

Application of Electrochemical Luminescence Properties of Functionalized Quantum Dots in Immune Analysis

Jinwen Min, Xianbo Huang, Huanle Liu, Guizhi Zhao, Yifeng E, Kun Qian

Jinzhou Medical University, Jinzhou Liaoning
Email: 1054322536@qq.com

Received: Apr. 23rd, 2020; accepted: May 11th, 2020; published: May 18th, 2020

Abstract

Quantum dot is a new kind of fluorescent material, which has its unique fluorescence characteristics compared with traditional fluorescent dyes. It has been widely used in biomolecular imaging, new immunosensor, immunoassay and material testing. In this paper, the recent research achievements of functionalized quantum dots at home and abroad are reviewed in immune analysis. At the same time, the broad application prospect of functionalized quantum dots is prospected to provide some reference for its further application and research.

Keywords

Quantum Dots, Functionalized Modification, Electrochemical Luminescent Immunosensor, Immunoassay, Applied Research

功能化量子点的电化学发光性能在免疫分析上的应用研究

闵瑾雯, 黄显博, 刘欢乐, 赵桂芝, 鄂义峰, 钱 昆

锦州医科大学, 辽宁 锦州
Email: 1054322536@qq.com

收稿日期: 2020年4月23日; 录用日期: 2020年5月11日; 发布日期: 2020年5月18日

摘 要

量子点是一种具有优异性能的新型荧光材料, 与传统染料相比, 有其独特的荧光特性; 这些优异性使其

文章引用: 闵瑾雯, 黄显博, 刘欢乐, 赵桂芝, 鄂义峰, 钱昆. 功能化量子点的电化学发光性能在免疫分析上的应用研究[J]. 材料科学, 2020, 10(5): 327-332. DOI: 10.12677/ms.2020.105040

能在生物分子成像、新型免疫传感器，免疫分析，物质检测领域有广泛应用。该文主要以国内外对量子点的研究成果为参考和依据，综述近年来功能化量子点在免疫分析上的应用研究成果。同时对功能化量子点的广阔应用前景进行展望，希望为其进一步应用与研究提供一定的借鉴与参考。

关键词

量子点，功能化修饰，电化学发光免疫传感器，免疫分析，应用研究

Copyright © 2020 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

自从 20 世纪 90 年代提出这一概念以来，量子点的研究逐步多元化。在其发展初期，人们并未想过将其应用于生物和医学等相关领域，它多被应用于光电学和半导体材料等领域。后来因研究发展多元化再加上量子点独特的光学性能，人们开始将其应用于生物医学检测等相关领域。它独特而优异的光学性能和特征是其成为优异荧光染料的坚实基础。作为一种新型荧光染料，它具有许多有机染料不具备的性能。它良好的光稳定性，可控制的发射光谱，宽激发谱和窄发射谱，良好的生物相容性等光学特点，使其区别于传统有机染料，成为相关科研发展的新宠。它自身所独有而优异的性能与特征让其在许多领域应用和发展前景广阔。

随着量子点研究的深入，人们开始对量子点的功能化修饰进行探索。功能化修饰量子点研究的出现与发展让量子点的应用具有更多可能性。功能化量子点免疫光学传感器，荧光探针，荧光免疫检测等适用于许多生物医学方面研究。本篇主要重点阐述了功能化量子点在免疫分析上的相关应用，并总结了当下免疫分析主要方法的优缺点，近年来功能化量子点进一步的研究与应用，以及新型光免疫传感器等。

2. 免疫分析主要方法

2.1. 量子点荧光探针

荧光探针是免疫分析中的常用方法，而量子点荧光探针相对于前者来说却是一种新方法。究其原因，则是量子点材料与过往使用的材料的不同。量子点的优异性能使荧光探针能在更多应用中起到良好的效果。

2.2. 酶免疫分析技术

这是一种传统的免疫分析技术。它将酶的高效催化原理和特异性应用其中，实现对检测物的特异性检测。酶与免疫分析的结合对检测结果的可靠性进行了优良改进。具有仪器简单，对人员无危害等优点。该技术在农业等领域中应用广泛。

2.3. 放射免疫分析

1959 年建立的一种免疫分析技术，它利用放射性同位素标记实现高灵敏度，但其放射性也对操作人员具有一定危害。现发展水平在国内外不尽相同，国外产品较多，国内与国外相比具有一定差距。

2.4. 时间分辨荧光免疫分析

该免疫技术是一种非放射性免疫技术，利用镧系元素及其螯合物作为示踪物。这是对示踪物的一种改进。它所利用的示踪物也有独特的荧光性能，能很大程度的排除干扰。

以上是对近年来相关免疫分析技术的简要列举和介绍。随着应用需求增加，许多免疫技术也随之出现并有所发展。但就现有的免疫分析技术来说，没有一种技术是尽善尽美的，这说明相关研究仍需深入。如下表 1，则是对免疫分析主要技术的总结和优缺点的对比。

Table 1. Summary of main methods of immunoassay

表 1. 免疫分析主要方法总结

方法	优点	缺点	参考文献
量子点荧光探针	生物毒性低；荧光散射少；寿命长	易变性；细胞毒性	[1]
酶免疫分析	安全可靠；特异性强；分析容量大；成本低	灵敏度较低	[2] [3]
化学发光免疫分析	高灵敏度；高特异性；全自动操作；试剂有效期长	发光时间短；容易猝灭	[2] [6] [7]
放射免疫分析	价格低；准确性高；稳定	存在污染	[2] [4]
荧光偏振免疫分析	均相测量方案易于快速进行；荧光标记物质半衰期长	发光时间短；容易猝灭	[2] [5]
时间分辨荧光免疫分析	灵敏度高；操作简便；示踪物稳定；多标记；不受样品自然荧光干扰	光强弱	[5] [8]
量子点荧光免疫法	荧光强；稳定性好	生物分子活性有损伤；有毒性	[2]
量子点荧光免疫分析	灵敏度高；多组分同时测定	有一定生物毒性	[2] [9] [10]

近年来随着荧光免疫分析技术迅速发展，它被广泛应用于各种微量物质测定。而现代荧光免疫分析技术主要有以下四个设想：1) 开发更灵敏的荧光增强体系；2) 多组分分析物免疫分析；3) 均相现代荧光免疫分析技术；4) 与其他技术联用[5]功能化量子点的出现很好实现的相关设想，在一定程度上弥补了传统有机染料的缺点。李圆圆等人合成了碲化镉(CdTe)量子点，通过利用共价偶联建立了 cFLISA 方法，与之前的 FITC-二抗法比较，其灵敏度提高了 30 倍[11]。这说明量子点的功能化修饰和应用，可以有效弥补一些基于传统染料而建立的一些方法在实际应用上的不足。Goldman 等人的实验研究成果完成了现代免疫分析技术的相关设想，成功实现多组分分析测定物质。此实验采用颜色相异的量子点标记，在一块免疫检测微孔板上同时测定了四种不同的物质[12]。这次试验的成功说明了量子点能实现有关同时多组分物质分析与测定现代免疫分析设想。基于此结果可见不同功能化量子点材料具有不同性能优势，而进一步探索多元化功能量子点材料有助于开拓其更广阔的应用和发展前景。

3. 功能化量子点多种研究

庄庆一等人利用再沉淀包覆法成功制备出具有良好水溶性的掺杂绿光的 CdSe@ZnS 纳米颗粒 G-NPs 和掺杂红光 CdSe@ZnS 的纳米颗粒 R-NPs，并在此基础上进一步研究了量子点间能量传递现象。该法很好的保留了量子点原来的性质，对人类肝细胞肝癌细胞株(HepG2)进行荧光标记，结果可得所制备的纳米颗粒具有良好吞噬效果[13]。

Lingao Ruan 等人以量子点 QDs 作为标记，建立了一种原位检测单细胞凋亡的新方法。用 PEG 修饰 QDs 制备荧光标记探针并进一步研究了细胞对不同表面修饰的 QDs 的非特异性吸附，发现非特异性吸附

效果比之前相关学者的研究效果有着明显降低。结果证明 PEG 修饰的 QDs 是检测细胞凋亡的敏感荧光标记探针[14]。

Bolu Sun 等人采用原位聚合法制备聚苯胺功能化石墨烯量子点(PAGD)，建立一种电化学免疫传感器，用于抑郁症的热休克蛋白 70 (HSP70)早期筛查。PAGD 具有良好的生物活性和优良结构，使多种热休克蛋白 70 (HSP70)能牢固加载于其表面，比之前人的检测方法，新型传感器能对此蛋白进行更便捷有效的检测。此外，该传感器还成功应用于等离子体样品中 HSP70 检测[15]。

Yan Ping 等人通过两步法热裂解法制备了 D-青霉胺共功能化石墨烯量子点(PEHA-GQD-DPA)，该量子点由平均尺寸为 3.16 nm 的石墨烯片和丰富的官能团组成。经功能化修饰后的石墨烯量子点具有更强的荧光发射能力，其荧光量子产率高达 90.91%，对 Hg^{2+} 有灵敏、并具有选择性的光学响应。对荧光的猝灭作用可被谷胱甘肽恢复[16]。

杨广武等人制备了氧化锌和碳量子点复合物(ZnO/C-QDs)。该复合物由水溶性荧光氧化锌量子点和碳量子点合成。且发现通过对两种制备原料间体积比例的调整，可制备出能实现荧光光谱连续可调的复合物；还可以通过不同比例混合制备来实现量子点荧光颜色的改变[17]。

Zhengyi Qu 等人以谷胱甘肽功能化石墨烯量子点(GQDs@GSH)为基础，开发了一种用于 ACP 活性和 PM 检测的灵敏荧光纳米传感器(GQDs@GSH)。GQDs@GSH 的荧光可通过荧光共振能量转移得到有效猝灭。在酸性环境中将 MnO_2 纳米片还原为 Mn^{2+} ，可导致其荧光强度显著升高[18]。

杜青青等人为了更高效、快速的检测槲皮素，制备了高效发光硅烷功能化碳点，并用此碳点制备了新型荧光探针。在其合成过程中，柠檬酸和硅烷偶联剂是关键物质。通过水热法合成所得碳点在 360 nm 激发后在 450 nm 处有强荧光发射峰，其荧光量子产率可达 69.2% [19]。

Jue Xu 等人招募 DNA 模板化的 CdTe/CdS 量子点(DNA-QDs)作为电化学记录者。提供了一种新的电化学方法检测 IL-8，它可以方便的结合 DNA 模板量子点。避免复杂耗时的抗体-DNA 偶联物或功能纳米材料制备过程。DNA 模板量子点的研究也在迅速发展[20]。

Devika Vashisht 等人提出了一种用磷酸盐功能化石墨氮化碳量子点(Ph-g-CNQDs)测定水中亚铁离子和铁离子的简便方法。以油酸为溶剂的简单溶剂热法在 30 min 内产生了 Ph-g-CNQDs。亚铁离子和铁离子之间的通讯使蓝色的 Ph-g-CNQDs 荧光信号被猝灭。量子产率为 60.54%。该方法有良好回收率，适于实时监测[21]。

Xiaodan Wang 等人以巯基乙酸为表面活性剂，制备了单分散的 CdTe 量子点水溶液，用其构造荧光探针，检测普罗帕酮。因为 CdTe 量子点表面有化学吸附的硫代乙醇酸，所以量子点带正电荷。普罗帕酮在酸性介质中为正电荷，通过静电吸引和氢键作用与 CdTe 量子点结合形成较大的离子缔合络合物。此外，形成的离子缔合络合物可以增加 CdTe 量子点的共振瑞利散射(RRS)、二阶散射(SOS)和频率双散射(FDS)的强度，并猝灭 CdTe 量子点的荧光[22]。

以上是对近几年功能化量子点研究的介绍，基于此，笔者将提到的相关量子点材料及其优缺点做了如下总结。

4. 功能化量子点材料优势及其所弥补缺点

由于量子点材料的优越性质及多元功能化修饰后展现出更多不同的特点，使其已广泛应用于探针显影[23]，荧光传感器[24]，生物分子多模态成像[25] [26]等。在农业，化工，生物医学等领域有着广泛应用及研究。目前基于酶的量子点研究以及其他许多与量子点的联合研究已成为国内外热点，据表 2 可见量子点不同功能化修饰能带来不同效果，量子点的一些研究和应用充满潜力。随着科学技术发展，有望研究开发出更多优异性能，使其更好应用于生活生产。

Table 2. Summary of functionalized quantum dot materials

表 2. 功能化量子点材料总结

序号	量子点材料	优点	缺点	参考文献
1	掺杂绿光的 CdSe@ZnS 纳米颗粒 G-NPs 和掺杂红光 CdSe@ZnS 的纳米颗粒 R-NPs	生物兼容性优良; 荧光强度高; 多色荧光标记	油溶; 转水溶后发光效率低	[13]
2	PEG 修饰的 QDs	非特异性吸附效果显著降低; 光稳定性好; 量子产率高	非特异性吸附	[14]
3	聚苯胺功能化石墨烯量子点(PAGD)	有效阻止石墨烯量子点聚集, 增加复合材料的比表面积	石墨烯量子点聚集	[15]
4	D-青霉胺共功能化石墨烯量子点 (PEHA-QD-DPA)	强量子限制; 边缘效应; 低毒性; 稳定性较高; 灵敏, 选择性荧光响应	含有毒试剂; 选择性差; 合成繁琐	[16]
5	基于水溶性荧光氧化锌量子点(ZnO-QDs)和碳量子点(C-QDs)制备了氧化锌和碳量子点复合物(ZnO/C-QDs)	价廉; 低毒; 环境友好; 易制备	存在有毒性元素; 成本高	[17]
6	以谷胱甘肽功能化石墨烯量子点 (GQDs@GSH)为基础, 开发了一种灵敏荧光纳米传感器(GQDs@GSH)	猝灭后, 荧光信号可恢复; 灵敏度高; 低毒: 高生物相容性	有毒性; 生物相容性差;	[18]
7	合成高效发光硅烷功能化碳点	荧光效率高; 表面功能基团丰富; 水溶性好; 检出限低	荧光效率 42.6%; 检出限 79 nmol/L 或 0.02 mg/L	[19]
8	DNA 模板化的 CdTe/CdS 量子点 (DNA-QDs)	高灵敏度; 选择性; 结合简单	结合复杂	[20]
9	磷酸盐功能化石墨氮化碳量子点 (Ph-g-CNQDs)	高度特异性识别; 优异催化性能; 较高平面氮含量; 有效催化 g-能量转移	无对铁离子或亚铁离子高度特异性识别	[21]
10	制备单分散的 CdTe 量子点水溶液, 构造荧光探针, 检测普罗帕酮	亲水性; 灵敏度高; 特异性强	方法耗时; 灵敏度差	[22]

小结: 对于功能化量子点可从不同角度, 不同特性, 不同材料等方面进行研究, 进行多元化结合研究, 以便能获得更多成过和突破。国内应稳步将功能化量子点材料投入应用生产。随着人们意识提高, 科技发展, 基于功能化量子点优异性能以及研究潜力, 功能化量子点的未来研究应用前景将十分广阔。

基金项目

国家自然科学基金项目批准号: 21701069。辽宁省自然基金指导计划, 2019-ZD-0607。大学生创新创业项目, 《纳米孔 ITQ-44 分子筛限域合成碳量子点的研究》, 《LTA 分子筛修饰的磺胺甲恶唑电化学传感器研究》, 《基于分子筛修饰的磷酸氯喹电化学传感器的研制与应用》。

参考文献

- [1] 庞俊峰, 于卓, 梁哲, 等. 量子点荧光探针的应用及其在植物中的发展前景[J]. 中国农业科技导报, 2009, 11(1): 19-26.
- [2] 王传涛, 刘道杰, 王术皓. 量子点在标记免疫分析中的应用研究进展[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(1): 73-74.
- [3] 徐敦明, 张兴. 农药酶免疫分析技术研究进展[J]. 农药科学与管理, 2004, 25(9): 27-31.
- [4] 王丁泉. 放射免疫分析技术的发展现状与展望[J]. 标记免疫分析与临床, 2012, 19(4): 249-251.
- [5] 张振亚, 梅兴国. 现代荧光免疫分析技术应用及其新发展[J]. 生物技术通讯, 2006, 17(4): 677-680.
- [6] 余小华, 骆磊, 朱耶鹤, 等. 化学发光免疫分析法和放射免疫分析法检测血浆甲状腺球蛋白的结果对比分析[J].

- 标记免疫分析与临床, 2012, 19(1): 54-56.
- [7] 张友华. 化学发光免疫分析技术及其应用研究进展[J]. 医药卫生(文摘版), 2016(27): 25.
- [8] 杭建峰, 吴英松, 李明. 时间分辨荧光免疫分析的研究进展及应用[J]. 热带医学杂志, 2004, 4(3): 340-343, 304.
- [9] Goldman, E.R., Anderson, G.P., Tran, P.T., *et al.* (2002) Conjugation of Luminescent Quantum Dots with Antibodies Using an Engineered Adaptor Protein to Provide New Reagents for Fluoroimmunoassays. *Analytical Chemistry*, **74**, 841-847. <https://doi.org/10.1021/ac010662m>
- [10] 李玲, 武春梅, 苗晋华. 量子点技术在荧光标记免疫分析中的发展与应用[J]. 国际免疫学杂志, 2013, 36(3): 196-199.
- [11] 李圆圆, 李培武, 张奇, 等. 量子点标记荧光免疫法检测花生中黄曲霉素 B₁ [J]. 中国油料作物学报, 2012, 34(4): 438-442.
- [12] Goldman, E.R., Clapp, A.R., Anderson, G.P., *et al.* (2004) Multiplexed Toxin Analysis Using Four Colors of Quantum Dots Fluororeagents. *Analytical Chemistry*, **76**, 684-688. <https://doi.org/10.1021/ac035083r>
- [13] 庄庆一, 由芳田, 彭洪尚. 基于 CdSe@ZnS 量子点水溶性纳米粒子的制备及荧光性能[J]. 发光学报, 2018, 39(10): 1339-1346.
- [14] Lingao, R, Mei G, Xiangyi H, *et al.* (2018) Assay of Single Cell Apoptosis by Ensemble and Single Molecule Fluorescence Methods: Annexin-V/PEG Functionalized Quantum Dots as Probes. *Langmuir*, **34**, 10040-10047.
- [15] Sun, B.L., Wang, Y.P., Li, D., *et al.* (2020) Development of a Sensitive Electrochemical Immunosensor Using Polyaniline Functionalized Graphene Quantum Dots for Detecting a Depression Marker. *Materials Science and Engineering C*, **111**, Article ID: 110797. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110797>
- [16] Yan, P., Li, R.Y., Yang, Y.Q., *et al.* (2018) Pentaethylenehexamine and D-Penicillamine Co-Functionalized Graphene Quantum Dots for Fluorescent Detection of Mercury(II) and Glutathione and Bioimaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **203**, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.05.118>
- [17] 杨广武, 张守超, 王翠红, 等. 氧化锌量子点和碳量子点及其复合物的制备与发光性能的研究[J]. 发光学报, 2017, 38(10): 1287-1294.
- [18] Qu, Z.Y., Li, N., Na, W.D. and Su, X.G. (2019) A Novel Fluorescence “Turn Off-On” Nanosensor for Sensitivity Detection Acid Phosphatase and Inhibitor Based on Glutathione-Functionalized Graphene Quantum Dots. *Talanta*, **192**, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.009>
- [19] 杜青青, 张平平, 谈琼, 等. 硅烷功能化碳点荧光探针检测槲皮素[J]. 分析测试学报, 2019, 38(7): 835-839.
- [20] Xu, J., Yu, X.M., Xie, L.S., *et al.* (2020) Facile Incorporation of DNA-Templated Quantum Dots for Sensitive Electrochemical Detection of the Oral Cancer Biomarker Interleukin-8. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **412**, 2599-2606. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02487-x>
- [21] Vashisht, D., Sharma, E., Kaur, M., *et al.* (2020) Solvothermal Assisted Phosphate Functionalized Graphitic Carbon Nitride Quantum Dots for Optical Sensing of Fe Ions and Its Thermodynamic Aspects. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **228**, Article ID: 117773. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117773>
- [22] Wang, X.D., Liu, Z.Q., Gao, P.F., Li, Y.J. and Qu, X.Y. (2020) Surface Functionalized Quantum Dots as Biosensor for Highly Selective and Sensitive Detection of PPB Level of Propafenone. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **227**, Article ID: 117709. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117709>
- [23] 谢金润, 谢胜盛, 刘松新, 等. 量子点探针显影的应用研究进展[J]. 山东工业技术, 2016(23): 252-252.
- [24] 来守军. 量子点光学传感器的研究进展[J]. 材料导报, 2008, 22(9): 8-10, 25.
- [25] 张蓉, 王志鹏, 邓大伟. 功能化量子点在生物检测和生物成像中的应用[J]. 南京晓庄学院学报, 2018, 34(6): 23-37.
- [26] Mulder, W.J.M., Strijkers, G.J., Nicolay, K. and Griffioen, A.W. (2010) Quantum Dots for Multimodal Molecular Imaging of Angiogenesis. *Angiogenesis*, **13**, 131-134. <https://doi.org/10.1007/s10456-010-9177-x>