

量子点荧光标记技术的研究热点及面临的挑战*

李常艳^{1,2)} 李倩²⁾ 刘海涛³⁾ 张军^{1,2)**} 阿勒坦高勒¹⁾

¹⁾内蒙古大学生命科学学院, 呼和浩特 010021; ²⁾内蒙古大学化学化工学院, 呼和浩特 010021;

³⁾内蒙古呼和浩特市武警医院, 呼和浩特 010021)

摘要 半导体量子点作为新型荧光标记物, 在生物医学领域具有重要应用. 与传统的有机染料及荧光蛋白等荧光标记物相比, 半导体量子点具有发光颜色可调、激发范围宽、发射光谱窄、化学及光稳定性好、表面化学丰富以及生物偶联技术成熟等诸多优势, 为生命体系的靶向示踪, 高灵敏、原位、实时、动态荧光成像, DNA 及蛋白质检测, 靶向药物, 临床医学, 生物芯片和传感器等研究提供了新的发展契机. 基于作者在半导体量子点生物荧光成像和安全性评价研究的基础, 综述了半导体量子点荧光标记物在生命科学与医学领域应用的研究热点, 并对半导体量子点荧光标记技术走向实用面临的挑战进行了评述.

关键词 半导体量子点, 生物荧光标记, 生物医学

学科分类号 Q616

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00342

探索和发展生物体内及生命过程中蛋白质、核酸、多肽等重要生物分子的高灵敏分析检测方法, 是生物医学领域研究的热点和难点. 生物标记技术是该领域不可或缺的研究手段. 通用的生物标记物可以分为放射性标记物、显色标记物、酶标记物和荧光标记物等. 其中, 荧光标记物是备受科研人员关注的一类标记材料, 它的检测灵敏度很大程度上取决于标记物的发光强度和光化学稳定性. 目前使用的有机荧光标记物虽然荧光强度高, 但激发光谱窄, 发射光谱宽且拖尾, 易发生光漂白, 极大地限制了它在生物医学领域中的应用.

半导体量子点(QDs)作为新型荧光标记物用于生物医学领域的研究始于 20 世纪 70 年代末. 由于 QDs 具有激发光谱宽而连续、发射光谱窄而对称、发光效率高、光化学稳定性好、不易发生光漂白、发射光颜色与粒径大小关联等优点, 被广泛应用于蛋白质及 DNA 检测、细胞标记成像、活细胞生命动态过程示踪、活体动物体内肿瘤细胞靶向示踪等生物医学领域^[1-6]. 基于本文作者在 QDs 生物荧光成像和安全性评价研究的基础, 综述了 QDs 荧光标记物在生物医学领域应用研究的热点, 并对 QDs 荧光标记技术走向实用面临的挑战进行了评述.

1 量子点在生物学领域的研究进展

1.1 细胞生物学方面的研究

QDs 在细胞生物学方面的研究始于 20 世纪 90 年代末. 1998 年, Bruchez 等^[7]利用 CdSe/ZnS QDs 作为荧光标记物, 对小鼠的 3T3 纤维原细胞进行双色标记, 在单光源激发下, 清晰地观察到红色胞浆肌动蛋白和绿色细胞核的结构, 且 QDs 荧光强度随照射时间的变化很小. 这一结果展示了 QDs 独特的荧光特性, 开创了以 QDs 为标记物进行细胞成像的先河, 极大地激发了人们的研究兴趣. 目前, 采用 QDs 对细胞生命活动过程进行高灵敏、高分辨、实时、原位、动态研究已成为细胞生物学领域的前沿和热点.

1.1.1 活细胞生命动态过程示踪. 一般的有机荧光标记物标记生物体时短时间内会发生光漂白, 因而

* 内蒙古自治区科技攻关项目(20080507), 国家自然科学基金(20601012)和内蒙古自治区高校科学研究基金(NJZY07011)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0471-4993405, E-mail: cejzhang@imu.edu.cn

收稿日期: 2009-05-30, 接受日期: 2009-09-04

不能完整地监测有机体内复杂反应的整个过程。QDs 凭借其优良的光谱特性和光化学稳定性, 可以对生物体进行有效的荧光标记, 弥补了传统有机荧光标记物的不足。Dubertret 等^[8]首次将单个 QDs 包于磷脂胶囊后注入非洲蟾蜍早期胚胎的个体细胞, 发现 QDs 胶囊自动限制在注入细胞的子代中。根据 QDs 的存在位置, 可以追踪观察细胞的世系关系和胚胎的生长发育过程。这种实时的单细胞迁移和分化的成像过程, 有助于胚胎发育学进行深入的研究。Alivisatos 等^[9]用不同颜色的 QDs 标记人体乳腺上皮细胞的正常细胞和肿瘤细胞, 进行正常细胞与肿瘤细胞相互作用的动态可视化研究。在 2 个星期的共同培养过程中, 可以观察到正常细胞中的 QDs 随细胞的分裂和腺泡的形成进入整个腺泡, 肿瘤细胞不断向腺泡移动, 伸展出侵袭伪足, 接触腺泡, 揭示了正常细胞程序性死亡的整个过程, 在细胞实时成像技术方面取得了进展。Gao 等^[10]利用细胞实时成像技术对大脑皮层细胞病变部位进行了研究。将 QDs 包于 PEG-PLA 中, 连接麦胚芽凝集素 (WGA-QDs-NP) 后注入鼻腔, QDs 经嗅觉黏膜组织进入大脑皮层细胞, WGA-QDs-NP 在长达 4 h 的停留过程中标记大脑组织中的病变部位, 对中枢神经系统疾病的诊断和治疗具有重要的指导意义, 为这一领域带来了新的机遇。Yum 等^[11]使用纳米针将荧光量子点通过机械化学的方法渗透细胞膜进入活细胞的细胞质和细胞核。由于量子点的存在, 使得原位控制、监测和记录传递成为可能, 达到了分子级分辨率, 并从时空方面准确地研究活细胞生物学过程和生物物理性质, 与传统方法相比有重大的突破。随着 QDs 生物标记技术研究的深入, 使原来使用其他传统荧光标记物无法实现的长时间动态示踪成为可能, 并且在动态示踪检测的灵敏度、分辨率、示踪时间等方面具有不可替代的优势, QDs 作为新兴荧光标记物在活细胞生命动态过程示踪研究中将发挥极为重要的作用。

1.1.2 信号转导方面的应用。活细胞膜上单分子高灵敏度、实时检测可为受体扩散动力学、信号转导和配体-受体相互作用提供直接信息。Dahan 等^[12]采用 QDs 作为荧光标记物通过间接免疫标记的方法, 研究了神经膜上单个甘氨酸受体的扩散动力学, 通过不同时间的荧光显微照片对比, 可以清楚地观察到受体在神经突触表面结合的过程。Lidke 等^[13]将 QDs 标记表皮生长因子(EGF), 发现 EGF 对跨膜受体 erbB1 具有高度亲和性, 通过追踪 QDs

标记后的 EGF-erbB1 复合物的扩散过程, 又发现 EGF 激活受体 erbB1 后与 erbB2 结合形成异二聚体, 调节 EGF 诱导的信号转导, 证实了 erbB2 是细胞对该受体内吞作用的主要调节因子, 这样就可以开发针对 erbB2 的药物, 治疗由 erbB 系列蛋白过度表达导致的癌化。为了进一步研究受体的特异性细胞吞噬对生物体内肿瘤细胞的影响, Jiang 等^[13]将连接聚乙烯亚胺和透明质酸的 QDs(PEI-HA-QDs)注入 B16F1 细胞, 个体检测结果显示, 在 HA 受体介导下, PEI-HA 表现出对小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)特异的标识性能, 而且 PEI-HA-siRNA 主要积聚在肝脏、肾脏和肿瘤。在生物成像研究的基础上, 将 anti-VEGF 的 siRNA/PEI-HA 复合物注入 C57BL/6 鼠的肿瘤细胞, 通过 HA 受体的特异性细胞吞噬, 肿瘤的生长受到了抑制。目前在 HA 受体的作用下, anti-VEGF siRNA/PEI-HA 复合物可应用于肝癌和肾癌的治疗。由此可见, QDs 荧光标记技术在受体扩散动力学、信号转导和配体-受体相互作用方面的研究具有极为重要的应用。

1.1.3 活体靶向示踪和动态成像。QDs 荧光量子效率高、稳定性好、一定程度上抵抗组织对可见光的吸收和散射, 使 QDs 应用于活体实时、动态示踪具备了独特的优势。Akerman 等^[14]首次报道了巯基化靶向多肽修饰 QDs 用于裸鼠活体组织癌症检测。随后, Gao 等^[15]将功能化的 QDs 转入 HeLa 细胞, 皮下注入裸鼠, 通过活体动物微成像系统, 清晰地观察到了癌细胞所在位置荧光记号、癌细胞的迁移、浸润以及癌细胞在体内分化形成的肿瘤组织, 使活体动态实时监测成为可能。Tada 等^[16]采用背部皮肤固定器和高灵敏 CCD 高速共聚焦显微镜观察乳腺癌细胞特异性探针在老鼠体内的运动情况, 发现 QDs 探针注入到体内后以 stop-and-go 形式不断运动一直到核周边, 整个过程分为 6 个阶段, 还可以通过速率测量其中的决速阶段, 这种高灵敏可视化示踪有望为癌症的早期诊断和疗效评价提供关键性技术。实现活体荧光成像的难点在于如何提高深层组织的检测信号强度。Zhang 等^[17]利用 CdHgTe QDs 荧光量子效率高且稳定的特性, 在近红外区针对裸鼠进行了荧光成像测试。如图 1 所示, CdHgTe QDs 在中心位置位于 875 nm 波长处的发射峰较强。取 20 μ l CdHgTe QDs 皮下注入裸鼠, 荧光图像显示 3 天后 CdHgTe QDs 仍具有十分突出的荧光标记特性, 可实现长时间的生物体外和

活体的实时跟踪和荧光检测. 近红外 QDs 荧光标记物具有穿透力强、易激发及检测灵敏度高等特点, 因而发展近红外光 QDs 荧光标记物, 是实现生物体内深度组织荧光标记、成像和检测的有效工具, 将有助于更好地实现 QDs 的活体靶向示踪、实时动态成像, 为生物荧光成像技术带来了新的活力.

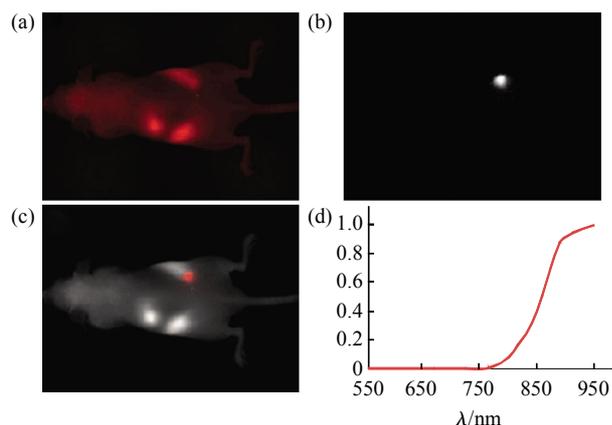


Fig. 1 CdHgTe subcutaneous injection in nude mouse^[17]

图 1 裸鼠皮下注入 CdHgTe 后采集的荧光图像^[17]

(a)裸鼠皮下注入 20 μl CdHgTe 的荧光图像. (b)扣除自发荧光后的 CdHgTe 的荧光图像. (c)与背景荧光混合后的 CdHgTe 的图像. (d) CdHgTe 的光谱图.

1.2 核酸分子生物学方面的研究

1953 年, Watson 与 Crick 提出 DNA 的双螺旋结构和自我复制机理, 成为人类在分子水平上认知生命的里程碑. 50 年来生命科学的研究突飞猛进, 针对核酸结构的理解和应用已成为生物学家所关注的热点. Mahtab 等^[18]将具有特定结构的核酸序列吸附于 QDs CdS 上后发现, 通过 QDs 表面敏化发光行为可以区分“直线型”、“弯曲线型”和“扭结型”的双链寡核苷酸, 提出了稀溶液中探测核酸结构的新方法. Han 等^[19]利用不同颜色的 QDs 标记多色编码微珠与遗传物质条带连接, 用于 DNA 杂交检测, 在 DNA 的测序方面取得了突破性进展, 这种由 QDs 构成的标记体系将改变科研人员识别人类基因的能力. Qi 等^[20]采用 amphipol 修饰 QDs, 由于 amphipol 具有交错的亲水性和疏水性侧链, 可以携带 siRNA 分子进入细胞质, 保护 siRNA 以防酶降解, 使得 QDs 信号追踪 QDots-siRNA 在细胞中的进出、内吞小体的逃逸、运输、传递过程的实时监测成为可能, 这种多功能 QDs 的出现, 促

进了实用基因组学和基因治疗学的研究.

1.3 蛋白质分析方面的研究

作为基因表达产物, 蛋白质研究的主要目的是在一次同时观察细胞内多种乃至千百种蛋白质的细胞定位、相互作用及其动态变化. Wu 等^[21]用链霉亲和素与不同粒径的 QDs 连接, 制备了 QDs-链霉亲和素荧光探针, 然后分别连接抗体和生物素, 通过抗原-抗体结合法和生物素法分别同时特异性地标记乳腺癌细胞膜上的 Her2 受体蛋白、细胞质中的微管蛋白和细胞核中的抗原蛋白, 观察到同一光源照射下发出不同颜色极易区别的荧光, 达到了对活细胞内多种蛋白质分子的直接编码阅读, 实现了活体条件下蛋白质分子多通道、长时间实时动态研究. Ghazani 等^[22]将组织微阵列技术、光谱分析技术与 QDs 相结合, 发展了一种用于定量测定肿瘤中蛋白质表达的新方法. 如图 2 所示, Ebenstein 等^[3]采用单量子点识别 DNA 结合蛋白(如转录因子 TFs). 首先利用染色质免疫沉淀反应在生物体内将 DNA 与 DNA 结合蛋白交联, 然后用偶联逆转录因子抗体的 4 种不同颜色的 QDs 标记上述交联复合物, 同时用 YOYO-1 将 DNA 染成蓝色. 此外, 利用 cDNA 探针, 采用红色的 QDs 标记基因组序列中的参考点. 将 QDs 标识过的蛋白质-DNA 复合物排列在盖玻片, 形成线形的具有 QDs-转录因子的 DNA 分子. 在单一光源的激发下, QDs 于

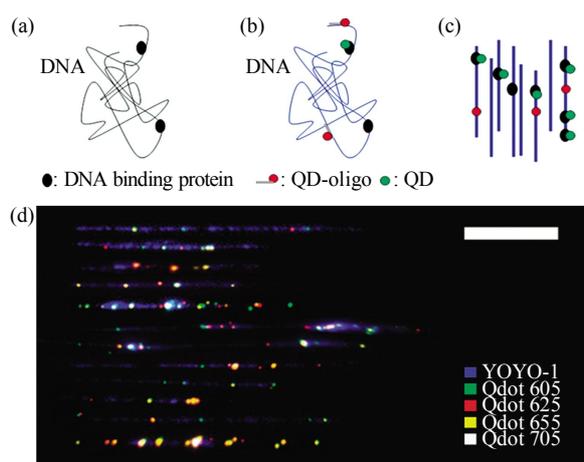


Fig. 2 Experimental steps for mapping DNA binding proteins^[3]

图 2 描绘 DNA 结合蛋白的实验步骤^[3]

(a) DNA 结合蛋白与 DNA 的交联. (b) DNA 染成蓝色, 绿色的量子点标记 DNA 结合蛋白, 红色的量子点标记 DNA 组序中的参考点. (c) 在盖玻片上将具有 QDs-转录因子的 DNA 排成线形. (d) 交联有线形 DNA 的 RNA 聚合酶生物素和量子点-链霉素的图像.

605 nm、625 nm、655 nm 及 705 nm 发出绿、红、黄、白 4 种不同的颜色，通过荧光显微技术来分析判断蛋白质的位置。这种高通量的测试方法，能够确定 DNA 分子上的多个蛋白质的位置，有理由相信在不久的将来，不同的蛋白质能够与不同颜色的 QDs 对应，生物医学工作者利用色标就可以确定蛋白质的组成和排序，并通过蛋白质的组成和排列进一步分析 DNA 的组成，来诠释人类遗传基因的组成。

2 量子点在医学领域的研究进展

2.1 生物芯片

生物芯片以载体上固定寡核苷酸技术为基础，在很小的平面内，通过排列有序的具有生物识别功能的分子探针选择性地与标记的检验体分子杂交，进行检测。目前，尽管芯片上有“海量”的蛋白质，但受荧光探针性能的限制，一次通常只能将一种(或很少几种)标记了荧光探针的蛋白质与芯片作用。要研究并检测多个蛋白质，就只能多次重复上述操作。因此，严格意义上说，这种芯片只是“单高通量”的。Han 等^[19]充分利用 QDs 标记物独特的光学特性巧妙地将不同荧光颜色的 QDs 组合后，装入空心聚苯乙烯小球内，根据 QDs 的光学特征可编译成密码标记不同的寡核苷酸探针或抗体，可同时搜索生物芯片中的很多靶点，为“海量”通量的实现提供了可能。Agrawal 等^[23]在微流道中采用 QDs 多色编码检测核酸和病毒，当检测分子的数目大于 10 时，可以得到精确的检测结果，实现了快捷的高通量筛选。Koji 等^[24]构建了一种新颖、快捷的蛋白质记录材料。这种材料可根据光连接器提供的信息调整记录、阅读荧光蛋白的排列，清晰地读出蛋白质配体复合物的组成。当紫外可见光照射表

面时，链状球菌 - 抗生物素蛋白光致消除，固体表面的蛋白质图形消失。该技术对生物芯片的微型排列具有重要的意义。QDs 已被公认为最有发展前景的蛋白质及生物分子荧光探针，结合纳米加工技术，蛋白质的分析过程将会集中在一个芯片上真正实现多通道、高通量的快速、灵敏、特异性的检测，为获得细胞内生命快照的研究提供强有力的技术平台，这项技术会给整个生命科学带来革命性的变化。

2.2 生物传感

QDs 独特的光电特性使其成为生物传感的理想研究对象，基于高灵敏的 QDs，已经成功构建出生物小分子和蛋白质高灵敏传感器。Medintz 等^[25]利用 QDs 可与分子光谱匹配的有机荧光染料组成荧光共振能量转移对这一原理，以发绿色荧光(560 nm)的 QDs 标记麦芽糖结合蛋白，以有机荧光染料 QS-Y-9(其最大吸收在 565 nm)标记 β - 环糊精，组成荧光共振能量转移对。在有麦芽糖存在时，二者之间的能量转移过程被破坏，QDs 的荧光得以恢复，实现了对麦芽糖的均相传感，并开发出多元检测体系。目前，QDs 应用于蛋白酶的检测，已成为生物传感领域的一个热点。Shi 等^[26]通过酶解底物将罗丹明连接在 QDs 上，将其作为探针，检测了正常和癌变细胞胞外基质中的金属蛋白酶和胰岛素的水解活性，推测了酶的抑制机理，筛选抑制剂，为肿瘤的早期诊断、癌细胞转移过程的动态监测提供了有效的工具。Zhang 等^[27]用识别可卡因的适配子修饰量子点，利用单分子检测和由 605QD 与 Cy5 蓝色荧光探针组成的荧光共振能量转移(FRET)体系，开发研制了单量子基的适配传感器。如图 3 所示，可卡因不存在时，由于 605QD 和 Cy5 之间的荧光共振能量转移，可检测

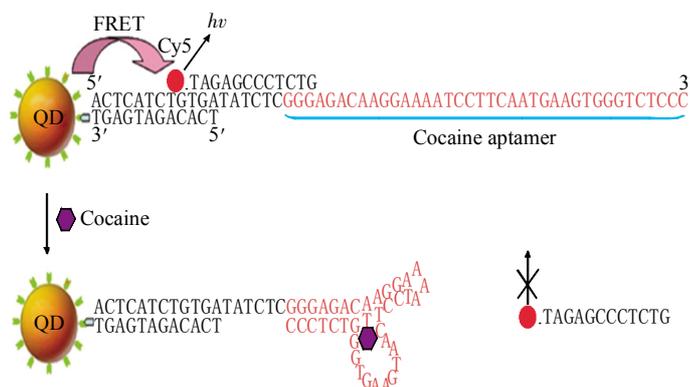


Fig. 3 Principle of signal-off single QD-based aptameric sensor for cocaine detection^[27]

图 3 用于可卡因检测的基于单量子点适配传感器信号消失的原理^[27]

到 Cy5 蓝色荧光, 若可卡因存在, 它和适配子形成复杂的结构, 后面 605QD 和 Cy5 之间的荧光共振能量转移消失, 这样就可通过 Cy5 信号的消失判断可卡因的存在. 单量子基适配传感器将会在法医分析、环境监测和诊断学方面有着广泛的应用.

2.3 靶向药物

靶向药物利用对某些病变组织细胞具有特殊亲和力的分子作载体, 与药物偶联后将其定向输送到靶器官病变部位, 从而提高病变部位的有效药物浓度, 减少药剂量, 降低药物的不良反应. 目前, 用于恶性肿瘤诊断和治疗的药物和基因载体主要是金属纳米粒子和无机非金属纳米颗粒. 因为 QDs 既能与细胞表面脂质蛋白受体相连或核内的 DNA 相连, 又能跟踪记录药物分子在作用过程中的位置, 使观察者在临床前期阶段就能推测出该药物可能引起的其他作用, 所以在靶向药物应用方面具有独特的优势. Kevin 等^[28]合成了免疫脂质体量子点(QD-ILs)和脂质体量子点(QD-Ls)两种纳米粒子, 在免疫脂质体大分子结构上连接具有成像和治疗效果的靶向药物, 将 QDs 特有的发光性能和免疫脂质体的癌细胞检测和治疗功能相结合. 在受体介导的细胞吞噬作用下, QD-ILs 和 QD-Ls 进入 SK-BR-3、MCF-7/HER2 和 MCF-7 肿瘤细胞, 荧光测试结果表明: QD-ILs 具有很好的肿瘤细胞的靶向示踪、活体成像效果, QD-ILs 负载阿霉素后药物代谢的动力学特征表明, QD-ILs 负载的靶向药物在血浆中的半衰期长达 2.9 h, 具有很好的靶向药物功能和抗癌活性. 功能性 QDs 将为药物作用机制的研究提供非常有价值的方法和信息.

2.4 临床诊断学

早期的 QDs 标记物由于表面修饰技术欠缺, 在标记过程中缺乏特异性, 产生很多非特异性吸附, 造成假象, 免疫标记技术与荧光标记技术的结合, 可以很好地解决这一问题. Goldman 等^[29]利用不同尺寸的 QDs 可用单一激发光源得到多种荧光这一特性, 结合免疫分析技术, 将 QDs 分别与抗霍乱毒素、蓖麻毒素、类志贺毒素和葡萄球菌肠毒素 B 的抗体偶联, 在同一微孔板上进行 4 种毒素的同时检测, 大大简化了多指标同时检测的难度, 成功对病毒进行了多色成像. Yu 等^[30]以人肝癌裸鼠模型为对象, 成功构建出荧光 - 磁性 -(肿瘤)细胞靶向的多功能纳米生物探针, 可以根据不同需要, 方便地变更探针的表面生物靶向分子得到所需要的特异性探针, 用于肿瘤细胞和其他不同细胞的

靶向可视化捕获分选, 有望在医学临床外科手术中对肿瘤的有效清除和靶向治疗发挥作用. Dixit 等^[31]采用多种方法将 QDs 包入病毒颗粒, 制备出发光性和稳定性良好的 QDs- 病毒复合物, 在活细胞内直接可视化研究病毒 - 宿主相互作用的动态过程, 获取病毒侵染过程中吸附、侵入、脱壳、生物大分子(核酸和蛋白质等)的运动行为及轨迹等生命过程信息, 阐述病毒侵染和致病过程的机制, 为抗病毒药物设计和有效基因治疗载体的开发提供了理论依据. Bhirde 等^[32]将带有抗癌药——顺铂的 QDs 和表皮生长因子(EGF)分别偶联在单壁碳纳米管两端, 利用表皮生长因子受体(EGFR)对表皮生长因子(EGF)的特异性吞噬作用, 把抗癌药带入癌细胞, 并通过量子点能够观察到抗癌药对癌细胞的作用, 提高了药物对病变部位的有效治疗效果. 靶向药物在肿瘤治疗方面具有独特的优势, 为癌症的治疗开辟了新天地.

3 量子点荧光标记技术所面临的挑战

QDs 作为生物医学领域强有力的工具, 所面临的巨大挑战是细胞毒性. Zhang 等^[33]针对 CdTe QDs 影响人类气管(MCF7 和 MDA-MD-231)、前列腺(PC3)和 HepG2 癌细胞的毒性做了相关评价. 结果显示, 当 CdTe QDs 在活体中浓度大于 $5 \mu\text{mol/L}$, 癌细胞运动活性的性状有明显改变. 如图 4 所示, 选取 $50 \mu\text{l}$ CdHgTe(图 4 左)和 CdTe(图 4 右)QDs 皮下注入鼠身体的两个部位. CdTe QDs 在小鼠体内保留时间长达 18 天, 而 CdHgTe QDs 由于其稳定性差, 在小鼠体内只能保留 6 天, CdTe 和 CdHgTe QDs 的浓度和暴露时间是影响细胞毒性的主要原因. 李鸿程等^[34]对不同 QDs 的致毒机制以及体内动力学过程做了初步推测, 适当浓度下(如 $1 \mu\text{mol/L}$)QDs 在小鼠体内成像时, 并没有导致明显的病理学反应. Jiang 等^[35]采用生物素、糖和胺等修饰量子点表面, 揭示了表面功能化的提高, 有助于量子点毒性的降低. 因此, 严格控制 QDs 的电荷、作用剂量、尺寸、包被试剂、暴露时间, 尽可能降低或避免其所产生的毒性, 增加其生物兼容性, 是 QDs 在生物应用中的关键所在. QDs 作为一种极具应用潜力的新型纳米材料, 要想真正实现它在生物医学领域的深入应用, 除了在合成技术上不断优化, 以期获得性能更加优异的 QDs(如稳定性强、荧光产率高、生物适应性强等), 还应该进一步完善其生物安全性评价的研究.

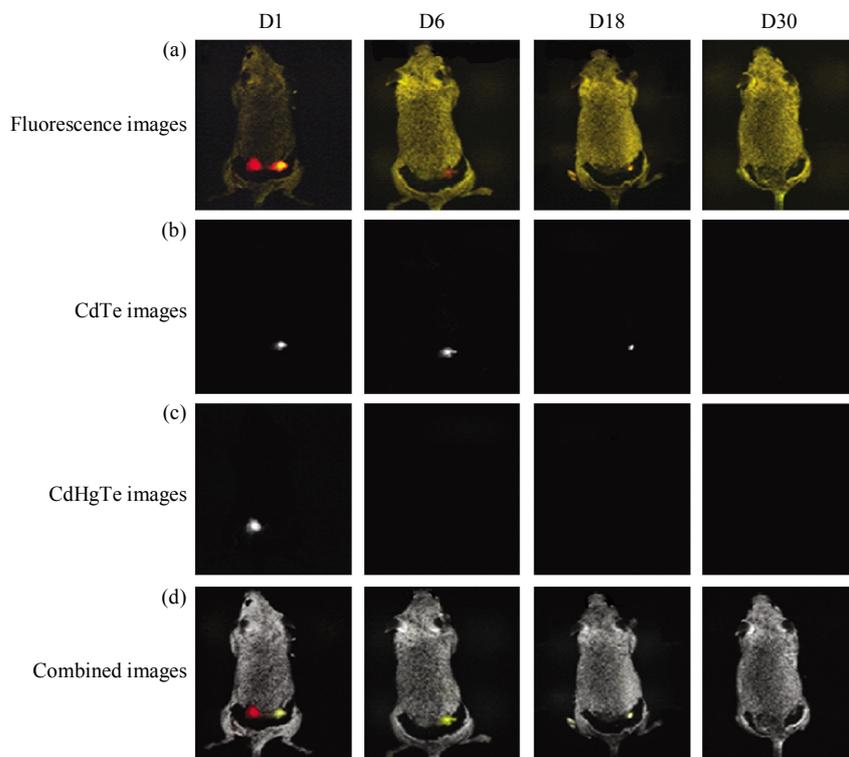


Fig. 4 CdHgTe and CdTe QDs subcutaneous injection in grey mouse^[33]

图 4 灰鼠皮下注入 CdHgTe 和 CdTe 量子点^[33]

(a) 灰鼠皮下注入 50 μ l CdHgTe(左) 和 CdTe(右) 量子点 1, 6, 18 和 30 天的荧光图像. (b) CdTe 量子点的荧光图像. (c) CdHgTe 量子点的荧光图像. (d) CdTe 和 CdHgTe 覆盖自发荧光的整体图像.

4 展 望

QDs 独特的荧光性能, 使研究活细胞胞内蛋白质的相互作用、胞内信号传递的分子机制、病毒对细胞的侵染过程、细胞生长发育的调控及癌变规律等动态过程成为可能. 随着 QDs 合成、修饰技术的不断完善, 将逐步实现对 QDs 尺寸、结构、性能、分散度的准确调控, 可将其用作蛋白质组学、基因组学、靶向药物研究领域海量筛选的工具. 近红外 QDs 的应用, 有望在临床外科手术中肿瘤的有效清除和靶向治疗中发挥作用. 在不久的将来, QDs 还有可能用于疾病的临床诊断、病理组织标本的检测等方面. 尽管量子点荧光探针不能取代技术成熟的有机荧光探针和荧光融合蛋白技术, 但可与二者相互补充, 极大地丰富荧光探针家族, 我们有理由相信, QDs 标记技术的发展和完善将会给生物医学研究带来新的发展契机.

参 考 文 献

- [1] 谢海燕, 庞代文. II-VI 型量子点制备及其在生物检测中应用研究进展. 分析化学, 2004, **32**(8): 1099-1103
Xie H Y, Pang D L. Chin J Anal Chem, 2004, **32**(8): 1099-1103
- [2] 王 洋, 邓玉林, 庆 宏, 等. 量子点标记的生物实时动态示踪成像研究进展. 高等学校化学学报, 2008, **29**(4): 661-668
Wang Y, Deng Y L, Qing H, *et al.* Chem J Chin Univ, 2008, **29**(4): 661-668
- [3] Ebenstein Y, Gassman N, Kim S, *et al.* Lighting Up individual DNA binding protein swith quantum dots. Nano Lett, 2009, **9**(4): 1598-1603
- [4] Yum K, Na S, Xiang Y, *et al.* Mechanochemical delivery and dynamic tracking of fluorescent quantum dots in the cytoplasm and nucleus of living cells. Nano Lett, 2009, **9**(5): 2193-2198
- [5] Yong Ken-Tye, Hu R, Roy I, *et al.* Tumor targeting and imaging in live animals with functionalized semiconductor quantum rods. ACS Appl Mater Interfaces, 2009, **1**(3): 710-719
- [6] 赵 薇, 张志凌, 庞代文. 量子点荧光技术在生物医学领域的应用. 化学传感器, 2008, **28**(1): 8-14

- Zhao W, Zhang Z L, Pang D W. *Chem Sensors*, 2008, **28**(1): 8–14
- [7] Bruchez M J, Moronne M, Gin P, *et al.* Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science*, 1998, **281**(5358): 2013–2016
- [8] Dubertret B, Skourides P, Norris D J, *et al.* *In vivo* imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science*, 2002, **298**(5599): 1759–176
- [9] Alivisatos A P, Gu W, Larabell C. Quantum dots as cellular probes. *Annu Rev Biomed Eng*, 2005, **7**(8): 55–76
- [10] Gao X L, Chen J, Chen J Y, *et al.* Quantum dots bearing lectin-functionalized nanoparticles as a platform for *in vivo* brain imaging. *Bioconjugate Chem*, 2008, **19**(11): 2189–2195
- [11] Dahan M, Levi S, Luccardini C, *et al.* Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking. *Science*, 2003, **302**(5644): 442–445
- [12] Lidke D S, Nagy P, Heintzmunn R, *et al.* Quantum dot ligands provide new insights into erbB/HER receptor-mediated signal transduction. *Nat Biotechnol*, 2004, **22**(2): 198–203
- [13] Jiang G, Park K, Kim J, *et al.* Target specific intracellular delivery of siRNA/PEI-HA complex by receptor mediated endocytosis. *Mol Pharmaceutics*, 2009, **6**(3): 727–737
- [14] Akerman M E, Chan W C, Lakkonen P, *et al.* Nanocrystal targeting *in vivo*. *Nanocrystal Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(20): 12617–12621
- [15] Gao X H, Cui Y Y, Levenson R M, *et al.* *In vivo* cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol*, 2004, **22**(8): 969–976
- [16] Tada H, Hideo H, Wanatabe T M, *et al.* *In vivo* real-time tracking of single quantum dots conjugated with monoclonal anti-HER2 antibody in tumors of mice. *Cancer Res*, 2007, **67**(3): 1138–1144
- [17] Zhang J, Su J F, Liu L, *et al.* Evaluation of red CdTe and near infrared CdHgTe quantum dots by fluorescent imaging. *J Nanoscience and Nanotechnology*, 2007, **8**(5): 1–5
- [18] Mahtab R, Rogers J P, Murphy C J. Temperature and salt dependent binding of long DNA to protein-sized quantum dots: “Thermodynamics of inorganic protein”-DNA interactions. *J Am Chem Soc*, 2000, **122**(1): 14–17
- [19] Han M, Gao X, Su J Z, *et al.* Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nat Biotechnol*, 2001, **19**(7): 631–635
- [20] Qi L F, Gao X H. Quantum dot-amphipol nanocomplex for intracellular delivery and real-time imaging of siRNA. *ACS Nano*, 2008, **2**(7): 1403–1410
- [21] Wu X Y, Liu H J, Liu J Q, *et al.* Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol*, 2003, **21**(1): 41–46
- [22] Ghazani A A, Lee J A, Klostranec J, *et al.* High throughput quantification of protein expression of cancer antigens in tissue microarray using quantum dot nanocrystals. *Nano Lett*, 2006, **6**(12): 2881–2886
- [23] Agrawal A, Zhang C Y, Byassee T, *et al.* Counting single native biomolecules and intact viruses with color-coded nanoparticles. *Anal Chem*, 2006, **78**(4): 1061–1070
- [24] Koji N, Takashi T, Tetsuro M, *et al.* Protein recording material: photorecord/erasable protein array using a UV-eliminative linker. *Langmuir*, 2008, **24**(5): 1625–1628
- [25] Medintz I L, Clapp A R, Mattoussi H, *et al.* Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot FRET donors. *Nat Mater*, 2003, **2**(8): 630–638
- [26] Shi L F, de Paoli V, Rosenzweig N, *et al.* Synthesis and application of quantum dots FRET-based protease sensors. *J Am Chem Soc*, 2006, **128**(32): 10378–10379
- [27] Zhang C Y, Johnson L W. Single quantum-dot-based aptameric nanosensor for cocaine. *Anal Chem*, 2009, **81**(8): 3051–3055
- [28] Kevin C W, Charles O N, Brigitte P S, *et al.* Targeted tumor cell internalization and imaging of multifunctional quantum dot-conjugated immunoliposomes *in vitro* and *in vivo*. *Nano Lett*, 2008, **8**(9): 2851–2857
- [29] Goldman E R, Clapp A R, Anderson G P, *et al.* Multiplexed toxin analysis using four colors of quantum dot fluororeagents. *Anal Chem*, 2004, **76**(3): 684–688
- [30] Yu X F, Chen L D, Li K Y, *et al.* Immunofluorescence detection with quantum dot bioconjugates for hepatoma *in vivo*. *J Biomed Opt*, 2007, **12**(1): 014008–014012
- [31] Dixit S K, Goicochea N L, Daniel M C, *et al.* Quantum dot encapsulation in viral capsids. *Nano Lett*, 2006, **6**(9): 1993–1999
- [32] Bhirde A A, Patel V, Gavard J, *et al.* Targeted killing of cancer cells *in vivo* and *in vitro* with EGF-directed carbon nanotube-based drug delivery. *ACS Nano*, 2009, **3**(2): 307–316
- [33] Liu L, Zhang J, Su X, *et al.* *In vitro* and *in vivo* assessment of CdTe and CdHgTe toxicity and clearance. *J Biomedical Nanotechnology*, 2008, **4**(4): 1–5
- [34] 李鸿程, 周群芳, 刘伟, 等. 量子点毒性效应的研究进展. *中国科学 B 辑*, 2008, **38**(5): 396–403
Li H C, Zhou Q F, Liu W, *et al.* *Sci Chin Ser B: Chemistry*, 2008, **38**(5): 396–403
- [35] Jiang X Z, Ahmed M, Deng Z C, *et al.* Biotinylated glyco-functionalized quantum dots: synthesis, characterization, and cytotoxicity studies. *Bioconjugate Chem*, 2009, **20**(5): 994–1001

Hot Topic and Challenge of Semiconductor Quantum Dots as Fluorescence Labels*

LI Chang-Yan^{1,2)}, LI Qian²⁾, LIU Hai-Tao³⁾, ZHANG Jun^{1,2)}**, DAMIRIN Aletangaole¹⁾

¹⁾ College of Life Sciences, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China;

²⁾ College of Chemistry and Chemical Engineering, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China;

³⁾ People's Armed Police Hospital of Hohhot, Huhhot 010021, China)

Abstract Semiconductor quantum dots (QDs) as newly developed fluorescence labels are of significant importance in applications of medical and biological fields. In comparison with conventional organic fluorescence labels, QDs show super properties with adjustable fluorescence, broaden excitation and narrow emission, photochemical stability, well developed surface chemistry and bioconjugation capability, which are endowing new developing opportunities in targeting, imaging, DNA and protein detection, medicine, clinic science, biochip and biosensor in life system. This paper reviews the latest breakthrough of QDs as fluorescence labels in applications of medical and biological fields on the basis of the authors' research works on QDs biological fluorescence imaging and toxicity, and the challenge of QDs encountered in applications of in medical and biological fields is commented as well.

Key words semiconductor quantum dots, biological fluorescence labeling, biomedicine

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00342

*This work was supported by grants from Inner Mongolia Key Technologies R&D Program (20080507), The National Natural Science Foundation of China (20601012) and University Science Researching Foundation of Inner Mongolia (NJZY07011).

**Corresponding author.

Tel/Fax: 86-471-4993405, E-mail: cejzhang@imu.edu.cn

Received: May 30, 2009 Accepted: September 4, 2009