

# 基于探针内嵌超分子囊泡的半胱氨酸 荧光传感

王月敏, 李顺华\*

(厦门大学化学化工学院, 谱学分析与仪器教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 高结构相似度同系物中特定化合物的检测往往需要复杂的分析流程, 采用模块化组装的策略制备了一类嵌含光学分子探针的超分子囊泡, 在此基础上建立了一种集分离与检测功能为一体的新荧光传感模式, 提供了解决该问题的一种新思路。将生物硫醇的广普性探针四氟对苯二甲腈嵌入由四(戊硫代)四硫富瓦烯与十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷构成的超分子囊泡膜层后, 囊泡对半胱氨酸展现出高选择性、宽动态范围的荧光响应, 实现了半胱氨酸的便捷、灵敏检测。由四烷基四硫富瓦烯和表面活性剂共组装形成的空白囊泡制备简单、光谱背景吸收低, 可作为构建此类荧光传感体系的通用底版, 为这种新传感模式的推广提供有力的支撑。

**关键词:** 囊泡; 荧光探针; 分子自组装; 半胱氨酸

**中图分类号:** O 657.39      **文献标志码:** A

含巯基氨基酸/肽是一类重要的生理活性小分子。其中, 半胱氨酸 (Cys)、高半胱氨酸 (Hcy) 及谷胱甘肽 (GSH) 是典型的生命体内小分子硫醇, 而青霉胺 (Pen) 则是生理活性和药理作用广受关注的一种外源性含巯基氨基酸。很多疾病的发生与人体内含巯基氨基酸水平的异常有关, 如 Cys 的异常会导致肝损伤和生长缓慢等<sup>[1-2]</sup>, Hcy 的异常会导致阿尔兹海默症和心血管疾病等<sup>[2-3]</sup>, 而 GSH 的异常则会导致溶血性贫血和肝病等<sup>[4]</sup>, 危害人体健康。

荧光探针是探测生命分子过程的重要工具, 目前已有许多含巯基氨基酸的荧光探针被报道<sup>[5-14]</sup>; 然而, 由于含巯基氨基酸的分子结构和反应活性的相似性, 不同化合物之间往往存在严重的光谱串扰, 设计针对某种含巯基氨基酸的特效荧光探针仍面临较大的挑战。以 Cys 的荧光传感为例, 目前仅有少数基于丙烯酰基保护酚类荧光团的脱保护反应<sup>[15-18]</sup>或 Cu(II)

**收稿日期:** 2019-01-22      **录用日期:** 2019-03-13

**基金项目:** 国家自然科学基金 (21775129, 21475111)

**\*通信作者:** lishua@xmu.edu.cn

配合物的配位取代反应<sup>[19]</sup>的分子探针可较好规避 Hcy 和 GSH 的干扰，而不受 Pen 干扰的 Cys 光学分子探针则尚未见报道。从本文中提出了一种简单而普适的提高分子探针选择性的策略：将探针嵌于囊泡的夹层，利用囊泡膜层的分离功能实现同系物中特定化合物的高选择性检测。为此，选择了一种结构简单、已被证实对不同硫醇均有响应的荧光分子探针——四氟对苯二甲腈（4F-2CN）<sup>[14]</sup>，构建了一种新型的探针内嵌超分子囊泡，藉以实现含巯基氨基酸同系物中 Cys 的高选择性荧光传感。

含有染料夹层的超分子囊泡通常可由带有两亲侧链的染料衍生物自组装而制得<sup>[20-22]</sup>。为了便于在囊泡夹层中嵌入荧光探针，本文中采用“模块化”组装的策略，通过四（戊硫代）四硫富瓦烯（TPT-TTF）、表面活性剂和脂溶性光学分子探针的共组装制备嵌含探针的超分子囊泡，其亚单元结构如图 1 所示。这种组装方法无需复杂、繁琐的合成过程，且各种亚单元的种类和比例灵活可调，易于性能优化；更重要的是，它提供了一种构建探针内嵌超分子囊泡的通用方法：由 TPT-TTF 和表面活性剂组装而得的超分子囊泡相当于一个空白模板，可在其膜层中掺入不同种类、不同浓度的光学分子探针而实现不同的传感目的。将探针分子嵌于囊泡膜层中后，探针与待测化合物的反应动力学得以改进，可望获得分析性能的革新：其一，待测化合物在浓度差驱动下由外水相向内水相定向扩散途中为密集的认识基团所捕获，这种局部浓度极高的定域反应使其反应效率得到极大地提高，利于获得快速、灵敏的光谱响应；其二，囊泡膜层的分离效应为提高光谱响应的选择性和传感体系的抗干扰能力提供了极为有利的条件。此外，这种新传感模式也可有效解决亲脂性分子探针难以在水溶液中进行分析应用的问题。

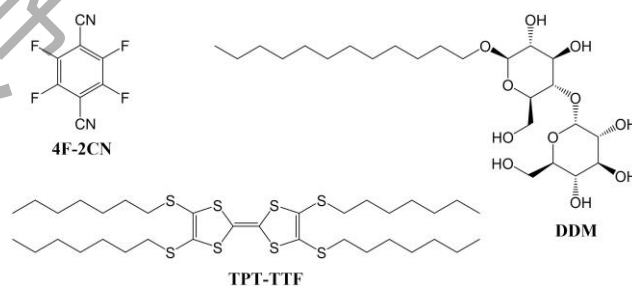


图 1 构成应激响应囊泡的亚单元结构

Fig.1 Structure of the subunits utilized to assemble the sensory vesicles

# 1 实验部分

## 1.1 试剂和仪器

十二烷基- $\beta$ -D-麦芽糖苷 (DDM) 购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 四氟对苯二腈购自上海阿拉丁生化科技有限公司; TPT-TTF、D-Cys、L-Cys、D,L-Hcy、D-Pen、L-Pen、GSH、十二烷基磺酸钠 (SDS) 等购自百灵威科技有限公司; 碳酸钠、碳酸氢钠、四氢呋喃等购自国药集团化学试剂有限公司; 除特别说明外, 试剂未经特别处理, 纯度均为分析纯; 实验用水为娃哈哈纯净水。

Hitachi U-3900 紫外可见分光光度计; Hitachi F-7000 荧光分光光度计; Malvern Zetasizer Nano-zsMPT-2 动态光散射光谱仪; Tecnai G2 Spirit BioTwin 透射电子显微镜。

## 1.2 囊泡的组装及其形貌测试样品的制备

将 TPT-TTF 与 4F-2CN 分别溶于四氢呋喃中, 将 DDM 或其他表面活性剂溶于水中, 3 种亚单元均配制成浓度为 1.00 mmol/L 的储备液, 然后按 1:1:4 的摩尔比将三者混合, 超声 3 min, 旋转蒸发除去四氢呋喃, 再于 30 °C 水浴中搅拌 36 h 可得囊泡水溶液。定容, 配制成 TPT-TTF 初始浓度为 50  $\mu$ mol/L 的囊泡储备液备用, 光谱测试时根据需要将其稀释。如无特别说明, 用于组装囊泡的表面活性剂均为 DDM。

透射电镜测试样品的制备: 取 10  $\mu$ L 上述囊泡储备液滴加到铜网上, 自然风干, 再取适量 2% (质量分数) 磷钨酸溶液滴加到负载囊泡样品的铜网上, 滤纸吸去多余溶液, 反复 3 次, 晾干后进行透射电镜显微成像。

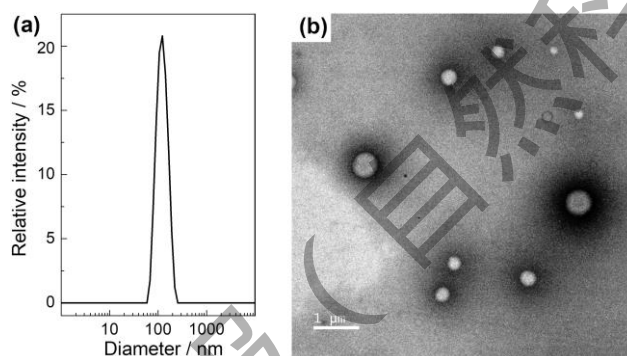
测试样品的制备: 取 1mL 上述囊泡储备液于 5 mL 刻度试管中, 根据需要, 加入 0.5mL 不同的 pH 缓冲溶液, 定容, 常温静置 30 min 后进行动态光散射 (DLS) 测试。

# 2 结果与讨论

## 2.1 囊泡的形貌表征

当亚单元的浓度达到  $10^{-5}$ mol/L 水平时, 在中性或偏碱性的水溶液中, 可以形成性质较为稳定的囊泡。以 TPT-TTF、4F-2CN 和 DDM 按摩尔比 1:1:4 共组装的体系为例, 在 pH 8.8

的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液中, DLS 实验测得其成囊的临界浓度(以 TPT-TTF 初始浓度计)为  $0.3 \mu\text{mol/L}$ 。与纯表面活性剂形成的囊泡相比, 其成囊的临界浓度显著降低, 这主要归功于 TPT-TTF 中四硫富瓦烯 (TTF) 的叠堆作用对自组装过程的促进和对自组装体的稳定化。pH 8.8、TPT-TTF 浓度为  $10 \mu\text{mol/L}$  时, DLS 实验测得囊泡的平均粒径约为  $120 \text{ nm}$ , 粒径分散度较小 (图 2(a)); 负染透射电镜成像则表明囊泡的粒径达到  $300 \sim 500 \text{ nm}$  (图 2(b)), 明显大于 DLS 的测算结果, 其主要原因如下: 1) 在透射电镜下观测的是脱溶剂化的样品, 而溶剂是维持该类囊泡结构的重要条件, 随着溶剂的蒸发, 囊泡逐渐塌陷, 导致粒径明显变大; 2) 负染剂磷钨酸的加入导致囊泡体系的 pH 减小, 自组装体的结构变得松散, 粒径变大。研究表明, 将 DDM 换成 SDS 等其他表面活性剂也可制备形貌相似的囊泡; 需要注意的是, 两亲分子中的脂链长度对囊泡的稳定性有着较大的影响。



介质条件: pH 8.8 的碳酸钠-碳酸氢钠 ( $20 \text{ mmol/L}$ ) 缓冲溶液; 负染剂: 2% (质量分数) 磷钨酸 (pH 6.5)。

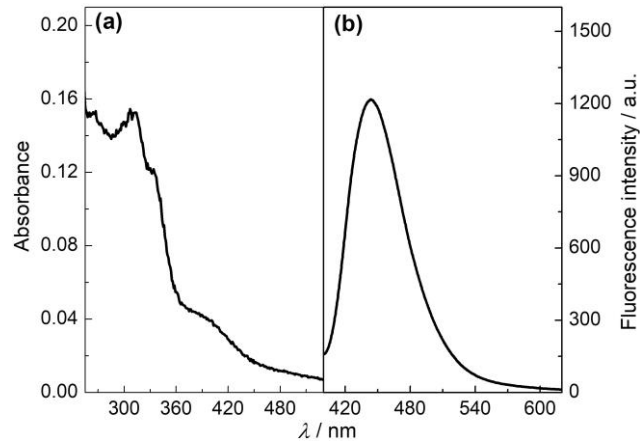
图 2 自组装体系的 DLS 测试 (a) 和负染透射电镜成像 (b)

Fig. 2 DLS test (a) and negatively stained TEM images (b) of the co-assemblies

## 2.2 囊泡的光谱性质

囊泡水溶液的吸收光谱和荧光光谱如图 3 所示。4F-2CN 的最低能量吸收带位于  $370 \text{ nm}$  附近; TPT-TTF 在可见光区无明显的吸收信号 (图 3 (a)), 预示着由 TPT-TTF 和表面活性剂构成的超分子囊泡可作为低光谱背景的空白模板, 便于通过染料掺杂对其进行针对性的光功能化。激发波长为  $370 \text{ nm}$  时, 囊泡体系于  $443 \text{ nm}$  处出现较强的 4F-2CN 荧光发射峰 (图 3 (b)); 在中性或偏碱性水溶液中, 该囊泡体系均显示出明显的荧光各向异性, 说明脂溶性的 4F-2CN 分子主要位于囊泡膜层中。上述现象体现的均为单体的光谱性质, 未观察到 TTF (电子给体) 与 4F-2CN (电子受体) 的电子给体-受体作用光谱信号, 无法确认探针分

子是否被固定于由生色团叠堆形成的中间夹层。



4F-2CN 10  $\mu\text{mol/L}$ ; 介质条件: pH 8.8 的碳酸钠-碳酸氢钠 (20 mmol/L) 缓冲溶液; 激发波长: 370 nm。

图 3 囊泡的吸收光谱 (a) 和荧光发射光谱 (b)

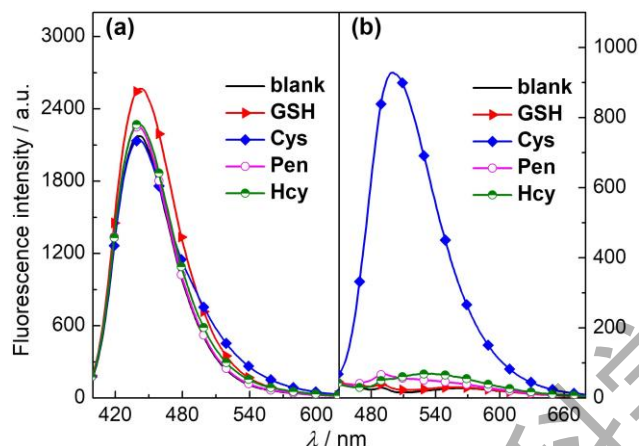
Fig. 3 Absorption (a) and fluorescence (b) spectra of the sensory vesicles

### 2.3 囊泡对含巯基氨基酸的光谱响应

含巯基化合物均易与 4F-2CN 发生亲核取代反应而诱发荧光响应, 反应产物的光谱红移。嵌含 4F-2CN 的囊泡对不同含巯基氨基酸的荧光光谱响应如图 4 所示。加入 Cys 后, 体系的荧光光谱发生明显的变化: 370 nm 激发时, 除了 443 nm 处的主发射带, 500 nm 处出现肩峰, 说明有新的化合物生成; 反应产物的荧光最大激发波长和发射波长分别为 420 和 500 nm。根据文献<sup>[14]</sup>, 此时生成的是巯基和氨基协同取代的产物。加入其他含巯基氨基酸后, 囊泡溶液的荧光发射光谱形状并未发生变化, GSH、Hcy 或 Pen 的加入只是使 443 nm 处的发射信号略有增强, 其原因是: 这些氨基酸可与囊泡的亲水基(糖)发生氢键作用而引起囊泡膜结构的微调, 4F-2CN 的化学微环境因而发生变化。与此解释相符, GSH 因分子体积最大、氢键活性位点最多而信号增强最大。经过 GSH、Hcy 或 Pen 刺激后, 均未发现有新的荧光生成, 说明它们均被囊泡膜层拦截而无法与膜层中的 4F-2CN 发生反应。

本文中所构建的探针内嵌超分子囊泡为探针分子与待测物分子的相互作用提供了一种特殊的动力学环境: 往传感体系中加入刺激物时, 由于内、外水相的浓度差, 存在刺激物从外水相向内水相的定向扩散趋势, 但由于不同化合物的穿膜扩散能力有差异, 它们将在与探针作用前得以分离。因此, 这种基于探针内嵌超分子囊泡的传感体系兼具分离与光学检测的功能, 为高结构相似度化合物的选择性检测提供了新的解决方案。在本文中, 本来对含巯基

氨基酸均有响应的广普性分子探针 4F-2CN 可从含巯基氨基酸同系物中高选择性地识别 Cys，有力地证明了这一点。



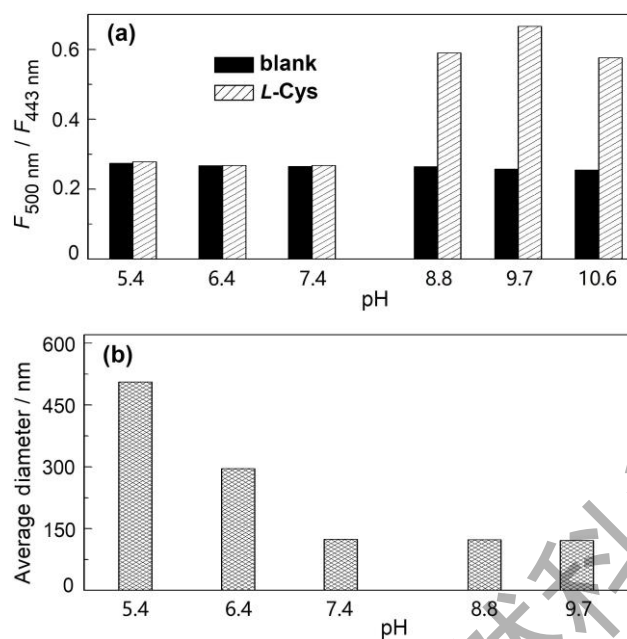
4F-2CN 浓度 10  $\mu\text{mol/L}$  氨基酸浓度 40  $\mu\text{mol/L}$ ；介质条件：pH 8.8 的碳酸钠-碳酸氢钠（20 mmol/L）缓冲溶液；激发波长：(a) 370 nm；(b) 420 nm。

图 4 囊泡对不同巯基氨基酸的荧光光谱响应

Fig. 4 Fluorescence responses of the sensory vesicles towards different sulfhydryl-containing amino acids

## 2.4 pH 对囊泡光谱响应性能的影响

不同 pH 条件下囊泡对 L-Cys 的荧光响应如图 5(a)所示。在酸性或近中性(pH 低于 8.0)水溶液中，L-Cys 的加入并未引起明显的光谱变化；而在碱性条件下则可以观察到明显的光谱响应。含巯基氨基酸分子中含有 3 个质子活性基团，其穿膜扩散能力和亲核取代反应活性均与 pH 有关；从 Cys 光谱响应的 pH 效应分析，只有巯基去质子化后 Cys 才能与囊泡膜层中的 4F-2CN 反应。pH 为 5.4，6.4 或 7.4 时，Cys 以电中性的型体存在，其穿膜扩散能力最强，却未能引起光谱响应，这可能是由于：1) 酸性及中性条件下囊泡膜结构更为紧密，Cys 难以进入膜层与 4F-2CN 反应；2) 酸性及中性条件下 Cys 的反应活性较低。为此，进一步考察了 pH 对囊泡形貌的影响，如图 5(b)所示，酸性条件下囊泡的粒径较大，结构更为松散；而 pH 7.4 时，囊泡的粒径虽与碱性条件下无明显差异，却未产生对 Cys 的光谱响应。由此可见，碱性条件下 Cys 对 4F-2CN 的亲核反应活性较强才是光谱响应随 pH 变化的主要原因。一般条件下，Cys 巯基的  $\text{pK}_a$  为 8.2 ~ 8.4<sup>[23]</sup>，这也与该解释相符。综合考虑囊泡的稳定性和反应性能，选择在 pH 8.8 条件下进行囊泡传感性能测试。



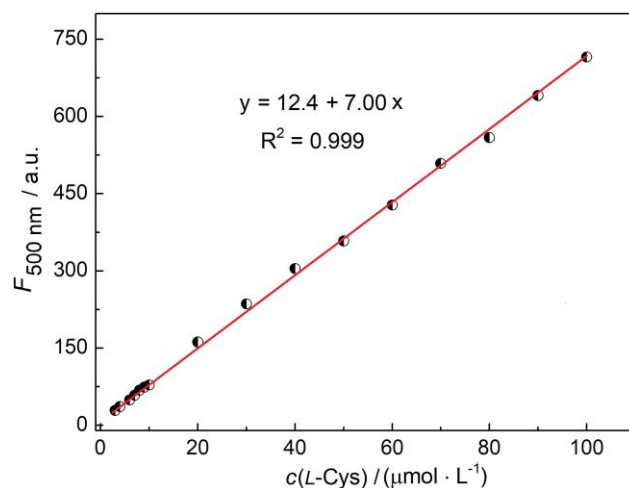
4F-2CN 浓度 10  $\mu\text{mol/L}$ ; Cys 浓度 100  $\mu\text{mol/L}$ ; 缓冲体系: pH 5.4 ~ 7.4, 3,3-二甲基戊二酸-氢氧化钠 (10 mmol/L); pH 8.8 ~ 10.6, 碳酸钠-碳酸氢钠 (20 mmol/L); 激发波长 370 nm。

图 5 pH 对囊泡的应激响应 (a) 和粒径分布 (b) 的影响

Fig.5 Influence of pH on the sensing responses (a) and particles sizes (b) of the sensory vesicles

## 2.5 Cys 响应曲线

不同浓度 Cys 引发的荧光响应如图 6 所示, 随着 Cys 浓度的增大, 500 nm 处的荧光发射强度逐渐增强; 当 4F-2CN 初始浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  时, 荧光响应信号与 Cys 浓度在 2.0 ~ 100  $\mu\text{mol/L}$  范围内呈现良好的线性相关。与游离的分子探针相比, 囊泡中的 4F-2CN 以有序分子集合体的形式存在, 其响应的动态范围更宽、线性范围更大。将 4F-2CN 的掺杂浓度降低一半, 其他反应条件与图 6 相同, 则  $10^{-7}$  mol/L 水平的 Cys 即可引起有效的荧光响应, 荧光响应信号与 Cys 浓度在 0.1 ~ 9.0  $\mu\text{mol/L}$  范围内有良好的线性相关。



4F-2CN 浓度 10 μmol/L; 介质条件: pH 8.8 的碳酸钠-碳酸氢钠 (20 mmol/L) 缓冲溶液; 激发波长: 420 nm。

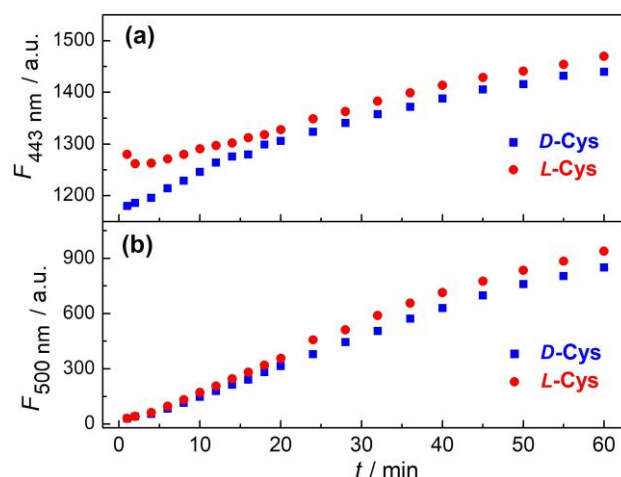
图 6 囊泡对不同浓度 *L*-Cys 的荧光响应

Fig.6 Fluorescence trace of the sensory vesicles upon addition of different amount of *L*-Cys

## 2.6 Cys 的响应动力学

为了进一步了解囊泡的应激响应机制, 比较了 *D*-Cys 和 *L*-Cys 荧光响应的衍化进程。由于囊泡的亲水端基 (麦芽糖苷) 具有手性, 如果膜的分离效应确实存在, *D*-Cys 与 *L*-Cys 的初始响应信号应该会有差异。如图 7(a) 所示, 在加入刺激物的瞬间, *L*-Cys 便可引起 443 nm 处荧光强度的明显增强, 而 *D*-Cys 并未诱发响应。由于 4F-2CN 与含巯基化合物的反应速度较慢, 所以反应初始阶段 443 nm 处的荧光信号主要体现的是膜层中 4F-2CN 化学微环境的变化, 图 7(a) 表明 *L*-Cys 进入膜层的速度比 *D*-Cys 快。从反应产物的角度看 (图 7(b)), *L*-Cys 在 500 nm 处的荧光响应信号也比相同浓度下的 *D*-Cys 略强, 说明前者的总体反应效率更高。由于本文中合成的超分子囊泡的膜结构是动态的, 表面活性剂在其中具有一定的流动性, 且其膜表面上只有单重的手性位点, 荧光响应的对映体选择性并不高, 但前述实验结果证实了囊泡膜层的分离功能。





4F-2CN 浓度  $10 \mu\text{mol/L}$ ; 氨基酸浓度  $40 \mu\text{mol/L}$ ; 介质条件: pH 8.8 的碳酸钠-碳酸氢钠 ( $20 \text{ mmol/L}$ ) 缓冲溶液; 激发波长: (a)  $370 \text{ nm}$ ; (b)  $420 \text{ nm}$ 。

图 7 囊泡对 *D*-Cys 与 *L*-Cys 的光谱响应进程比较

Fig.7 Comparison of the time-dependent fluorescence responses induced by *D*-Cys and *L*-Cys

### 3 结 论

本文通过模块化组装的策略制备了一类嵌含荧光分子探针的超分子囊泡, 以此建立了一种新的荧光传感模式, 并成功应用于 Cys 的高选择性荧光传感。作为这种荧光传感新策略的支撑, 首先由 TPT-TTF 和表面活性剂构建了一种低光谱背景的空白囊泡作为模板, 通过简单的染料掺杂即可对其进行目的性的光功能化。在传感应用中, 由于囊泡膜层的分离功能, 采用简单的广普性探针即可实现结构相似同系物中特定化合物的高选择性检测, 所建立荧光检测方法动态范围宽, 利于实际的分析应用。这种集分离与检测功能为一体的新型荧光传感体系构建方法简单、传感性能新颖, 可望在同系物光谱分辨、裸眼手性识别等疑难分析领域推广应用。

#### 参考文献:

- [1] YEE C, YANG W, HEKIMI S. The intrinsic apoptosis pathway mediates the longevity response to mitochondrial ROS in *C. elegans*[J]. Cell, 2014, 157: 897–909.
- [2] YANG X J, WANG Y Y, ZHAO M X, et al. A colorimetric and near-infrared fluorescent probe for cysteine and homocysteine detection[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 212: 10–14.
- [3] SESHADRI S, BEISER A, SELHUB J, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease[J]. The New England Journal of Medicine, 2002, 346: 476–483.

- [4] PEREVEZENTSEVA D O, KORSHUNOV A V, GORCHAKOV E V, et al. Au-nanoparticles based sensors for voltammetric determination of glutathione[J]. *Current Analytical Chemistry*, 2017, 13: 225-230.
- [5] 王胜清, 沈世立, 张延如等. 小分子生物硫醇荧光探针研究进展[J]. *有机化学*, 2014, 34: 1717-1729.
- [6] NIU L Y, CHEN Y Z, ZHENG, HR, et al. Design strategies of fluorescent probes for selective detection among biothiols[J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44: 6143-6160.
- [7] YIN C X, XIONG K M, HUO F J, et al. Fluorescent probes with multiple binding sites for the discrimination of Cys, Hcy, and GSH[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2017, 56: 13188-13198.
- [8] DING S Y, LIU M J, HONG Y N. Biothiol-specific fluorescent probes with aggregation-induced emission characteristics[J]. *Science China - Chemistry*, 2018, 61: 882-891.
- [9] YIN G X, NIU T T, GAN Y B, et al. A Multi-signal fluorescent probe with multiple binding sites for simultaneous sensing of cysteine, homocysteine, and glutathione[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 57: 4991-4994.
- [10] WANG N N, CHEN M, GAO J H, et al. A series of BODIPY-based probes for the detection of cysteine and homocysteine in living cells[J]. *Talanta*, 2019, 195: 281-289.
- [11] WANG K P, XU S H, LEI Y, et al. A coumarin-based dual optical probe for homocysteine with rapid response time, high sensitivity and selectivity[J]. *Talanta*, 2019, 196: 243-248.
- [12] LI K B, QU W B, HAN D M, et al. A colorimetric/fluorescence dual-channel probe for highly discriminating detection of cysteine[J]. *Talanta*, 2019, 194: 803-808.
- [13] FAN L, ZHANG W J, WANG X D, et al. A two-photon ratiometric fluorescent probe for highly selective sensing of mitochondrial cysteine in live cells[J]. *Analyst*, 2019, 144: 439-447.
- [14] ZHANG H T, LIU R C, LIU J, et al. A minimalist fluorescent probe for differentiating Cys, Hcy and GSH in live cells[J]. *Chemical Science*, 2016, 7: 256-260.
- [15] QIAN M, ZHANG L W, WANG J Y, et al. A red-emitting fluorescent probe with large Stokes shift for real-time tracking of cysteine over glutathione and homocysteine in living cells[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 214: 469-475.
- [16] JI Y, DAI F, ZHOU B. Developing a julolidine-fluorescein-based hybrid as a highly sensitive fluorescent probe for sensing and bioimaging cysteine in living cells[J]. *Talanta*, 2019, 197: 631-637.
- [17] YANG X, QIAN Y. A near-infrared fluorescent probe for the discrimination of cysteine in pure aqueous solution and imaging of cysteine in hepatocellular carcinoma cells with facile cell-compatible ability[J]. *New Journal of Chemistry*. 2019, 43: 3725-3732.
- [18] ZHANG X Y, HE N, HUANG Y. Mitochondria-targeting near-infrared ratiometric fluorescent probe for selective imaging of cysteine in orthotopic lung cancer mice[J]. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 2019, 282: 69-77.
- [19] LIU L H, ZHANG Q, WANG J, et al. A specific fluorescent probe for fast detection and cellular imaging of cysteine based on a water-soluble conjugated polymer combined with copper(II)[J]. *Talanta*, 2019, 198: 128-136.
- [20] LOVELL J F, JIN C S, HUYNH E, et al. Porphyosome nanovesicles generated by porphyrin bilayers for use as multimodal biophotonic contrast agents[J]. *Nature Materials*, 2011, 10: 324-332.
- [21] WANG X, YANG Y, ZUO Y, et al. Facile creation of FRET systems from a pH-responsive AIE fluorescent vesicle[J]. *Chemical Communications*, 2016, 52: 5320-5323.
- [22] ZHANG M, YIN X, TIAN T, et al. AIE-induced fluorescent vesicles containing amphiphilic binding pockets and the FRET triggered by host-guest chemistry[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51: 10210-10213.
- [23] 徐冬青, 徐朗莱. Cys的巯基解离常数应该是多少[J]. *生物化学*, 2015, 35: 125-127.

## A novel fluorescent sensing system for

# cysteine based on probe-interbedded supramolecular vesicles

WANG Yuemin, LI Shunhua\*

(Key Laboratory of Spectrochemical Analysis & Instrumentation, Ministry of Education,  
College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** It is an important but challenging analytical task to detect target species with high selectivity over its structurally-similar homologues. In this article, probe-interbedded supramolecular vesicles (PISVs) had been fabricated via modular self-assembly and employed to develop a new fluorescent sensing mode possessing both separation and quantitation functions. As a general fluorescent probe for biothiols, 4F-2CN was found to be highly selective for Cys over Hcy, Pen and GSH, when interbedded in the supramolecular vesicles assembled from TPT-TTF and DDM. Taking advantage of the sensitive and wide-dynamic-range response, straightforward fluorescent sensing of Cys was established. The non-interbedded vesicles formed by TPT-TTF and common amphiphiles were facily prepared and displayed a low spectral background in visual region, offering a general and efficient vesicle template for developing other PISV-based sensing systems.

**Keywords:** vesicles; fluorescent probes; molecular self-assembly; cysteine