

CdSe/ZnSe 量子点在油水两相体系下的 聚合物包覆相转移及其光谱表征

张庆彬^{1,2}, 宋凯^{1,2}, 孔祥贵^{1*}, 曾庆辉¹, 张友林¹, 孙雅娟¹, 刘晓敏¹

1. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所激发态重点实验室, 吉林 长春 130033

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要 采用油水两相溶液体系, 借助于双亲聚合物包覆实现了 CdSe/ZnSe 核壳结构量子点自油相到水相的相转移。油水两相中的聚合物包覆与已经报道的均相溶液中聚合物包覆量子点的方法不同, 包覆过程在油水两相界面处完成, 有效地减少了聚合物缠绕引起的量子点团聚, 实现了聚合物对量子点的无团聚单分散包覆。透射电镜和激光粒度分析仪对聚合物包覆量子点的表征结果表明获得的水溶性量子点具有良好的分散性, 均一的水力尺寸。吸收和发射光谱表明聚合物包覆过程对量子点的发射峰位和峰型没有引起明显的改变, 维持了较高的量子产率。通过荧光微区成像技术成功实现了对人 IgG 蛋白的特异性检测, 证实这种方法获得的聚合物包覆量子点具有较好的与生物分子偶联的功能化基团, 适合于生物学标记应用。

关键词 CdSe/ZnSe 核壳量子点; 双亲聚合物; 相转移; 生物学应用

中图分类号: O433 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)02-0435-05

引言

近年来, 半导体量子点在生物学与医学领域的应用研究得到了迅速的发展^[1-3]。满足生物应用需求的量子点应为单分散、小尺寸、高的量子产率, 同时还必须具有水溶性和适合于生物分子结合的功能基团。相对水相体系, 油相体系合成能够有效地控制粒子的生长, 获得的量子点具有窄的半峰宽和高的荧光量子产率^[4, 5]。然而, 油相体系合成的量子点表面为疏水的有机链, 不适于生物应用。为解决这一问题, 已有许多关于量子点油水相转移的研究报道, 并辅以应用的实例^[6-10]。但这些方法在不同程度上仍然存在着转移后的量子点的聚积和水溶液中不够稳定等诸多问题, 因此, 对油相量子点进行表面修饰以实现其单分散稳定水溶和赋予其表面能够与生物分子结合的功能基团, 仍是量子点生物学应用需解决的关键问题。

通过双亲性聚合物对疏水量子点进行包覆获得适合于生物偶联的水溶性量子点的方法, 能够在不猝灭量子点发光的同时, 实现量子点高的水溶性和稳定性, 因而引起了人们广泛的研究兴趣^[7, 11, 12]。目前发展的聚合物包覆量子点方法, 由于包覆过程在均一溶剂体系中进行, 聚合物链的缠绕容易

导致多个量子点团聚^[11]。这种团聚的量子点不宜于生物和医学检测, 更不利于生物体内的应用。因此, 发展新的聚合物包覆量子点方法, 实现聚合物对量子点的无团聚单分散包覆, 对量子点在生物医学中的应用具有重要的意义。

本文应用辛胺修饰的聚丙烯酸, 建立了一种在油水两相体系下实现聚合物对 CdSe/ZnSe 核壳结构量子点的单分散包覆的方法。与以往量子点与聚合物溶解在同一溶剂的包覆方法不同, 包覆过程是在油水两相溶液界面处完成, 有效地减少了聚合物对多个量子点的同时缠绕引起的量子点团聚, 实现了无团聚单分散包覆。获得的量子点具有稳定的水溶性, 同时保持了较高的发光量子产率。利用荧光微区成像技术成功地实现了发光量子点标记的羊抗人 IgG 对人 IgG 蛋白的特异性检测, 表明修饰后的量子点表面具有较好的生物功能基团, 并可应用于生物医学检测。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

CdO(99.99%)、Se 粉(99.99%)、十六烷基胺(HAD, 90%)、三辛基氧化磷(TOPO, 90%)、三辛基磷(TOP, 90%)、聚丙烯酸(PAA, Mw 2000)、辛胺(OA, 99%)、碳二

收稿日期: 2009-02-22, 修订日期: 2009-05-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(10674132, 60771051)资助

作者简介: 张庆彬, 1978年生, 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所博士研究生 e-mail: zhangqingbin95@163.com

* 通讯联系人 e-mail: xgkong14@ciomp.ac.cn

亚胺 (EDC, 98%)、吐温 20 (Tween-20) 等试剂均购于 Aldrich 公司。N-羧基琥珀酰亚胺 (Sulfo-NHS, 99%)、戊二醛 (50%) 购于上海共价化学科技公司。硬脂酸、硬脂酸锌、甲苯、氯仿、甲醇和二甲基甲酰胺 (DMF, 99%) 购于天津化学试剂公司。生物试剂牛血清蛋白 (BSA)、人血清蛋白 (Human IgG)、羊抗人蛋白 (goat anti-human IgG) 和羊抗兔蛋白 (goat anti-rabbit IgG) 购于北京鼎国生物技术公司。缓冲溶液为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲溶液 (pH 7.4, 含 0.9% 的 NaCl), 所用水为超纯水, 其电阻率为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 。

应用 Infinity Micro labRam 型荧光拉曼光谱仪 (法国 Jobin Yvon 公司) 对发光量子点标记的生物蛋白进行检测, 其物镜为 $100\times$ (Olympus)。激发光源为 171 型 Ar^+ 激光器的 488 nm 激光线, 光斑直径约为 $1 \mu\text{m}$, 功率约为 $50 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$; 采集成像数据面积为 $15 \mu\text{m} \times 15 \mu\text{m}$; 应用日本日立 H-8100IV 型透射电子显微镜对发光量子点形貌特性进行表征; 激光粒度分析仪为英国马尔文 3000HSA 型, 应用珀金埃尔默公司红外光谱仪测定相关的傅里叶变换红外光谱; 应用日本日立 F4500 型荧光分光光度计测量量子点及聚合物包覆后的量子点发光光谱; 日本岛津 UV-3101 型紫外-可见吸收光谱仪用于吸收光谱的测量。

1.2 CdSe/ZnSe 核壳结构量子点及两性性聚合物的制备

CdSe/ZnSe 核壳结构量子点参照文献 [13] 报道的方法制备。在含有过量 Se 源的 CdSe 体系中直接注入 Zn 源一步法生长 ZnSe 壳层。获得的核壳量子点发射峰位在 566 nm , 半峰宽 29 nm , 量子产率达到 43% (激发波长: 350 nm , 以罗丹明 6G 为标准)。参照文献 [1] 的方法制备 30% 辛胺修饰的聚丙烯酸。将 0.2 g 分子量 2000 的聚丙烯酸 (PAA) 和 $137 \mu\text{L}$ 辛胺 (OA) 溶解在 10 mL 的二甲基甲酰胺溶液中, 充分混合后加入碳二亚胺 (EDC) 0.47 g , 摩尔比 PAA : OA : EDC 为 $1 : 9 : 27$, 反应体系缓慢搅拌过夜。反应产物加稀盐酸沉淀, 离心清洗 3 次除掉过剩的缩合剂和副产物。将获得的两亲性聚合物溶解在去离子水中备用。

1.3 聚合物修饰 CdSe/ZnSe 核壳量子点

将 0.2 mL 浓度为 $12 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的量子点氯仿溶液放入反应瓶中, 取 2 mL 浓度为 $1.3 \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的聚合物水溶液加入反应瓶与量子点溶液混合, 体系中聚合物分子数与量子点的个数比约为 $1000 : 1$, 根据文献报道这是一个有效的包覆配比 [14]。对混合溶液体系进行强烈搅拌 (使量子点的氯仿溶液分散在聚合物水溶液中形成乳状液), 持续 12 h 后搅拌停止, 将上层水溶液取出加过量水稀释, 用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤, 滤去少量残渣。将滤液加甲醇离心并纯化 3 次, 将所得量子点分散在水溶液中, 以备用于分析表征 (聚合物浓度计算按 30% 辛胺修饰 PAA 分子量为 $2924 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, 量子点浓度计算参照文献 [15])。

1.4 量子点与抗体蛋白的偶联与免疫反应

聚合物修饰的量子点通过 EDC 缩合反应分别与 goat anti-human IgG 和 goat anti-rabbit IgG 共价结合。将 1 nmol 量子点加入 PBS 缓冲溶液 (包含适量 EDC 与 sulfo-NHS), 混合溶液室温下搅拌 4 h , 粒子离心收集再分散于 PBS 溶液中, 与适量的 goat anti-human IgG (或 goat anti-rabbit IgG) 分子

在室温下缓慢搅拌反应 12 h , 收集粒子并用 PBS 溶液清洗 3 次, 洗去多余的抗体, 保存在 PBS 缓冲液中。

将两片醛基化的硅片分别放入 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 human IgG 的 PBS 溶液中, 在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 2 h , 然后, 用 PBS (包含 0.05% Tween-20) 缓冲液清洗 3 次, 将这两个硅片放入 0.1% BSA 溶液中反应 2 h , 进行表面封闭修饰以避免与量子点标记抗体的非特异性吸附。反复清洗后, 将固定了 human IgG 的硅片, 分别放入量子点标记的 goat anti-human IgG 和 goat anti-rabbit IgG 溶液中, 在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 下浸泡 2 h , 反复清洗氮气吹干, 用于荧光成像检测。

2 结果与讨论

2.1 CdSe/ZnSe 核壳结构量子点的发光性能

CdSe 量子点具有优良的发光特性 [4], 但是裸核量子点发光不稳定容易受环境影响而发生发光猝灭, 通过本组报道的“一步法”合成方法 [13], 直接实现了 CdSe 量子点的合成与 ZnSe 无机层钝化。制备的 CdSe/ZnSe 核壳结构量子点具有高的量子产率和窄的半峰宽。本文以绿色发光量子点为例, 对聚合物包覆的量子点样品进行了分析和表征。图 1 展示了油相量子点的吸收和发射光谱, 发射峰位 566 nm , 线宽为 29 nm , 量子产率为 43% 。

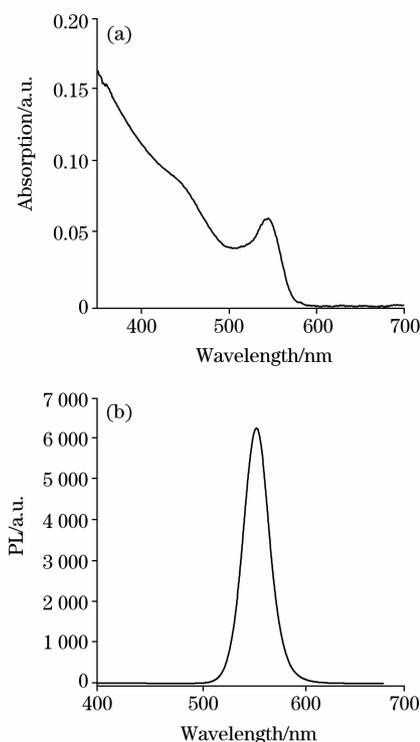


Fig. 1 UV-Vis absorption spectrum (a) and photoluminescence spectrum (b) of the CdSe/ZnSe quantum dots (peak position: 566 nm , Ex: 350 nm)

2.2 聚合物对 CdSe/ZnSe 量子点的修饰

在强烈搅拌下稀的量子点氯仿溶液形成乳状液滴分散在聚合物水溶液中, 量子点液滴被周围的聚合物所包围。通过

长时间搅拌, 聚合物在油水界面处接触并逐渐缠绕到量子点表面将量子点转移进入水相溶液中, 图 2 给出了油水相转移过程的示意图。

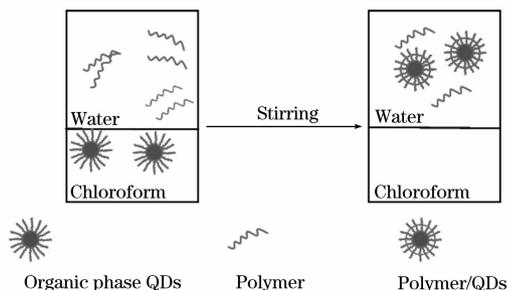


Fig. 2 Schematic illustration of the transferring CdSe/ZnSe quantum dots from organic phase into aqueous phase by surface coating with amphiphilic polymer

在油水相转移的过程中, 由于量子点与聚合物分别分散在油相和水相中, 聚合物对量子点的缠绕在油水界面处完成, 与以前报道的均一溶液体系聚合物包覆量子点^[1, 7, 11]方法相比, 能够有效地减少同一聚合物链对多个量子点的同时缠绕。因此, 获得的水溶性聚合物包覆量子点具有高的单分散性。图 3 的透射电镜图表明, 量子点在聚合物包覆前后尺寸和单分散性没有明显的变化。为了确定聚合物包覆的量子点在溶液状态下的有效直径, 应用激光粒度分析仪对转移后的水相量子点进行了表征, 结果显示聚合物包覆的量子点在水溶液中具有较好的分散性, 平均有效直径为 19.7 nm, 水力直径分布图展示在图 4 中。

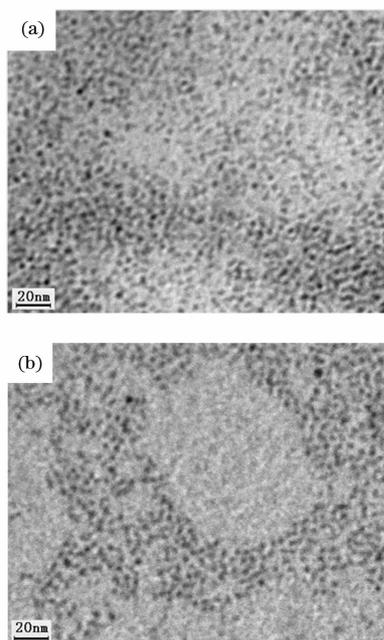


Fig. 3 TEM images of green quantum dots before (a) and after (b) surface modification using amphiphilic polymer

图 5 给出了聚合物包覆前后量子点的傅里叶变换红外光谱表征。在包覆前的 QDs 谱图中, $1\ 571\ \text{cm}^{-1}$ 归属为配体

HDA 中胺基的 N—H 面内变形振动, $1\ 641$ 和 $1\ 470\ \text{cm}^{-1}$ 归属为乙基 C—H 的面内振动, $1\ 391\ \text{cm}^{-1}$ 归属为甲基的 C—H 面内变形振动, $1\ 036\ \text{cm}^{-1}$ 来自于配体 TOPO 的 P=O 伸缩振动。辛胺修饰的聚丙烯酸 PAA-OA 的光谱图中, $1\ 713$ 和 $1\ 271\ \text{cm}^{-1}$ 分别归属为羧基的 C=O 和 C—O 伸缩振动, $1\ 650\ \text{cm}^{-1}$ 归属为酰胺键的 C=O 伸缩振动, $1\ 551$ 和 $1\ 118\ \text{cm}^{-1}$ 分别归属为胺基的 N—H 面内变形和 C—N 伸缩振动, $1\ 460$ 和 $1\ 377\ \text{cm}^{-1}$ 分别归属为乙基和甲基的面内变形振动。聚合物包覆后的量子点光谱图 PAA-OA/QDs 中, 量子点表面原有相应有机基团的吸收大部分被聚合物的吸收峰所掩盖, 同时, 包含了 QDs 的 P=O 吸收峰(见黑色箭头部分)。表明 CdSe/ZnSe 量子点被聚合物有效地进行了包覆。

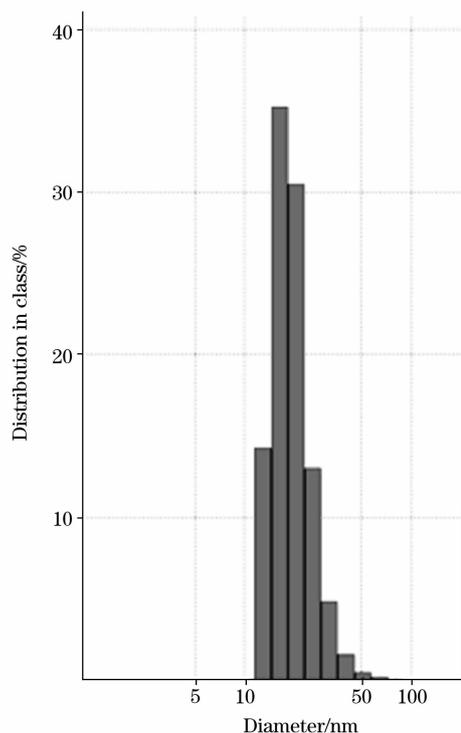


Fig. 4 Hydrodynamic diameter distribution of the CdSe/ZnSe QDs coated with polymer in water, determined by dynamic light scattering

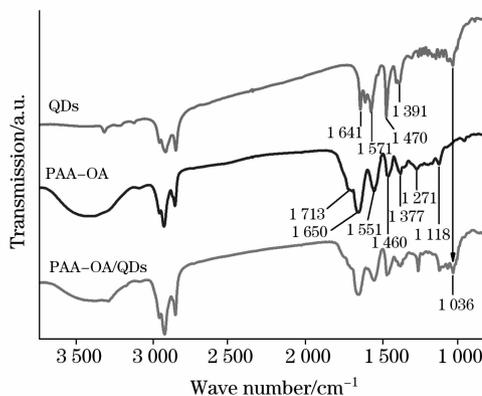


Fig. 5 FTIR spectra of QDs, polymer (PAA-OA) and QDs coated with polymer (PAA-OA/QDs)

对包覆前后量子点的发光性质进行了表征, 吸收和发射光谱在图 6 中给出。在经过聚合物包覆处理之后, 虽然量子点的发射峰位和光谱线型没有发生明显的改变, 但是, 转移之后的量子产率略有下降, 由最初的 43% 降低为 30%。这种量子产率降低的可能原因是转移过程中强烈的搅拌, 导致量子点表面配体部分脱落而造成的。

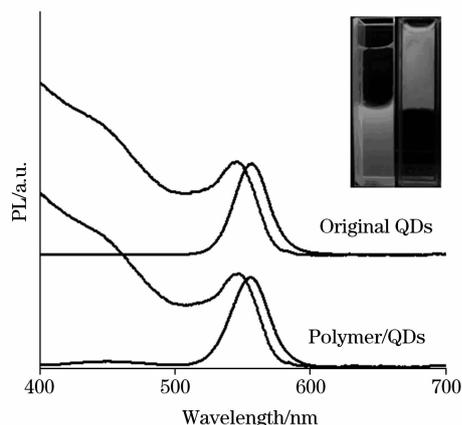


Fig. 6 Comparisons between the absorption and PL spectra of CdSe/ZnSe quantum dots in organic phase (Original QDs) and in water (Polymer / QDs), respectively. The inset shows the fluorescence image of the quantum dots in chloroform (left) and water (right)

2.3 聚合物修饰的发光量子点应用于生物学特异性检测

为了证明聚合物修饰后的量子点表面具有可与生物分子偶联的功能化基团, 并适合用于生物学检测, 我们应用荧光微区光谱成像技术对人血清蛋白进行了特异性检测, 图 7(a) 为量子点标记的羊抗人蛋白与固定在硅片表面的人血清蛋白特异性结合后获得的量子点三维发光强度分布图。图中展示了均匀的荧光强度, 表明量子点标记的羊抗人抗体与人血清蛋白有效的特异性结合。对比实验中, 图 7(b) 展示了量子点标记的羊抗兔抗体与固定于硅片的人血清蛋白反应后的结合结果。与图 7(a) 相比, 仅有很少量的量子点荧光图像出现, 这归因于量子点标记的羊抗兔蛋白与人血清蛋白具有少量的非特异性吸附。

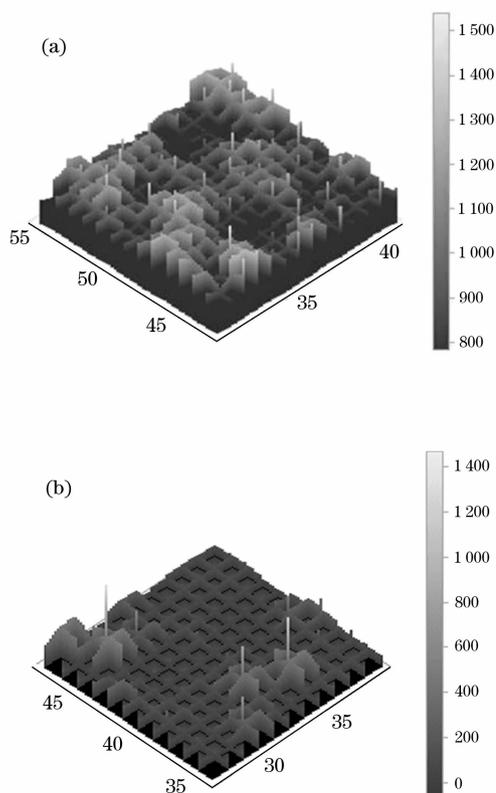


Fig. 7 Fluorescence mapping of the goat anti-human IgG modified QDs detecting the human IgG (a) and the result of control experiment (b)

3 结 论

本文建立了一种油水两相溶液体系界面过程聚合物包覆量子点的方法, 实现了聚合物对量子点的无团聚单分散表面包覆修饰, 成功地将油相发光量子点转移到水相。获得的水溶性量子点具有良好的单分散性、窄的水力直径分布和较高的量子产率。通过荧光显微成像技术进行了聚合物修饰量子点标记抗体蛋白对人血清蛋白的定性识别检测实验, 验证了转移后的量子点表面具有较好的与生物分子偶联的功能基团, 同时也表明这种方法获得的单分散量子点适合于生物学检测应用。

参 考 文 献

- [1] Gao X, Cui Y, Levenson R M, et al. *Nature Biotechnology*, 2004, 22(8): 969.
- [2] Liu W, Choi H S, Zimmer J P, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(47): 14530.
- [3] YANG Dong-zhi, XU Shu-kun, CHEN Qi-fan(杨冬芝, 徐淑坤, 陈启凡). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2007, 27(9): 1807.
- [4] Qu L, Peng X. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124(9): 2049.
- [5] LI Heng-da, WANG Qing-wei, ZHAI Hong-ju, et al(李恒达, 王庆伟, 翟宏菊, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2008, 28(7): 1573.
- [6] Dubois F, Mahler B, Dubertret B, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(3): 482.
- [7] Pellegrino T, Manna L, Kudera S, et al. *Nano Letters*, 2004, 4(4): 703.
- [8] Zhelev Z, Ohba H, Bakalova R. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128(19): 6324.

- [9] Dubertret B, Skourides P, Norris D J, et al. *Science*, 2002, 298(29): 1759.
- [10] Wang Y, Wong J F, Teng X, et al. *Nano Letters*, 2003, 3(11): 1555.
- [11] Luccardini C, Tribet C, Vial F, et al. *Langmuir*, 2006, 22(5): 2304.
- [12] Yu W W, Chang E, Falkner J C, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(10): 2871.
- [13] FEI Xiao-fang, SHAN Gui-ye, KONG Xiang-gui, et al. *Chem. Res. in Chinese Universities*, 2005, 21(6): 728.
- [14] Anderson R E, Chan W C W. *ACS Nano*, 2008, 2(7): 1341.
- [15] Yu W W, Qu L, Guo W, et al. *Chem. Mater.*, 2003, 15(14): 2854.

CdSe/ZnSe Quantum Dots via a Two-Phase Solution System Process Solubilization and Spectroscopic Characterization

ZHANG Qing-bin^{1, 2}, SONG Kai^{1, 2}, KONG Xiang-gui^{1*}, ZENG Qing-hui¹, ZHANG You-lin¹, SUN Ya-juan¹, LIU Xiao-min¹

1. Key Laboratory of Excited State Process, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China
2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract In the present work, the CdSe/ZnSe core/shell quantum dots (QDs) were successfully transferred from organic phase to water phase *via* a two-phase solution system process by surface coating with amphiphilic polymer. Surface coating with amphiphilic polymer is an effective method, which can form stable soluble QDs in water. However, the conventional polymer coating method is performed in homogeneous phase, and it easily induces the aggregation of the QDs attributing to the long chain of enlance of the polymer. It is thus necessary and meaningful to develop surface coating technique for getting monodisperse coating QDs with amphiphilic polymer. In comparison with previously reported coating method, the authors' experiment process is performed in two-phase solution system, and can effectively reduces the possibility of aggregation of the QDs. The resulting hydrophilic CdSe/ZnSe core/shell QDs have long term stability in water, and high quantum yield. The polymer coating process was affirmed by various characterizations. Fourier transform infrared spectra suggest that the octylamine modified polymer was successfully coated on the surface of the CdSe/ZnSe QDs. The transmission electron microscopy suggests that the size and shape of the QDs showed no obvious change before and after the coating process. Dynamic light scattering results indicate that the hydrophilic QDs exhibit narrow hydrodynamic size distribution with the mean hydrodynamic diameters of about 19.7 nm. The luminescence properties of the QDs were investigated with photoluminescence spectra and ultraviolet-visible absorption spectra. This polymer coating process has less effect on luminescence capability. The quantum yield decreased from 43% to 30%. Further, in order to confirm that the polymer capped QDs is biocompatible, the QDs were used for specific detection of the human IgG with fluorescence mapping. The specific molecular recognition capacity of goat anti-human IgG-modified QDs confirms that the polymer coated QDs have compatible functional chemical groups for bioconjugation and are suitable for biological applications.

Keywords CdSe/ZnSe core/shell quantum dots; Amphiphilic polymer; Phase transfer; Biological applications

(Received Feb. 22, 2009; accepted May 26, 2009)

* Corresponding author