
非线性荧光损耗机理及超分辨成像技术获进展

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/18533.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！

非线性荧光损耗机理及超分辨成像技术获进展。 华南师范大学华南先进光电子研究院教授詹求强课题组在非线性荧光损耗机理及超分辨荧光显微成像领域取得重要进展。相关研究5月23日在线发表于《自然—通讯》（Nature Communications）。

该研究在荧光损耗物理机理上，提出了受激辐射诱导激发损耗新机理，拔本塞源式对敏化能级进行损耗，从源头阻断荧光的激发能量，新机理带来的荧光损耗放大效应大幅降低了超分辨所需要的激光光强，在低光强条件下实现了9种不同光谱探针的荧光损耗。

在超分辨成像技术上，由此发展了一种通用性强的基于单对低光强、近红外、连续波激光的多色超分辨显微成像技术，克服了传统多色STED超分辨系统所依赖的多对超快脉冲光束协同工作的复杂系统、高成本、低稳定性等问题。

受激发射损耗（Stimulated emission depletion, STED）超分辨显微镜的概念由德国科学家Stefan W. Hell于1994年提出，该技术于2014年获得了诺贝尔奖。然而，传统STED显微镜存在原理性局限和问题：受激辐射作用如果要在与自发辐射（寿命有机染料通常为纳秒级）竞争中占主导，通常需要高功率的超短脉冲（飞秒/皮秒）激光作为损耗激光，这往往会导致严重的光漂白、光毒性和重激发背景等问题。此外，多色STED超分辨技术和系统复杂度高、成本高、维护难。詹求强自2017年起带领研究生探索新机理，最终以STED原理性缺陷为突破口，提出全新机理解决了关键问题。

上转换荧光纳米颗粒是一种纳米荧光探针，具有近红外激发、反斯托克斯位移大、无背景荧光、发光极其稳定等独特优势。上转换纳米探针通常是一个敏化-发光二元系统，敏化离子负责吸收激发光能量，然后传递给发光离子辐射波长更短的荧光。

为解决STED面临的上述难题，詹求强课题组基于上转换荧光技术提出了全新的思路：抑制敏化离子和发光离子间的能量传递过程就可以切断对发光离子的能量补给，使得发光离子被釜底抽薪，即受激辐射诱导激发损耗（Stimulated-emission induced excitation depletion, STExD）机理。结合上转换发光的多光子非线性泵浦依赖特性（非线性效应随泵浦的光子数增多而不断增强），实现了光子数越高的荧光能级电子损耗越强烈，STExD机理具有传统STED所不具有的对荧光损耗进行非线性放大的独特效应，与之伴随的技术意义就是可以逐级降低高能级荧光损耗所需要的饱和光强，这突破了传统STED中的饱和光强理论的限制（实验测得值显著低于传统理论值）。

基于此，课题组使用740 nm的激发光和1064 nm的损耗光，在钆掺杂的上转换荧光探针中实现了高达99.3%的超高损耗效率，损耗饱和光强降低至23.8 kW/cm²，比传统STED探针降低了3个数量

级。结合上转换发光一对多的敏化-发光特性，STExD可以实现一对激光实现对多种UCNPs探针的光开关控制。钆离子是上转换发光常用的敏化离子，可以单独或与镱离子联合敏化多种发光离子，课题组利用镱离子的能量传递桥梁作用，仅使用一组固定波长的激光器就成功实现了铒离子、钬离子的高效荧光损耗，损耗效率分别超过90%和80%。进一步地，也分别在镨、镱、铽、铽掺杂的体系中实现了高效的荧光损耗效应，总计实现9种不同光谱探针的同时荧光损耗。

以此新机理STExD为基础，课题组发展了一种基于单对低光强、近红外、连续波激光的多色超分辨显微成像技术，分别对钆（黄色），铒（红色），钬（绿色）掺杂的上转换荧光探针实现了不同颜色的超分辨成像，原始图像分辨率达34 nm，并进一步实现了钆、钬掺杂的上转换荧光双色超分辨成像。通过荧光探针的表面改性和特异性修饰，课题组成功将上转换荧光探针免疫标记到HeLa癌细胞的肌动蛋白纤维，实现了亚细胞结构的超分辨生物成像。该工作提出的STExD通用发光损耗策略巧妙地利用了上转换荧光的传能发光特性，为解决传统STED技术的问题、开发新型探针提供了新的方案，为开发低光毒性、深层组织（近红外II区损耗激光）的多色超分辨成像技术奠定了基础，在突破衍射极限的光传感、光遗传学、光刻等前沿领域也具有广泛的应用前景。

华南师范大学博士研究生郭鑫、蒲锐为该论文共同第一作者，来自瑞典皇家理工学院（KTH）的刘海春博士、Jerker Widengren教授等人以及詹求强课题组2016级黄冰如、2015级吴秋生等硕士生对该课题的完成做出了重要贡献，詹求强教授为论文通讯作者，华南师范大学为论文第一完成单位。该研究得到了国家自然科学基金、广东省自然科学基金等项目经费的支持。（来源：中国科学报朱汉斌）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41467-022-30114-z>

版权声明：凡本网注明来源：中国科学报、科学网、科学新闻杂志的所有作品，网站转载，请在正文上方注明来源和作者，且不得对内容作实质性改动；微信公众号、头条号等新媒体平台，转载请联系授权。邮箱：shouquan@stimes.cn。

作者：詹求强等 来源：《自然—通讯》

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