

基于荧光碳点在生物医学检测应用进展研究

温文馨¹ 闫丽茹² 刘彦宏¹ 冯慧娜¹ 卢骆川¹ 卢怀民¹ (通讯作者)

1.包头医学院, 内蒙古 包头 014040

2.内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院, 内蒙古 包头 014010

摘要: 荧光碳点 (Carbon dots, CDs) 是一类新兴的碳基纳米材料, 凭借其独特的光学特性、卓越的生物相容性以及灵活的表面可修饰性等生化特性, 在生物医学领域展现出广阔的应用前景。CDs 不仅拥有结构可调控、荧光稳定性高等优势, 还可通过元素掺杂和表面功能化等手段实现性能的精准调控。目前, CDs 的合成主要采用自上而下和自下而上作为合成的两种策略, 其中环境友好的绿色合成方法因其可持续性和经济性而备受青睐。在生物传感领域, CDs 已成功构建为比率型荧光探针、免疫荧光标记以及荧光共振能量转移 (FRET) 探针等先进检测平台, 显著提高了生物标志物检测的灵敏度和实时监测能力, 在疾病检测、肿瘤治疗、神经科学研究等方面取得重要突破。在诊疗一体化方面, CDs 展现出独特的"诊疗一体"功能, 既能作为高对比度成像造影剂, 又可实现靶向药物递送、光热协同治疗等创新疗法, 为精准医疗提供了新的技术路径。然而, CDs 的临床应用仍面临规模化制备工艺不成熟、长期体内安全性数据不足等关键挑战。未来研究应着重优化可控合成工艺、系统评估生物安全性, 并通过多学科协同创新加速其临床转化进程。

关键词: 荧光碳点 (CDs); 生物医学; 生物探针

现代医学进步高度依赖精准医学检验技术。荧光碳点凭借优异发光性能及高稳定性, 成为生物医学领域重要的新型光学标记物。该技术以荧光纳米微粒替代传统胶体金, 经紫外激发产生高分辨率光谱信号, 突破了胶体金检测的灵敏度限制, 在免疫层析等即时检测中优势显著, 结果具有更高稳定性与重现性, 为即时诊断提供了更可靠解决方案。

荧光碳点 (CDs) 作为新型碳纳米材料, 自 2004 年发现以来因其独特理化性质成为研究热点。相较于传统量子点及有机染料, 兼具结构可塑性、光稳定性、良好量子产率等光学优势, 以及低细胞毒性、优异水溶性等良好生物相容性^[1]。这些特性使其能通过精准表面工程进行功能优化, 显著拓展应用边界。当前 CDs 在生物医学领域已实现突破性应用, 包括精准生物传感、靶向药物递送和高分辨成像。随着发光机制解析与合成技术的革新, 其在疾病诊断与生物标志物检测中的应用潜力正加速释放, 为后续深入探讨其特性奠定基础。

1 基本特性

荧光碳点 (Carbon Dots, CDs) 作为新兴的零维碳基纳米材料, 其核心材料特性可从结构、光学、生物相容性、功能多样性、低成本且容易制备五个维度进行系统阐述 (图 1):

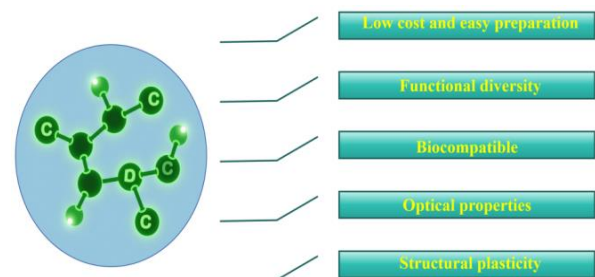


图 1 碳点性质

(1) 结构可塑性: 荧光碳纳米颗粒具有超小尺寸与晶态结构的特征, CDs 作为荧光纳米颗粒中的一种形态也具有与之相同的特性。

CDs 的粒径通常小于 10 nm, 具有明确的晶体结构 (晶面间距 0.34–0.38 nm), 接近石墨烯的层间距, 赋予其量子限域效应和表面效应, 例如通过掺杂金属离子 (如 Cu、Bi) 或非金属元素 (如 N、P) 可调节晶格畸变程度, 进而调控能带结构; 同时存在表面功能化修饰特点, 表面可富含羧基 (–COOH)、氨基 (–NH₂) 等活性基团, 支持共价修饰 (如 β-环糊精^[2]接枝) 或非共价键合 (如静电吸附药物分子)。

(2) 光学特性: 荧光碳点可在宽谱可调荧光发射, 通过调节碳前体组成 (如有机小分子邻苯二胺) 或掺杂元

素(如 Cu/N 共掺杂),CDs 的荧光发射可覆盖可见光(蓝、绿、黄、红)至红外区域^[1]。

例如, Cu/N 共掺杂 CDs 在近红外区表现出高量子产率(QY),适用于深组织成像;荧光碳点在发光特性同时具有抗光漂白性与稳定性的优势,与传统有机染料相比 CDs 能在长时间光照下荧光衰减率低(<5%),其共轭碳骨架和表面钝化层可有效抑制光氧化反应;利用发光特性构建荧光纳米探针,CDs 作为电子供体,可与受体分子(如 CDSI、CDDBT)形成荧光共振能量转移(FRET)体系。

(3) 生物相容性:荧光碳点低毒性机制^[4]是通过元素掺杂优化表面电荷(如 Cu/N 共掺杂 CDs)或引入生物相容性基团(如羧基),CDs 对细胞凋亡相关蛋白(caspase-3 等)的影响显著低于碳黑纳米颗粒,且细胞存活率>90%(MTT 实验)。

CDs 低毒的同时组织渗透与代谢特性良好,超小尺寸和亲水表面使其能通过 EPR 效应在肿瘤组织富集,同时经肾脏快速代谢^[5],降低长期毒性风险。

(4) 低成本且易制备:荧光碳点的制备往往可选用前体可为生物质(如果汁)或废弃物(如秸秆)来制备荧光碳点^[6],这些前体物质往往成本低廉且易获得,同时充分进行资源再循环,减少环境污染,以最低的成本创造最高的价值。在合成制备过程中往往采用水热法、微波法等自下而上^[7]的合成方法,方法快速且无需复杂设备,易制备。

(5) 功能多样性:在肿瘤治疗方面,CDs 诊疗一体化设计的特性。Bi 掺杂 CDs 兼具荧光成像与 CT 造影能力(高原子序数 Bi 的 X 射线衰减系数高),而脂质体包覆(Lipo/Bi-CDs)可延长血液循环时间,增强肿瘤靶向性^[8];通过 pH 响应性载药(如 CD-DOX 体系)实现药物可控释放,或利用光热效应(近红外光激发 Cu/N-CDs)杀伤肿瘤细胞^[9];表面修饰 pH 敏感基团(如氨基质子化)或氧化还原敏感键(如二硫键),可设计智能探针^[10]。

2 制备工艺

(1) “自上而下”^[11]策略

①激光烧蚀法:通过飞秒/纳秒激光脉冲轰击大块碳源,但需梯度离心去除副产物,碳利用率<30%;^[12]

②电化学法:以碳纳米管为电极,通过循环充放电剥离碳层,产物均一但纯化步骤繁琐。^[13]

(2) “自下而上”^[11]策略

①溶剂热法:以有机小分子为前驱体,高温高压下碳化,可批量生产但需优化反应参数(温度、时间)以控制尺寸分布^[14]。

②微波法:快速加热(秒级)诱导前驱体分解,适合实验室小规模制备,但易产生结构缺陷^[15]。

③绿色合成趋势:采用生物质碳源或水相反应体系,减少有毒试剂使用,但需平衡产物性能。^[16]

表 1 两种制备工艺对比

策略	原料	优势	局限性
自上而下法	大块碳源 石墨、炭黑等	工艺简单、成本低	尺寸不均一、表面缺陷多,对环境污染较大
自下而上法	有机小分子 邻苯二胺、柠檬酸、尿素等	结构可控、易功能化、高产率,绿色合成	需高温/高压条件

(3) 在技术研究领域,除了实现了可控合成与发光机理研究方面取得重要突破以外,还在材料创新发展和多功能纳米复合材料的突破性进展。

研究人员开发出多种具有特殊性能的荧光碳点体系,兼具优异的光学性能和良好的生物相容性量子点材料的有机荧光碳点,并发展了新型合成路线和表面改性技术,显著提高了发光效率和稳定性,通过碳基荧光纳米材料实现了发光波长可调和表面功能化的精准调控。在多功能纳米复合材料方面通过创新的材料复合策略,成功构建了多种多功能纳米体系。这些材料创新不仅拓展了荧光纳米颗粒的性能边界,更为其在生物医学、环境监测等领域的应用开辟了新途径。通过精准的材料设计和性能调控能实现针对特定应用场景开发定制化的荧光纳米材料解决方案。

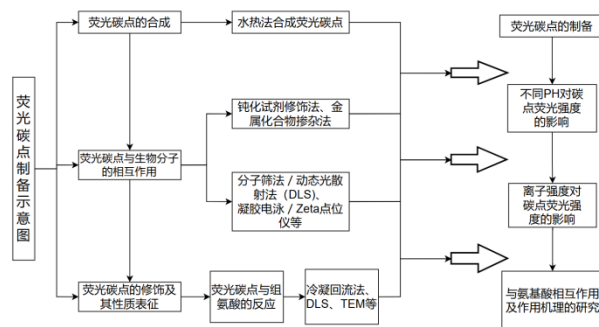


图 2 碳点制备方法示意图

3 荧光碳点生物标志探针

基于荧光碳点优异的荧光性能、良好的生物相容性、低毒性、表面易修饰性及其成本低廉易制备获得的理化特性^[12],成为新一代生物探针的有力候选。CDs 常被开发为高性能生物探针,逐步取代传统生物探针,广泛应用于生物医学等领域,尤其在活体成像和精准医疗中潜力巨大。

表 2 荧光碳点探针与传统生物探针的比较

特性	荧光碳点探针	传统生物探针
信号类型	荧光信号	光信号、电化学信号、磁信号、放射性信号等
组成	荧光碳点+识别基因	识别元件+信号报告基团+链接/载体系统
稳定性	光稳定性好，不易光闪烁或漂白	易光漂白（有机染料）；光闪烁现象明显（量子点）
生物相容性	生物相容性好，毒性低	半导体量子点含重金属（如镉），毒性较高；有机染料可能产生细胞毒性
环境友好性	无重金属，绿色环保	量子点含重金属污染风险
制备难易	较易制备且价格低廉 碳源广泛（如柠檬酸、葡萄糖），制备方法简单（水热法、微波法等）	难制备且成本高 量子点合成需高温高压；有机染料合成步骤繁琐
应用场景	实时/生物成像、动态监测、生物标记、肿瘤诊断等	特异性检测、诊断、成像、标记等
实例	钙离子探针 Fluo-4	乳腺癌诊断 HER2 抗体探针

目前,研究者们已开发出多种基于荧光碳点的功能化探针,包括比率型荧光探针^[17]、免疫荧光探针^[18]以及 FRET 探针^[19]等。这些新型探针不仅继承了传统荧光探针的检测优势,更在检测灵敏度、选择性和实时监测能力等方面实现了突破。例如现已合成的荧光碳点探针经修饰优化已成功在牛血清蛋白及豆芽实现成功标记^[20], Kasi/abu^[21]等利用无花果和木瓜汁合成荧光碳点(发射峰 461 nm, 量子产率 7%), 发现其可在共聚焦显微镜下通过激发波长调节, 分别对枯草芽孢杆菌(绿色荧光)和棘孢曲霉(红色荧光)进行特异性标记, 检测不同菌群; Nandi^[22]等开发的两亲性碳点通过烃链与细菌膜磷脂结合, 增强荧光信号并实现细胞及细胞器成像。其荧光特性随细菌种类变化, 可区分混合菌群。

荧光碳点探针的成功制备与广泛应用, 标志着该技术在生物检测领域实现了重要突破。这类新型探针不仅能够

高效完成生物标记任务, 更重要的是, 其独特的荧光特性使得后续对被标记生物体或物质的检测过程变得更加简便、直观且结果更为清晰可靠。

4 在生物医学中的应用

荧光碳点自被发现以来, 作为新型碳基纳米颗粒迅速成为纳米材料研究的热点领域。争相引起国内外科研工作者在该领域开展了系统深入的研究工作, 取得了一系列具有国际影响力的创新成果。目前, 相关研究已在疾病快速检测、肿瘤精准诊疗等多个研究方向取得重要突破, 推动了该材料从基础研究向实际应用的转化进程。

(1) 在疾病监测方面, 经过长期对 CDs 的研究优化, 开发出多种高性能 CDs 探针, 显著提升了传染病和重大疾病的早期诊断灵敏度。

由广州医科大学药学院邵攀霖教授团队联合南方科技大学研发团队取得重要突破, 成功研制出基于大斯托克斯位移特性的新型荧光纳米探针 (PT-NPs)^[23]。该团队创新性地将 PT-NPs 整合至侧流免疫层析平台, 建立了超灵敏病毒检测新方法。更值得关注的是, 该方法具有优异的平台拓展性, 在猴痘病毒核酸检测中展现出卓越性能, 可在单拷贝水平实现快速可视化检测。这一突破性进展为重大传染病的即时检测 (POCT) 提供了全新的技术方案, 对提升突发公共卫生事件应急响应能力具有重要意义。

(2) 在肿瘤治疗领域, 国内外多个研究团队通过创新性的表面功能化策略, 成功实现了荧光纳米颗粒的靶向性改造, 实现了肿瘤精准诊疗研究方面取得重要进展。

苏州大学功能纳米与软物质研究院联合研究团队创新性地将新型荧光碳点探针应用于灵长类动物模型^[24], 成功实现了淋巴结的高分辨率荧光成像与精确定位, 这一技术突破为肿瘤外科手术的实时导航提供了强有力的技术支撑。另一方面, 上海交通大学窦红静教授课题组突破性地构建了基于多糖修饰荧光纳米颗粒的肿瘤耐药性评估系统^[25], 该创新方法通过纳米颗粒的选择性内吞特性, 可实现对化疗耐药细胞和敏感细胞的高效鉴别与分选。结合先进的流式细胞分析技术, 该系统能够快速、准确地量化肿瘤组织中耐药细胞的比例, 为个体化化疗方案的优化决策提供了可靠的实验依据。

(3) 在神经科学研究方面, 荧光碳点以其独特的纳米颗粒特性展现出独特优势。

哈佛大学团队利用尺寸可调的碳点实现了不同类型神经元的选择性标记, 空间分辨率达到亚细胞水平。日本

理化学研究所开发的近红外荧光纳米探针,成功应用于阿尔茨海默病模型小鼠的淀粉样斑块动态监测。这些创新性研究为解析神经环路和神经退行性疾病的发病机制提供了重要技术手段。

荧光碳点在国内外的研究呈现出蓬勃发展的态势,不仅在研究进展上取得了显著成果,还在多个应用领域展现出了巨大的潜力。这些研究成果不仅丰富了纳米材料科学的基础理论,也为解决临床医学中的关键问题提供了新的技术路径。随着研究的不断深入,未来,通过多学科交叉融合,CDs 材料必将在精准医疗、生物医学检测等领域发挥更加重要的作用。

5 瓶颈与挑战

(1) 在技术瓶颈层面,合成均一性作为首要挑战,例如激光烧蚀法因产物尺寸分布宽泛(如微米至纳米级共存)^[12],亟需开发超滤离心或场流分级技术以实现精准尺寸筛选。

(2) 安全层面,一是纳米材料的长期安全性和生物相容性仍需深入研究,以确保其在临床应用中的安全性。二是长期毒性问题,尤其金属掺杂 CDs 虽在短期实验中表现生物安全性,然而其肝/肾代谢途径及长期蓄积效应仍不明确,亟待系统研究其体内降解动力学。

(3) 伦理层面,随着纳米技术的快速发展,现有的法规可能无法有效应对新型纳米材料带来的伦理问题。例如,如何在保证科研创新的同时保护患者的隐私和知情权。此外,纳米颗粒在环境中的潜在影响也引发公众的关注,如何制定合理的监管政策以平衡科技进步与环境保护之间的关系,是未来亟需解决的课题。

(4) 规模化生产障碍集中于工艺放大难题,例如溶剂热法在升尺度反应中因热传递不均导致产物结晶度波动,但可通过微反应器或连续流工艺设计优化反应均质性,从而平衡产量与性能一致性。

6 结论

尽管荧光碳点在生物医学检测领域的应用虽展现出显著优势,但其技术开发与实际推广仍面临多重复杂挑战,仍存在经验不足、部分方法尚未大规模验证、实际样本干扰这类问题存在,需进一步解决。如何进一步提高荧光纳米颗粒的稳定性、生物相容性和相关毒性,以及如何将其更好地应用于实际诊断和治疗中,都是当前研究的重点。未来,随着纳米科技的不断发展和创新,荧光纳米颗粒必将直面更为广阔的应用前景和更为挑战的研究领域。

综上所述,荧光碳点研究呈现出蓬勃发展的态势,不

仅在研究进展上取得了显著成果,还在多个应用领域展现出了巨大的潜力。虽然存在挑战,但通过跨学科协作和技术创新,有望在未来 5-10 年内实现临床转化。特别在精准医疗和即时检测领域,该技术可能带来突破性进展。下一步研究需重点关注材料-生物界面相互作用机制,以及规模化生产的工艺优化。

参考文献:

- [1]韩雍,陈强强,张培婷.碳点在荧光检测领域的研究进展[J]. 化学试剂,2024,46(08):1-9.DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0212.
- [2]樊雪梅,王书民,李哲建,等.基于壳聚糖/Ru(bpy)₃~(2+)/SiO₂ 纳米粒子电化学发光传感器用于尿酸的检测[J].分析化学,2016,44(3):342-347.
- [3]Resch-Genger U, Grabolle M, Cavaliere-Jaricot S, Nitschke R, Nann T. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. *Nat Methods* 2008;5(9):763-75.
- [4]MU Zhao, HUA Jianhao, YANG Yaling. N, S, I Co-doped carbon dots for folic acid and temperature sensing and applied to cellular imaging[J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2020, 224: 117444-117452. DOI:10.1016/j.saa.2019.117444.
- [5]Ding C, Zhu A, Tian Y. Functional surface engineering of C-dots for fluorescent biosensing and in vivo bioimaging. *Acc Chem Res*. 2014;47:20-30.
- [6]梁帆.荧光碳量子点的制备及其对药物的检测[D].山东大学,2019.DOI:10.27284/d.cnki.gsxiu.2019.001185.
- [7]Liu CJ, Zhang P, Zhai XY, et al. Nano-carrier for gene delivery and bioimaging based on carbon dots with PEI-passivation enhanced fluorescence [J]. *Biomaterials*, 2012, 33: 3604-3613.
- [8]Hodes G. When small is different: some recent advances in concepts and applications of nanoscale phenomena [J]. *Adv Mater*,2007,19:639-655.
- [9]翟子卓,吕勇强,齐红霞,等.氮硫共掺杂荧光碳点的光热效应研究[J].光谱学与光谱分析,2023,43(S1):279-280.
- [10]Choi C A.Lee J E.Mazrad Z A I.Kim Y K.In I.Jeong J H. Park S Y.ChemMedChem,2018,13:1459-1468.
- [11]Liu CJ, Zhang P, Zhai XY, et al. Nano-carrier for gene delivery and bioimaging based on carbon dots with PEI-passivation enhanced fluorescence [J]. *Biomaterials*, 2012, 33: 3604-3613.
- [12]Sun Y P, Zhou B, Lin Y, et al. Quantum-sized carbon

- for bright and colorful photoluminescence [J]. J Am Chem Soc, 2014, 128(24): 7756–7764.
- [13] Lu J, Yang J X, Wang J Z, et al. ACS Nano, 2009, 3(8): 2367–2375
- [14] QU S, ZHOU D, LI D, et al. Toward efficient orange emissive carbon nanodots through conjugated sp²-domain controlling and surface charges engineering [J]. Advanced Materials, 2016, 28: 3516–3521.
- [15] WANG X, QU K, XU B, et al. Microwave assisted one-step green synthesis of cell-permeable multicolor photoluminescent carbon dots without surface passivation reagents [J]. Journal of Materials Chemistry, 2011, 21: 2445–2450.
- [16] XU M, HE G, LI Z, et al. A green heterogeneous synthesis of N-doped carbon dots and their photoluminescence applications in solid and aqueous states [J]. Nanoscale, 2014, 6: 10307–10315.
- [17] 陆亦菲. 新型比率型碳点荧光传感器的构建及应用 [D]. 宁波大学, 2022. DOI: 10.27256/d.cnki.gnbou.2022.000071.
- [18] 车望远, 杨焜, 李钊, 等. 基于荧光碳点的免疫荧光探针构建及其对大肠杆菌的特异性识别 [J]. 军事医学, 2016, 40(03): 202–206.
- [19] Yang CL, Deng WP, Liu HY, Ge SG, Yan M. Sensor Actuat B—Chem, 2015, 216: 286–292
- [20] 张铁军. A study on human serum albumin corona formed on photoluminescent carbon dots. 内蒙古自治区, 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院, 2020–06–20.
- [21] Kasibabu BS, D'souza SL, Jha S, et al. Imaging of bacterial and fungal cells using fluorescent carbon dots prepared from carica papaya juice [J]. J Fluoresc, 2015, 25(4): 803–810.
- [22] Nandi S, Ritenberg M, Jelinek R. Bacterial detection with amphiphilic carbon dots [J]. Analyst, 2015, 140 (12): 4232–4237.
- [23] 林鑫, 管凡夫, 温佳琳, 等. 二茂铁骨架系列三齿配体的合成及其在铈催化不对称氢化中的应用 [J]. 化学进展, 2020, 32(11): 1680–1696.
- [24] 唐苗苗. 荧光硅纳米颗粒探针在眼部疾病诊断与治疗方面的基础研究 [D]. 苏州大学, 2019.
- [25] 黄晚秋, 高苗苗, 徐源, 等. 多糖纳米载体的自组装制备途径及生物应用 [J]. 高分子通报, 2020, (10): 21–29.
- 作者简介:** 温文馨 (2002–), 女, 汉族, 河南省信阳市人, 学历: 本科, 单位: 包头医学院, 职位: 本科在读, 研究方向: 麻醉学。通讯作者: 卢怀民 (1978–), 男, 汉族, 内蒙古赤峰市人, 学历: 本科, 单位: 包头医学院, 职位: 副教授、副院长, 研究方向: 临床检验诊断学。
- 基金项目:** 国家级大学生创新创业训练计划项目“肠易检——食品中大肠杆菌快速检测先行者”(202510130007X)。