



论文

金纳米微粒表面能量转移及半胱氨酸的高灵敏度 高选择性分析法

刘春^①, 吴同^①, 黄承志^{①②*}^① 发光与实时分析教育部重点实验室; 西南大学化学化工学院, 重庆 400715^② 西南大学药学院, 重庆 400715

*通讯作者, E-mail: chengzhi@swu.edu.cn

收稿日期: 2009-10-23; 接受日期: 2009-10-27

摘要 根据荧光染料在金纳米粒子表面的能量转移, 本文建立了一种具有高灵敏度和高选择性半胱氨酸分析方法. 研究表明, 通过静电作用吸附在柠檬酸根包被的金纳米粒子表面的阳离子荧光染料如罗丹明 B 分子在受光激发时, 发生从荧光染料到金属纳米微粒的能量转移, 导致荧光染料的荧光猝灭. 但当体系中存在半胱氨酸时, 由于半胱氨酸与金纳米粒子之间具有更强的共价作用, 罗丹明 B 分子远离金纳米粒子表面, 降低了能量转移效率, 使得罗丹明 B 的荧光得到恢复. 恢复的荧光强度与 0.025~4.5 $\mu\text{mol/L}$ 半胱氨酸呈很好的线性关系, 检测限为 8.0 nmol/L (3σ), 而其他十九种基本氨基酸的响应非常微弱.

关键词

荧光染料

罗丹明 B

金纳米粒子

表面能量转移(SET)

半胱氨酸

1 引言

金纳米粒子(gold nanoparticles, AuNPs)因其特殊的化学物理性质如随颗粒尺寸和颗粒间距离而改变的等离子体共振吸收特性, 比有机染料高几个数量级的消光系数和非线性光学特性而在生物化学、免疫分析等领域成为具有优异灵敏度和高选择性的分子识别探针^[1-8]. 近年来, 有研究者报道利用 AuNPs 建立了纳米材料能量转移(nanomaterials surface energy transfer, NSET)体系^[9, 10]. NSET 是指有机荧光染料作为能量给体将能量转移给作为能量受体的 AuNPs 表面^[11-13]. 从本质上来看, NSET 也是偶极-偶极作用, 但与荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)有很大不同. NSET 的能量受体是纳米粒子表面, 在几何学上各向同性的偶极向量分布, 从而可以接受来自于给体的能量, 因而同一个纳米粒子能猝灭从可见到近红外发射波长的荧光. 这不仅提高了作为给体的有机染料分子与作为受体的纳米

粒子之间的能量转移效率, 而且也使得 NSET 具有比 FRET 更大的有效作用距离和作用范围, 其能量转移效率与距离的关系从 $1/R^6$ 变成 $1/R^4$. 因此, 相同能量转移效率, NSET 比 FRET 传输的距离更长, 因此研究 NSET 对长距离能量传输具有重要的意义.

半胱氨酸是生物体内具有巯基的重要氨基酸, 它对生物体内依靠二硫键来保持结构和功能的蛋白质在分子内的交联起着至关重要的作用. 它也是一个潜在的神经毒素, 是某些疾病的标志化合物. 因此, 检测半胱氨酸在生物化学研究及临床诊断上都有重要意义. 目前, 已报道的分析方法有分光光度法^[14]、电化学分析法^[15]、荧光分析法^[16-18]、化学发光分析法^[19, 20]等. 我们课题组也曾报道基于半胱氨酸诱导 CTAB 包被的金纳米粒子聚集导致光散射信号变化^[21]以及通过改变银纳米粒子的形态而引起颜色变化^[22]来测定半胱氨酸的方法.

本文建立了一种基于 NSET 对半胱氨酸选择性

响应的“Turn-on”荧光检测方法. 由于 NSET 作用, 金纳米粒子可以猝灭吸附于其表面的荧光染料的荧光. 但加入一种与金纳米粒子或与染料作用更强的物质, 竞争反应会使得染料远离金纳米粒子表面, 进而使染料荧光恢复. 此类分析方法现已用于铜离子^[23]、汞离子^[11, 24, 25]和半胱氨酸^[26]的测定. 本文阐述了纳米粒子表面能量转移, 并成功用于半胱氨酸的检测, 而且实验中采用商业上廉价易得的高量子产率的荧光染料, 省去了合成目标染料的复杂步骤及分离过程, 因而使本方法成为一个简单、灵敏、快速的半胱氨酸检测方法.

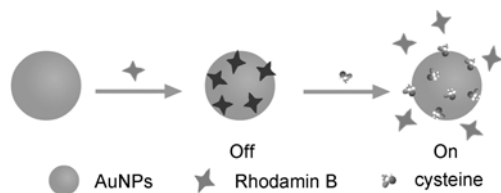
实验思路如图示 1 所示, 罗丹明 B 分子通过静电作用吸附在柠檬酸根包被的 AuNPs 表面. 当有光激发时, 二者之间发生荧光表面能量转移, 导致罗丹明 B 的荧光猝灭. 半胱氨酸加入后, 因为半胱氨酸的巯基与 AuNPs 之间更强的共价作用, 使得罗丹明 B 分子远离 AuNPs 表面, 能量转移效率降低, 从而罗丹明 B 的荧光恢复. 以此原理建立起测定半胱氨酸的高灵敏度和高选择性的分析方法.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

F-2500 型荧光分光光度计(日本日立公司), UV-3600 型紫外-可见-近红外分光光度计(日本岛津公司), MWS-1 型漩涡混合器(江苏其林贝尔仪器制造有限公司), PHS-3C 型酸度计(成都方舟科技开发公司).

HAuCl₄·4H₂O(上海国药集团化学试剂有限公司), 柠檬酸三钠(上海化学试剂公司), 20 种基本氨基酸(天津光复精细化工试剂公司). 半胱氨酸配制成 1.0×10^{-3} mol/L 储备液, 于 4 °C 冰箱中保存并且每天更新, 工作液通过 1.0 mmol/L 储备液逐级稀释得到. 实验中使用 Britton-Robinson 缓冲溶液控制溶液酸度. 实验用水均为超纯水, 试剂均为分析纯.



图示 1 NSET 法测半胱氨酸的示意图

2.2 金纳米微粒(AuNPs)的合成

采用 Frens 法合成粒径为 13 nm 的 AuNPs^[27]. 在用王水(盐酸:硝酸=3:1)洗净的 100 mL 平底烧瓶中, 依次加入 47 mL 超纯水, 2 mL 1% HAuCl₄ 水溶液, 加热搅拌至沸. 剧烈搅拌下迅速加入 1 mL 5% 柠檬酸三钠水溶液. 保持溶液沸腾和剧烈搅拌, 大约 5 分钟后溶液变得鲜红. 停止加热, 再继续剧烈搅拌直至溶液冷却至室温. 用 UV-3600 型紫外-可见-近红外分光光度计测定出该溶液最大吸收波长在 518.5 nm 左右. 其浓度依照消光光谱和朗伯-比尔定律计算(摩尔消光系数 $\epsilon_{(13)520\text{ nm}} = 2.7 \times 10^8 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$)^[28]为 10 nmol/L.

2.3 罗丹明B-金纳米粒子(RB-AuNPs)复合物的制备

在用王水洗净、超纯水润洗并烘干的棕色瓶中, 依次加入 12 mL 10 nmol/L AuNPs 溶液、2 mL 50.0 mol/L pH 9.0 硼砂-盐酸缓冲溶液、6 mL 超纯水. 磁力搅拌下加入 20 μL 2 mmol/L 罗丹明 B 溶液, 室温下避光搅拌反应 2 h. 反应结束后常温下静置保存待用. 如上制得的复合物浓度定义为 1 $\times$.

2.4 实验方法与步骤

在 1.5 mL 离心管中, 依次加入 400 μL 1 $\times$ RB-AuNPs 溶液, 100 μL pH 7.24 的 B-R 缓冲溶液和一定浓度的半胱氨酸溶液, 用水稀释至 1 mL, 涡旋混合器混合均匀. 所得溶液在室温静置反应 30 min 后, 在 530 nm 波长激发下扫描 545~700 nm 范围的荧光光谱.

3 结果与讨论

3.1 从罗丹明B到AuNPs表面的NSET

在水溶液中, 罗丹明 B 是强荧光分子(图 1, 曲线(a)), 其荧光量子产率高达 0.70, 最大发射峰在 575 nm. 当它通过静电作用吸附到带负电荷的金纳米粒子表面时, 由于二者之间发生了能量转移, 罗丹明 B 的荧光几乎被完全猝灭(图 1, 曲线(c)). 而半胱氨酸的加入使得罗丹明 B 的荧光得到部分恢复(图 1, 曲线(b)). 证明半胱氨酸可以阻碍罗丹明 B 与 AuNPs 之间的表面能量转移.

NSET 的猝灭常数 K_{sv} 可由公式(1)计算^[12]:

$$\frac{\Phi_0}{\Phi} = \frac{F_0}{F} = 1 + \left(\frac{k_q}{k_c + k_d} \right) [c_Q] = 1 + K_{sv} [c_Q] \quad (1)$$

其中 Φ_0 和 F_0 分别表示没有猝灭基团时的量子产量和发射强度. Φ 和 F 是有猝灭基团存在下的参数. k_q , k_c 和 k_d 分别指猝灭、发射以及钝化的比率. K_{sv} 是 Stern-Volmer 猝灭常数, 而 c_Q 是猝灭基团的浓度.

实验表明, 当罗丹明 B 与金纳米粒子的浓度分别为 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 和 3.0 nmol/L 时, 荧光猝灭效率可达为 98%. 而根据图 2 和公式(1), 可计算得出罗丹明 B

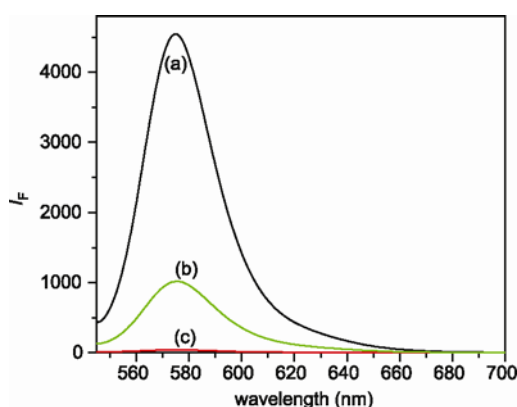


图 1 罗丹明 B 和 RB-AuNPs 在有半胱氨酸存在下的荧光发射光谱. 实验条件: 0.8 $\mu\text{mol/L}$ 罗丹明 B 溶液; 100 μL pH 7.24 Britton-Robinson 溶液; $0.4 \times$ RB-AuNPs 溶液 (分别含 0.8 $\mu\text{mol/L}$ RB 和 2.4 nmol/L AuNPs); 4.0 $\mu\text{mol/L}$ cysteine 溶液. (a) 罗丹明 B; (b) RB-AuNPs + cysteine; (c) RB-AuNPs

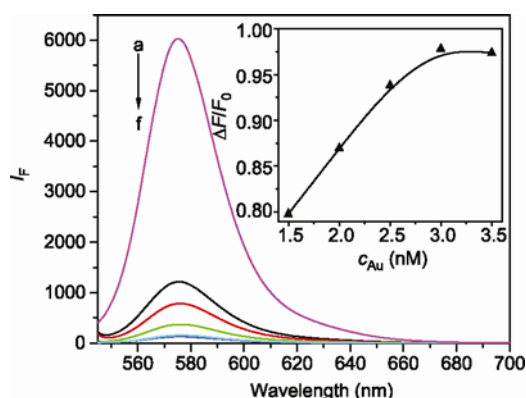


图 2 AuNPs 浓度对 RB-AuNPs 复合物荧光强度的影响. 实验条件: 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 罗丹明 B 溶液; 5.0 mmol/L pH 9.0 硼砂-盐酸溶液. AuNPs 浓度分别为 (a) 0; (b) 1.5; (c) 2.0; (d) 2.5; (e) 3.0; (f) 3.5 nmol/L . 嵌入图, 随金纳米粒子浓度而变化的猝灭效率; λ , 575 nm

和金纳米粒子之间的 K_{sv} 约为 $1.5 \times 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$. 如此高的猝灭常数, 使得纳摩尔级的金纳米粒子与荧光染料之间仍可以观察到灵敏的猝灭现象. 这主要是因为: 1) 较大的比表面积能够容纳更多的染料分子; (2) 金纳米粒子对有机染料达纳摩尔级的键合亲和力^[11].

如前所述, NSET 和 FRET 在本质上都是偶极-偶极相互作用, 仅仅是由于 NSET 中的受体是纳米粒子表面, 使得 NSET 比 FRET 具有更广阔的适用性. 发生 FRET 的给体和受体对, 必须满足给体的发射峰与受体的吸收峰高度重叠. 它们重叠程度越大, 给受体之间的能量转移也就越容易发生. NSET 虽然也有这个规律, 但它却并不受此条件限制. 就本实验中的能量给体 RB, 其最大发射峰位移在 575 nm, 而作为受体的 13 nm AuNPs, 其表面等离子共振吸收峰却在 520 nm 附近. 按照 FRET 的理论, 这样的给受体对之间的能量转移是非常弱的. 然而就实验数据来看, 仅需 3.0 nmol/L AuNPs 就可以使 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 罗丹明 B 荧光猝灭效率达 98%. 另一个显著的优点在于给受体之间的有效作用距离明显增大. 对于 FRET 来说, 给体和受体之间的距离小于 10 nm, 才能有效地发生能量转移. 所以, 在常规的 FRET 体系中, 给体和受体通常是用 DNA 链连接或杂交^[29]以保证其在有效作用距离之内. 而 NSET 的有效作用距离比 FRET 大了一倍, 达 20 nm, 这降低了 NSET 对给受体之间距离的依赖, 同时拓宽了纳米粒子的应用范围.

3.2 半胱氨酸与金纳米粒子的作用

在 pH 5.0 条件下, 不仅有半胱氨酸的巯基与 AuNPs 发生共价作用, 同时其分子内的 $-\text{NH}_3^+$ 与 AuNPs 也发生静电作用^[30]. 此时金纳米粒子自组装成网状结构, 其表面等离子共振吸收峰红移, 表现出从红到蓝或紫的颜色变化. 但我们在整个实验过程中没有观察到金纳米粒子的聚集. 这一方面是因为介质的 pH 值高于半胱氨酸的等电点, 使得半胱氨酸分子中几乎没有 $-\text{NH}_3^+$ 存在而与 AuNPs 发生静电作用; 另一方面也可能是在金纳米粒子表面还吸附有部分罗丹明 B 分子, 它保护 AuNPs 防止半胱氨酸诱导的交联聚集的发生.

3.3 实验条件的优化

图 2 表明 13 nm AuNPs 对罗丹明 B 的猝灭受 AuNPs 量的影响, 溶液的荧光强度随着金纳米粒子

浓度增大而线性地减弱. 进一步研究表明罗丹明 B 与 AuNPs 的比例对实验灵敏度影响非常大. 相对 AuNPs 来说, 如果 RB 量过多, 溶液中游离的 RB 会导致背景荧光增大; 如果 RB 不足量, 则会引起检测半胱氨酸的灵敏度降低. 我们通过实验发现(图 2), 当罗丹明 B 与金纳米粒子的浓度分别为 $1.0 \mu\text{mol/L}$ 和 3.0 nmol/L 时, RB 的荧光刚好被猝灭完全. 当二者以最优比例制成 RB-AuNPs 复合物时, 其用量多少对体系的信号响应也产生重要影响.

如图 3 所示, 过少或过多的 RB-AuNPs 复合物均会减弱信号响应. 在没有半胱氨酸存在时, RB-AuNPs 复合物的荧光值很弱, 而且基本不随该复合物的浓度改变. 加入半胱氨酸后, 溶液的荧光强度增强数倍, 并随着复合物浓度的增大不断增强. 在 $0.3\times$ 和 $0.4\times$ 之间达到平台, 然后随着复合物浓度继续增大, 荧光信号响应下降.

我们也考察了体系荧光信号对酸碱度的响应. 实验发现, 在 pH 5.0~9.0 的范围间, 酸碱度对体系没有很明显的影响(图 4). 这可能是罗丹明 B 的荧光发射比较稳定, 在此酸碱度范围内荧光信号基本保持恒定. 此外, 半胱氨酸与金纳米粒子间的共价作用, 受酸碱度影响也比较小.

实验还发现, 半胱氨酸与 RB-AuNPs 复合物反应迅速, 体系的荧光强度在加入半胱氨酸 5 min 之内增加数倍, 到反应 20 min 后基本达到平台(图 5). 本实验选择反应时间为 30 min 分钟再进行测定, 此反应时间可以使反应进行完全并保持信号稳定.

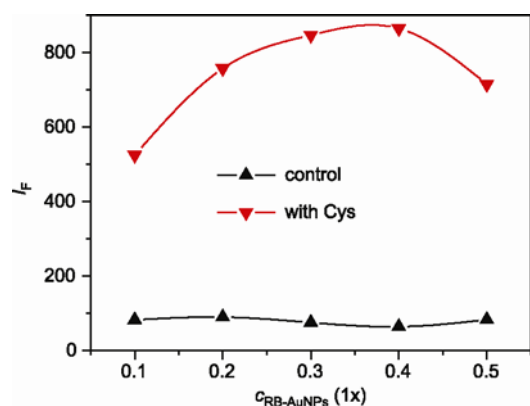


图 3 RB-AuNPs 浓度对体系荧光强度的影响. 实验条件: $100 \mu\text{L}$ pH 7.24 Britton-Robinson 溶液; $4.0 \mu\text{mol/L}$ cysteine 溶液; 反应时间, 30 min; λ , 575 nm

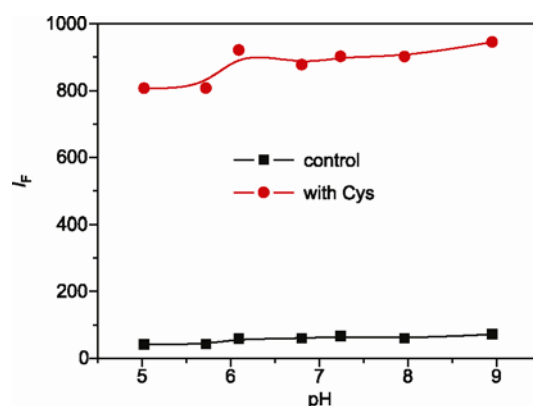


图 4 pH 值的影响. 实验条件: $100 \mu\text{L}$ pH 7.24 Britton-Robinson 溶液; $4.0 \mu\text{mol/L}$ cysteine 溶液; $0.4\times$ RB-AuNPs 溶液; 反应时间, 30 min; λ , 575 nm

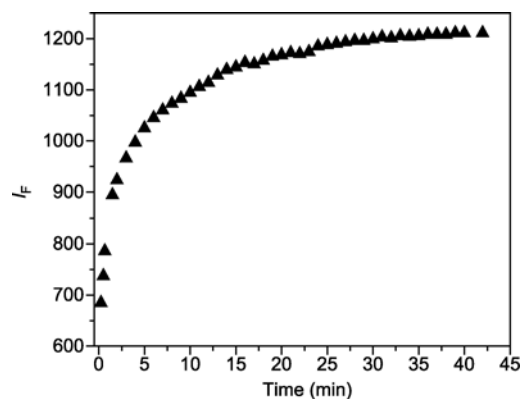


图 5 反应时间的影响. 实验条件: $100 \mu\text{L}$ pH 7.24 Britton-Robinson 溶液; $4.0 \mu\text{mol/L}$ cysteine 溶液; $0.4\times$ RB-AuNPs 溶液; λ , 575 nm

3.4 其他氨基酸的响应

为检验本实验的选择性, 我们考察了组成蛋白质的二十种 L-型氨基酸对体系的响应(图 6). 从实验结果看, 半胱氨酸对体系的响应远远大于其余的十九种氨基酸. 这也进一步说明半胱氨酸分子中的巯基, 是引起体系荧光增强的关键原因. 其中碱性氨基酸组氨酸和精氨酸, 由于在实验 pH 条件下, 此二者氨基酸带正电荷, 与金纳米粒子静电作用而产生轻微荧光信号. 蛋氨酸对体系荧光信号的影响主要是因为它分子内含有的 S-CH_3 基团与金纳米粒子发生作用.

我们进一步考察了 L-高半胱氨酸和还原型谷胱甘肽对体系的响应. 实验发现, 由于这两种物质也含有巯基基团, 它们与金纳米粒子有类似的反应, 故对

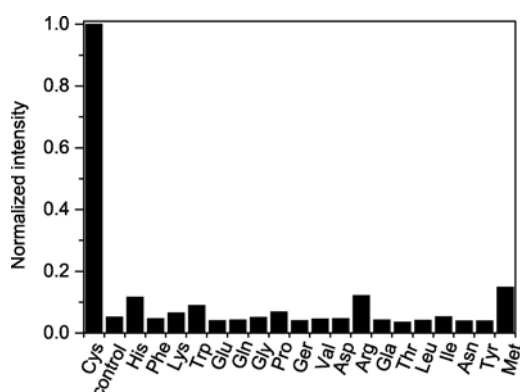


图6 二十种氨基酸对体系的响应. 实验条件: 100 μL pH 7.24 Britton-Robinson 溶液; $0.4 \times \text{RB-AuNPs}$ 溶液; $4.0 \mu\text{mol/L}$ 各种氨基酸溶液; 反应时间, 30 min; λ , 575 nm

本实验也有很强的响应(如图 7), 其中 L-高半胱氨酸与半胱氨酸的响应几乎一样, 还原型谷胱甘肽能达到半胱氨酸的 50%.

3.5 线性范围、精密度及样品测定

在最优实验条件下, 我们研究了 RB-AuNPs 在半胱氨酸存在下的荧光恢复, 所有的荧光信号强度均取自 575 nm 处(图 8). 实验发现, 半胱氨酸浓度在 $0.025 \sim 4.5 \mu\text{mol/L}$ 范围时, 荧光强度差值与其浓度呈线性关系, 线性回归方程及相关系数分别是 $\Delta I = 20.7 + 217.0c$ (其中, ΔI 为体系的荧光强度增加值, c 为半胱氨酸浓度, $\mu\text{mol/L}$) 和 $R = 0.9978$, 检测

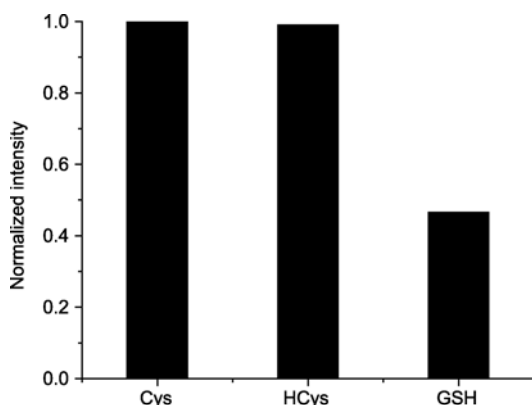


图7 L-高半胱氨酸和还原型谷胱甘肽对体系的响应. 实验条件: 100 μL pH 7.24 Britton-Robinson 溶液; $0.4 \times \text{RB-AuNPs}$ 溶液; $4.0 \mu\text{mol/L}$ Cys, HCys 和 GSH 溶液; 反应时间, 30 min; λ , 575 nm

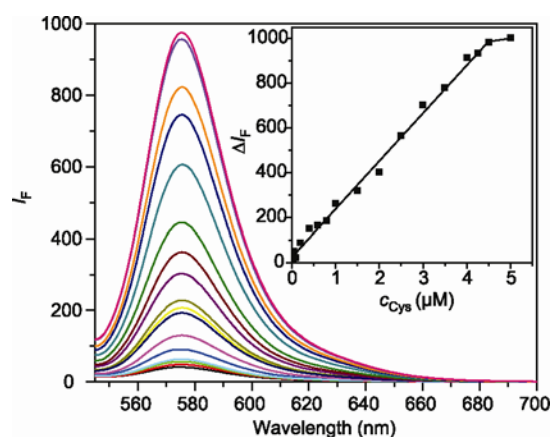


图8 Cys 的线性响应曲线及荧光光谱图. 实验条件: 100 μL pH 7.24 Britton-Robinson 溶液; $0.4 \times \text{RB-AuNPs}$ 溶液; 反应时间, 30 min. 嵌入图, 575 nm 处的荧光增加值与半胱氨酸浓度的线性响应曲线

表1 合成样品中半胱氨酸的测定

样品	加入浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	合成样	回收浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	回收率 (%)	相对偏差 (% , $n=3$)
1	0.75	a	0.69, 0.71, 0.74	92.0~98.7	3.5
2	1.50	b	1.46, 1.47, 1.56	97.3~104.0	3.7
3	2.50	c	2.48, 2.47, 2.49	98.8~99.7	0.4

$c_{\text{RB-AuNPs}}$, $0.4 \times$; B-R 缓冲溶液 pH 7.24, 各氨基酸浓度与所加入的半胱氨酸浓度一样. 合成样 a: His, Trp, Arg, Phe, Ser, Val, Lys; 合成样 b: Glu, Gln, Gly, Pro, Asn, Asp; 合成样 c: Ala, Thr, Leu, Ile, Tyr, Met.

限(3σ)为 8.0 nmol/L . 为验证本方法的可行性, 我们对合成样品进行半胱氨酸标准加入回收实验(表 1), 得到回收率在 $92.0\% \sim 104.0\%$ 之间, 相对标准偏差小于 3.7% ($n=3$). 从实验结果来看, 该方法具有良好的准确度和精密度.

4 结论

本文描述了一个基于金纳米微粒的表面能量转移测定半胱氨酸的简单方法. 由于 NSET 的作用, RB-AuNPs 复合物在 575 nm 处的荧光非常微弱, 半胱氨酸加入后, 减弱 NSET 的转移效率, 使得罗丹明 B 的荧光得以恢复, 以此建立起检测限(3σ)达 8.0 nmol/L 的半胱氨酸分析方法. 我们相信, NSET 在生物分析中有更加广阔的用途, 在细胞成像分析及毛细管电泳分析中展示了很好的应用前景.

致谢 本工作得到国家自然科学基金 (90813019)资助, 特此致谢.

参考文献

- 1 Murphy CJ, Gole AM, Stone JW, Sisco PN, Alkilany AM, Goldsmith EC, Baxter SC. Gold nanoparticles in biology: beyond toxicity to cellular imaging. *Acc Chem Res*, 2008, 41(12): 1721—1730
- 2 Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-Related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem Rev*, 2004, 104(1): 293—346
- 3 何佑秋, 刘绍璞, 刘芹, 刘忠芳, 胡小莉. 金纳米微粒与藏红 T 相互作用的吸收、荧光和共振 Rayleigh 散射光谱特征. *中国科学 B 辑: 化学*, 2005, 35(2): 159—168
- 4 Zhao W, Brook MA, Li Y. Design of gold nanoparticle-based colorimetric biosensing assays. *ChemBioChem*, 2008, 9(15): 2363—2371
- 5 Jiang ZL, Feng ZW, Li TS, Li F, Zhong FX, Xie JY, Yi XH. Resonance scattering spectroscopy of gold nanoparticle. *Sci China Ser B-Chem*, 2001, 44(2): 175—181
- 6 Wang Z, Ma L. Gold nanoparticle probes. *Coord Chem Rev*, 2009, 253(11-12): 1607—1618
- 7 Liu J, Lu Y. Colorimetric biosensors based on dnzyme-assembled gold nanoparticles. *J Fluoresc*, 2004, 14(4): 343—354
- 8 Zhang JJ, Zhu JJ. A novel amperometric biosensor based on gold nanoparticles-mesoporous silica composite for biosensing glucose. *Sci China Ser B-Chem*, 2009, 52(6): 815—820
- 9 Yun CS, Javier A, Jennings T, Fisher M, Hira S, Peterson S, Hopkins B, Reich NO, Strouse GF. Nanometal surface energy transfer in optical rulers, breaking the FRET barrier. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(9): 3115—3119
- 10 Jennings TL, Singh MP, Strouse GF. Fluorescent lifetime quenching near $d=1.5$ nm gold nanoparticles: probing NSET validity. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(16): 5462—5467
- 11 Darbha GK, Ray A, Ray PC. Gold nanoparticle-based miniaturized nanomaterial surface energy transfer probe for rapid and ultrasensitive detection of mercury in soil, water, and fish. *ACS Nano*, 2007, 1(3): 208—214
- 12 Griffin J, Singh AK, Senapati D, Rhodes P, Mitchell K, Robinson B, Yu E, Ray PC. Size- and distance-dependent nanoparticle surface-energy transfer (NSET) method for selective sensing of hepatitis C virus RNA. *Chem Eur J*, 2009, 15(2): 342—351
- 13 Ray PC, Fortner A, Darbha GK. Gold nanoparticle based FRET assay for the detection of DNA cleavage. *J Phys Chem B*, 2006, 110(42): 20745—20748
- 14 Li L, Li B. Sensitive and selective detection of cysteine using gold nanoparticles as colorimetric probes. *Analyst*, 2009, 134(7): 1361—1365
- 15 Chen Z, Zu Y. Electrochemical recognition of single-methylene difference between cysteine and homocysteine. *J Electroanal Chem*, 2008, 624(1-2): 9—13
- 16 Zhang M, Yu M, Li F, Zhu M, Li M, Gao Y, Li L, Liu Z, Zhang J, Zhang D, Yi T, Huang C. A highly selective fluorescence turn-on sensor for cysteine/homocysteine and its application in bioimaging. *J Am Chem Soc*, 2007, 129(34): 10322—10323
- 17 Lee KS, Kim TK, Lee JH, Kim HJ, Hong JI. Fluorescence turn-on probe for homocysteine and cysteine in water. *Chem Commun*, 2008(46): 6173—6175
- 18 Lin W, Long L, Yuan L, Cao Z, Chen B, Tan W. A ratiometric fluorescent probe for cysteine and homocysteine displaying a large emission shift. *Org Lett*, 2008, 10(24): 5577—5580
- 19 Zhang SH, Shi BA, Xi J. Investigation on simultaneous determination of tryptophan and cysteine by chemiluminescence method. *Chin J Anal Lab*, 2007(7): 10—13
- 20 Hua L, Han H, Zhang X. Size-dependent electrochemiluminescence behavior of water-soluble CdTe quantum dots and selective sensing of L-cysteine. *Talanta*, 2009, 77(5): 1654—1659
- 21 Wang J, Li YF, Huang CZ, Wu T. Rapid and selective detection of cysteine based on its induced aggregates of cetyltrimethylammonium bromide capped gold nanoparticles. *Anal Chim Acta*, 2008, 626(1): 37—43
- 22 Wu T, Li YF, Huang CZ. Selectively colorimetric detection of cysteine with triangular silver nanoprisms. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(5): 611—614
- 23 He X, Liu H, Li Y, Wang S, Li Y, Wang N, Xiao J, Xu X, Zhu D. Gold nanoparticle-based fluorometric and colorimetric sensing of copper(II) ions. *Adv Mater*, 2005, 17(23): 2811—2815
- 24 Huang C-C, Chang H-T. Selective gold-nanoparticle-based“turn-on”fluorescent sensors for detection of mercury(II) in aqueous solution. *Anal Chem*, 2006, 78(24): 8332—8338

- 25 Chen J, Zheng A, Chen A, Gao Y, He C, Kai X, Wu G, Chen Y. A functionalized gold nanoparticles and rhodamine 6G based fluorescent sensor for high sensitive and selective detection of mercury(II) in environmental water samples. *Anal Chim Acta*, 2007, 599: 134—142
- 26 Shang L, Qin C, Wang T, Wang M, Wang L, Dong S. Fluorescent conjugated polymer-stabilized gold nanoparticles for sensitive and selective detection of cysteine. *J Phys Chem C*, 2007, 111(36): 13414—13417
- 27 Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nat Phys Sci*, 1973, 241: 20—22
- 28 Georganopoulou DG, Chang L, Nam JM, Thaxton CS, Mufson EJ, Klein WL, Mirkin CA. Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(7): 2273—2276
- 29 Wang W, Chen C, Qian M, Zhao XS. Aptamer biosensor for protein detection using gold nanoparticles. *Anal Biochem*, 2008, 373(2): 213—219
- 30 Li ZP, Duan XR, Liu CH, Du BA. Selective determination of cysteine by resonance light scattering technique based on self-assembly of gold nanoparticles. *Anal Biochem*, 2006, 351(1): 18—25

Gold nanoparticles surface energy transfer and its application to highly selective and sensitive detection of cysteine

LIU Chun¹, WU Tong¹ & HUANG ChengZhi^{1,2}

¹ Key Laboratory on Luminescence and Real-Time Analysis, Ministry of Education; College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China

² College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: In this contribution, we report a highly selective and sensitive method for detecting cysteine based on surface energy transfer from fluorophore to gold nanoparticles. Cation dyes, such as Rhodamine B, can be adsorbed onto the surface of citrated-gold nanoparticles through the electrostatic interaction, and the fluorescence of the Rhodamine B absorbed on the surface of the as-prepared gold nanoparticles gets quenched because of the occurrence of surface energy transfer from the fluorophore of Rhodamine B to the gold nanoparticles. With the addition of cysteine, the strong covalent combination between the mercapto group of cysteine and gold nanoparticles drives Rhodamine B molecules apart from the gold nanoparticles' surface, which reduces the energy transfer efficiency and results in a significant increase of fluorescence of the solution. It was found that the fluorescence gets increased linearly with the concentration of cysteine ranging from 0.025 $\mu\text{mol/L}$ to 4.5 $\mu\text{mol/L}$. This phenomenon allows sensitive detection of cysteine with a detection limit of 8.0 nmol/L (3σ). Other 19 kinds of natural amino acids have a weak influence on the surface energy transfer.

Keywords: fluorescent dye, Rhodamine B, gold nanoparticles, surface energy transfer (SET), cysteine