

现负增长,有利于肥胖率的降低。但本研究发现不同的喂养方式对巨大儿的体重增长有显著性影响,其中早期母乳喂养能够明显降低10、12月龄巨大儿的体重增加。因此建议,巨大儿理想的喂养方式还是母乳喂养。

3.4 本研究样本的局限性

本研究为前瞻性队列研究,且资料均来源于门诊调查,受季节的影响,且随着巨大儿年龄的增加和家人带小孩熟练程度的加强以及其他家庭因素和社会因素的影响,队列随访人数呈现逐月下降趋势。这就使得我们的结论有一定局限性。我们将继续随访,以更好的评估不同喂养方式对巨大儿体格发育的影响。

参考文献

[1] World Health Organization. Infant and young child nutrition. 54. 2. Geneva, Switzerland: WHO Fifty-Fourth World Health Assembly, 2001.

[2] Marriott BM, Campbell L, Hirsch E, and Wilson D. Preliminary data from demographic and health surveys on infant feeding in 20 developing countries [J]. The Journal of Nutrition, 2007, 137 (2): 518S-23S.

[3] Baker JL, Michaelsen KF, Sorensen TIA, and Rasmussen KM. High pre-pregnant body mass index is associated with early termination of full and any breastfeeding in Danish women [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2007, 86 (2): 404-411.

[4] Grummer-Strawn LM, Scanlon KS, and Fein SB. Infant feeding and feeding transitions during the first year of life [J]. Pediatrics, 2008, 122: S36-42.

[5] Su LL, Chong YS, and Chan YH, et al. Antenatal education and postnatal support strategies for improving rates of exclusive breast feeding: randomised controlled trial [J]. British medical journal, 2007, 335 (7620): 596.

[6] American Academy of Pediatrics, Work Group on Breast-feeding. Breast-feeding and the use of human milk [j]. Pediatrics, 1997, 100 (6): 1035-1039.

[7] J Raisler, C Alexander, P O'Campo. Breast-feeding and infant illness: a dose-response relationship [J]. American journal of public Health, 1999, 89 (1): 25-30.

[8] WH Oddy, PG Holt, PD Sly, AW Read, LI Landau, FJ Stanley, GE Kendall, and PR Burton. Association between breast feeding and asthma in 6 year old children: findings of a prospective birth cohort study [J]. British medical journal, 1999, 319 (7213): 815-819.

[9] Arenz S, Ruckerl R, et al. Breast-feeding and childhood obesity—a systematic review [J]. Int J Obes Relat Metab Disord, 2004, 28 (10): 1247-1256.

[10] Thomas Harder, Renate Bergmann, et al. Duration of Breastfeeding and Risk of Overweight: A Meta-Analysis [J]. American Journal of Epidemiology, 2005, 162 (5): 397-403.

[11] Parish A, Bhatia J. Feeding strategies in the ELBW infant [J]. Journal of Perinatology, 2008, 28: S18-S20.

[12] 荫士安. 中国0-6岁儿童营养与健康状况——2002年中国居民营养与健康状况调查[M]. 人民卫生出版社, 2008.

[13] 魏小平, 赵勇, 刘友学, 瞿平, 李继斌, 李廷玉. 新生儿体重与孕妇情况的关系探讨 [J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33 (3): 346-349.

[14] 黎海芪, 毛萌. 儿童保健学 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2009, 186-190.

[15] Tore Henriksen. Nutrition and Pregnancy Outcome [J]. Nutrition Reviews, 2006, 64 (5): 19-23.

[16] Jr Magdaleno, et al., Pregnancy after bariatric surgery: a current view of maternal, obstetrical and perinatal challenges [J]. Arch Gynecol Obstet, 2012, 285: 559-566.

[17] E Oken, MW Gillman. Fetal origins of obesity [J]. Obes Res, 2003; 11 (4): 496-506.

[18] J Baird, D Fisher, P Lucas, et al. Being big or growing fast: systematic review of size and growth in infancy and later obesity [J]. British medical journal, 2005, 331 (7522): 929.

[19] Ong KK, Loos RJ. Rapid infancy weight gain and subsequent obesity: systematic reviews and hopeful suggestions [J]. Acta Paediatr, 2006, 95 (8): 904-908.

[20] Monteiro PO, Victora CG. Rapid growth in infancy and childhood and obesity in later life - a systematic review [J]. Obesity Reviews, 2005, 6 (2):

143 - 154.

[21] Fisher D, Baird J, Payne L, et al. Are infant size and growth related to burden of disease in adulthood A systematic review of literature [J]. International Journal of Epidemiology, 2006, 35 (5) : 1196 - 1210.

[22] Godfrey KM and B. DJ, Fetal nutrition and adult disease [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 71 (5 Suppl): 1344S - 52S.

[23] Hediger ML, Overpeck MD, Kuczmarski RJ, and Ruan WJ. Association between infant breast-feeding and overweight in young children [J]. The Journal of the American Medical Association, 2001, 285 (19): 2453 - 2460.

[24] Parsons TJ, Power C, and Manor O. Infant feeding and obesity through the lifecourse [J]. Archives of Disease in Childhood, 2003, 88 (9): 793 -

794.

[25] Cesar G Victora, Fernando Barros, Rosângela C Lima, Bernardo Horta, and Jonathan Wells. Anthropometry and body composition of 18 year old men according to duration of breast feeding: birth cohort study from Brazil [J]. British medical journal, 2003, 327 (7420): 901.

[26] 顾春丽, 严双琴, 刘国栋, 李晴. 181例巨大儿体格发育3年随访 [J]. 中国初级卫生保健, 2011, 25 (1): 46 - 47.

[27] 徐秀, 郭志平, 王卫平. 不同出生体重儿0~6岁体格生长水平特点 [J]. 临床儿科杂志, 2003, 21 (11): 725 - 727.

[28] Cooke, RJ. Postnatal growth and development in the preterm and small for gestational age infant [J]. Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program, 2010, 65: 85 - 95.

复合纳米材料在DNA电化学生物传感器中的应用进展

张广腾¹ 杨秋 赵薇薇 潘洪志²

(哈尔滨医科大学公共卫生学院卫生检验教研室, 哈尔滨 150081)

摘要: DNA电化学生物传感器是目前卫生检验领域的一个研究热点,特别是近年来纳米材料的迅速发展为DNA电化学生物传感器的研制提供了良好的条件,近年来越来越多的纳米材料复合修饰电极用于制备DNA电化学生物传感器。本文简要介绍复合纳米材料在DNA电化学生物传感器方面的研究进展。

关键词: 电化学生物传感器; 复合纳米材料; 修饰电极

随着人类基因组计划的提前完成,许多研究发现很多疾病与DNA密切相关,因此在诊断疾病时对相关DNA序列的检测成为常用的手段。现阶段常用的DNA序列检测方法有:荧光定量PCR、荧光原位杂交(Fish)法、MLPA技术、基因测序技术、基因芯片技术等,这些方法多存在一些缺点,主要有操

作步骤繁琐、效率低,且对样品也有一定的要求。

DNA电化学生物传感器具有灵敏、快速、简便、不受溶液颜色影响等优点,已逐渐成为分子生物学研究中直接进行DNA序列检测的方法之一。特别是随着纳米技术的发展,纳米领域有了许多研究成果,使纳米材料得以在DNA电化学生物传感器中

1 张广腾:男,硕士研究生,研究方向:食品检验与评价,Email: zhangguangteng1987@126.com

2 潘洪志:男,哈尔滨医科大学公共卫生学院,教授,Email: panhongzhi@163.com

应用,从而使 DNA 生物传感器的灵敏度和选择性得到了进一步提高。

DNA 生物传感器中,利用纳米材料极强的吸附能力、良好的定向能力和作为信号放大粒子的功能,以及某些纳米材料良好的生物相容性,可极大增强电化学 DNA 生物传感器的性能,特别是能极大地提高传感器检测目的 DNA 的灵敏度,这些优点使得纳米材料制备的 DNA 电化学生物传感器受到了广泛关注。然而随着研究的深入,发现单一纳米粒子应用的一些问题越来越明显,例如,碳纳米管材料功能团单一而贫乏且溶解性较差不易固定 ssDNA,又如,金属纳米颗粒易凝结而不易保存^[1]等。为了解决这些问题,人们需要找到其他解决方案,复合纳米材料引起了人们极大的兴趣。

1 复合纳米材料的定义

复合材料是将两种或两种以上的材料复合在一起,进行优势互补,以谋求最佳的综合性能。而复合纳米材料是指分散相尺度至少有一维小于 100nm 的复合材料^[2],由于纳米分散相大的比表面和强的界面作用,复合纳米材料表现出不同于一般宏观复合材料的综合性能。这种复合纳米材料除了在本性能上具有普通单一纳米材料所具有的表面效应、体积效应及量子尺寸效应等特点外,还具有复合协同多功能效应。

2 DNA 电化学生物传感器中的复合纳米材料分类

复合纳米材料的最大优点是能将不同性能的纳米材料结合起来,在一种复合材料上体现出更多特殊的性能。在 DNA 电化学生物传感器中应用较多的复合纳米材料有:基于碳纳米材料的复合材料、基于金属纳米材料的复合材料、基于导电聚合物的复合纳米材料等。

2.1 碳纳米复合材料

现在应用在 DNA 电化学生物传感器的碳纳米材料主要有:碳纳米管和石墨烯材料。

2.1.1 碳纳米管

自 1991 年日本电气公司(NEC)的 Sumio Iijima 首次利用电子显微镜观察到中空的碳纤维(即碳纳米管)以来,各国科学家对其给予了广泛的关注。

碳纳米管为六角网状的石墨烯片卷成的螺旋周期管状结构,因其具有独特的物理性质、优异的化学性能和稳定的化学物理特性受到广泛的关注。碳纳米管具有特殊的管状结构,体积极小,将其应用

于生物传感器具有极大优势。碳纳米管比表面积较大,易于吸附有机分子。基于碳纳米管的优越比表面积和导电性,经常将碳纳米管与其他纳米材料(多为金属纳米材料)复合制备电化学生物传感器。

何月珍等^[3]将多壁碳纳米管滴涂在玻碳电极表面,然后恒电位法将纳米金修饰到电极表面,制备了基于多壁碳纳米管和纳米金复合膜修饰电极制备的 DNA 电化学生物传感器,用六氨基合钌作为杂交指示剂,检测 DNA,检测限达 3.5×10^{-13} mol/L。周娜等^[4]将 Ag-TiO₂ 复合物与适量多壁碳纳米管混合,滴涂在玻碳电极表面,制备了多壁碳纳米管/纳米 Ag-TiO₂ 修饰电极,利用碳纳米管大的比表面积和良好的电子传递性能与 Ag-TiO₂ 纳米复合物良好的生物相容性和对 DNA 极好的吸附能力的协同作用,显著提高了 DNA 电化学生物传感器的检测灵敏度,用电化学交流阻抗法对转基因植物外源草丁膦乙酰转移酶基因片段进行了检测,检出限为 3.12×10^{-12} mol/L。

2.1.2 石墨烯

“石墨烯”又名“单层石墨片”,是指一层密集的、包裹在蜂巢晶体点阵上的碳原子,碳原子排列成二维结构,与石墨的单原子层类似。石墨烯的单片结构赋予其独特的化学和电化学活性^[5],石墨烯的理论比表面积高达 2600m²/g,具有突出的导热性能(3000W/m¹·K)和力学性能(1060GPa),以及室温下较高的电子迁移率(15000cm²/V·s)^[6]。此外,它的特殊结构使其具有半整数的量子霍尔效应、永不消失的电导率等一系列性质,因而备受关注。由于石墨烯每个原子都在表面上,对外界分子的光响应与电响应极其灵敏,同时,嵌入生物传感器界面的石墨烯可增大电极的有效表面积,为石墨烯生物传感器的研发提供了非常有利的基础。

单纯用石墨烯作为纳米材料修饰电极,制备 DNA 电化学生物传感器已有报道^[7],但这不足以完全发挥石墨烯的作用,研究表明,功能化石墨烯-聚苯乙烯复合纳米材料的电导率为 0.9S/m,远高于相同条件下的非功能化石墨烯的电导率 0.06S/m^[8]。因此以石墨烯为基础制备复合纳米材料,用以制备 DNA 电化学生物传感器是更好的方法。目前对以石墨烯为基础的复合纳米材料 DNA 电化学生物传感器的研究已有报道,但还不是很多。Zhang^[9]等制备了石墨烯/聚硫磺/纳米金修饰的免疫标记型 DNA 电化学生物传感器,其检测限达 3.5×10^{-14} mol/L。

2.2 金属纳米复合材料

利用多种金属复合制备的复合纳米材料,能够

提高 DNA 检测的灵敏度。利用含有多种金属核壳结构的复合纳米粒子可进一步提高 DNA 检测的灵敏度。常用的复合金属纳米材料主要有：金银^[10]、金铁^[11]、金铜^[12]等。

Fang 等^[12]在壳聚糖修饰的电极上修饰 ss-DNA，与金纳米粒子标记的寡核苷酸探针杂交，加入银纳米的修饰剂，在金表面在线沉积纳米银，得到银包裹的金纳米粒子，利用高灵敏度的微分脉冲伏安法检测银，从而使检测目标 DNA 的灵敏度提高了两个数量级，检出限可达 5×10^{-11} mol/L。但是，金表面在线沉积纳米银时，银本身也在电极表面沉积，其结果对分析信号会产生干扰。

2.3 金属氧化物复合材料

2.3.1 金属纳米—纳米氧化物复合纳米

常利用金纳米与氧化钛、氧化锆、氧化铈纳米复合。Zhang 等^[13]利用亚甲基蓝做为杂交指示剂，利用纳米金/氧化锆纳米复合材料研制了一种灵敏的 DNA 电化学传感器。张永春等^[14]应用循环伏安法和电化学交流阻抗谱法研究了纳米金和 TiO₂中空微球在碳糊电极上的固载，并用 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/4-$ 作为指示剂以电化学交流阻抗谱法表征了 DNA 的杂交。此 DNA 电化学生物传感器成功检测了来自于花椰菜花叶病毒的 35S 启动子基因的 DNA 特定序列，其检测限为 2.3×10^{-13} mol/L，得到了满意的结果。

2.3.2 磁性金属纳米氧化物复合材料

此复合材料中应用较多的是铁的氧化物：Fe₂O₃、Fe₃O₄ 等磁性纳米材料。由于金属氧化物多具有良好的磁学性质，有良好的分离富集作用。在 DNA 杂交检测中引入金属氧化物磁性微粒，将 DNA 杂交的场所和电化学检测的场所分开，即在一个固体表面（金属氧化物磁性微粒）进行 DNA 的杂交，杂交后利用磁场作用进行杂交分子的分离，得到的杂交分子在另一表面（电极表面）进行电化学检测，可减少由电极表面同时杂交和检测引起的杂交分子对电活性物质电化学检测信号的干扰。同时利用磁场作用将杂交分子吸附在电极表面，对电活性物质有一定的富集作用，可提高检测的灵敏度和降低检出限。

Wang 等将纳米金和磁性微粒^[15]，纳米金—银复合物和磁性微粒^[16-19]相结合，进行了 DNA 序列分析，制得性能良好的 DNA 电化学传感器。Wang 等^[16]将磁性微粒标记的 DNA 探针与亲和素连接的目标 DNA 进行杂交，引入生物素标记的纳米金。结合后在金表面在线沉积纳米银，将杂交后的 DNA 利用磁铁吸着在电极表面，溶出检测银的电化学信号，

实现 DNA 序列的测定。金属氧化物磁性微粒的富集作用和磁铁的开关作用，省略了电化学溶出的步骤，简化了 DNA 检测的过程，缩短了检测时间，减少了因银在电极表面的吸附而引起的干扰。与金属粒子检测的高灵敏度结合，提高了检测的灵敏度，降低了检出限，检出限可达 150pg/mL。

2.4 导电聚合物复合纳米材料

目前导电聚合物膜大致可分为：氧化还原型、离子交换型以及电子导电型三类。聚合物膜研究的一个重要方向是电子导电型聚合物。聚苯胺、聚噻吩、聚吡咯是三大主要的导电聚合物。导电聚合物纳米材料由于同时具有低维材料和有机导体的优点，已经引起了人们广泛的兴趣。导电聚合物纳米材料除了保留有传统聚合物良好的电化学性能之外还同时具备了纳米物质所特有的大比表面积、电子转移速率快等优点，因此将纳米结构聚合物引入电化学生物传感器中可极大提高电化学生物传感器的灵敏度、重现性和选择性。目前导电聚合物常与金属纳米材料、碳纳米管、石墨烯等联用。

Yang 等^[18]将聚苯胺纳米纤维、多壁碳纳米管和壳聚糖结合作为 DNA 探针固定和杂交检测的平台，由于碳纳米管较大的比表面积和聚苯胺纳米纤维良好的电子传递性能以及对 DNA 极好的吸附能力，将 DNA 探针固定在 MWNT/PAN/CHIT 复合膜上，应用交流阻抗技术对 DNA 的固定和杂交进行了表征。结果表明，在 1.0×10^{-13} mol/L 到 1.0×10^{-7} mol/L 的浓度范围内该传感器可成功实现对转基因植物 PAT 基因片段的检测，同时对 NOS 基因的 PCR 扩增产物的实际样品进行了检测，结果令人满意。

Yang 等^[19]利用纳米氧化锆/多壁碳纳米管/壳聚糖复合体系作为固定载体制备了一种 DNA 电化学传感器，三者结合的协同效应使复合膜修饰电极具有较大的电活性表面积，从而大大提高了探针 DNA 的固定量，检测限可达 7.5×10^{-11} mol/L。

3 复合纳米材料在 DNA 电化学生物传感器中应用的展望

研究高灵敏度、重现性好的 DNA 电化学生物传感器，依然是研究人员所追求的目标。复合纳米材料的出现为我们提供了方法，复合纳米材料，特别是基于石墨烯的复合纳米材料将是一个活跃的研究领域。

未来复合纳米材料在 DNA 电化学生物传感器中应用研究将侧重于以下几个方向：寻找并合成高灵敏的复合纳米材料，以进一步提高 DNA 负载量、电