

量子点对小鼠卵巢颗粒细胞的毒性

谢向毅¹ 朱小妹¹ 滕欢¹ 翟鹏² 王光笋² 林苏霞² 王晓梅² 许改霞¹ 牛憨笨¹

(¹ 深圳大学光电工程学院教育部/广东省光电子器件与系统重点实验室, 广东 深圳 518060;)
² 深圳大学医学院深圳市生物医学工程重点实验室, 广东 深圳 518060

摘要 研究了 CdTe 量子点对体外培养小鼠卵巢颗粒细胞的毒性。采用荧光光度计测量了该量子点在 DMEM 培养基、M1640 培养基和磷酸盐缓冲液中的光谱稳定性, 分别利用 Hoechst32258 染色和 CCK-8 试剂对量子点处理颗粒细胞的凋亡情况和存活率进行检测。结果表明量子点在 DMEM 培养基中稳定性比其他溶液好, 24 h 内量子点的发射峰波长无明显偏移, 荧光强度仅下降 9.8%; Hoechst32258 凋亡染色发现细胞核凋亡量随着量子点浓度的升高而增加, CCK-8 检测也得到一致的结论。该研究表明, 在低浓度下量子点对颗粒细胞的形态、功能无影响, 随着量子点在颗粒细胞质中蓄积量的增加, 颗粒细胞凋亡率也明显升高。本研究为量子点在活体研究中的安全应用提供了生殖毒性参考。

关键词 生物技术; 量子点; 卵巢颗粒细胞; 凋亡染色; 生殖毒性

中图分类号 Q0436 **文献标识码** A **doi:** 10.3788/CJL201340.0504001

Toxicity of Quantum Dots on Mouse Ovarian Granulosa Cells

Xie Xiangyi¹ Zhu Xiaomei¹ Teng Huan¹ Zhai Peng² Wang Guangsun²
Lin Suxia² Wang Xiaomei² Xu Gaixia¹ Niu Hanben¹

¹ Key Laboratory of the Ministry of Education / Guangdong Optoelectronic Devices and System, College of Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518060, China

² Key Laboratory of Biomedical Engineering of Shenzhen, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518060, China

Abstract This study investigates the toxicity of CdTe quantum dots (QDs) on mouse ovarian granulosa cells *in vitro*. The fluorescence stabilities of QDs in DMEM culture medium, M1640 culture medium and phosphate buffer solution (PBS) are measured by fluorometer, respectively. Apoptosis is observed by chromatin staining with Hoechst32258 and cell viability is detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay after the granulosa cells are treated with QDs. The results demonstrate that the fluorescence stability of QDs in DMEM culture medium is better than that in the other media, the QDs fluorescence emission spectrum in it does not shift and the intensity decreases only 9.8%. It is found that the apoptosis of granulosa cells treated with QDs is dosage-dependent by the Hoechst32258 staining, which is confirmed by the CCK-8 assay. The research demonstrates that the QDs at lower concentration have not affected the morphology and function of granulosa cells *in vitro*. However, with the increase of accumulation of QDs inside cytoplasm, the apoptosis increases significantly. This study offers very useful information of reproductive toxicity of QDs to guide the safe application of QDs *in vivo*.

Key words biotechnology; quantum dot; ovarian granulosa cell; apoptosis staining; reproductive toxicity

OCIS codes 110.0180; 170.6280; 170.1530;

收稿日期: 2012-12-03; **收到修改稿日期:** 2013-02-06

基金项目: 国家 973 计划 (2012CB85802)、国家自然科学基金 (3090035, 61235012) 和深圳市基础研究项目 (JC201005280500A) 资助课题。

作者简介: 谢向毅 (1990—), 男, 本科生, 主要从事生物光子学方面的研究。E-mail: xiexiangyi@szu.edu.cn

导师简介: 许改霞 (1977—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事生物光子学与纳米医学等方面的研究。

E-mail: xugaixia@szu.edu.cn (通信联系人)

本文电子版彩色效果请详见中国光学期刊网 www.opticsjournal.net

1 引 言

量子点(QD)是直径在 1~100 nm 之间,能光致发光的半导体纳米晶体。与传统有机染料相比,量子点具有荧光强度高,激发谱宽、发射谱窄等光学特性,且其抗光漂白性能好,荧光寿命长,有利于做细胞的荧光标记或开展活体成像研究^[1,2]。自 1998 年 Chan 等^[3]将量子点偶联转铁蛋白应用于标记 HeLa 细胞后,量子点偶联各种生物分子被应用于生物医学领域^[4~6]。然而在实际应用中,量子点的生物毒性也引起了研究者的注意。近年研究表明,影响量子点毒性的方面很多,包括量子点自身的理化特性、共孵育时间及量子点浓度等^[7,8],其毒性研究也逐渐深入到遗传毒性、神经毒性、生殖毒性和发育毒性等方面^[9,10]。而在生殖毒性方面,本实验室前期研究结果表明^[10,11],未成熟卵母细胞与量子点在体外进行共培养时,量子点无法进入卵母细胞内部,而是被阻挡在卵母细胞周围、负责卵母细胞给养和代谢的颗粒细胞中,但卵母细胞的成熟率明显下降,究其原因,可能是量子点蓄积于颗粒细胞的细胞质中,引起颗粒细胞功能异常,间接影响了卵母细胞的正常发育。因此,研究量子点对卵巢颗粒细胞的毒性效应及机理对于揭示量子点的生殖毒性意义重大。

本文系统地检测了量子点对体外培养的卵巢颗粒细胞的毒性效应。首先比较分析了 CdTe 量子点在不同溶液中的稳定性,而后选择 QD 稳定性最好的 DMEM 培养基作为颗粒细胞体外培养液,用 Hoechst32258 染色不同浓度的量子点处理后的颗粒细胞,在荧光倒置显微镜下观察细胞的凋亡情况;进一步用 CCK-8 试剂检测不同浓度量子点处理 24 h 后的细胞存活率。研究表明,颗粒细胞的凋亡与 QD 具有剂量依赖性,这为 CdTe 量子点安全用于活体实验提供了参考。

2 材料与方 法

2.1 主要仪器

实体解剖镜(日本 Olympus 公司);CX2C 光学显微镜(日本 Olympus 公司);倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);TCS SP2 激光扫描共聚焦显微镜(德国 Leica 公司);JDJ-203 型超净工作台(蚌埠净化设备厂);DHG-9246 型数显式恒温烘箱(上海浦东荣丰科学仪器有限公司);YXQ-LS-50S II 型高压蒸汽灭菌锅型(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);QWJ700SVBA 型 CO₂ 细胞培养箱(美国

CellStar 公司);酶标仪(BIO-RAD, IMARK);荧光分光光度计(日立 F-4600)。

2.2 主要试剂

Te 粉(纯度高于 99%)、L-半胱氨酸(纯度 98%)、CdClO₄ · 6H₂O(纯度 99%)、NaBH₄(纯度 99%)(购自广州百灵威科技有限公司),用于水相 CdTe 量子点合成。孕马血清促性腺激素(宁波市激素制品有限公司产品);胰酶(购自 Amresco);Hoechst32258 染料、二脒基苯基吡啶染料(DAPI)和 CCK-8 试剂盒(Sigma 公司产品);胎牛血清、DMEM 培养基、M1640 培养基(均购自深圳库源生物科技有限公司);其余试剂均为分析纯。

2.3 实验方法

2.3.1 CdTe 量子点的制备及表征

利用半胱氨酸为稳定剂,在低温水相中一步合成水溶性 CdTe 量子点^[12,13],简单来讲,首先将硼氢化钠和碲粉按一定比例加入超纯水中,在氩气环境下常温磁力搅拌 2 h,合成碲前驱体;再将 L-半胱氨酸和高氯酸镉按一定比例加入 NaOH 中,充分混合后加入合成好的新鲜碲前驱体,磁力搅拌 8 h 后终止反应。取样测试吸收谱和发射谱,干燥后配置浓度为 1 mg/mL 的 CdTe 量子点原液进行测试和相关实验。

2.3.2 量子点在不同溶液中的稳定性

称取干燥 CdTe 量子点分别用 DMEM 培养基、M1640 培养基和磷酸盐缓冲液(PBS)配制质量浓度为 10 μg/mL 的 CdTe 量子点溶液,用荧光分光光度计分别测量量子点在这三种不同溶液中荧光光谱随作用时间的变化。

2.3.3 小鼠卵巢内颗粒细胞的体外培养

实验中用的是购自广东动物中心 4 周龄的雌性昆明鼠,给小鼠腹腔注射 100 μL 的孕马血清促性腺激素(PMSG),48 h 后在无菌条件下取出小鼠的卵巢,用 PBS 洗两遍后在实体解剖镜上分离卵泡,然后刺破卵泡膜、用胰酶消化颗粒细胞、低速离心收集颗粒细胞,并将其放于体积分数为 10% 的小牛血清的 DMEM 的培养基中进行体外培养(37 °C,体积分数 5% CO₂)。

2.3.4 Hoechst32258 染色凋亡颗粒细胞

将培养好的颗粒细胞制成 5×10⁴ mL 的细胞悬液,将 1 mL 的细胞悬液接种到 24 孔板的每个孔中,放于体积分数 5% CO₂,37 °C 饱和湿度培养箱中。待颗粒细胞贴壁后,分别加入不同质量浓度的量子点溶液(1、10、20、40、60、80、200 μg/mL),每个浓度设置 3 个平行样,同时设置不加量子点的对照

组。在培养箱中孵育 24 h 后,将细胞培养液吸出放于离心管中,离心后计数经不同浓度量子点处理后的死细胞数;用体积分数 4% 的多聚甲醛溶液固定 24 孔板中的细胞 30 min,加入 1 mL 质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Hoechst32258 溶液,15 min 后吸掉染料,用 PBS 洗两遍后,用荧光倒置显微镜和激光扫描共聚焦显微镜对其拍照。

2.3.5 CCK-8 试剂检测颗粒细胞存活率

收集颗粒细胞制成 4×10^4 mL 的细胞悬液 20 mL,混匀后分别将 100 μL 的细胞液加入提前用质量分数为 0.2% 的明胶溶液处理过的 96 孔板的每个孔中,放于培养箱中培养至细胞贴壁后,分别将不同质量浓度的量子点溶液 (1、10、20、40、60、80、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 加入 96 孔板,每个浓度设置 6 个复孔,同时设置不加量子点对照组,放于培养箱中孵育 24 h 后,每个孔继续加入 20 μL 的 CCK-8 试剂,继续放于培养箱中培养 4 h 后终止培养,在酶联免疫检测仪 490 nm 处测量各孔的吸光度(OD)值,统计细胞存活率。

3 结果与讨论

3.1 量子点在不同溶液中的稳定性

所制备的 CdTe 量子点在纯水中的发射谱峰值为 642 nm,半峰全宽为 50 nm,如图 1 所示,根据量子点材料及光谱特性,计算量子点的核为 4.2 nm^[14]。

接下来对量子点在 PBS, M1640 和 DMEM 三种不同生物溶液中的稳定性进行了表征。图 2(a) 是量子点在三种溶液中荧光发射谱峰值随时间的变

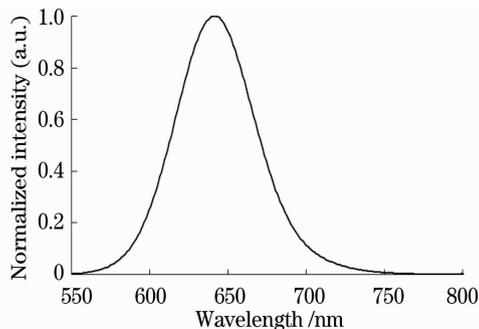


图 1 CdTe 量子点在纯水中的荧光发射谱
Fig. 1 Fluorescence emission spectrum of CdTe QDs in pure water

化曲线,图 2(b) 是量子点在三种溶液中荧光强度随时间的变化情况。由图 2 可见,量子点的荧光峰值位置随时间的变化幅度不大,在 PBS 中的峰值位置基本没变,在 DMEM 和 M1640 中荧光发射峰均发生了小于 2 nm 的红移;但量子点的荧光强度在三种溶液中的变化差异较大:在 M1640 培养基中,量子点荧光强度表现为先上升后下降,在第 6 h 又出现一个峰值,然后开始较快速地下降,24 h 后荧光强度降低到零;在 PBS 溶液中,量子点在最初的 1 h 内荧光强度没有明显变化,在 24 h 后量子点的荧光强度下降为原来的 14.2%;在 DMEM 中,前 8 h 内,量子点的荧光强度有较大幅度的上下波动,随后缓慢下降,24 h 后荧光强度仍保持为原来的 90.2%。可见,量子点在 DMEM 培养基中可保证荧光光谱和强度在较长时间内(24 h)的稳定性,因此,实验中采用 DMEM 作为颗粒细胞体外培养的培养基。

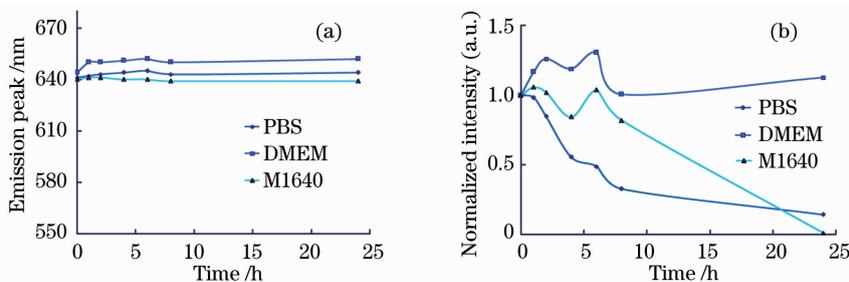


图 2 量子点在不同溶液中发射光谱随作用时间变化的曲线。(a) 荧光峰值位置随时间的变化;
(b) 荧光强度随时间的变化

Fig. 2 Fluorescence emission spectra changes of QDs in different solutions.

(a) Fluorescence peak vary with time; (b) fluorescence intensity vary with time

由于采用的量子点在碱性水溶液环境中合成,所以当量子点置于非碱性环境时,其荧光特性可能会发生变化;为了明确细胞培养液对量子点光谱特性的影响,首先检验了生物溶液对量子点荧光强度和峰值的影响。结果表明,在 24 h 的观察期内,量

子点在 DMEM 培养基中的荧光强度和峰值变化最小,也就是说量子点在 DMEM 中的光谱稳定性最好,原因可能是在 DMEM 培养基中的一些氨基酸和(或)无机盐在量子点的表面形成了保护层,阻止了量子点的降解,从而使光谱特性更稳定。

3.2 颗粒细胞体外培养

选择 DMEM 培养基作为卵巢颗粒细胞体外培养的培养基。实验中先用 PMSG 注射小鼠, 无菌条件下取出小鼠的卵泡并在解剖镜下分离; 用注射针刺破卵泡后用胰酶消化, 离心收集颗粒细胞后进行体外培养。如图 3(a) 所示, 颗粒细胞贴壁后形态不一, 细胞

核呈椭圆形, 长径为 $10\sim 25\ \mu\text{m}$ 不等, 核周围有颗粒物分布, 胞质形态不规则, 大小也不一致。用终质量浓度为 $10\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的量子点处理细胞后, 荧光下采集的量子点在颗粒细胞中的分布图像如图 3(b) 所示, 根据红色荧光(量子点)和蓝色荧光(DAPI)的相对位置, 可以判断量子点进入了颗粒细胞中。

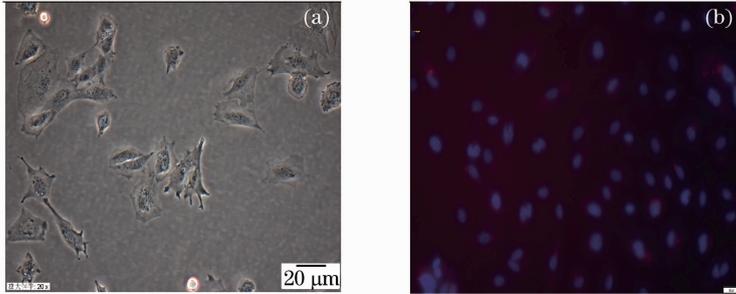


图 3 颗粒细胞的形态及量子点在颗粒细胞中的分布。(a) 颗粒细胞在白光下的形态, 标尺为 $20\ \mu\text{m}$;
(b) 量子点在颗粒细胞中的分布, 标尺为 $50\ \mu\text{m}$

Fig. 3 Morphology of granulosa cells and distribution of QDs in granulosa cell. (a) Morphology of granulosa cells by wight light, scale bar is $20\ \mu\text{m}$; (b) distribution of QDs in granulosa cell, scale bar is $50\ \mu\text{m}$

为了进一步判断量子点进入颗粒细胞后的分布, 利用激光扫描共聚焦显微镜, 对 $10\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的量子点处理后的颗粒细胞进行了层序列扫描成像, 由

图 4 黄色圈中量子点与细胞的相对位置可以看出, 量子点均分布于颗粒细胞质中, 但未能进入细胞核。

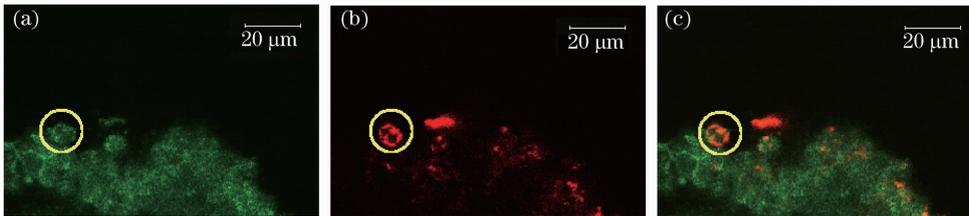


图 4 量子点在颗粒细胞中的分布(终浓度 $10\ \mu\text{g}/\text{mL}$, 作用 24 h), 图中绿色为反射光信号, 红色为量子点的荧光信号。

(a) 绿色反射光信号呈现颗粒细胞形态; (b) 红色信号给出量子点的分布; (c) 前两图迭加。标尺为 $20\ \mu\text{m}$

Fig. 4 Distribution of QDs inside granulosa cells with final concentration at $10\ \mu\text{g}/\text{mL}$ for 24 h. The green pseudo-color is the reflection signal and the red one is the fluorescence signal from QDs. (a) Green reflection signal indicates the morphology of granulosa; (b) red signal shows the distribution of QDs; (c) overlap of reflection and fluorescence signals. Scale bar is $20\ \mu\text{m}$

3.3 Hoechst32258 染色观察颗粒细胞

分别用终质量浓度为 1、10、20、40、60、80、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 CdTe 量子点处理颗粒细胞 24 h 后, 用 Hoechst32258 染色在倒置荧光显微镜下观察。低浓度处理后凋亡染色结果如图 5 所示, 对于对照组和量子点质量浓度为 $1\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 组, 细胞核是椭圆形的正常形态, 染色均一; 质量浓度上升为 $10\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 视场内的细胞数量大幅减少; 而当质量浓度上升至 $20\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 视场内接近一半的颗粒细胞的细胞核染色不均一, 出现凋亡小体。对于高浓度量子点处理的细胞, 荧光成像如图 6 所示, 当

质量浓度为 $40\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的时候, 视场内细胞数减少, 大部分细胞核出现凋亡小体[如图 6(a)], 细胞膜出现裂解的现象; 当浓度为 $200\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 视场内的细胞几乎全部凋亡。

同时还吸取了 24 板中各个孔的培养液, 分别对培养液中的死细胞计数, 发现当质量浓度为 $1\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 培养液中死细胞的数目与对照组一样; 当质量浓度为 $20\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 死细胞的数目是对照组的 10 倍; 当质量浓度为 $40\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 死细胞的数目是对照组的 22 倍; 当质量浓度为 $200\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 死细胞数是对照组的 35 倍。

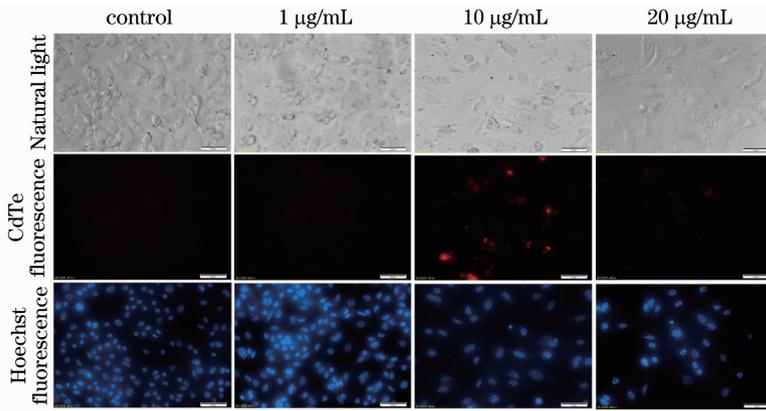


图 5 低浓度量子点处理颗粒细胞 24 h 后凋亡染色成像,标尺为 50 μm

Fig. 5 Apoptosis staining imaging of granulosa cells after being treated by QDs with low concentration for 24 h, scale bar is 50 μm

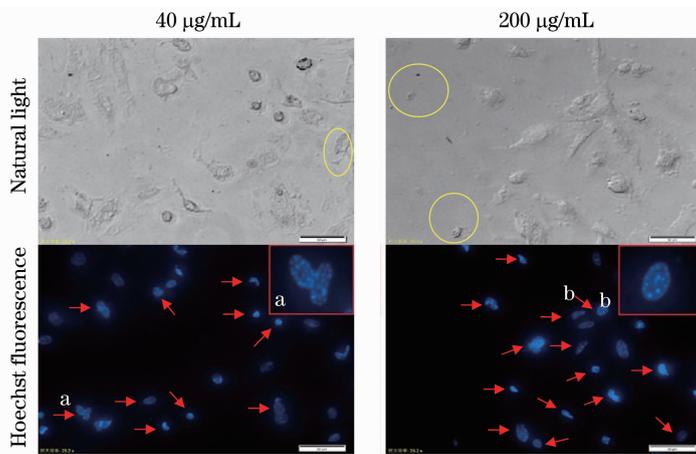


图 6 高浓度量子点处理颗粒细胞 24 h 后细胞凋亡染色成像。黄色圈内细胞是裂解的细胞，红色箭头所指是凋亡的细胞核。a 和 b 都是指被放大的凋亡的细胞核,标尺 50 μm

Fig. 6 Apoptosis staining imaging of granulosa cells after being treated by QDs with high concentration for 24 h. Yellow rings represent lysis cell, red arrows represent apoptosis nuclear. a and b represent apoptosis nuclei that are amplified. Scale bar is 50 μm

以上标记和死细胞计数结果表明,量子点对颗粒细胞的毒性呈剂量依赖性,这与 Lovric 等^[7,8]所观察到的量子点毒性效应一致。根据所使用 CdTe 量子点的材料特点,认为这种剂量效应的产生主要是由于量子点中的重金属元素释放造成的:在合成溶液中,CdTe 量子点状态稳定,纳米晶体的元素呈稳定晶体状态,量子点无毒性;当 CdTe 量子点处于细胞培养液中时,培养液的成分及 pH 值都会造成晶体状态不稳定,裂解释放出镉离子;随着量子点剂量的增加,培养液中游离的镉离子也相应增加,颗粒细胞内吞镉离子从而造成更多的细胞死亡。该结论也证实了我们前期的研究工作^[10,11]:量子点加入到体外培养的腔前卵泡体系后,会大量蓄积在颗粒细胞中,造成颗粒细胞功能异常甚至死亡,进而影响到卵母细胞的营养摄取及代谢,从而阻碍了其正常发

育及成熟。

3.4 CCK-8 试剂检测细胞存活率

为了进一步明确该量子点的安全使用剂量,进行了 CCK-8 细胞存活率检测实验。在 96 孔板中分别加入 1、10、20、40、60、80、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 CdTe 量子点处理颗粒细胞 24 h 后,加入 CCK-8 试剂 4 h 后用酶标仪在 490 nm 波长处检测 OD 值。结果如图 7 所示,随着量子点浓度的增加,颗粒细胞的存活率呈现下降的趋势:当量子点质量浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,颗粒细胞的存活率与对照组相比下降为 49.69%;质量浓度为 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,颗粒细胞存活率与对照组相比下降为 38.50%;质量浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,颗粒细胞的存活率与对照组相比仅有 16.93%。

该结果与上述 Hoechst 染色标记结果对照,可

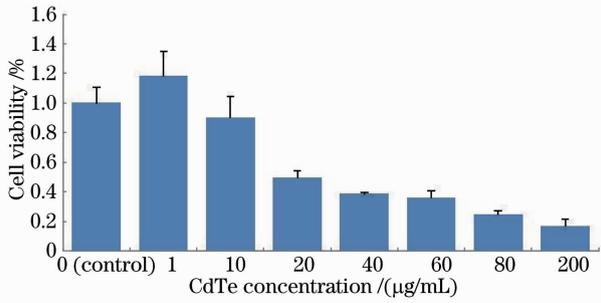


图7 量子点处理 24 h 对颗粒细胞存活率的影响

Fig. 7 Granulosa cells viability after being treated with QDs for 24 h

得出一致的结论,即当作用于颗粒细胞的量子点浓度升高时,细胞的凋亡率上升、存活率下降,提示在使用该量子点作为荧光标记物时,应选择适当的量子点浓度,同时兼顾成像的清晰度与细胞的状态。在颗粒细胞的标记成像研究中,CdTe 量子点的质量浓度应低于 $10 \mu\text{g/mL}$ 。

4 结 论

量子点因其独特的光学性质被广泛应用于生物研究领域,但由于其特殊的材料构成及尺寸效应,可能会带来一系列的生物毒副作用。本文研究了实验室自行合成的量子点的生殖毒性,将量子点作用于体外培养的卵巢颗粒细胞,利用多种途径检测其毒性效应,同时分析毒性发生的机制。结果表明,细胞培养基的成分会对量子点的荧光稳定性有一定的影响,具体的分子机理还需更深入的研究;此外,当量子点对颗粒细胞的作用浓度高于 $10 \mu\text{g/mL}$ 时,随着量子点浓度的增高,颗粒细胞的凋亡增加。此研究证实了当大量量子点进入颗粒细胞后,会在颗粒细胞的胞质中蓄积,造成颗粒细胞功能异常甚至死亡,这与本课题组早期的研究结论一致^[10,11]。因此本实验室水相合成的 CdTe 量子点会造成一定的生殖毒性,在应用于动物体内之前,有必要对 CdTe 量子点可能存在的毒性进行测试,明确安全使用剂量。

参 考 文 献

1 M. J. Bruchez, M. Moronne, P. Gin *et al.*. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels[J]. *Science*, 1998, **281**(5385): 2013~2016

2 H. Z. Wang, H. Y. Wang, R. Q. Liang *et al.*. Detection of tumor marker CA125 in ovarian carcinoma using quantum dots [J]. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 2004, **36**(10): 681~686

3 W. C. Chan, S. Nie. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection [J]. *Science*, 1998, **281**(5385): 2016~2018

4 H. Cai, Y. Wang, P. G. He *et al.*. Electrochemical detection of DNA hybridization based on silver-enhanced gold nanoparticle label[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2002, **469**(2): 165~172

5 M. Dahan, S. Levi, C. Luccardini *et al.*. Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking[J]. *Science*, 2003, **302**(5644): 442~445

6 M. E. Åkerman, W. C. W. Chan, P. Laakkonen *et al.*. Nanocrystal targeting *in vivo*[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**(20): 12617~12621

7 J. Lovric, H. S. Bazzi, Y. Cuie *et al.*. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots[J]. *J. Mol. Med.*, 2005, **83**(5): 377~385

8 A. Shiohara, A. Hoshino, K. Hanaki *et al.*. On the cytotoxicity caused by quantum dots [J]. *Microbiol. Immunol.*, 2004, **48**(9): 669~675

9 Tang Mingliang. The Quantum Dots Neurotoxicity and the Underlying Mechanisms[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2009

唐明亮. 纳米材料量子点神经毒性及机制 [D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2009

10 Wang Xiaomei, Yong Ken-Tye, Xu Gaixia *et al.*. Invasion of CdSe/CdS/ZnS quantum dots for oocytes *in vitro* maturation[J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(11): 2730~2734

王晓梅, 杨坚泰, 许改霞等. CdSe/CdS/ZnS 量子点对体外培养成熟卵母细胞的侵入性研究[J]. *中国激光*, 2010, **37**(11): 2730~2734

11 G. X. Xu, S. X. Lin, W. C. Law *et al.*. The invasion and reproductive toxicity of QDs-transferrin bioconjugates on preantral follicle *in vitro* [J]. *Theranostics*, 2012, **2**(7): 734~745

12 Zhai Peng, Xu Gaixia, Zhu Xiaomei *et al.*. Synthesis of targeting quantum dot and its applications in *in vivo* imaging research[J]. *Chinese J. Lasers*, 2013, **40**(1): 0104003

翟鹏, 许改霞, 朱小妹等. 靶向量子点的合成及其在活体成像研究中的应用[J]. *中国激光*, 2013, **40**(1): 0104003

13 Liu Xia, Chen Danni, Qu Junle *et al.*. Characterization of biocompatible CdTe/ZnTe quantum dots and its application in cell labeling [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2010, **30**(5): 1290~1294

刘夏, 陈丹妮, 屈军乐等. 生物相容性量子点表征及其在细胞标记中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, **30**(5): 1290~1294

14 W. W. Yu, L. H. Qu, W. Z. Guo *et al.*. Experimental determination of the extinction coefficient of CdTe, CdSe and CdS nanocrystals[J]. *Chem. Mater.*, 2003, **15**(14): 2854~2860

15 C. Kirchner, T. Liedl, S. Kudera *et al.*. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles [J]. *Nano Lett.*, 2005, **5**(2): 331~338