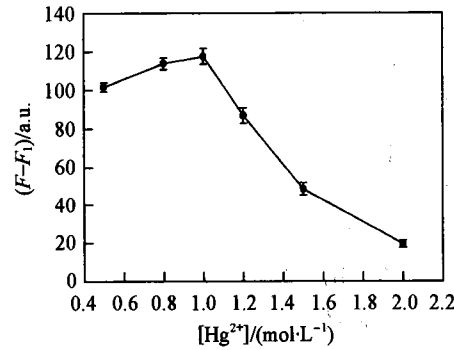


Fig. 4 Optimization of Hg<sup>2+</sup> concentration  
λ<sub>ex</sub> = 488 nm; λ<sub>em</sub> = 526 nm.

故考察了不同 pH 值的 MOPS 缓冲液对实验的影响. 结果(图 5)表明, 在 pH<7.0 时, 探针的荧光值较低; 在 pH>7.0 时, 由于 OH<sup>-</sup>对汞离子产生干扰导致荧光探针对于汞离子和碘离子的响应变差, 故实验选取 pH=7.0 的 MOPS 缓冲液.

2.3 碘离子的检测

2.3.1 标准曲线 在最佳实验条件下, 测定了不同碘离子浓度下荧光探针的荧光光谱, 并绘制荧光强度恢复率与碘离子浓度的关系图(见图 6). 可见, 该传感体系在 526 nm 处荧光强度恢复率与碘离子浓度在 50 ~ 500 nmol/L 范围内呈良好的线性

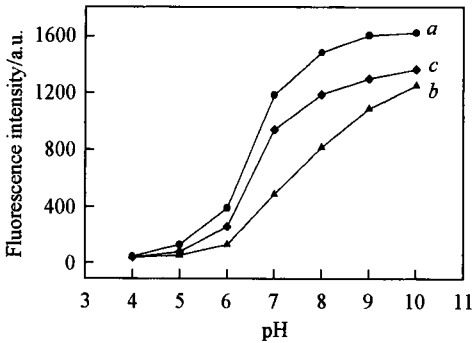
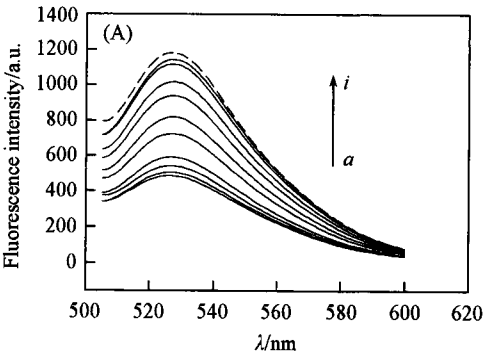


Fig. 5 Optimization of pH value  
 $\lambda_{\text{ex}}=488\text{ nm}$ ;  $\lambda_{\text{em}}=526\text{ nm}$ . a. Probe; b. probe+1  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Hg}^{2+}$ ; c. probe+1  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Hg}^{2+}$ +800 nmol/L  $\text{I}^-$ .

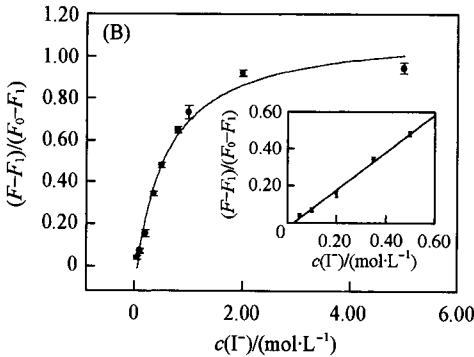


Fig. 6 Fluorescence emission spectra in the presence of different concentrations of iodide(A) and calibration curve of iodide assay(B)

$c(\text{I}^-)/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$  from a to j: 0, 0.05, 0.10, 0.20, 0.35, 0.50, 0.80, 1.0, 2.0, 5.0.  $\lambda_{\text{ex}}=488\text{ nm}$ .  
Inset of (B): fluorescence recovery ratio at low iodide concentrations;  $\lambda_{\text{ex}}=488\text{ nm}$ ;  $\lambda_{\text{em}}=526\text{ nm}$ .

关系, 线性回归方程为  $f(x)=1.013x-0.025$  ( $r=0.9934$ ), 检出限 ( $3\sigma$ ) 为 30 nmol/L. 可见, 该方法具有较高的检测灵敏度.

2.3.2 选择性的考察 为考察该荧光探针的选择性, 将 10 倍于碘离子浓度的其它常见阴离子分别加入传感体系, 并检测阴离子加入前后荧光信号的变化. 检测结果如图 7 所示, 在  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Ac}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  和  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  等常见阴离子的存在时, 该荧光探针均无明显的响应. 对于其它卤元素阴离子  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  和  $\text{Br}^-$ , 也只有  $\text{Br}^-$  对荧光强度有少许的干扰, 根据金属-无机离子配位常数,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  及  $\text{I}^-$  与  $\text{Hg}^{2+}$  的配位能力依次增强, 但前 3 种卤素阴离子与  $\text{Hg}^{2+}$  的配位能力明显小于  $\text{I}^-$ . 可见, 该探针对于  $\text{I}^-$  具有良好的选择性, 抗干扰能力强.

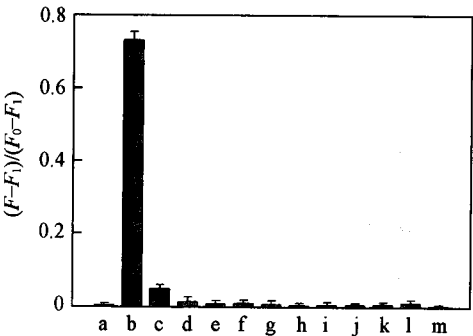


Fig. 7 Selectivity assay of other anions  
 $c(\text{I}^-)=1.0\text{ }\mu\text{mol/L}$ ;  $c(\text{other anions})=10\text{ }\mu\text{mol/L}$ .  $\lambda_{\text{ex}}=488\text{ nm}$ ;  $\lambda_{\text{em}}=526\text{ nm}$ . a. Blank; b.  $\text{I}^-$ ; c.  $\text{Br}^-$ ; d.  $\text{Cl}^-$ ; e.  $\text{F}^-$ ; f.  $\text{SO}_4^{2-}$ ; g.  $\text{Ac}^-$ ; h.  $\text{CO}_3^{2-}$ ; i.  $\text{HCO}_3^-$ ; j.  $\text{PO}_4^{3-}$ ; k.  $\text{HPO}_4^{2-}$ ; l.  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ; m.  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ .

2.3.3 实际水样的检测 为验证该方法在实际水样中的应用效果, 对自来水样进行碘离子标准加入回收实验, 结果见表 1, 得到的回收率为 92% ~ 109%, 相对标准偏差  $\text{RSD}<4\%$  ( $n=4$ ).

Table 1 Determination results of iodide in tap water( $n=4$ )

Sample	$c(\text{I}^-)/(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1})$		Recovery( % )
	Added	Recovered	
Tap water	50	46±1	92±3
	100	96±4	96±4
	200	218±7	109±3

### 3 结 论

发展了一种基于 T-Hg<sup>2+</sup>-T 结构及 G 四聚体自身熄灭能力的单标记新型探针, 可对碘离子进行高灵敏高特异性的快速检测. 该方法使用 G 四聚体作为熄灭单元, 只需对寡核苷酸进行单标记, 因此探针设计简单, 也无需昂贵的检测仪器, 对碘离子的检出限为 30 nmol/L. 该方法选择性好, 10 倍于碘离子浓度的其它卤素阴离子及其它阴离子不产生干扰, 且能用于自来水水样中碘离子的测定.

### 参 考 文 献

- [1] Haldimann M., Zimmerli B., Als C., Gerber H.. Clin. Chem. [J], 1998, **44**(4): 817—824
- [2] Jalali F., Rajabi M. J., Bahrami G., Shamsipur M.. Anal. Sci. [J], 2005, **21**(38): 1533—1537
- [3] Barrera P. B., Sanchez L. M. F., Somoza M. A., Sendin R. M. A., Barrera A. B.. Microchem. J. [J], 2001, **69**(3): 205—211
- [4] Yokota K., Fukushi K., Takeda S., Wakida S. I.. J. Chromatogr. A [J], 2004, **1035**(1): 145—150
- [5] Malon A., Radu A., Qin W., Qin Y., Ceresa A., Zurawska M. M., Bakker E., Pretsch E.. Anal. Chem. [J], 2003, **75**(15): 3865—3871
- [6] Villagran C., Deetlefs M., Pitner W. R., Hardacre C.. Anal. Chem. [J], 2004, **76**(7): 2118—2123
- [7] Bichsel Y., Gunten U. V.. Anal. Chem. [J], 1999, **71**(1): 34—38
- [8] Schöne F., Zimmermann C., Quanz G., Richter G., Leiterer M.. Meat Sci. [J], 2006, **72**(2): 365—372
- [9] Wang K. M., Tang Z. W., Yang C. Y., Kim Y. M., Fang X. H., Li W., Wu Y. R., Medley C. D., Cao Z. H., Li J., Colon P., Lin H., Tan W. H.. Angew. Chem. Int. Ed. [J], 2009, **48**(5): 856—870
- [10] Tang Z. W., Liu P., Ma C. B., Yang X. H., Wang K. M., Tan W. H., Lv X. Y.. Anal. Chem. [J], 2011, **83**(7): 2505—2510
- [11] Shi H., He X. X., Wang K. M., Wu X., Ye X. S., Guo Q. P., Tan W. H., Qing Z. H., Yang X. H., Zhou B.. Proc. Natl. Acad. Sci. USA [J], 2011, **108**(10): 3900—3905
- [12] HU Ming-Ming(胡明明), FAN Jiang-Li(樊江莉), LI Hong-Lin(李宏林), PA Ha-Ding(帕哈丁), ZE Yao-Dong(泽耀东), PENG Xiao-Jun(彭孝军). Chin. J. Anal. Chem. (分析化学) [J], 2011, **39**(8): 1195—1200
- [13] ZENG Guo-Ping(曾国平), XIANG Dong-Shan(向东山), CAI Jin-Zhang(蔡金杖), HE Zhi-Ke(何治柯). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2011, **32**(8): 1737—1743
- [14] Kim H., Kang J.. Tetrahedron Lett. [J], 2005, **46**(33): 5443—5445
- [15] Singh N., Jang D. O.. Org. Lett. [J], 2007, **9**(10): 1991—1994
- [16] Lee D. Y., Singh N., Kim J. M., Jang D. O.. Org. Lett. [J], 2011, **13**(12): 3024—3027
- [17] Vetrichelvan M., Nagarajan R., Valiyaveetil S.. Macromolecules [J], 2006, **39**(24): 8303—8310
- [18] Hoang A. H., Mario L.. J. Am. Chem. Soc. [J], 2003, **125**(15): 4412—4413
- [19] Li H. B., Han C. P., Zhang L.. J. Mater. Chem. [J], 2008, **18**(38): 4543—4548
- [20] Lin L. R., Fang W., Yu Y., Huang R. B., Zheng L. S.. Spectrochim. Acta A [J], 2007, **67**(5): 1403—1406
- [21] Lin W. Y., Yuan L., Cao X. W., Chen B. B., Feng Y. M.. Sens. Actuators, B [J], 2009, **138**: 637—641
- [22] Mahapatra A. K., Roy J., Sahoo P., Mukhopadhyay S. K., Chattopadhyay A.. Org. Biomol. Chem. [J], 2012, **10**(11): 2231—2236
- [23] Clever G. H., Kaul C., Carell T.. Angew. Chem. Int. Ed. [J], 2007, **46**(33): 6226—6236
- [24] Miyake H., Togashi H., Tashiro M., Yamaguchi H., Oda S., Kudo M., Tanaka Y., Kondo Y., Sawa R., Fujimoto T., Machinami T., Ono A.. J. Am. Chem. Soc. [J], 2006, **128**(7): 2172—2173
- [25] Tanaka Y., Oda S., Yamaguchi H., Kondo Y., Kojima C., Ono A.. J. Am. Chem. Soc. [J], 2007, **129**(2): 244—245
- [26] Ono A., Togashi H.. Angew. Chem. Int. Ed. [J], 2004, **43**(33): 4300—4302
- [27] Zhu Q. Z., Su Y. Y., Li J., Zhang J., Song S. P., Zhao Y., Li G. X., Fan C. H.. Anal. Chem. [J], 2009, **81**(18): 7660—7666
- [28] Miao P., Liu L., Li Y., Li G. X.. Electrochem. Commun. [J], 2009, **11**(10): 1904—1907
- [29] Wu Y. G., Zhan S. S., Xu L. R., Shi W. W., Xi T., Zhan X. J., Zhou P.. Chem. Commun. [J], 2011, **47**(21): 6027—6029
- [30] Ma B. L., Zeng F., Zheng F. Y., Wu S. Z.. Chem. Eur. J. [J], 2011, **17**(52): 14844—14850
- [31] Fan H. Y., Shek Y. L., Amiri A., Dubins D. N., Heerklotz H., Macgregor R. B., Chalikian T. V.. J. Am. Chem. Soc. [J], 2011, **133**(12): 4518—4526
- [32] Seidel C. A. M., Schulz A., Sauer M. H. M.. J. Phys. Chem. [J], 1996, **100**(13): 5541—5553

- [33] Marras S. A. E., Kramer F. R., Tyagi S.. *Nucleic Acid Res.* [J], 2002, **30**(21): e122  
[34] Wang L., Tian J. Q., Li H. L., Zhang Y. W., Sun X. P.. *Analyst*[J], 2011, **136**(5): 891—893  
[35] Yang X. H., Zhu Y., Liu P., He L. L., Li Q. Z., Wang Q., Wang K. M., Huang J., Liu J. B.. *Anal. Methods*[J], 2012, **4**(4): 895—897

## Single-labeled “Turn on” Fluorescent Oligonucleotide Probe for Iodide Detection Based on T-Hg<sup>2+</sup>-T and Inherent Quenching Ability of G-quadruplex

ZHU Ying, LIU Pei, YANG Xiao-Hai\*, HE Lei-Liang, LI Qing-Zhao, WANG Qing,  
WANG Ke-Min\*, HUANG Jin, LIU Jian-Bo

(*State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering,  
Key Laboratory for Bio-Nanotechnology and Molecular Engineering of Hunan Province,  
Hunan University, Changsha 410082, China*)

**Abstract** A simple and “Turn on” type iodide anion assay method was developed, based on the inherent quenching ability of G-quadruplex and fidelity of the “thymine-Hg<sup>2+</sup>-thymine” binding motif. A T-rich sequence was labeled with 6-carboxyfluorescein(FAM) at its 5'-end, nearby the 3'-end was a G-rich sequence which could form G-quadruplex structure instead of traditional quenchers. Upon addition of Hg<sup>2+</sup>, T-rich sequence folded into a hairpin structure which led the G-quadruplex near to the FAM, and the FAM was quenched by the G-quadruplex owing to photoinduced electron transfer between the dye and the G-quadruplex. After the addition of iodide, the fluorescence of FAM recovered considering that iodide could bind with Hg<sup>2+</sup>. The novel method for the determination of iodide was developed in linear range of 50—500 nmol/L, with the detection limit(3 $\sigma$ ) of 30 nmol/L. This proposed method was highly selective and other anions have no interfering effects on the determination, which was successfully applied for analysis of real samples with the recovery from 92%—109%, and the RSD<4% ( $n=4$ ).

**Keywords** Iodide; Fluorescence; DNA probe; G-quadruplex

(Ed.: I, S, K)