DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260513001
引用格式: 祝筱慧, 黄科, 朱萍萍, 等. 2’-氟取代核酸适配体/氧化石墨烯生物传感器检测预包装食品中金黄色葡萄球菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(11): 258–267.
ZHU XH, HUANG K, ZHU PP, *et al*. Detection of *Staphylococcus aureus* in prepackaged food by 2’-fluoro-substituted nucleic acid aptamer/graphene oxide biosensor [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(11): 258–267. (in Chinese with English abstract).

2’-氟取代核酸适配体/氧化石墨烯生物传感器检测预包装食品中金黄色葡萄球菌

祝筱慧, 黄　科, 朱萍萍, 康海宁, 张建莹*
(深圳海关食品检验检疫技术中心, 深圳　518045)

摘　要: 目的　开发了一种由 2’-氟取代核酸适配体(2’-fluoro-substituted nucleic acid aptamer, 2’F-Apt)和氧化石墨烯(graphene oxide, GO)组成的荧光生物传感器, 实现预包装食品中金黄色葡萄球菌的高灵敏、高特异性检测。**方法**　该传感器基于 2’F-Apt 与 GO 的非共价吸附组装, 依托 GO 的荧光猝灭效应抑制适配体荧光; 当存在靶标细菌时, 2’F-Apt 特异性结合细菌表面蛋白并脱离 GO, 荧光信号恢复, 以此实现样品定量检测。**结果**　相较于未修饰的核酸, 2’-氟取代可减小核酸链构象限制、提升分子柔性, 增加结合位点与比表面积, 强化 2’F-Apt 与 GO 的结合作用, 有效抑制非特异性脱落、降低假阳性; 同时可优化靶标识别能力, 提升检测灵敏度。测试结果表明, 2’F-Apt/GO 生物传感器对金黄色葡萄球菌的检测线性范围为 10~10^9 CFU/mL, 检出限为 5 CFU/mL, 检测性能优异。**结论**　本研究构建的生物传感器制备方法简便、普适、灵敏度高, 可用于预包装食品中金黄色葡萄球菌的快速检测。

关键词: 2’-氟取代; 核酸适配体; 氧化石墨烯; 生物传感器; 金黄色葡萄球菌

Detection of *Staphylococcus aureus* in prepackaged food by 2’-fluoro-substituted nucleic acid aptamer/graphene oxide biosensor

ZHU Xiao-Hui, HUANG Ke, ZHU Ping-Ping, KANG Hai-Ning, ZHANG Jian-Ying*
(*Food Inspection* and *Quarantine Technology Center of Shenzhen Customs*, *Shenzhen* 518045, *China*)

ABSTRACT: Objective　To construct a fluorescent biosensor composed of 2’-fluoro-substituted nucleic acid aptamer (2’F-Apt) and graphene oxide (GO) for the highly sensitive and specific detection of *Staphylococcus aureus* in prepackaged foods. **Methods**　The biosensor was fabricated via non-covalent adsorption and assembly between 2’F-Apt and GO. The fluorescence of the aptamer was quenched by GO. In the presence of target bacteria, 2’F-Apt specifically bound to surface proteins of the bacteria and detached from GO, resulting in the recovery of fluorescence

收稿日期: 2025-05-13
基金项目: 海关总署科研项目(2024HK008)
第一作者: 祝筱慧(1994—), 女, 工程师, 主要研究方向为食品中残留和污染物检测。E-mail: 593645688@qq.com
***通信作者:** 张建莹(1977—), 男, 正高级工程师, 主要研究方向为食品中残留和污染物检测。E-mail: zhangjianying1001@q163.com

signal, which enabled the quantitative detection of samples. **Results** Compared with unmodified nucleic acids, 2’-fluoro substitution reduced the conformational constraints of nucleic acid strands and improved molecular flexibility. It also increased binding sites and specific surface area, strengthened the interaction between 2’F-Apt and GO, effectively inhibited non-specific dissociation and reduced false-positive results. Meanwhile, the target recognition capability and detection sensitivity were enhanced. The test results showed that the linear detection range of the 2’F-Apt/GO biosensor for *Staphylococcus aureus* was 10 to 10^9 CFU/mL, with a limit of detection of 5 CFU/mL, presenting excellent detection performance. **Conclusion** The biosensor constructes in this study features simple preparation, good universality and high sensitivity, and can be applied to the rapid detection of Staphylococcus aureus in prepackaged foods.

KEY WORDS: 2’-fluoro-substituted; nucleic acid aptamer; graphene oxide; biosensor; *Staphylococcus aureus*

0　引　言

食源性致病菌污染是全球食品安全领域的核心问题之一, 其中金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)作为典型的食源性致病菌, 广泛存在于乳、肉、粮食制品等预包装食品中[1–4], 其产生的肠毒素可引发急性食物中毒, 严重威胁消费者健康, 也给食品加工和进出口贸易带来巨大经济损失[5–7]。根据 GB 29921—2021《食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量》, 各类预包装食品中对金黄色葡萄球菌均有严格的限量要求, 因此建立快速、灵敏、特异的金黄色葡萄球菌检测方法具有重要的现实意义。

传统的食源性致病菌检测方法如分离培养结合生化鉴定, 操作烦琐、耗时较长, 难以满足快速检测需求; 荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术虽灵敏度高, 但易受样品污染影响, 对操作环境要求严苛; 酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)等免疫学方法依赖抗原-抗体结合, 存在抗体制备周期长、稳定性差、交叉反应等问题[8–10]。核酸适配体(nucleic acid aptamer, Apt)因其与靶标分子高特异性、高亲和力, 且具有靶标范围广、合成成本低、稳定性好、易于化学修饰等优点, 已成为食源性致病菌检测领域理想的抗体替代物[11–16]。氧化石墨烯(graphene oxide, GO)因具有大的比表面积、优异的荧光猝灭能力和良好的生物相容性, 成为构建荧光型 Apt 生物传感器(Apt/GO)的常用载体[17–20]。

传统 Apt/GO 生物传感器基于“荧光猝灭-恢复”原理, 荧光标记 Apt 吸附于 GO 表面时荧光被猝灭, 与靶标致病菌结合后从 GO 表面脱落, 荧光恢复实现检测。然而, 受限于 Apt 与 GO 之间较弱的结合力, 使得 Apt 易发生非特异性脱落, 导致检测过程产生假阳性[21–22]。化学修饰是改善 Apt 理化性质和结合性能的有效手段, 其中 2’-氟取代(2’-fluoro-substituted, 2’F)修饰因能显著调控核酸分子的构象和稳定性, 成为潜在的功能核酸研究趋势[23–25]。研究发现, 2’F 取代的核酸链中, 氟原子与相邻碱基的磷酸根(phosphate radical, PO_4^{3-})之间会产生静电排斥作用, 促使核酸分子结构发生局部拉伸; 同时, 2’F 取代后的碱基可诱导邻近水分子发生规则极化并形成水化层, 破坏碱基间固有相互作用, 降低碱基所受约束, 显著提升核酸链的构象柔性[26–28]。通过 2’F 取代的核酸与 GO 结合共孵化, 可以潜在地增加 Apt 与 GO 的结合位点, 提高二者结合力, 减少非特异性脱落; 构象柔性的提升有利于 Apt 与致病菌表面蛋白位点的精准结合, 增强检测的特异性和灵敏度。但目前, 鲜少见有相关研究报道 2’F 取代的核酸与 GO 结合制备生物传感器用于检测预包装食品中金黄色葡萄球菌的方法。

针对传统核酸/GO 生物传感器检测食源性致病菌存在假阳性高、特异性差的缺陷, 以及常规致病菌检测方法操作烦琐、周期较长、抗干扰能力弱等问题, 本研究以金黄色葡萄球菌为典型食源性致病菌检测靶标, 筛选其对应的特异性 Apt, 并对适配体进行 2’F 取代修饰, 制备稳定性与识别性能更优异的改性适配体(2’F-Apt), 并将荧光标记的 2’F-Apt 与 GO 复合组装, 构建新型 2’F-Apt/GO 荧光生物传感体系, 为食品安全领域快速检测技术的创新开发与实际应用提供新思路与技术参考, 为食品微生物安全风险防控、整治食源性致病菌超标问题提供可靠的技术支撑。

1　材料与方法

1.1　仪　器

日立 F-7000 荧光分光光度计、Regulus 8100 扫描电子显微镜(日本日立公司); JEM-2100 透射电子显微镜(日本电子公司); Multimode 8 原子力显微镜(美国布鲁克公司); Nano-ZS90 纳米粒度电位仪(英国马尔文公司); 5810 R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); ME204E 电子分析天平(精度 0.1 mg, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2　试剂与材料

氧化石墨烯溶液(质量浓度 2 mg/mL, 江苏先丰纳米材料科技有限公司); 氯化钠(NaCl, 分析纯, 美国 Sigma 公

司); 金黄色葡萄球菌标准菌株、甲型副伤寒沙门氏菌(*Salmonella paratyphi* A)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、产肠毒素大肠杆菌(*Escherichia coli* K88)、猪霍乱沙门氏菌(*Salmonella choleraesuis*)(北京陆桥技术股份有限公司); 金黄色葡萄球菌 Apt、2'F 取代 Apt [2'F_1-(5'Apt)、2'F_2-(5'3'Apt)、2'F_3-(3'5'mApt)][分别在核酸序列的 3 端、5 端、中间进行 2'-氟取, 氟修饰个数分别为 0、1、2、3, 均标记 6-羧基荧光素(6-carboxy fluorescein, FAM)荧光基团(5'-端)]、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)、核酸裂解酶 I[生工生物工程(上海)股份有限公司]; 4-羟乙基哌嗪乙磺酸 [4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid, HEPES, pH=7.6]、脑心浸液肉汤(brain heart infusion, BHI)、营养琼脂(nutrient agar, NA)(深圳市埃斯特科学仪器有限公司); 实验用水为超纯水(18.2 MΩ・cm)。

实际检测样品为本单位抽检样品。

1.3 2'F 取代核酸适配体序列信息

tagctcactcattaggcactcgagagggtactcggggcgtgcgatgattttgccttcatgcatagttaagccagcc, 未进行 F 修饰的 Apt 序列(regular aptamer, reApt), 标记为 reApt。

t/i2fa/gctcactcattaggcactcgagagggtactcggggcgtgcgatgatttgccttcatgcatagttaagccagcc, 由于 T 碱基无法 F 修饰, 因此在核酸序列 5 端 A 碱基进行 F 修饰, 标记为 2'F_1-(5'Apt)。

t/i2fa/gctcactcattaggcactcgagagggtactcggggcgtgcgatgatttgccttcatgcatagttaagccagc/i2fc/, 核酸序列 5、3 端进行 F 修饰, 标记为 2'F_2-(5'3'Apt)。

t/i2fa/gctcactcattaggcactcgagagggtactcggggc/i2fg/tgcgatgattttgccttcatgcatagttaagccagc/i2fc/, 核酸序列 5、3 端和中间进行 F 修饰, 标记为 2'F_3-(5'3'mApt)。

1.4 菌株培养与菌悬液制备

将金黄色葡萄球菌及对照菌株分别接种于 BHI 液体培养基中, 37 ℃、180 r/min 恒温培养 12 h, 获得种子液; 取 1 mL 种子液转接至新鲜 BHI 培养基中, 继续培养至对数生长期, 8000 r/min 离心 5 min 收集菌体, 用 5 mmol/L HEPES 缓冲液(含 300 mmol/L NaCl, pH=7.6, 记为缓冲液 A)洗涤 3 次, 重悬于缓冲液 A 中, 通过平板计数法调节菌液浓度, 制备系列浓度的菌悬液(10~10^9 CFU/mL), 4 ℃保存备用。

1.5 实际样品前处理

取纯牛奶或饮用水样品 25 mL, 加入 225 mL 无菌缓冲液 A, 振荡混匀; 上述样品匀浆液均经 8 层无菌纱布过滤, 取滤液作为样品提取液, 用于后续加标检测实验。

取肉制品或粮食制品 25 g, 加入 225 mL 无菌缓冲液 A, 经无菌拍击均质至体系均匀; 所得样品匀浆液采用 8 层无菌纱布过滤, 收集滤液即为样品提取液, 用于后续加标检测实验。

1.6 2'F-Apt/GO 生物传感器的制备

1.6.1 GO 分散液的制备

将 2 mg/mL 的 GO 溶液用缓冲液 A 稀释, 超声分散 30 min, 制备 100 μg/mL 的 GO 分散液, 现配现用。

1.6.2 2'F-Apt 与 GO 的结合

取 GO 分散液(100 μL, 100 μg/mL), 加入不同类型的 2'F-Apt 溶液(400 nmol/L), 室温避光振荡反应 2 h, 使 2'F-Apt 充分吸附于 GO 表面。

1.6.3 封闭与纯化

向上述反应体系中加入 BSA 溶液, 4 ℃过夜封闭非特异性结合位点; 15000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 得 2'F-Apt/GO 生物传感器, 4 ℃避光保存。

1.7 2'-氟取代对 Apt 与 GO 结合性能

1.7.1 不同 NaCl 浓度对 GO 吸附 F-Apt 的影响

制备 GO 分散液(50 μg/mL), 分别加入不同浓度的 NaCl (0~300 mmol/L), 电位仪测定 GO 的电位。取浓度 50 nmol/L, 不同修饰个数的 reApt、2'F_1-(5'Apt)、2'F_2-(5'3'Apt)、2'F_3-(5'3'mApt)与 GO (10 μg/mL)充分反应后离心(5000 r/min; 10 min), 取上清液, 测定 FAM 荧光强度(激发波长 488 nm, 发射波长 520 nm), 得到 GO 对 Apt 的吸附量。

1.7.2 2'F-Apt 在 GO 表面的饱和吸附量测定

将 GO 分散液(100 μg/mL)与不同浓度(0~500 nmol/L)的 reApt、2'F_1-(5'Apt)、2'F_2-(5'3'Apt)、2'F_3-(5'3'mApt)充分反应后 5000 r/min 离心 10 min, 测定上清液荧光强度, 绘制吸附曲线, 确定饱和吸附量。

1.8 不同 F 修饰个数的 Apt 与 GO 之间的相互作用

1.8.1 2'F-Apt/GO 的自释放性能测试

将制备得到的 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 离心后(5000 r/min; 10 min), 沉淀重新分散于 HEPES 缓冲液(pH=7.6; 无 NaCl; 5 mmol/L)中, 测定时间-荧光强度曲线, 得到不同 F 修饰的传感器非特异性自释放情况。

1.8.2 稳定性和重复性研究

制备得到的 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器分别分散在 10 U 的核酸裂解酶 I 和 FBS (10%)溶液中。测定随时间-荧光曲线, 验证所制备传感器抗酶解稳定性。然后, 选定浓度为 10^4 CFU/mL 的金黄色葡萄球菌作为目标测试样品, 将其分为 6 组, 每组 3 个平行样品, 将 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 置于上述样品, 共同孵育相同时间, 测定荧光变化, 验证所制备传感器的重复性。同时, 制备得到 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器分为 6 组, 每组 3 个平行样品; 分别置于 4 ℃条件下保存。然后按照 0、4、8、12、24、48 h 后, 取出

传感器与 10^4 CFU/mL 的金黄色葡萄球菌共孵育一段时间, 测定荧光变化, 验证所制备传感器的检测稳定性。

1.8.3　2’F-Apt/GO 传感器的分子动力学模拟研究

单链 DNA 的三维结构通过 AmberTools 20 软件和 teLeap 协议生成。根据 B3LYP/6-31G*理论, 采用高斯 09 包, 得到 2’F-Apt 和 GO 的几何形状和部分电荷[23]。通过琥珀 ff14SB-OL15 力场和广义琥珀力场描述 2’F-Apt 和 GO 的 Lennard-Jones 参数。经典分子动力学(molecular dynamics, MD)模拟被用于研究单链 DNA 的构象集合或组装过程。对于每个 MD 系统, 溶剂化物被放置在大小为 90×90×90 埃$(Å)^3$ 的立方体盒子中心, 在所有的三维上都采用了周期边界条件。溶剂采用经典三点刚性水模型 TIP3P。所有的分子动力学仿真都是在内部 GPU 集群加速的 Amber 20 包中进行的。1a10Å 截断值用于处理非共价相互作用。采用粒子网格 Ewald 算法计算静电相互作用。所有涉及氢的键都用 SHAKE 算法约束。本次工作时间步长设置为 2 fs。在进行有效的 MD 仿真之前, 先进行能量最小化(5000 步最陡下降算法和 5000 步共轭梯度法), 以确保系统没有不合适的几何或空间冲突。使用 Langevin 动力学算法将最小化的模拟单元加热并维持在 300 K、0.5 ns。然后, 在 Berendsen 气压计控制的等温-等压(isothermal-isobaric, NPT)集成系统中, 系统在 5 ns 的平衡状态下达到恒压(1 bar)。最后, 进行 300 ns 的 MD 仿真进行数据采集。模拟过程中, 氢键构型为 X-H…X (X=F、N、O, 即氟、氮、氧原子), 其判定规则如下: (a)两 X 原子间距离不大于 3.5 Å; (b)键角不小于 150°。接触数被定义为两个分子之间距离小于 6Å 的原子对数。根据杨维涛提出的简化密度梯度评估了 2’F-Apt 和 GO 之间的相互作用 π-π 堆积。

1.9　2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器用于金黄色葡萄球菌检测分析

1.9.1　线性范围与检出限

将性能最优的生物传感器 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 与系列浓度金黄色葡萄球菌菌悬液(10~10^9 CFU/mL)混合反应, 测定体系荧光恢复率, 以菌液浓度的对数值为横坐标(X), 荧光恢复率为纵坐标(Y), 绘制标准工作曲线, 计算线性方程和相关系数; 以 3 倍信噪比(S/N=3)确定传感器的检出限。

1.9.2　2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器特异性分析

将 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器分别与等浓度的金黄色葡萄球菌、甲型副伤寒沙门氏菌、苏云金芽孢杆菌、产肠毒素大肠杆菌、猪霍乱沙门氏菌混合反应, 同时设置空白对照组(缓冲液 A), 测定各体系的荧光恢复率, 考察传感器的检测特异性。

1.9.3　实际样品加标回收检测

在纯牛奶、饮用水、午餐肉及面包样品的提取液中分别加入相同浓度的金黄色葡萄球菌、甲型副伤寒沙门氏菌、苏云金芽孢杆菌、产肠毒素大肠杆菌、猪霍乱沙门氏菌悬液, 制备加标样品, 利用 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器在最佳条件下进行检测, 每个样品平行测定 3 次, 利用检测的荧光信号, 考察传感器在实际预包装食品样品中的检测准确性和适用性。

同时, 选择经检验未检出金黄色葡萄球菌的饮用水、纯牛奶、午餐肉和面包作为样品添加基质, 提取液分别在 10 倍检出限、100 倍检出限、1000 倍检出限上添加金黄色葡萄球菌菌株, 与 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器共孵育, 进一步验证传感器的准确性。

1.10　数据处理

数据采用 FL Solutions 4.2 软件收集和处理, 回收率、相对标准偏差(实验重复测定 3 次)、标准曲线线性方程分别由 Origin 8.5 和 Excel 2010 进行处理。实验流程图采用 Photoshop 2023 软件绘制。分子动力学模拟采用利用 GROMACS 2024.6 软件进行优化处理。本研究涉及相关数据采用 SPSS 26.0 进行统计学分析, 多组间比较采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA), P<0.05 为差异显著。结果显示, 各 2’F 修饰核酸组之间无显著差异(P>0.05), 但均显著高于未修饰对照组(P<0.01)。

2　结果与分析

2.1　2’F-Apt/GO 生物传感器的制备结果

为了更加清晰和直观地研究传感器制备、以及后续检测过程, 对整个传感器制备过程和检测应用流程进行可视化绘制(图 1)。用荧光标记的、3 个氟原子取代的金黄色葡萄球菌 Apt[2’F_3-(5’3’mApt)]与 GO 复合组装, 制备得到 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感体系, 实现对靶标细菌的检测。

2.2　2’F 取代对 Apt 与 GO 结合性能的影响

2.2.1　形貌结构研究分析

GO 表面存在大量羧基等含氧官能团, 带强负电荷, 而 Apt 表面电荷为负, 二者之间存在静电斥力, 影响相互吸附[29–30]。Na^+可有效屏蔽 GO 和 Apt 表面负电荷, 促进二者结合。图 2(a)和图 2(b)为 GO 的透射电子显微镜、扫描电子显微镜进行形貌分析, 石墨烯样品大小约为 150 nm; 图 2(c)原子力显微镜显示 2’F-Apt 被吸附在 GO 表面(白色为核酸)。图 2(d)显示 NaCl 加入 GO 分散液后, 其表面电荷从–29.5 mV 逐渐升高至–18.5 mV, 且在 300 mmol/L 后趋于稳定; 图 2(e)显示随着 NaCl 浓度升高, GO 对的 2’F-Apt 吸附量逐渐增加; 且相同NaCl浓度下, 随着2’F取代位点数量的增加, GO 对 2’F-Apt 的吸附量显著提高, 2’F_3-(5’3’mApt)的吸附量远高于 reApt。这主要是, NaCl 加入可以有效屏蔽石墨烯表面电荷, 降低石墨烯和核酸结合静电阻力, 增加二者结合能力。

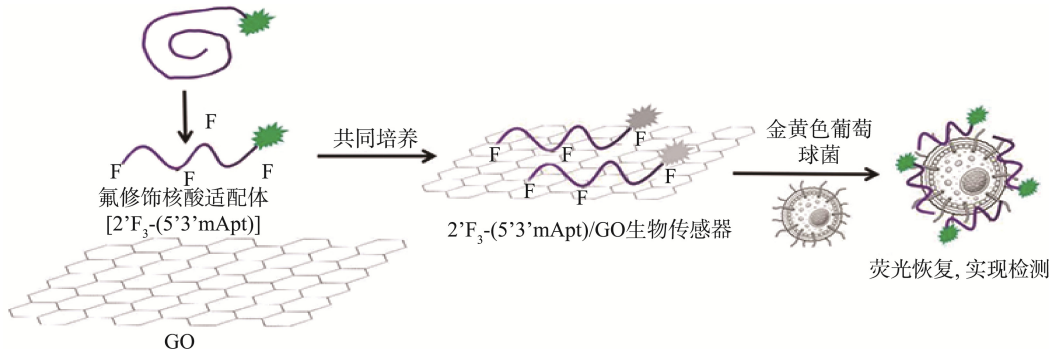
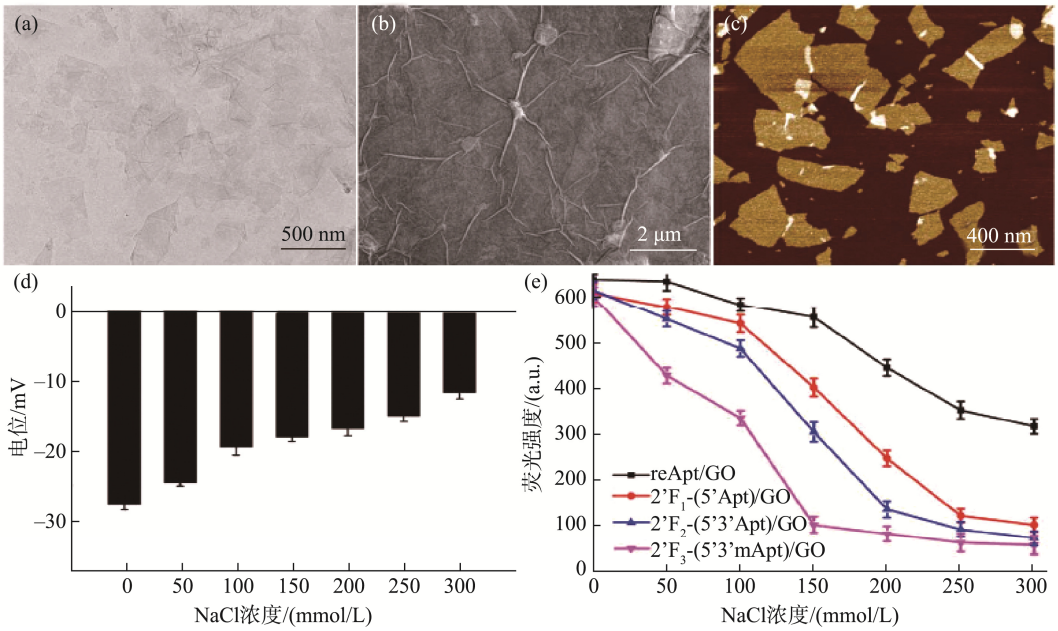


图 1 用于金黄色葡萄球菌检测的生物传感器的制备流程

Fig.1 Preparation process of biosensors for *Staphylococcus aureus* detection



注: (a)为 GO 的透射电子显微镜; (b)为扫描电子显微镜; (c)为 2'F-Apt/GO 的原子力显微镜图; (d)为不同浓度 NaCl 处理 GO 后其表面电荷变化; (e)为不同浓度 NaCl 处理 GO 后, reApt、2'F_1-(5'Apt)、2'F_2-(5'3'Apt)、2'F_3-(5'3'mApt)共孵化后, 上清液荧光变化。

图 2 GO 物理形貌、电位以及荧光测试分析

Fig.2 Physical morphology, potential and fluorescence test analysis of GO

2.2.2 2'F-Apt 在 GO 表面的饱和吸附量

图 3(a)显示, 随着 2'F-Apt 浓度增加(0~500 nmol/L), GO 对各 2'F-Apt 的吸附量均逐渐升高, 当 2'F-Apt 浓度超过 300 nmol/L 后, 吸附量稳定达到饱和, 且 2'F_3-(5'3'mApt)在 GO 表面吸附量最大, 进一步验证了 2'F 取代位点数量的增加可显著提高 Apt 在 GO 表面的饱和吸附量。实验结果表明, 在后续实验过程中, 当固定 GO 浓度, 选取 2'F-Apt 的浓度为 300 nmol/L 较为适宜。

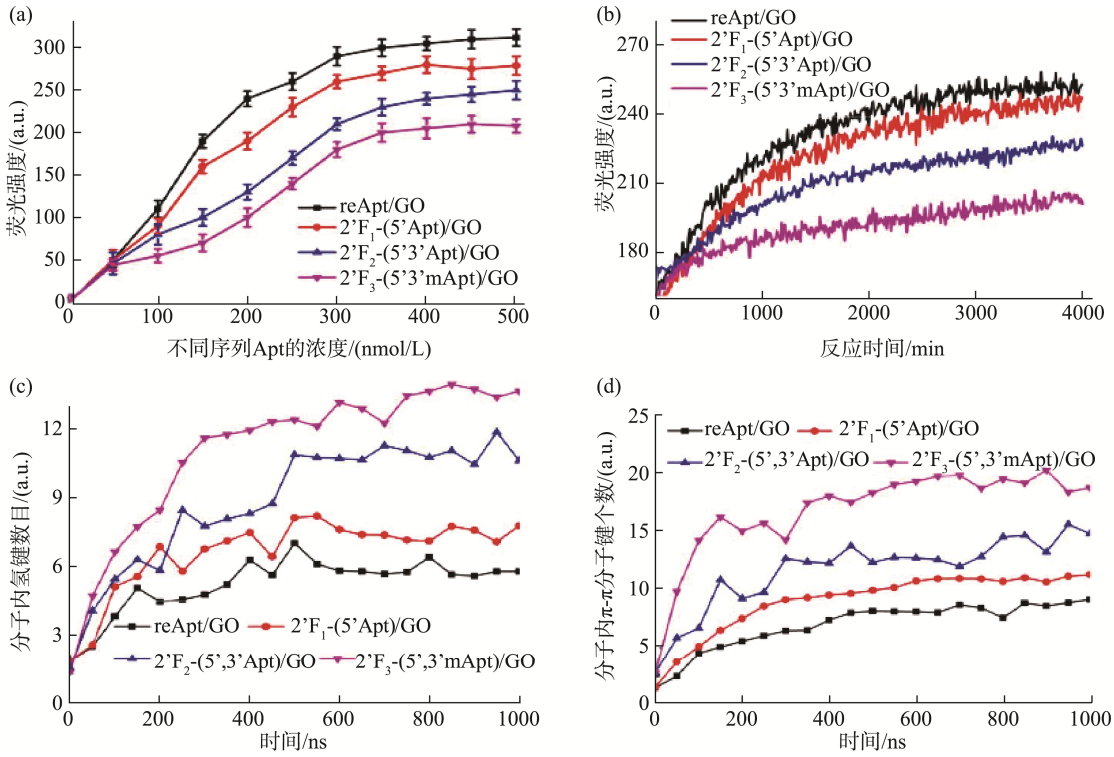
2.3 不同 F 修饰个数的 Apt 与 GO 之间的相互作用

2.3.1 2'F-Apt/GO 生物传感器自释放性能

基于核酸的 GO 生物传感器, 核酸从 GO 表面的非特异性自释放是导致传统 Apt/GO 传感器假阳性的主要原因[31]。本研究重点分析不同 F 修饰传感器在无 NaCl 缓冲液中的自释放情况。图 3(b)显示, 随着孵育时间的延长, reApt/GO 的荧光恢复率持续升高, 其存在明显的非特异性自释放。然而, 各 2'F-Apt/GO 传感器的荧光恢复率随 F 取代位点数量的增加显著降低, 2'F_3-(5'3'mApt)/GO 荧光恢复率仅为 4.8%, 实验结果表明, 2'F 取代核酸序列具有更多结合位点, 增加其与 GO 结合能力。在实际样品检测过程中, 2'F-Apt 自行脱落释放行为被抑制, 降低样品检测假阳性, 提高传感器特异性和灵敏度; 且 F 原子修饰个数增加, 传感器假阳性改善效果越明显。

2.3.2 2'F-Apt/GO 分子动力学模拟

表面吸附、自释放等实验结果表明, F 引入 Apt 可以有效增加其与 GO 之间的结合力, 提升和改善所制备传感器的性能。为了进一步研究 F 取代后 2'F-Apt 与 GO 相互



注: (a)为不同浓度的 reApt、2’F_1-(5’Apt)、2’F_2-(5’3’Apt)、2’F_3-(5’3’mApt)与 GO 共孵化后荧光变化。(b)为制备得到的 reApt/GO、2’F_1-(5’Apt)/GO、2’F_2-(5’3’Apt)/GO、2’F_3-(5’3’mApt)/GO 重新分散后测荧光—时间曲线; (c)、(d)分别为 reApt、2’F_1-(5’Apt)、2’F_2-(5’3’Apt)、2’F_3-(5’3’mApt)与 GO 之间的分子动力学理论模拟，得到分子内氢键和 π-π 相互作用。

图 3　不同序列 2’F-Apt 与 GO 组装制备传感器的条件优化

Fig.3　Condition optimization for preparing sensors by assembling 2’F-Apt with GO of different sequences

作用的变化，将 reApt、2’F_1-(5’Apt)、2’F_2-(5’3’Apt)、2’F_3-(5’3’mApt)与 GO 作为研究模型，执行 1000 ns 的分子动力学模拟。图 3(c)和 3(d)结果显示，相比于 reApt 与 GO 之间的相互作用，2’F_1-(5’Apt)、2’F_2-(5’3’Apt)、2’F_3-(5’3’mApt)之间的分子内氢键和 π-π 堆积数目显著增加。从理论计算结果可以了解到，随着 F 原子取代以及 F 原子取代个数增加，可以有效地增加 2’F-Apt 与 GO 相互作用力。这主要是因为 2’F 取代 Apt 引发的静电排斥和水化层效应，使其分子结构拉伸、构象柔性提升，使得核酸暴露了更多的结合位点，促进了 2’F-Apt 与 GO 之间的非共价结合。以上结果展示, 2’F-Apt 具有较大潜力用于与 GO 结合，制备高性能生物传感器。

2.3.3　2’F-Apt/GO 生物传感器稳定性和重复性研究

通过上述实验验证 2’F-Apt 可以与 GO 结合，制备用于目标检测的生物传感器。因此，本研究选定金黄色葡萄球菌特异性结合的 Apt 序列，选取未修饰、修饰 1 个 F 原子、2 个 F 原子和 3 个 F 原子修饰的 Apt，进一步与 GO 共同孵化，制备得到 reApt/GO、2’F_1-(5’Apt)/GO、2’F_2-(5’3’Apt)/GO、2’F_3-(5’3’mApt)/GO 传感器。众所周知，对于微生物检测来讲，需要从微生物所处环境、传感器检测条件两个方面综合考虑所制备传感器稳定性。在本研究中，制备传感器所使用的材料为 Apt; 实际检测环境为微生物培养基环境，该环境含有大量可以使核酸链断裂的降解酶。当所制备传感器在实际环境中酶解稳定性不足，会存在核酸链断裂，一方面无法实现对靶标细菌检测; 同时，断裂的核酸链，会从 GO 表面脱落，以上因素会影响传感器的检测真实性和灵敏度。因此，本研究不仅要测定传感器的抗酶解稳定性(含牛血清蛋白和核酸裂解酶); 同时，也要测定制备传感器在多组样品、以及保存不同时间后检测同一浓度的重复性和稳定性。因此，本研究首先评估所制备传感器的抗酶解稳定性能。制备得到的 reApt/GO、2’F_1-(5’Apt)/GO、2’F_2-(5’3’Apt)/GO、2’F_3-(5’3’mApt)/GO 分别与 10 U 的核酸裂解酶 I 与 FBS 共同孵育，测定其荧光恢复情况。图 4(a)所示，在 FBS 中，reApt/GO 荧光恢复现象非常迅速，在 0.5 h 就开始释放 DNA，同时荧光恢复比率最大。2’F_1-(5’Apt)/GO 在 2.5 h 开始出现荧光恢复现象。2’F_2-(5’3’Apt)/GO 和 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 大约在 4 h 开始释放出荧光信号，但是 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 荧光恢复比率最低。图 4(b)展现出类似的荧光恢复现象。实验结果展示，F 取代核酸可以有效抵抗细菌所处环境酶解作用，且随着 DNA 序列修饰 F 原子的个数增加，其抵抗核酸酶的能力逐渐提高。这主要是因为 F 原子作为极性最强的原子，与蛋

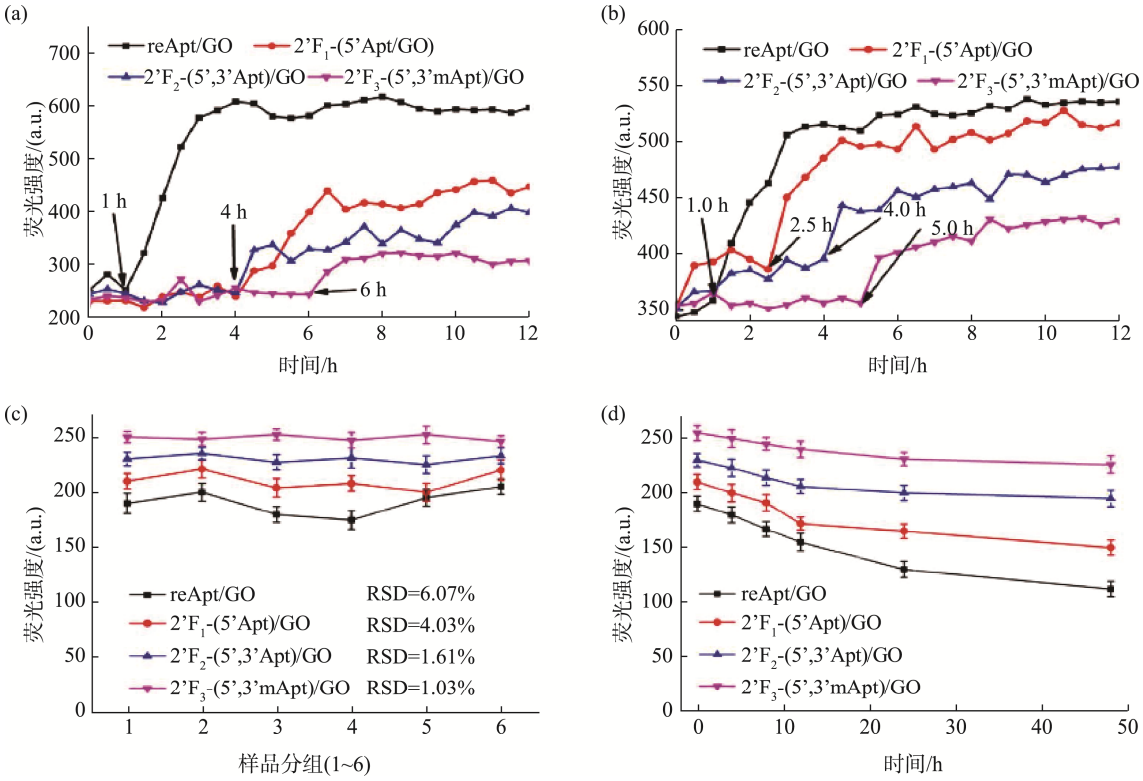
白的非特异性吸附结合作用较低，可以有效保护核酸不被降解酶蛋白吸附降解，在提升该生物传感器的抗酶解稳定性的同时，进一步抑制了核酸序列被降解后脱落，改善所制备传感器的灵敏性。

同时，本研究所制备传感器在实际应用中的检测重复性和稳定性，将 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器与 10^4 CFU/mL 金黄色葡萄球菌共孵育相同时间，测定荧光变化情况。图 4(c)显示，不同序列传感器测定 6 组实验，相同条件下 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 荧光值依次升高，且 RSD 分别为 6.07%、4.03%、1.61%、1.03%。结果表明，所制备的不同序列传感器在重复测试过程，相较于未修饰的 reApt/GO 传感器，F 原子修饰核酸传感器重复性更好，且单次测定荧光区间更稳定，准确性更明显。同时，F 原子修饰个数越多，传感器性能更加稳定。与此同时，将制备得到的 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器分不同组别在 4 ℃冷藏保存，在不同时间点取出与 10^4 CFU/mL 金黄色葡萄球菌共孵育，测定荧光变化。图 4(d)结果显示，测试至 48 h 后，reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 传感器检测性能分别下降 41.1%、28.6%、15.2%和 11.3%；说明 F 原子修饰核酸传感器具有更好的稳定性。以上研究表明，氟原子修饰的金黄色葡萄球菌 Apt 与 GO 制备得到传感器可以有效提升稳定性和重复性；且在相同浓度的靶向细菌条件下，2'F_3-(5'3'mApt)/GO 表现出更高的荧光信号和更稳定的检测误差，可以用于实际样品检测。

2.4 2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器检测金黄色葡萄球菌

2.4.1 线性范围与检出限

在最佳检测条件下，2'F_3-(5'3'mApt)/GO 传感器与不同浓度金黄色葡萄球菌溶液反应得到工作曲线。图 5(a)~(b)显示，在 10~10^9 CFU/mL 的浓度范围内，金黄色葡萄球菌浓度的对数值($\lg_{10}C$)与荧光恢复率呈良好的线性关系，线性方程为 F=92.448$\lg_{10}C$–108.85，决定系数 r^2=0.9988，表明该传感器对金黄色葡萄球菌的检测具有良好的线性响应。以 S/N=3 计算，传感器对金黄色葡萄球菌的检出限低至 5 CFU/mL，可以实现对金黄色葡萄球菌的高性能监测。



注：(a)和(b)分别为 reApt/GO、2'F_1-(5'Apt)/GO、2'F_2-(5'3'Apt)/GO、2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器，在 FBS 和核酸裂解酶中的荧光-时间曲线；(c)不同序列传感器在固定相同浓度金黄色葡萄球菌样品重复性测试；(d)不同序列传感器存放不同时间后测定相同浓度金黄色葡萄球菌的荧光变化。相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

图 4 不同 2'F-Apt/GO 生物传感器在不同测试条件下的稳定性和重复性评估

Fig.4 Evaluation on the stability and repeatability of various 2'F-Apt/GO biosensors under different testing conditions

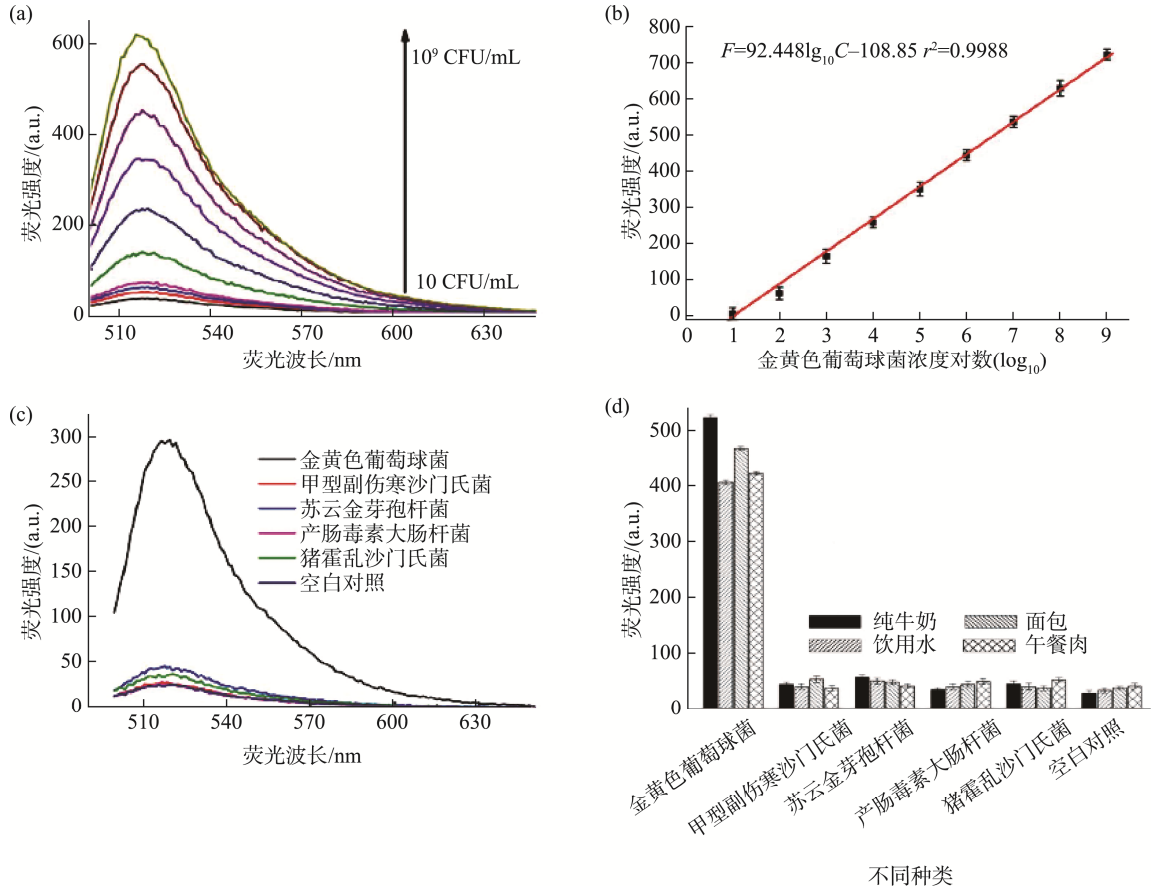
2.4.2　特异性

本研究以甲型副伤寒沙门氏菌、苏云金芽孢杆菌、产肠毒素大肠杆菌、猪霍乱沙门氏菌为对照菌株，考察 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 传感器的检测特异性。图 5(c)结果显示，所制备的传感器与黄色葡萄球菌反应后，荧光恢复率达到 89.5%，而与大肠杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌反应后，荧光恢复率分别仅为 7.2%、6.8%、5.9%。这表明 2’F 取代修饰并未改变 Apt 对金黄色葡萄球菌的特异性识别能力，且 2’F_3-(5’3’mApt)与 GO 的强结合力有效抑制了非特异性结合导致的荧光恢复，使传感器具有优异的检测特异性，有效区分目标致病菌与其他食源性致病菌。

2.4.3　实际样品检测与方法比对

为考察所制备的 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器在实际预包装食品中的检测适用性，对饮用水、纯牛奶、午餐肉及面包样品进行加标回收实验。图 5(d)结果显示，在固定的加标浓度下，2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器可以有效的识别目标检测物。同时，选择经检验未检出金黄色葡萄球菌的饮用水、纯牛奶、午餐肉和面包作为样品添加基质，提取液分别在 10 倍检出限、100 倍检出限、1000 倍检出限上添加金黄色葡萄球菌菌株，与 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器共孵育，测定荧光变化。同时用 GB 4789.10—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》(第二法)进行测定。表 1 显示，在实际样品中加入目标菌群后，所制备传感器可以有效的进行检测，且检测的回收率为 84.67%~98.00%，RSD 为 1.68%~6.67%。此外，对比 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器检测方法和平板计数标准方法两种结果可以发现，两者的检测结果没有明显的差异，这表明该传感器在复杂的食品基质中具有良好的检测准确性，可应用于预包装食品中金黄色葡萄球菌的实际检测。

此外，本研究还将构建的 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器检测金黄色葡萄球菌的性能与目前已经报道的其他传感器检测方法性能比较。结果如表 2 所示，2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器在检测范围和检出限上表现出了更好的优势，可实现预包装食品中金黄色葡萄球菌更精准的检测。



注: (a)~(b)为线性工作曲线; (c)为 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器的特异性; (d)为 2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器测定纯牛奶、饮用水、午餐肉及面包等实际样品中包含不同种群细菌情况。

图 5　2’F_3-(5’3’mApt)/GO 生物传感器实际应用效果评估

Fig.5　Evaluation of practical application performance of 2’F_3-(5’3’mApt)/GO biosensor

表 1 2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器加标测试性能研究

Table 1 Investigation on analytical performance of 2'F_3-(5'3'mApt)/GO biosensor via spiking tests

基质	添加浓度水平/(CFU/mL)	平均值/(CFU/mL)	GB 4789.10—2016/(CFU/mL)	本研究回收率/%	本研究 RSDs/%
饮用水	50.00	49.00	48.00	98.00	1.98
	500.00	475.33	462.00	95.07	1.68
	5000.00	4586.33	4425.00	91.73	3.47
纯牛奶	50.00	45.00	40.00	90.01	6.67
	500.00	450.67	468.00	90.13	3.91
	5000.00	4246.33	4521.00	84.93	3.48
午餐肉	50.00	43.33	44.00	86.67	4.04
	500.00	437.33	431.00	87.47	4.03
	5000.00	4233.33	4321.00	84.67	3.13
面包	50.00	45.87	48.00	91.73	6.28
	500.00	433.67	452.00	86.73	2.91
	5000.00	4444.00	4283.00	88.88	2.79

表 2 2'F_3-(5'3'mApt)/GO 生物传感器性能与已报道文献对比

Table 2 Performance comparison of 2'F_3-(5'3'mApt)/GO biosensor with reported literatures

传感器类型	检测范围/(CFU/mL)	检出限/(CFU/mL)	参考文献
npAu/GCE 电化学传感器	1×10^3~1×10^9	54	[32]
MPDA-Cy5-ssDNA 体系荧光传感器	2×10^2~2×10^6	76	[33]
MNPs@GO@UCNPs 传感器	8.6×10^1~8.6×10^7	13	[34]
STAR 生物传感器	1×10~1×10^7	10	[35]
基于 EXPAR 结合 DNA 银纳米簇传感器	1×10^2~1×10^6	10	[36]
2'F-Apt/GO 荧光生物传感器	1×10~1×10^9	5	本研究

注: 纳米多孔金/玻碳电极(nanoporous Au/glassy carbon electrode, npAu/GCE)电化学传感器; 磁性聚多巴胺纳米材料-荧光染料 Cy5 标记的适配体互补链(magenetic polydopamine nanomaterials-Cy5-labeled aptamer complementary strand, MPDA-Cy5-ssDNA)体系荧光传感器; 磁性氧化石墨烯纳米颗粒@上转换纳米颗粒(magnetic graphene oxide nanoparticles@upconversion nanoparticles, MNPs@GO@UCNPs)传感器; 便携式、可视化和双靶点检测 MRSA 的生物传感器(simultaneous dual-gene test of MRSA based on argonaute-powered portable and visual biosensor, STAR); 基于指数扩增反应(exponential amplification reaction, EXPAR)结合 DNA 银纳米簇传感器。

3 结论与分析

经过对 2'F-Apt/GO 综合分析, 可以得到 2'F 取代修饰对 Apt 与 GO 生物传感器性能具有良好的正向调控机制。本研究成功制备得到 2'F-Apt/GO 荧光生物传感器, 实现了对金黄色葡萄球菌的高灵敏、高特异性检测。2'F 取代通过静电排斥和水化层效应, 拉伸核酸分子结构、提升构象柔性, 显著增加了 2'F-Apt 与 GO 的结合位点和结合力, 有效抑制了 Apt 的非特异性自释放, 使传感器的假阳性大幅降低。同时, 增强了 2'F-Apt 与金黄色葡萄球菌表面蛋白的特异性结合能力, 提升了检测灵敏度。传感器在 10~10^9 CFU/mL 浓度范围内呈现良好的线性关系, 检出限达到 5 CFU/mL。同时, 本研究为食源性致病菌的快速精准检测提供了新的技术手段, 也为 Apt 的化学修饰和高性能生物传感器的构建提供了新思路。后续研究可进一步拓展 2'F 取代 Apt 的靶标范围, 筛选其他食源性致病菌(如沙门氏菌、苏云金芽孢杆菌)的特异性 2'F-Apt, 构建多靶点检测传感器, 建立食源性致病菌检测数据库, 为食品安全检测和海关进出口检验检疫提供更全面的技术支撑。

参考文献

[1] 王硕, 赵金龙, 刘昕煜, 等. 肉蛋类食品沙门氏菌分离与菌膜检测[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(12): 187–190.
WANG S, ZHAO JL , LIU XY, *et al*. Isolation and biofilm detection of *Salmonella* in meat and egg products [J]. Food Research and Development, 2010, 31(12): 187–190.

[2] 李辉, 闫琳, 陈伟伟, 等. 我国食源性金黄色葡萄球菌耐药及遗传特征情况研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(6): 801–806.
LI H, YAN L, CHEN WW, *et al*. Study on drug resistance and genetic characteristics of foodborne *Staphylococcus aureus* in China [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(6): 801–806.

[3] 吕素玲, 诸葛石养, 韦程媛, 等. 广西食品中金黄色葡萄球菌污染状况及耐药情况分析[J]. 应用预防医学, 2012, 18(2): 111–112, 94.
LV SL, ZHUGE SY, WEI CY, *et al*. Analysis on contamination and drug resistance of *Staphylococcus aureus* in food in Guangxi [J]. Applied Preventive Medicine, 2012, 18(2): 111–112, 94.

[4] ARGUDÍN MÁ, MENDOZA MC, RODICIO MR. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. Toxins, 2010, 2(7): 1751–1773.

[5] 王盼盼, 李穗霞, 曾琪, 等. 市售凉皮中金黄色葡萄球菌的肠毒素基因、耐药特征检测及 SPA 分型[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 287–293.
WANG PP, LI SX, ZENG Q, *et al*. Detection of enterotoxin genes, drug resistance characteristics and SPA typing of *Staphylococcus aureus* in commercial cold rice noodles [J]. Food Science, 2018, 39(20): 287–293.

[6] GE B, MUKHERJEE S, HSU CH, *et al*. MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. retail meats [J]. Food Microbiology, 2017, 62: 289–297.

[7] 陈培超, 黄强, 程芳洲, 等. 上海市嘉定区腹泻患者中金黄色葡萄球菌感染及肠毒素基因携带情况分析[J]. 上海预防医学, 2024, 36(11): 1039–1044.
CHEN PC, HUANG Q, CHENG FZ, *et al*. Analysis of *Staphylococcus aureus* infection and enterotoxin gene carriage in diarrhea patients in Jiading District of Shanghai [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine,

2024, 36(11): 1039–1044.

[8] 刘海媛, 刘颖达, 张艳红, 等. 基于纳米抗体建立 icELISA 检测乳制品中黄曲霉毒素 M_1[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(15): 235–241.
LIU HY, LIU YD, ZHANG YH, *et al*. Establishment of icELISA based on nanobody for detection of aflatoxin M_1 in dairy products [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(15): 235–241.

[9] WANG HH, XIAO H, ZHU XH, *et al*. A cyanine-mediated self-assembly system for the construction of a two-in-one nanodrug [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2021, 60(38): 21396–21400.

[10] 严杏. 核酸适配体对沙门氏菌的检测及其菌膜的控制[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2022.
YAN X. Detection of *Salmonella* by nucleic acid aptamer and control of its biofilm [D]. Changsha: Hunan Normal University, 2022.

[11] 周丽亚, 李建科, 赵艳艳. 核酸适配体在食源性致病菌检测中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 345–351.
ZHOU LY, LI JK, ZHAO YY. Research progress on application of nucleic acid aptamers in detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(12): 345–351.

[12] MA Y, GU YQ. A Telomerase-responsive DNA icosahedron for precise delivery of platinum nanodrugs to cisplatin-resistant cancer [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2018, 57(20): 5389–5393.

[13] 王琦, 颜春蕾, 高洪伟, 等. 基于核酸适配体传感器检测食品致病菌的研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(11): 245–258.
WANG Q, YAN CL, GAO HW, *et al*. Research progress on detection of foodborne pathogenic bacteria based on nucleic acid aptamer sensor [J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(11): 245–258.

[14] 李辉, 张雪, 王周平. 核酸适配体在食源性致病菌检测中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 285–292.
LI H, ZHANG X, WANG ZP. Research progress on application of nucleic acid aptamers in detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. Food Science, 2019, 40(11): 285–292.

[15] CHEN X, YANG L, ZHANG Y, *et al*. Nucleic acid aptamers: Alternative to antibodies for foodborne pathogen detection [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 116: 102–115.

[16] 张可擎, 白静, 曾祥山, 等. 纳米金-适配体比色法快速测定蜂蜜中四环素含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(6): 295–302.
ZHANG KQ, BAI J, ZENG XS, *et al*. Rapid determination of tetracycline content in honey by nanogold-aptamer colorimetric method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(6): 295–302.

[17] LIU S, WANG Y, ZHANG H, *et al*. Graphene oxide-based fluorescent biosensors for pathogenic bacteria detection: A review [J]. Analytica Chimica Acta, 2025, 1345: 340876.

[18] ZHANG M, LI J, WANG H, *et al*. Graphene derivatives-based electrochemical aptasensors for foodborne pathogen detection: A review [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2023, 226: 115234.

[19] 刘敏, 陈静, 赵杰. 纳米材料辅助核酸适配体传感器在食源性致病菌检测中的应用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(5): 389–402.
LIU M, CHEN J, ZHAO J. Application of nanomaterial-assisted nucleic acid aptamer sensors in detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(5): 389–402.

[20] LU CH, YANG HH. A graphene platform for sensing biomolecules [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2009, 48(26): 4785–4787.

[21] 张婷, 李娟, 王强, 等. 氧化石墨烯基核酸适配体生物传感器的研究进展[J]. 分析测试学报, 2021, 40(5): 765–772.
ZHANG T, LI J, WANG Q, *et al*. Research progress on graphene oxide-based nucleic acid aptamer biosensors [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2021, 40(5): 765–772.

[22] GAO L, LIAN C, ZHOU Y, *et al*. Graphene oxide-DNA based sensors [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2014, 60: 22–29.

[23] WANG HH, JIANG YF, ZHU XH, *et al*. 2’-Fluoro-substituted DNA-induced self-assembly strategy for engineering hybrid nanospheres [J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 460: 144411.

[24] FU Z, LIN Y, XIAO H, *et al*. 2’-fluorinated antisense oligonucleotide-mediated drug self-assembly strategy for efficient synergistic antitumor therapy [J]. ACS Materials Letters, 2024, 6(7): 1689–1696.

[25] MADHANAGOPAL BR, SURESH KUMAR A, THIRUMALAI D, *et al*. Self-assembly of fluorinated DNA amphiphiles into stable spherical nucleic acids [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2024, 64(5): e202419996.

[26] 李萌, 张军, 杨晓燕. 2’-氟修饰核酸的制备及生物应用研究进展[J]. 化学通报, 2022, 85(7): 896–903.
LI M, ZHANG J, YANG XY. Research progress on preparation and biological application of 2’-fluoro-modified nucleic acids [J]. Chemistry Bulletin, 2022, 85(7): 896–903.

[27] LI J, LIU X, WANG J, *et al*. Self-assembled DNA nanospheres: Design and applications [J]. Chemistry, 2023, 5(3): 1882–1910.

[28] 陈曦, 林丽, 黄卫华. 功能核酸修饰氧化石墨烯生物传感器的构建及生物检测应用[J]. 高等学校化学学报, 2020, 41(8): 1601–1610.
CHEN X, LIN L, HUANG WH. Construction and biological detection application of functional nucleic acid modified graphene oxide biosensor [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2020, 41(8): 1601–1610.

[29] 刘敏, 王红娟, 李建辉. 氧化石墨烯的表面修饰及在生物传感器中的应用[J]. 材料导报, 2019, 33(S2): 215–218.
LIU M, WANG HJ, LI JH. Surface modification of graphene oxide and its application in biosensors [J]. Materials Reports, 2019, 33(S2): 215–218.

[30] 赵雪, 孙晓红, 邢丽红, 等. 基于核酸适配体和氧化石墨烯的副溶血性弧菌快速检测方法[J]. 食品科学, 2022, 43(18): 267–273.
ZHAO X, SUN XH, XING LH, *et al*. Rapid detection method for *Vibrio parahaemolyticus* based on nucleic acid aptamer and graphene oxide [J]. Food Science, 2022, 43(18): 267–273.

[31] 周洋, 何丹, 张楚瑜. 核酸适配体-氧化石墨烯复合物的结合特性及传感应用[J]. 分析科学学报, 2021, 37(3): 397–402.
ZHOU Y, HE D, ZHANG CY. Binding characteristics and sensing applications of aptamer-graphene oxide complexes [J]. Journal of Analytical Science, 2021, 37(3): 397–402.

[32] 王晓蕾. 基于纳米多孔金的电化学传感器构建及其对金黄色葡萄球菌检测研究[D]. 济南: 山东大学, 2025.
WANG XL. Construction of electrochemical senseor based on nanoporous Au and its application in *Staphylococcus aureus* detection [D]. Jinan: Shandong University, 2025.

[33] 张泽华. 基于聚多巴胺纳米材料的金黄色葡萄球菌检测和控制方法研究[D]. 无锡: 江南大学, 2025.
ZHANG ZH. Study on detection and control of staphylococcus aureus based on polydopamine nanomaterials [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2025.

[34] 陈敏. 基于荧光传感器检测鸡肉中鼠伤寒沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的方法研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2023.
CHEN M. Detection of salmonella typhimurium and *Staphylococcus aureus* in chicken based on fluorescence sensor [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2023.

[35] 寇君. 基于 Argonaute 检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌生物传感策略的建立和应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2023.
KOU J. Research and application of a biosensor strategies for detecting methicillin-resistant staphylococcus aureus based on argonaute [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2023.

[36] 陆晓彤, 李金昭, 杜欣军, 等. 基于 DNA 银纳米簇的金黄色葡萄球菌检测方法的构建[J]. 食品与生物技术学报, 2025, 44(6): 144–152.
LU XT, LI JZ, DU XJ, *et al*. Construction of *Staphylococcus aureus* detection method based on DNA silver nanoclusters [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2025, 44(6): 144–152.

(责任编辑: 韩晓红　曹岱琳)