

# 8-羟基脱氧鸟苷在壳聚糖/石墨烯修饰电极上的 电化学及 DNA 氧化损伤检测

安玲玲<sup>a</sup> 路毛凤<sup>a</sup> 邓玲玲<sup>a</sup> 杜江燕<sup>a,b,c\*</sup>

(<sup>a</sup>南京师范大学化学与材料科学学院;<sup>b</sup>江苏省生物功能材料重点实验室;

<sup>c</sup>江苏省新型动力电池重点实验室 南京 210046)

**摘要** 采用循环伏安(CV)、线性扫描伏安(LSV)和示差脉冲伏安(DPV)等方法研究了8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)在壳聚糖(Chi)/石墨烯(GR)修饰的玻碳电极(GCE)上的电化学行为,8-OHdG在该修饰电极上氧化峰电流与其浓度在 $3.5 \times 10^{-7} \sim 1.4 \times 10^{-4}$  mol/L范围内呈良好的线性关系,检测限为 $6.4 \times 10^{-8}$  mol/L( $S/N=3$ )。将Chi/GR/GCE用于检测DNA氧化损伤,8-OHdG在修饰电极上的氧化峰电流与损伤的DNA质量浓度在10~300 mg/L范围内呈良好的线性关系,损伤DNA检出限为0.026 mg/L( $S/N=3$ )。

**关键词** 羟基脱氧鸟苷,壳聚糖,石墨烯,DNA氧化损伤,电化学检测

中图分类号:O657.1

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2014)02-0200-06

DOI:10.3724/SP.J.1095.2014.30179

衰老的自由基学说认为,衰老是自由基引起组织损伤的结果。自由基对生物体具有多种损伤作用,其作用机制主要涉及DNA的氧化损伤。8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)是活性氧自由基,如羟基自由基、单线态氧等氧化DNA分子中的鸟嘌呤碱基第8位碳原子而产生的一种氧化性加合物<sup>[1-2]</sup>,是DNA氧化损伤的主要产物,因此被认为是DNA氧化损伤的生物标志物<sup>[3-5]</sup>。8-OHdG的产生被认为与基因突变、致癌、衰老等密切相关,在人群和动物实验中发现,当接触氧化剂时其体内的8-OHdG含量会增加<sup>[6]</sup>。已有研究证明,人体内8-OHdG的含量与人类肝癌、肺癌、子宫肌瘤和乳腺癌等发生有关<sup>[7-10]</sup>。8-OHdG的检测方法目前较为常用的有高效液相色谱-电化学检测器分析法(HPLC-ECD)<sup>[11-13]</sup>、气质联用分析法(GC-MS)<sup>[14]</sup>、酶联免疫吸附法(ELISA)<sup>[15]</sup>、毛细管电泳-电化学检测法(CE-ECD)<sup>[16]</sup>以及电化学方法<sup>[17]</sup>等。电化学方法因其具有快速、方便及所需仪器廉价等优点具有独特的优势。

石墨烯(GR)是目前已知的导电性能最出色的材料<sup>[18]</sup>,其优异的导电性能和宏观隧道效应使其成为固定化生物分子和电极之间有效的电子导体。此外,石墨烯具有良好的生物相容性和较大的比表面积,有利于生物大分子活性的保持及生物敏感膜的固定,因此,其在生物传感领域有广阔的应用前景<sup>[18-19]</sup>。壳聚糖(Chi)是一种天然多糖,由于其良好的生物相容性、无毒和可生物降解等优点,被广泛应用于药物制备<sup>[20]</sup>、药物输送<sup>[21]</sup>和基因传递<sup>[22]</sup>等。壳聚糖结构中带有一NH<sub>2</sub>,可与8-OHdG中的一OH形成氢键,且壳聚糖具有一定的粘性,将其修饰于电极表面,可改善8-OHdG在电极表面的固定效果。

目前,还未见用壳聚糖和石墨烯共同修饰玻碳电极检测8-OHdG的文献报道,本文通过吸附法制备了壳聚糖和石墨烯修饰的玻碳电极,研究了8-OHdG在修饰电极上的电化学行为。此外,讨论了该修饰电极对DNA氧化损伤的检测,为电化学方法用于DNA氧化损伤检测提供实验依据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

CHI760C型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司);JSM-5610LV型扫描电子显微镜(日本电子公司);KQ3200DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。8-OHdG标准品(美国Sigma公司);

小牛胸腺 DNA(美国 Sigma 公司);氧化石墨烯分散液(0.5 g/L,南京先锋纳米科技有限公司);壳聚糖(国药集团化学试剂有限公司);实验中其它试剂均为分析纯,溶液均用二次水配制。

## 1.2 修饰电极的制备

GC 电极依次用 0.3 和 0.05  $\mu\text{m}$   $\text{Al}_2\text{O}_3$  粉末抛光至呈镜面,用蒸馏水冲洗干净,再用乙醇和二次蒸馏水依次超声 5 min,将清洗好的电极置于空气中自然晾干备用。

GR 通过水合肼还原氧化石墨烯的方法获得<sup>[23]</sup>。取 6  $\mu\text{L}$  0.5 g/L GR 分散液滴于预处理好的 GC 电极表面,自然晾干,然后在其上继续滴加 5  $\mu\text{L}$  2.5 g/L Chi,自然晾干,得到 Chi/GR/GCE 修饰电极。

取 6  $\mu\text{L}$   $3.5 \times 10^{-5}$  mol/L 8-OHdG 滴于修饰好的电极上,自然晾干,得到 8-OHdG/Chi/GR/GCE 电极。为便于对比,用同样的方法制备了 8-OHdG/GR/GCE 电极。制备好的电极在使用前于 4  $^\circ\text{C}$  储存。

## 1.3 电化学测量

电化学实验采用传统的三电极体系,制备的修饰电极为工作电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极,铂丝电极为对电极,文中所述的电位均相对于 SCE。进行循环伏安(CV)、线性扫描伏安(LSV)和示差脉冲伏安(DPV)测量时,电解液为 0.1 mol/L pH = 7.0 磷酸缓冲液(PBS)。实验前通入高纯  $\text{N}_2$  气 15 min 除氧,实验在  $\text{N}_2$  气保护下进行。所有实验温度均为 25  $^\circ\text{C}$ 。

## 1.4 Fenton 试剂氧化损伤 DNA 实验

取 50  $\mu\text{L}$  1 g/L 的 DNA 溶液置于 1 mL 离心管中,向其中加入 120  $\mu\text{L}$  pH = 5.0 的 PBS 溶液,然后向其中依次加入 10  $\mu\text{L}$  0.01 mol/L  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  和 10  $\mu\text{L}$  0.05 mol/L 抗坏血酸(AA),混合 2 min 后,再加入 10  $\mu\text{L}$  0.5 mol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液,搅拌均匀,然后置于 37  $^\circ\text{C}$  水浴中 40 min,即得到氧化损伤 DNA 溶液(以  $\text{DNA}_d$  表示)。将此溶液置于 -20  $^\circ\text{C}$  冰柜中保存备用。

## 1.5 氧化损伤 DNA 中 8-OHdG 的检测

取 6  $\mu\text{L}$  氧化损伤 DNA 溶液滴涂于修饰好的电极上,自然晾干,得到  $\text{DNA}_d/\text{Chi}/\text{GR}/\text{GCE}$  电极。同样方法制备未氧化损伤 DNA 修饰电极(undamaged DNA/Chi/GR/GCE),以进行对照实验。将修饰电极置于 0.1 mol/L pH = 7.0 PBS 中,按照 1.3 节所述对氧化损伤 DNA 中 8-OHdG 进行检测。

# 2 结果与讨论

## 2.1 修饰电极表面形貌表征

图 1A 为 GR 薄膜的 SEM 照片。由于 GR 层的不平整性,所形成的薄膜也出现高低不平的特征,呈现出波浪起伏的皱褶形貌<sup>[24]</sup>。这些皱褶可以形成很多纳米孔道和纳米空穴,从而使得 GR 具有较大的比表面积。图 1B 为 Chi/GR 复合薄膜的 SEM 照片,由图可见,复合薄膜依然呈现出波浪起伏的皱褶形貌,Chi 的加入并没有改变电极表面 GR 的形貌。

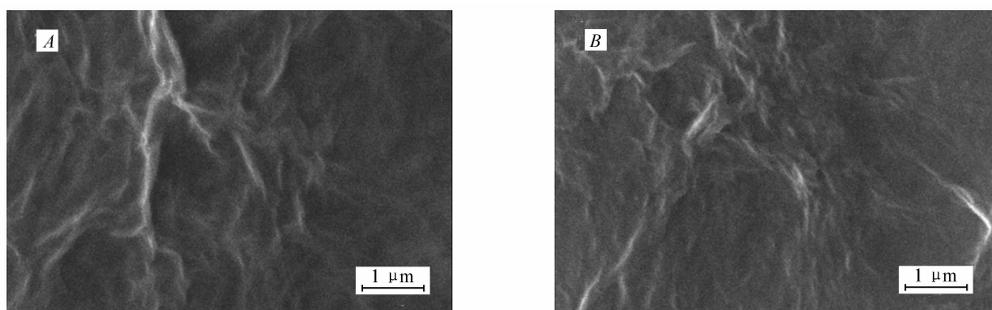


图 1 GR/GCE 电极(A)和 Chi/GR/GCE 电极(B)的 SEM 照片

Fig. 1 SEM images of GR/GCE(A) and Chi/GR/GCE(B)

## 2.2 8-OHdG 在修饰电极上的电化学行为

图 2 为不同修饰电极于 0.1 mol/L pH = 7.0 的 PBS 中,在 -0.1 ~ 0.6 V 电位范围内循环伏安实验所得到的 CV 曲线。图中曲线 a、b 分别为 GCE 电极、Chi/GR/GCE 电极的 CV 曲线,在扫描的电位范围内均未出现氧化还原峰。曲线 c、d、e 分别为 8-OHdG/GCE、8-OHdG/GR/GCE、8-OHdG/Chi/GR/GCE 电

极的 CV 曲线,均出现了一个明显的氧化峰,氧化峰电位为 0.37 V,与文献<sup>[12]</sup>报道的 8-OHdG 在 GC 电极上氧化峰电位基本一致,此氧化峰归属于 8-OHdG 产生的电化学信号。氧化峰电流信号由大到小依次为:  $e > d > c$ ,说明 GR 具有良好的导电性,而掺杂 Chi 后并不影响 GR 的导电性。由于 Chi 中含有一  $\text{NH}_2$  易与 8-OHdG 中的一  $\text{OH}$  形成氢键,使 8-OHdG 在电极上更好地固定,不易脱落,增强了电极的稳定性,因此电流信号更好。

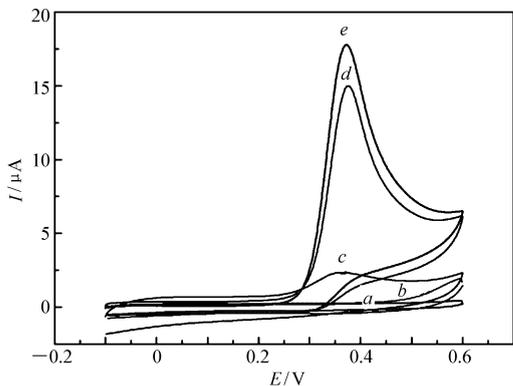


图 2 不同修饰电极在 pH = 7.0 PBS 中的循环伏安图  
Fig. 2 Cyclic voltammograms of GCE (a), Chi/GR/GCE (b), 8-OHdG/GCE (c), 8-OHdG/GR/GCE (d) and 8-OHdG/Chi/GR/GCE (e) electrodes in 0.1 mol/L phosphate buffer solution (pH = 7.0) at the scan rate of 0.05 V/s

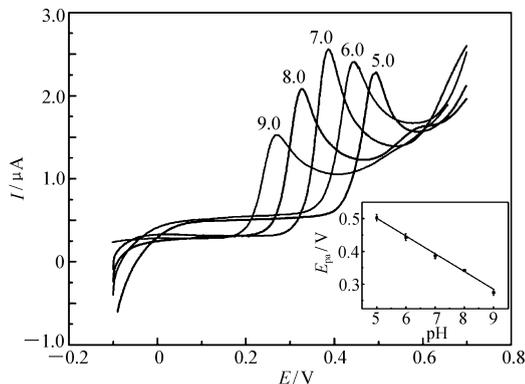


图 3 8-OHdG/Chi/GR/GCE 电极在不同 pH 值的 0.1 mol/L PBS 中的线性扫描伏安图  
Fig. 3 Linear sweep voltammograms of 8-OHdG/Chi/GR/GCE electrode in 0.1 mol/L PBS at 0.05 V/s with various pH values (5.0 ~ 9.0)  
Inset: plots of oxidation peak potential versus pH value

图 3 为 8-OHdG/Chi/GR/GCE 电极在不同 pH 值的 0.1 mol/L 的 PBS 中的线性扫描伏安 (LSV) 曲线。由图 3 可知,8-OHdG 的氧化峰电位随着缓冲溶液 pH 值的增加而负移,表明 8-OHdG 的电化学反应过程伴随质子的参与。由插图可知,8-OHdG 的氧化峰电位与溶液的 pH 值在 5.0 ~ 9.0 范围内呈良好的线性关系,线性方程为  $E_{pa} (\text{V}) = 0.7722 - 0.0541\text{pH}$ ,其斜率为  $-54.1 \text{ mV/pH}$ 。

图 4 为 8-OHdG 的氧化峰电流与缓冲溶液 pH 值的关系曲线。由图 4 可见,当 PBS 的 pH 值为 7.0 时,8-OHdG 的氧化峰电流相对较大,故在以下实验中选择 pH = 7.0 的 0.1 mol/L PBS 为支持电解质。

将 8-OHdG/Chi/GR/GCE 电极置于 0.1 mol/L pH = 7.0 的 PBS 中,在  $-0.1 \sim 0.6$  范围内以不同的扫速进行线性扫描伏安实验。由图 5 可知,8-OHdG 在修饰电极上的氧化峰电流随着扫速的增加而增大。插图是氧化峰电流与扫速的线性关系曲线,氧化峰电流与扫速的一次方在  $50 \sim 350 \text{ mV/s}$  范围内呈良好的线性关系,符合典型的表面电化学过程,表明该反应速率受电极的表面电化学过程控制。

图 6 为不同浓度的 8-OHdG 在 Chi/GR/GCE 电极上的示差脉冲伏安曲线。由图 6 可知,8-OHdG 的氧化峰电流随其浓度增大而增大。插图为 8-OHdG 的氧化峰电流随其浓度变化的关系曲线。8-OHdG 浓度在  $3.5 \times 10^{-7} \sim 1.4 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  范围内与其氧化峰电流具有良好的线性关系,检出限为  $6.4 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$  ( $S/N = 3$ )。

### 2.3 DNA 氧化损伤产物的检测

图 7 为将不同修饰电极于 0.1 mol/L pH = 6.0 的 PBS 中,在  $-0.1 \sim 0.6 \text{ V}$  电位范围内循环伏安实

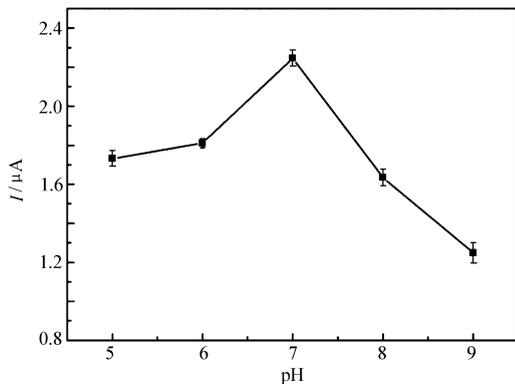


图 4 溶液 pH 值与 8-OHdG 氧化峰电流的关系曲线  
Fig. 4 The relationship between pH and oxidation peak current of 8-OHdG

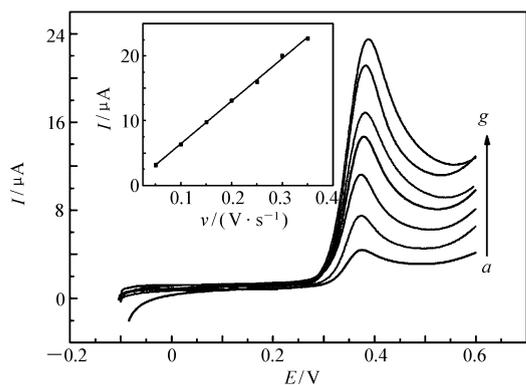


图5 8-OHdG/Chi/GR/GCE 电极在 pH = 7.0 PBS 中不同扫速的线性扫描伏安图

Fig. 5 Linear sweep voltammograms of 8-OHdG/Chi/GR/GCE electrode in 0.1 mol/L PBS (pH = 7.0) at different scan rates

From a to g: 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 mV/s;

Inset: plots of oxidation peak current versus scan rate

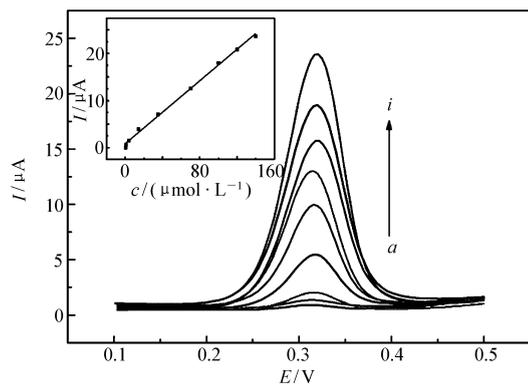


图6 不同浓度 8-OHdG 在 Chi/GR/GCE 电极上的示差脉冲伏安图

Fig. 6 Differential pulse voltammograms of 0.35 (a), 0.7 (b), 3.5 (c), 14 (d), 35 (e), 70 (f), 100 (g), 120 (h) and 140  $\mu\text{mol/L}$  (i) 8-OHdG at Chi/GR/GCE electrode in 0.1 mol/L PBS (pH = 7.0)

Inset: the calibration curve

验所得到的 CV 曲线。采用 pH = 6.0 (而不是前文的 pH = 7.0) 的 PBS, 是由于 Fenton 试剂对 DNA 氧化损伤反应也与 pH 值有关(数据未列出), 实验结果表明, 在酸性条件下更有利于 Fenton 试剂对 DNA 的氧化损伤反应。通过比较 8-OHdG 在 pH 值为 6.0 和 7.0 时的电化学行为, 其电化学信号比较接近, 因此, 综合考虑氧化损伤 DNA 反应及 8-OHdG 检测条件, 采用了 pH = 6.0 的缓冲溶液。图中曲线 a、b 分别为 Fenton 试剂、未损伤的 DNA 在修饰电极 Chi/GR/GCE 上的 CV 曲线, 在扫描的电位范围内均未出现氧化峰。曲线 c 为 Fenton 试剂氧化损伤的 DNA 在修饰电极 Chi/GR/GCE 上的 CV 曲线, 在 0.42 V 附近出现氧化峰, 与图 3 中 8-OHdG/Chi/GR/GCE 在 pH = 6.0 的 PBS 中出现的氧化峰位置吻合, 说明 Fenton 试剂氧化损伤 DNA 的产物为 8-OHdG。

为了进一步证明 DNA 氧化损伤的产物是 8-OHdG, 在 DNA 损伤溶液中加入浓度为  $3.5 \times 10^{-6}$  mol/L 8-OHdG 标准溶液。实验结果如图 8, 曲线 a、b 分别为在 DNA 损伤溶液中加入 8-OHdG 标准溶液前后的 CV 曲线。由图可知, DNA 损伤产物的氧化峰与 8-OHdG 标准溶液的氧化峰完全一致, 说明 Fenton 试剂氧化损伤 DNA 的产物为 8-OHdG, 由此也说明了制备的 Chi/GR/GCE 修饰电极可以用于 DNA 氧化损伤标记物 8-OHdG 的检测。

图 9 为 DNA 损伤产物 8-OHdG 氧化峰电流与损伤 DNA 浓度的关系曲线。由图 9 可知, 随着损伤 DNA 浓度的增加, 8-OHdG 氧化峰电流也相应增加。8-OHdG 氧化峰电流与损伤的 DNA 浓度在 10 ~ 300 mg/L 范围内呈良好的线性关系, 线性方程为  $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0.00456\rho (\text{mg/L}) - 0.04395$ , 检测限为 0.026 mg/L。通过检测 8-OHdG 的电化学信号, 可获得 DNA 氧化损伤程度的信息。

#### 2.4 修饰电极的稳定性与重现性

将 8-OHdG/Chi/GR/GCE 电极置于 0.1 mol/L pH = 7.0 的 PBS 溶液中, 以 0.05 V/s 连续循环扫描 20 圈, 由于 8-OHdG 在修饰电极上发生不可逆氧化反应, 其氧化峰电流信号随扫描次数增加而逐渐减

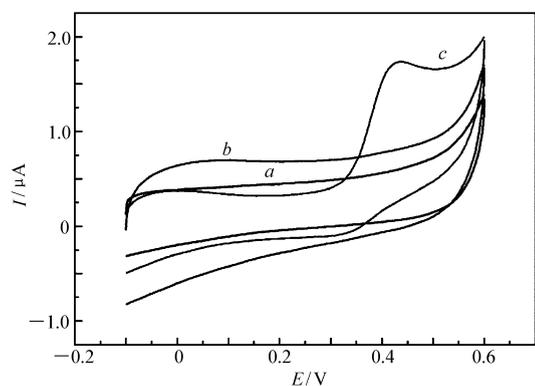


图7 不同修饰电极在 pH = 6.0 PBS 中的循环伏安图

Fig. 7 Cyclic voltammograms of Fenton reagents/Chi/GR/GCE (a), undamaged DNA/Chi/GR/GCE (b) and DNA<sub>d</sub>/Chi/GR/GCE (c) electrodes in 0.1 mol/L PBS (pH = 6.0) at the scan rate of 0.05 V/s

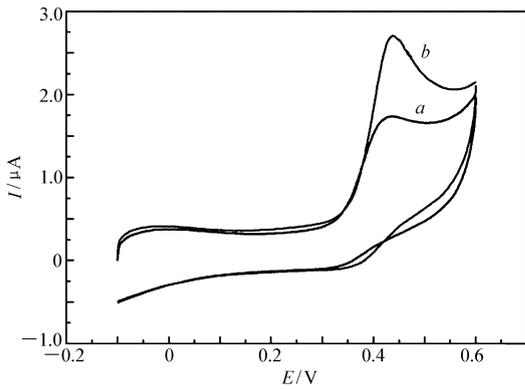


图8 修饰电极在 pH = 6.0 PBS 中的循环伏安图  
Fig. 8 Cyclic voltammograms of DNA<sub>d</sub> before (a) and after (b) addition of 8-OHdG obtained at Chi/GR/GCE electrode in 0.1 mol/L PBS (pH = 6.0) at the scan rate of 0.05 V/s

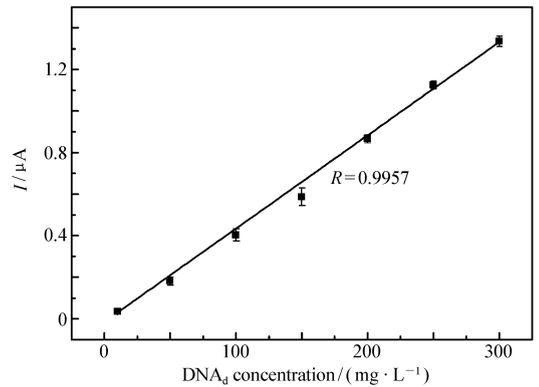


图9 8-OHdG 氧化峰电流与损伤 DNA 浓度的关系曲线  
Fig. 9 Linear relationship between oxidation peak current of 8-OHdG and DNA<sub>d</sub> concentration

小,但在连续循环扫描 20 圈时仍检测到较好的 8-OHdG 电流响应。将电极于 4 °C 下保存 2 周,其电流信号仍保持最初的 80%。用同法制备的 8 个 8-OHdG/Chi/GR/GCE 电极在 0.1 mol/L pH = 7.0 的 PBS 溶液中做平行测定实验,其相对标准偏差为 7.7%。以上结果表明,该修饰电极具有较好的稳定性和重现性。

### 3 结 论

制备的 Chi 和 GR 形成的复合膜修饰玻碳电极 Chi/GR/GCE,具有较好的生物相容性和导电性,修饰电极对 8-OHdG 有良好的电流响应,其在修饰电极表面的电化学反应为伴随单质子的单电子转移反应。通过 8-OHdG 在修饰电极上的氧化峰电流与损伤的 DNA 浓度的线性关系曲线可知,Chi/GR/GCE 修饰电极可以用于 DNA 氧化损伤的检测,且具有较好的稳定性和重现性,为电化学方法用于 DNA 氧化损伤检测提供了新的途径。

### 参 考 文 献

- [1] Shigenaga M A, Ames B N. Assay for 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine: A Biomarker of *in Vivo* Oxidative DNA Damage[J]. *Free Radic Biol Med*, 1991, **10**(3/4): 211-216.
- [2] Floyd R A, Watson J J, Wong P K, *et al.* Hydroxyl Free Radical Adduct of Deoxyguanosine: Sensitive Detection and Mechanisms of Formation[J]. *Free Radic Res Commun*, 1986, **1**(3): 163-172.
- [3] Kasai H. Analysis of a Form of Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a Marker of Cellular Oxidative Stress During Carcinogenesis[J]. *Mutat Res*, 1997, **387**(3): 147-163.
- [4] Toraason M. 8-Hydroxydeoxyguanosine as A Biomarker of Workplace Exposures[J]. *Biomarkers*, 1999, **4**(1): 3-26.
- [5] Li C S, Wu K Y, Chang G P, *et al.* Analysis of Oxidative DNA Damage 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a Biomarker of Exposures to Persistent Pollutants for Marine Mammals[J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**(8): 2455-2460.
- [6] La D K, Swenberg J A. DNA Adducts: Biological Markers of Exposure and Potential Applications to Risk Assessment[J]. *Mutat Res*, 1996, **365**(1/3): 129-146.
- [7] Shimoda R, Nagashima M, Sakamoto M, *et al.* Increased Formation of Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxydeoxyguanosine, in Human Livers with Chronic Hepatitis[J]. *Cancer Res*, 1994, **54**(15): 3171-3172.
- [8] Asami S, Manabe H, Miyake J, *et al.* Cigarette Smoking Induces an Increase in Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxydeoxyguanosine, in a Central Site of the Human Lung[J]. *Carcinogenesis*, 1997, **18**(9): 1763-1766.
- [9] Foksinski M, Kotzbach R, Szymanski W, *et al.* The Level of Typical Biomarker of Oxidative Stress 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine is Higher in Uterine Myomas than in Control Tissues and Correlates with the Size of the Tumor[J]. *Free Rad Biol Med*, 2000, **29**(7): 597-601.
- [10] Kuo H W, Chou S Y, Hu T W, *et al.* Urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG) and Genetic Polymorphisms in Breast Cancer Patients[J]. *Mutat Res*, 2007, **631**(1): 62-68.
- [11] Gutierrez A, Osegueda S, Gutierrez-Granados S, *et al.* Amperometric Detection and Quantification of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG) Using Dendrimer Modified Electrodes[J]. *Electroanalysis*, 2008, **20**(21): 2294-2300.
- [12] Li T H, Jia W L, Wang H S, *et al.* Electrochemical Performance of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine and Its Detection at Poly

- (3-Methylthiophene) Modified Glassy Carbon Electrode[J]. *Biosens Bioelectron*, 2007, **22**(7): 1245-1250.
- [13] Tamae K, Kawai K, Yamasaki S, *et al.* Effect of Age, Smoking and Other Lifestyle Factors on Urinary 7-Methylguanine and 8-Hydroxydeoxydeoxyguanosine[J]. *Cancer Sci*, 2009, **100**(4): 715-721.
- [14] Ravanat J L, Guicherd P, Turce Z, *et al.* Simultaneous Determination of Five Oxidative DNA Lesions in Human Urine[J]. *Chem Res Toxicol*, 1999, **12**(9): 802-808.
- [15] Han Y Y, Donovan M, Sung F C. Increased Urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine Excretion in Long-Distance Bus Drivers in Taiwan[J]. *Chemosphere*, 2010, **79**(9): 942-948.
- [16] Zhang S W, Zou C J, Lou N, *et al.* Determination of Urinary 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine by Capillary Electrophoresis with Molecularly Imprinted Monolith Intube Solid Phase Microextraction[J]. *Chinese Chem Lett*, 2010, **21**(1): 85-88.
- [17] Gutierrez A, Gutierrez S, Garcia Gu, *et al.* Determination of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine Using Electrodes Modified with a Dispersion of Carbon Nanotubes in Polyethylenimine[J]. *Electroanalysis*, 2011, **23**(5): 1221-1228.
- [18] Kang X H, Wang J, Wu H, *et al.* Glucose Oxidase-Graphene-Chitosan Modified Electrode for Direct Electrochemistry and Glucose Sensing[J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, **25**(4): 901-905.
- [19] Wang G, Xu J J, Chen H Y, *et al.* Amperometric Hydrogen Peroxide Biosensor with Sol-Gel/Chitosan Network-like Film as Immobilization Matrix[J]. *Biosens Bioelectron*, 2003, **18**(4): 335-343.
- [20] Denuziere A, Ferrier D, Damour O, *et al.* Chitosan-Chondroitin Sulfate and Chitosan-Hyaluronate Polyelectrolyte Complexes: Biological Properties[J]. *Biomaterials*, 1998, **19**(14): 1275-1285.
- [21] Ikinci G, Senel S, Akincibay H, *et al.* Effect of Chitosan on A Periodontal Pathogen Porphyromonas Gingivalis[J]. *Int J Pharm*, 2002, **235**(1/2): 121-127.
- [22] Corsi K, Chellat F, Yahia L H, *et al.* Mesenchymal Stem Cells, MG63 and HEK293 Transfection Using Chitosan-DNA Nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2003, **24**(7): 1255-1264.
- [23] Zhu P Y, Shen M, Xiao S H, *et al.* Experimental Study on the Reducibility of Graphene Oxide by Hydrazine Hydrate[J]. *Physica B*, 2011, **406**(3): 498-502.
- [24] Li Y, Li X, Dong C K, *et al.* A Graphene Oxide-Based Molecularly Imprinted Polymer Platform for Detecting Endocrine Disrupting Chemicals[J]. *Carbon*, 2010, **48**(12): 3427-3433.

## Electrochemical Activities of 8-Hydroxydeoxyguanosine in Chitosan/Graphene Modified Glassy Carbon Electrode and Detection of DNA Oxidative Damage

AN Lingling<sup>a</sup>, LU Maofeng<sup>a</sup>, DENG Lingling<sup>a</sup>, DU Jiangyan<sup>a,b,c\*</sup>

(<sup>a</sup>College of Chemistry and Materials Science, Nanjing Normal University;

<sup>b</sup>Jiangsu Key Laboratory of Bio-functional Material;

<sup>c</sup>Jiangsu Key Laboratory of New Power Batteries, Nanjing 210046, China)

**Abstract** The electrochemical behavior of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) at the chitosan (Chi)/graphene (GR) modified glassy carbon electrode (GCE) was investigated by cyclic voltammetry, linear sweep voltammetry and differential pulse voltammetry. A linear relationship between the oxidative peak current and concentrations of 8-OHdG at the modified electrode was established in the range of  $3.5 \times 10^{-7} \sim 1.4 \times 10^{-4}$  mol/L with a detection limit of  $6.4 \times 10^{-8}$  mol/L ( $S/N = 3$ ). Chi/GR/GCE was used for the detection of DNA oxidative damage, it showed that the oxidative peak current of 8-OHdG at the modified electrode was linear with concentration of damaged DNA in the range of 10 ~ 300 mg/L with a detection limit of 0.026 mg/L ( $S/N = 3$ ).

**Keywords** hydroxydeoxyguanosine, chitosan, graphene, DNA oxidative damage, electrochemical detection

Received 2013-04-12; Revised 2013-06-17; Accepted 2013-08-22

Supported by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (No. 164320H106)

Corresponding author: DU Jiangyan, professor; Tel: 025-85891651; Fax: 025-85891767; E-mail: dujiangyan@njnu.edu.cn; Research interests: bioelectrochemical sensors