

多巴胺醌功能化的量子点荧光探针构建 及其 pH 响应研究

王 政^{1,2,3}, 侯小琪^{1,3}, 刘宣勇^{1,2,3}

(1. 国科大杭州高等研究院, 化学与材料科学学院, 杭州 310024; 2. 中国科学院 上海硅酸盐研究所, 关键陶瓷材料全国重点实验室, 上海 200050; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 量子点(Quantum Dots, QDs)凭借其优异的光致发光特性, 在生物检测领域展现出重要的应用价值。其中, pH 作为调控生理功能的关键参数, 其高灵敏度响应具有重要意义。然而, 传统 pH 荧光探针常受限于灵敏度不足或稳定性较差的问题。基于此, 本研究采用能带工程优化设计, 构建 CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs, 以提高其荧光量子产率和稳定性。进一步通过巯基乙胺(Mercaptoethylamine, MEA)和多巴胺异硫氰酸酯(Dopamine-isothiocyanate, DA-ITC)修饰, 制备得到具有高灵敏度 pH 响应的 QDs 荧光探针。实验结果表明: 氨基化的 CdSe/CdS/ZnS QDs 具有优异的光学性质。经 DA-ITC 修饰后, 探针表现出高灵敏度的 pH 响应性能, 其响应机制源于碱性条件下表面配体氧化形成的多巴胺醌(Dopamine Quinone, DQ)对 QDs 的荧光猝灭作用。对于 1 nmol QDs, DA-ITC 投入量为 4~40 $\mu\text{g}/\text{nmol}$ 时, 在 pH 5.0~10.0 范围内, 探针的荧光强度呈现随 pH 增加而线性降低的趋势(线性拟合常数 $R^2 > 0.90$)。当 DA-ITC 投入量为 20 $\mu\text{g}/\text{nmol}$ 时, 探针的 pH 响应效果最佳, 其线性拟合常数为 0.9869。此外, 该探针具有良好的细胞相容性, 能够有效应用于细胞 pH 荧光成像监测研究。

关 键 词: 量子点; 核壳结构; pH 响应; 氧化还原

中图分类号: O649 文献标志码: A 文章编号: 1000-324X(2026)02-0225-09

Functionalized Quantum Dot Fluorescent Probes with Dopamine Quinone: Construction and pH Response

WANG Zheng^{1,2,3}, HOU Xiaoqi^{1,3}, LIU Xuanyong^{1,2,3}

(1. School of Chemistry and Materials Science, Hangzhou Institute for Advanced Study, University of Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310024, China; 2. State Key Laboratory of High-Performance Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Quantum dots (QDs) have demonstrated significant potential in the field of biological detection due to their excellent photoluminescence properties. As one of the key parameters in regulating physiological functions, pH response with high sensitivity is of great significance. However, conventional pH fluorescent probes are frequently limited by insufficient sensitivity or poor stability. In this work, band gap engineering was used to design and construct

收稿日期: 2025-04-23; 收到修改稿日期: 2025-05-27; 网络出版日期: 2025-06-05

基金项目: 浙江省重点研发计划(2024C03080); 国科大杭州高等研究院自主部署科研项目(2023HIAS-Y020)

Key Research and Development Program of Zhejiang Province (2024C03080); Research Funds of Hangzhou Institute for Advanced Study, UCAS (2023HIAS-Y020)

作者简介: 王 政(2000-), 男, 硕士研究生. E-mail: wangzheng22@mailsucas.ac.cn

WANG Zheng (2000-), male, Master candidate. E-mail: wangzheng22@mailsucas.ac.cn

通信作者: 侯小琪, 副研究员. E-mail: houxiaoqi@ucas.ac.cn; 刘宣勇, 研究员. E-mail: xyliu@mail.sic.ac.cn

HOU Xiaoqi, associate professor. E-mail: houxiaoqi@ucas.ac.cn;

LIU Xuanyong, professor. E-mail: xyliu@mail.sic.ac.cn

a CdSe/CdS/ZnS core-shell structured QD to improve the fluorescence quantum yield and stability. Additionally, the modification with mercaptoethylamine (MEA) and dopamine-isothiocyanate (DA-ITC) results in improved QD fluorescent probe exhibiting a highly sensitive pH response. Experimental results indicate that the amino-protected CdSe/CdS/ZnS QDs possess excellent optical properties. Following modification with DA-ITC, the probe exhibits highly sensitive pH response. The underlying response mechanism is attributed to fluorescence quenching effect of the dopamine quinone (DQ), which is formed by oxidation in surface ligands on the QDs under alkaline conditions. For 1 nmol QDs, when the input amount of DA-ITC is in the range of 4–40 $\mu\text{g}/\text{nmol}$, the fluorescence intensity of the probe reveals a linear decreasing trend with increasing pH from 5.0 to 10.0 ($R^2>0.90$). Notably, when the addition of DA-ITC is set at 20 $\mu\text{g}/\text{nmol}$, the probe demonstrates optimal pH responsiveness ($R^2=0.9869$). Moreover, this probe has good cytocompatibility, allowing for effective application in fluorescence imaging for monitoring of cell pH.

Key words: quantum dot; core-shell structure; pH response; redox

QDs 是一种在三维空间中受量子限域效应约束的半导体纳米晶, 尺寸通常在 2~10 nm 之间^[1-2]。量子限域效应导致其核心物理特性^[3], 即当半导体材料的尺寸小于激子波尔半径时, 能带会发生分裂, 表现为带隙随尺寸减小而增大。这一特性使得 QDs 具备荧光波长连续可调、荧光发射峰窄且对称、荧光量子产率 (Photoluminescence Quantum Yield, PLQY) 高、光稳定性强以及表面易修饰等重要性质。基于这些独特的优势, QDs 已在生物医学成像、疾病诊断、光电器件等领域展现出重要应用潜力^[4-8]。

细胞生理环境的 pH 动态监测是医学诊断与病理研究的重要基础^[9-12]。研究表明, 生物酶化学^[13]、体液检测^[7, 14]和药物研发^[15]等均与细胞生理环境 pH 密切相关。近年来, pH 响应的 QDs 探针因其光稳定性、高 PLQY 及可调谐的光学特性, 成为高灵敏度 pH 检测的研究热点^[16-19]。目前主流的 QDs 基 pH 探针主要通过表面配体与载流子的相互作用实现传感功能。Medintz 等^[20]利用 DA-ITC 修饰聚乙醇包裹的 CdSe/ZnS QDs, 制备得到 pH 4.0~10.0 响应的荧光探针, 其机理基于多巴胺(Dopamine, DA)氧化为 DQ 时吉布斯自由能随 pH 变化而变化, 进而调控电子转移效率。Li 等^[21]利用对氨基硫苯酚(4-aminothiophenol, pATP)修饰 CdSe/ZnS QDs, 实现了 pH 3.2~6.0 的检测, 发现质子化作用可使 pATP 的最高占据分子轨道(HOMO)能级升高, 进而阻断空穴捕获过程。然而, 现有的 QDs 基 pH 响应探针仍存在 PLQY 较低的问题, 限制了其检测灵敏度与生物应用潜力。因此, 构建一种新型可控且高灵敏度的 QDs 基 pH 响应荧光探针及检测策略, 对推动 QDs 在生物传感领域的应用具有重要意义。

在众多 QDs 体系中, II-VI 族 QDs 的应用最为广

泛, 其中 Cd 基 QDs 的合成研究已形成完善的理论体系。Zhou 等^[22]制备了 PLQY 为 100% 的 CdSe/CdS 核壳 QDs, 但其裸露的 Cd 元素表面引发的生物毒性引起了研究者的关注。因此, 通过生物友好型的 ZnS 包覆, 能够有效提高 QDs 的生物相容性。

为了解决探针 PLQY 较低的问题, 本研究通过提高 QDs 本身 PLQY 来改善 QDs 探针的光学性能。利用能带工程设计制备 CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs, 其中壳层对激子的强限域作用显著提高了 QDs 的 PLQY。使用 MEA 配体对 QDs 进行修饰, 得到高 PLQY 的水溶性氨基化的量子点(QDs-NH₂); 随后利用 DA-ITC 配体的修饰使 QDs 具备 pH 5.0~10.0 荧光响应能力。此外, 研究了 DA-ITC 投入量对 QDs 荧光变化的影响及其 pH 响应效果和响应机制。最后, 评估了探针的生物相容性及其在细胞中的 pH 响应能力。

1 实验方法

1.1 实验原料

单质硒(Se, 99.99%, 粉末)、单质硫(S, 99.98%)、氧化镉(99.99%, 粉末)、二水合乙酸镉(99.9%, 粉末)、乙酸锌(99.99%, 粉末)、1-十八烯(1-Octadecene, ODE, 90%)、油酸(90%)、肉豆蔻酸(99%)、癸酸(98%)购自 Sigma-Aldrich 公司。2-巯基乙胺盐酸盐(2-mercaptoethylamine hydrochloride, 98%)、三乙胺(NEt₃, 99.5%)、1640 培养基、杜氏磷酸盐缓冲液(DPBS)、谷胱甘肽(Glutathione, GSH)购自 Admas-beta 公司。尼日利亚菌素、Britton-Robinson 缓冲液(pH 约 1.8)购自源叶生物科技有限公司。甲醇(分析纯)、氢氧化钠(NaOH, 分析纯)、二甲基亚

砷(DMSO, 99.5%)购自上海泰坦科技公司。分析纯的甲苯、丙酮和氯仿均购自国药集团化学试剂有限公司。DA-ITC(1.094 g/cm^3)为实验室自制。MTT试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。胎牛血清、青霉素和链霉素购自 Gibco 赛默飞世尔科技公司。

1.2 材料制备

1.2.1 CdSe/CdS/ZnS QDs 的制备

本研究采用热注入法合成 QDs, 具体实验流程参考文献[23-24]并加以优化。将 0.0128 g 氧化镉、 0.0640 g 肉豆蔻酸和 4 mL ODE 在氩气气氛中加热至 $250\text{ }^\circ\text{C}$, 形成澄清溶液后, 迅速注入 1 mL Se-ODE (0.06 mol/L)悬浊液, 随后缓慢加入 Se-ODE (0.1 mol/L)悬浊液, 制备所需尺寸的 CdSe 核 QDs。将丙酮、氯仿和甲醇的混合溶液(体积比 $1:1:1$)与 QDs 原液按体积比 $2:1$ 混合, 加热后快速离心得到沉淀, 再溶于 ODE 中备用, 重复此过程两次。

将提纯后的 CdSe 核 QDs 注入温度为 $160\text{ }^\circ\text{C}$ 的澄清混合溶液(0.1862 g 二水合乙酸镉、 0.1205 g 癸酸、 0.5930 g 油酸、 4 mL ODE)中, 升温至 $260\text{ }^\circ\text{C}$, 以 2 mL/h 的速度注入 S-ODE(0.1 mol/L , S 粉超声溶解到 ODE 中)悬浊液中, 得到所需尺寸的样品后, 停止注入 S-ODE 并快速降温。所得 CdSe/CdS QDs 经提纯后备用。

接着将提纯后的 CdSe/CdS QDs 注入温度为 $150\text{ }^\circ\text{C}$ 的澄清混合溶液(0.0917 g 醋酸锌、 0.0689 g 癸酸、 0.3107 g 油酸、 4 mL ODE)中, 升温至 $300\text{ }^\circ\text{C}$, 以 2 mL/h 的速度注入 S-ODE(0.1 mol/L)悬浊液中, 待获得所需尺寸样品后, 停止注入 S-ODE 并快速降温。

1.2.2 QDs 探针的制备

将 2-巯基乙胺盐酸盐溶于甲醇中, 制成饱和溶液备用。将 2.5 nmol CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs 提纯后溶于 1 mL 氯仿中, 加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ MEA 的甲醇溶液, 搅拌反应 12 h , 离心后获得沉淀, 加入 $500\text{ }\mu\text{L}$ 去离子水, 备用。

依据文献[20]合成 DA-ITC。将 DA-ITC 用 DMSO 稀释 1000 倍(1 mg/cm^3), 取 $500\text{ }\mu\text{L}$ 水相 QDs, 加入 $2\text{ }\mu\text{L}$ NEt_3 和 $1\sim 200\text{ }\mu\text{L}$ DA-ITC 溶液, 搅拌反应 1 h , 离心后得到沉淀并用去离子水溶解备用。

1.3 细胞毒性和细胞 pH 响应

采用标准 MTT 测定评估 QD-DQ 对小鼠成纤维(L929)细胞和小鼠乳腺癌(4T1)细胞的细胞毒性。以 8000 个细胞/孔的密度将细胞接种在 96 孔板中, 孵育 24 h 。不同浓度的探针(DA-ITC 投入量为 $20\text{ }\mu\text{g/nmol}$)与细胞共孵育 20 h 。然后弃去培养基,

向每个孔中加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ MTT 溶液继续孵育 4 h , 再加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ DMSO 以溶解形成的甲臌。采用酶标仪记录 570 nm 处的光密度(OD)值。

将 30000 个 4T1 细胞接种到小皿中, 孵育 24 h 后加入含 100 nmol/L 探针(DA-ITC 投入量为 $20\text{ }\mu\text{g/nmol}$)的培养基, 孵育 3 h 。弃去培养基, 用 DPBS 清洗 3 遍, 加入含 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 尼日利亚菌素的不同 pH 缓冲液, 孵育 30 min 后在荧光显微镜下拍摄(要求拍摄曝光时间、荧光强度均一致)。

1.4 测试与表征

采用荧光光谱仪(Edinburgh FS5 Spectrofluorometer)测试稳态荧光光谱和瞬态荧光光谱。采用紫外-可见分光光度计(Jasco V-770 UV-Visible/NIR Spectrophotometer)测量样品吸收性质, 波长范围 $200\sim 800\text{ nm}$ 。采用 X 射线衍射仪(X-ray Diffractometer, XRD, Bruker D2 Phaser Diffractometer)、X 射线光电子能谱仪(X-ray Photoelectron Spectrometer, XPS, Thermo Fisher Scientific)、透射电子显微镜(Transmission Electron Microscope, TEM, Thermo Scientific Talos L120C TEM)、高分辨透射电镜(High Resolution Transmission Electron Microscope, HRTEM, Thermo Scientific Talos F200X STEM)、能谱仪(Energy Dispersive Spectrometer, EDS)和傅里叶变换红外光谱仪(Fourier Transform Infrared, FT-IR, Thermo Scientific Nicolet iS50 FT-IR Spectrometer)分别表征 QDs 的结构、物相组成、微观形貌、元素分布及表面官能团。

2 结果与讨论

2.1 QDs 的制备及表征

高质量油溶性 CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs 的制备流程示意图如图 1(a)所示。首先, 通过热注入法合成 CdSe 核 QDs, 随后通过连续离子层吸附反应(SILAR)法在 CdSe 核 QDs 上逐层生长 CdS 层和 ZnS 层, 最终得到 CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs。包裹 CdS 层有效减小了 CdSe 核与外壳层 ZnS 的晶格失配度, 减少了内部晶格缺陷的产生, 从而提高了 QDs 的 PLQY。在此基础上, ZnS 的宽带隙特性进一步增强了对激子对的限域作用, 使激子限制在 QDs 内, 从而增强了 QDs 的稳定性。

QDs 的 TEM 照片和统计尺寸分布直方图如图 1(b~d)所示。从图中可以看出, 制备得到的 QDs 分散性良好且尺寸分布均匀。随机统计 100 个 QDs

的尺寸大小, CdSe 核 QDs 的平均尺寸为 (3.3 ± 0.3) nm。包覆 CdS 和 ZnS 壳层后, QDs 的尺寸逐渐增大, QDs 形状由球形转变为不规则六面体。以其(110)晶面呈现的等腰三角形二维投影高度作为 QDs 的尺寸, 统计得到其平均尺寸分别为 (7.1 ± 0.6) nm 和 (7.9 ± 0.6) nm。对 QDs 的元素组成、晶体结构和元素分布进行分析, XPS 图谱如图 2(a)所示。包覆 QDs 壳层后, XPS 图谱中依次出现 Cd、Se、S 以及 Zn 元素。XRD 图谱(图 2(b))显示, 样品存在四个明显的衍射峰, 分别对应(111)、(200)、(220)和(311)晶面, 表明所制备的 QDs 均具有立方闪锌矿结构。此外, 通过 EDS 元素分布图和 EDS 线扫图(图 2(c)和图 S1)观察到 Se 元素信号主要集中于 QDs 核心区域, 而 Cd、Zn 和 S 元素均匀分布在 QDs 中, 该分布特征与设计的核壳结构相符。HRTEM 照片(图 2(c)插图)进一步证实, 制得的 CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs 具有清晰的晶格条纹和优异的结晶性。

通过紫外-可见吸收光谱、稳态荧光光谱和瞬态荧光光谱对 QDs 的光学性质进行了系统研究(图 2(d, e)、表 S1 和图 S2)。如图 2(d)和表 S1 所示, CdSe 核 QDs 在 558.0 nm 处出现明显的第一激子吸收峰和较窄的荧光发射峰。包覆壳层后, QDs 的第一激子吸收峰和荧光发射峰均显著红移。这主要归因于壳层包覆导致的量子限域效应减弱^[22]。值得注意的是, QDs 荧光发射峰狭窄且对称, 表明制备的

QDs 具有均匀的尺寸分布。包覆 CdS 和 ZnS 壳层后, QDs 荧光逐渐增强(图 S2(a)), CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs 的荧光强度达到初始 CdSe 核 QDs 的 7 倍, 这表明核壳结构设计有效提高了 QDs 的 PLQY。此外, 紫外-可见吸收光谱在短波区域的吸收增加进一步证实了 CdS 和 ZnS 壳层成功外延生长(图 S2(b))。瞬态荧光光谱(图 2(e)、图 S2(c, d))显示, 包覆 CdS 和 ZnS 壳层后, 荧光衰减寿命逐渐延长, 且寿命单指数拟合优度小于 1.3, 表明壳层包覆有效钝化了表面缺陷态, 显著提高了激子的辐射复合效率。

2.2 探针的制备及表征

通过两步反应成功制备了 QDs 基 pH 响应荧光探针, 制备示意图如图 3(a)所示。首先利用 MEA 的-SH 与 Zn^{2+} 配位取代烷烃配体, 制备得到水溶性 QD-NH₂; 随后在碱性环境下, 利用 DA-ITC 的-N=C=S 基团通过硫代氨基甲酰化反应形成共价异硫脲键, 将 DA-ITC 连接到 QD-NH₂ 表面, 制备得到 pH 响应荧光探针。

利用 FT-IR 测试分析了表面配体的交换过程, 结果如图 3(b)所示。配体交换后, 2917 和 2849 cm^{-1} 处长链羧酸盐配体的 C-H 振动峰减弱, 同时在 1576 cm^{-1} (-NH₂ 剪式弯曲振动)和 3450 cm^{-1} (-NH₂ 伸缩振动)出现新峰, 表明 MEA 成功修饰。光学性质测试表明(图 3(c, d)), QD-NH₂ 保持了油溶性 QDs 优异的光学性质, 配体交换后水溶性 QD-NH₂ 的荧

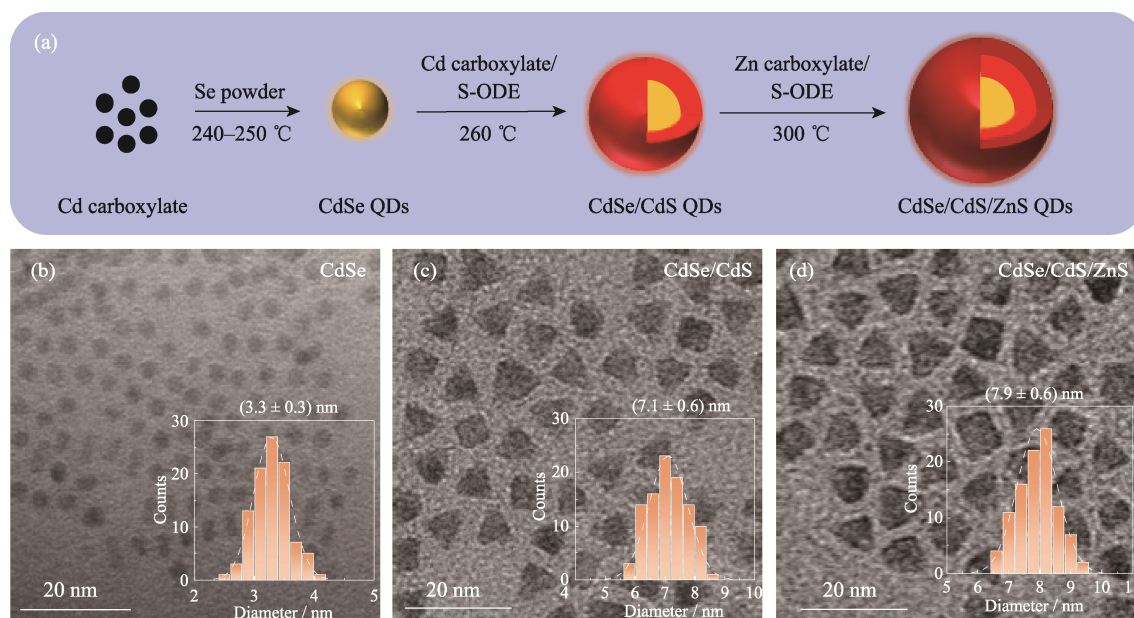


图 1 QDs 的制备过程、微观形貌及尺寸分布

Fig. 1 Schematic of preparation, micromorphologies and size distributions of QDs

(a) Preparation process of QDs; (b-d) TEM images of CdSe QDs (b), CdSe/CdS QDs (c) and CdSe/CdS/ZnS QDs (d), with insets showing size distribution histograms

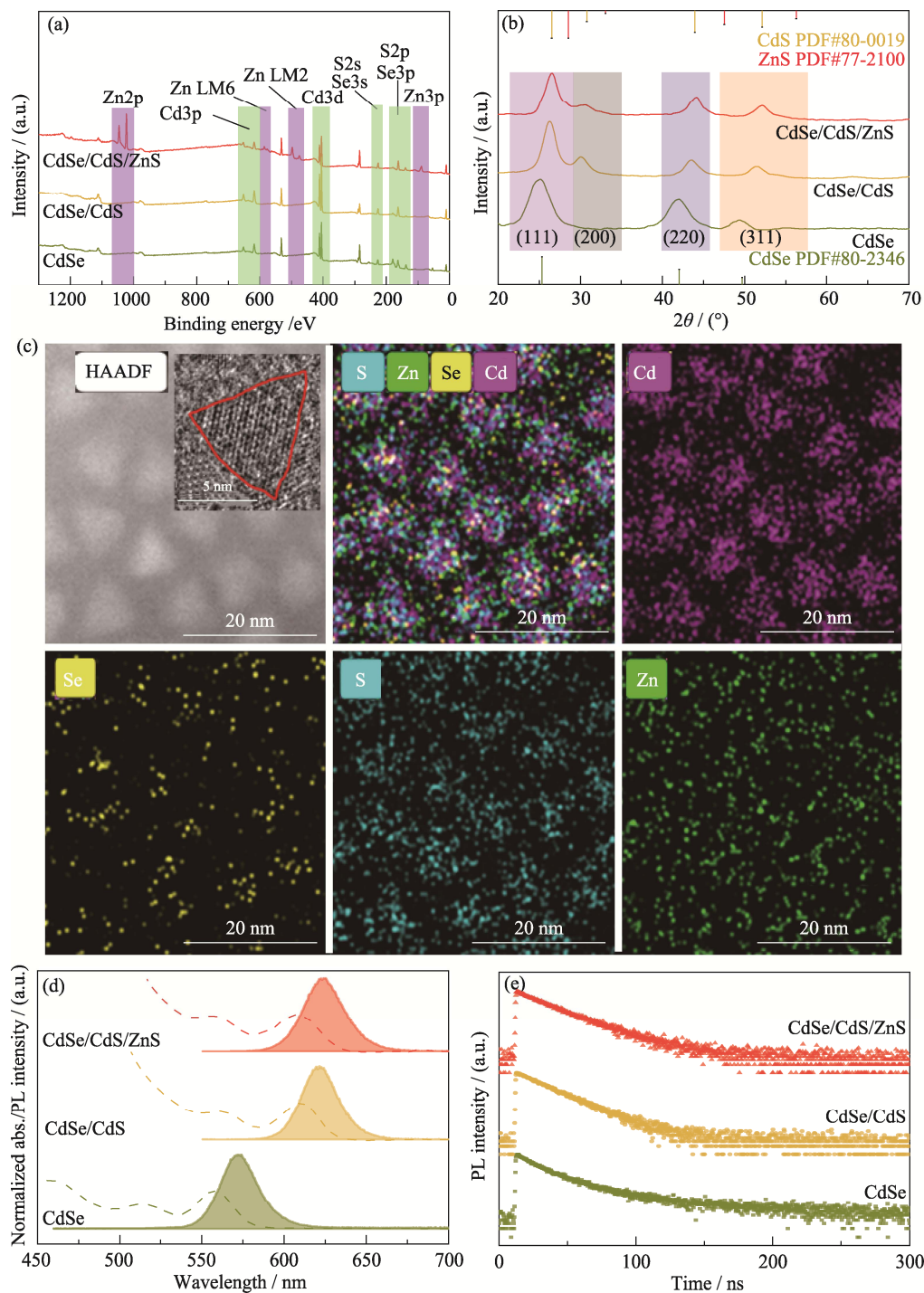


图 2 QDs 的结构表征、元素分布及光学性质

Fig. 2 Structural characterization, element distribution and optical properties of QDs
(a) XPS spectra, (b) XRD patterns, (d) PL and UV-Vis spectra, and (e) transient PL spectra of QDs;
(c) EDS mappings of CdSe/CdS/ZnS QDs with inset showing HRTEM image

光强度相较于油相 QDs 未出现显著降低。值得注意的是, QD-NH₂ 的荧光衰减寿命有所延长, 这归因于 QDs 所处溶液环境介电常数的变化^[24]。

通过将 DA-ITC 与 QD-NH₂ 连接, 成功构建了具有 pH 响应的 QDs 荧光探针。FT-IR 表征(图 3(b))显示, 2953、1720、1606 cm⁻¹ 处出现的三个芳香共轭酮(C=C=O)特征峰证明了 DA-ITC 的成功连接, 其

中苯环上的羟基在碱性反应环境中被氧化成羰基。紫外-可见吸收光谱(图 3(e))显示, DA-ITC 在 206 nm 处表现出强烈吸收, 探针在 206 nm 处出现 DA-ITC 的特征吸收峰, 且紫外区吸收显著增强, 进一步验证了探针的形成。稳态荧光光谱及瞬态荧光光谱测试结果(图 3(f, g))表明, 与 QD-NH₂ 相比, 探针的荧光强度显著降低, 荧光寿命也明显缩短, 这归因于

DQ 通过电子转移过程有效猝灭 QDs 荧光, 并引入新的非辐射复合通道。

2.3 DA-ITC 投入量研究

DA-ITC 投入量对 QDs 探针 pH 响应性的影响研究表明, 在 pH 5 的缓冲溶液中, 随着 DA-ITC 投

入量的增加, 探针表现出明显的浓度依赖性荧光响应。如图 4(a, b)所示, 随着 DA-ITC 投入量的增加, 探针的荧光强度显著降低, 这一变化趋势与文献报道中 QDs 与固定距离排列染料之间的 Forster 能量共振转移结果类似^[25-27], 而探针的荧光峰位置并未

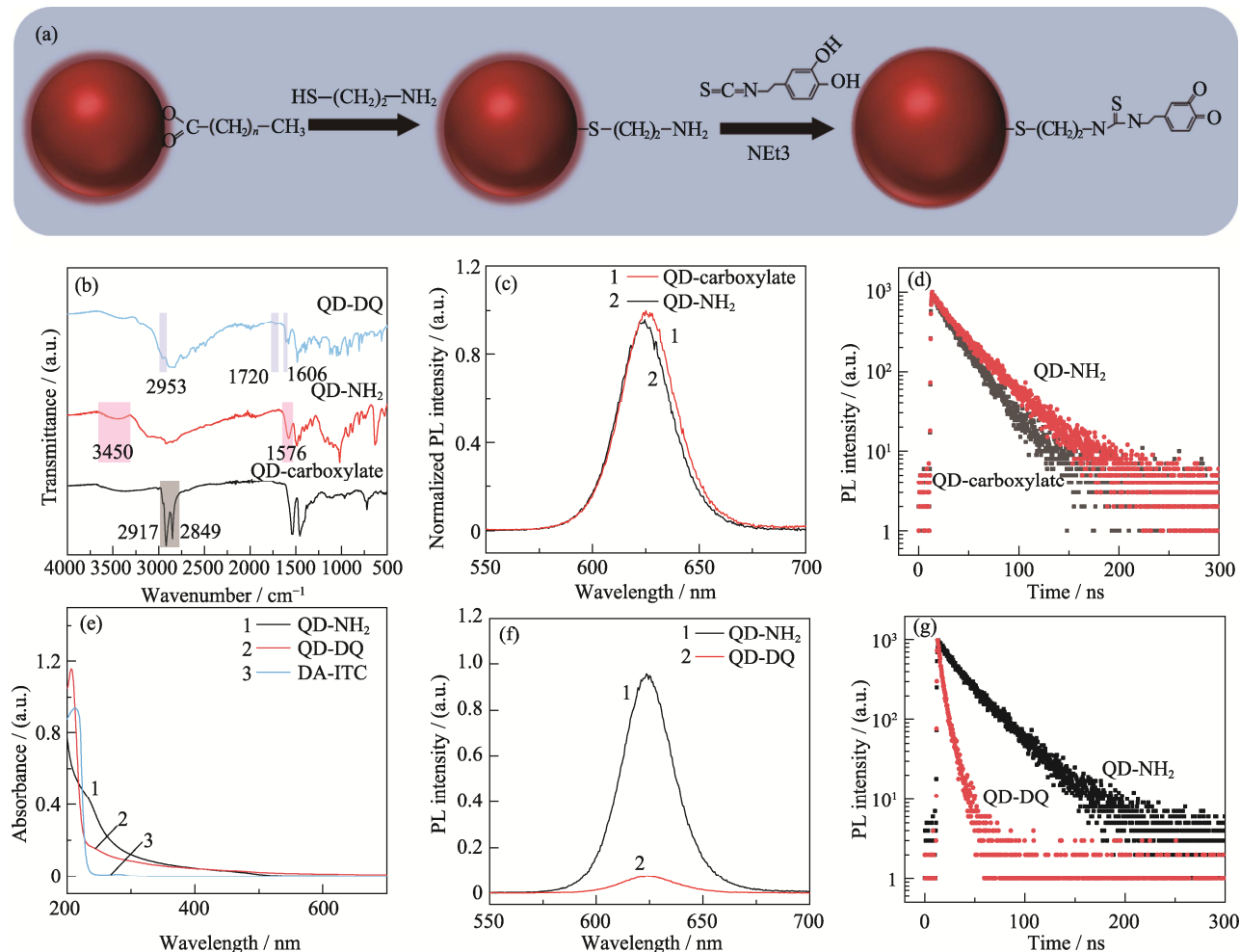


图 3 QDs 基 pH 响应探针的制备过程、表征和光学性质

Fig. 3 Schematic of preparation, characterization and optical properties of QDs-based pH probes
(a) Preparation of pH probe; (b) FT-IR spectra of pH probe at different phases; (c) PL spectra and (d) transient PL spectra of QDs before and after MEA ligand exchange; (e) UV-Vis spectra, (f) PL spectra and (g) transient PL spectra of QDs before and after linking DA-ITC (40 $\mu\text{g}/\text{nmol}$)

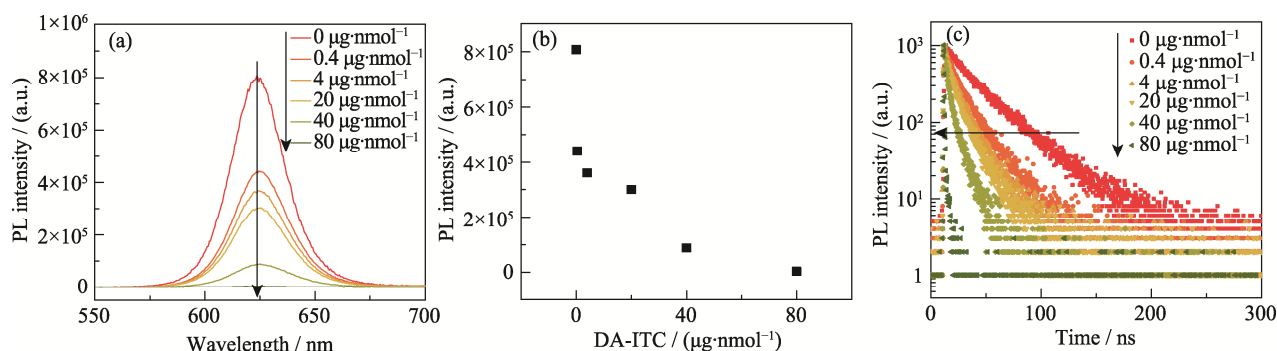


图 4 DA-ITC 投入量对 QDs 基 pH 响应探针光学性质的影响

Fig. 4 Effect of DA-ITC input on optical properties of QDs-based pH probes
(a) PL spectra; (b) Variation of PL peak intensity; (c) Transient PL spectra

发生明显变化。随后, 对探针的荧光衰减寿命进行测试, 结果显示探针的荧光寿命随 DA-ITC 量的增加而缩短(图 4(c)), 该现象与探针的荧光强度变化趋势一致。

2.4 探针荧光响应 pH 的能力评价

对不同 DA-ITC 投入量的 QDs 荧光探针 pH 响应能力进行了评价(图 5、表 S2 和图 S3)。结果表明, 当 DA-ITC 投入量相对于每纳摩尔 QDs 低于 $4\text{ }\mu\text{g/nmol}$ 时, 探针未表现出明显的 pH 响应线性关系, 这可能是由于 DA-ITC 投入量不足而难以形成有效的 pH 敏感单元。当 DA-ITC 投入量在 $4\text{--}40\text{ }\mu\text{g/nmol}$ 范围内变化时, 探针呈现出优异的负相关线性响应特性($R^2>0.90$), 即探针的荧光强度随着 pH 的升高而降低。其中 $20\text{ }\mu\text{g/nmol}$ 投入量的探针表现出最佳响应性($R^2>0.98$), 其荧光强度在 pH 5.0~10.0 范围内的变化幅度达 335%。当 DA-ITC 投入量超过 $40\text{ }\mu\text{g/nmol}$ 时, 过度猝灭导致信号变化幅度不足, pH 检测灵敏度显著降低。随后研究了 DA-ITC 投入量对 QDs 荧光探针的荧光衰减寿命的影响(图 S3), 结果显示其荧光衰减寿命变化趋势与强度变化相同。综合考虑探针的荧光强度和响应灵敏度, $20\text{ }\mu\text{g/nmol}$ DA-ITC 投入量的 QDs 荧光探针的 pH 响应效果最佳。

2.5 探针荧光在细胞内的响应 pH 能力

为探究构建新型纳米探针的潜在生物学应用, 研究了该探针的细胞相容性并监测其在活细胞内的响应 pH 变化。采用 $20\text{ }\mu\text{g/nmol}$ DA-ITC 投入量的 QDs 荧光探针, 评估其对 L929 正常细胞和 4T1 肿瘤细胞的细胞毒性, 结果如图 6(a, b)所示。当探针浓度低于 300 nmol/L 时, 其在 4T1 细胞和 L929 细胞中均表现出良好的生物相容性(细胞存活率大于 90%)。当探针浓度高于 300 nmol/L 时, 其对 L929 细胞表现出一定程度的毒性。当探针浓度达到

500 nmol/L 时, 其对 4T1 细胞仍表现出良好的生物相容性。

此外, 为了评价探针在细胞体系中的 pH 响应能力, 研究了不同 pH 条件下探针在细胞中的生物荧光成像。根据上述细胞相容性的实验结果, 选取 4T1 细胞作为实验对象。将 100 nmol/L 探针与细胞共孵育 3 h, 随后用 DPBS 清洗, 并加入包含尼日利亚菌素的不同 pH 缓冲液与 4T1 细胞共孵育 30 min, 在相同激发强度和曝光时间下拍摄, 结果如图 6(c) 和图 S4 所示。随着 pH 从 5 升高至 9, 红色通道的荧光信号逐渐减弱, 该荧光信号源于 QDs 荧光探针的强度。新型 pH 响应荧光探针在细胞中的荧光强度表现出与图 5、图 S3(c)相似的 pH 依赖性。以上结果证明, 纳米探针可有效监测活细胞内 pH 的变化。

2.6 探针荧光响应 pH 的原理

基于 QDs 的 pH 响应荧光探针的传感机制主要涉及以下两种途径: (1)不同 pH 环境中 QDs 表面配体的脱落及团聚等引起 QDs 的光学性质变化^[28]; (2)不同 pH 环境中 QDs 配体的化学结构发生改变, 导致配体的吸收范围和氧化还原电势等改变, 从而通过能量转移或电子转移机制引起 QDs 荧光变化^[29]。

GSH 能够将 DQ 还原为 DA^[30]。为了验证探针的响应机制, 利用相同浓度的 MEA 溶液和 GSH 溶液测试探针的荧光性能, 结果如图 7(a, b)所示。加入 MEA 后, 荧光探针的荧光强度未显著增加, 但荧光寿命有所恢复, 表明探针存在部分表面缺陷, 但这并不是影响探针荧光变化的主要原因。加入 GSH 后, QDs 荧光探针的荧光强度增加了 1.5 倍, 且荧光寿命明显恢复。结果表明, 配体由氧化还原反应导致的结构变化是本研究所设计荧光探针响应 pH 的关键原因。为了进一步验证上述结论, 研究了不同浓度 GSH 对荧光探针的影响, 如图 7(c~e) 所示。结果显示, 探针荧光强度与 GSH 浓度呈现典型的双相响应关系——在低浓度区间($0\text{--}50\text{ }\mu\text{mol/L}$), 荧光强度随 GSH 浓度的增加迅速线性增大; 而在高浓度区间($50\text{--}1000\text{ }\mu\text{mol/L}$)呈现缓慢上升的平台期。探针在不同浓度 GSH 溶液中的荧光衰减寿命也表现出相同的变化趋势。根据 Medintz 等^[20]报道, DA 的氧化还原电势会随 pH 变化而线性变化, 这一论点也验证了上述机制^[29]。综上, 探针响应 pH 变化的机制如图 7(f)所示, 探针配体中的羰基随 pH 下降逐渐还原为羟基, 减弱了对 QDs 荧光的猝灭作用, 从而使 QDs 探针具备优异的 pH 响应性能。

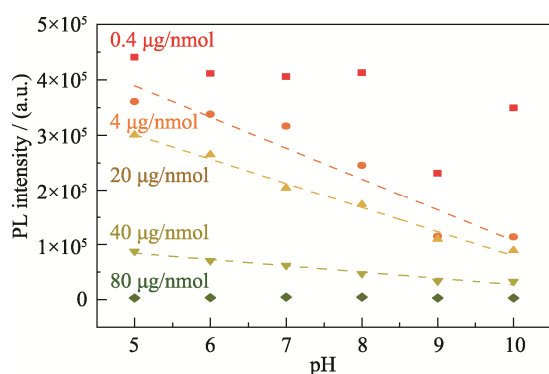


图5 不同 DA-ITC 投入量的探针 pH 变化的响应效果
Fig. 5 Response effects of probes with different DA-ITC input amounts on pH changes

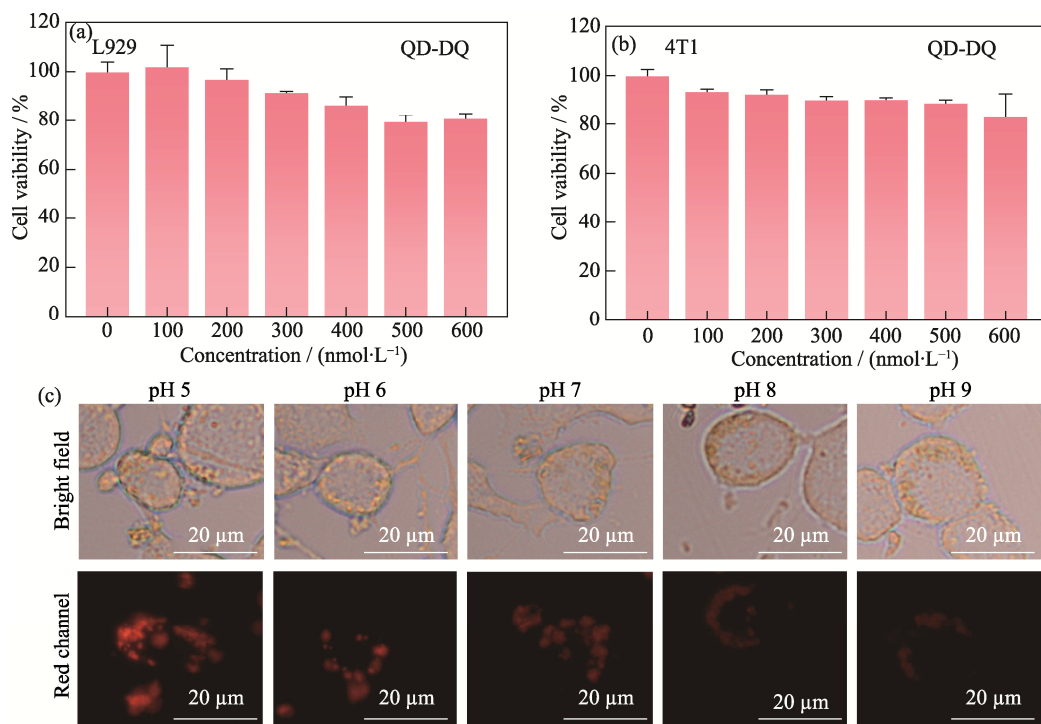


图 6 探针的细胞毒性及其在细胞体系中的 pH 响应效果

Fig. 6 Cytotoxicity of probe and its pH response effect in the cellular system

(a, b) Cytotoxicity of probe to L929 cells (a) and 4T1 cells (b); (c) Fluorescence imaging of probe responses to intracellular pH change

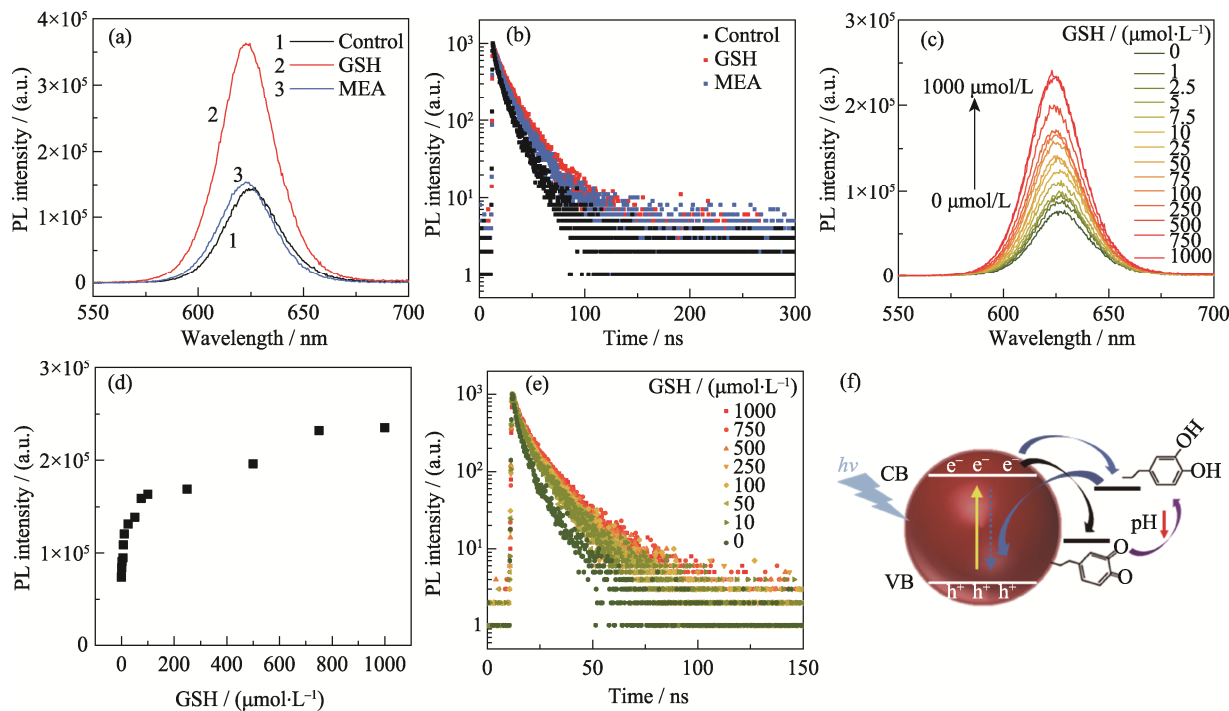


图 7 GSH 对荧光探针光学性质的影响及荧光探针 pH 响应机制

Fig. 7 Effect of GSH on the optical properties of fluorescent probes and pH response mechanism of probes

(a, b) Same concentration of GSH and MEA incubated with probe for 30 min: (a) PL spectra and (b) transient PL spectra of probe; (c-e) Different concentration of GSH incubated with probe for 30 min: (c) PL spectra, (d) variation of PL peak intensity and (e) transient PL spectra of probe; (f) Schematic of the mechanism of fluorescence probe response to pH change. Colorful figures are available on website

3 结论

本研究利用能带工程设计合成了高 PLQY 的油

溶性 CdSe/CdS/ZnS 核壳结构 QDs, 采用配体交换方法得到高质量的水溶性氨基化 QDs, 显著提高了 QDs 的光学性质。随后, 通过硫代氨基甲酰化反应将 QDs 与 DA-ITC 结合, 制备得到 pH 响应的 QDs 荧光

探针。所制备的探针利用 DQ 对 QDs 的荧光猝灭作用实现 pH 响应。随着 pH 下降, DQ 更容易被还原为 DA, 使探针的荧光强度增加, 从而实现探针的 pH 响应。随着 DA-ITC 投入量的增加, QDs 荧光强度逐渐下降, 其荧光衰减寿命与其荧光强度呈相同的变化趋势。此外, 当 DA-ITC 投入量相对于每纳摩尔 QDs 在 4~40 $\mu\text{g}/\text{nmol}$ 范围内, 探针的荧光强度表现出随 pH 升高而线性降低的趋势。当 DA-ITC 为 20 $\mu\text{g}/\text{nmol}$ 时, 探针的 pH 响应线性效果及灵敏度达到最佳。此外, 当探针浓度低于 300 nmol/L 时, 其对 4T1 细胞和 L929 细胞显示出良好的细胞相容性, 因此可有效应用于细胞内 pH 的荧光成像监测。

补充材料:

本文相关补充材料可登录 <https://doi.org/10.15541/jim20250169> 查看。

参考文献:

- [1] ALIVISATOS A P. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science*, 1996, **271**(5251): 933.
- [2] EFROS A L, BRUS L E. Nanocrystal quantum dots: from discovery to modern development. *ACS Nano*, 2021, **15**(4): 6192.
- [3] BRUS L E. Electron-electron and electron-hole interactions in small semiconductor crystallites: the size dependence of the lowest excited electronic state. *The Journal of Chemical Physics*, 1984, **80**(9): 4403.
- [4] MICHALET X, PINAUD F F, BENTOLILA L A, *et al.* Quantum dots for live cells, *in vivo* imaging, and diagnostics. *Science*, 2005, **307**: 538.
- [5] WEGNER K D, HILDEBRANDT N. Quantum dots: bright and versatile *in vitro* and *in vivo* fluorescence imaging biosensors. *Chemical Society Reviews*, 2015, **44**(14): 4792.
- [6] LIU H, WANG Z, LIU S, *et al.* Single-virus tracking with quantum dots in live cells. *Nature Protocols*, 2022, **18**(2): 458.
- [7] OU W, ZHU K, LU X, *et al.* Alloyed geometric structure strategy enables high-quality water-soluble quantum dots for ultrasensitive fluorescence immunoassay. *Chemical Engineering Journal*, 2024, **502**: 157799.
- [8] LIU Z, HOU X, YOU H, *et al.* Surface copassivation strategy for developing water-soluble InP colloidal quantum dots with high luminescence and suppressed blinking. *Journal of the American Chemical Society*, 2025, **147**(6): 4778.
- [9] DING C, CHENG S, ZHANG C, *et al.* Ratiometric upconversion luminescence nanoprobe with near-infrared Ag₂S nanodots as the energy acceptor for sensing and imaging of pH *in vivo*. *Analytical Chemistry*, 2019, **91**(11): 7181.
- [10] HOU S L, DONG J, TANG M H, *et al.* Triple-interpenetrated lanthanide-organic framework as dual wave bands self-calibrated pH luminescent probe. *Analytical Chemistry*, 2019, **91**(8): 5455.
- [11] STEINEGGER A, WOLFBEIS O S, BORISOV S M. Optical sensing and imaging of pH values: spectroscopies, materials, and applications. *Chemical Reviews*, 2020, **120**(22): 12357.
- [12] YANG R, HE X, NIU G, *et al.* A single fluorescent pH probe for simultaneous two-color visualization of nuclei and mitochondria and monitoring cell apoptosis. *ACS Sensors*, 2021, **6**(4): 1552.
- [13] LYAGIN I, MASLOVA O, STEPANOV N, *et al.* Reassessing of enzymes degrading mycotoxins at acidic pH. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2025, **198**: 105994.
- [14] RUIZ-GUERRERO C D, ESTRADA-OSORIO D V, GUTIÉRREZ A, *et al.* Novel cobalt-based aerogels for uric acid detection in fluids at physiological pH. *Biosensors and Bioelectronics*, 2025, **267**: 116850.
- [15] CHEN H, YE Z, SUN L, *et al.* Synthesis of chitosan-based micelles for pH responsive drug release and antibacterial application. *Carbohydrate Polymers*, 2018, **189**: 65.
- [16] KAY E R, LEE J, NOCERA D G, *et al.* Conformational control of energy transfer: a mechanism for biocompatible nanocrystal-based sensors. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, **52**(4): 1165.
- [17] ORTE A, ALVAREZ-PEZ J M, RUEDAS-RAMA M J. fluorescence lifetime imaging microscopy for the detection of intracellular pH with quantum dot. *ACS Nano*, 2013, **7**(7): 6387.
- [18] PAEK K, YANG H, LEE J, *et al.* Efficient colorimetric pH sensor based on responsive polymer quantum dot integrated graphene oxide. *ACS Nano*, 2014, **8**(3): 2848.
- [19] SUSUMU K, FIELD L D, OH E, *et al.* Purple-, blue-, and green-emitting multishell alloyed quantum dots: synthesis, characterization, and application for ratiometric extracellular pH sensing. *Chemistry of Materials*, 2017, **29**(17): 7330.
- [20] MEDINTZ I L, STEWART M H, TRAMMELL S A, *et al.* Quantum-dot/dopamine bioconjugates function as redox coupled assemblies for *in vitro* and intracellular pH sensing. *Nature Materials*, 2010, **9**(8): 676.
- [21] LI D, XU H, LI D, *et al.* *p*-Aminothiophenol-coated CdSe/ZnS quantum dots as a turn-on fluorescent probe for pH detection in aqueous media. *Talanta*, 2017, **166**: 54.
- [22] ZHOU J, ZHU M, MENG R, *et al.* Ideal CdSe/CdS core/shell nanocrystals enabled by entropic ligands and their core size-, shell thickness-, and ligand-dependent photoluminescence properties. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, **139**(46): 16556.
- [23] HOU X, KANG J, QIN H, *et al.* Engineering Auger recombination in colloidal quantum dots via dielectric screening. *Nature Communications*, 2019, **10**: 1750.
- [24] HOU X, QIN H, PENG X. Enhancing dielectric screening for Auger suppression in CdSe/CdS quantum dots by epitaxial growth of ZnS shell. *Nano Letters*, 2021, **21**(9): 3871.
- [25] SNEE P T, SOMERS R C, NAIR G, *et al.* A ratiometric cdse ZnS nanocrystal pH sensor. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**: 13320.
- [26] SYKORA M, PETRUSKA M A, ALSTRUM-ACEVEDO J, *et al.* Photoinduced charge transfer between CdSe nanocrystal quantum dots and Ru-polypyridine complexes. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**: 9984.
- [27] MEDINTZ I L, PONS T, TRAMMELL S A, *et al.* Interactions between redox complexes and semiconductor quantum dots coupled via a peptide bridge. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, **130**: 16745.
- [28] SCHWABACHER J C, KODAIMATI M S, WEISS E A. Origin of the pH dependence of emission of aqueous dihydrolipoic acid-capped PbS quantum dots. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2019, **123**(28): 17574.
- [29] JI X, PALUI G, AVELLINI T, *et al.* On the pH-dependent quenching of quantum dot photoluminescence by redox active dopamine. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**(13): 6006.
- [30] BANERJEE S, KAR S, PEREZ J M, *et al.* Quantum dot based off on probe for detection of glutathione. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009, **113**: 9659.

补充材料

多巴胺醌功能化的量子点荧光探针构建 及其 pH 响应研究

王 政^{1,2,3}, 侯小琪^{1,3}, 刘宣勇^{1,2,3}

(1. 国科大杭州高等研究院, 化学与材料科学学院, 杭州 310024; 2. 中国科学院 上海硅酸盐研究所, 关键陶瓷材料全国重点实验室, 上海 200050; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

表 S1 油溶性量子点的光学性质

Table S1 Optical properties of oil-soluble QDs

QDs	The first exciton absorption peak/nm	PL peak/nm	FHWM/nm	PL decay lifetime/ns	χR^2
CdSe	558.0	571.5	26.0	/	/
CdSe/CdS	609.5	622.0	25.3	19.35	0.95
CdSe/CdS/ZnS	609.0	625.0	28.4	21.20	1.24

表 S2 不同 DA-ITC 投入量的探针荧光响应 pH 的拟合

Table S2 Fitting of probe fluorescence response pH under different DA-ITC input amounts

Amount of input/($\mu\text{g} \cdot \text{nmol}^{-1}$)	$y = b \times x + a$	R^2
0.4	$y = -28309x + 587440$	0.4777
4	$y = -56370x + 670873$	0.9097
20	$y = -44246x + 522045$	0.9869
40	$y = -11429x + 141699$	0.9667
80	$y = -53.148x + 4116.5$	0.0249

y represents PL Intensity while x represents pH

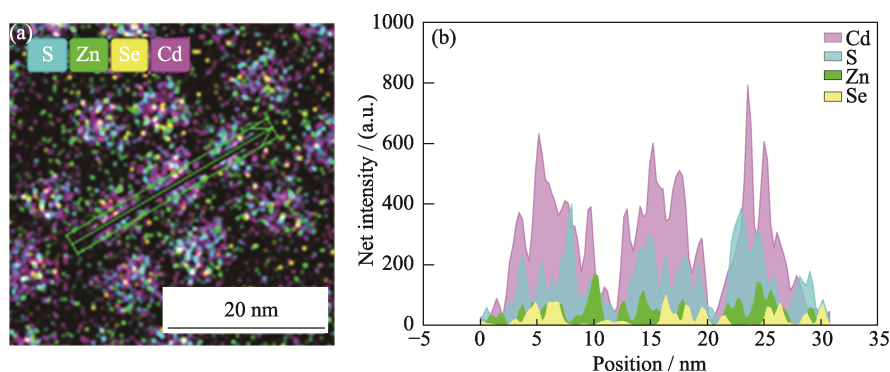


图 S1 CdSe/CdS/ZnS 量子点的元素分布(a)及 EDS 线扫描图(b)

Fig. S1 Element distribution (a) and EDS line scan image (b) of CdSe/CdS/ZnS quantum dots

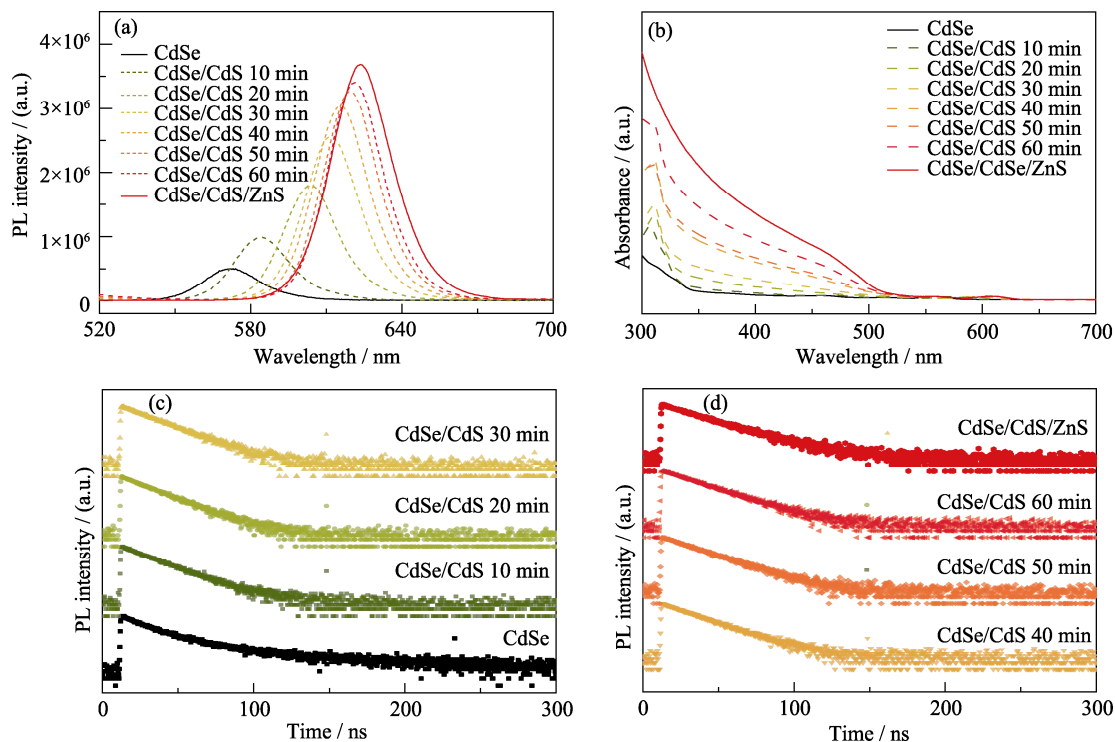


图 S2 CdSe 核 QDs 上生长 CdS 和 ZnS 层过程中的光学性质变化

Fig. S2 Variation of optical properties during growth of CdS and ZnS layers on CdSe core QDs

(a) PL spectra; (b) UV-Vis spectra; (c, d) Transient PL spectra

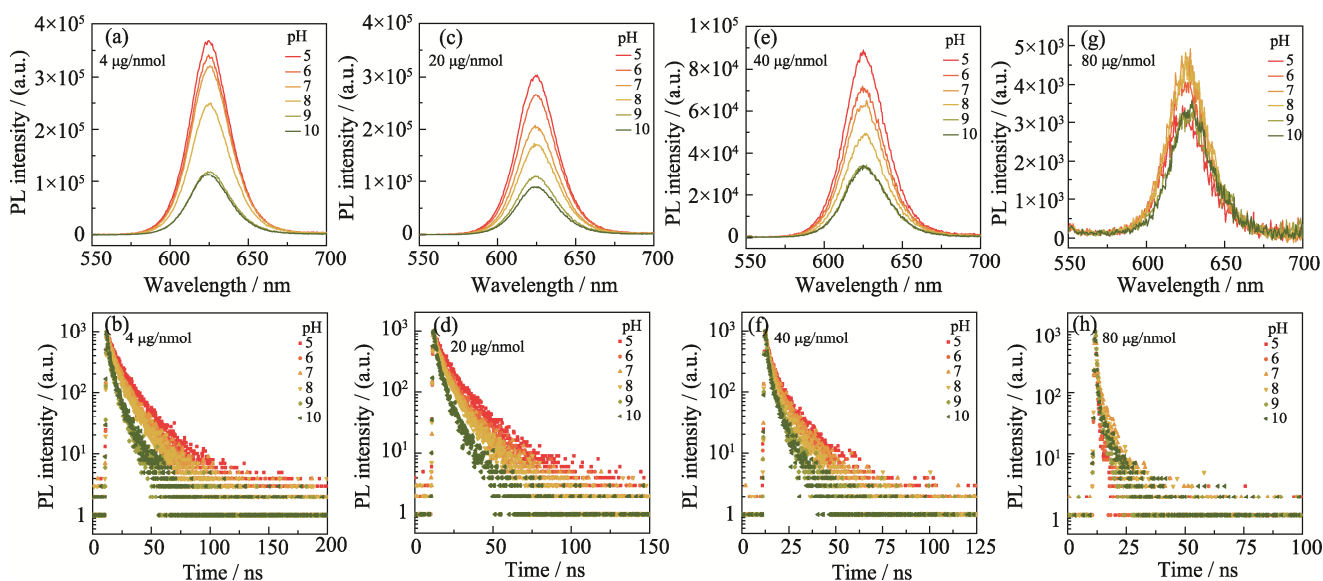


图 S3 不同 DA-ITC 投入量的探针在不同 pH 环境中的光学性质变化

Fig. S3 Variation of optical properties of probes with different DA-ITC inputs in different pH environments

(a, b) 4 $\mu\text{g/nmol}$; (c, d) 20 $\mu\text{g/nmol}$; (e, f) 40 $\mu\text{g/nmol}$; (g, h) 80 $\mu\text{g/nmol}$

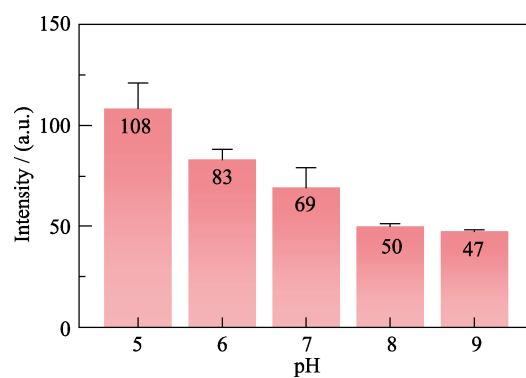


图 S4 探针在细胞内 pH 荧光成像的荧光强度

Fig. S4 Fluorescence intensity of probe in intracellular pH fluorescence imaging