2012年11月

文章编号: 1000-7032(2012)11-1187-05

脂溶性 CdSe/ZnS 量子点脂质体复合物的制备及表征

邵太丽^{1,2},李 萍¹,赵志刚¹,宋雪飞²,朱昌青^{2*} (1.皖南医学院 药学系,安徽 芜湖 241002; 2.安徽师范大学 化学与材料学院,安徽 芜湖 241002)

摘要:在油相中成功合成了脂溶性 CdSe/ZnS 核壳量子点纳米粒,粒径平均为4.5 nm,量子产率达29%,发射 波长为540 nm。通过薄膜分散法,以蛋黄卵磷脂、胆固醇为膜材,将脂溶性的 CdSe/ZnS 核壳量子点包覆于脂 质体磷脂双分子层中,由于磷脂分子的两亲性,使得脂溶性的 CdSe/ZnS 核壳量子点同时又具有亲水性。通过 透射电镜对脂质体形态进行了表征,倒置荧光显微镜证实了发光 CdSe/ZnS 核壳量子点成功包埋于脂质体双 分子层中,包裹的发光 CdSe/ZnS 核壳量子点具有更稳定的发光及抗光漂白性质。

关键词: CdSe/ZnS 核壳量子点; 脂质体; 荧光
 中图分类号: 0482.3
 文献标识码: A
 DOI: 10.3788/fgxb20123311.1187

Preparation and Characterization of Liposome Coated Hydrophobic CdSe/ZnS Core-shell QDs

SHAO Tai-li^{1,2}, LI Ping¹, ZHAO Zhi-gang¹, SONG Xue-fei², ZHU Chang-qing^{2*}

(1. Department of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China;

College of Chemistry and Material Engineering, Anhui Normal University, Wuhu 241002, China)
 * Corresponding Author, E-mail: zhucq@ mail. ahnu. edu. cn

Abstract: In the organic phase, hydrophobic CdSe/ZnS core-shell quantum dots (QDs) were synthesized successfully using a free-phosphine and non-injecction method. The transmission electron microscopy (TEM) shows CdSe/ZnS core-shell nanocrstals with an average diameter of 4.5 nm. The fluorescence quantum yield of the QDs, calibrated with fluorescein using a 470 nm laser, was found to be 29%, which was greatly increased compared with bare CdSe QDs, indicating strong photoluminescence. The maximum emission wavelength of QDs was 540 nm at excitation of 410 nm. Through the thin-film evaporation method, using the L- α -phosphatidylcholine and Cholesterol, the hydrophobic CdSe/ZnS core-shell QDs were successfully embedded in the two-layer of liposome. As the amphipathy of phospholipid molecules, rendering the luminescent hydrophobic CdSe/ZnS core-shell QDs hydrophilia, CdSe/ZnS core-shell QDs can be transferred in water without extra surface combining reagents. The morphology of liposome was characterized by TEM using negatively stained method, the process of CdSe/ZnS core-shell QDs embedded in the phospholipid two-layer was confirmed by inverted fluorescent microscopy under the UV light. The result indicates that CdSe/ZnS core-shell QDs embedded in the phospholipid two-layer have more photostability and more resistant photobleaching.

Key words: CdSe/ZnS core-shell QDs; liposome; fluorescence

收稿日期: 2012-05-22;修订日期: 2012-08-17

基金项目:省教育厅自然科学基金(KJ2011Z397);校中青年科研基金(WK201020)资助项目

作者简介: 邵太丽(1980 -), 女, 四川德阳人, 博士, 主要从事复合脂质体纳米粒子制备及应用的研究。

E-mail: shaotaili@hotmail.com, Tel: (0553)3932492

1引言

量子点是一种半导体发光材料,按其合成方法 分为油相的脂溶性量子点和水相的水溶性量子点 两大类。与有机染料相比,量子点具有发光可调、 激发波长范围宽及发射波长窄而对称等优点[1-2], 在生物领域得到了广泛的应用,如通过传感测定 Pd²⁺、Cu²⁺等重金属离子^[3]以及通过荧光猝灭-恢 复体系测定各种蛋白质氨基酸、酶等[46]。将脂质 体应用到量子点上,可以使量子点既有亲水性又有 亲脂性,为其应用拓展了更广阔的领域^[7-9]。最近 几年随着靶向脂质体的发展,靶向脂质体包埋量子 点以实现靶向示踪和靶向细胞成像成为研究热点。 Schroeder 等^[10]用叶酸修饰的脂质体包埋量子点, 实现了对肿瘤细胞的选择性靶向成像。Bothun 等[11]用正电荷磷脂将脂溶性和水溶性量子点做成 脂质体复合物,脂溶性量子点位于磷脂双分子层, 而水溶性量子点位于脂质体内水相中,对活性肝癌 细胞进行了选择性的标记实验并在细胞内不同的 位置成像。Valeria Sigot 等^[12]用生物素修饰的脂 质体包埋量子点实现了量子点的靶向转运。Pan 等[13]用聚乙二醇修饰的脂质体包埋量子点硅核壳 纳米粒,并成功地用于分子成像。

但是将量子点包埋于脂质体中这一过程,可 能会出现因量子点聚集而导致发光猝灭的现象。 这种现象目前在国内外文献上尚未曾提及并作任 何讨论。在本论文的完成过程中曾实验了多种半 导体量子点,既考察了不同修饰剂修饰的量子点 和不同尺寸的量子点,又考察了量子点与磷脂的 比例.但多次实验都避免不了量子点在脂质体形 成过程中出现明显的聚集现象而导致发光猝灭。 目前脂质体包裹的量子点多数是水溶性的量子 点,脂溶性量子点本身由于不溶于水相在生物应 用方面受到限制,尚少有研究。本文首次合成了 大小适当的脂溶性的核壳结构的 CdSe/ZnS 量子 点并将其包裹于脂质体双分子层中。利用磷脂分 子的两亲性,将脂溶性的量子点顺利转向水相并 保持其光学性质,借助脂质体提高了量子点的生 物相容性。利用脂质体的靶向性,脂溶性量子点 在生物应用方面也能够实现靶向示踪和传感。

- 2 实 验
- 2.1 主要试剂与仪器

蛋黄卵磷脂,胆固醇(Solarbio,Sigmar),硒粉

(Se,95%),油酸(90%),硬脂酸(分析纯),石蜡 油(化学纯),醋酸锌(分析纯),硫粉(分析纯), 甲苯(分析纯),氯仿(分析纯),甲醇(分析纯)。

Hitachi F-4500 荧光分析仪(Tokyo, Japan), Tecnai G2 20 ST (FEI)透射电镜,倒置荧光显微 镜((Olympvs), RE-52AA 型旋转蒸发仪, ZF-6 型 三用紫外分析仪, HH-601 超级恒温水箱, SHB-III A 循环水真空泵, DHG-9070 数显鼓风干燥箱, FA/JA-2004 电子天平, SG3200HGT 型超声波清 洗器, TGL-16C 型高速台式离心机,移液枪(HUA-WEI)。

2.2 CdSe/ZnS 核壳量子点的制备

将 0.003 9 g 的 Se 粉(0.05 mmol) 和 0.067 9 g 的硬脂酸镉(0.1 mmol) 加入盛有 8 mL 石蜡油 的三颈烧瓶中,密闭好后在室温下脱气 15 min,接 着在氩气保护氛围下油浴升温到 220 ℃。几分钟 后离心纯化即得 CdSe 量子点。

向纯化后的核溶液中加入0.085 mmol的醋 酸锌和0.085 mmol S粉,加入一定量的石蜡油 调整溶液体积至15 mL。剧烈搅拌下,将混合物 升温至80℃,并在此温度下脱气0.5 h。接着 将反应体系在氩气保护下升温到145℃进行壳 生长反应。50 min 后停止反应,将反应液冷却 至室温,用丙酮将 CdSe/ZnS 核壳型量子点从石 蜡油中沉淀出来,离心后重新分散在正己烷中 备用。

2.3 CdSe/ZnS 量子点脂质体复合体的制备

采用薄膜分散蒸发法,分别将蛋黄卵磷脂8 mg、胆固醇1mg和一定量CdSe/ZnS核壳量子 点溶解在氯仿中,37℃下减压蒸发,在圆底烧瓶 的底部形成一均匀的薄膜,通氮气除尽残留溶 剂并过夜放置。加入1mL超纯水以水化薄膜, 直到烧瓶壁上薄膜完全脱落,37℃下卵育20 min,超声5min,过聚碳酯纤维膜(孔径450 nm) 过滤,即得到尺寸均匀的CdSe/ZnS量子点脂质 体复合体。将脂质体悬浮液放在4℃冰箱中 备用^[11]。

3 结果与讨论

3.1 CdSe/ZnS 核壳量子点的表征

图 1 显示了 CdSe/ZnS 纳米晶的 HRTEM 图, 可以观察到所制备的纳米晶具有一个窄的尺寸分 布。CdSe/ZnS 的平均粒径为 4.5 nm。



图 1 CdSe/ZnS 核壳量子点高分辨透射电镜图 Fig. 1 HRTEM image of CdSe/ZnS core-shell nanocrystals

3.2 量子点脂质体复合物的表征

图 2 为脂质体量子点复合物的负染色透射电镜(TEM)照片。取 1 滴稀释一定倍数的脂质体 混悬液滴于通网上,用 1%的磷钨酸负染色,自然 干燥。透射电镜照片显示脂质体的平均粒径在 100 nm 左右,属于大的单室脂质体。



- 图 2 量子点脂质体复合物的负染色透射电镜(TEM) 照片
- Fig. 2 The negatively stained TEM image of QD liposome complex

图 3 为量子点脂质体复合物的倒置荧光显微 镜照片,采用紫外光激发。从图 3(a)可以得知量 子点被包裹在脂质体双分子层中,并发出强的绿 光,与图 3(c)量子点纯正己烷溶液在紫外灯光激 发下发射的荧光颜色相同,说明量子点包裹于脂 质体中的荧光性质不变。图 3(b)显示,量子点脂 质体复合物在持续激发波长照射约 10 min 后,量 子点的绿色荧光逐渐开始褪去。

图4为相同条件下量子点正已烷溶液样品在 紫外灯光的照射下的荧光照片。如图所示,大约 3 min 后量子点的荧光开始褪去,远小于量子点 脂质体复合物10 min 的持续时间,表明脂质体包 裹量子点确实有抗光漂白的作用,其原因可能是 由于脂质体膜的屏蔽保护^[7]。

图 5(a)为在荧光分析仪上测定量子点的正





- 图3 量子点脂质体复合物的倒置荧光显微镜照片。 (a)1 min 以内的荧光照片;(b)大约10 min 的荧光 照片,激发光为紫外光;(c)量子点正己烷溶液在 紫外灯下的荧光照片。
- Fig. 3 The inverted fluorescent microscopy images of QD liposome complex. (a)Image within 1 min. (b) Image after 10 min under the UV light. (c) Image of QDs in hexane under UV-light (365 nm).



- 图4 量子点正已烷溶液的倒置荧光显微镜照片,激发光 为紫外光。(a)10 s以内的荧光照片;(b)3 min 的 荧光照片。
- Fig. 4 Th inverted fluorescent microscopy images of QD in hexane under the UV light. (a) Image within 10 s.(b) Image after 3 min.

己烷溶液、量子点和脂质体膜材的氯仿溶液、量子 点脂质体复合物混悬液、脂质体破乳后的量子点 荧光强度图。从曲线4得知,量子点脂质体的混 悬液荧光强度大大降低,在荧光分析仪上基本检 测不到荧光强度,但通过倒置荧光显微镜可清楚 看到量子点的荧光性质仍然保持稳定(此现象是 目前国内外关于制备量子点脂质体复合物文献中 首次出现)。分析原因可能是脂溶性量子点位于 脂质体双分子层的烷烃链中,由于亲水层的屏蔽



- 图 5 (a)荧光光谱图,激发波长 410 nm。1-量子点正已 烷溶液;2-量子点和磷脂的氯仿溶液;3-脂质体破乳 后的量子点正己烷溶液;4-量子点脂质体复合物混 悬液。(b)紫外可见光谱图。
- Fig. 5 (a) The fluorescence spectra (λ_{ex} = 410 nm). 1: QDs in hexane. 2: QDs and phospholipid in chloroform. 3:QDs in hexane from lips. 4: QDs-lipd complex. (b) UV-Vis absorption spectrum of CdSe/ZnS core/shell QDs.

作用,阻碍了量子点的发射光的传播路径,因此荧 光分析仪检测不到其发射的荧光。为进一步确定 此原因,我们同时检测了量子点脂质体复合物的 制备过程及量子点脂质体复合物破乳之后的量子 点的荧光变化,即测定了量子点和膜材的氯仿溶 液的荧光强度及脂质体破乳之后的荧光强度。从 曲线1~3可知,量子点膜材氯仿溶液、脂质体破 乳之后的荧光强度与量子点纯正己烷溶液的荧光 强度相比无明显变化(强度稍低可能是有机溶液 容易挥发导致量子点浓度不一致所致),其发射 波长也没有发生位移,说明量子点与膜材分子之 间并没有发生任何作用(荧光共振能量转移或电 子转移)。

4 结 论

合成了脂溶性的 CdSe/ZnS 核壳量子点并 将其包裹在脂质体双分子层中,研究结果表明 其荧光发光性质保持不变且具有更强的抗光 漂白性。量子点脂质体复合物能改进脂溶性 量子点水溶性差的缺点,利用脂质体的无毒性 及细胞膜的亲和性可以增强其生物相容性,有 利于其在细胞成像及细胞内微环境中的生物 传感等方面应用,进一步可设计合成靶向量子 点脂质体复合物,应用于细胞内靶向示踪及 成像。

参考文献:

- [1] Zhang Y L, Zeng Q H, Kong X G. The influence of bioconjugate process on the photoluminescence properties of watersoluble CdSe/ZnS core-shell quantum dots capped with polymer [J]. *Chin. J. Lumin.* (发光学报), 2010, 31(1):101-104 (in Chinese).
- [2] Wang X, Ma X L, Feng X, et al. Controlled synthesis and characterization of ZnSe and ZnS quantum dots [J]. Chin. J. Lumin. (发光学报), 2008, 30(6):842-846 (in Chinese).
- [3] Chen Y F, Rosenzweig Z. Luminescent CdS quantum dots as selective ion probes [J]. Anal. Chem., 2002, 74(19): 5132-5138.
- [4] Wang H, Wang J, Timchalk C, et al. Magnetic electrochemical immunoassays withquantum dot labels for detection of phosphorylated acetylcholinesterase in plasma [J]. Anal. Chem., 2008, 80(22):8477-8484.
- [5] Huang H P, Zhu J J. DNA aptamer-based QDs electrochemiluminescence biosensor for the detection of thrombin [J]. Biosens. Bioelectron., 2009, 25(15):927-930.
- [6] Wang Y C, Wang M, Su X Y, et al. First principles on the electron structure and optical properties of the Mg-doped CdSe system [J]. Chin. J. Lumin. (发光学报), 2010, 31(6):842-847 (in Chinese).
- [7] Shan G Y, Li D, Feng L Y. Encapsulation of CdSe/ZnSe quantum dots by liposome complexes [J]. Chin. J. Chem. (中国化学), 2005, 23(12):1688-1692 (in English).
- [8] Chen C S, Yao J, Durst R A. Liposome encapsulation of fluorescent nanoparticles: Quantum dots and silica nanoparticles

[J]. J. Nano. Res., 2006, 8(6):1033-1038.

- [9] Xing B, Cao W Y, Du W M. Temperature dependent PL of InGaN/GaN multiple quantum wells with variable content of In [J]. Chin. J. Lumin. (发光学报), 2010, 31(6):864-869 (in Chinese).
- [10] Schroeder J E, Shweky I, Shmeeda H, et al. Folate-mediated tumor cell uptake of quantum dots entrappedin lipid nanoparticles [J]. J. Control. Release, 2007, 124(1-2):28-34.
- [11] Bothun G D, Rabideau A E, Stoner M A. Hepatoma cell uptake of cationic multifluorescent quantum dot liposomes [J].
 J. Phys. Chem. B, 2009, 113(22):7725-7728.
- [12] Sigot V, Arndt-Jovin D J, Jovin T M. Targeted cellular delivery of quantum dots loaded on and in biotinylated liposomes
 [J]. Bioconjugate Chem., 2010, 21(8):1465-1472.
- [13] Pan J, Wan D, Gon J L G. PEGylated liposome coated QDs/mesoporous silica core-shell nanoparticles for molecular imaging [J]. Chem. Commun., 2011, 47(12):3442-3444.

向您推荐《液晶与显示》——中文核心期刊

《液晶与显示》是中国最早创办的液晶学科专业期刊,也是中国惟一的液晶学科和显示技术领域中 综合性专业学术期刊。它由中国科学院长春光学精密机械与物理研究所、中国光学光电子行业协会液 晶专业分会和中国物理学会液晶分会主办,科学出版社出版。

《液晶与显示》以研究报告、研究快报、综合评述和产品信息等栏目集中报道国内外液晶学科和显示技术领域中最新理论研究、科研成果和创新技术,及时反映国内外本学科领域及产业信息动态,是宣传、展示我国该学科领域和产业科技创新实力与硕果,进行国际交流的平台。本刊是英国《科学文摘》 (INSPEC)、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《剑桥科学文摘》(CSA)、"中国科技论文统计源期刊"等 20 余种国内外著名检索刊物和文献数据库来源期刊。

《液晶与显示》征集有关各类显示材料及制备方法、液晶显示、等离子体显示、阴极射线管显示、发 光二极管显示、有机电致发光显示、场发射显示、微显示、真空荧光显示、电致变色显示及其他显示、各类 显示器件物理和制作技术、各类显示新型模式和驱动技术、显示技术应用、显示材料和器件的测试方法 与技术、成像技术和图像处理等研究论文。《液晶与显示》热忱欢迎广大作者、读者广为利用,踊跃 投稿。

《液晶与显示》为双月刊,国内定价40元。国内邮发代号:12-203;国外发行代号:4868BM。

地	址:长春市东南湖大路3888号	国内统一刊号: CN 22-1259/04
	《液晶与显示》编辑部	国际标准刊号: ISSN 1007-2780
邮	编:130033	国际刊名代码(CODEN): YYXIFY
电	话:(0431)86176059	传 真:(0431)84695881
E-n	nail : yjxs@ ciomp. ac. cn	网 址: www. yjyxs. com