

## 稀土上转换荧光材料在即时检测中应用

尚云飞<sup>1#</sup>, 鲍国臣<sup>2#</sup>, 周佳佳<sup>3</sup>, 黄嘉良<sup>2</sup>, 杨春晖<sup>1</sup>, 金大勇<sup>3\*</sup>

(1. 哈尔滨工业大学化工与化学学院, 黑龙江 哈尔滨 150001; 2. 香港浸会大学化学系, 中国 香港; 3. 悉尼科技大学数学和物理科学学院, 澳大利亚 悉尼 2007)

摘要: 即时检测(Point of Care)技术在快速、灵敏、特异的检测疾病相关的生物因子中得到越来越多的关注。尤其是新兴的即时检测的平台的出现和推广,使得即时检测技术相比传统的诊断技术展现出巨大的优势。稀土上转换材料以其卓越的光学特性,在生物医学领域展现出巨大的潜力,是即时检测材料中冉冉升起的新星。从近年即时检测技术平台、稀土上转换材料等方面介绍了即时检测的发展,详细论述了检测试纸、智能手机和芯片实验室等检测平台、稀土上转换材料在即时检测中的应用。同时结合当前的市场分析,展望了稀土上转换材料在即时检测中未来发展的新趋势。

关键词: 即时检测; 检测试纸; 智能手机; 稀土探针; 上转换

中图分类号: R318.51; O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-4343(2018)02-0129-18

即时检测(Point of Care)技术在快速、灵敏、特异的检测疾病相关的生物因子中得到越来越多的关注<sup>[1]</sup>。对于疾病的检测技术,特别是即时检测技术的发展,极大改善着整个社会的医疗卫生水平<sup>[2]</sup>。过去,对于疾病的检测主要集中在医院或检验实验室。这不仅增加了疾病检测的成本,还需要长时间的等待,增加了患者的痛苦,耽误了疾病的即时救治<sup>[3]</sup>。尤其是某些疾病需要实时了解病情的发展,进而给出即时准确的治疗方案。显然,医院和检测实验室无法满足这些需求,而正是这种需求,促进了即时检测技术的发展。即时检测不但允许医生在病床旁、在手术室、还可以在急救室,甚至可以在车祸现场检查患者的病情。并且,不限于复杂的检测设备,快速简单的操作流程,即使不是专业的医生和技艺精湛的分析专家也能得到相应的诊断信息<sup>[4]</sup>。特别是一些即时诊断平台如检测试纸、智能手机和芯片实验室的出现和推广,使得即时检测技术相比传统的诊断技术展现出巨大的优势<sup>[5-6]</sup>。

稀土发光材料以其优越的光学特性,在即时检

测中的应用越来越受人们追捧。稀土金属的4f轨道受到外层5s和5p轨道的屏蔽作用,从而使稀土金属材料具有特征而尖锐荧光<sup>[7-10]</sup>。稀土材料的长荧光寿命(通常在微秒到毫秒)<sup>[11]</sup>,适用于时间分辨技术,可以将其信号与来自背景和样品的噪音区分开来<sup>[12]</sup>。特别是稀土上转换纳米荧光材料,可以将两个或多个低能量的光子转换为高能量的光子,在生物和医学应用中展现出多种优势,如无自荧光和光漂白的干扰,并且近红外的激发光源具有很好的组织穿透性<sup>[13-16]</sup>。稀土发光材料的这些光学特性使其在即时检测的应用中具有巨大的潜能。

本文重点介绍近年来稀土上转换荧光材料在即时检测中的发展和应用。首先介绍即时检测平台的发展,详细讨论目前应用较广并且依然具有巨大发展前景的检测试纸、智能手机和芯片实验室等检测平台;之后讨论近几年稀土发光材料在即时检测中发展以及即时检测产品目前的市场分析。我们相信,随着IT技术的飞速发展,5G网络时代的到来,通过与这些技术平台的融合,即时检

收稿日期: 2017-12-22; 修订日期: 2018-01-24

基金项目: 澳大利亚研究理事会(ARC)发现早期职业科学家奖计划(DE180100669); 澳大利亚研究理事会(ARC)未来研究金计划(FT130100517)资助

作者简介: 尚云飞(1994-),男,博士研究生; 鲍国臣(1988-),男,博士研究生; 研究方向: 有机荧光材料。#作者对文章具有同等贡献

\* 通讯联系人(E-mail: Dayong.Jin@uts.edu.au)

DOI: 10.11785/S1000-4343.20180201

测技术也会得到迅速发展,在改善人民的医疗卫生水平方面扮演重要角色。

## 1 即时检测的平台

即时检测不同于实验室内的检测,要在患处实地进行快速可靠的检测。因此,其对检测平台相比传统的实验室内检测有着特殊的要求:简单、轻便、不依赖复杂的设备。基于这方面考虑,我们重点介绍几种易于普及的即时检测平台,即检测试纸、智能手机和芯片实验室。

### 1.1 基于检测试纸的即时检测平台

检测试纸在即时检测,尤其在实地、远程诊断中的应用越来越流行。价格便宜、操作简单使其在医疗水平相对落后的国家和地区广受青睐。世界卫生组织对即时检测给出了标准,即低成本(Affordable)、高灵敏度(Sensitive)、高特异(Specific)、操作简单(User-friendly)、快速(Rapid)、可靠(Robust)、不依赖复杂仪器(Equipment free)、便于携带,也就是所谓的 ASSURED 标准<sup>[17]</sup>。检测试纸在检测和诊断方面的诸多优势使其成为满足 ASSURED 标准的良好材料。它的优点主要有:检测试纸生产简单,成本低廉;分析时只需要相对较少的样品量;检测试纸,包括侧向层析检测试纸,不需要额外的检测设备,通过纸张的纤维素成分产生的毛细管现象就可以将检测物的溶液与试纸充分接触;而且纤维素本身对与生物样本具有很好的兼容性,不会破坏样本;通过化学修饰手段可以对试纸表面进行多种官能团修饰,从而实现指示底物的掺入和固定;纸张易于焚烧,便于检测的危险生物样品的后续处理;纸张本身具有一定的过滤功能,这对于诸如血液制品类的检测物,可滤除影响检测的细胞、粒子等;另外,检测试纸可以整合多种检测底物,从而实现多种分析物的同时检测。得益于这些优势,检测试纸被应用于检测很多物质包括 DNA<sup>[18]</sup>,蛋白,抗原,小分子<sup>[5,19]</sup>。最简单的检测试纸是试纸条(test strip),也称作浸染棒(dipstick)。除此之外,还有侧向层析检测试纸(LFA, lateral flow assay)<sup>[20]</sup>,微流体检测试纸( $\mu$ PAD, microfluidic paper-based analytical device)

等广泛地应用于即时检测当中<sup>[21]</sup>。

试纸条是最简单的一类检测试纸。检测所用的指示材料预先掺入到多毛细孔试纸上,通过蘸取分析物溶液,被检测物与指示试剂接触发生物理或化学反应从而实现检测的目的。检测结果通常可以用肉眼观测到,通过与参照标准对比,从而获得检测样品的分析信息<sup>[5]</sup>。pH 试纸是实验室中最常见的一类试纸条,通过简单浸润到待测溶液,与参照标准进行比对,就可以快速得到溶液的酸碱度信息。医院常见的浸染棒是尿检条,用于检测尿液中的病理变化,从而为医生诊断疾病提供依据。

与试纸条相比,更为精确的检测试纸是侧向层析检测试纸<sup>[1]</sup>。侧向层析检测试纸通常同样不需要借助复杂昂贵的辅助设备。这种试纸被广泛地用于家庭中的即时诊断<sup>[22]</sup>,一个典型的例子就是验孕棒,其通过对尿液中酶变化的监测,可准确快速地指示出患者的妊娠信息。通常,侧向层析检测试纸包含 4 个部分,即样品签(sample pad)、结合签(conjugation pad)、检测签(detection pad)和吸收签(absorbent)<sup>[20]</sup>(图 1)。样品签是滴加分析样品的位置,通常由纤维素成分组成,其中包含检测所需的化学缓冲物质,当样品溶液滴加到样品签时,样品签可以滤除样品中的杂质。当样品通过结合签时,结合签中的标记物会与样品结合,从而使其带有相应的标记信号,如颜色等。当样品经过检测签时,被标记的分析物可以与固定在检测签上的识别物质特异性的结合从而显示分析信号。检测签通常包含一条检测线和一条对照线,检测线可以指示被检测物的信号,而对照线则可以排除失

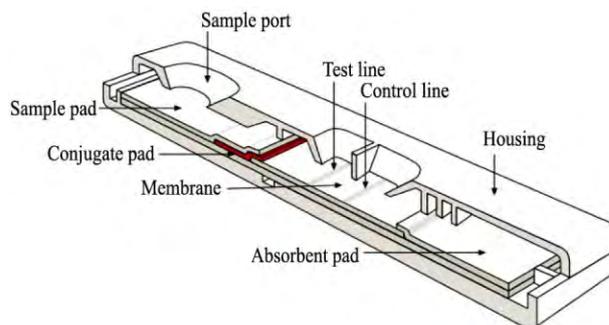


图 1 侧向层析检测试纸示意图

Fig. 1 Lateral flow assay

败的分析结果, 以确保得到真实的检测数据<sup>[5, 17, 19]</sup>。样品溶液的定向流动是末端的吸收签驱动的, 吸收签主要由纤维素构成, 通过毛细管作用驱使样品溶液从样品签向吸收签流动<sup>[17]</sup>。与试纸条相比, 侧向层析检测试纸可以滤除一些杂质对检测结果的干扰。与试纸条相同, 它仍受限于一步可以检测物质, 虽然近年来有用侧向层析检测试纸同时检测多种物质的报道<sup>[23]</sup>, 但大部分侧向层析检测试纸还停留在单一检测物的检测。

然而, 微流体检测试纸克服了试纸条和侧向层析检测试纸检测通量方面的不足。微流体检测试纸结合了检测试纸和流体控制技术的各自的优势。通过在试纸上构建亲水性通道, 借助毛细管效应, 可以将分析物溶液引入到不同的检测区域, 从而实现多种检测物的平行检测(图 2)<sup>[5, 24]</sup>。对于同一种疾病不同指标的同时检测, 可以快速地对患者的病情进行有效评估。得益于微流体检测试纸的多通道的分析, 使其变得越来越流行<sup>[25]</sup>。如今, 使用微流体检测试纸的即时检测探针在人体健康检查<sup>[19]</sup>、环境检测<sup>[21]</sup>、食品质量控制的方面有着广泛应用<sup>[21, 26]</sup>。

## 1.2 基于智能手机的即时检测平台

随着 IT 的迅速发展, 各种类型的电子设备不断智能化和小型化, 尤其是智能手机已经成为人们生活中不可缺少通讯、娱乐的工具。伴随着软硬件的快速发展, 智能手机得到迅速地普及并在生活中的各个领域扮演重要的角色。据估计, 到 2020 年, 智能手机的普及率将达到 80%<sup>[6]</sup>, 这将极大增加基于智能手机即时检测平台的推广。通常, 智能手机中装有几种重要的感应装置, 包括 CMOS 数码相机、声音感应设备、加速计等。这些感应器

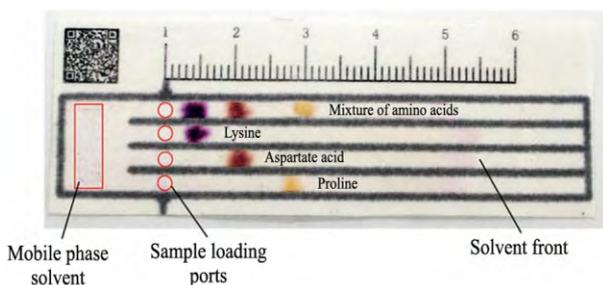


图 2 微流体检测试纸

Fig. 2 Microfluidic paper-based analytical device

使智能手机在成像、分析和诊断中具有广泛的应用。尤其借助于手机的计算、链接、数据传输等功能, 使得智能手机在即时诊断、实地检测中展现出巨大的应用潜力。目前, 智能机已经广泛地用于对人体健康数据的收集和评估。基于智能手机的成像和检测技术已经应用到环境监测、疾病诊断, 食品安全的多个领域<sup>[6, 19, 27-31]</sup>。近年来报道的利用智能手机的即时检测的技术平台主要有比色法 (colorimetric readers)、荧光显微成像法 (fluorescence microscopy) 和显微成像法 (bright-field microscopy)。

比色法是智能手机在即时检测中较为简单的一种应用。通过对分析物颜色种类和强度的分析, 得到定量的分析数据。也可与不同类型的检测试纸结合, 进行定量分析, 这大大弥补了检测试纸只能定性或半定量分析的不足<sup>[19]</sup>。Yagci 等报道了利用智能手机与侧向层析检测试纸结合(图 3(a)), 实现了快速定量地检测毒品可卡因<sup>[1]</sup>, 这两种检测平台操作简单, 便于携带, 它们的完美整合使其在实地检查如路边毒品、酒驾检查中具有很大的应用潜力。Luong 利用智能手机, 借助暗箱等简单的辅助设备(图 3(b)), 成功读取酶联免疫分析的比色数据, 并达到了与传统商业酶标仪同样的分析精度<sup>[32]</sup>。除此, 这种基于智能手机的比色法在即时检测中还有着广泛的用途, 如用于血液分析<sup>[27]</sup>、病原体筛查<sup>[19]</sup>、分泌物检查<sup>[33]</sup>等。

基于智能手机的荧光显微成像法是最普遍的一种成像分析方法。除了智能手机, 这种荧光方法通常需要固定支架(可由 3D 打印)、光源、放大镜及滤光片等组成(图 4)。固定支架将所有设备整合到一起并可调整样品位置、焦距从而达到最佳的成像效果。光源主要有 LED 和激光, 用于激发样品中的荧光标记物。有的设计中同时使用激光和 LED, 激光作为光源激发荧光标记物从而获得荧光成像, LED 用作背景光源以获得背景图像, 通过扣除背景处理, 得到更精确的分析数据。放大镜可以获得不同放大比例的图像, 而滤光片用于滤除激发光和发射光中的杂光, 增加图像的分辨率。智能手机的荧光显微成像法在病原体检测<sup>[30, 34-35]</sup>、细

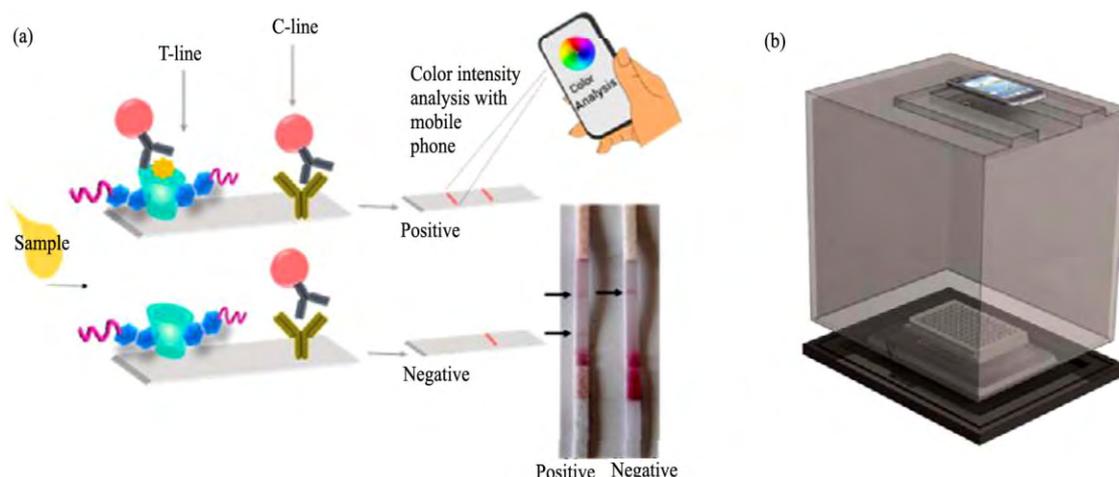


图3 (a) 智能手机与侧向层析检测试纸结合的定量分析可卡因, (b) 基于智能手机的比色法暗箱示意图

Fig. 3 (a) Quantitative analysis of cocaine based on smart-phone and Lateral flow test strip, (b) Dark hood of smartphone-based colorimetric reader

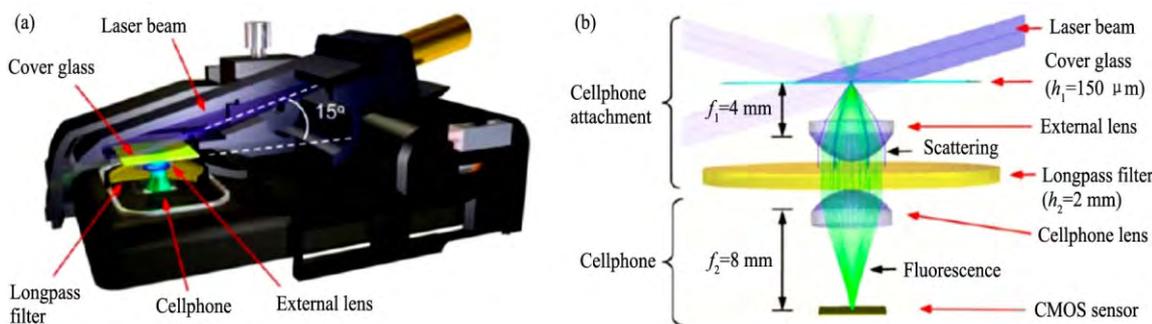


图4 (a) 基于智能手机的荧光显微成像组件; (b) 智能手机的荧光显微成像的示意图

Fig. 4 (a) Component of smartphone-based fluorescence microscope; (b) Ray-tracing diagram of the smartphone-based fluorescence microscope

胞计数<sup>[36]</sup>、细胞成像<sup>[37]</sup>、DNA 分析<sup>[29, 31, 38]</sup>中得到广泛应用。例如,通过监测标记有荧光物质的生物样品通过微通道的过程,Zhu 等<sup>[36]</sup>把智能手机荧光显微成像技术成功地用于细胞计数。Kuhnemund 等<sup>[38]</sup>借助双激光,利用智能手机荧光显微成像法实现了 DNA 的测序以及原位突变分析,这在即时诊断技术发展中具有里程碑的意义。Wei 等<sup>[37]</sup>首次实现了智能手机对单纳米颗粒的荧光成像。

还有一种基于智能手机的即时检测技术是智能手机显微成像法,这种方法用外置白光光源照射样品,光线通过聚焦透镜,再用智能手机上的摄像头进行显微成像(图 5)。这种低成本的设计被用于多种疾病病原体的筛查<sup>[39]</sup>。例如 Switz 等<sup>[40]</sup>报

道了利用智能手机显微成像法鉴别血液中的红细胞和白细胞,以及人体排泄物中的寄生虫卵。Fletcher 等将放大镜、LED 光源、USB、蓝牙、装有血液样品的毛细管等通过 3D 打印的支架与智能手机整合到一起,开发出用于分析罗阿罗阿丝虫病病原体的即时检测设备<sup>[28]</sup>。

### 1.3 基于芯片实验室的即时检测平台

除了智能手机,芯片实验室(Lab-on-chip)技术也在多种即时检测应用中崭露头角,并朝着低成本、小型化发展<sup>[41]</sup>。芯片实验室设备将样品处理、分离、标记、信号放大以及检测等多种功能整合到一个设备上,实现自动、快速的实验室外检测。尤其是与微流体结合的芯片实验室,也就是微流控芯片,近年来在即时检测中受到越来越多的重

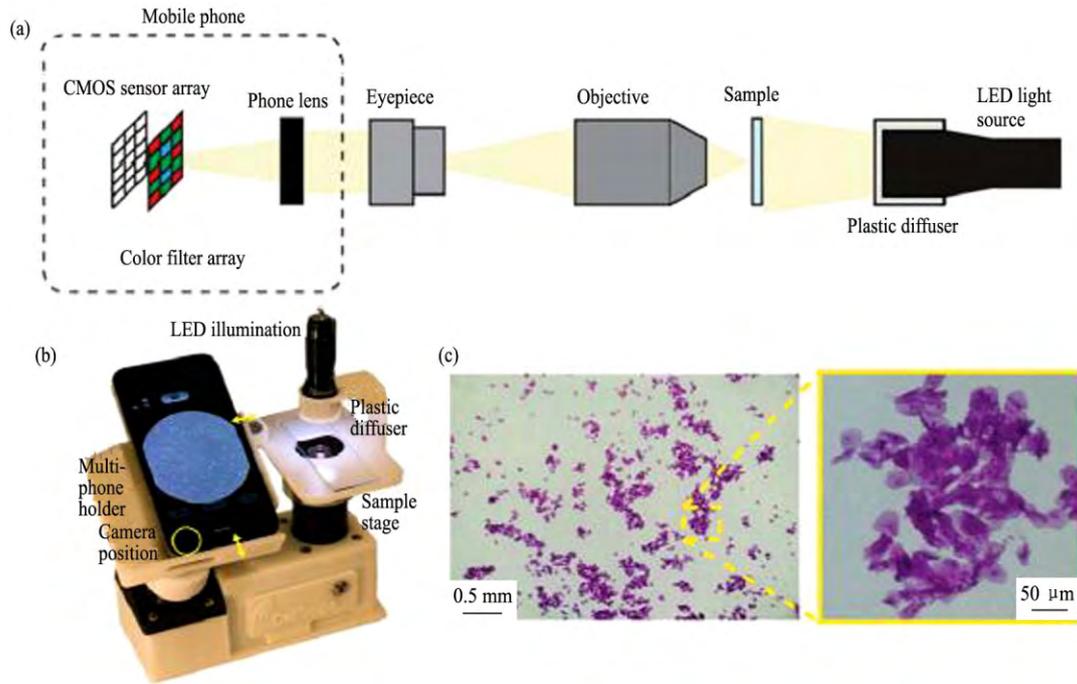


图5 (a) 基于智能手机的显微成像示意图, (b) 基于智能手机的显微成像组件, (c) 利用智能手机显微成像法获得的表皮细胞显微成像

Fig. 5 (a) Ray-tracing diagram of smartphone-based microscope, (b) Component of smartphone-based microscope, (c) Image of stained cheek epithelial cells obtained by smartphone-based microscope

视。例如, Chen 等<sup>[42]</sup>开发了一种整合的微流控芯片用于分析核酸相关的病原体。该微流控芯片将检测的多个环节整合到一起, 包括样品的分解、核酸的分离、多聚酶链式反应(PCR)、样品标记以及信号处理, 并不需要专业的人员, 利用这种一体化微流控芯片设备, 就可以得到准确的核酸相关病原体检测结果。

如图 6(a)<sup>[42]</sup>所示, 这种芯片由试剂储存槽 P1~P6、阀门 V1~V4、混合室、核酸分离室、预装有干燥试剂的 PCR 室、液体槽以及侧向层析试纸条等部件组成, 从而实现一体化核酸分析。Persichetti 等设计的一款用于分析液体样品的多功能芯片实验室设备(图 6(b))。该流体芯片设备适用于多波长荧光光谱和拉曼光谱。该检测平台成功地应用于多种分析物的检测, 如溶伊红, 维生素 B2 等。除了对溶液中检测物的定量分析, 该平台通过拉曼信号分析成功获得了水和乙醇混合液中各组分的准确比例<sup>[43]</sup>。Fan 等<sup>[44]</sup>将微流体检测试纸、电化学检测器和智能手机进行整合, 开发出用于分析神经元特异性烯醇化酶的芯片实验室(图 6(c))。

这种即时检测设备使用无线数据传输将获得的检测信号传导至手机并利用手机计算功能实时地显示检测物的含量。芯片实验室平台的一体化检测, 良好的用户体验, 使其在即时检测市场中具有巨大的前景。

除检测试纸、智能手机和芯片实验室外, 很对分析技术平台在即时诊断中同样有着应用潜力。尤其随着设备小型化、智能化的发展, 更多的设备平台将被用于即时检测当中。正是这些技术平台, 推动着即时检测的发展。而在这些检测技术中, 核心是检测探针, 也就是检测中所用到各种材料, 如反应底物, 标记物等等。传统的材料主要有有机染料、量子点等, 与传统材料相比, 稀土金属探针, 尤其是稀土上转换荧光材料, 以其优越的物理、化学、光学性质, 受到越来越多的重视。

## 2 稀土上转换荧光探针及其在体外即时检测中的应用

以简单试纸条、侧流层析检测(Lateral flow assay, LF)和微流控检测(microfluidic assay)等为代表

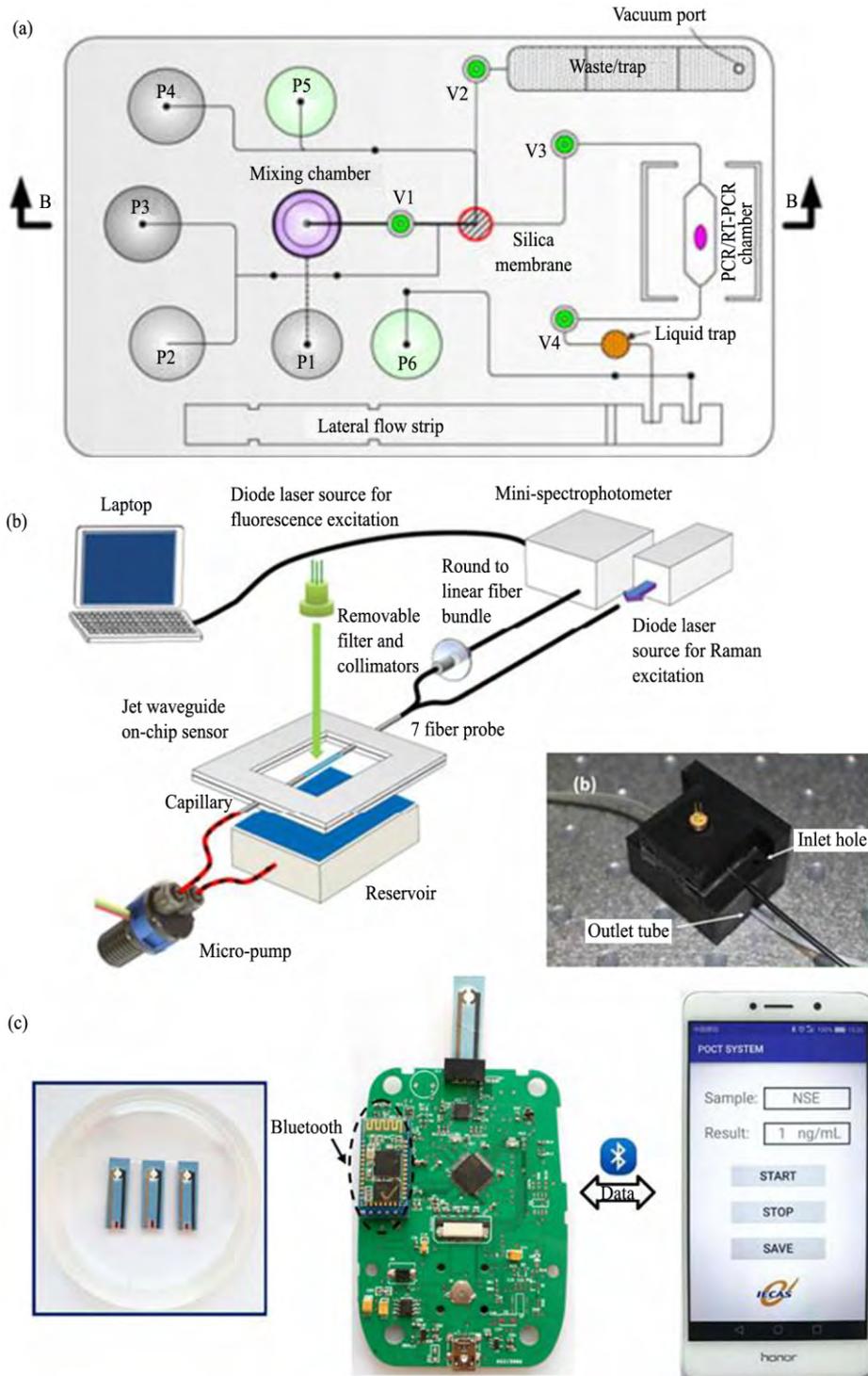


图 6 (a) 核酸分析微流控芯片, (b) 光流体芯片实验室平台示意图及实物图, (c) 神经元特异性烯醇化酶的芯片实验室的微流体检测试纸、电化学检测器以及智能机

Fig. 6 (a) Microfluidic lab-on chip for detection of nucleic acid, (b) Optofluidic lab-on-chip platform setup and its real image, (c) Neuron-specific enolase with microfluidic paper-based analytical devices, the electrochemical detector and the smartphone running application for the detection results

的即时诊断,操作更为方便,消除了对昂贵大型专业设备和专业操作人员的需求。同时,由于稀土上

转换荧光探针在检测灵敏度、信噪比和多通路等方面的优势,能够有效替代有机染料、量子点、金

纳米颗粒等探针标记物,并在检测极限、信号输出、保质期和稳定性等方面的性能都有很大程度的提升,因此成为了近年来的研究热点。下文针对目前上转换材料在即时诊断中的应用进行了概述:

稀土上转换荧光材料,因其能连续吸收两个或多个长波长光子,然后发射出一个短波长光子,具有较大的反斯托克斯位移(eg: Yb-Er/Tm/Ho, 近红外区激发可见区发射,图 7(c)),相比传统有机染料、金纳米颗粒和量子点而言,激发光源和发射波段无重叠,且可有效抑制自体荧光,能够显著提高检测信号的信噪比<sup>[45-47]</sup>(图 7(a,b))。此外,稀土上转换荧光材料还具备光学稳定性好、发射波长范围宽、寿命可调等优点,从而在生物分析检测中引起了广泛的关注<sup>[48-50]</sup>。

目前稀土上转换纳米材料的常规合成方法包括:热分解法、水热/溶剂热法、沉淀法、溶胶-凝胶法、高温固相法、微乳液法等<sup>[49,51-53]</sup>。总体而言,合成方法向着更便捷,产物形貌更均一、可

控,尺寸纳米化方向发展,尤其是在生物应用中,更是对尺寸和形貌有着严格的要求(图 7(d~i))<sup>[54-58]</sup>。而由于稀土上转换荧光纳米材料的比表面积较大,表面掺杂离子的相对浓度较高,易受表面杂质、配体以及溶剂的影响,导致其上转换发光效率低于块体材料<sup>[59]</sup>。为了抑制这种内部激发能量转移到颗粒表面引起的荧光猝灭,提高上转换发光效率,通常采用表面钝化壳层包覆的方式从空间上阻断能量向外传递<sup>[60-63]</sup>。这种惰性壳层包覆的方法使得上转换发光强度有了不同程度的提升(图 7(k))<sup>[64]</sup>,并在不同的基质中得以证实,如:NaReF<sub>4</sub>(Re = Y/Lu/Gd),KReF<sub>4</sub>(Re = Y/Lu),ReF<sub>3</sub>(Re = Y/La),BaLaF<sub>5</sub>,YOF,SrF<sub>2</sub>,CaF<sub>2</sub>等<sup>[60-61]</sup>。

由于单纯的稀土上转换荧光材料在检测过程中并不具备选择性,因此在使用前需要进行表面修饰或表面功能化,以便与具备选择性识别功能的基团或分子结合,从而具备特异性识别功能<sup>[5]</sup>。目前,常见的表面功能化的方法包括:表面配体氧化法、

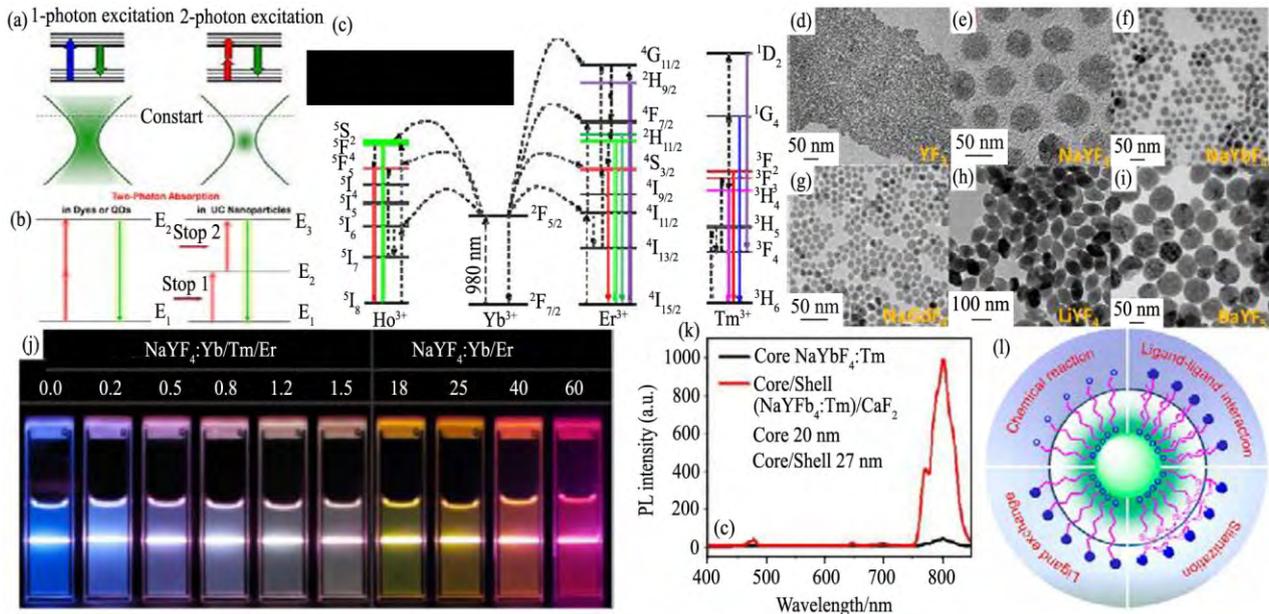


图 7 (a) 单光子和双光子荧光过程及其荧光检测对比度示意图, (b) 有机染料、量子点、上转换材料中的双光子过程示意图, (c) Yb-Er/Tm/Ho 上转换荧光能级示意图, (d~i) 不同基质材料的上转换纳米颗粒的 TEM 照片, (j) 不同掺杂离子的上转换荧光实物照片, (k) 上转换纳米颗粒包覆惰性壳层前后的荧光光谱; (l) 上转换纳米颗粒表面修饰方法

Fig. 7 (a) the excitation process and fluorescence emission comparison of single-photon and two-photon, (b) two-photon absorption in dyes or QDs Versus UC nanoparticles, (c) Simplified energy level diagram and proposed mechanism for UC of 980 nm photons in Yb<sup>3+</sup>-Ho<sup>3+</sup>/Yb<sup>3+</sup>-Er<sup>3+</sup>/Yb<sup>3+</sup>-Tm<sup>3+</sup> system, (d~i) the TEM images of YF<sub>3</sub>, NaYF<sub>4</sub>, NaYbF<sub>4</sub>, NaGdF<sub>4</sub>, LiYF<sub>4</sub>, BaYF<sub>3</sub> nanoparticles, (j) Photographs of upconversion luminescence with various doping concentration and different ion pairs, (k) UC emission intensity of NaYbF<sub>4</sub>:Tm nanoparticles with and without inert shell, (l) Surface modification methods of UC nanoparticles

表面配体交换法、SiO<sub>2</sub> 包覆法、层层自组装包覆法等<sup>[5 51 65]</sup>。

### 2.1 基于上转换探针标记的试纸条——灵敏、便捷

将上转换探针应用到最简单的试纸条中,反应灵敏、信噪比高,在定性和半定量分析上有着广泛的应用。Achatz 等<sup>[66]</sup>报道了一种 NaYF<sub>4</sub>:Yb,Tm 纳米颗粒与铱金属配合物 Ir(CS)<sub>2</sub>(acac)结合的探针,由于铱金属配合物的吸收波段与 NaYF<sub>4</sub>:Yb,Tm 的两个短波段发射峰有重叠,当有氧气存在时将发生肉眼可见的上转换纳米颗粒荧光猝灭,与传统荧光物质检测系统相比,在信噪比和反应速度上有着明显的优势。而将上转换探针试纸和智能数码产品结合可以进一步获取更加准确和清晰的结果,如 Meier 等<sup>[67]</sup>将上转换纳米颗粒和比色 pH 指示剂镶嵌到质子渗透水凝胶基质中,然后将其做成试纸。用 Er<sup>3+</sup> 在红光波段处的荧光发射作为参比内标,通过处理数码相机的图片可以得出 pH 值的 2D 成像分布情况。类似的,Mei 等<sup>[68]</sup>将上转换探针试纸和智能手机的相机结合,可以清晰的对福美双农药进行高选择性探测。诸如,上转换探针试纸在氧分子、pH 以及金属离子和有机小分子<sup>[69]</sup>等方面的检测,结果可靠、反应灵敏、输出模式便捷,可用于与疾病相关的内环境改变检测,为患者提供更为便捷、准确的检测手段。

### 2.2 基于抗原-抗体免疫结合的上转换探针侧流层析检测——精确、高效

在基于抗原-抗体免疫结合的上转换探针侧流层析检测中,抗原-抗体对能够与靶向物质特异性识别,而作为标记物的上转换荧光材料因其具备较高的信噪比和较低检测限,所以在检测低浓度样品时,优势更为突出。如,Qu 等<sup>[70]</sup>将上转换粒子与抗普鲁氏菌 M55009 免疫球蛋白耦合作为标记物检测普鲁氏菌,其灵敏度达  $2 \times 10^3$  CFU·mg<sup>-1</sup>; Yan 等<sup>[71]</sup>在双抗体夹心法中使用 NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er 纳米颗粒作为标记物检测鼠疫杆菌,在 980 nm 激光器激发下,通过计算检测线和质控线上的发光强度之比,可得出鼠疫杆菌的具体数值。整个检测过程仅需要 30 min,而且检测限降低至  $10^4$  CFU·mL<sup>-1</sup>。此外,上转换荧光探针还在麻风病<sup>[72]</sup>、呼吸道合胞体病

毒感染<sup>[73]</sup>、血吸虫病<sup>[74]</sup>等疾病的检测中起到快速、高效、精确的诊断效果,为即时便捷诊断提供了新思路<sup>[5 75]</sup>。

使用不同离子对的掺杂,实现单一波长激发、多色输出,或者同一种粒子上修饰多种抗原-抗体对,为上转换荧光探针的多通路检测提供了可能。例如,Hong 等<sup>[76]</sup>使用上转换荧光材料标记物开发了一种十通道检测试纸盘,通过对不同的抗体进行标记,采用同步均匀多重层析,实现了一个样品 10 种重要蛋白相关抗体的同步检测(图 8(a))。而 Liang 等<sup>[77]</sup>通过 Li<sup>+</sup> 和 K<sup>+</sup> 的掺杂使得 NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er 纳米颗粒的绿光和红光发射分别增强了 7 倍和 10 倍,在层流层析检测中实现了对鼠疫杆菌和类鼻疽伯克氏菌的同时双靶向物质无干扰检测(Yersinia pestis and Burkholderia pseudomallei),且检测灵敏度达  $10^3$  CFU·test。You 等<sup>[78]</sup>首先通过惰性壳层包覆实现了 Yb-Er 体系绿光的 8 倍增强,Yb-Tm 体系蓝光的 3 倍增强,然后将这两种核壳结构的上转换纳米颗粒作为探针在一张试纸上同时定量检测与心力衰竭相关的两种靶向物质(脑钠肽和肿瘤抑制 suppression of tumorigenicity 2),使其的检测限分别达到  $5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,比临床临界值(clinical cutoff)低一个数量级。此外,还建立了智能手机及与之对应的分析应用软件,能够确保快速、准确、方便的读取测试结果,并进行分析(图 8(b~f))。

在此类检测过程中,主要通过采集检测线和质控线的上转换荧光信号对病变的细胞或者与疾病相关的物质进行检测,由于近红外激光高选择性的激发上转换荧光标记物,使得检测信号只来源于上转换荧光探针,因此保证了侧流层析检测的可靠性与可信度,具有较好的商业化前景。然而,这种检测一般是针对疾病发生后的物质进行检测,对遗传性和传染性疾病的早期诊断则显得略有不足,因此研究者们开始寻找新型特异性结合物质,在更加精细的层面进行早期诊断。

### 2.3 基于核酸链特异性结合的上转换探针检测——早期诊断

因能够对 DNA/RNA/蛋白质水平的待测物进行精准的检测,以核酸链作为特异性结合物质、荧

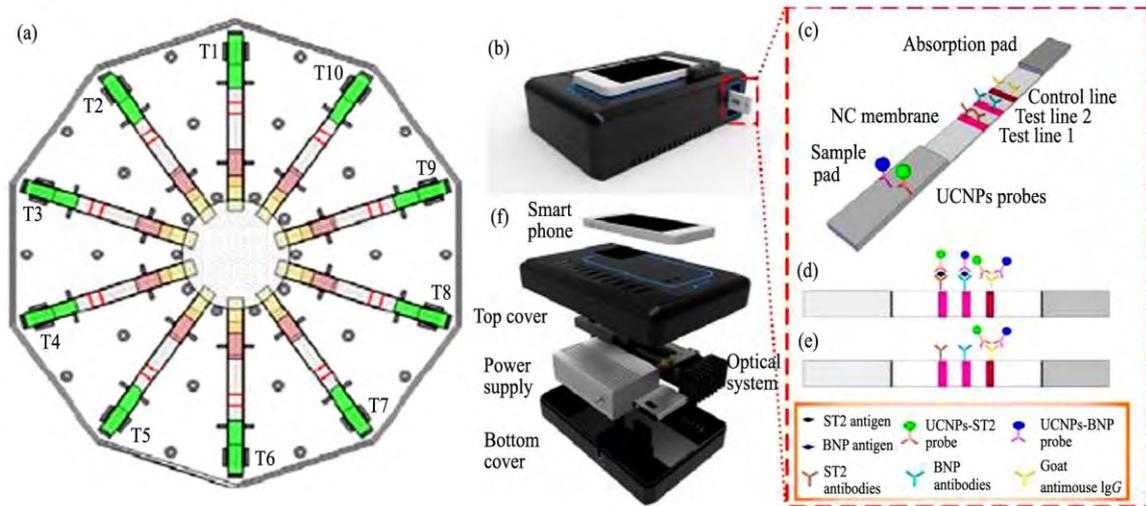


图8 (a) 基于上转换荧光纳米颗粒标记的十通道检测试纸盘, (b~f) 与智能手机联用的基于上转换荧光标记的家用心衰衰竭预防检测试纸

Fig. 8 (a) the sketch map of 10 strip-holding channels TC-UPT-LF disc, (b~f) Schematic illustration of household fluorescent LFS platform (The multiplexed UC-LFS platform integrating (b) a smartphone-based portable reader and (c) a dual-color UCNPs-based LFS; (d) When two analytes of BNP and ST2 are present in a sample, the dual-color UCNPs would be captured in two test lines, respectively; (e) Otherwise, no UCNPs would be trapped in test lines. Dual-color UCNPs would be captured in control lines in two cases; (f) The details of smartphone-based reader are displayed in the enlarged view)

光能量共振转移为检测原理的稀土上转换检测技术在近年来发展迅猛。与抗原-抗体免疫结合类似,单链 DNA 或 RNA 链的杂化具有高效、高特异性等性质,因此常被称为“化学抗体”。而与常规抗体相比,核酸链具有设计灵活、易于化学合成和修饰、成本低廉、生物化学稳定性高等优点,在生物分析检测等领域有着广泛的应用。在检测中,上转换纳米粒子作为荧光能量共振转移的供体,有机染料(四甲基罗丹明、SYBR Green I 荧光染料、Alexa Fluor 系列荧光染料等)、DNA 或无机粒子(量子点、下转换颗粒或石墨烯等)作为受体,当靶向物质存在时,供体和受体距离缩短,发生能量传递使得上转换荧光发生猝灭(图9(a))。或者在检测前,上转换纳米颗粒与受体的距离足够近( $< 10$  nm),供体和受体之间发生能量传递,使得上转换纳米颗粒的荧光被猝灭,当与检测物质结合时,这种能量传递过程被打断,荧光发射恢复(图9(b))。通过荧光强度的检测,即可得出检测物质的浓度,相比于抗原-抗体结合的检测,基于荧光能量共振转移的上转换探针检测技术能够针对小

分子物质进行检测,而且通过检测前后信号的变化进行微量分析,因此灵敏度更高,而且更适用于遗传性和传染性疾病的早期诊断<sup>[79-80]</sup>。

在不同的检测环境中,可以通过改变荧光能量共振转移受体的种类,进而拓展该检测技术的应用领域。如, Krull 等首次将亲和素修饰的  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}, \text{Er}$  上转换纳米颗粒吸附到纤维素试纸上,当引入生物素化的核酸链探针时,上转换纳米颗粒将被固定的 DNA 分子链捕获,而目标核酸链被  $\text{Cy}3$ <sup>[81]</sup> 或  $\text{Cy}5.5$ <sup>[82]</sup> 染料标记,  $\text{Er}^{3+}$  的绿光发射峰和  $\text{Cy}3$  染料的发射峰强度将随着目标 DNA 分子链的量而发生改变,从而使靶向物质的检测限达  $34$  fmol。基于量子点相比于分子荧光团在宽带吸收和强吸收的优势<sup>[83]</sup>,该课题组在上转换探针供体体系引入量子点作为能量供体,通过核酸分子的杂化,实现了近红外激发量子点发射,获得了  $13$  fmol 的检测限,比  $\text{Cy}3$  染料分子受体降低了  $3$  倍<sup>[84]</sup>。Wang 等<sup>[85]</sup> 同样以  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}, \text{Er}$  纳米颗粒作为能量供体,使用纳米金作为能量受体,建立了荧光能量共振转移体系,通过生物素与亲和素的识

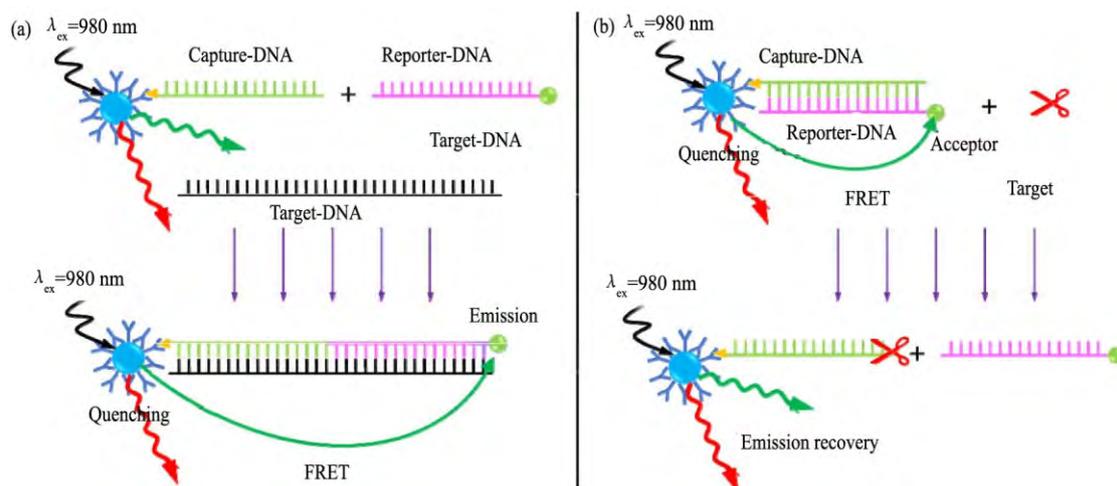


图9 两种基于核酸链特异性结合的上转换荧光能量共振转移探针检测技术示意图

Fig.9 Two different schematics representation of a sensor based on LRET mechanism between a donor (UCNP) and an acceptor (e.g. QD)

别将上转换纳米颗粒与金纳米颗粒进行偶联,致使  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  纳米颗粒在 540 nm 处的荧光发生猝灭,从而构筑了痕量亲和素的检测方法。Jorge Rubio-Retama 组<sup>[86]</sup>通过使用 ssDNA 功能化的  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}@ \text{SiO}_2$  纳米颗粒作为传感器检测目标序列核酸链的存在(图 10(a~c)),目标序列的核酸链越多,被“井”捕获的生物素功能化的上转换颗粒就越多,每个“井”的荧光信号就会越强,经标定可达  $10^{-17}$  moles $\cdot$ well $^{-1}$  的检测限,此外线性范围达 4 个数量级。类似的,Alonso 等<sup>[87]</sup>基于上转换纳米颗粒和氧化石墨烯的共振能量转移构建了高灵敏度的 DNA 传感器。上转换纳米颗粒表面的单链 DNA 可以与氧化石墨烯结合使得上转换发光被猝灭,当靶向 DNA 存在时,上转换纳米颗粒表面的 DNA 单链与靶标物杂交形成双链,氧化石墨烯与上转换颗粒分离,上转换的发光恢复,实现对 DNA 的检测。

为了更加准确的在癌症早期进行诊断, Hu 等<sup>[88]</sup>开发了一种用于检测癌症相关的 mRNA 的上转换荧光探针生物芯片(图 10(d)所示),该芯片通过探测多波段激发上转换荧光探针( $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb,Er/Tm}@ \text{NaYF}_4:\text{Yb}@ \text{NaNdF}_4:\text{Yb}@ \text{NaYF}_4:\text{Yb}$ )的信号能够同时高效检测生物样本中两种与癌症相关的 mRNA。当样品中没有靶向 mRNA 时,上转换纳米颗粒与基底上的氧化石墨烯发生强烈的荧光能量共振转移,在两个波段(808 和 980 nm)分

别激发下,信号都很弱,当存在靶向 mRNA 时,两种上转换探针可在不同波段激发下发射不同颜色的荧光,分别代表相应的靶向 mRNA 时,从而实现肉眼可辨的两种靶向物质的检测。Doughan 等<sup>[89]</sup>通过采用  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Tm}$  上转换纳米颗粒作为能量供体,使用 3 种不同颜色发射的量子点作为能量受体,构筑了多通路复用检测试纸,通过使用荧光显微镜和带通滤光片检测对应上转换纳米颗粒和不同颜色量子点的发射峰,从而对血清中的 uidA, Stx1A 和 tetA 基因片段进行检测,检测限分别达 26, 56, 76 fmol。

#### 2.4 上转换探针在微流控芯片及其他与疾病相关的物检测中的应用

此外,微流控芯片技术为上转换荧光探针的多通路检测提供了另一种思路,该技术使用微型芯片作为反应的载体,应用酶联免疫吸附分析、抗原-抗体免疫吸附、核酸适配体特异性结合等方法,实现标记物与检测靶向物质在不同区域结合和检测。Chen 等<sup>[90]</sup>开发了一种以上转换荧光探针为标识物的微流控系统,该系统能够检测蜡样芽孢杆菌,其检测限达  $10^6$  CFU $\cdot$ mL $^{-1}$ 。而后该课题组又开发了一系列一次性检测多种感染病毒的微流控系统<sup>[91]</sup>。He 等<sup>[92]</sup>将上转换发光纳米粒子固定在微流控纸芯片上,并且在纳米颗粒表面上连接标记有四甲基罗丹明 A 的肽链(图 11(a)),由于四甲

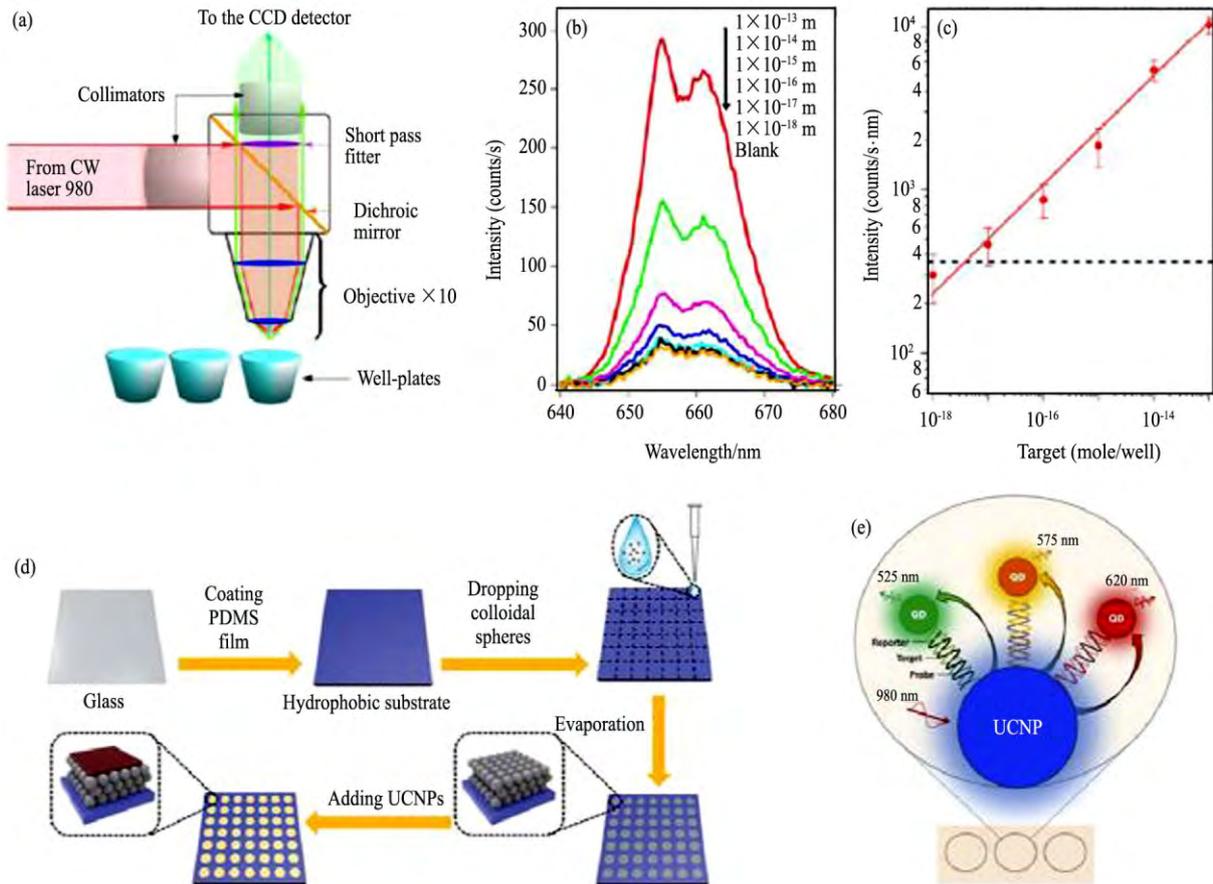


图 10 基于核酸链特异性结合的上转换探针在“井”状阵列 (a~c); 芯片 (d); 多模态检测试纸 (e) 中的应用

Fig. 10 Application of upconversion probes in well plates (a~c), chip assay (d), multiplexed detection test paper (e) which based on Nucleic acid chain specific binding

基罗丹明 A 与上转换粒子之间会发生荧光能量共振转移, 所以最开始上转换纳米粒子会产生荧光猝灭, 但是在基质蛋白酶-2 (MMP-2) 存在的情况下, 肽链断开, 上转换荧光恢复, 以此来实现 MMP-2 的检测。相比而言, 上转换荧光探针微流控芯片, 尤其是纸基芯片, 制作过程简单, 价格低廉, 测试过程中仅需要少量的样品和试剂, 并且具有高的灵敏度 (达  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  级别)。

除了上述的各类检测方法, 上转换荧光探针在微生物病原体、细胞产物 (激素等)、核酸链等方面有着广泛的应用。如 Hans 等使用上转换纳米颗粒 ( $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$ ) 作为标记物在微量滴定板免疫检测中实现了前列腺癌特异性抗原的 (PSA) 的检测, 而且在血清样品中检测限达  $1.2 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  ( $42 \text{ fmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 比传统的酶联免疫吸附检测技术的检

测限低 10 倍, 此外浓度线性检测范围达 3 个数量级<sup>[93]</sup>。Guo 等<sup>[94]</sup> 构筑了基于上转换荧光材料和核酸链结合的电致化学发光适配体传感器, 实现了对环境雌激素双酚 A 的检测。王周平教授课题组<sup>[95]</sup> 则报道了多色上转换发光颗粒 ( $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$  与  $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}$ ) 对多组分毒素物质的同时标记和检测研究。检测中, 将上转换荧光材料标记的核酸链作为显示探针, 功能化的磁性材料作为捕获探针, 实现了对鼠伤寒沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的同时检测。类似的, Kale 等<sup>[96]</sup> 用  $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$  和  $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}$  上转换纳米颗粒构筑了一个双模态多通路复用的免疫分析检测阵列 (图 11 (b)), 能够通过荧光颜色的不同对血清中 IgG 和 IgM 抗体进行同步检测, 从而实现 A 型流行性感冒和腺病毒的检测。

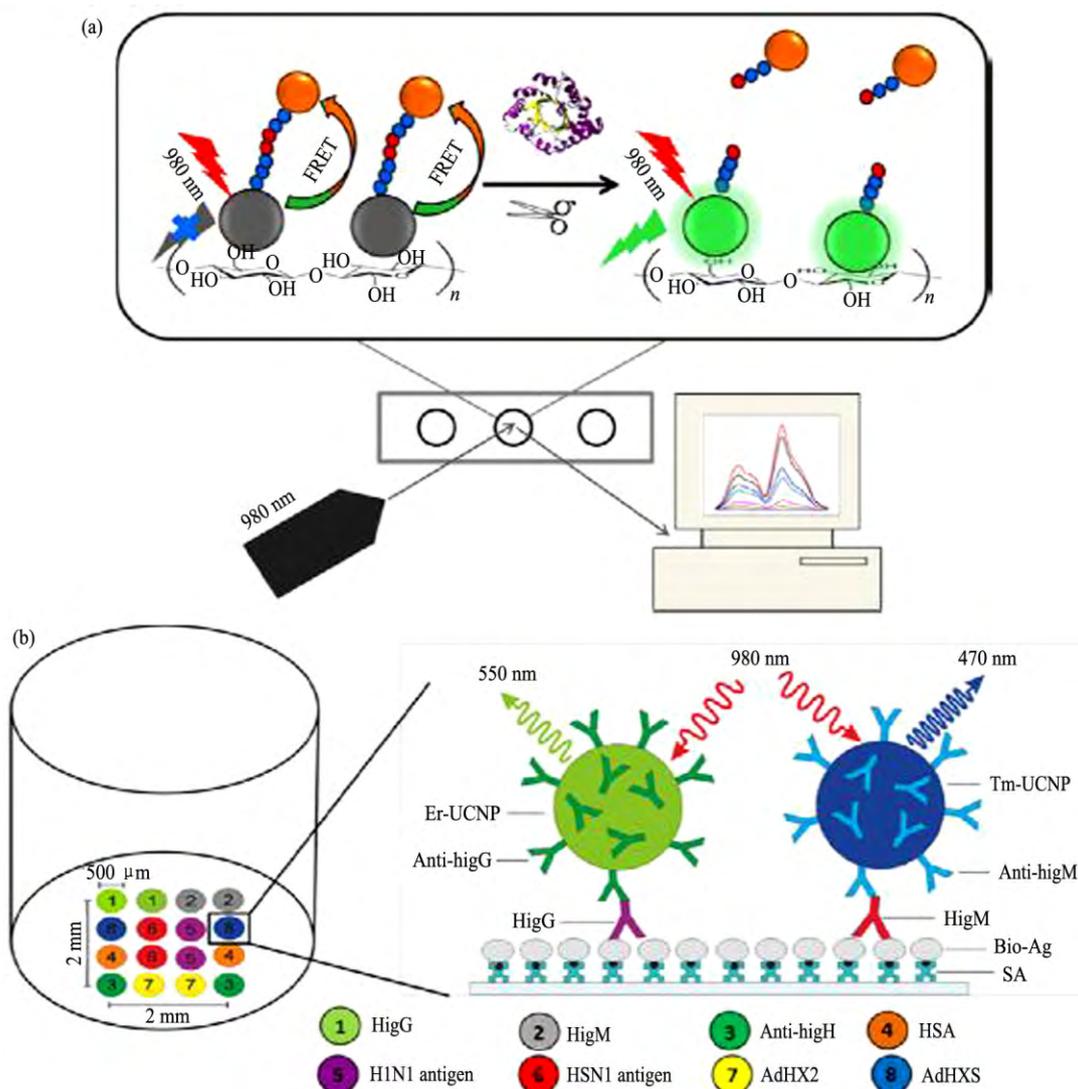


图 11 (a) 纸基上转换荧光探针微流控检测系统示意图, (b) 多模态阵列检测系统示意图

Fig. 11 (a) Schematic illustration of the UC- $\mu$ PAD for the MMP-2 assay, (b) Schematic principle of the spectrally and spatially multiplexed array-in-well immunoassay showing the array layout with viral antigen (H1N1, H5N1, AdHX2, and AdHX5), positive control (hIgG, hIgM, and anti-hIgG) and negative control (HSA) spots

### 3 市场与前景预测

随着经济的持续发展,人们对健康和医疗的关注度不断增加,政府对医疗方面的投入也呈现一直增长的态势。医学模式已从单纯的治疗转向预防、保健、治疗和康复,医院工作也由院内医疗扩大到院外社区,传统的医院检验科的模式不适合这种变化。而体外即时检测诊断技术的发展,以其准确性、便携性、可操作性等优势能够满足目前医疗模式的转变和医疗市场的需求。尤其是在与生活方式相关的慢性病检测和私人诊疗中心的检测中,即时

检测更是以其快捷方便的优点备受欢迎。例如,商业化小型便携式检测仪在糖尿病检测、血气分析、心脏标识物检测、感染因子检测、妊娠检测、传染病检测、癌症相关物质检测,以及特殊情况下的即时检测治疗等方面受到了良好的评价,商业需求不断扩大。随着与智能平台的联用,即时诊断又迎来了一个新的发展高峰。便携式的设备为随时随地的健康监测提供了可能,而智能化平台则可及时记录分析检测结果,为建立包括日常保健、疾病的预警和病后康复治疗等在内的健康管理平台提供了强大的技术保障。

然而,传统即时诊断技术在临床应用中易受样品中其他物质的干扰(粘度、散射、键合等),对检测结果的准确性造成一定的误差,甚至导致误诊。例如,OraQuick At-Home HIV test 即时诊断设备(已被美国食品及药物管理局所认可)在检测艾滋病病毒时,只有92%的灵敏度,理论上在每12个艾滋病携带者的检测中就会出现一例伪阴性。因此,需要开发抗干扰能力更强、灵敏度更高的新型技术。其中,上转换荧光探针因其具备高稳定性、高敏感性、高信噪比而备受青睐,目前 OraSure 科技公司开发的基于上转换探针的免疫层析技术已在美国军队中进行使用,并正在与德尔格安全设备公司(Drager safety AG and Co. KGaA)合作进一步开发欧洲市场。芬兰的 Labrox 和 Hidex 公司已开始为微量滴定板和测流层析检测技术提供上转换荧光探针专用的数字化显示读出设备<sup>[97]</sup>。这类检测所用的平台与传统即时检测技术类似,却具备更加灵敏、高效、精确等优势,相信基于高灵敏度的上转换荧光探针检测试纸和便携式智能检测设备将在即时诊断的未来市场中大放异彩。

## 4 结 语

作为即时诊断技术的核心,包括有机荧光分子、量子点、金纳米颗粒、稀土上转换纳米颗粒等在内的荧光探针发展迅速。其中,稀土上转换荧光探针因其信噪比高、灵敏度高、简便快捷、适用范围广等优点,而在即时诊断中备受关注,然而目前还存在一些问题有待解决:

1. 稀土上转换纳米材料的发光效率低,并且随着颗粒尺寸的减小,发光效率进一步降低,限制了其在分析检测中的应用。针对这一缺陷,可通过惰性壳层的包覆降低表面缺陷带来的荧光猝灭,或通过合适的近红外染料结合增强其吸收能力,从而增强上转换荧光发射效率。

2. 为了提高稀土上转换纳米材料的水溶性并实现核酸链、抗原/抗体等选择性物质结合,需对材料进行表面修饰,然而在纳米颗粒表面上对修饰的配体进行定量调控仍是一个挑战,因此给即时诊断设备的规模化生产和产品的稳定性带来一些不确

定性。

3. 基于抗原-抗体对或核酸适配链结合的检测技术,在实验室中对标样的检测灵敏度较高,检测限很低,但受限于实际待测样本和检测环境的复杂性,在应用中检测限将受到一定的影响,因此仍需进一步开发高特异性、高稳定性的适配链。

随着这些问题的解决和完善,稀土上转换纳米材料将会进一步提高检测灵敏度、扩展更宽的检测对象范围,在智能设备和互联网大数据时代,提供更加及时而全面的疾病预防和诊断服务。

## 参考文献:

- [1] Guler E, Yilmaz Sengel T, Gumus Z P, Arslan M, Coskunol H, Timur S, Yagci Y. Mobile phone sensing of cocaine in a lateral flow assay combined with a biomimetic material [J]. *Anal. Chem.*, 2017, 89(18): 9629.
- [2] St John A, Price C P. Existing and emerging technologies for point-of-care testing [J]. *Clin. Biochem. Rev.*, 2014, 35(3): 155.
- [3] Nayak S, Blumenfeld N R, Laksanasopin T, Sia S K. Point-of-Care Diagnostics: Recent developments in a connected age [J]. *Anal. Chem.*, 2017, 89(1): 102.
- [4] Joh D Y, Hucknall A M, Wei Q, Mason K A, Lund M L, Fontes C M, Hill R T, Blair R, Zimmers Z, Achar R K, Tseng D, Gordan R, Freemark M, Ozcan A, Chilkoti A. Inkjet-printed point-of-care immunoassay on a nanoscale polymer brush enables subpicomolar detection of analytes in blood [J]. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 2017, 114(34): 7054.
- [5] Ju Q, Noor M O, Krull U J. Paper-based biodetection using luminescent nanoparticles [J]. *Analyst*, 2016, 141(10): 2838.
- [6] Koydemir H C, Ozcan A. Mobile phones create new opportunities for microbiology research and clinical applications [J]. *Future Microbiol.*, 2017, 12: 641.
- [7] Eliseeva S V, Bunzli J C. Lanthanide luminescence for functional materials and bio-sciences [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2010, 39(1): 189.
- [8] Back M, Marin R, Franceschin M, Sfar Hancha N, Enrichi F, Trave E, Polizzi S. Energy transfer in color-tunable water-dispersible Tb-Eu codoped CaF<sub>2</sub> nanocrystals [J]. *J. Mater. Chem. C*, 2016, 4(9): 1906.
- [9] Hatanaka M, Hirai Y, Kitagawa Y, Nakanishi T, Haseg-

- awa Y, Morokuma K. Organic linkers control the thermosensitivity of the emission intensities from Tb( iii) and Eu( iii) in a chameleon polymer [J]. Chem. Sci., 2017, 8( 1): 423.
- [10] Rao X, Song T, Gao J, Cui Y, Yang Y, Wu C, Chen B, Qian G. A highly sensitive mixed lanthanide metal-organic framework self-calibrated luminescent thermometer [J]. J. Am. Chem. Soc., 2013, 135( 41): 15559.
- [11] Bortoluzzi M, Bianchin E, Roppa S, Bertolasi V, Enrichi F. Yttrium and lanthanide complexes of beta-dialdehydes: synthesis, characterization and luminescence of coordination compounds with the conjugate base of nitromalonialdehyde [J]. Dalton Trans., 2014, 43( 26): 10120.
- [12] Díaz S A, Lasarte Aragonés G, Buckhout-White S, Qiu X, Oh E, Susumu K, Melinger J S, Huston A L, Hildebrandt N, Medintz I L. Bridging lanthanide to quantum dot energy transfer with a short-lifetime organic dye [J]. J. Phys. Chem. Lett., 2017, 8( 10): 2182.
- [13] Chen G Y, Shao W, Valiev R R, Ohulchanskyy T Y, He G S, Ågren H, Prasad P N. Efficient broadband upconversion of near-infrared light in dye-sensitized core/shell nanocrystals [J]. Adv. Opt. Mater., 2016, 4( 11): 1760.
- [14] Peng J, Samanta A, Zeng X, Han S, Wang L, Su D, Loong D T, Kang N Y, Park S J, All A H, Jiang W, Yuan L, Liu X, Chang Y T. Real-time *in vivo* hepatotoxicity monitoring through chromophore-conjugated photon-upconverting nanoprobe [J]. Angew. Chem., 2017.
- [15] Zhou J J, Chen G X, Zhu Y B, Huo L L, Mao W, Zou D N, Sun X W, Wu E, Zeng H P, Zhang J J, Zhang L, Qiu J R, Xu S Q. Intense multiphoton upconversion of  $\text{Yb}^{3+}$ - $\text{Tm}^{3+}$  doped beta- $\text{NaYF}_4$  individual nanocrystals by saturation excitation [J]. J. Mater. Chem. C, 2015, 3( 2): 364.
- [16] Xie X J, Li Z J, Zhang Y W, Guo S H, Pendharkar A I, Lu M, Huang L, Huang W, Han G. Emerging approximately 800 nm excited lanthanide-doped upconversion nanoparticles [J]. Small, 2017, 13( 6): 1.
- [17] Mahato K, Srivastava A, Chandra P. Paper based diagnostics for personalized health care: Emerging technologies and commercial aspects [J]. Biosens. Bioelectron., 2017, 96: 246.
- [18] Zhang D, Broyles D, Hunt E A, Dikici E, Daunert S, Deo S K. A paper-based platform for detection of viral RNA [J]. Analyst, 2017, 142( 5): 815.
- [19] Wu D, Zhang J H, Xu F H, Wen X, Li P F, Zhang X L, Qiao S, Ge S X, Xia N S, Qian S Z, Qiu X B. A paper-based microfluidic dot-ELISA system with smartphone for the detection of influenza A [J]. Microfluid. Nanofluid., 2017, 21( 3).
- [20] Javani A, Javadi-Zarnaghi F, Rasaei M J. Development of a colorimetric nucleic acid-based lateral flow assay with non-biotinylated capture DNA [J]. Appl. Biol. Chem., 2017.
- [21] Guzman J M C C, Tayo L L, Liu C C, Wang Y N, Fu L M. Rapid microfluidic paper-based platform for low concentration formaldehyde detection [J]. Sens. Actuators B, 2017.
- [22] Shankar E M, Cassim N, Schnippel K, Coetzee L M, Glencross D K. Establishing a cost-per-result of laboratory-based, reflex Cryptococcal antigenaemia screening (CrAg) in HIV+ patients with CD4 counts less than 100 cells/ $\mu\text{l}$  using a Lateral Flow Assay (LFA) at a typical busy CD4 laboratory in South Africa [J]. Plos One, 2017, 12( 2): e0171675.
- [23] Javani A, Javadi-Zarnaghi F, Rasaei M J. A multiplex protein-free lateral flow assay for detection of micro RNAs based on unmodified molecular beacons [J]. Anal. Biochem., 2017, 537: 99.
- [24] Fan Y Q, Liu S C, Gao K X, Zhang Y J. Fully enclosed paper-based microfluidic devices using bio-compatible adhesive seals [J]. Microsyst. Technol., 2017.
- [25] Ansari N, Lodha A, Pandya A, Menon S K. Determination of cause of death using paper-based microfluidic device as a colorimetric probe [J]. Anal. Methods, 2017, 9( 38): 5632.
- [26] Li Z D, Li F, Xing Y, Liu Z, You M L, Li Y C, Wen T, Qu Z G, Li X L, Xu F. Pen-on-paper strategy for point-of-care testing: Rapid prototyping of fully written microfluidic biosensor [J]. Biosens. Bioelectron., 2017, 98: 478.
- [27] Archibong E, Konnaiyan K R, Kaplan H, Pyayt A. A mobile phone-based approach to detection of hemolysis [J]. Biosens. Bioelectron., 2017, 88: 204.
- [28] D' Ambrosio M V, Bakalar M, Bennuru S, Reber C, Skandarajah A, Nilsson L, Switz N, Kamgno J, Pion S, Boussinesq M, Nutman T B, Fletcher D A. Point-of-care quantification of blood-borne filarial parasites with a mobile phone microscope [J]. Sci. Trans. Med., 2015, 7( 286): 286re4.

- [29] Kong J E , Wei Q , Tseng D , Zhang J , Pan E , Lewinski M , Garner O B , Ozcan A , Di Carlo D. Highly stable and sensitive nucleic acid amplification and cell-phone-based readout [J]. *ACS Nano* , 2017 , 11(3) : 2934.
- [30] Ludwig S K , Zhu H , Phillips S , Shiledar A , Feng S , Tseng D , van Ginkel L A , Nielsen M W , Ozcan A. Cellphone-based detection platform for rbST biomarker analysis in milk extracts using a microsphere fluorescence immunoassay [J]. *Anal. Bioanal. Chem.* , 2014 , 406(27) : 6857.
- [31] Wei Q S , Luo W , Chiang S , Kappel T , Mejia C , Tseng D , Chan R Y L , Yan E , Qi H F , Shabbir F , Ozkan H , Feng S , Ozcan A. Imaging and Sizing of Single DNA Molecules on a Mobile Phone [J]. *ACS Nano* , 2014 , 8(12) : 12725.
- [32] Vashist S K , van Oordt T , Schneider E M , Zengerle R , von Stetten F , Luong J H. A smartphone-based colorimetric reader for bioanalytical applications using the screen-based bottom illumination provided by gadgets [J]. *Biosens. Bioelectron.* , 2015 , 67: 248.
- [33] Yetisen A K , Jiang N , Tamayol A , Ruiz-Esparza G U , Zhang Y S , Medina-Pando S , Gupta A , Wolffsohn J S , Butt H , Khademhosseini A , Yun S H. Paper-based microfluidic system for tear electrolyte analysis [J]. *Lab Chip* , 2017 , 17(6) : 1137.
- [34] Zhu H Y , Sikora U , Ozcan A. Quantum dot enabled detection of *Escherichia coli* using a cell-phone [J]. *Analyst* , 2012 , 137(11) : 2541.
- [35] Koydemir H C , Gorocs Z , Tseng D , Cortazar B , Feng S , Chan R Y L , Burbano J , McLeod E , Ozcan A. Rapid imaging , detection and quantification of *Giardia lamblia* cysts using mobile-phone based fluorescent microscopy and machine learning [J]. *Lab Chip* , 2015 , 15(5) : 1284.
- [36] Zhu H , Mavandadi S , Coskun A F , Yaglidere O , Ozcan A. Optofluidic fluorescent imaging cytometry on a cell phone [J]. *Anal. Chem.* , 2011 , 83(17) : 6641.
- [37] Wei Q S , Qi H F , Luo W , Tseng D , Ki S J , Wan Z , Göröcs Z , Bentolila L A , Wu T T , Sun R , Ozcan A. Fluorescent imaging of single nanoparticles and viruses on a smart phone [J]. *ACS Nano* , 2013 , 7(10) : 9147.
- [38] Kuhnemund M , Wei Q , Darai E , Wang Y , Hernandez-Neuta I , Yang Z , Tseng D , Ahlford A , Mathot L , Sjoblom T , Ozcan A , Nilsson M. Targeted DNA sequencing and in situ mutation analysis using mobile phone microscopy [J]. *Nat. Commun.* , 2017 , 8: 13913.
- [39] Skandarajah A , Reber C D , Switz N A , Fletcher D A. Quantitative imaging with a mobile phone microscope [J]. *PLoS One* , 2014 , 9(5) : e96906.
- [40] Switz N A , D'Ambrosio M V , Fletcher D A. Low-cost mobile phone microscopy with a reversed mobile phone camera lens [J]. *PLoS One* , 2014 , 9(5) : e95330.
- [41] Romao V C , Martins S A M , Germano J , Cardoso F A , Cardoso S , Freitas P P. Lab-on-chip devices: Gaining ground losing size [J]. *ACS Nano* , 2017.
- [42] Chen D F , Mauk M , Qiu X , Liu C C , Kim J , Ramprasad S , Ongagna S , Abrams W R , Malamud D , Corstjens P L A M , Bau H H. An integrated , self-contained microfluidic cassette for isolation , amplification , and detection of nucleic acids [J]. *Biomed. Microdevices* , 2010 , 12(4) : 705.
- [43] Persichetti G , Grimaldi I A , Testa G , Bernini R. Multifunctional optofluidic lab-on-chip platform for Raman and fluorescence spectroscopic microfluidic analysis [J]. *Lab Chip* , 2017 , 17(15) : 2631.
- [44] Fan Y , Liu J T , Wang Y , Luo J P , Xu H R , Xu S W , Cai X X. A wireless point-of-care testing system for the detection of neuron-specific enolase with microfluidic paper-based analytical devices [J]. *Biosens. Bioelectron.* , 2017 , 95: 60.
- [45] Auzel F. Upconversion and anti-stokes processes with f and d ions in solids [J]. *Chem. Rev.* , 2004 , 104(1) : 139.
- [46] Zhou B , Shi B Y , Jin D Y , Liu X G. Controlling upconversion nanocrystals for emerging applications [J]. *Nat. Nanotechnol.* , 2015 , 10(11) : 924.
- [47] Chen G Y , Yang C H , Prasad P N. Nanophotonics and nanochemistry: Controlling the excitation dynamics for frequency up- and down-conversion in lanthanide-doped nanoparticles [J]. *Accounts Chem. Res.* , 2013 , 46(7) : 1474.
- [48] Gulzar A , Xu J T , Yang P P , He F , Xu L G. Upconversion processes: versatile biological applications and biosafety [J]. *Nanoscale* , 2017 , 9(34) : 12248.
- [49] Escudero A , Becerro A I , Carrillo-Carrion C , Nunez N O , Zyuzin M V , Laguna M , Gonzalez-Mancebo D , Ocaña M , Parak W J. Rare earth based nanostructured materials: synthesis , functionalization , properties and bioimaging and biosensing applications [J]. *Nanophotonics-Berlin* , 2017 , 6(5) : 881.

- [50] Wang X D , Valiev R R , Ohulchanskyy T Y , Agren H , Yang C H , Chen G Y . Dye-sensitized lanthanide-doped upconversion nanoparticles [J]. Chem. Soc. Rev. , 2017 , 46( 14) : 4150.
- [51] Zhou J , Liu Q , Feng W , Sun Y , Li F Y . Upconversion luminescent materials: Advances and applications [J]. Chem. Rev. , 2015 , 115( 1) : 395.
- [52] Liang X H , Fan J , Wang Y B , Zhao Y Y , Jin R Y , Sun T , Cheng M , Wang X J . Synthesis of hollow and mesoporous structured NaYF<sub>4</sub>: Yb ,Er upconversion luminescent nanoparticles for targeted drug delivery [J]. J. Rare Earths , 2017 , 35( 5) : 419.
- [53] Hu S G , Yu Y , Wu X F , Hu P , Cao H Y , Wu Q Y , Tang Z J , Guo Y J , Liu Y X . Upconversion luminescence turning of NaREF<sub>4</sub> ( RE = 0. 4Y + 0. 4La + 0. 2 ( Yb , Er , Tm ) ) nanoparticles and their applications for detecting Rhodamine B in shrimp [J]. J. Rare Earths , 2017 , 35( 2) : 120.
- [54] Song C X , Zhang S B , Zhou Q A , Hai H , Zhao D F , Hui Y Z . Upconversion nanoparticles for bioimaging [J]. Nanotechnol. Rev. , 2017 , 6( 2) : 233.
- [55] Qiu H L , Chen G Y , Sun L , Hao S W , Han G , Yang C H . Ethylenediaminetetraacetic acid ( EDTA ) -controlled synthesis of multicolor lanthanide doped BaYF<sub>5</sub> upconversion nanocrystals [J]. J. Mater. Chem. , 2011 , 21( 43) : 17202.
- [56] Chen G Y , Qiu H L , Fan R W , Hao S W , Tan S , Yang C H , Han G . Lanthanide-doped ultrasmall yttrium fluoride nanoparticles with enhanced multicolor upconversion photoluminescence [J]. J. Mater. Chem. , 2012 , 22( 38) : 20190.
- [57] Chen G Y , Ohulchanskyy T Y , Kumar R , Agren H , Prasad P N . Ultrasmall monodisperse NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup> / Tm<sup>3+</sup> nanocrystals with enhanced near-infrared to near-infrared upconversion photoluminescence [J]. Acs. Nano. , 2010 , 4( 6) : 3163.
- [58] Chen G Y , Ohulchanskyy T Y , Kachynski A , Agren H , Prasad P N . Intense visible and near-infrared upconversion photoluminescence in colloidal LiYF<sub>4</sub>: Er<sup>3+</sup> nanocrystals under excitation at 1490 nm [J]. Acs. Nano. , 2011 , 5( 6) : 4981.
- [59] Yi G S , Lu H C , Zhao S Y , Yue G , Yang W J , Chen D P , Guo L H . Synthesis , characterization , and biological application of size-controlled nanocrystalline NaYF<sub>4</sub>: Yb ,Er infrared-to-visible up-conversion phosphors [J]. Nano. Lett. , 2004 , 4( 11) : 2191.
- [60] Chen G Y , Agren H , Ohulchanskyy T Y , Prasad P N . Light upconverting core-shell nanostructures: nanophotonic control for emerging applications [J]. Chem. Soc. Rev. , 2015 , 44( 6) : 1680.
- [61] Wang F , Liu X G . Multicolor tuning of lanthanide-doped nanoparticles by single wavelength excitation [J]. Accounts. Chem. Res. , 2014 , 47( 4) : 1378.
- [62] Zuo J , Li Q Q , Xue B , Li C X , Chang Y L , Zhang Y L , Liu X M , Tu L P , Zhang H , Kong X G . Employing shells to eliminate concentration quenching in photonic upconversion nanostructure [J]. Nanoscale , 2017 , 9( 23) : 7941.
- [63] Johnson N J J , He S , Diao S , Chan E M , Dai H J , Almutairi A . Direct evidence for coupled surface and concentration quenching dynamics in lanthanide-doped nanocrystals [J]. J. Am. Chem. Soc. , 2017 , 139( 8) : 3275.
- [64] Chen G Y , Shen J , Ohulchanskyy T Y , Patel N J , Kutikov A , Li Z P , Song J , Pandey R K , Agren H , Prasad P N , Han G . ( alpha-NaYbF<sub>4</sub>: Tm<sup>3+</sup> ) /CaF<sub>2</sub> core/shell nanoparticles with efficient near-infrared to near-infrared upconversion for high-contrast deep tissue bioimaging [J]. Acs. Nano. , 2012 , 6( 9) : 8280.
- [65] Li C X , Lin J . Rare earth fluoride nano-/microcrystals: synthesis , surface modification and application [J]. J. Mater. Chem. , 2010 , 20( 33) : 6831.
- [66] Achatz D E , Meier R J , Fischer L H , Wolfbeis O S . Luminescent sensing of oxygen using a quenchable probe and upconverting nanoparticles [J]. Angew. Chem. Int. Edit. , 2011 , 50( 1) : 260.
- [67] Meier R J , Simburger J M B , Soukka T , Schaferling M . Background-free referenced luminescence sensing and imaging of pH using upconverting phosphors and color camera read-out [J]. Anal. Chem. , 2014 , 86( 11) : 5535.
- [68] Mei Q S , Jing H R , Li Y , Yisibashaer W , Chen J , Li B N , Zhang Y . Smartphone based visual and quantitative assays on upconversional paper sensor [J]. Biosens. Bioelectron. , 2016 , 75: 427.
- [69] Hu X X , Wei T , Wang J , Liu Z E , Li X Y , Zhang B H , Li Z H , Li L L , Yuan Q . Near-infrared-light mediated ratiometric luminescent sensor for multimode visualized assays of explosives [J]. Anal. Chem. , 2014 , 86( 20) : 10484.

- [70] Qu Q, Zhu Z W, Wang Y F, Zhong Z J, Zhao J, Qiao F, Du X Y, Wang Z J, Yang R F, Huang L Y, Yu Y Q, Zhou L, Chen Z L. Rapid and quantitative detection of Brucella by up-converting phosphor technology-based lateral-flow assay [J]. *J. Microbiol. Meth.*, 2009, 79(1): 121.
- [71] Yan Z Q, Zhou L, Zhao Y K, Wang J, Huang L H, Hu K X, Liu H H, Wang H, Guo Z B, Song Y J, Huang H J, Yang R F. Rapid quantitative detection of Yersinia pestis by lateral-flow immunoassay and up-converting phosphor technology-based biosensor [J]. *Sensor. Actuators B-Chem.*, 2006, 119(2): 656.
- [72] Corstjens P L A M, Zuiderwijk M, Tanke H J, Schip J J V V, Ottenhoff T H M, Geluk A. A user-friendly, highly sensitive assay to detect the IFN- $\gamma$  secretion by T cells [J]. *Clin. Biochem.*, 2008, 41(6): 440.
- [73] Mokkapati V K, Niedbala R S, Kardos K, Perez R J, Guo M, Tanke H J, Corstjens P L A M. Evaluation of UPLink-RSV -Prototype rapid antigen test for detection of respiratory syncytial virus infection [J]. *Ann. Ny. Acad. Sci.*, 2007, 1098: 476.
- [74] Corstjens P L A M, van Lieshout L, Zuiderwijk M, Kornelis D, Tanke H J, Deelder A M, van Dam G J. Up-converting phosphor technology-based lateral flow assay for detection of Schistosoma circulating anodic antigen in serum [J]. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, 46(1): 171.
- [75] Ang L Y, Lim M E, Ong L C, Zhang Y. Applications of upconversion nanoparticles in imaging, detection and therapy [J]. *Nanomedicine-Uk*, 2011, 6(7): 1273.
- [76] Hong W Y, Huang L H, Wang H R, Qu J F, Guo Z B, Xie C K, Zhu Z W, Zhang Y B, Du Z M, Yan Y F, Zheng Y, Huang H J, Yang R F, Zhou L. Development of an up-converting phosphor technology-based 10-channel lateral flow assay for profiling antibodies against Yersinia pestis [J]. *J. Microbiol. Meth.*, 2010, 83(2): 133.
- [77] Liang Z Q, Wang X C, Zhu W, Zhang P P, Yang Y X, Sun C Y, Zhang J J, Wang X R, Xu Z, Zhao Y, Yang R F, Zhao S L, Zhou L. Upconversion nanocrystals mediated lateral-flow nanoplatform for in vitro detection [J]. *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2017, 9(4): 3497.
- [78] You M L, Lin M, Gong Y, Wang S R, Li A, Ji L Y, Zhao H X, Ling K, Wen T, Huang Y, Gao D F, Ma Q, Wang T Z, Ma A Q, Li X L, Xu F. Household fluorescent lateral flow strip platform for sensitive and quantitative prognosis of heart failure using dual-color upconversion nanoparticles [J]. *ACS Nano.*, 2017, 11(6): 6261.
- [79] Craw P, Balachandran W. Isothermal nucleic acid amplification technologies for point-of-care diagnostics: a critical review [J]. *Lab. Chip.*, 2012, 12(14): 2469.
- [80] Yu A C-H, Vatcher G, Yue X, Dong Y, Li M H, Tam P H K, Tsang P Y L, Wong A K Y, Hui M H K, Yang B, Tang H, Lau L-T. Nucleic acid-based diagnostics for infectious diseases in public health affairs [J]. *Front. Med.*, 2012, 6(2): 173.
- [81] Zhou F, Noor M O, Krull U J. Luminescence resonance energy transfer-based nucleic acid hybridization assay on cellulose paper with upconverting phosphor as donors [J]. *Anal. Chem.*, 2014, 86(5): 2719.
- [82] Zhou F, Krull U J. Spectrally matched duplexed nucleic acid bioassay using two-colors from a single form of upconversion nanoparticle [J]. *Anal. Chem.*, 2014, 86(21): 10932.
- [83] Sapsford K E, Pons T, Medintz I L, Mattoussi H. Biosensing with luminescent semiconductor quantum dots [J]. *Sens. Basel*, 2006, 6(8): 925.
- [84] Doughan S, Uddayasankar U, Krull U J. A paper-based resonance energy transfer nucleic acid hybridization assay using upconversion nanoparticles as donors and quantum dots as acceptors [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2015, 878: 1.
- [85] Wang L Y, Yan R X, Hao Z Y, Wang L, Zeng J H, Bao J, Wang X, Peng Q, Li Y D. Fluorescence resonant energy transfer biosensor based on upconversion-luminescent nanoparticles [J]. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 2005, 44(37): 6054.
- [86] Mendez-Gonzalez D, Laurenti M, Latorre A, Somoza A, Vazquez A, Negro A I, Lopez-Cabarcos E, Calderon O G, Melle S, Rubio-Retama J. Oligonucleotide sensor based on selective capture of upconversion nanoparticles triggered by target-induced DNA interstrand ligand reaction [J]. *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2017, 9(14): 12272.
- [87] Alonso-Cristobal P, Vilela P, El-Sagheer A, Lopez-Cabarcos E, Brown T, Muskens O L, Rubio-Retama J, Kanaras A G. Highly sensitive DNA sensor based on upconversion nanoparticles and graphene oxide [J]. *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2015, 7(23): 12422.
- [88] Hu X X, Wang Y Q, Liu H Y, Wang J, Tan Y N,

- Wang F B , Yuan Q , Tan W H. Naked eye detection of multiple tumor-related mRNAs from patients with photon-crystal micropattern supported dual-modal upconversion bioprobes [J]. *Chem. Sci.* , 2017 , 8( 1) : 466.
- [89] Doughan S , Uddayasankar U , Peri A , Krull U J. A paper-based multiplexed resonance energy transfer nucleic acid hybridization assay using a single form of upconversion nanoparticle as donor and three quantum dots as acceptors [J]. *Anal. Chim. Acta* , 2017 , 962: 88.
- [90] Chen Z Y , Mauk M G , Wang J , Abrams W R , Corstjens P L A M , Niedbala R S , Malamud D , Bau H H. A microfluidic system for saliva-based detection of infectious diseases [J]. *Ann. Ny. Acad. Sci.* , 2007 , 1098: 429.
- [91] Abrams W R , Barber C A , McCann K , Tong G , Chen Z Y , Mauk M G , Wang J , Volkov A , Bourdelle P , Corstjens P L A M , Zuiderwijk M , Kardos K , Li S , Tanke H J , Niedbala R S , Malamud D , Bau H. Development of a microfluidic device for detection of pathogens in oral samples using upconverting phosphor technology ( UPT) [J]. *Ann. Ny. Acad. Sci.* , 2007 , 1098: 375.
- [92] He M Y , Liu Z H. Paper-based microfluidic device with upconversion fluorescence assay [J]. *Anal. Chem.* , 2013 , 85( 24) : 11691.
- [93] Farka Z , Mickert M J , Hlavacek A , Skladal P , Gorris H H. Single molecule upconversion-linked immunosorbent assay with extended dynamic range for the sensitive detection of diagnostic biomarkers [J]. *Anal. Chem.* , 2017.
- [94] Guo X F , Wu S J , Duan N , Wang Z P.  $Mn^{2+}$ -doped  $NaYF_4: Yb/Er$  upconversion nanoparticle-based electrochemiluminescent aptasensor for bisphenol A [J]. *Bioanal. Chem.* , 2016 , 408( 14) : 3823.
- [95] Duan N , Wu S J , Zhu C Q , Ma X Y , Wang Z P , Yu Y , Jiang Y. Dual-color upconversion fluorescence and aptamer-functionalized magnetic nanoparticles-based bioassay for the simultaneous detection of *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* [J]. *Anal. Chim. Acta* , 2012 , 723: 1.
- [96] Kale V , Pakkila H , Vainio J , Ahomaa A , Sirkka N , Lyytikainen A , Talha S M , Kutsaya A , Waris M , Julkunen I , Soukka T. Spectrally and spatially multiplexed serological array-in-well assay utilizing two-color upconversion luminescence imaging [J]. *Anal. Chem.* , 2016 , 88( 8) : 4470.
- [97] Sedlmeier A , Hlavacek A , Birner L , Mickert M J , Muhr V , Hirsch T , Corstjens P L A M , Tanke H J , Soukka T , Gorris H H. Highly sensitive laser scanning of photon-upconverting nanoparticles on a macroscopic scale [J]. *Anal. Chem.* , 2016 , 88( 3) : 1835.

## Lanthanide-Doped Upconversion Luminescent Materials for Point of Care Diagnosis

Shang Yunfei<sup>1</sup> , Bao Guochen<sup>2</sup> , Zhou Jiajia<sup>3</sup> , Wong KaLeung<sup>2</sup> , Yang Chunhui<sup>1</sup> , Jin Dayong<sup>3\*</sup> ( 1. School of Chemistry and Chemical Engineering , Harbin Institute of Technology , Harbin 150001 , China; 2. Department of Chemistry , Hong Kong Baptist University , Hong Kong , China; 3. School of Mathematical and Physical Sciences , University of Technology Sydney , Sydney 2007 , Australia)

**Abstract:** Point of care ( POC) diagnosis has attracted much research interest due to its rapid , specific and sensitive detection of biomarkers and pathogens. This decentralized diagnostic approach undoubtedly has huge advantage over laboratory testing at large hospitals or community laboratories regarding cost-effectiveness , healthcare delivery , especially with the emerging and spreading of smart technologies. Among all the materials for POC , lanthanides have become a rising star because of their excellent photophysical properties such as long life time , characteristic luminescence. Here , we focus on the wide-spread platforms of POC diagnostic devices and the applications of lanthanide upconverting materials in this field. With the market and social trend analysis , we will give our future perspective about the applications of lanthanide materials in POC.

**Keywords:** point of care; test strip; smart-phone; lanthanide probe; upconversion