

---

# 科学家制备新型氮掺杂纳米石墨烯实现超分辨率荧光成像

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/14550.html>

*本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！*

科学家制备新型氮掺杂纳米石墨烯实现超分辨率荧光成像。

日前，日本冲绳科学技术大学院大学成田明光教授，德国马普高分子研究所Klaus Müllen教授课题组和刘晓敏博士团队报导了一种新型氮原子掺杂的纳米石墨烯 N-二苯并[hi,st]戊烯分子，其作为一种出色的pH和金属离子荧光探针，为生物、环境和材料研究中的纳米级超分辨率荧光成像开辟了道路。相关研究成果以A Highly Luminescent Nitrogen-Doped Nanographene as an Acid- and Metal-Sensitive Fluorophore for Optical Imaging为题，于2021年7月5日发表在J. Am. Chem. Soc.上。

pH和/或金属离子响应的荧光探针适用于包括生物研究和环境监测在内的诸多应用。近年来，光学超分辨率纳米级成像和检测技术的发展超越了传统光学显微镜的衍射极限，进一步提升了荧光探针的应用潜力。然而，目前仅有极少数荧光探针可以基于超分辨率成像对pH和/或金属离子进行探测。与此同时现有的该类荧光探针受到低荧光稳定性和窄pH响应范围的限制，使得开发适用于超分辨率成像探测宽范围pH的稳定荧光探针材料变得十分必要。

在最新的这项研究中，我们结合了1) 氮原子对pH和/或金属离子的响应特性和2) 该团队之前报道的纳米石墨烯 (DBOV) 的高光学稳定性及其优越的超分辨率光学特性，从结构设计上将氮原子引入到DBOV的锯齿形边缘，从而制备出了满足相关需求的新型氮掺杂纳米石墨烯6,14-二氮杂二苯并[hi,st]戊烯 (N-DBOV)。

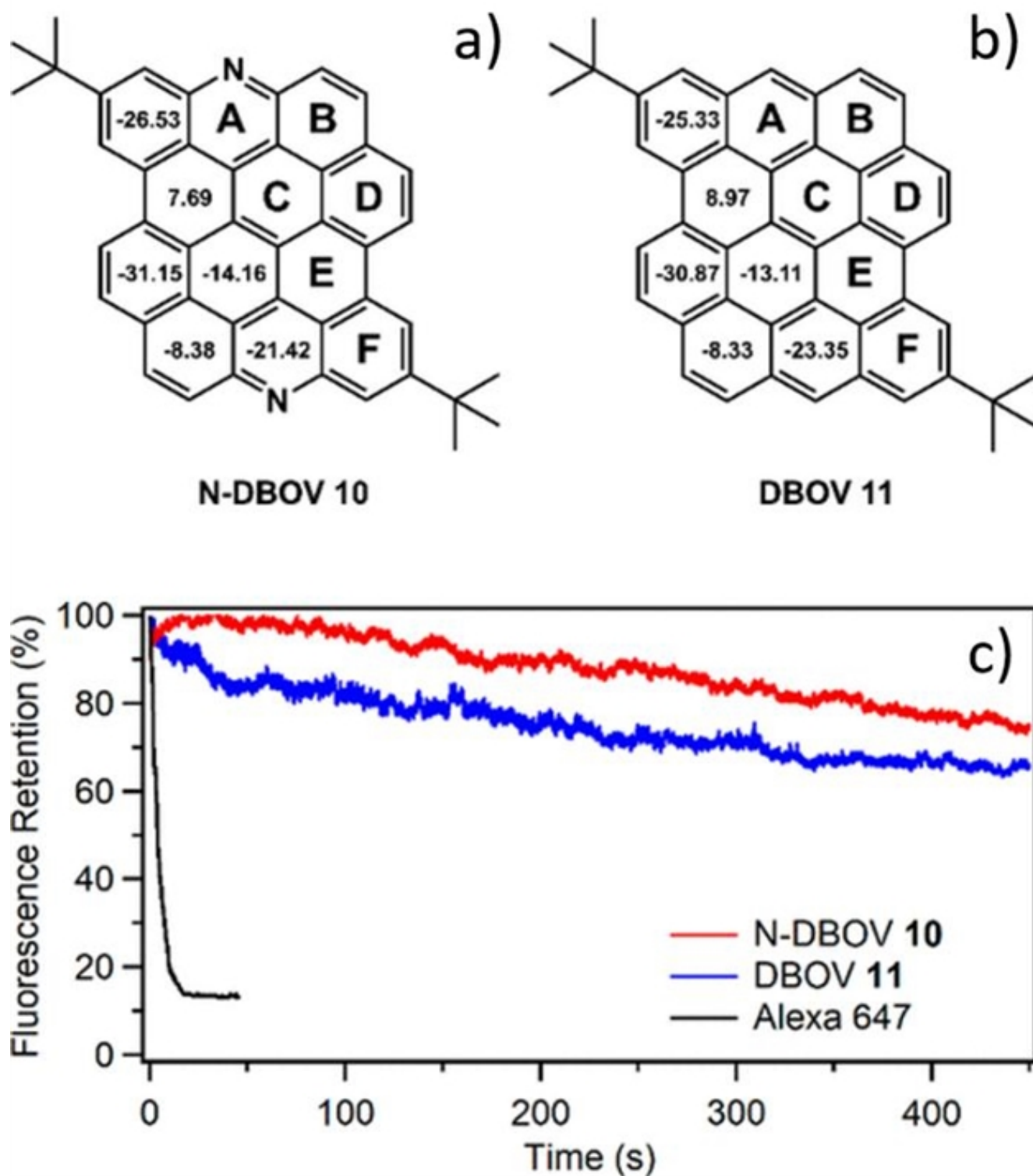


图1：a) 氮掺杂纳米石墨烯N-DBOV 和 b) 纳米石墨烯DBOV 的化学结构，六元环内的数字表示核独立化学位移值；c) 氮掺杂纳米石墨烯N-DBOV、纳米石墨烯DBOV和 常用有机荧光染料Alexa 647的随时间变化的荧光光漂白特性。

首先，为了检查氮掺杂对纳米石墨烯DBOV芳香性的影响，通过 GIAO-B3LYP/6-31G (d) 理论模拟对氮掺杂纳米石墨烯 N-DBOV和纳米石墨烯 DBOV 进行了核独立化学位移计算（图 1a

和 1b)。N-DOBV和 DBOV的结果相似，表明环 A、D 和 F 具有很强的芳香性。N-DOBV 和 DBOV 的感应电流密度图的各向异性十分相似。因此，在锯齿形边缘引入氮原子不会显著影响 DBOV 的芳香性。与之前该团队报道的纳米石墨烯分子DBOV一样，氮掺杂纳米石墨烯 N-DOBV 同样具有优异的光学特性。与目前最常用的容易因为光漂白现象导致荧光淬灭的有机荧光染料相比，氮掺杂纳米石墨烯N-DOBV具有极强的荧光稳定特性。例如，在相同的连续激光激发条件下，在空气氛围下，N-DOBV 在长达450秒的照射时间下仍然可以保持初始 74% 的荧光强度，而其对照组常用的有机荧光染料Alexa 647在短短45秒内由于光漂白导致了明显的荧光淬灭（图 1c）。N-DOBV展示出的的这种高荧光稳定性特别有利于长时间的三维荧光成像应用。

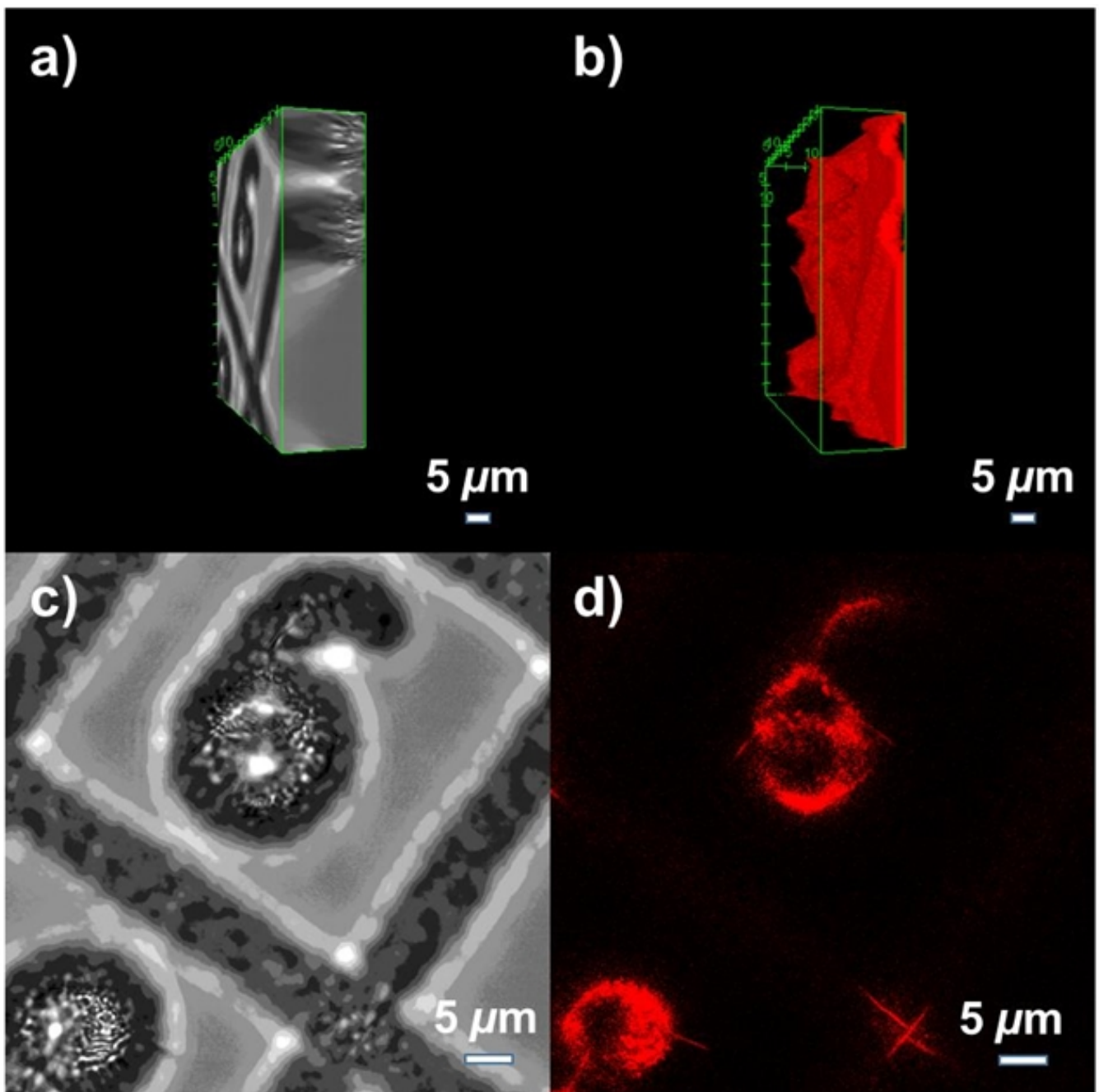


图2：基于氮掺杂纳米石墨烯N-DBOV 的玻璃基板中网格结构的三维明场和共聚焦显微镜图像。a) 明场三维图像和 b) 共焦荧光三维图像；c) 同一平面的明场图像和 d) 共聚焦荧光图像。

如图2所示，在将 N-DBOV 作为荧光探针滴涂在玻璃基底上后，对宽度和深度各为  $5\ \mu\text{m}$  的玻璃基板中的网格结构进行成像。样品首先通过传统的明场显微镜成像，然后在每个  $z$  位置使用共聚焦显微镜成像来获取 XY 平面上的一系列二维图像。最后，将获得的一系列二维图像重建为三维图像。利用氮掺杂纳米石墨烯可以对深度高达  $17\ \mu\text{m}$  的玻璃基板微结构和纳米结构进行成像。该探测很难用其他技术例如明场显微镜（图 2a 和 2c）实现。N-DBOV 在整个成像过程中的荧光强度非常稳定，未观察到光漂白现象，表现出优异的光稳定性。

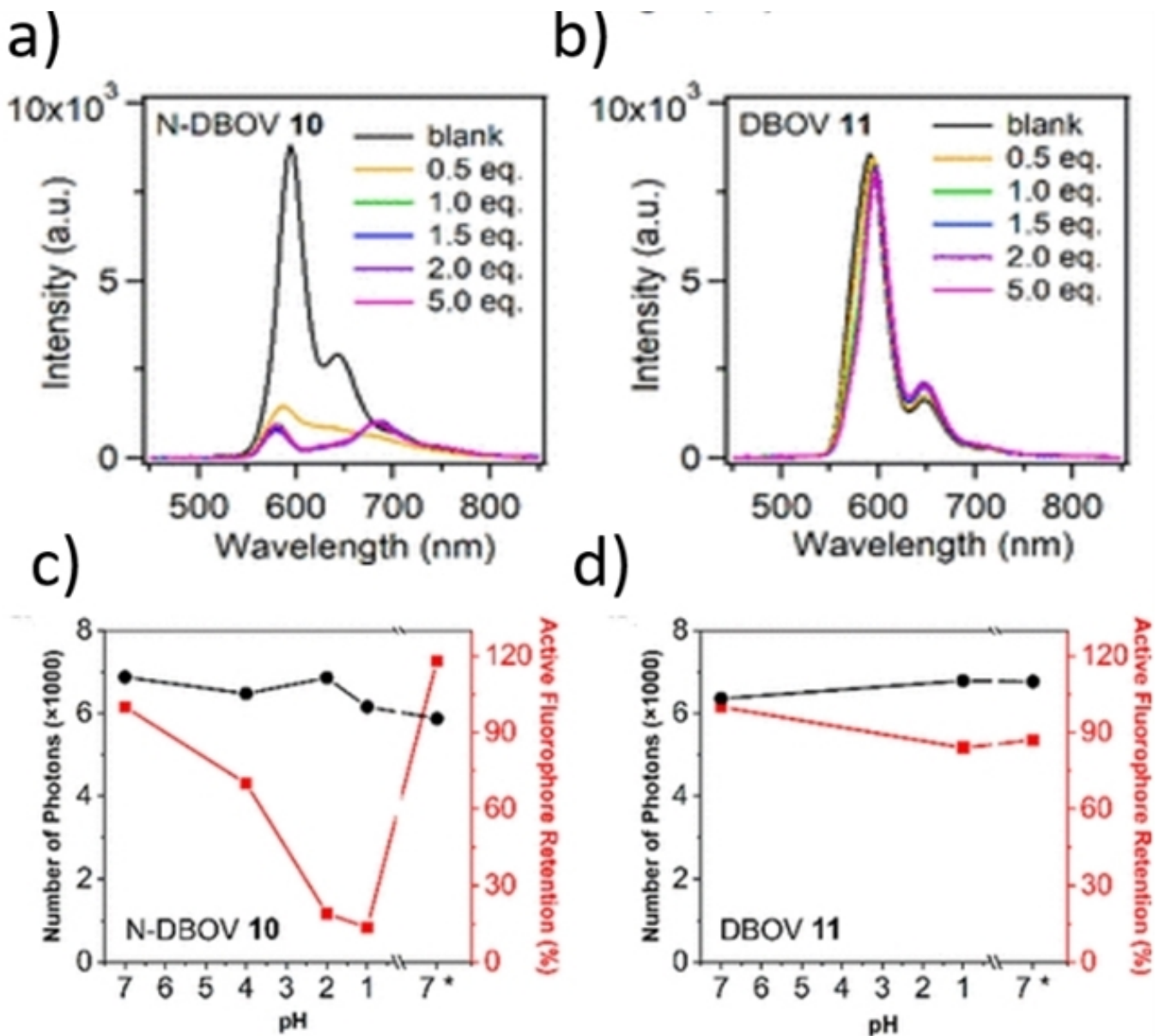


图3：在室温下连续添加三氟乙酸（改变溶液pH值）后，a) N-DBOV 和 b) DBOV 在二氯甲烷溶液（ $2 \times 10^{-5}\ \text{M}$ ）中荧光光谱的变化；c) N-DBOV 和 d) DBOV 在不同 pH

值的水溶液中的单分子荧光特性。

此外，光谱表征证明了 N-DBOV 的 pH 敏感特性，其荧光强度随着溶液的 pH 值的降低而减弱，直至淬灭（图 3a）。我们在单分子水平上进一步分析了 N-DBOV 的 pH 依赖性荧光闪烁特性（图 3c）。活性荧光分子的数量及其发射的荧光光子数被确定为 pH 相关的函数。单分子荧光数据与溶液中显示的集合测量完全一致。这种单分子 pH 依赖性荧光可用于超分辨率 pH 测量。

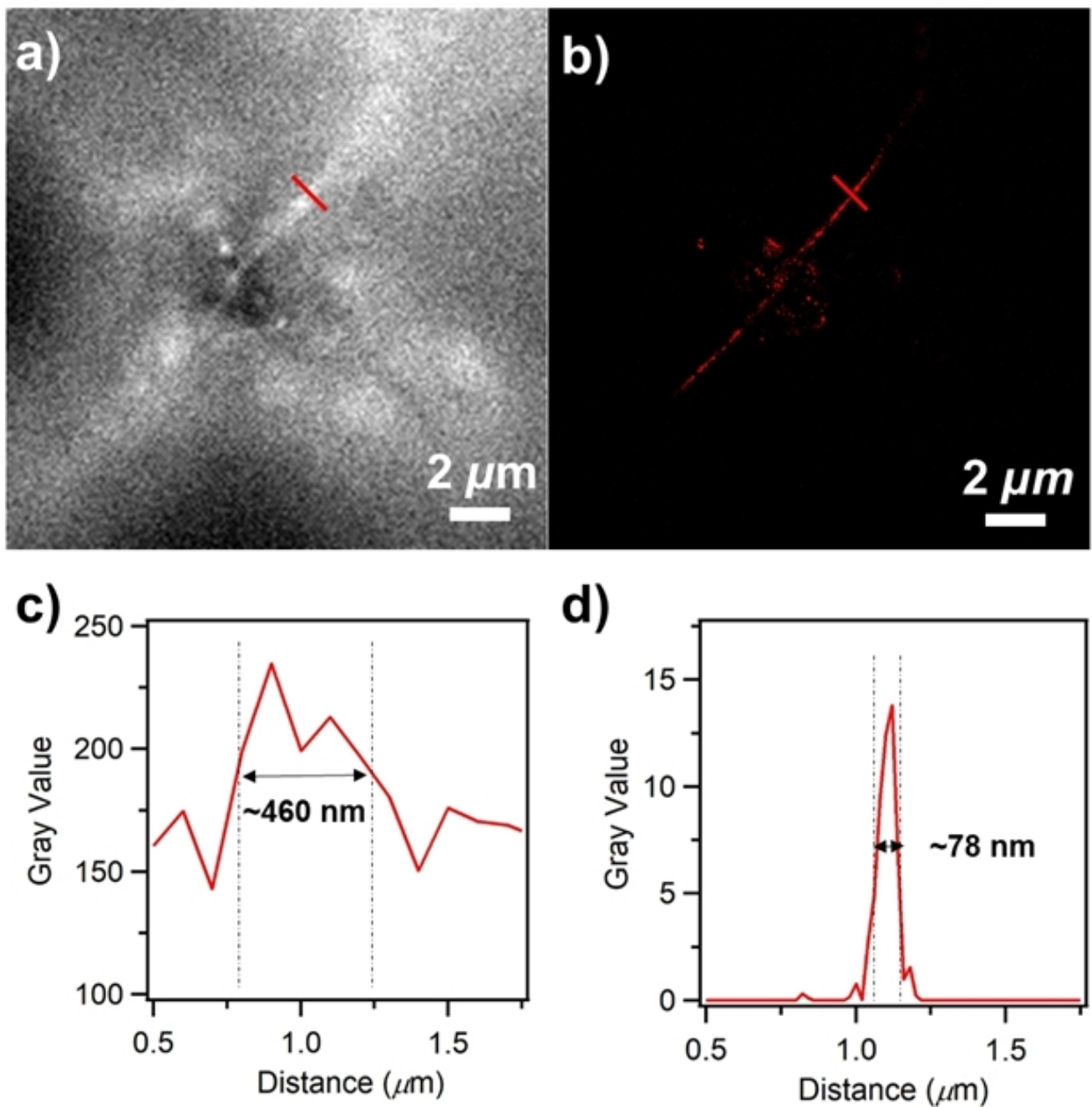


图4：使用 N-DBOV对玻璃基板中的纳米级裂缝进行光学荧光成像。a) 宽视场图像和b) 基于单

---

分子定位技术 (SMLM) 的超分辨率图像。c) 宽视场图像和 d) 超分辨率 SMLM 图像的强度分布，分别使用 a) 和 b) 图像中显示的红线表示 (研究团队供图)

在基于单分子定位技术 (SMLM) 的超分辨率成像中，N-DBOV分子的平均定位精度可达 21 nm。与宽视野图像相比，SMLM 图像的分辨率提高了约 6 倍 (图 3c 和 3d)。必须提及的是，通常被用于单分子定位技术的其他荧光分子需要在特定的缓冲溶液中才能表现出需要的荧光闪烁性能，从而大大局限了成像的可应用范围。于此相反，N-DBOV的荧光闪烁性能则不受环境限制，适应于很多包括空气在内的成像环境，从而极大拓展了成像应用范围。

综上所述，该团队研发的新型氮掺杂纳米石墨烯N-DBOV与传统荧光染料相比具有优异的光物理特性，如高光稳定性和荧光闪烁特性，分别有利于三维荧光成像和超分辨率单分子定位成像。单分子定位技术与 N-DBOV的 pH 相关荧光闪烁特性相结合，可以提供一种在纳米尺度上响应pH 差异的方法。此外，通过考虑在其他稠环位置引入亲水性基团使 N-DBOV 成为水溶性染料，可以为现代生物成像应用带来新的机会，这是该团队目前正在进行的科研工作。

日本冲绳科学技术大学院大学Akimitsu Narita和德国马普高分子研究所Klaus Müllen，刘晓敏为本文共同通讯作者，德国马普高分子研究所金恩泉、杨奇奇为本文共同第一作者。(来源：科学网)

相关论文信息：<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jacs.1c04880>

特别声明：本文转载仅仅是出于传播信息的需要，并不意味着代表本网站观点或证实其内容的真实性；如其他媒体、网站或个人从本网站转载使用，须保留本网站注明的“来源”，并自负版权等法律责任；作者如果不希望被转载或者联系转载稿费事宜，请与我们联系。

作者：刘晓敏等 来源：《美国化学会志》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发