

激光参数对纳米金靶向细胞膜通透性的影响

姚翠萍 张镇西*

(西安交通大学生命科学与技术学院生物医学信息工程教育部重点实验室, 陕西 西安 710049)

摘要 激光参数, 比如脉宽、照射能量、脉冲数目以及照射方式等在各个方面尤其是在生物医学应用中对生物组织的不同效应都起着重要作用。采用纳米金颗粒靶向细胞, 激光照射后细胞膜的通透性会发生改变。采用不同的激光光源和不同的照射方式(直接照射和扫描照射)、调整不同的激光参数照射细胞微粒结合体, 通过流式细胞仪测量细胞对异硫氰酸荧光素葡聚糖 (fluorescein isothiocyanate-Dextran, FITC-D) 和碘化丙啶 (propidium iodide PI) 的吸收量来判断细胞膜的暂时通透性和细胞的死亡率, 用以研究激光参数变化对细胞膜通透性的影响。采用传热模型对其机理进行了分析, 结果表明通过调整激光参数, 采用这种方法有可能进行基因转染。

关键词 医用光学与生物技术; 激光参数; 通透性; 纳米金颗粒; 热效应

中图分类号 R318.15 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS20092906.1609

Influence of Laser Parameters on Permeability of Gold Nanaoparticles Targeting Cells

Yao Cuiping Zhang Zhenxi

Key Laboratory of Biomedical Information Engineering, Ministry of Education. Institute of Biomedical Analytical Technology and Instrumentation, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710049, China

Abstract In medicine and biology when the laser is used, the parameters, such as pulse duration, irradiation energy, pulse number and irradiation manner are very important. Light-absorbing nanoparticles that are heated by short laser pulses can transiently increase the membrane permeability. Different laser sources and irradiation manner were used to investigate the transfection efficiency associated with the laser parameters. After irradiation, the membrane permeability was evaluated by flow cytometry assaying of propidium iodide (PI) and fluorescein isothiocyanate (FITC) dextran. The mechanism of light-induced damage was studied by thermal modeling. The preliminary results suggest that this laser-induced permeability strategy provides a promising new means of delivering larger exogenous materials such as plasmid DNA into living cells by adjusting the laser parameter.

Key words medical optics and bitechology; laser parameters; permeability; gold nanoparticle; thermal effect

1 引 言

光吸收性纳米微粒绑定到细胞上, 激光照射后细胞的损伤只局限在特定的范围内。通过这种方法, 细胞膜的通透性可以得到提高, 或者特定的蛋白质可以被选择性地灭活^[1,2]。把纳米金颗粒结合到何杰金氏病细胞(L-428)和人患恶性淋巴瘤细胞 Karpas-299 上, 激光照射后可以使外源分子进入细胞^[3]。

激光的参数, 比如波长和脉宽在生物组织的应用中是重要的两个参数, 激光照射峰值在激光与生物组织的相互作用中也起到了决定作用^[4]。在采用微粒辅助激光照射使细胞膜通透性提高的研究中, 不同课题组采用了不同类型的激光把外源物质转入细胞内^[1,2]。采用纳米金作为吸收性微粒结合在细胞上, 采用不同的激光照射方式以及不同脉宽的激

收稿日期: 2008-09-22; 收到修改稿日期: 2008-11-15

基金项目: 国家自然科学基金(60578026)和中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学与光子技术国家重点实验室开放基金资助项目。

作者简介: 姚翠萍(1971—), 女, 讲师, 主要从事纳米金激光效应方面的研究。E-mail: yaocuiping@sohu.com

* 通信联系人。E-mail: zxzhang@mail.xjtu.edu.cn

光进行照射,系统地研究了激光参数对细胞膜通透性的影响。实验中使用的细胞为 L-428 和 Karpas-299。其中,细胞膜的通透性以及细胞的活性通过流式细胞仪测量进入细胞的异硫氰酸葡聚糖(FITC-D)和碘化丙啶(PI)来确定。

2 材料与方法

采用了三个激光源,分别为不同功率的两个 532 nm 波长 6 ns 脉宽的 Q-开关倍频的 Nd:YAG 纳秒激光和一个 527 nm 波长 35 ps 脉宽的锁模 Nd:YLF 皮秒激光。样品池专门定做(Hellma)。在规格为 25 mm×75 mm 的一片玻璃板上制作了直径为 2 mm 的 18 个样品池。样品量为 4.0 μl 。两个纳秒激光光束输出具有 10% 的标准方差。其中一个激光(Surelite I, Continuum, CA, USA)光束直径大约为 2 mm 光束聚焦在样品上,根据测量和计算可知光束中心的功率密度为 30 mJ/cm^2 。照射频率大约为 1 Hz,照射的频率可以任意改变。另一激光光束为直径是 1.0 mm 的 TEM₀₀ 高斯光束(YG671-10, Continuum, USA),同样把光束聚焦在样品上,但是激光的出射频率固定,为 20 Hz。皮秒激光(ISL 2001 MPL, Intelligent Laser Systems Inc.)由眼科手术用激光器改造而成。光束直径为 0.5 mm,具有 15% 的标准方差。细胞膜的通透性和细胞的活性通过流式细胞仪(FACSCAN, Beckman Coulter)测量不同荧光(绿色荧光-对 FITC-D 和红色荧光-PI)的强度确定。

使用的两种细胞均由柏林富兰克林本杰明学院烧伤病理科的 Horst Dürkop 提供,都是悬浮生长在含有 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(Hepes)和 L-谷氨酸盐并加入了 10% 的胎牛血清、抗生素和抗菌药物(antibiotic/antimycotic solution 100×)的培养基 RPMI-1640(1×)中(所有这些培养基都是从奥地利 Pasching PAA 实验室购买),并置于培养箱中进行培养,37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 、95% 空气、95%~100% 湿度。在细胞达到指数增长长期时,从培养皿中取出细胞。对细胞进行计数,然后取出一定量的细胞溶液,以 1400 r/m 的速度在 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下离心 5 min,重新以一定的密度($4\times 10^7/\text{ml}$)悬浮于磷酸盐缓冲液(PBS)中。接着以一定的浓度加入由 15 nm、30 nm 纳米金(British Biocell International 公司生产)和对应于抗原分化簇 CD30 的 BerH2 抗体、对应于 CD25 的 ACT1 抗体组成的免疫金颗粒,在培养箱中 37 $^{\circ}\text{C}$ 温度下培养 20 min 后冲洗掉多余的免疫纳米金。在临照射前,加入 FITC-D。最后把细胞纳米微粒结合体和 FITC-

D 的混合液移入样品池进行照射。照射结束后,把样品池重新放入培养箱中培养至少 30 min 后,用 PBS 冲洗一遍并悬浮于包含有 PI 的 PBS 中。最后用流式细胞仪和荧光显微镜测量细胞的荧光以判断细胞膜的通透性和细胞的死亡率。

3 实验结果

采用了两种不同的激光源以两种不同的方式照射两个不同的细胞系(Karpas-299 和 L-428)。其中由两种抗体 BerH2、ACT1 分别和不同尺寸的纳米金颗粒(15 nm, 30 nm)合成的四种免疫胶体金结合体用于分别与细胞结合。由于两种细胞都存在 CD30 抗体,所以都可以与 BerH-2 纳米金结合;Karpas-299 细胞表面存在 CD25 还可以与 ACT-1 纳米金结合。采用不同的照射方式和不同的脉宽照射样品来研究激光参数对细胞膜通透性的影响。一种方式为扫描照射,即激光束直径小于样品池直径,通过不断移动样品池达到激光束对整个样品的完全照射。这种情况下,可以选择不同的照射能量和照射时间以获得细胞转染的最佳条件。另外一种照射方式为直接照射,即激光束的直径等于样品池的直径,样品池不需要移动,并且脉冲的频率和数目可以任意改变。通过不同的激光,不同的照射条件可以得到每种细胞不同的最佳转染效率。

3.1 激光能量对细胞通透性的影响

采用两种不同的照射方式照射两种结合有纳米金颗粒的 Karpas-299 细胞。在两种方式下,都采用相同脉冲而变换能量策略。图 1 和图 2 给出了采用上面策略两种方式下得到的流式细胞仪的测量结果。点图中四个象限的细胞分布分别代表的是:完整的未受到任何损伤的细胞对 FITC-D 和 PI 都呈阴性(左下角四象限),也就是没有任何荧光出现。细胞膜出现暂时通透性提高的细胞对 FITC-D 呈阳性,而对 PI 呈阴性(右下角 I 象限)。造成永久损伤的细胞或者死亡细胞对 PI 呈阳性(II III 象限)。此前的对照实验中对 FITC-D 和 PI 的阈值进行了确定,FITC-D 为 5%,PI 处于活性细胞和死亡细胞平均值的中间部分。照射后细胞转染率的统计特性分别在图 1(f) 和 2(e) 中给出。结果表明随着照射能量的增加,通透性暂时提高随后又恢复的细胞和死亡细胞的比例都会增加。实验中也对 L-428 细胞采用相同的策略进行实验,得到相似的结果。而采用 15 nm 的金纳米时,与 30 nm 的相比需要更高的能量才能达到细胞的死亡或者细胞膜通透性的暂时提高^[3]。

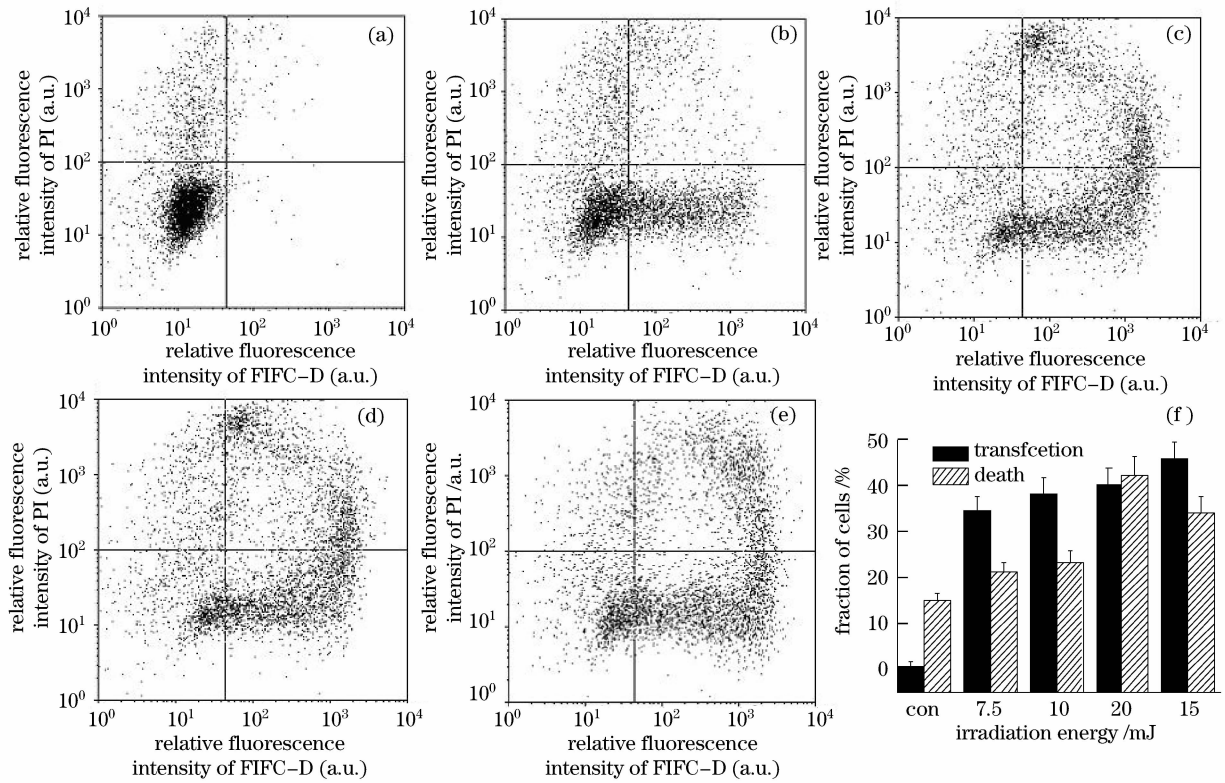


图 1 不同能量激光(Surelite I Nd : YAG laser)一个脉冲照射 Karpas 299 与 30 nm 纳米金结合体后,采用流式细胞仪测量的细胞被碘化丙啶和异硫氰酸荧光素葡聚糖标记的结果。(a)对照组,无光照射;(b) 7.5 mJ;(c) 1.0 mJ;(d) 15 mJ;(e) 20 mJ,(f) 死亡细胞和被转染细胞的比例分布

Fig.1 Flow cytometer measurement of Karpas-299 cells staining PI and FITC-D. The cells were attached by 30 nm ACT1 immunogold particles and irradiated by a single pulse with different energies (Surelite I Nd : YAG laser). (a) Control, no light;(b) 7.5 mJ;(c) 1.0 mJ;(d) 15 mJ;(e) 20 mJ. The fraction of dead and transfected cells is shown in (f)

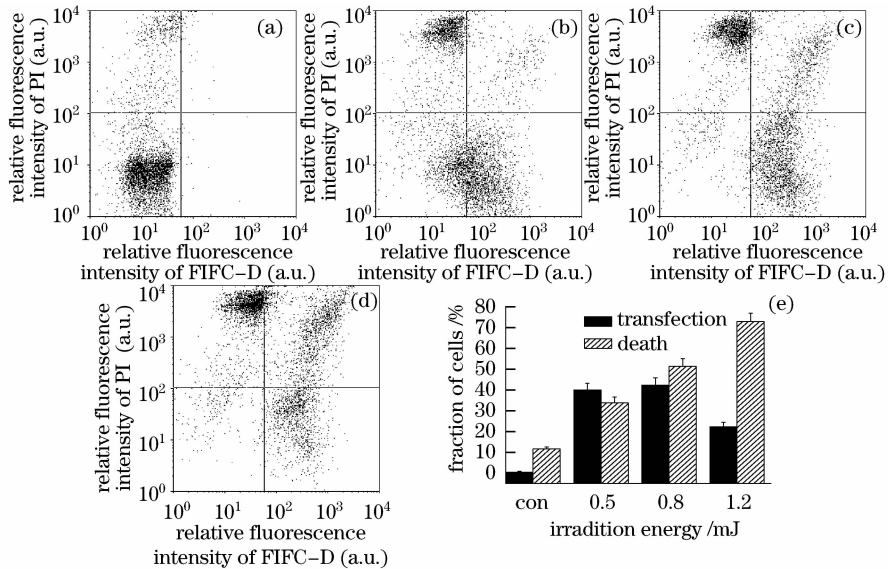


图 2 采用大约 2500 个脉冲对 Karpas299 细胞与 30 nm 纳米颗粒结合体扫描照射后,采用流式细胞仪测量的细胞被碘化丙啶和异硫氰酸荧光素葡聚糖标记的结果。(a)对照组,无光照射;(b) 0.5 mJ;(c) 0.8 mJ;(d) 1.2 mJ;(e)死亡细胞和被转染细胞的比例分布

Fig.2 Flow cytometer measurement of Karpas-299 cells staining PI and FITC-D. The cells were attached by 30 nm ACT1 immunogold particles and scanning irradiated by about 2500 pulses with different energies (UG371-10 Nd : YAG laser). (a) Control, no light;(b) 0.5 mJ;(c) 0.8 mJ;(d) 1.2 mJ. The fraction of dead cells and transfected cells is shown in (e)

通过实验结果可以观察到,对于激光光束较宽(直径与样品池直径相同)而采用一个脉冲不同能量照射时,细胞的转染率最高可以达到 40%(见图 1)。而对于激光光束较细,采用扫描照射时,完全对样品进行扫描一次,大约需要 2500 个脉冲。图 2 中的结果是每个样品都采用 2500 个脉冲 3 个能量等级的实验结果。细胞的转染效率最高可以到 32%左右。

对于两种不同的细胞和不同的照射方式,可得到同样的结论,随着脉冲能量和脉冲数目的增加,细胞膜通透性暂时提高的细胞数目和死亡细胞的数目都会增加。在一定的范围内,膜通透性暂时提高的细胞数目的增加程度远远大于死亡细胞数目的增加程度;而当能量或者脉冲数目超过一定的范围后,膜通透性暂时提高的细胞大大减少,而死亡细胞则大大增加。

3.2 不同照射方式的影响

为了观察不同照射方式对细胞膜通透性的影响,在两种照射方式下分别采用相同能量,不同脉冲数目对细胞进行照射,然后用流式细胞仪观察细胞转染效率。对于直接照射方式,采用的照射能量为 10 mJ,脉冲数目从 1~50 之间变化;对于扫描方式,采用的能量为 0.8 mJ,而脉冲数目分别为 2500 的倍数(对样品完全扫描一遍需要 2500 个脉

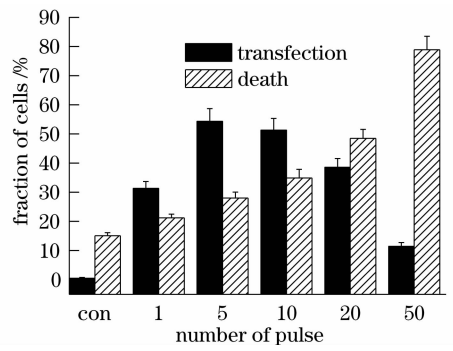


图 3 采用流式细胞仪测量的死亡细胞和被转染细胞的比例作为脉冲数目函数的结果(Surelite I Nd : YAG laser)

Fig. 3 Percentage of transfected and dead cells as a function of the pulse number assayed by flow cytometer (Surelite I Nd : YAG laser)

冲)。对于两种照射方式得到了完全不同的结果。直接照射时,随着脉冲数目的增加,死亡细胞不断增加,而膜通透性暂时提高的细胞呈正态分布特性,如图 3 所示;对于扫描照射方式,当分别以 2500, 5000, 7500 和 10000 个脉冲照射时,死亡细胞和膜通透性暂时提高的细胞比例基本上保持不变,如图 4 所示。

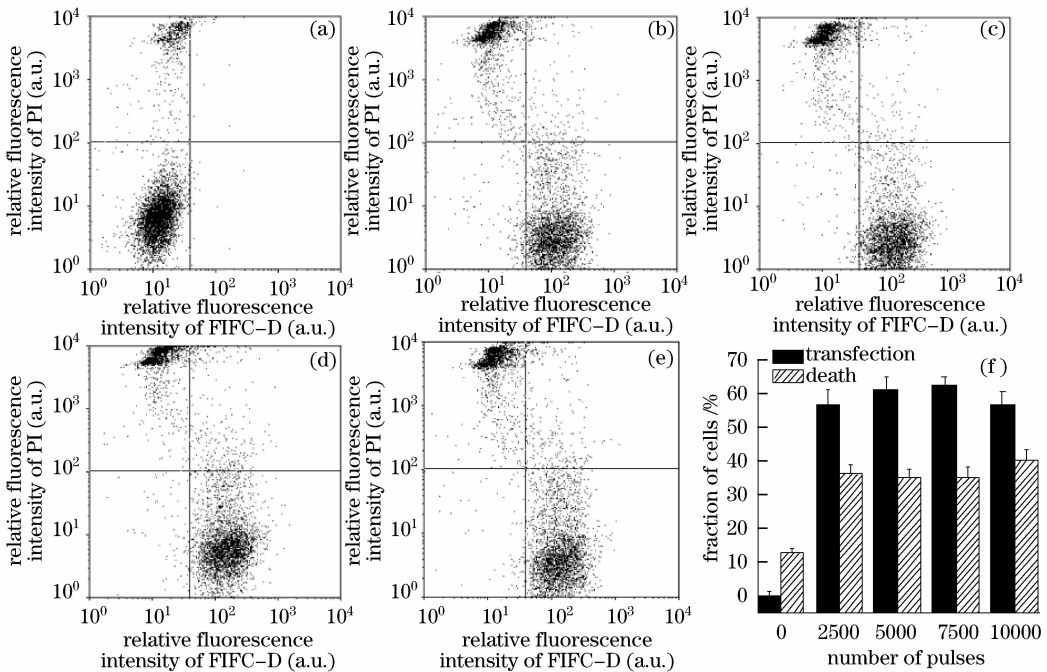


图 4 扫描方式照射 L428 细胞后的结果,其中能量为一个常数 0.8 mJ 而脉冲数目改变(YG671-10 Nd : YAG laser)。(a) 对照组,无光照射;(b)大约 2500 个脉冲;(c)大约 5000 个脉冲;(d)大约 7500 个脉冲;(e)大约 10⁴ 个脉冲

Fig. 4 Irradiate L-428 cells by SM with a constant energy of 0.8 mJ and different number of pulses (YG671-10 Nd : YAG laser).

(a) Control, no light; (b) about 2500 pulses; (c) about 5000 pulses; (d) about 7500 pulses; (e) about 10⁴ pulses

采用相同的能量相同的脉冲数目对细胞进行照射。但是,在样品完全被扫描一遍后(2500 个脉冲),间隔不同的时间后再对样品进行第二遍扫描,结果如图 5 所示。首先,先对样品进行一遍全面扫描(2500 个脉冲),接着对样品连续进行第二遍扫描(相当于连续采用 5000 个脉冲照射样品),结果和图 4 一样。再次对相同的一批样品进行一次扫描后,间隔 1h 后再进行一次扫描(同样相当于 5000 个脉

冲),但是结果却迥然相异,这种方式下,细胞死亡率大大增加,而转染率减小很多,如图 6 所示。

为了对脉宽的影响进行研究,采用了皮秒激光进行实验。但是由于 15 nm 的金微粒在采用皮秒脉冲照射时,转染效果较差,这里只给出细胞结合 30 nm 微粒的实验结果,如图 6 所示。基于这些结果,可以认为不论是在皮秒脉冲还是纳秒脉冲照射下,只要调整到最佳条件下转染效率与脉宽的相关性不是很大。

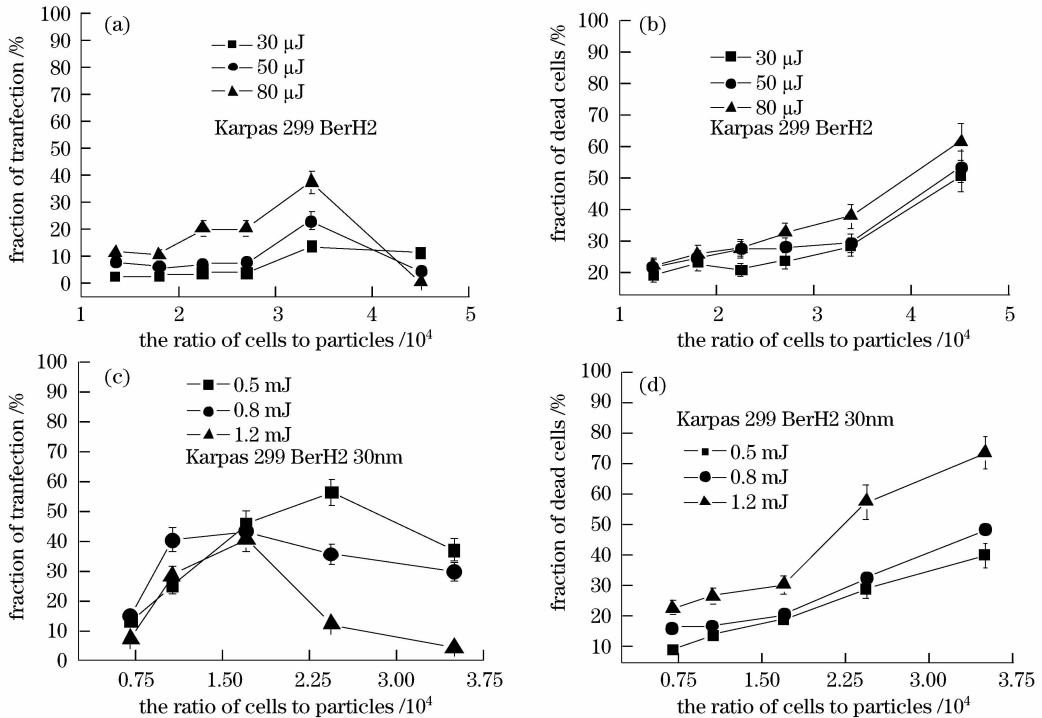


图 5 扫描方式照射结合有 30 nmBerH-2 抗体的细胞后,激光脉宽对细胞膜通透性和死亡的影响。其中(a)和(b)是皮秒激光照射结果,(c)和(d)纳秒激光照射结果(YG671-10 Nd : YAG laser)

Fig. 5 Influence of the pulse width on membrane permeabilization and cell death for 30 nm BerH-2 gold and cell conjugates with scanning irradiation, (a) and (b) are the results of the picosecond laser irradiation, (c) and (d) are the results of the nanosecond laser (YG671-10 Nd : YAG laser) irradiation

这里只给出了 Karpas-299 细胞被照射的结果,对于 L-428 通过 BerH-2 免疫纳米金结合时可得到类似的结果。

5 结 论

纳米金颗粒通过特定抗原抗体结合到细胞后,通过激光的照射,细胞膜的通透性可以暂时提高,而后复原。这时通常情况下不能进入细胞的 10 kDa 的分子可以被送入细胞内。采用不同的激光参数不同照射方式对两种细胞系进行了研究,以获得最佳的转染条件并对其中的机理进行揭示。

对于纳秒激光,两种细胞系结合两种粒径的纳米金后,采用不同的照射方式都可获得较好的转染效果。与此相比较,皮秒激光采用扫描方式也可以或得一定的转染效率。但是实验结果表明,转染效率差于纳秒激光。尤其对于 15 nm 的金纳米,几乎达不到转染的效果。

对于激光直接照射方式,细胞的转染率和死亡率都与激光的脉冲数目存在密切的联系;但是,对于扫描的照射方式,一定范围的脉冲数目照射后,再增加脉冲的数目对细胞几乎没有什么影响。而当间隔一定时间后,再次对前面照射过的细胞进行照射,细胞的死亡率大大增加,转染率大大减小。

对于纳秒激光,两种细胞系结合两种粒径的纳

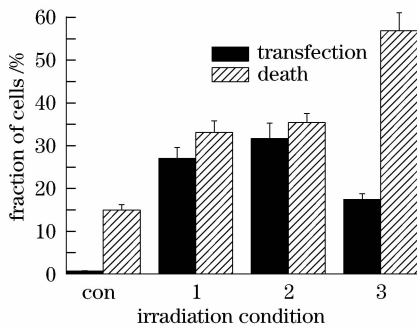


图 6 采用 2500 个脉冲扫描照射一次或两次后死亡细胞和被转染细胞比例(YG671-10 Nd : YAG laser)。1 表示完全扫描一次结果,2 表示连续扫描两次的结果,3 表示在间隔一小时后扫描两次的结果

Fig. 6 Fraction of transfected and dead cells irradiated once or twice with 2500 pulses (YG671-10 Nd : YAG laser). (1) scanning once (2) scanning twice continuously, (3) scanning twice with about an hour interval

激光的参数比如,脉宽、激光光束的模式,照射频率,以及照射方式对细胞的死亡率和转染率的影响都很大。通过模拟纳米金颗粒周围的温度增量来分析其相关机理。

在温度模拟计算中采用了把一个均匀球插入无限大均匀介质的热传输模型^[5]。为了简单起见,假设在整个脉冲期间,激光的辐射强度是一个常数;纳米金颗粒的参数与温度无关,并且忽略纳米金颗粒与周围物质的相位变化。根据这个假设,就可以利用与参考文献^[1,6]类似的方法来分析温度的增量。当激光脉宽分别为 $\tau=6$ ns 和 $\tau=35$ ps 时,细胞表面的温度增量如图 7 所示,图中表示的是功率密度为 1 mJ/cm^2 的增量。当 30 nm 的纳米金颗粒被结合于细胞,激光照射能量为 10 mJ 时(Surelite I Nd : YAG laser),在脉宽为 $\tau=6$ ns 期间细胞表面的温度增量根据其能量密度计算可得最大可达约 3600 K。采用扫描方式照射,同样的激光脉宽,能量为 0.8 mJ 时(YG671-10 Nd : YAG laser),细胞表面的最高温升为 1200 K。由于皮秒激光与纳秒激光相比,脉宽可以忽略,可以采用格林函数对方程求解,当照射能量为 $80 \mu\text{J}$ 时(ISL 2001 MPL YLG laser),计算得到细胞表面的最高温升为 3600 K。

计算发现细胞表面的最高温度已经超过了汽化温度,因此细胞表面肯定会发生汽化。已知^[7]通常情况下,材料表面要发生汽化时所需要的时间为 t_v :

$$t_v = (\pi/4)(K\rho c/F^2)(T_v - T_0)^2, \quad (1)$$

其中 K , c , ρ , 和 F 分别为物质的热传导率、每单位

物质的热容、密度以及激光的通量密度, T_v 和 T_0 分别为汽化温度和初始温度。通过式 1 可知前面实验中激光脉宽足以使细胞发生汽化。而温度计算也表明微粒周围的细胞发生汽化时会产生一个很快扩张的气泡^[8],此外,纳米金颗粒也会溶解并变成更小的微粒^[9]。有研究组实验发现 40 nm 的微粒当照射密度达到 80 mJ/cm^2 时粒子出现碎化^[10]。在纳秒脉冲照射下微粒的温度与微粒的直径成比例,当微粒直径小于某个值时,激光照射后微粒的温度达不到融化温度。因此,一定数量的脉冲照射后微粒发生破碎,再对原细胞照射就不会产生进一步的效果。然而,当细胞被照射后,相隔一定时间,破碎的微粒有可能重新聚集成团,很容易造成细胞的死亡。Kotaidis 等人也得出和我们一致的结论,即强烈的热作用、液体局部的爆炸性沸腾及其所造成的压力是造成微粒靶向细胞选择性损伤的机理^[11~14]。

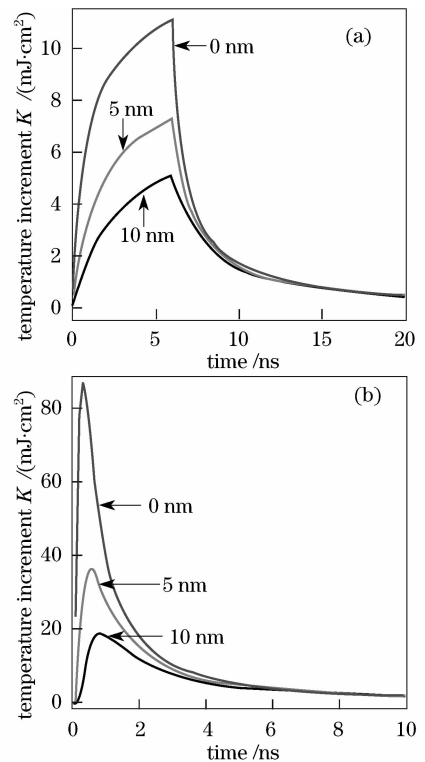


图 7 采用(a)6 纳秒激光和(b)皮秒激光照射结合有 30 nm 纳米金的细胞后,距离细胞表面不同点处,5 nm 和 10 nm 处的温度随时间变化的模拟结果,其中激光能量密度为 1 mJ/cm^2

Fig. 7 Simulated temperature change with time at the surface, at 5 nm and 10 nm distances from the surface, when 30 nm immunogold particles and cell conjugates were irradiated by (a) 6 ns and (b) picosecond laser with 1 mJ/cm^2

如果采用扫描方式,由于纳米金颗粒达不到汽化温度,多数纳米金颗粒不能被碎化。因此,当采用短脉冲照射细胞微粒结合体时,微粒周围会有物质(细胞膜或细胞内物质)从表面喷射出来^[8]。这种喷射出来的物质会改变表面与激光的相互作用。而且,喷射物还会吸收光能从而屏蔽细胞表面对光的吸收。由于这时细胞膜温度很高,从而在细胞表面会产生一个向外的推力。当这些物质被喷射出来后,纳米金颗粒就会脱离细胞,因而当细胞温度恢复原态后,下个脉冲不会再对细胞产生任何影响。而当间隔一定的时间后,纳米金颗粒会重新附着在细胞膜表面从而激光继续照射会造成细胞的相继损伤。由于会出现上述表面物质喷射的现象,因此当能量适当时,细胞膜会出现局部损伤从而提高其通透性。

能量很大时,与能量小时相比不容易出现物质汽化的现象,而是从表面直接喷射出一些物质,同时喷射物质的反弹力是造成细胞损伤的重要原因。Zharov 等人也发现,激光照射能量越大,微粒周围出现的气泡也越大^[8]。他们证明当能量足够大时,气泡可以达到 $1\sim 1.5\ \mu\text{m}$ 。在这种情况下,细胞就会死亡。

6 结 论

实验观测了照射方式、能量密度、以及脉宽等激光参数不同时,对细胞膜造成的影响,并对其机理进行了一定的分析。对于细胞转染来说,照射方式和能量密度是两个重要的参数。而在研究金纳米的性质时脉宽起到了主要作用^[10, 12]。实验也说明对于转染脉宽并不是一个主要参数。由于条件有限,并没有对飞秒激光做任何研究。

致谢 本文的工作得到了德国吕贝克医学激光中心及 Gereon Huettmann 博士的帮助,特此感谢。

参 考 文 献

- Costas M. Pitsillides, Edwin K. Joe, Xunbin Wei *et al.*. Selective cell targeting with light-absorbing microparticles and nanoparticles[J]. *Biophysical Journal*, 2003, **84**(6): 4023~4032
- Yukihiro Umebayashi, Yuuichi Miyamoto, Masayoshi Wakita *et al.*. Elevation of plasma membrane permeability on laser irradiation of extracellular latex particles[J]. *J. Biochem.* 2003, **134**(2): 219~224
- Cuiping Yao, Ramtin Rahmzadeh, Elmar Endl *et al.*. Elevation of plasma membrane permeability by laser irradiation of selectively bound nanoparticles [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2005, **10**(6): 64012~64019
- Markolf H. Niemz. *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*[M]. Springer-Verlag, Berlin, 2003
- Goldenberg, H., C. J. Tranter. Heat flow in an infinite medium heated by a sphere [J]. *Brit. J. Appl. Phys.*, 1952, **3**: 296~298
- Gereon Hüttmann, Jesper Serbin, Benno Radt *et al.*. Model system for investigating laser-induced subcellular microeffects [C]. *SPIE*, 2001, **4257**: 398~409
- John F. Ready. *Effects of High-Power Laser Radiation*[M]. London: Academic Press Inc. 1971
- V. P. Zharov, V. Galitovsky. Photothermal detection of local thermal effects during selective nanophotothermolysis[J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2003, **83**(24): 4897~4899
- A. Plech, V. Kotaidis, S. Grésillon *et al.*. Laser-induced heating and melting of gold nanoparticles studied by time-resolved X-ray scattering[J]. *Phys. Rev B*, 2004, **70**(19): 195423-1~195423-7
- A. Takami, H. Kurita, S. Koda. Laser-induced size reduction of noble metal particles[J]. *J. Phys. Chem. B*, 1999, **103**(3): 1226~1232
- Vassilios Kotaidis, Anton Plecha. Cavitation dynamics on the nanoscale[J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2005, **87**(21): 312102-1~312102-3
- Yang Changhu, Zeng Xiaoying, Yuan Jianhui. Application of raman spectrum in water quantity analysis [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(8): 1169~1172
- 杨昌虎, 曾晓英, 袁剑辉等. 激光拉曼光谱在水质分析中的应用[J]. *中国激光*, 2008, **35**(8): 1169~1172
- Ye Yunxia, Fan Dianyuan. theoretical analysis and numerical calculation of transmitted light intensity of light scattering from nano-particle random scatters[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(5): 059~659
- 叶云霞, 范滇元. 光通过纳米随机散射体透射光强的计算及分析[J]. *光学学报*, 2007, **27**(5): 059~659
- Zheng Xiaohua, Song Renguo, Yao Jianhua. laser heat treatment and wear resistance of electroless plating Ni-P-Nano-Al₂O₃ composite coatings[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(4): 016~516
- 郑晓华, 宋仁国, 姚建华. 镍-磷-纳米氧化铝化学镀层的激光热处理及其摩擦磨损性能[J]. *中国激光*, 2008, **35**(4): 016~516
- Qu Xiaochao, Liang Jiaming, Yao Cuiping *et al.*. Optical properties of gold nanoparticle and its application in biological imaging and photothermal therapy [J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(11): 1459~1465
- 屈晓超, 梁佳明, 姚翠萍等. 金纳米颗粒的光学性质及其在生物成像和光热疗法中的应用[J]. *中国激光*, 2007, **34**(11): 1459~1465