

## 用水溶性四苯基乙烯基荧光探针检测 ctDNA<sup>\*</sup>

金佳科<sup>1</sup> 陈秀娟<sup>1</sup> 刘 一<sup>1</sup> 秦安军<sup>1</sup> 孙景志<sup>1\*\*</sup> 唐本忠<sup>1,2\*\*</sup>

(<sup>1</sup>浙江大学高分子科学与工程学系 生物医用大分子研究所 教育部大分子合成与功能构造重点实验室 杭州 310027)

(<sup>2</sup>香港科技大学化学系 香港九龙 清水湾)

**摘 要** 设计合成了一种水溶性的四苯基乙烯(TPE)衍生物 TPEDPyMe,研究了该化合物的吸收和发射特性,发现 TPEDPyMe 具有聚集诱导发光(AIE)性能.在 pH 值为 7.2 的三羟甲基氨基甲烷-盐酸(tris-HCl)缓冲溶液中用 TPEDPyMe 检测小牛胸腺 DNA(ctDNA)时观察到,随着 ctDNA 的浓度从 0  $\mu\text{g/mL}$  增大到 500  $\mu\text{g/mL}$ ,TPEDPyMe 的荧光强度逐渐增大 20 倍,且荧光峰位从 627 nm 蓝移到 576 nm.荧光强度与 ctDNA 浓度变化的线性相关区间为 0  $\mu\text{g/mL}$  到 50  $\mu\text{g/mL}$ ,此区间内  $K_{sv}$  常数达到了  $1.4 \times 10^2$ .

**关键词** DNA 检测,聚集诱导发光,四苯基乙烯,荧光探针

DNA 是最重要的生物大分子之一,关系到人类的正常生命过程和病理过程.许多疾病预防和治疗的药物都是以核酸为靶点来设计的,而核酸的定量测定则是基础.研究证明,与核酸作用的药物在体内体外具有一致性<sup>[1]</sup>,因此在体外首先进行探针 DNA 结合实验在理论和实践上都很有意义.通过和 DNA 结合,荧光探针可以发生荧光猝灭/增强或者荧光红移/蓝移等现象,这样就使得荧光探针对于 DNA 的检测具有可观察性<sup>[2-19]</sup>.其中最为敏感的检测 DNA 的荧光探针往往是那些荧光被 DNA 所激发的,也就是通过和 DNA 结合荧光强度增加的体系,但是目前具有这种性能的荧光探针只有极少数的报道.聚集诱导发光(AIE)分子具有不同于普通荧光分子的独特现象,当分子内旋转被冻结或者形成聚集体时其荧光发射将从无到有或显著增大.这是一类典型的 turn-on 机理的荧光探针,具有灵敏性高和背景噪声低的优点.因此,虽然用 AIE 型荧光探针检测 DNA 的研究还处于初始阶段<sup>[15-19]</sup>,但是已经引起高度重视.

由于 DNA 等生物大分子的检测需要在水溶液中进行,因此要求 AIE 分子具有一定的水溶性.考虑到 AIE 类荧光生色团由多个芳香环构成,不溶于水,因此需要通过官能团修饰来增加它们的水溶性.于是,一些离子型和非离子型的水溶

性基团被化修饰到 AIE 生色团上.例如, Jin 等用质子化的(1,1-二对二乙胺基甲基)-2,3,4,5-四苯基硅杂环戊二烯在水溶液中监测了聚(二丙烯基二甲基氯化铵)和聚磺化苯乙烯在水溶液层层组装的动态过程<sup>[20]</sup>. Hong 等用阳离子化的四溴化-1,1,2,2-四[4-(2-三乙基乙氧基氨基苯)]作为荧光探针,检测了富含鸟嘌呤(G)的单链 DNA 在  $\text{K}^+$  离子诱导下折叠形成 G4 二级结构和 G4 与互补 DNA 链作用发生解折叠的过程<sup>[18]</sup>.二溴化-1,2-二苯基-(1,2-二对三乙胺基甲基)乙烯是一种阳离子型的 AIE 荧光分子,易于通过静电作用与聚阴离子型的单链 DNA 结合,当  $\text{Hg}^{2+}$  存在时,富含胸腺嘧啶的适配体单链 DNA 与  $\text{Hg}^{2+}$  选择性结合形成发卡结构,把 AIE 分子紧密包裹起来,使之发出强烈的荧光,这个过程可以用于  $\text{Hg}^{2+}$  的检测.当  $\text{Hg}^{2+}$  与带巯基的生物分子作用时,发卡结构解体,AIE 分子被释放而荧光大大降低,这个逆过程就构成了检测带巯基的生物分子的基础<sup>[17]</sup>.在此,本文报道用一种新的四苯基乙烯基 AIE 荧光探针检测 DNA 的研究工作.考虑到吡啶盐是一种水溶性的带正电荷的基团,可以与 DNA 上的磷酸根负离子通过静电作用而结合,于是设计合成了一种带吡啶基的 TPE 衍生物,考察了该分子的 AIE 性能,研究了在缓冲溶液中该荧光分子的荧光随着 DNA 浓度变化的规

\* 庆祝沈家骢院士 80 华诞专稿; 2011-04-15 收稿, 2011-05-19 修稿; 国家自然科学基金(基金号 21074113, 50873086, 20974098)、国家重点基础研究发展计划(973 计划, 项目号 2009CB623605)和浙江省自然科学基金(基金号 Z4110056)资助项目; \*\* 通讯联系人, E-mail: sunjz@zju.edu.cn; tangbenz@ust.hk  
doi: 10.3724/SP.J.1105.2011.11116

律.

## 1 实验部分

### 1.1 材料与试剂

锌粉,溴代丁二酰亚胺(NBS),对醛基吡啶,叔丁醇钾,DNA, tris-HCl 从 Aldrich 试剂公司购买直接使用;亚磷酸三乙酯,4-甲基二苯甲酮,碘甲烷,过氧化苯甲酰(BPO),四氯化钛,吡啶以及 ctDNA 从上海国药购买;四氯化碳(在  $P_2O_5$  回流 24h),石油醚,乙醇,乙酸乙酯,二氯甲烷,氯化钾从上海国药试剂公司购买直接使用;四氢呋喃(THF)从杭州双林化学试剂有限公司购买,钠钾合金(以二苯甲酮为指示剂)经除水后使用.

### 1.2 测试仪器

$^1H$ -NMR 和  $^{13}C$ -NMR, Bruker Avance DMX 500 NMR Spectrometer, 紫外可见吸收光谱, CARY 100 Bio UV-visible Spectrophotometer, 荧光发射光谱, Perkin Elmer LS 55 Spectrofluorometer, 元素分析, Perkin-Elmer 240C Element Analysis, 质谱, TRACE GC 2000/TRACE.

### 1.3 带吡啶基的 TPE 衍生物的合成

目标产物的合成路线见示意图 1, 具体过程分述如下: 首先取 5.88 g 4-甲基二苯甲酮及 5.85 g 锌粉加入到充分干燥的三口烧瓶中, 放入一个磁子, 抽真空 2 h, 随后通入氮气. 用针筒移取 100 mL 新蒸 THF 溶液加入三口烧瓶中, 将溶液搅拌 0.5 h, 此时溶液为灰色悬浮液. 用针筒移取 5 mL (8.73 g)  $TiCl_4$ , 并在  $0^\circ C$  下逐渐滴加到三口烧瓶中, 随着  $TiCl_4$  的加入, 溶液反应剧烈, 烧瓶壁上出现黄色固体, 滴加完毕后室温反应 1 h, 溶液颜色变为亮黑色, 而后将油浴温度升至  $78^\circ C$  回流过夜, 溶液变澄清. 将混合溶液过滤, 旋转蒸发除去溶剂, 所得固体用层析柱进行分离(正己烷: 三氯甲烷 = 5:1), 真空烘箱  $40^\circ C$  干燥, 得到白色固体, 即化合物 4,4'-二甲基四苯基乙烯(**1**) 5.0 g, 产率为 85%. 化合物 **1** 结构表征结果如下:  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 7.14 ~ 6.97 (m, 10H, Ar—H), 6.91 (d, 4H, Ar—H), 6.89 (d, 4H, Ar—H), 2.27 (s, 6H, —CH<sub>3</sub>).  $^{13}C$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 144.0, 140.9, 140.3, 135.9, 131.3, 131.1, 128.3, 127.5, 126.1, 21.2. Calcd. (C% 93.29, H% 6.71), Found (C% 93.01, H% 6.60).

将 1.08 g 化合物 **1**、1.07 g NBS 及 0.06 g

BPO 加入到充分干燥的三口烧瓶中, 放入一个磁子, 抽真空通氮气 3 次, 随后加入 20 mL 新蒸的  $CCl_4$ , 开启磁力搅拌, 溶液为悬浮液. 逐渐升温至  $78^\circ C$ , 有大量气泡产生, BPO 分解, 随后维持温度在  $78^\circ C$ , 使  $CCl_4$  溶液回流 2 h 后, 溶液表面有白色颗粒漂浮, 将所得溶液冷却过滤, 旋转蒸发除去溶剂, 所得固体用层析柱进行分离(石油醚: 二氯甲烷 = 5:1), 真空烘箱  $40^\circ C$  干燥, 得到白色固体, 化合物 4,4'-二溴甲基四苯基乙烯(**2**) 0.5 g, 产率为 46%. 化合物 **2** 结构表征结果如下:  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 7.12 ~ 6.98 (m, 18H, Ar—H), 4.41 (s, 4H, —CH<sub>2</sub>Br).  $^{13}C$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 143.5, 142.9, 140.6, 135.6, 131.4, 131, 128.2, 127.6, 126, 33.2.

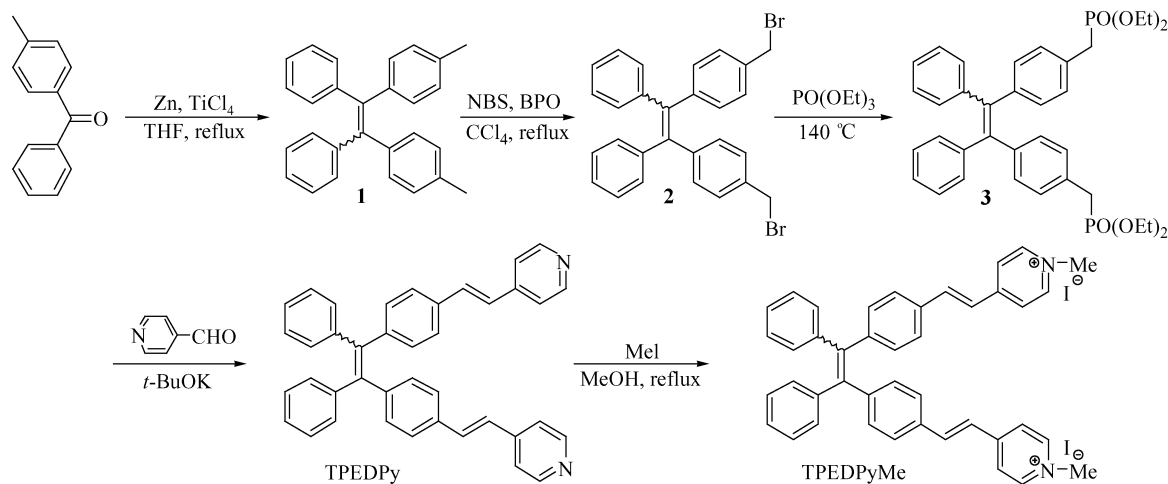
取 2.58 g 化合物 **2**、10 mL 亚磷酸三乙酯加入到充分干燥的放有一磁子的三口烧瓶中, 抽真空通氮气 3 次, 随后逐渐将油浴升温至  $145^\circ C$ , 这时会发现反应体系中有气体冒出, 为生成的副产物 1-溴代乙烷, 说明反应已经开始. 开始时反应为无色透明液体, 反应 7 h 后体系变为黄色, 停止反应. 降温至  $100^\circ C$  减压蒸馏除去剩余的亚磷酸三乙酯, 所得固体用层析柱进行分离(乙酸乙酯: 石油醚 = 2:1), 真空烘箱  $40^\circ C$  干燥, 得到化合物 **3** 2.84 g, 产率 90%. 化合物 **3** 表征结果如下:  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 7.09 ~ 6.94 (m, 18H), 3.95 (m, 8H), 3.09 (d, 4H), 1.20 (m, 12H).  $^{13}C$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 143.35, 142.1, 140.3, 131.2, 131, 129.3, 128.9, 127.4, 126.2, 61.8, 34.0, 32.7, 16.1.

取 2 g 化合物 **3**、2 mL 对吡啶基苯甲醛加入到三口烧瓶中, 放入一个磁子, 安装好恒压加液漏斗, 抽真空通氮气 3 次, 随后加入 50 mL 新蒸的四氢呋喃溶液, 搅拌 0.5 h, 配制含有 1.5 g 叔丁醇钾的四氢呋喃悬浮液 50 mL, 加入到恒压加液漏斗中, 待体系温度降至  $-7^\circ C$  时, 逐滴滴加叔丁醇钾的四氢呋喃悬浮液, 可以观察到每滴加一滴, 体系立刻变红色, 随后消失, 说明反应开始进行. 大约 1 h 后, 叔丁醇钾的四氢呋喃悬浮液全部滴加完毕, 继续反应 7 h 得到亮黄色溶液, 将所得溶液过滤, 旋转蒸发除去溶剂, 所得固体用层析柱进行分离(四氢呋喃: 正己烷 = 2:1), 真空烘箱  $40^\circ C$  干燥, 得到化合物 TPEDPy, 产率 67%. TPEDPy 表征结果如下:  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ): 8.73, 8.51 (d, 4H, Pyridine-H), 7.78, 7.51 (d, 4H,

Pyridine-H), 7.45 ~ 6.90 (m, 22H, Ar—H, —CH=CH—).

取 0.5 g 化合物 TPEDPy, 加入到一个放有磁子的充分干燥的三口烧瓶中, 抽真空通氮气 3 次, 加入 3 mL 无水甲醇, 搅拌 10 min, 随后用针筒移取 1 mL 碘甲烷, 滴加到乙醇溶液中, 升温至 45℃ 反应 24h, 溶液有红色沉淀生成. 降至室温后, 将

混合溶液过滤, 并用无水乙醚洗涤 3 次, 真空烘箱 40℃ 干燥, 得到化合物 TPEDPyMe, 产率 94%, 其结构表征结果如下:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.64 (m, 4H), 7.34 (m, 6H), 7.40 ~ 6.85 (m, 20H). 元素分析结果: Calcd. (C% 89.17, H% 5.61), Found (C% 89.09, H% 5.52).



Scheme 1 Synthetic route to the expected fluorescent probe TPEDPyMe

#### 1.4 DNA 检测实验

首先配制 pH 值为 7.2 的缓冲溶液, 其配制过程如下: 将 394 mg tris-HCl, 1.863 g KCl 加入到 250 mL 溶液中, 加入去离子水配制成含有 10 mmol/L tris-HCl, 100 mmol/L KCl 的 pH 为 7.2 的缓冲溶液. 然后利用此缓冲溶液分别配制 ctDNA 含量为 0 ~ 500  $\mu\text{g/mL}$  的水溶液, 其中 TPEDPyMe 的含量维持在  $5 \times 10^{-6}$  mol/L. 以 ctDNA 含量为 100  $\mu\text{g/mL}$  的去离子水溶液为例介绍其具体配制过程如下: 首先取化合物 TPEDPyMe 8.2 mg 加入到 100 mL 容量瓶中, 随后加入 100 mL pH 7.2 的缓冲溶液, 配制成浓度为  $10^{-4}$  mol/L 的 TPEDPyMe 缓冲水溶液, 随后取出 1 mL 上述溶液稀释至 10 mL 使 TPEDPyMe 的浓度为  $10^{-5}$  mol/L, 取 5 mL 此溶液加入到一个洁净的菌种瓶中待用. 随后取 10 mg ctDNA 加入到 10 mL 容量瓶中, 加入缓冲溶液, 配制成浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$  的 ctDNA 溶液, 取出 1 mL 此溶液, 而后加入缓冲溶液 4 mL, 将 ctDNA 浓度稀释至 20  $\mu\text{g/mL}$ , 在剧烈搅拌下将此 ctDNA 溶液滴加入先前放在菌种瓶中的 TPEDPyMe 缓冲溶液中, 滴加完毕后, 静止 2 h, 测定其紫外可见吸收光谱及荧光光谱.

## 2 结果与讨论

### 2.1 TPEDPyMe 的吸收与发光特性

不同浓度 TPEDPyMe 的水溶液的紫外可见吸收光谱见图 1, 最大值在 388 nm 处的吸收峰来自 TPEDPyMe 两条十字形骨架的吸收, 而在 314 nm 处的吸收峰则是四苯基乙烯基团的特征吸收峰. 当 TPEDPyMe 在水溶液中的浓度从  $10^{-6}$  mol/L 变为  $10^{-4}$  mol/L 时, 溶液的紫外吸收光谱并没有出现红移或者蓝移的现象. 一般情况下,  $\pi$ -共轭生色分子溶液的吸收峰的移动是由于分子间的  $\pi$ - $\pi$  相互作用引起的, 因此图 1 所表现吸收光谱的稳定性说明 TPEDPyMe 分子在水溶液中溶解性良好, 这对于实现 DNA 等水溶性生物大分子的检测是有利的.

在紫外灯下观察含有浓度为  $10^{-5}$  mol/L 的 TPEDPyMe 的水和乙醇溶液, 发现水溶液基本发光非常微弱, 而乙醇溶液中则发红光. TPEDPyMe 在水和乙醇溶液中的荧光光谱见图 2, 可见 TPEDPyMe 在水溶液中荧光强度很弱, 荧光发射峰在 627 nm 处; 而在含有相同浓度 TPEDPyMe 在乙醇溶液中荧光强度分别增大了 30 倍, 且荧光发射峰发生红移到了 631 nm 处. 事实上, 乙醇是

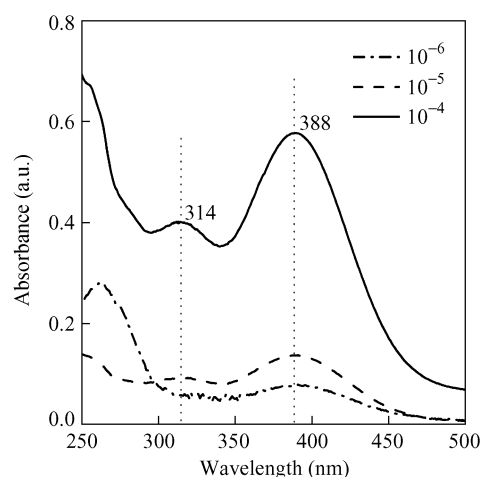


Fig. 1 UV-Vis spectra of TPEDPyMe in aqueous solution with different concentrations

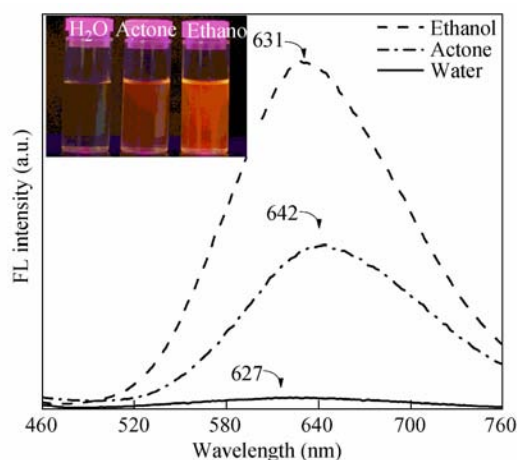


Fig. 2 Fluorescence spectra of TPEDPyMe in water, ethanol and acetone ( $10^{-5}$  mol/L), excitation wavelength: 420 nm

The inset shows the fluorescence images of the samples taken under 365 nm UV light.

TPEDPyMe 的不良溶剂,因此 TPEDPyMe 在乙醇溶剂中以聚集体的形式存在,荧光光谱观测到的是分子聚集体的发光.这说明 TPEDPyMe 具有典型的聚集诱导发光性能.为了进一步证明 TPEDPyMe 的聚集诱导发光行为,用另一种非溶剂丙酮进行了对比试验,荧光光谱也在图 2 中给出.结果表明在相同浓度下,TPEDPyMe 表现出比在水溶液中明显增强的荧光发射和类似在乙醇溶剂中的光谱红移现象,由此证明了 TPEDPyMe 的聚集诱导发光性能.

## 2.2 TPEDPyMe 对于 ct DNA 的浓度检测

在研究了 TPEDPyMe 的吸收和聚集诱导发光性能的基础上,以含有 10 mmol/L tris-HCl, 100

mmol/L KCl 的 pH 为 7.2 的缓冲溶液做溶剂,研究了含不同浓度 ctDNA 的 TPEDPyMe 缓冲溶液的荧光发射行为,检测到的荧光光谱变化见图 3(a).从图中可以发现:随着 ctDNA 浓度的增大,溶液的荧光强度逐渐增强,且荧光峰位发生蓝移.荧光光谱移动的定量的测试结果在图 3(b)中给出.当 ctDNA 含量从 0  $\mu\text{g/mL}$  变为 50  $\mu\text{g/mL}$  时,其荧光光谱最大发射峰位从 633 nm 蓝移到 598 nm,蓝移了 35 nm,变化剧烈.当 ctDNA 浓度大于 50  $\mu\text{g/mL}$  时,荧光光谱峰位的蓝移出现拐点,变化速率减缓.当 ctDNA 含量为 500  $\mu\text{g/mL}$  时,光谱峰位移至 576 nm 处,相对于 DNA 含量为 50  $\mu\text{g/mL}$  溶液的荧光光谱蓝移了 24 nm (图 3(b)).

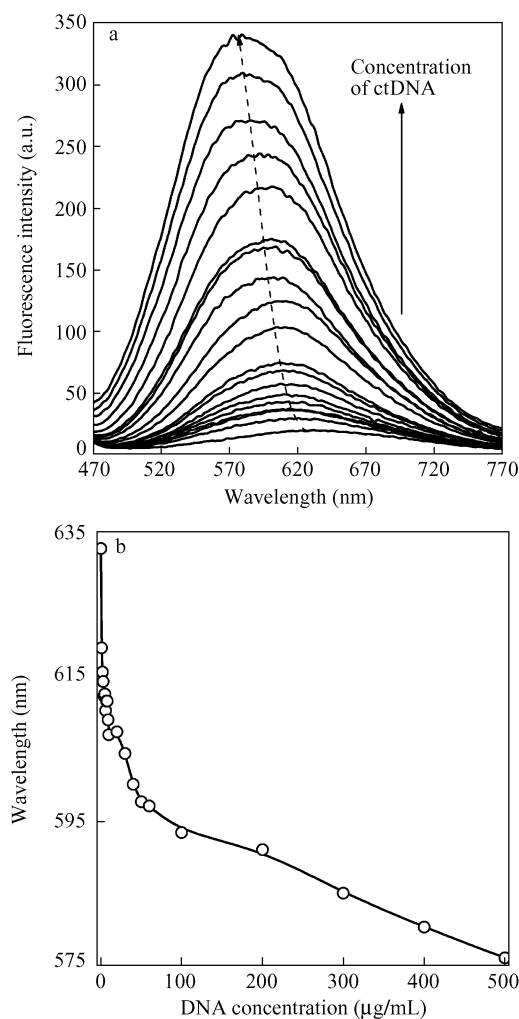


Fig. 3 (a) Variation of fluorescence spectra of TPEDPyMe in tris-HCl buffer solution with different DNA concentrations; (b) Changes in peak wavelength of the fluorescence spectra with the variation of DNA concentration

溶液的荧光强度的变化趋势见图 4(A),随

着 ctDNA 浓度的增加,溶液荧光强度的变化可以分为 2 个区间. 第 1 个区间位于 ctDNA 浓度从 0  $\mu\text{g/mL}$  到 50  $\mu\text{g/mL}$ , 荧光发射峰强度的变化较为剧烈; 第 2 个区间为 ctDNA 浓度从 50  $\mu\text{g/mL}$  到 500  $\mu\text{g/mL}$  之间, 荧光强度的变化减缓. 总体上, ctDNA 浓度为 500  $\mu\text{g/mL}$  的 TPEDPyMe 溶液的荧光强度相对于 0  $\mu\text{g/mL}$  的溶液增加了近 20 倍, 强的橙红荧光在紫外灯下也可以清楚地被观测到(图 4(A)插图).

荧光探针相对于检测物的灵敏度可以通过 Stern-Volmer 方程( $I/I_0 = K_{sv}[Q] + 1$ )来定量研究, 方程式中  $I$  是含有给定浓度检测物的溶液的荧光强度,  $I_0$  是不含检测物的溶液的荧光强度,  $[Q]$  是检测物的浓度,  $K_{sv}$  就是 Stern-Volmer 常数, 其数值越大, 说明这种荧光探针越灵敏. 对于

TPEDPyMe, 当 ctDNA 浓度在 0 ~ 50  $\mu\text{g/mL}$  区间时, 荧光强度同 ctDNA 浓度之间的线性相关因子为 0.9753, 呈良好的线性关系(图 4(B), 插图), 这给实施检测带来很大便利. 在该线性区间, 用 Stern-Volmer 计算得到的  $K_{sv}$  为  $1.4 \times 10^2$ . 相对于已报道的检测 DNA 浓度的 AIE 化合物, 这个  $K_{sv}$  值是较高的<sup>[15-19]</sup>. 值得注意的是, 在用 TPEDPyMe 作荧光探针检测 ctDNA 时, 不仅观测到明显的荧光增强, 而且同时观测到光谱的明显移动. 这意味着用 1 种荧光探针可以同时通过 2 个光谱指标对待检测物种进行分析鉴定, 相当于用 1 种生色团实现双荧光标记, 这一性能在生物检测中具有重要意义<sup>[21-23]</sup>. 目前, 有关机理的深入研究正在进行中.

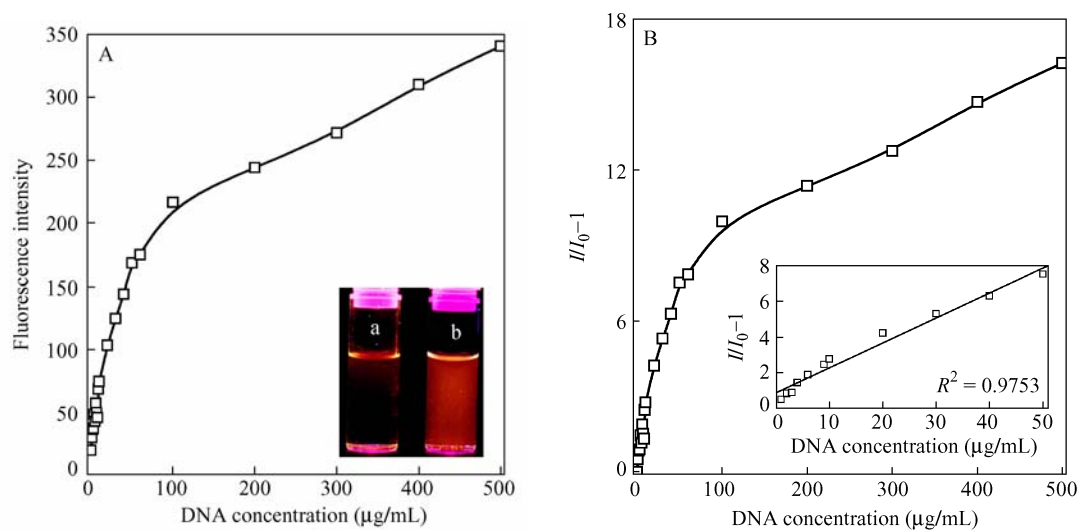


Fig. 4 (A) Variation of fluorescence intensity of TPEDPyMe with the concentration of ctDNA in tris-HCl buffer solution (excitation wavelength: 420 nm). The inset shows the fluorescence images of the buffer solutions containing 0  $\mu\text{g/mL}$  (a) and 50 ( $\mu\text{g/mL}$ ) (b) ctDNA; (B) Stern-Volmer plot according to the data in (A). The inset displays the linear relationship between  $I/I_0 - 1$  versus DNA concentration in the region from 0  $\mu\text{g/mL}$  to 50  $\mu\text{g/mL}$ .

### 3 结论

合成了带有吡啶盐基团的水溶性 TPE 衍生物 TPEDPyMe, TPEDPyMe 具有 AIE 性能. 将其用于 ctDNA 的检测时发现, 在 pH 值为 7.2 的 tris-HCl 缓冲溶液中, TPEDPyMe 的荧光强度随着

ctDNA 的浓度增大而增强, 同时光谱发生蓝移. 在 ctDNA 浓度为 0  $\mu\text{g/mL}$  到 50  $\mu\text{g/mL}$  区间, 荧光强度变化与 ctDNA 浓度呈良好的线性关系,  $K_{sv}$  常数达到  $1.4 \times 10^2$ . 这些研究结果表明 TPEDPyMe 可望具有 AIE 性能的高灵敏度的 DNA 荧光探针.

## REFERENCES

- 1 Garrett R H, Grisham C M. Biochemistry( 生物化学). 2<sup>nd</sup> ed( 第二版). Beijing( 北京): Senior Education Press( 高等教育出版社), 2002
- 2 Fan L J, Jones W E. J Phys Chem B, 2006, 110: 7777 ~ 7782
- 3 Ma G Y, Muller A M, Bardeen C J. Adv Mater, 2006, 18: 55 ~ 60
- 4 Nakayama S, Kelsey I, Wang J, Roelofs K, Stefane B, Luo Y, Lee V T, Sintim H O. J Am Chem Soc, 2011, 133: 4856 ~ 4864
- 5 Monsur Ali M, Aguirre S D, Lazim H, Li Y. Angew Chem Int Ed, 2011, 50: 3751 ~ 3754
- 6 Zhu Z, Yang C, Zhou X, Qin J. Chem Commun, 2011, 47: 3192 ~ 3194
- 7 Ruiz-Carretero A, Janssen P G A, Kaeser A, Schenning A P H J. Chem Commun, 2011, 47: 4340 ~ 4347
- 8 Huang Z, Pu F, Lin Y, Ren J, Qu X G. Chem Commun, 2011, 47: 3487 ~ 3489
- 9 Kashida H, Sekiguchi K, Asanuma H. Chem Eur J, 2010, 16: 11554 ~ 11557
- 10 Berndt S, Wagenknecht H-A. Angew Chem Int Ed, 2009, 48: 2418 ~ 2421
- 11 Niu S Y, Jiang Y, Zhang S S. Chem Commun, 2010, 46: 3089 ~ 3091
- 12 Kashida H, Sekiguchi K, Liang X G, Asanuma H. J Am Chem Soc, 2010, 132: 6223 ~ 6230
- 13 Vaya I, Gustavsson T, Miannay F-A, Douki T, Markovitsi D. J Am Chem Soc, 2010, 132: 11834 ~ 11835
- 14 Kikuchi K. Chem Soc Rev, 2010, 39: 2048 ~ 2053
- 15 Tong H, Hong Y, Dong Y Q, Häußler M, Lam J W Y, Li Z, Guo Z F, Guo Z H, Tang B Z. Chem Commun, 2006, 3705 ~ 3707
- 16 Hong Y, Xiong H, Lam J W Y, Häußler M, Liu J, Yu Y, Zhong Y, Sung H H Y, Williams I D, Wong K S, Tang B Z. Chem Eur J, 2010, 16: 1232 ~ 1245
- 17 Xu J-P, Song Z-G, Fang Y, Mei J, Jia L, Qin A J, Sun J Z, Ji J, Tang B Z. Analyst, 2010, 135: 3002 ~ 3007
- 18 Hong Y, Häußler M, Lam J W Y, Li Z, Sin K K, Dong Y Q, Tong H, Liu J, Qin A, Renneberg R, Tang B Z. Chem Eur J, 2008, 14: 6428 ~ 6437
- 19 Hong Y, Lam J W Y, Tang B Z. Chem Commun, 2009, 4332 ~ 4353
- 20 Jin J, Sun J, Dong Y, Xu H, Yuan W, Tang B Z. J Lumin, 2009, 129: 19 ~ 22
- 21 Shen Jinbo( 申进波), Tong Bin( 佟斌), Shi Jianbing( 石建兵), Sun Shu( 孙书), Zhi Junge( 支俊格), Dong Yuping( 董宇平). Acta Polymerica Sinica( 高分子学报), 2010, (6): 765 ~ 770
- 22 Yang Zhiyong( 杨志涌), Yu Tao( 于涛), Chen Meina( 陈美娜), Zhang Xiqi( 张锡奇), Wang Chengcheng( 王程程), Xu Jiabing( 许炳佳), Zhou Xie( 周颢), Liu Siwei( 刘四委), Zhang Yi( 张艺), Chi Zhenguo( 池振国), Xu Jiarui( 许家瑞). Acta Polymerica Sinica( 高分子学报), 2009, (6): 560 ~ 565
- 23 Hong Y, Feng C, Yu Y, Liu J, Lam J W Y, Luo K Q, Tang B Z. Anal Chem, 2010, 82: 7035 ~ 7043

## DETECTION OF ctDNA WITH WATER SOLUBLE TETRAPHENYLENE-BASED FLUORESCENCE PROBE

JIN Jiake<sup>1</sup>, CHEN Xiujuan<sup>1</sup>, LIU Yi<sup>1</sup>, QIN Anjun<sup>1</sup>, SUN Jingzhi<sup>1</sup>, TANG Benzong<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> Department of Polymer Science and Engineering, Institute of Biological & Biomedical Macromolecules,

MOE Key Laboratory of Macromolecular Synthesis and Functionalization, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

(<sup>2</sup> Department of Chemistry, The Hong Kong University of Science & Technology, Clear Water Bay, Kowloon, Hong Kong)

**Abstract** A water soluble cationic fluorescent probe (TPEDPyMe) was designed and synthesized by attaching two pyridinium moieties onto the tetraphenylethene (TPE) core. The molecular structure of TPEDPyMe was characterized by multiple spectroscopic techniques, and its fluorescence property was examined. As its maternal compound, TPEDPyMe exhibited typical aggregation-induced emission (AIE) behavior, and the emission peaked at around 630 nm in aqueous solution. TPEDPyMe was used as a fluorescent probe to detect ctDNA in tris-HCl buffer solution at a pH value of 7.2. It was found that the fluorescence intensity of the TPEDPyMe in the buffer solution was boosted up to 20 folds when the concentration of ctDNA increased from 0  $\mu\text{g/mL}$  to 500  $\mu\text{g/mL}$ . Meanwhile, the emission peaks blue-shifted from 627 nm to 576 nm. In the concentration region from 0  $\mu\text{g/mL}$  to 50  $\mu\text{g/mL}$ , the change in fluorescence intensity was linearly proportional to the concentration of ctDNA. In this region, the Stern-Volmer constant or  $K_{\text{SV}}$  was calculated to be  $1.4 \times 10^2$ , showing a desirable sensitivity of TPEDPyMe to ctDNA. Moreover, when the concentration of ctDNA increased from 0  $\mu\text{g/mL}$  to 500  $\mu\text{g/mL}$ , the emission peak shifted from 633 nm to 578 nm. This phenomenon implies that the TPEDPyMe can be used as a dual-responsive fluorescent label for probing ctDNA, which is of great significance in biosensor technologies. In summary, the present results indicate that TPEDPyMe is a promising fluorescent probe for the detection of DNA species and more detailed investigation is going on in the laboratory.

**Keywords** DNA detection, Aggregation-induced emission, Tetraphenylethene, Fluorescent probe