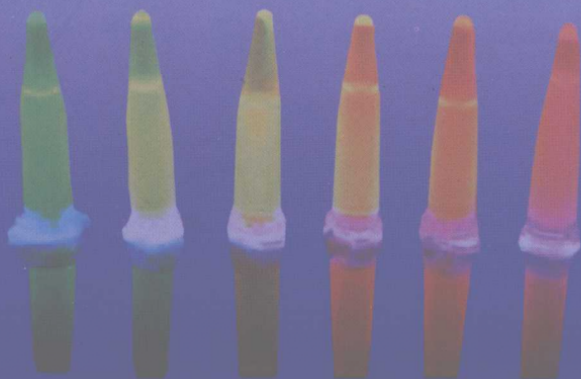


Preparation and Applications  
of Quantum Dots as Biological Fluorescent Probes

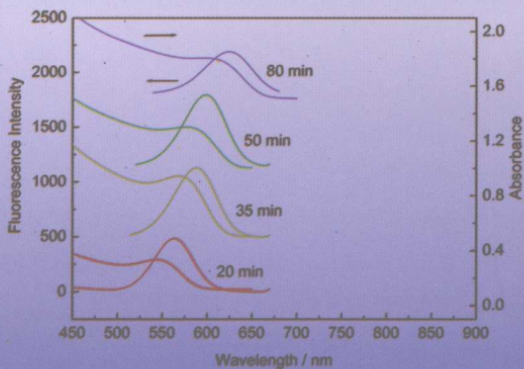
# 量子点生物荧光探针的 制备及应用

陈启凡 著



東北大學出版社  
Northeastern University Press

# Preparation and Applications of Quantum Dots as Biological Fluorescent Probes



ISBN 978-7-81102-427-2



9 787811 024272 >

定价:18.00元

# 量子点生物荧光探针的制备及应用

陈启凡 著

东北大学出版社

· 沈 阳 ·

© 陈启凡 2007

图书在版编目(CIP)数据

量子点生物荧光探针的制备及应用/陈启凡著. —沈阳: 东北大学出版社, 2007.6

ISBN 978 - 7 - 81102 - 427 - 2

I. 量… II. 陈… III. 生物—荧光—探针 IV. TH776

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 095128 号

---

出 版 者: 东北大学出版社

地址: 沈阳市和平区文化路 3 号巷 11 号

邮政编码: 110004

电话: 024—83687331 (市场部) 83680267 (社务室)

传真: 024—83680180 (市场部) 83680265 (社务室)

E-mail: neuph@neupress.com <http://www.neupress.com>

印 刷 者: 铁岭新华印刷有限公司

发 行 者: 东北大学出版社

幅面尺寸: 140mm × 203mm

印 张: 5.375

字 数: 180 千字

出版时间: 2007 年 6 月第 1 版

印刷时间: 2007 年 6 月第 1 次印刷

责任编辑: 牛连功

责任校对: 闻 悦

封面设计: 唐敏智

责任出版: 杨华宁

---

ISBN 978 - 7 - 81102 - 427 - 2

定 价: 18.00 元



## 作者简介

陈启凡,女,辽宁铁岭人,博士,副教授。主要研究纳米晶体的合成及生物荧光探针的应用。先后在《分析化学》等专业期刊上发表有价值的学术论文16余篇。主持并参加过多项国家和省级科研项目,其中“活性染料印花增稠剂-改性淀粉FS-86”项目经过辽宁省科学技术厅鉴定,该项目成果达到了国际先进水平,填补了国内空白。

## 前 言

量子点 (quantum dots, QDs) 是纳米尺寸的半导体微粒, 又称为半导体纳米晶体 (nanocrystals, NCs), 是一种由 II ~ VI 族或 III ~ V 族元素组成的、稳定的、溶于水的、直径在 2 ~ 10nm 之间的纳米晶粒。量子技术最早源于 20 世纪 70 年代, 人们发现, 当半导体材料减小到纳米尺寸时, 它与大块材料相比具有独特的光学特性。目前, 量子点最有前途的应用领域是在生物体系中作为荧光探针。QDs 的光学特性比传统的荧光染料探针有明显的优越性:

(1) 量子点被激发后可得到波长范围宽且光谱可调的荧光。

(2) 量子点的粒径大小不同, 所激发的荧光也不相同。

(3) 不同大小的量子点可以用同一波长的光激发而发出不同颜色的光, 这将给生物学的研究带来很大的方便。由于量子点半峰宽较窄, 这就允许使用不同光谱特征的量子点, 而发色光谱不发生重叠或重叠较小, 可用于多种标记物的同时检测和观察生物体内的几种组分。

(4) 量子点比有机荧光染料稳定, 不易分解, 因此可以反复激发, 而不像有机染料那样容易发生荧光猝灭。

量子点具有很多的优点, 如能解决量子点与生物分子的偶联

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的作用。

量子点的制备方法很多,用于生物荧光探针的量子点通常采用胶体化学法——按所用的原料不同可以分成金属有机溶剂热分解和巯基分子作稳定剂的水相合成两种路线。对用于生物检测的纳米晶体的要求是可溶于水或缓冲溶液,粒径分布均匀,量子产率高,并且稳定。因此制备发光效率高、发光颜色可调性好、对光热稳定性好的量子点,尤其是制备对于生物监测十分重要的受激发能在红外区发光的量子点已成为近年来的研究热点。目前,量子点作为荧光探针已经在生物学的应用中取得了很多有意义的进展,但量子点与生物分子的偶联技术、量子点对生物分子的特异性标记以及新型量子点荧光探针的制备等仍然是值得高度重视的新技术。

本书第1章主要就纳米材料的性质和用途、纳米材料的表征、纳米晶体量子点的性质、纳米晶体量子点的合成方法及纳米晶体量子点作为荧光探针在生物分析中的应用的文献进行了综述。第2章提出了在水相中通过控温微波加热合成 CdTe 量子点的新方法,通过吸收光谱、荧光光谱、透射电子显微镜 (TEM) 和 X 射线衍射 (XRD) 对合成的量子点进行了表征。第3章提出了用半胱胺作为表面修饰剂在水相中合成表面带正电荷的 CdTe 发光量子点的简单方法,并利用量子点表面包被的半胱胺上的氨基,通过静电引力作用实现了与单链 DNA 分子的偶联。第4章以巯基丙酸为稳定剂采用水热法合成了 CdTe 量子点,并利用量子点外层包被的巯基丙酸上的羧基实现了与牛血清白蛋白的共价链接。第5章介绍了量子点与胰凝乳蛋白酶共价偶联方法。第6章通过抗原抗体之间的免疫反应实现了量子点对宫颈癌细胞的标

记。

由于作者学识和经验有限，对量子点有关知识的理解还不够深刻，加之该领域属交叉学科，涉及的范围比较广，因此有很多内容还很肤浅，甚至可能会有错误之处，敬请各位读者批评指正。

本书的内容主要来自于我的博士论文。在此书出版之际，我要向我的导师、东北大学徐淑坤教授对我的悉心指导和亲切关怀表示由衷的感谢。徐老师渊博的学识、严谨的治学态度、忘我的敬业精神和宽厚正直的为人深深地感动和影响着我，从老师那里我不仅学到了科学研究的知识和方法，更多的是严谨的治学态度和求真务实的工作作风。此外，我还要感谢曲正老师、王文星博士、杨冬芝博士在实验方面给予我的帮助。

陈启凡

2007年5月

# 目 录

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 第1章 绪 论                           | 1  |
| 1.1 纳米材料                          | 2  |
| 1.1.1 纳米材料的定义                     | 2  |
| 1.1.2 纳米材料的特性                     | 2  |
| 1.1.3 纳米材料的物理化学性质及应用              | 5  |
| 1.1.4 纳米材料的表征                     | 8  |
| 1.2 量子点                           | 10 |
| 1.2.1 量子点的概念                      | 10 |
| 1.2.2 量子点的光学性质                    | 10 |
| 1.3 量子点的合成                        | 13 |
| 1.3.1 在高沸点的有机溶剂中利用前驱体热分解合成<br>量子点 | 14 |
| 1.3.2 用巯基小分子等作为稳定剂在水溶液中合成<br>量子点  | 16 |
| 1.3.3 作为生物探针的量子点表面修饰方法            | 19 |
| 1.4 量子点作为生物荧光探针的应用                | 26 |
| 1.4.1 量子点对蛋白质、核酸等生物大分子的标记和        |    |

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| 检测 .....                                        | 26 |
| 1.4.2 量子点对生物组织和细胞的标记与成像 .....                   | 28 |
| 1.4.3 量子点用于活体医学成像 .....                         | 33 |
| 1.5 本书研究目的及设计思想 .....                           | 34 |
| 第2章 微波加热制备半胱胺包被的 CdTe 量子点 .....                 | 36 |
| 2.1 引 言 .....                                   | 36 |
| 2.2 实验部分 .....                                  | 37 |
| 2.2.1 仪器和试剂 .....                               | 37 |
| 2.2.2 碲氢化钠溶液的制备 .....                           | 38 |
| 2.2.3 半胱胺包被的碲化镉纳米量子点的制备 .....                   | 38 |
| 2.2.4 量子点荧光量子产率的计算 .....                        | 39 |
| 2.2.5 CdTe 量子点的 XRD 表征 .....                    | 40 |
| 2.3 结果与讨论 .....                                 | 40 |
| 2.3.1 CdTe 量子点合成条件的优化 .....                     | 40 |
| 2.3.2 CdTe 量子点的光学性质 .....                       | 42 |
| 2.3.3 CdTe 量子点的结构表征 .....                       | 45 |
| 2.3.4 不同温度下量子点的生长规律 .....                       | 46 |
| 2.3.5 微波加热方法与水相回流方法合成 CdTe 量子点的<br>光学性能比较 ..... | 48 |
| 2.3.6 不同前驱体浓度对合成 CdTe 量子点荧光光谱的<br>影响 .....      | 51 |
| 2.3.7 不同半胱胺浓度对合成 CdTe 量子点荧光光谱的<br>影响 .....      | 52 |
| 2.4 本章小结 .....                                  | 54 |

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| 第3章 半胱胺包被的 CdTe 量子点制备及与单链 DNA 的链接 .....    | 55 |
| 3.1 引 言 .....                              | 55 |
| 3.2 实验部分 .....                             | 56 |
| 3.2.1 仪器与试剂 .....                          | 56 |
| 3.2.2 半胱胺包被的碲化镉纳米量子点的制备 .....              | 57 |
| 3.2.3 CdTe 纳米量子点的纯化 .....                  | 58 |
| 3.2.4 CdTe 纳米量子点与 DNA 分子的链接 .....          | 58 |
| 3.3 结果与讨论 .....                            | 58 |
| 3.3.1 CdTe 量子点的生长规律 .....                  | 58 |
| 3.3.2 CdTe 纳米量子点的表征 .....                  | 59 |
| 3.3.3 DNA 的吸收和荧光光谱 .....                   | 62 |
| 3.3.4 CdTe 量子点与 DNA 链接后的光谱变化 .....         | 63 |
| 3.3.5 pH 值对量子点与 DNA 偶联产物荧光强度的影响 .....      | 66 |
| 3.3.6 磷酸盐浓度对 QDs-DNA 偶联产物荧光强度的影响 .....     | 68 |
| 3.3.7 NaCl 浓度对 QDs-DNA 偶联产物荧光强度的影响 .....   | 69 |
| 3.3.8 磷酸盐和氯化钠溶液对 QDs-DNA 偶联产物荧光强度的影响 ..... | 70 |
| 3.3.9 QDs-DNA 偶联产物的荧光稳定性 .....             | 71 |
| 3.4 本章小结 .....                             | 72 |

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| 第4章 巯基丙酸稳定的 CdTe 量子点的制备及其对 BSA 的<br>标记 ..... | 74 |
| 4.1 引言 .....                                 | 74 |
| 4.2 实验部分 .....                               | 76 |
| 4.2.1 仪器和试剂 .....                            | 76 |
| 4.2.2 反应试剂的配制 .....                          | 77 |
| 4.2.3 碲氢化钠 (NaH <sub>2</sub> Te) 溶液的制备 ..... | 78 |
| 4.2.4 水热法合成巯基丙酸稳定的 CdTe 量子点 .....            | 78 |
| 4.2.5 量子点与牛血清白蛋白 (BSA) 的共价偶联 .....           | 78 |
| 4.3 结果与讨论 .....                              | 79 |
| 4.3.1 CdTe 量子点呈现的颜色 .....                    | 79 |
| 4.3.2 CdTe 量子点的可见吸收光谱 .....                  | 80 |
| 4.3.3 CdTe 量子点的荧光光谱 .....                    | 81 |
| 4.3.4 量子点的结构表征 .....                         | 83 |
| 4.3.5 不同温度下量子点的生长规律 .....                    | 84 |
| 4.3.6 量子点与牛血清白蛋白偶联后的光谱 .....                 | 86 |
| 4.3.7 量子点与牛血清白蛋白偶联条件的优化 .....                | 88 |
| 4.3.8 pH 值对 QDs-BSA 偶联产物荧光强度的影响 .....        | 90 |
| 4.3.9 NaCl 浓度对 QDs-BSA 偶联产物荧光强度的<br>影响 ..... | 91 |
| 4.3.10 不同发射峰位的量子点与牛血清白蛋白的<br>偶联 .....        | 92 |
| 4.3.11 BSA 浓度对体系荧光强度的影响 .....                | 93 |
| 4.4 本章小结 .....                               | 94 |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| 第 5 章 巯基丙酸稳定的 CdTe 量子点对胰凝乳蛋白酶的<br>标记 .....            | 96  |
| 5.1 引 言 .....                                         | 96  |
| 5.2 实验部分 .....                                        | 97  |
| 5.2.1 仪器和试剂 .....                                     | 97  |
| 5.2.2 巯基丙酸包覆的 CdTe 量子点的制备 .....                       | 98  |
| 5.2.3 量子点与胰凝乳蛋白酶的共价偶联 .....                           | 99  |
| 5.2.4 量子点对胰凝乳蛋白酶的活性影响的考察 .....                        | 99  |
| 5.3 结果与讨论 .....                                       | 100 |
| 5.3.1 CdTe 量子点溶液的光学性质 .....                           | 100 |
| 5.3.2 CdTe 量子点的结构表征 .....                             | 101 |
| 5.3.3 量子点与胰凝乳蛋白酶结合物的光谱性质 .....                        | 103 |
| 5.3.4 CdTe 量子点与胰凝乳蛋白酶偶联条件的优化 .....                    | 105 |
| 5.3.5 CdTe 量子点与胰凝乳蛋白酶链接产物的<br>稳定性 .....               | 107 |
| 5.3.6 胰凝乳蛋白酶的浓度对 QDs-chymotrypsin 溶液<br>荧光强度的影响 ..... | 110 |
| 5.3.7 量子点对胰凝乳蛋白酶活性的影响 .....                           | 112 |
| 5.4 本章小结 .....                                        | 112 |
| 第 6 章 用 CdTe 量子点标记 HeLa 细胞的初步研究 .....                 | 115 |
| 6.1 引言 .....                                          | 115 |
| 6.2 实验部分 .....                                        | 117 |
| 6.2.1 仪器与药品 .....                                     | 117 |
| 6.2.2 试剂的配制 .....                                     | 119 |
| 6.2.3 巯基丙酸包覆的 CdTe 量子点的合成 .....                       | 120 |

|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| 6.2.4 CdTe 量子点与兔抗人癌胚抗原多克隆抗体的<br>链接 ..... | 120 |
| 6.2.5 CdTe 量子点与山羊抗兔免疫球蛋白的<br>链接 .....    | 120 |
| 6.2.6 细胞的传代培养 .....                      | 121 |
| 6.2.7 QDs-antibody 对活细胞的标记 .....         | 121 |
| 6.2.8 QDs-IgG 对活细胞的标记 .....              | 121 |
| 6.2.9 QDs-antibody 对固定细胞的标记 .....        | 122 |
| 6.2.10 QDs-IgG 对固定细胞的标记 .....            | 122 |
| 6.2.11 荧光显微镜的成像 .....                    | 122 |
| 6.3 结果与讨论 .....                          | 123 |
| 6.3.1 CdTe 量子点的光谱性质 .....                | 123 |
| 6.3.2 QDs-antibody 对 HeLa 细胞的直接标记 .....  | 124 |
| 6.3.3 QDs-IgG 对 HeLa 细胞的间接标记 .....       | 131 |
| 6.4 本章小结 .....                           | 136 |
| 第 7 章 结 论 .....                          | 137 |
| 参考文献 .....                               | 141 |

# 第 1 章 绪 论

纳米科学技术是目前正蓬勃发展的前沿科技。其基本思想是在纳米尺寸 ( $1 \sim 100\text{nm}$ ) 范围内, 通过直接操纵和安排原子、分子及其他小团簇物质来创造新的物质。它是研究由尺寸在  $1 \sim 100\text{nm}$  之间的物质组成的体系的运动规律和相互作用以及在各领域中实际应用的科学技术。纳米科技是高度交叉的综合性学科, 包括物理学、化学、生物学、材料科学和电子学等, 它不仅包含以观测分析为主线的基础学科, 同时还有以纳米工程与加工学为主线的技术科学, 所以纳米科学与技术是一个融前沿学科和高技术于一体的完整体系。作为纳米化学与纳米生物学的交叉结合点, 近年来, 纳米技术在生物分析中得到越来越广泛的应用, 纳米粒子应用于生物体系引起了人们的普遍重视。由于纳米粒子具有优良的光谱特性和光化学稳定性, 在生物分析中的应用发展很快, 特别是在生物物质的荧光标记方面应用更多, 已经在细胞成像、免疫分析、DNA 杂交、生物传感器等方面得到了较为成功的探索和尝试<sup>[1-5]</sup>。本章主要就纳米材料的性质和用途、纳米材料的表征、纳米晶体量子点 (quantum dots, QDs) 的性质、纳米晶体量子点的合成方法及纳米晶体量子点作为荧光探针在生物分析中的应用的文献进行综述, 并提出本书研究意义和重点。

## 1.1 纳米材料

### 1.1.1 纳米材料的定义

纳米是一种长度单位,  $1\text{nm}$  即  $10^{-9}\text{m}$ 。国际上把物质粒径在  $1\sim 100\text{nm}$  范围内的微小结构称为纳米结构, 这类材料称为纳米材料。现在, 广义地, 纳米材料是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围或由它们作为基本单元构成的材料。通常按组成的基本单元可将纳米材料分为三种类型:

(1) 零维纳米材料, 指在三维空间中三维尺度均为纳米尺度的纳米材料, 如纳米微粒、原子团簇等;

(2) 一维纳米材料, 指在三维空间中有两维处于纳米尺度的纳米材料, 如纳米线、纳米管、纳米棒等;

(3) 二维纳米材料, 指在三维空间中有一维为纳米尺度的纳米材料, 如纳米薄膜、多层膜、超晶格等。

按组成纳米材料的物质的类别不同可将纳米材料分为金属纳米材料、半导体纳米材料、纳米陶瓷材料、有机-无机纳米复合材料及纳米介孔固体与介孔复合体材料等。

纳米材料分为纳米结构材料和纳米相/纳米粒子材料。前者指凝聚的块体材料, 由具有纳米尺寸范围的粒子构成; 而后者通常是指分散态的纳米粒子。

### 1.1.2 纳米材料的特性

纳米材料的尺度处于原子簇和宏观物体交界的过渡域, 是介于宏观物质与微观原子和分子间的过渡亚稳态物质, 它有着不同于传统固体材料的特殊结构, 在材料的性能上呈现出许多奇异的

特性,主要包括表面效应、小尺寸效应、量子尺寸效应和宏观量子隧道效应等<sup>[6-12]</sup>。

### 1.1.2.1 表面效应

纳米材料的重要特性是表面效应。固体表面原子与内部原子所处的环境不相同。当粒子直径比原子直径大时(如大于 $1\mu\text{m}$ ),表面原子可以忽略;但当粒子直径逐渐接近原子直径时,表面原子的数目及作用就不能忽略,而且这时粒子的比表面积、表面能和表面结合能都发生很大变化。人们把由此引起的种种特殊效应统称为表面效应。随着量子点粒径的减小,大部分原子位于量子点的表面,量子点的比表面积随着粒径的减小而增大。由于纳米颗粒具有很大的比表面积,表面原子数增多,导致了表面原子的配位不足,不饱和键和悬键增多,使这些表面原子具有很高的活性,极不稳定,很容易与其他原子结合。这种表面效应将引起纳米粒子较大的表面能和较高的活性。表面原子的活性不但会引起纳米粒子表面输运和构型的变化,同时也会引起表面原子自旋构象和电子能谱的变化,出现表面缺陷。这些表面缺陷会对纳米粒子的光学、光化学、电学及非线性光学性质等产生重要影响,如:纳米晶体熔点大幅度降低,金属纳米粒子在空气中会燃烧,无机材料纳米粒子暴露在空气中会吸附气体并与气体发生反应,等等。

### 1.1.2.2 小尺寸效应

小尺寸效应是指由于纳米粒子尺寸较小,体积缩小,粒子内的原子数减小而产生的效应。当纳米粒子的尺寸与光波波长、德布罗意波长以及超导态的相干长度或透射深度等物理特征尺寸相当或更小时,晶体周期性的边界条件将被破坏,非晶态纳米微粒