

上转换纳米颗粒侧向层析检测技术研究进展

李鑫涛, 王维祯, 张敬晗, 陈冠英*

(哈尔滨工业大学 化工与化学学院, 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 上转换纳米颗粒侧向层析检测技术(UCNPs-LFA)是一种结合了上转换发光纳米材料独特的光学性质和免疫层析平台的便捷性的新型即时检测(POCT)手段,具有灵敏度高、背景干扰低等优点。本文系统综述了UCNPs-LFA的技术原理、材料合成与表面功能化策略、检测性能优化方法及其在生物医学诊断、食品安全分析和环境监测等领域的最新研究进展。UCNPs通过在近红外光激发下的反斯托克斯发射机制,有效克服了传统胶体金试纸条灵敏度低和易受基质干扰的局限性。本文进一步探讨了核壳结构调控、表面修饰和信号放大等优化策略在提升检测性能中的作用,并总结了该技术在多种靶标检测中的应用案例。最后,展望了UCNPs-LFA在智能化、便携化和多靶标联检方面的发展方向,指出其在推动POCT技术向精准、定量、网络化演进中的关键潜力。

关键词: 上转换纳米颗粒; 侧向层析检测; 即时检测; 发光标记物; 生物传感

中图分类号: O482.31

文献标识码: A

DOI: 10.37188/CJL.20260130

CSTR: 32170.14.CJL.20260130

Research Progress on Lateral Flow Assay Technology of Upconversion Nanoparticles

LI Xintao, WANG Weizhen, ZHANG Jinghan, CHEN Guanying*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China)

* Corresponding Author, E-mail: chenguanying@hit.edu.cn

Abstract: Upconversion nanoparticle lateral flow assay (UCNPs-LFA) is a novel point-of-care testing (POCT) method that combines the unique optical properties of upconversion luminescent nanomaterials with the convenience of an immunochromatographic platform, offering advantages such as high sensitivity and low background interference. This article provides a systematic review of the technical principles of UCNPs-LFA, strategies for material synthesis and surface functionalization, methods for optimizing detection performance, and the latest research advances in fields such as biomedical diagnostics, food safety analysis, and environmental monitoring. Through the anti-Stokes emission mechanism induced by near-infrared light excitation, UCNPs effectively overcome the limitations of traditional colloidal gold test strips, such as low sensitivity and susceptibility to matrix interference. This paper further explores the role of optimization strategies—such as core-shell structure regulation, surface modification, and signal amplification—in enhancing detection performance, and summarizes application cases of this technology in the detection of various targets. Finally, it outlines the future development directions of UCNPs-LFA toward intelligent, portable, and multi-target simultaneous detection, highlighting its key potential in driving the evolution of POCT technology toward precision, quantification, and networking.

Keywords: upconversion nanoparticles; lateral flow assay; point-of-care testing; luminescent labels; biosensing

1 引 言

即时检测(POCT)是临床诊断,环境监测及食品安全检测等领域的关键需求,特点是能够应用先进的信息技术,最大限度地减少仪器尺寸和操作流程^[1],其核心在于实现快速、简便且准确的现场分析。侧向层析试纸条技术(LFA),凭借其操作简便、成本低廉、操作简便和结果易读等优点,已成为POCT的黄金平台^[2]。然而,以胶体金为标记物的传统试纸条,受限于其基于颜色沉淀的检测原理,存在灵敏度不足、难以实现精准定量及易受样品基质颜色干扰等固有缺陷,限制了其对低丰度靶标的检测能力。为突破这些瓶颈,研究者致力于开发新型信号标记材料。在众多材料中,上转换发光纳米颗粒(UCNPs)因其独特的光物理性质而脱颖而出。UCNPs是一种能够在近红外(Near-Infrared, NIR)光激发下,通过多光子吸收与能量传递过程发射出能量更高的可见光或近

红外光的稀土掺杂纳米晶体,具有反斯托克斯位移大、发光强度高、稳定性强、信噪比高以及发光寿命长等优点^[3],在LFA中使用表现出优异的稳定性和抗干扰能力,且可以保证检测灵敏度高^[4]。它们已应用于广泛的检测,包括金属离子、细菌^[5]、疾病生物标志物^[6]等。将UCNPs作为标记物与侧流层析技术相结合,催生了上转换发光层析试纸条技术。该技术不仅继承了传统试纸条的便捷性,更实现了灵敏度的大幅提升、精准的定量分析以及强大的多重检测能力,代表了下一代高端POCT技术的重要发展方向。据Web of Science核心合集统计,截至2025年底,以“upconversion nanoparticles”和“lateral flow assay”为主题的论文总发表数量已从2015年的不足20篇增长到截至2026年的近百篇,其中近三年每年相关发文量在十篇左右,表明该技术正进入快速发展期。本综述旨在系统阐述UCNPs-LFA的技术原理、材料优化策略、应用进展,并展望其未来发展趋势。

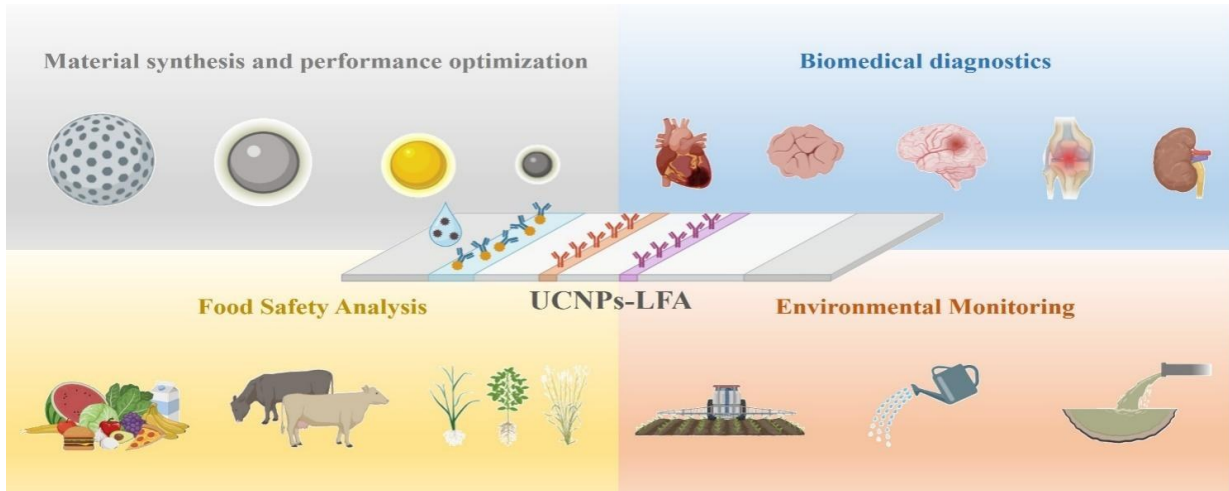


图1 UCNPs的合成与表征及UCNPs-LFA的应用

Fig. 1 Material synthesis and performance optimization of UCNPs and the Application of UCNPs-LFA

2 上转换侧流免疫检测

2.1 上转换发光纳米材料基本原理

上转换发光是指材料吸收两个或多个低能光子后,经过能量传递或逐级激发过程,发射出一个更高能量、波长更短光子的反斯托克斯发光现象。稀土掺杂上转换体系通常由低声子能无机晶格基质、强吸收的敏化剂(Sensitizer)离子(常见 Yb^{3+} 、 Nd^{3+} 等)以及产生上转换发射的激活剂(Activator)离子(Er^{3+} 、 Tm^{3+} 、 Ho^{3+} 等)协同构成^[7]。在掺杂稀土的上转换体系中,依托镧系离子4f能级的电子跃

迁,将两个或多个低能光子上转换为一个高能光子,从而实现近红外激发下的短波发射^[8]。其具有背景荧光低、激发与发射光谱分离度高及光稳定性优异等优势,适用于复杂基质分析检测。基于不同的机制上转换发光可以分为激发态吸收(ESA),能量转移上转换(ETU),合作敏化上转换(CSU),交叉弛豫(CR),光子雪崩(PA)和能量迁移上转换(EMU)^[9-10],如图2所示。

在稀土掺杂上转换体系中,上转换发光通常依赖于具有长寿命中间能级的逐级吸收和能量传递过程,不同机制在能量获取方式、离子参与数

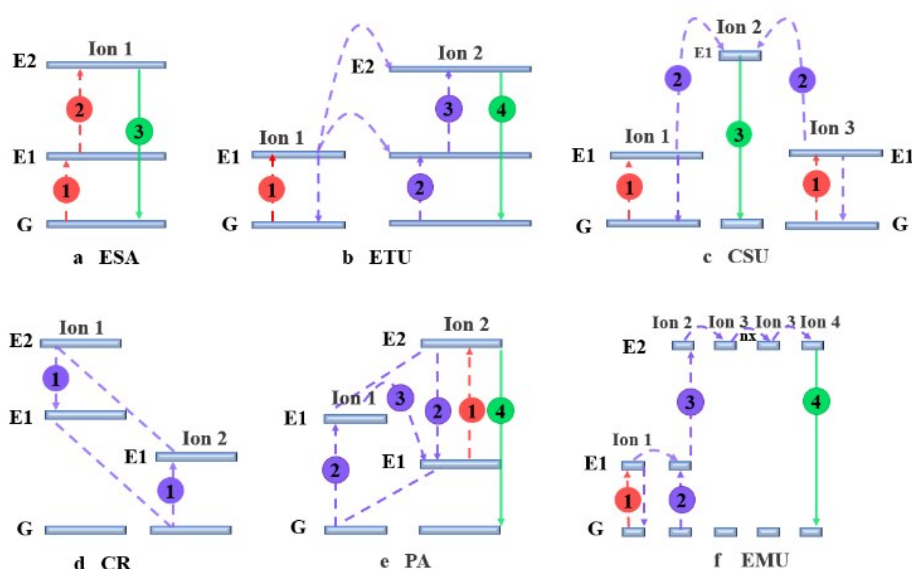


图2 掺镧系元素的上转换纳米颗粒(UCNPs)的主要上转换过程:(a)激发态吸收(ESA),(b)能量转移上转换(ETU),(c)合作敏化上转换(CSU),(d)交叉弛豫(CR),(e)光子雪崩(PA)以及(f)能量迁移上转换(EMU)。圆圈中数字表示实施相应上转换机制所涉及步骤的顺序。红色、紫色和绿色线分别表示光子激发、能量转移和发射过程。

Fig. 2 Principal UC processes for lanthanide-doped UCNPs: (a) excited-state absorption (ESA), (b) energy transfer upconversion (ETU), (c) cooperative sensitization upconversion (CSU), (d) cross relaxation (CR), (e) photon avalanche (PA) and (f) energy migration upconversion (EMU). The numbers in the circles represent the sequential order of the steps involved in enacting the corresponding upconversion mechanism. The red, violet, and green lines represent photon excitation, energy transfer, and emission processes, respectively.

目、掺杂与激发条件存在显著差异。ESA为单离子内的阶梯式吸收机制:激活离子 Ln^{3+} 作为发光中心先由基态G吸收泵浦光子布居到寿命较长的中间能级E1,随后在E1激发态上进一步吸收光子跃迁至更高能级E2并辐射出短波光。ESA的效率往往受激发态E1的稳定性、以及多声子非辐射弛豫竞争的影响。相较之下,ETU体现为多离子间协同的上转换发光,通常在敏化剂和激活剂共掺体系中占主导:例如在以 Yb^{3+} 作为敏化离子的体系中, Yb^{3+} 先吸收泵浦光(如980nm)进入激发态E1,通过非辐射能量转移将能量逐次传递给激活离子,使激活剂逐步上跃至发射能级E2并辐射出短波光,自身回到基态G。该过程对离子间距、掺杂浓度与宿主声子能量高度敏感,浓度过高时易引发交叉弛豫与浓度猝灭。CSU是一种特殊的由三个离子协同进行能量传递过程,与ETU不同,CSU是两个敏化离子吸收泵浦光从基态G跃迁到激发态E1后,同时将能量传递给一个激活剂离子,使其从基态G直接跃迁到更高能级的激发态E2,并辐射出短波光,完成上转换发光过程。由于不要求受体离子具备长寿命中间能级,CSU常被用于在近红外激发下间接激活 Eu^{3+} 、 Tb^{3+} 、 Dy^{3+}

、 Sm^{3+} 等缺乏合适中间态的发光离子。CR是指相邻稀土离子间的能级间能量交叉交换过程。同时位于激发态E1上的两种类型离子,其中一个离子将能量传递给另外一个不同类型的离子使其跃迁至更高能级E2,而本身则无辐射弛豫至能量更低的能级。PA则是在ESA与CR形成的正反馈循环:一个处于高能级E2的离子与一个处于基态G的离子发生相互作用,两者都落到一个中间能级E1。这个过程产生多个处于激发态的离子,这些离子再通过激发态吸收,又产生更多高能级离子,使中间态粒子数呈雪崩式指数增长,从而导致上转换发光在阈值附近急剧增强并对激发功率高度敏感。EMU是一种基于稀土离子掺杂的核-壳-壳纳米结构设计上的转换发光机制。在EMU过程中镧系离子分为敏化剂、积累剂(Accumulator)、迁移剂(Migrator)和激活剂四类。敏化剂离子用于捕获泵浦光子随后将其传递给临近的积累剂,积累剂接受能量后跃迁至激发态。迁移剂从积累剂离子的高位能态中提取激发能量,并通过自身的离子亚晶格进行能量迁移。激活剂捕获迁移中的能量,最终实现特征可见光发射。该过程能够防止积累剂的高能激发能直接传递给激活剂,从而抑

制非辐射的交叉弛豫过程。

上述机制共同构成了上转换材料发光增强与机理调控的基础框架,也为通过能级匹配、核壳结构与掺杂工程实现高效上转换提供了关键物理依据。

2.2 上转换免疫层析试纸条的工作原理

LFA由色谱系统和基于抗体-抗原、核酸目标分析物之间免疫化学反应组成,其原理是利用毛细作用使样品在膜上运动^[11-13]。标准LFA由样品垫、结合垫、反应膜(NC膜)和吸水垫组成^[14],其基本结构如图3所示。NC膜通常为硝酸纤维素膜,

设有检测线(T线)和质控线(C线)。检测过程中,液态样本通过毛细作用沿试纸条层析迁移。当样本流经结合垫时,目标抗原与UCNPs标记抗体特异性结合,形成免疫复合物;该复合物迁移至T线时被捕获抗体识别并固定,形成夹心免疫复合物,而过量的UCNPs标记抗体继续迁移至C线被二抗捕获。层析结束后,采用980 nm(Yb^{3+} 敏化)或808 nm(Nd^{3+} 敏化)近红外光对条带进行激发,UCNPs经能量逐级吸收和能量转移等上转换过程产生可见或近红外窄带发射,实现对T线与C线信号的无背景或低背景采集。

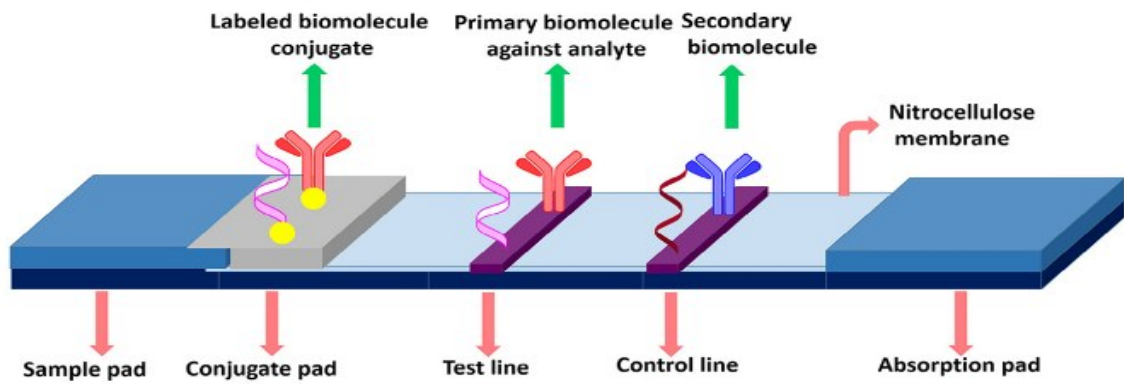


图3 LFA的基本结构^[2]。

Fig.3 The basic structure of lateral flow assay.

激发波长的选择不仅影响UCNPs的发光效率,也会进一步影响LFA检测体系的热稳定性、检测重复性和生物相容性。目前UCNPs-LFA中最常用的是 Yb^{3+} 敏化的980 nm激发体系,其能量转移效率较高,材料体系成熟,能够获得较强的上转换发光信号。然而,980 nm波段与水分子的吸收峰存在一定重叠,在检测血清、尿液、唾液、食品提取液等含水样本时,持续或高功率激发可能引起局部光热效应,导致试纸条检测区域温度升高。这种升温过程一方面可能影响抗体、适配体等生物识别分子的构象稳定性和结合活性,降低抗原-抗体识别效率;另一方面也可能改变液体在NC膜中的蒸发速率、黏度和毛细迁移行为,从而影响T线和C线信号分布,降低检测重复性和定量准确性。

相比之下,808 nm激发的 Nd^{3+} 敏化UCNPs可在一定程度上降低水吸收引起的热效应,更适合生物样本、临床样本和长时间读数场景。其优势在于能够减少局部升温对抗体活性、试纸条层析动力学以及样本基质稳定性的影响,从而提高检

测体系的生物相容性和批间重复性。但808 nm体系也存在能量传递路径更复杂、发光效率可能低于经典 $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ 或 $\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ 体系、材料结构设计要求更高等问题。因此,在实际UCNPs-LFA设计中,需要综合考虑激发波长、激光功率密度、照射时间、试纸条含水状态和样本类型等因素。对于高含水量或热敏感样本,应优先考虑808 nm激发、短时间读数、低功率激发或NIR-to-NIR发射体系;而对于追求高发光强度和成熟材料体系的检测场景,则可继续采用980 nm激发,但需控制激发功率并评估检测区域温度变化。总体而言,激发波长优化应从单纯追求信号强度转向兼顾“发光效率—热效应—生物识别稳定性—层析重复性”的系统化设计。

LFA的合理设计通常涉及四个部分,即条带结构、生物识别元件、信号标签和读出方式。条带结构的设计可以提高检测通量^[15],或控制流动顺序^[16]。生物识别元件包括抗体、适体或寡核苷酸探针,其选择取决于目标特性。信号标签的设计通常旨在提高信号强度,或信号多重性。读出方

式的设计决定读出速度和设备,检测是定量还是定性。

UCNPs-LFA 是一种基于 UCNPs 作为标记探针,结合免疫层析分析平台的新型光学检测技术。其核心原理在于利用 UCNPs 独特的光学物理特性——反斯托克斯发光,即在低能量近红外光激发下发射出高能量的可见光,从而有效规避了复杂生物基质中自发荧光干扰,显著提升检测信噪比与灵敏度。

检测形式包括两种方法:夹心法和竞争法。在夹心法中,当样品流经结合垫时,目标抗原与 UCNPs 标记的纳米探针发生反应,形成 UCNPs-抗原抗体复合物,该复合物随后流经 T 线,被预先包被的捕获抗体通过识别抗原的方式捕获,使 T 线信号与靶标浓度呈正相关。未与靶标结合的冗余探针继续迁移至 C 线被二抗捕获。因此,夹心形式通常设计用于检测具有多个抗原位点的大分子,其可以同时结合两种不同的抗体。在竞争形式中,样品中的目标抗原与 UCNPs 标记的检测探针共同竞争 T 线上的捕获分子,导致 T 线信号随靶标浓度升高而降低。因此,竞争法不能同时结合两种不同的抗体,通常设计用于检测具有单一抗原表位的小分子、抗体和其他识别生物分子。

由于生物基质在近红外波段的自发荧光与散射干扰相对较弱,近红外激发-近红外发射的 UCNPs-LFA 可显著提升信噪比与定量稳定性;实际应用中常以 T 线上转换荧光强度或 T/C 荧光强度比值作为定量指标,用来削弱样品黏度、流速、条带批间差异等因素带来的系统误差。此外,UCNPs 具备良好的光稳定性、长寿命与多峰可调发射特征,为时间门控检测、比率型校正以及多重靶标并行检测提供了材料基础,从而推动 LFA 从目视定性向高灵敏、定量与多重联检的现场检测平台演进。

3 材料合成与优化

3.1 UCNPs 制备工艺

不同的合成方法对 UCNPs 的尺寸、形状、形态以及发光效率有很大影响,因此选择合适的合成方法对提高上转换发光效率,探索其化学和光学性能以及在不同领域的潜在应用至关重要^[17]。目前 UCNPs 常用的合成方法有热分解法,化学共沉淀法,溶剂热法,溶胶凝胶法等,下面将分别进行讨论。

3.1.1 热分解法

热分解法是制备高质量 UCNPs 的经典油相路线之一。该方法通常在水和厌氧条件下,以三氟乙酸盐、油酸盐、乙酸盐等稀土有机化合物为前驱体,在油酸(OA)、1-十八碳烯(ODE)和油胺(OM)的混合溶液中升温反应,使金属-有机前驱体在高温下分解并释放稀土离子,从而实现纳米晶的成核与生长。其中 ODE 因其较高的沸点能够提供 300℃ 以上的高温反应环境,而 OA 和 OM 则作为配位溶剂和表面活性剂,通过长烷基链的配体封端作用抑制颗粒团聚并稳定生长界面。

热分解法的优势在于能够在较短时间内获得结晶度高、粒径分布窄、形貌可调、单分散性良好的油溶性 UCNPs。制备的纳米晶形貌和尺寸主要受反应温度、反应时间、添加剂及配体体系等因素调控^[18-20]。例如,通过改变 OA 和 ODE 配比可显著调节 UCNPs 的形貌与粒径,OA 和 ODE 增大时颗粒可由球形向棒状转变并伴随粒径降低和长径比升高^[20]。然而,热分解法同时也存在反应温度较高、条件要求严苛、三氟乙酸盐分解产生有毒氟氧化物等局限性,并且产物表面常被 OA 和 OM 等疏水配体包覆,需进一步表面改性以提高纳米晶的水溶性。You^[10]等使用 NaHF₂ 的简便固液热分解 (SLTD) 方法合成了均匀 Ln³⁺ 掺杂的 NaREF₄ NCs,并将合成的核/壳纳米探针用于体外检测前列腺特异性抗原(检测限低至 1.8 ng mL⁻¹),提出的 SLTD 策略易于执行,节省时间且具有成本效益,使其非常适合进行大规模合成,这项研究可能为 Ln³⁺ 的商业化铺平道路。

3.1.2 化学共沉淀法

化学共沉淀法是在溶液相中将可溶性稀土盐按化学计量比混合后,引入沉淀剂,在体系达到过饱和后诱导晶核形成并进一步生长,随后经固液分离与后处理获得目标稀土氟化物纳米晶。该方法通常可概括为混合物形成,成核,生长,沉淀、离心,过滤和煅烧等步骤。在 UCNPs(尤其 NaLnF₄ 类)体系中,共沉淀过程的微粒半径与形貌主要受溶液中的过饱和度和离子供给速率控制。若沉淀剂或其他离子在局部区域浓度过高,容易造成成核与生长不均匀,从而引发粒径分布变宽与形貌差异等问题。因此,共沉淀合成常引入络合剂以缓释金属离子并抑制团聚,例如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯亚胺(PEI)或乙二胺四乙酸

(EDTA)等,通过配位作用与界面稳定效应实现对晶体生长的调控,除两亲表面活性剂外,EDTA、柠檬酸盐以及PVP等配体可用于降低颗粒尺寸并抑制纳米晶团聚。

3.1.3 溶剂热法

溶剂热法是在密闭反应体系中于较高温度与压力条件下进行的反应,通常可在溶剂临界点以上操作以提高无机前驱体的溶解度与反应活性,从而诱导晶核形成并实现晶体的可控生长^[21]。在溶剂热法合成流程中,首先需将稀土盐前驱体、氟源与钠源等反应物与选定溶剂共同混合,并引入含特定官能团的表面活性剂或配体,随后将反应液密封转移至高压反应釜加热反应,冷却后经离心洗涤与干燥获得UCNPs产物。该方法可通过调节反应物浓度、反应时间、反应温度、介质pH值等参数,达到控制纳米晶的形状、大小和结构的效果^[22],相较于其他方法,其优势主要体现在其可在相对更低温度下获得结晶度较高的产物,在分子和原子水平上发生的反应具有较高的反应活性,且产物高度均匀并可在同一密闭体系内实现多步反应的串联或并行^[23,24]。值得注意的是,溶剂热法需要高压釜等专用装置,且由于反应在密闭环境中进行,难以观测纳米晶生长过程且制得的

UCNPs具有亲水性不足等缺点^[25]。

3.1.4 溶胶凝胶法

溶胶是由直径为1~100 nm的胶体颗粒形成的分散体系,凝胶则是由胶体粒子在一定条件下互相连接,形成的空间网状结构。溶胶凝胶法是通过前驱体在溶液中发生水解或络合形成稳定溶胶,然后经缩聚反应得到凝胶网络,经老化与干燥得到干凝胶,再通过煅烧或退火生成晶相和致密化结构,从而获得稀土掺杂的UCNPs。该方法的优势在于掺杂组分在溶液阶段即可实现均匀分散,因而有利于控制反应物的计量比和批量化生产。但对于在制备单分散、晶相可控的氟化物UCNPs(如 β -NaYF₄),凝胶后的晶化过程往往依赖较高温热处理,易引起颗粒长大、团聚及粒径分布变宽,使其在直接合成单分散UCNPs纳米晶方面应用相对受限。需要指出的是溶胶凝胶法在制备SiO₂包覆层和生物偶联时有更为广泛的应用。Chavez等^[16]利用溶胶-凝胶法制备了掺有Yb³⁺和Er³⁺的UCNPs, Y₂O₃和Gd₂O₃,制备的UCNPs涂有薄的二氧化硅壳,并用氨基官能化以进一步与叶酸结合,以使其与细胞表面的叶酸配体相互作用以应用于生物成像,作为诊断和可视化癌细胞的重要工具。

表1 UCNPs的合成方法与优缺点

Tab. 1 Synthesis methods of UCNPs and their advantages and disadvantages

| 合成方法 | 基本特点 | 优点 | 缺点 | 适用场景 |
|--------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--|
| 热分解法 | 稀土有机前驱体在高沸点有机溶剂中高温分解成核生长 | 结晶度高;粒径均一;形貌可控;发光性能好 | 条件苛刻;温度高;产物疏水需后续亲水化,易产生有毒废物 | 适合制备高亮度、高单分散UCNPs探针 |
| 化学共沉淀法 | 稀土盐与沉淀剂在溶液中反应生成沉淀,经后处理形成UCNPs | 操作简单;成本低;产率高;易放大生产 | 粒径分布较宽;形貌可控性差;易团聚 | 适合低成本、大批量制备,对粒径均一性要求不极端的体系 |
| 溶剂热法 | 前驱体在密闭高温高压溶剂中反应成核结晶 | 晶体质量较好;形貌可调;反应条件相对温和;组分均匀;计量易控 | 需高压设备;过程不可实时监测;放大生产受限 | 适合制备形貌可控、均匀性好的UCNPs |
| 溶胶凝胶法 | 前驱体经水解、缩聚形成凝胶,再热处理获得目标材料 | 适合表面包覆 | 常需高温晶化;易团聚;直接制备高质量UCNPs受限 | 适合SiO ₂ 壳层包覆、表面功能化和生物偶联界面构筑 |

3.2 UCNPs的表面功能化

上述各种方法制备的多数UCNPs常被油酸,油胺等长链疏水配体包覆,疏水性配体能使其稳定分散于非极性有机溶剂中,同时也限制了在生物缓冲液中的分散以及与生物分子的偶联,这导致其在生物分析与诊疗相关场景中的应用受到限制^[27]。理想的UCNPs不仅需要具备良好的发光性能,同时也应具有一定的亲水性。表面亲水性修饰对提高疏水性配体覆盖的UCNPs偶联识别配体能力,进而高特异性结合目标物具有十分重要

的意义。尤其在侧向层析检测中,UCNPs需要进行亲水化改性以实现与识别分子的有效偶联,常用的表面修饰方法有配体交换法、配体去除法、配体氧化法、表面硅烷化,两亲聚合物涂层法和逐层组装法等。

3.2.1 配体交换法

配体交换法是对UCNPs的常用修饰方法,其基本原理是通过配位竞争用亲水性强且对表面金属位点(如Ln³⁺)具有更强配位能力的新配体替换原始疏水配体,从而改善基团的亲水性。常用亲

水性交换配体主要有双膦酸盐^[28,29]、磷酸盐^[29]、羧酸等小分子化合物和聚合物(PAA^[30]、PEI^[31,15]、两亲性聚合物、磷脂膜)两大类。小分子配体易于形成规整单层,聚合物配体则能够提供多功能性并增强稳定性。在生物医学应用中的理想配体应在保证良好水分散性的同时,具备有效的水荧光猝灭屏蔽能力、优异的生物相容性和生物偶联接口^[33]。Dong等^[34]采用四氟硼酸亚硝(NOBF₄)作为中间媒介引入目标亲水配体聚乙二醇-磷酸,利用其更强的配位能力置换BF₄⁻,制得稳定的水分散性UCNPs。

3.2.2 配体氧化法

配体氧化法是实现UCNPs表面亲水化与后续生物偶联的一类化学改性策略,其核心思路是利用强氧化剂对颗粒表面疏水配体中可反应的结构单元进行选择氧化,典型情形为对油酸等含碳碳双键(C=C)的配体进行氧化裂解和官能团转化,使疏水配体转变为具有羧基端基的亲水性二羧酸(如壬二酸),从而在不显著改变UCNPs形貌、晶相、组成及上转换发光特性的前提下,显著提升其水分散性,并在颗粒表面引入活性-COOH位点。配体氧化法的主要优势在于其无需引入外源配体,能够避免配体交换不完全导致的脱附问题,修饰层通过化学键与颗粒表面连接,稳定性优于物理吸附。该方法的反应条件相对温和,对纳米颗粒核心结构损伤较小等优点且产物表面羧基能够直接用于生物偶联。

3.2.3 配体去除法

配体去除法是一种通过直接去除油胺和油酸等UCNPs表面疏水配体来实现水相分散与后续生物偶联的表面改性策略。与配体交换法相比,配体去除法通常不会显著增加颗粒外层厚度,因此更有利于维持较小的水合粒径,具有操作简便、处理效率较高和成本较低等优势。该方法通常采用酸处理或乙醇辅助搅拌、超声等方式,使表面羧酸盐型疏水配体发生质子化并从颗粒表面脱附;处理后的UCNPs可进一步与含羧基、氨基、羟基或巯基的亲水分子直接配位或修饰,从而获得具有良好水溶性和生物功能化的纳米探针。然而,配体去除后的UCNPs由于表面能升高,往往存在易团聚的问题,因此实际应用中常需进一步引入含羟基、羧基、氨基或巯基等基团的水溶性新配体进行二次表面修饰,以同时获得良好的水溶性、胶

体稳定性与识别分子偶联能力。

3.2.4 表面硅烷化

UCNPs的表面硅烷化是指利用烷氧基硅烷前驱体在纳米颗粒表面发生水解-缩合反应,构筑二氧化硅(SiO₂)或有机硅网络壳层的一类无机化表面处理策略,其核心目的在于改善纳米颗粒的亲水性并获得适合生物偶联的活性界面。硅壳具有较高的化学稳定性、生物相容性与光学透明性,同时可通过引入羧基、胺基等不同官能团为其与抗体、核酸等生物分子的结合提供反应位点,从而满足生物识别与界面耦联等多样化需求。

根据UCNPs的水溶性差异,其表面硅烷化方法主要有Stöber溶胶-凝胶法和反相微乳法两种。Stöber溶胶-凝胶法是在水相体系中,以正硅酸乙酯(TEOS)等烷氧基硅烷为前驱体,通过水解和缩聚反应在纳米颗粒表面原位生长均一致密的SiO₂壳层,主要针对已进行过亲水化处理或在水溶液中能形成稳定分散体系的UCNPs,而面仍保留油酸等疏水配体的UCNPs,则常用反相微乳法包覆SiO₂壳层。反相微乳液法是在油相中利用表面活性剂形成微小水滴作为反应空间,通过调控氨、环己烷、表面活性剂和TEOS组成微乳液的比例和反应条件,使硅烷前驱体在UCNPs表面可控水解缩聚,从而实现SiO₂壳层均匀包覆的方法。Yahya A等^[35]通过反相微乳液法,使用6 mg UCNPs、1.5 mL Igepal CO-520、0.25 mL氨水和50 μL (TEOS),包覆了厚度为8 nm的硅壳,构筑了核壳结构的氟化钇锂基(YLiF₄:Yb,Er)UCNPs。

在应用层面,构筑致密硅层可在一定程度上屏蔽外界环境对UCNPs内核的影响、提升结构完整性与信号保持能力,从而增强探针在复杂体系中的稳定性。

3.2.5 两亲聚合物涂层法

两亲聚合物涂层法是针对表面带有油酸等疏水配体的UCNPs,通过两亲聚合物分子中疏水段与纳米晶疏水配体之间的相互作用,将聚合物稳定包覆于纳米颗粒表面,并暴露出亲水端^[33],从而提高UCNPs的水分散性和生物应用所需的界面特性,同时疏水性链段可形成疏水层,抑制纳米晶的表面猝灭效应^[10]。Černič等^[36]优化了基于聚马来酸酐和双六亚甲基三胺(BHMT)的保护性两亲聚合物涂层,用于提高UCNPs在模拟生理条件下的化学稳定性。并通过动态光散射和zeta电位测量来

评估裸露和涂层UCNPs的水分散体的胶体稳定性和测量溶解的氟化物的浓度以电位法评估UCNPs在37 °C下在磷酸盐缓冲盐水中的溶解情况。

3.2.6 逐层组装法

逐层组装法是基于异种电荷之间的静电作用,通过在UCNPs表面依次吸附带相反电荷的有机聚合物构建多层包覆结构,从而获得良好的亲

水性和可调控的表面化学性质。由于静电作用具有较强的稳定性,逐层组装法不仅适用于不同尺寸和形貌UCNPs的表面改性,而且能够获得组成多样、厚度可控且分布均一的包覆层,因此在生物分析与生物医学应用中具有良好的适用性。逐层组装法在实际应用需要考虑多层壳层引入后对尺寸、传质过程及信号输出的影响。

表2 UCNPs常用表面功能化方法的比较

Tab. 2 Comparison of common surface functionalization methods

| 表面功能化方法 | 基本原理 | 优点 | 缺点 | 适用性 |
|----------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 配体交换法 | 利用亲水性配体替换原有疏水配体 | 提高水分散性;引入偶联位点;提高胶体稳定性等 | 配体交换可能不完全;部分配体层会增加水合粒径 | 适合制备水分散UCNPs抗体和适配体探针 |
| 配体氧化法 | 利用强氧化剂将配体氧化为含羧基的亲水性配体 | 不需完全去除原始配体;对UCNPs晶相、形貌和发光影响较小 | 只适用于含可氧化结构的配体;氧化程度需精确控制 | 适合需要羧基化表面的UCNPs-LFA探针 |
| 配体去除法 | 通过酸处理等方式去除疏水配体,暴露裸露表面 | 操作简单;粒径增加小;便于后续再修饰 | 裸露颗粒易团聚;稳定性较差 | 适合对探针尺寸要求较高的LFA体系 |
| 表面硅烷化法 | 在UCNPs表面形成SiO ₂ 或有机硅壳层 | 稳定性好;生物相容性好;官能团丰富 | 壳层增大粒径;包覆条件需优化 | 适合高稳定性、高偶联效率UCNPs-LFA探针 |
| 两亲聚合物涂层法 | 利用疏水作用包覆油相UCNPs,外层提供亲水基团 | 条件温和;水分散性好;疏水层可一定程度抑制表面猝灭 | 聚合物层较厚;物理包覆稳定性有限 | 适合制备稳定分散的UCNPs生物探针 |
| 逐层组装法 | 通过静电作用交替沉积带相反电荷的聚电解质 | 层数和表面电荷可调;功能拓展性强 | 粒径明显增大;复杂体系中稳定性不足 | 适合多功能复合探针,但需验证层析迁移性 |

3.3 UCNPs的生物偶联

在UCNPs-LFA系统中,抗体类生物识别分子与纳米颗粒的生物偶联对检测性能至关重要。抗体通常通过物理吸附、共价偶联或链霉亲和素-生物素耦合方式固定,所选策略决定了抗体的结构、取向及稳定性。这些因素共同调控抗原识别效率、灵敏度及可重复性^[37,38]。

物理吸附依赖于静电、疏水及氢键相互作用。该方法避免了剧烈的化学修饰,所以对抗体功能影响较小。但其缺乏对抗体取向和稳定性的控制,可能会降低抗原结合效率和检测重复性^[39]。相比之下,共价偶联通过纳米颗粒表面基团(通常为-COOH、-NH₂或-SH)与抗体之间的化学键实现稳定连接。广泛采用的碳二亚胺法利用1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和磺酰-N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)来活化羧基,促进与抗体胺基残基形成稳定的酰胺键(图4a)。例如,Wen等^[40]利用该策略将抗啉乙醇(OLA)多克隆抗体成功固定于UCNPs表面,实现对OLA的特异性识别。Ekman等^[41]采用EDC/NHS法将抗CA125和抗CA15-3抗体共价偶联至基于NaYF₄的UCNPs,用于双分析物检测。尽管EDC/NHS偶联法具有较高的化学稳定性,但通常会导致抗体取向

随机化,进而通过立体位阻或抗原识别位点的取向失调来降低抗原结合效率^[42]。

巯基-马来酰亚胺反应为定向偶联提供了一种特异性替代策略(图4b)。该方法中,连接抗体铰链区半胱氨酸残基的二硫键被三(2-羧乙基)膦(TCEP)或2-巯基乙胺(2-MEA)还原为活性巯基,随后这些巯基与经马来酰亚胺功能化的纳米颗粒(通过马来酰亚胺修饰的聚合物或NHS酯制备)反应,形成稳定的硫醚(C-S)键^[43]。但需注意,抗体内部二硫键的还原会破坏其天然构象,可能影响抗体生物活性^[44]。链霉亲和素-生物素系统还能够利用极强的非共价相互作用进行偶联^[45]。在该方法中,生物素化抗体被固定于链霉亲和素包被的UCNPs上。该方法的一个关键优势在于可缓解空间位阻:生物素化试剂具有的长间隔臂将抗体延伸至远离纳米颗粒表面的位置,从而显著增强了抗原结合位点的可及性。

3.4 试纸条检测性能优化策略

尽管UCNPs在LFA中的应用展现出显著优势,其实际检测性能仍受制于多重因素如发光效率^[46]、信号输出强度以及信号的采集方式与解析算法的优化^[47]等,本小节将从这三个方面介绍上转换纳米颗粒的层析试纸条检测优化策略。

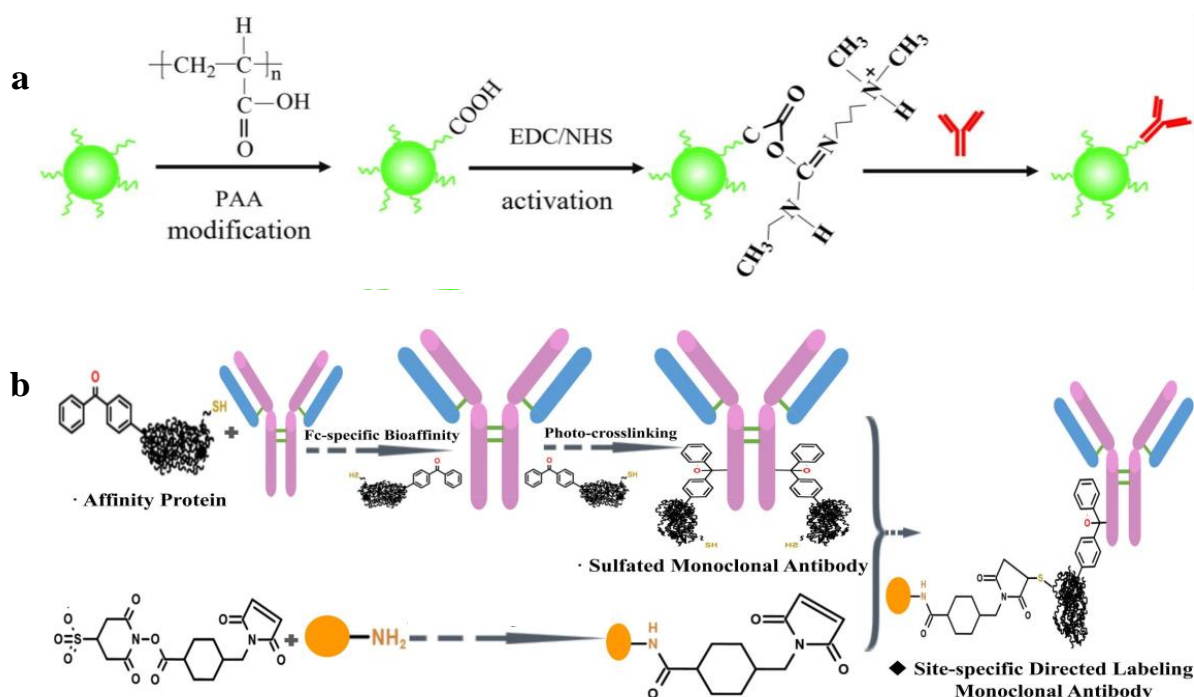


图4 (a)聚丙烯酸(PAA)修饰及EDC/NHS活化介导的纳米颗粒与抗体的偶联策略,(b)硫醇(-SH)与马来酰亚胺(MA)基团反应偶联策略。^[40,43]

Fig. 4 (a)Conjugation strategy of nanoparticles to antibodies via polyacrylic acid (PAA) modification and EDC/NHS activation. (b)Conjugation strategy based on the reaction between thiol (-SH) and maleimide (MA) groups.

3.4.1 发光强度

LFA的检测灵敏度在很大程度上依赖于信号标记物的强度,因此UCNPs发光强度的提高可以大大提高检测灵敏度。然而,UCNPs的发光效率可能会被几个因素降低,包括低吸收效率、表面缺陷和浓度猝灭。最常用的方法是提高纳米晶的尺寸,Jin等^[48]通过调节UCNPs上的粒径和探针密度以实现高性能LFA,其工作表明UCNPs的尺寸从50 nm提高到500 nm可将发光强度提高十倍(如图5所示)。也可以构建核-壳-活性壳结构,采用NaYF₄:Yb,Er(或Tm)@NaYF₄:Yb@NaYF₄三层结构,利用掺杂敏化离子的活性壳保护发光核,并且能吸收更多980nm激发光能量,通过能量传递向核内输送。

3.4.2 信号输出强度

在试纸条体系中,生物信号强度不仅取决于UCNPs的发光强度,还与目标物在测试区的富集程度,探针的装载密度和固相界面反应效率密切相关。因此,从层析过程角度出发对信号形成过程进行放大是提升检测灵敏度的另一核心思想。Tang^[49]等将透析法与LFA的整合,液通过将半透膜、玻璃纤维和PEG缓冲液整合进LFA,成功实现

了样品浓度和检测并利用3D打印侧流装置,实现单一试纸中靶标浓度和检测,将核酸检测信号增强10倍。Chen等^[50]通过在NC膜表面构建UCNPs单层自组装,提高了表面探针与目标分子的接触效率,得到了对miRNA从2 nM至1 fM的超宽检测范围。Han^[64]等通过增加光敏壳层并降低激活剂浓度,开发了具有强800 nm发射的近红外长寿命发光纳米颗粒(NLL NPs)。基于NLL的NP时间门控成像克服了稳态成像的固有局限,提供了更高的信噪比和更稳健的信号强度。

3.4.3 信号采集方式与解析算法优化

除了信号强度之外,更准确的识别和稳定的判读识同样决定UCNPs-LFA体系的实用价值。在识别元件层面,抗体、适配体和探针是当前最常用的生物识别分子,其选择需与目标物类型、表位特征和检测模式相匹配。近年来,抗原结合片段、纳米抗体和单链抗体等基因工程抗体因具有高亲和力、高稳定性和较低生产成本,被认为是提升识别效率和体系鲁棒性的潜在方向。与此同时,表面功能化程度、偶联方式及非特异吸附控制也会直接影响识别特异性和试纸条重复性。在信号判读层面,比值化和内标校准策略能够显著提高定

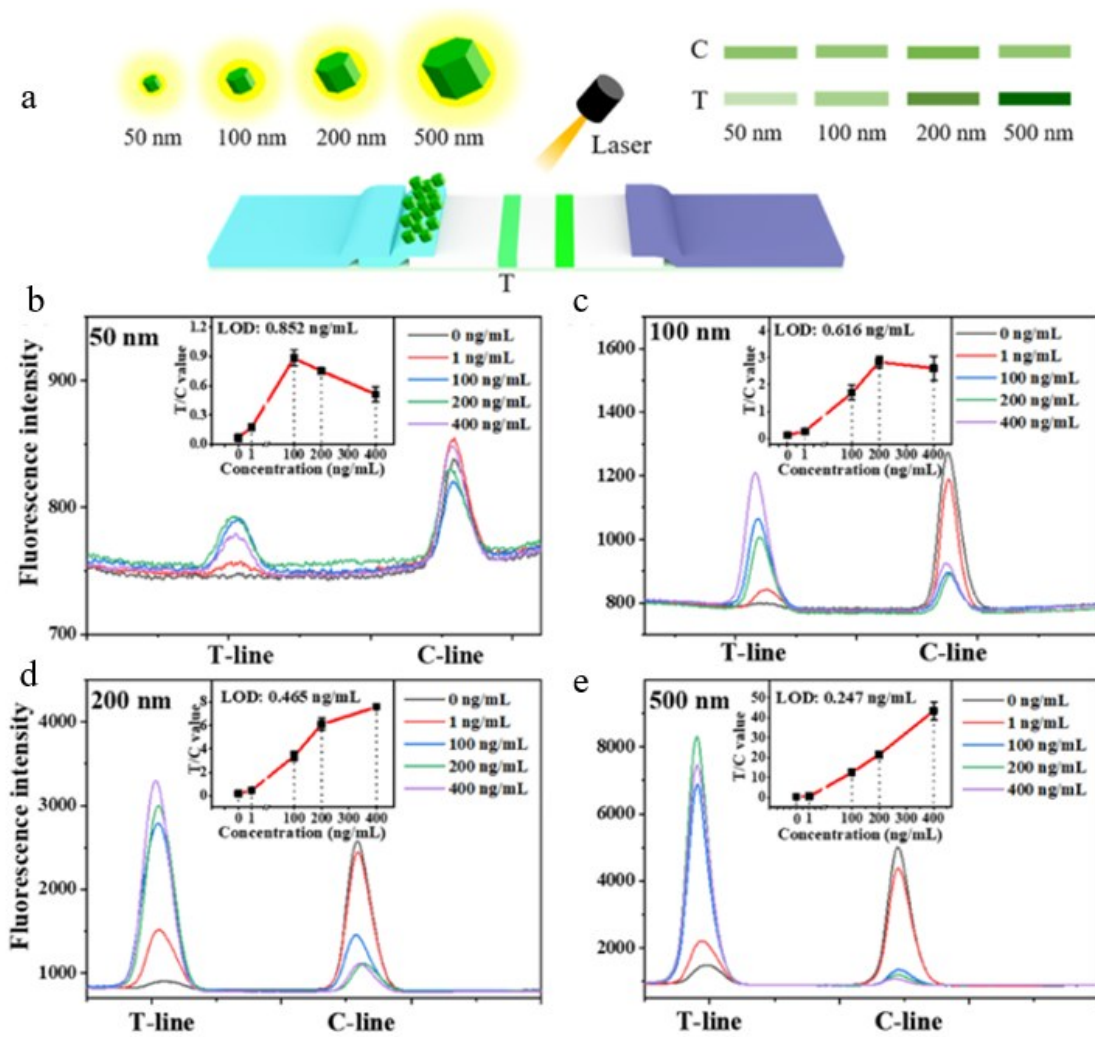


图5 优化粒径对检测性能的影响^[48] (a) 颗粒尺寸影响T线和C线荧光信号的示意图。(b) 50 nm UCNP、(c) 100 nm UCNP、(d) 200 nm UCNP和(e) 500 nm UCNP检测CRP的荧光波形。插图显示T/C值与CRP浓度之间的关系。

Fig. 5 Effect of optimized particle size on detection performance (a) Schematic illustration of the effect of particle size on the fluorescence signals of the T and C lines. Fluorescence waveforms for CRP detection using (b) 50 nm UCNPs, (c) 100 nm UCNPs, (d) 200 nm UCNPs, and (e) 500 nm UCNPs. The inset shows the relationship between the T/C ratio and CRP concentration.

量可靠性。Guo等^[51]构建了一种正交发射上转换纳米粒子单线侧向流动测定平台,通过集成检测与校正信号于同一检测线,实现了对黄曲霉毒素B1的快速、准确、高通量定量检测。

3.4.4 非特异性吸附抑制

非特异性吸附(non-specific adsorption, NSA)被认为是限制侧向流免疫分析(LFA)灵敏度和定量准确性的核心瓶颈之一,其本质来源于膜材料与生物分子之间不可控的界面相互作用,包括疏水作用、电荷驱动吸附以及纳米探针表面缺陷引发的非特异结合。在传统LFA体系中,NSA通常表现为测试线背景升高及假阳性信号,其影响在低浓度检测条件下尤为显著,直接决定了体系的

检测限和信噪比。

从界面层面来看,抑制NSA的关键在于构建低表面能且具有空间位阻的抗污染界面。通过表面功能化处理,在UCNPs表面引入亲水性、电中性或带负电的聚合物涂层,形成空间位阻或水化层屏障,以抑制血清蛋白等生物大分子的非特异性粘附。在体系层面,NSA的调控依赖于反应环境的精细设计。即选择适宜孔径与表面特性的NC膜型号、采用定向抗体固定技术,并在缓冲液中引入离子强度调节剂、聚阴离子阻断剂(如BSA,酪蛋白,PVP等)及非离子表面活性剂(如Tween 20),结合自动化洗涤步骤,通过化学阻抑与物理冲洗共同降低背景吸附。

表3 UCNPs的优化策略与效果

Tab. 3 Optimization Strategies and Results for UCNPs

| 优化维度 | 优化策略 | 提升效果 | 适用场景 |
|----------|-----------------------------------|-------------------|---------------|
| 提升荧光性能 | 粒径调控 ^[48] | 增强上转换发光强度 | 高亮度探针设计 |
| 提升荧光性能 | 构筑核壳和多壳层结构 ^[52] | 提高荧光强度、量子产率和信噪比 | 高灵敏检测体系 |
| 提升荧光性能 | 稀土离子掺杂优化 ^[53] | 提高发光效率 | 比值型和多模态检测平台 |
| 提升荧光性能 | 表面钝化与抗水淬灭修饰 ^[54, 55] | 维持水相分散条件下的稳定发光 | 生物偶联后的水相检测体系 |
| 增强生物物信号 | 样本预浓缩 ^[49] | 提高低丰度样本检出能力 | 少量核酸和低浓度蛋白检测 |
| 增强生物物信号 | 装载探针高密度 ^[56] | 放大检测响应,提高灵敏度 | 高灵敏度检测低丰度靶标 |
| 增强生物物信号 | 膜表面有序组装 ^[57] | 增强测试区有效信号并改善重复性 | 高性能定量检测平台 |
| 增强生物物信号 | 生物素-链霉亲和素信号放大 ^[58, 59] | 提高灵敏度和分析稳定性 | 免疫层析和核酸层析体系 |
| 增强生物物信号 | 构建多模态复合探针 ^[60] | 降低检测下限,提高复杂样本检测能力 | 现场快速检测和复杂基质分析 |
| 提高信号识别能力 | 高亲和识别元件筛选 ^[61] | 提高检测特异性、准确性和抗干扰能力 | 复杂样本和多组分检测 |
| 提高信号识别能力 | 校准比值化和内标 ^[62] | 提高定量可靠性和结果可比性 | 精准定量与单线检测平台 |
| 提高信号识别能力 | 时间门控检测 ^[63, 64] | 提高信噪比和弱阳性识别能力 | 高灵敏荧光读出系统 |
| 提高信号识别能力 | 优化便携式读出系统 ^[65] | 提高检测稳定性和现场应用能力 | POCT平台开发 |
| 提高信号识别能力 | 智能算法判读 ^[66, 67] | 提高判读一致性和自动化水平 | 手机终端和智能检测设备 |
| 非特异性吸附抑制 | 表面亲水和抗污修饰 | 提高信噪比和重复性 | 复杂生物样本 |
| 非特异性吸附抑制 | 缓冲体系优化 | 减少非特异结合 | 现场检测体系 |

3.5 不同UCNPs在LFA体系中的差异

不同UCNPs在LFA体系中的差异主要体现在激发波长、粒径尺寸、核壳结构、发射颜色及表面功能化策略等方面。激发波长方面, Yb³⁺敏化的980 nm激发体系能量转移效率高、发光强,但水吸收引起的热效应可能影响抗体活性与层析重复性;而Nd³⁺敏化的808 nm体系热效应低、生物相容性更好,适用于含水样本,但发光效率相对较低且材料设计更复杂。粒径尺寸对检测性能影响显著,增大粒径可使发光强度显著提升,从而提高灵敏度,但过大的粒径可能干扰层析迁移。核壳结构能有效抑制表面淬灭、增强发光强度和量子产率,提升LFA信噪比。发射颜色方面,利用红、绿、蓝或多色UCNPs可构建多T线试纸条实现多靶标同步检测,近红外二区(NIR-II, 1000-1700 nm)发射则具有深层组织穿透和极低背景优势。表面功能化方法影响水分散性、偶联效率及非特异性吸附。此外,通过离子掺杂(如Lu³⁺、La³⁺)或能量传递调控可进一步优化发光效率和检测灵敏度。因此,实际应用中需根据检测场景对发光强度、热效应、多重检测能力及工艺复杂性进行权衡,选择最适宜的UCNPs体系。

4 基于上转换纳米粒子的侧向层析检测应用

基于超高灵敏度、极低背景干扰、卓越光稳定性及便携操作特性,UCNPs-LFA技术在精准医学、POCT、公共卫生监测以及个性化健康管理等领域展现出广阔的应用前景。通过系统性整合基

质材料、器件工程技术及现场实际应用需求的优势,可构建一种兼具实验室级精准度、现场标准化操作与自主智能特性的新型分析平台,将高性能检测技术转化为普惠型服务工具。本节将依据不同的应用场景,分别阐述UCNPs-LFA在生物医学诊断、食品安全分析及环境监测领域的研究进展与应用实践。

4.1 生物医学诊断

当代生物医学诊断正经历深刻的产业变革,催生出一系列服务于精准检测的新型技术。其中,UCNPs-LFA技术凭借其超高的信噪比,近年来受到广泛关注,并被成功应用于多种疾病标志物的痕量检测。该技术不仅能够实现标志物的高灵敏度、快速检测,有效支撑患者的早期筛查与临床诊断;还能在家庭、基层诊所及资源匮乏地区等复杂环境下,开展超高灵敏度的实时检测,从而助力医疗资源的优化配置^[68, 69]。此外,便携式设计与用户友好的操作特性,使其能够便捷地放置于家庭等私人场景,并有望成为未来医疗健康服务最可靠的基石之一。

4.1.1 心血管疾病标志物检测

心血管疾病是全球范围内的首要死亡原因,每年夺走近2000万生命,患者总数超6亿,给各国家与医疗系统带来沉重负担。为应对这一严峻挑战,UCNPs-LFAs技术致力于为潜在患者提供便携式检测手段,构建日常生活中的居家检测新模式,从而推动从被动救治向主动预防的关键转变^[70]。作为急性心肌梗死(AMI)诊断的“金标准”核心生物标志物,心肌肌钙蛋白I(cTnI)的检测需要具备

超高的灵敏度与精准度,以满足临床对早期、快速、准确识别心肌损伤的迫切需求。针对这一需求, Wang^[71]团队设计出超亮的 NaLuF₄@NaLuF₄:Yb, Er@NaLuF₄核-壳-壳上转换纳米晶体,该结构有效抑制了中间发光壳层内的交叉弛豫及表面淬灭效应,显著提升了发光效率。经过 PAA 表面修饰、EDC-HS 介导的抗体偶联及试纸条组装后,研究者基于智能手机摄像头设计了便携式检测平台。该平台检测线性范围为 0.05-100 ng/mL,在缓冲液和血清中的检测限分别为 0.035 ng/mL 和 0.059 ng/mL。Li 等^[72]利用 Yb/Er/Nd/CuO UCNPs 构建了一种双色纳米探针,通过 Nd³⁺与 Er³⁺间的交叉弛豫效应增强红光发射,从而显著提升检测灵敏度。在 980 nm 激光二极管的激发下,该试纸通过独特的红黄荧光通道,成功实现了对 cTnI 与心肌肌钙蛋白 T (cTnT)这两种 AMI 生物标志物的同时识别与精确定量检测。该检测在 0.001-50 ng/mL 范围内表现

出良好的线性响应,对两种目标物的检测限均低至 0.001 ng/mL。与此同时,Huang 等^[73]开发了一种基于 NaYF₄:Yb, Er@NaYF₄@SiO₂-COOH 核壳结构的 LFA 检测系统,以 T 线和 C 线之间的荧光强度比来量化 cTnI 浓度(图 6a)。该方法动态范围宽达 0.1-50 ng/mL,检测限为 0.1 ng/mL。研究团队进一步将成果与 5G 技术深度融合:借助 5G 智能手机,在救护车端采集的检测结果可实时上传至医院云端进行存储与分析。此外,LFA 技术可用于心力衰竭(HF)疾病的特异性检测。如图 6b 所示,You 等^[6]针对两种 HF 生物标志物 BNP 和 ST2,设计了一种基于 NaYF₄:Yb,Er@NaYF₄和 NaYF₄:Yb,Tm@NaYF₄双色上转换纳米晶的多重检测试纸结构,该结构分别包含两条嵌有 BNP 与 ST2 抗体的 T 线和一条 C 线,实现了双标志物的同步检测。经临床血清样本验证,ST2 的最低检测浓度为 29.92 ng/mL,BNP 为 17.46 pg/mL。

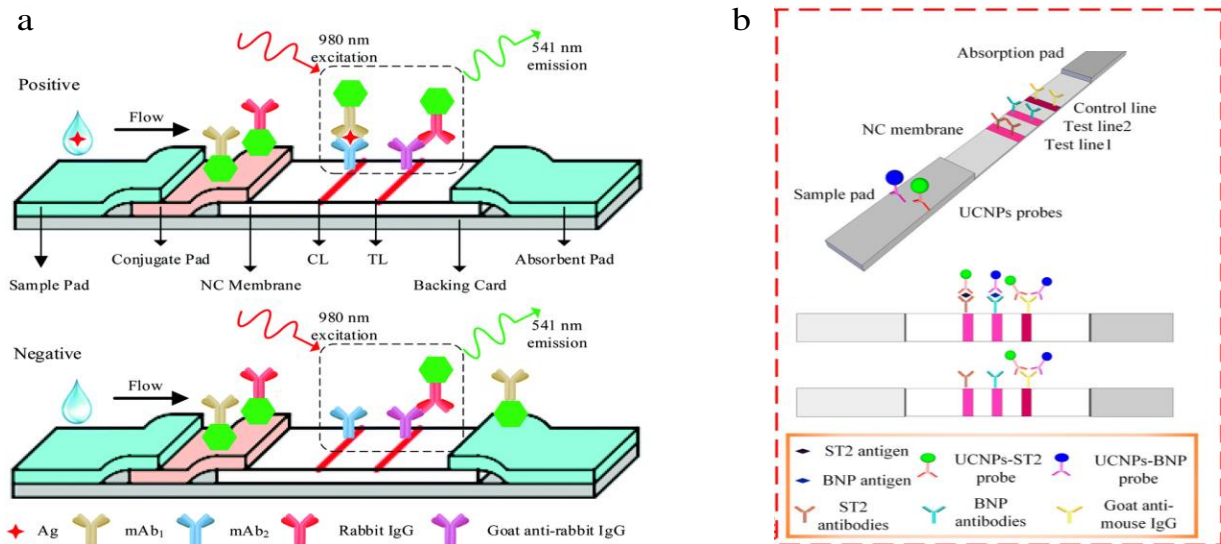


图 6 (a) 基于夹心模式构建用于定量检测 cTnI 的 LFAs 示意图, (b) 基于双色上转换纳米晶的双 T 线检测示意图^[6,73]

Fig. 6 (a) Schematic illustration of the sandwich format-based LFAs for quantitative detection of cTnI. (b) Schematic diagram of dual T-line detection based on dual-color UCNPs.

4.1.2 肿瘤标志物的高灵敏筛查

癌症作为另一类严重威胁人类健康的重大恶性疾病,因其发病机制复杂、潜伏期长且中晚期疗效有限,已成为仅次于心血管疾病的全球第二大死因,给患者生存质量与社会医疗体系带来了严峻挑战。先进的 UCNPs-LFA 技术有望推动潜在早期患者实现居家实时自检,为癌症早筛开辟新路径。以卵巢癌为例,其中上皮性卵巢癌(EOC)约占所有卵巢癌病例的 90%,是最常见且致死率最高的病理类型。CA125 和 CA15-3 抗原

的 STn-糖基化形式可作为该恶性肿瘤的特异性筛查生物标志物^[74,75]。Ekman^[41]团队构建了单 T 线双标记 LFA,分别利用 NaYF₄:17%Yb, 3%Er 上转换纳米晶体的绿色发光(540 nm)与 NaYF₄:20%Yb, 0.5%Tm 上转换纳米晶体的蓝色发光(450 nm),实现了对 CA125-STN 与 CA15-3-STN 的多重检测。通过引入带通滤光片,有效规避了稀土离子之间的光谱串扰问题,显著提升了检测灵敏度。前列腺癌(PCA)作为男性发病率第二高的恶性肿瘤,同样面临早期筛查手段不足的困

境。Yuan 等^[32]开发了一种基于上转换纳米颗粒(UCNPs)的侧向免疫层析试纸条,用于前列腺特异性抗原(PSA)的定量检测。通过构建 NaYF₄:Yb,Er@NaYF₄核壳结构 UCNPs 并对其进行聚丙烯酸表面修饰,实现了高效抗体偶联与良好水分分散性。优化后的试纸条在 0~500 ng/mL 范围内呈现良好线性关系,检测限低至 0.563 ng/mL,并表现出优异的特异性、稳定性和血清基质回收率(88.7%~103.2%)。该平台操作简便、响应快速,为前列腺癌的早期筛查和即时检测提供了灵敏可靠的新策略。Hu 等^[76]采用水溶性羧基功能化 UCNPs 作为荧光纳米探针,构建了针对 PSA 的侧向层析检测平台。通过升级激光光源,纳米探针的上转换发光亮度提升十倍,进而实现了对 PSA 的高灵敏度检测。NIR-II 检测技术因其卓越的深层组织穿透能力、极低的背景干扰以及高空间分辨率,始终处于生物学成像与传感领域的研究前沿^[77,78]。基于此,Song 等^[79]设计了一种 NaYbF₄@NaYF₄:70%Nd@NaYF₄核壳结构的 NIR-II 纳米探针。在该体系中,Nd³⁺作为能量供体,Yb³⁺作为能量受体,实现了高达 80.7% 的能量转移效率。进一步将该探针应用于肝癌(HCC)标志物甲胎蛋白(AFP)的检测,构建的 NIR-II LFAs 在 7 至 200 ng/mL 范围内展现出良好的线性响应,检测限低至约 3 ng/mL,较临床判定阈值降低了 8.3 倍。

4.1.3 肾脏疾病与炎症标志物检测

肾脏作为人体泌尿系统的核心器官,主要负责排泄体内代谢废物与毒素,是维持机体内环境稳定的重要基础。肾脏疾病具有发病率高、致残

率和死亡率高以及医疗负担重等特点。若能通过早期检测实现前瞻性干预,则可有效控制病情,阻止或显著延缓其向肾衰竭的进展^[80]。在临床上,肾脏疾病通常被分为急性肾损伤(AKI)与慢性肾脏病(CKD)两大类。针对急性肾损伤的检测,Arai 等^[65]选取了肾损伤分子-1(KIM-1)及中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)作为相关生物标志物。他们基于等离子体共振增强策略,设计并构建了一种 UCNPs (NaYF₄:20%Yb,2%Er@NaYF₄/NaYF₄:25%Yb,0.5%Tm@NaYF₄)@mSiO₂@Au@PAA 复合纳米材料。该设计不仅显著增强了材料的上转换发光强度,还确保了其在水相体系中的稳定性。如图 7a 所示,通过将 LFA 技术集成到便携式荧光检测设备中,其团队构建了一套可利用智能手机采集并解析 545 nm 及 475 nm 上转换发光信号的检测系统。该系统可在 0.1-20 ng/mL 的工作范围内实现对两种生物标志物的同步定量分析,其检测限分别为 0.28 和 0.23 ng/mL。Wen 等^[81]以 β 2-微球蛋白(B2M)作为慢性肾脏病(CKD)的早期标志物,通过改性 NaYF₄:20%Yb,2%Er UCNPs 表面,成功实现了对该指标的高灵敏度 LFA 定量检测。该纳米晶首先经两亲性聚合物 DSPE-PEG-COOH 进行功能化修饰,随后引入羧甲基- β -环糊精(CM- β -CD)驱动其自组装过程。基于此复合纳米材料构建检测 B2M 的层析试纸条,检测限低至 2.7 ng/mL(图 7b)。性能提升主要得益于 CM- β -CD 的双重贡献:其增强了纳米粒子的荧光强度和水溶液稳定性,同时其丰富的表面羧基在偶联过程中显著提高了抗体负载能力。

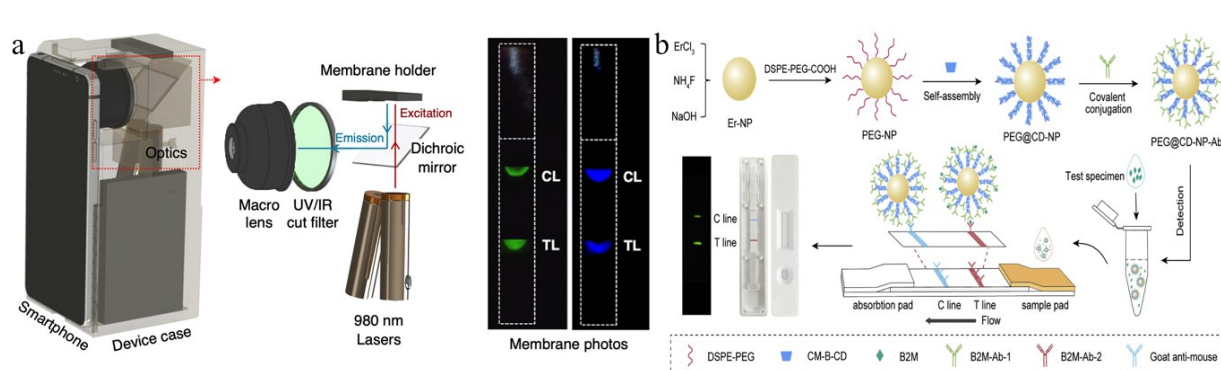


图 7 (a) 集成智能手机的 UCNPs-LFAs 的工作原理示意图,(b) CM- β -CD 介导的 UCNPs-LFAs 平台用于慢性肾病生物标志物检测的原理示意图。^[65,81]

Fig. 7 (a) Schematic diagram illustrating the working principle of UCNPs-LFAs integrated with a smartphone. (b) Schematic diagram depicting the principle of the CM- β -CD-mediated UCNPs-LFAs platform for the detection of chronic kidney disease biomarkers.

炎症作为机体应对感染、组织损伤或自身免疫紊乱时启动的基础防御反应,其相关特异性标志物的即时、精准检测对于临床早期干预与病情分层管理具有关键意义。Song等^[82]采用羧基功能化的UCNPs@SiO₂作为LFAs的荧光信号探针,实现了对C反应蛋白(CRP)与血清淀粉样蛋白A(SAA)两种关键肝脏源性急性炎症标志物的高灵敏、快速检测。在全血样本检测中,以C线与T线上转换荧光强度比值对CRP和SAA浓度进行定量分析,两者均达到0.1-50 ng/mL的线性范围及0.05 ng/mL的检测限。He等^[83]则开发了一种圆盘状试纸结构,可同时识别牙周炎相关的三种生物标志物(基质金属蛋白酶-8、白介素-1 β 及肿瘤坏死因子- α),从而拓展了炎症性疾病检测范围。该圆盘状检测平台通过优化布局,有效降低了三个检测区之间的串扰,显著提升了检测体系的稳定性与可靠性。通过分析纳米晶体的绿色上转换发光强度实现定量检测,对应生物标志物的检测限分别为5.455、0.054和4.439 ng/mL。此外,Ghorbanpour等^[84]提出了一种早发型子痫前期(EOPE)诊断的新策略,基于FKBPL与CD44的浓度比值建立了UCNPs-LFA检测方法,为该病的诊断提供了新的技术路径。CD44和FKBPL的检测限分别为15 pg/mL和10 pg/mL。该检测方法的临床验证显示其阳性预测值为100%,阴性预测值为91%。

4.2 食品安全检测

食品安全始终是关乎全球公共卫生、社会稳定和可持续经济发展的重大战略问题。根据世界卫生组织数据,不安全食品导致超过200种疾病,涵盖腹泻至癌症等病症^[85,86]。食品安全生物标志物检测通常涵盖致病菌、残留农药及兽药、重金属离子、有害添加剂及其他化学污染物。随着食品安全管理从被动控制转向主动预防,现场检测中直接实现实验室级精度的工具需求日益迫切。UCNPs-LFA技术凭借其高灵敏度、快速定量能力和强信号抗干扰特性,正成为仓储、生产线及零售市场等场景中首选的现场快速筛查平台^[87]。

4.2.1 食源性致病菌与真菌毒素的快速筛查

食源性致病菌,如大肠杆菌、肠炎沙门氏菌及单核细胞增生李斯特菌,是引发食源性疾病及其暴发流行的主要病原体。即便在极低剂量下,此类污染仍可能诱发腹泻、发热及腹部绞痛等临床症状。这些病原体致病剂量低,加之污

染初期隐匿性强,给食源性疾病的有效防控带来了严峻挑战。为应对这一难题,研究人员开发出一系列UCNPs-LFA即时检测平台,旨在实现对病原体的快速、精准及高灵敏早期检测。Huang等^[88]采用葫芦素[7](CB[7])作为NaYF₄:18%Yb,2%Er@NaYF₄核壳结构纳米晶的配体交换试剂,在实现亲水性表面修饰的同时,最大程度地保留了材料的上转换发光性能。基于超分子自组装策略构建的高亲和力上转换纳米探针,可应用于大肠杆菌O157:H7的UCNPs-LFA检测。其卓越的荧光性能确保了 7×10^2 cfu/mL的低检测限,并显著降低检测成本。Gong等^[89]为了实现沙门氏菌(SE)及赭曲霉毒素A(OTA)的特异性定量检测,通过EDC-NHS法,将经PAA修饰的NaYF₄:18%Yb,2%Er UCNPs与抗体进行偶联,并组装成试纸条。在此基础上,结合智能手机开发出检测精度可与金标准方法媲美便携式微型检测仪。

霉菌毒素是导致肝损伤、免疫系统受损和癌症的重要诱因,其是由真菌在特定环境条件下产生的有毒化合物,极易污染小麦、玉米及大豆等易霉变作物,然后通过食物链进入人体^[90]。为有效防控谷物在储存与加工环节中的真菌毒素污染,研究人员已开发出一系列基于UCNPs-LFA技术的高效检测方法。Wu等^[91]针对赭曲霉毒素A(OTA)设计了一种新型UCNPs-LFA检测方法,成功实现了其在小麦与啤酒样本中的定量分析。该研究采用适配体功能化的高性能UCNPs作为荧光探针,通过优化偶联类型、样品负载率和NC膜迁移速率,实现了OTA的特异性定量检测,检测限为1.86 ng/mL,线性范围为5-100 ng/mL。Chen等^[92]基于热分解法合成La³⁺掺杂UCNPs,并基于此构建了UCNPs-LFA检测体系,实现了对谷物中玉米赤霉烯酮(ZEN)的特异性快速检测(图8a)。通过对检测时间、抗体偶联数量及探针浓度等参数的系统优化,该方法在最优条件下实现了0.25 ng/mL的检测限,并在实际样本验证中取得了良好效果。Zhao等^[93]因黄曲霉毒素B1(AFB1)具有强毒性和致癌性而重点研究该物质。鉴于AFB1属于小分子分析物,Zhao等基于竞争法设计了相应的UCNPs-LFA检测体系,该方法检测限达0.03 ng/mL,线性范围广达0.03-1000 ng/mL。在前述研究的基础上,Chen等^[94]进一步针对AFB1

与ZEN两种目标分析物,设计了一种具有更优检测性能的双通道UCNPs-LFA技术。为提升上转换纳米颗粒的荧光效率,研究人员制备了Lu³⁺掺杂的NaYF₄:25%Yb, 2%Er, 30%Lu UCNPs,并将其用于构建荧光标记探针。该试纸条专为实现双目

标物同步检测而设计,设有分别针对AFB1与ZEN的两条T线,检测限分别达0.025 ng/mL与0.1 ng/mL(图8b)。通过添加不同标记物浓度的玉米样本评估了UCNPs-LFAs的性能,结果表明其具有卓越的灵敏度和基质耐受性。

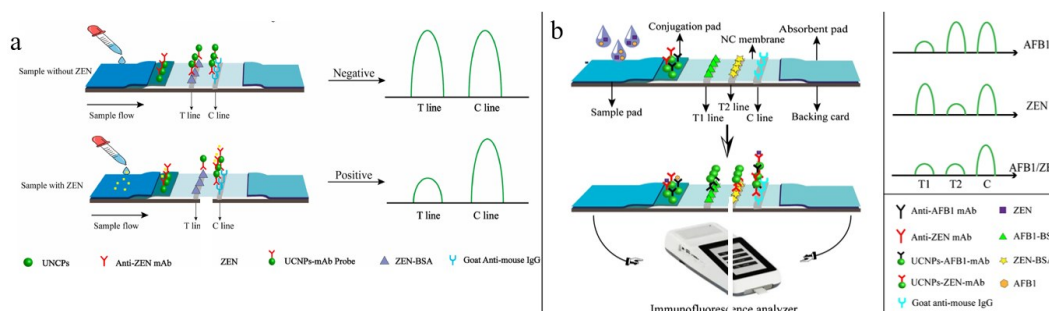


图8 (a) 基于La³⁺掺杂UCNPs构建用于检测ZEN的侧流免疫层析平台结构示意图,(b) 双通道UCNPs-LFAs平台结构的原理示意图。^[92,94]

Fig. 8 (a) Schematic diagram of the structure of a lateral flow immunoassay platform constructed using La³⁺-doped UCNPs for the detection of ZEN. (b) Schematic diagram illustrating the principle of the dual-channel UCNPs-LFAs platform structure.

4.2.2 兽药与农药残留的灵敏检测

除微生物和真菌污染物外,兽药等化学残留物也构成重大食品的安全风险。抗生素因其在促生长及群体性疾病防控方面的显著效果,被广泛用于畜牧养殖业。然而,其残留物可通过食物链进入人体,引发过敏反应、肾损伤及其他疾病或不良反应。因此,如何实现对动物源性食品中抗生素残留的快速、精准检测,已成为当前亟待解决的关键问题。在早期一项研究中,Liu等^[95]基于NaGdF₄:Yb, Er@NaGdF₄核壳结构构建了UCNPs-LFA检测体系,实现了对头孢氨苄(CEX)的特异性检测,线性范围达0.5-100 ng/mL,检测限为0.6 ng/mL。Xu等^[96]以广谱抗菌剂四环素(TC)为检测目标,基于低背景干扰的UCNPs开发出超灵敏UCNPs-LFA检测平台,用于牛奶样本中TC残留的特异性检测。通过对免疫反应时间、标记抗体浓度及NC膜上抗原包被量等参数的系统优化,检测性能显著提升,具体体现在荧光强度、检测灵敏度及半数抑制浓度(IC₅₀)等关键指标上。结果显示,在10分钟的检测时间内,该方法的IC₅₀值达0.32 ng/mL。为应对生产中奥拉喹啉酮(OLA)的广泛滥用,Wen等^[40]提出了一种基于PAA表面修饰UCNPs的新型免疫分析策略。该研究通过将亲水性上转换纳米颗粒与OLA多克隆抗体进行偶联,成功构建了适用于UCNPs-LFA的荧光探针。结合高灵敏度荧光读数仪,该方法对OLA的检测限可达1.42 ng/mL。

除草剂与杀虫剂在现代农业生产中有广泛应用,其残留物可在土壤、水体及作物中持续累积,并通过食物链传递间接威胁人体健康。因此,在种植环节引入健康检测,有助于从源头上保障食品安全,进而更有效地维护公众健康。其中,有机磷(OP)类农药作为一类高效杀虫剂,在农业生产及公共卫生领域的害虫防治实践中应用尤为广泛。Zou等^[97]通过对UCNPs进行功能化修饰,偶联针对三种有机磷农药(对硫磷、甲基对硫磷及杀螟硫磷)的特异性单克隆抗体,成功制备了适用于UCNPs-LFA的荧光纳米探针(图9a)。在40分钟的检测窗口内,三种分析物的IC₅₀值分别为3.44、3.98和12.49 ng/mL,检测范围达0.98-250 ng/mL,充分展示了UCNPs-LFA技术在特定农药残留检测领域的广阔应用前景。如图9b所示,Yu等^[98]采用NaYF₄:40%Yb, 2%Er上转换纳米颗粒作为荧光标记物,构建了用于定量检测除草剂2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)及杀螟硫磷的UCNPs-LFA平台。通过对纳米晶浓度、抗体用量及NC膜上抗原包被量等关键参数的系统优化,两种目标分析物的检测限分别达5 ng/mL与11 ng/mL。

4.3 环境监测

随着现代化进程的持续推进,环境问题已成为人类社会在可持续发展道路上必须面对的重大挑战。实现快速、精准的环境监测,对于污染预防与生态修复至关重要,已成为保障公共安全、维护生态系统平衡及支撑经济社会发展的共同迫切需

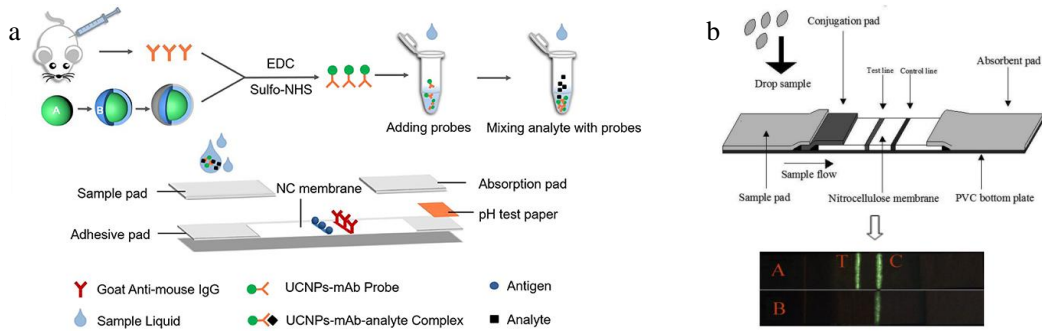


图9 (a) 上转换纳米颗粒-单克隆抗体探针的制备流程及侧向流免疫层析纸条的结构示意图, (b) UCNP-LFAs平台用于检测2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)及杀螟硫磷的原理示意图。^[97-98]

Fig.9 (a) Schematic diagram illustrating the preparation process of upconversion nanoparticle-monoclonal antibody probes and the structure of the lateral flow immunoassay strip. (b) Schematic diagram illustrating the principle of the UCNP-LFAs platform for the detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and fenitrothion.

求。UCNP-LFA即时检测技术凭借其高灵敏度、便携性及智能化特点,能够对空气、水体、土壤等环境介质开展实时现场快速筛查,正逐步成为环境保护领域不可或缺的第一道防线。

UCNP-LFA试剂条具有低背景干扰和高信噪比的特征,能够在复杂的生物和环境样本中实现无背景或低背景的信号采集。同时,UCNP-LFA无需复杂样品前处理,通常15~30分钟内即可获得结果,且结合便携式阅读仪或智能手机可实现定量云端传输,十分契合空气病原体的现场快速筛查及早期预警需求。禽流感病毒(AIV)因其通过空气飞沫传播而具有较强的人兽共患风险。Zhang等^[26]开发了基于核壳结构UCNPs的智能手机辅助LFA平台,实现了对H5、H7和H10亚型AIV的高灵敏多重检测。该平台对重组血凝素蛋白的检测限低至0.0156-0.0625 ng/mL,病毒滴度检测限达2-4 HAU,变异系数低于6%。在

260份临床样本验证中,其结果与实时荧光定量RT-PCR完全一致,10分钟内即可获得定量结果,满足现场快速诊断与疫情预警需求。

在水体污染的检测中,UCNP-LFA技术作为一种新兴检测工具,为污染事件的快速响应及日常筛查需求提供了切实可行的解决方案。Jin^[5]等合成分别具有红、绿、蓝发射特征的UCNPs,随后通过羧基修饰,并经缩合反应与三种对应的氨基修饰单链DNA序列结合,形成了荧光探针。该UCNP-LFA检测平台可通过智能手机或便携式设备读取纳米探针的荧光信号,最终成功应用于自来水中的汞离子、赭曲霉毒素A和沙门氏菌检测,检测限分别为5 ppb、3 ng/mL和85 cfu/mL。针对自来水和河水中的诺氟沙星,Ren等^[99]构建了基于比色/光热双信号读取策略的新型UCNP-LFA平台,并采用Fe@Fe₃O₄@UCNP复合粒子作为荧光探针(图10a)。在竞争模式下,黑磷纳米

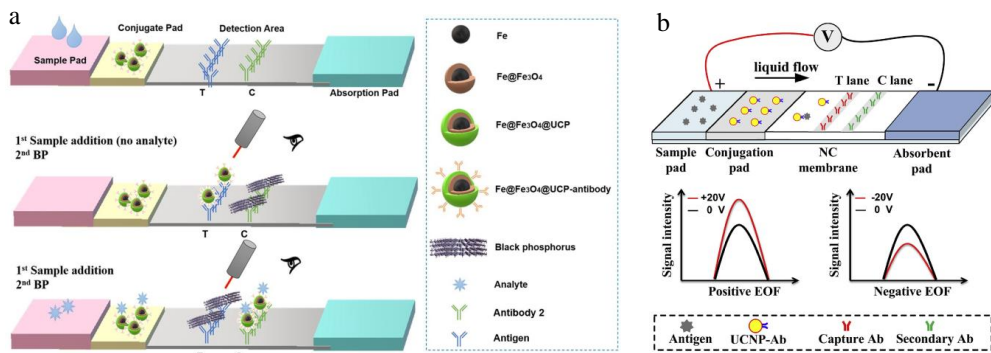


图10 (a) 基于比色/光热双信号读出策略的新型UCNP-LFAs平台原理示意图, (b) EOF与LFAs结合用于检测EV76的原理示意图。^[99-100]

Fig.10 (a) Schematic diagram illustrating the principle of a novel UCNP-LFAs platform based on a colorimetric/photothermal dual-signal readout strategy (b) Schematic diagram illustrating the principle of combining EOF with LFAs for the detection of EV76.

片在反应后选择性结合至T线,并于808 nm近红外激光照射下产生显著的光热升温信号,该信号可由智能手机热成像应用程序实时记录。基于双模式定量检测策略,该方法实现了45 pg/mL的检测限、0.05-100 ng/mL的线性范围,灵敏度提升了100倍。如图10b所示,Zhang等^[100]则将电渗流

(EOF)技术与LFA相结合,实现了对土壤样本中鼠疫耶尔森菌EV76的高灵敏度检测。引入电渗流后,检测区域的信号强度增强了64.0%,检测时间缩短至5分钟,且外加电场对最终检测结果无显著影响。在实际土壤样本中,该方法的检测限为 1.2×10^4 CFU/mL。

表4 UCNPs-LFA应用汇总

Tab. 4 Summary of UCNPs-LFA Applications

| 应用领域 | 检测对象 | 技术特点 | 应用意义 |
|--------|------------------------------|-----------------------------|--------------------|
| 生物医学诊断 | 心血管标志物、肿瘤标志物、炎症因子、肾损伤标志物等 | 灵敏度高、背景低,可实现定量检测 | 适合疾病早筛、即时诊断和居家健康监测 |
| 食品安全检测 | 食源性致病菌、真菌毒素、兽药残留、抗生素残留、农药残留等 | 多采用夹心型或竞争型LFA,可用于复杂食品样品快速筛查 | 有助于食品质量安全监管和现场快速检测 |
| 环境监测 | 重金属离子、有机污染物、藻毒素、抗生素、环境致病菌等 | 可结合多色发射、比率型信号或多模式读出实现多目标检测 | 适合水质安全、污染预警和环境现场监测 |

5 总结与展望

UCNPs-LFA技术凭借上转换发光材料独特的光物理特性,尤其是近红外激发下的反斯托克斯发射、极低的背景干扰、优异的光稳定性及多元发射可调性,已成功突破传统胶体金试纸条灵敏度不足、难以定量及易受基质干扰等局限,成为即时检测领域最具潜力的下一代技术平台之一。本文围绕UCNPs-LFA的技术原理、材料合成与优化、表面功能化策略以及其在生物医学诊断、食品安全分析和环境监测等领域的应用进展进行了系统综述。

在技术原理层面,UCNPs通过稀土离子之间的能量传递机制实现低能光子向高能光子的转换,结合免疫层析的夹心法和竞争法,可在复杂生物样本中实现靶标的高灵敏、低背景检测。在材料合成与优化方面,热分解法、溶剂热法、共沉淀法等工艺日趋成熟,核壳结构、粒径调控及掺杂工程显著提升了UCNPs的发光效率和稳定性。表面功能化策略如配体交换、硅烷化、聚合物涂层等有效解决了疏水性UCNPs的生物相容性问题,为其与抗体的高效偶联提供了保障。在应用层面,UCNPs-LFA已广泛应用于心肌钙蛋白、癌症标志物、肾损伤因子等生物标志物的超灵敏检测,同时亦在食源性致病菌、真菌毒素、抗生素残留及环境污染物筛查中展现出优异的检测性能。结合便

携式读条设备与智能手机终端,该技术正朝着智能化、网络化、家用化的方向快速发展。

尽管UCNPs-LFA技术已取得显著进展,其在迈向标准化、产业化及广泛临床应用的过程中仍面临诸多挑战。非特异性吸附是限制检测灵敏度和重复性的关键问题之一,其源于膜材料与探针间不可控的界面相互作用,亟需通过抗污染表面设计(如亲水性聚合物涂层、空间位阻屏障)和缓冲体系优化来抑制背景信号。此外,UCNPs-LFA技术从实验室研究走向商业化应用,仍面临规模化生产、长期储存、读出设备成本以及体外诊断监管审批等问题。亟需研究者开发更高效、成本可控的宏量制备方案,将UCNPs制备、表面功能化、抗体偶联及试纸条组装进行全流程设计和标准质控,并在学术界和行业内积极推动关于UCNPs-LFA性能评价的统一标准,开展严格的前瞻性、多中心临床试验,建立临床数据库,让该技术真正落地。

综上所述,UCNPs-LFA技术以其高灵敏度、高稳定性、低背景干扰及便携特性,正逐步重塑即时检测的技术格局。通过材料创新、系统集成与智能化发展,该技术有望在未来实现从可检测到精准检测、从单一指标到多组联检、从专业设备到个人终端的全面跃升,为精准医学、食品安全保障及环境安全监测提供坚实的技术支撑。

参 考 文 献:

[1] LUPPA P B, MÜLLER C, SCHLICHTIGER A. Point-of-care testing (POCT): Current techniques and future perspec-

- tives[J]. *TrAC Trends Anal. Chem. Chem.* 2011, 30(6): 887-898.
- [2] BAHADIR E B, SEZGINTÜRK M K. Lateral flow assays: principles, designs and labels[J]. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2016, 82: 286-306.
- [3] ZHANG Q, FANG L, JIA B Y, *et al.* Optical lateral flow test strip biosensors for pesticides: recent advances and future trends[J]. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2021, 144:116427.
- [4] JI T X, XU X Q, WANG X D, *et al.* Point of care upconversion nanoparticles-based lateral flow assay quantifying myoglobin in clinical human blood samples[J]. *Sens. Actuat. B-Chem.* 2018, 282: 309-316.
- [5] JIN B R, YANG Y X, HE R Y, *et al.* Lateral flow aptamer assay integrated smartphone-based portable device for simultaneous detection of multiple targets using upconversion nanoparticles[J]. *Sens. Actuat. B-Chem.* 2018, 276: 48-56.
- [6] YOU M L, LIN M, GONG Y, *et al.* Household fluorescent lateral flow strip platform for sensitive and quantitative prognosis of heart failure using dual-color upconversion nanoparticles[J]. *ACS Nano.* 2017, 11(6): 6261-6270.
- [7] 黄惠威, 李丽华, 罗林, 等. 基于上转换纳米材料的免疫检测技术应用[J]. *生物化学与生物物理进展.* 2024, 51(02): 355-368.
- HUANG H W, LI L H, LUO L, *et al.* Application of immunoassay technology based on upconversion nanomaterials[J]. *PROG BIOCHEM BIOPHYS.* 2024, 51(02): 355-368. (in Chinese)
- [8] WEN S H, ZHOU J J, ZHENG K Z, *et al.* Advances in highly doped upconversion nanoparticles[J]. *Nat. Commun.* 2018, 9(1): 1-12.
- [9] HAASE M, SCHÄFER H. Upconverting nanoparticles[J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011, 50(26): 5808-5829.
- [10] ZHANG J H, DU J R, JIA S, *et al.* Recent advances in upconversion nanoparticles for therapeutics: from fundamentals to cutting-edge applications[J]. *Electron.* 2025; 3:e70012.
- [11] JYOTY S, SHARMA S, NARA S. Evaluation of gold nanoparticle based lateral flow assays for diagnosis of enterobacteriaceae members in food and water[J]. *Food Chem.* 2015, 170: 470-483.
- [12] DZANTIEV B B, BYZOVA N A, URUSOV A E, *et al.* Immunochromatographic methods in food analysis[J]. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2014, 55: 81-93.
- [13] MAO X, WANG W, DU T E. Rapid quantitative immunochromatographic strip for multiple proteins test[J]. *Sens. Actuat. B-Chem.* 2013, 186: 315-320.
- [14] HU J, WANG S, WANG L, *et al.* Advances in paper-based point-of-care diagnostics[J]. *Biosens. Bioelectron.* 2014, 54: 585-597.
- [15] GULLER E A, ANNEMARIE N, N. G A, *et al.* Rational surface design of upconversion nanoparticles with polyethylenimine coating for biomedical applications: better safe than brighter?[J]. *ACS Biomater-Sci. Eng.* 2018, 4(9): 3143-3153.
- [16] CHAVEZ D H, JUAREZ-MORENO K, HIRATA G A. Aminosilane functionalization and cytotoxicity effects of upconversion nanoparticles Y_2O_3 and Gd_2O_3 co-doped with Yb^{3+} and Er^{3+} [J]. *Nanobiomedicine.* 2016, 3: 4526-4528.
- [17] LI X M, ZHANG F, ZHAO D Y. Lab on upconversion nanoparticles: optical properties and applications engineering via designed nanostructure[J]. *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44(6): 1346-1378.
- [18] LIU X D, ZHANG X, TIAN G, *et al.* A simple and efficient synthetic route for preparation of $NaYF_4$ upconversion nanoparticles by thermo-decomposition of rare-earth oleates[J]. *CrystEngComm.* 2014, 16(25): 5650-5661.
- [19] CHEN C L, LI C G, SHI Z. Current advances in lanthanide-doped upconversion nanostructures for detection and bioapplication[J]. *Adv Sci (Weinh).* 2016, 3: 1600029.
- [20] NA H, WOO K, LIM K, *et al.* Rational morphology control of β - $NaYF_4$:Yb,Er/Tm upconversion nanophosphors using a ligand, an additive, and lanthanide doping[J]. *Nanoscale.* 2013, 5(10): 4242-4251.
- [21] WANG M, ZHU Y, MAO C B. Synthesis of NIR-responsive $NaYF_4$:Yb,Er upconversion fluorescent nanoparticles using an optimized solvothermal method and their applications in enhanced development of latent fingerprints on various smooth substrates[J]. *Langmuir.* 2015, 31(25): 7084-7090.
- [22] ZHOU J, LIU Q, FENG W, *et al.* Upconversion luminescent materials: advances and applications[J]. *Chem. Rev.* 2015, 115(1): 395-465.
- [23] KANG N, AI C C, ZHOU Y M, *et al.* Facile synthesis of upconversion nanoparticles with high purity using lanthanide oleate compounds[J]. *Nano.* 2018, 29(7): 75601.

- [24] LIU G F, SUN Z, FU Z L, *et al.* Temperature sensing and bio-imaging applications based on polyethylenimine/CaF₂ nanoparticles with upconversion fluorescence[J]. *Talanta*. 2017, 169: 181-188.
- [25] YAO J, HUANG C, LIU C, *et al.* Upconversion luminescence nanomaterials: a versatile platform for imaging, sensing, and therapy[J]. *Talanta*. 2020, 208: 120157.
- [26] ZHANG J, WU H, WANG P. Smartphone-assisted upconversion nanoparticle assay for rapid multiplex detection of H5, H7, and H10 avian influenza viruses[J]. *Emerging Microbes Infect.* 2026, 15: 2602315.
- [27] WANG F, HAN Y, LIM C S, *et al.* Simultaneous phase and size control of upconversion nanocrystals through lanthanide doping[J]. *Nature*. 2010, 463(7284): 1061-1065.
- [28] ZAJDEL K, LOBAZ V, ONDRA M, *et al.* May the target be with you: polysaccharide-coated upconverting nanoparticles for macrophage targeting[J]. *Nanoscale*. 2025, 17:25120.
- [29] AXEL C, DAMIEN B, SOPHIE B, *et al.* Synthesis and in vitro preliminary evaluation of prostate-specific membrane antigen targeted upconversion nanoparticles as a first step towards radio/fluorescence-guided surgery of prostate cancer[J]. *J. Mater. Chem. B*. 2021, 9(36): 7423-7434.
- [30] CANSU C M, SHAHSAVAR G M, AYSEGUL A, *et al.* Upconversion nanoparticles - based targeted imaging of MCF-7 breast cancer cells[J]. *J. Nanopart. Res.* 2024, 26:122.
- [31] KAMIMURA M, OMOTO A, CHIU H C, *et al.* Enhanced red upconversion emission of NaYF₄:Yb³⁺, Er³⁺, Mn²⁺ nanoparticles for near-infrared-induced photodynamic therapy and fluorescence imaging[J]. *Chem Lett*. 2017, 46(8): 1076-1078.
- [32] YUAN X R, TANG Z S, LIU F F, G A, *et al.* A lateral flow immunoassay strip employing upconversion luminescence for quantitative detection of prostate-specific antigen [J]. *Microchimica Acta*. 2026, 193: 105.
- [33] VERENA M, STEFAN W, THOMAS H, *et al.* Upconversion nanoparticles: from hydrophobic to hydrophilic surfaces [J]. *Acc. Chem. Res.* 2014, 47(12): 3481-3493.
- [34] DONG A G, YE X C, CHEN J, *et al.* A generalized ligand-exchange strategy enabling sequential surface functionalization of colloidal nanocrystals[J]. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 133(4): 998-1006.
- [35] ALZHRANI Y A, ALESSA A M, ALMOSAINI M K, *et al.* Preparation and characterization of uniform and controlled silica encapsulating on lithium yttrium fluoride-based upconversion nanoparticles [J]. *Nanomaterials . Basel*. 2024, 14:685.
- [36] TINA Č, MONIKA K, BORIS M, *et al.* Optimisation of amphiphilic-polymer coatings for improved chemical stability of NaYF₄-based upconverting nanoparticles[J]. *Acta Chim. Slov.* 2022, 69(2): 448-457.
- [37] WANG X Y, SUN T Q, SHEN W L, *et al.* A lateral flow immunochromatographic assay based on nanobody-oriented coupling strategy for aflatoxin B1 detection[J]. *Sens. Actuat. B-Chem.* 2023, 394:134419.
- [38] YU B, CUI Y, MAO X Y, *et al.* A time-resolved fluorescence lateral flow immunochromatographic assay based on oriented immobilized antibodies for the ultrasensitive detection of C-peptides in human serum[J]. *Anal. Chim. Acta*. 2022, 1208: 339833.
- [39] ZHANG Q Q, QIAN J, LIANG H J, *et al.* Using 915 nm laser excited Tm³⁺/Er³⁺/Ho³⁺- doped NaYbF₄ upconversion nanoparticles for in vitro and deeper in vivo bioimaging without overheating irradiation [J]. *ACS. nano*. 2011, 5(5): 3744-3757.
- [40] WEN Z H, HU X L, WANG W X, *et al.* A reliable upconversion nanoparticle-based immunochromatographic assay for the highly sensitive determination of olaquinox in fish muscle and water samples[J]. *Food Chem.* 2023, 406: 135081.
- [41] EKMAN M, SALMINEN T, RAIKO K, *et al.* Spectrally separated dual-label upconversion luminescence lateral flow assay for cancer-specific STn-glycosylation in CA125 and CA15-3[J]. *Anal. Bioanal. Chem.* 2024, 416(13): 3251-3260.
- [42] MATEOS H, OLIVER M. Emerging strategies for the formulation of antibody - nanoparticle conjugation in lateral flow immunoassays[J]. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2025, 80: 101968.
- [43] ZHAO Y Y, HUANG Y H, LI R R, *et al.* Site-specific labeling of antibodies with quantum dots could promote to retain the antigen binding capacity of antibodies[J]. *Food Chem.* 2023, 413: 135655.
- [44] YANG M, XU X X, ZHANG M, *et al.* Recent advances in lateral flow immunoassay based on sandwich format for whole-cell pathogen detection[J]. *Coord. Chem. Rev.* 2025, 533: 216538.
- [45] CHEN Z G, CHEN H L, HU H, *et al.* Versatile synthesis strategy for carboxylic acid-functionalized upconverting nano-

- phosphors as biological labels[J]. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130(10): 3023-3029.
- [46] 尹玉,陈杰,刘蓉,等. 上转换发光材料的荧光增强策略及生物应用研究进展[J]. 中国稀土学报. 2025, 43(01): 13-28.
- YIN Y, CHEN J, LIU Ret al. Fluorescence enhancement strategies of upconversion luminescent materials and research progress in biological applications[J]. *J. Chin. Rare Earth Soc.* 2025, 43(01): 13-28. (in Chinese)
- [47] HE W H, WANG M, CHENG P L, et al. Recent advances of upconversion nanoparticles-based lateral flow assays for point-of-care testing[J]. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2024, 173: 117641.
- [48] BIRUI J, DU Z G, JI J C, et al. Regulation of probe density on upconversion nanoparticles enabling high-performance lateral flow assays[J]. *Talanta.* 2023, 256: 124327.
- [49] TANG R H, YANG H, CHOI J R, et al. Improved sensitivity of lateral flow assay using paper-based sample concentration technique[J]. *Talanta.* 2016, 152: 269-276.
- [50] CHEN C, HU S T, TIAN L L, et al. A versatile upconversion-based multimode lateral flow platform for rapid and ultra-sensitive detection of microRNA towards health monitoring[J]. *Biosens. Bioelectron.* 2024, 252: 116135.
- [51] GUO X R, YUAN Y, LIU J L, et al. Single-Line Flow Assay Platform Based on Orthogonal Emissive Upconversion Nanoparticles[J]. *Anal. Chem.* 2021, 93(5): 3010-3017.
- [52] CHRISTIN H, LISA K, FLORIN F, et al. NaYF₄:Yb,Er/NaYF₄ core/shell nanocrystals with high upconversion luminescence quantum yield[J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2018, 57: 8765-8769.
- [53] KIM J, KWON J H, JANG J, et al. Rapid and background-free detection of avian influenza virus in opaque sample using NIR-to-NIR upconversion nanoparticle-based lateral flow immunoassay platform[J]. *Biosens. Bioelectron.* 2018, 112: 209-215.
- [54] HUANG H F, LUCIA L P, HANS Å, et al. Transient energy trapping as a size-conserving surface passivation strategy for producing bright ultrasmall upconversion nanoprobess[J]. *Nano Energy.* 2023, 105: 108015.
- [55] SUSANNE M, ALEXANDRA S, THOMAS H. Small and bright water-protected upconversion nanoparticles with long-time stability in complex, aqueous media by phospholipid membrane coating[J]. *Nano Lett.* 2020, 20(12): 8620-8625.
- [56] PHANI R, POTLURI, VINOTH K, et al. Linker-protein G mediated functionalization of polystyrene-encapsulated upconversion nanoparticles for rapid gene assay using convective PCR[J]. *Microchim. Acta.* 2019, 186: 346.
- [57] YUKIMAEDA, NORIKONAKAMURA, SSIICHIOHTA. DNA-Mediated, On-Membrane sequential assembly of conjugated polymer nanoparticles for sensitive detection of cell surface markers[J]. *Adv. Funct. Mater.* 2024, 34:2315160.
- [58] HE P, CHEN H, SUN J, et al. Use of DNA nanosensors based on upconverting nanoparticles for detection of *Nosema bombycis* by fluorescence resonance energy transfer[J]. *Folia Microbiol.* 2022, 67(3): 1-7.
- [59] 李巧凤,白家磊,彭媛,等. 基于上转换试纸快速检测一次性纸杯热溶出的双酚A[J]. 食品安全质量检测学报. 2019, 10(18): 6223-6227.
- LI Q F, BAI J L, PENG Y, et al. Rapid detection of bisphenol A dissolved from disposable cup based on up-conversion test paper[J]. *J. Food. Saf. Qual.* 2019, 10(18): 6223-6227. (in Chinese)
- [60] LU Y, ZHAO X, YAN D, et al. Upconversion-based chiral nanoprobe for highly selective dual-mode sensing and bioimaging of hydrogen sulfide in vitro and in vivo[J]. *Light Sci. Appl.* 2024, 13: 180.
- [61] ZHANG S L, PENG L, LI L, et al. Upconverting nanoparticle-based photoactive probes for highly efficient labeling and isolation of target proteins[J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2023, 15:40280-40291.
- [62] CHEN R H, WEN H L, GAO X, et al. Natural and polyanionic heparin polysaccharide functionalized upconversion nanoparticles for highly sensitive and selective ratiometric detection of pesticide[J]. *Int. J. Biol. Macromol.* 2024, 275: 133097.
- [63] KIM S, PARK Y, HAN J, et al. Near-infrared long lifetime upconversion nanoparticles for ultrasensitive microRNA detection via time-gated luminescence resonance energy transfer[J]. *Nat. Commun.* 2025, 16: 7557.
- [64] HAN J, KIM S, KANG D, et al. Near-infrared long-lived luminescent nanoparticle-based time-gated imaging for background-free detection of avian influenza virus[J]. *ACS Sens.* 2025, 10:1312-1320.
- [65] ARAI M S, KIM H, PASCAVIS M, et al. Upconverting nanoparticle-based enhanced luminescence lateral-flow assay for urinary biomarker monitoring[J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2024, 16:38243-38251.
- [66] WANG W, CHEN K, MA X, et al. Artificial intelligence reinforced upconversion nanoparticle-based lateral flow assay

- via transfer learning[J]. *Fundam. Res.* 2023, 3(4): 544-556.
- [67] GONZÁLEZ J M, AVILA C M F, ZAMARRIPA M V, *et al.* Plasmonic-upconverting nanosensor for automated colorimetric and ratiometric sensing of Hg^{2+} via digital readout and neural networks[J]. *J. Phys. Photonics.* 2025, 7: 45012.
- [68] GONG X Q, CAI J, ZHANG B, *et al.* A review of fluorescent signal-based lateral flow immunochromatographic strips [J]. *J. Mater Chem. B.* 2017, 5(26): 5079-5091.
- [69] ARGÜELLES C S, CALVO A S, PERTIERRA E S, *et al.* Nanolabels for biosensors based on lateral flow immunoassays [J]. *Anal. Chim. Acta.* 2025, 1340: 343597.
- [70] JUNTUNEN E, ARPPE R, KALLIOMÁKI L, *et al.* Effects of blood sample anticoagulants on lateral flow assays using luminescent photon-upconverting and Eu(III) nanoparticle reporters[J]. *Anal. Biochem.* 2016, 492: 13-20.
- [71] WANG Z C, ZHOU W, CUI Y. A high-yield core-shell-shell upconversion nanoparticle based lateral flow immunoassay for sensitive detection of cardiac troponin I[J]. *Anal. Bioanal. Chem.* 2026(*prepublish*): 1-11.
- [72] LI Y, LI Y. Quantitative fluorescent lateral flow strip sensor for myocardial infarction using purity-color upconversion nanoparticles[J]. *Inorg. Chem.* 2024, 63:5185-5198.
- [73] HUANG L, TIAN S L, ZHAO W H, *et al.* 5G-Enabled intelligent construction of a chest pain center with up-conversion lateral flow immunoassay[J]. *Analyst.* 2021, 146(24):7702-7709.
- [74] KAMLESH G, OLLI C, KIM P, *et al.* Europium nanoparticle-based Sialyl-Tn monoclonal antibody discriminates epithelial ovarian cancer-associated CA125 from benign sources[J]. *J. Appl. Lab. Med.* 2019, 4(3): 299-310.
- [75] SHRUTI J, NIMRAH N, BENJAMIN U, *et al.* Diagnostic potential of nanoparticle aided assays for MUC16 and MUC1 glycovariants in ovarian cancer[J]. *Int. J. Cancer.* 2022, 151(7): 1175-1184.
- [76] HU X J, LIAO J F, SHAN H Z, *et al.* A novel carboxyl polymer-modified upconversion luminescent nanoprobe for detection of prostate-specific antigen in the clinical gray zone base by flow immunoassay strip [J]. *Methods (San Diego, Calif.)*. 2023, 215: 10-16.
- [77] HE S Q, SONG J, QU J L, *et al.* Crucial breakthrough of second near-infrared biological window fluorophores: design and synthesis toward multimodal imaging and theranostics[J]. *Chem. Soc. Rev.* 2018, 47(12): 4258-4278.
- [78] HAN H H, TIAN H, ZANG Y, *et al.* Small-molecule fluorescence-based probes for interrogating major organ diseases [J]. *Chem. Soc. Rev.* 2021, 50(17):9391-9429.
- [79] SONG Z R, HAO Q L, LI B, *et al.* NIR-II fluorescence lateral flow immunosensor based on efficient energy transfer probe for point-of-care testing of tumor biomarkers[J]. *Chin. Chem. Lett.* 2025, 36(1): 109834.
- [80] SAHARE T, SAHOO B N, JAISWAL S, *et al.* An account of the current status of point-of-care lateral flow tests for kidney biomarker detection[J]. *Analyst.* 2024, 149:4811-4829.
- [81] WEN B Y, ZHANG W J, ZHANG Q W, *et al.* Cyclodextrin-mediated efficient antibody immobilization on upconversion nanoparticles for CKD biomarker sensing via luminescent lateral flow assay [J]. *Chin. Chem. Lett.* 2026, 37(3): 111459.
- [82] SONG C, CHENG K X, GUO J C, *et al.* Combined detection of C-Reactive protein and serum amyloid A based on up-conversion luminescent system for internet of medical things application [J]. *IEEE Trans. Nanotechnol.* 2021, 20: 708-714.
- [83] HE W H, YOU M L, LI Z D, *et al.* Upconversion nanoparticles-based lateral flow immunoassay for point-of-care diagnosis of periodontitis[J]. *Sens. Actuat. B-Chem.* 2021, 334:129673.
- [84] GHORBANPOUR S M, WEN S, TU, *et al.* Quantitative point of care tests for timely diagnosis of early-onset preeclampsia with high sensitivity and specificity[J]. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2023, 62: e202301193.
- [85] RIIKKA P, ELENA B, H G H, *et al.* Biosensing based on upconversion nanoparticles for food quality and safety applications[J]. *Analyst.* 2020, 146:13-32.
- [86] LUO X L, HAN Y, CHEN X M, *et al.* Carbon dots derived fluorescent nanosensors as versatile tools for food quality and safety assessment: A review[J]. *Trends Food Sci. Technol.* 2020, 95: 149-161.
- [87] ETVI J, TEPPONEN S, M T S, *et al.* Lateral flow immunoassay with upconverting nanoparticle-based detection for indirect measurement of interferon response by the level of MxA[J]. *J. Med. Virol.* 2017, 89(4): 598-605.
- [88] HUANG Z, LIU Y H, CHEN Y, *et al.* Improving the performance of upconversion nanoprobe-based lateral flow immunoassays by supramolecular self-assembly core/shell strategies[J]. *Sens. Actuat. B-Chem.* 2020, 318:128233.

- [89] GONG Y, ZHENG Y M, JIN B R, *et al.* A portable and universal upconversion nanoparticle-based lateral flow assay platform for point-of-care testing[J]. *Talanta*. 2019, 201: 126-133.
- [90] KAROLINA R, MAGDALENA T. Zearalenone and its metabolites—general overview, occurrence, and toxicity[J]. *Toxins*. 2021, 13:35.
- [91] WU S J, LIU L H, DUANG N, *et al.* A test strip for ochratoxin A based on the use of aptamer-modified fluorescence up-conversion nanoparticles[J]. *Mikrochim. Acta*. 2018, 185: 497.
- [92] CHEN Y Y, SHEN Y H, ZHAO Y, *et al.* Rapid detection of zearalenone in cereals using La³⁺-doped upconversion nanoparticles-based immunochromatographic assay[J]. *Food Control*. 2023, 153:109904.
- [93] ZHAO Y, XIAO L, WANG X C, *et al.* Development and evaluation of an up-converting phosphor technology-based lateral flow assay for rapid and quantitative detection of aflatoxin B1 in crops[J]. *Talanta*. 2016, 161: 297-303.
- [94] CHEN Y Y, SHEN Y H, WANG H F, *et al.* A novel dual-channel immunochromatographic strip using up-conversion nanoparticles for simultaneous detection of AFB1 and ZEN in maize[J]. *Anal. Bioanal. Chem.* 2023, 415(20): 4935-4947.
- [95] LIU C Y, MA W, GAO Z Y, *et al.* Upconversion luminescence nanoparticles-based lateral flow immunochromatographic assay for cephalixin detection[J]. *J. Mater. Chem. C* 2014, 2(45): 9637-9642.
- [96] XU Y, MA B, CHEN E J, *et al.* Functional up-conversion nanoparticle-based immunochromatography assay for simultaneous and sensitive detection of residues of four tetracycline antibiotics in milk[J]. *Front. Chem.* 2020, 8: 759.
- [97] ZOU R B, CHANG Y Y, ZHANG T Y, *et al.* Up-converting nanoparticle-based immunochromatographic strip for multi-residue detection of three organophosphorus pesticides in food[J]. *Front. Chem.* 2019, 7: 18.
- [98] YU J C, GUO T T, ZHANG W, *et al.* Green upconversion nanoparticles for 2, 4- dichlorophenoxyacetic acid and fenitrothion detection[J]. *Alloy. Compd.* 2018, 771: 187-194.
- [99] REN S Y, LI Q F, WANG J Y, *et al.* Development of a fast and ultrasensitive black phosphorus-based colorimetric/photothermal dual-readout immunochromatography for determination of norfloxacin in tap water and river water[J]. *J. Hazard. Mater.* 2021, 402: 123781.
- [100] ZHAO Y, ZHANG P P, WANG J, *et al.* A novel electro-driven immunochromatography assay based on upconversion nanoparticles for rapid pathogen detection[J]. *Biosens. Bioelectron.* 2020, 152: 112037.
- [101] YOU W W, TU D T, ZHENG W, *et al.* Large-scale synthesis of uniform lanthanide doped NaREF₄ upconversion/down-shifting nanoprobes for bioapplications[J]. *Nanoscale*. 2018, 10:11477.



李鑫涛(2004-),男,河南信阳人,工学硕士研究生在读,2025年于哈尔滨工程大学取得学士学位,研究方向为光学功能材料。

E-mail: 25s125209@stu.hit.edu.cn



陈冠英(1981-),男,汉族,河南郑州人,理学博士,教授,2009年于哈尔滨工业大学取得博士学位,研究方向为光学功能材料,太阳能电池等。

E-mail: chenguanying@hit.edu.cn