

文章编号:1673-1689(2010)06-0889-06

核酸适配体功能化金纳米探针识别-共振 光散射法检测腺苷

王周平^{1,2}, 段 诺^{1,2}, 彭晓丽^{1,2}, 乐国伟^{1,2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 将纳米探针技术、核酸适配体识别与共振光散射检测技术有机结合, 以腺苷为模式分析物, 通过均相体系中腺苷与其特异结合核酸适配体识别反应, 使形成网络聚集结构的金纳米结构解聚, 从而引起共振光散射信号强烈变化。基于此, 建立了核酸适配体识别的均相检测腺苷的新方法。该方法对腺苷检测的浓度线性范围为 $0.1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$, 检测限为 $0.04 \mu\text{mol/L}$ (3S/N)。该方法对腺苷的检测灵敏度高、选择性好, 鸟苷、胸苷、胞苷、尿苷等对检测不产生干扰。

关键词: 核酸适配体; 纳米探针; 共振光散射; 腺苷

中图分类号: TL 271.5

文献标识码: A

Resonance Light Scattering Detection of Adenosine Based on Aptamer Functionalized Nanogold Probe Recognition

WANG Zhou-ping^{1,2}, DUAN Nuo^{1,2}, PENG Xiao-li^{1,2}, LE Guo-wei^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Coupling nano-probe technology, aptamer recognition with resonance light scattering analysis, through recognizing reaction between adenosine and its specific aptamer in homogeneous matrix, causing the disaggregation of the aggregated network structure of adenosine specific aptamer functionalized nanogold structure, a sharply change on the resonance light scattering signal can be obtained. Based on it, a novel homogeneous aptamer recognizing based method for adenosine detection was established. The linear concentration range was $0.1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ for adenosine with a detection limit of $0.04 \mu\text{mol/L}$ (3S/N). The proposed method also shows good selectivity for adenosine detection and no interference from guanosine, thymidine, cytidine and uridine.

Key words: aptamer, nano-probes, resonance light scattering, adenosine

收稿日期: 2009-10-29

基金项目: 国家 863 计划项目(2008AA10Z419)、国家自然科学基金项目(20805019)、教育部博士点基金新教师计划项目(20070295014)、江苏省自然科学基金项目(BK20081603)。

作者简介: 王周平(1974—), 男, 陕西凤翔人, 理学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事食品营养与安全分析研究。

Email: wangzp@jiangnan.edu.cn

核酸适配体是指经过一种新的体外筛选技术—SELEX(指数富集配体系统进化),从随机单链寡聚核苷酸文库中得到的能特异结合蛋白或其他小分子物质的单链寡聚核苷酸,可以是RNA,也可以是DNA,长度一般为25~60个核苷酸^[1]。核酸适配体与抗体相比,具有易合成、易修饰、易固定、可反复使用和长期保存的优点,而且能够与目标分子高效、专一结合,因而核酸适配体生物传感器在蛋白质研究、药物检测、医学诊断等方面得到广泛应用^[2]。金纳米粒子由于具有良好的生物相容性而无毒副作用,近年来广泛应用于生物分析化学,在生物分子标记和检测、纳米生物传感器和纳米生物芯片等技术的开发和应用方面取得了重要的进展^[3-4]。尤其是将纳米金探针应用于特定序列核酸以及超痕量蛋白的测定,对于疾病的早期诊断具有重要的意义。

腺苷是一种内源性核苷,能参与血管神经舒张活动,具有抗心律失常的功效。因其中枢神经和周围神经系统信号表达中的重要作用,腺苷受到广泛关注^[5-6]。同时腺苷作为腺苷脱氨酶的作用底物,其含量变化也会间接反应腺苷脱氨酶的体内代谢水平,而腺苷脱氨酶活性的检测对于临床许多疾病的诊断都具有重要参考价值^[7]。因此发展腺苷的新型检测方法对于医学临床诊断及机体代谢水平具有重要意义。传统腺苷检测方法主要为HPLC或RP-HPLC法^[8-9],多结合紫外检测,灵敏度非常有限。自从1995年Huizenga等^[10]报道了腺苷特异性核酸适配体后,基于核酸适配体识别的腺苷新型检测方法迅速发展^[11-17]。近来,Liu等^[18]利用纳米金的聚集-分散显色效应的变化,建立了腺苷检测的快速比色传感器,先通过纳米金标记腺苷核酸适配体与相应的互补短链DNA形成纳米金的网络聚集结构,当捕获腺苷时聚集结构打破,溶液颜色发生变化。Elowe等^[19]则基于腺苷核酸适配体与腺苷的特异识别构建了测定腺苷脱氨酶的新型分析方法。Li等^[20]最近设计了一种新型腺苷核酸适配体,纳米金标记的两条适配体核苷酸链通过特异性的捕获识别腺苷形成网络聚集结构,随后通过其显色效应或共振光散射信号来定量腺苷,但灵敏度均较差。

共振光散射作为一种新型分析技术,因其灵敏度高、使用简便和应用面广而引起了人们的广泛关注,在物理化学、胶体化学和高分子化学研究中有十分重要的地位,并在生物分子分析中得到了研究和应用^[21-23]。研究表明^[24],纳米金的聚集程度与共

振光散射信号存在密切关系,纳米金颗粒越聚集共振光散射信号越强,纳米金颗粒越分散共振光散射信号越弱。Li等^[25]利用巯基化寡核苷酸功能化金纳米颗粒,通过与目标寡核苷酸序列互补杂交实现了纳米金聚集组装,然后测定共振光散射信号的大小实现了对特定序列DNA的均相快速检测。本文将纳米探针技术、核酸适配体识别与共振光散射检测技术有机结合,以腺苷为模式分析物,通过均相腺苷与其特异结合核酸适配体识别反应,使形成网络聚集结构的金纳米结构解聚,引起共振光散射信号强烈变化。基于此,建立了均相体系中核酸适配体识别的腺苷新型检测方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

氯金酸、柠檬酸三钠、重铬酸钾、浓硫酸、氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、三羟甲基氨基甲烷、盐酸、氯化镁均购自国药集团化学试剂有限公司,均为分析纯。腺苷、鸟苷、胞苷、胸苷、尿苷等均购自Sigma公司。腺苷核酸适配体及互补引物序列由上海生工合成:互补引物Ⅰ,AAAAAAAAAAAA-SH(探针1);互补引物Ⅱ,SH-CCCAGGTCAGTG(探针2);适配体探针,TTTTTTTTTTTCTACTGACCTGGGGGAGTATTGCGGAGGAAGGT(探针3)。

1.2 仪器

RF-5301PC荧光光谱仪为日本岛津公司产品,DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器购于巩义市予华仪器有限责任公司,台式高速冷冻离心机购于上海艾本德生物技术国际贸易有限公司,Tecnai G220高分辨透射电镜(TEM)为美国FEI公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 纳米金的制备 实验中金纳米粒子的制备方法由参考文献^[6]略加改动。为保证所制备纳米金的均一性和分散性,所有玻璃器皿均需经过严格处理:先用自来水流水冲洗干净,加入清洁液(重铬酸钾1000g,加入浓硫酸2500mL,加蒸馏水至10000mL)浸泡24h,然后每个玻璃器皿用洗洁剂洗3~4次,自来水冲洗洗洁剂,用蒸馏水洗3~4次,再用双蒸水洗3~4次,烘箱干燥。

将0.01%的HAuCl₄溶液100mL加热至沸腾,迅速加入10mL1%柠檬酸三钠水溶液,溶液开始有些蓝色,然后浅蓝、蓝色,再加热出现红色,煮沸10min出现透明的橙红色,停止加热,冷却备用。

1.3.2 适配体探针修饰的纳米金 6 nmol/L 的适配体探针 1 或 2 加入 1 mL 上面制备的纳米金溶液室温下培养 24 h。溶液用含 0.1 mol/L NaCl 的 10 mmol/L 磷酸缓冲液调 pH 值至 7.0 后室温下再培养 48 h。为了去除未起作用的适配体探针,将溶液于 -5°C , 12 000 r/min 离心 15 min, 弃掉悬浮层。类似红油的沉淀分散于 1 mL 含 0.1 mol/L NaCl 的 10 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.0)。同样条件下重复离心 1 次, 沉淀 2 次分散于 10 mL 含 0.3 mol/L NaCl 的 10 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.0)作为储备液。

1.3.3 腺苷的定量检测

1) 核酸适配体识别反应操作步骤 配制检测用 1 号缓冲液: 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.8) 含 100 mmol/L NaCl 和 5 mmol/L MgCl_2 。

① 将纳米金标记探针 1、探针 2 与探针 3 各用 1 号缓冲液稀释至 10 mL;

② 将稀释好的纳米金标记探针 1、探针 2 与探针 3 在烧杯中混匀, 70°C 反应 5 min; 然后分到玻璃管中, 每管 1 mL, 共 10 管, 编号。分别加入 300 μL 系列浓度的腺苷, 常温反应 30 min, 待测。

2) 共振光散射定量检测腺苷

共振光散射图谱通过 RF-5301PC 荧光光谱仪扫描同步激发和放射波长($\lambda_{\text{EX}} = \lambda_{\text{EM}}$) 200 至 700 nm 获得, 腺苷定量检测对应的共振光散射强度在波长 340 nm 处得到。

3) 特异选择性检测

本实验同时对一定浓度(0.6 $\mu\text{mol/L}$) 的腺苷、鸟苷、胞苷、尿苷与适配体的选择性结合进行了检测。比较得到的共振光散射强度, 以证明适配体的特异选择性结合特点。

4) 样品测定

取新鲜健康人静脉血样 5 mL, 静置使腺苷被细胞摄取、灭活完全, 在 3 500 r/min 的转速下离心 5 min, 取上清, 得空白血浆。将所得空白血浆均分, 分别加入不同浓度标准腺苷溶液(以浓度 0 为对照), 冰浴下匀浆, 4°C 、12 000 r/min 冷冻离心 10 min, 取上清液过滤后的滤液作为供试品溶液, 按照 1.3.3.1) 部分操作测定腺苷含量。

2 结果与分析

如图 1^[18] 所示, 通过腺苷特异结合核酸适配体与特定序列引物的互补杂交, 生物功能化的纳米金聚集形成网络结构, 此时对应的共振光散射信号最

强; 当加入目标分析物腺苷时, 腺苷与其特异核酸适配体结合, 原有部分结合的 DNA 双链结构解链, 导致网络聚集金纳米结构解聚, 使得共振光散射信号减弱。

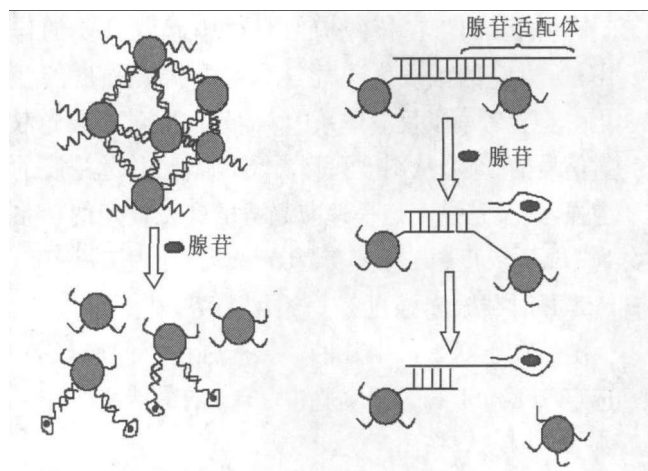


图 1 腺苷核酸适配体识别反应流程图

Fig. 1 Recognition reaction between adenosine and its aptamer

2.1 核酸适配体-腺苷识别反应前后纳米金 TEM 表征

图 2 为根据实验方法制备的金纳米粒子 TEM 照片。图 3 显示探针 1 和 2 分别功能化金纳米粒子与适配体探针 3 杂交互补后组装形成纳米金网络聚集结构的 TEM 图片, 对应的共振光散射信号最大。图 4 为添加腺苷以后纳米金网络聚集结构部分解聚的 TEM 图片, 表明腺苷的加入可以有效打破已经 DNA 杂交组装形成的纳米金网络聚集结构, 使得共振光散射信号减小。

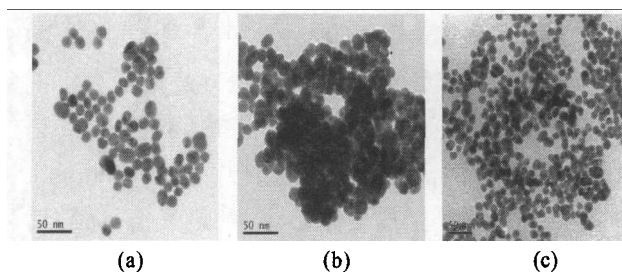


图 2 所制备纳米金(a)、通过核酸适配体 DNA 杂交互补形成网络聚集结构的纳米金(b)和加入腺苷后部分解聚的纳米金网络聚集结构(c) TEM 照片

Fig. 2 TEM image of the as-prepared gold nanoparticles (a), network-aggregated gold nanoparticles after aptamer DNA hybridization (b) and network-aggregated gold nanoparticles after adding adenosine (c)

2.2 核酸探针浓度的优化

控制腺苷浓度为 0.5 $\mu\text{mol/L}$, 实验考察了探针 1、2、3 浓度在 0.1~10 nmol/L 范围内变化时对所建立体系检测腺苷的影响。研究发现, 当三者浓度

均控制在 6 nmol/L 左右时,目标物质引起共振光散射强度相对于空白对照变化均较大,因此后续试验中选用探针 1、2、3 浓度均为 6 nmol/L。

2.3 NaCl、MgCl₂ 浓度的优化

由于 NaCl 在核酸构像变化中起着重要的作用,所以它的浓度大小能够影响共振光强度的变化。实验考察了反应体系中 NaCl 浓度对共振光散射信号的影响,从图 3 可以看出,随着 NaCl 浓度的增强,共振光强度是呈递减趋势的。在设定的一系列 NaCl 浓度:0.01~0.20 mol/L 中,0.01~0.1 mol/L 时共振光强度是呈递增趋势,达到最大值,而随后大于 0.1 mol/L 的共振光强度呈递减趋势,选定 0.1 mol/L 为此实验中 NaCl 的最佳浓度。

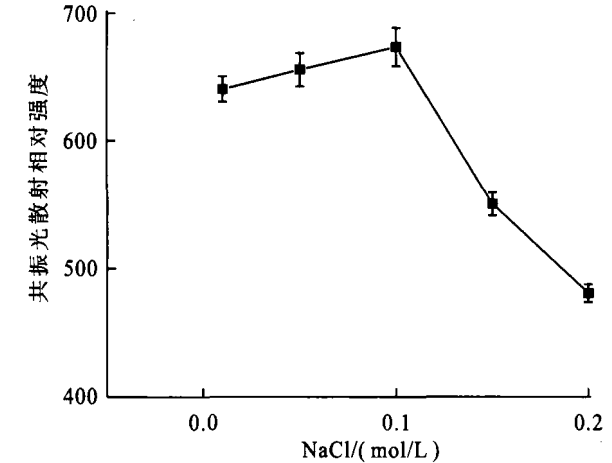


图 3 NaCl 浓度对共振光散射强度的影响

Fig. 3 Effect of the NaCl concentration on the RLS intensity

整体上与 NaCl 类似,随着 MgCl₂ 浓度的增强,共振光强度呈递减趋势(图 4)。由于 MgCl₂ 在核酸构像变化中起着重要的作用,所以它的浓度大小能够影响共振光强度的变化。在设定的一系列 MgCl₂ 浓度:1,3,5,7,9 mmol/L 中,1~5 mmol/L 时共振光强度是呈递增趋势,达到最大值,而随后大于 5 mmol/L 的共振光强度呈递减趋势,因此选定 5 mmol/L 为此实验中 MgCl₂ 的最佳浓度。

2.4 反应温度和反应时间的选择

反应温度对于纳米金网络聚集结构的形成有重要影响。控制一定的反应时间,实验考查了 20~90℃ 温度范围内聚集体形成过程中共振光散射强度变化情况。结果表明,随着反应温度从 20~70℃ 不断升高,组装后的纳米金网络聚集结构共振光散射强度不断增大,但当温度超过 70℃ 时,共振光散射强度增加不明显。因此实验选择 70℃ 作为最佳反应温度用于后续实验。同时优化了 70℃ 时的反应时间,发现在其它条件选定的情况下,5 min 时纳米金网络聚集结构共振光散射强度基本趋于稳

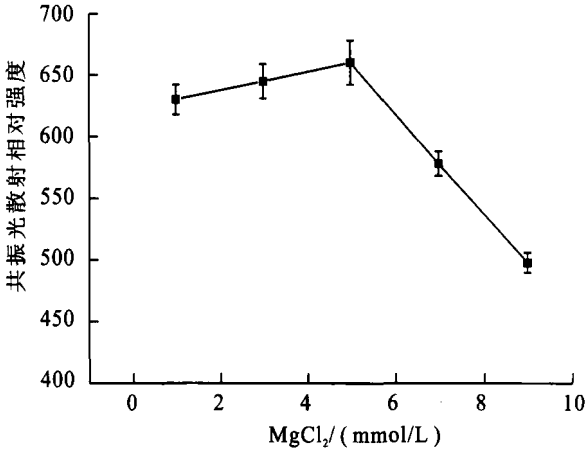


图 4 MgCl₂ 浓度对共振光散射强度的影响

Fig. 4 Effect of the MgCl₂ concentration on the RLS intensity

定,因此选择反应 5 min 作为最佳反应时间。

适宜的孵育温度和时间对于目标物质加入后适配体构像变化、捕获目标物质速度、金标短链 DNA 解聚同样有着重要影响。实验同样对这两个参数进行了优化,结果发现常温(约 25℃)下孵育反应 30 min 即可达到最佳效果。

2.5 腺苷的定量检测

由于腺苷特异核酸适配体能与腺苷特异结合,从而导致引物 2 与适配体结合部分解链,使得引物 2 功能化纳米金脱离原网络聚集结构,原适配体探针 3 与引物 1、2 形成的网络结构被打破。由图 5 可以看出,未加入腺苷时,纳米金网络结构保持不变,共振光散射信号最大;加入腺苷后,纳米金网络聚集结构被打破,引起共振光散射信号减小。随着腺苷浓度的不断增加,体系的共振光散射强度越来越小。

在实验选定的最优反应条件下,考察了共振光散射强度与腺苷浓度之间的相互关系。结果显示(图 5),腺苷浓度在 0.1~10 μmol/L 之间与共振光强度呈非常好的线性关系(340 nm 处),线性方程为 $I_{RLS} = -46.61c + 850.97$,相关系数 r 为 0.999 2,检出限为 0.04 μmol/L。用该方法平行测定浓度为 1 μmol/L 的腺苷样品 11 次,其相对标准偏差为 3.8%。24 h 后共振光散射信号并无衰减,说明用该方法检测腺苷具有很强的稳定性。图 6 为典型的

2.6 方法的选择性

根据对照实验结果(表 1),当检测体系加入相同浓度的腺苷、鸟苷、胞苷、胸苷和尿苷时,共振光散射强度变化有明显区别。鸟苷、胞苷、胸苷和尿苷加入时共振光散射强度相对于空白对照没有明显差异,表明体系不能识别这两种物质,形成的纳

米金网络结构组装体没有解聚,共振光散射信号因此没有变化。而腺苷的加入可以引起共振光散射信号的显著减小,表明该检测体系可以特异性的识别腺苷,整个检测体系具有良好的选择性。

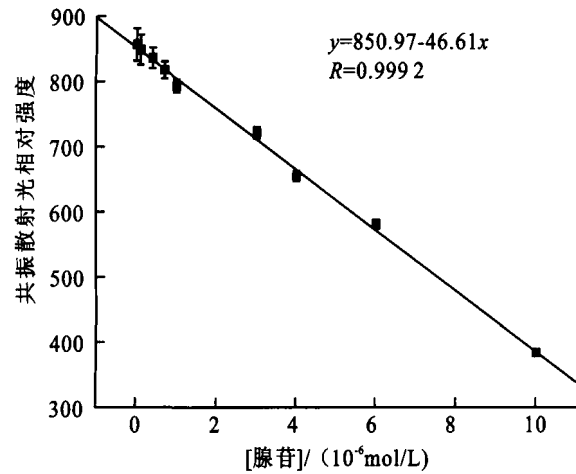


图 5 不同浓度腺苷共振光散射强度响应曲线
Fig. 5 Calibration curve of different concentrations a-
denosine versus RLS intensity

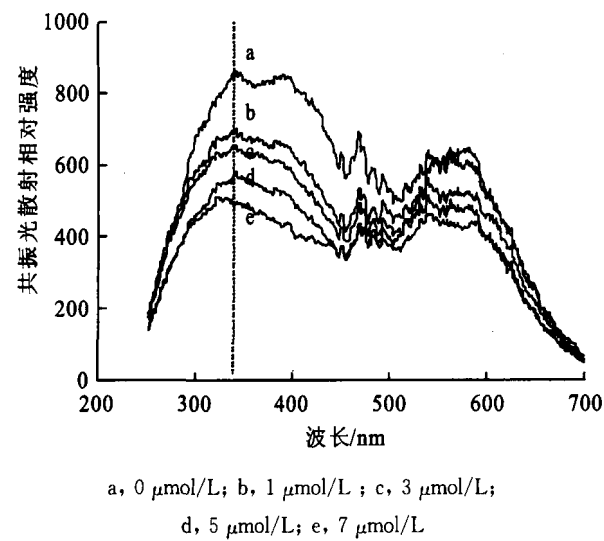


图 6 不同浓度腺苷测定的共振光散射响应图谱
Fig. 6 RLS spectra of adenosine with different concen-
trations

表 1 不同物质对所建立方法的响应
Tab. 1 Response of different substances to the proposed RLS
method

分析物	散射光相对强度
空白对照	852.66±18.35
腺苷	583.47±22.03
鸟苷	848.33±26.88
胸苷	840.25±35.50
胞苷	843.47±32.03
尿苷	845.33±21.36

2.7 样品分析

根据实验部分处理健康人血样,进行标准腺苷溶液加入回收实验,测定回收率,结果如表 2 所示。标准腺苷从浓度 0.3μM 到 5μM,回收率在 88.00~94.40%之间,表明所建立方法可以用于血样中腺苷的定量检测。

表 2 血样中腺苷的标准回收实验数据
Tab. 2 Recovery of standard adenosine in spiked human plas-
ma samples

添加浓度/ (μmol/L)	检出浓度/(μmol/L) (mean ± SD) (n=3)	回收率/(%)
0.50	0.44 ± 0.13	88.00
0.70	0.65 ± 0.18	92.86
1.00	0.88 ± 0.28	88.00
3.00	2.66 ± 0.45	88.67
5.00	4.72 ± 0.75	94.40

3 结 语

以腺苷特异结合核酸适配体功能化金纳米粒子构建新型纳米探针,结合均相共振光散射技术,建立了基于核酸适配体功能化金纳米粒子识别-共振光散射检测技术的腺苷新型均相检测方法。所建立方法对腺苷检测的浓度线性范围为 0.1~10 μmol/L,检测限为 0.04 μmol/L。所建立方法具有良好的选择性。

参考文献(References):

[1] Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. *Nature*, 1990, 346, 818—822.

[2] Liss M, Petersen B, Wolf H, Prohaska E. An aptamer-based quartzcrystal protein biosensor [J]. *Anal. Chem.* 2002, 74, 4488—4495.

[3] 李井泉, 毛秀君, 王周平, et al. 纳米金标记黄曲霉毒素 B1 新型检测方法研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2009, 25(5): 675—681.

LI Jin-Quan, MAO Xiu-jun, WANG Zhuo-pin, et al. Nanogold labeling based novel detection method for aflatoxin B1[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2009, 25(5): 675—681. (in Chinese)

[4] 包华, 贾春平, 周忠良, 等. 基于纳米金探针和基因芯片的 DNA 检测新方法[J]. *化学学报*, 2009, 67, 2144—2148.

- BAO Hua, JIA Chun-pin, ZHOU Zhong-liang, et al. A novel DNA detection method based on gold nanoparticle probes and gene chips[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2009, 67, 2144—2148.
- [5] Phillis JW. Cerebrovasc. Adenosine in the control of the cerebral circulation[J]. *Brain Metab. Rev.* 1989, 1, 26—54.
- [6] Dunwiddie TV, Masino SA. The role and regulation of adenosine in the central nervous system [J]. *Annu. Rev. Neurosci.* 2001, 24: 31—55.
- [7] 石鹏辉, 李伟民, 李永勤. 慢性肝病患者血清腺苷脱氨酶测定的临床意义[J]. 检验医学, 2009, 24, 428.
- SHI Pen-hun, LI Wei-min, LI Yong-qin. The clinical significance of serum adenosine deaminase determination in chronic hepatitis B patients [J]. *Laboratory Medicine*, 2009, 24, 428—430. (in Chinese)
- [8] 刘佳, 陈晓辉, 钱忠直. RP-HPLC 法测定藤三七不同部位中腺苷的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26: 724.
- LIU Jia, CHEN Xiao-yun, QIAN Zhang-zhi. Content determination of adenosine in different parts of *Boussingaultia gracilis* Miars var. *pseudobaselloides* Bailey by RP-HPLC [J]. *J. Shenyang Pharmaceutical University*. 2009, 26, 724—726. (in Chinese)
- [9] 林凌云, 冯飞, 许崇涛. 高效液相色谱法测定大鼠脑组织中腺苷与肌苷的含量[J]. 医药导报, 2009, 28, 833—838.
- LIN Ling-yun, FENG Fei, XU Cong-tao. Determination of adenosine and inosine in Rat Brain tissues by high performance liquid chromatography[J]. *Herald of Medicine*, 2009, 28, 833—838. (in Chinese)
- [10] Huizenga DE, Szostak JW. A DNA aptamer that binds adenosine and ATP[J]. *Biochemistry* 1995. 34, 656.
- [11] Yan X, Cao Z, Kai M, et al. Label-free aptamer-based chemiluminescence detection of adenosine[J]. *Talanta* 2009, 79, 383—394.
- [12] Zhang S, Xia J, Li X. Electrochemical biosensor for detection of adenosine based on structure-switching aptamer and amplification with reporter probe DNA modified au nanoparticles [J]. *Anal. Chem.* 2008, 80, 8382—8388.
- [13] Kim J, Kim IY, Choi MS, et al. Label-free electrochemical detection of adenosine based on electron transfer from guanine bases in an adenosine-sensitive aptamer [J]. *Chem. Commun.* 2009, 4747—4749.
- [14] Feng K, Sun C, Kang Y, et al. Label-free electrochemical detection of nanomolar adenosine based on target-induced aptamer displacement [J]. *Electrochem. Comm.* 2008, 10, 531—535.
- [15] Wang J, Wang F, Dong S. Methylene blue as an indicator for sensitive electrochemical detection of adenosine based on aptamer switch [J]. *J. Electroanal. Chem.* 2009, 626, 1—5.
- [16] Chen JW, Liu XP, Feng KJ, et al. Detection of adenosine using surface-enhanced Raman scattering based on structure-switching signaling aptamer [J]. *Biosens. Bioelectr.* 2008, 24, 66—71.
- [17] Rupcich N, Nutiu R, Li Y, et al. Solid-phase enzyme activity assay utilizing an entrapped fluorescence-signaling DNA aptamer [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 3295.
- [18] Liu J, Lu Yi. Fast colorimetric sensing of adenosine and cocaine based on a general sensor design involving aptamers and nanoparticles[J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 90—94.
- [19] Elowe NH, Nutiu R, Allali-Hassani A, et al. Small-molecule screening made simple for a difficult target with a signaling nucleic acid aptamer that reports on deaminase activity [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 5648.
- [20] Li F, Zhang J, Cao X, et al. Adenosine detection by using gold nanoparticles and designed aptamer sequences [J]. *Analyst*, 2009, 134, 1355—1360.
- [21] Huang CZ, Li KA, Tong SY Determination of nucleic acids by a resonance light-scattering technique with alpha, beta, gamma, delta-tetrakis (4-(trimethylammonium)phenyl)porphine [J]. *Anal. Chem.*, 1996, 68, 2259—2263.
- [22] Huang CZ, Li KA, Tong SY Determination of nanograms of nucleic acids by their enhancement effect on the resonance light scattering of the cobalt(II)/4-((5-chloro-2-pyridyl)azo)-1,3-diaminobenzene complex [J]. *Anal. Chem.* 1997, 69, 514—520.
- [23] 鲁群岷, 刘忠芳, 刘绍璞. 金纳米微粒作探针共振瑞利散射法测定某些蒽环类抗癌药物[J]. 化学学报, 2007, 65, 821—828.
- LU QM, LIU ZF, LIU SP. Resonance rayleigh scattering method for the determination of some anthracycline anticancer drugs with gold nanoparticle as probe [J]. *Acta Chimica Sinica* 2007, 65: 821—828. (in Chinese)
- [24] Li ZP, Duan XR, Liu CH. Selective determination of cysteine by resonance light scattering technique based on self-assembly of gold nanoparticles [J]. *Anal. Biochem.* 2006, 35, 18—25.
- [25] Du BA, Li ZP, Liu CH. One-step homogeneous detection of DNA hybridization with gold nanoparticle probes by using a linear light-scattering technique [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 4—5, 8022—8025. (责任编辑:杨萌)