

# DNA Damage due to PFOA Based on Electrochemiluminescence of CdSe Quantum Dot\*

Meng Li, Liping Lu

College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology No.100,Pingleyuan, Chaoyang District, Beijing, China  
Email: lipinglu@bjut.edu.cn

Received 2013

**Abstract:** A new electrochemiluminescence (ECL) sensor for detecting dsDNA damage induced by Perfluorooctanoic Acid (PFOA) was presented in this paper. DNA was linked to the Au electrode by the S-Au bound, closed the electrode by MCH and then carboxyl group of the TGA-capped CdSe QDs was covalently conjugated to amino-DNA on the electrode through EDC and NHS. The morphology of the modified electrode (CdSe/dsDNA/Au) was characterized by XPS. Finally, in the presence of  $K_2S_2O_8$  as coreactant, ECL emission of the modified electrode is measured. The results indicate this design was effective for detection the DNA damage.

**Keywords:** ECL sensor; PFOA; DNA Damage; CdSe QDs

## CdSe 量子点电化学发光检测全氟辛酸 (PFOA) 对 DNA 的损伤\*

李 萌, 鲁理平

北京工业大学环境与能源工程学院, 北京市朝阳区平乐园 100 号, 100124  
Email: lipinglu@bjut.edu.cn

收稿日期: 2013

**摘 要:** 本文利用电化学发光方法研究了全氟辛酸(PFOA)对双链 dsDNA 的损伤, 通过 S-Au 键将一端修饰巯基的双链 dsDNA 连接到金电极(Au)表面, 再利用 6-巯基己-1-醇 (MCH) 封闭电极表面, 然后利用乙基-(3-二甲基丙基) 碳二亚胺盐酸盐(EDC)和 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)催化另一端由氨基修饰的双链 dsDNA 与羧基包裹的硒化镉量子点结合, 从而将硒化镉量子点连接到金电极表面, 得到 CdSe/dsDNA/Au 电极。通过原子力显微镜、X-射线光电子能谱等方法对电极表面进行表征, 以过硫酸钾( $K_2S_2O_8$ )作为共反应剂, 检测该 DNA 电化学传感器的电化学发光强度在 PFOA 损伤前后的变化。

**关键词:** 电化学发光; 全氟辛酸; DNA 损伤; 硒化镉量子点

### 1 引言

近年来, 由于电化学发光方法不仅具有化学发光灵敏度高、线性范围宽、观察方便和仪器简单等优点,

而且具有电化学分析控制性强、选择性好等优点, 已应用于药物分析、环境分析、免疫分析和 DNA 分析等方面。目前, 纳米技术已经广泛渗透到化学、生物、医学、材料、电子等学科领域, 形成了一个融前沿基础学科和高科技为一体的完整体系。半导体纳米晶粒, 即量子点是一种新兴的发光材料, 有着独特的发光性质和光学稳定性。电化学发光技术 (ECL) 已应

\*国家自然科学基金 (No.21005005), 北京市教委科研计划 (No.KM201010005014), 北京市科技新星 (No. 2010B009) 和北京市人才强教中青年骨干 (No.PHR20110818)

用于量子点生物分析领域。Ju 等<sup>[1]</sup>构建了第一支量子点 ECL 传感器, 基于 CdSe 量子点的阴极 ECL 信号, 检测对象为共反应剂  $H_2O_2$ ; Chen 等通过酶催化作用生成  $H_2O_2$ , 构建了基于 CdS QDs ECL 信号升高进行胆碱和乙酰胆碱检测的双酶生物传感器<sup>[2]</sup>; 基于金溶胶纳米粒子与  $Mn^{2+}$  掺杂 CdS 量子点的相互作用, 研究组发展了基于量子点 ECL 共振能量转移的 ECL DNA 传感器<sup>[3]</sup>; 另外, CdS 和 CdSe 量子点用于免疫传感器的构建也有报道, 利用  $S_2O_8^{2-}$  为共反应剂, 通过 ECL 信号的降低可对蛋白质分子进行检测<sup>[4]</sup>。本文研究了在金电极表面直接连接量子点帽化的双链 DNA 的电化学发光传感器, 利用量子点的电化学发光强度变化研究 DNA 电荷传递作用的机理, 进而研究持久性有机污染物对 DNA 的损伤。研究中所制备的电极可以直观的研究 DNA 的电荷传递作用, 并且具有良好的电化学发光性能, 条件温和。

## 2 实验部分

### 2.1 DNA-ECL 传感器的制备及 PFOS 损伤

滴加巯基修饰的 dsDNA 将其自组装在洁净的金

电极表面, 随后在量子点溶液中加入 EDC 和 NHS 将 dsDNA/Au 电极浸入混合溶液中, 反应 30 min。制得 QD-DNA/Au 电极。将该 QD-DNA/Au 电极浸泡在 100  $\mu$ M PFOA 溶液中损伤 30 min 以测定其损伤。

### 2.2 电化学发光检测方法

将 QD-DNA/Au 电极用超纯水冲洗干净, 置于 0.1M PB (pH = 7.4) + 0.1M  $K_2S_2O_8$  + 0.1M KCl 溶液中, 将以铂丝为对电极, 以甘汞电极为参比电极进行循环伏安扫描, 并用光电倍增管 (PMT) 收集光信号, PMT 的电阻设置为 1 , 电位扫描范围为 0.8 V~ -1.8 V, 扫描速度为 100 mV/s。

## 3 结果与讨论

### 3.1 电极界面的 X-射线光电子能谱表征

图 1 是电极表面修饰层的 XPS 光谱分析图。如图 1 所示, 在 dsDNA/Au 的 XPS 光谱分析图(a)(b)中分别出现了 N、P 元素的特征峰, 表明 dsDNA 已经修饰到金电极表面; 在 QDs/dsDNA/Au 的 XPS 光谱分析图(c)(d)中分别出现了 Se、Cd 元素的特征峰, 表明硒化镉量子点已经修饰到 dsDNA/Au 电极的表面。

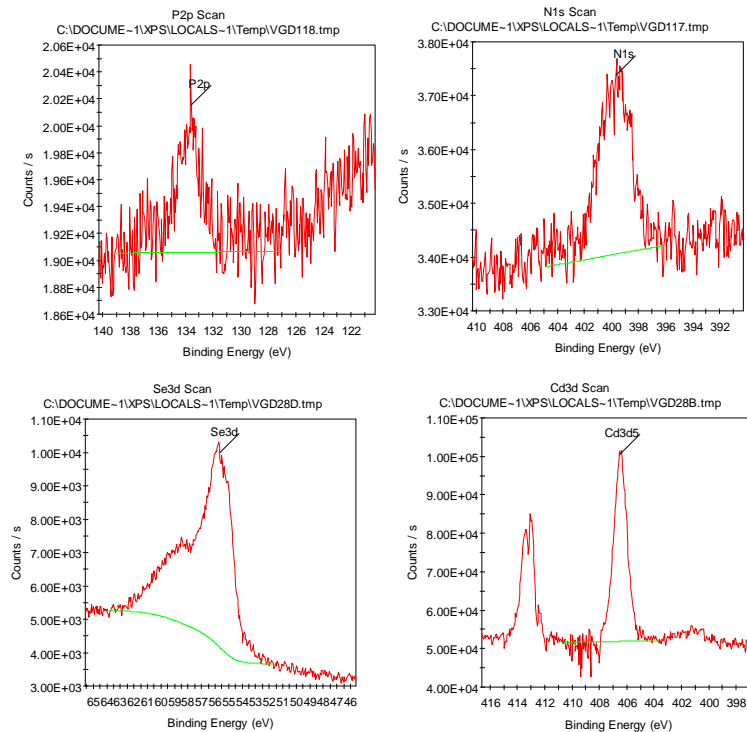


Figure 1. XPS of the dsDNA on the Au (a) (b), CdSe QDs on the dsDNA/Au (c)(d)  
图 1. 金电极表面 dsDNA 的 XPS(a)(b); 金电极表面 dsDNA 帽化量子点(c)(d)

## 3.2 DNA 损伤研究

### 3.2.1 电极的电化学发光

图 2 显示了电极 CdSe/dsDNA/Au (a) 的发光效果以及 CdSe/dsDNA/Au (b) 经过 100  $\mu\text{mol/L}$  PFOA 损伤后的电化学发光效果。实验过程中选择过硫酸钾作为共反应剂。由图中可知, 经过 PFOA 的损伤后, 电极的发光效果较未损伤的有明显的减小。这可能是由于 PFOA 与 dsDNA 形成加合物, 从而阻碍了电荷的传递, 使得电极的发光减小。推测 PFOA 与 DNA 结合是一种两步模式, 首先是 PFOA 分子因疏水作用而被插入到 DNA 沟槽中; 其次由于 F 元素具有强的电负性插入到 G-C 碱基对, 与碱基中的 H 形成了 H-F 键<sup>[5]</sup>。

### 3.2.2 PFOA 损伤时间的影响

图 3 显示了电极在 100  $\mu\text{mol/L}$  PFOA 中不同损伤时间对 CdSe/dsDNA/Au 电极电化学发光强度的影响。由图中可知, 在 30 min 之内, 电极的发光强度随着电极在 PFOA 中浸泡的时间增加而减小, 这是因为 PFOA 与 dsDNA 形成加合物, 阻碍了电荷的传递, 使得发光强度的减弱<sup>[6]</sup>; 随着时间的增加, 发光强度趋于稳定, 由于 PFOA 对 dsDNA 的损伤达到饱和。

## 4 总结

实验中提供了一种利用量子点电化学发光考察 DNA 损伤的方法, 通过对 CdSe/dsDNA/Au 电极在共反应剂过硫酸钾的条件下考察电化学发光强度的变化来研究全氟辛酸对 DNA 的损伤。试验中制备的

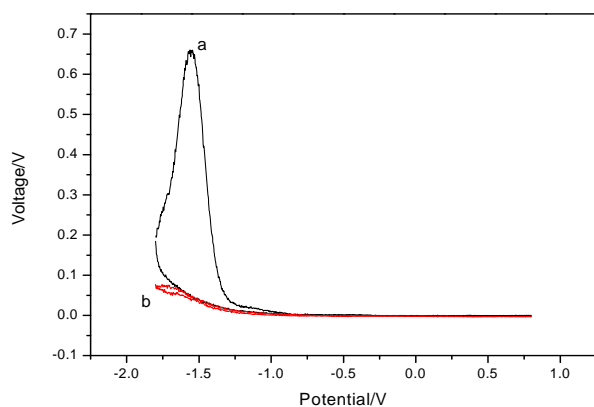


Figure 2. ECL-potential curves of CdSe/dsDNA/Au (a) and PFOA-CdSe/dsDNA/Au (b) in 0.1 M PB(pH = 7.4) + 0.1 M  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  + 0.1 M KCl;

图 2. CdSe/dsDNA/Au (a)和在 PFOA 中损伤的 CdSe/dsDNA/Au (b) 在 0.1 M PB(pH = 7.4) + 0.1 M  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  + 0.1 M KCl 溶液中的电化学发光图

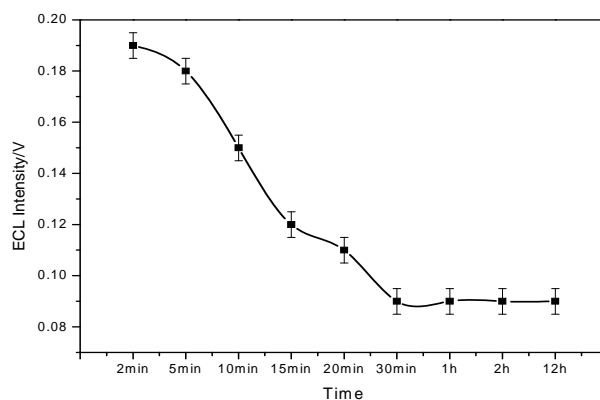


Figure 3. ECL-potential curves of CdSe/dsDNA/Au incubated in PFOA for different time, 100  $\mu\text{mol/L}$  PFOA in 0.1M PB(pH=7.4) + 0.1M  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  + 0.1M KCl

图 3. dsDNA/Au 电极在 100  $\mu\text{mol/L}$  PFOA 中损伤不同时间的电化学发光图

DNA 电化学传感器具有良好的电化学发光性能, 条件温和, 此方法有望为研究环境污染物对 DNA 的损伤提供一个新的途径。

## 5 致谢

感谢国家自然科学基金 (No. 21005005), 北京市教委科研计划 (No. KM201010005014), 北京市科技新星 (No. 2010B009) 和北京市人才强教中青年骨干 (No. PHR20110818) 的支持。

## 参考文献 (References)

- [1] G. Z. Zou, H. X. Ju. Electrogenerated chemiluminescence from a CdSe nanocrystal film and its sensing application in aqueous solution. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(23): 6871-6876.
- [2] X. F. Wang, Y. Zhou, J. J. Xu, H. Y. Chen. Signal-On Electrochemiluminescence Biosensors Based on CdS-Carbon Nanotube Nanocomposite for the Sensitive Detection of Choline and Acetylcholine. *Advanced Functional Materials*, 2009, 19(9): 1444.
- [3] Y. Shan, J. J. Xu, H. Y. Chen. Distance-Dependent Quenching and Enhancing of Electrochemiluminescence from CdS: Mn Nanocrystals Film by Au Nanoparticles for highly sensitive detection of DNA. *Chemical Communications*, 2009, 905-907.
- [4] (a) G. F. Jie, B. Liu, H. C. Pan, J. J. Zhu, H. Y. Chen. CdS Nanocrystal-Based Electrochemiluminescence Biosensor for the Detection of Low-Density Lipoprotein by Increasing Sensitivity with Gold Nanoparticle Amplification. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(15): 5574-5581.
- [5] (b) G. F. Jie, J. J. Zhang, D. C. Wang, C. Cheng, H. Y. Chen, J. J. Zhu. Electrochemiluminescence immunosensor based on CdSe nanocomposites. *Analytical Chemistry*, 2008, 80, 4033.
- [6] L. P. Lu, L. H. Xu, T. F. Kang, S. Y. Cheng. Investigation of DNA damage treated with perfluorooctane sulfonate (PFOS) on  $\text{ZrO}_2/\text{DDAB}$  active nano-order film. *Biosensors and Bioelectronics*, 2012, 35(1): 180-185.
- [7] L. H. Xu. Investigation of DNA damage treated with perfluorooctane sulfonate (PFOS) using electrochemical and electrochemiluminescence sensors. Beijing University of Technology, 2012.