

模板法控制合成 $\text{AgInSe}_2\text{:Zn}^{2+}$ 近红外荧光量子点及其生物标记应用^{*}廉伟^{a,b} 方泽铠^{a,b} 涂大涛^{*,a,b,c} 李嘉尧^{a,b} 韩思远^b
李仁富^{b,c} 商晓颖^{b,c} 陈学元^{*,a,b,c}^(a) 福州大学 化学学院 福州 350108)^(b) 中国科学院福建物质结构研究所 中国科学院功能纳米结构设计与组装重点实验室 福州 350002)^(c) 中国科学院福建物质结构研究所 结构化学国家重点实验室 福州 350002)

摘要 AgInSe_2 (AISE)量子点具有带隙小、斯托克斯位移大、荧光寿命长且不含重金属有毒元素等特性,使其在生物医学领域具有重要研究价值.同时,AISE量子点的光学性质对尺寸和组成具有强烈的依赖关系,然而传统的直接合成法很难实现对AISE量子点形貌和组分的精准调控,从而极大限制了其发光效率.对此,作者提出了温和条件(75 °C)下以 $\text{In}_2\text{Se}_3\text{:Zn}^{2+}$ 量子点为模板,离子交换法控制合成AISE近红外荧光量子点的策略,所合成的AISE量子点很好地维持了 $\text{In}_2\text{Se}_3\text{:Zn}^{2+}$ 模板的形貌,进一步通过系统调节Ag/In投料物质的量比控制离子交换程度,AISE量子点的实际Ag/In组分比实现了从0.26~1.09宽范围调节;最高绝对量子产率可达42.5%,这一数值远高于通过直接合成法所得到的AISE量子点.通过稳态、瞬态和低温光谱等手段对不同组分AISE量子点的发光行为进行了系统的光谱学研究,揭示了其发光机理.另外,利用AISE量子点高效的近红外发光和良好的生物安全性,实现了基于AISE近红外量子点探针的肿瘤细胞靶向成像,展示出AISE量子点在生物成像和疾病的早期诊疗等领域具有很好的应用潜力.

关键词 AgInSe_2 ; 近红外; 量子点; 阳离子交换; 荧光纳米探针

Template-Based Controlled Synthesis and Bioapplication of $\text{AgInSe}_2\text{:Zn}^{2+}$ Near-Infrared Luminescent Quantum Dots^{*}Lian, Wei^{a,b} Fang, Zekai^{a,b} Tu, Datao^{*,a,b,c} Li, Jiayao^{a,b} Han, Siyuan^b
Li, Renfu^{b,c} Shang, Xiaoying^{b,c} Chen, Xueyuan^{*,a,b,c}^(a) College of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China)^(b) CAS Key Laboratory of Design and Assembly of Functional Nanostructures, Fujian Institute of Research on the Structure of Matter, Chinese Academy of Sciences, Fuzhou 350002, China)^(c) State Key Laboratory of Structural Chemistry, Fujian Institute of Research on the Structure of Matter, Chinese Academy of Sciences, Fuzhou 350002, China)

Abstract AgInSe_2 (AISE) quantum dots (QDs) exhibit large Stokes shift, composition-dependent photoluminescence (PL), long PL lifetimes and low toxicity, making them exceptional candidates in a wide variety of bioapplications. However, it remains notoriously challenging to precisely control both the morphology and composition to optimize the PL performance of AISE QDs via conventional direct synthesis. Herein, we develop the unique low-temperature (75 °C) template-based synthesis of highly efficient near-infrared (NIR) luminescent AISE QDs from In_2Se_3 QDs via a facile cation exchange method. The brief synthesis AISE QDs process was as follows: firstly, indium acetate was dissolved in non-coordinating solvent octadecene. Selenium precursor was injected into the above mixture at 200 °C, followed by nucleation and growth within a few minutes. Thereafter, In_2Se_3 template QDs can be acquired, and the dispersity of the as-prepared QDs can be improved by adding zinc. Secondly, silver acetate was added to the $\text{In}_2\text{Se}_3\text{:Zn}^{2+}$ QDs solution with stirring for 15 min at 75 °C. Finally, $\text{AgInSe}_2\text{:Zn}^{2+}$ QDs were obtained. The proposed method enables the as-prepared AISE QDs to inherit the size and morphology of the template QDs. The extent of cation exchange can be controlled by rationally manipulating the Ag/In precursor molar ratio. We successfully regulate the stoichiometry of Ag/In ratio from 0.26 to 1.09. As a result, highly efficient luminescence of AISE QDs with the maximum absolute quantum yield of 42.5% has been achieved, which is higher than that of the AISE counterparts synthesized via the direct method. Moreover, we survey the luminescence mechanism of AISE QDs by means of the steady-state, transient and temperature-dependent spectroscopies. AISE nanoprobe was prepared by coating

^{*} Dedicated to the 10th anniversary of the Youth Innovation Promotion Association, CAS.

^{*} E-mail: dtu@fjirsm.ac.cn, xchen@fjirsm.ac.cn

Received December 30, 2021; published February 25, 2022.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. U1805252, 21975257, 22135008) and the Natural Science Foundation of Fujian Province (Nos. 2019I0029, 2021L3024).

^{*} 庆祝中国科学院青年创新促进会十年华诞.

项目受国家自然科学基金(Nos. U1805252, 21975257, 22135008)和福建省自然科学基金(Nos. 2019I0029, 2021L3024)资助.

the hydrophobic QDs with a layer of 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanol-amine-*N*-[biotin(polyethyleneglycol)-2000] (DSPE-PEG-Biotin) phospholipids through hydrophobic interaction. By virtue of the excellent biocompatibility and intense NIR emission, we exemplify the application of AISe nanoprobe in the targeted cancer cell imaging, thus revealing their promising bioapplications including disease diagnosis and imaging-guided surgery.

Keywords AgInSe₂; near-infrared; quantum dots; cation exchange; luminescent nanoprobe

1 引言

量子点是指颗粒尺寸小于其二倍激子波尔半径的半导体纳米材料, 粒径一般在 2~20 nm 范围内^[1-3]. 由于强烈的限域效应和尺寸效应, 量子点具有高发光效率、高吸收截面积、超小尺寸和紫外-近红外宽范围发光可调等独特的理化性质, 使其在能源、催化和生物医疗等领域具有重要的研究价值^[4-8]. II-VI 或 IV-VI 二元量子点 MX (M=Cd, Hg, Pb; X=S, Se, Te) 是过去近三十年里研究最多的体系, 然而重金属元素 Cd 和 Pb 等极大地限制了其在 LED 背光源和生物成像等领域的发展^[9-12]. I-III-VI 三元量子点(如 CuInS₂, CuInSe₂, AgInSe₂ 等), 由于不含重金属有毒元素且具有良好的光学性质, 被认为是二元量子点的理想替代材料^[13-16]. 近十年来, 三元量子点已成为了一类重要的热点研究材料. 其中, AgInSe₂ (AISe) 由于带隙较小(1.24 eV)、激子波尔半径大(约 6 nm)且稳定性好^[17-18], 其在生物医学方面具有较好的应用前景. 值得注意的是, AISe 量子点的电子结构和光学性质对组分和尺寸具有强烈的依赖关系^[19-20], 所以实现对 AISe 量子点的形貌控制和组分精准调节是十分重要的.

目前, AISe 量子点的主要合成方法为直接合成法^[21-22], 是将所有的原料一起加热成核或者在高温下注入非金属元素. 这样的合成法虽然直接、快速, 但对于组分和形貌的调控却不理想, 原因在于多个阳离子和阴离子前驱体之间表现出不同的反应活性. 根据软硬酸碱理论^[23-24], Se²⁻属于软碱, Ag⁺属于软酸, 而 In³⁺是硬酸, 这使得在成核过程中很容易生成二元化合物或异质结构, 同时还会使得成核不均匀, 产生较多的空位或填隙缺陷^[23]. 这些副产物和缺陷将严重影响 AISe 的量子产率(PLQY), 进而影响了其后续生物应用.

针对上述问题, 近年来离子交换法被发展用于合成 AISe 量子点, 以实现量子点组成和形貌的控制. 其流程是先合成二元量子点并作为模板, 再加入第三种组分原料, 最终产物可以很好地维持模板颗粒的形态. 更重要的是, 离子交换程度可以通过投料量、反应温度和时间进行调节, 从而实现对产物组分的系统调控, 以获得具有优良发光性能的产物. 另外, 对于 AISe 量子点的发光机理目前还存在一定争议^[16,20], 离子交换法也为探究组分影响 AISe 量子点发光性能的内在机理提供了条件. 需要强调的是, 选择合适的模板是成功实现离子交换的先决条件. 目前已报道的用离子交换法合成 AISe 量子点的研究, 普遍采用 Ag₂Se 为模板^[25-26], 进而引入反应

活性更低的 In³⁺, 因此通常需要较高的反应温度和较长的时间来克服反应势垒. 相比较下, 如果用 In₂Se₃ 为模板引入反应活性更高的 Ag⁺, 由于是热力学自发过程, 只需较低的温度和较短的反应时间即可, 因此 In₂Se₃ 是离子交换合成 AISe 量子点的理想模板. 然而, In₂Se₃ 在生长过程中很容易形成类石墨烯的层状结构^[27-28], 这一问题将极大地限制以 In₂Se₃ 为模板合成 AISe 量子点的发光性能.

在本研究中, 我们提出了一项新颖的合成策略, 并首次实现了以 In₂Se₃:Zn²⁺量子点为模板, 在温和条件下通过离子交换法控制合成 AISe 量子点(实验所用的主要试剂和仪器见支持信息, 表 S1 和 S2). 通过稳态、瞬态和低温光谱等手段分析了 AISe 量子点的发光性能, 对其发光机理进行了系统研究. 另外, 我们在其表面修饰了两亲性生物素化的磷脂分子(DSPE-PEG-Biotin), 得到水溶性 AISe 量子点探针, 利用其小尺寸、低毒性和高效的近红外荧光优势, 实现了肿瘤细胞靶向成像, 展示了 AISe 量子点在近红外成像以及疾病诊疗方面的巨大应用潜力. 本工作克服了传统合成方法的不足, 实现了 AISe 量子点形貌/组分的精准调控和高效近红外发光, 将有力地推动 I-III-VI 三元量子点的控制合成和生物标记应用等方面的研究.

2 结果与讨论

2.1 控制合成

我们首先采用热注射法^[29], 在 200 °C 下合成了 In₂Se₃ 量子点. 值得一提的是, In₂Se₃ 作为一种经典的光电薄膜材料, 成核时很容易形成二维层状结构(见支持信息, 图 S1), 因此制备 In₂Se₃ 量子点具有较大难度. 针对这一难题, 我们使用活性较高的油胺(硒粉溶解于油胺和十二硫醇混合溶液中)作为硒源, 在非配位溶剂十八烯的环境中, 采用热注射法短时间内迅速成核, 防止材料二维横向生长, 成功制备出 In₂Se₃ 量子点. X 射线粉末衍射(XRD)图谱表明合成出的 In₂Se₃ 量子点为纯相(JCPDS No.71-250)(见支持信息, 图 S2); 其形貌通过透射电镜(TEM)表征如图 1a₁ 所示, 颗粒形状为不规则三角形, 颗粒之间稍有团聚, 粒径为(8.6±1.7) nm.

为了进一步优化形貌和分散性, 我们采用向 In₂Se₃ 中引入 Zn²⁺的策略^[30], 合成出系列 In₂Se₃:Zn²⁺量子点(见支持信息, 表 S3). XRD 测试可以看到: In₂Se₃:Zn²⁺量子点的衍射峰和 In₂Se₃ 保持一致(图 S2), 随 Zn/In 投料

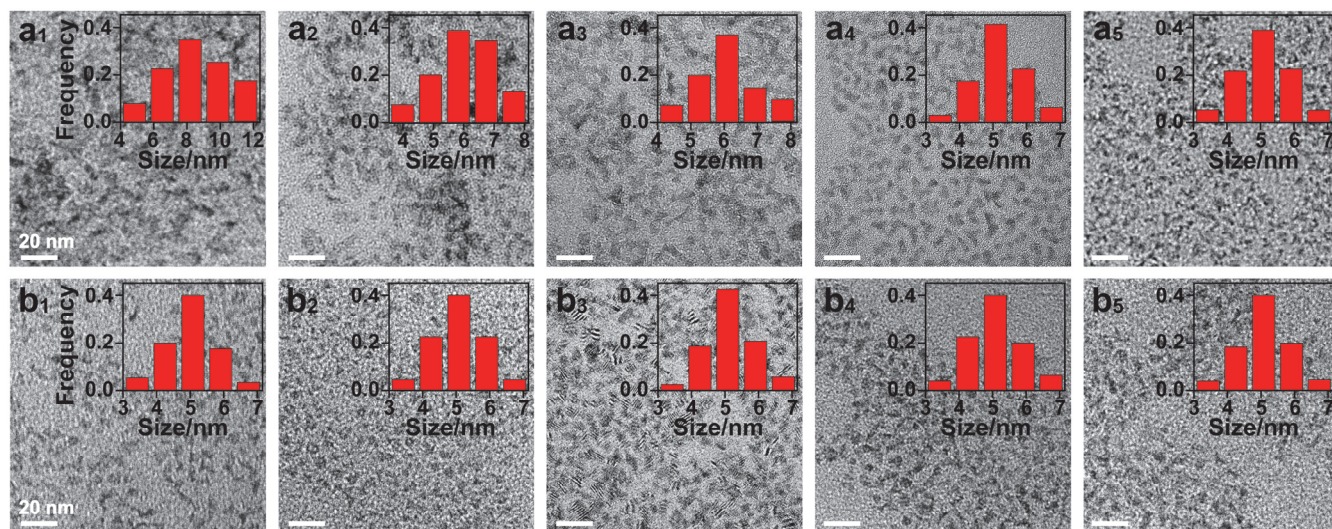


图1 不同 Zn/In 投料物质的量比: (a₁) 0, (a₂) 0.2, (a₃) 0.4, (a₄) 0.6 和 (a₅) 0.8 所合成的 In₂Se₃:Zn²⁺ 量子点的透射电镜明场像; 以及 Ag/In 投料物质的量比分别为 (b₁) 0, (b₂) 0.3, (b₃) 0.6, (b₄) 0.9 和 (b₅) 1.2 所合成的 AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点的透射电镜明场像. 插图为对应透射电镜明场像中随机挑选 100 个颗粒所得粒径统计图

Figure 1 (a) Transmission electron microscopy (TEM) images of In₂Se₃:Zn²⁺ QDs with precursor ratios of Zn/In of (a₁) 0, (a₂) 0.2, (a₃) 0.4, (a₄) 0.6 and (a₅) 0.8, respectively; (b) TEM images of AgInSe₂:Zn²⁺ QDs with precursor ratios of Ag/In of (b₁) 0, (b₂) 0.3, (b₃) 0.6, (b₄) 0.9 and (b₅) 1.2, respectively. Insets show their corresponding size distribution histogram by randomly calculating 100 particles in the TEM images

物质的量比从 0 增加到 0.8, 衍射峰位置稍向大角度偏移, 这是由于 Zn²⁺ 半径比 In³⁺ 小导致的晶格收缩. Zn²⁺ 的加入对形貌优化具有显著效果, 从 TEM 图可以看到: 随着 Zn/In 投料物质的量比的增加, In₂Se₃:Zn²⁺ 量子点的单分散性得到显著改善(图 1a), 且粒径也逐渐减小到 (5.2±0.5) nm. 在此基础上, 我们选取形貌和发光性能较好的 In₂Se₃:Zn²⁺ 量子点(Zn/In=0.6)为模板, 在较低温度(75 °C)下加入银源(醋酸银分散于十八烯和三正辛基膦混合溶液中), 基于离子交换法合成了系列 AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点. 根据软硬酸碱理论, Ag⁺ 比 In³⁺ 和 Zn²⁺ 更容易结合 Se²⁻, 因此可以通过调节 Ag/In 的投料物质的量比和反应时间控制离子交换反应的程度. 得益于温和的反应条件和可控的反应速度, 合成的 AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点很好地维持了模板(In₂Se₃:Zn²⁺ 量子点)的形貌和分散性, 平均粒径在 5 nm 左右, 颗粒呈不规则三角形(图 1b).

从 XRD 和高分辨透射电镜(HRTEM)测试可以看到: 所合成的 AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点表现为纯四方相(JCPDS No. 38-0953) (见支持信息, 图 S3, S4), 且衍射峰位置随 Ag⁺ 含量的增加向小角度移动, 这主要归因于 Ag⁺ 半径比 In³⁺ 和 Zn²⁺ 大, 加入后使晶格发生膨胀. X 射线能量色散谱(EDX)和 X 射线光电子能谱(XPS)测试发现: 与 In₂Se₃:Zn²⁺ 相对比, 在 AgInSe₂:Zn²⁺ 中出现了 Ag 元素信号(图 2a, 2b, 图 S5, S6), 且随 Ag/In 投料物质的量比从 0 增加到 1.2, XPS 检测到的 Ag 信号逐渐增强, 而 In 信号则逐渐减弱(图 2c, 2d), 证明发生了离子交换过程, 成功合成了 AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点. 为了进一步分析离子交换的实际程度, 我们通过电感耦合等离子光电谱(ICP)

精细分析了量子点各元素的准确含量(见支持信息, 表 S4). 结果显示: 随着 Ag/In 投料物质的量比从 0.3 增加到 1.2, AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点中实际 Ag/In 也从 0.26 增加到 1.09. 另外, Ag 元素含量增加的同时, In 和 Zn 元素含量相应减少, 这一趋势与 XPS 测试结果相一致, 再次证实 Ag⁺ 与 In³⁺ 和 Zn²⁺ 发生了离子交换过程, 且实现了 AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点较大范围的组分调节.

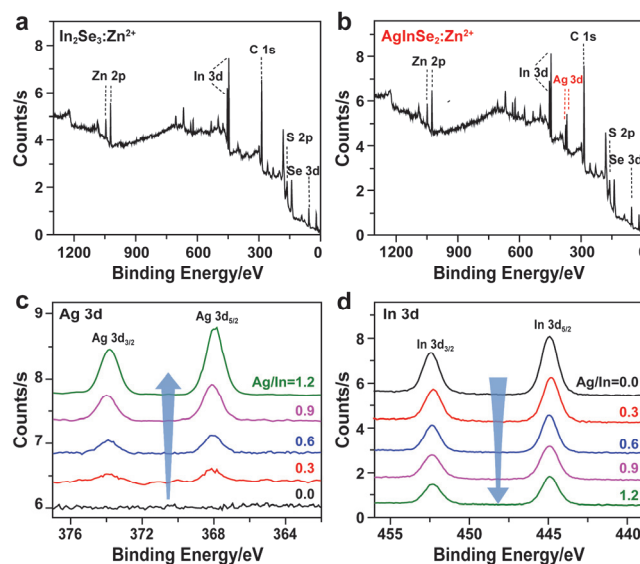


图2 (a) In₂Se₃:Zn²⁺ 和 (b) AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点的 X 射线光电子能谱全谱图; 不同 Ag/In 投料物质的量比所合成的 AgInSe₂:Zn²⁺ 量子点的 (c) Ag 3d 和 (d) In 3d 的 X 射线光电子能谱图

Figure 2 XPS analyses of (a) In₂Se₃:Zn²⁺ and (b) AgInSe₂:Zn²⁺ QDs. XPS scans on (c) Ag 3d and (d) In 3d of AgInSe₂:Zn²⁺ QDs with different precursor molar ratio of Ag/In

2.2 光谱学分析

$\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ 系列量子点的吸收光谱如图 3a 所示, 可以看到, 随着 Zn/In 投料物质的量比从 0 增加到 0.8, 吸收光谱逐渐蓝移, 量子点溶液也从红色变为黄绿色, 这是由于 Zn 含量增加, 产物带隙会向宽带隙的 ZnSe (2.6 eV) 方向移动. 在 365 nm 激发下, 纯 In_2Se_3 量子点几乎没有荧光信号(图 3b), 这可能是因为粒径较大, 且颗粒之间距离较小, 产生了聚集猝灭效应. 随着 Zn^{2+} 掺杂含量的增加, 颗粒分散性增加, 粒径减小, 发光逐渐增强. 在 Zn/In 投料物质的量比为 0.6 时发光强度最高, 同时发射峰位置也从 791 nm 蓝移至 650 nm, 这一变化趋势和吸收光谱相一致.

对于 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 系列量子点, 其吸收光谱如图 3d 所示, 吸收带随 Ag^+ 含量的增加而逐渐红移, 对应溶液颜色也由黄绿色逐渐变为深棕色, 表明量子点的带隙逐渐减小. 值得注意的是, 在 365 nm 激发下, 对应的发射峰位置表现出轻微的红移(图 3e), 但是发光强度却呈现先增加后减小的变化趋势. 在 Ag/In 投料物质的量比为 0.9 时, $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 的发光强度最大, 相较于离子交换前的 $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ 体系, 强度提高了近 5 倍, PLQY 也从 15.1% 提升至 42.5% (见支持信息, 图 S7), 这一数值要远高于已报道的通过直接法合成的 AgInSe_2 量子点 (PLQY 小于 20%)^[31-33].

此外, 我们还进行了荧光寿命的测试. 通过 375 nm 的皮秒激光器激发量子点, 采集发射峰位置的荧光衰减

信号, 结果如图 3c 和 3f 所示. 所有的荧光寿命均符合公式(1)的双指数函数拟合^[34]:

$$I(t) = I_0[A_1 \exp(-t/\tau_1) + A_2 \exp(-t/\tau_2)] \quad (1)$$

其中 τ_1 代表快衰减过程, 该过程对应于缺陷(点空位、反位缺陷等)导致的无辐射跃迁, τ_2 代表辐射跃迁的慢衰减过程, I_0 表示初始荧光强度, A_1 、 A_2 分别表示 τ_1 、 τ_2 所占的比重, 拟合结果如表 S5 (见支持信息) 所示. 从图 3f 可以看到: 随着 Ag^+ 含量的增加, $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点前段快衰减过程减弱, 后段辐射跃迁增加, 荧光寿命增加. 当 $\text{Ag}/\text{In} = 0.9$ 时, 有效荧光寿命最长为 491.6 ns; 后续再增加 Ag^+ 含量, 反而使得无辐射跃迁增加, 荧光寿命减少. 这一趋势与发光强度变化相一致. 通过以上现象, 我们分析认为: Ag^+ 的适量加入可以有效减少晶格的固有缺陷(如空位和表面点缺陷等), 从而减弱无辐射跃迁, 增加发光强度和荧光寿命; 当 Ag^+ 增加到一定量时, 又会产生新的 Ag^+ 相关缺陷(如 Ag^+ 占据 In^{3+} 格位产生 $\text{Ag}_{\text{In}}^{2-}$ 反位缺陷, Ag^+ 间隙填充产生 Ag_i^+ 填隙缺陷), 导致无辐射跃迁增加, 发光减弱, 同时荧光寿命缩短.

为了更好地理解 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的发光增强的内在机理, 我们进行了变温(77~300 K)光谱测试, 对比 $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ 加入 Ag^+ 前后的变温发射光谱, 我们发现 $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的发光强度随温度升高迅速减弱(图 4a), 而 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点发光减弱程度显著减缓(图 4c). 热激活能(E_a)是体现激子热稳定性的重要参数, 通过公式(2)拟合^[35], 可以计算得到 E_a 的数值.

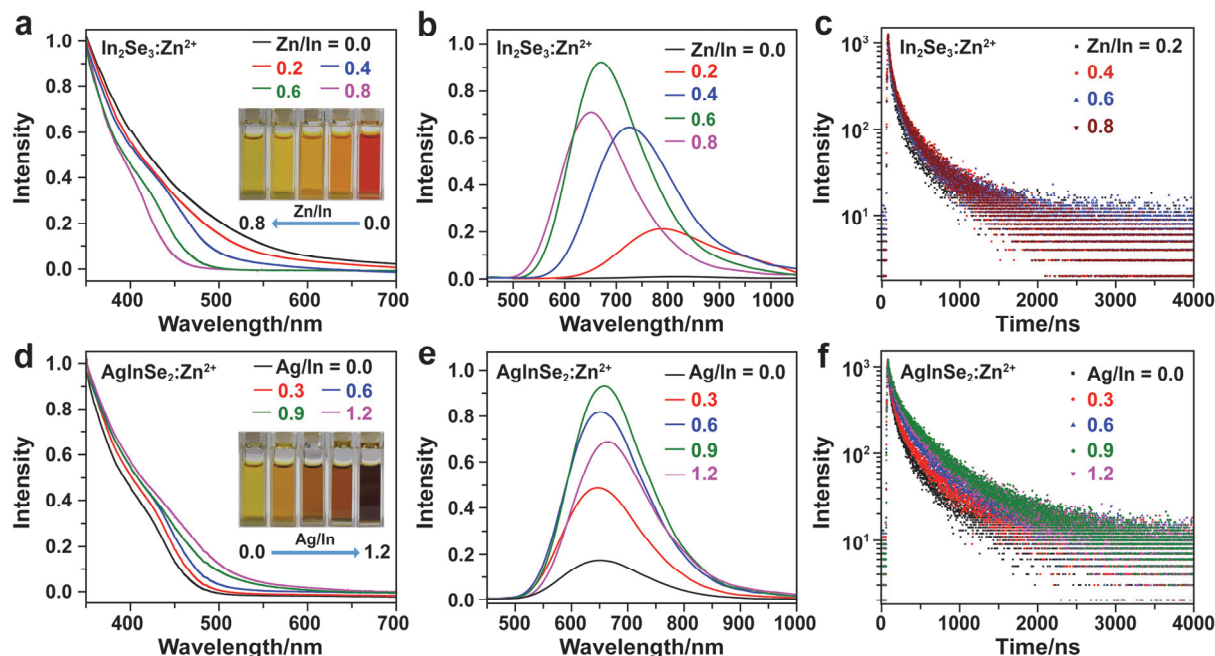


图 3 不同 Zn/In 投料物质的量比所合成的 $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的(a)吸收光谱, (b)发射光谱($\lambda_{\text{ex}} = 365$ nm)以及(c)荧光衰减谱图(375 nm 激发下监测发射峰信号); 不同 Ag/In 投料物质的量比所合成的 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的(d)吸收光谱, (e)发射光谱($\lambda_{\text{ex}} = 365$ nm)和(f)荧光衰减谱图(375 nm 激发下监测发射峰信号). 插图为相应量子点环己烷溶液实物图

Figure 3 (a) Absorption spectra, (b) PL emission spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 365$ nm), and (c) PL decays upon excitation at 375 nm by monitoring the peak emission of $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ QDs with different precursor molar ratio of Zn/In . (d) Absorption spectra, (e) PL emission spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 365$ nm), and (f) PL decays upon excitation at 375 nm by monitoring the peak emission of $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ QDs with different precursor molar ratio of Ag/In . Insets show their corresponding photographs of QDs dispersed in cyclohexane solution

$$(T)=1+\frac{I(0)}{1+A\exp(-E_a/kT)} \quad (2)$$

其中 T 代表的是热力学温度, A 是常数, $I(0)$ 是 0 K 时的发光强度, k 是波尔兹曼常数, E_a 是热猝灭过程中的激子活化能. 图 4b 和图 4d 分别是 $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的发光强度与温度关系曲线, 根据公式(2)算出 Ag^+ 的加入使 E_a 由 47.8 meV 增加到 90.6 meV. 这一结果证明通过离子交换法引入 Ag^+ 后, 材料的热稳定性明显增强.

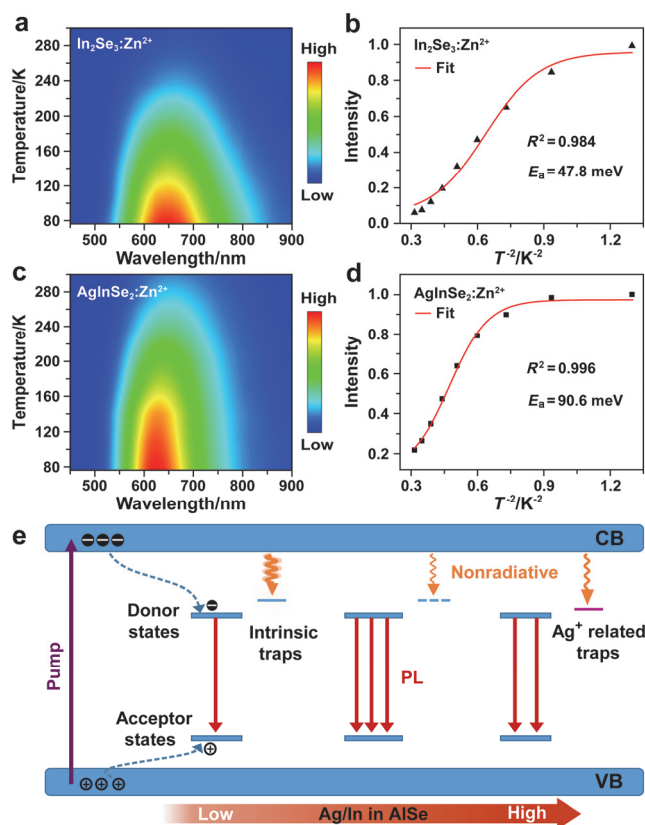


图 4 $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的(a)变温发射光谱($\lambda_{\text{ex}}=365$ nm)和(b)发光强度随温度变化关系图; (c) $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的变温发射光谱($\lambda_{\text{ex}}=365$ nm)和(d)发光强度随温度变化关系图, (e)不同 Ag/In 组分 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点发光机制示意图

Figure 4 (a) Temperature-dependent emission spectra of the $\text{In}_2\text{Se}_3:\text{Zn}^{2+}$ QDs upon excitation at 365 nm, (b) PL intensities as a function of temperature in (a). (c) Temperature-dependent emission spectra of the $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ QDs upon excitation at 365 nm, (d) PL intensities as a function of temperature in (c). (e) Schematic illustration showing the proposed PL process in $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ with different stoichiometry of Ag/In

关于发光机理, 由图 3 和图 4 可以看到: $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点表现出较大的斯托克斯位移, 发射峰位置随 Ag^+ 含量增加表现出轻微红移, 且 Ag^+ 含量显著影响辐射跃迁几率和热激活能, 这些特性符合供体-受体(D-A)对的发光机制^[36-37]. I-III-VI 三元量子点由于两种金属元素占据相同位点, 故有较大的组分自由度, 本体系中 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点是缺 Ag^+ 的, 容易生成

Se^{2-} 间隙(Se_i^{2-}), Ag^+ 空位(V_{Ag}^+)以及 In^{3+} 填充 Ag^+ 位置的反位替代($\text{In}_{\text{Ag}}^{2+}$)^[36-38]. 供体能级可能来自于正电性的 $\text{In}_{\text{Ag}}^{2+}$ 反位缺陷, 接受从导带弛豫下来的电子; 而受体则可能是带负电的 Se_i^{2-} , 接受来自价带的空穴, 然后电子和空穴通过 D-A 对复合发生辐射跃迁. 基于以上分析, 我们建立了关于 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点发光机制的简易模型(图 4e). 量子点在泵浦光激发下产生激子, 然后一部分激子会通过 D-A 对发生辐射跃迁, 另一部分会通过本征缺陷(如 V_{Ag}^+ 、表面点缺陷等)能级发生无辐射跃迁. 低浓度 Ag^+ 含量下, 增加 Ag^+ 能有效减少本征缺陷, 从而抑制无辐射跃迁, 增强发光; 但高浓度 Ag^+ 又会引入新的无辐射弛豫通道从而减弱发光. 当然, 对于 AISE 量子点的发光机理, 后续还有待更加系统和深入的研究, 对其发光过程和相关能级进行更为准确的分析和指认.

2.3 生物应用

由于 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点不含重金属有毒元素, 而且近红外发光性质优良, 非常适合用于近红外生物成像. 为了拓展 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点的生物应用, 我们利用疏水相互作用在油溶性的 $\text{AgInSe}_2:\text{Zn}^{2+}$ 量子点(OA-QDs)表面包覆了一层生物素化的两性亲脂分子(DSPE-PEG-Biotin), 得到水溶性量子点探针(Biotin-QDs) (图 5a). 通过傅里叶变换红外光谱分析, 在 Biotin-QDs 中, 除了观察到油酸配体的特征峰(2900 cm^{-1} 附近的 $-\text{CH}_2-$ 峰, 1500 cm^{-1} 附近的 $-\text{COO}^-$ 峰)外, 在 1100 cm^{-1} 附近明显新增了磷脂分子的羰基特征峰(图 5b), 证明成功实现了表面修饰. 通过 TEM, 我们可以看到 Biotin-QDs 维持良好的分散性(见支持信息, 图 S8), Zeta 电势为 -20.1 mV (图 5c), 水合粒径为 $(12.6 \pm 2.7)\text{ nm}$ (图 5d), 这使得 Biotin-QDs 能够在水相中长时间保持良好的分散. 表面修饰之后, 量子点发光强度有所减弱, 这可能是由于磷脂分子交联使得量子点稍有团聚导致的, 但 Biotin-QDs 的绝对量子产率依然保持在 20% 以上(见支持信息, 图 S9). 同时, 我们还检测了 Biotin-QDs 探针在胎牛血清和杜氏改良 Eagle 细胞培养基(DMEM)中的稳定性(见支持信息, 图 S10), 结果显示: 探针在胎牛血清和细胞培养基中均可良好分散, 室温下放置一周后粒径稍有增加, 达到约 60 nm , 发光强度均可维持 50% 以上, 表明所制备的 Biotin-QDs 探针在生理介质中具有较好的稳定性. 这些特性对于 Biotin-QDs 的后续生物应用十分必要.

细胞毒性是纳米探针进行生物应用之前需要考核的一个重要指标. 为了评估 Biotin-QDs 探针的安全性, 我们选用经典的四甲基偶氮唑蓝(MTT)法进行测定. 分别用不同浓度($0\sim 500\text{ }\mu\text{g/mL}$)的 Biotin-QDs 处理人胚肺成纤维(HEL F)细胞 24 h, 然后进行细胞毒性测试. 结果显示: 在探针高浓度($500\text{ }\mu\text{g/mL}$)情况下, 细胞存活率仍然维持在 90% 以上(见支持信息, 图 S11). 由此可见, Biotin-QDs 探针具有良好的生物安全性.

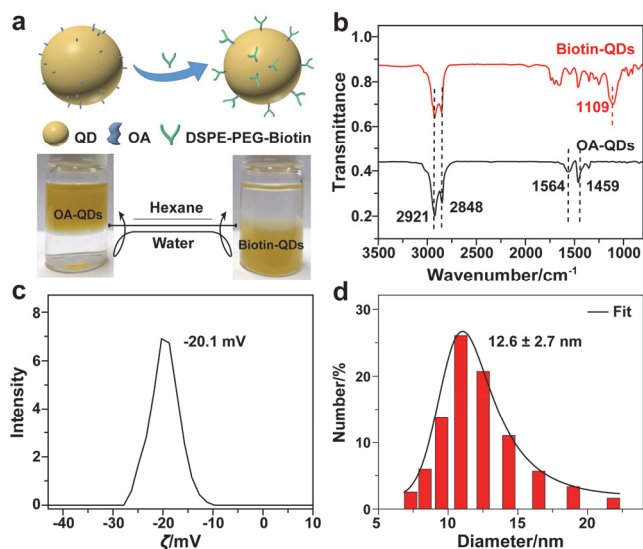


图5 (a) AgInSe₂:Zn²⁺量子点表面修饰 DSPE-PEG-Biotin 示意图, 以及 OA-QDs 和 Biotin-QDs 分散在己烷与水的混合溶剂中的实物图照片; (b) OA-QDs 和 Biotin-QDs 的傅里叶红外光谱图; Biotin-QDs 在 pH=7.1 水溶液中的 (c) Zeta 电势和 (d) 水合粒径统计图

Figure 5 (a) Schematic illustration of biotinylation of AgInSe₂:Zn²⁺ QDs and photographs of OA-QDs and Biotin-QDs dispersed in hexane and water mixed solvent, respectively. (b) Fourier-transform infrared spectra of the OA-QDs and Biotin-QDs, (c) Zeta-potential and (d) hydrodynamic diameter distribution of Biotin-QDs dispersed in aqueous solution (pH 7.1)

由于生物素对生物素受体具有特异性识别作用, 我们进而将 Biotin-QDs 作为近红外荧光纳米探针用于靶向生物素受体的癌细胞成像应用(图 6a). 生物素是细胞水平上的生长促进剂, 其在多种癌细胞中过量表达, 如肺癌(M109)、结肠癌(Colo-26)和宫颈癌(HeLa)细胞等^[39], 我们选择生物素受体过表达的 HeLa 细胞作为实验对象, 以生物素受体低表达的人正常肝(L-02)细胞作为对照组进行研究. 分别采集明场像(Bright), 细胞核染色(Nucleus)和 QDs 近红外荧光信号(PL)(图 6b 和 6c). 结果发现: 在 408 nm 激发下, 只有 HeLa 细胞周围检测出强烈的 QDs 荧光信号; 而在对照组中, L-02 细胞周围几乎检查不到 QDs 的荧光. 这是因为 Biotin-QDs 探针表面的生物素和 HeLa 细胞中的生物素受体发生了特异性结合. 这一结果证明 Biotin-QDs 可以作为近红外荧光纳米探针, 很好地实现肿瘤细胞靶向成像.

3 结论

我们首次实现以 In₂Se₃:Zn²⁺量子点为模板, 通过离子交换法控制合成了 AgInSe₂:Zn²⁺量子点. 这一方法可以克服传统直接合成法的不足, 实现对产物形貌和组分的精准调控. 通过优化尺寸和 Ag/In 组分, 得到最高 PLQY 为 42.5% 的 AgInSe₂:Zn²⁺近红外量子点. 利用稳态、瞬态和低温光谱分析, 我们揭示了 AgInSe₂:Zn²⁺量子点的发光来源于 D-A 对, 且 Ag⁺相关的缺陷浓度对量子

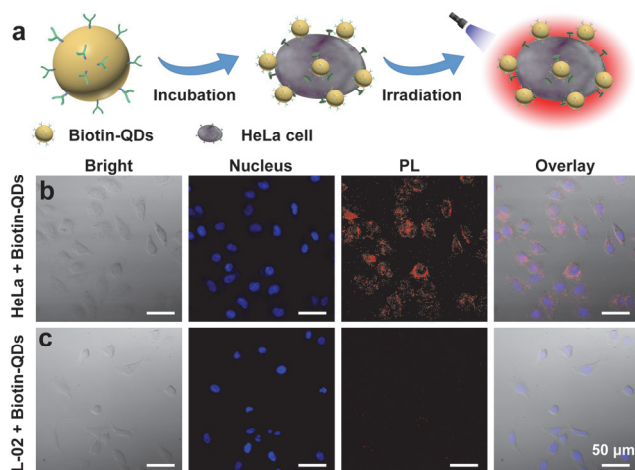


图6 (a) Biotin-QDs 探针靶向细胞成像示意图, Biotin-QDs 探针分别和 (b) HeLa 细胞, 以及 (c) L-02 细胞孵育 2 h 后的共聚焦显微镜成像. 1 至 4 列分别为明场像、408 nm 激发下的 4,6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染色细胞核像、量子点荧光像以及叠加图像

Figure 6 (a) Schematic illustration of targeted cell imaging based on Biotin-QDs nanoprobe. Confocal laser scanning microscopy images of Biotin-QDs incubated with (b) HeLa cells and (c) L-02 cells after 2 h. Panel 1 is the bright-field images. DAPI stained cell nucleus images ($\lambda_{\text{ex}}=408$ nm) that indicate the nuclear regions are shown in panel 2. Panel 3 is the PL images ($\lambda_{\text{ex}}=408$ nm) of QDs, and panel 4 is the overlay images of panels 1, 2 and 3

子的发光性质有较大影响. 基于其高效近红外发光和良好的生物安全性, 我们利用疏水相互作用成功制备出水溶性的 AISe 量子点探针, 并利用生物素和生物素受体的特异性识别, 成功实现了基于 AISe 近红外量子点探针的肿瘤细胞靶向成像. 本工作为可控合成高效发光 AISe 量子点提供了新的思路, 也将极大地促进 AISe 及其他 I-III-VI 三元量子点的研究和应用.

4 实验部分

4.1 In₂Se₃:Zn²⁺量子点的合成

准确称量 0.2 mmol 的醋酸铟, Zn/In=0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 分别对应 0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 mmol 的硬脂酸锌, 放入 50 mL 的三口反应烧瓶中, 再加入 10 mL 十八烯(ODE), 1 mL 油酸(OA), 1 mL 油胺(OAm)和 1 mL 正十二硫醇(DDT), 反应全程通入氮气保护, 将体系加热到 120 °C, 除水 1 h. 然后将体系加热到 200 °C, 迅速加入 Se 源(0.4 mmol Se 粉溶解于 0.6 mL 的 OAm 和 0.3 mL 的 DDT 混合溶液中), Zn/In=0 和 0.2 体系在 200 °C 下反应 2 min, 其他体系反应 15 min. 反应结束后用水浴冷却至室温, 加入环己烷和乙醇(体积比 1:1)进行洗涤沉淀, 然后在 12000 r/min 转速下离心 5 min, 洗涤离心两次.

4.2 AgInSe₂:Zn²⁺量子点的合成

取 Zn/In=0.6 制备获得的 In₂Se₃:Zn²⁺量子点一半原溶液放入 50 mL 的反应烧瓶, 通入氮气后加入 6 mL

ODE, 0.3 mL 的 OA 和 0.3 mL 的 OAm. 将体系加热到 75 °C, 15 min 内逐滴加入 Ag 源(Ag/In=0.3~1.2 分别取 0.03~0.12 mmol AgOAc, 室温下超声溶解于 1 mL ODE, 200 μ L OAm 和 150 μ L 三正辛基膦混合溶液中). 反应结束后水浴冷却至室温, 加入环己烷和乙醇(体积比 1:1)进行洗涤沉淀, 然后 12000 r/min 转速下离心 5 min, 洗涤离心两次.

4.3 Biotin-QDs 探针制备

取 10 mg 以上制备的 AgInSe:Zn²⁺ (Ag/In=0.9)量子点, 40 mg 的二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇-生物素 2K(DSPE-PEG-Biotin), 放入 25 mL 的锥形瓶中, 再加入 10 mL 三氯甲烷, 搅拌 10 min, 使其充分溶解. 将混合液体用旋转蒸发仪在 35 °C 下蒸干, 然后加入 10 mL 超纯水, 接着超声 15 min, 使纳米颗粒充分溶解. 将产物在 3000 r/min 下离心 3 min, 除去大分子杂质或团聚物, 再用 21000 r/min 转速离心 15 min, 离心-溶解两次以去除多余磷脂分子, 得到 Biotin-QDs.

4.4 细胞毒性实验

用 DMEM 细胞培养基在 37 °C 下, 用含 5% CO₂ 培养箱中培养 HELF 细胞. 待细胞生长到一定数目后, 用胰蛋白酶对细胞进行消化处理, 用 DMEM 培养基配成浓度为 10⁵/mL 的细胞悬液. 取 100 μ L 的细胞悬液接种到 96 孔板中, 加入含有不同浓度梯度的 Biotin-QDs 的磷酸缓冲盐溶液(PBS, pH 7.5), 使其最终浓度为 0, 100, 200, 300, 400 和 500 μ g/mL, 每个浓度使用 3 个孔, 另外选 3 个孔加入不含细胞的培养基作为对照组, 于培养箱中孵育 24 h. 然后吸弃孔内上清液, 每孔加入 180 μ L 的 DMEM 培养基和 20 μ L 的噻唑蓝溶液, 再继续孵育 4 h. 再吸弃孔内上清液, 每孔加入 150 μ L 二甲亚砜, 振荡 10 min, 使孔内物质充分溶解. 再利用 Synergy 4 多功能微孔板检测系统测定各孔 560 nm 处光的吸收强度, 三组数据取平均值, 需要扣除仅含培养基的孔背景信号, 以探针浓度为 0 的作为参比(细胞存活率认为 100%), 可以得到各浓度对应的细胞存活率.

4.5 近红外靶向细胞成像实验

将 HeLa 细胞和 L-02 细胞种到 20 mm 的细胞培养皿中, 用 DMEM 培养基培养过夜, 然后向各细胞培养皿中加入 1 mL 培养基配制的 Biotin-QDs 溶液(100 μ g/mL), 孵育 2 h 后吸弃上层清液, 用 PBS 缓冲液洗涤三次. 加入 1 mL 的 DAPI 染色剂进行细胞核染色, 然后孵育 5 min. 再次吸弃上层清液, 用 PBS 缓冲液洗涤三次, 加入 1 mL 的 PBS 缓冲液, 最后将细胞培养皿置于激光共聚焦显微镜下进行细胞成像.

References

- [1] Yoffe, A. D. *Adv. Phys.* **2001**, *50*, 1.
- [2] Dai, X. L.; Zhang, Z. X.; Jin, Y. Z.; Niu, Y.; Cao, H. J.; Liang, X. Y.; Chen, L. W.; Wang, J. P.; Peng, X. G. *Nature* **2014**, *515*, 96.

- [3] Liu, Y. H.; Zhang, D. X.; Mao, B. D.; Huang, H.; Liu, Y.; Tan, H. Q.; Kang, Z. H. *Acta Chim. Sinica* **2020**, *78*, 1349 (in Chinese). (刘艳红, 张东旭, 毛宝东, 黄慧, 刘阳, 谭华桥, 康振辉, 化学学报, **2020**, *78*, 1349.)
- [4] Xiong, R.; Yu, S. T.; Smith, M. J.; Zhou, J.; Krecker, M.; Zhang, L. J.; Nepal, D.; Bunning, T. J.; Tsukruk, V. V. *ACS Nano* **2019**, *13*, 9074.
- [5] Medintz, I. L.; Uyeda, H. T.; Goldman, E. R.; Mattoussi, H. *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 435.
- [6] Li, Y.; Li, J. H.; Xu, L. M.; Chen, J. W.; Song, J. Z. *Acta Chim. Sinica* **2021**, *79*, 126 (in Chinese). (李严, 李金航, 许蕾梦, 陈嘉伟, 宋继中, 化学学报, **2021**, *79*, 126.)
- [7] Meinardi, F.; McDaniel, H.; Carulli, F.; Colombo, A.; Velizhanin, K. A.; Makarov, N. S.; Simonutti, R.; Klimov, V. I.; Brovelli, S. *Nat. Nanotechnol.* **2015**, *10*, 878.
- [8] Yu, M.; Zhang, Z. J.; Zhu, G. W.; Gu, Z. H.; Duan, Y. L.; Yu, L. C.; Gao, G. B.; Sun, T. L. *Acta Chim. Sinica* **2021**, *79*, 1281 (in Chinese). (余梦, 张子俊, 朱国委, 谷振华, 段玉霖, 余良卿, 高冠斌, 孙涛垒, 化学学报, **2021**, *79*, 1281.)
- [9] Niu, Y.; Pu, C. D.; Lai, R. C.; Meng, R. Y.; Lin, W. Z.; Qin, H. Y.; Peng, X. G. *Nano Res.* **2017**, *10*, 1149.
- [10] Fan, G. Y.; Wang, C. Y.; Fang, J. Y. *Nano Today* **2014**, *9*, 69.
- [11] Chen, Y. Y.; Li, S. J.; Huang, L. J.; Pan, D. C. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 7819.
- [12] Li, Q.; Zhang, T.; Gu, H. W.; Ding, F. Z.; Qu, F.; Peng, X. Y.; Wang, H. Y.; Wu, Z. P. *Acta Chim. Sinica* **2013**, *71*, 929 (in Chinese). (李谦, 张腾, 古宏伟, 丁发柱, 屈飞, 彭星煜, 王洪艳, 吴战鹏, 化学学报, **2013**, *71*, 929.)
- [13] Xie, R. G.; Rutherford, M.; Peng, X. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5691.
- [14] Regulacio, M. D.; Han, M. Y. *Acc. Chem. Res.* **2016**, *49*, 511.
- [15] Jain, S.; Bharti, S.; Bhullar, G. K.; Tripathi, S. K. *J. Lumin.* **2020**, *219*, 116912.
- [16] Feng, L.; Liang, X. J.; Yang, F.; Zhong, J. S.; Wang, Y.; Xiang, W. D. *Acta Chim. Sinica* **2011**, *69*, 2870 (in Chinese). (冯丽, 梁晓娟, 杨帆, 钟家松, 王芸, 向卫东, 化学学报, **2011**, *69*, 2870.)
- [17] Zhong, H. Z.; Bai, Z. L.; Zou, B. S. *J. Phys. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 3167.
- [18] Pathak, D.; Wagner, T.; Subrt, J.; Kupcik, J. *Can. J. Phys.* **2014**, *92*, 789.
- [19] Yarema, O.; Yarema, M.; Wood, V. *Chem. Mater.* **2018**, *30*, 1446.
- [20] Kameyama, T.; Douke, Y.; Shibakawa, H.; Kawaraya, M.; Segawa, H.; Kuwabata, S.; Torimoto, T. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118*, 29517.
- [21] Zacharia, A.; Papagiorgis, P.; Yarema, O.; Moser, A.; Othonos, A.; Luisier, M.; Wood, V.; Yarema, M.; Itkos, G. *ACS Appl. Nano Mater.* **2021**, *4*, 11239.
- [22] Deng, D. W.; Qu, L. Z.; Gu, Y. Q. *J. Mater. Chem. C* **2014**, *2*, 7077.
- [23] De Trizio, L.; Manna, L. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 10852.
- [24] Gu, J.; Ding, Y.; Ke, J.; Zhang, Y. W.; Yan, C. H. *Acta Chim. Sinica* **2013**, *71*, 360 (in Chinese). (顾均, 丁祎, 柯俊, 张亚文, 严纯华, 化学学报, **2013**, *71*, 360.)
- [25] Tappan, B. A.; Horton, M. K.; Brutchey, R. L. *Chem. Mater.* **2020**, *32*, 2935.
- [26] Langevin, M. A.; Ritcey, A. M.; Ni Allen, C. *ACS Nano* **2014**, *8*, 3476.
- [27] Zhou, Y.; Wu, D.; Zhu, Y. H.; Cho, Y. J.; He, Q.; Yang, X.; Herrera, K.; Chu, Z. D.; Han, Y.; Downer, M. C.; Peng, H. L.; Lai, K. *J. Nano Lett.* **2017**, *17*, 5508.
- [28] Han, G.; Chen, Z. G.; Drennan, J.; Zou, J. *Small* **2014**, *10*, 2747.
- [29] Chen, B. K.; Chang, S.; Li, D. Y.; Chen, L. L.; Wang, Y. T.; Chen, T.; Zou, B. S.; Zhong, H. Z.; Rogach, A. L. *Chem. Mater.* **2015**, *27*, 5949.
- [30] Li, X.; Tu, D. T.; Yu, S. H.; Song, X. R.; Lian, W.; Wei, J. J.; Shang, X. Y.; Li, R. F.; Chen, X. Y. *Nano Res.* **2019**, *12*, 1804.
- [31] Yao, J. K.; Lifante, J.; Rodriguez-Sevilla, P.; de la Fuente-fernandez, M.; Sanz-Rodriguez, F.; Ortigies, D. H.; Calderon, O. G.; Melle, S.; Ximenes, E.; Jaque, D.; Marin, R. *Small* **2021**, *17*, 2103505.
- [32] Sousa, F. L. N.; Souza, B. A. S.; Jesus, A. C. C.; Azevedo, W. M.; Mansur, H. S.; Freitas, D. V.; Navarro, M. *Green Chem.* **2020**, *22*, 1239.
- [33] Kang, X. J.; Yang, Y. C.; Huang, L. J.; Tao, Y.; Wang, L.; Pan, D. C. *Green Chem.* **2015**, *17*, 4482.
- [34] Luo, H.; Guo, S. H.; Zhang, Y. B.; Bu, K. J.; Lin, H. R.; Wang, Y. Q.; Yin, Y. F.; Zhang, D. Z.; Jin, S. Y.; Zhang, W. Q.; Yang, W. G.; Ma, B. W.; Lu, X. J. *Adv. Sci.* **2021**, *8*, 2100786.
- [35] Lian, W.; Tu, D. T.; Hu, P.; Song, X. R.; Gong, Z. L.; Chen, T.; Song,

- J. B.; Chen, Z.; Chen, X. Y. *Nano Today* **2020**, *35*, 100943.
- [36] Hamanaka, Y.; Ogawa, T.; Tsuzuki, M.; Kuzuya, T. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 1786.
- [37] Hu, J. H.; Song, J. L. Q.; Tang, Z. S.; Li, H.; Chen, L.; Zhou, R. *J. Mater. Chem. C* **2020**, *8*, 5821.
- [38] Knowles, K. E.; Hartstein, K. H.; Kilburn, T. B.; Marchioro, A.; Nelson, H. D.; Whitham, P. J.; Gamelin, D. R. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 10820.
- [39] Gao, Y.; Li, R. F.; Zheng, W.; Shang, X. Y.; Wei, J. J.; Zhang, M. R.; Xu, J.; You, W. W.; Chen, Z.; Chen, X. Y. *Chem. Sci.* **2019**, *10*, 5452.

(Cheng, B.)