

特约专栏

稀土上转换发光纳米材料的制备及 生物医学应用研究进展

林敏^{1,2}, 赵英¹, 董宇卿¹, 周丽宏¹, 胡杰¹, 沙保勇¹,
韩玉龙¹, 陈咏梅³, 徐峰^{1,2}, 卢天健¹

(1. 西安交通大学生命科学与技术学院 生物医学信息工程教育部重点实验室, 陕西 西安 710049)
(2. 西安交通大学生物医学工程与生物力学中心, 陕西 西安 710049)
(3. 西安交通大学理学院, 陕西 西安 710049)

摘要: 荧光探针技术已经被广泛应用于生物成像、生物标记、生物检测、免疫分析等生物医学领域。传统荧光标记材料, 如有机荧光染料、荧光蛋白和半导体量子点, 目前面临诸多应用局限, 如发光强度不稳定、检测灵敏度低、生物毒性高、自荧光强等。有鉴于此, 人们开发了 La 系金属离子掺杂的稀土上转换发光纳米材料作为新型生物标记材料, 该材料受近红外光激发后发出近红外或可见光范围内的高能量光子。这种带有特殊光学性质及良好生物相容性的荧光标记材料克服了传统荧光标记材料的缺点, 从而成为材料科学与生物医学交叉领域的研究热点。综述了稀土纳米材料上转换功能的特殊物理机制及其制备和表面修饰方法的研究进展。在此基础上介绍了稀土上转换纳米材料在生物成像、检测、载药、即时诊断器件开发等生物医学工程中的应用。

关键词: 荧光探针; 稀土纳米材料; 上转换效应; 制备; 表面修饰; 生物医学应用

中图分类号: TQ133.3; TQ422 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2012)01-0036-08

Progress in Synthesis and Biomedical Applications of Rare Earth Upconversion Luminescent Nano Materials

LIN Min^{1,2}, ZHAO Ying¹, DONG Yuqing¹, ZHOU Lihong¹, Hu Jie¹,
SHA Baoyong¹, HAN Yulong¹, CHEN Yongmei³, XU Feng^{1,2}, LU Tianjian¹

(1. The Key Laboratory of Biomedical Information Engineering, Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)
(2. Biomedical Engineering and Biomechanics Center, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)
(3. School of Science, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: Fluorescent imaging technology has been widely used in bioimaging, biolabeling, biodetection, immunoassay and other biomedical applications. Traditional fluorescent materials, such as organic fluorescent dyes, fluorescent proteins and quantum dots, faces many limitations, such as low photostability, background autofluorescence, cytotoxicity and limited detection sensitivity. To address these issues, lanthanide (Ln)-doped upconversion nanoparticles (UCNPs) have been developed as a new class of fluorescent material. Such materials exhibit unique fluorescent property known as photon upconversion, providing tremendous advantages over conventional fluorophores for biomedical applications. This paper reviews recent advances in the synthesis of Ln-doped UCNPs and their surface modification, as well as their emerging applications in biomedicine. The future prospects of Ln-doped UCNPs for biomedical applications are also discussed.

Key words: fluorescent probe; RE nano materials; photon upconversion; synthesis; surface modification; biomedical applications

收稿日期: 2011-11-18

基金项目: 高等学校学科创新引智计划项目(111计划, B06024);
国家杰出青年自然科学基金项目(10825210); 国家重大
国际(地区)合作研究项目(11120101002); 国家自然科学基金
基金海外青年学者合作研究基金(31050110125)

作者简介: 林敏, 男, 1982年生, 博士

通信作者: 徐峰, 男, 1980年生, 教授

1 前言

有机荧光染料和荧光蛋白是最常用的体外成像造影剂, 但其具有光稳定性低(光漂白、闪烁)、由发光峰宽导致的光谱重叠等问题, 故在生物成像方面的应用受到很大局限^[1-3]; 作为荧光标记物, 量子点具有光学稳

定性好且发射带宽窄的特点^[4], 但量子点中含有 Cd 离子等有毒重金属离子, 对生物体有潜在的危害^[5]。此外, 无论是有机染料、荧光蛋白还是量子点, 均存在一个难以克服的缺陷, 即它们的激发光都处在紫外波段, 在该波段的激发光下, 生物体系中的核酸、多肽、氨基酸和蛋白质以及生物体组织等也会产生强烈的背景荧光, 从而降低了检测灵敏度^[5-6]。近年来发展起来的 La 系金属离子掺杂的稀土纳米材料, 具有独特的上转换光学性质, 克服了上述缺点, 显示出独特的优势, 如: ① 上转换稀土纳米材料所选用的无机质材料, 化学稳定性好、材料毒性低, 在生物体内不易形成聚集^[5, 7-12]; ② 在长时间激发光照射下发光依然非常稳定, 无闪烁, 不易光解和光漂白^[7, 13-14]; ③ 上转换稀土纳米材料激发光源为 980 nm 的近红外光, 可有效避免生物样品自发荧光的干扰和散射光干扰, 进而提高检测灵敏度^[13, 15-16]; ④ 980 nm 的激发光位于近红外区, 能量较低, 对生物体组织的损伤很小^[17]; 同时, 由于生物体组织一般对该波长激发光的吸收很低, 故近红外激发光在生物组织内具有很深的穿透力, 非常适合于体外或活体成像分析^[5]; ⑤ 通过调节所掺杂稀土元素的种类、溶度和基质材料, 可在同一激发光下, 实现多色上转换发光, 可用于多目标同时标记^[5, 18]。

由于稀土上转换纳米材料具有上述众多优点, 因此, 在生物检测、免疫分析和生物成像等方面, 较之量子点及有机荧光染料都有着无法替代的优势。随着纳米材料的制备及其表面修饰技术的发展, 稀土上转换纳米材料在生物医学领域具有不可限量的应用前景。本文综述了稀土上转换纳米材料的发光机制及其常用的制备方法和表面修饰方法, 并介绍了稀土上转换发光纳米材料在生物医学领域的典型应用, 如生物荧光成像、即时诊断器件开发、基于荧光共振能量转移的检测、药物输送, 最后提出了在应用中亟待解决的问题。

2 上转换发光机制

作为一种较为特殊的发光现象, 上转换效应通过吸收低能激发光子转换为高能发射光子。但这并未违反能量守恒定律, 因为高能量光子的发射是通过吸收多个低能量光子而产生的, 这种过程称为上转换发光。总体而言, 上转换过程可归结为以下 3 种激发方式^[19]。

激发态吸收上转换 (Excitation State Absorption, ESA) 同一个电子从基态能级经过连续双光子或多光子吸收跃迁到能量较高的激发态能级的过程, 并以光的形式释放能量, 形成上转换发光, 如图 1a 所示, 这是上转换发光的最基本过程。

能量传递上转换 (Energy Transfer Upconversion, ETU) 这一过程一般发生在不同类型的离子之间, 如图 1b 所示。当敏化中心 S 和激活中心 A 的激发态和基态能级之间的能量差相同且两者之间距离足够近时, 两者之间可发生共振能量传递, 使得 A 离子中的电子跃迁至更高的激发态能级, 这种传递方式称为能量传递过程。

光子雪崩上转换 (Photon Avalanche, PA) 首先是处于基态离子中的电子, 通过非共振基态吸收作用达到激发态 E_1 能级, 然后通过共振激发态吸收过程, 到达较高能级 E_2 , 随后与邻近的基态离子间发生交叉弛豫能量转移 (或离子间弛豫过程), 结果导致两个离子到达中间能级 E_1 。如此反复, 最终导致 E_2 能级的电子数随时间呈指数型增加, 称作光子雪崩过程, 如图 1c 所示。

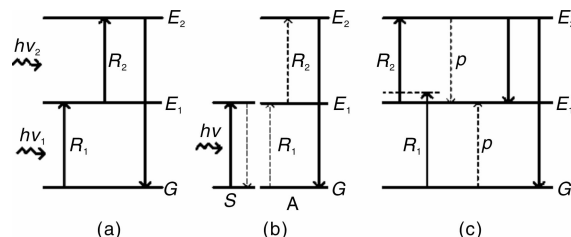


图1 上转换机制示意图: (a) 激发态吸收, (b) 能量传递, (c) 光子雪崩

Fig. 1 Schematic of upconversion mechanism: (a) excited state absorption, (b) energy transfer upconversion, and (c) photon avalanche

上述 3 种上转换过程的发光效率有很大不同, 其中 ESA 是效率最低的上转换过程, 而 ETU 过程是即时的且不受泵浦功率的影响, 可提供高效率的上转换发光 (比 ESA 约高两个数量级)。

3 稀土上转换发光纳米材料的制备方法

材料通常由基质材料、激活剂和敏化剂构成。要制备高效的上转换发光材料, 首先需要寻找合适的基质材料, 基质材料本身不会因受到激发而发光, 但能为激活离子提供适合的晶体场。激活剂可让激发和发光发生在同一个离子上。敏化剂自身并不发光, 但其强烈吸收外界能量后可有效地将能量传递给激活剂, 从而增强激活剂的发光效率。

3.1 基质材料的选择标准

对于基质材料, 一般要求其晶格常数尽可能与掺杂离子匹配并且对入射光的吸收较低^[19]。常用的基质材料主要有氧化物、氟化物和氯化物等^[18, 20-24]。就上转

换发光效率而言,若单从材料的声子能量方面来考虑,一般认为氯化物 > 氟化物 > 氧化物,若仅考虑材料结构的稳定性,则氯化物 < 氟化物 < 氧化物。因此,基于实际应用需求,人们希望找到既有氯化物或氟化物那样高的上转换效率,又兼有类似氧化物结构稳定性的新基质材料。目前,常用的氟化物材料有: LaF_4 、 YF_4 和 NaYF_4 ^[25-28]。氧化物材料有: Y_2O_3 和 $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S}$ ^[29]。

3.2 掺杂离子的选择标准

稀土元素离子 Ho^{3+} , Nd^{3+} , Tm^{3+} , Er^{3+} 具有丰富的能级结构,由于 4f 能级的电子屏蔽作用,其能级寿命较长,有很高的上转换效率,是目前研究较多的激活剂^[19]。稀土离子 Yb^{3+} 的激发波长是 980 nm,与 Er^{3+} 第一激发态的吸收能量一致,且吸收截面远大于 Er^{3+} ,吸收能量后可传递给 Er^{3+} ,因而是一种很有效的敏化剂。加入 Yb^{3+} 后, Er^{3+} 的上转换效率可提高 1~2 个数量级^[30]。

3.3 制备方法

稀土上转换纳米材料具有优异的发光性能及广阔的应用前景。为了制备性能优异的上转换发光材料,人们尝试了多种不同的合成方法,如高温固相法、沉淀法、溶胶-凝胶法、微乳液法、水热合成法等。判断一种合成方法是否合适的关键,取决于如下因素:① 纳米微粒的结晶度高;② 方法简便、易操作且重复性好;③ 产物的粒径、形貌均一,不产生团聚现象;④ 有较好的热稳定性,产率高,发光效率高^[31-33]。

以下简单介绍 3 种最常用的合成方法。

3.3.1 沉淀法

沉淀法利用可溶性物质,在水溶液中进行化学反应,生成难溶物质,将其从水溶液中沉淀出来,然后再经过滤、洗涤、干燥、焙烧等工艺过程,得到稀土上转换发光纳米材料^[34-35]。该方法的特点是:操作工艺简单、成本较低、反应温度低,适用于批量生产。但产物晶化程度较低是其主要缺点^[34]。以 NaYF_4 : Yb, Er 的制备为例,沉淀法的产物一般为立方相 NaYF_4 : Yb, Er, 其上转换发光效率较低,需经后续的煅烧处理才能得到上转换发光效率较高的六方相 NaYF_4 : Yb, Er^[36]。采用沉淀法制备其他稀土上转换发光纳米材料,如 LuPO_4 : Yb, Tm 和 YbPO_4 : Er, Tm, 也需要后续的高温煅烧处理^[35]。

3.3.2 溶胶-凝胶法

溶胶-凝胶法是将金属醇盐或无机盐经水解直接形成溶胶(或经解凝形成凝胶),然后使溶质聚合凝胶化,再将凝胶干燥、焙烧去除有机成分,最后得到产品,常

用于制备氧化物基稀土上转换纳米材料,如 YVO_4 : Yb, Er, $\text{Lu}_3\text{Ga}_5\text{O}_{12}$: Er, BaTiO_3 : Er, TiO_2 : Er 和 ZrO_2 : Er 等^[37-41]。溶胶-凝胶法具有反应条件温和、设备简单、操作简便、易于大规模生产等优势,但存在反应条件不易控制、产物团聚严重、需要后续高温热处理等不足。

3.3.3 水热合成法

水热合成法主要是利用许多化合物在高温高压溶液中表现出如溶解度增大、离子活度增加等与在常温下不同的性质,来制备稀土上转换纳米材料^[34, 42-44]。其优点是可直接得到结晶粉末,粒子纯度高、分散性好,且形貌、粒径可控制。与其他方法相比,水热合成法最大的优越性在于:在反应物中加入 PEI, PVP 等,通过一次合成过程可同时实现稀土上转换纳米材料的制备及表面修饰^[11, 45]。但水热合成法存在反应过程机制不清晰的问题。

4 稀土上转换纳米材料的表面修饰

近年来,人们虽然已采用多种方法制备了不同形貌、尺寸可控、粒径均一的稀土上转换纳米材料,但仍难以获得良好的水溶性和生物相容性,限制了其在生物医学领域的应用,故需要在合成纳米颗粒之后对其表面进行修饰。表面修饰不仅能增强稀土上转换纳米材料的发光效率,还可为其在生物医学中的应用提供适当的功能。根据不同表面修饰的目的,对稀土上转换纳米材料进行表面修饰可分为表面钝化和表面功能化两类。

4.1 表面钝化

稀土上转换纳米材料的发光效率比其相应的块体材料的发光效率低^[36]。这主要是由于纳米量级颗粒表面掺杂离子的相对浓度较高,受表面杂质、配体以及溶剂引起的荧光猝灭,或能量通过非辐射的方式消散^[36]。表面钝化即在稀土上转换纳米颗粒外部包覆同质稀土层、二氧化硅层或聚合物层的方法,以便有效地抑制内部离子的激发能量转移到纳米颗粒的表面,从而提高上转换发光效率。例如,在 NaYF_4 : Yb, Tm 纳米颗粒表面修饰一层约 2 nm 厚未掺杂的 NaYF_4 和聚丙烯酸后,上转换发光效率提高近 30 倍; NaYF_4 : Yb, Er 纳米颗粒经过同样修饰后,其上转换效率提高近 7 倍^[26]。 KYF_4 : Yb, Er 和 NaGdF_4 : Er, Yb 纳米颗粒通过表面修饰后,其上转换发光效率也有不同程度的提高^[46-47]。

4.2 表面功能化

表面功能化即在上转换稀土纳米颗粒表面修饰一层或多层官能基团,使得修饰后的纳米颗粒具有亲水/疏

水性或便于连接其他如蛋白质、DNA、抗体/抗原等以实现特殊的生物功能。常见的表面功能化方法有^[48]: 表面配体氧化法, 表面配体交换法, 聚合物包裹法, 二氧化硅包覆法, 层层自组装包覆法。

4.2.1 表面配体氧化法

为了得到亲水性纳米颗粒, 利用 Lemieux-von Rudloff($\text{KMnO}_4 + \text{NaIO}_4$ 水溶液)试剂将稀土上转换纳米颗粒表面的油酸配体氧化成羧二酸配体, 就可或得亲水性羧酸功能化的稀土上转换纳米颗粒^[49]。氧化过程对纳米颗粒的相结构、组成、形貌和发光性能没有明显影响。羧基基团的存在不仅使稀土上转换纳米颗粒具有良好的水溶性, 而且可使其进一步和各类生物分子(例如链亲合素)直接偶联。但是, 这种方法仅适用于本身不会被氧化、且表面配体含有碳碳不饱和键的稀土上转换纳米颗粒, 例如表面有油酸或者亚油酸的稀土上转换纳米颗粒。

4.2.2 表面配体交换法

表面配体交换法主要采用配位能力较强、多功能有机配体来取代稀土上转换纳米颗粒表面配位能力较弱、疏水性有机配体, 最终制备出具有亲水性的稀土上转换纳米颗粒^[50]。例如 Kumar 等^[51]采用 3-巯基丙酸, 通过表面配体交换法置换纳米颗粒表面的油酸, 得到末端为羧基的可溶性稀土上转换纳米颗粒。这种方法的局限性在于很难确定配体交换的效率。

4.2.3 聚合物包裹法

聚合物包裹法是利用两亲性聚合物的疏水链和稀土上转换纳米颗粒表面的长烷基链之间的范德华力作用, 包覆在纳米粒子表面, 再加上亲水端的亲水作用, 形成一个疏水/亲水的有机核壳结构^[26]。这不仅解决了水溶性和官能团的问题, 而且减弱了水对稀土上转换纳米颗粒的荧光猝灭效应。这种方法工艺相对较复杂。

4.2.4 二氧化硅包覆法

二氧化硅包覆法是利用硅烷前驱体的水解聚合, 在稀土上转换纳米颗粒表面靠共价键作用包覆一层厚度可控的二氧化硅层^[52]: 采用 Stöber 法和反向微乳液法可分别包覆亲水性和疏水性的纳米粒子^[53]。二氧化硅包覆后的稀土上转换纳米颗粒具有较好的水溶性和生物相容性, 因而广泛应用于稀土上转换纳米颗粒的表面修饰。然而, 这种方法对工艺的要求较高, 难以精确控制包覆层的厚度和形貌。

4.2.5 静电吸引层层组装包覆法(LBL)

LBL 法首先在疏水的稀土上转换纳米颗粒表面吸附一层带电聚合物, 然后将其加入到带异种电荷的聚合物溶液中, 这两类聚合物因带有异种电荷而相互吸引; 如

此依次吸附, 两种聚合物可在纳米颗粒的表面交替组装成有机壳层^[54], 通过改变吸附层数可调控有机壳层厚度, 从而优化稀土上转换纳米颗粒在水溶液中的稳定性和在生物体内的相容性。此法操作较复杂, 需反复洗涤, 严格控制表面电荷, 且聚电解质较为昂贵, 实际推广应用有一定困难。

5 稀土上转换发光纳米材料在生物医学中的应用

La 系金属离子掺杂的稀土上转换发光纳米材料, 具有独特上转换发光性质、光学性质稳定、对细胞的毒性小, 且激发波长在近红外区(980 nm), 对生物组织具有良好的穿透性且不会对组织、DNA、蛋白质等造成光伤害; 同时还可避免背景自荧光, 提高荧光信噪比, 因此在生物成像、免疫分析、生物检测和药物输送等方面有着广阔的应用前景。以下举例介绍几种典型的生物医学应用。

5.1 生物荧光成像

荧光探针在光学成像中的地位日显重要, 在药理学、分子生物学、诊断学、细胞的实时成像及体内深层组织成像中的应用也越来越广泛^[55-57]。传统的荧光材料需要较高能量的光子激发, 如紫外光, 而紫外光照射能造成组织的光损伤, 更为重要的是, 紫外光可被组织强烈吸收, 因而在组织中的穿透能力有限, 从而限制了传统荧光材料在体内深层组织成像中的应用。而稀土上转换纳米材料能在近红外光激发下, 发出可见光, 可很好地避免激发光对组织造成的损伤, 且近红外激发光的应用增加了光子在组织中的穿透极限。例如, Chatterjee 等^[5]比较了量子点和 PEI 包覆的 $\text{NaYF}_4: \text{Yb}, \text{Er}$ 纳米材料在动物深层组织中的成像能力(如图 2 所示), 发现 PEI 包覆的 $\text{NaYF}_4: \text{Yb}, \text{Er}$ 纳米材料在深度为 10 mm 的组织内依然可见清晰的荧光; 与此相比较, 在大鼠足部半透明的皮肤组织下的量子点发出的绿色荧光已经非常微弱^[5]。

5.2 即时诊断器件开发

即时诊断装置(如侧流免疫层析快速检测试纸)可快速检测传染性病原体、肿瘤生物标记物和化学分析物。该类装置不仅价格便宜, 操作使用方便, 而且消除了对昂贵大型仪器和熟练操作人员的需求^[58]。侧流免疫层析快速检测试纸是最常用的即时诊断装置之一, 依靠纳米晶或其他胶体颗粒实现其检测功能。虽然结果可以肉眼观察, 但由于缺乏灵敏度, 特别是在传染病初期、分析物浓度相对较低时, 检测试纸条的使用受到了限制。因此, 需要进一步改进试纸条的设计, 以提高检测

灵敏度。凭借快速的检测速度 ($<10\text{ min}$) 和极低的检测极限 ($1\text{ ng}/\mu\text{L}$)，稀土上转换发光纳米粒子在即时诊断器件开发应用中受到广泛关注^[59-61]。Niedbala 等^[59]设

计了一个侧流免疫层析快速检测试纸，利用多色上转换纳米粒子 ($\text{Y}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$)，根据荧光的颜色和位置成功地检测到了唾液中的苯丙胺、甲基苯丙胺、苯环

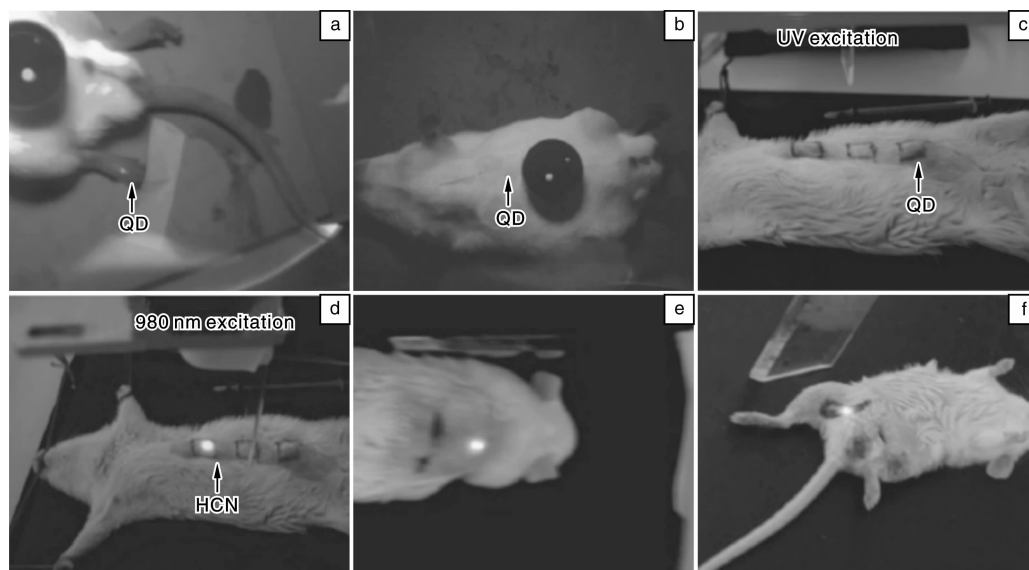


图 2 大鼠活体荧光成像：量子点 (QDs) 被注入大鼠足部半透明的皮肤处显示微弱的绿色荧光 (a)；在背部 (b) 和腹部 (c) 不显示荧光；注入到腹部皮肤下 (d)，背部皮肤下 (e) 及大腿肌肉中 (f) 的 PEI 包覆的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ 纳米材料发出清晰的荧光。(a, b) 中将量子点置于黑色背底作为对照。

Fig. 2 In vivo imaging of rat : quantum dots (QDs) injected into translucent skin of foot, show green fluorescence (a), but not showing through thicker skin of back (b) or abdomen (c); PEI/ $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ nanoparticles injected below abdominal skin (d), below skin of back (e), or thigh muscles (f) showing luminescence, QDs on black disk in (a, b) are used as contrast

已哌啶和阿片制剂，如图 3 所示。

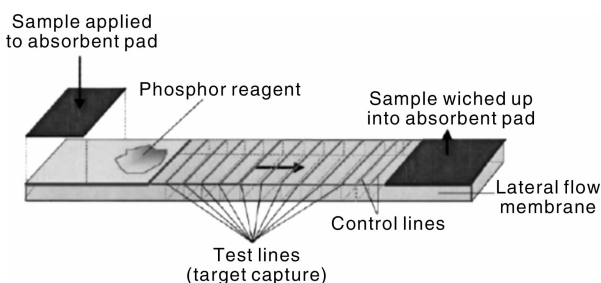


图 3 上转换荧光技术侧流免疫层析快速检测试纸结构示意图，容纳多达 12 条不同的检测线

Fig. 3 Structural diagram of upconversion fluorescence based lateral flow immunity chromatographic test paper, the architecture of the lateral flow strip is designed to accommodate up to 12 distinct test lines

5.3 基于荧光共振能量转移的检测

荧光共振能量转移要求供体和受体之间的高效能量转移，通常需要两者间距离小于 10 nm 。基于荧光共振能量转移的粒子对以稀土上转换纳米粒子作为供体，依赖于耦合上转换纳米粒子和下转换荧光团之间的荧光共

振能量转移：当两者极为贴近时，近红外光激发稀土上转换纳米粒子产生上转换荧光发射，并由此激发下转换荧光团产生荧光。利用这一原理，Zhang 等^[49]开发了高灵敏度、高特异性、基于上转换荧光共振能量转移的单链核酸生物探针，如图 4 所示。该方法的原理是在两段短链寡核苷酸上分别吸附上转换纳米粒子和荧光团，然后将其作为捕获长链目标寡核苷酸链的探针。当目标核酸存在时，两个探针都结合到各自的互补序列，这样上转换纳米粒子和荧光团之间的间距足够近，从而产生能量共振转移。发射光谱的强度与供体-受体对的数目呈线性相关，即和目标寡核苷酸的浓度成正比。

5.4 药物输送

光动力学疗法 (PDT) 采用光激活化学物质 (光敏剂)，从而产生单线态氧，最终导致细胞死亡。用于激活光敏剂的激发光通常为在可见-近红外波段，但对人体组织的穿透能力有限，故光动力学疗法常常受到组织深度的限制。Zhang 等^[62]首次报道了将稀土上转换纳米材料应用于光动力学疗法，他们将光敏剂和肿瘤靶向抗体附着到表面包裹有二氧化硅的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ 纳米颗粒上，并将该复合颗粒用于光动力学疗法 (图 5)。该

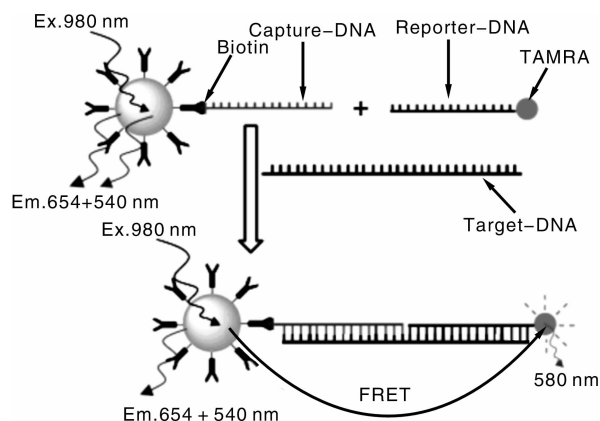


图4 基于上转换荧光共振能量转移的单链核酸生物探针设计原理示意图

Fig. 4 Schematic of design principle of DNA nanosensors based on upconversion fluorescent resonance energy transfer

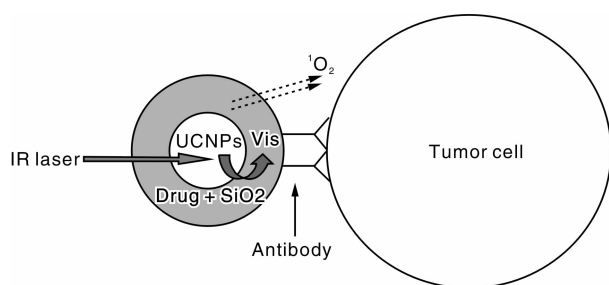


图5 上转换稀土纳米材料在光动力学疗法中应用示意图

Fig. 5 Schematic of design of upconversion nanoparticles (UCNPs) based drug delivery system for photodynamic therapy

纳米颗粒载药系统主要有3种作用: ①装载光敏剂; ②对肿瘤细胞的靶向作用; ③把低能、组织穿透性好的激发光转换成高能光子以激发光敏剂。基于类似的原理, 研究者开发了不同的上转换稀土纳米材料载药系统, 应用于光动力学疗法^[63-67]。

6 结 语

虽然针对稀土上转换发光纳米材料的研究尚处于起步阶段, 但已取得了令人瞩目的研究成果, 引发广泛关注, 该领域还有许多问题亟待解决, 如小粒径、高结晶度、分散均匀、具有较高稳定性和发光效率上转换稀土纳米材料的可控合成和表面改性方法; 对细胞和活体组织的毒性以及在活体内的代谢情况; 多功能生物医学应用开发等。进一步探索和建立功能化稀土上转换纳米材料的制备和应用理论体系对拓宽稀土上转换发光材料在生物医学领域的应用范围具有重大的科学意义和实用价值, 相关研究将继续成为化学、材料科学和生物医学交叉学科领域的研究热点。

参考文献 References

- [1] Jaafar I H, LeBlon C E, Wei M T, *et al.* Improving Fluorescence Imaging of Biological Cells on Biomedical Polymers[J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(4): 1 588 - 1 598.
- [2] Weiss S. Fluorescence Spectroscopy of Single Biomolecules[J]. *Science*, 1999, 283(5408): 1 676 - 1 683.
- [3] Wu X Y, Liu H J, Liu J Q, *et al.* Corrigendum: Immunofluorescent Labeling of Cancer Marker Her 2 and Other Cellular Targets with Semiconductor Quantum Dots[J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(4): 452 - 452.
- [4] Xing Y, Rao J. Quantum Dot Bioconjugates for in Vitro Diagnostics & in Vivo Imaging[J]. *Cancer Biomarkers*, 2008, 4(6): 307 - 319.
- [5] Chatterjee D K, Rufaihah A J, Zhang Y. Upconversion Fluorescence Imaging of Cells and Small Animals Using Lanthanide Doped Nanocrystals[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(7): 937 - 943.
- [6] Janczewski D, Zhang Y, Das G K, *et al.* Bimodal Magnetic-Fluorescent Probes for Bioimaging[J]. *Microsc Res and Techniq*, 2010, 74(7): 563 - 576.
- [7] Park Y I, Kim J H, Lee K T, *et al.* Nonblinking and Nonbleaching Upconverting Nanoparticles as an Optical Imaging Nanoprobe and T1 Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent[J]. *Adv Mater*, 2009, 21(44): 4 467 - 4 471.
- [8] Xiong L Q, Chen Z G, Yu M X. Synthesis, Characterization, and in Vivo Targeted Imaging of Amine-Functionalized Rare-Earth Up-Converting Nanophosphors[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(29): 5 592 - 5 600.
- [9] Xiong L Q, Yang T S, Yang Y, *et al.* Long-Term in Vivo Biodistribution Imaging and Toxicity of Polyacrylic Acid-Coated Upconversion Nanophosphors[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(27): 7 078 - 7 085.
- [10] Abdul Jalil R, Zhang Y. Biocompatibility of Silica Coated NaYF₄ Upconversion Fluorescent Nanocrystals[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(30): 4 122 - 4 128.
- [11] Wang F. Synthesis of Polyethylenimine/NaYF₄ Nanoparticles with Upconversion Fluorescence[J]. *Nanotechnology*, 2006, 17(23): 5 786.
- [12] Tsien R Y. The Green Fluorescent Protein[J]. *Annual Review Biochemistry*, 1998, 67(1): 509 - 544.
- [13] Idris N M, Li Z Q, Ye L, *et al.* Tracking Transplanted Cells in Live Animal Using Upconversion Fluorescent Nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(28): 5 104 - 5 113.
- [14] Sia S K, Linder V, Parviz B A, *et al.* An Integrated Approach to a Portable and Low-Cost Immunoassay for Resource-Poor Settings[J]. *Angew Chem Int Edit*, 2004, 43(4): 498 - 502.
- [15] Johnson N J J, Sangeetha N M, Boyer J C, *et al.* Facile Ligand-Exchange with Polyvinylpyrrolidone and Subsequent Silica Coat-

- ing of Hydrophobic Upconverting β -NaYF₄: Yb³⁺/Er³⁺ Nanoparticles[J]. *Nano*, 2010, 2(5): 771.
- [16] Wu X J, Zhang Q B, Wang X, *et al.* One-Pot Synthesis of Carboxyl-Functionalized Rare Earth Fluoride Nanocrystals with Monodispersity, Ultrasmall Size and Very Bright Luminescence[J]. *Eur J Inorg Chem*, 2011, 2011(13): 2 158 – 2 163.
- [17] Jiang S, Zhang Y. Upconversion Nanoparticles-Based FRET System for Study of siRNA in Live Cells[J]. *Langmuir*, 2010, 26: 6 689 – 6 694.
- [18] Yu X F, Li M, Xie M Y, *et al.* Dopant-Controlled Synthesis of Water-Soluble Hexagonal NaYF₄ Nanorods with Efficient Upconversion Fluorescence for Multicolor Bioimaging[J]. *Nano Res*, 2010, 3(1): 51 – 60.
- [19] Wang F, Liu X G. Recent Advances in the Chemistry of Lanthanide-Doped Upconversion Nanocrystals [J]. *Chem Soc Rev*, 2009, 38(4): 976 – 989.
- [20] Liang S, Liu Y, Tang Y, *et al.* A User-Friendly Method for Synthesizing High-Quality NaYF₄: Yb, Er (Tm) Nanocrystals in Liquid Paraffin[J]. *J Nanomater*, 2011, 2011: 1.
- [21] Sudheendra L, Ortalan V, Dey S, *et al.* Plasmonic Enhanced Emissions from Cubic NaYF₄: Yb: Er/Tm Nanophosphors[J]. *Chem Mater*, 2011, 23(11): 2 987 – 2 993.
- [22] Singh S, Singh A, Kumar D, *et al.* Efficient UV-Visible Up-Conversion Emission in Er³⁺/Yb³⁺ Co-Doped La₂O₃ Nanocrystalline Phosphor[J]. *Appl Phys B-Lasers O*, 2010, 98(1): 173 – 179.
- [23] Yang J, Zhang C M, Peng C, *et al.* Controllable Red, Green, Blue (RGB) and Bright White Upconversion Luminescence of Lu₂O₃: Yb³⁺/Er³⁺/Tm³⁺ Nanocrystals Through Single Laser Excitation at 980 nm[J]. *Chem-A Eur J*, 2009, 15(18): 4 649 – 4 655.
- [24] Kamimura M, Miyamoto D, Saito Y, *et al.* Design of Poly (Ethylene Glycol)/Streptavidin Coimmobilized Upconversion Nanophosphors and Their Application to Fluorescence Biolabeling[J]. *Langmuir*, 2008, 24(16): 8 864 – 8 870.
- [25] Liu C, Chen D. Controlled Synthesis of Hexagon Shaped Lanthanide-Doped LaF₃ Nanoplates with Multicolor Upconversion Fluorescence[J]. *J Mater Chem*, 2007, 17(37): 3 875 – 3 880.
- [26] Yi G-S, Chow G-M. Water-Soluble NaYF₄: Yb, Er (Tm)/NaYF₄/Polymer Core/Shell/ Shell Nanoparticles with Significant Enhancement of Upconversion Fluorescence[J]. *Chem Mater*, 2006, 19(3): 341 – 343.
- [27] Boyer J C, Cuccia L A, Capobianco J A. Synthesis of Colloidal Upconverting NaYF₄: Er³⁺/Yb³⁺ and Tm³⁺/Yb³⁺ Monodisperse Nanocrystals[J]. *Nano Lett*, 2007, 7(3): 847 – 852.
- [28] Heer S, Kömpe K, Güdel H U, *et al.* Highly Efficient Multicolour Upconversion Emission in Transparent Colloids of Lanthanide-Doped NaYF₄ Nanocrystals[J]. *Adv Mater*, 2004, 16(23/24): 2 102 – 2 105.
- [29] Kamimura M, Miyamoto D, Saito Y, *et al.* Design of Poly (Ethylene Glycol)/Streptavidin Coimmobilized Upconversion Nanophosphors and Their Application to Fluorescence Biolabeling[J]. *Langmuir*, 2008, 24(16): 8 864 – 8 870.
- [30] Soukka T, Rantanen T, Kuningas K. Photon Upconversion in Homogeneous Fluorescence-Based Bioanalytical Assays [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008, 1130(1): 188 – 200.
- [31] Wang F, Han Y, Lim C S, *et al.* Simultaneous Phase and Size Control of Upconversion Nanocrystals through Lanthanide Doping[J]. *Nature*, 2010, 463(7284): 1 061 – 1 065.
- [32] Zhang F, Li J, Shan J, *et al.* Shape, Size, and Phasecontrolled Rare-Earth Fluoride Nanocrystals with Optical Upconversion Properties[J]. *Chem Eur J*, 2009, 15: 11 010 – 11 019.
- [33] Shan J N, Ju Y G. A Single-Step Synthesis and the Kinetic Mechanism for Monodisperse and Hexagonal-Phase NaYF₄: Yb, Er Upconversion Nanophosphors[J]. *Nanotechnology*, 2009, 20(27): 275 603.
- [34] Du H Y, Zhang W H, Sun J Y. Structure and Upconversion Luminescence Properties of BaYF₅: Yb³⁺, Er³⁺ Nanoparticles Prepared by Different Methods[J]. *J Alloy Compd*, 2011, 509(7): 3 413 – 3 418.
- [35] Xu Z H, Li C X, Yang P P, *et al.* Uniform Ln(OH)₃ and Ln₂O₃ (Ln = Eu, Sm) Submicrospindles: Facile Synthesis and Characterization[J]. *Cryst Growth Des*, 2009, 9(9): 4 127 – 4 135.
- [36] Yi G, Lu H, Zhao S, *et al.* Synthesis, Characterization, and Biological Application of Size-Controlled Nanocrystalline NaYF₄: Yb, Er Infrared-to-Visible Up-Conversion Phosphors[J]. *Nano Lett*, 2004, 4(11): 2 191 – 2 196.
- [37] Patra A, Friend C S, Kapoor R, *et al.* Upconversion in Er³⁺: ZrO₂ Nanocrystals[J]. *The J Phys Chem B*, 2002, 106(8): 1 909 – 1 912.
- [38] Patra A, Friend C S, Kapoor R, *et al.* Fluorescence Upconversion Properties of Er³⁺-Doped TiO₂ and BaTiO₃ Nanocrystallites [J]. *Chem Mater*, 2003, 15(19): 3 650 – 3 655.
- [39] Li C X, Quan Z W, Yang P P, *et al.* Shape-Controllable Synthesis and Upconversion Properties of Lutetium Fluoride (Doped with Yb³⁺/Er³⁺) Microcrystals by Hydrothermal Process[J]. *J Phys Chem C*, 2008, 112(35): 13 395 – 13 404.
- [40] Quan Z W, Yang D M, Li C X, *et al.* Multicolor Tuning of Manganese-Doped ZnS Colloidal Nanocrystals[J]. *Langmuir*, 2009, 25(17): 10 259 – 10 262.
- [41] Liu Y, Pisarski W A, Zeng S, *et al.* Tri-Color Upconversion Luminescence of Rare Earth Doped BaTiO₃ Nanocrystals and Lowered Color Separation[J]. *Opt Express*, 2009, 17(11): 9 089 – 9 098.

- [42] Feng S H, Xu R R. New Materials in Hydrothermal Synthesis [J]. *Accounts Chem Res*, 2000, 34(3): 239–247.
- [43] Chuai X H, Zhang D S, Zhao D, *et al.* Synthesis and Characterization of Yb^{3+} , Tm^{3+} : Ba_2YF_7 Nanocrystalline with Efficient Upconversion Fluorescence [J]. *Mater Lett*, 2011, 65 (15–16): 2368–237.
- [44] Huang P, Chen D Q, Wang Y S. Host-Sensitized Multicolor Tunable Luminescence of Lanthanide ion Doped One-Dimensional YVO_4 Nano-Crystals [J]. *J Alloy Compd*, 2011, 509 (7): 3375–3381.
- [45] Liu Y X, Pisarski W A, Zeng S J, *et al.* Tri-Color Upconversion Luminescence of Rare Earth Doped BaTiO_3 Nanocrystals and Lowered Color Separation [J]. *Opt Express*, 2009, 17 (11): 9089–9098.
- [46] Schäfer H, Ptacek P, Zerzouf O, *et al.* Synthesis and Optical Properties of KYF_4/Yb , Er Nanocrystals, and Their Surface Modification with Undoped KYF_4 [J]. *Adv Funct Mater*, 2008, 18(19): 2913–2918.
- [47] Vetrone F, Naccache R, Mahalingam V, *et al.* The Active-Core/Active-Shell Approach: A Strategy to Enhance the Upconversion Luminescence in Lanthanide-Doped Nanoparticles [J]. *Adv Funct Mater*, 2009, 19(18): 2924–2929.
- [48] Li C, Lin J. Rare Earth Fluoride Nano-/Microcrystals: Synthesis, Surface Modification and Application [J]. *J Mater Chem*, 2010, 20(33): 6831–6847.
- [49] Chen Z, Chen H, Hu H, *et al.* Versatile Synthesis Strategy for Carboxylic Acid-Functionalized Upconverting Nanophosphors as Biological Labels [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130(10): 3023–3029.
- [50] Boyer J C, Manseau M P, Murray J I, *et al.* Surface Modification of Upconverting NaYF_4 Nanoparticles with PEG-Phosphate Ligands for NIR (800 nm) Biolabeling within the Biological Window [J]. *Langmuir*, 2009, 26(2): 1157–1164.
- [51] Kumar R, Nyk M, Ohulchanskyy T Y, *et al.* Combined Optical and MR Bioimaging Using Rare Earth ion Doped NaYF_4 Nanocrystals [J]. *Adv Funct Mater*, 2009, 19(6): 853–859.
- [52] Li Z Q, Zhang Y. Monodisperse Silica-Coated Polyvinylpyrrolidone/ NaYF_4 Nanocrystals with Multicolor Upconversion Fluorescence Emission [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2006, 45 (46): 7732–7735.
- [53] Li Z Q, Guo H C, Qian H S, *et al.* Facile Microemulsion Route to Coat Carbonized Glucose on Upconversion Nanocrystals as High Luminescence and Biocompatible Cell-Imaging Probes [J]. *Nanotechnology*, 2010, 21(31): 315105.
- [54] Wang L Y, Yan R X, Huo Z Y, *et al.* Fluorescence Resonant Energy Transfer Biosensor Based on Upconversion-Luminescent Nanoparticles [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2005, 44(37): 6054–6057.
- [55] Eltzov E, Pavluchkov V, Burstain M, *et al.* Creation of a Fiber Optic Based Biosensor for Air Toxicity Monitoring [J]. *Sensor Actuat B-Chem*, In Press, Accepted Manuscript.
- [56] Lissette Agüero, Luis G, Katime I, *et al.* New Family of Functionalized Monomers Based on Amines: A Novel Synthesis that Exploits the Nucleophilic Substitution Reaction [J]. *Mater Sci App*, 2010, 1(3): 103–108.
- [57] Chen Zhigang(陈志刚), Song Yuelin(宋岳林), Tian Qiwei(田启威), *et al.* 稀土上转换发光纳米材料的研究进展 [J]. *Modern Chemical Industry(现代化工)*, 2010, 30(7): 27–33.
- [58] Wang S Q, Xu F, Demirci U. Advances in Developing HIV-1 Viral Load Assays for Resource-Limited Settings [J]. *Biotechnol Adv*, 2010, 28(6): 770–781.
- [59] Niedbala R S, Feindt H, Kardos K, *et al.* Detection of Analytes by Immunoassay Using Up-Converting Phosphor Technology [J]. *Anal Biochem*, 2001, 293(1): 22–30.
- [60] Zuidewijk M, Tanke H J, Sam Niedbala R, *et al.* An Amplification-Free Hybridization-Based DNA Assay to Detect *Streptococcus Pneumoniae* Utilizing the Up-Converting Phosphor Technology [J]. *Clin Biochem*, 2003, 36(5): 401–403.
- [61] Wang L, Li Y. Green Upconversion Nanocrystals for DNA Detection [J]. *Chem Comms*, 2006(24): 2557–2559.
- [62] Zhang P, Steelant W, Kumar M, *et al.* Versatile Photosensitizers for Photodynamic Therapy at Infrared Excitation [J]. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 4526–4527.
- [63] Gai S, Yang P, Li C, *et al.* Synthesis of Magnetic, Up-Conversion Luminescent, and Mesoporous Core-Shell-Structured Nanocomposites as Drug Carriers [J]. *Adv Funct Mater*, 2010, 20(7): 1166–1172.
- [64] Chatterjee D K, Zhang Y. The Upconverting Nanoparticles as Nanotransducers for Photodynamic Therapy in Cancer Cells [J]. *Nanomedicine*, 2008, 3(1): 73–82.
- [65] Xu Z H, Ma P G, Li C X, *et al.* Monodisperse Core-Shell Structured Up-Conversion $\text{Yb}(\text{OH})\text{CO}_3 @ \text{YbPO}_4 : \text{Er}^{3+}$ Hollow Spheres as Drug Carriers [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(17): 4161–4173.
- [66] Qian L, Zhou L, Too H P, *et al.* Gold Decorated $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}$, Er/ $\text{NaYF}_4/\text{Silica}$ (Core/Shell/Shell) Upconversion Nanoparticles for Photothermal Destruction of BE(2)-C Neuroblastoma Cells [J]. *J Nanopart Res*, 2010; 1–12.
- [67] Xu Z H, Li C X, Ma P G, *et al.* Facile Synthesis of an Up-Conversion Luminescent and Mesoporous $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Er}^{3+} @ \text{nSiO}_2 @ \text{mSiO}_2$ Nanocomposite as a Drug Carrier [J]. *Nanoscale*, 2011, 3(2): 661–667.