

水相CuInS₂/ZnS-FA近红外量子点的合成及在生物成像中的应用研究

蒋 鹭

长春理工大学物理学院, 吉林 长春

收稿日期: 2025年3月12日; 录用日期: 2025年4月10日; 发布日期: 2025年4月18日

摘 要

近红外量子点因其优异的组织穿透性和较低的光损伤, 广泛应用于生物成像等领域。本文制备了一种水相CuInS₂/ZnS-FA量子点, 该量子点在近红外区域表现出优异的光学性能, 具有良好的荧光稳定性和水相分散性。生物毒性测试结果显示其具有良好的生物兼容性, 表明该材料在生物医学成像等领域具有应用潜力。

关键词

CuInS₂/ZnS量子点, 近红外荧光, 叶酸偶联, 生物成像

Aqueous Synthesis of CuInS₂/ZnS-FA Near-Infrared Quantum Dots and Application in Bioimaging

Ao Jiang

School of Physics, Changchun University of Science and Technology, Changchun Jilin

Received: Mar. 12th, 2025; accepted: Apr. 10th, 2025; published: Apr. 18th, 2025

Abstract

Near-infrared quantum dots are widely used in fields such as biological imaging due to their excellent tissue penetration and low light-induced damage. In this study, a water-based CuInS₂/ZnS-FA quantum dot was synthesized, which exhibits outstanding optical performance in the near-infrared region, with good fluorescence stability and water dispersion. Biototoxicity tests demonstrate that

the quantum dots have good biocompatibility, indicating that this material has potential applications in fields such as biomedical imaging.

Keywords

CuInS₂/ZnS Quantum Dots, Near-Infrared Fluorescence, Folic Acid Conjugation, Bioimaging

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

量子点(Quantum Dots, QDs)因其具有宽激发光谱、窄对称发射光谱以及强量子限域效应等优异的光学特性,已成为理想的生物成像材料。然而,传统的高发光效率量子点大多基于毒性较高的 Cd 系二元化合物,限制了其在生物医学中的广泛应用。近年来,由铜、镉、硫等元素组成的三元量子点(如 CuInS₂)因其低毒性、可调节的光学特性及良好的生物相容性,逐渐成为研究热点。

尽管 CuInS₂ 量子点在光学性能方面表现出色,但其光学稳定性和荧光强度易受到表面缺陷的影响。因此,研究者们通过表面修饰,如 ZnS 壳层包覆,从而提升量子点的荧光强度与光学稳定性。量子点的靶向性则是提高生物成像精度和特异性的关键。叶酸(FA)作为一种常用的靶向配体,能够通过与其受体的结合,促进量子点在特定细胞或组织中的靶向识别,从而增强成像效果。

目前, CuInS₂/ZnS 量子点在生物医学成像中的应用已取得显著进展。例如, CuInS₂ 量子点在近红外区域表现出优异的荧光性能,已广泛应用于荧光探针、细胞成像以及重金属离子检测等领域。Su 等人通过 MPA 包覆 CuInS₂ 量子点成功实现了多巴胺、凝血酶等生物分子的检测; Zhang 等人利用谷胱甘肽包覆的水溶性 CuInS₂/ZnS 量子点用于尿酸的检测,且检测限显著降低;此外, Yong 等人将叶酸功能化的 CuInS₂ 量子点用于小鼠肿瘤的靶向成像[1]-[4]。

然而,尽管 CuInS₂/ZnS 量子点在体外及体内细胞成像中展现了巨大潜力,仍面临一些挑战,尤其是在生物体内的细胞毒性及代谢途径问题。因此,如何在保证其生物相容性、稳定性和靶向性方面取得进一步提升,仍是未来研究的重要方向。本研究通过水相合成法制备高量子产率的 CuInS₂ 量子点,并进行 ZnS 包覆与叶酸偶联,探索其在生物成像中的应用潜力,旨在为量子点在生物医学领域的应用提供新的解决方案。

2. 实验

2.1. 试剂与仪器

实验药品: 硝酸铜(Cu(NO₃)₂·3H₂O, 99%, 上海沪试试剂)、硝酸镉(In(NO₃)₃·4H₂O, 99%, 上海沪试试剂)、硝酸(HNO₃, 天津北联试剂)、氢氧化钠(NaOH, 天津市化学试剂三厂)、硫化钠(Na₂S·9H₂O, 99%, Aladdin)、谷胱甘肽(GSH, 99%, Aladdin)、巯基丙酸(MPA, 98%, TCI)、醋酸锌(Zn(OAc)₂·3H₂O, 99%, 上海沪试试剂)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基)羰基二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)、N-羟基琥珀亚酰胺(NHS)、叶酸(FA)、硫脲(CH₄N₂S, 99%, Aladdin)、高糖培养基(DMEM, CORNING)、磷酸盐缓冲液(PBS, Solarbio)、噻唑蓝(MTT, Alfa Aesar)。

仪器设备: 高精度电子天平(Sartorius, Quintix224-1cn)、磁力搅拌器加热台(Thermo Scientific, Cimaxec)、

超声清洗器、恒温水浴箱、移液器、透射电子显微镜(Tecnai G2 20S-twin)、紫外-可见-近红外分光光度计(Agilent, Cary 5000 UV-Vis-NIR)、荧光分光光度计(Agilent, Cary Eclipse)、傅里叶变换红外光谱仪(Thermo Scientific, Nicolet iS 50)、荧光倒置显微镜(Leica, DMI3000B)、酶标仪(TECAN, Infinite M200 PRO)、CO₂ 培养箱。所有测试均在室温条件下进行[5]-[8]。

2.2. 实验部分

采用水热法制备形貌均一稳定的近红外零维纳米材料。借助透射电子显微镜(TEM)、紫外可见分光光度计和荧光分光光度计等表征手段对 CuInS₂ 量子点材料及复合材料进行表征。具体制备方式如下:

(1) CuInS₂ 量子点的合成

采用水相法合成 CuInS₂ 量子点。将 Cu(NO₃)₂·3H₂O、In(NO₃)₃·4H₂O 和谷胱甘肽(GSH)按比例 1:4:20 溶解于去离子水中,随后用 NaOH 调整溶液 pH 值,搅拌至透明。加入硫化钠(Na₂S·9H₂O)后超声分散 30 分钟。将混合液转移至聚四氟乙烯衬里的反应器中,在 100℃ 下反应 12 小时。反应后,产物经无水乙醇洗涤并离心除去杂质,最后通过冻干获得 CuInS₂ 量子点。

(2) CuInS₂/ZnS 核壳量子点的制备

为提升发光效率,使用 ZnS 包覆 CuInS₂ 量子点形成核壳结构。将 Zn(OAc)₂·2H₂O、硫脲与巯基丙酸(MPA)按比例 10:10:1 溶于去离子水,超声溶解后加入 CuInS₂ 量子点溶液中,在 100℃ 水浴加热 30 分钟。随后,离心、洗涤并冻干,得到 CuInS₂/ZnS 核壳量子点。

(3) 叶酸偶联

为了实现量子点对癌细胞的靶向性,将叶酸(FA)偶联到 CuInS₂/ZnS 量子点的表面。将 EDC 与 NHs 混合后加入量子点溶液,搅拌 10 分钟后,加入叶酸溶液,避光搅拌 3 小时,最终得到叶酸修饰的 CuInS₂/ZnS 量子点复合材料。

(4) 生物兼容性实验

将待孵育的细胞接种于 96 孔板中,每个孔内接种约 1×10^4 个细胞。将细胞用 200 μ L DMEM 培养基培养 24 小时后,弃去旧培养基并加入不同浓度的量子点复合材料,每个浓度设置 6 个孔。同时,设置一个空白对照组,加入 PBS 缓冲液。将细胞与量子点复合材料共同培养 24 小时。接着,加入 20 μ L MTT 溶液(5 mg/mL)及 180 μ L DMEM 培养基,继续孵育 4 小时。培养结束后,弃去培养基及未反应的 MTT 溶液,然后向每孔加入 200 μ L DMSO 溶液以溶解 Formazan 晶体。室温下振荡 15 分钟,直到孔内液体变为紫色。最后,使用酶标仪(Tecan Infinite)在 490 nm 波长下测定吸光度。细胞活性通过以下公式计算: 计算公式: 细胞活性(%) = 实验组吸光度/对照组吸光度 $\times 100\%$ [9]-[12]。

3. 结果与讨论

3.1. CuInS₂/ZnS 量子点荧光特性研究

如图 1 所示, CuInS₂/ZnS 复合材料的粒径相比未包覆的 CuInS₂ 量子点(3~4 nm)有所增加,达到约 6~7 nm,表明 ZnS 壳层成功包覆。在复合材料研究中,通过荧光强度变化可评估材料的荧光特性。以下针对复合材料中金属元素比和酸碱度对光学性质造成的影响进行探究。

如图 2 所示,量子点包覆 ZnS 后,吸收值有所下降,但在 In:Zn = 1:10 时吸收值达到最大,表明这一比例合成的量子点具有最好的光吸收能力。光致发光谱未显示明显的特征峰值,是由于量子点尺寸较小且有一定的尺寸分布造成,符合 CuInS₂量子点宽吸收的特性。不同 In:Zn 比例的 CuInS₂/ZnS 量子点的荧光发射强度差异显著,随着 Zn 含量的增加,荧光强度逐渐增强,尤其在 In:Zn = 1:10 时达到最大值,发射峰值约在 720 nm。然而,继续增加 Zn 含量至 In:Zn = 1:20 时,荧光强度有所下降。这是由于适量 ZnS

壳层能减少表面缺陷导致的非辐射复合，从而提高荧光强度，但过量的 ZnS 可能导致过度钝化，反而降低荧光发射效率。

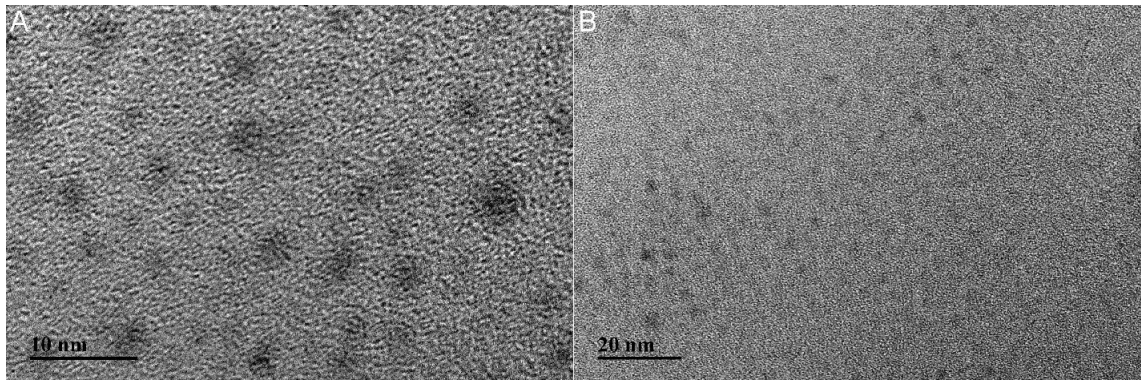


Figure 1. TEM of QDs (a) CuInS₂; (b) CuInS₂/ZnS

图 1. 量子点 TEM (a) CuInS₂; (b) CuInS₂/ZnS

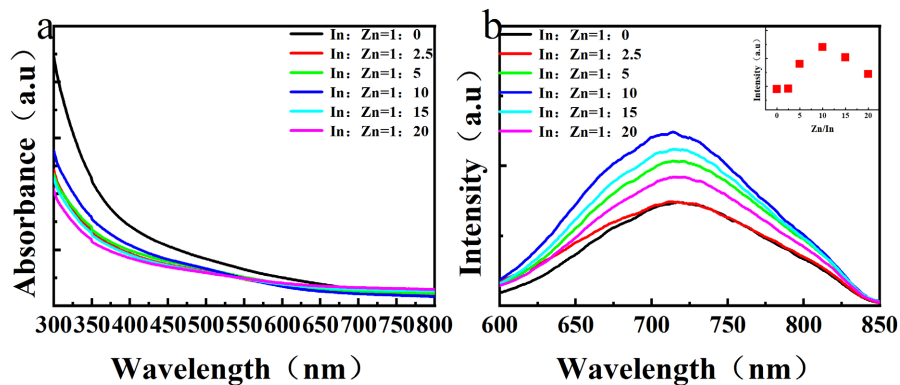


Figure 2. Metal Element Ratio Regulation of CuInS₂/ZnS (a) UV-vis; (b) PL

图 2. CuInS₂/ZnS 金属元素比例调控(a) 紫外可见吸收光谱; (b) 光致发光光谱

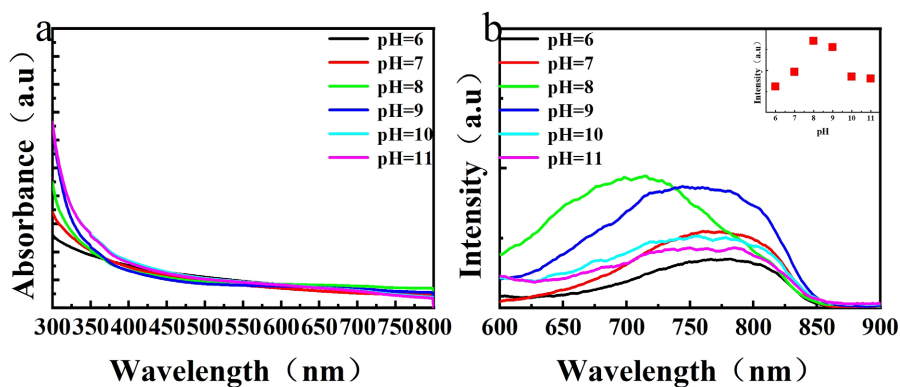


Figure 3. pH Regulation of CuInS₂/ZnS (a) UV-vis; (b) PL

图 3. CuInS₂/ZnS 酸碱度调控(a) 紫外可见吸收光谱; (b) 光致发光光谱

如图 3 所示, CuInS₂/ZnS 量子点在包覆 ZnS 后, 不同 pH 值条件下的样品, 吸收边缘变化较小, 在较高 pH 值(如 pH = 10 和 11)时, 吸收光谱略有增强, 表明在碱性条件下量子点的吸收能力有所提升。在荧光光谱中, 随着 pH 值从 6 逐渐升至 10, 荧光强度先是逐步增强, 并在 pH = 8 时达到最大值, 随后在

pH=9 时略有下降, 之后荧光强度进一步减弱。值得注意的是, 在 pH=8 时, 荧光发射峰值位于 720 nm 左右, 而在其他 pH 值下的发射峰位置大多集中在 740~750 nm 之间。这一现象可能归因于在 pH=8 条件下, 量子点表面缺陷的钝化效果最佳, 从而减少了非辐射复合过程, 增强了荧光发射强度并导致了轻微的蓝移[13][14]。

3.2. CuInS₂/ZnS-FA 的制备与表征

为了研究 CuInS₂/ZnS 量子点与叶酸(FA)的表面偶联情况, 以及确认 FA、CuInS₂/ZnS 和 CuInS₂/ZnS-FA 复合材料的化学组成, 采用傅里叶红外光谱仪(Thermo Scientific, Nicolet iS 50)对各样品进行了表征分析。如图 4 所示, 三条光谱分别对应 FA、CuInS₂/ZnS 量子点和 CuInS₂/ZnS-FA 复合材料的傅里叶红外光谱。

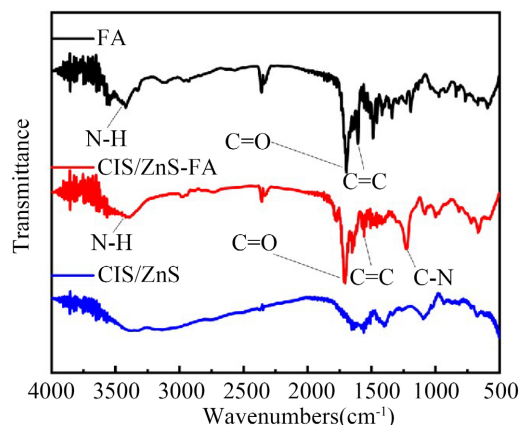


Figure 4. FTIR

图 4. 傅里叶红外光谱

如图 4 所示, 量子点材料未出现显著的特征峰, 而结合叶酸后, 谱图出现明显变化。叶酸本身具有芳香环, 导致在 1400 cm⁻¹ 到 1600 cm⁻¹ 之间出现 C-C 伸缩振动峰, 复合后同样表现为此特征峰。此外, C=O 伸缩振动峰、N-H 伸缩振动峰表明碳基和氨基的存在, C-N 伸缩振动峰则可确认酰胺键的形成, 证明材料已成功复合。

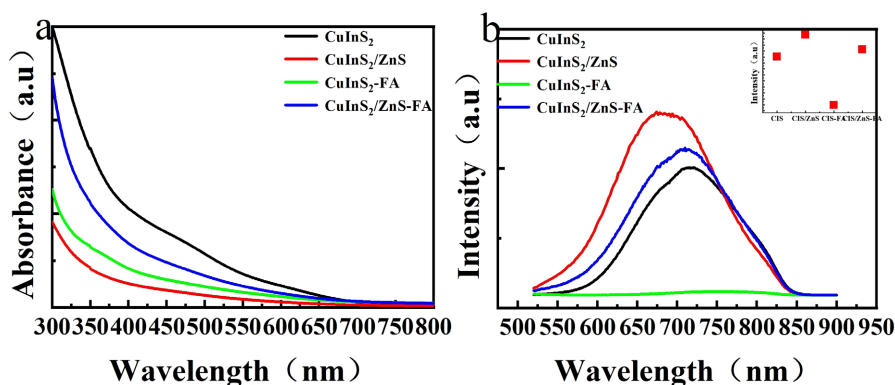


Figure 5. Composite Materials (a) UV-vis; (b) PL

图 5. 复合材料(a) 紫外可见吸收光谱; (b) 光致发光光谱

如图 5 所示, CuInS₂ 量子点包覆 ZnS 后吸收值下降, 但偶联叶酸后吸收显著增强, 归因于叶酸的自

吸收特性。尽管叶酸引入导致荧光淬灭，其通过能量转移机制降低了发光效率，CuInS₂/ZnS-FA 复合材料仍保持较好的荧光强度，表明 ZnS 壳层在保护量子点核心并抑制荧光淬灭中发挥了关键作用。ZnS 壳层的羧基为叶酸偶联提供了丰富的活性位点，提升了复合材料的应用潜力。

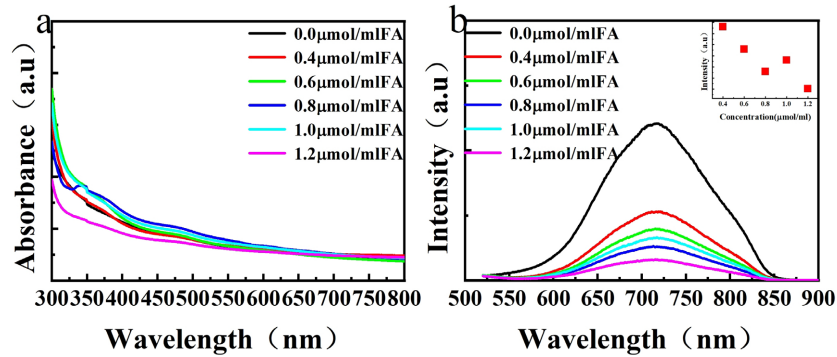


Figure 6. Fluorescence spectrum of CuInS₂/ZnS-FA (a) UV-vis; (b) PL

图 6. CuInS₂/ZnS-FA 荧光强度(a) 紫外可见吸收光谱; (b) 光致发光光谱

如图 6 所示，复合材料偶联叶酸后，在 0.4 $\mu\text{mol/mL}$ 时，样品吸收与未复合前(0 $\mu\text{mol/mL}$)接近，随后吸收逐渐上升，在 1.2 $\mu\text{mol/mL}$ 时急剧下降。在 0.8 $\mu\text{mol/mL}$ 浓度下，FA 可能处于最佳表面修饰浓度，吸收峰显著。复合叶酸后，荧光强度显著下降，在 1.0 $\mu\text{mol/mL}$ 时有上升现象。为深入研究，进行了动力学光散射测试。

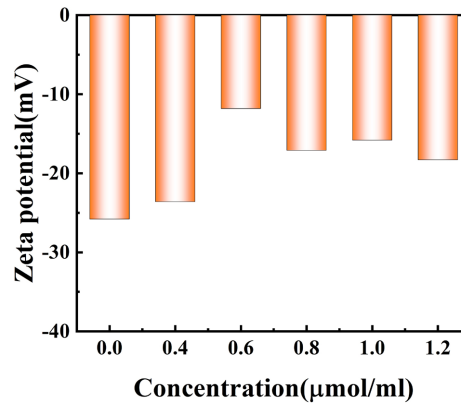


Figure 7. DLS

图 7. 动力学光散射测试

动力学光散射(DLS)测试进一步验证了叶酸与量子点的复合行为及其对材料稳定性的影响。如图 7 所示，在 0.4 $\mu\text{mol/mL}$ 时，样品电位与未复合前(0 $\mu\text{mol/mL}$)接近。随后在 0.6 $\mu\text{mol/mL}$ 时，电位骤降，表明材料稳定性下降。随着游离叶酸浓度增加，电位逐渐回升并趋于稳定。在 0.8 $\mu\text{mol/mL}$ 时，电位上升，可能是由于叶酸负载量有限，超过负载能力后，未结合的游离叶酸以物理吸附形式存在。这种物理吸附导致量子点溶液中 Zeta 电位升高，并引发自吸收现象。随着叶酸浓度进一步增加，游离叶酸分子导致量子点光学性质下降。

3.3. 生物兼容性测试

图 8 展示了四种材料处理后对三种癌细胞系(HeLa、A549、MCF-7)细胞活性的影响。具体而言，CuInS₂、

CuInS₂/ZnS、CuInS₂-FA 和 CuInS₂/ZnS-FA 在不同细胞系中的表现有所差异。在 HeLa 细胞系(图 8(a))中, CuInS₂ 处理后的细胞活性约为 60%, CuInS₂/ZnS 和 CuInS₂-FA 均显著提高细胞活性, CuInS₂/ZnS-FA 处理组进一步提高至接近 100%, 表明 FA 修饰和 ZnS 壳层的引入增强了细胞活性。在 A549 细胞系(图 8(b))中, CuInS₂ 处理组细胞活性超过 120%, 其他处理组(CuInS₂/ZnS、CuInS₂-FA、CuInS₂/ZnS-FA)均保持较高活性, 表现出良好的生物相容性。在 MCF-7 细胞系(图 8(c))中, CuInS₂ 组细胞活性较低, 但 ZnS 包覆或 FA 修饰后, 细胞活性有所提高, 尤其是 CuInS₂-FA 组表现最佳。

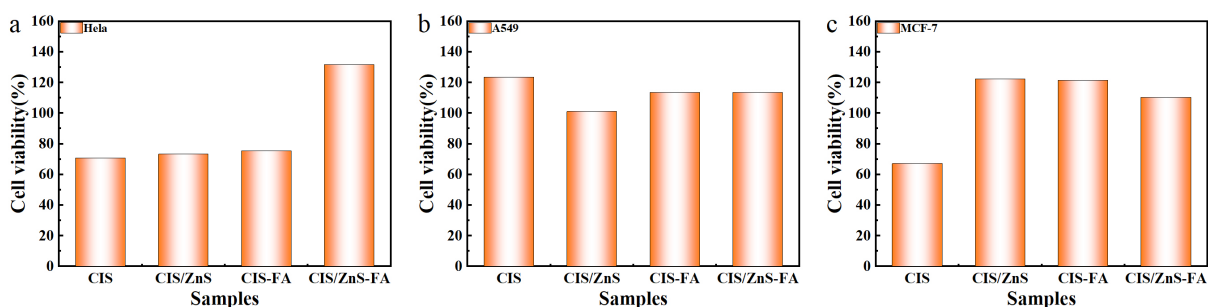


Figure 8. Biocompatibility experiment (a) HeLa; (b) A549; (c) MCF-7

图 8. 生物相容性实验(a) HeLa; (b) A549; (c) MCF-7

综上, FA 修饰的 CuInS₂/ZnS-FA 量子点在细胞活性和生物相容性方面表现优异, 特别是在 HeLa 细胞中, 表明其在癌细胞成像和靶向治疗中具有潜在应用价值。

3.4. 生物成像

本研究中, FA (叶酸)用于修饰 CuInS₂/ZnS 量子点, 以增强其对特定癌细胞的靶向性。FA 通过结合细胞表面的叶酸受体(FR)发挥作用, 不同细胞类型中的 FR 表达水平存在显著差异。我们选择了三种典型的癌细胞系: A549 (人肺癌细胞)、MCF-7 (人乳腺癌细胞)和 HeLa (人宫颈癌细胞)来评估 FA 修饰量子点的靶向成像能力。

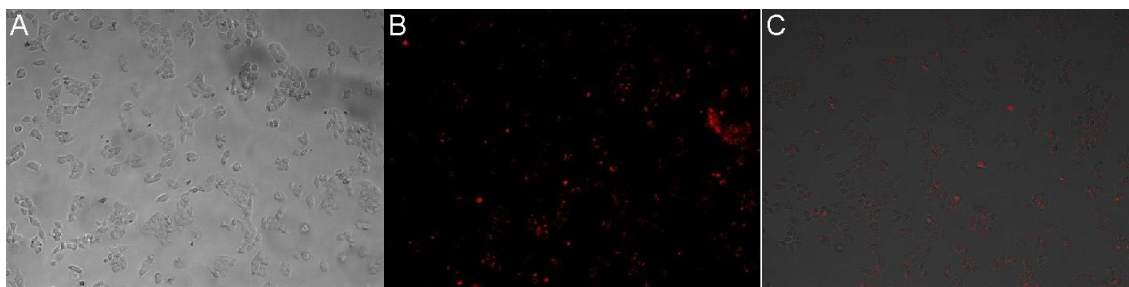


Figure 9. A549 (a) bright field; (b) dark field; (c) overlay

图 9. A549 (a) 明场; (b) 暗场; (c) 叠加图

如图 9 所示, A549 细胞为 FR 阳性表达较弱的细胞系, 表面叶酸受体密度较低。因此, FA 修饰的 CuInS₂/ZnS-FA 量子点在 A549 细胞中的结合能力有限, 荧光信号较弱, 表明在 FR 表达较少的癌细胞中, 叶酸修饰的量子点难以有效积聚, 导致较低的荧光强度。然而, ZnS 壳层的保护使得 CuInS₂/ZnS-FA 量子点在一定程度上保持光稳定性, 从而确保其在细胞内外的成像能力。

如图 10 所示, MCF-7 细胞为 FR 表达较高的乳腺癌细胞系, FA 修饰的量子点能与其表面叶酸受体高度结合, 显示出强烈的荧光信号。这一荧光增强现象表明, CuInS₂/ZnS-FA 量子点具有良好的靶向性,

能够有效识别并结合 FR 阳性高表达的乳腺癌细胞。MCF-7 细胞中的荧光信号集中且稳定，证明 FA 修饰的量子点具有优异的成像能力，为乳腺癌的检测和标记提供了重要的技术支持。



Figure 10. MCF-7 (a) bright field; (b) dark field; (c) overlay

图 10. MCF-7 (a) 明场; (b) 暗场; (c) 叠加图

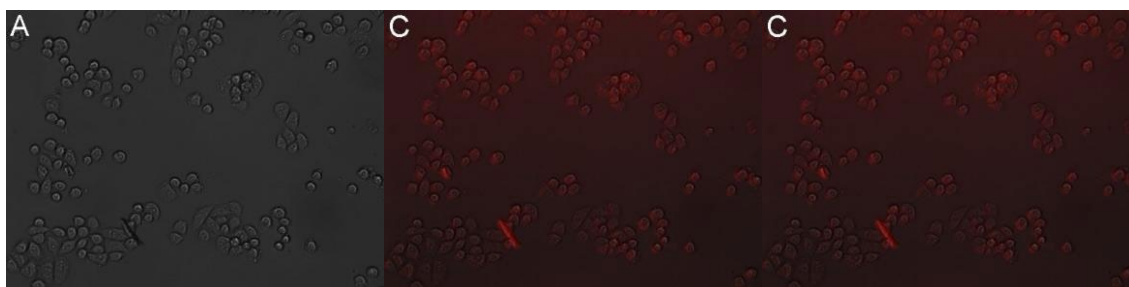


Figure 11. HeLa (a) bright field; (b) dark field; (c) overlay

图 11. HeLa (a) 明场; (b) 暗场; (c) 叠加图

如图 11 所示，HeLa 细胞为 FR 高表达的宫颈癌细胞系，表现出与 MCF-7 相似的靶向性。CuInS₂/ZnS-FA 量子点与 HeLa 细胞的结合显著，荧光信号强烈且稳定，表明叶酸修饰的量子点在 FR 高表达细胞中的优异表现。由于 HeLa 细胞表面叶酸受体丰富，FA 修饰的量子点能通过特异性结合机制有效积聚在细胞表面及内部，实现在宫颈癌细胞中的靶向成像。这为宫颈癌的早期检测和治疗提供了潜在的应用前景 [15] [16]。

综上所述，FA 修饰的 CuInS₂/ZnS-FA 量子点在 FR 表达水平不同的细胞系中展现出不同的成像效果。在 FR 高表达的 MCF-7 和 HeLa 细胞中，FA-量子点能够显著增强靶向结合，产生强烈的荧光信号；而在 FR 表达较弱的 A549 细胞中，荧光信号较弱。这些结果表明，CuInS₂/ZnS-FA 量子点具有良好的细胞选择性，能够有效识别并标记 FR 阳性癌细胞，为癌症的诊断和治疗提供了有效的工具。

4. 结论

本研究通过水相合成法制备了 CuInS₂/ZnS 量子点，并通过 ZnS 壳层的包覆显著提高了其光学稳定性、荧光强度及水相分散性。此外，采用叶酸偶联技术实现了量子点的靶向性，增强了其在特定细胞和组织中的识别能力。研究表明，CuInS₂/ZnS-FA 量子点不仅具有优异的光学性能和低毒性，还在生物成像中展现出较高的特异性和灵敏度，尤其在深层组织成像、疾病早期诊断及靶向治疗等领域具备广阔应用前景。本研究的创新点为量子点在精准医学中的进一步应用提供了新的解决方案和理论依据。

参考文献

- [1] Li, T., Cai, C., Yeh, T. and Teng, H. (2013) Capped CuInS₂ Quantum Dots for H₂ Evolution from Water under Visible

- Light Illumination. *Journal of Alloys and Compounds*, **550**, 326-330. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2012.10.157>
- [2] Liu, S., Shi, F., Zhao, X., Chen, L. and Su, X. (2013) 3-Aminophenyl Boronic Acid-Functionalized CuInS₂ Quantum Dots as a Near-Infrared Fluorescence Probe for the Determination of Dopamine. *Biosensors and Bioelectronics*, **47**, 379-384. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.03.055>
- [3] Gao, X., Liu, X., Lin, Z., Liu, S. and Su, X. (2012) CuInS₂ Quantum Dots as a Near-Infrared Fluorescent Probe for Detecting Thrombin in Human Serum. *The Analyst*, **137**, 5620-5624. <https://doi.org/10.1039/c2an35888c>
- [4] Yan, X., Li, H., Yan, Y. and Su, X. (2015) Selective Detection of Parathion-Methyl Based on Near-Infrared CuInS₂ Quantum Dots. *Food Chemistry*, **173**, 179-184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.152>
- [5] 卢征程, 邹鹏, 胡思怡, 等. 2018 生物功能化 AgInS₂ 量子点的制备及其生物应用[J]. 长春理工大学学报(自然科学版), 2018, 41(1): 13-18.
- [6] 吴哲, 陆冬筱, 李金华. 2022 金纳米星诊疗剂的光热特性及其在光热治疗和光学相干层析成像中的应用研究[J]. 中国光学, 2022, 15(2): 233-241.
- [7] 修景锐, 胡思怡, 李金华, 等. 2018 基于近红外量子点的荧光共振能量转移生物探针构建及应用[J]. 中国光学, 2018, 11(1): 74-82.
- [8] 冯可, 王玥, 李金华, 等. 2019 Cd²⁺前体反应时间对 CdSe 量子棒长径比的调控及其光学特性研究[J]. 化工学报, 2019, 70(7): 2795-2801.
- [9] 冯可. 2019 模板法制备具有取向排布的纳米棒薄膜[J]. 科技创新与应用, 2019(8): 102-103.
- [10] 刘星, 罗阳. 2014 量子点生物传感器中的表面修饰技术及其医学应用[J]. 分析化学, 2014, 42(7): 1061-1069.
- [11] 杜继红, 张冰, 孙明烨. 2019 CuInS₂/ZnS 核/壳量子点的制备及其光致发光器件[J]. 科技与创新, 2019(5): 32-34.
- [12] 赵梅, 崔瑞, 李盼武, 等. 2024 选择性絮凝强化废旧磷酸铁锂电池电极材料浮选分离[J]. 矿冶工程, 2024, 44(4): 126-131+135.
- [13] 童鑫. 近红外核壳结构量子点的制备及其光电化学制氢研究[D]: [博士学位论文]. 成都: 电子科技大学, 2018.
- [14] 陈芳芳. 基于纳米金对量子点荧光特性的调控及其高灵敏生物传感器的构建[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南大学, 2023.
- [15] 黄倩, 吕汪洋. 2022 二维氮化碳载铜聚酰胺纤维的制备及其抗菌性能[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2022, 47(4): 482-489.
- [16] 张元杰, 李金凯, 刘宗明. 2024 MOFs 衍生的 Fe-N-C 纳米酶用于对苯二酚的比色检测[J]. 中国粉体技术, 2024, 30(4): 128-138.