

热注射法合成用于生物成像的核壳上转换纳米晶

刘蓓 陆奚建 刘晓宁 吴一品 邹斌

Hot injection synthesis of core-shell upconversion nanoparticles for bioimaging application

Liu Bei Lu Xi-Jian Liu Xiao-Ning Wu Yi-Pin Zou Bin

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 69, 147801 (2020) DOI: 10.7498/aps.69.20200347

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.69.20200347>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

构建核壳结构增强 Ho^{3+} 离子在镱基纳米晶中的红光上转换发射

Enhanced red upconversion fluorescence emission of Ho^{3+} ions in NaLuF_4 nanocrystals through building core-shell structure

物理学报. 2019, 68(17): 174204 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20190441>

共掺杂 Ce^{3+} 调控 $\text{-NaLuF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$ 纳米晶体的上转换荧光发射

Tuning upconversion fluorescence emission of $\text{-NaLuF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$ nanocrystals through codoping Ce^{3+} ions

物理学报. 2017, 66(20): 204206 <https://doi.org/10.7498/aps.66.204206>

改变激发环境调控 Ho^{3+} 离子的上转换发光特性

Tuning upconversion emissions of Ho^{3+} through changing excitation conditions

物理学报. 2020, 69(3): 034207 <https://doi.org/10.7498/aps.69.20191333>

核壳结构磁性复合纳米材料的可控合成与性能

Controllable synthesis and performance of magnetic nanocomposites with core/shell structure

物理学报. 2018, 67(22): 227501 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20181027>

小粒径同质/异质壳层结构 $\text{NaGdF}_4:3\%\text{Nd}^{3+}$ 纳米颗粒的近红外发光特性

Near-infrared luminescence properties of small-sized homogeneous/heterogeneous core/shell structured $\text{NaGdF}_4:\text{Nd}^{3+}$ nanoparticles

物理学报. 2017, 66(10): 107801 <https://doi.org/10.7498/aps.66.107801>

圆环结构磁光光子晶体中的拓扑相变

Topological phase transitions in core-shell gyromagnetic photonic crystal

物理学报. 2017, 66(22): 224102 <https://doi.org/10.7498/aps.66.224102>

热注射法合成用于生物成像的核壳上转换纳米晶*

刘蓓 陆奚建 刘晓宁 吴一品 邹斌†

(中央民族大学理学院, 北京 100081)

(2020年3月8日收到; 2020年4月17日收到修改稿)

近几年来, 稀土上转换发光纳米材料凭借其生物组织穿透深度大、无组织损伤、无背景荧光干扰和成像灵敏度高等诸多优点, 在生物体荧光成像领域展现了巨大的潜在应用价值. 本文采用“一次热注射”高温溶剂热法制备不同壳层厚度的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 上转换发光材料. 利用透射电子显微镜、粒径分析、荧光光谱等对产物进行表征, 探讨壳层厚度对纳米粒子上转换发光强度的影响. 结果表明, 在 980 nm 近红外光照射下, 上转换纳米材料能够发出紫外-可见光. 而且, 由于壳层包覆有效抑制了上转换发光的表面猝灭效应, 核壳结构的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米粒子发光强度比 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ 提高了数十倍; 当壳层厚度为 22.7 nm 时, 上转换发光强度最强. 此外, 通过对上转换发光颗粒进行酸洗和聚乙二醇 (PEG) 修饰, 提高了纳米材料的生物相容性, 并成功将其应用于细胞的上转换荧光成像.

关键词: 上转换发光, 热注射法, 核壳结构, 生物成像**PACS:** 78.55.-m, 33.50.Dq, 42.70.-a, 78.67.Bf**DOI:** 10.7498/aps.69.20200347

1 引言

生物体荧光成像技术是了解生物体组织结构, 阐明生物体内细胞活动和基因行为的一项无损测量技术. 如何制备出信噪比高、稳定性强且生物相容性良好的生物成像荧光探针, 一直是生物和化学领域争相研究的热点之一. 其中, 稀土掺杂的上转换发光纳米材料 (upconversion nanoparticles, UCNPs) 引起了学者的广泛关注^[1-5]. 之所以称为“上转换”, 是因为 UCNPs 能够相继吸收两个或多个光子, 把长波段光转换成短波段光, 即在近红外光激发下, 能够发出短波近红外光、可见光或紫外光. 由于该现象违背了斯托克斯定律, 因此又被称为反斯托克斯定律发光^[6-10]. 与传统的荧光纳米材料 (如有机染料分子、量子点等) 相比, 稀土掺杂的荧光纳米材料具有发射谱线窄、荧光寿命长、斯托克斯位移

大、体内稳定性好和生物相容性良好等优点. 更重要的是, 若将 UCNPs 应用到生物体荧光成像领域, 借助于上转换发光特性, 可以在近红外光激发下实现生物体荧光成像^[11-21], 从而有效解决生物成像面临的激发光穿透深度低的问题.

随着 UCNPs 材料研究的深入, 如何制备高发光强度和低制造成本的 UCNPs, 已经成为该领域的重要课题之一^[22-27]. 近年来, 科研工作者通常对 UCNPs 进行有效的核壳结构设计, 以降低上转换发光纳米晶表面猝灭效应、减少稀土离子之间的相互作用以及增加对激发光的捕获能力等, 进而提高其上转换发光强度^[28-36]. 但是, 核壳结构的 UCNPs 制备一般采用分步包覆的高温溶剂热法, 存在步骤繁琐、耗时长、且合成效率较低等缺点. 对核壳结构的 UCNPs 的制备方法进行简化, 实现高质、高量、节能的 UCNPs 合成, 具有重要的实际意义和应用价值.

* 国家自然科学基金 (批准号: 21805060) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: zoubin@muc.edu.cn

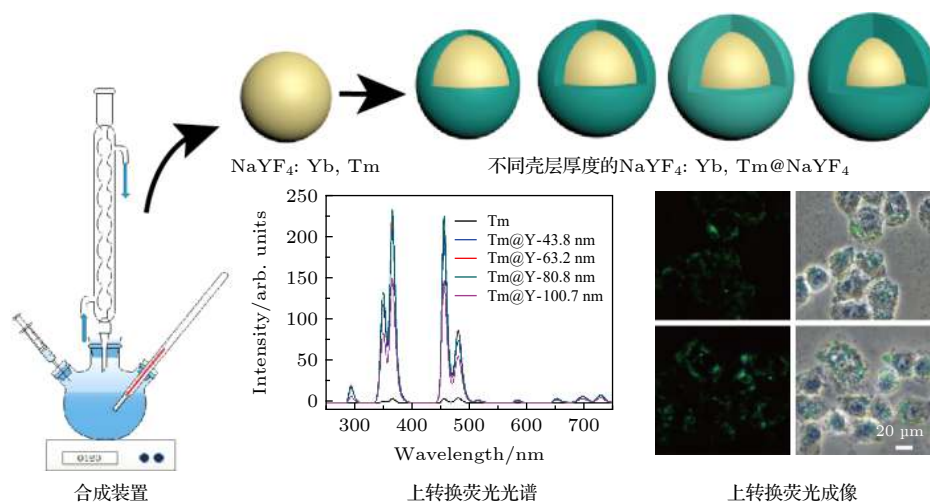


图 1 热注射法可控制备核壳型稀土上转换发光纳米材料的设计原理图

Fig. 1. Schematic design of core-shell structured upconversion nanoparticles synthesized with the hot injection method.

本文拟通过“热注射法”可控制备 Yb^{3+} , Tm^{3+} 共掺杂的核壳结构 UCNPs ($\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@ \text{NaYF}_4$), 用于实现上转换荧光成像 (示意图如图 1). 具体研究思路如下: 首先, 利用“热注射法”合成 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@ \text{NaYF}_4$. “热注射法”是指在核壳型 UCNPs 的合成过程中, 通过热注射的方法, 向核的反应溶液中直接注入壳层前驱体溶液, 进而合成核壳结构的 UCNPs. 相比于之前报道的分步包覆制备方法, “热注射法”可以高效制备出核壳结构的 UCNPs, 免除了反应过程中的降温、离心和洗涤部分, 大大简化了核壳结构 UCNPs 的合成步骤; 其次, 通过调整前驱体的注射量, 精确调控壳层的厚度, 可制备出不同壳层厚度的 UCNPs. 通过对比不同壳层厚度 UCNPs 的上转换发光强度, 确定出最佳的 UCNPs, 以满足后期的生物荧光成像需求; 最后, 对优化后的核壳 UCNPs 进行聚乙二醇 (PEG) 修饰, 增强其生物相容性, 并成功将其应用于生物荧光成像, 开发 UCNPs 在生物成像方面的应用潜力.

2 实验

2.1 实验原料与设备

氯化钇、氯化镱、氯化铥、油酸 (OA)、十八烯 (ODE) 均购于 Acros. 三氟乙酸、氧化钇、三氟乙酸钠购于阿拉丁 (中国上海) 有限公司. 盐酸、氟化铵、氢氧化钠、环己烷、乙醇均购于国药集团化学试剂有限公司. 培养细胞用到的胎牛血清、DMEM

培养基、胰酶购自 WISENT. 4% 多聚甲醛固定液购于碧云天. 实验中所用水为去离子水.

使用日立 HT-7700 透射电子显微镜 (日本日立有限公司) 对纳米材料的形貌进行表征. 使用日立 F-4600 荧光计 (日本日立有限公司) 收集上转换荧光光谱. 980 nm 激光器购于长春新产业光电技术有限公司.

2.2 “热注射法”制备 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@ \text{NaYF}_4$ 核壳纳米晶

稀土三氟乙酸化合物粉末的制备: 将烧杯洗净, 向干净的烧杯中加入 50 mL 去离子水, 边搅拌边滴加三氟乙酸约 6.2 mL (80 mmol). 然后将三氟乙酸水溶液小心转移至 100 mL 的圆底烧瓶中, 并加入 10 mmol 稀土氧化物 (如 Y_2O_3). 随即将圆底烧瓶转移至 110 °C 油浴锅中, 装上冷凝管后, 持续搅拌 6 h 至溶液变得澄清. 溶液冷却到室温后过滤, 将过滤后的溶液高温蒸干, 即得到稀土的三氟乙酸盐粉末. 将粉末存放于干燥器中备用.

$\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@ \text{NaYF}_4$ 核壳纳米晶的制备: 1 mmol 稀土元素氯化物 (包括 81.5% YCl_3 , 18% YbCl_3 和 0.5% TmCl_3)、6 mL 油酸和 15 mL 十八烯混合加入到 100 mL 的三口瓶中, 120 °C 磁力搅拌蒸发掉水分, 得到淡黄色澄清的混合溶液. 混合溶液冷却至室温后, 加入 10 mL 含有 2.5 mmol 氢氧化钠和 4 mmol 氟化铵的甲醇溶液, 随即将温度升至 70 °C, 并保持 20 min, 以蒸发甲醇溶液. 随后将混合溶液在 110 °C 下抽真空 20 min, 在氮气保

护下升温至 310 °C, 并维持这个温度 60 min. 向反应体系中热注射含有三氟乙酸钠和三氟乙酸钪的油酸/十八烯溶液 (体积 1:1), 310 °C 下维持 60 min. 反应结束后将液体冷却至室温, 用乙醇和环己烷离心洗涤, 最后得到的上转换纳米晶体分散在环己烷中. 不同壳层厚度的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$, 除了壳层前驱体溶液的热注射量不同以外, 其他反应条件均相同.

2.3 细胞水平的上转换荧光成像

UCNPs 表面修饰 PEG 的实验步骤如下: 将 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 的环己烷溶液 (1 mL) 加入到 1% 的盐酸溶液 (1 mL) 中, 超声 10 min 后, 搅拌 3 h. 之后对混合溶液进行高速离心, 舍弃上清, 对沉淀水洗 5—8 次. 最后将得到的沉淀分散在 1 mL 去离子水中. 酸洗后的 UCNPs 与适量 PEG-COOH 混合均匀, 室温下搅拌 24 h, 然后离心, 对沉淀水洗 3—5 次以除去未反应的 PEG-COOH (10 mg). 最后将得到的 $\text{UCNP}@\text{PEG}$ 分散到 1 mL 去离子水中.

上转换荧光成像实验步骤如下: 将 HeLa 细胞接种在共聚焦培养皿中, 培养 24 h 后, 加入含有 UCNPs 的培养基溶液继续培养 0.5, 3.0 和 6.0 h. 到达预定时间后, 用 PBS 冲洗 3 次, 然后用 4% 的多聚甲醛溶液固定 10 min, 再用 PBS 冲洗 3 次. 上转换荧光成像通过一台倒置荧光显微镜检测, 激发光源是 980 nm 的激光器.

3 实验结果与讨论

在本文中, 首先需要确认, 利用高温溶剂热法可以制备出单分散、高度结晶、纯 β 相的 NaYF_4 :

Yb, Tm 纳米晶. 如图 2(a) 和图 2(b) 所示, 制备出来的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 上转换纳米晶呈现均匀球形, 尺寸均一 (约 35.4 nm) 且分散性良好. 从粒径分布图 (图 2(c)) 可以看出, $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 上转换纳米晶的粒径分布符合高斯拟合. 通过测试 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 上转换纳米晶的上转换发光光谱, 发现其上转换发光强度较低. 这主要是由于相比于块体材料, 纳米材料的比表面积大, 位于材料表面的原子或离子悬键、空位、位错等表面缺陷也随之增多. 这些具有高活性的表面缺陷能够吸收附近的敏化剂 Yb^{3+} 和发光中心 Tm^{3+} 的能量, 从而导致上转换发光的猝灭.

由于进一步降低纳米材料表面的缺陷数目, 提高上转换发光强度的需求, 核壳结构 UCNPs 的制备逐渐成为了新兴研究热点之一. 在 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 上转换纳米晶表面有效包覆一层壳层结构, 能够将 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 核的表面缺陷进行有效钝化, 隔离外界的不利因素, 从而显著降低 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 纳米材料的表面猝灭几率, 提高上转换发光强度. 在本体系中, 我们尝试在 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 上转换纳米晶的表面包覆一层 NaYF_4 壳, 以提高 UCNPs 的上转换发光性能. 值得指出的是, 我们采用的是“热注射”方法制备核壳结构上转换纳米晶 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$. 具体来说, 首先在高温无水无氧的 OA/ODE 溶剂中制备出形貌均匀的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$, 然后向反应溶液中一次性注射合成壳层所需的前驱体溶液, 继续加热和搅拌. 反应 60 min 后, 通过自然冷却和离心, 得到 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 核壳结构上转换纳米晶. 与传统的核壳结构上转换纳米晶制备方法相比, “热注射”的方法在反应过程中无需自然冷却、反复离心清洗以及二次抽真空操作, 从而大大简化了制备过程, 提高了上转换纳米晶的合成效率.

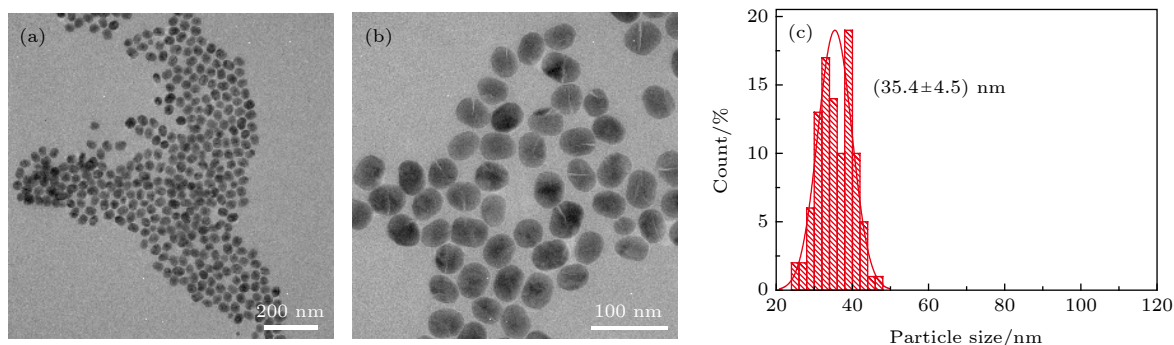


图 2 (a), (b) β 相的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 的 TEM 图; (c) $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 的粒径分布统计图
Fig. 2. (a), (b) TEM images and (c) the corresponding size distribution of the of $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$.

此外,“热注射法”不仅能够显著缩短合成时间、提高合成效率,还可以通过调整前驱体的注射量来精确调控壳层的厚度.图3是采用“热注射法”合成的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米晶的示意图、透射电镜照片以及粒径分布图.由透射电镜照片可以看出,制备的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米晶是单分散的球形纳米颗粒,且具有核壳结构.通过增加壳层前驱体的注射量,可以在粒径

35.4 nm的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}$ 纳米晶上,依次包覆由薄到厚的 NaYF_4 壳层.图3(a)—图3(d)表征的是壳层最薄的UCNPs,其壳层平均厚度为4.2 nm.随着壳层前驱体注射剂量的增加,UCNPs的壳层平均厚度逐渐增加到13.9 nm(图3(e)—图3(h)),22.7 nm(图3(i)—图3(l)),以及32.6 nm(图3(m)—图3(p)).因此,“热注射法”合成核壳型上转换纳米晶,能够较好地实现对纳米晶包覆壳层尺寸的控制

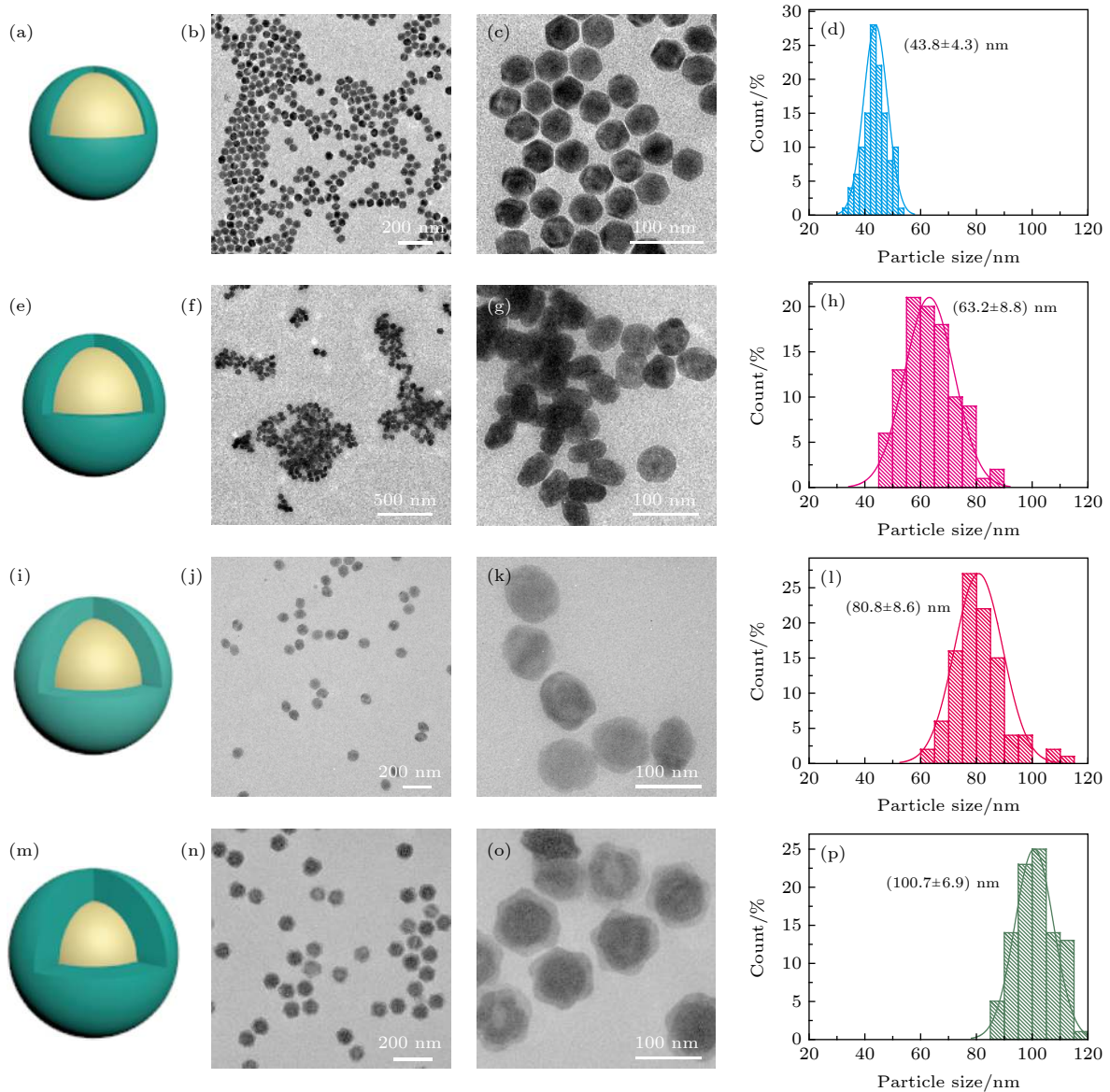


图3 (a)—(d) $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米粒子 (粒径约 43.8 nm) 的结构示意图, TEM 图和粒径分布图; (e)—(h) $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米粒子 (粒径约 63.2 nm) 的结构示意图, TEM 图和粒径分布图; (i)—(l) $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米粒子 (粒径约 80.8 nm) 的结构示意图, TEM 图和粒径分布图; (m)—(p) $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米粒子 (粒径约 100.7 nm) 的结构示意图, TEM 图和粒径分布图

Fig. 3. (a)–(d) The schematic core-shell structure, TEM images and size distribution of $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ (about 43.8 nm); (e)–(h) the schematic core-shell structure, TEM images and size distribution of $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ (about 63.2 nm); (i)–(l) the schematic core-shell structure, TEM images and size distribution of $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ (about 80.8 nm); (m)–(p) the schematic core-shell structure, TEM images and size distribution of $\text{NaYF}_4:\text{Yb, Tm}@\text{NaYF}_4$ (about 100.7 nm).

制. 此外, 需要注意的是, 采用“热注射法”合成的表面壳层成分是 NaYF_4 , 而不会含有 Yb^{3+} 和 Tm^{3+} 等掺杂元素. 这主要是因为制备 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ 时, 可以通过精准控制反应加入量, 使得反应溶液中的稀土离子完全反应^[28,37].

图 4(a) 给出了 UCNP 上转换发光过程的能级示意图. 可以看出, 其上转换发光是一个复杂的多光子能量传递和转换过程. 敏化剂 Yb^{3+} 离子的 $^2\text{F}_{7/2} \rightarrow ^2\text{F}_{5/2}$ 的能级跃迁与 980 nm 近红外光子能量相匹配, 因此能够连续不断地吸收激发能量, 进而传递给相邻的发光中心 Tm^{3+} , 以布居 Tm^{3+} 离子的 $^3\text{H}_5, ^3\text{F}_2 (^3\text{F}_3)$ 和 $^1\text{G}_4$ 能级. Tm^{3+} 离子吸收 Yb^{3+} 传递过来的能量后, 用于上转换发光的途径主要有以下三种: 1) $^3\text{H}_6$ 连续吸收 3 个光子的能量, 跃迁到 $^1\text{G}_4$; 2) $^3\text{H}_6$ 首先连续吸收 2 个的光子能量后跃迁到 $^3\text{F}_2$ 能级. 后经交叉弛豫过程 $^3\text{F}_{2,3} + ^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6 + ^1\text{D}_2$, 使得粒子布居在 $^1\text{D}_2$ 能级上; 3) 布居在 $^1\text{G}_4, ^1\text{D}_2, ^3\text{P}_2$ 能级上的 Tm^{3+} 离子通过无辐射跃迁至 $^3\text{F}_{2,3,4}, ^3\text{H}_{5,6}$ 等低能级, 实现上转换

发光. 由 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ 的发射光谱 (图 4(b)) 可知, Tm^{3+} 离子的上转换发光主要集中在 345—385 nm 和 452—490 nm 的波段, 可以推断出粒子在 $^1\text{I}_6, ^1\text{D}_2$ 和 $^1\text{G}_4$ 的布居较大, $^1\text{I}_6 \rightarrow ^3\text{F}_4$ (约 350 nm), $^1\text{D}_2 \rightarrow ^3\text{H}_6$ (约 370 nm), $^1\text{D}_2 \rightarrow ^3\text{F}_4$ (约 456 nm) 和 $^1\text{G}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$ (约 475 nm) 的跃迁几率较高.

为了进一步探究 NaYF_4 壳层对上转换发光猝灭位点的抑制作用, 研究了不同壳层厚度的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米晶的上转换发光情况. 图 4(b) 展示了不同壳层厚度的纳米晶在 980 nm 近红外光激发下的荧光光谱图. 可以看出, $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ 和 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 均表现出了 Tm^{3+} 离子的特征发射. 相比于 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ 的上转换发光, 核壳结构的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 上转换发光强度有大幅度提高. 这主要是因为, NaYF_4 壳层的存在有效钝化了 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ 核的表面缺陷, 不仅可以降低敏化剂 Yb^{3+} 离子受激后的非辐射弛豫, 从而把更多的能量传递给发光中心 Tm^{3+} ; 而且有效抑制了发光中

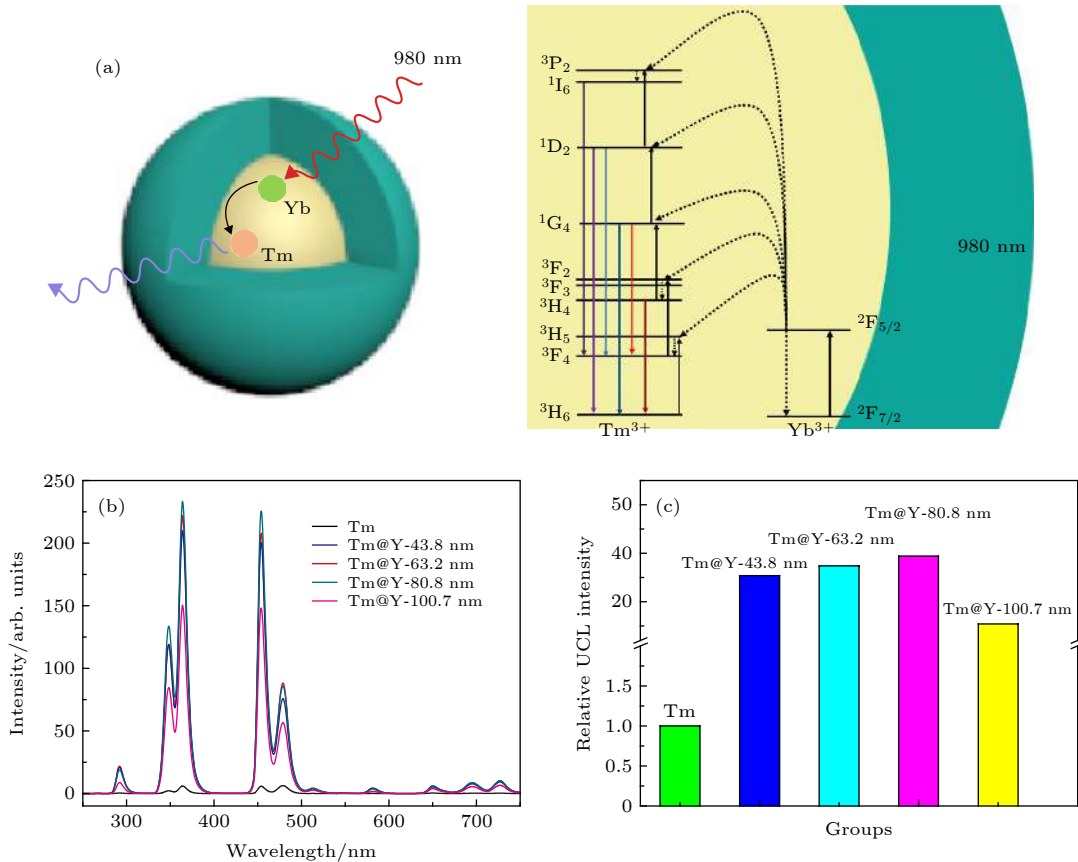


图 4 (a) 980 nm 激发下 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 纳米粒子的上转换机制; (b) 不同壳层厚度的 UCNP 的上转换发光光谱; (c) 不同壳层厚度的 UCNP 的上转换发光强度的柱状统计图

Fig. 4. (a) The energy transfer mechanisms of $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ UCNP; (b) the upconversion luminescent spectra and (c) the relative luminescent intensity of core-shell structured UCNP with different shell thicknesses.

心 Tm^{3+} 离子的激发态非辐射弛豫, 降低其表面猝灭几率, 使激发态能量更有效地转变成紫外-可见光上转换发光. 此外, 不同厚度的 NaYF_4 壳层对上转换发光强度的影响不同. 由图 4(b) 和图 4(c) 可以看出, 随着 NaYF_4 壳层厚度的增加, 核壳结构纳米晶的荧光强度呈现先增强后降低的趋势. 当 UCNP 的壳层厚度从 4.2 nm 增加到 22.7 nm 时, 纳米晶在 364 nm 处的荧光强度增强了 1.12 倍, 而当壳层厚度从 22.7 nm 增加到 32.6 nm 时, 纳米晶的荧光强度却呈现降低的趋势. 该实验结果表明, 当 UCNP 的壳层厚度在一定范围内增加时, 其对表面猝灭位点的抑制作用会随着壳层厚度的增加而略有增强. 但是, 当 UCNP 的壳层厚度超过一定范围后, 再继续增加 UCNP 的壳层厚度, UCNP 的发光强度反而会降低. 这可能是由于过厚的 NaYF_4 , 显著增加远程传递的能量损耗, 从而阻碍了 Yb^{3+} 和 Tm^{3+} 离子接收到更多的入射光子数. 用于生物活体成像的上转换纳米晶, 其粒径一般不应超过 100 nm [38,39], 并应该具有较强的上转换荧光强度. 因此, 包覆 22.7 nm 壳层厚度的 UCNP 纳米晶是一个最优化的壳层包覆策略, 被用于后续的生物实验中.

生物相容性是上转换发光纳米材料可以用于生物体上转换荧光成像的重要前提. 利用高温溶剂热法制备的 UCNP 通常由疏水性配体 (油酸分子) 封端, 导致合成的 UCNP 水溶性和生物相容性较差. 因此, 我们首先利用酸洗方法, 将 UCNP 表面的油酸配体洗净, 再在 UCNP 的表面修饰上生物相容性良好的 PEG 分子 (图 5(a)), 以得到可以应用到生物体内的 UCNP@PEG 纳米材料. 由图 5(b) 可以看出, UCNP@PEG 纳米颗粒形貌并没有发生明显变化, 粒径仍在 81 nm 左右. 但是, PEG 修饰后的 UCNP@PEG 水溶性得到明显改善, 分散在水溶液中, 24 h 不会发生聚沉现象. 接着, 利用 MTT 实验研究了水溶性的 UCNP@PEG 对 HeLa 细胞的毒性. 如图 5(c) 所示, 在最高浓度为 0.2 mg/mL 的环境下培养 24 h, HeLa 细胞仍然保持了很高的存活率, 表明制备的水溶性 UCNP@PEG 具有良好的细胞相容性.

最后, 通过一台自组装的倒置荧光显微镜, 成功检测了 UCNP@PEG 复合纳米材料在 HeLa 细胞中的上转换荧光成像. HeLa 细胞和 UCNP@PEG 在 37 °C 共培养 0.5, 3.0 和 6.0 h 后, 用 PBS 清洗

掉附着在细胞上的多余纳米材料, 然后采用 980 nm 激光作为激发光源, 用上转换荧光显微镜观察细胞. 实验结果如图 6 所示, 随着细胞吞噬时

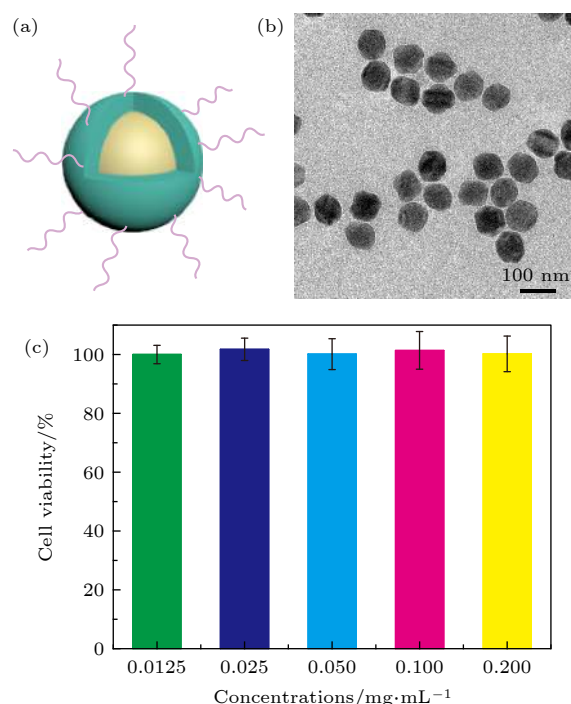


图 5 (a) UCNP@PEG 的结构示意图; (b) UCNP@PEG 的 TEM 图; (c) 与不同浓度 UCNP@PEG 培养后, HeLa 的细胞活性

Fig. 5. (a) Schematic structure of UCNP@PEG; (b) TEM image of UCNP@PEG; (c) cell viabilities of HeLa cells after incubation with various concentrations of UCNP@PEG.

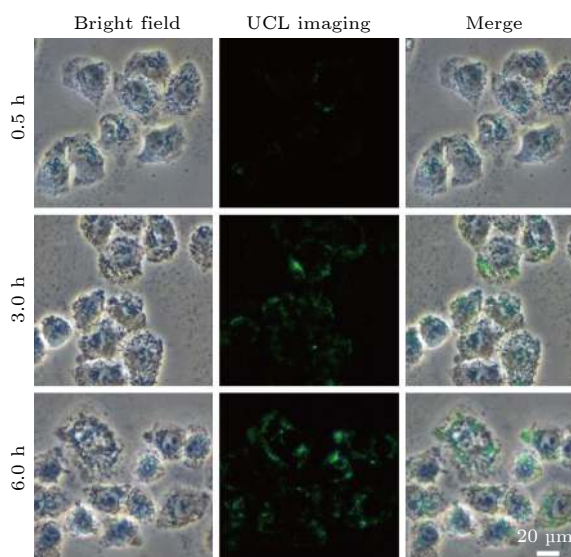


图 6 与 UCNP@PEG 共同培养 0.5, 3.0 和 6.0 h 后的 HeLa 的上转换荧光成像照片

Fig. 6. Upconversion luminescent images of HeLa cells after culturing with UCNP@PEG for 0.5, 3.0 and 6.0 h.

间的增长 (0.5, 3.0 和 6.0 h), 细胞内的上转换发光强度逐渐增强, 表明 UCNP@PEG 纳米材料能够逐渐被细胞吞噬. 这一结果也能够说明, 合成的 UCNP@PEG 能够作为有效的荧光指示剂, 用于细胞上转换成像.

4 结 论

本文利用“热注射法”制备了高质量的核壳结构 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 上转换纳米晶, 反应过程中无需自然冷却、反复离心清洗以及二次抽真空操作, 具有制备流程简单、合成效率高等优点. 通过简单地调整壳层前驱体的注射量, 实现了 NaYF_4 壳层厚度在 4.2—32.6 nm 之间的精细调控. 通过对其上转换发光光谱的分析, 确定了核壳结构 UCNP 的最佳壳层厚度为 22.7 nm. 此外, 将制备的核壳结构 UCNP 进行酸洗和 PEG 改性, 提高其生物相容性, 并将得到的 UCNP@PEG 纳米材料应用于细胞的上转换荧光成像. 实验结果表明, 合成的 UCNP@PEG 能够作为有效的荧光指示剂, 用于细胞上转换成像.

参考文献

- [1] Wen S, Zhou J, Zheng K, Bednarkiewicz A, Liu X, Jin D 2018 *Nat. Commun.* **9** 2415
- [2] Chen Q, Xie X, Huang B, Liang L, Han S, Yi Z, Liu X 2017 *Angew. Chem.* **129** 7713
- [3] Li X, Zhang F, Zhao D 2013 *Nano Today* **8** 643
- [4] Li X, Zhang F, Zhao D 2015 *Chem. Soc. Rev.* **44** 1346
- [5] Zhu X, Su Q, Feng W, Li F 2017 *Chem. Soc. Rev.* **46** 1025
- [6] Auzel F 2004 *Chem. Rev.* **104** 139
- [7] Dong H, Sun L D, Yan C H 2015 *Chem. Soc. Rev.* **44** 1608
- [8] Wang F, Deng R, Wang J, Wang Q, Han Y, Zhu H, Chen X H, Liu X G 2011 *Nat. Mater.* **10** 968
- [9] Hu F, Liu B, Chu H, Liu C, Li Z, Chen D, Li L 2019 *Nanoscale* **11** 9201
- [10] Ding Q L, Xiao S G, Zhang X H, Xia Y Q, Liu Z W 2006 *Acta Phys. Sin.* **55** 5140 (in Chinese) [丁庆磊, 肖思国, 张向华, 夏艳琴, 刘政威 2006 *物理学报* **55** 5140]
- [11] Haase M, Schäferling T 2011 *Angew. Chem. Int. Ed.* **50** 5808
- [12] Rao L, Bu L L, Cai B, Xu J H, Li A, Zhang W F, Zhao X Z 2016 *Adv. Mater.* **28** 3460
- [13] Liu K, Liu X, Zeng Q, Zhang Y, Tu L, Liu T, AaldTms M C 2012 *ACS Nano* **6** 4054
- [14] Wang M, Mi C C, Wang W X, Liu C H, Wu Y F, Xu Z R, Xu S K 2009 *ACS Nano* **3** 1580
- [15] Nyk M, Kumar R, Ohulchanskyy T Y, BTmgey E J, Prasad P N 2008 *Nano Lett.* **8** 3834
- [16] Peng J, Samanta A, Zeng X, Han S, Wang L, Su D, Jiang W 2017 *Angew. Chem. Int. Ed.* **56** 4165
- [17] Liang L, Xie X, All A. H, Huang L, Liu X 2016 *Chem. Eur. J.* **22** 10801
- [18] Wang S, Fan Y, Li D, Sun C, Lei Z, Lu L, Zhang F 2019 *Nat. Commun.* **10** 1058
- [19] Lei X, Li R, Tu D, Shang X, Liu Y, You W, Chen X 2018 *Chem. Sci.* **9** 4682
- [20] Liu L, Wang S, Zhao B, Pei P, Fan Y, Li X, Zhang F 2018 *Angew. Chem. Int. Ed.* **57** 7518
- [21] H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke, Y. Urano 2010 *Chem. Rev.* **110** 2620
- [22] Liu X, Qiu J 2015 *Chem. Soc. Rev.* **44** 8714
- [23] Liu X, Yan C H, Capobianco J A 2015 *Chem. Soc. Rev.* **44** 1299
- [24] Park W, Lu D, Ahn S 2015 *Chem. Soc. Rev.* **44** 2940
- [25] Nadort A, Zhao J, Goldys E M 2016 *Nanoscale* **8** 13099
- [26] Liu B, Chen Y, Li C, He F, Hou S, Huang S, Zhu H, Chen X, Lin J 2015 *Adv. Funct. Mater.* **25** 4717
- [27] Liu B, Li C, Cheng Z, Hou Z, Huang S, Lin J 2016 *Biomater. Sci.* **4** 890
- [28] Zhai X, Lei P, Zhang P, Wang Z, Song S, Xu X, Liu X, Feng J, Zhang H 2015 *Biomaterials* **65** 115
- [29] Ye S, Chen G, Shao W, Qu J, Prasad P N 2015 *Nanoscale* **7** 3976
- [30] Li W, Chen Z, Zhou L, Li Z, Ren J, Qu X 2015 *J. Am. Chem. Soc.* **137** 8199
- [31] Hao S, Yang L, Qiu H, Fan R, Yang C, Chen G 2015 *Nanoscale* **7** 10775
- [32] Chen D, Liu L, Huang P, Ding M, Zhong J, Ji Z 2015 *J. Phys. Chem. Lett.* **6** 2833
- [33] Gu Z, Yan L, Tian G, Li S, Cha Z, Zhao Y 2013 *Adv. Mater.* **25** 3758
- [34] Dou Q, Idris N M, Zhang Y 2013 *Biomaterials* **34** 1722
- [35] Liu X, Kong X, Zhang Y, Tu L, Wang Y, Zeng Q, Li C, Shi Z, Zhang H 2011 *Chem. Commun.* **47** 11957
- [36] Yi G S, Chow G M 2006 *Chem. Mater.* **19** 341
- [37] Wang F, Liu X 2008 *J. Am. Chem. Soc.* **130** 5642
- [38] Zhang S L, Li J, Lykotrafitis G, Bao G, Suresh S 2009 *Adv. Mater.* **21** 419
- [39] Cabral H, Matsumoto Y, Mizuno K, Chen Q, Murakami M, Kimura M, Terada Y, Kano M R, Miyazono K, Uesaka M, Hishiyama N, Kataoka K 2011 *Nat. Nanotechnol.* **6** 815

Hot injection synthesis of core-shell upconversion nanoparticles for bioimaging application*

Liu Bei Lu Xi-Jian Liu Xiao-Ning Wu Yi-Pin Zou Bin †

(School of Science, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

(Received 8 March 2020; revised manuscript received 17 April 2020)

Abstract

In recent years, lanthanide-containing upconversion nanoparticles (UCNPs) have aroused the extensive interest in bioimaging due to their unique upconversion fluorescent properties, such as the high tissue penetration depth, good biocompatibility, low auto-fluorescence, and high imaging sensitivity. In this work, we synthesize a series of NaYF₄:Yb, Tm@NaYF₄ core-shell structured nanoparticles with various shell thicknesses. A “hot injection” strategy is introduced to fabricate the core-shell UCNPs through using high boiling-point mixtures (sodium/rare-earth trifluoroacetates dissolved in oleic acid and octadecene at 150 °C) as shell precursor solutions. The as-synthesized UCNPs are characterized by transmission electron microscope, particle size analysis and fluorescence spectra. The experimental results show that the shell thickness of UCNPs can be well controlled within a range from 4.2 nm to 32.6 nm by simply tuning the added quantity of the shell precursors. Meanwhile, the upconversion luminescence intensity of NaYF₄:Yb, Tm@NaYF₄ shows tens times higher than that of NaYF₄:Yb, Tm owing to the effective suppression of surface quenching. The optimized thickness of the shell is determined to be 22.7 nm. An ultrathick inert shell (>22.7 nm) is not beneficial to upconversion luminescence mainly due to a strong scattering effect. In addition, the in vitro upconversion luminescent bioimaging application is demonstrated by using the as-synthesized core-shell structured UCNPs. Typically, the prepared OA capped UCNPs are dispersed in HCl solution to obtain hydrophilic ones, followed by polyethylene glycol (PEG) modification to improve their biological compatibility. The hydrophilic NaYF₄:Yb, Tm@NaYF₄@PEG nanostructures (denoted as UCNP@PEG) show a good biocompatibility with HeLa cells, as the viability of HeLa cells do not decrease obviously when the concentration of UCNP@PEG increases to 0.2 mg/mL. Then, we evaluate the upconversion luminescent signals of UCNP@PEG in HeLa cells under the excitation of 980 nm laser. An obviously increasing upconversion luminescent signal can be observed in HeLa cells with the incubation time increasing from 0.5 h to 6.0 h, indicating that the UCNP@PEG can be used as an excellent luminescence probe for cell imaging and monitoring the cell endocytosis process. All in all, we offer an efficient “hot injection” strategy of fabricating the core-shell structured UCNPs with various shell thickness for improving the upconversion efficiency of UCNPs, which will pave the way for new bioimaging and medical applications.

Keywords: upconversion luminescence, hot injection, core-shell, bioimaging**PACS:** 78.55.-m, 33.50.Dq, 42.70.-a, 78.67.Bf**DOI:** 10.7498/aps.69.20200347

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 21805060).

† Corresponding author. E-mail: zoubin@muc.edu.cn