

特约专栏

荧光纳米材料及其生物成像应用

蒲源¹, 王丹¹, 钱骏², 陈建峰¹

(1. 北京化工大学 有机无机复合材料国家重点实验室, 北京 100029)

(2. 浙江大学 现代光学仪器国家重点实验室, 浙江 杭州 310058)

摘要: 荧光成像是生物医学研究领域应用最广的成像技术之一。随着纳米技术的快速发展, 具有优良特性的荧光纳米材料不断涌现。相比于传统的荧光分子, 荧光纳米材料具有光学稳定性高、形貌尺寸易调控、多功能化等优点。利用荧光纳米材料作为探针的生物荧光成像能够为研究者提供从细胞、离体组织到活体生物样本的结构和动态信息等方面全面细致的探测方法, 成为当前材料、光学、生物医学等多学科交叉领域的研究热点。结合近年来荧光纳米材料及其生物成像应用的发展趋势以及本课题组前期的研究工作基础, 归纳概述了几种类型荧光纳米材料的特性, 包括基于有机荧光染料的纳米颗粒、半导体量子点、碳基荧光纳米材料以及稀土掺杂上转换发光纳米材料, 结合具体例子介绍了荧光纳米材料在生物医学成像中的应用, 并对其发展前景进行了展望。

关键词: 荧光纳米材料; 半导体量子点; 碳基量子点; 上转换发光纳米颗粒; 生物成像

中图分类号: TB383.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2017)02-0103-09

Fluorescent Nanomaterials and Their Applications in Bioimaging

PU Yuan¹, WANG Dan¹, QIAN Jun², CHEN Jianfeng¹

(1. State Key Laboratory of Organic-Inorganic Composites, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

(2. State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentations, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Fluorescence imaging is one of the most widely used imaging techniques in biomedical research. Along with the rapid development of nanotechnology, different kinds of fluorescent nanomaterials with excellent properties are constantly emerging. Compared to traditional fluorescent molecules, fluorescent nanomaterials show many advantages, such as superior photostability, tunable morphology and size, as well as multifunction. Fluorescence imaging based on nanomaterials offers a unique approach that can be used to visualize morphological details for bio-species, ranging from living cells to animals, forming a major thrust in the fields of materials, optics, biomedical and so on. In this article, we will present a focused review on various types of fluorescent nanomaterials, including organic dye doped nanoparticles, semiconductor quantum dots, and fluorescent carbon nanomaterials. The applications of these nanomaterials in bioimaging will be summarized with examples. We will also discuss some challenges and opportunities for the use of fluorescent nanomaterials in biomedical diagnosis and therapy.

Key words: fluorescent nanomaterials; semiconductor quantum dots; carbon dots; upconversion nanophosphors; bioimaging

1 前言

生物影像信息是生命科学研究中最重要、最直接的研究证据之一, 有时甚至是唯一的证据。随着各种先进影像

学方法和技术的发展, 人们能够获得生命体实时、定量、原位、活体和高灵敏的生物学信息, 为现代生命科学研究快速发展奠定了基础^[1]。目前生物影像技术如X射线、B超、电子计算机断层扫描(CT)、正电子发射型计算机断层显像(PET)、磁共振成像(MRI)等, 存在辐射大、成本高、操作复杂的缺点。光学成像尤其是生物荧光成像因其组织破坏性小、无有害电磁辐射、成像设备成本低等优点, 表现出取代上述成像手段的潜力^[2]。

生物荧光成像是利用生物体荧光特性的变化来获得光学图像。由于在很多生物结构和生物过程中都缺少内

收稿日期: 2016-08-31

基金项目: 国家自然科学基金应急管理项目(51641201); 中央高校基本科研业务费专项资金资助(BUCTRC201601)

第一作者: 蒲源, 女, 1980年生, 副教授

通讯作者: 王丹, 男, 1988年生, 副教授, 硕士生导师,

Email: wangdan@mail.buct.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.2017.02.04

源荧光材料, 很难利用生物样本的本征荧光进行成像和探测, 因此多数情况下需要引入外源荧光材料作为造影剂, 对特定细胞或组织器官进行标定^[3]。荧光蛋白作为一种无损的活细胞荧光标记物, 在光学生物成像领域占有举足轻重的地位, 为细胞生物学和神经生物学的研究带来了革命性的变化^[4]。利用荧光蛋白标记与双光子荧光成像、活体荧光成像等技术相结合, 能够“看到”生物活体内特定蛋白的表达, 原位、动态跟踪细胞内部的分子事件。但是荧光蛋白存在抗光漂白性差、红外吸收和发射荧光蛋白研发困难等问题, 制约了荧光蛋白在长时间荧光成像及活体深度成像的应用^[5]。

荧光纳米材料是具有荧光性质且至少有一维的尺寸处于 1 ~ 100 nm 量级的超微小材料^[6]。在离体细胞层面, 荧光纳米材料足够小的尺寸使其能够通过扩散或经内吞进入细胞, 作为细胞荧光成像探针; 在活体动物层面, 纳米颗粒进入血液循环后, 能够从高通透性的肿瘤血管渗出并在肿瘤部位富集, 作为肿瘤诊断的探针。另外, 通过纳米技术将荧光材料与治疗药物相结合, 开发具有靶向性、多功能的诊疗一体化纳米颗粒, 为疾病的早期检测和更加有效的治疗提供了新的技术手段^[7]。

近年来, 荧光纳米材料及其生物医学成像研究已成为新材料领域科研工作者关注的热点。本文结合我们前期的研究工作基础, 归纳概述了几种类型荧光纳米材料, 包括基于有机荧光染料的纳米颗粒、半导体量子点、碳基荧光纳米材料以及稀土掺杂上转换发光纳米材料, 结合具体例子介绍了荧光纳米材料在生物医学成像中的应用, 并对这些材料的发展前景进行了展望。

2 基于有机荧光染料的纳米颗粒

有机荧光染料, 包括荧光素类以及罗丹明类染料, 是目前生物医学研究中最常用的荧光探针。以有机荧光材料作为荧光剂的荧光纳米颗粒制备主要有两种方式, 一种是利用有机聚合物或者无机纳米颗粒把有机染料分子包裹到纳米颗粒内部^[8-10], 一种是通过化学或者物理的方法使有机染料分子吸附在纳米颗粒的表面^[11,12]。将有机染料分子同纳米颗粒相结合, 能够提高染料分子在生物体环境的稳定性, 防止有机染料分子在生物组织内的扩散^[8]。另外通过表面修饰在纳米颗粒表面连接蛋白或者生物分子, 能够实现对细胞及活体肿瘤组织的特异性生物标记与荧光成像^[9]。图 1 展示了钱骏等^[8]利用二氧化硅纳米颗粒包覆有机荧光分子 (PpIX) 的过程示意图。包裹有荧光染料分子的二氧化硅纳米颗粒 (PpIX@SiO₂) 平均尺寸为 25 nm, 在水中具有良好的分散性, 适于用作离体细胞和活体成像的纳米探针。我们利用对

PpIX@SiO₂ 纳米探针与 HeLa 细胞共同孵育, 随后采用双光子荧光显微镜对细胞进行观察, 结构表明在波长为 800 nm 的飞秒激光激发下, 细胞内部能够观察到 PpIX 分子的双光子荧光信号, 表明该荧光纳米颗粒能够进入细胞内部, 可以用作细胞标记和荧光成像的探针。

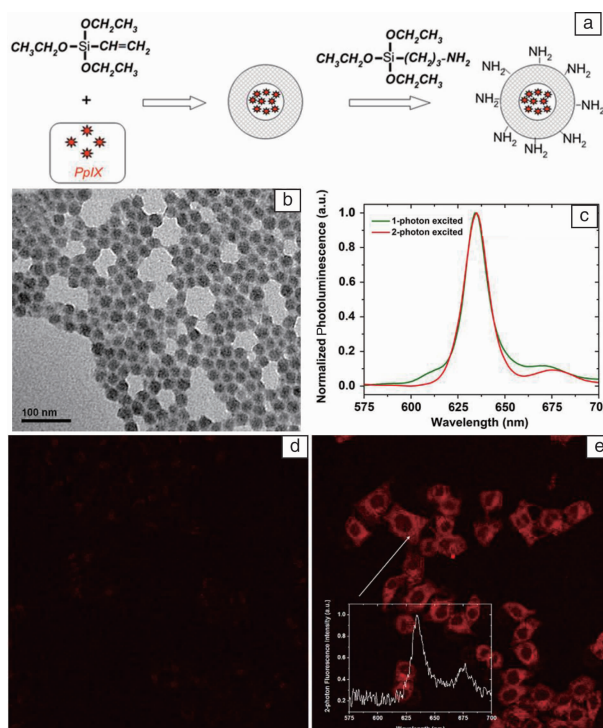


图 1 (a) 用二氧化硅纳米小球包覆 PpIX 的反应流程示意图; (b) PpIX@SiO₂ 纳米颗粒的 TEM 照片; (c) PpIX@SiO₂ 纳米颗粒在波长为 400 nm 的连续激光激发 (1-photon excited) 和波长为 800 nm 的飞秒激光激发 (2-photon excited) 下的荧光光谱曲线; 双光子激发的细胞荧光成像 (d) 不作任何处理的对照组 HeLa 细胞, (e) 同 PpIX@SiO₂ 纳米颗粒共同孵育 2 h 后的 HeLa 细胞 (插图: 细胞内荧光信号的光谱曲线)^[8]

Fig. 1 (a) Synthesis illustration of PpIX@SiO₂ nanoparticles, (b) a typical TEM image of PpIX@SiO₂ nanoparticles, (c) one- and two-photon excited fluorescence spectra of PpIX@SiO₂ nanoparticles, two-photon excited fluorescence images of HeLa cells treated (d) without and (e) with PpIX@SiO₂ nanoparticles (insert: fluorescence spectra in cells)^[8]

理想情况下, 利用纳米颗粒包覆有机荧光染料分子, 纳米颗粒中包覆的染料分子越多, 颗粒的荧光效率越高。实际情况是传统有机荧光染料分子是具有大 π 共轭体系的刚性平面分子, 在稀溶液中能够发射很强的荧光, 而在高浓度溶液或聚集状态下, 强烈的分子间相互作用产生大量的非辐射失活, 使得有机染料分子的荧光强度大幅度降

低, 即聚集导致荧光猝灭。2001年, 香港科技大学唐本忠院士团队发现硅杂环戊二烯(Silole)衍生物在稀溶液中基本没有发光, 而在聚集态时呈现非常明亮的荧光发射, 即聚集诱导发光(Aggregation Induced Emission, AIE)^[13]。AIE材料具有特殊的分子结构, 能够在很大程度上减小分子间相互作用, 同时大幅限制荧光染料分子在聚集态时的分子内转动, 有效地抑制单分子的非辐射失活过程, 使其在固态或聚集状态下的荧光强度远远大于其在稀溶液中的荧光强度^[14]。本课题组^[9]利用一种双亲性聚合物 mPEG-DSPE 包裹一种疏水性的 AIE 材料(分子式简称为 StCN), 制备了具有荧光特性的纳米胶束(StCN@PEG), 该纳米胶束能够很好地分散在水溶液中, 且具有较高的稳定性(如图2)。光谱分析结果表明, 用纳米颗粒对 AIE 材料进行高浓度的包覆不会引起荧光猝灭, 反而会促使荧光效率的增强; 动物实验表明该荧光纳米胶束能够在肿瘤部位富集,

用于肿瘤活体荧光成像的探针。另外, 我们将能够与肿瘤细胞特异性结合的多肽修饰在纳米胶束表面, 用于提高 StCN@PEG 纳米胶束在肿瘤部位富集的效率, 实现靶向的肿瘤组织标记和荧光成像诊断。

AIE 材料独特的性质使其成为近年来的研究热点, 目前已经开发出能够覆盖可见光波段的 AIE 荧光分子, 利用 AIE 材料制备的荧光纳米粒子, 已被应用于细胞成像、前哨淋巴结定位、活体肿瘤诊断、活体血管荧光成像等多项生物医学研究^[15-17]。在活体荧光反射成像中, 生物组织对光的散射和吸收影响着荧光物质的激发效率以及信号采集。由于生物组织在可见光波段的吸收和散射均比较明显, 因此利用可见光波段的荧光探针难以实现较深层组织的成像。开发高效的具有近红外荧光激发和发射的 AIE 材料, 对于实现深层组织和高对比度的活体荧光成像具有非常重要的意义^[17]。

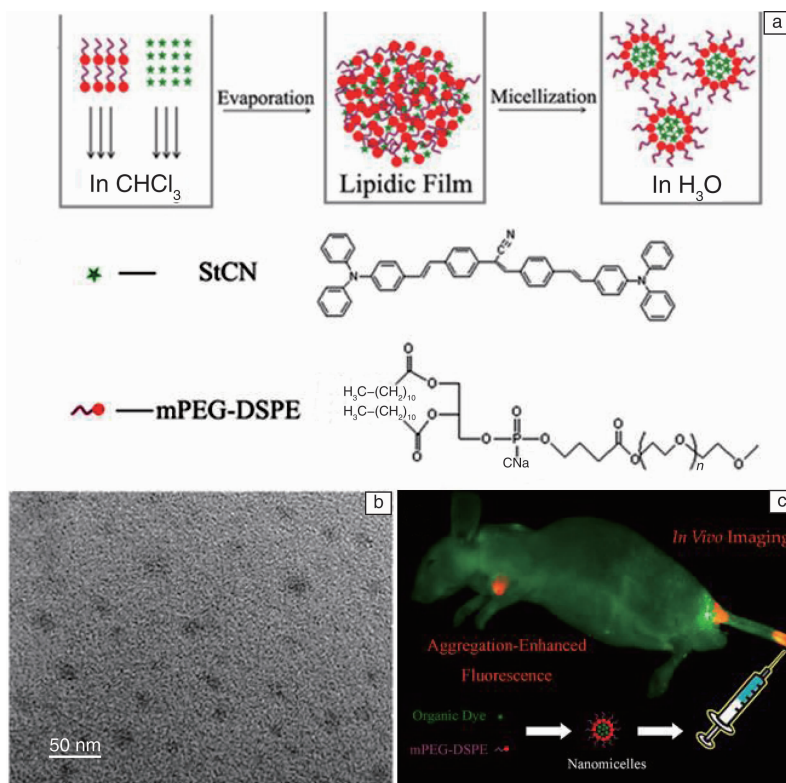


图2 (a) StCN@PEG 纳米胶束制备流程图; (b) StCN@PEG 纳米胶束 TEM 照片; (c) 尾静脉注射 StCN@PEG 纳米探针后活体小鼠肿瘤荧光成像诊断^[9]

Fig. 2 (a) A schematic illustration for the preparation of StCN@PEG nanomicelles, (b) a representative TEM image of StCN@PEG nanomicelles, and (c) *in vivo* imaging of mice bearing subcutaneous lung tumor xenografts, injected with StCN@PEG nanomicelles^[9]

3 半导体量子点

半导体量子点通常是由 II-VI 族或 III-V 族元素组成的纳米颗粒, 粒径一般介于 1~10 nm 之间, 由于其尺寸小于或者接近激子波尔半径, 材料内部的电子和空穴被量子限

域, 连续的能带结构变成具有分子特性的分立能级结构, 受激后可以发射荧光^[18]。量子点的荧光发射取决于导带与价带间的能带间隙, 当量子点尺寸减小时, 能带带隙能量会增多, 其吸收和发射波长向短波方向偏移, 因此量子点的荧光发射波长可以通过选择适当的尺寸进行调节^[18]。

通过选择适当的材料(如 CdS、CdSe、CdTe、 Ag_2S 、PbS、PbSe 等)制备适当尺寸的纳米晶体,可以获得荧光发射谱覆盖范围相当宽的系列量子点纳米材料(如图 3)^[19]。

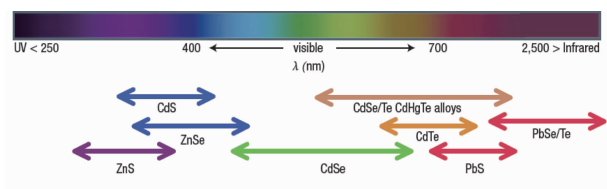


图 3 典型的量子点组成材料及其对应的荧光发射波长范围^[19]

Fig. 3 Representative QD core materials scaled as a function of their emission wavelength superimposed over the spectrum^[19]

目前生物医学应用中半导体量子点主要通过化学方法制备,分为从有机相出发的高温热解法合成和从水相出发的水相沉淀法两种途径,其中高温热解法是最常用也是最经典的量子点化学制备方法^[20]。Murray C B 等^[21]首次系统地提出了高温热解法制备 CdE (E=S, Se, Te) 量子点的基本流程,他们将 Se 粉末分散到正三辛基膦(TOP)中制备 TOPSe 溶液,再将 TOPSe 与二甲基镉(Me_2Cd)加入到三辛基氧膦(TOPO)溶液中,在惰性气体保护下,将混合溶液加热到 230 ~ 260 °C 反应制备 CdSe 量子点纳米晶体,通过控制反应时间长短,能够得到不同尺寸的量子点纳米晶体。彭笑刚等^[22]使用氧化镉(CdO)、醋酸镉($\text{Cd}(\text{Ac})_2$)等更为稳定的镉盐代替 Me_2Cd ,制备了可控尺寸的 CdSe 量子点纳米晶体。总体而言,高温热解法制备量子点是利用 TOPO、TOP、十八烯等作为反应溶剂,使用不同的前驱体进行反应,通过控制反应时间和反应温度条件制备量子点纳米晶体。中国科学院唐芳琼教授等^[23]首次提出在无毒的油酸-液体石蜡体系中合成 CdSe 量子点的方法,相比于 TOPO 等有

机溶剂的毒性和污染,油酸和液体石蜡是无毒、无害的绿色试剂,唐教授等的研究为 II-VI 族量子点的“绿色”制备开辟了新的方向,对半导体量子点的产业化具有重要意义^[24]。

与传统的有机荧光染料相比,量子点具有吸收谱宽、发射谱窄、无光漂白、易于表面修饰等优点。1998 年,Alivisatos 教授^[25]和 Nie 教授^[26]在 *Science* 杂志的同一期发表了各自课题组利用量子点作为生物探针用于活细胞荧光成像的研究论文,开启了量子点在生物医学成像领域应用的新篇章。经过近 20 年的发展,半导体量子点除了作为生物成像的造影剂^[19, 25-29],在光学生物传感应用方面也有许多令人欣喜的研究成果^[20, 30-32]。多种类型半导体量子点的化学制备和表面修饰技术日趋成熟,已经有许多商业公司能够为研究者提供性能良好量子点探针,特别是在可见光波段具有荧光发射的量子点。图 4 展示了本课题组采用油酸-液体石蜡的“绿色”合成工艺制备 PbS 量子点过程示意图,通过对所得油性 PbS 量子点进行二氧化硅和聚乙二醇双层包覆,制备了能够在水溶液中稳定分散的近红外荧光纳米探针,利用这种纳米荧光探针实现了小鼠活体前哨淋巴结(SLN)定位^[33]。 Ag_2S 量子点是近年来受到极大关注的一种新型量子点,并被发展作为一种新型的近红外 II 区(1.0 ~ 1.4 μm)生物荧光成像探针,应用于淋巴管成像、肿瘤治疗实时成像、干细胞在体内的迁移和分布成像以及干细胞肝损伤示踪等应用研究^[34]。武汉大学 Pang 等^[35]设计制备了用于瞬时高效标签和全身细胞衍生微泡的高分辨率多模式实时追踪的 $\text{Ag}_2\text{Se}@\text{Mn}$ 量子点,所得 $\text{Ag}_2\text{Se}@\text{Mn}$ 量子点具有优良的近红外荧光和磁共振成像能力,可用于体内微囊泡的高分辨率双模式实时有效的标记跟踪,对体内追踪外泌体的行为、寻找外泌体倾向的靶器官等方面的研究具有重要推动作用。

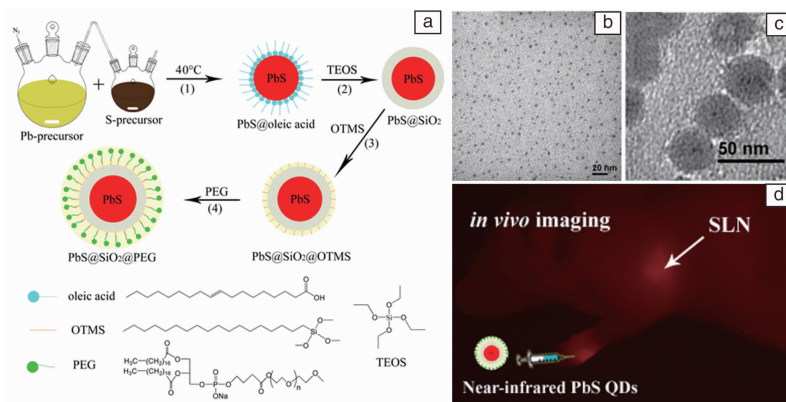


图 4 (a) PbS 量子点的制备及二氧化硅-聚乙二醇双层包覆流程图; (b) PbS 量子点和 (c) PbS@SiO₂@PEG 纳米颗粒的 TEM 照片; (d) 皮下注射 PbS@SiO₂@PEG 纳米探针以后小鼠活体 SLN 荧光显影照片^[33]

Fig. 4 (a) Schematic diagram illustrating the preparation of PbS@SiO₂@PEG nanoparticles, TEM images of (b) PbS QDs and (c) PbS@SiO₂@PEG nanoparticles, (d) SLN mapping of a nude mice by NIR fluorescence imaging using PbS@SiO₂@PEG as probes^[33]

随着半导体量子点材料在多个领域的广泛应用, 它们的毒性与生物安全性也引起了科研人员的高度重视^[36]。由于多数半导体量子点含重金属元素(Cd, Pb, Ag等), 当量子点的晶格由于某些作用被破坏以后会释放出游离的重金属离子, 而大多数重金属离子对细胞和生物组织有很强的毒性作用。尽管能够通过表面包覆的方法降低量子点中重金属离子的泄露, 其潜在的生物毒性和环境污染仍旧是无法回避的问题。因此, 环境友好的量子点是一个重要的发展方向。

4 碳基荧光纳米材料

碳元素因其独特的结构和优异的物理性质, 一直都是物理学、材料科学以及电子技术领域研究人员关注的焦点。碳基荧光纳米材料包括纳米金刚石、碳纳米管、氧化石墨烯纳米颗粒、碳量子点等几种类型^[37]。纳米金刚石是尺寸在100 nm以下具有纳米金刚石结构的碳材料, 通过对纳米金刚石进行氮、硼等元素掺杂, 能够获得具有优良荧光特性纳米金刚石颗粒^[38]。在生物体内, 可以通过单个纳米颗粒的追踪和检测, 研究特定的活细胞行为^[39]。然而纳米金刚石制备、元素掺杂困难等问题, 限制了纳米金刚石作为荧光探针的应用。碳纳米管(CNT)在近红外波段的荧光特性^[40-43], 使其作为近红外二区(1000~1700 nm)的荧光成像探针, 在活体动物荧光成像领域得到了广泛应用。美国斯坦福大学Dai等^[44]将水溶性碳纳米管注射到活体小鼠血液中, 然后利用近红外二区荧光成像技术, 能够获得活体动物血管成像信息。尽管碳纳米管近红外荧光特性在生物医学成像研究中具有独特优势, 由于碳纳米管尺寸较大难以在体内代谢并且有潜在的毒性问题^[45,46], 限制了其在作为生物探针在活体动物中的应用, 发展具有更高生物兼容性的近红外二区纳米荧光探针具有重要价值。

氧化石墨烯(GO)纳米材料是只有一层碳原子的典型的二维纳米结构材料, 它的边缘边缘和基面带有丰富的羧基、羟基等含氧基团, 因此这种材料具有良好的生物相容性其易于表面功能化。对于不含氧化基团的石墨烯材料而言, 由于没有能带间隙, 所以基本上不能发荧光, 而GO材料由于表面存在一些缺陷和含氧基团, 使得GO产生了带隙, 因此能够产生荧光现象^[47]。Sun等^[48]研究并报道了GO在近红外波段的荧光特性, 利用聚乙二醇修饰的GO作为近红外荧光成像探针, 实现了离体细胞的荧光成像。Li等^[49]报道了GO的双光子荧光特性, 并且利用转铁蛋白和聚乙二醇共同修饰的GO作为探针, 实现了离体细胞的双光子荧光成像。本课题组^[50]报道了GO在飞秒激光激发下的双光子/三光子荧光效应, 并且利用双光子荧光成像技术观察到了GO荧光纳米颗粒在

活体小鼠静脉内的分布与代谢(如图5)。

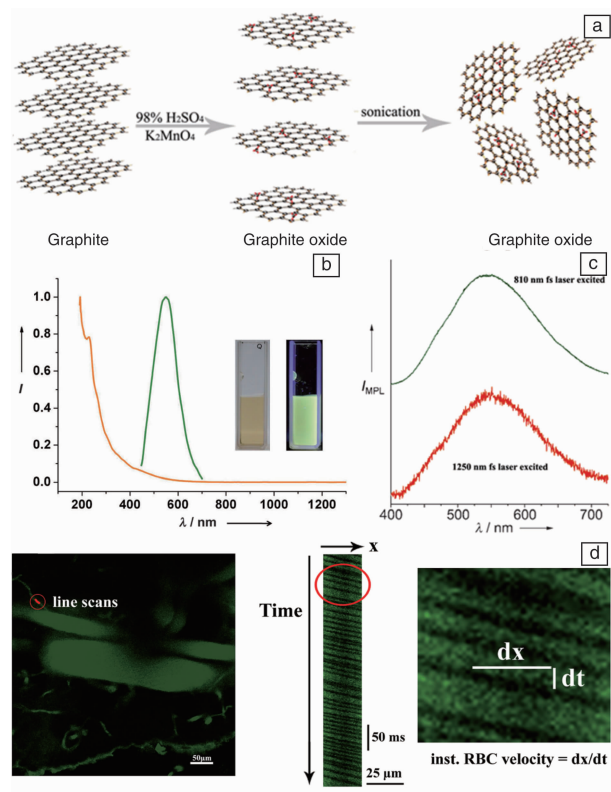


图5 (a)由石墨经强酸氧化制备GO荧光纳米颗粒的过程示意图; (b)GO荧光纳米颗粒的吸收光谱, 及405 nm光激发下的荧光光谱; (c)GO荧光纳米颗粒在波长为800 nm和波长为1260 nm的飞秒脉冲激光激发下的光致发光光谱; (d)双光子激发的GO荧光纳米颗粒在活体小鼠耳部血管的荧光成像^[50]

Fig. 5 (a) Synthesis of GO nanoparticles from bulk graphite, (b) extinction spectrum and one-photon induced luminescence spectrum of an aqueous dispersion of GO nanoparticles, (c) two- and three-photon induced luminescence spectra of GO nanoparticles, (d) two-photon excited fluorescence imaging of the blood vessel of mouse based on GO nanoparticles^[50]

碳量子点(Carbon Quantum Dots, CQDs), 又称碳点或者碳纳米点, 是近年来出现的一类新型荧光纳米材料^[51]。在光学性能方面, 碳量子点具有同传统半导体量子点相比拟的优点, 如激发光谱宽且连续、荧光稳定性高、荧光波长可调等^[52]。此外, 由于碳量子点的主要元素组成为C, H, O, N等, 与重金属基半导体量子点相比, 具有良好的生物相容性, 引起了研究者的广泛关注^[53,54]。碳量子点的制备方法已有很多报道, 主要包括“自上而下(Top-Down)”法和“自下而上(Bottom-Up)”法两类^[53]。自上而下的工艺是从大尺寸的碳靶剥离或粉碎而获得小尺寸的碳量子点, 包括电弧放电法、激光销蚀法和电化学剥离等方法^[55,56]; 自下而上的工艺是指用

小分子作前驱体通过聚合碳化等化学反应形成纳米尺寸的碳量子点,主要有燃烧法、热解法、微波法等方法^[57,58]。图 6 展示了我们课题组利用牛奶作为碳源,在微波加热条件下制备碳基量子点的示意图,所制得的碳基量子点平均粒径为 3 nm,能够作为荧光探针对 HeLa 细胞进行标记^[58]。

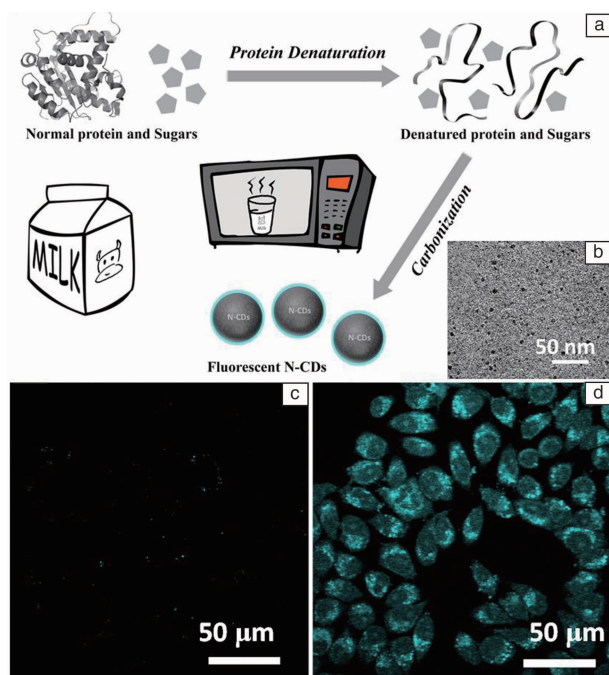


图 6 (a) 牛奶作为碳源经微波加热制备碳基量子点的反应过程示意图; (b) 碳基量子点的 TEM 照片; 双光子激发的细胞荧光成像 (c) 不作任何处理的对照组 HeLa 细胞, (d) 同碳基量子点共同孵育 2 h 后的 HeLa 细胞^[58]

Fig. 6 (a) A schematic diagram for the preparation of CDs from milk by microwave cooking, (b) a typical TEM image of CDs, two-photon excited fluorescence intensity images of HeLa cells (c) without the CD treatment and (d) incubated with CDs for 2 h^[58]

稳定的荧光特性、低生物毒性,使碳基量子点成为理想的生物荧光成像探针材料。Zhou 等^[59]用多环芳香碳氢化合物作为前驱体,采用自下而上的方法合成了碳基量子点,所制备的碳基量子点能够进入 MCF-7 细胞的细胞质,与传统的细胞荧光成像染料 (Alexa Fluor 488) 及荧光素相比,碳基量子点在激光持续照射下,荧光强度基本稳定,能够适应长期荧光追踪和成像的需求。通过在碳量子点表面连接胰岛分子, Zheng 等^[60]利用全内反射荧光成像技术,实时观察到了碳量子点在细胞膜表面的动态过程。Nurunnabi 等^[61]将碳量子点通过尾静脉注射到长有肿瘤的小鼠体内,一定时间后,通过活体荧光成像技术在肿瘤组织部位观察到了碳量子点的荧光信号。

Ge 等^[62]利用聚噻吩衍生物作为碳源,制备了具有近红外荧光发射的碳量子点,该类型碳量子点在光照条件下,能够通过多重敏化产生活性氧,用于杀死肿瘤细胞,从而实现肿瘤的光动力治疗。

理想的生物荧光成像探针需要满足以下基本要求:生物媒介中具有很好的分散性,与目标单位特异性结合的能力,较高的近红外吸收和光致发光效率,良好的化学稳定性和光稳定性等基本要求^[63]。因此设计并制备具有近红外荧光特性的碳基量子点是荧光纳米探针开发方面的一个重要方向。另外,通过纳米技术和纳米化学的方法,制备同时具有荧光成像和疾病治疗等多功能的荧光碳纳米材料,研究荧光碳纳米材料在疾病治疗方面的独特优势,有望为临床肿瘤治疗提供新的解决方案。

5 稀土掺杂上转换发光纳米材料

上转换发光纳米材料是掺杂有稀土元素的纳米晶体,可以吸收两个或两个以上的红外光子,发射一个可见光子或近红外光子^[64]。与传统的有机荧光染料、量子点等发光材料相比,上转换纳米发光材料用于生物光子学研究有着众多不可替代的优势。比如,较低的细胞毒性和较高的生物兼容性;几乎为零的背景噪声;区别于普通荧光染料的长荧光寿命;无光漂白性等^[65,66]。美国纽约州立大学布法罗分校 Prasad 教授研究课题组^[67]通过尾静脉注射上转换荧光纳米材料到小鼠体内,利用活体荧光成像手段检测到了上转换荧光纳米材料在小鼠肝脏和脾脏内的分布,获得了具有非常高对比度的深层光学成像结果。复旦大学李富友教授课题组^[68,72]在上转换发光纳米材料的表面修饰、活体分布研究及生物毒性分析等方面做了大量的原创性工作。苏州大学刘庄教授课题组^[73,74]设计了基于上转换发光纳米材料的多功能纳米结构,可以利用一种纳米材料同时实现荧光成像、磁共振成像及光热治疗。新加坡国立大学 Zhang Y 课题组^[75-76]对上转换发光纳米颗粒进型多孔二氧化硅包覆的同时将光动力药物包覆在多孔结构中,在二氧化硅层表面修饰叶酸分子提高纳米颗粒的在肿瘤组织部位的聚集效率,随后用近红外激光照射肿瘤部位,由于上转换发光纳米颗粒可以将近红外激发光转化为可见光并将能量转移给光动力药物,光动力药物吸收能量后能够产生活性氧从而杀死肿瘤细胞。这种基于上转换发光纳米颗粒的近红外激发光动力治疗技术为深层光学生物治疗提供了可能。

詹求强等^[77]发现上转换发光成像技术中传统激发模式 980 nm 激光存在高热损伤组织和深度成像能力差等问题,通过理论计算和实验进行激发模式优化,指出了商业化的 915 nm 激光器在上转换发光纳米材料用于细胞和

组织成像中的低热效应以及深度组织成像中的优势(如图7)。这一新的成像方式得到了广泛关注和认可,为基于上转换发光纳米材料的生物光学成像技术的研究提供了新的思路^[66]。

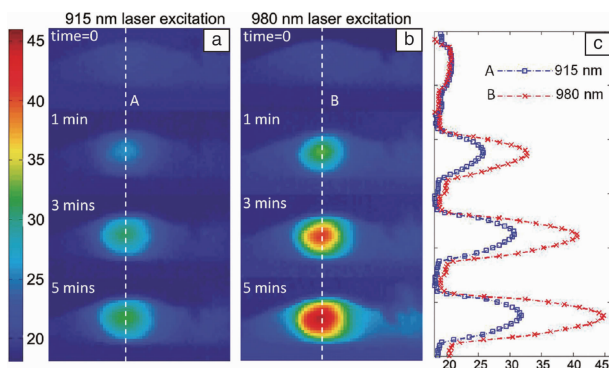


图7 实验测量的(a) 915 nm和(b) 980 nm激光照射老鼠活体表皮加热温度在时刻0, 1, 3和5 min时的空间分布情况以及(c)光束中心区域直径方向上的温度曲线^[77]

Fig. 7 Experimental temperature distributions after different irradiation times for (a) 915 nm laser irradiated mouse skin and (b) 980 nm laser irradiated mouse skin, (c) the corresponding temperature line profiles^[77]

6 结 语

基于荧光纳米材料的生物成像研究是一个多学科交叉的研究领域,涉及到物理、化学、光学、生物学等多方面的知识,在这个快速发展的研究领域,新材料、新技术、新应用层出不穷。本文结合我们前期的研究基础,概述了基于有机荧光染料的纳米颗粒、半导体量子点、碳基荧光纳米材料和稀土掺杂上转换发光纳米材料等几种类型荧光纳米材料,涉及了荧光纳米材料在细胞成像、活体肿瘤诊断、淋巴与血管成像、手术的可视化指导等生物学领域的诸多应用。但由于我们的研究和论文篇幅有限,难以囊括荧光纳米材料及其生物成像应用的全部主题^[63,65,78-80]。通过本文的论述可以看到,尽管国内外学者已经取得了很多研究成果,要想将这些成果转化为临床应用,一些挑战性的问题仍然存在:近红外荧光成像的应用是生物荧光成像的发展趋势,设计制备具有低生物毒性的近红外荧光纳米材料是生物医用荧光探针发展的一个重要方向;与传统的单光子荧光激发模式相比,多光子荧光成像所需激发光波长更长,在生物组织的吸收和散射较小,能够显著提高生物成像分辨率及成像深度,已经成为生命科学研究的重要工具,纳米材料的多光子荧光特性研究,对于开发新型的多光子激发荧光探针具有重要价值;纳米材料的细胞毒性、组

织器官毒性等生物学评估研究,是人们认识新材料、应用新材料必不可少的环节通过对材料毒性的研究分析,也能够指导材料的设计和制备,对于开发具有更好生物兼容性的生物医用材料,具有非常重要的意义。

参考文献 References

- [1] Wang Dan(王丹). *Thesis for Doctorate*(博士论文)[D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2013: 1.
- [2] Qian Jun(钱骏). *Thesis for Doctorate*(博士论文)[D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2009: 27.
- [3] Paras N P. *Introduction to Biophotonics*[M]. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003: 255.
- [4] Craggs T D. *Chemical Society Reviews*[J], 2009(38): 2865-2875.
- [5] Enterina J R, Wu L. *Current Opinion in Chemical Biology*[J], 2015(27): 10-17.
- [6] Wolfbeis O S. *Chemical Society Reviews*[J], 2015(44): 4743-4768.
- [7] Sun T, Zhang Y S, Pang B, et al. *Angewandte Chemie International Edition*[J], 2014(53): 12320-12364.
- [8] Qian J, Wang D, Cai F, et al. *Biomaterials*[J], 2012(33): 4851-4860.
- [9] Wang D, Qian J, He S, et al. *Biomaterials*[J], 2011(32): 5880-5888.
- [10] Wang D, Qian J, Qin W, et al. *Scientific Reports*[J], 2014(4): 4279.
- [11] Qian J, Jiang L, Cai F, et al. *Biomaterials*[J], 2011(32): 1602-1610.
- [12] Zhang Y, Qian J, Wang D, et al. *Angewandte Chemie International Edition*[J], 2013(52): 1148-1151.
- [13] Hong Y, Lam J W Y, Tang B Z. *Chemical Society Reviews*[J], 2011(40): 5361-5388.
- [14] Zhao Z, He B, Tang B Z. *Chemical Science*[J], 2015(6): 5347-5365.
- [15] Hong Y, Lam J W Y, Tang B Z. *Chemical Communications*[J], 2009(29): 4332-4353.
- [16] Mei J, Leung N L, Kwok R T, et al. *Chemical Reviews*[J], 2015(115): 11718-11940.
- [17] Liang J, Tang B Z, Liu B. *Chemical Society Reviews*[J], 2015(44): 2798-2811.
- [18] Alivisatos A P. *Science*[J], 1996(271): 933-937.
- [19] Medintz I L, Uyeda H T, Goldman E R, et al. *Nature Materials*[J], 2005(4): 435-446.
- [20] Kairdolf B A, Smith A M, Stokes T H, et al. *Annual Review of Analytical Chemistry*[J], 2013(6): 143-162.
- [21] Murray C B, Norris D J, Bawendi M G. *Journal of the American Chemical Society*[J], 1993(115): 8706-8715.
- [22] Peng X, Manna L, Yang W, et al. *Nature*[J], 2000(404): 59-61.
- [23] Deng Z, Cao L, Tang F, et al. *The Journal of Physical Chemistry B*[J], 2005(109): 16671-16675.
- [24] Liao Yufeng(廖宇峰). *Thesis for Doctorate*(博士论文)[D]. Zhe-

- jiang: Zhejiang University, 2008: 22.
- [25] Bruchez M J, Moronne M, Gin P, *et al.* *Science*[J], 1998(281): 2013–2016.
- [26] Chan W C W, Nie S. *Science*[J], 1998(281): 2016–2018.
- [27] Dubertret B, Skourides P, Norris D J, *et al.* *Science*[J], 2002(298): 1759–1762.
- [28] Larson D R, Zipfel W R, Williams R M, *et al.* *Science*[J], 2003(300): 1434–1436.
- [29] Gao X, Cui Y, Levenson R M, *et al.* *Nature biotechnology*[J], 2004(22): 969–976.
- [30] Zhou J, Yang Y, Zhang C. *Chemical Reviews*[J], 2015(115): 11669–11717.
- [31] Li X, Qian J, Jiang L, *et al.* *Applied Physics Letters*[J], 2009(94): 063111.
- [32] Dyadyusha L, Yin H, Jaiswal S, *et al.* *Chemical Communications*[J], 2005(25): 3201–3203.
- [33] Wang D, Qian J, Cai F, *et al.* *Nanotechnology*[J], 2012(23): 245701.
- [34] Zhang Yejun(张叶俊), Wang Qiangbin(王强斌). *Materials China* (中国材料进展)[J], 2016, 35(1): 17–27.
- [35] Zhao J Y, Chen G, Gu Y P, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2016(138): 1893–1903.
- [36] Yong K T, Law W C, Hu R, *et al.* *Chemical Society Reviews*[J], 2013(42): 1236–1250.
- [37] Cha C, Shin S R, Annabi N. *ACS Nano*[J], 2013(7): 2891–2897
- [38] Xing Y, Dai L. *Nanomedicine*[J]. 2009(4): 207–218.
- [39] Vaijayanthimala V, Chang H C. *Nanomedicine*[J], 2009(4): 47–55.
- [40] Riggs J E, Guo Z, Carroll D L, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2000(122): 5879–5880.
- [41] Oconnell M J, Bachilo S M, Huffman C B, *et al.* *Science*[J], 2002(297): 593–596.
- [42] Bachilo S M, Strano M S, Kittrell C, *et al.* *Science*[J], 2002(298): 2361–2366.
- [43] Weisman R B, Bachilo S M. *Nano Letters*[J], 2003(3): 1235–1238.
- [44] Hong G, Lee J C, Robinson J T, *et al.* *Nature Medicine*[J], 2012(18): 1841–1846.
- [45] Schrand A M, Dai L, Schlager J J, *et al.* *Diamonds and Related Materials*[J], 2007(16): 2118–2123.
- [46] Zhu L, Chang D W, Dai L, *et al.* *Nano Letters*[J], 2007(7): 3592–3597.
- [47] Shukla S, Saxena S. *Applied Physics Letters*[J], 2011(98): 073104.
- [48] Sun X, Liu Z, Welscher K, *et al.* *Nano Research*[J], 2008(1): 203–212.
- [49] Li J L, Bao H C, Hou X L, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition*[J], 2012(51): 1830–1834.
- [50] Qian J, Wang D, Cai F H, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition*[J], 2012(51): 10570–10575.
- [51] Miao P, Han K, Tang Y, *et al.* *Nanoscale*[J], 2015(7): 1586–1595.
- [52] Wang D, Zhu L, Chen J F, *et al.* *Nanoscale*[J], 2015(7): 9894–9901.
- [53] Baker S N, Baker G A. *Angewandte Chemie International Edition*[J], 2010(49): 6726–6744.
- [54] Wang D, Chen J F, Dai L. *Particle & Particle Systems Characterization*[J], 2015(32): 515–523.
- [55] Xu X, Ray R, Gu Y, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2004(126): 12736–12737.
- [56] Sun Y P, Zhou B, Lin Y, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*, 2006(128): 7756–7757.
- [57] Wang D, Liu J, Chen J F, *et al.* *Advanced Materials Interfaces*[J], 2016(3): 1500439.
- [58] Wang D, Zhu L, McCleese C, *et al.* *RSC Advances*[J], 2016(6): 41516–41521.
- [59] Zhou L, Geng J, Liu B. *Particle & Particle Systems Characterization*[J], 2013(30): 1086–1092.
- [60] Zheng X T, Than A, Ananthanaraya A, *et al.* *ACS Nano*[J], 2013(7): 6278–6286.
- [61] Nurunnabi M, Khatun Z, Huh K M, *et al.* *ACS Nano*[J], 2013(7): 6858–6867.
- [62] Ge J, Lan M, Zhou B, *et al.* *Nature Communications*[J], 2014(5): 4596.
- [63] Chinen A B, Guan C M, Ferrer J R, *et al.* *Chemical Reviews*[J], 2015(115): 10530–10574.
- [64] Wang D, Zhu L, Chen J F, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition*[J], 2016(55): 10795–10799.
- [65] Chen G, Roy I, Yang C, *et al.* *Chemical Reviews*[J], 2016(116): 2826–2885.
- [66] Wang Dan(王丹), Qian Jun(钱骏), He Sailing(何赛灵). *Chinese Science Bulletin*(科学通报)[J], 2013, 58(7): 561–567.
- [67] Nyk M, Kumar R, Ohulchanskyy T Y, *et al.* *Nano Letters*[J], 2008(8): 3834–3838.
- [68] Xiong L, Chen Z, Yu M, *et al.* *Biomaterials*[J], 2009(30): 5592–5600.
- [69] Xiong L, Yang T, Yang Y, *et al.* *Biomaterials*[J], 2010(31): 7078–7085.
- [70] Xia A, Gao Y, Zhou J, *et al.* *Biomaterials*[J], 2011(32): 7200–7208.
- [71] Zhou J, Liu Z, Li F. *Chemical Society Reviews*[J], 2012(41): 1323–1349.
- [72] Zhou J, Liu Q, Feng W, *et al.* *Chemical Reviews*[J], 2014(115): 395–465.
- [73] Cheng L, Yang K, Li Y, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition*[J], 2011(50): 7385–7390.
- [74] Cheng L, Wang C, Liu Z. *Nanoscale*[J], 2013(5): 23–37.
- [75] Idris N M, Gnanasamandhan M K, Zhang J, *et al.* *Nature Medicine*[J], 2012(18): 1580–1585.
- [76] Lucky S S, Soo K C, Zhang Y. *Chemical Reviews*[J], 2015(115):

1990–2042.

[77] Zhan Q, Qian J, Liang H, *et al.* *ACS Nano* [J], 2011(5): 3744–3757.

[78] Wu C, Chiu D T. *Angewandte Chemie International Edition* [J], 2013(52): 3086–3109.

[79] Luan F, Gu B, Gomes A S L, *et al.* *Nano Today* [J], 2015(10): 168–192.

[80] Kunjachan S, Ehling J, Storm G, *et al.* *Chemical Reviews* [J], 2015(115): 10907–10937.

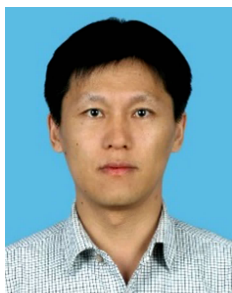
(编辑 吴琛)



专栏特约编辑陈建峰



特约撰稿人刘琦



特约撰稿人董晓臣



特约撰稿人邓正涛



特约撰稿人王丹

陈建峰: 男, 1965年生, 北京化工大学教授, 中国工程院院士, 有机无机复合材料国家重点实验室主任, 教育部超重力工程中心主任。国际超重力化工技术开拓者之一, 在国际上率先提出超重力反应器工程思想并实现了纳米材料的产业化应用。主持承担过国家自然科学基金委重大项目、创新研究群体项目、国家“863”重点项目、国家科技攻关计划重点项目、国家高技术产业化示范工程项目等系列国家重大、重点项目和国际公司合作项目。以第一完成人, 获2项国家技术发明二等奖和1项国家科技进步二等奖, 获美国DOW化学基金奖、何梁何利创新奖、全国优秀教师等荣誉。授权发明专利120余件(含国外16件), 发表SCI论文300余篇, 出版

著作2部、译著1部。

刘琦: 男, 1980年生, 中国科学院微电子研究所研究员, 中国科学院大学岗位教授, 硕士生导师, 国家优秀青年科学基金获得者。现为 *Adv Mater*, *Nano Lett*, *IEEE EDL* 等国际著名期刊的审稿人。研究方向是微纳加工技术和新型微纳电子器件, 在阻变存储器的性能优化、集成、微观机制的表征和建模上开展了系统的研究工作, 在 *Nat Commun*, *Adv Mater*, *Nano Lett*, *ACS Nano*, *Adv Funct Mater*, *EDL* 和 *APL* 等期刊发表SCI论文80多篇, SCI他引2200多次, H因子24, 获得授权中国发明专利28项, 美国发明专利3项。主持和参加了国家自然科学基金委、国家科技重大专项、“863”、“973”等多项关于新型存储技

术项目的研究工作。获得了2016年度国家自然科学基金二等奖(第二完成人), 2015年度中国电子学会科学技术进步奖自然类一等奖(第二完成人), 2014年度北京市科学技术二等奖1项(第二完成人)和2015年度中科院卢嘉锡青年人才奖等奖项。

董晓臣: 男, 1975年生, 教授, 博士生导师, 国家杰出青年科学基金获得者。现任南京工业大学研究生院副院长、学科建设处副处长。主要从事生物光电子、先进能源材料和生物传感研究, 先后主持国家自然科学基金、“973”计划前期研究专项、江苏省杰出青年科学基金等国家省部级科研项目20余项; 以通讯作者和第一作者身份在 *Advanced Materials*, *Physical Review Letters*, *ACS Nano* 等国际

顶级期刊发表SCI论文140多篇, 他引6200多次, 单篇最高引用650次, 申请发明专利11项, 出版专著、教材2部。

邓正涛: 男, 1980年生, 南京大学现代工程与应用科学学院教授, 博士生导师。2007年于中国科学院理化技术研究所获博士学位, 2007~2015年先后在美国亚利桑那大学、亚利桑那州立大学、麻省理工学院任博士后、研究助理教授、访问科学家。入选第十批国家“青年千人计划”和江苏“双创”人才计划。已发表SCI论文50余篇, 国际国内发明专利8项, 他引近3000次。担任多种知名国际学术刊物审稿人。目前研究方向是围绕量子点材料在广色域显示器件和荧光生物医学影像中应用的瓶颈问题, 开展荧光量子点材料合成、关键技术

基础理论和产业化等工程技术研究与创新。

王丹: 男, 1988年生, 博士, 副教授, 硕士生导师。2013年获浙江大学光学工程专业博士学位, 2015年至今任北京化工大学工程学院副教授, 教育部超重力工程研究中心骨干教师。曾以访问学者身份赴 Hannam University (合作导师: Prof. Kwang-Sup Lee), Case Western Reserve University (合作导师: Prof. Liming Dai) 进行合作研究。主要从事荧光纳米材料绿色制备和应用研究, 在 *Angew Chem Int Ed*, *ACS Nano*, *Biomaterials* 等期刊发表论文20余篇。主持国家自然科学基金项目1项, 作为项目骨干参与国家重点研发计划纳米科技重点专项和国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目各1项。