



稀土发光材料在近红外二区成像中的应用

张松涛, 王樱蕙, 张洪杰

引用本文:

张松涛, 王樱蕙, 张洪杰. 稀土发光材料在近红外二区成像中的应用[J]. *发光学报*, 2020, 41(12): 1460–1478.

ZHANG Song-tao, WANG Ying-hui, ZHANG Hong-jie. Lanthanide-doped Fluorescence Probes for NIR- II Fluorescence Imaging[J]. *Chinese Journal of Luminescence*, 2020, 41(12): 1460–1478.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.37188/CJL.20200340>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

稀土上转换荧光材料的发光性质调变及其应用

Luminescence Modification and Application of The Lanthanide Upconversion Fluorescence Materials

发光学报. 2018, 39(1): 92–106 <https://doi.org/10.3788/fgxb20183901.0092>

非稀土掺杂协同核壳包裹对氟化物纳米晶上转换发光性能的增强

Enhancement of Upconversion Luminescence of Lanthanide-doped Nanocrystals Through Non-lanthanide Ions Doping Core-shell Nanoarchitecture

发光学报. 2016, 37(3): 286–293 <https://doi.org/10.3788/fgxb20163703.0286>

Tb³⁺掺杂方钠石荧光粉的制备及发光性质研究

Synthesis and Luminescence Properties of Tb³⁺ Doped Sodalite Fluorescent Phosphor

发光学报. 2016, 37(6): 676–681 <https://doi.org/10.3788/fgxb20163706.0676>

Eu³⁺掺杂方钠石荧光材料的合成及发光特性

Synthesis and Luminescence Properties of Eu³⁺ Doped Sodalite Fluorescent Phosphor

发光学报. 2014, 35(10): 1194–1200 <https://doi.org/10.3788/fgxb20143510.1194>

酮类甲醛荧光探针的合成及其光学性质

Synthesis and Optical Properties of Ketone-formaldehyde Fluorescence Probe

发光学报. 2018, 39(9): 1317–1322 <https://doi.org/10.3788/fgxb20183909.1317>

文章编号: 1000-7032(2020)12-1460-19

稀土发光材料在近红外二区成像中的应用

张松涛^{1,2}, 王樱蕙^{1*}, 张洪杰^{1,2,3*}

(1. 中国科学院长春应用化学研究所 稀土资源与利用国家重点实验室, 吉林 长春 130022;
2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 清华大学 化学系, 北京 100084)

摘要: 与可见光和近红外一区光相比,生物组织对近红外二区光具有更低的散射和自体荧光,因此,近红外二区荧光成像技术可以实现高灵敏度、高分辨率和高信噪比的成像,在肿瘤诊断、小分子体内检测、生物传感和免疫分析等领域展示出了广泛的应用前景。在众多的近红外二区荧光纳米材料中,稀土发光纳米材料因具有化学稳定性和光稳定性好、发射带窄、发光颜色和寿命可调等优点受到研究人员的关注。基于此,本文以稀土发光纳米材料的发光机理和设计合成为出发点,系统地综述了这类纳米材料在近红外二区荧光成像方面的最新研究进展,并对其亟需解决的问题及未来的发展趋势进行了展望。

关键词: 稀土发光纳米材料; 荧光探针; 近红外二区; 荧光成像

中图分类号: O482.31 文献标识码: A DOI: 10.37188/CJL.20200340

Lanthanide-doped Fluorescence Probes for NIR- II Fluorescence Imaging

ZHANG Song-tao^{1,2}, WANG Ying-hui^{1*}, ZHANG Hong-jie^{1,2,3*}

(1. State Key Laboratory of Rare Earth Resource Utilization, Changchun Institute of Applied Chemistry,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

* Corresponding Authors, E-mail: yhwang@ciac.ac.cn; hongjie@ciac.ac.cn

Abstract: Compared to the visible range (Vis, 400 – 700 nm) and first near-infrared window (NIR-I, 700 – 1 000 nm), fluorescence-based imaging in the second near-infrared window (NIR-II, 1 000 – 1 700 nm) possesses the merits of high sensitivity, spatiotemporal resolution and signal to noise ratio (SNR) with increasing tissue penetration depths benefiting from the optical scattering and auto-fluorescence in the biological tissue, leading to widespread application in the fields of tumor diagnosis, biosensing, *in vivo* molecular detection and immunoassay. Among of several NIR-II fluorescence probes, lanthanide-doped luminescence nanomaterials have attracted more attention in development of NIR-II fluorescence imaging, owing to the advantages of high photostability and chemostability, narrow emission band widths, tunable emission wavelength and lifetime. Therefore this work takes the mechanisms and constitutions of lanthanide-doped luminescence nanomaterials as starting points and systematically summarizes the recent progress in the biomedical imaging and biosensing applications of lanthanide-doped luminescence nanomaterials. The problem to be resolved and its future development are discussed.

收稿日期: 2020-11-06; 修订日期: 2020-11-12

基金项目: 国家自然科学基金(51502284,21834007,21521092,21590794,21673220); 中国科学院青年创新促进会(2019232)资助项目

Supported by National Natural Science Foundation of China(51502284,21834007,21521092,21590794,21673220); Youth Innovation Promotion Association of Chinese Academy of Sciences(2019232)

Key words: lanthanide-doped luminescence nanomaterials; fluorescence probe; NIR-II; fluorescence imaging

1 引 言

荧光成像技术是利用光学检测器采集荧光探针发光进行实时成像的一种非侵入式的成像技术^[1],具有成像速度快、灵敏度高、时空分辨率高、无辐射等优点^[2-4],在肿瘤诊断、小分子体内检测、生物传感、免疫分析和防伪等领域有着广泛的应用潜力^[5-9]。而激发和发射光穿过生物组织时所产生的组织内吸收、散射及自体荧光干扰是影响荧光成像分辨率和组织穿透深度的主要因素。其中,不同波长的光在穿过生物组织时由于生物组织中不同组分(如水、脂质膜和亚细胞器等)的折射率存在差异而发生散射,该过程会将部分成像的光信号转变为杂散光而增加背景噪音,从而导致成像信噪比差。不同组织对不同波段光的散射强度如图 1(a)所示,其关系符合经验公式: $\mu'_s = \lambda^{-\omega}$ (λ :波长, $\omega = 0.22 \sim 1.68$,数值取

决于组织的种类)^[10-11]。由此可见,随着波长的增加生物组织对光的散射强度会有所减弱。另外,生物组织内的许多生物分子所含的发色基团可吸收激发或发射光并将其转换为热量被耗散掉或者产生荧光而增加自体荧光背景干扰,导致组织穿透深度浅,成像信噪比低^[12-13]。幸运的是,由于波长越长其光子的能量越低,生物组织的自体荧光强度将随着波长的增加而逐渐减弱(图 1(b))。当波长超过 1 500 nm 后,生物组织在该波段的自体荧光强度几乎降至为零,从而具有更高的成像信噪比。总之,相较于可见光区(400 ~ 700 nm)和近红外一区(700 ~ 1 000 nm)荧光成像,生物组织对近红外二区(1 000 ~ 1 700 nm)光具有更弱的吸收(图 1(c) ~ (d)) and 散射,以及更低的自体荧光,因此近红外二区荧光成像因具有更深的组织穿透能力和更高的成像信噪比等极具竞争力的优势而受到人们的青睐^[1,14-15]。例如,

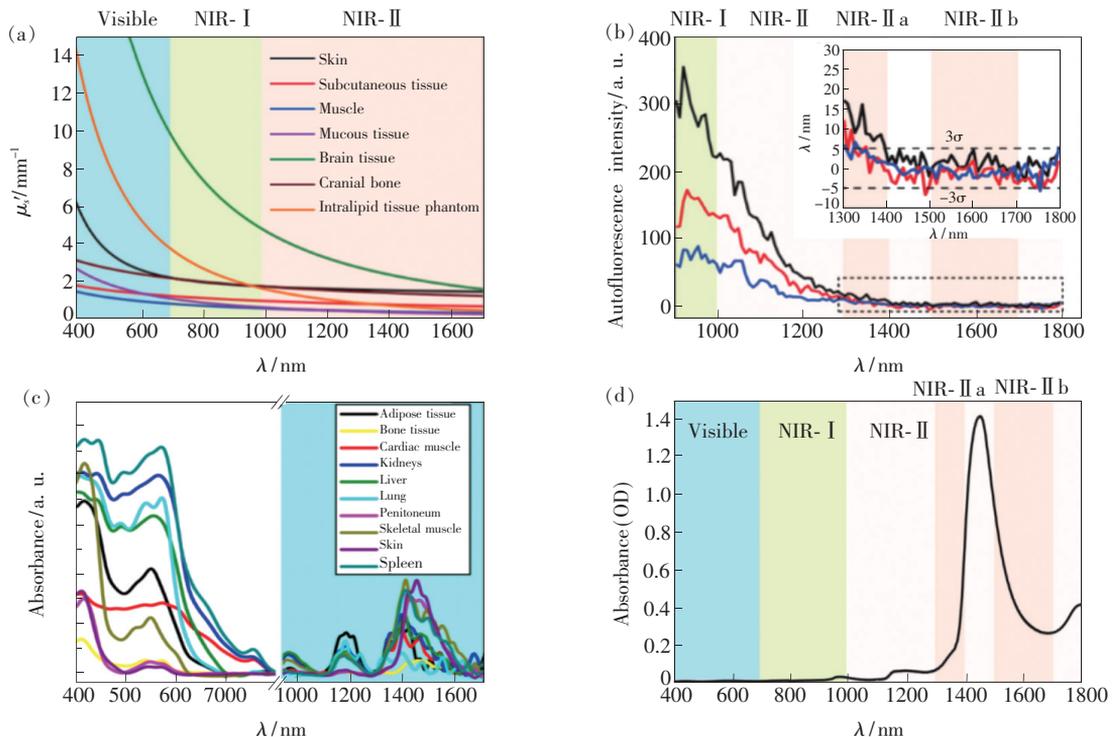


图 1 (a) 不同组织的衰减散射因子随波长的变化曲线^[10]; (b) 小鼠肝脏(黑色曲线)、脾(红色曲线)、心脏(蓝色曲线)在 808 nm 激光照射下的自荧光光谱^[15]; (c) 不同生物组织的吸收光谱^[14]; (d) 水的吸收光谱(光程长 1 mm), OD: 光密度^[1]。

Fig. 1 (a) Reduced scattering coefficients of different biological tissues and of intralipid tissue phantom^[10]. (b) Autofluorescence spectra of mouse liver (black), spleen (red), and heart tissue (blue) under 808 nm light. Inset shows the enlarged results at longer wavelengths^[15]. (c) Absorbance spectra of various biological tissues^[14]. (d) Absorption spectrum of water through a 1-mm-long path. OD, optical density^[1].

在淋巴管荧光成像上,可见光区和近红外一区成像的信噪比(Signal-to-noise ratio, SNR)分别为1.4和1.3(波长:520 nm和720 nm),而近红外二区成像的信噪比可高达3.3、7.3和10.5(波长:1 100,1 300,1 500 nm),在很大程度上提升了淋巴管造影的准确度^[16]。另外,可见光区和近红外一区成像的组织穿透深度分别约为1 mm^[17]和1~3 mm^[18-19],而近红外二区成像的组织穿透深度可达到1~2 cm^[20],为深层组织的荧光成像提供了可能。因此,实现高灵敏度、高分辨率和高信噪比的深层组织荧光成像的关键是设计开发高质量的近红外二区(1 000~1 700 nm)荧光成像探针。

近些年,随着纳米科学技术的快速发展,研究人员设计开发了许多种类的近红外二区荧光探针,并探索了其在肿瘤成像诊断、血管造影、脑组织成像和免疫分析等领域的应用潜力,如:量子点^[21-25]、单壁碳纳米管^[11,26-27]、有机染料^[28-35]、共轭高分子^[36]等。但是这些荧光探针在稳定性、生物安全性等方面仍存在着一些瓶颈问题,限制了其进一步的应用。例如,量子点探针中含有强毒性的重金属元素(如铅、镉和汞),存在生物安全隐患;单壁碳纳米管探针的荧光发射峰宽(约几百纳米);有机染料探针的斯托克斯位移小,易受激发光信号的干扰,并且染料分子自身也容易发生光漂白;共轭高分子探针的水溶性差且易发生团聚。近年来,稀土近红外二区荧光探针因具有光稳定性和化学稳定性好、发射半峰宽窄(10~20 nm)等诸多优势而受到人们的广泛关注^[5-6,37-41]。此外,由于自体荧光的寿命短(<10 ns),而稀土近红外二区荧光探针则具有激发态寿命长且可调谐(μs -ms)的独特优势,因此可将其从光谱域成像拓展至时间域成像(时间分辨成像),即荧光寿命多通道成像和时间门控成像,从而进一步削弱了背景荧光的干扰,显著提高了成像的信噪比。因此,本文从稀土荧光探针的发光机理和设计合成为出发点,包括基质材料、敏化离子及发光中心的选择,系统地综述了这类纳米材料在近红外二区荧光成像方面的最新研究进展(包含光谱域和时间域两大类成像模式),并对其亟需解决的问题及未来的发展趋势进行了展望。

2 稀土近红外二区荧光探针的发光机理及性能调控

稀土发光纳米材料由基质材料、敏化离子和发光中心三部分组成。首先,基质材料应满足光学透明和晶格声子能量低的要求,目前主要是以氟化物作为基质。其次,对敏化离子和发光中心的选择不仅决定着激发光和发射光的波长而且还影响着近红外二区发射光的强度。因此,合理、科学的选择尤为重要。稀土荧光探针在合适波长的激发光照射下,敏化离子的基态电子首先被激发到激发态,而后将能量传递给发光中心,发光中心被激发到激发态,最后其激发态电子重新返回到基态后发射出近红外二区荧光。因此,要求敏化离子在近红外一区或者二区须具有较大的吸收截面,如 Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 、 Er^{3+} 和 Tm^{3+} (图2(a))。另外,具有近红外二区发射的发光中心主要有 Nd^{3+} (发射波长:1 064 nm和1 330 nm)、 Ho^{3+} 、 Pr^{3+} 、 Tm^{3+} 和 Er^{3+} (发射波长分别为1 155,1 269,1 475,1 525 nm)(图2(a))^[6]。截至目前,以掺杂的敏化离子和发光离子来划分,稀土近红外二区荧光探针的发光机理主要分为以下五大体系:(1)单离子体系—— Nd^{3+} 或 Er^{3+} 离子(图2(b)),(2) Yb^{3+} - Ln^{3+} 体系($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Tm}$ 或 Er)(图2(c)),(3) Nd^{3+} - Yb^{3+} - Ln^{3+} 体系($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Tm}$ 或 Er)(图2(d))^[42],(4) Er^{3+} - Ln^{3+} 体系($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Tm}$ 或 Nd)(图2(e))^[43],(5) Tm^{3+} - Er^{3+} 体系(图2(f))^[44]。

具体来说,(1)单离子体系。因为 Nd^{3+} 和 Er^{3+} 离子在近红外一区和二区既有吸收截面又有荧光发射,因此其既可做敏化离子来吸收激发光能量又可充当发光离子发射近红外二区荧光。在730 nm、808 nm或860 nm激光照射下, Nd^{3+} 捕获激发光的能量后,其处于 ${}^4\text{I}_{9/2}$ 基态的电子分别被激发到 ${}^4\text{F}_{7/2}$ 、 ${}^4\text{F}_{5/2}$ 或 ${}^4\text{F}_{3/2}$ 能级,而后处于 ${}^4\text{F}_{7/2}$ 和 ${}^4\text{F}_{5/2}$ 激发态的电子非辐射弛豫至 ${}^4\text{F}_{3/2}$ 能级,最后处于 ${}^4\text{F}_{3/2}$ 激发态的电子可分别辐射跃迁至 ${}^4\text{I}_{11/2}$ 和 ${}^4\text{I}_{13/2}$ 能级而发射出1 064和1 330 nm的近红外二区荧光(图2(b)左)。就 Er^{3+} 而言, ${}^4\text{I}_{15/2}$ 基态电子吸收808 nm或980 nm激发光能量后被激发至 ${}^4\text{I}_{9/2}$ 或 ${}^4\text{I}_{11/2}$ 能级,而后非辐射弛豫至 ${}^4\text{I}_{13/2}$ 能级发生 ${}^4\text{I}_{13/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$ 跃迁从而发射约1 550 nm近红

外二区荧光(图 2(b)右)。(2) $\text{Yb}^{3+}-\text{Ln}^{3+}$ 体系 ($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Tm}$ 或 Er)。在该体系中, Yb^{3+} 离子作为敏化离子, 其 $^2\text{F}_{7/2}$ 基态电子吸收 980 nm 激发光能量后被激发至 $^2\text{F}_{5/2}$ 能级。在 $\text{Yb}^{3+}-\text{Ho}^{3+}$ 离子共掺杂的纳米晶中, Yb^{3+} 吸收的能量可通过 $^2\text{F}_{5/2}(\text{Yb}^{3+}) + ^5\text{I}_8(\text{Ho}^{3+}) \rightarrow ^2\text{F}_{7/2}(\text{Yb}^{3+}) + ^5\text{I}_6(\text{Ho}^{3+})$

能量传递过程将能量传递给 Ho^{3+} 离子以增加 $^5\text{I}_6(\text{Ho}^{3+})$ 激发态电子数, 最后 Ho^{3+} 发生 $^5\text{I}_6 \rightarrow ^5\text{I}_8(\text{Ho}^{3+})$ 辐射跃迁而发射 1 155 nm 近红外二区荧光。在 $\text{Yb}^{3+}-\text{Pr}^{3+}$ 或 Er^{3+} 离子共掺杂的纳米晶中, 其能量转移过程与上述过程类似。最后 Pr^{3+} 和 Er^{3+} 离子分别发生 $^1\text{G}_4 \rightarrow ^3\text{H}_5(\text{Pr}^{3+})$ 和 $^4\text{I}_{13/2} \rightarrow$

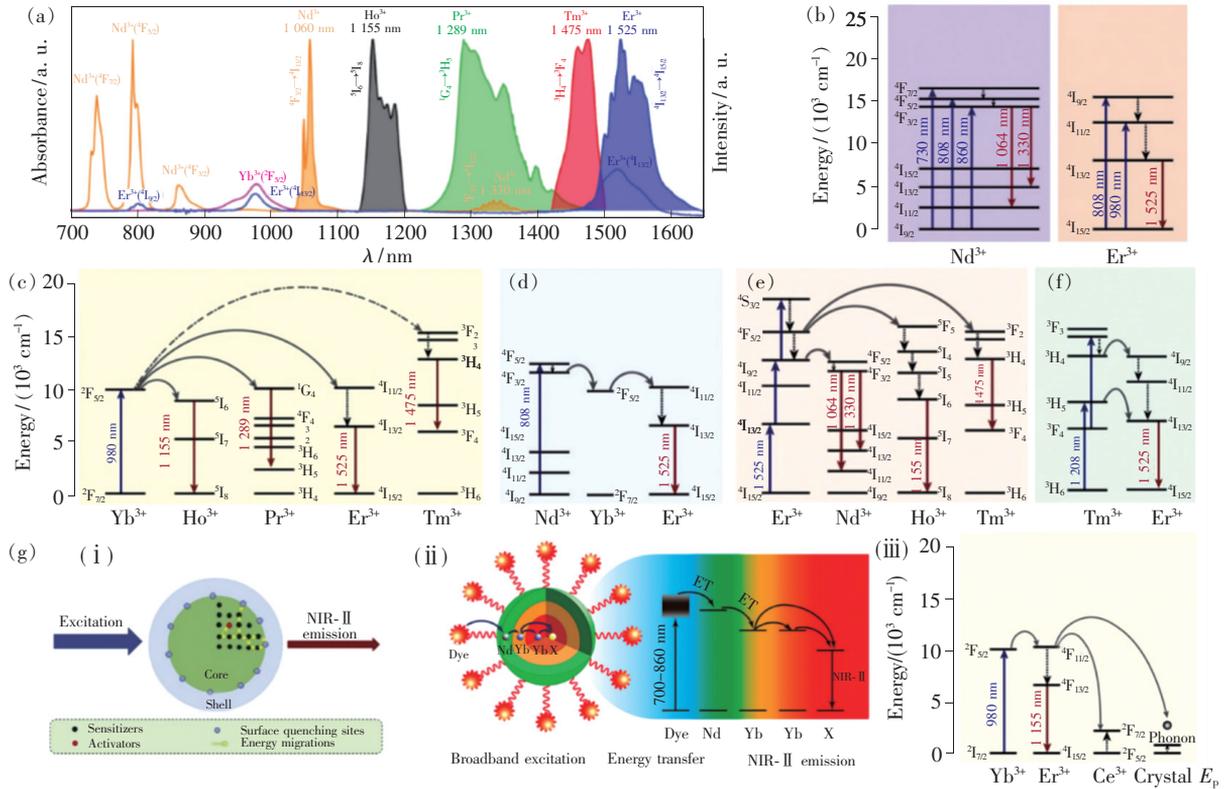


图 2 (a) Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 和 Er^{3+} 在近红外区的吸收光谱(实线标识)及 Nd^{3+} 、 Ho^{3+} 、 Pr^{3+} 、 Tm^{3+} 和 Er^{3+} 在近红外二区的发射光谱(颜色填充的实线标识)^[6]; (b) Nd^{3+} 和 Er^{3+} 的近红外二区发射; (c) Yb^{3+} 敏化 Ln^{3+} ($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Er}$ 和 Tm) 的近红外二区荧光发射的能量转移路径图示, 曲的短划线表示 Yb^{3+} 向 Tm^{3+} 的能量转移过程和 Tm^{3+} 的双光子激发态吸收过程; (d) Nd^{3+} 敏化 Er^{3+} 的近红外二区荧光发射的能量转移路径图示^[42]; (e) Er^{3+} 敏化 Ln^{3+} ($\text{Ln} = \text{Nd}, \text{Ho}$ 和 Tm) 的近红外二区荧光发射的能量转移路径图示^[43]; (f) Tm^{3+} 敏化 Er^{3+} 的近红外二区荧光发射的能量转移路径图示^[44]; (g) (i) 核壳结构的图解说明^[5], (ii) ICG 染料敏化 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{X}^{3+}@\text{NaYbF}_4@\text{NaYF}_4:\text{Nd}^{3+}$ 纳米粒子的能量传递过程图示^[48], (iii) 在 980 nm 激光激发下 α -ErNPs 纳米探针的能量转移图示^[38]。

Fig. 2 (a) Absorption spectra of Nd^{3+} , Yb^{3+} and Er^{3+} in NIR-I and NIR-II region (solid line) and NIR-II emission spectra from Nd^{3+} , Ho^{3+} , Pr^{3+} , Tm^{3+} and Er^{3+} (solid line with color shade). Proposed energy transfer mechanisms for emissions in the NIR-II region^[6]. (b) Intrinsic NIR-II emissions of Nd^{3+} and Er^{3+} . (c) Simplified energy transfer pathways for NIR-II emissions of Ln^{3+} ($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Er}, \text{Tm}$) using Yb^{3+} as the sensitizer. The dashed line indicates the energy transfer from Yb^{3+} to Tm^{3+} and the simultaneous two-photon process of Tm^{3+} . (d) Simplified energy transfer pathways for NIR-II emissions of Er^{3+} using Nd^{3+} as the sensitizer^[42]. (e) Simplified energy transfer pathways for NIR-II emissions of Ln^{3+} ($\text{Ln} = \text{Nd}, \text{Ho}, \text{Tm}$) using Er^{3+} as the sensitizer^[43]. (f) Simplified energy transfer pathways for the NIR-II emissions of Er^{3+} using Tm^{3+} as the sensitizer^[44]. (g) (i) Schematic illustration of the core/shell structure^[5]. (ii) Energy transfer pathway from ICG on the surface of $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{X}^{3+}@\text{NaYbF}_4@\text{NaYF}_4:\text{Nd}^{3+}$ nanocrystal, to the Nd^{3+} ions in the outer shell, then to the Yb^{3+} in the inner shell, and finally to the $\text{Yb}^{3+}/\text{X}^{3+}$ ($\text{X} = \text{null}, \text{Er}, \text{Ho}, \text{Tm}$ or Pr) in the core, producing large Stokes-shifted NIR-II emissions^[48]. (iii) Simplified energy-level diagrams depicting the energy transfer involved in a-ErNPs on 980 nm excitation^[38].

$^4I_{15/2}(\text{Er}^{3+})$ 辐射跃迁而产生 1 289 nm 和 1 525 nm 近红外二区荧光发射。而就 $\text{Yb}^{3+}-\text{Tm}^{3+}$ 离子共掺杂的纳米晶而言,在经过双光子上转换过程后, Tm^{3+} 离子的基态电子被激发至能量更高的 3F_2 和 3F_3 能级,而后非辐射弛豫至 3H_4 能级,最后辐射跃迁至 3F_4 而发射1 475 nm 近红外二区荧光(图 2(c))。(3) $\text{Nd}^{3+}-\text{Yb}^{3+}-\text{Ln}^{3+}$ 体系($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Tm}$ 或 Er)。该体系用 Nd^{3+} 和 Yb^{3+} 双敏化离子的共敏化策略将激发波长从 980 nm 调节至 808 nm。即 Nd^{3+} 离子的 $^4I_{9/2}$ 基态电子吸收 808 nm 激发光能量后被激发至 $^4F_{5/2}$ 能级,而后该能级的能量可通过 $^4F_{3/2}(\text{Nd}^{3+}) + ^2F_{7/2}(\text{Yb}^{3+}) \rightarrow ^4I_{9/2}(\text{Nd}^{3+}) + ^2F_{5/2}(\text{Yb}^{3+})$ 能量传递过程将其传递给 Yb^{3+} 离子,最后通过不同的能量传递过程将能量传递给不同的发光离子,其机理同 $\text{Yb}^{3+}-\text{Ln}^{3+}$ 体系($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Tm}$ 或者 Er) (图 2(d))。(4) $\text{Er}^{3+}-\text{Ln}^{3+}$ 体系($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Tm}$ 或 Nd)。由于 Er^{3+} 在 1 525 nm 左右有着较大的吸收截面,因此其也可以作为敏化离子吸收 1 525 nm 激发光的能量并经过三光子上转换过程将 Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 或 Tm^{3+} 离子的基态电子分别激发至 $^4F_{5/2}(\text{Nd}^{3+})$ 、 $^5F_5(\text{Ho}^{3+})$ 或 3F_2 和 $^3F_3(\text{Tm}^{3+})$ 激发态,而后经过不同的非辐射弛豫和辐射跃迁分别产生 1 060 nm (Nd^{3+} , $^4F_{3/2} \rightarrow ^4F_{5/2}$)、1 330 nm (Nd^{3+} , $^4F_{3/2} \rightarrow ^4I_{13/2}$)、1 155 nm (Ho^{3+} , $^5I_6 \rightarrow ^5I_8$) 和 1 475 nm (Tm^{3+} , $^3H_4 \rightarrow ^3F_4$) 的近红外二区荧光发射(图 2(e))。(5) $\text{Tm}^{3+}-\text{Er}^{3+}$ 体系(图 2(f))。该体系中 Tm^{3+} 离子作为敏化离子可吸收 1 208 nm 激发光的能量,经过双光子上转换过程将其基态电子分别激发至 3H_5 和 $^3F_3(\text{Tm}^{3+})$ 能级,之后通过能量传递过程将能量分别转移至 Er^{3+} 离子的 $^4I_{13/2}$ 和 $^4I_{9/2}(\text{Er}^{3+})$ 能级。 $^4I_{9/2}(\text{Er}^{3+})$ 激发态电子非辐射弛豫至 $^4I_{13/2}$,最后发生辐射跃迁 $^4I_{13/2} \rightarrow ^4I_{15/2}(\text{Er}^{3+})$ 而产生 1 525 nm 的近红外二区荧光(图 2(f))。

荧光探针的量子产率是决定其应用发展的重要因素之一,量子产率高的荧光探针可以在保证成像质量的前提下最大限度地降低所使用激发光的功率和探针的用量而减少对生物体的光损伤和生物毒性,提高安全性。因此,除了以上合理地选择基质、敏化离子和发光离子外,还可以通过设计优化荧光探针的结构来提高量子产率而增强其发

光强度。如图 2(g) 所示^[6],通过在稀土近红外二区荧光探针表面外延生长一层或多层惰性壳层或活性壳层而形成的核壳结构可有效地减弱溶剂分子对发光中心的猝灭作用。包覆的活性壳层还可以增加对激发光的捕获能力并提高其利用率,从而提高近红外二区荧光发射强度^[5,14,38,45-46]。另外,在荧光探针外嫁接在近红外一区或二区具有较强吸收截面且与敏化离子吸收能级相匹配的染料分子而形成染料敏化结构,可以改善 4f-4f 电子跃迁禁阻所导致的量子产率低的问题而增加跃迁几率,进而提高荧光强度^[47-48]。最近,通过在 Er^{3+} 掺杂的荧光探针中掺杂 Ce^{3+} 和 Zn^{2+} 离子来调控其内部能量转移过程的方法也被证实是一种提高 Er^{3+} 近红外二区荧光强度的有效策略^[38]。不仅如此,还可以通过调控稀土近红外二区荧光探针的结构^[49-50]、离子掺杂浓度^[39,51-52]、粒径^[40]、荧光共振能量转移和内部能量迁移过程^[53-54]等方法来调节其荧光寿命,以更好地实现荧光寿命多通道成像。

3 近红外二区荧光成像应用

3.1 光谱域成像

相较于可见和近红外一区荧光成像,近红外二区成像受到生物组织的散射和自体荧光的干扰更弱,近年来引起了人们的广泛关注。同时,日益成熟的近红外二区光子检测技术和快速发展的纳米科学技术为充分地探索近红外二区荧光探针的应用潜力提供了强大的技术支撑。特别是基于稀土近红外二区荧光探针的成像研究,因其具有发光波长可调谐、稳定性好、发射半峰宽窄等独特优势,近年来取得了令人瞩目的进展^[14,43-44,47,55-71]。2013 年,美国罗格斯大学 Moghe 研究团队设计开发了 $\text{NaYF}_4, \text{Yb}: \text{Ln} (\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Tm} \text{ 或 } \text{Er}) @ \text{NaYF}_4$ 近红外二区荧光探针^[14]。由于 Yb^{3+} 离子在 980 nm 处有较强的吸收截面 ($1.2 \times 10^{-20} \text{ cm}^2$)^[72],因此该探针中的 Yb^{3+} 离子可有效地吸收 980 nm 激发光能量,将能量传递给不同的发光中心后,发生相应的辐射跃迁从而发射不同波长的近红外二区荧光如 1 155 nm (Ho^{3+})、1 269 nm (Pr^{3+})、1 475 nm (Tm^{3+}) 或 1 525 nm (Er^{3+})。体外实验结果表明,相较于近红外一区(808 nm)的组织穿透深度($\leq 5 \text{ mm}$),近红外二区光(1 525 nm)有着更深的组织穿透深度,可达 1 cm 以上。

该探针在修饰 HSA 分子 (Human serum albumin) 后可有效地在肿瘤和主要脏器内富集而实现了对其高分辨成像 (微米级的分辨率) 及多光谱实时成像 (Er^{3+} : 1 525 nm; Ho^{3+} : 1 185 nm)。该工作不仅首次探索发掘了稀土近红外二区荧光探针在体内实现多光谱荧光成像上的应用潜力, 而且为稀土近红外二区荧光探针的发展奠定了基础。但是, 由于稀土离子存在 4f-4f 电子跃迁禁阻效应导致较低的荧光量子产率, 因而阻碍了其进一步发展。因此, 设计开发荧光量子产率高的稀土近红外二区荧光探针尤为重要^[38,41,47,61,71]。2019 年, 美国斯坦福大学戴宏杰课题组巧妙地设计合成了锌掺杂的 α - NaYbF_4 : 2% Er , 2% Ce , 10% Zn @ NaYF_4 核壳结构的近红外二区荧光探针^[38]。其发光机理如图 3(a) 所示, Yb^{3+} 离子作为敏化离子, 其 $^2\text{F}_{7/2}$ 基态电子吸收 980 nm 激发光能量后被激发至 $^2\text{F}_{5/2}$ 能级。在 Yb^{3+} - Er^{3+} 离子共掺杂的纳米粒子中, Yb^{3+} 吸收的能量可通过 $^2\text{F}_{5/2}(\text{Yb}^{3+}) + ^4\text{I}_{15/2}(\text{Er}^{3+}) \rightarrow$

$^2\text{F}_{7/2}(\text{Yb}^{3+}) + ^4\text{I}_{11/2}(\text{Er}^{3+})$ 能量传递过程将能量传递给 Er^{3+} 离子以增加 $^4\text{I}_{11/2}(\text{Er}^{3+})$ 激发态电子数, $^4\text{I}_{11/2}(\text{Er}^{3+})$ 激发态电子非辐射弛豫至 $^4\text{I}_{13/2}$, 最后发生辐射跃迁 $^4\text{I}_{13/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}(\text{Er}^{3+})$ 而产生 1 525 nm 的近红外二区荧光。其中声子能量高的 α 相晶体结构和掺杂的 Ce^{3+} 可分别增强 $^4\text{I}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{13/2}(\text{Er}^{3+})$ 非辐射弛豫过程和 $^2\text{F}_{7/2}(\text{Ce}^{3+}) + ^4\text{I}_{11/2}(\text{Er}^{3+}) \rightarrow ^2\text{F}_{5/2}(\text{Ce}^{3+}) + ^4\text{I}_{13/2}(\text{Er}^{3+})$ 交叉弛豫过程而大幅度增加了 $^4\text{I}_{13/2}(\text{Er}^{3+})$ 激发态电子数, 从而有效地抑制了上转换过程并增强了下转换过程。另外, 掺杂的 Zn^{2+} 和包覆的惰性壳层可分别减弱 4f-4f 电子跃迁禁阻作用和溶剂分子对发光中心的猝灭作用而增强近红外二区荧光强度。即在以上 4 种策略的调控下, Er^{3+} 离子下转换荧光强度提升了近 11 倍 (图 3(a))。该超亮的荧光探针在被聚丙烯酸和氨基聚乙二醇等分子修饰后, 具有长的血液循环时间和良好的生物安全性 (两周后 90% 的探针可经粪便排出体外)。由于

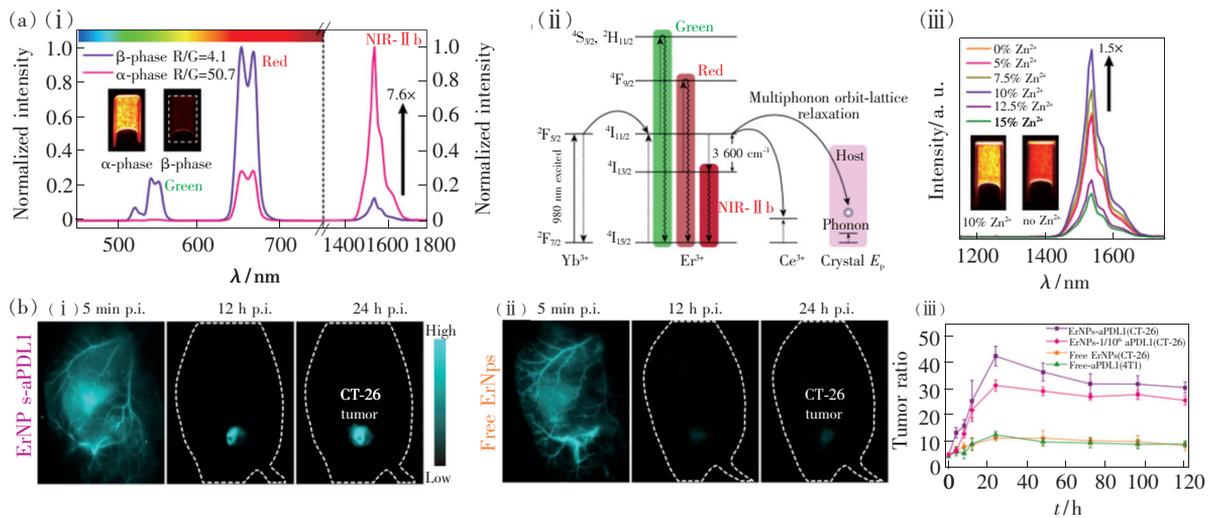


图 3 (a) (i) α -ErNPs 和 β -ErNPs 荧光探针的上/下转换荧光光谱, 内嵌图片是二者分散在环己烷溶剂中的荧光图像; (ii) 在 980 nm 激光激发下, α -ErNPs 纳米探针的能量转移图示; (iii) 不同锌离子掺杂浓度的 α -ErNPs 纳米探针的荧光光谱 (0%, 5%, 7.5%, 10%, 12.5%, 15%)。 (b) (i) ~ (ii) 分别注射 ErNPs-aPDL1 和 ErNPs 荧光探针 5 min、12 h 和 24 h 后, 肿瘤小鼠的近红外二区荧光成像图 (标尺: 1 cm); (iii) 肿瘤部位与正常组织的荧光强度比随时间变化的曲线^[38]。

Fig. 3 (a) (i) Upconversion and downconversion luminescence spectra of α -ErNPs and β -phase ErNPs. The insets show NIR-II b luminescence images of these two nanoparticles in cyclohexane. (ii) Simplified energy-level diagrams depicting the energy transfer involved in α -ErNPs on 980 nm excitation. (iii) Downconversion luminescence spectra of Zn-doped α -ErNPs with different Zn^{2+} concentrations (0%, 5%, 7.5%, 10%, 12.5% and 15%, nominal doping concentration). The insets show NIR-II b luminescence images of α -ErNPs with 10% and 0% Zn^{2+} doping. (b) (i) - (ii) Wide-field images of CT-26 tumor mice ($n = 5$) treated with ErNPs-aPDL1, CT-26 tumor mice ($n = 3$) treated with free ErNPs (middle) at different time points p. i. (5 min, 12 h and 24 h). Scale bar, 1 cm. (iii) T/N ratios of ErNPs in tumor were plotted as a function of time over 120 h^[38].

1 525 nm 波长的荧光几乎不受组织的自荧光干扰,因此该荧光探针不仅实现了低功率下($15 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$)对小鼠血管的高信噪比和高分辨率实时动态成像和对其心率的监测;而且在共价嫁接靶向 anti-PD-L1 抗体后,实现了癌症免疫治疗的高分辨率实时动态成像。其肿瘤与正常组织的信噪比高达 40(提升了近 4 倍)(图 3(b))。

为了进一步提高激发光的穿透深度,研究人员开发了一系列近红外二区光激发的稀土荧光探针,并探索了其在生物成像领域的应用性^[43-44,63,73-75]。新加坡国立大学的刘小钢教授团队率先利用 Er^{3+} 作为敏化离子,设计合成了近红外二区光激发的 $\text{NaErF}_4:\text{Tm} (0.5\%)@ \text{NaYF}_4$ 稀土发光纳米材料,将激发波长调控至 1 530 nm^[63]。该材料中 Er^{3+} 不但可以作为敏化离子,也可以充当上转换发光过程的发光中心(650 nm)。其中少量掺杂的 Tm^{3+} 离子则可以提供能量陷获中心而减少能量迁移过程中的损失,从而进一步提高发光效率。该材料不仅有着良好的生物成像应用前景,而且拓宽了激发光波长的选择范围,为开发近红外二区激发和发射的稀土荧光探针奠定了基础。复旦大学张凡教授课题组最近利用 Er^{3+} 吸收 1 530 nm 激发光,并经过三光子上转换过程将 Ho^{3+} 离子的基态电子激发至 $^5\text{F}_5$ (Ho^{3+}) 激发态,从而获得 Ho^{3+} 的近红外二区荧光发射(1 155 nm, Ho^{3+} , $^5\text{I}_6 \rightarrow ^5\text{I}_8$) 的稀土发光纳米材料($\text{NaErF}_4:\text{Ho}@ \text{NaYF}_4$)^[43]。该探针在生物传感、荧光寿命编码成像和体内高信噪比炎症病灶成像方面均表现出了优异的性能。最近,该课题组又利用 Tm^{3+} 作为敏化离子,制备了 $\text{NaYF}_4:\text{Tm}/\text{Er}@ \text{NaYF}_4$ 稀土发光纳米材料,成功地将激发波长拓展到 1 208 nm。 Tm^{3+} 作为敏化离子吸收 1 208 nm 激发光, Er^{3+} 作为发光离子产生 1 525 nm 近红外二区荧光发射。同时,改变 Er^{3+} 的掺杂浓度还可以实现其荧光寿命的调控,使其应用于荧光寿命的多通道编码成像和信息存储等领域^[44]。此外,南京工业大学黄岭教授团队报道了 Ho^{3+} 离子敏化的 $\text{NaYF}_4:\text{Er}/\text{Ho}$ 稀土发光纳米材料,成功获得了 1 155 nm 激发的上转换发射,并在生物成像和传感等领域展现出了巨大的应用潜力^[75]。

目标与背景信号的比值(Target-to-background ratio, TBR)是评价荧光成像质量的一个重要参

数^[76-77]。近些年,研究人员一直致力于设计开发新型荧光探针以提高 TBR,从而实现精准荧光成像。主要包括 3 个研究方向:最小化背景荧光信号、最大化目标区域荧光信号及两者协同调控。病变组织的病理微环境与正常组织的生理环境明显不同,例如 pH 值^[70,78]、异常的氧化还原环境(H_2O_2 ^[69,79-80]、 HClO ^[62,65,81]、 ONOO^- ^[82-83]和 GSH ^[64,84]等)或酶等^[78,85-86],而这些病理参数正是各种疾病(例如癌症、炎症和心血管疾病)的重要生物标志物。构建荧光强度对成像病灶部位的特异性响应的荧光探针可以实现最小化背景荧光信号,最大化目标区域荧光信号,是一种实现精准荧光成像的有效策略。刺激-响应型荧光探针可对病理组织中的病理参数做出响应而增强或激活荧光信号,从而实现最小化背景荧光信号和最大化目标区域荧光信号。因此,设计开发新颖的刺激-响应型稀土近红外二区荧光探针是实现精准高灵敏度和高信噪比成像的关键^[62,64-65,67,69-70,81,87]。近年来,首都师范大学周晶研究团队报道了一种 pH 响应荧光增强的 $\text{NaDyF}_4:10\% \text{Nd-GA-Fe}$ 近红外二区荧光探针^[70]。其中既做敏化离子又担当发光离子的 Nd^{3+} 吸收 808 nm 激发光能量后可发射 1 050 nm ($^4\text{F}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{11/2}, \text{Nd}^{3+}$) 和 1 330 nm ($^4\text{F}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{13/2}, \text{Nd}^{3+}$) 的近红外二区荧光。稀土纳米粒子修饰上没食子酸-铁配合物(GA-Fe)后,由于 GA-Fe 在酸性条件下易被质子化而增强配合物分子间的氢键作用导致粒子聚集。因此,通过尾静脉注射将该探针注入载瘤小鼠体内后,利用肿瘤微环境的弱酸环境可实现对肿瘤病灶区域的 pH 响应聚集诱导荧光增强的近红外二区荧光成像(强度提升约 2 倍)。复旦大学张凡教授课题组利用炎症部位过氧化氢水平异常的特点,设计开发了一系列稀土近红外二区荧光成像探针^[43,69,81]。如设计合成小尺寸单离子掺杂体系的 $\text{NaGdF}_4:5\% \text{Nd}$ 纳米探针,在 808 nm 激光激发下可产生 1 064 nm 近红外二区荧光^[69]。利用纳米晶表面 Gd^{3+} 离子与羧基的螯合作用,在其表面修饰上生物小分子谷胱甘肽。这不仅提升了其血液循环时间和生物安全性,而且赋予了其过氧化氢响应的聚集性诱导荧光增强的特性(谷胱甘肽分子上的巯基在过氧化氢的氧化作用下可形成二硫键)(图 4(a))。经尾静脉给药后,与对照组相比,富集到炎症病灶的纳米粒子在过氧化氢的作用下发生团聚而产生更高的荧

光信号,因此信噪比更高(提升了近 3 倍)(图 4(b))。另外,进一步证明了在体内谷胱甘肽修饰的纳米探针可实现过氧化氢响应的粒子间交叉偶联,并表现出有效的能量传递效率(图 4(c))。另外,该课题组进一步设计开发了近红外二区比率荧光探针($\text{NaErF}_4:\text{Ho@NaYF}_4$)^[43],其发光机理为:在 1 530 nm 激光照射下,作为敏化离子的 Er^{3+} 吸收 1 530 nm 激发光,并经过三光子上转换过程将 Ho^{3+} 离子的基态电子激发至 $^5\text{F}_5$ (Ho^{3+}) 激发态,而后经过不同的非辐射弛豫和辐射跃迁产生 1 155 nm ($\text{Ho}^{3+}, ^5\text{I}_6 \rightarrow ^5\text{I}_8$) 的近红外二区荧光发射和 980 nm ($\text{Er}^{3+}, ^4\text{I}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$) 近红外一区荧光发射。而后表面修饰的 IR1061 染料赋予了其过氧化氢的响应特性。因为 IR1061 在 800 ~ 1 100 nm 处有强吸收而导致 980 nm 荧光猝灭,但是在过氧化氢的存在下 IR1061 被 Fenton 催化 Fe^{2+} 和 H_2O_2 产生的 $\cdot\text{OH}$ 降解,而增强 980 nm 发射光的强度,其中 1 180 nm 发射光强度几乎不变。该工作为高分辨率($200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$)的体内动态炎症传感开辟了新道路。此外,炎症部位除了过氧化氢水平异常外,其他活性氧的含量也

远高于正常组织,如 HOCl 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 等^[62,65,81,88]。最近,张凡教授课题组设计开发了一种基于吸收竞争诱导荧光发射机理的 Er 掺杂 $\text{NaYF}_4 @ \text{NaYF}_4\text{-Cy7.5}$ 近红外二区荧光复合探针(图 5(a))^[81]。在 808 nm 激发光照射下,由于 Cy7.5 染料于 808 nm 处有着更强的吸收强度从而极大地削弱了 Er^{3+} 离子对 808 nm 的吸收,导致 Er^{3+} 离子在 1 530 nm 处近红外二区荧光发射变弱。但当 HOCl 分子存在时,Cy7.5 染料被降解而削弱了其对 808 nm 激发光的吸收,反而增强了 Er^{3+} 离子近红外二区荧光发射强度。由于 Cy7.5 染料对 980 nm 吸收较弱,因此在 980 nm 激光照射下, Er^{3+} 离子下转换的近红外二区荧光发射强度几乎保持不变。因此,分别在双激发波长照射下,二者的 1 530 nm 荧光强度的比值与 HOCl 分子浓度密切相关。近红外二区比率荧光(I_{808}/I_{980})实现了对 HOCl 含量的精准检测(检出限低至 $500 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)以及体内炎症的高分辨率高信噪比成像(淋巴管成像分辨率约 $477 \mu\text{m}$)(图 5(b) ~ (c))。该系列工作推动了基于稀土近红外二区荧光成像探针的体内炎症的精准成像的发展。福建物

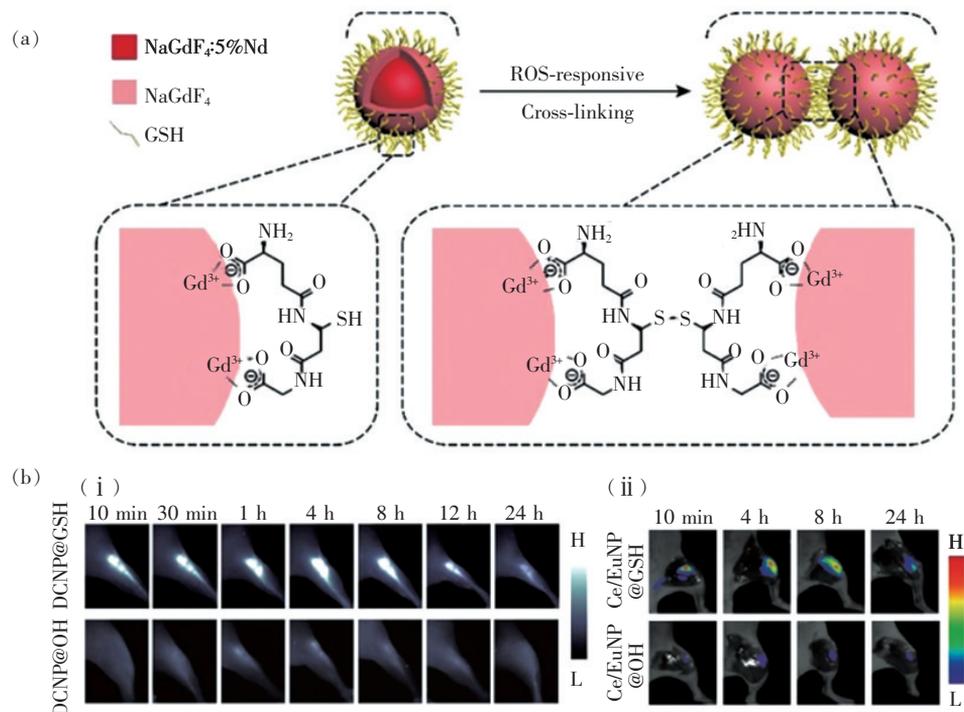


图 4 (a)超小荧光探针用于急性局域表皮炎症生物成像的图示说明;(b) (i)注射不同探针后急性局域表皮炎症的近红外二区生物成像, (ii)体内粒子间能量迁移生物成像^[69]。

Fig. 4 (a) Illustration of bioimaging for acute local epidermal inflammation in mice utilizing ultra-small DCNP@GSH nano-probes. (b) (i) NIR-II fluorescence bioimaging of the acute local epidermal inflammation with various nano-probes, (ii) *In vivo* I-PEM bioimaging^[69].

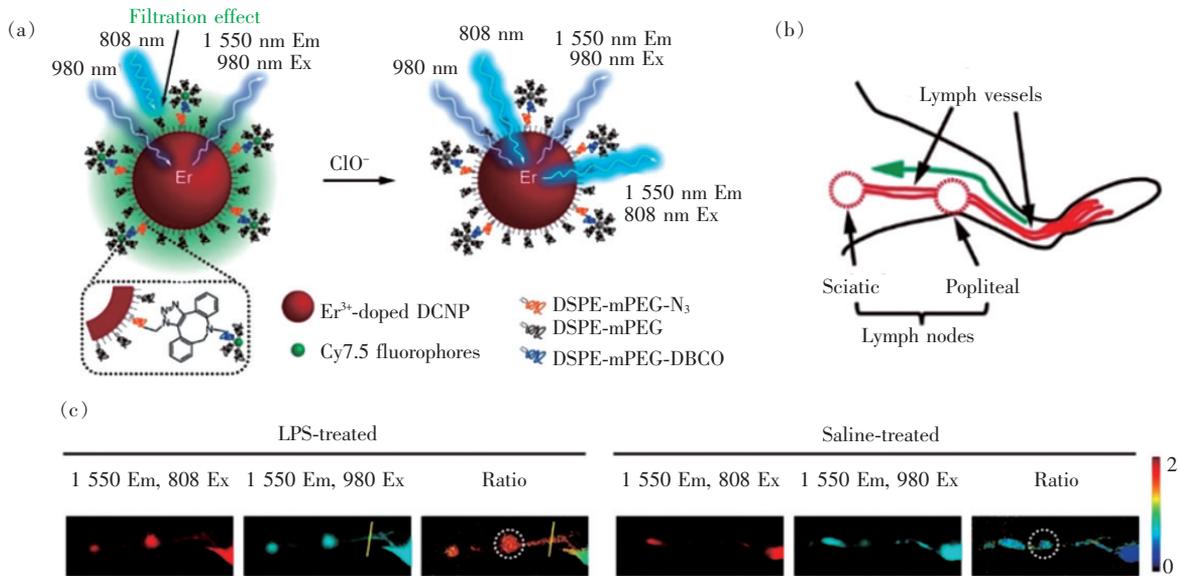


图5 (a)基于ACIE机理的DCNP@Cy7.5复合探针对HOCl分子响应的图示说明,Er³⁺-DCNP:NaEr_xY_{1-x}F₄@NaYF₄($x=0.05,0.15,0.5$),下转换纳米粒子的荧光由于Cy7.5染料对激发光能量的强吸收作用而被猝灭,但在HOCl分子存在下由于Cy7.5染料被HOCl分子降解而得到恢复;(b)小鼠后肢淋巴系统的解剖学结构,其中绿色箭头表示从爪子到坐骨淋巴结间的淋巴管;(c)注射DCNP@Cy7.5探针30 min后,经内毒素和生理盐水处理的小鼠淋巴管的近红外二区荧光成像和相应的比率荧光成像图^[81]。

Fig. 5 (a) Schematic illustration showing the ratiometric response of DCNP@Cy7.5 to HOCl based on an ACIE mechanism. Er³⁺-doped DCNP: NaEr_xY_{1-x}F₄@NaYF₄ ($x=0.05, 0.15, 0.5$). When excitation is performed in the absorption overlapping region (808 nm), fluorescence of DCNPs are quenched due to the energy filtration of excitation light by strong absorbing Cy7.5. The quenching process is reversed after the degradation of Cy7.5 by HOCl oxidation. (b) Anatomical structure of lymphatic system in the hindlimb of mice, green arrow represents the lymphatic drainage from the paw to the sciatic lymph node. (c) *In vivo* NIR-II fluorescence images and corresponding ratiometric images of LPS-treated and saline-treated mouse lymphatic drainage at 30 min post injection of DCNP@Cy7.5^[81].

质结构研究所的陈学元教授团队设计合成了过氧化氢激活的NaCeF₄:Er/Yb近红外二区荧光探针,并实现了尿酸的检测^[67]。其机理与上述 α -NaYbF₄:2%Er,2%Ce,10%Zn@NaYF₄探针类似,其中掺杂的Ce³⁺有效地增强了 ${}^2F_{7/2}(\text{Ce}^{3+}) + {}^4I_{11/2}(\text{Er}^{3+}) \rightarrow {}^2F_{5/2}(\text{Ce}^{3+}) + {}^4I_{13/2}(\text{Er}^{3+})$ 交叉弛豫过程而大幅度增加了 ${}^4I_{13/2}(\text{Er}^{3+})$ 激发态电子数,从而有效地抑制了上转换过程并增强了下转换过程。在过氧化氢的氧化作用下,Ce³⁺被氧化成Ce⁴⁺而减弱了上述交叉弛豫过程导致了1530 nm发射光的荧光猝灭。这一响应性探针可用于检测过氧化氢或可生成过氧化氢的生物分子,如通过检测尿酸和尿酸酶反应产生的过氧化氢分子,可将尿酸的检出限降低到25.6 nmol·L⁻¹,并且在小动物成像上其组织深度可达10 mm。

3.2 时间域成像

3.2.1 时间门控成像

时间门控成像技术是一种经短脉冲激发光激

发后捕获采集延迟一定时间后的荧光信号进行成像的时间分辨技术。它可以通过调控延迟时间过滤掉激发光和短寿命的荧光信号并采集长寿命特异性的荧光信号从而实现高信噪比的荧光成像。由于稀土荧光探针的寿命可调,且远高于生物组织的散射及自体荧光的寿命,因此在生物成像和生物传感领域具有巨大的应用前景^[37,89-90]。哈尔滨工业大学陈冠英课题组设计开发了可用于近红外二区时间门控成像的NaYF₄:10%Yb³⁺,30%Nd³⁺@CaF₂稀土荧光探针,在其表面修饰的聚丙烯酸赋予了纳米材料良好的生物相容性与安全性^[49]。由于其荧光寿命(约1 ms)远长于散射光和自体荧光的寿命(小于10 ns),小鼠活体内时间门控成像的结果表明,该探针极大地削弱了小鼠部分生物组织(皮肤和眼睛)的散射光及自体荧光对成像信号的干扰,从而显著地提高了成像信噪比。另外,由于时间门控成像系统是捕获采集脉冲激发光激发后随时间衰减的荧光

信号,导致成像信号强度通常较弱。因此,开发量子产率高、寿命长的荧光探针可以在保证成像质量的前提下最大限度地降低所使用激发光的功率和探针的用量,从而减少对生物体的损伤,提高安全性。基于此,复旦大学的李富友教授团队和澳大利亚悉尼科技大学金大勇教授团队合作开发了一种新型可用于时间门控成像的小尺寸 $\alpha\text{-NaYbF}_4@ \text{CaF}_2$ 稀土荧光探针^[37]。其中 Yb^{3+} 离子在吸收 975 nm 短脉冲激发光能量后,由于存在 4f4f 电子跃迁禁阻效应, $^2\text{F}_{5/2}$ (Yb^{3+}) 激发态电子有着较长的荧光寿命。另外,单离子掺杂有效地避免了离子间交叉弛豫过程,使得具有较长寿命的 $^2\text{F}_{5/2}$ (Yb^{3+}) 激发态电子将在 Yb^{3+} 离子间不断传递直至辐射跃迁至

基态发射出同等波长的光子。重要的是,由于 CaF_2 惰性壳层的保护,有效地避免了溶剂分子等对发光离子的猝灭作用和非辐射弛豫过程,最大限度地减少了能量传递过程中的能量损失,从而实现了近乎 100% 量子产率的近红外荧光发射(图 6(a))。因此,在小鼠活体内时间门控成像应用中,即使在低剂量($13 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)和低的激光辐照功率($1.1 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$)条件下,仍可实现对小鼠器官的高灵敏度和高信噪比($\text{SNR} > 9$)成像(图 6(b))。同时,该高量子产率稀土荧光探针的设计理念同样适用于其他在近红外区有吸收截面的稀土离子如 Nd^{3+} 、 Er^{3+} 和 Tm^{3+} 。该工作推动了稀土荧光探针在时间门控技术应用上的发展。

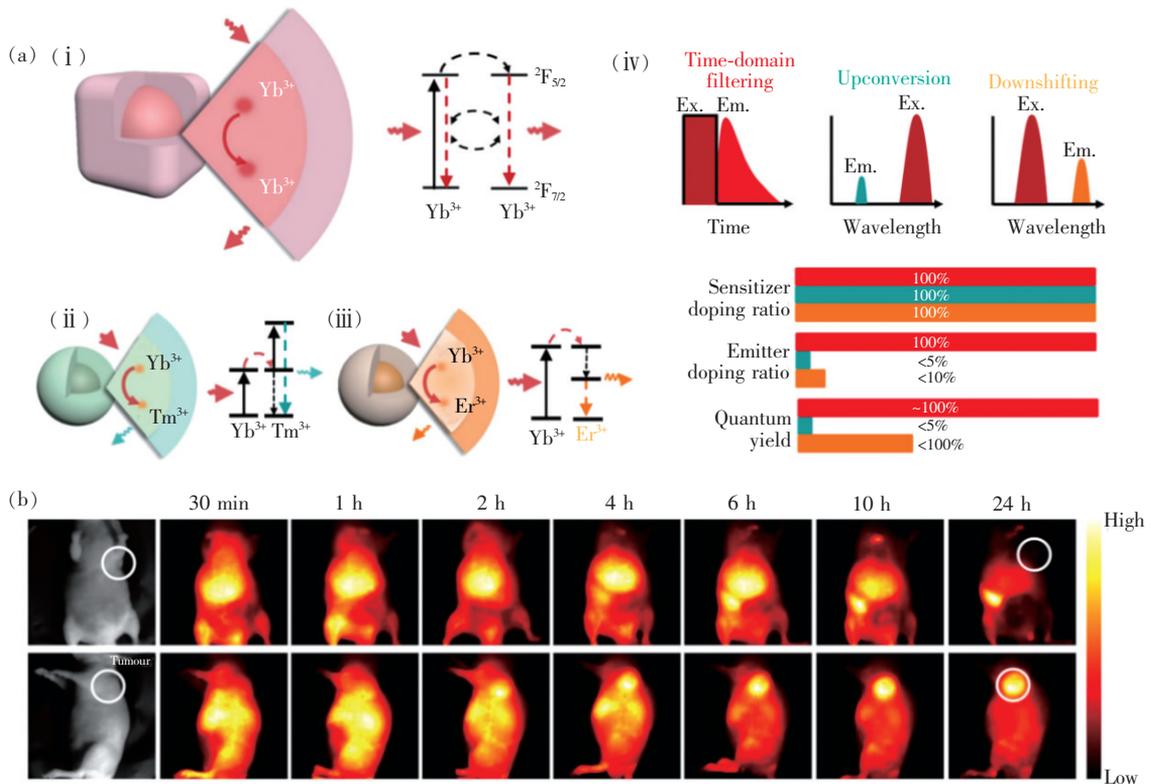


图 6 (a)时间域荧光传感器(i) (τ -dots; $< 15 \text{ nm}$) 和与之相比较的上转换(ii)及下转换(iii)纳米粒子($< 20 \text{ nm}$)的设计原理,时间域检测原理:在脉冲激光激发后通过精准地控制时间窗口来检测分析延迟荧光的强度及衰减信号;(iv)时间域过滤的光学信号和光学过滤的上转换及下转换光学信号对比示意图。(b)注射 $\alpha\text{-NaYbF}_4@ \text{CaF}_2$ 探针不同时间后在 975 nm 脉冲激发光激发下小鼠的时间门控成像图像^[37]。

Fig. 6 (a) Design principle of the sub-15 nm biocompatible time-domain luminescent transducer(τ -dots; (i)) compared with typical designs with sub-20 nm upconversion(ii) and downshifting(iii) nanoparticles. The time-domain detection of τ -dots involves a pulsed laser excitation following a precisely controlled time window to resolve both the intensity and decay signature of the delayed luminescence in the same spectral band. (iv) Schematic comparison of the optical signal discrimination approaches of time-domain filtering and upconversion and downshifting luminescence using spectral filters. (b) Time-gated imaging of $\alpha\text{-NaYbF}_4@ \text{CaF}_2$ nanoparticles(NIR τ -dots) under pulsed excitation at 975 nm^[37].

3.2.2 荧光寿命成像

荧光寿命成像技术是一种通过采集不同荧光寿命信号而进行分析成像的另一种时间分辨技术。由于稀土荧光探针的荧光寿命可调范围广(μs - ms),因此在生物成像、生物传感、荧光寿命多通路复合成像和高通量检测分析等领域有着巨大的应用前景^[42,52,87,91-93]。另外,由于荧光寿命不受激发光功率和组织穿透深度的影响而不需要进行不同深度的校准,因此其常被用于定量探针,为对体内分子或标志物进行多编码定量检测奠定了基础。复旦大学张凡教授研究团队报道了基于荧光寿命多通路复合成像技术的、可用于二元(颜色和荧光寿命)编码的 $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Ln}^{3+}@\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}@\text{NaNdF}_4:\text{Yb}^{3+}@\text{NaYF}_4$ ($\text{Ln} = \text{Tm}, \text{Er}/\text{Pr}, \text{Er}$) 纳米探针^[92]。其中 Nd^{3+} 离子的 ${}^4\text{I}_{9/2}$ 基态电子吸收 808 nm 激发光能量后被激发至 ${}^4\text{F}_{5/2}$ 能级,该能级的能量可通过 ${}^4\text{F}_{3/2}(\text{Nd}^{3+}) + {}^2\text{F}_{7/2}(\text{Yb}^{3+}) \rightarrow {}^4\text{I}_{9/2}(\text{Nd}^{3+}) + {}^2\text{F}_{5/2}(\text{Yb}^{3+})$ 能量传递过程将其传递给同层的 Yb^{3+} 离子,并沿着 Yb^{3+} 单掺杂的能量迁移层传递至内核的 Yb^{3+} 离子,最后将能量传递给发光离子(蓝光: Tm^{3+} ,绿光: $\text{Er}^{3+}/\text{Pr}^{3+}$,红光: Er^{3+})产生上转换荧光。通过控制能量迁移层的厚度可以调控能量传递的时间而改变荧光寿命,改变掺杂的发光离子的种类可以调控荧光发射的波长。因此实现了不同寿命的蓝光、绿光和蓝光发射探针相结合的超高编码容量($> 10^5$ 种)的二元编码模式。因此,将9种有着不同寿命和颜色的纳米材料分别修饰人乳头瘤病毒的 DNA 探针(HPV16,18,31,33,35,39,45,51,68)并利用寿命多通道复合成像技术实现了高通量的高风险 HPV 检测。该工作基于稀土发光纳米材料荧光寿命可调的特性,利用时间寿命成像技术实现了病毒的高通量检测分析并为检测其他标志物提供了可行有效的方案。若结合近红外二区成像的高信噪比、组织穿透能力强的特点,将可以实现活体内多编码成像和对肿瘤标志物的定量分析。2018年,复旦大学张凡教授研究团队进一步设计合成了一系列荧光寿命工程化的 $\beta\text{-NaGdF}_4@\text{NaGdF}_4:\text{Yb},\text{Ln}$ ($\text{Ln} = \text{Ho}, \text{Pr}, \text{Tm}$ 或 Er) $@\text{NaYF}_4:\text{Yb}@\text{NaNdF}_4:\text{Yb}$ 核-多层壳结构近红外二区荧光探针^[42]。在 808 nm 激发下,可发射出取决于掺杂离子的近红外二区荧光,如 1 155 nm(Ho^{3+})、

1 269 nm(Pr^{3+})、1 475 nm(Tm^{3+}) 或 1 525 nm(Er^{3+})。以掺杂 Er 的荧光探针为例,通过调控第二层能量转移层的厚度及 Er^{3+} 的掺杂量,实现了横跨 3 个数量级的荧光寿命调控(μs - ms) (图 7(a))。系统性测试的结果表明,在荧光模式下即使其信噪比低于 1.5 但寿命仍然保持不变,即荧光探针的荧光寿命与组织深度无关,因此其可用于定量研究,而无需在不同深度进行校准。分别在 3 种具有不同时间寿命的荧光探针表面修饰 MCF-7 和 BT-474 乳腺肿瘤生物标志物(雌激素受体、黄体酮受体和人表皮生长因子受体 2:ER、PR 和 HER2)抗体,经尾静脉注射后,实现了生物体内肿瘤标志物的多重定量检测。其结果与蛋白质印迹和免疫组织化学测试结果一致(图 7(b))。因此这种新型无创伤的荧光寿命多编码成像为活体内深层组织多通道定量成像研究开辟了新道路。另外,哈尔滨工业大学陈冠英课题组设计开发了 $\text{NaYF}_4@\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Nd}^{3+}@\text{CaF}_2$ 稀土基荧光探针^[94]。该温敏探针利用荧光寿命成像技术实现了基于近红外二区荧光寿命的高温灵敏度($(1.4 \sim 1.1)\% \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$)的体内温度传感($10 \sim 64$ $^\circ\text{C}$)和对小鼠炎症的活体内成像诊断。该工作不仅为体内温度传感应用提供了有着巨大应用潜力的新策略,而且拓展了稀土基荧光探针的应用领域。

如光谱域成像部分所述,刺激-响应型的荧光探针能实现更高信噪比的精准成像,由于寿命不受组织深度和激发光功率的影响,因此设计开发刺激-响应型的荧光寿命成像探针可以进一步提高成像信噪比。复旦大学李富友教授团队设计开发了一种基于荧光共振能量转移效应(Luminescence resonance energy transfer, LRET)的 $\text{NaYF}_4:\text{Tm}^{3+}\text{-IR-820}$ 复合荧光探针,用于 ClO^- 响应的荧光寿命编码成像和生物传感^[87]。其中 Tm^{3+} 吸收 785 nm 激发光能量后其基态电子被激发至 ${}^3\text{H}_4$ 能级,而后辐射跃迁返回到基态并产生 800 nm 荧光发射。另外,由于 IR-820 染料于 800 nm 处有着强的吸收,因此可很大程度地吸收 800 nm 荧光能量而导致 800 nm 荧光寿命降低。当 ClO^- 分子存在时,IR-820 染料被分解而削弱了其对 800 nm 荧光的吸收,使得 800 nm 荧光寿命恢复。因此,该复合探针的荧光寿命与 ClO^- 的浓度密切相关。利用荧光寿命多编码成像技术,实现了 ClO^- 的定

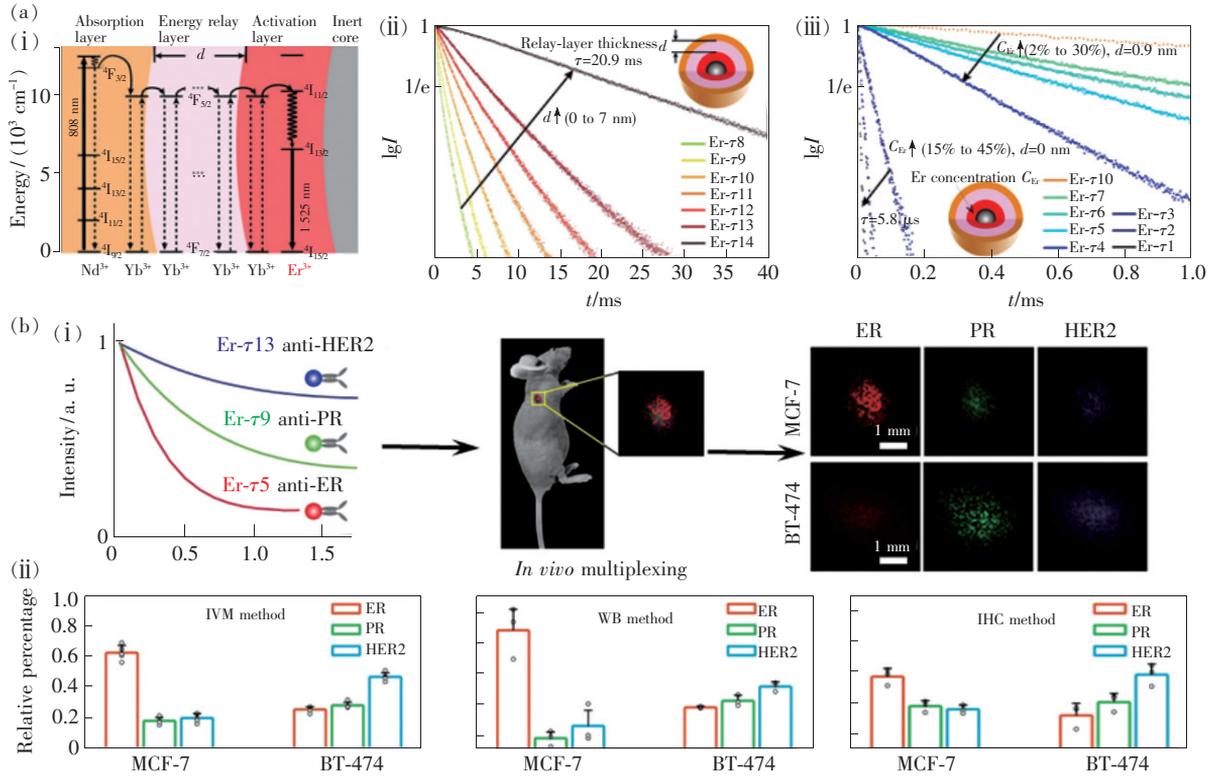


图 7 (a) (i) 核-多层壳纳米材料能量传递过程的能级图示, (ii) 具有不同能量迁移层厚度的 Er 掺杂纳米粒子在 1 525 nm 的荧光衰减曲线 ($d = 0 \sim 7$ nm), (iii) 不同 Er 掺杂浓度的纳米粒子的荧光衰减曲线 ($C_{Er} = 2\% \sim 30\%$, $d = 0.9$ nm; $C_{Er} = 15\% \sim 45\%$, $d = 0$ nm)。(b) (i) 3 种不同荧光寿命的纳米粒子分别共价嫁接 3 种抗体 (anti-ER、anti-PR 和 anti-HER2), 3 种寿命通道下 (分别用红、绿和蓝色表示) 对 MCF-7 和 BT-474 肿瘤小鼠的时间分辨成像; (ii) 两种肿瘤模型中标志物表达情况的计算结果柱形图, IVM: 体内多重成像; WB: 蛋白质印迹法; IHC: 免疫组织化学染色法^[42]。

Fig. 7 (a) (i) Energy level diagram illustrating the luminescence process of the core-multi-shell nanoparticles. (ii) Luminescence decay curves measured at 1 525 nm from the as-prepared Er nanoparticles with energy relay shells of increasing thickness d from 0 to 7 nm (identical composition). (iii) Luminescence decay curves of the nanoparticles with incremental Er³⁺ concentration C_{Er} doping from 2% to 30% for $d = 0.9$ nm and from 15% to 45% for $d = 0$ nm. (b) (i) Three batches of Er nanoparticles exhibiting distinct lifetimes are conjugated to three antibodies (anti-ER, anti-PR and anti-HER2), respectively. Lifetime-resolved images for the MCF-7 and BT-474 tumours are decomposed into the three lifetime channels, represented by the red, green and blue monochromatic image sets. (ii) Results and calculated biomarker expression patterns of the two tumour subtypes. IVM: *in vivo* multiplexing; WB: western blot; IHC: immunohistochemistry^[42].

量检测。并且由于炎症病灶部位的 ClO⁻ 含量远高于正常组织, 还实现了小鼠活体内关节炎病灶的特异性高信噪比成像。该项工作不仅出色地实现了 ClO⁻ 响应的荧光寿命编码成像和生物传感, 而且为设计响应型荧光寿命成像探针提供了新思路。最近, 复旦大学张凡教授研究团队同样利用该策略设计合成了一种新型肿瘤微环境 (ONOO⁻) 响应的 NaYF₄@NaYF₄: 1% Nd³⁺-MY-1057 复合纳米荧光探针 (图 8 (a))^[91]。其中 Nd³⁺ 吸收 808 nm 激发光能量后产生 1 060 nm 的

近红外二区荧光, 由于 MY-1057 染料在 1 060 nm 处有着强吸收, 二者发生荧光共振能量转移加速了 Nd³⁺ 从吸收能量到发射荧光的进程, 从而减少了 1 060 nm 的荧光寿命。但是当 ONOO⁻ 存在时, MY-1057 染料被降解使得荧光寿命恢复 (图 8 (b))。将该探针经尾静脉注射入原位肝癌肿瘤小鼠模型后, 由于肝癌病灶中 ONOO⁻ 含量高于正常肝组织, 因此在对其进行荧光寿命编码成像时, 根据其荧光寿命的不同可将其准确地区别开来, 并且可定量检测 ONOO⁻ 含量 (图 8 (c))。该复合

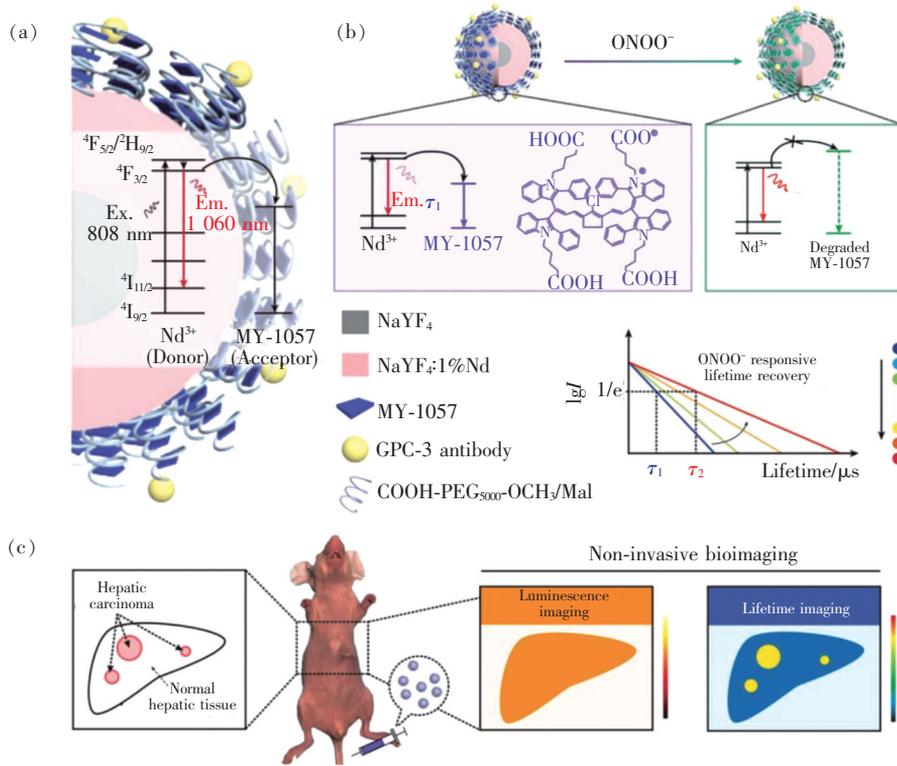


图 8 (a) ONOO^- 响应型 DSNP@MY-1057-GPC-3 纳米传感器图解; (b) 在 ONOO^- 存在下, 作为能量受体的 MY-1057 染料分子被降解导致近红外二区荧光时间寿命恢复; (c) DSNP@MY-1057-GPC-3 纳米传感器探针对于肝癌小鼠的非侵入式近红外二区荧光强度和寿命成像示意图, 寿命成像可区分出病灶和正常区域而荧光强度成像无法实现对二者的区分^[91]。

Fig. 8 (a) Scheme of the ONOO^- -responsive nanosensor DSNP@MY-1057-GPC-3. (b) In the presence of ONOO^- , the structure of the energy acceptor MY-1057 degrades sensitively, leading to the lifetime recovery in NIR-II region. (c) Illustration of noninvasive NIR-II intensity- and lifetime-based imaging for HCC mice after administration of DSNP@MY-1057-GPC-3 nanosensor. HCC lesions could be distinguished from normal hepatic tissue from lifetime imaging, while the intensity-based luminescence imaging fails^[91].

探针为特异性响应的超精准癌症诊断开辟了新道路, 并为活体内对病理学参数的定量研究及其实时动态成像提供了新思路(图 8)。

综上所述, 稀土基近红外二区荧光探针在光谱域和时间域成像的应用上取得了不错的成果, 也在响应型生物成像和生物传感方面做出了巨大的贡献。但其仍存在着些许问题值得我们探讨。如就响应型荧光增强成像而言, 虽然有效地增加了目标区域的荧光信号但是仍然存在着背景信号的干扰, 因此设计开发病理因子响应激活探针可实现零背景干扰。对于活体内分子检测的响应型荧光强度比成像来说, 由于生物组织对不同波长的吸收、散射和自体荧光的强度存在差异, 因此体内实验所得的荧光强度比与体外实验的结果会存在误差而影响准确度。响应型荧光寿命成像存

在着荧光寿命变化小而对检测仪器要求较高的问题。因此设计开发病理因子响应激活荧光探针和多病理因子协同响应荧光探针(提高特异性成像)是高 TBR 成像的主要发展方向。

4 总结与展望

近年来, 近红外二区荧光成像因其高灵敏度、高信噪比和深组织穿透深度等特点, 在肿瘤诊断、小分子体内检测、生物传感、免疫分析和防伪等领域展现了潜在的应用前景。在研究开发近红外二区荧光探针的进程中, 稀土近红外二区荧光探针因具有光稳定性和化学稳定性强、发射半峰宽狭窄(10~20 nm)、斯托克斯位移大和近红外二区发射波长及荧光寿命可调等诸多优势而受到人们的广泛关注, 并在光谱域成像及时间分辨成像领

域具有广泛的应用潜力。然而,面向临床应用,稀土近红外二区荧光探针目前仍存在着一些问题亟待解决。

(1) 如何提高稀土近红外二区荧光探针量子产率

荧光探针的量子产率是决定着其应用发展的重要因素之一,量子产率高的荧光探针可以在保证成像质量的前提下最大限度地降低所使用激发光的功率和探针的用量,从而减少对生物体的损伤,提高其安全性。目前用于提高稀土荧光探针的量子产率策略主要包括^[95-100]:①开发晶胞尺寸更大的基质材料和均匀掺杂的新方法以减少浓度猝灭效应;②设计开发惰性壳层包覆的核壳结构以减少溶剂分子对发光中心的猝灭作用;③设计开发活性壳层包覆的核壳结构和染料敏化结构以提高对激发光能量的捕获能力,从而提高激发光能量的利用率。然而,上述策略对量子产率的提升程度有限,因此为了获得更高量子产率的稀土荧光探针,进一步探索开发提高稀土基荧光探针量子产率的新策略就显得尤为重要。

(2) 发展激发与发射光均处于近红外二区的新型荧光探针

由于生物组织对处于近红外二区波段的光有着较低的散射及自体荧光,近红外二区荧光成像具有更深的组织穿透深度及高信噪比,因而备受人们的青睐。激发光和发射光均对成像的质量影响较大,因此研发激发和发射光均处于近红外二区的荧光探针可进一步提升成像的质量。截至目前,用于近红外二区成像的稀土纳米探针绝大多

数都是利用 Nd^{3+} 和 Yb^{3+} 作为敏化离子(808/980 nm 激发),仅有少数的 Er^{3+} (1 525 nm)敏化稀土探针。因此,现阶段仍需进一步开发在近红外二区激发和发射的稀土荧光探针。

(3) 发展提高稀土近红外二区荧光探针生物安全性的新方案

如何提高荧光探针的生物安全性是其临床应用的前提和基础。美国食品药品监督管理局(US Food and Drug Administration, FDA)明确要求诊断剂必须在合理的时间内从人体内彻底清除^[101]。纳米粒子的体内代谢路径主要有经胆汁随粪便排出和经肾脏随尿液排出两种途径^[102]。就第二种排泄路径而言,一般来说直径小于 5.5 nm 的“硬”材料和尺寸稍大的柔性“软”材料(蛋白质和聚合物等)可以通过肾小球滤过来清除^[103]。然而,粒径的减小会直接影响稀土荧光探针的量子效率。因而,设计开发新型功能化生物分子修饰的稀土荧光探针,使其可以经胆汁代谢如脂质体^[57]和水溶性高分子^[38,104]等,进一步提高其生物安全性是未来该领域的重要发展方向之一,对推动稀土近红外二区荧光探针在临床中的应用具有重要的意义。除了研究开发优质荧光探针外,推动荧光成像系统中另一个关键组成部分——光学检测器的发展也是重中之重。由于可响应近红外二区波段光的检测器价格昂贵而限制了其应用范围,因此,研究开发低价、高灵敏度和高质量的光学检测器对推动近红外二区荧光成像的普及应用与发展也有着重要意义。

参 考 文 献:

- [1] HONG G S, ANTARIS A L, DAI H J. Near-infrared fluorophores for biomedical imaging [J]. *Nat. Biomed. Eng.*, 2017, 1(1):0010.
- [2] HORTON N G, WANG K, KOBAT D, *et al.*. *In vivo* three-photon microscopy of subcortical structures within an intact mouse brain [J]. *Nat. Photonics*, 2013, 7(3):205-209.
- [3] ZHANG X L, TIAN Y L, ZHANG C, *et al.*. Near-infrared fluorescence molecular imaging of amyloid beta species and monitoring therapy in animal models of alzheimer's disease [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, 112(31):9734-9739.
- [4] NTZIACHRISTOS V, RIPOLL J, WANG L H V, *et al.*. Looking and listening to light: the evolution of whole-body photonic imaging [J]. *Nat. Biotechnol.*, 2005, 23(3):313-320.
- [5] DING S W, LU L F, FAN Y, *et al.*. Recent progress in NIR- II emitting lanthanide-based nanoparticles and their biological applications [J]. *J. Rare Earths*, 2020, 38(5):451-463.
- [6] FAN Y, ZHANG F. A new generation of NIR- II probes: lanthanide-based nanocrystals for bioimaging and biosensing [J]. *Adv. Opt. Mater.*, 2019, 7(7):1801417.

- [7] CAI Y, WEI Z, SONG C H, *et al.*. Optical nano-agents in the second near-infrared window for biomedical applications [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, 48(1):22-37.
- [8] WAN H, DU H T, WANG F F, *et al.*. Molecular imaging in the second near-infrared window [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2019, 29(25):1900566-1-12.
- [9] XU J T, ZHOU J J, CHEN Y H, *et al.*. Lanthanide-activated nanoconstructs for optical multiplexing [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2020, 415:213328.
- [10] HONG G S, DIAO S, ANTARIS A L, *et al.*. Carbon nanomaterials for biological imaging and nanomedicinal therapy [J]. *Chem. Rev.*, 2015, 115(19):10816-10906.
- [11] HONG G S, DIAO S, CHANG J L, *et al.*. Through-skull fluorescence imaging of the brain in a new near-infrared window [J]. *Nat. Photonics*, 2014, 8(9):723-730.
- [12] VIEGAS M S, MARTINS T C, SECO F, *et al.*. An improved and cost-effective methodology for the reduction of autofluorescence in direct immunofluorescence studies on formalin-fixed paraffin-embedded tissues [J]. *Eur. J. Histochem.*, 2007, 51(1):59-66.
- [13] FRANGIONI J V. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging [J]. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003, 7(5):626-634.
- [14] NACZYNSKI D J, TAN M C, ZEVON M, *et al.*. Rare-earth-doped biological composites as *in vivo* shortwave infrared reporters [J]. *Nat. Commun.*, 2013, 4:2199-1-21.
- [15] DIAO S, HONG G S, ANTARIS A L, *et al.*. Biological imaging without autofluorescence in the second near-infrared region [J]. *Nano Res.*, 2015, 8(9):3027-3034.
- [16] TSUKASAKI Y, KOMATSUZAKI A, MORI Y, *et al.*. A short-wavelength infrared emitting multimodal probe for non-invasive visualization of phagocyte cell migration in living mice [J]. *Chem. Commun.*, 2014, 50(92):14356-14359.
- [17] WEISSLEDER R. A clearer vision for *in vivo* imaging [J]. *Nat. Biotechnol.*, 2001, 19(4):316-317.
- [18] SMITH A M, MANCINI M C, NIE S M. Bioimaging; second window for *in vivo* imaging [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2009, 4(11):710-711.
- [19] BASHKATOV A N, GENINA E A, KOCHUBEY V I, *et al.*. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2 000 nm [J]. *J. Phys. D Appl. Phys.*, 2005, 38(15):2543-2555.
- [20] WANG R, ZHOU L, WANG W X, *et al.*. *In vivo* gastrointestinal drug-release monitoring through second near-infrared window fluorescent bioimaging with orally delivered microcarriers [J]. *Nat. Commun.*, 2017, 8:14702-1-12.
- [21] YANG F, SKRIPKA A, TABATABAEI M S, *et al.*. Multifunctional self-assembled supernanoparticles for deep-tissue bimodal imaging and amplified dual-mode heating treatment [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(1):408-420.
- [22] BRUNS O T, BISCHOF T S, HARRIS D K, *et al.*. Next-generation *in vivo* optical imaging with short-wave infrared quantum dots [J]. *Nat. Biomed. Eng.*, 2017, 1(4):0056-1-29.
- [23] HUANG D H, LIN S Y, WANG Q W, *et al.*. An NIR- II fluorescence/dual bioluminescence multiplexed imaging for *in vivo* visualizing the location, survival, and differentiation of transplanted stem cells [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2019, 29(2):1806546-1-11.
- [24] YANG T, TANG Y A, LIU L, *et al.*. Size-dependent Ag₂S nanodots for second near-infrared fluorescence/photoacoustics imaging and simultaneous photothermal therapy [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(2):1848-1857.
- [25] KONG Y F, CHEN J, FANG H W, *et al.*. Highly fluorescent ribonuclease-A-encapsulated lead sulfide quantum dots for ultrasensitive fluorescence *in vivo* imaging in the second near-infrared window [J]. *Chem. Mater.*, 2016, 28(9):3041-3050.
- [26] DIAO S, BLACKBURN J L, HONG G S, *et al.*. Fluorescence imaging *in vivo* at wavelengths beyond 1 500 nm [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, 54(49):14758-14762.
- [27] ROBINSON J T, HONG G S, LIANG Y Y, *et al.*. *In vivo* fluorescence imaging in the second near-infrared window with long circulating carbon nanotubes capable of ultrahigh tumor uptake [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134(25):10664-10669.
- [28] LI T W, LI C Y, RUAN Z, *et al.*. Polypeptide-conjugated second near-infrared organic fluorophore for image-guided photothermal therapy [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(3):3691-3702.
- [29] SHENG Z H, GUO B, HU D H, *et al.*. Bright aggregation-induced-emission dots for targeted synergetic NIR- II fluorescence and NIR- I photoacoustic imaging of orthotopic brain tumors [J]. *Adv. Mater.*, 2018, 30(29):1800766-1-8.

- [30] WAN H, YUE J Y, ZHU S J, *et al.*. A bright organic NIR- II nanofluorophore for three-dimensional imaging into biological tissues [J]. *Nat. Commun.*, 2018,9:1171-1-9.
- [31] ZHU S J, HU Z B, TIAN R, *et al.*. Repurposing cyanine NIR- I dyes accelerates clinical translation of near-infrared- II (NIR- II) bioimaging [J]. *Adv. Mater.*, 2018,30(34):1802546-1-9.
- [32] WAN H, MA H L, ZHU S J, *et al.*. Developing a bright NIR- II fluorophore with fast renal excretion and its application in molecular imaging of immune checkpoint PD-L1 [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2018,28(50):1804956-1-10.
- [33] ANTARIS A L, CHEN H, CHENG K, *et al.*. A small-molecule dye for NIR- II imaging [J]. *Nat. Mater.*, 2016,15(2):235-242.
- [34] ZHANG X D, WANG H S, ANTARIS A L, *et al.*. Traumatic brain injury imaging in the second near-infrared window with a molecular fluorophore [J]. *Adv. Mater.*, 2016,28(32):6872-6879.
- [35] WANG S F, LI B H, ZHANG F. Molecular fluorophores for deep-tissue bioimaging [J]. *ACS Cent. Sci.*, 2020,6(8):1302-1316.
- [36] HONG G S, ZOU Y P, ANTARIS A L, *et al.*. Ultrafast fluorescence imaging *in vivo* with conjugated polymer fluorophores in the second near-infrared window [J]. *Nat. Commun.*, 2014,5:4206-1-9.
- [37] GU Y Y, GUO Z Y, YUAN W, *et al.*. High-sensitivity imaging of time-domain near-infrared light transducer [J]. *Nat. Photonics*, 2019,13(8):525-531.
- [38] ZHONG Y T, MA Z R, WANG F F, *et al.*. *In vivo* molecular imaging for immunotherapy using ultra-bright near-infrared- II b rare-earth nanoparticles [J]. *Nat. Biotechnol.*, 2019,37(11):1322-1331.
- [39] LU Y Q, ZHAO J B, ZHANG R, *et al.*. Tunable lifetime multiplexing using luminescent nanocrystals [J]. *Nat. Photonics*, 2014,8(1):32-36.
- [40] GARGAS D J, CHAN E M, OSTROWSKI A D, *et al.*. Engineering bright sub-10-nm upconverting nanocrystals for single-molecule imaging [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2014,9(4):300-305.
- [41] XU J T, GULZAR A, YANG P P, *et al.*. Recent advances in near-infrared emitting lanthanide-doped nanoconstructs: mechanism, design and application for bioimaging [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2019,381:104-134.
- [42] FAN Y, WANG P Y, LU Y Q, *et al.*. Lifetime-engineered NIR- II nanoparticles unlock multiplexed *in vivo* imaging [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2018,13(10):941-946.
- [43] LIU L, WANG S F, ZHAO B Z, *et al.*. Er³⁺ sensitized 1 530 nm to 1 180 nm second near-infrared window upconversion nanocrystals for *in vivo* biosensing [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018,57(25):7518-7522.
- [44] ZHANG H X, FAN Y, PEI P, *et al.*. Tm³⁺-sensitized NIR- II fluorescent nanocrystals for *in vivo* information storage and decoding [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019,58(30):10153-10157.
- [45] LI Y B, LI X L, XUE Z L, *et al.*. Second near-infrared emissive lanthanide complex for fast renal-clearable *in vivo* optical bioimaging and tiny tumor detection [J]. *Biomaterials*, 2018,169:35-44.
- [46] WANG G F, PENG Q, LI Y D. Lanthanide-doped nanocrystals: synthesis, optical-magnetic properties, and applications [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2011,44(5):322-332.
- [47] WANG D, WANG D P, KUZMIN A, *et al.*. ICG-sensitized NaYF₄:Er nanostructure for theranostics [J]. *Adv. Opt. Mater.*, 2018,6(12):1701142-1-9.
- [48] SHAO W, CHEN G Y, KUZMIN A, *et al.*. Tunable narrow band emissions from dye-sensitized core/shell/shell nanocrystals in the second near-infrared biological window [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2016,138(50):16192-16195.
- [49] TAN M L, DEL ROSAL B, ZHANG Y Q, *et al.*. Rare-earth-doped fluoride nanoparticles with engineered long luminescence lifetime for time-gated *in vivo* optical imaging in the second biological window [J]. *Nanoscale*, 2018,10(37):17771-17780.
- [50] FISCHER S, BRONSTEIN N D, SWABECK J K, *et al.*. Precise tuning of surface quenching for luminescence enhancement in core-shell lanthanide-doped nanocrystals [J]. *Nano Lett.*, 2016,16(11):7241-7247.
- [51] ORTGIES D H, TAN M L, XIMENDES E C, *et al.*. Lifetime-encoded infrared-emitting nanoparticles for *in vivo* multiplexed imaging [J]. *ACS Nano*, 2018,12(5):4362-4368.
- [52] JOHNSON N J, HE S, DIAO S, *et al.*. Direct evidence for coupled surface and concentration quenching dynamics in lanthanide-doped nanocrystals [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2017,139(8):3275-3282.

- [53] TU D T, LIU L Q, JU Q, *et al.*. Time-resolved fret biosensor based on amine-functionalized lanthanide-doped NaYF₄ nanocrystals [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, 50(28):6306-6310.
- [54] LU Y Q, LU J, ZHAO J B, *et al.*. On-the-fly decoding luminescence lifetimes in the microsecond region for lanthanide-encoded suspension arrays [J]. *Nat. Commun.*, 2014, 5:3741-1-8.
- [55] LIU Z, REN F, ZHANG H, *et al.*. Boosting often overlooked long wavelength emissions of rare-earth nanoparticles for NIR-II fluorescence imaging of orthotopic glioblastoma [J]. *Biomaterials*, 2019, 219:119364.
- [56] HE S Q, CHEN S, LI D F, *et al.*. High affinity to skeleton rare earth doped nanoparticles for near-infrared II imaging [J]. *Nano Lett.*, 2019, 19(5):2985-2992.
- [57] LI D F, HE S Q, WU Y F, *et al.*. Excretable lanthanide nanoparticle for biomedical imaging and surgical navigation in the second near-infrared window [J]. *Adv. Sci.*, 2019, 6(23):1902042-1-12.
- [58] WANG P Y, FAN Y, LU L F, *et al.*. NIR-II nanoprobe *in-vivo* assembly to improve image-guided surgery for metastatic ovarian cancer [J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1):2898.
- [59] WANG X, YAKOVLEV A, OHULCHANSKY T Y, *et al.*. Efficient erbium-sensitized core/shell nanocrystals for short wave infrared bioimaging [J]. *Adv. Opt. Mater.*, 2018, 6(20):1800690-1-7.
- [60] LI Y B, ZENG S J, HAO J H. Non-invasive optical guided tumor metastasis/vessel imaging by using lanthanide nanoprobe with enhanced down-shifting emission beyond 1 500 nm [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(1):248-259.
- [61] ZHONG Y T, MA Z R, ZHU S J, *et al.*. Boosting the down-shifting luminescence of rare-earth nanocrystals for biological imaging beyond 1 500 nm [J]. *Nat. Commun.*, 2017, 8(1):737-1-7.
- [62] CAO C, ZHOU X B, XUE M, *et al.*. Dual near-infrared-emissive luminescent nanoprobe for ratiometric luminescent monitoring of ClO⁻ in living organisms [J]. *ACS Appl. Mater Interfaces*, 2019, 11(17):15298-15305.
- [63] CHEN Q S, XIE X J, HUANG B L, *et al.*. Confining excitation energy in Er³⁺-sensitized upconversion nanocrystals through Tm³⁺-mediated transient energy trapping [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2017, 56(26):7605-7609.
- [64] LI Z, WU J J, WANG Q R, *et al.*. A universal strategy to construct lanthanide-doped nanoparticles-based activable NIR-II luminescence probe for bioimaging [J]. *iScience*, 2020, 23(3):100962-1-47.
- [65] GE X G, LOU Y H, SU L C, *et al.*. Single wavelength laser excitation ratiometric NIR-II fluorescent probe for molecule imaging *in vivo* [J]. *Anal. Chem.*, 2020, 92(8):6111-6120.
- [66] KAMIMURA M, MATSUMOTO T, SUYARI S, *et al.*. Ratiometric near-infrared fluorescence nanothermometry in the OTN-NIR (NIR II/III) biological window based on rare-earth doped β-NaYF₄ nanoparticles [J]. *J. Mat. Chem. B*, 2017, 5(10):1917-1925.
- [67] LEI X L, LI R F, TU D T, *et al.*. Intense near-infrared-II luminescence from NaCeF₄:Er/Yb nanoprobe for *in vitro* bioassay and *in vivo* bioimaging [J]. *Chem. Sci.*, 2018, 9(20):4682-4688.
- [68] YANG Y L, WANG P Y, LU L F, *et al.*. Small-molecule lanthanide complexes probe for second near-infrared window bioimaging [J]. *Anal. Chem.*, 2018, 90(13):7946-7952.
- [69] ZHAO M Y, WANG R, LI B H, *et al.*. Precise *in vivo* inflammation imaging using *in situ* responsive cross-linking of glutathione-modified ultra-small NIR-II lanthanide nanoparticles [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, 58(7):2050-2054.
- [70] LIU Y X, FAN H M, GUO Q W, *et al.*. Ultra-small pH-responsive Nd-doped NaDyF₄ nanoagents for enhanced cancer theranostic by *in situ* aggregation [J]. *Theranostics*, 2017, 7(17):4217-4228.
- [71] JIANG M, LIU H, ZENG S, *et al.*. A general *in situ* growth strategy of designing theranostic NaLnF₄@Cu_{2-x}S nanoplateform for *in vivo* NIR-II optical imaging beyond 1 500 nm and photothermal therapy [J]. *Adv. Therap.*, 2019, 2(6):1800153.
- [72] WANG Y F, LIU G Y, SUN L D, *et al.*. Nd³⁺-sensitized upconversion nanophosphors: efficient *in vivo* bioimaging probes with minimized heating effect [J]. *ACS Nano*, 2013, 7(8):7200-7206.
- [73] LEVY E S, TAJON C A, BISCHOF T S, *et al.*. Energy-looping nanoparticles: harnessing excited-state absorption for deep-tissue imaging [J]. *ACS Nano*, 2016, 10(9):8423-8433.
- [74] CHENG X W, PAN Y, YUAN Z, *et al.*. Er³⁺ sensitized photon upconversion nanocrystals [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2018, 28(22):1800208.
- [75] CHENG X W, GE H, WEI Y, *et al.*. Design for brighter photon upconversion emissions *via* energy level overlap of lanthanide ions [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(11):10992-10999.

- [76] OWENS E A, HENARY M, EL FAKHRI G, *et al.*. Tissue-specific near-infrared fluorescence imaging [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2016, 49(9):1731-1740.
- [77] KOBAYASHI H, CHOYKE P L. Target-cancer-cell-specific activatable fluorescence imaging probes: rational design and *in vivo* applications [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2011, 44(2):83-90.
- [78] LU Y, AIMETTI A A, LANGER R, *et al.*. Bioresponsive materials [J]. *Nat. Rev. Mater.*, 2017, 2(1):16075.
- [79] ZHANG X, AN L, TIAN Q W, *et al.*. Tumor microenvironment-activated NIR-II reagents for tumor imaging and therapy [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2020, 8(22):4738-4747.
- [80] KIM J, CHO H R, JEON H, *et al.*. Continuous O₂-evolving MnFe₂O₄ nanoparticle-anchored mesoporous silica nanoparticles for efficient photodynamic therapy in hypoxic cancer [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139(32):10992-10995.
- [81] WANG S F, LIU L, FAN Y, *et al.*. *In vivo* high-resolution ratiometric fluorescence imaging of inflammation using NIR-II nanoprobes with 1 550 nm emission [J]. *Nano Lett.*, 2019, 19(4):2418-2427.
- [82] TANG Y F, PEI F, LU X M, *et al.*. Recent advances on activatable NIR-II fluorescence probes for biomedical imaging [J]. *Adv. Opt. Mater.*, 2019, 7(21):1900917.
- [83] ZHANG J J, ZHEN X, UPPUTURI P K, *et al.*. Activatable photoacoustic nanoprobes for *in vivo* ratiometric imaging of peroxynitrite [J]. *Adv. Mater.*, 2017, 29(6):1604764.
- [84] LEE M H, SESSLER J L, KIM J S. Disulfide-based multifunctional conjugates for targeted theranostic drug delivery [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2015, 48(11):2935-2946.
- [85] GAO Y, SHI J F, YUAN D, *et al.*. Imaging enzyme-triggered self-assembly of small molecules inside live cells [J]. *Nat. Commun.*, 2012, 3:1033-1-19.
- [86] ZHANG J J, CHENG P H, PU K Y. Recent advances of molecular optical probes in imaging of β -galactosidase [J]. *Bioconjug. Chem.*, 2019, 30(8):2089-2101.
- [87] KONG M Y, GU Y Y, LIU Y L, *et al.*. Luminescence lifetime-based *in vivo* detection with responsive rare earth-dye nanocomposite [J]. *Small*, 2019, 15(46):1904487.
- [88] STROWIG T, HENAO-MEJIA J, ELINAV E, *et al.*. Inflammasomes in health and disease [J]. *Nature*, 2012, 481(7381):278-286.
- [89] ZHENG X L, ZHU X J, LU Y Q, *et al.*. High-contrast visualization of upconversion luminescence in mice using time-gating approach [J]. *Anal. Chem.*, 2016, 88(7):3449-3454.
- [90] YANG W, CHEN S L. Time-gated fluorescence imaging: advances in technology and biological applications [J]. *J. Innov. Opt. Health Sci.*, 2020, 13(03):2030006.
- [91] ZHAO M Y, LI B H, WU Y F, *et al.*. A tumor-microenvironment-responsive lanthanide-cyanine fret sensor for NIR-II luminescence-lifetime *in situ* imaging of hepatocellular carcinoma [J]. *Adv. Mater.*, 2020, 32(28):2001172.
- [92] ZHOU L, FAN Y, WANG R, *et al.*. High-capacity upconversion wavelength and lifetime binary encoding for multiplexed biodetection [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, 57(39):12824-12829.
- [93] TAN M L, LI F, WANG X, *et al.*. Temporal multilevel luminescence anticounterfeiting through scattering media [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(6):6532-6538.
- [94] TAN M L, LI F, CAO N, *et al.*. Accurate *in vivo* nanothermometry through NIR-II lanthanide luminescence lifetime [J]. *Small*, 2020:2004118.
- [95] CHEN B, WANG F. Combating concentration quenching in upconversion nanoparticles [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2020, 53(2):358-367.
- [96] HAN S Y, DENG R R, XIE X J, *et al.*. Enhancing luminescence in lanthanide-doped upconversion nanoparticles [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, 53(44):11702-11715.
- [97] WÜRTH C, FISCHER S, GRAUEL B, *et al.*. Quantum yields, surface quenching, and passivation efficiency for ultrasmall core/shell upconverting nanoparticles [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, 140(14):4922-4928.
- [98] WANG J, DENG R R, MACDONALD M A, *et al.*. Enhancing multiphoton upconversion through energy clustering at sub-lattice level [J]. *Nat. Mater.*, 2014, 13(2):157-162.
- [99] WEN S H, ZHOU J J, ZHENG K Z, *et al.*. Advances in highly doped upconversion nanoparticles [J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1):2415-1-12.

- [100] LI H, WANG X, OHULCHANSKY T Y, *et al.*. Lanthanide-doped near-infrared nanoparticles for biophotonics [J]. *Adv. Mater.*, 2020; e2000678.
- [101] CHOI H S, LIU W H, MISRA P, *et al.*. Renal clearance of quantum dots [J]. *Nat. Biotechnol.*, 2007, 25(10): 1165-1170.
- [102] CHOI H S, LIU W H, LIU F B, *et al.*. Design considerations for tumour-targeted nanoparticles [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2010, 5(1): 42-47.
- [103] KOBAYASHI H, LONGMIRE M R, OGAWA M, *et al.*. Rational chemical design of the next generation of molecular imaging probes based on physics and biology: mixing modalities, colors and signals [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, 40(9): 4626-4648.
- [104] LI H, WANG X, LI X L, *et al.*. Clearable shortwave-infrared-emitting NaErF₄ nanoparticles for noninvasive dynamic vascular imaging [J]. *Chem. Mater.*, 2020, 32(8): 3365-3375.



张松涛(1994 -),男,河南商丘人,博士研究生,2016年于郑州大学获得学士学位,主要从事稀土功能纳米材料的合成及其生物应用的研究。

E-mail: zhangst@ciac.ac.cn



张洪杰(1953 -),男,吉林榆树人,博士,教授,博士研究生导师,中国科学院院士,1993年于法国波尔多第一大学获得博士学位,主要从事稀土材料的基础与应用研究。

E-mail: hongjie@ciac.ac.cn



王樱蕙(1983 -),女,吉林长春人,博士,副研究员,2011年于中国科学院长春光学精密机械与物理研究所获得博士学位,主要从事稀土发光纳米材料及其生物医学应用的研究。

E-mail: yhwang@ciac.ac.cn

编委介绍:

张洪杰(1953 -),吉林榆树人,无机化学家,中国科学院长春应用化学研究所研究员,清华大学化学系教授,博士研究生导师,中国科学院院士。1978年毕业于北京大学化学系,1985年在中国科学院长春应用化学研究所获得硕士学位,1993年在法国波尔多第一大学获得博士学位。长期从事稀土材料的基础与应用研究,以材料的结构与功能关系为研究重点,致力于解决影响学科发展的关键科学问题,发展了系列材料制备的新方法和技术,并将基础、高技术及应用研究有机结合,合成了若干种稀土固体及杂化复合材料,研制出的稀土新材料已成功应用于汽车、照明、航天航空和国防军工等领域,满足了国家的重大战略需求。作为课题负责人先后承担了国家自然科学基金委重大、杰青、创新群体、国际合作等项目、国家973计划和中科院先导计划等。近年来发表论文500多篇,他引30 000多次,已授权发明专利79项。现担任中国稀土行业协会理事长,英国皇家化学会会士,《应用化学》主编,《发光学报》副主编,《无机化学学报》副主编,《中国稀土学报》(英文版)副主编,《高等学校化学学报》编委,《中国科学:化学》顾问编委,《Advanced Science》执行编委,《Nanoscale Horizons》顾问编委等。1997年获国家杰出青年基金,1998年获中国香港求是基金会杰出青年学者奖,2001年入选中科院百人计划,2010年入选国家基金委创新群体学术带头人,2013年担任国家973项目首席科学家,2013年当选中国科学院院士,2015年当选发展中国家科学院院士。以第一完成人获国家自然科学基金二等奖(2010年)、中科院杰出科技成就集体奖(2015年)、吉林省科学技术特殊贡献奖(2015年)、吉林省技术发明一等奖(2013年)、澳大利亚袋鼠世界创新奖(2013年)、吉林省政府创新创业人才奖(2012年)、吉林省科技进步一等奖(2007年)等。