

基于长余辉纳米发光探针的生物传感检测和成像*

刘瑶瑶¹ 刘敬民^{1,2,3} 方国臻¹ 张咚咚¹ 王青华¹ 王 硕^{1,2,3**}

(1. 天津科技大学食品营养与安全教育部重点实验室 天津 300457; 2. 南开大学医学院 天津 300071; 3. 北京工商大学北京食品营养与人类健康高精尖创新中心 北京 100048)

摘 要 长余辉纳米粒子由于其特殊的发光现象、超长的余辉寿命、可实现免原位激发以及光谱发射区域可被调控至“生物光学透明窗口”内等特征而被广泛应用于光学传感检测和生物医学成像领域。近年来,长余辉纳米发光探针的合成和应用吸引了光谱学、声子学、光化学、材料科学领域的极大关注。本文对长余辉纳米分子探针的合成方法、颗粒表面功能化及其作为靶向探针在体内和体外进行传感检测及活体成像的应用进行深入探讨。本文主要讨论 Mn^{2+} 和 Cr^{3+} 掺杂的红色-近红外发光纳米材料,特别是镓锗酸盐,其具有强烈的近红外持续发光,超过两周的余辉寿命更适合于生物成像的应用。功能化的红色近红外长余辉纳米材料为长期实时监测体内生理学过程和疾病的诊断提供有前景的技术平台。最后本文对长余辉材料应用面临的挑战和未来的发展趋势进行了展望。

关键词 长余辉纳米探针 (PLNPs) 近红外 (NIR) 传感检测 生物成像

中图分类号:O65; O611.4; TP212.3 文献标识码:A 文章编号:1005-281X(2017)06-0667-16

Biosensor Detection and Imaging Based on Persistence Luminescence Nanoprobe*

Yaoyao Liu¹, Jingmin Liu^{1,2,3}, Guozhen Fang¹, Dongdong Zhang¹, Qinghua Wang¹, Shuo Wang^{1,2,3**}

(1. Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China; 3. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract Owing to the unique luminescence phenomenon and the super long afterglow life, the persistent luminescence nanomaterials (PLNPs) can achieve in vitro excitation and the spectral emission regions can be regulated into the “biological transparent window”, which were widely used in optics sensor detection and bioimaging field of disease targeted diagnosis and treatment. In recent years, the syntheses and applications of PLNPs nanoprobe have attracted great attention in the areas of spectroscopy, photonics, photochemistry and materials science. This paper reviews the synthesis methods and surface modification of PLNPs molecular nanoprobe as well as their application in detection and bioimaging in vivo and in vitro. This paper focused on Mn^{2+} and Cr^{3+} doped nanostructures, particularly gallogermanates which are able to give intense red-near infrared persistent emission with a longer afterglow lifetime for more than two weeks and therefore are suitable for bioimaging application. The functionalized red-near infrared persistent luminescence nanomaterials provide a promising technology platform for long-term real-time detection of physiological processes and disease diagnosis

收稿: 2017 年 3 月 2 日, 收修改稿: 2017 年 5 月 18 日, 网络出版: 2017 年 7 月 3 日

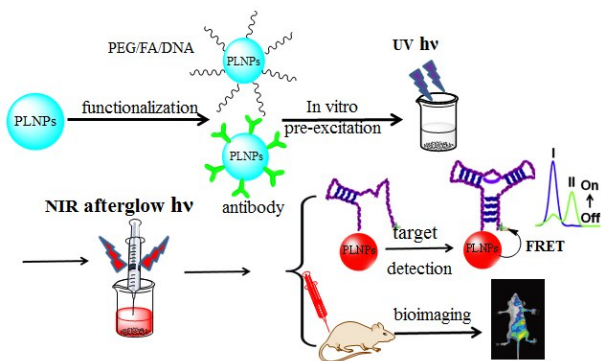
* 国家自然科学基金项目 (No. 31430068) 资助

The work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31430068).

** Corresponding author e-mail: s. wang@tust.edu.cn

in vivo. Finally, the challenges of PLNPs are described.

Keywords persistence luminescence nanoprobe (PLNPs); near infrared (NIR); biosensing; bioimaging



Contents

1 Introduction

2 Synthesis methods of PLNPs

2.1 Solid-State reaction

2.2 Sol-Gel method

2.3 Hydrothermal method

2.4 Co-Precipitation

2.5 Template method

2.6 Combustion method

2.7 Other methods

3 Application of PLNPs Nanoprobes in biomedicine

3.1 PLNPs based Biosensing and detection

3.2 PLNPs based Bioimaging

3.3 Multimodal Imaging of PLNPs

4 Conclusion and outlook

1 引言

光学成像,通常也被称为荧光成像,是成像技术中发展最快的一个领域,与其他成像技术相比,具有测定快速、操作简单、灵敏度高和非侵害性等优点。近些年来光学活体成像在生物分子的传感检测、医学的诊断治疗和药物的开发输送等研究领域得到广泛关注^[1~3]。光学成像作为分子影像学技术,其显著特点是需要分子探针造影和先进的检测技术。分子探针是一种能够产生光学成像信号的生物标记物/示踪剂(如有机染料、荧光蛋白和功能化的纳米材料等)与能和靶向物质特异性结合的生物分子(抗体、PEG、DNA 适配子和多肽等)形成的一种复合体系^[4,5]。越来越多的荧光纳米探针,如有机染料^[6,7]、半导体量子点(QDs)^[8~12]、碳纳米材料^[13~16]、荧光蛋白^[17,18]、贵金属纳米粒子^[19~22]、近

红外(NIR)荧光分子^[23,24]等被用于生物标记物的检测和成像中,为疾病的早期诊断和成功治疗提供关键依据。然而,大多数纳米探针通常具有光漂白速率高、信噪比较低、发射带较宽、发光寿命短和生物相容性较差等问题,这使得它们在实际应用中面临着巨大挑战^[25]。一般而言,这些生物标记物在高能量激发源(如UV辐射)激发其荧光基团时,有一个荧光发射的过程,从而在可见光区域用于不同生物实体的可视化检测。在生物分子检测和荧光成像过程中,当外部光源激发荧光探针时,一方面激发光和探针发射出的荧光会被生物组织部分地散射和吸收,造成光对组织的穿透深度减弱,降低产生的荧光信号强度;另一方面生物组织如皮肤、毛发和体液等在激发光的激发下会产生自体荧光现象,提高了背景噪音,从而降低了检测和成像的灵敏度^[26]。对于成像应用而言,完整的近红外(NIR)光谱区域主要分为两个部分,NIR I (650 ~ 900 nm)和NIR II (1000 ~ 1450 nm)。在成像应用中,可根据生物组织实体/体液在两个区域吸收和散射的变化进行成像区域的选择。图1^[27]可以看出,水在NIR II区域的吸收系数增加,但同时不同类型组织的散射系数减小。与可见光相比,生物组织样品中的水、血红蛋白和脂质等主要吸光物质对NIR的吸收系数相对最低,这极大地增加了NIR对组织的穿透深度,避免了生物体产生的自体荧光和背景光散射问题^[27~29]。因此,NIR I区域的波长范围被称为生物组织“光学透明窗口”,是获取高灵敏度和高分辨率活体成像效果的关键区域^[30,31]。近年来,由于镧系元素掺杂的纳米荧光胶体独特的激发和发射特征,其已成为极具成像应用潜力的发光物质^[32~36]。掺杂的镧系元素离子具有上转换性能(UC),可被NIR光源激发产生可见和紫外光从而广泛应用于生物成像中^[37~40]。此外,更多的研究表明镧系元素掺杂的无机纳米粒子(NPs)能够保持稳定的光致发光特性,具有窄的发射峰、较长的发光寿命、低的光漂白率和低毒性(LD₅₀值比QDs高出约1000倍;LD₅₀: median lethal dose, 半数致死剂量)^[41]。尽管它们具有突出的优势,但这种反斯托克斯探针需要激光作为激发光源,激光不仅价格昂贵且只能激发有限的区域。另外,NIR激光在高输入激光功率下会产生热效应,对生物组织造成损伤。

持久性发光材料 (long persistent luminescence materials) 是一种可以通过改变合成条件和元素组成,对其光谱发射区域进行调控的材料,也被称为长余辉材料^[42,43]。长余辉纳米材料 (PLNPs: persistent luminescent nanoparticles) 是一种被能量 (γ 射线、X 射线、紫外光、可见光和电子束等) 激发后可产生可见光或者近红外区域长时间发光的特殊纳米材料^[31]。近年来,PLNPs 的应用已经从最初的民用,即装饰、安全显示器、刻度盘等,延伸到各种先进的科学领域,如生物医学、临床医学、生命科学以及能源和环境工程^[44]。在这种持续性发光荧光材料中,主要涉及到两个活性中心:陷阱中心和发射中心。陷阱中心通常并不发光,但是它们能够长期储存激发光的能量,被称为材料的充电过程。这些被储存的能量能够通过热能、光能或其他的物理刺激,引起活性中心的受激发射,被称为放电过程。因此,发射中心才是材料的发射核心区域,受到合适的刺激后,陷阱中心中储存的自由电子不断释放,持续激发发射中心,此过程被称为持续的能量转移过程。长余辉发光材料作为生物成像过程中的造影剂主要有以下三个方面的优势。(1)长余辉发光材料具有非常强且稳定的发光性质,在去除激发光源后,材料还可持续长时间发光(可达几百小时)。这个特征使得长余辉材料可以在体外激发后再进行生物检测和成像,完全避免了生物体产生的自体荧光和背景噪声的干扰,从而显著提高了信噪比,增加了检测和成像灵敏度;(2)长余辉材料的发射波长可调控至 650 ~ 1000 nm 近红外区域,此波长范围刚好处于生物组织的“光学透明窗口”,因此进一步增加了组织的检测深度;(3)长余辉材料可通过非相干光源的刺激恢复其长时间的持续发光,如发光二极管(LED)/闪光灯,甚至是可见光,这会使成像变得更加有效、简单和安全^[42~44]。本文对长余辉纳米发光材料分子探针的不同的合成技术及其表面改性后作为靶向探针在体内、外进行传感检测以及活体成像的研究进行深入探讨,对具有强烈近红外持续发光的 Mn^{2+} 和 Cr^{3+} 过渡金属离子掺杂的 NIR 长余辉纳米结

表 1 长余辉材料的合成方法^[44]

Table 1 Comparison of synthesis methods of PLNPs^[44]

Synthesis methods	Particle size	Homogeneity	Morphology	Synthesis temperatures (°C)	Afterglow time
Solid-solid reaction	Micrometer-scale	Bad	Bad	> 1000	Long
Sol-gel method	Micrometer-scale	Medium	Bad	≤ 1000	Medium
Combustion method	Micrometer-scale	Medium	Medium	> 1000	Short
Hydrothermal method	Micrometer-scale	Good	Medium	< 1000	Short
Co-precipitation	Micrometer-scale	Good	Medium	> 1000	Short
Template method	Micrometer-scale	Good	Good	< 1000	Short

构发光材料在活体成像方面的应用进行论述,并对这些材料作为生物成像探针用于不同生物体系的急、慢性毒性进行阐述。最后,对生物成像应用仍然面临的挑战和未来研究方向进行展望。

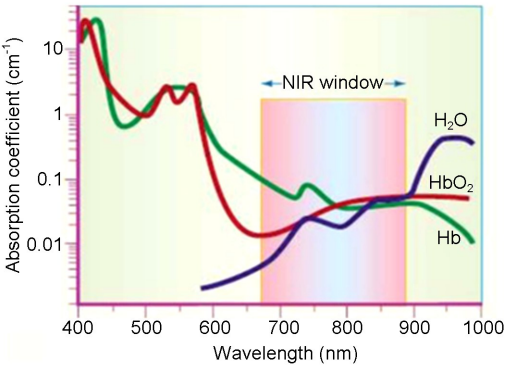


图 1 近红外光学透明窗口^[27]

Fig. 1 The NIR optical transparent window^[27]

2 长余辉的合成方法

PLNPs 的合成方法对其微观结构的特征、余辉性质、荧光量子效率和缺陷分布方面起着决定性作用,也与其应用领域密切相关。PLNPs 的传统合成方法是固相反应法,以粉末原料为起始材料。由于固相反应法需要经过高温烧结后才能获得相应组分的 PLNPs,因此得到的产物晶粒相对粗糙,产物颗粒尺寸较大,粒径分布不均匀^[44,45]。近年来,将 PLNPs 作为生物标记和检测的应用日益增加,需要 PLNPs 具有高度粒径均匀性、良好的单分散性和较小的结构尺寸。然而,传统的合成条件在材料的形态优化和余辉时间之间产生冲突,即高的合成温度虽有利于提高余辉时间,但是会导致产物形态不规则并发生团聚^[46,47]。目前合成 PLNPs 的普遍方法主要包括溶胶-凝胶法、水热法、燃烧合成法、共沉淀法、模板法、微波合成法和激光烧蚀法。表 1 中依据材料的粒径、均匀度、形态、所需温度和余辉时间与所对应的合成方法进行比较^[44]。文中,我们对纳米级长余辉材料的化学合成方法进行了系统的总结,并讨论了不同的合成方法对材料的余辉性质和形态的影响。

2.1 固相反应

固相反应是在固体状态的粉末之间发生的固-固反应,由于此法相对简单,非常适合大规模生产,容易获得余辉时间长的发光材料,已广泛应用于制备包括氧化物、氮化物和硫化物为基质的 PLNPs。事实上,较高温度的烧结通常可以增加材料内部热缺陷的数量,对余辉的激活是非常必要的。虽然固态法在合成具有显著余辉特性的 PLNPs 方面存在很多优势,但仍具有许多不可避免的缺点。通过该方法制备的荧光粉末材料的晶粒尺寸可达几十微米且尺寸形貌不均,极大地限制了 PLNPs 在生命科学、生物医学和环境科学领域中的应用^[48,49]。

2.2 溶胶-凝胶法

溶胶-凝胶法在合成无机纳米颗粒的应用中主要包括溶胶-凝胶、凝胶过程和聚合物络合过程,最后形成的溶胶经过干燥、烧结制备分子及纳米结构的长余辉材料^[50]。通常,该方法适用于以金属盐或醇盐作为前驱体,柠檬酸作为螯合配体,乙醇作为交联剂,在分子水平上形成聚合物树脂的长余辉材料的合成。在合成过程中,小的纳米晶体包裹至由络合剂产生的离散空间中,从而能够在较高的合成温度下限制纳米晶体的生长,改善材料的余辉性能^[51,52]。与固相反应法相比,溶胶-凝胶反应是在溶液中进行的,原料反应物在分子水平上均匀分散混合,还可定量掺杂一些微量组分,具有反应效率高和合成温度低等优势^[53]。

研究者们多关注以溶胶-凝胶法合成基于铝酸盐和硅酸盐的无机纳米荧光材料^[54]。Chermont 等首次通过溶胶-凝胶法将制备的 $\text{Ca}_{0.2}\text{Zn}_{0.9}\text{Mg}_{0.9}\text{Si}_2\text{O}_6:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}, \text{Mn}^{2+}$ 作为生物标记物用于生物成像。制备的 PLNPs 粒径约为 50 ~ 200 nm,具有窄的分布范围^[54]。近些年,研究报道了通过溶胶-凝胶技术制备不同基质和活性中心的 PLNPs,如 $\text{Zn}_3\text{Ga}_2\text{Ge}_3\text{O}_{10}:\text{Cr}, \text{Pr}^{[53]}$, $\text{ZnSiO}_4:\text{Mn}^{[55]}$ 和 $\text{CaMgSi}_2\text{O}_6:\text{Mn}^{[56]}$ 。除了稳定粒径分布,溶胶-凝胶法还可通过改变合成条件(如前体、溶剂、配体、pH 和处理温度等)来控制合成材料的形态(如纳米线^[57]、纳米球^[58]等)。Fu 等通过溶胶-凝胶法合成了 $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}$ 纳米颗粒,发现合成温度对 $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}$ 的纳米粒子形态和尺寸分布具有较大影响,并证实随着合成温度的升高(700 ~ 1100 °C),粒子粒径范围分布从 50 nm 增加到 300 nm^[59]。为了更好地抑制纳米晶粒的生长,研究人员开发了溶胶-凝胶微波法、溶胶-凝胶燃烧法和溶胶-凝胶模板技术

等^[60,61]。

2.3 水热法

与溶胶-凝胶法不同,水热合成法通常是在高压反应釜中进行,以提供高压和密封的环境,从而促进固相前体之间的反应。因此,该方法能够在相对温和的条件下合成高度结晶的纳米材料。水热法可通过反应的分子前体物浓度、比例及反应时间和温度参数更好地控制整个过程,得到高度均匀的产物。在合成 PLNPs 的典型水热法中,通常与反应前体物一起添加的还有一些具有特定官能团的如油酸(OA)、聚乙烯亚胺(PEI)、EDTA 和十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)等物质,以更容易地控制产物的晶相、尺寸和形态。高温处理对于形成具有余辉性能的 PLNPs 是不可缺少的^[62,63]。目前已报道了不同形态的 PLNPs,如 $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ 纳米片^[64], $\text{Y}_2\text{O}_3\text{S}:\text{Eu}^{3+}, \text{M}^{2+}$ ($\text{M} = \text{Mg}, \text{Ca}, \text{Sr}, \text{Ba}$) 和 Ti^{4+} 纳米管^[65]。最近, Li 等报道了 $\text{ZnGa}_2\text{O}_4:0.4\%\text{Cr}^{3+}$ 的化学水热合成过程。这种方法可产生单分散的粒径约 8 nm 的 PLNPs,并具有极好的单分散性,可在水溶液中形成稳定的胶体溶液(图 2)^[66]。

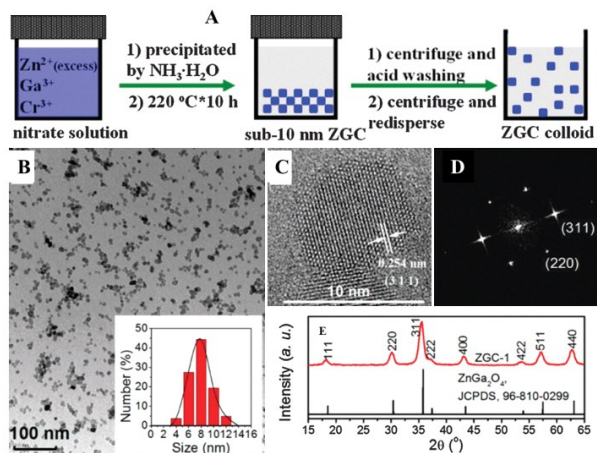


图 2 (A) $\text{ZnGa}_2\text{O}_4:0.4\%\text{Cr}^{3+}$ 纳米长余辉的水热合成法; (B ~ D) $\text{ZnGa}_2\text{O}_4:0.4\%\text{Cr}^{3+}$ 的 TEM 和 XRD 表征^[66]
Fig.2 (A) Hydrothermal method synthesis of $\text{ZnGa}_2\text{O}_4:0.4\%\text{Cr}^{3+}$ PLNPs; (B ~ D) TEM and XRD characterization of $\text{ZnGa}_2\text{O}_4:0.4\%\text{Cr}^{3+}$ PLNPs^[66]

2.4 共沉淀法

共沉淀法通过在反应体系里添加一些试剂而使所有原料中的阳离子发生共沉淀,进一步将沉淀物进行分离,热处理后分解为反应物前体,再进行高温煅烧处理得到 PLNPs 结晶粉末。由于在开始阶段原材料混合均匀为前体物质的良好分散提供了必要条件,从而产生的产物品相更均匀^[44]。目前此技术

已被用于制备基于氟化物和氧化物的发光纳米颗粒。Cheng 等^[67]通过共沉淀法合成了具有六方晶系的 $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ 长余辉纳米管(图3)。

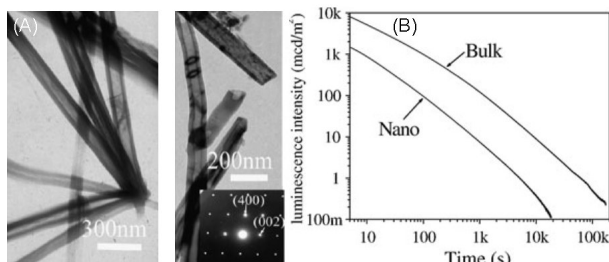


图3 (A)共沉淀法合成的 $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ 纳米管;
(B) $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ 纳米管的余辉持续时间^[67]

Fig. 3 (A) Co-precipitation method synthesis of $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ nanotubes; (B) Long persistent duration of bulk-form and nano- $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ ^[67]

2.5 模板法

模板法是另一种较为完善的合成 PLNPs 的方法,此法可利用模板的空间限制和结构导向作用来调控合成材料的尺寸和形貌^[68]。常被用来在介孔二氧化硅纳米球(MSNs)的表面上沉积长余辉涂层,最终形成 MSNs @ PLNPs 复合材料。该材料结合了介孔结构和磷光性能,可作为新的双功能生物标记和药物递送体系。到目前为止,MSN 已经作为合成许多发光材料如碳材料、金属氧化物、贵金属簇和荧光材料的模板。Zhang 等用模板法合成出具有较小粒径分布的 $\text{SiO}_2/\text{ZnGa}_2\text{O}_4:\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{SiO}_2/\text{SrMgSi}_2\text{O}_6:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ 、 $\text{SiO}_2/\text{CaMgSi}_2\text{O}_6:\text{Eu}^{2+}, \text{Pr}^{3+}, \text{Mn}^{4+}$ 及 $\text{CaTiO}_3:\text{Cr}^{3+}$ 长余辉纳米球^[70~72]。介孔二氧化硅纳米颗粒不仅是硅源,还可作为模板控制纳米颗粒的形态和尺寸(50 ~ 100 nm),结合高温处理,模板法是合成高质量 PLNPs 最有前景的方法之一^[69]。

2.6 燃烧法

燃烧法基于有机物燃烧时放出大量热量煅烧材料,发生氧化还原反应。金属硝酸盐(氧化剂)和一定量有机物(还原剂,例如尿素、柠檬酸或甘氨酸)的混合物在加热的情况下自发燃烧,放热反应产生的化学能将前体混合物加热至高温,同时有机物燃烧时产生的大量气体可使合成的产物具有颗粒小和组分均匀的特点^[73]。获得的前体物质再经过高温处理以促使 PLNPs 的形成和结晶。通过调整溶剂极性、前体物浓度、反应温度和时间等,可获得具有较窄粒度分布、良好结晶度和余辉性能的 PLNPs。Cheng 等研究了有机燃料和高温煅烧温度对 PLNPs

形态和晶体结构变化的影响^[74]。结果表明三乙醇胺(TEA)不仅可以作为有机燃料,还可以控制产物纳米结构的形态。随着高温煅烧温度的提高,纳米结构的形态从纳米片逐渐转变为半卷曲的纳米带。目前,燃烧法在基于铝为基质的 PLNPs 合成中得到广泛使用。

2.7 其他方法

目前,除共沉淀、水热合成、燃烧、模板和溶胶-凝胶法制备单分散 PLNPs 的技术外,还有其他合成方法如静电纺丝^[75]、热离子交换^[76]、溶剂热^[77]和微波合成法^[78]。Li 等通过静电纺丝原位合成了具有红色发光 $\text{CaTiO}_3:\text{Pr}^{3+}$ 、绿色发光 $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ 和蓝色发光 $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ 纳米纤维^[79]。通过控制电纺丝参数可对纳米纤维的发射强度进行较好地控制,使具有纳米结构的纤维发射颜色可以从蓝、绿、红调节到白光。Yan 等通过水热离子交换反应合成了镓锗酸锌长余辉材料^[76]。他们还通过离子交换反应制备了立方晶系的镓锗酸锌,形成了粒径约 10 nm 的晶体。微波加热也被广泛用于各种均匀纳米颗粒的合成。它较传统的加热技术有较多优点,如:加快合成速率、无需研磨过程、加热更均匀、具有选择性加热、加热源与反应物或溶剂之间不直接接触并提高了实验再现性。微波化学法可满足快速合成技术的希望,大大缩短了 PLNPs 的合成时间^[78]。

总之,到目前为止还没有完美的合成技术来制备具有长时间余辉、较小粒径、高度均匀和高度可控形态的长余辉纳米颗粒。固相高温煅烧有利于得到较长的余辉寿命,但同时会导致产物的粒径大且不均一。液相反应虽降低了烧结温度,获得了粒度较小、均匀性较高和形态可控的产物,但此种合成方法制备的 PLNPs 余辉寿命有限。

对于长余辉纳米材料的表征,常用的手段包括:借助荧光光谱和磷光光谱以考察其发光性质;借助 X 射线衍射分析(XRD)表征其晶体结构性质;借助扫描电子显微镜(SEM)和透射电子显微镜(TEM)表征其粒子形貌和尺寸性质;借助热失重分析(thermal analysis)和 X-射线光电子能谱分析(XPS)表征其元素及结构组成性质。相比对材料的结构表征,陷阱中心的捕获和去捕获过程对于理解余辉机制更重要。由于晶体缺陷作为陷阱在确定材料的光学、电学和光电导性能起到很重要的作用。因此,目前一些特殊的光谱和测定技术被用于长余辉材料的研究中。相关技术如 UV-VUV 同步加速辐射发射

和激发光谱、热释光及发射光谱、X 射线吸收光谱和余辉动力学曲线等。通过这些方法,我们可以获得 PLNPs 余辉机制中关于缺陷参数的一些重要的定性和定量的信息。

3 长余辉纳米材料的生物医学应用

PLNPs 无需原位激发,可避免生物组织产生的自体荧光,降低背景噪音,提高检测信噪比和灵敏度,并经过表面功能化后可应用于生物传感检测和细胞、活体成像以及药物的运输和治疗等领域。

3.1 长余辉纳米探针用于生物传感与检测

荧光分子探针被越来越多地用于生物标志物的传感检测,并为许多临床疾病的早期检测提供诊断依据,这是人类疾病及时得到诊断和成功治疗的关键。因此开发具有更高效和超灵敏度的荧光探针是目前的主要发展趋势。然而,检测过程中经常受到来自外部激发光源下组织自体荧光造成的低信噪比和短波激发光照射下引起的细胞死亡或组织损伤等荧光技术的限制。PLNPs 的持续余辉发光可持续几小时到几天,并且可在生物检测分析之前进行体外激发,去除原位激发带来的背景噪声,显著地提高了检测灵敏度。因此,PLNPs 在生物分析中的光致发光(PL)检测和实时监测中具有重大的应用潜力。

PLNPs 作为分子探针,基于荧光共振能量转移(FRET)或电子转移猝灭等模式,已被成功应用于生物传感检测中^[80-83]。Yan 等于 2011 年首次报道了功能化后具有良好水溶性的 PLNPs 检测生物分子甲胎蛋白(AFP)^[82]。AFP 的血清水平在肝癌细胞快速生长、肝硬化和慢性肝炎等情况下通常会增加。因此,检测 AFP 的血清水平对肝癌的早期诊断具有重大意义。为了提高检测 AFP 的高选择性和灵敏度,他们利用经聚乙烯亚胺(PEI)功能化的 $\text{Ca}_{1.86}\text{Mg}_{0.14}\text{ZnSi}_2\text{O}_7:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ PLNPs,与 AFP 抗体修饰的金纳米粒子共轭物(Ab-AuNPs),设计出了一种基于 PEI-PLNPs 与 Ab-AuNPs 之间的 FRET 体系的荧光探针用于检测 AFP(原理见图 4)。当反应体系中存在 AFP 时,AFP 与修饰有抗体的 AuNPs 特异性结合,破坏了 PEI-PLNPs 与 Ab-AuNPs 之间的 FRET 体系,使 PLNPs 的余辉得到恢复。该探针还被成功地用于检测人体血清样品中的 AFP,具有高特异性和灵敏度,检测限达到 $0.41 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

PLNPs 不仅被选为追踪癌细胞的光学标记物,而且还被用作生物探针来监测和鉴定生物环境的变化^[84]。抗坏血酸(AA)是有效的水溶性抗氧化剂,

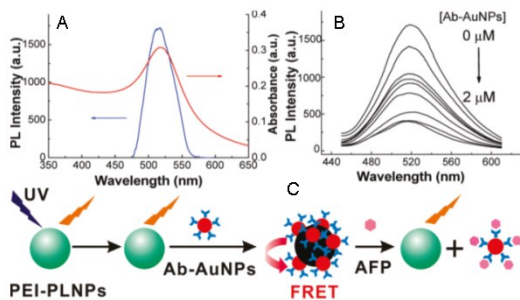


图 4 (A) PEI-PLNPs 的光致发光光谱(蓝线)和 Ab-AuNPs 的吸收光谱(红线);(B) Ab-AuNPs 对 PEI-PLNPs 的光致发光的猝灭效应;(C) 基于 FRET 作用的 Ab-AuNPs 对 PEI-PLNPs 的 PL 猝灭检测 AFP 示意图^[82]

Fig. 4 (A) Photoluminescence emission spectra of PEI-PLNPs (blue curve) and absorption spectra of Ab-AuNPs (red curve); (B) Quenching effect of Ab-AuNPs on the photoluminescence emission of PEI-PLNPs; (C) Schematic illustration of the FRET inhibition assay for AFP based on the PL quenching of PEI-PLNPs by Ab-AuNPs^[82]

也是人体内许多生理过程所必需的微量营养素,能够清除多种氧化组分并有效保护其他生物分子免受氧化损伤。Tang 等开发了一种新型的 CoOOH -修饰的 PLNPs 用于测定和筛选在活细胞和体内的 AA(原理如图 5)^[83]。基于 FRET 效应,PLNPs 被用做光学信号单元, CoOOH 纳米片作为猝灭剂。当 AA 存在时,PLNPs 表面上的 CoOOH 纳米片被还原为 Co^{2+} ,PLNPs 的余辉发光得到恢复且与 AA 的量成线性响应。由于 PLNPs 超长时间的余辉性能,可以避免由于原位激发和生物基质产生的自发荧光和散射光,从而实现 AA 在无外部激发光源的情况下,进行活细胞和活体内的检测和成像。

时间分辨荧光技术(TRF)可以在脉冲激发光与信号采集之间施加延迟时间,并通过设置合理的门控时间(Gate time,信号采集时间)和延迟时间(Delay time,也称检测时间)消除细胞和组织短暂的背景噪声和自体荧光干扰,从而提高分析的灵敏度。Zhang 等通过染料标记的肽或 DNA 与羧基官能化的 PLNPs 共价结合,组装出三种基于 PLNPs 的纳米探针,构建了通过时间分辨荧光能量共振转移(TR-FRET)的平台用于检测细胞内半胱氨酸蛋白酶-3、miRNA-21 和蛋白质(如图 6)^[85]。PLNPs 的余辉发光在用于信号采集的门控时间内被捕获,一旦从 PLNPs 到 FITC 发生了 TR-FRET,会在门控时间内获得 FITC 的信号(图 6A)。通过在 PLNPs 上共价组装环状精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽(cRGD)、FITC

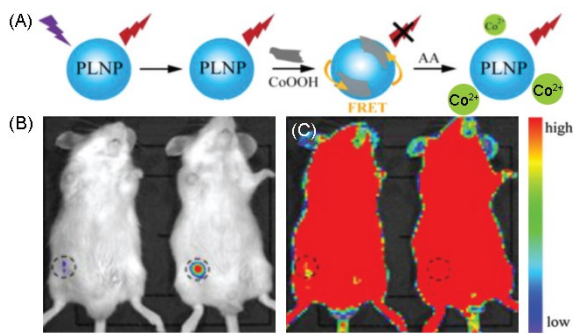


图5 (A) CoOOH-PLNPs 检测 AA 示意图; (B, C) 利用 CoOOH-PLNPs 探针对 AA 处理的小鼠进行光学成像检测^[83]

Fig. 5 (A) Schematic illustration of the design for AA detection using CoOOH-PLNPs; (B, C) Optical image of a mouse treated with AA using the CoOOH-PLNPs nanoprobes^[83]

标记的底物肽和适配体(或 DNA),构建了三种纳米发光探针,分别基于 TR-FRET 建立了“on-off”(图 6B 所示)、“off-on”(图 6C 所示)和“on-on”(图 6D 所示)策略的半胱氨酸蛋白酶-3、miRNA-21 和血小板衍生生长因子(PDGF)的检测平台。“on-off”的策略可被进一步通过荧光寿命成像显微镜(FLIM)用于活细胞内半胱氨酸蛋白酶-3 活性的成像(图 6E)。这项工作基于 PLNPs 的余辉性能为 TR-FRET 分析概念提供了检测平台,展示了 PLNPs 在探索生命过程中动态信息的潜力。

Paterson 等合成了具有发光强烈且较长余辉寿命的 $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ PLNPs 作为 reporter 用于生物素化溶菌酶(bHEL)的侧向流动分析(LFA)检测^[86]。他们在分离出的小粒径 PLNPs 表面包裹 SiO_2 以增加其水稳定性。其次用碳二亚胺法将亲和素共价连接在氨基化的 PLNPs 表面。最后亲和素修饰的 PLNPs 被用于以生物素化的溶菌酶缓冲液作为模型分析物和溶菌酶 HyHEL-5 抗体作为测试路线的 LFA 测定,检测限可达 $100 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

Tang 等在 2013 年通过盐酸胍的热分解法制备了具有持续发光的类石墨烯氮化碳($\text{g-C}_3\text{N}_4$)长余辉纳米片,结合 Ag^+ ,构建出一种基于 $\text{Ag}^+ - \text{g-C}_3\text{N}_4$ 电子转移(ET)体系检测生物硫醇的探针(图 7)^[81]。由于 Ag^+ 可通过电子转移过程使 $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 纳米片的余辉发光猝灭,当体系中存在生物硫醇时, Ag^+ 特异性结合生物硫醇,中断了 Ag^+ 对 $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 的猝灭,使 $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 材料的余辉得到恢复。该探针还被成功用于尿液、血浆和细胞裂解物等实际生物样品化学进展, 2017, 29(6): 667 ~ 682

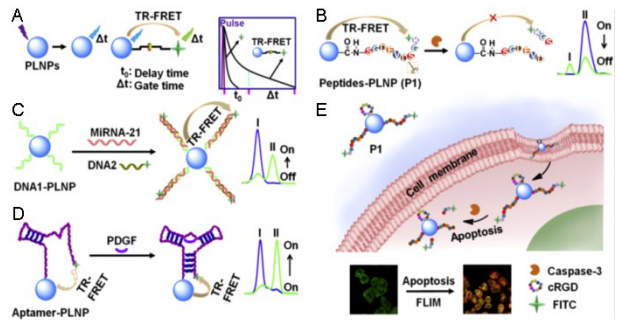


图6 (A)基于 PLNPs 的 TR-FRET 检测原理; (B ~ D) 利用环状精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽(cRGD)、FITC 标记的底物肽和 DAN 或适配子功能化的 PLNPs 基于 TR-FRET 检测 caspase-3 蛋白酶、miRNA-21 和 PDGF 蛋白; (E) 通过荧光寿命成像技术(FLIM)使用 P1 检测细胞内 caspase-3 蛋白酶^[85]

Fig. 6 Schematic illustration for (A) PLNPs-based TR-FRET principle; (B ~ D) TR-FRET detection strategies of caspase-3 protease, miRNA-21 and PDGF protein by using caspase-specific peptide and cRGD-, DNA1- and aptamer-functionalized PLNPs probes, respectively; (E) Lifetime imaging of intracellular caspase-3 activity using P1 during cell apoptosis by FLIM^[85]

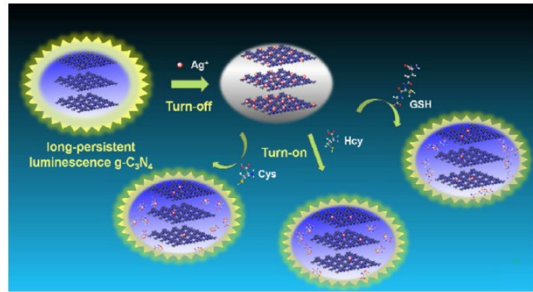


图7 基于 $\text{Ag}^+ - \text{g-C}_3\text{N}_4$ PLNPs 体系成像检测生物硫醇原理示意图^[81]

Fig. 7 Schematic illustration of the persistent luminescence of $\text{Ag}^+ - \text{g-C}_3\text{N}_4$ system for imaging detection of biothiols^[81]

中生物硫醇的高灵敏成像检测,其对谷胱甘肽(GSH)、半胱氨酸(Cys)和高半胱氨酸(Hcy)的检测限可分别达到 9.6、6.4 和 8.1 nM。

3.2 基于近红外长余辉纳米探针的生物成像应用

生物成像是一种将生物体内复杂的生理学变化过程变为直观可视化的图像,能够在活体水平上非侵入式地获取生物组织乃至整个机体的结构和功能过程,在细胞或分子水平上了解和探索疾病的发生特征机理和病变过程,同时对其生命过程没有损害或将其损害降到最小,以实现活体生物疾病的早期诊断和治疗的分子影像学技术。随着近几十年的发

展,生物成像技术在生物医学和临床应用领域的需求迅速增长,已成为疾病诊断治疗和探索生物复杂生命过程的关键技术工具,具备原位无创检测、示踪和实时监控等优势^[32]。NIR 荧光生物成像具有灵敏度高和快速简便的优势,是目前的研究热点,而对其相应造影剂的评估主要是通过探针的发光强度、组织的透过光程长度和体积能量分布进行的,这些均与生物介质和组织对光的吸收和散射能力显著相关^[87]。目前已经开发出很多发光中心在 NIR 区域的分子探针用于成像中。近期,Wang 等在综述中全面概括了在 NIR I 和 NIR II 区域被激发或发射的不同类型纳米材料^[88],如基于镧系元素(包括 UC 和下转换材料)、基于碳纳米材料(如碳点、碳纳米管和石墨烯)、量子点和贵金属纳米材料等。用于 NIR 长余辉持续发光的激活剂数量相对较少,相关文献目前非常少见。有关镧系元素掺杂的材料在 NIR 长余辉发光中的应用迄今为止非常有限,目前大多数研究均基于过渡金属元素,主要是 Mn^{2+} 和 Cr^{3+} 作为掺杂离子。

3.2.1 镧系元素掺杂的长余辉材料和其生物成像应用

镧系元素具有阶梯状密集的能级结构,发射峰位于 UV-可见光到 NIR 区域范围。在某种意义上,镧系元素中在 NIR 区域发射的离子仅限于那些主要在 700 ~ 2500 nm 光谱范围发射的元素。Bünzli 等报道了 $\text{Ln}(\text{III})$ 离子的 NIR 发射及其在 NIR 区域的特征转变^[89]。有显著 NIR 发射的镧系离子主要有 Pr、Nd、Sm、Dy、Ho、Er、Tm 和 Yb。目前只有非常少的文献报道关于镧系元素离子用于 NIR 持续性发光,如果有,它们中的大多数是基于不同镧系元素离子之间的能量持续性转移(PET)。Ueda 等报道了与 Eu^{2+} 离子共掺杂在 CaAl_2O_4 基质中的 Nd^{3+} 离子的 NIR 持续发光^[90]。他们采用传统的固相反应法制备了 $\text{Ca}_{0.99}\text{Nd}_{0.01}\text{Al}_2\text{O}_4$ 、 $\text{Ca}_{0.995}\text{Eu}_{0.005}\text{Al}_2\text{O}_4$ 和 $\text{Ca}_{0.985}\text{Eu}_{0.005}\text{Nd}_{0.01}\text{Al}_2\text{O}_4$,并进一步研究了它们的光学性能如光致发光、余辉时间和余辉衰减曲线等。研究发现,被 UV 激发后的 Eu^{2+} 和 Nd^{3+} ,持续衰减曲线非常相似。他们认为材料的持续性发光是由于能量由 Eu^{2+} 转移给了 Nd^{3+} , Eu^{2+} 被光氧化为 Eu^{3+} 或 $(\text{Eu}^{2+} + h^+)$ 且电子被 Nd^{3+} 共掺杂形成的一些缺陷所捕获,再通过热能与被光氧化的 Eu^{3+} 离子复合从而达到去捕获的过程。 Nd^{3+} 对 Eu^{2+} 的持续发光强度比随着时间的变化几乎不变。也就是说,两种离子的持续发光来源于共同的电子陷阱和电子转移

过程,进一步证实了能量由 Eu^{3+} 转移到 Nd^{3+} 的理论。Yu 等通过燃烧法合成了粒径 17 ~ 27 nm 的 $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}$, Dy^{3+} , Er^{3+} 可持续发光荧光材料,对其结构、激发、发射和余辉时间进行了一系列表征,进而对持续性 NIR 发射的能量转移机理进行了探讨,同样发现能量可有效地从 Eu^{2+} 转移给 Er^{3+} 离子,但其在 NIR 发射的余辉衰减时间大约仅有 10 min^[91]。目前,大部分报道的镧系元素离子掺杂的长余辉材料需借助两种镧系元素之间产生的能量转移达到显著的 NIR 余辉性质。

3.2.2 Mn^{2+} 掺杂的长余辉材料和其生物成像

Scherman 等首次将 Mn^{2+} 掺杂的长余辉纳米发光材料应用于体内成像^[54]。材料同时共掺杂了镧系离子 Eu^{2+} 和 Dy^{3+} ,并选择 MgSiO_3 作为基质,合成的 PLNPs 由于掺杂的 Mn^{2+} 呈现出红色余辉性质^[93]。他们通过溶胶-凝胶技术合成了 $\text{Ca}_{0.2}\text{Zn}_{0.9}\text{Mg}_{0.9}\text{Si}_2\text{O}_6$ 材料,分离筛选得到粒径为 50 ~ 100 nm 的粒子作为探针用于成像应用。由于材料中掺杂了 Mn^{2+} 作为激活剂,具有持续性发光特性。而掺杂的 Dy^{3+} 产生了陷阱中心,可作为主要的能源受体,通过隧道和 PET 过程将光能以热能的形式释放给 Mn^{2+} 。由于掺杂组分的变化引起了 Mn^{2+} 位点的对称性和晶体场强度的改变,从而引起了材料的 NIR 发射 ($\lambda_{\text{em}} = 690 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$)。

研究人员还进一步对纳米粒子进行了三种不同的表面改性(氨基化、羧基化和 PEG 化)使其具有较高的生物亲合性以用于成像(表 2)。首先,将 PLNPs 对小鼠进行皮下和肌肉注射,即使在 20 ng 最低剂量给药的情况下,皮下注射可产生信噪比超过 5 的可检测信号,而材料在 20 μL (10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的较高给药量下,经肌肉注射可到达令人满意的成像效果。其次,将 1 mg 带不同电荷的 NPs 通过小鼠尾静脉注射进行光学成像。 NH_2 -NPs 的成像结果显示 NPs 在生物体内的分布取决于其表面电荷,即表面不同电荷可以显著改变 NPs 的生物分布。此外,在 NPs 注射前使用阴离子脂质体可有效提高特定器官的靶向性,成功用于小鼠肿瘤的可视化检测。在后续工作中他们做了许多增强材料成像技术的研究,用 5、10 和 20 kDa 不同分子量的甲氧基-PEG 修饰在长余辉 NPs 表面,形成了不同粒径的 PLNPs 荧光材料。早期使用的 PEG-NPs 主要被生物体内的 RES 器官(肝脏和脾脏)吸收。然而,甲氧基-PEG 的使用延长了 PLNPs 在小鼠体内的循环时间,这说明 PLNPs 的血液保留能力不仅依赖粒径,纳米颗粒

的表面功能化也非常重要。PEG 部分分子量的增加对主要 RES 器官纳米粒子的结合摄取没有显著影响。小分子量 PEG 化的 PLNPs 显示出更长的体内循环时间,延缓了 RES 器官对 PLNPs 的结合摄取,这表明 PLNPs 在未来靶向癌症成像方向具有潜在的应用前景^[93]。

同样地,PLNPs 经生物素化后可用于靶向检测亲和素表达的胶质瘤细胞成像^[94]。在这个过程中,PEG- PLNPs 通过生物素功能化后形成生物素-PEG-PLNPs,借助生物素和链霉亲和素的特异性结合作用实现靶向结合。首先,生物素化的 PLNPs 被固定在包被有链霉亲和素的平板上。其次,通过荧光显微镜可检测其与溶液中的游离亲和素的相互作用。最后,对具有胞外表达 Iodavin 融合蛋白的 BT4C 细胞进行体外结合研究,并通过特异性链霉亲和反应靶向结合恶性胶质瘤细胞。类似的工作中,研究人员首次设计了 Rak-2 分子功能化的 PLNPs 探针,其中 Rak-2 分子对前列腺癌细胞(PC-3)具有靶向亲和力,实验显示 PLNP-PEG-Rak-2 对 PC-3 细胞具有良好的结合效果^[95]。

Maldiney 等继续对 Mn^{2+} 掺杂的 PLNPs 进行体内和体外的生物成像应用,他们发现对 PLNPs 的持续发光强度/持续时间的改进对探针在体内进行长期监测方面是非常必要的,因此需要更多的工作开发新的具有更好光学特征的 PLNPs 材料^[96]。他们通过控制材料的电子陷阱深度以提高 PLNPs 的光学特性,合成了 Mn^{2+} 掺杂的 PLNPs,同时还共掺杂了三价的镧系金属元素,如 $CaMgSi_2O_6:Mn^{2+}, Ln^{3+}$ ($Ln = Dy, Pr, Ce, Nd$) (简称为 CMSO:Ln), 可被 X-射线激发;或以 Eu^{2+} 和三价的镧系离子进行三掺杂,如: $CaMgSi_2O_6:Mn^{2+}, Eu^{2+}, Ln^{3+}$ (简称为 CMSO), 可被 UV 激发。通过掺杂 Ln^{3+} 离子调整陷阱深度,可找到在 IR 具有最佳发射、适合生物成像应用的特定镧系离子。此外,他们优化了 $CaMgSi_2O_6:Eu^{2+}, Mn^{2+}, Pr^{3+}$ 的组分比例,将 PLNPs 通过静脉注射到小鼠体内进行成像。Li 等合成的 $SiO_2/CaMgSi_2O_6:Eu^{2+}, Pr^{3+}, Mn^{2+}$ PLNPs 在 660 nm 处具有最大发射峰^[70], 合成得到的纳米材料经亲水改性后可从腹腔通过淋巴系统循环到全身,在生物体内实现成功追踪和实时监控,具有良好的信噪比。

Li 等研究了 Mn^{4+} 基于 La 和 Gd 铝酸盐中的 NIR 发光,并提出了 NIR 长余辉的整体设计概念^[97]。他们通过固相法合成材料,并研究了其晶化学进展, 2017, 29(6): 667 ~ 682

型、微结构、光致发光、持续性发光、衰减曲线和缺陷等特性。 Mn^{4+} 掺杂的 $MAIO_3$ ($M = La, Gd$) 长余辉材料在 730 nm 处有最大发射。他们进一步研究了不同浓度的 Mn^{4+} 和 Ge^{4+} 对 PLNPs 的持续发光影响。共掺杂的 Ge^{4+} 可形成缺陷能级的陷阱深度,合成得到的 $La_1Al_{0.99}O_{2.985}:0.1\% Mn^{4+}, 0.9\% Ge^{4+}$ (LAM21) 和 $Gd_1Al_{0.99}O_{2.985}:0.1\% Mn^{4+}, 0.9\% Ge^{4+}$ (GAM23) 长余辉材料的余辉发光时间超过 20 h。LAM21 和 GAM23 的近红外余辉通过 325 nm 的 Xe 灯预激发 10 min 后可被 CCD 相机监测超过 24 h。同时,GAM23 材料也被注入猪肉深部组织进行成像应用(图 8)。材料经预激发注射入组织内后发现由于 PLNPs 没有自体荧光干扰,具有高的信噪比,即使在注射 2 h 后,仍有很高的分辨率。近些年,一些其他 Mn 离子掺杂的 NIR PLNPs 长余辉材料逐渐被合成制备,未来的研究方向是制备能够有效适用于生物成像的 NIR PLNPs。最近几年, Cr^{3+} 掺杂的 PLNPs 被逐渐广泛地应用。

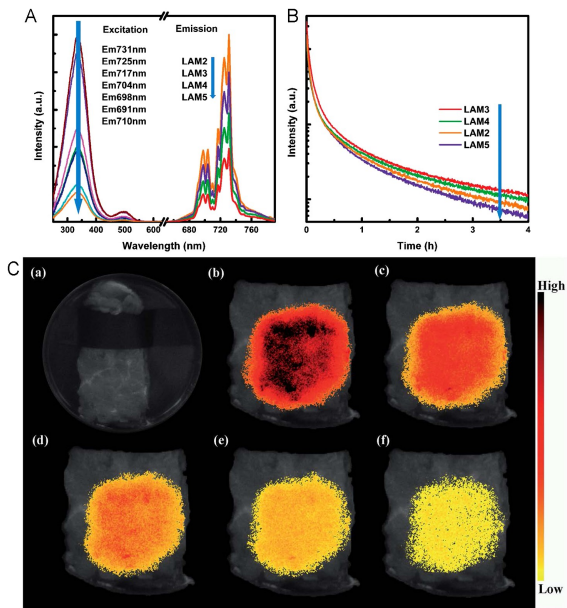


图 8 (A,B)不同 Mn^{4+} 浓度对 PLNPs 光致发光和余辉性能的影响;(C)PLNPs 的猪肉组织成像^[97]
Fig.8 (A,B) Photoluminescence and persistent luminescence properties as a function of Mn^{4+} concentration; (C) PLNPs imaging of pork tissue^[97]

3. 2. 3 Cr^{3+} 掺杂的长余辉材料及其生物成像
 Cr^{3+} 的 NIR 发射波长能够通过改进晶体/配体场的强度得到控制,产生的缺陷能级对材料余辉寿命的延长起到重要作用。主要是 $ZnGa_2O_4$ 和其取代结构被用于不同晶体结构的 NIR 长余辉的研究。

Ga_2O_3 的固有晶相被认为是最适用于宽带隙的材料之一。目前基于 Zn 的镓酸盐,即 ZnGa_2O_4 是化学和热稳定的宽隙半导体材料,当掺杂不同过渡金属元素时,可发射出不同波长的荧光而受到极大的关注^[42,98~101]。

Cr^{3+} 掺杂的 ZnGa_2O_4 长余辉材料虽在 2011 年首次被报道,但由于镓酸锌的取代结构,镓锗酸锌具有比镓酸锌更优异的持续发光强度和寿命,使得镓锗酸锌在早期的成像应用中得到更多的关注。因此, Cr^{3+} 掺杂的镓酸锌长余辉材料直到 2014 年才被首次应用于生物成像中。Maldiney 等^[42] 发现其非常适用于血管、肿瘤和移植细胞的光学成像。镓酸锌(ZGO)荧光纳米材料采用水热合成法结合在空气中低温煅烧制备得到。这些 NPs 可在碱性氢氧化钠溶液中进行研磨,得到羟基化的镓酸锌长余辉(OH-ZGO)。参照 Mn^{2+} 掺杂的长余辉表面修饰方法,可进一步修饰氨基和聚乙二醇(PEG),分别得到粒径为 20~60 nm 的 NH_2 -ZGO 和 PEG-ZGO 纳米材料。与 NH_2 -ZGO 相比,PEG 的修饰增加了 NPs 的水合粒径(80 nm)并引起了 ζ 电势(−6.70 mV)的变化。但是,被修饰的纳米颗粒仍然能够保持相同的光学特性,用 PEG 表面功能化后显著地增加了 NPs 在血液中的循环时间。

PEG 功能化的颗粒能够在血液中循环超过 2 h,非常有利于体内肿瘤靶向,因此他们成功地证明了体内肿瘤的被动靶向成像。在最初的 2 h 内,PEG-ZGO 在肿瘤小鼠和健康小鼠体内的生物分布是相似的且肿瘤并不可见;4 h 后,肿瘤逐渐清晰可见,在较长一段时间后,NPs 需通过橙/红色光源再激活。将来自肿瘤区域的发光与整体动物的发光信号进行比较,由于渗透性和滞留效应,来自肿瘤区域的信号强度仅有非常小的变化,但在观察的 6 h 内,来自肝脏的信号显著增强,从而证实了 NPs 主要在肝脏内大量积累。他们为了研究 NPs 在生物体内的相容性,对这些基于 ZGO 的 PLNPs 细胞和系统毒性进一步评估。研究显示,小鼠在注射 NPs 24 h 后,组织病理学上没有炎症迹象或任何形态学的变化,并证实了 PEG-ZGO NPs 在健康小鼠中没有出现急性毒性现象。最后,他们使用表面功能化的 OH-ZGO、 NH_2 -ZGO 和 PEG-ZGO 纳米粒子对体内巨噬细胞进行了注射追踪研究。在与 NH_2 -ZGO 材料共同孵育后,细胞活力并没有受到显著影响。将与巨噬细胞孵育前后的 NH_2 -ZGO 纳米粒子生物分布进行比较,发现游离的 NH_2 -ZGO NPs 主要积累在 RES

器官中。

Cr^{3+} 掺杂的 ZnGa_2O_4 材料的发光持续时间仅有几个小时,但是用 LED 激发后可恢复其发射,这对延长成像时间非常有利。为了提高余辉时间,研究者进一步开发了 Ge/Sn/Al 取代的镓酸锌盐。Pan 等在 2012 年提出了一种新的 PLNPs,其持续时间超过 360 h^[43]。他们用 Ge 取代了 Ga,合成 $\text{Zn}_3\text{Ga}_2\text{Ge}_2\text{O}_{10}:0.5\% \text{Cr}^{3+}$ 材料,虽然余辉发射较弱,但长达 360 h 还清晰可见,并且可以通过热刺激的方式使其发光强度恢复如初。即使在水溶液,包括自来水、盐水(NaCl)、漂白剂和碳酸氢钠(NaHCO_3)的水溶液中也能保持余辉发光。这种材料可应用于如夜间监视、光伏、体内成像等^[102~104]。

Li 等将 Cr^{3+} 掺杂的镓锗酸锌用不相干光源激发后对猪肉组织进行成像^[102]。他们证实了通过 250~450 nm 的 UV-可见光对该材料进行能量补充的可能性。此外,他们用 LED 连续辐照和 10 min 的循环照射试验证实了材料具有发光稳定性和再生性。最后,他们将 NPs 分散在盐溶液(100 mg·mL^{−1})中注射到组织的不同深度(0.1~1 cm)进行成像应用,用 980 nm 和 940 nm 的 IR LED 灯对材料进行非原位、原位光刺激,均可以清楚地检测到探针信号。细胞毒性研究发现 NPs 处理的细胞有良好的存活力(>95%),表明 NPs 具有较低生物毒性。

Abdukayum 等用 Cr^{3+} 掺杂的镓锗酸锌 PLNPs 进行了生物成像的应用(图 9)^[53]。实验的立新之处在于:(1)共掺杂了镧系元素 Pr^{3+} 离子,在镓锗酸锌(ZGGO)基质中产生合适的 Zn 缺陷;(2)在 ZGGO NPs 表面用 PEG 生物偶联修饰了 c(RGDyK)肽;(3)进行了广泛的体外(细胞活力)、体内(生物组织)毒理学研究以及小动物急性(7 d)和慢性(30 d)毒性实验。首先,合成获得的 $\text{Zn}_3\text{Ga}_{1.96}\text{Ge}_2\text{O}_{10}:\text{Cr}_{0.01}\text{Pr}_{0.03}$ 长余辉材料可产生强烈的、超过 15 d 的余辉发光。材料中掺杂的 Pr^{3+} 起到调整陷阱密度和陷阱深度的作用,并通过控制 Zn 的含量有效促进基质和 Cr^{3+} 离子之间的持久能量转移,这些均使材料的余辉发光得到延长。其次,PEG 化的 NPs 可以增加材料在血液中的循环时间,与 c-RGD 肽(RGDyK)连接后可进行肿瘤靶向的成像应用。

将 PEG-NPs 经皮下注射到正常小鼠体内后,显示出优异的余辉发光性能,可在体内进行超过 15 h 的成像($\text{SNR} > 5$)。材料在 5 d 后通过 980 nm 激光器进行 NIR 再激发,余辉发光可得到恢复,并延长到 11 d 以上,这说明材料可通过使用 NIR 光的重复

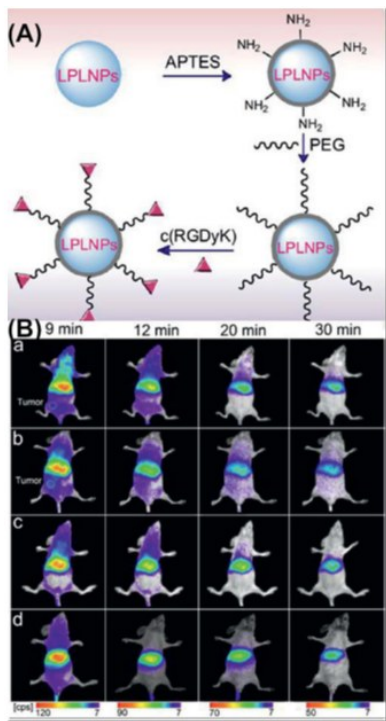


图9 (A) PLNPs 表面修饰的原理图;(B) U87MG 肿瘤小鼠的体内 NIR 光学成像^[53]

Fig.9 (A) Schematic illustration for the surface modification of the PLNPs; (B) in vivo NIR luminescence images of U87MG tumour-bearing mice^[53]

激发进行长期的体内成像。与早期生物分布的研究结果相同,材料主要累积于 RES 器官中。通过将材料注射到携带有 U87MG 肿瘤的小鼠和正常小鼠体内后,比较了 PEG-PLNPs 和 RGD-PLNPs 的肿瘤靶向特性。两种材料都能够标记肿瘤位点(图 9B),但 RGD-PLNPs 在肿瘤位点的发光信号具有更长的可见时间。这是由于 RGD-PLNPs 对肿瘤血管系统中的 $\alpha_v\beta_3$ 具有较高的亲和力。总而言之,Ge / Sn / Al 在 $ZnGa_2O_4$ 中的替代显著改善了 PLNPs 余辉发光强度和余辉发光时间,可以更好地延长靶向和成像观察的时间。

近两年, Cr^{3+} 掺杂的镓锗酸锌 PLNPs 得到更广泛的应用。Li 等基于表面活性剂辅助的水热法结合短时煅烧,制备出新型 NIR 发射、超明亮、余辉时间超过 20 d 的单分散 $ZGGO: Cr^{3+}, Yb^{3+}, Er^{3+}$ 三掺杂 PLNPs (平均粒径为 44.4 ± 11.5 nm),一系列表征验证其具有优异的生物相容性、低毒性和高消化液稳定性^[105]。更重要的是,这种 PLNPs 的余辉可被红色 LED 光再激发而恢复,无需 UV 预激发,可实现长期的体内生物成像。此外,实验发现将叶酸 (FA) 功能化的 PLNPs 经小鼠口服,与常规的静脉注

射对比,口服比常规静脉注射具有更好的肿瘤靶向性能,且生物体伤害较小。

在临床实验中,由于光敏剂在肿瘤细胞中的滞留量要比正常细胞多,滞留时间长,因此光动力学 (PDT) 可利用光敏剂经外界光源激发产生活泼的、具有细胞毒性的单态氧 1O_2 而杀死癌细胞。但是绝大多数可用于 PDT 的光敏剂需要可见光源持续激发,因此光源的组织穿透能力限制了其应用。为此,Abdurahman 等^[106]以溶剂热法合成了余辉发光超过 18 h 的 $ZGGO: Cr^{3+}$ PLNPs,并利用其可被 808 nm 近红外光再激发,恢复持续性发光的优势,以 $ZGGO: Cr^{3+}$ PLNPs 作为 PDT 的激发光源,将酞菁 (Si-Pc) 作为光敏剂共价连接在 PLNPs 的表面进行高效的光动力学癌症治疗,克服了传统 PDT 治疗平台由于外部连续的原位激发产生的局部高温造成组织损伤的缺点,加深了组织穿透力,为下一代临床纳米治疗癌症的平台提供了一个无需外部持续照射的治疗方式。他们使用 808 nm 的 NIR 激光研究了 $ZGGO: Cr^{3+}$ PLNPs 的再激发性能,用 1O_2 产生的指示剂 1,4-二苯基-2,3-苯并呋喃 (DPBF) 作为荧光探针,通过荧光猝灭的方法对 Si-Pc-PLNPs 持续产生 1O_2 的能力进行了检测。结果显示,只有 UV 预激发的 Si-Pc-PLNPs 存在时,可使 DPBF 的荧光显著猝灭,在无外部连续辐照时, Si-Pc-PLNPs 的余辉发光可促使 1O_2 持续产生,即 PLNPs 的近红外余辉发光对 1O_2 的产生具有显著的促进作用,且 NIR 激光的再激发,可使 PLNPs 在 PDT 治疗过程中具有改善 1O_2 的持续性再生能力。最后,对 Si-Pc-PLNPs 在小鼠体内进行了光动力学治疗,预激发的 Si-Pc-PLNPs 处理的小鼠随着时间的增加可显著控制肿瘤体积的增长。

为了实现无自发荧光的生物成像,Chen 等制备了具有超长近红外余辉发光且余辉发光可在红色 LED 灯下再生的 $Zn_{1.1}Ga_{1.8}Ge_{0.1}O_4: Cr^{3+}$ PLNPs 做为 NIR 发光源,巧妙地设计了一种可激活的基于 PLNPs 和 CuS NPs 的纳米探针,构建了能够进一步提高检测灵敏度和信噪比的发光激活平台,用于体内发光成像引导的光热治疗体系^[107]。由于 $Zn_{1.1}Ga_{1.8}Ge_{0.1}O_4: Cr^{3+}$ PLNPs 的发射光谱与 CuS 纳米粒子宽的吸收带重叠可引起 FRET 效应,因此 CuS NPs 既为光热剂又为荧光的猝灭剂,以达到 NIR 的强烈吸收并形成高的光热转换效率。为了使建立的纳米探针余辉发光在肿瘤部位被过表达的基质金属蛋白酶 (MMP) 激活,实验将 MMP 作为靶标物质,利用 MMP 特异性的肽底物 $H_2N-GPLGVRGC-SH$ 作为连

接两种纳米粒子的桥梁,形成了 PLNPs-CuS 纳米探针。他们在探针上进一步修饰了 PEG 和 c-RGDyK 靶向配体,使形成的 PLNPs-CuS-RGD 探针具有很好的生物相容性和靶向性能。实验对构建的探针进行了一系列的体内及体外评估。结果表明,PLNPs-CuS-RGD 可有效地被肿瘤区域的 MMP 特异性激活,实现高灵敏度和高信噪比的肿瘤靶标光学成像,同时产生的光热效应对肿瘤起到有效治疗及控制,具有诊疗一体化应用的潜能。

同样地,Wu 等构建了一种具有穿透肽(TAT)官能化的 NIR 发光 $\text{Zn}_{1.1}\text{Ga}_{1.8}\text{Ge}_{0.1}\text{O}_4:\text{Cr}^{3+},\text{Eu}^{3+}$ LPLNP (LPLNP-TAT),具有超长的余辉性能、红光再激发能力和优异的生物相容性,可成功标记脂肪干细胞(ASC),同时不损害它们的增殖和分化。在无外部激发光源下,能够有效追踪皮肤再生和肿瘤归巢模型中的脂肪干细胞(ASC),避免了原位激发产生的自体荧光及差的信噪比,从而为探索干细胞的生理意义和迁移分布提供了一定的临床依据^[108]。后续工作再次基于 LPLNP 制备了 LPLNP-PPT/ TRAIL 的纳米复合材料,具有双功能持久发光、低毒及体内深部脑组织成像的优异性能。这种先进的纳米复合材料不仅可以有效地转染间质干细胞(MSC),长期追踪监控 MSC 在深部恶性胶质瘤(GBM)模型中的迁移,还可通过人肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)达到 GBM 的归巢和基因治疗,有望使 MSC 成为一种诊断和治疗 GBM 的新型生物医药^[109]。

3.2.3 其他基质

除了镓酸锂、镓酸锌和其取代结构,其他掺杂了 Cr^{3+} 离子的基质也可实现 NIR 余辉发光。氧化镓^[110]、碱性镓酸盐^[111,112]、镧系镓锆酸盐^[113,114] 和

铝酸盐^[115]等均具有 NIR 余辉发射。然而,并没有针对它们的成像应用展开深入研究。Lu 等采用水热法合成了具有 NIR 余辉发射的 $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3:\text{Cr}^{3+}$ 纳米线,其稳定的长余辉发光性质、可控合成、优异的生物相容性和低毒性等证明其具有作为生物成像标记物和光学探针的潜在应用价值^[57]。镁、铈镓酸盐也可作为 PLNPs 理想的基质材料,这些材料的结构和光学特性虽得到关注,但至今尚未应用于活体生物成像中^[111,112]。

3.3 NIR 长余辉的多模态成像

每种特定的成像技术都有其自己的特征优势和局限性。因此,更多的成像模式(多模态成像)被用于更精确、完整可靠的数据诊断。Abdukayum 等提出了开发 NIR PLNPs 用于多模态成像的想法,合成的 PLNPs 均显示出 NIR 荧光成像和磁共振成像的能力^[116]。

NIR 荧光成像具有极高的灵敏度,但同时它较差的空间分辨率可以用 MRI 补充^[117,118]。为了实现这一概念,将掺杂有 Cr^{3+} 和 Pr^{3+} 的 $\text{Zn}_{2.94}\text{Ga}_{1.96}\text{Ge}_2\text{O}_{10}$ 材料与 Gd 离子螯合形成了具有多模态性质的 Gd(Ⅲ)-PLNPs,该材料在体内和体外毒性实验中发现其具有较高安全性。研究者将合成的 Gd(Ⅲ)-PLNPs 水溶液的余辉发光和余辉衰减特征与 PLNPs 进行了对比。尽管余辉发光强度和余辉时间均受到了钆离子络合物影响,但可满足其成像的应用。甚至在停止激发 24 h 后,Gd(Ⅲ)-PLNPs 的余辉发光仍可检测到($\text{SNR} = 5.2$)。此外,为了评估该材料的 MRI 能力将其与商业应用的 Gd-DTPA 复合物进行了比较,发现合成的 Gd(Ⅲ)-PLNPs 材料 MIR 效果更好,具有作为 MRI 造影剂的潜力。

表 2 长余辉材料的表面功能化

Table 2 Surface functionalization of PLNPs

Group	Modified method	Properties/Application	Ref
Si-OH	Si—O—Si	Improve water solubility/Medicine carrying	53,119
PEG	—CO—NH—	Improve the biocompatibility and water solubility	53,107
Peptides	—CO—NH—	Active targeting tumor/Detection caspase-3 protease	107
FA	—CO—NH—	Active targeting tumor	105
Antibody	—CO—NH—	Apecific recognition cancer cell	120,121
DNA/Aptamer	—CO—NH—	miRNA or PDGF protein	85
Si-Pe	C—N	Photodynamic therapy	106
CuS	Cu—S	Photothermal therapy	107

图 10(A) 和图 10(B) 分别显示了该材料的体内 NIR 光学成像以及 MRI 的应用。将 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ Gd(III)-PLNPs 溶液用 254 nm UV 灯激发 10 min 后静脉注射入小鼠体内。在超过 6 h (SNR = 5) 的成像过程中, 发光信号主要来自于肝脏部位 (图 10(A)), 表明 Gd(III)-PLNPs 能够实现体内的长期成像, 不需要原位激发。此外, 在 MRI 系统上, 从小鼠体内静脉注射 Gd(III)-PLNPs 溶液前后的 MRI 对比结果, 可以看出注射 Gd(III)-PLNPs 后的 MRI 空间分辨率更好。注射前小鼠的肝脏并不很清晰, 而注射 Gd(III)-PLNPs 15 min 后肝脏的可见性显著提高 (图 10(B)), 成功地证实了成像技术探针材料的多模态性^[116]。Chen 等合成了镓锗酸钙 ($\text{Ca}_3\text{Ga}_2\text{Ge}_3\text{O}_{12}$), 并共掺杂了 Cr^{3+} 、 Tm^{3+} 和 Yb^{3+} 离子^[122]。PLNPs 具有 Cr^{3+} 离子的 NIR 余辉发光和 Tm^{3+} 与 Yb^{3+} 离子的上转换发射, 其中 Tm^{3+} 的共掺杂增强了材料的余辉发光, 但还需要进一步研究才能实现。

在长余辉荧光材料中引入多模态性能已开展了一些研究工作, 但目前只得到了初步的结果, 需要进一步开发高效的材料, 才可以满足多模态成像方面的应用。

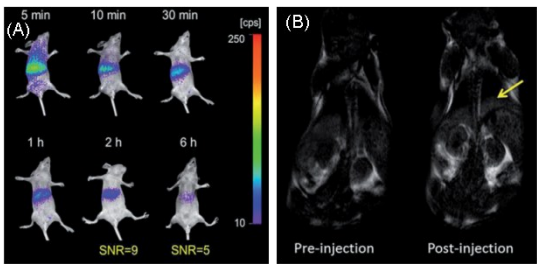


图 10 (A) 正常小鼠静脉注射 Gd(III)-PLNPs 后体内的 NIR 光学成像; (B) 正常小鼠静脉注射 Gd(III)-PLNPs 前后体内的 MR 成像 (黄色箭头表示肝脏)^[116]

Fig. 10 (A) In vivo NIR luminescence images of a normal mouse after an intravenous injection of Gd(III)-PLNPs. (B) In vivo MR images of the normal mouse before and after intravenous injection of Gd(III)-PLNPs (the yellow arrow indicates the liver)^[116]

4 总结与展望

本综述着眼于作为光学成像核心的荧光分子探针, 概述了 PLNPs 作为分子探针的合成方法、传感检测及其在 NIR 区域发射的 PLNPs 的生物成像应用。开发广谱实用、经济的高质量发光纳米生物标

化学进展, 2017, 29(6): 667 ~ 682

记材料固然重要, 但是在生物应用的优化过程中, 纳米材料的相容性、稳定性和长期生物毒性的研究也非常重要。由于 PLNPs 的制备方法仍然没有完全避免在较高合成温度下的晶核聚集和生长, 不能同时控制纳米颗粒的形貌形态和粒径均匀性以及余辉寿命, 涉及到的工艺仅部分改善了长余辉纳米荧光材料的性能, 因此并不是报道的所有方法都适合于 PLNPs 的合成。

PLNPs 具有持久余辉性质, 在应用前可进行体外激发, 去除来自激发光引起的背景噪声干扰。因此, PLNPs 作为荧光探针越来越多地用于生物检测和生物成像中, 以提高信噪比, 增加检测灵敏度。对于 NIR PLNPs 在生物成像应用中, 主要以 Mn^{2+} 和 Cr^{3+} 作为掺杂剂/共掺杂剂离子之一。除了这两种基本的激活剂之外, 几乎没有发现其他离子在 NIR 区域中表现出余辉发光的性能并应用于生物成像。 Mn^{2+} 掺杂的 $\text{Ca}_{0.2}\text{Zn}_{0.9}\text{Mg}_{0.9}\text{Si}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{2+}$, Dy^{3+} 是首先被用于 NIR 成像的长余辉材料, 该材料中的陷阱中心由 Dy^{3+} 掺杂产生, 并且镧系元素离子担当着能量的主要受体, 可通过隧道和持续的能量转移过程将热能释放给 Mn^{2+} 离子。组分的变化引起了 Mn^{2+} 位点周围的对称性和晶体场强度的变化, 对材料 NIR 发射起到了至关重要的作用。增强材料的余辉发射强度/余辉时间对实现探针在体内进行长期和深部组织监测是非常重要的, 这使得 Cr^{3+} 掺杂纳米结构得到快速发展。 Cr^{3+} 和镓酸盐被普遍用作最佳的发射中心和基质, 其优势在于只有镓酸盐适合用作 Cr^{3+} 掺杂的 NIR PLNPs 基质, 这充分说明 PLNPs 的余辉发射过程与基质的晶体或能级结构密切相关。此外, 由于相对缺少可对比的 Cr^{3+} 掺杂的非镓酸盐材料, 因此很难预测在镓酸盐基质中固有的缺陷及离子取代形成缺陷的实际作用和影响。

另一个关键的方面是将 PLNPs 整合为具有其他特殊性能的材料如磁化、光热响应等, 以开启追踪和治疗或监测癌细胞的多功能应用, 因此迫切需要开发 NIR 发光的生物探针, 监测活体中毒素或营养物质的水平。尽管 NIR PLNPs 已得到广泛研究, 但由于已知的 NIR 发光激活中心数量非常少, 因此未来应该更积极地开发更多的激活剂种类 (过渡金属或稀土离子)。这些 NPs 在生物体内的分布取决于其表面所带电荷, 而血液循环能力取决于其粒径大小和表面修饰, 这些均可通过 NPs 的表面功能化得到改善, 如 PEG、甲氧基-PEG 等, 使 NPs 更适合在生物体内进行传感检测和靶向成像。此外, PEG-

PLNP 与生物素、Rak-2 等小分子结合,可使 NPs 分别靶向恶性胶质瘤细胞和前列腺癌细胞,以满足不同的靶向和成像应用。

此外,我们同样期待除了镓酸盐、铝酸盐和硅酸盐基质外,还能够发现新的、更好的具有余辉发光的基质材料。由于生物组织在 NIR 透明窗口有较低的吸光率和较深的渗透率,因此红色-NIR 光在活体内可提供较高的激发效率和信噪比。目前大多数已报道的 NIR PLNPs 发射处在 NIR I 区域。因此,将来研究的重点集中于寻找 NIR II 区域发射的长余辉材料并将它们用于生物的检测及成像应用中。

大量的新概念和新材料仍处于研究阶段,其中一些材料在未来几十年可能会具有更好的余辉性能。应进一步努力开发和研究一些多模态长余辉材料,使其不但可以作为光学探针还可作为磁性探针,具有潜在的发展前景和深远的应用价值。

参 考 文 献

- [1] Luker G D, Luker K E. *J. Nucl. Med.*, 2008, 49: 1.
- [2] Ntziachristos V, Yoo J S, van Dam G M. *J. Biomed. Opt.*, 2010, 15: 066024.
- [3] Kunjachan S, Gremse F, Theek B, Koczera P, Pola R, Pechar M, Etrych T, Ulbrich K, Storm G, Kiessling F, Lammers T. *ACS Nano*, 2013, 7: 252.
- [4] Alford R, Ogawa M, Choyke P L, Kobayashi H. *Mol. Biosyst.*, 2009, 5: 1279.
- [5] Koo H, Huh M S, Ryu J H, Lee D E, Sun I C, Choi K, Kim K, Kwon I C. *Nano Today*, 2011, 6: 204.
- [6] Geoghegan K F, Rosner P J, Hoth L R. *Bioconjugate Chem.*, 2000, 11: 71.
- [7] Montalti M, Prodi L, Rampazzo E, Zaccheroni N. *Chem. Soc. Rev.*, 2014, 43: 4243.
- [8] Liu X, Swihart M T. *Chem. Soc. Rev.*, 2014, 43: 3908.
- [9] Michalet X, Pinaud F F, Bentolila L A, Tsay J M, Doose S, Li J J, Sundaresan G, Wu A M, Gambhir S S, Weiss S. *Science*, 2005, 307: 538.
- [10] Gammon D. *Nat. Nano*, 2012, 7: 621.
- [11] Smith A M, Nie S M. *Nat. Biotechnol.*, 2009, 27: 732.
- [12] Pinaud F, Clarke S, Sittner A, Dahan M. *Nat. Meth.*, 2010, 7: 275.
- [13] Hong H, Yang K, Zhang Y, Engle J W, Feng L Z, Yang Y N, Nayak T R, Goel S, Bean J, Theuer C P, Barnhart T E, Liu Z, Cai W B. *ACS Nano*, 2012, 6: 2361.
- [14] Qian J, Wang D, Cai F H, Xi W, Peng L, Zhu Z F, He H, Hu M L, He S. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, 51: 10570.
- [15] Sreejith S, Ma X, Zhao Y L. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134: 17346.
- [16] Zhu S J, Meng Q N, Wang L, Zhang J H, Song Y B, Jin H, Zhang K, Sun H C, Wang H Y, Yang B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, 52: 3953.
- [17] Nienhaus K, Ulrich Nienhaus G. *Chem. Soc. Rev.*, 2014, 43: 1088.
- [18] Day R N, Davidson M W. *Chem. Soc. Rev.*, 2009, 38: 2887.
- [19] Liu C L, Wu H T, Hsiao Y H, Lai C W, Shih C W, Peng Y K, Tang K C, Chang H W, Chien Y C, Hsiao J K, Cheng J T, Chou P T. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, 50: 7056.
- [20] Lourdu Xavier P, Chaudhari K, Bakshi A, Pradeep T. *Nano. Reviews & Experiments*, 2012, 3.
- [21] Chen H Y, Li S L, Li B W, Ren X Y, Li S N, Mahounga D M, Cui S S, Gu Y Q, Achilefu S. *Nanoscale*, 2012, 4: 6050.
- [22] Shang L, Dong S J, Nienhaus G U. *Nano. Today*, 2011, 6: 401.
- [23] Cheng Z, Levi J, Xiong Z M, Gheysens O, Keren S, Chen X Y, Gambhir S S. *Bioconjugate Chem.*, 2006, 17: 662.
- [24] Becker A, Hessenius C, Licha K, Ebert B, Sukowski U, Semmler W, Wiedenmann B, Grotzinger C. *Nat. Biotech.*, 2001, 19: 327.
- [25] Wagnieres G A, Star W M, Wilson B C. *Photochem. Photobiol.*, 1998, 68, 603.
- [26] Baumes J M, Gassensmith J J, Giblin J, Lee J J, White A G, Culligan W J, Leevy W M, Kuno M, Smith B D. *Nat. Chem.*, 2010, 2: 1025.
- [27] Weissleder R. *Nat. Biotech.*, 2001, 19: 316.
- [28] Bashkatov A N, Genina E A, Kochubey V I, Tuchin V V. *J. Phys. D Appl. Phys.*, 2005, 38: 2543.
- [29] Welsher K, Sherlock S P, Dai H J. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2011, 108: 8943.
- [30] He X X, Wang K M, Cheng Z. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2010, 2: 349.
- [31] Altınöglu E İ, Adair J H. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2010, 2: 461.
- [32] Singh S K, *RSC Adv.*, 2014, 4: 58674.
- [33] Mader H S, Kele P, Saleh S M, Wolfbeis O S. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2010, 14: 582.
- [34] Chen G Y, Shen J, Ohulchanskyy T Y, Patel N J, Kutikov A, Li Z, Song J, Pandey R K, Ågren H, Prasad P N, Han G. *ACS Nano*, 2012, 6: 8280.
- [35] Chen G Y, Qiu H L, Prasad P N, Chen X Y. *Chem. Rev.*, 2014, 114: 5161.
- [36] Wang F, Banerjee D, Liu Y S, Chen X Y, Liu X G. *Analyst*, 2010, 135: 1839.
- [37] Yadav R, Singh S K, Verma R K, Rai S B. *Chem. Phys. Lett.*, 2014, 599: 122.
- [38] Singh S K, Singh A K, Rai S B. *Nanotechnology*, 2011, 22: 275703.
- [39] Wang F, Han Y, Lim C S, Lu Y H, Wang J, Xu J, Chen H Y, Zhang C, Hong M H, Liu X G. *Nature*, 2010, 463: 1061.
- [40] Wang F, Liu X G. *Chem. Soc. Rev.*, 2009, 38: 976.
- [41] Heer S, Kömpe K, Güdel H U, Haase M. *Adv. Mater.*, 2004, 16: 2102.
- [42] Maldiney T, Bessière A, Seguin J, Teston E, Sharma S K,

- Viana B, Bos A J J, Dorenbos P, Bessodes M, Gourier D, Scherman D, Richard C. *Nat. Mater.*, 2014, 13: 418.
- [43] Pan Z, Lu Y Y, Liu F. *Nat. Mater.*, 2012, 11: 58.
- [44] Li Y, Gecevicius M, Qiu J R. *Chem. Soc. Rev.*, 2016, 45: 2090.
- [45] Van den Eeckhout K, Poelman D, Smet P. *Materials*, 2013, 6: 2789.
- [46] Xu J, Tanabe S, Sontakke A D, Ueda J. *Appl. Phys. Lett.* 2015, 107: 1.
- [47] Kanno H, Noda K, Matsui K. *Chem. Phys. Lett.*, 2013, 580: 103.
- [48] Lim J H, Kim B N, Kim Y, Kang S, Xie R J, Chong I S, Morita K, Yoshida H, Hiraga K. *Appl. Phys. Lett.*, 2013, 102: 031104.
- [49] Jin L, Zhang H Y, Pan R Q, Xu P, Han J C, Zhang X H, Yuan Q, Zhang Z H, Wang X J, Wang Y, Song B. *Nano. Lett.*, 2015, 15: 6575.
- [50] Mackenzie J D, Bescher E P. *Acc. Chem. Res.*, 2007, 40: 810.
- [51] Gluchowski P, Strek W, Lastusaari M, Holsa J. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, 17: 17246.
- [52] Basavaraju N, Priolkar K R, Gourier D, Bessiere A, Viana B. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, 17: 10993.
- [53] Abdulkayum A, Chen J T, Zhao Q, Yan X P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, 135: 14125.
- [54] le Masne de Chermont Q, Chanéac C, Seguin J, Pellé F, Maîtrejean S, Jolivet J P, Gourier D, Bessodes M, Scherman D. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, 104: 9266.
- [55] Milde M, Dembski S, Osvet A, Batentschuk M, Winnacker A, Sextl G. *Mater. Chem. Phys.*, 2014, 148: 1055.
- [56] Bessiere A, Lecoindre A, Priolkar K R, Gourier D. *J. Mater. Chem.*, 2012, 22: 19039.
- [57] Lu Y Y, Liu F, Gu Z, Pan Z. *J. Lumin.*, 2011, 131: 2784.
- [58] Wei D L, Qin L, Huang Y L, Seo H J. *Ceram. Int.*, 2013, 39: 2383.
- [59] Fu X Y, Liu C L, Shi J P, Man H Z, Xu J, Zhang H W. *Opt. Mater.*, 2014, 36: 1792.
- [60] Huang P, Zhang Q C, Cui C E, Li J. *Opt. Mater.*, 2011, 33: 1252.
- [61] Tian Y M, Zhang P, Zheng Z T, Chai Y S. *Mater. Lett.*, 2012, 73: 157.
- [62] Kong J T, Zheng W, Liu Y S, Li R F, Ma E, Zhu H M, Chen X Y. *Nanoscale*, 2015, 7: 11048.
- [63] Rodríguez Burbano D C, Sharma S K, Dorenbos P, Viana B, Capobianco J A. *Adv. Opt. Mater.*, 2015, 3: 551.
- [64] Xu Y F, Ma D K, Guan M L, Chen X A, Pan Q Q, Huang S M. *J. Alloy. Compd.*, 2010, 502: 38.
- [65] Liu D, Cui C E, Huang P, Wang L, Jiang G W. *J. Alloy. Compd.*, 2014, 583: 530.
- [66] Li Z J, Zhang Y W, Wu X, Huang L, Li D S, Fan W, Han G. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137: 5304.
- [67] Cheng B C, Liu H J, Fang M, Xiao Y H, Lei S J, Zhang L D. *Chem. Commun.*, 2009, 8: 944.
- [68] Liu Y D, Goebel J, Yin Y D. *Chem. Soc. Rev.*, 2013, 42: 2610.
- [69] Li Z J, Zhang Y W, Wu X, Wu X Q, Maudgal R, Zhang H W, Han G. *Advanced Science*, 2015, 2: 1500001. DOI: 10.1002/advs.201500001.
- [70] Li Z J, Shi J P, Zhang H W, Sun M. *Opt. Express*, 2014, 22: 10509.
- [71] Li Z J, Zhang Y J, Zhang H W, Fu H X. *Microporous Mesoporous Mater.*, 2013, 176: 48.
- [72] Xu Z K, Duan G T, Zhang H W, Wang Y Y, Xu L, Cai W P. *Nanoscale*, 2015, 7: 14264.
- [73] Mukasyan A S, Epstein P, Dinka P. *P. Combust. Inst.*, 2007, 31: 1789.
- [74] Cheng B C, Zhang Z D, Han Z H, Xiao Y H, Lei S J. *CrystEngComm*, 2011, 13: 3545.
- [75] Xin S Y, Wang Y H, Dong P Y, Zeng W, Zhang J. *J. Mater. Chem. C*, 2013, 1: 8156.
- [76] Yan S C, Wang J J, Gao H L, Wang N Y, Yu H, Li Z S, Zhou Y, Zou Z G. *Adv. Funct. Mater.*, 2013, 23: 1839.
- [77] Li H H, Yin S, Sato T. *Res. Chem. Intermediat*, 2013, 39: 1501.
- [78] Elsagh M, Rajabi M, Amini E. *J. Mater. Sci-Mater El.*, 2014, 25: 1612.
- [79] Dong G P, Xiao X D, Zhang L L, Ma Z J, Bao X, Peng M Y, Zhang Q Y, Qiu J R. *J. Mater. Chem.*, 2011, 21: 2194.
- [80] Li N, Diao W, Han Y, Pan W, Zhang T, Tang B. *Chem. -Eur. J.*, 2014, 20: 16488.
- [81] Tang Y R, Song H J, Su Y Y, Lv Y. *Anal. Chem.*, 2013, 85: 11876.
- [82] Wu B Y, Wang H F, Chen J T, Yan X P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133: 686.
- [83] Li N, Li Y H, Han Y Y, Pan W, Zhang T T, Tang B. *Anal. Chem.*, 2014, 86: 3924.
- [84] Niu J Y, Wang X, Lv J Z, Li Y, Tang B. *Trac-Trends Anal. Chem.*, 2014, 58: 112.
- [85] Zhang L, Lei J P, Liu J T, Ma F J, Ju H X. *Biomaterials*, 2015, 67: 323.
- [86] Paterson A S, Raja B, Garvey G, Kolhatkar A, Hagström A E V, Kourentzi K, Lee T R, Willson R C. *Anal. Chem.*, 2014, 86: 9481.
- [87] Naczynski D J, Tan M C, Zevon M, Wall B, Kohl J, Kulesa A, Chen S, Roth C M, Riman R E, Moghe P V. *Nature Communications*, 2013, 4: 2199.
- [88] Wang R, Zhang F. *J. Mater. Chem. B*, 2014, 2: 2422.
- [89] Bünzli J C G, Eliseeva S V. *J. Rare Earth.*, 2010, 28: 824.
- [90] Ueda J, Shinoda T, Tanabe S. *Opt. Mater. Express*, 2013, 3: 787.
- [91] Yu N Y, Liu F, Li X F, Pan Z W. *Appl. Phys. Lett.* 2009, 95: 231110.
- [92] Wang X J, Jia D, Yen W M. *J. Lumin.*, 2003, 102: 34.
- [93] Maldiney T, Richard C, Seguin J, Wattier N, Bessodes M, 化学进展, 2017, 29(6): 667 ~ 682

- Scherman D. *ACS Nano*, 2011, 5: 854.
- [94] Maldiney T, Kaikkonen M U, Seguin J, le Masne de Chermont Q, Bessodes M, Airenne K J, Ylä-Herttuala S, Scherman D, Richard C. *Bioconjugate Chem.*, 2012, 23: 472.
- [95] Maldiney T, Byk G, Wattier N, Seguin J, Khandadash R, Bessodes M, Richard C, Scherman D. *Int. J. Pharm.*, 2012, 423: 102.
- [96] Maldiney T, Lecointre A, Viana B, Bessière A, Bessodes M, Gourier D, Richard C, Scherman D. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133: 11810.
- [97] Li Y, Li Y Y, Sharafudeen K, Dong G P, Zhou S F, Ma Z, Peng M Y, Qiu J R. *J. Mater. Chem. C*, 2014, 2: 2019.
- [98] Bessière A, Jacquart S, Priolkar K, Lecointre A, Viana B, Gourier D. *Opt. Express*, 2011, 19: 10131.
- [99] Bessière A, Sharma S K, Basavaraju N, Priolkar K R, Binet L, Viana B, Bos A J J, Maldiney T, Richard C, Scherman D, Gourier D. *Chem. Mater.*, 2014, 26: 1365.
- [100] Sharma S K, Bessière A, Basavaraju N, Priolkar K R, Binet L, Viana B, Gourier D. *J. Lumin.*, 2014, 155: 251.
- [101] Zhuang Y X, Ueda J, Tanabe S, Dorenbos P. *J. Mater. Chem. C*, 2014, 2: 5502.
- [102] Li Y, Zhou S F, Dong G P, Peng M Y, Wondraczek L, Qiu J. *Sci. Rep.*, 2014, 4: 4059.
- [103] Li Y, Zhou S F, Li Y Y, Sharafudeen K, Ma Z J, Dong G P, Peng M Y, Qiu J R. *J. Mater. Chem. C*, 2014, 2: 2657.
- [104] Allix M, Chenu S, Véron E, Poumeyrol T, Kouadri-Boudjelthia E A, Alahraché S, Porcher F, Massiot D, Fayon F. *Chem. Mater.*, 2013, 25: 1600.
- [105] Li Y J, Yan X P. *Nanoscale*, 2016, 8: 14965.
- [106] Abdurahman R, Yang C X, Yan X P. *Chem. Commun.*, 2016, 52: 13303.
- [107] Chen L J, Sun S K, Wang Y, Yang C X, Wu S Q, Yan X P. *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2016, 8: 32667.
- [108] Wu S Q, Chi C W, Yang C X, Yan X P. *Anal. Chem.*, 2016, 88, 4114.
- [109] Wu S Q, Yang C X, Yan X P. *Adv. Funct. Mater.*, 2017, 27.
- [110] Wang X S, Wan M H, Wang Y, Zhao H, Hu Z F, Li H L. *Spectrosc. Spectral Anal.*, 2013, 33: 2921.
- [111] Basavaraju N, Sharma S, Bessière A, Viana B, Gourier D, Priolkar K R. *J. Phys. D-Appl. Phys.*, 2013, 46: 375401.
- [112] Xu J, Chen D, Yu Y, Zhu W, Zhou J, Wang Y. *Chem-Asian. J.*, 2014, 9: 1020.
- [113] Yan W Z, Liu F, Lu Y Y, Wang X J, Yin M, Pan Z W. *Opt. Express*, 2010, 18: 20215.
- [114] Jia D, Lewis A L, Wang X J. *Electrochem. Solid. State. ST.*, 2010, 13: J32.
- [115] Luitel H N, Watari T, Torikai T, Yada M. *Opt. Mater.*, 2009, 31: 1200.
- [116] Abdukayum A, Yang C X, Zhao Q, Chen J T, Dong L X, Yan X P. *Anal. Chem.*, 2014, 86: 4096.
- [117] Reddy L H, Arias J L, Nicolas J, Couvreur P. *Chem. Rev.*, 2012, 112: 5818.
- [118] Liu J M, Liu Y Y, Zhang D D, Fang G Z, Wang S, *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2016, 8: 29939.
- [119] Maldiney T, Ballet B, Bessodes M, Scherman D, Richard C. *Nanoscale*, 2014, 6: 13970.
- [120] Li J L, Shi J P, Shen J S, Man H Z, Wang M X, Zhang H W. *Nano-Micro Lett.*, 2015, 7: 138.
- [121] Wu B Y, Yan X P. *Chem. Commun.*, 2015, 51: 3903.
- [122] Chen D Q, Chen Y, Lu H W, Ji Z G. *Inorg. Chem.*, 2014, 53: 8638.