

· 特邀论文 ·

稀土上转换发光纳米材料及生物传感研究进展

谢荧玲^{1,2}, 沈博², 周兵帅², 刘敏³, 费虹天¹, 孙娇^{1*}, 董彪^{2**}

¹ 吉林大学基础医学院细胞生物学系, 吉林 长春 130021;

² 吉林大学集成光电子学国家重点实验室, 电子科学与工程学院, 吉林 长春 130012;

³ 吉林大学第一医院放疗科, 吉林 长春 130021

摘要 稀土掺杂的上转换纳米发光材料(UCNP)可以将低频光子转化为高频光子,通常是近红外光激发,可见光发射,这个独特的光学性质使其具有良好的生物学应用前景。近年来,UCNP 已经在成像、传感等领域取得了重要进展,本文对近年来 UCNP 的合成、表面修饰以及在生物检测等方面的应用进行综述,涵盖了生物检测方面的重要进展,包括基于上转换荧光的温度、离子、小分子以及生物体内的重要蛋白与核酸等检测应用。

关键词 生物光学; 稀土发光; 上转换发光; 荧光探针; 生物传感

中图分类号 O436

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0207017

Progress in Research on Rare-Earth Upconversion Luminescent Nanomaterials and Bio-Sensing

Xie Yingling^{1,2}, Shen Bo², Zhou Bingshuai², Liu Min³, Fei Hongtian¹,
Sun Jiao^{1*}, Dong Biao^{2**}

¹ Department of Cell Biology, College of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun, Jilin 130021, China;

² State Key Laboratory on Integrated Optoelectronics, College of Electronic Science and Engineering, Jilin University, Changchun, Jilin 130012, China;

³ Department of Radiology, The First Hospital, Jilin University, Changchun, Jilin 130021, China

Abstract Rare earth doped upconversion nanoluminescent materials (UCNP) can convert low-frequency photons into high-frequency photons, usually near-infrared light excitation and visible light emission. This unique optical property makes it promising for biological applications. In recent years, UCNPs have made significant progress in the imaging and sensing fields. This paper reviews the important progress in synthesis, surface modification, and bioassay using UCNPs, covering important advances in biological detection, and including upconversion fluorescence-based temperature, ions, small molecules, and important proteins and nucleic acids.

Key words biotechnology; rare earth luminescence; upconversion luminescence; luminescent nanoprobe; bio-sensing

OCIS codes 160.5690; 160.2540; 160.4236

1 引 言

荧光检测法具有灵敏度高、操作简便、可原位检测等优点。传统荧光探针的激发波长和检测波长通常位于紫外-可见光区,因而用作生物成像探针时会遇到自发荧光干扰、激发光组织穿透深度有限等问

题,在活体检测和成像方面受到严重限制^[1-2]。

稀土上转换纳米发光材料(UCNP)的激发光和发射光波长均可以调节到“生物窗口”,有效地降低了组织对光的吸收和散射^[3],因此,具有高光热稳定性^[4]、高信噪比、组织穿透深度大、无背景噪声干扰以及对生物组织几乎无损伤等优点^[5-12],在生物检

收稿日期: 2019-10-08; 修回日期: 2019-11-25; 录用日期: 2019-12-24

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC0207101)、国家自然科学基金(81602659,61775080)、吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(JJKH20190101KJ)

* E-mail: jiaosun@jlu.edu.cn; ** E-mail: dongb@jlu.edu.cn

测、治疗与成像方面有广泛的应用。上转换发光纳米颗粒作为一种理想的检测材料,其多色发光性质为高灵敏度探针设计提供了很好的基础。基于上述上转换荧光性质,研究者们针对温度、离子、小分子、DNA、酶、病毒等生物信息检测开展了许多研究,本文通过回顾过去几年的研究工作,总结出上转换发光材料在生物检测等方面的最新进展。

2 上转换发光机理

每个镧系元素离子都有一组独特的能级,产生

表 1 用于制备多色上转换纳米晶体的典型掺杂离子及相应的主要发光体和能量跃迁

Table 1 Typical dopant ions and the corresponding major emissions and energy transitions for making multicolored upconversion nanocrystals

Activator	Major emission /nm	Energy transition	Ref.
Pr ³⁺	489,526,548,618,652,670,732,860	³ P ₀ → ³ H ₄ , ¹ I ₆ → ³ H ₅ , ³ P ₀ → ³ H ₅ , ³ P ₀ → ³ H ₆ , ³ P ₀ → ³ F ₂ , ³ P ₁ → ³ F ₃ , ³ P ₀ → ³ F ₄ , ¹ I ₆ → ¹ G ₄	[13-14]
Nd ²⁺	430,482,525,535,580,600,664,766	² P _{1/2} → ⁴ I _{9/2} , ² P _{1/2} → ⁴ I _{11/2} , ² P _{1/2} → ⁴ I _{13/2} , ⁴ G _{7/2} → ⁴ I _{9/2} , ² P _{1/2} → ⁴ I _{15/2} , ⁴ G _{7/2} → ⁴ I _{11/2} , ² G _{7/2} → ⁴ I _{9/2} , ⁴ G _{7/2} → ⁴ I _{13/2} , ⁴ G _{7/2} → ⁴ I _{15/2}	[15-16]
Dy ³⁺	570	⁴ F _{9/2} → ⁶ H _{13/2}	[17-18]
Ho ³⁺	542,645,658	⁵ S ₂ → ⁵ I ₈ , ⁵ F ₅ → ⁵ I ₈	[19-20]
Er ³⁺	411,523,542,656	² H _{9/2} → ⁴ I _{15/2} , ² H _{11/2} → ⁴ I _{15/2} , ⁴ S _{3/2} → ⁴ I _{15/2} , ⁴ F _{9/2} → ⁴ I _{15/2}	[21-22]
Tm ³⁺	294,345,368,450,475,650,700,800	¹ I ₆ → ³ H ₆ , ¹ I ₆ → ³ F ₄ , ¹ D ₂ → ³ H ₆ , ¹ D ₂ → ³ F ₄ , ¹ G ₄ → ³ H ₆ , ¹ G ₄ → ³ F ₄ , ³ F ₃ → ³ H ₆ , ³ H ₄ → ³ H ₆	[23-24]

1) 激发态吸收(ESA)上转换:同一个离子从基态通过连续多光子吸收到达能量较高的激发态的过程,这也是上转换发光的基本过程。

2) 能量传递上转换(ETU):通过非辐射过程将两个能量相近的激发态离子耦合,其中一个离子把能量转移给另一个离子而回到低能态,另一个离子接收能量而跃迁到更高的能态。

3) 光子雪崩(PA)上转换:是指激发态吸收和能量传递相结合的过程,但能量传输只发生在同种离子之间。

关于上转换多色发射调谐的报道很多,主要集中在 980 nm 和 808 nm 激光作用下,实现多色可见光发射,最主要的离子包括 Yb/Er、Yb/Ho 和 Yb/Tm,常见的基质材料为 NaYF₄、NaGdF₄、BaYF₅ 等^[26-27],其中 Yb 离子通常作为敏化离子发挥其功能。Er 的上转换绿光和红光以及 Tm 离子的上转换蓝光是可见光部分应用最为广泛的波段,通过改变 Yb 离子的掺杂浓度以及 Er 和 Tm 离子浓度,可以实现可见光波段的可调谐发光。因为 Tm 离子的发光还可以拓展到紫外区和近红外区,所以当利用 Er 离子和 Tm 离子共掺杂时,可以通过调节 Tm 和 Er 掺杂剂的离子浓度,将上转换发光发射从紫外区

可区分光谱指纹的尖锐发射峰,用于制备多色上转换纳米晶体的典型掺杂离子及相应的主要发光体和能量跃迁见表 1。已有的许多研究证明,从 La 到 Lu 的大部分稀土(RE)离子都具有上转换发光特性,包括 Pr^[13-14]、Nd^[15-16]、Dy^[17-18]、Ho^[19-20]、Er^[21-22] 和 Tm^[23-24]。作为一种特殊的发光现象,上转换效应是材料将吸收的低能级光子转换为高能发射光子,为下转换发光的逆过程,遵循能量守恒定律,因此亦被称为反斯托克斯(anti-Stokes)发光。总体而言,上转换发光过程可归结为以下 3 种激发方式^[25]。

(UV)调节到近红外区(NIR)。图 1 中 Yb/Er 和 Yb/Tm 共掺杂的 NaYF₄ 纳米颗粒具有黄色(图 1 的 A1)和蓝色(图 1 的 A4)发射光^[28],可以归因于 Er³⁺ 的²H_{11/2},⁴S₃→⁴I_{15/2}(绿光)和⁴F_{9/2}→⁴I_{15/2}(红光)及 Tm³⁺ 的¹D₂→³F₄、¹G₄→³H₆(蓝光)跃迁。利用近红外光的激发和可见光发射的性质设计基于近红外光的能量传递系统,通过检测能量传递信号的产生或者消失来实现生物量的传感。

3 上转换材料表面改性

面向生物应用的上转换纳米材料需要具有尺寸小、形貌均匀等特点,并且优异的发光性能也是生物应用的重要前提。以油酸、油胺为溶剂的高温热解法是目前上转换纳米晶的主要合成方法,具有尺寸均一可控、发光效率高的优点。适用于生物领域的上转换纳米材料需要具有良好的亲水性能,然而,以高温热解法合成的上转换纳米材料表面往往会附着油酸、油胺配体,材料表面具有疏水性,在应用前需要将疏水性 UCNP 转化为亲水颗粒。目前用于表面改性的方法^[29]大致分为以下 4 种:1)表面疏水(通常为油酸或油胺)配体的化学改性;2)采用两亲分子或聚合物进行双层包覆;3)在UCNP顶部加入

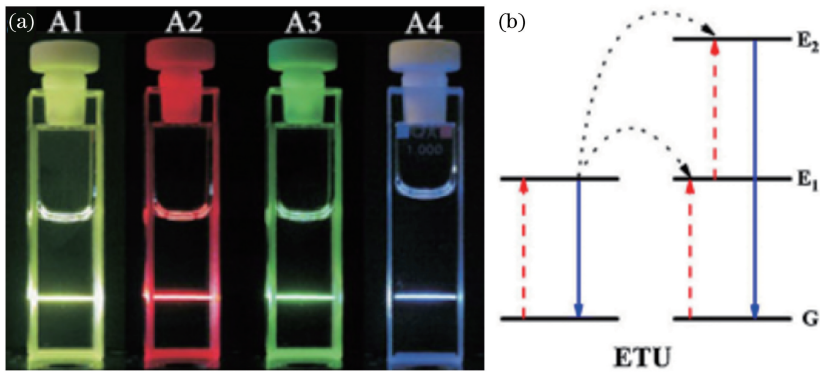


图 1 上转换发光图与机理示意图。(a)在 975 nm 激光作用下,上转换纳米晶的二甲基亚砜(DMSO)胶体溶液发光照片^[28],其中 A1 为 $\text{NaYF}_4:20\% \text{Yb}^{3+}, 2\% \text{Er}^{3+}$ 的总上转换荧光,A2、A3 分别为通过红色和绿色滤色片显示的发光,A4 为 $\text{NaYF}_4:20\% \text{Yb}^{3+}, 2\% \text{Tm}^{3+}$ 的总上转换荧光;(b)镧系元素掺杂晶体的主要能量上转换过程,其中红色短划线、黑色短虚线、蓝色实线分别代表光子激发、能量转移和发射过程

Fig. 1 Schematic illustration of upconversion luminescence and mechanism. (a) Photographs of the upconversion luminescence in 1% mass fraction colloidal solutions of nanocrystals in dimethyl sulfoxide (DMSO) excited at 10270 cm^{-1} ($\sim 975 \text{ nm}$)^[28]. A1 denotes total upconversion luminescence of the $\text{NaYF}_4:20\% \text{Yb}^{3+}, 2\% \text{Er}^{3+}$ sample, A2, A3 show the same luminescence through red and green color filters, respectively, and A4 denotes total upconversion luminescence of the $\text{NaYF}_4:20\% \text{Yb}^{3+}, 2\% \text{Tm}^{3+}$ sample; (b) ETU principal upconversion processes for lanthanide doped crystals, the red short dashed, black short dotted, and blue solid line represent photon excitation, energy transfer, and emission processes, respectively

额外的层或壳;4)用另一种配体完全替换原生配体。这些方法通常不限于 UCNP,也适用于其他类型的纳米颗粒。

1) 原始配体的改性:直接在颗粒表面上将疏水配体改性为亲水配体。这种方法主要是对基于油酸或油胺配体的材料进行 $\text{C}=\text{C}$ 的氧化,形成羧基基团或环氧基团^[30],所得颗粒在水中的分散性显著增强。该方法使用的氧化剂为 Lemieux-von Rudloff 试剂^[31]、臭氧^[32]和 3-氯过氧苯甲酸等。此外,疏水基团还可以与其他亲水物质偶联在颗粒表面形成共价键,以便控制药物传递^[33]或者为聚乙二醇赋予生物相容性,例如,抗癌药物多柔比星。

2) 两亲性配体修饰:采用两亲性长烷基链分子修饰 UCNP 表面,在范德瓦耳斯力的作用下,疏水性油酸盐与配体之间形成稳定的双分子层。这类配体具有很强的范德瓦耳斯力,能够使表面电荷发生改变,并以多层交替电荷的形式进行逐层沉积——层包层。用长链两亲性配体修饰表面为油酸盐的 UCNP,将它们的疏水尾部嵌入油酸链之间,而亲水性头部向外。这种设计能够有效地改善 UCNP 的亲水性能。如图 2 所示,两亲性配体的疏水部分与 UCNP 表面的疏水配体铰链结合,而亲水部分朝外形成亲水的表面结构,增强了 UCNP 的水溶性和生物应用性。

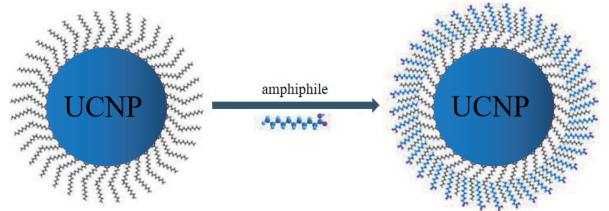


图 2 用两亲性配体修饰油酸包覆的 UCNP,从而使疏水离子转化为亲水离子的原理示意图

Fig. 2 Principle of bilayer formation by coating the oleate-capped UCNP with an amphiphile possessing a hydrophilic or ionic end group, thus converting the hydrophobic particles to hydrophilic particles

磷脂(PLs)是一种常用的表面改性分子。磷脂修饰的颗粒(不仅是 UCNP)具有非免疫原性,容易被细胞内化,并且在体内具有很长的功能寿命。各种亲水头部的磷脂有马来酰亚胺(用于将颗粒与蛋白质硫醇基团结合)、生物素(与链霉抗生物素蛋白具有高亲和力)等,可通过商购获得。Zhao 课题组^[34]用洗涤剂 TWEEN 80 包覆 UCNP,获得可负载多柔比星的颗粒,随后用二氧化硅进行表面改性。Parak 课题组^[35]使用两亲聚合物代替相对小的表面活性剂,修饰金纳米粒子、量子点和氧化铁粒子的表面。聚(马来酸酐-ALT-1-十八烯)(PMAO)是一种被广泛使用的两亲性聚合物^[36-37],分子上的多个烷

基链具有较弱的螯合作用,可使表面包覆层稳定以防止配体分离。包覆有 PMAO 的颗粒在水性介质中的稳定性良好,并可以通过酸酐基团与双(六亚甲基)三胺(BHMT)反应来进一步提高其稳定性。采用这种方法^[38]修饰的 UCNP 可在 pH 值为 3~13 的细胞培养基中稳定存在数周(图 3)。

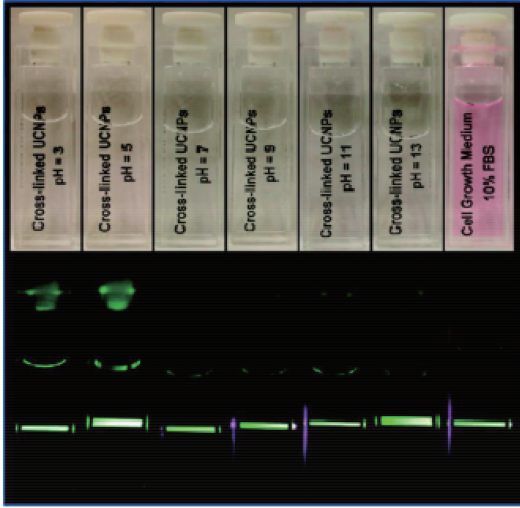


图 3 分散于不同 pH 值(3~13)的水中以及补充血清细胞生长培养基中的核/壳纳米颗粒($\text{NaYF}_4 : 20\% \text{Yb}^{3+}, 2\% \text{Er}^{3+} / \text{NaYF}_4\text{-PMAO-BHMT}$)在 980 nm 激光的激发下的图像(底部)^[38]

Fig. 3 Core/shell nanoparticles ($\text{NaYF}_4 : 20\% \text{Yb}^{3+}, 2\% \text{Er}^{3+} / \text{NaYF}_4\text{-PMAO-BHMT}$) dispersed in water at different pH from 3 to 13 and serum-supplemented cell growth medium and respective images under 980 nm excitation (bottom)^[38]

本课题组利用两亲性硅烷修饰上转换纳米晶,在获得良好水溶性的基础上,进一步在硅烷疏水链

与表面配体形成的疏水层中加入 Eu 的配合物,实现近红外光和紫外光双模式激发下的细胞成像,以及利用上转换荧光和 Eu 离子的下转换荧光实现温度传感,如图 4 所示^[39]。Yi 等^[40]用长链烷基修饰的聚丙烯酸与 UCNP 表面的油酸盐结合,引入带负电荷的羧基,使纳米颗粒具有水溶性,羧基可进一步与蛋白质偶联^[41]。此外,UCNP 表面修饰的相关报道还有:将两性亲壳聚糖修饰的纳米颗粒用于光动力疗法^[42];甲氧基-聚(乙二醇-嵌段-己内酯)包覆的 UCNP 在生理条件下具有高度稳定性^[43],可用于生物成像。表 2 给出了一系列应用于 UCNP 表面修饰的两亲分子。

3) 无机材料表面修饰和改性:在 UCNP 的疏水表面沉积亲水壳层,从而实现水分散性,这是亲水性修饰的常用方法之一。典型的壳材料包括氧化物 SiO_2 和 TiO_2 ,及贵金属金和银等,表 3 列出了目前较为常用的修饰材料。本课题组率先使用银来修饰上转换纳米晶,在实现亲水性的同时,还引入了光热转换性能。在近红外光激发下,银壳层具有优良的光热转换性能,既实现了上转换成像,又可以进行肿瘤治疗,是多功能复合纳米材料设计的重要模型。 SiO_2 非常适合作为包覆层来提高纳米材料的亲水性,这是因为无论 UCNP 的表面是亲水还是疏水,都可以使用 Stöber 方法或反向微乳液方法进行包覆。包覆过程中通常加入氨作为催化剂,形成浓度高于成核浓度的硅酸溶液,以保证二氧化硅壳的稳定生长,如图 5 所示,所得二氧化硅包覆的颗粒($\text{UCNP}@ \text{SiO}_2$)易分散在水中。被包覆的纳米材料通常具有表面电荷,表现出低细胞毒性^[48]。

表 2 两亲分子及其修饰的 UCNP 的应用

Table 2 Examples for amphiphilic molecules used for coating of UCNP and selected applications of the resulting water dispersible nanoparticles

UCNP and native ligand	Amphiphilic molecule	Application	Ref.
$\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$ and $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Tm}@ \text{oleate}$	Phospholipids with various head groups	Optical and magnetic resonance imaging	[44-46]
$\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}@ \text{oleate}$	TWEEN 80	Bioimaging and drug delivery	[34]
$\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}@ \text{oleate}$	Surfactants	Water dispersibility	[47]
$\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$ and $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Tm}@ \text{oleate}$	Poly(maleic anhydride-alt-1-octadecene)	Photodynamic therapy, detection of Hg^{2+} ions in water	[36-37]
$\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$ and $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Tm}@ \text{oleate}$	Amphiphilic poly(acrylic acid)	Bioimaging, cell tracking	[40-41]
$\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}@ \text{oleate}$	Amphiphilic chitosan	Photodynamic therapy	[42]
$\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}@ \text{oleate}$	Amphiphilic silane	Temperature sensing, cell imaging	[39]

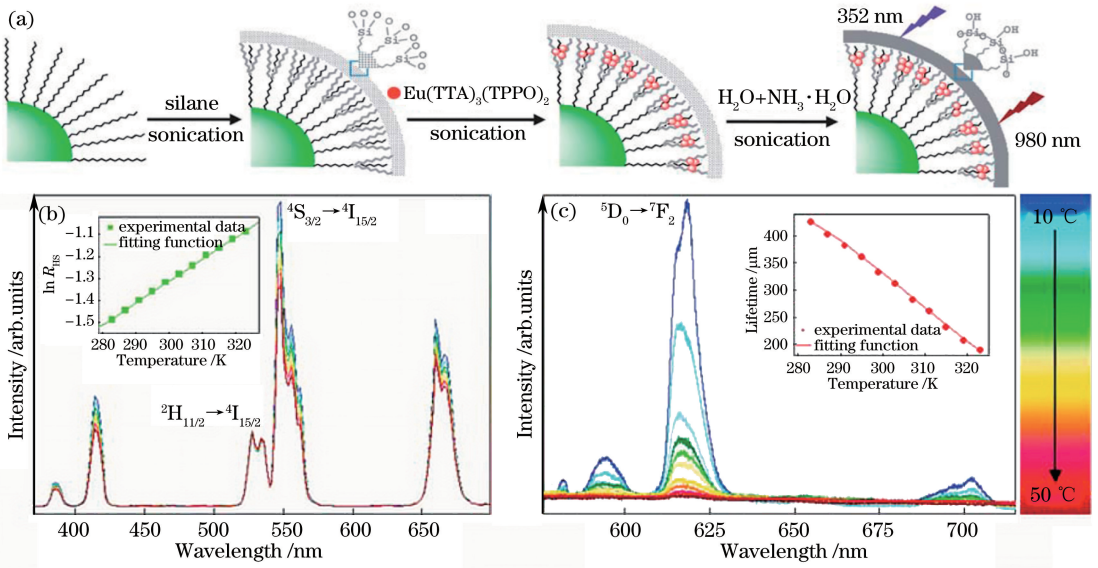


图 4 硅烷修饰 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 的合成示意图及不同激发波长的上转换和下转换光谱^[39]。(a) 两亲性 C18 硅烷内部载有探针 $\text{Eu}(\text{TTA})_3(\text{TPPO})_2$ 修饰 NaYF_4 的合成图;(b) 在 980 nm 激发波长下实现的上转换和下转换光谱,插图显示了在 525 nm 和 544 nm 处的上转换发光的温度相关强度比值;(c) 在 352 nm 激发波长下实现的上转换和下转换光谱,插图显示了上转换发光寿命的温度依赖性变化

Fig. 4 Schematic illustration of the synthesis of silane-modified $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ and inversion spectra under different excitation wavelengths^[39]. (a) Schematic illustration of C18 silane-modified $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ loaded with the probe $\text{Eu}(\text{TTA})_3(\text{TPPO})_2$; (b) excitation spectra at 980 nm, the inset shows the temperature-dependent intensity ratio value of the two upconversion luminescence emissions at 525 nm and 544 nm; (c) excitation spectra at 352 nm, the inset shows the temperature-dependent lifetime of the upconversion luminescence

表 3 无机材料修饰的 NaYF_4 纳米颗粒及其应用

Table 3 Examples for NaYF_4 nanoparticles encapsulated by inorganic materials and corresponding applications

UCNP and its native ligand	Shell	Application	Ref.
$\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$	SiO_2	Imaging, drug delivery	[49]
$\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}@$ oleate	SiO_2		[50]
$\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@$ oleate	TiO_2	Dye sensitized solar cells	[51]
$\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}@$ SiO_2	TiO_2	Photocatalysis	[52]
$\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}@$ oleate	Au	Plasmonic modulation of upconversion emission	[53-54]
$\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}@$ oleylamine	Ag	Imaging, photothermal therapy	[55]

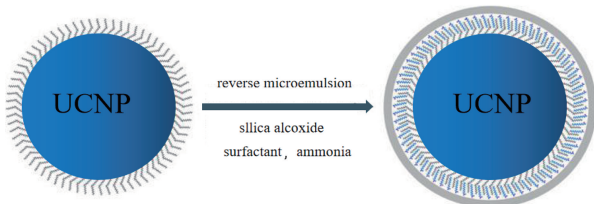


图 5 在 UCNP 的油酸盐表面覆盖二氧化硅壳示意图。疏水性颗粒转化为亲水性颗粒后, ζ 电位会发生很大变化
Fig. 5 Schematic representation of the silica shell formed on oleate-capped UCNP. After the initially hydrophobic particles are converted to hydrophilic particles, the process is accompanied by large changes in the ζ potential

4) 配体交换:配体交换是修饰 UCNP 表面的通用策略。已知的方法主要有两种:一种是基于新的第一配体的直接替代法;另一种是两步替代法,使用 NOBF_4 或 HCl 除去油酸盐或油胺,随后附着新包覆层。该法在交换形成的配体层中引入小分子,在相转移到含水溶剂中后 UCNP 的“亮度”会明显降低。

①直接(单步)替代法:在这种情况下,UCNP 的原有配体(几乎)被另一种配体完全置换,该配体在水溶性上更具优势。理想情况下,它含有一个能与 UCNP 表面配位的官能团,因此它可以很容易地取代原有配体。 $-\text{SH}, -\text{NH}_2, -\text{COOH}, -\text{PO}_3\text{H}$ 的配位能力逐次增强,但还未进行不同结合强度的比较

研究^[56]。Voliani 等^[57]使用一端具有硫醇基,另一端具有胺或羧基的双功能 PEG(将多齿配体与镧系元素离子相结合)进行配体替代,既增加了纳米颗粒的水稳定性,又起到了修饰的作用。

②强酸两步替代法: Bogdan 等^[58]使用盐酸溶

液处理疏水性 UCNP,从表面剥离原有配体以产生无配体和水分散性颗粒,再用新配体包覆这些纳米颗粒,如利用肝素进行配体修饰,可获得具有较高稳定性的 UCNP 颗粒,如图 6^[59]所示。然而,未被包覆颗粒的稳定性和聚集倾向仍需进一步研究。

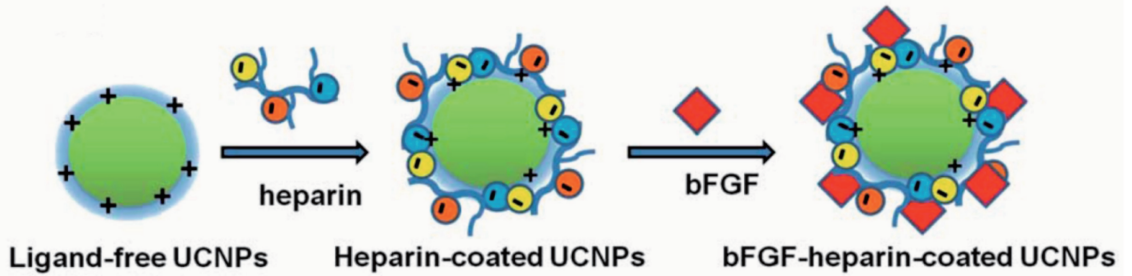


图 6 用肝素和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)包覆 UCNP 的过程示意图^[59]

Fig. 6 Illustration of the procedure for preparing UCNP coated with heparin and basic fibroblast growth factor (bFGF)^[59]

4 基于上转换荧光的检测应用

除温度外,上转换纳米材料与任何生理和生化特性没有直接关系。所以在探针设计中,上转换纳米探针需要与适当的识别实体相结合后才能显示出高特异性,对检测目标进行快速响应,以提高其灵敏度。被检测的物质包括离子(CN^- 、 Hg^{2+} 等)、气体小分子(CO_2 、氨等)和生物分子(抗生物素蛋白、DNA 等)。

大多数生物检测研究是基于发光共振能量转移(LRET)机制。LRET 是在能量供体和能量受体之

间发生的能量传递过程。UCNP 本身只能通过掺杂改变它们的发射波长,并且它们的表面没有任何识别物,不大可能显示出有效的传感行为。所以,需要在 UCNP 表面附加特殊识别基团,其中 UCNP 产生的光信号将受到 LRET 过程的影响。到目前为止,一些材料(如有机染料、贵金属纳米粒子、氧化石墨烯和量子点)已被证明是高效的能量受体(图 7)。当上转换纳米材料连接相应的识别基团后,根据上转换荧光的位置选择相应的能量受体材料,通过共振能量的产生或者消失来实现对生物物质的高灵敏度检测。

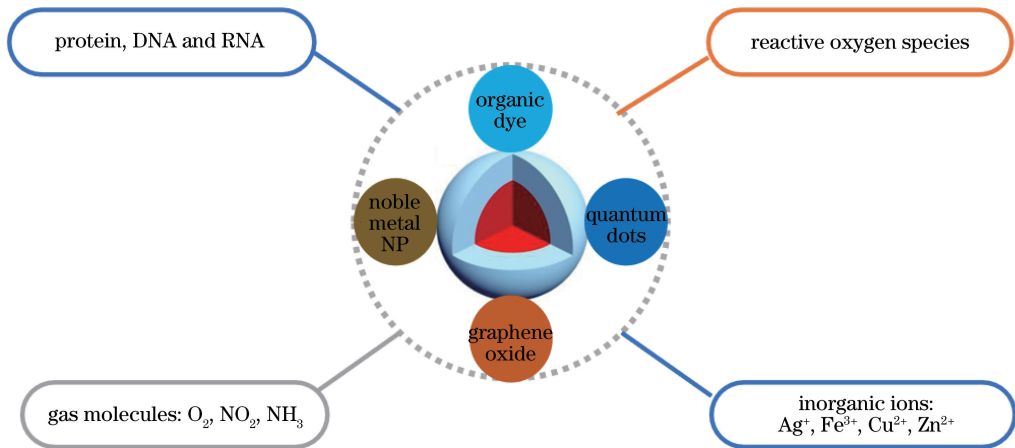


图 7 具有不同能量受体的 UCNP 探针用于检测不同的无机离子、活性氧、气体分子、蛋白质和核酸

Fig. 7 UCNP-based probes with different energy acceptors to detect different inorganic ions, reactive oxygen species, gas molecules, protein, DNA, and RNA

4.1 基于 LRET 的检测策略

LRET 是研究纳米粒子之间相互作用的重要光谱技术。上转换检测的核心是探针在与靶向物反应前后具有不同的 LRET 效率。为了在检测中触发

LRET 过程,能量受体应满足两个要求:受体的吸收带应与 UCNP 的发射带重叠;受体与 UCNP 的距离足够小。所以,可以通过调整 UCNP 和受体之间的光谱重叠和距离来调节 LRET 的效率。

1) 调谐光谱重叠。为了控制 LRET 效率,受体的吸收强度或波长应在与分析物反应后出现显著变化。如图 8 的方案 A 所示,分析物将与识别基团反应以阻断 LRET 过程,从而恢复 UCNP 的发射。需要注意的是,这种检测策略在相反的方向上也是有

效的,即对于触发和阻止 LRET 过程都是有效的。目前,已经有关于多种荧光探针^[60]通过吸收或荧光的变化来检测离子和小分子报道,通过将合适的传感基团附着到 UCNP 的表面来构建基于 LRET 的探针是非常方便的方式。

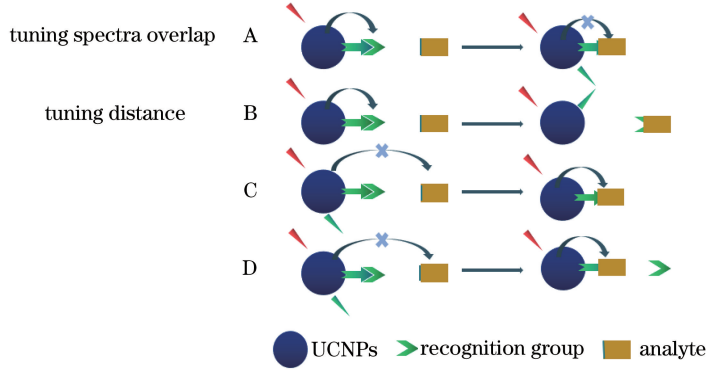


图 8 基于 LRET 的主要检测策略

Fig. 8 LRET-based detection strategies

2) 调整距离。调节 LRET 效率的另一个策略是改变 UCNP 和受体之间的距离(延长或缩短)。在图 8 的方案 B 中,识别组充当能量受体。分析物的添加将切断 UCNP 和受体之间的连接,导致上转换荧光恢复。在方案 C、D 中,分析物是能量受体,它将与识别基团结合(图 8 的方案 C)或被识别基团替换(图 8 的方案 D),这些策略都是有效的检测方法。

4.2 上转换纳米粒子作为纳米温度计

基于 4f 跃迁的温度敏感性^[61],包括 Er^{3+} 、 Nd^{3+} 、 Eu^{3+} 、 Dy^{3+} 等在内的多种镧系元素离子被广泛用于非侵入式温度传感器。例如, Er^{3+} 离子的 $520 \text{ nm} (^2\text{H}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2})$ 和 $550 \text{ nm} (^4\text{S}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2})$ 之间的发光强度比对温度非常敏感。室温范围内的温度变化会引起两个绿光分支比出现明显变化,通过分支比可以解析出温度。因为是光谱解析,激发光和发射光都可以在生物体外检测,所以对于体内的温度测试具有重要意义。

以下将简要概述基于上转换纳米材料的温度传感器的发展。

2010 年, Vetrone 等^[62] 首次使用 $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 作为荧光强度(FI)比纳米温度计对活 Hela 细胞进行温度感测,基于 Ln^{3+} 的探针在活细胞内通过上转换光谱可记录的温度变化范围为 $25 \sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$ 。而后, Okabe 等^[63] 设计了一种荧光聚合物温度计,可用于检测细胞内 $20 \sim 50 \text{ }^\circ\text{C}$ 范围内的温度变化。

与 FI 比纳米温度计相比,荧光聚合物温度计的温度检测范围更大。2012 年, Xiao 等^[64] 利用热响应聚合物(聚 N-异丁基丙烯酰胺)和上转换纳米荧光粉($\text{NaLuF}_4 : \text{Mn}^{2+}, \text{Ln}^{3+}$) 设计出一种稀土金属配合物,可切换荧光共振能量转移(FRET)系统,以增强温度传感。

Sedlmeier 等^[65] 分析了一系列具有不同尺寸、形貌和离子掺杂浓度的上转换纳米粒子,发现与 $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$ 纳米颗粒相比, $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er} @ \text{NaYF}_4$ 核壳纳米粒子的温度传感性能(分辨率小于 $0.5 \text{ }^\circ\text{C}$) 在 $20 \sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$ 生理范围内更优,这是因为核壳上转换纳米颗粒的荧光增强作用有利于检测分辨率的提升。

Brites 等^[66] 提出一种基于上转换纳米材料的温度传感技术,用于测量悬浮在水溶剂和有机溶剂中的布朗纳米晶体的瞬时速度。他们发现热平衡下 $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$ 纳米晶具有出色的热敏性($1.15\% \text{ K}^{-1} @ 296 \text{ K}$) 和高空间分辨率($< 11 \text{ nm}$)。

2016 年, Jaque 研究团队^[67] 证明通过非接触式扫描单个纳米粒子可以在细胞内部进行热扫描。这种新方法对等离子体介导的癌细胞光热治疗所产生的热梯度监测具有很重要的意义。

此外, Jiang 等^[68] 报道了一种用于光学温度传感的新型 UCNP $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er} @ \text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Nd}$, 激发波长可以从 980 nm 转移到 794 nm 。

李富友课题组^[69] 合成了六方相的 UCNP $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 和 $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+}, \text{Nd}^{3+}$, 使用

meso-2,3-二巯基琥珀酸进行表面修饰后应用于细胞温度传感及成像。在核-壳 UCNP 中, Nd^{3+} 作为敏化剂, 808 nm 激发光能量通过 Yb^{3+} 离子传递给 Er^{3+} , 改善了 Er^{3+} 的发光性能, 并抑制了 Nd^{3+} 多能级所引起的猝灭效应。在 808 nm 和 980 nm 激发光作用下, 纳米颗粒 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Nd}^{3+}$ 均表现出高效的绿色荧光(525 nm 和 545 nm, 源于 $^2\text{H}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ 和 $^4\text{S}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ 的跃迁)。他们证明这两个发射峰的强度比与 NIH-3T3 细胞的内部或外部温度的倒数之间存在良好的对数关系。通过加热-冷却循环的温度依赖性光谱证明了探针材料具有良好的热稳定性。

光热疗法(PTT)为肿瘤的治疗提供了机遇^[70]。在 PTT 中精确的温度控制至关重要^[71]。到目前为止, 虽然红外测温仪作为一种常用的温度传感器已经应用于 PTT 的温度监测, 但由于无法避免热源到热传感器的热量损失, 传感器探测温度远低于肿瘤部位的真实温度^[72-73]。此外, 不加控制的过热会通过热传导造成治疗部位周围正常组织的严重损伤。为了提高 PTT 的准确性和效率, 满足临床精确治疗的要求, UCNP 以其敏感的温度依赖性上转换光谱和物理化学性质成为重要的候选材料^[74-78]。2016 年, 复旦大学的李富友团队^[79]制备了具有温度反馈功能的上转换/光热纳米复合材料($\text{NaLuF}_4:\text{Yb}, \text{Er}@\text{NaLuF}_4@\text{C}$), 用于实时监测本征温度并评估 PTT 的治疗效果(图 9)。这项研究实现了高空间分辨率的光热消融肿瘤, 降低了体内正常组织的热损伤。此外, 基于单束红外光激发的光热治疗、温度传感策略是肿瘤诊断和治疗方面的重要研究方向。本课题组^[80]用 980 nm 单激发光同时实现了 PTT 治疗和实时温度传感, 降低了仪器结构和实际操作的复杂性, 为临床应用提供更方便的条件。本课题组选择柠檬酸盐稳定的 $\text{CuS}(\text{cit-CuS})$ 作为 PTT 剂, 通过这种策略可以实现治疗效果的最大化, 并通过原位监测温度避免对正常组织造成不必要的损害。目前, 继细胞实验后, 本课题组根据温度曲线将双模式疗法进一步扩展到动物实验中。

4.3 无机离子的识别

尽管生物体系中无机离子的浓度不是很高, 但它们在新陈代谢等生理活动中起着关键作用。因此, 有效地监控离子浓度非常必要。

1) Ag^+ 传感器

在摄影成像和电气工业中, 每年有数千吨 Ag^+

作为工业废物被释放到环境中, 这势必造成严重的环境污染。因此, 对于 Ag^+ 浓度的监测非常重要。2017 年, Yao 课题组^[81]研制出一种新的基于 UCNP 的 Ag^+ 传感器。他们发现: 当在水溶液中混合 Ag^+ 、UCNP 探针和邻苯二胺(OPD)时, Ag^+ 可以氧化 OPD 形成 oxOPD, 有效地淬灭 UCNP 的发射(图 10)。 Ag^+ 可以在 $0\sim 0.5\times 10^{-3}$ mol/L 的范围内被定量检测, 检测下限为 3.3×10^{-8} mol/L。Zhu 课题组^[82]制备的 Ag^+ 传感器的检测下限为 60 pmol/L。他们用氨基标记的单链 DNA 对 UCNP 进行功能化, 从而捕获 Ag^+ ; 同时, 使用石墨烯量子点(GQDs)作为能量受体。由于二者间的强相互作用, 探针的原始上转换发光(UCL)被石墨烯量子点猝灭, 根据荧光信号的变化实现离子检测。

2) Ca^{2+} 传感器

Ca^{2+} 是人类预防骨质疏松症, 维持正常血压水平, 保证神经系统健康以及强壮骨骼和牙齿所需的重要无机离子。它在体内的不足可能导致许多疾病。因此, 如何有效地、选择性地监测其在生物体中的水平是非常必要和紧迫的。Liu 课题组^[83]设计了一种高效的上转换纳米探针用于 Ca^{2+} 的检测和生物成像。该探针具有夹层结构, 在核-内壳-外壳结构的表面上修饰能量受体(图 11)。该工作中发射离子位于内壳, 为了进一步缩短能量供体和受体之间的距离, 探针表面的油酸被去除。实验中, 加入 Ca^{2+} 后受体猝灭, 稀土离子发光中心的发光性能逐渐恢复, 检测下限可达 15×10^{-12} mol/L。这种策略具有一定的普适性。

3) Fe^{3+} 传感器

Fe^{3+} 是人体中最丰富的痕量金属离子, 与许多生理过程密切相关。Shi 课题组^[84]报道了一种新的 Gd^{3+} 掺杂的 UCNP 探针, 用于检测活细胞中的 Fe^{3+} 。他们将新的尼罗红衍生物修饰到连有 PEG 的 UCNP 的表面上, 加入 Fe^{3+} 后, UCNP 的上转换荧光被染料- Fe^{3+} 络合物猝灭。并且, UCNP 中的 Gd^{3+} 使得探针的 T1 信号有效增强, 使其具有磁共振成像(MRI)造影剂的功能。

在水和土壤污染样本中, 用带有 N, N-二乙基对苯二胺(EPA)作为受体的 UCNP 纳米探针可检测铁离子(Fe^{3+})。在该研究中使用的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Gd}, \text{Ho}$ 在 980 nm 激发光作用下, 发射峰位于 546, 657, 758, 812 nm。加入 Fe^{3+} 后, EPA 被氧化, 生成具有 552 nm 紫外吸收峰的 EPA 氧化物。经过等

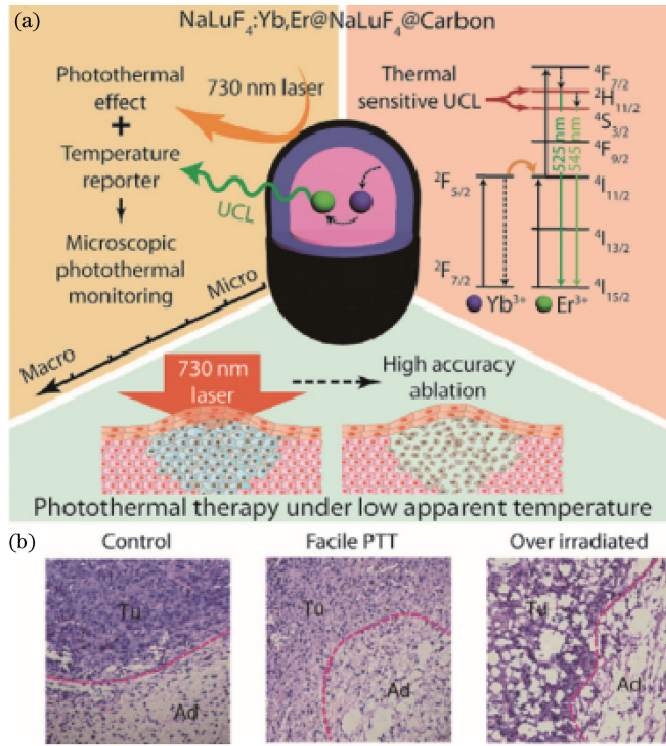


图 9 上转换材料应用于光热治疗示意图^[79]。(a) NaLuF₄:Yb,Er@NaLuF₄@C 在易感温度下的精确光热治疗示意图；(b) 正常脂肪组织中肿瘤(Tu)和脂肪细胞(Ad)边界的苏木精和曙红(H&E)组织切片。光热处理(中)后,肿瘤区域变得松散脆弱,而正常脂肪组织中的脂肪细胞完整,损伤最小。然而,730 nm 激光的高功率照射(0.8 W·cm⁻²)使 Tu 和 Ad 都遭受了极大的伤害(右)

Fig. 9 Schematic illustration of upconversion materials used in photothermal therapy^[79]. (a) Schematic illustrations of NaLuF₄:Yb,Er@NaLuF₄@C for accurate PTT at facile temperature; (b) hematoxylin and eosin (H&E) histologic section of the border of tumor (Tu) and the adipocytes (Ad) in normal fat tissue. After photothermal treatment (middle), the tumor region became loose and fragile, while the adipocytes in normal fat tissue are intact with minimal damage. However, both Tu and Ad suffered extreme damage (right), followed by high-power irradiation with the 730-nm laser (0.8 W·cm⁻²)

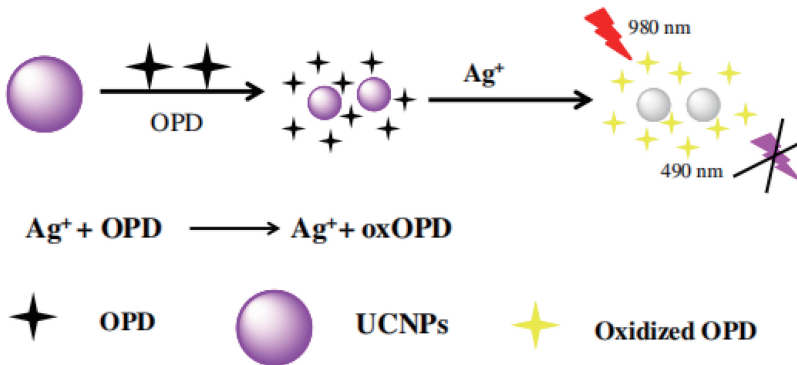


图 10 Ag⁺ 检测示意图^[81]

Fig. 10 Schematic illustration for detection of Ag⁺^[81]

电聚焦电泳(IFE),UCNP 在 546 nm 处的发射峰值降低,而其他峰值保持不变(图 12)。在此基础上,当检测限(LOD)为 0.25 μmol/L 时,通过比例测量 546 nm 和 758 nm 峰的荧光,可定量检测 Fe³⁺ 的离

子浓度^[85]。

4) Zn²⁺ 传感器

开发有效的 Zn²⁺ 检测系统是非常重要的。Chang 课题组^[86] 报道了一种 Zn²⁺ 检测方案,他们

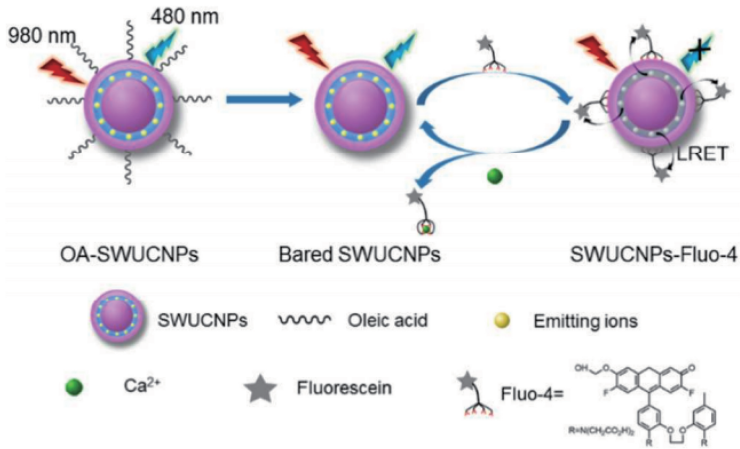


图 11 Ca^{2+} 检测示意图^[83]

Fig. 11 Schematic illustration for detection of Ca^{2+} ^[83]

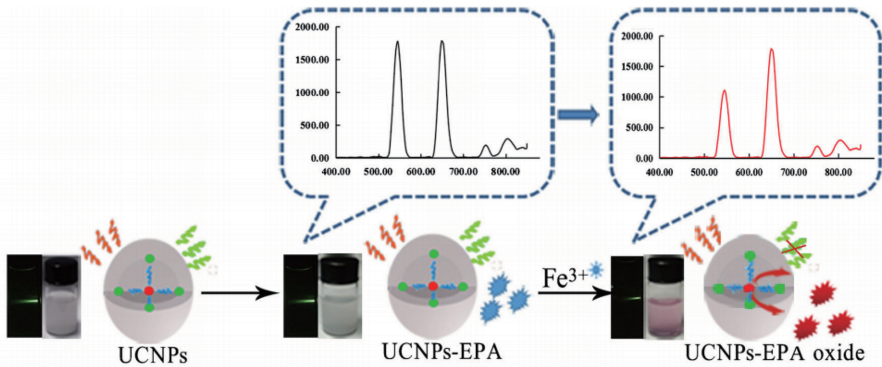


图 12 基于等电聚焦电泳,用带有 N,N-二乙基对苯二胺(EPA)受体的 UCNP 纳米探针定量检测废水样品中的 Fe^{3+} ^[85]

Fig. 12 IFE-based detection of Fe^{3+} in wastewater samples by UCNP with N, N-diethyl-p-phenylenediamine (EPA) acceptor^[85]

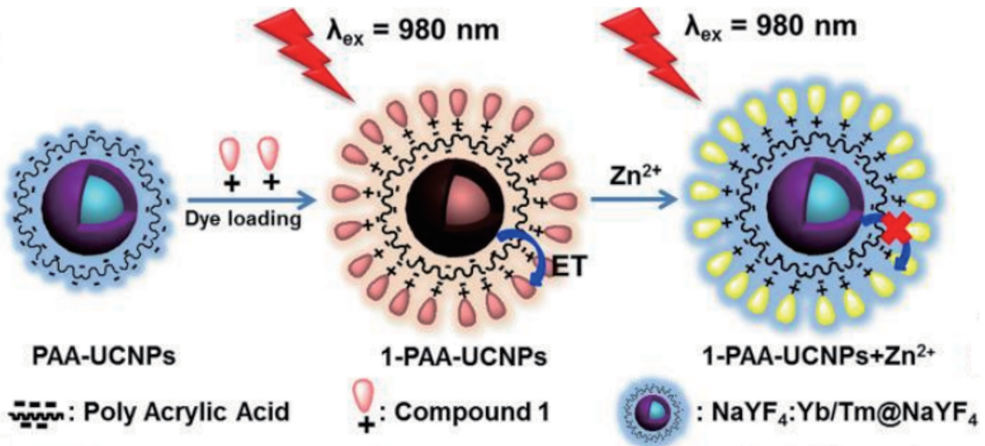


图 13 Zn^{2+} 检测示意图^[86]

Fig. 13 Schematic illustration for detection of Zn^{2+} ^[86]

发现 UCL 在通过 UCNP 表面的染料时被淬灭,并且在添加 Zn^{2+} 后恢复(图 13)。该纳米系统被应用于患有斑马鱼阿尔茨海默病的小鼠脑切片中。

5) Cu^{2+} 传感器

Cu^{2+} 是人体中第三种丰富的痕量金属离子,已

有多种关于 Cu^{2+} 检测的研究报道。Cai 课题组^[87]通过将染料组装到 SiO_2 包覆层,并进一步结合上转换纳米棒,构建出一种新型的 Cu^{2+} 探针,他们发现 Cu^{2+} 可以与染料结合并淬灭上转换发光。Shi 课题组^[88]采用类似的策略在活细胞中检测 Cu^{2+} 。Bu

课题组^[89]在阿尔茨海默病小鼠中应用相同的办法实现了 Cu^{2+} 检测,他们发现 β -淀粉样蛋白($\text{A}\beta$)的聚集与阿尔茨海默病高度相关,而 Cu^{2+} 可能会强烈促进这种聚合。此外,他们还发现 UCNP 表面的螯合剂可以从复合物中捕获 Cu^{2+} (图 14)。因此,该探针不仅可用于 Cu^{2+} 和 $\text{A}\beta$ 的检测及成像,还可用

于抑制 Cu^{2+} 诱导的聚集。Xian 课题组^[90]开发出一种更复杂的系统,用于顺序检测 Cu^{2+} 、焦磷酸(PPi)和碱性磷酸酶(ALP),由于 UCNP 表面上 Cu^{2+} 和聚乙烯亚胺之间的配位,上转换荧光被猝灭。而如果添加更强的螯合剂 PPi ,则 Cu^{2+} 将从 UCNP 中释放,荧光发射得到恢复。

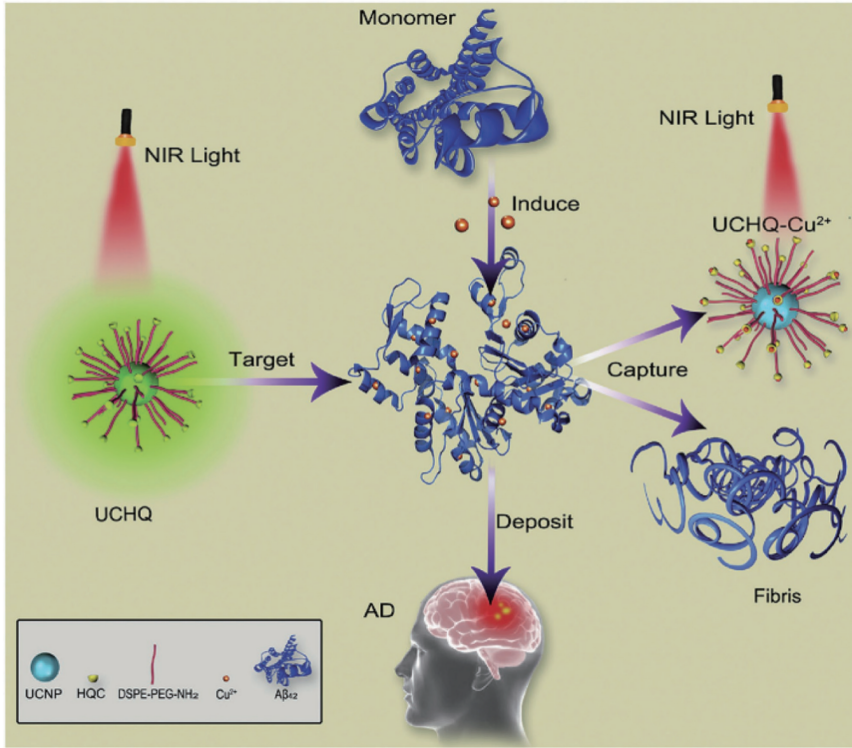


图 14 检测阿尔茨海默病小鼠模型中 Cu^{2+} 的示意图^[89]

Fig. 14 Schematic illustration for detection of Cu^{2+} in mice model with Alzheimer's disease^[89]

4.4 气体分子的检测

对 O_2 、 CO_2 和 NH_3 分子的检测研究进展非常快,因为这种检测在生物分析化学、临床医学诊断和生物监测中发挥着重要作用^[3]。Wolfbeis 课题组^[91]首先报道了使用基于 UCNP 的铽络合物探针来检测 O_2 的含量。Zhao 课题组^[92]研究出一种含有磷光铽络合物的纳米探针,可以同步利用下转换和上转换荧光来监测 O_2 浓度[图 15(a)、(b)]。在该体系中,他们还引入了时间分辨成像技术,这在 O_2 分布不均匀的组织中进行 O_2 的分子浓度检测中具有重要意义。

Shi 课题组^[93]对基于 UCNP 的氧气探针进行了深入研究,实现了体外和体内可逆检测氧水平的目标[图 15(c)、(d)]。在此体系中,使用钕络合物作为氧指示剂可以选择性地与氧气反应。Lannutti 课题组^[94]研制出一种具有核-壳纤维结构和以相同钕络合物作为能量受体的 O_2 探针。本课题组^[95]使

用铂络合物作为能量受体来构建 O_2 探针,该探针的外部利用硅烷作为修饰层,在超薄的疏水层中载有铂络合物,这种设计可以在超薄修饰层内设计多功能复合材料。作为信号分子之一,NO 在几个重要的生物过程中起着重要作用。Li 课题组^[96-97]报告了一种基于 UCNP 的 NO 探针,可用于检测生物液体、活细胞和组织中的 NO。探针由 UCNP 核、 $m\text{SiO}_2$ 壳和罗丹明 B 衍生物组成。当添加 NO 后,可改变发色团的吸收并猝灭 UCNP 的发射光。

活性氧(ROS)和活性氮(RNS)在许多生物过程中起重要作用。对生物样品中 ROS 和 RNS 的高灵敏、特异性检测在生物化学领域中有一定的研究价值。羟基自由基($\cdot\text{OH}$)是反应性最强的 ROS 之一,对生物大分子具有很强的破坏性。Zhang 研究小组^[98]报道了选择性检测羟基自由基的设计,该设计使用 $\text{NaYF}_4 @ \text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Tm} @ \text{NaYF}_4$ 纳米粒子作为能量供体、偶氮染料(mOG)作为能量受体

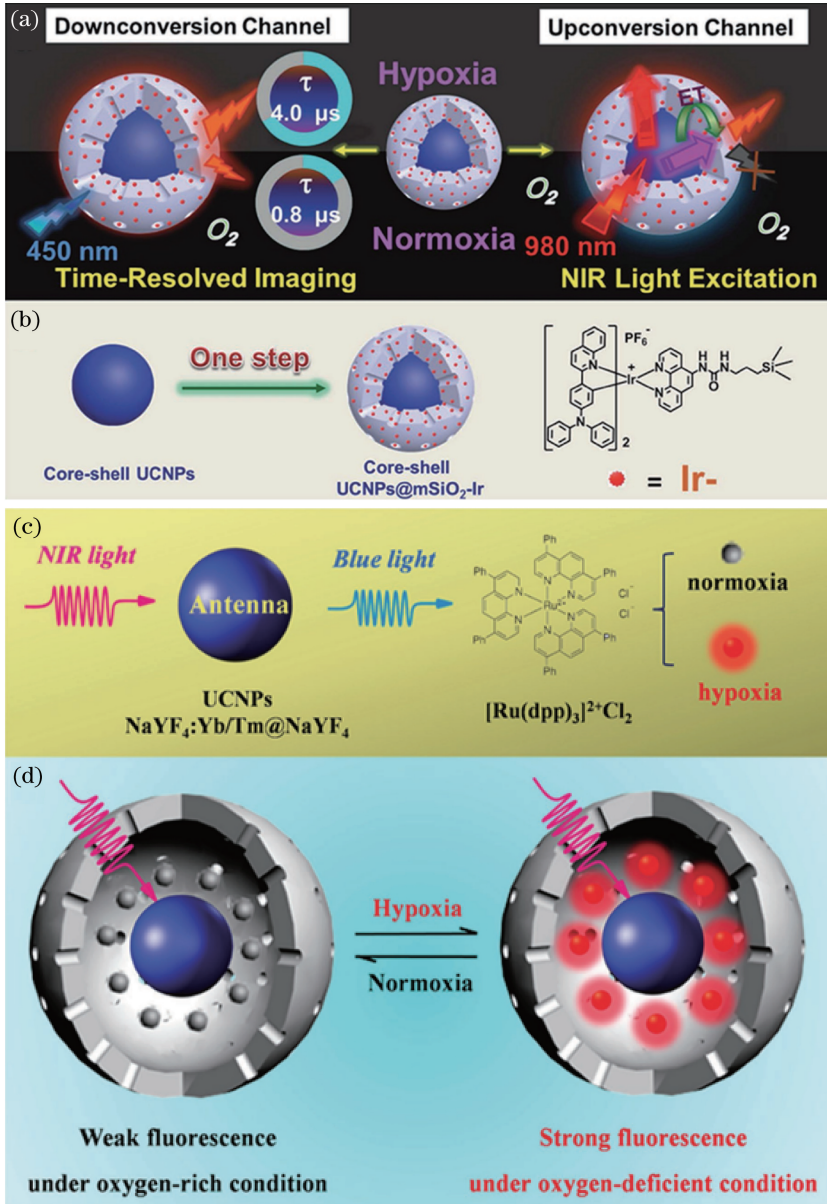


图 15 O₂ 浓度监测示意图。(a)(b)用磷光铱络合物修饰的纳米探针,引入时间分辨成像技术,同步利用下转换及上转换荧光监测 O₂ 浓度示意图^[92];(c)(d)使用钌络合物作为氧指示剂,可逆地监测 O₂ 浓度的示意图^[93]

Fig. 15 O₂ concentration monitoring diagram. (a) (b) Schematic illustrations of oxygen-sensitive mechanism with downconversion channel and upconversion channel and synthesis of core-shell UCNP @ mSiO₂-Ir^[92]; (c)(d) reversible monitoring of O₂ concentration using a ruthenium complex as an oxygen indicator^[93]

和 ·OH 识别探针,当 mOG 与 ·OH 反应时被氧化和分解,导致光吸收改变(图 16),纳米探针的上转换发光发生改变而实现高灵敏度检测,检测下限为 1.2 fmol/L。此外,过氧化氢(H₂O₂)也是生物体中重要的 ROS 之一,在各种生理过程的调节中起着关键作用。Zhang 的研究团队^[99]报道了一种用花青染料修饰的 NaYF₄@Yb,Er,Tm 纳米探针,用于选择性检测 H₂O₂,检测限为 0.081 mol/L。该纳米探针在检测活细胞和动物体内产生的内源性 H₂O₂ 具有比率上转换发光成像作用,具有较高的潜在应用价值。

Peng 课题组^[100]研制出一种新型“开启”上转换纳米探针,用于在体外和体内快速检测 ONOO⁻(图 17)。该探针将 PEI 和花青(Cy7)包覆的多层 NaYF₄:Yb,Tm@NaYF₄ 纳米颗粒作为能量供体,以 RNS 响应的近红外吸收发色团 Cy7 作为能量受体。在 RNS 存在的情况下,Cy7 发色团被分裂成两部分,无法吸收 UCNP 在 800 nm 处的发射光,从而抑制 LRET 过程。该体系的检测下限达到 0.081 mol/L(信噪比为 3 dB),体外分析响应时间小于 1 s。此外,由于过量的对乙酰氨基酚(APAP)可以诱导 RNS 的产生,因此该纳米

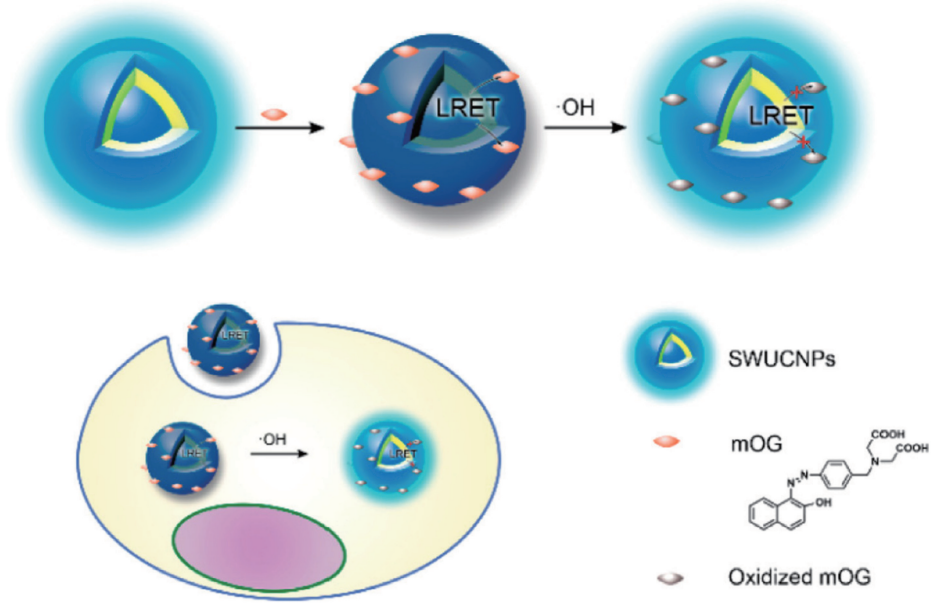


图 16 上转换纳米探针检测羟基自由基的原理^[98]

Fig. 16 Principle of upconversion nanoprobe for the detection of hydroxyl radical^[98]

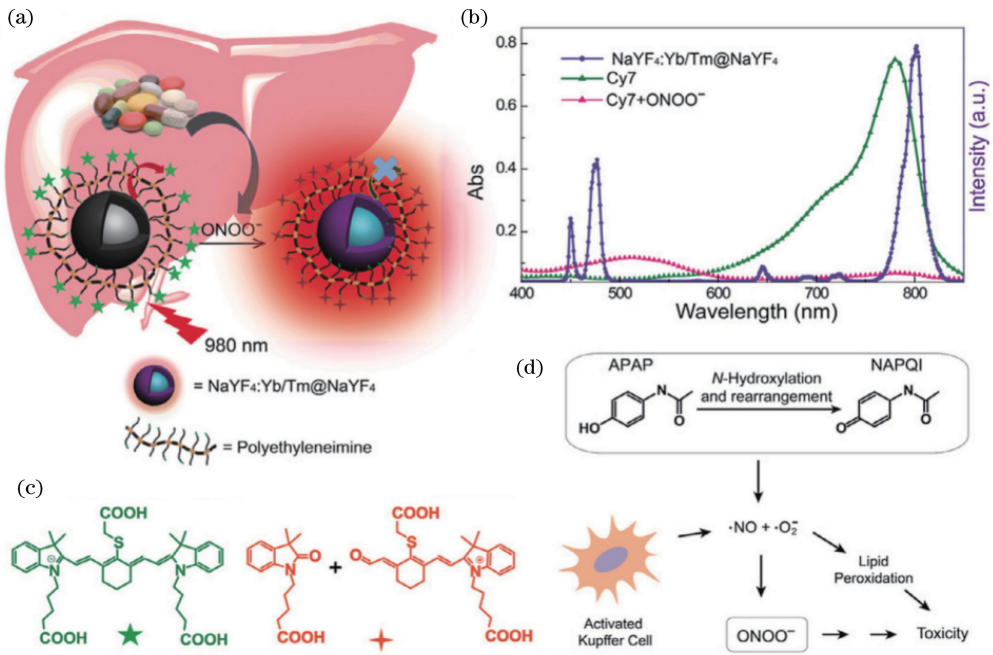


图 17 基于上转换荧光的 ONNO-检测机理^[100]。(a) 发色团组装的 UCNP 体内检测亚硝酸胺肝毒性的设计；(b) 在 ONOO⁻ 存在与不存在的情况下发色团的 UV/Vis 光谱以及 UCNP 的上转换发射光谱；(c) 能量受体 Cy7 (用绿色星标记) 在被 ONOO⁻ 或 ClO⁻ 氧化后降解后, 发光被开启；(d) APAP 诱导的肝毒性的反应机制

Fig. 17 ONNO-detection mechanism based on upconversion fluorescence^[100]. (a) The design of chromophore-assembled UCNP for nitrosative hepatotoxicity *in vivo* detection; (b) UV/Vis spectra of chromophore measured with and without the presence of ONOO⁻ and the upconversion emission spectrum of UCNP; (c) proposed reaction turn-on luminescence by which the energy acceptor Cy7 (marked with green star) degrades after oxidation by ONOO⁻ or ClO⁻; (d) reaction mechanism of APAP-induced hepatotoxicity

探针能够在具有 APAP 诱导的肝毒性活体动物模型中检测体内的 RNS 物质。

4.5 检测 pH 值

Vinogradov 课题组^[101]将 NaYF₄:Yb,Er 纳米

颗粒与卟啉衍生物(P-Glu₄)结合设计了比率型 pH 纳米探针。通过检测红/绿上转换分支比的变化值成功监测 pH 值的变化。2017 年, Schäferling 研究小组^[102]用 PEI 包覆的 NaYF₄:Yb,Er 纳米颗粒和 pH 敏感染料,研制出一种基于 LRET 的比率型 pH 纳米探针,用于研究不同细胞内 pH 值的变化。通过测量来自约 590 nm 的红色罗丹明染料的 pH 依赖性荧光和作为参考信号的 550 nm 的上转换绿色发射光来实现比率 pH 测定。支链 PEI 包覆层为传感器提供了良好的胶体稳定性。

4.6 免疫测定

免疫测定具有高度敏感性和特异性。基于 LRET 的免疫测定通常涉及能量受体的使用,例如有机染料或 Au 纳米颗粒。Kuningas 等^[103]使用 17β-雌二醇特异性重组抗体 Fab 片段包覆的 La₂O₃:Yb,Er 作为能量供体,17β-雌二醇结合的

Oyster-556 染料作为能量受体检测血清中的 17β-雌二醇,在缓冲液和血清中检出的极限值分别为 0.4 nmol/L 和 0.9 nmol/L。Wang 等^[104]利用 Au 纳米粒子作为能量受体制作了一种基于 LRET 的上转换免疫分析仪器,用于检测山羊抗人免疫球蛋白 G(IgG),其检测下限低至 0.88 μg/mL。在 Jiang 等^[105]构建的 LRET 方案中,将 PAA 包覆的 NaYF₄:Yb,Er 纳米颗粒作为能量供体,碳纳米颗粒作为能量受体用于检测免疫球蛋白 E(IgE)。该传感器可在 0.5~80 ng/mL 范围内检测缓冲溶液和人血清中 IgE 的质量浓度。2016 年, Kim 的研究小组^[106]报道了一种基于 LRET 的均相免疫传感器,通过 NaYF₄:Yb,Er 纳米颗粒(供体)发光信号的淬灭来检测糖化血红蛋白(HbA1c,受体)的平均水平。这种方法不需要猝灭剂(即量子点、染料和金纳米颗粒)就可以成功实现对真实血液样品的检测(图 18)。

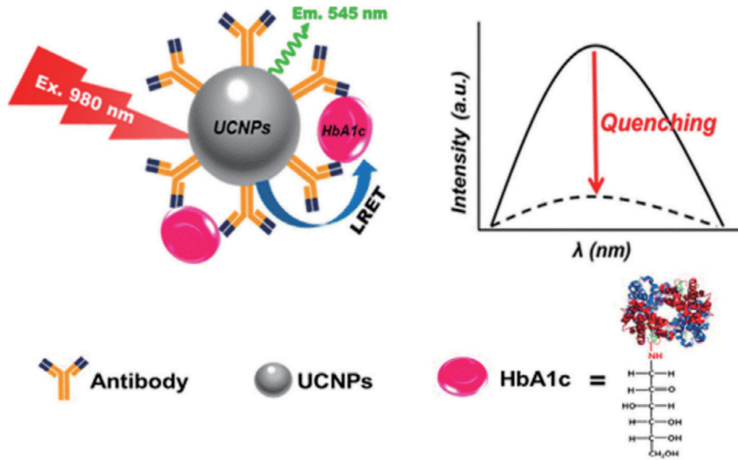


图 18 基于 LRET 的上转换免疫传感器示意图^[106]

Fig. 18 Schematic illustration of LRET-based upconversion immunosensor^[106]

4.7 检测 DNA/RNA

许多学者已对关于 UCNP 的 DNA 传感器进行研究。例如, Li 课题组^[31]设计了用于检测 DNA 的上转换纳米探针,以捕获与 DNA 偶联的能量供体 NaYF₄:Yb,Er 纳米颗粒和 DNA 标记的能量受体 N,N,N',N'-四甲基-6-羧基罗丹明(TAMRA)荧光团。该方法的检测下限达到了 nmol L⁻¹ 的水平。Krull 课题组^[107]设计的上转换传感器使用探针分子寡核苷酸修饰 NaYF₄:Yb,Tm@NaYF₄ 纳米颗粒作为能量供体,结合寡核苷酸的 QD 作为能量受体。靶向寡核苷酸用于连接探针寡核苷酸和检测寡核苷酸,调节供体-受体的距离。这种基于 LRET 的核酸杂交分析显示,在 90% 血清样品中测定 HPRT1 靶标具有良好的性能,检测限值为 24 fmol。

Wang 课题组^[108]设计了 NaYbF₄:Nd@NaGdF₄:Yb/Er@NaGdF₄ 核-壳-壳纳米结构,在 808 nm 激发光的作用下,在远红外(660 nm)光谱区域显示出主要的发射。他们采用夹心型杂交形式,将 Cy5 作为能量供体检测 DNA,实现了 5.4 nmol/L 的检测下限。由于生物样品中水和血红蛋白使激发光和发射光的吸收达到最小化,探针可以在组织包裹的情况下灵敏地检测癌细胞。2016 年, Kuang 课题组^[109]报道了采用由金和上转换纳米粒子自组装的手性等离子纳米锥体在活细胞中进行 microRNA 超敏感定量的双模策略。如果存在 microRNA,它将与 DNA 框架每侧的识别序列互补,导致 DNA 框架完全解离。随后,金字塔中的 Au NPs 和 UCNP 彼此分离,UCNP 的上转换发光

性能恢复。该纳米探针的良好性能将有助于开发用于生物应用的先进手性纳米材料。Zhao 等^[110]设计了一个 DNA 合成纳米设备,它可以以上转换发光激活的方式检测活细胞中的腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)。纳米器件由可以被紫外光激活的适配体探针和掺杂 Tm 元素的上转换纳米颗粒组成,如图 19(a)所示,证明了 UCNP 不仅能够使配体探针有效地

递送到活细胞中,而且还可以在体外和体内情况下通过 NIR 光照射对 ATP 的荧光传感活性进行调控。他们选择代谢中心不可缺少的 ATP 分子^[111]作为靶标生物分子[图 19(b)],证明了该设计的可行性。随着体外选择的各种适配体的可用性,利用 DNA 纳米平台,在 NIR 触发下可以实现对各种靶标生物分子的感应以及对生命系统中生物功能的调节。

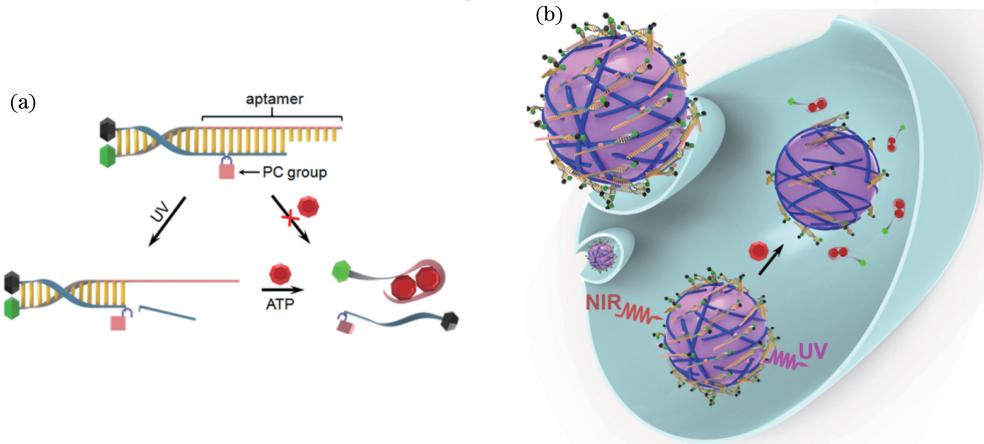


图 19 基于核酸适配体的上转换荧光检测示意图。(a)探针在紫外激活 ATP 的敏化机制^[110];(b)基于适配体的子探针与上转换纳米材料设计的 DNA 纳米器件,用于 NIR 激活的细胞内 ATP 传感^[111]

Fig. 19 Schematic illustration of aptamer-based upconversion fluorescence detection. (a) UV light-activatable ATP sensing mechanism of the aptamer-based probe^[110]; (b) design of DNA nanodevices based on the integration of the aptamer probe with upconversion nanotransducer for NIR-activated intracellular ATP sensing^[111]

5 结 语

本文对稀土上转换纳米材料发光机理、表面改性以及在生物检测方面的应用进行了简单的分析介绍。UCNP 具有优异的光学性能,适用于多种生物检测应用;而通过表面改性,可提高 UCNP 生物应用范围,使其更好地满足生物应用需求。就目前来看,稀土上转换纳米材料在生物检测领域,诸如离子、小气体分子、蛋白、核酸等方面已经取得了一定进展,有良好的应用前景,但同时也面临诸多挑战:UCNP 探针灵敏度尚不能满足临床医学诊断要求,利用离子掺杂、核壳结构设计以及物理效应来提升上转换发光强度是实现进一步应用的关键;此外,具有协同诊断和治疗作用的多模式纳米探针系统是上转换纳米材料研究的主要方向,而多功能设计的合理性和生物稳定性仍然是此类研究中面临的巨大挑战,相信随着生物技术的不断革新,这些挑战将会被逐一克服。

参 考 文 献

[1] Aubin J E. Autofluorescence of viable cultured

mammalian cells[J]. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 1979, 27(1): 36-43.

[2] Yang Y L, Ye Y M, Li F M, et al. Characteristic autofluorescence for cancer diagnosis and its origin [J]. Lasers in Surgery and Medicine, 1987, 7(6): 528-532.

[3] Chen G Y, Qiu H L, Prasad P N, et al. Upconversion nanoparticles: design, nanochemistry, and applications in theranostics[J]. Chemical Reviews, 2014, 114(10): 5161-5214.

[4] Xue Y X, Rong Y Y, Ma Q, et al. Surface-plasmon resonance-enhanced upconversion luminescence of single nanocrystal based on single gold nanorod[J]. Acta Optica Sinica, 2017, 37(7): 0724002.

薛映仙, 戎有英, 马强, 等. 基于单个金纳米棒的表面等离子体共振增强单个纳米晶上转换发光[J]. 光学学报, 2017, 37(7): 0724002.

[5] Shin K, Jung T, Lee E, et al. Distinct mechanisms for the upconversion of NaYF₄: Yb³⁺, Er³⁺ nanoparticles revealed by stimulated emission depletion[J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2017, 19(15): 9739-9744.

[6] Tan G R, Wang M H, Hsu C Y, et al. Small upconverting fluorescent nanoparticles for biosensing

- and bioimaging [J]. *Advanced Optical Materials*, 2016, 4(7): 984-997.
- [7] van Veggel F C J M, Dong C H, Johnson N J J, et al. Ln³⁺-doped nanoparticles for upconversion and magnetic resonance imaging: some critical notes on recent progress and some aspects to be considered [J]. *Nanoscale*, 2012, 4(23): 7309-7321.
- [8] Wang P Y, Li X M, Yao C, et al. Orthogonal near-infrared upconversion co-regulated site-specific O₂ delivery and photodynamic therapy for hypoxia tumor by using red blood cell microcarriers [J]. *Biomaterials*, 2017, 125: 90-100.
- [9] Wang Y, Deng R R, Xie X J, et al. Nonlinear spectral and lifetime management in upconversion nanoparticles by controlling energy distribution [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(12): 6666-6673.
- [10] Wu S J, Duan N, Zhu C Q, et al. Magnetic nanobead-based immunoassay for the simultaneous detection of aflatoxin B1 and ochratoxin A using upconversion nanoparticles as multicolor labels [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, 30(1): 35-42.
- [11] Xie X J. Renovating the chromoionophores and detection modes in carrier-based ion-selective optical sensors [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2016, 408(11): 2717-2725.
- [12] Zhao Y M, Liu C C, Wang J, et al. Research progress on photodynamic antimicrobial chemotherapy based on rare earth upconversion nanoplatfrom [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(2): 0207013.
赵一铭, 刘成程, 王晶, 等. 基于稀土上转换发光纳米平台的光动力抗菌疗法的研究进展 [J]. *中国激光*, 2018, 45(2): 0207013.
- [13] Joshi C, Rai S B. Structural, thermal, and optical properties of Pr³⁺/Yb³⁺ co-doped oxyhalide tellurite glasses and its nano-crystalline parts [J]. *Solid State Sciences*, 2012, 14(8): 997-1003.
- [14] Ming C G, Song F, Yan L H. Spectroscopic study and green upconversion of Pr³⁺/Yb³⁺-codoped NaY(WO₄)₂ crystal [J]. *Optics Communications*, 2013, 286: 217-220.
- [15] Dey R, Rai V K, Pandey A. Green upconversion emission in Nd³⁺-Yb³⁺-Zn²⁺: Y₂O₃ phosphor [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2012, 99: 288-291.
- [16] Ramakrishna P V, Pammi S V N, Samatha K. UV-visible upconversion studies of Nd³⁺ ions in lead tellurite glass [J]. *Solid State Communications*, 2013, 155: 21-24.
- [17] Wang F, Deng R R, Wang J, et al. Tuning upconversion through energy migration in core-shell nanoparticles [J]. *Nature Materials*, 2011, 10(12): 968-973.
- [18] Su Q Q, Han S Y, Xie X J, et al. The effect of surface coating on energy migration-mediated upconversion [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(51): 20849-20857.
- [19] Gu Y X, Chen D R, Jiao X L, et al. LiCoO₂-MgO coaxial fibers: co-electrospun fabrication, characterization and electrochemical properties [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2007, 17(18): 1769-1776.
- [20] Ehlert O, Thomann R, Darbandi M, et al. A four-color colloidal multiplexing nanoparticle system [J]. *ACS Nano*, 2008, 2(1): 120-124.
- [21] Heer S, Lehmann O, Haase M, et al. Blue, green, and red upconversion emission from lanthanide-doped LuPO₄ and YbPO₄ nanocrystals in a transparent colloidal solution [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2003, 42(27): 3179-3182.
- [22] Yi G, Chow G. Synthesis of hexagonal-phase NaYF₄: Yb, Er and NaYF₄: Yb, Tm nanocrystals with efficient up-conversion fluorescence [J]. *Advanced Functional Materials*, 2006, 16(18): 2324-2329.
- [23] Zhang X, Yang P P, Li C X, et al. Facile and mass production synthesis of β-NaYF₄: Yb³⁺, Er³⁺/Tm³⁺ 1D microstructures with multicolor up-conversion luminescence [J]. *Chemical Communications*, 2011, 47(44): 12143.
- [24] Jayakumar M K G, Idris N M, Zhang Y. Remote activation of biomolecules in deep tissues using near-infrared-to-UV upconversion nanotransducers [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(22): 8483-8488.
- [25] Wang F, Liu X G. Recent advances in the chemistry of lanthanide-doped upconversion nanocrystals [J]. *Chemical Society Reviews*, 2009, 38(4): 976-989.
- [26] Zhang C M, an Ma P, Li C X, et al. Controllable and white upconversion luminescence in BaYF₅: Ln³⁺ (Ln=Yb, Er, Tm) nanocrystals [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21(3): 717-723.
- [27] Qiu H L, Chen G Y, Sun L, et al. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)-controlled synthesis of multicolor lanthanide doped BaYF₅ upconversion nanocrystals [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21(43): 17202-17208.
- [28] Heer S, Kömpe K, Güdel H U, et al. Highly efficient multicolour upconversion emission in transparent colloids of lanthanide-doped NaYF₄

- nanocrystals[J]. *Advanced Materials*, 2004, 16(23/24): 2102-2105.
- [29] Erathodiyil N, Ying J Y. Functionalization of inorganic nanoparticles for bioimaging applications [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2011, 44(10): 925-935.
- [30] Hu H, Yu M X, Li F Y, et al. Facile epoxidation strategy for producing amphiphilic up-converting rare-earth nanophosphors as biological labels [J]. *Chemistry of Materials*, 2008, 20(22): 7003-7009.
- [31] Chen Z G, Chen H L, Hu H, et al. Versatile synthesis strategy for carboxylic acid-functionalized upconverting nanophosphors as biological labels[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(10): 3023-3029.
- [32] Zhou H P, Xu C H, Sun W, et al. Clean and flexible modification strategy for carboxyl/aldehyde-functionalized upconversion nanoparticles and their optical applications [J]. *Advanced Functional Materials*, 2009, 19(24): 3892-3900.
- [33] Dai Y L, Yang D M, Ma P A, et al. Doxorubicin conjugated $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+} / \text{Tm}^{3+}$ nanoparticles for therapy and sensing of drug delivery by luminescence resonance energy transfer [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(33): 8704-8713.
- [34] Ren W L, Tian G, Jian S, et al. TWEEN coated $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}$, $\text{Er} / \text{NaYF}_4$ core/shell upconversion nanoparticles for bioimaging and drug delivery[J]. *RSC Advances*, 2012, 2(18): 7037-7041.
- [35] Pellegrino T, Manna L, Kudera S, et al. Hydrophobic nanocrystals coated with an amphiphilic polymer shell: a general route to water soluble nanocrystals[J]. *Nano Letters*, 2004, 4(4): 703-707.
- [36] Wang C, Tao H Q, Cheng L, et al. Near-infrared light induced *in vivo* photodynamic therapy of cancer based on upconversion nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(26): 6145-6154.
- [37] Li X H, Wu Y Q, Liu Y, et al. Cyclometallated ruthenium complex-modified upconversion nanophosphors for selective detection of Hg^{2+} ions in water[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(2): 1020-1028.
- [38] Jiang G C, Pichaandi J, Johnson N J J, et al. An effective polymer cross-linking strategy to obtain stable dispersions of upconverting NaYF_4 nanoparticles in buffers and biological growth media for biolabeling applications[J]. *Langmuir*, 2012, 28(6): 3239-3247.
- [39] Chen B T, Dong B, Wang J, et al. Amphiphilic silane modified $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}$, Er loaded with $\text{Eu}(\text{TTA})_3(\text{TPPO})_2$ nanoparticles and their multi-functions: dual mode temperature sensing and cell imaging[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(18): 8541-8549.
- [40] Yi G S, Chow G M. Water-soluble $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}$, $\text{Er}(\text{Tm}) / \text{NaYF}_4 / \text{polymer}$ core/shell/shell nanoparticles with significant enhancement of upconversion fluorescence [J]. *Chemistry of Materials*, 2007, 19(3): 341-343.
- [41] Cheng L, Yang K, Zhang S, et al. Highly-sensitive multiplexed *in vivo* imaging using pegylated upconversion nanoparticles [J]. *Nano Research*, 2010, 3(10): 722-732.
- [42] Cui S S, Chen H Y, Zhu H Y, et al. Amphiphilic chitosan modified upconversion nanoparticles for *in vivo* photodynamic therapy induced by near-infrared light[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(11): 4861-4873.
- [43] Budijono S J, Shan J N, Yao N, et al. Synthesis of stable block-copolymer-protected $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+}$, Er^{3+} up-converting phosphor nanoparticles [J]. *Chemistry of Materials*, 2010, 22(2): 311-318.
- [44] Park Y I, Kim J H, Lee K T, et al. Nonblinking and nonbleaching upconverting nanoparticles as an optical imaging nanoprobe and T1 magnetic resonance imaging contrast agent [J]. *Advanced Materials*, 2009, 21(44): 4467-4471.
- [45] Nam S H, Bae Y M, Park Y I, et al. Long-term real-time tracking of lanthanide ion doped upconverting nanoparticles in living cells [J]. *Angewandte Chemie*, 2011, 123(27): 6217-6221.
- [46] Li L L, Zhang R B, Yin L L, et al. Biomimetic surface engineering of lanthanide-doped upconversion nanoparticles as versatile bioprobes [J]. *Angewandte Chemie*, 2012, 124(25): 6225-6229.
- [47] Liang S, Zhang X, Wu Z N, et al. Decoration of up-converting $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}$, $\text{Er}(\text{Tm})$ nanoparticles with surfactant bilayer. A versatile strategy to perform oil-to-water phase transfer and subsequently surface silication [J]. *CrystEngComm*, 2012, 14(10): 3484-3489.
- [48] Jalil R A, Zhang Y. Biocompatibility of silica coated NaYF_4 upconversion fluorescent nanocrystals [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(30): 4122-4128.
- [49] Hu H, Xiong L Q, Zhou J, et al. Multimodal-luminescence core-shell nanocomposites for targeted imaging of tumor cells[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2009, 15(14): 3577-3584.
- [50] Liu B, Li C X, Yang D M, et al. Upconversion-luminescent core/mesoporous-silica-shell-structured $\beta\text{-NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+}$, $\text{Er}^{3+} @ \text{SiO}_2 @ \text{mSiO}_2$ composite nanospheres: fabrication and drug-storage/release

- properties [J]. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2014, 2014(11): 1906-1913.
- [51] Liang L L, Liu Y M, Zhao X Z. Double-shell β - $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}/\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ submicroplates as a scattering and upconverting layer for efficient dye-sensitized solar cells[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(38): 3958-3960.
- [52] Zhang Y W, Hong Z L. Synthesis of lanthanide-doped $\text{NaYF}_4 @ \text{TiO}_2$ core-shell composites with highly crystalline and tunable TiO_2 shells under mild conditions and their upconversion-based photocatalysis[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(19): 8930-8933.
- [53] Sudheendra L, Ortalan V, Dey S, et al. Plasmonic enhanced emissions from cubic $\text{NaYF}_4:\text{Yb}:\text{Er}/\text{Tm}$ nanophosphors[J]. *Chemistry of Materials*, 2011, 23(11): 2987-2993.
- [54] Zhang H, Li Y J, Ivanov I, et al. Plasmonic modulation of the upconversion fluorescence in $\text{NaYF}_4:\text{Yb}/\text{Tm}$ hexaplate nanocrystals using gold nanoparticles or nanoshells[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2010, 49(16): 2865-2868.
- [55] Dong B, Xu S, Sun J, et al. Multifunctional $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+} @ \text{Ag}$ core/shell nanocomposites: integration of upconversion imaging and photothermal therapy [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21(17): 6193-6200.
- [56] Xia L, Kong X G, Liu X M, et al. An upconversion nanoparticle-zinc phthalocyanine based nanophotosensitizer for photodynamic therapy [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(13): 4146-4156.
- [57] Voliani V, González-Béjar M, Herranz-Pérez V, et al. Orthogonal functionalisation of upconverting NaYF_4 nanocrystals [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2013, 19(40): 13538-13546.
- [58] Bogdan N, Vetrone F, Ozin G A, et al. Synthesis of ligand-free colloidal stable water dispersible brightly luminescent lanthanide-doped upconverting nanoparticles[J]. *Nano Letters*, 2011, 11(2): 835-840.
- [59] Bogdan N, Rodríguez E M, Sanz-Rodríguez F, et al. Bio-functionalization of ligand-free upconverting lanthanide doped nanoparticles for bio-imaging and cell targeting [J]. *Nanoscale*, 2012, 4(12): 3647-3650.
- [60] Yang Y M, Zhao Q, Feng W, et al. Luminescent chemodosimeters for bioimaging [J]. *Chemical Reviews*, 2013, 113(1): 192-270.
- [61] Jaque D, Vetrone F. Luminescence nanothermometry [J]. *Nanoscale*, 2012, 4(15): 4301-4326.
- [62] Vetrone F, Naccache R, Zamarrón A, et al. Temperature sensing using fluorescent nanothermometers [J]. *ACS Nano*, 2010, 4(6): 3254-3258.
- [63] Okabe K, Inada N, Gota C, et al. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy [J]. *Nature Communications*, 2012, 3: 705.
- [64] Xiao Q B, Li Y F, Li F J, et al. Rational design of a thermal responsive-polymer-switchable FRET system for enhancing the temperature sensitivity of upconversion nanophosphors [J]. *Nanoscale*, 2014, 6(17): 10179-10186.
- [65] Sedlmeier A, Achatz D E, Fischer L H, et al. Photon upconverting nanoparticles for luminescent sensing of temperature [J]. *Nanoscale*, 2012, 4(22): 7090-7096.
- [66] Brites C D S, Xie X J, Debasu M L, et al. Instantaneous ballistic velocity of suspended Brownian nanocrystals measured by upconversion nanothermometry [J]. *Nature Nanotechnology*, 2016, 11(10): 851-856.
- [67] Rodríguez-Sevilla P, Zhang Y H, Haro-González P, et al. Thermal scanning at the cellular level by an optically trapped upconverting fluorescent particle [J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(12): 2421-2426.
- [68] Jiang G, Zhou S, Wei X, et al. 794 nm excited core-shell upconversion nanoparticles for optical temperature sensing [J]. *RSC Advances*, 2016, 6(14): 11795-11801.
- [69] Shi Z L, Duan Y, Zhu X J, et al. Dual functional $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+} @ \text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Nd}^{3+}$ core-shell nanoparticles for cell temperature sensing and imaging [J]. *Nanotechnology*, 2018, 29(9): 094001.
- [70] Liang G H, Xing D. Progress in organic nanomaterials for laser-induced photothermal therapy of tumor [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(2): 0207020.
梁国海, 邢达. 用于肿瘤光热治疗的有机纳米材料研究进展 [J]. *中国激光*, 2018, 45(2): 0207020.
- [71] Hu D H, Sheng Z H, Zhu M T, et al. Förster resonance energy transfer-based dual-modal theranostic nanoprobe for *in situ* visualization of cancer photothermal therapy [J]. *Theranostics*, 2018, 8(2): 410-422.
- [72] Bai T T, Gu N. Micro/nanoscale thermometry for cellular thermal sensing [J]. *Small*, 2016, 12(34): 4590-4610.

- [73] Zhou Z G, Sun Y N, Shen J C, et al. Iron/iron oxide core/shell nanoparticles for magnetic targeting MRI and near-infrared photothermal therapy [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(26): 7470-7478.
- [74] Hou Z Y, Deng K R, Li C X, et al. 808 nm Light-triggered and hyaluronic acid-targeted dual-photosensitizers nanoplatfrom by fully utilizing Nd³⁺-sensitized upconversion emission with enhanced anti-tumor efficacy [J]. *Biomaterials*, 2016, 101: 32-46.
- [75] Chen R, Ta V D, Xiao F, et al. Multicolor hybrid upconversion nanoparticles and their improved performance as luminescence temperature sensors due to energy transfer [J]. *Small*, 2013, 9(7): 1052-1057.
- [76] Dong B, Cao B S, He Y Y, et al. Temperature sensing and *in vivo* imaging by molybdenum sensitized visible upconversion luminescence of rare-earth oxides [J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(15): 1987-1993.
- [77] Amiri M, Salavati-Niasari M, Pardakhty A, et al. Caffeine: a novel green precursor for synthesis of magnetic CoFe₂O₄ nanoparticles and pH-sensitive magnetic alginate beads for drug delivery [J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2017, 76: 1085-1093.
- [78] Amiri M, Akbari A, Ahmadi M, et al. Synthesis and *in vitro* evaluation of a novel magnetic drug delivery system; proecological method for the preparation of CoFe₂O₄ nanostructures [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2018, 249: 1151-1160.
- [79] Zhu X J, Feng W, Chang J, et al. Temperature-feedback upconversion nanocomposite for accurate photothermal therapy at facile temperature [J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 10437.
- [80] Sun X K, Sun J, Dong B, et al. Noninvasive temperature monitoring for dual-modal tumor therapy based on lanthanide-doped up-conversion nanocomposites [J]. *Biomaterials*, 2019, 201: 42-52.
- [81] Long Q, Wen Y Q, Li H T, et al. A novel fluorescent biosensor for detection of silver ions based on upconversion nanoparticles [J]. *Journal of Fluorescence*, 2017, 27(1): 205-211.
- [82] He L, Yang L, Zhu H, et al. A highly sensitive biosensing platform based on upconversion nanoparticles and graphene quantum dots for the detection of Ag⁺ [J]. *Methods and Applications in Fluorescence*, 2017, 5(2): 024010.
- [83] Li Z, Lü S, Wang Y L, et al. Construction of LRET-based nanoprobe using upconversion nanoparticles with confined emitters and bared surface as luminophore [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(9): 3421-3427.
- [84] Wei R Y, Wei Z W, Sun L N, et al. Nile red derivative-modified nanostructure for upconversion luminescence sensing and intracellular detection of Fe³⁺ and MR imaging [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(1): 400-410.
- [85] Chen M, Kutsanedzie F Y H, Cheng W, et al. A nanosystem composed of upconversion nanoparticles and N, N-diethyl-p-phenylenediamine for fluorimetric determination of ferric ion [J]. *Microchimica Acta*, 2018, 185(8): 378.
- [86] Peng J J, Xu W, Teoh C L, et al. High-efficiency *in vitro* and *in vivo* detection of Zn²⁺ by dye-assembled upconversion nanoparticles [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(6): 2336-2342.
- [87] Huang X H, Wang L J, Zhang X J, et al. Dye-assembled nanocomposites for rapid upconversion luminescence sensing of Cu²⁺ [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 248: 1-8.
- [88] Xu Y X, Li H F, Meng X F, et al. Rhodamine-modified upconversion nanoprobe for distinguishing Cu²⁺ from Hg²⁺ and live cell imaging [J]. *New Journal of Chemistry*, 2016, 40(4): 3543-3551.
- [89] Cui Z W, Bu W B, Fan W P, et al. Sensitive imaging and effective capture of Cu²⁺: towards highly efficient theranostics of Alzheimer's disease [J]. *Biomaterials*, 2016, 104: 158-167.
- [90] Wang F F, Zhang C L, Xue Q, et al. Label-free upconversion nanoparticles-based fluorescent probes for sequential sensing of Cu²⁺, pyrophosphate and alkaline phosphatase activity [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 95: 21-26.
- [91] Achatz D E, Meier R J, Fischer L H, et al. Luminescent sensing of oxygen using a quenchable probe and upconverting nanoparticles [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2011, 50(1): 260-263.
- [92] Lü W, Yang T S, Yu Q, et al. A phosphorescent iridium (III) complex-modified nanoprobe for hypoxia bioimaging via time-resolved luminescence microscopy [J]. *Advanced Science*, 2015, 2(10): 1500107.
- [93] Liu J N, Liu Y, Bu W B, et al. Ultrasensitive nanosensors based on upconversion nanoparticles for selective hypoxia imaging *in vivo* upon near-infrared excitation [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(27): 9701-9709.
- [94] Presley K, Hwang J, Cheong S, et al. Nanoscale

- upconversion for oxygen sensing [J]. *Materials Science and Engineering C*, 2017, 70: 76-84.
- [95] Xu S H, Zhang X R, Xu H W, et al. Silane modified upconversion nanoparticles with multifunctions: imaging, therapy and hypoxia detection[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22350.
- [96] Wang N N, Yu X Y, Zhang K, et al. Upconversion nanoprobe for the ratiometric luminescent sensing of nitric oxide[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(36): 12354-12357;
- [97] Ding Q, Zhan Q, Zhou X, et al. Theranostic upconversion nanobeacons for tumor mRNA ratiometric fluorescence detection and imaging-monitored drug delivery[J]. *Small*, 2016, 12(43): 5944-5953.
- [98] Li Z, Liang T, Lü S, et al. A rationally designed upconversion nanoprobe for *in vivo* detection of hydroxyl radical [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(34): 11179-11185.
- [99] Zhou Y, Pei W B, Zhang X, et al. A cyanine-modified upconversion nanoprobe for NIR-excited imaging of endogenous hydrogen peroxide signaling *in vivo* [J]. *Biomaterials*, 2015, 54: 34-43.
- [100] Peng J J, Samanta A, Zeng X, et al. Real-time *in vivo* hepatotoxicity monitoring through chromophore-conjugated photon-upconverting nanoprobe [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017, 56(15): 4165-4169.
- [101] Esipova T V, Ye X, Collins J E, et al. Dendritic upconverting nanoparticles enable *in vivo* multiphoton microscopy with low-power continuous wave sources [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(51): 20826-20831.
- [102] Näreoja T, Deguchi T, Christ S, et al. Ratiometric sensing and imaging of intracellular pH using polyethylenimine-coated photon upconversion nanoprobe [J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(3): 1501-1508.
- [103] Kuningas K, Ukonaho T, Pääkilä H, et al. Upconversion fluorescence resonance energy transfer in a homogeneous immunoassay for estradiol [J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78(13): 4690-4696.
- [104] Wang M, Hou W, Mi C C, et al. Immunoassay of goat antihuman immunoglobulin G antibody based on luminescence resonance energy transfer between near-infrared responsive $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$ upconversion fluorescent nanoparticles and gold nanoparticles [J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(21): 8783-8789.
- [105] Jiang P, He M Y, Shen L, et al. A paper-supported aptasensor for total IgE based on luminescence resonance energy transfer from upconversion nanoparticles to carbon nanoparticles [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 239: 319-324.
- [106] Jo E J, Mun H, Kim M G. Homogeneous immunosensor based on luminescence resonance energy transfer for glycated hemoglobin detection using upconversion nanoparticles [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(5): 2742-2746.
- [107] Doughan S, Uddayasankar U, Krull U J. A paper-based resonance energy transfer nucleic acid hybridization assay using upconversion nanoparticles as donors and quantum dots as acceptors [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 878: 1-8.
- [108] Peng D F, Ju Q, Chen X, et al. Lanthanide-doped energy cascade nanoparticles: full spectrum emission by single wavelength excitation [J]. *Chemistry of Materials*, 2015, 27(8): 3115-3120.
- [109] Li S, Xu L G, Ma W, et al. Dual-mode ultrasensitive quantification of microRNA in living cells by chiroplasmonic nanopylar self-assembled from gold and upconversion nanoparticles [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2016, 138(1): 306-312.
- [110] Zhao J, Gao J H, Xue W T, et al. Upconversion luminescence-activated DNA nanodevice for ATP sensing in living cells [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(2): 578-581.
- [111] Rajendran M, Dane E, Conley J, et al. Imaging adenosine triphosphate (ATP) [J]. *The Biological Bulletin*, 2016, 231(1): 73-84.