

· 基础研究 ·

无溶剂法荧光碳点的制备及卵巢癌细胞荧光成像研究

李一凡¹, 刘 龙¹, 华 晴¹, 吕 鑫¹, 陈宏锦², 韩翠平^{1,3*}¹徐州医科大学医学影像学院, ²生命科学学院, 江苏 徐州 221004; ³徐州医科大学附属医院影像科, 江苏 徐州 221000

[摘要] 目的:构建基于碳点(carbon dots, CDs)的荧光纳米探针 CDs@Tf, 探讨其材料制备及应用于卵巢癌细胞荧光成像的潜能。方法:以二水合柠檬酸钠和尿素为原料,在高温下经无溶剂法制备一种高效荧光碳点,用新型四唑化合物(MTS)法检测其对人卵巢癌细胞 HO-8910 及人脐静脉血管内皮细胞 EA.hy926 的细胞毒性。昆明小鼠经尾静脉注射 CDs 7 d 和 21 d 后采集主要器官(心、肺、肾、肝、脾)进行组织学分析,评价 CDs 的活体毒性。利用 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸(EDC·HCl)及 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)作为化学耦合剂,将制备的 CDs 与转铁蛋白(Tf)共价结合成荧光分子探针 CDs@Tf。对其表征分析并应用于细胞成像。结果:制得一种平均粒径为 3.85 nm 的球形荧光 CDs,最佳激发波长为 400 nm,最大发射波长为 520 nm,量子产率高达 93%。所制备的 CDs 具有较高的荧光强度和低细胞毒性等性质。建立的 CDs@Tf 分子探针能靶向识别 HO-8910 卵巢癌细胞。结论:成功构建一种光学性能优良、毒性低的靶向性新型荧光纳米探针 CDs@Tf,有助于应用于卵巢癌早期筛查。

[关键词] 碳点;转铁蛋白;分子探针;卵巢癌细胞;荧光成像**[中图分类号]** R312**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2020)10-1442-08**doi:** 10.7655/NYDXBNS20201008

Fluorescent carbon dots prepared by solvent-free method and their ovarian cancer cells fluorescence imaging application

LI Yifan¹, LIU Long¹, HUA Qing¹, LYU Xin¹, CHEN Hongjin², HAN Cuiping^{1,3*}¹School of Medical Imaging, ²School of Life Sciences, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004; ³Department of Radiology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China

[Abstract] **Objective:** To construct CDs@Tf fluorescent nanoprobe based on carbon dots, and to explore the material preparation and the potential application in fluorescence imaging of ovarian cancer cells. **Methods:** Using sodium citrate dihydrate and urea as raw materials, a high efficiency fluorescent carbon dots (CDs) were prepared by solvent-free method at high temperature. The cell cytotoxicity of CDs was determined by MTS assay against HO-8910 ovarian cancer cells and EA.hy926 umbilical vein endothelial cells. Major organs (heart, lung, kidney, liver, spleen) were collected from Kunming mice after 7 days and 21 days of CDs injection via tail vein for histological analysis to evaluate the toxicity of CDs *in vivo*. Using 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbonyl diimine hydrochloride(EDC·HCl) and N-hydroxysuccinimide(NHS) as chemical coupling agents, the prepared CDs were covalently combined with transferrin (Tf) to form fluorescent molecular probe CDs@Tf. The probe was characterized and applied to cell imaging. **Results:** The spherical fluorescent CDs with an average diameter of 3.85 nm were prepared. The CDs exhibited an optimal excitation wavelength of 400 nm and a maximum emission wavelength of 520 nm, and a quantum yield of 93%. The CDs had excellent properties such as high fluorescence intensity and low cytotoxicity. The established CDs@Tf molecular probe could target and identify HO-8910 ovarian cancer cells. **Conclusion:** A novel targeted fluorescent nanoprobe CDs@Tf with excellent optical performance and low toxicity is successfully constructed, which is helpful for the early screening of ovarian cancer.

[Key words] carbon dot; transferrin; molecular probe; ovarian cancer cell; fluorescence imaging

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(10): 1442-1448, 1471]

[基金项目] 国家自然科学基金(81671744);中国博士后基金(2016M591923, 2017T100405);江苏省博士后基金(1601189C);江苏省“科教强卫工程”青年医学人才(QNRC2016782);江苏省“六大人才高峰”(WSW-051);江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目(201810313048Y);基础医学国家级实验教学示范中心(徐州医科大学)资助项目

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hancp@xzhmu.edu.cn

卵巢癌是对女性健康极具威胁性的妇科恶性肿瘤之一,具有隐匿性,大多数患者诊断时已为晚期,且具有复发风险^[1-2]。对于目前临床公认的检测卵巢癌的血清学指标CA125,有近20%的患者低表达甚至不表达^[3]。因此,寻找一种新型高效的筛查手段对卵巢癌的早期诊断和早期治疗具有重要意义。

荧光成像技术具有灵敏度高、操作方便、实时快速监测等优点,为卵巢癌的早期诊断提供一种新策略。高性能荧光探针是荧光成像技术的关键。荧光碳点(carbon dots, CDs)是一种球形或类球形的半导体纳米晶体,其直径 < 10 nm,由极少分子或原子组成的纳米团簇^[4]。由于其良好的光学性质和较低的毒性,是构建荧光探针的理想材料^[5]。碳点的合成方法多种多样,然而,目前所报道制备的碳点量子产率普遍较低^[6-11],极大地限制其作为分子探针在细胞成像等领域的应用。如何通过简单环保的方法制备出高荧光量子产率的碳点依然是广大科研工作者面对的一个难题。

本研究以二水合柠檬酸三钠为碳源,通过简单可行、绿色环保的无溶剂法制备出一种荧光性能优良的碳点,并在此基础上构建一种新型的靶向卵巢癌细胞的CDs@Tf分子探针,探讨其用于细胞成像的潜能,为卵巢癌的筛查手段提供一种新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

昆明小鼠由徐州医科大学实验动物中心提供[许可证号:SYXH(su)2002-0038]。小鼠实验得到徐州医科大学实验动物伦理委员会批准。二水合柠檬酸三钠、尿素、丙酮、乙酸、PBS缓冲剂粉末、4%多聚甲醛(上海国药集团化学试剂有限公司);新型四唑化合物(MTS)细胞增殖试剂盒、高糖DMEM、双抗(青霉素-链霉素溶液)、胰酶细胞消化液(上海碧云天有限公司);转铁蛋白、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)(Sigma-Aldrich公司,德国)。

紫外分光光度计(WD-9403C,北京市六一仪器厂),恒温磁力搅拌器(IKA RCT Basic, IKA公司,德国),傅里叶变换红外光谱仪(Bruker Tensor27, Bruker公司,德国),荧光分光光度计(LS55, Perkin Elmer公司,美国),荧光倒置显微镜(DMI3000B, Leica公司,德国),透射电子显微镜(Tecnai G2 Spirit 120KV, FEI公司,荷兰),酶标仪(BioTek Epoch, BioTek公司,美国),Zeta电位仪(马尔文仪器有限公司,英国),高速

离心机(Sigma 3-30ks, Sigma公司,德国)。

1.2 方法

1.2.1 CDs@Tf的合成方法

用精密电子天平称取0.058 8 g(0.2 mmol)二水合柠檬酸三钠和0.3 g(5 mmol)尿素加入含有1 mL水的小烧杯中混合搅匀,将其置于高温干燥箱中200 °C反应1 h,自然冷却。加入1 mL水和1 mL丙酮,在Sigma 3-30ks高速离心机上以10 000 r/min的转速离心10 min,除去上层黄褐色液体,将所得沉淀再次溶于1 mL水和1 mL丙酮的混合溶液中,以相同的速度离心10 min。如此反复离心3次,将沉淀于真空干燥箱中35 °C烘干,所得的荧光碳点固体4 °C保存。

称取碳点30 mg溶于5 mL的PBS中,配成6 mg/mL的碳点PBS溶液,向溶液中加入0.1 mmol的EDC·HCl和0.1 mmol的NHS,磁力搅拌4 h后,再加入20 mg的转铁蛋白(transferrin, Tf),常温下磁力搅拌24 h。在高速离心机上以15 000 r/min的转速离心10 min,除去未反应的Tf,得到荧光分子探针CDs@Tf。

1.2.2 荧光光谱的测定

配制0.01 mg/mL的碳点水溶液,利用荧光分光光度计测定碳点的荧光强度,在相同条件下测量不同条件下制得碳点的荧光强度,来探究其最佳实验原料和条件。设定激发波长为400 nm,狭缝宽度为2.5 nm。

1.2.3 荧光量子产率的测定

在室温下测定碳点的荧光量子产率。将硫酸奎宁溶于1%硫酸溶液中,配制成0.01 g/L硫酸奎宁的硫酸溶液作为参比物,通过测量碳点和参比物质的稀溶液在同样激发条件下所得到的积分荧光强度和该激发波长入射光的吸光度,根据方程计算量子产率(φ_x): $\varphi_x = \varphi_s \times (A_s/A_x) \times (I_x/I_s)$, φ 为量子产率, I 为荧光积分发射强度, A 为吸光度, s 与 x 分别代表所测定的参比物与样品。

1.2.4 CDs、CDs@Tf的表征分析

用场发射透射电子显微镜测定CDs的形态、大小、分布等。用荧光分光光度计测量CDs、CDs@Tf的激发光谱及发射光谱,并计算CDs的量子产率。通过Zeta电位和傅里叶变换红外吸收图谱对CDs@Tf的表面电荷及功能基团进行表征分析。

1.2.5 CDs的细胞毒性实验

实验采用MTS法来检测细胞毒性。取HO-8910卵巢癌细胞和EA.hy926脐静脉血管内皮细胞接种于96孔培养板,接种浓度为 0.5×10^5 个/mL。将培养

板置于细胞培养箱中(37 ℃, 5%CO₂)培育24 h后,弃培养液。分别加入含不同质量浓度CDs的培养液(0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 mg/mL),每个质量浓度设置5组平行实验。继续培养24 h后,用移液器吸去孔中的培养液。每孔加90 μL培养基,10 μL MTS,继续在细胞培养箱(37 ℃, 5%CO₂)培养4 h。最后,在酶标仪上测定细胞溶液在490 nm处的吸光度值,记录并处理实验结果。

1.2.6 CD_s的活体毒性实验

采用昆明小鼠(雌性,7周)进行体内毒性研究。昆明小鼠随机分为CD_s组和对照组,每组6只:小鼠分别经尾静脉注射PBS和CD_s(6 mg/kg),在注射后7 d(3只)和21 d(3只)采集心脏、肺、肾、肝脾等主要器官。随后,用4%多聚甲醛固定器官,切片,用苏木精和伊红染色。

1.2.7 CD_s@Tf靶向卵巢癌细胞的荧光成像

将HO-8910和EA.hy926两种细胞分别培养在24孔板中。细胞板的每个孔中都放有消过毒的圆形玻片,再向每孔加入200 μL细胞培养液,在细胞培养箱(37 ℃, 5%CO₂)中培养24 h,吸出培养液,用PBS冲洗3遍。实验组加入200 μL CD_s@Tf的PBS溶液及200 μL培养液,对照组加入200 μL的CD_s PBS溶液及200 μL培养液,于细胞培养箱(37 ℃, 5%CO₂)培养1 h。随后吸去培养液,用PBS洗3遍后,每孔加入200 μL多聚甲醛固定20 min,再用PBS洗3次,封片,进行成像。

为了验证Tf受体介导的胞吞作用,将细胞在含0.1 g/L Tf的培养液中于37 ℃孵育5 h, PBS缓冲液冲洗后,将处理的细胞与CD_s@Tf孵育1 h。用PBS缓冲液洗涤后,将细胞在荧光显微镜下成像。

2 结果

2.1 CD_s制备条件的优化

2.1.1 最佳反应试剂的选择

研究表明,功能基团氨基和羧基对形成高量子产率的碳点影响较大^[12]。本实验以二水合柠檬酸三钠为碳源,并选取尿素和乙二胺这两种氨基化合物为氨基源进行对比。图1A所示为相同条件下所制备的碳点的荧光光谱图,结果表明以尿素为原料所制备的碳点的荧光强度较大,峰型对称性较好,而以乙二胺为原料所得到的碳点荧光相对较弱。尿素与乙二胺具有相似的分子结构,但比乙二胺多了一个氧原子,说明除了尺寸和表面效应外,富氧基团对碳点的荧光发射也有重要贡献。因此,选取二水合柠檬酸三钠和尿素作为反应原料制备碳点进行后续研究。

2.1.2 最佳反应比例的选择

为了获得荧光性能较强的碳点,研究了不同配比的二水合柠檬酸三钠与尿素合成的碳点的荧光强度。图1B可以看到,随着尿素比例的增加,所得碳点的荧光逐渐增强,但峰位基本不变,在摩尔比为1:25时荧光强度达到最大值。因此,本实验过程中,柠檬酸钠和尿素的摩尔比定为1:25。

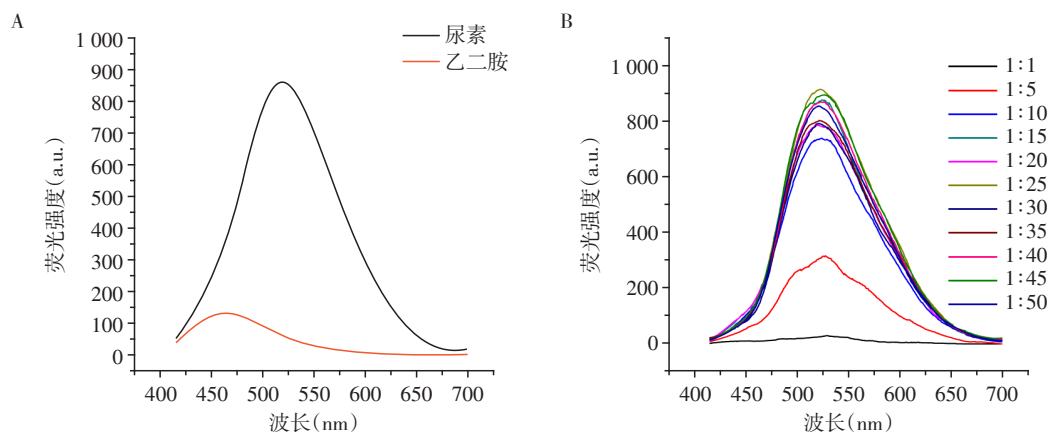
2.2 碳点的表征分析

2.2.1 碳点的微观形貌与粒径

图2为碳点的透射电镜照片和粒径分布图,可见制备的碳点近似为球形,分布均匀,分散性良好,平均粒径为3.85 nm(*n*=90)。

2.2.2 碳点的光谱性质

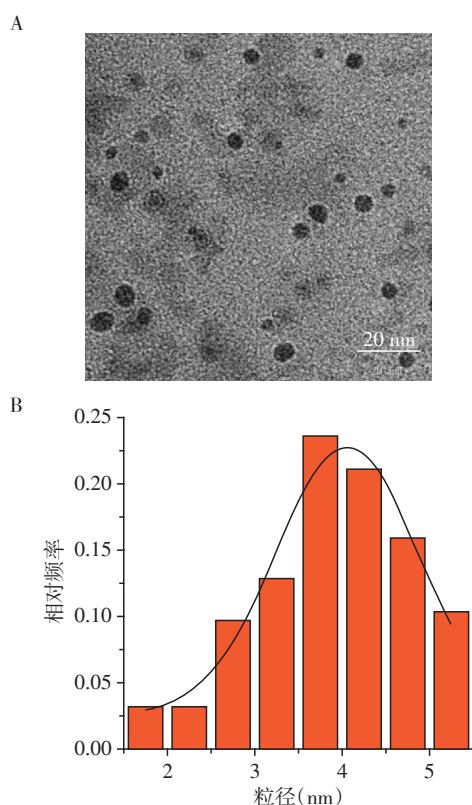
纯化后的碳点在水中有较好的溶解度,水溶液



A: 相同反应条件下,分别以尿素和乙二胺为原料制备的碳点的荧光光谱;B: 二水合柠檬酸三钠与尿素不同摩尔比制备的碳点的荧光光谱。

图1 碳点的荧光光谱图

Figure 1 The fluorescence spectra of the carbon dots

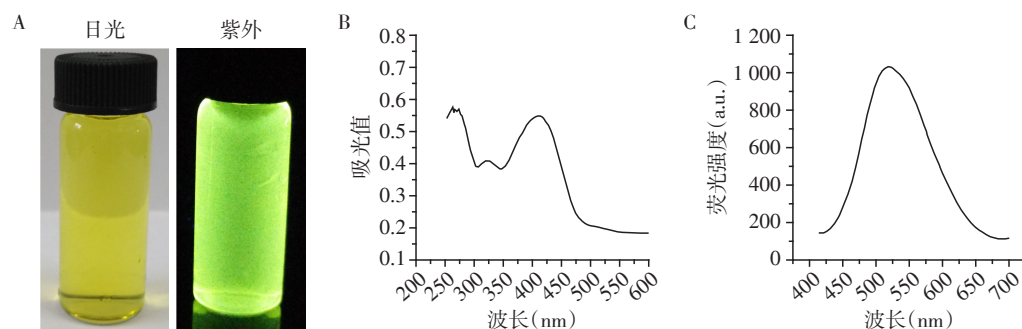


A:碳点的TEM图($\times 375\ 000$);B:粒径分布图。

图2 碳点的微观形貌与尺寸

Figure 2 Micromorphology and size of carbon dots

呈浅黄色(图3A),在365 nm紫外灯下呈明亮的黄绿色荧光(图3A)。图3B为碳点水溶液的紫外-可见吸收光谱图,碳点分别在275 nm、323 nm和410 nm有吸收峰,其中275 nm和323 nm的吸收峰分别归属于碳核的 π - π^* 跃迁和表面官能团 —C=O/—NH_2 的 n - π^* 跃迁^[13]。410 nm处的吸收峰为表面激发态能量的捕获,可产生荧光发射^[14]。所制备碳点的最佳激发波长为400 nm,最大发射波长为520 nm,荧光峰形对称(图3C)。以硫酸奎宁作参照,测得碳点的量子产率高达93%。



A:碳点水溶液在日光和紫外灯下的照片;B:碳点的紫外-可见吸收图;C:碳点的荧光发射光谱图。

图3 碳点的荧光性能检测结果

Figure 3 The fluorescence property of carbon dots

2.2.3 碳点的稳定性

如图4可知,4℃保存下的碳点荧光强度在15 d的考察时间里几乎保持不变。常温放置下,荧光强度有轻微下降,但仍保持相对高的强度,说明该碳点时间稳定性良好;在pH3~10的范围内,该碳点荧光强度较稳定,因此制备的碳点可以在生物环境内保持较好的稳定性;同时,所制备的碳点具备良好的抗光漂白性,在紫外灯下连续照射120 min,荧光强度基本保持不变,是较为理想的荧光染料。

2.3 碳点的细胞毒性

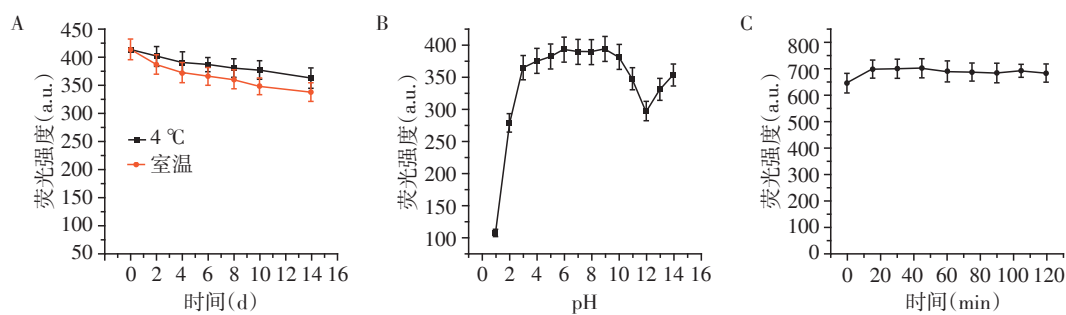
由图5可知,在碳点浓度不高于9 mg/mL时,对HO-8910及EA.hy926两种细胞均未表现出明显的细胞毒性,在共孵育24 h后,细胞的存活率达80%以上。细胞成像所需碳点的浓度低于1 mg/mL,说明本实验制备的碳点可以应用于后续的生物成像研究。

2.4 碳点的活体毒性

昆明小鼠经尾静脉注射PBS和碳点,7 d和21 d后采集主要器官(心、肺、肾、肝、脾)进行组织学分析,评价实验组与对照组的病理差异。如图6所示,所制备的碳点在主要器官中未见明显的损伤和炎性病变,因此,合成的黄绿色荧光碳点作为生物成像探针具有生物相容性。

2.5 CDs@Tf分子探针的制备与表征

傅里叶变换红外光谱图(图7A)显示所制备的碳点表面存在较多的功能基团,3 100~3 500 cm^{-1} 的吸收带归属于O—H和N—H的伸缩振动;1 720 cm^{-1} 处的吸收峰归属于羧基的伸缩振动;1 442 cm^{-1} 处的吸收峰位C—N的伸缩振动。这些功能基团一方面使碳点具有较好的水溶性,另一方面给碳点提供了表面功能化的修饰位点。修饰后碳点在1 720 cm^{-1} 处的羧基基团消失,而CDs@Tf在1 670 cm^{-1} 和1 533 cm^{-1} 处有酰胺键的特征峰,证明成功制备出荧光分



A: 碳点水溶液分别在 4 °C 和室温下的荧光稳定性 (n=3); B: 不同 pH 环境下碳点的荧光强度图 (n=3); C: 碳点的荧光强度随 365 nm 紫外灯照射时间的变化图 (n=3)。

图4 碳点的稳定性检测

Figure 4 Stability detection of carbon dots

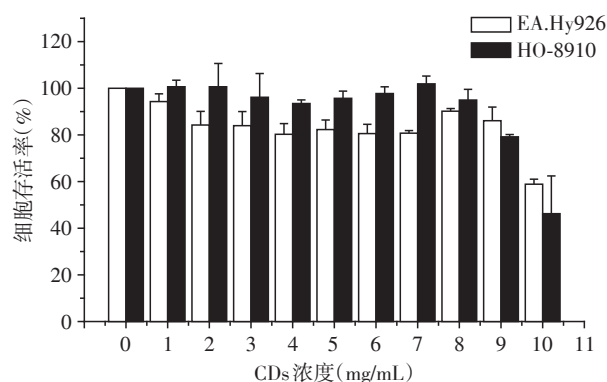


图5 不同浓度的碳点对 HO-8910 和 EA.hy926 细胞生存率的影响 (n=5)

Figure 5 Viabilities of HO-8910 and EA.hy926 after treated with different concentration of carbon dots (n=5)

子探针 CDs@Tf。

通过 Zeta 电位进一步对 CDs@Tf 进行表征。如图 7B 所示,碳点的表面因有大量的羧基带负电,Ze-

ta 电位为 (-31.13 ± 0.54) mV, Tf 的 Zeta 电位为 (5.50 ± 0.74) mV, 经修饰后 CDs@Tf 的 Zeta 电位为 (-15.13 ± 0.61) mV, Zeta 的变化说明 Tf 成功偶联到了 CDs 的表面。

图 7C 为 CDs@Tf 的荧光发射图谱。碳点经 Tf 修饰后荧光强度变化不大,峰位有 3 nm 红移,说明 Tf 对该碳点的荧光性能无明显影响,可应用于细胞的荧光成像中。

2.6 CDs@Tf 靶向卵巢癌细胞的荧光成像

由于高的量子产率、良好的稳定性和较低的细胞毒性,碳点可以作为潜在荧光探针用于肿瘤细胞的标记。为了验证 CDs@Tf 的肿瘤细胞靶向能力,将 EA.hy926 脐静脉内皮细胞和 HO-8910 卵巢癌细胞分别与相同浓度的 CDs 和 CDs@Tf 在 37 °C 孵育 1 h, 然后进行荧光成像。如图 8A 所示,未经 Tf 修饰的荧光碳点在与细胞作用后细胞几乎无荧光,说明进入细胞量较少。经过 Tf 修饰的碳点能更好地与

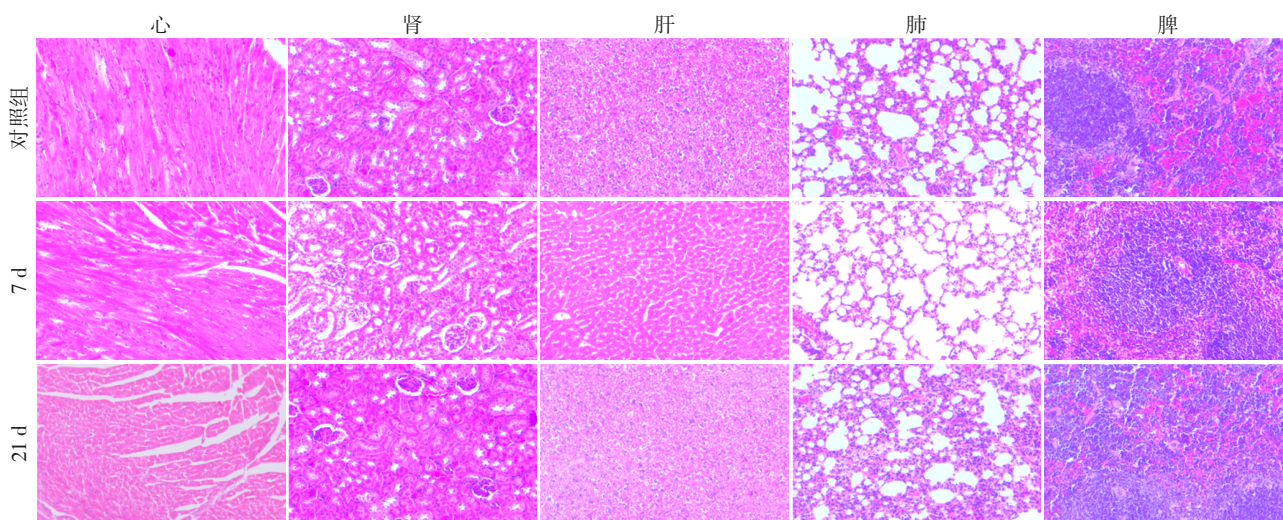
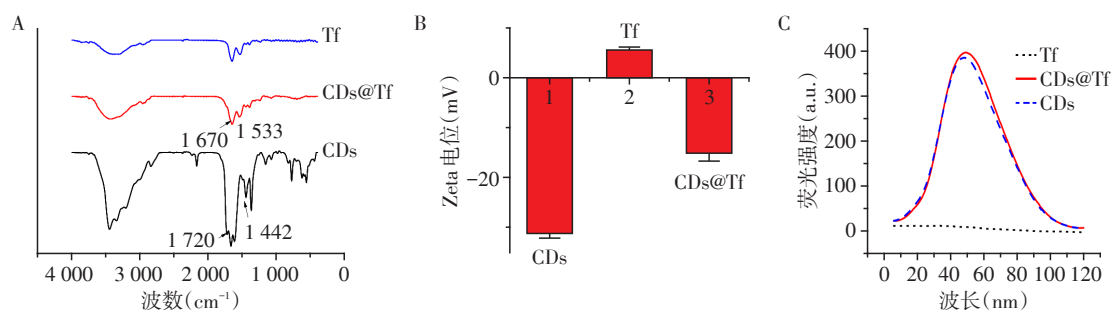


图6 小鼠注射碳点 7 d 和 21 d 后主要器官的组织学分析 (×200)

Figure 6 Histological analysis of major organs after 7 and 21 days administration of CDs (×200)



A: CDs、Tf、CDs@Tf的傅里叶变换红外吸收图谱; B: CDs、Tf、CDs@Tf的Zeta电位图(均在pH7.4的PBS溶液中测量); C: Tf、CDs和CDs@Tf的荧光发射图谱。

图7 CDs@Tf分子探针的表征结果

Figure 7 Characterization results of CDs@Tf fluorescent nanoprobe

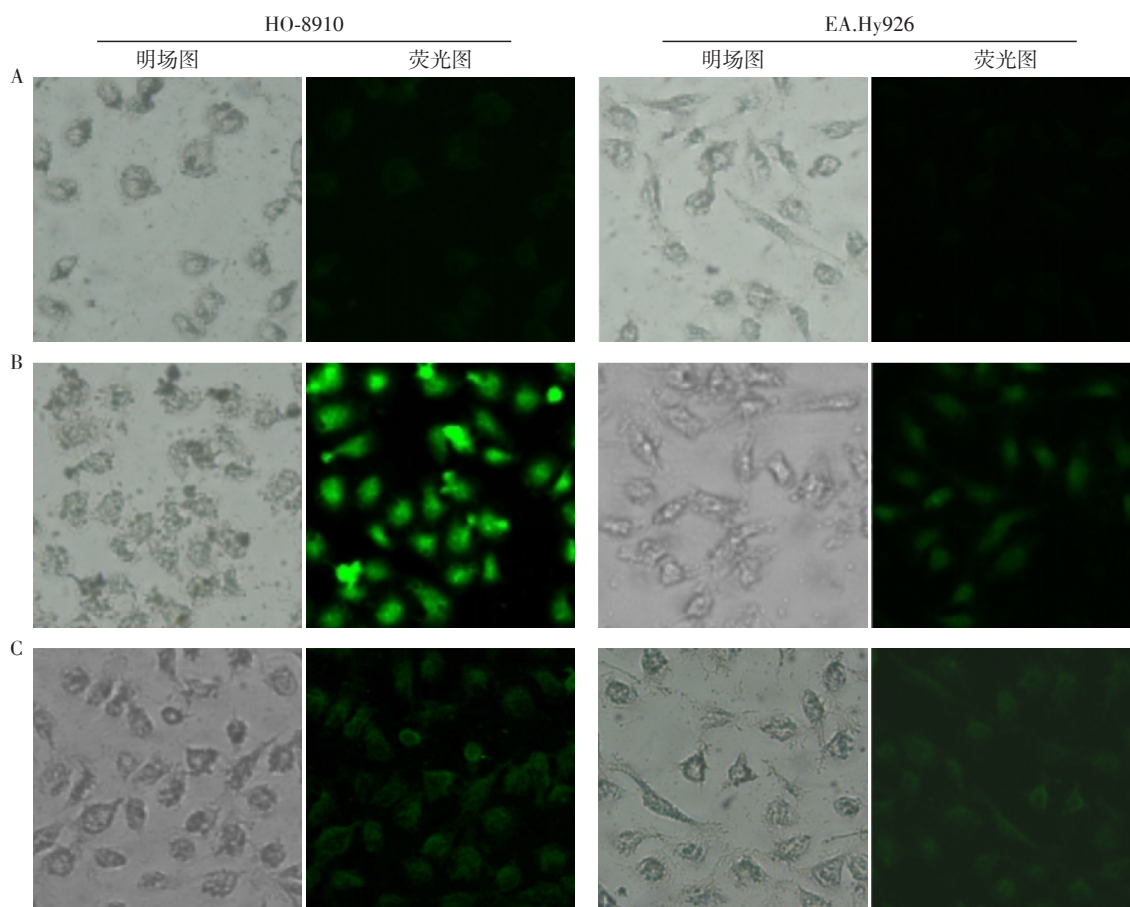
肿瘤细胞结合, HO-8910细胞呈现明亮的荧光, 而正常的EA.hy926脐静脉内皮细胞荧光较弱(图8B)。这些结果表明, CDs@Tf对肿瘤细胞具有特异性, 实现对卵巢癌细胞HO-8910的靶向荧光成像。

为了验证Tf受体介导的胞吞作用, 细胞先用Tf蛋白预处理后, 再与CDs@Tf孵育。结果显示(图8C), 用游离Tf预饱和HO-8910细胞表面的Tf受体

后, CDs@Tf的内吞受到抑制, 细胞的荧光强度变弱, 说明CDs@Tf是通过Tf受体介导的内吞进入细胞。

3 讨论

早诊断、早治疗是提高卵巢癌生存率、降低死亡率的关键。随着对肿瘤认识深入到分子水平, 分子影像近年来发展迅速, 成为研究的热点。设计合



A: HO-8910细胞与EA.hy926细胞分别与CDs孵育后的荧光成像图; B: HO-8910细胞与EA.hy926细胞分别与CDs@Tf孵育后的荧光成像图; C: HO-8910细胞与EA.hy926细胞经Tf预处理后再与CDs@Tf孵育的荧光成像图($\times 200$)。

图8 HO-8910细胞与EA.HY926细胞在不同条件下孵育后的荧光成像图

Figure 8 Fluorescence imaging of HO-8910 cells and EA.HY926 cells incubated under different conditions

理有效的高亲和性分子探针是分子影像技术的关键。作为碳系家族的后起之秀,碳点由于其良好的光学性能和生物相容性备受研究者的青睐。目前,提高碳点量子产率多通过有机溶剂钝化实现,这导致碳点制备成本昂贵,后处理过程复杂。相比而言,碳点掺入杂原子,使其具有不同的原子轨道,形成新的表面状态,捕获激发电子,有助于碳点量子产率的显著提升,成为近年来新的研究趋势。

本研究以二水合柠檬酸三钠为碳源,通过官能团偶联聚合,并进一步高温碳化的原理制备碳点。实验测得制备的碳点量子产率高达93%。远高于文献所报道的其他方法制备的碳点产率(4%~20%)^[6-11],表明应用无溶剂法制备的碳点具有优异的光致发光性能。其原因可能是因为:由于氮原子与碳原子半径类似,氮原子易于掺杂到碳骨架中,干扰碳点的固有性质。通过加入含氮材料作为表面钝化剂,使得所制备的碳点表面富含氨基、羟基等大量强供电子基团。由辐射重组发光机制可知,强供电子基团可增加共轭体系的共轭度,使荧光波长红移,有效提高了碳点的荧光量子产率^[15-18]。

为了提高递送效率和细胞特异性,用适当的特异性配体对碳点进行功能化修饰是至关重要的。Tf受体在肿瘤细胞表面高表达^[19-21],为设计肿瘤分子成像探针提供了靶点。本研究工作利用碳点表面的羧基与Tf的氨基间的酰胺反应,将Tf修饰到碳点的表面制备荧光分子探针CDs@Tf。与单纯的碳点相比,CDs@Tf更容易与肿瘤细胞结合,实现对HO-8910卵巢癌细胞的靶向成像。

荧光成像技术虽具有较高的灵敏度,但在活体成像中,对组织的显影深度却明显不足,无法对机体深部组织器官进行检测。因此,若将碳点与磁共振造影剂(如Gd³⁺、Mn²⁺等)结合,得到荧光-MR双模态纳米探针^[22],使其不仅具有光学成像的灵敏性,同时兼具MR成像技术特点,将为肿瘤的最终诊断提供精确而全面的信息。

总体而言,CDs@Tf的合成过程简单,毒性低,靶向亲和力高,荧光成像效果好,在卵巢癌细胞的生物传感和诊断以及靶向治疗方面有潜在的应用价值。

[参考文献]

- [1] 赵丹,李斌. 卵巢癌的精准治疗及大数据分析[J]. 中国妇产科临床杂志, 2018, 19(5): 467-468
- [2] 李晶,吴妙芳,林仲秋. 《FIGO 2018 妇癌报告》—卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌诊治指南解读[J]. 中国实用妇

科与产科杂志, 2019, 35(3): 304-314

- [3] 彭芸花. 磁性纳米粒子在卵巢癌诊治中的实验研究[D]. 兰州:兰州大学, 2011
- [4] TIAN L, GHOSH D, CHEN W, et al. Nanosized carbon particles from natural gas soot[J]. Chem Mater, 2009, 21(13): 2803-2809
- [5] 袁晨燕,王玲,安艳丽. 荧光载体CS-Qdots的构建及生物相容性分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(10): 1227-1233
- [6] LI H, MING H, LIU Y, et al. Fluorescent carbon nanoparticles: electrochemical synthesis and their pH sensitive photoluminescence properties[J]. New J Chem, 2011, 35(11): 2666-2670
- [7] SUN Y P, ZHOU B, LIN Y, et al. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence[J]. J Am Chem Soc, 2006, 128(24): 7756-7757
- [8] ZHU H, WANG X, LI Y, et al. Microwave synthesis of fluorescent carbon nanoparticles with electrochemiluminescence properties[J]. Chem Commun (Camb), 2009, 14(34): 5118-5120
- [9] LIU R, WU D, LIU S, et al. An aqueous route to multicolor photoluminescent carbon dots using silica spheres as carriers[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2009, 121(25): 4668-4671
- [10] RAY S C, SAHA A, JANA N R, et al. Fluorescent carbon nanoparticles: synthesis, characterization, and bioimaging application[J]. J Phys Chem C, 2009, 113(43): 18546-18551
- [11] 李晓峰,周明,龚爱华,等. 氮掺杂碳量子点的合成、表征及其在细胞成像中的应用[J]. 材料科学与工程学报, 2015, 33(1): 41-45, 121
- [12] ZHU S, MENG Q, WANG L, et al. Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2013, 52(14): 3953-3957
- [13] HAN C, WANG R, WANG K, et al. Highly fluorescent carbon dots as selective and sensitive "on-off-on" probes for iron(III) ion and apoferritin detection and imaging in living cells[J]. Biosens Bioelectron, 2016, 83: 229-236
- [14] ANILKUMAR P, WANG X, CAO L, et al. Toward quantitatively fluorescent carbon-based "quantum" dots[J]. Nanoscale, 2011, 3(5): 2023
- [15] 史燕妮,李敏,陈师,等. 碳量子点及其性能研究进展[J]. 高分子通报, 2016, 29(1): 39-46
- [16] ZHAI X, ZHANG P, LIU C, et al. Highly luminescent carbon nanodots by microwave-assisted pyrolysis[J]. Chem Commun (Camb), 2012, 48(64): 7955-7957
- [17] WANG F, PANG S, WANG L, et al. One-step synthesis of

(下转第1471页)

- [6] BATISTA P J, CHANG H Y. Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease [J]. *Cell*, 2013, 152(6):1298-1307
- [7] PAN B, ZHAO M, WANG N, et al. LncRNA RGMB-AS1 promotes glioma growth and invasion through miR-1200/HOXB2 axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 10107-10114
- [8] 渠辉恒,王宁,陈义钢,等.长链非编码RNA SNHG14可能通过促进胃癌细胞增殖和转移影响胃癌的进展[J].*南京医科大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(1): 50-55
- [9] 黄杰,胡华,蒋林.长链非编码RNA CBR3-AS1在骨肉瘤中的表达及意义[J].*南京医科大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(1):56-61
- [10] SARKISIAN M R, SEMPLE-ROWLAND S L. Emerging roles of primary cilia in glioma [J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 20(13):55
- [11] WEI L, YI Z, GUO K, et al. Long noncoding RNA BCAR4 promotes glioma cell proliferation via EGFR/PI3K/AKT signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 (12) : 23608-23617
- [12] YANG X, XIE X, XIAO Y, et al. The emergence of long non-coding RNAs in the tumorigenesis of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2015, 360(2): 119-124
- [13] GRANDER D, JOHNSON P. Pseudogene - expressed RNAs: emerging roles in gene regulation and disease [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2016, 394:111-126
- [14] LI J, ZHU Y, WANG H, et al. Targeting long noncoding RNA in glioma: a pathway perspective [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 13:431-441
- [15] BALAS M M, JOHNSON A M. Exploring the mechanisms behind long noncoding RNAs and cancer [J]. *Noncoding RNA Res*, 2018, 3(3):108-117
- [16] RYNKEVICIENE R, SIMIENE J, STRAINIENE E, et al. Non-coding RNAs in glioma [J]. *Cancers*, 2019, 11(1):17
- [17] LI C, ZHENG H, HOU W, et al. Long non-coding RNA linc00645 promotes TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition by regulating miR-205-3p-ZEB1 axis in glioma [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10):717
- [18] CHEN Y, BAO C, ZHANG X, et al. Long non-coding RNA HCG11 modulates glioma progression through cooperating with miR-496/CPEB3 axis [J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(5):e12615
- [19] XU N, LIU B, LIAN C, et al. Long noncoding RNA AC003092.1 promotes temozolomide chemosensitivity through miR-195/TFPI-2 signaling modulation in glioblastoma [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(12):1139

[收稿日期] 2020-02-10

(上接第 1448 页)

- highly luminescent carbon dots in noncoordinating solvents [J]. *Chem Mater*, 2010, 22(16):4528-4530
- [18] 张筱喆,张文君,张祖星,等.掺氮高荧光碳点的一步法制备及对痕量 Hg(II)离子的选择性检测 [J]. *无机化学学报*, 2015, 31(1):1-6
- [19] DANIELS T R, DELGADO T, RODRIGUEZ J A, et al. The transferrin receptor part I: Biology and targeting with cytotoxic antibodies for the treatment of cancer [J]. *Clin Immunol*, 2006, 121(2):144-158
- [20] BANERJEE S S, JALOTA-BADHWAR A, SATAVALEK-AR S D, et al. Cell targeting: transferrin-mediated rapid targeting, isolation, and detection of circulating tumor cells by multifunctional magneto-dendritic nanosystem [J]. *Adv Healthc Mater*, 2013, 2(6):770-770
- [21] 张洪明.转铁蛋白受体的结构、表达及功能 [J]. *实用临床医药杂志*, 2008, 12(5):114-117
- [22] ZHENG S, YU N, HAN C, et al. Preparation of gadolinium doped carbon dots for enhanced MR imaging and cell fluorescence labeling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 511(2):207-213

[收稿日期] 2020-03-10