

新技术讲座

量子点在生物医学中的应用

孟磊 宋增璇*

(中国医学科学院血液学研究所, 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020)

摘要 半导体量子点是无机纳米结晶, 构成于硒化镉核心和硫化锌外壳. 这种荧光标记物的发射光强是常用有机荧光染料的 20 倍, 稳定性是其 100 倍. 量子点的发射波长取决于核心粒子的大小, 而每一种单色量子点的发射波长窄而对称. 这些光学特性使量子点在医学诊断、药物的高速筛选以及基因和蛋白质的高通量分析方面具有广泛的应用前景. 基于量子点的稳定性和生物相容性, 有可能通过标记不同颜色的量子点到不同的分子, 观察它们在活细胞内的运动.

关键词 半导体, 量子点, 纳米晶体, 硒化镉, 硫化锌, 生物分子

学科分类号 Q616

量子点, 又称半导体纳米微晶粒, 是一种直径在 1 ~ 100 nm 之间, 能够接受激发光产生荧光的半导体纳米颗粒.

自从 1993 年 Bawendi 等^[1]用一种高温的有机金属盐体系合成了高效发光的硒化镉 (CdSe) 量子点纳米晶体, 经过化学家们多年的努力, 合成了具有实用价值的量子点. 它是由 CdSe 核心和硫化锌 (ZnS) 外壳组成的核壳结构, 直径 2 ~ 6 nm. 其中由镉和硒两串原子相连形成的半导体核心, 直径 1.8 ~ 7.0 nm, 在宽频紫外光的激发下可发射特定颜色的荧光^[2]. 其 ZnS 外壳不但可以保护核心原子串, 还可以和某些功能集团如巯基、亲和素等结合, 为量子点提供新的特性. 直径为 2 ~ 6 nm 核-壳结构的量子点具有特定的光学特性. 首先, 激发量子点的激发波长范围很宽, 可以涵盖整个光谱, 从紫外到远红外区, 因此可以用同一波长的光激发不同大小的量子点. 其次, 被激发的量子点所发射的荧光光谱也很宽, 根据其半导体核心直径可发射绿色→黄色→橙色→橙红色的荧光, 而且单个量子点的荧光谱峰狭窄而对称, 半高峰宽通常只有 40 nm 甚至更小. 这样就允许同时使用具有不同发射光谱特征的量子点来获得多种颜色的荧光. 量子点是有机荧光染料的发射光强的 20 倍, 稳定性强 100 倍以上^[2]. 它可以经受反复多次激发, 而不像有机荧光染料那样容易发生荧光淬灭. 发光量子点-半导体纳米晶体所具有的优点十分突出, 如果能够解决不同材料的量子点与生物分子偶联的问题,

就可以用量子点代替有机荧光染料, 在细胞器定位、信号传导、原位杂交、胞内分子的运动和迁移等研究中发挥巨大作用.

1998 年, Chan^[2]和 Bruchez^[3]两个研究小组分别发表论文, 证明量子点可作为生物探针并且适用于活细胞体系. 论文具有突破性的意义, 解决了如何将量子点溶于水溶液, 以及量子点如何通过表面的活性基团与生物大分子偶联的问题. Alivisatos 等报道可以通过静电引力、氢键作用或特异的配体-受体相互作用将生物分子结合在量子点的表面. 他们采用两种大小不同的量子点标记小鼠成纤维细胞, 一种发射绿色荧光, 一种发射红色荧光, 将发射红色荧光的量子点特异地标记在 F-肌动蛋白丝上, 而发射绿色荧光的量子点则通过与尿素和乙酸结合标记细胞核, 从而在细胞中同时观察到红色胞浆肌动蛋白和绿色的细胞核. Nie 等报道在量子点表面包被经修饰的蛋白质, 可使量子点水溶性稳定两年以上, 并为量子点提供多种功能集团, 如氨基、羧基和半胱氨酸残基等, 这些功能集团可与不同的生物分子共价结合. 该研究小组将转铁蛋白与量子点共价交联, 在受体的介导下发生内吞作用, 将量子点转运进 HeLa 细胞中, 证明连接了量子点的转铁蛋白仍然具有生物活性. 2002 年, Dubertret 等^[4]将单个量子点包于磷脂胶囊中, 不但能够用

* 通讯联系人.

Tel: 022-27307938-3166, E-mail: hesong@public.tpt.tj.cn

收稿日期: 2003-06-23, 接受日期: 2003-07-31

于体内及体外成像, 作为特异性 DNA 杂交探针, 而且可以将量子点胶囊注入非洲蟾蜍胚胎中观察其胚胎发育过程。

如果将量子点交联在特异性抗体上, 通过抗体和细胞内不同的细胞器或骨架系统特异性结合, 就相当于给各种细胞器或骨架系统贴上了标签, 可以分辨不同的细胞器和骨架系统, 进行详尽的研究。2003 年, Wu 等^[5]证明了量子点标记抗体能特异的识别亚细胞水平的分子靶点。他们用量子点标记的羊抗鼠 IgG 作为二抗, 结合抗 Her2 单克隆抗体观察到了乳腺癌细胞表面的 Her2。用抗生物素蛋白 (avidin) 交联具有不同发射光谱特征的量子点, 配合生物素标记的二抗和特异性单抗, 可同时识别细胞表面的 Her2 和核抗原, 也能同时识别胞浆微管蛋白和核抗原。与有机荧光染料 Alexa 488 比较, 量子点发射的荧光较强而不被激发光淬灭。基于量子点荧光的稳定性, Jaiswal 等^[6]用 DHLA 包被的量子点与活细胞共育于 37℃, 观察到量子点通过内吞作用进入细胞, 也观察到交联 avidin 的量子点进入生物素化的细胞。进入细胞的量子点不影响细胞的形态和生长, 培育 12 天还可看到细胞内的量子点荧光。这些结果为研究活细胞内的信号传递及其分子机制开辟了新的途径。例如两个生物分子 (受体及其配体) 之间发生相互作用时, 标记的量子点就会因此互相靠近, 使光谱发生变化, 成为两个光谱的叠加, 在合适的条件下, 甚至可能发生能量转移, 显示受体量子点的荧光增强。如果将某一种生物过程中的有关生物分子标记不同颜色的量子点, 就可能制作一个监测活细胞中生物分子之间相互作用的电影。

量子点在生物芯片领域的应用前景也很广。Han 等^[7]的研究结果证明, 包入量子点的高分子聚合微球可标记寡核苷酸探针或抗体, 用于基因芯片或蛋白质芯片的搜索。这种量子点微球标记物的发射荧光强, 稳定性能好。更可取的是量子点微球可编成密码标记不同探针, 同时搜索生物芯片中的很多靶点, 从而实现更为快捷的高通量筛选。量子点微球密码是根据量子点的光学特征编码的。实验证明不同大小量子点的发射荧光从蓝色到红色可分成 9 个波段, 每个波段荧光的强度又与量子点的数量成正比, 按排列组合方法把不同大小的量子点以不同数量比例包入高分子聚合微球, 可能编制的密码数量很大, 理论上使用 6 种颜色和 10 种强度的量子点就可以对 10^6 个核酸或蛋白质序列进行编码。

事实上, 如要达到精确的检测、不带有任意光谱交叠, 可编码的量子点微粒达到 1 万到 4 万当无问题。根据前不久完成的人类基因组测序草图, 人类具有的基因不超过 4 万个, 该技术可对所有这些基因探针进行编码标记, 其意义可想而知。

量子点在研究蛋白质与蛋白质相互作用的蛋白质芯片应用中同样可以大有作为, 尽管芯片上有海量的蛋白质, 但由于受目前有机荧光探针性质的限制, 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。要研究多个蛋白质就只能多次重复上述操作, 因此, 这种芯片只是单高通量的。如果在研究中引入量子点密码微球标记物就可以作到海量对海量。用同一波长的光激发, 同时检测所有标记的蛋白质与芯片上的蛋白质之间的相互作用, 与现有的方法相比, 效率将会大大提高。可以预言, 量子点在蛋白质芯片上的应用将可产生双高通量分析检测结果。同样的原理也可以用于药物筛选。并为药物作用机制的研究提供非常有价值的信息。虽然单个量子点具有“眨眼”现象^[8], 如果研究与单一量子点结合的单分子可能会受到影响, 但在多分子水平的研究中由于量子点的“眨眼”并非同步化进行, 所以不会影响结果的观察。作为标记用的量子点荧光强度与持续时间和其所在的分散体系有关^[9], 选择合适的溶液能延长量子点的荧光持续时间而更利于长期观察。

随着量子点与不同分子连接技术的完善, 量子点将是最有前途的荧光标记物, 尤其在细胞成像方面, 通过观察量子点标记分子与其靶分子相互作用的部位, 及其在活细胞内的运行轨迹, 可能为信号传递的分子机制提供线索, 为阐明细胞生长发育的调控及癌变规律提供直观依据, 这是目前常用的有机荧光染料无法实现的。量子点技术与芯片技术结合还可能创造超高通量分析各种靶分子的技术平台, 以及药物的高速筛选, 从而促进新生物工程产业的发展。预计量子点作为一种新的荧光纳米材料将会在细胞生物学和医学领域产生深远影响。

参 考 文 献

- 1 Murray C B, Norris D J, Bawendi M G. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *J Am Chem Soc*, 1993, **115** (19): 8706 ~ 8715
- 2 Chan W C, Nie S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science*, 1998, **281** (5385): 2016 ~ 2018
- 3 Bruchez M Jr, Moronne M, Gin P, et al. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science*, 1998, **281**

- (5385): 2013 ~ 2016
- 4 Dubertret B, Skourides P, Norris D J, *et al.* *In vivo* imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science*, 2002, **298** (5599): 1759 ~ 1762
 - 5 Wu X, Liu H, Liu J, *et al.* Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol*, 2003, **21** (1): 41 ~ 46
 - 6 Jaiswal J K, Mattoussi H, Mauro J M, *et al.* Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates. *Nat Biotechnol*, 2003, **21** (1): 47 ~ 51
 - 7 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
 - 8 Sugisaki M, Ren H W, Nishi K, *et al.* Fluorescence intermittency in self-assembled InP quantum dots. *Phys Rev Lett*, 2001, **86** (21): 4883 ~ 4886
 - 9 Hanaki K, Momo A, Oku T, *et al.* Semiconductor quantum dot / albumin complex is a long-life and highly photostable endosome marker. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **302** (3): 496 ~ 501

Applications of Quantum Dots to Biological Medicine

MENG Lei, SONG Zeng-Xuan *

(The State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology, The Chinese Academy of Medicine Science, Tianjin 300020, China)

Abstract Semiconductor quantum dots (QDs) are inorganic nanocrystals consisted of a cadmium selenide (CdSe) core which was wrapped in an outer shell of zinc sulfide (ZnS). In comparison with common organic dyes, this class of fluorescent labels is 20 times as bright, 100 times as stable against photobleaching. The emission wavelength of QDs was controlled by the size of the core and each single-color of QDs has narrow symmetrical emission peak. These advantages of the optical properties make them broad applications in medical diagnosis, high-speed screening drugs and high-throughput analysis of genes and proteins. Based on the stability and biocompatibility of the QDs, it is possible to make movies of long-term interaction of biological molecules in a living cell by tagging each biomolecule with different color of QDs.

Key words semiconductor, quantum dot, nanocrystal, cadmium selenide, zinc sulfide, biomolecule

* Corresponding author. Tel: 86-22-27307938-3166, E-mail: hesong@public.tpt.tj.cn

Received: June 23, 2003 Accepted: July 31, 2003