

生化与药用试剂

ROS 响应型荧光传感器阵列构建及其鉴别肿瘤

刘倩¹, 陶新怡¹, 万宇², 张苗苗¹, 卢海峰^{*1}

(1. 安徽医科大学 药学院 炎症与免疫性疾病安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230032;

2. 安徽化工研究院检测评价科技有限公司, 安徽 合肥 230041)

摘要:细胞内的活性氧(ROS)种类和含量与肿瘤类型密切相关,但基于 ROS 的模式识别用于癌症的精准诊断尚未见报道。在此,提出了一种基于 pH 调控多色金纳米簇的 ROS 响应荧光传感器阵列,用于区分肿瘤细胞类型及其增殖状态。该策略通过调控 pH 合成了三色荧光的组氨酸模版金纳米团簇(AuNCs@His),响应细胞内 ROS 而导致不同程度的荧光淬灭,从而形成独特的光学“指纹”,通过主成分分析(PCA)可以很好地聚为几个分离的基团,互不重叠。通过流式细胞术(FCM)检测发现,3 种 AuNCs@His 被多种癌细胞内化后,对细胞内的 ROS 表现出不同程度的荧光淬灭。利用传感器阵列提供的信息,细胞内 ROS 种类和水平的差异形成了独特的光学“指纹”,通过 PCA 可用于区分各种癌细胞,且具有良好的重现性和准确性。更重要的是,所提出的 ROS 响应的荧光传感器阵列在区分肿瘤的增殖状态方面也表现出优异的性能。ROS 响应的荧光传感器阵列可以作为一种有前途的工具用于癌症的精确诊断,显示出巨大的临床应用潜力。

关键词:金纳米团簇;活性氧;模式识别;主成分分析;癌症精准诊断

中图分类号: O631;R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2025)06-0028-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2025.0007

Construction of ROS-Responsive Fluorescent Sensor Array for Tumor Differentiation LIU Qian¹, TAO Xin-yi¹, WAN Yu², ZHANG Miao-miao¹, LU Hai-feng^{*1} (1. Inflammation and Immune Mediated Diseases Laboratory of Anhui Province, School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2. Anhui Chemical Research Institute Testing and Evaluation Technology Co., Ltd., Hefei 230041, China)

Abstract: Intracellular reactive oxygen species (ROS) are closely associated with the types of tumors, but ROS-based pattern recognition for precise diagnosis of cancer has never been reported yet. Herein, we proposed an ROS-responsive fluorescent sensor array based on pH-controlled multicolor gold nanoclusters to distinguish tumor cell types and their proliferation states. This strategy involves the synthesis of three types of histidine-templated gold nanoclusters AuNCs@His with different fluorescence profiles by adjusting the pH value. The response to intracellular ROS leads to varying degrees of fluorescence quenching, thereby forming unique optical “fingerprints”, which were well-clustered into several separated groups without overlap by principal component analysis (PCA). After being internalized by various cancer cells, three types of AuNCs@His exhibited different fluorescent quenching degrees in response to the intracellular ROS, as revealed by flow cytometry (FCM). Utilizing the information provided by the sensor array, the differences in types and levels of intracellular ROS formed unique optical “fingerprints”, which could be used to differentiate various cancer cells with excellent reproducibility and accuracy by PCA. More importantly, the proposed ROS-responsive fluorescent sensor array also exhibited excellent performance in differentiating the proliferation states of cancer. Overall, our study provides a promising tool for precise diagnosis of cancer, holding great potential for clinical application.

Key words: gold nanoclusters; reactive oxygen species; pattern recognition; principal component; precise cancer diagnosis

癌症的早期诊断对其治疗以及预后评估均具有重要意义^[1,2]。目前基于抗体的检测方法已广泛应用,包括组织病理学、生物成像和光学/电化

学生物传感^[3-5],但它们依然面临着一些问题,如肿瘤细胞标志物的缺乏、抗体本身的高成本和固有免疫原性^[6,7]。为了克服这种困境,模式识别

收稿日期:2025-01-08;修回日期:2025-02-11

基金项目:安徽医科大学高峰学科人才基金项目(2023xkj13);安徽省自然科学基金青年项目(2408085QB059);安徽省教育厅重点研究项目(2022AH050705)。

作者简介:刘倩(1999-),女,安徽阜阳人,硕士生,主要研究方向为纳米抗肿瘤药物。

通讯作者:卢海峰, E-mail: hflu@ahmu.edu.cn。

可作为一种有前途的策略来实现肿瘤的精准诊断。不同于传统基于“锁和钥匙”的识别模式,它只依赖于传感元件与目标之间相互作用,由不同的非选择性受体组成的传感器阵列可以与不同的分析物相互作用,形成独特的光学“指纹图谱”,再通过主成分分析(PCA)进行聚类,从而可有效地识别不同的分析物,并具有令人满意的准确性^[8,9]。因此,开发合适的传感器阵列来精确诊断肿瘤是迫切需要的。

活性氧(ROS)是生物体内具有高反应活性的自由基^[10]。大量研究表明肿瘤微环境中由于肿瘤细胞代谢异常,通常具有高氧化应激状态,其特点是升高的 ROS 水平通过触发各种信号通路促进癌细胞增殖^[11-13]。因此,异常的 ROS 水平已经成为肿瘤细胞的重要标志物之一,可作为传感器阵列的分析物来实现对肿瘤细胞的模式识别。然而,由于 ROS 具有稳态浓度极低、寿命短、反应性高等特点^[14-16],建立 ROS 响应型传感器阵列识别癌细胞类型目前仍具有巨大的挑战。

近年来,许多类型的超小贵金属纳米团簇由于其易于制备和高荧光性能而引起了相当大的关注^[17,18]。其中,金纳米团簇(AuNCs)是由几个到数百个原子组成,粒径约为 2~3 nm,被认为是最有前景的传感元件^[19,20]。相比于其他金属纳米团簇,AuNCs 具有以下优势:1) AuNCs 在复杂基质或较宽的 pH 范围内都更稳定;2) AuNCs 具有良好的生物相容性^[21,22],因此可用于生物分析。

本文通过调节 pH,合成了 3 种不同荧光特性的组氨酸修饰的金纳米团簇(AuNCs@His),通过响应细胞内 ROS 类型和水平的差异,形成独特的光学“指纹图谱”。再结合 PCA 分析可有效区分肿瘤细胞类型及其增殖状态,展示出巨大的临床应用潜力。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

F-7000 型荧光分光光度计(日本日立公司);UV-1800 型紫外分光光度计(日本岛津公司);HTX 型多模式微孔板阅读器(美国 BioTek 公司);FLS980 型荧光光谱仪(英国 Edinburgh 公司);JEOL 1011 型透射电子显微镜(日本 JEOL 公司);ESCALAB 250Xi 型 X 射线光电子能谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);LSM 800 型激光共聚焦显微镜(德国蔡司公司);Beckman FC500

型流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)。

亚硝酸钠、氯金酸水合物($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)(南京化学试剂股份有限公司);L-组氨酸、盐酸异丙肾上腺素(上海麦克林生化科技股份有限公司);二甲基亚砜(DMSO)、次氯酸钠(NaClO)、 H_2O_2 (30%)(国药集团化学试剂有限公司);氧化钾(KO_2)、3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基溴化四唑(MTT)、PMA、LPSs、TEMPO、胰蛋白酶(上海碧云天生物技术有限公司);胎牛血清(FBS,澳大利亚 Life Technologies 公司);N-乙酰半胱氨酸(NAC,上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。以上所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 AuNCs@His 的合成与表征

将新配制的 100 mL (1.22 mmol/L) HAuCl_4 溶液分为 3 组,通过 NaOH 和 HNO_3 调节至不同 pH (1.7、6.8 和 11.0)。然后将 100 mL (1.84 mmol/L) L-组氨酸溶液加入上述溶液中,110 °C 搅拌 12 h。12 500 r/min 离心 10 min 去除较大粒径的副产物后,收集含有 AuNCs@His 的透明上清液,4 °C 保存。其次,AuNCs@His 1、2 和 3 通过紫外-可见吸收光谱、动态激光散射(DLS)、透射电子显微镜(TEM)和 X 射线光电子能谱(XPS)进行了充分的表征。

1.2.2 多类型 ROS 的制备

市售的 H_2O_2 和 NaClO 直接稀释,可分别制备 H_2O_2 和 ClO^- 的工作液。 FeCl_2 与 H_2O_2 在酸性条件下通过芬顿反应得到 $\cdot\text{OH}$ 。 NaNO_2 与 H_2O_2 以 1:5 的物质的量比反应得到 ONOO^- 。 NaClO 与 H_2O_2 混合搅拌得到 $^1\text{O}_2$ 。将 KO_2 溶解于 DMSO 中制备超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)。

1.2.3 ROS 响应的传感器阵列构建

在 96 孔板(3×7 阵列)中加入等量的各种活性氧:(A1~A3):0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液;(B1~B3):含 50 μL (0.5 mmol/L) ClO^- 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液溶液;(C1~C3):含 50 μL (0.5 mmol/L) ONOO^- 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液溶液;(D1~D3):含 50 μL (0.5 mmol/L) $\cdot\text{OH}$ 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液溶液;(E1~E3):含 50 μL (0.5 mmol/L) H_2O_2 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液溶液;(F1~F3):含 50 μL (0.5 mmol/L) $^1\text{O}_2$ 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液溶液;(G1~G3):含 50 μL (0.5 mmol/L) $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液。再加入 200 μL (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) AuNCs@His 1、2

和 3 溶液室温孵育 5 min。通过酶标仪分析 AuNCs@His 1、2 和 3 的荧光信号,计算荧光猝灭效率,以形成的“指纹图谱”进行主成分分析。

1.2.4 细胞培养

所有细胞系在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养,并添加 100 U/mL 青霉素和 100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素。所有细胞系在 37 $^{\circ}\text{C}$ 含 5% CO_2 的无菌环境中生长,并在达到 80% 以上的密度后传代^[23-25]。

1.2.5 体外细胞毒性试验

采用 MTT 法检测 AuNCs@His 1、2 和 3 的体外细胞毒性。简单地说,将 MDA-MB-231 细胞接种于 96 孔微孔板中,培养 24 h 进行附着。之后,将含有 3 种不同浓度 AuNCs@His 的培养基分别与 MDA-MB-231 细胞孵育 24 h。然后,将 20 μL (5 mg/mL) MTT 试剂加入上述细胞中,再孵育 4 h,然后用 100 μL DMSO 替换培养基,室温振荡 10 min。最后,用酶标仪测定 490 nm 处甲瓚晶体的吸光度。细胞相对活力计算公式为:细胞相对活力(%) = $\text{Abs}(\text{探针})/\text{Abs}(\text{对照}) \times 100\%$,其中 Abs(探针)和 Abs(对照)分别为有探针和无探针

时的吸光度^[26]。

1.2.6 肿瘤细胞类型及增殖状态鉴别

11 株不同细胞在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养 2~3 d (5% CO_2 , 37 $^{\circ}\text{C}$)。将细胞与 20 $\mu\text{g/mL}$ AuNCs@His 1、2、3 共孵育 2 h。以 ROS 猝灭剂预处理的细胞为对照。细胞经胰蛋白酶消化、再分散后,通过流式细胞仪分析荧光信号,计算金纳米团簇的荧光猝灭效率,再进行 PCA 分析。为了鉴别肿瘤组织增殖状态,将肿瘤组织经消化后,再用 DMEM 培养基稀释至 5×10^5 个/mL 细胞后,其他操作流程与上述一致^[27]。

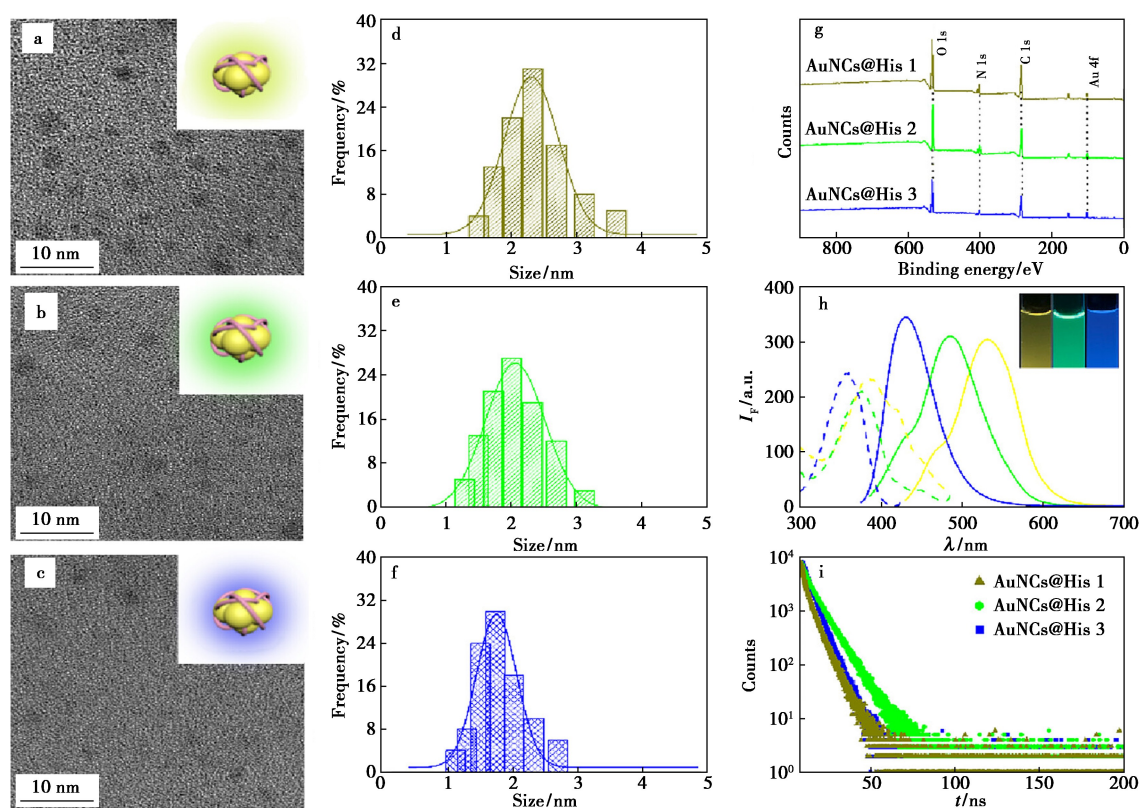
1.2.7 患者队列

本文分析了安徽医科大学第一附属医院 12 例浸润性乳腺癌标本。患者年龄 40~65 岁。本研究按照安徽医科大学生物医学伦理委员会规程(编号:83220390)进行。

2 结果与讨论

2.1 多色金纳米团簇的制备与表征

使用透射电子显微镜(TEM)和 X 射线光电



a~c. AuNCs@His 1、2 和 3 的 TEM 图像;d~f. 相应金纳米团簇粒径的高斯分布;g. AuNCs@His 1、2 和 3 的 XPS 光谱;
h. AuNCs@His 1、2 和 3 的荧光激发(虚线)和发射谱图(实线);i. AuNCs@His 1、2 和 3 的荧光寿命

图 1 3 种金纳米团簇的表征

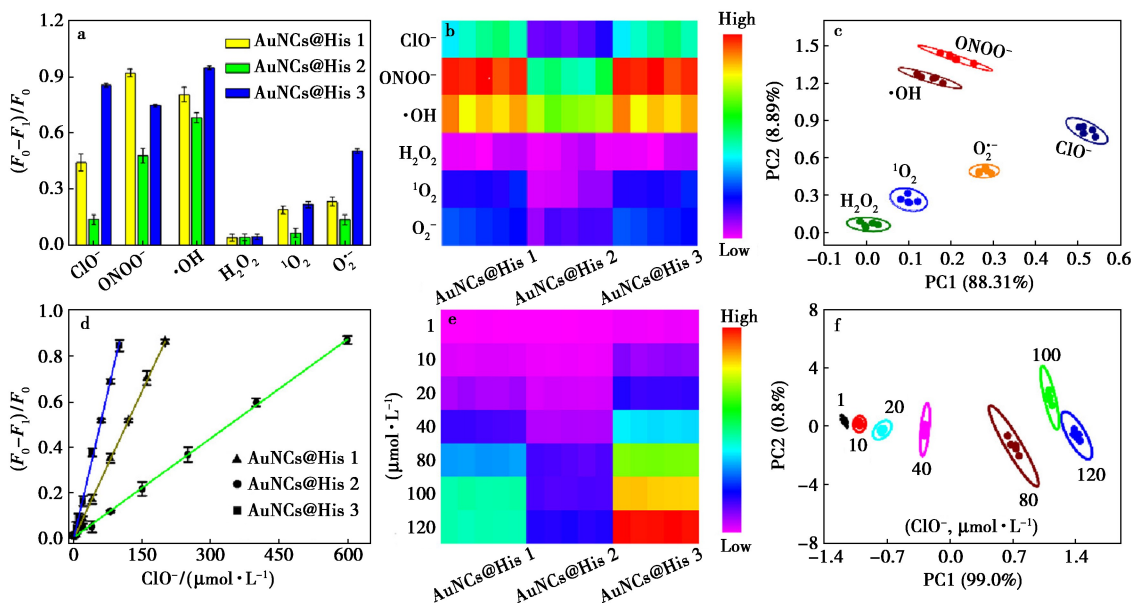
Fig.1 Characterization of three types of gold nanoclusters

子能谱(XPS)表征合成的金纳米团簇。TEM 图像显示,AuNCs@His 1、2 和 3 均为单分散球形,平均直径分别为 (2.3 ± 0.7) 、 (2.0 ± 0.6) 和 (1.7 ± 0.5) nm(图 1a~1f)。同时,XPS 显示,制备的金纳米团簇有 Au 4f、C 1s、N 1s 和 O 1s 这 4 个共同峰(图 1g),表明成功制备了组氨酸修饰的 AuNCs^[28]。另外,AuNCs@His 1、2 和 3 的荧光激发和发射光谱存在显著差异,其荧光寿命分别为 4.93、7.62、5.26 ns,可作为荧光传感器阵列元件(图 1h~1i)。

2.2 ROS 响应型传感器阵列的构建

接下来,以荧光猝灭效率为指标评估 AuNCs@His 1、2 和 3 对 6 种浓度相同的 ROS (ClO^- 、 ONOO^- 、 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、 $^1\text{O}_2$ 和 O_2^-) 的荧光响应。如图 2a 所示,对应于不同的 ROS,可以观察到一种

独特的荧光响应模式。每个 ROS 的光学“指纹”可以通过具有颜色差异的热图直观地反映出来(图 2b)。接下来,通过 PCA 对荧光响应模式进一步分类。如图 2c 所示,ROS 的响应模式被很好地聚类成 6 个独立的组,没有重叠,表明荧光传感器阵列可鉴别不同的 ROS。定量传感函数是传感器阵列性能的另一个重要参数。以 ClO^- 定量为例,如图 2d 所示,AuNCs@His 1、2 和 3 的荧光猝灭效率随着 ClO^- 浓度的增加而增加,分别在 0~200、0~600 和 0~100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内呈良好的线性关系。此外,热图清晰地显示了 AuNCs@His 1、2 和 3 对不同浓度 ClO^- 的不同荧光响应(图 2e)。在 PCA 图中,不同浓度的 ClO^- (1~120 $\mu\text{mol/L}$) 可以被清晰区分,没有重叠(图 2f),证实了所提传感器阵列的浓度区分能力。



a. AuNCs@His 1、2 和 3 对 6 种 ROS 的荧光响应; b. AuNCs@His 1、2 和 3 对 6 种 ROS 的热图;
c. AuNCs@His 1、2 和 3 对 6 种 ROS 的 PCA 分析图; d. AuNCs@His 1、2 和 3 对 ClO^- 的荧光响应线性图;
e. AuNCs@His 1、2 和 3 对 ClO^- 的热图; f. AuNCs@His 1、2 和 3 对 ClO^- 的 PCA 分析图; 误差棒代表标准偏差 ($n=3$)

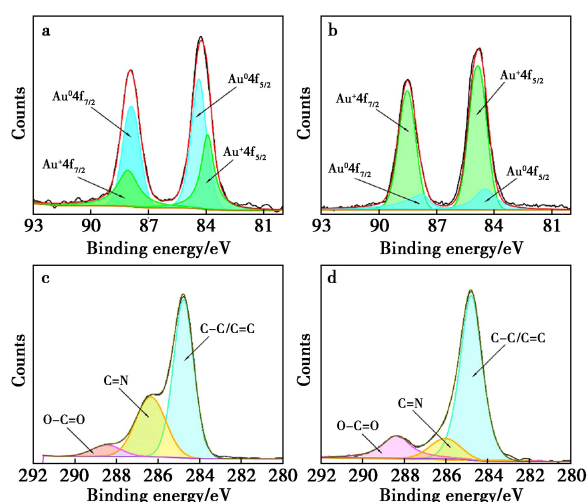
图 2 ROS 响应型传感器阵列的构建

Fig.2 Construction of the ROS-responsive sensor array

2.3 传感机制的探究

为了探究 ROS 响应型荧光传感器阵列的传感机理,采用 XPS 对 AuNCs@His 3 与 ClO^- 反应前后进行表征。如图 3a 所示,AuNCs@His 3 的 XPS 分析确定了 Au 4f 7/2 和 Au 4f 5/2 峰,结合能分别为 84.4 和 88.2 eV,是对应于 Au(0) 和 Au(I) 两种不同组分的典型结合能。该结果清楚地说明了 AuNCs@His 3 中 Au(0) 和 Au(I) 的共存,这可能有助于维持 AuNCs@His 3 的荧光稳定

性^[29]。计算得到 AuNCs@His 3 的 Au(0)/Au(I) 比率为 1.24。然而,与 ClO^- 反应后,Au(0)/Au(I) 比值降低至 0.39,表明 Au(0) 可以被 ClO^- 有效地氧化为 Au(I) (图 3b)。同时,也探究了 ClO^- 对表面配体的氧化作用。与未处理的 AuNCs@His 3 相比, ClO^- 处理的 AuNCs@His 3 的 O—C=O 含量显著增加,而 C=N 含量显著降低,这可能是由于 L-组氨酸的咪唑环通过开环反应(图 3c、3d)被氧化所致。



a. AuNCs@His 3 与 ClO^- 反应前的 Au 4f XPS 图谱;
b. AuNCs@His 3 与 ClO^- 反应后的 Au 4f XPS 图谱;
c. ClO^- 处理前 AuNCs@His 3 的 C1 XPS 图谱;
d. ClO^- 处理后 AuNCs@His 3 的 C1 XPS 图谱

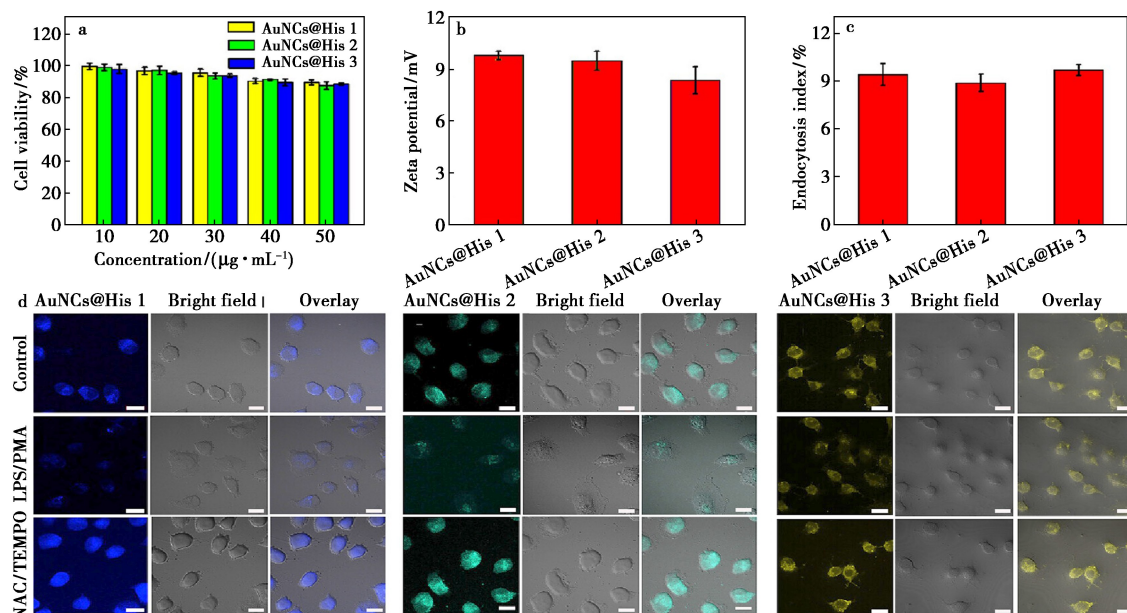
图 3 传感机制的探究

Fig.3 Investigation of the sensing mechanism

2.4 荧光探针的细胞摄取

考虑到荧光探针的生物应用,使用 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (MTT) 法评估 AuNCs@His 1、2 和 3 的细胞毒性。如图 4a 所示,MDA-MB231 细胞分别与不同浓度的

AuNCs@His 1、2 和 3 孵育 24 h 后,观察到可忽略的细胞毒性,表明它们具有良好的生物相容性。由于 AuNCs@His 的有效细胞摄取是区分多种癌细胞的必要前提,因此通过 FCM 考察了 AuNCs@His 1、2 和 3 的内吞作用。在 FCM 分析之前,首先测定 AuNCs@His 1、2 和 3 的 Zeta 电位。图 4b 表明 AuNCs@His 1、2 和 3 均带正电荷,因此通过 AuNCs@His 与带负电荷的细胞膜之间的静电相互作用有效地促进了它们内化到细胞中^[30]。此外,在 MDA-MB-231 细胞中,AuNCs@His 1、2 和 3 的内吞指数相似($\sim 9.0\%$),这可能是由于 AuNCs@His 表面具有相同的配体(图 4c)。接下来,评估了 AuNCs@His 1、2 和 3 对细胞内 ROS 的荧光响应,分别用脂多糖(LPSs)/基丙烯酰胺(PMA)和 N-乙酰半胱氨酸(NAC)/2,2,6,6-四甲基哌啶氧化物(TEMPO)预处理 MDA-MB-231 细胞以诱导和清除细胞内 ROS。如图 4d 所示,与对照组相比,在 NAC/TEMPO 处理的 MDA-MB-231 细胞中观察到强烈的荧光信号,而在 LPS/PMA 处理的 MDA-MB-231 细胞中观察到较少的荧光信号,表明 AuNCs@His 的荧光猝灭是由细胞内 ROS 引起的。



a. 不同浓度 AuNCs@His 1、2、3 分别孵育 MDA-MB-231 细胞 24 h 后的细胞存活率;b. AuNCs@His 1、2、3 的 Zeta 电位;
c. AuNCs@His 1、2、3 的细胞内吞指数,误差棒代表标准偏差($n=4$);d. AuNCs@His 1、2、3、LPS/PMA+AuNCs@His 1、2、3 和 NAC/TEMPO+AuNCs@His 1、2、3 分别处理 MDA-MB-231 细胞的 CLSM 图像,标尺 = 20 μm

图 4 荧光探针的细胞摄取

Fig.4 Cellular uptake of fluorescent probes

2.5 肿瘤细胞的模式识别

受此启发,进一步评估荧光传感器阵列是否能够区分不同的细胞系。选择 6 株肿瘤细胞 (MGC-803、A549、HepG2、SKOV-3、MDA-MB-231、HeLa) 和 5 株正常细胞 (Het-1A、L02、HCAEC、hOMF、HK-2) 作为模型。通过流式细胞仪分析 AuNCs@His 1、2 和 3 与细胞共孵育后的荧光信号。以 NAC/TEMPO 预处理的细胞作为对照。如图 5a 所示,由于 ROS 的种类和水平不同,不同细胞的荧光响应存在明显差异。从图 5b 中可以看出,所有细胞系均位于簇中,且彼此明显分开,表明这些细胞被正确地地区分。同时,使用层次聚类分析 (HCA) 分析不同细胞系的相似性。在

HCA 图中 (图 5c), 正常细胞和癌细胞以 100% 的准确率被分为两个簇,证明了传感器阵列具有出色的细胞识别能力。接下来,进一步研究了传感器阵列是否能够区分癌细胞的增殖状态。利用该传感器阵列对安徽医科大学第一附属医院收集的 12 例乳腺癌临床组织样本进行了检测。AuNCs@His 1、2、3 对乳腺癌组织中 ROS 的荧光响应如图 5d 所示,形成独特的光学“指纹”。所有乳腺癌样本在 PCA 得分图中正确聚类,以 95% 置信区间 (图 5e、5f) 将其进一步划分为低、中、高增殖状态对应的 3 个区域。综上,构建的荧光传感器阵列具备有效鉴别癌细胞类型及其增殖状态的能力。

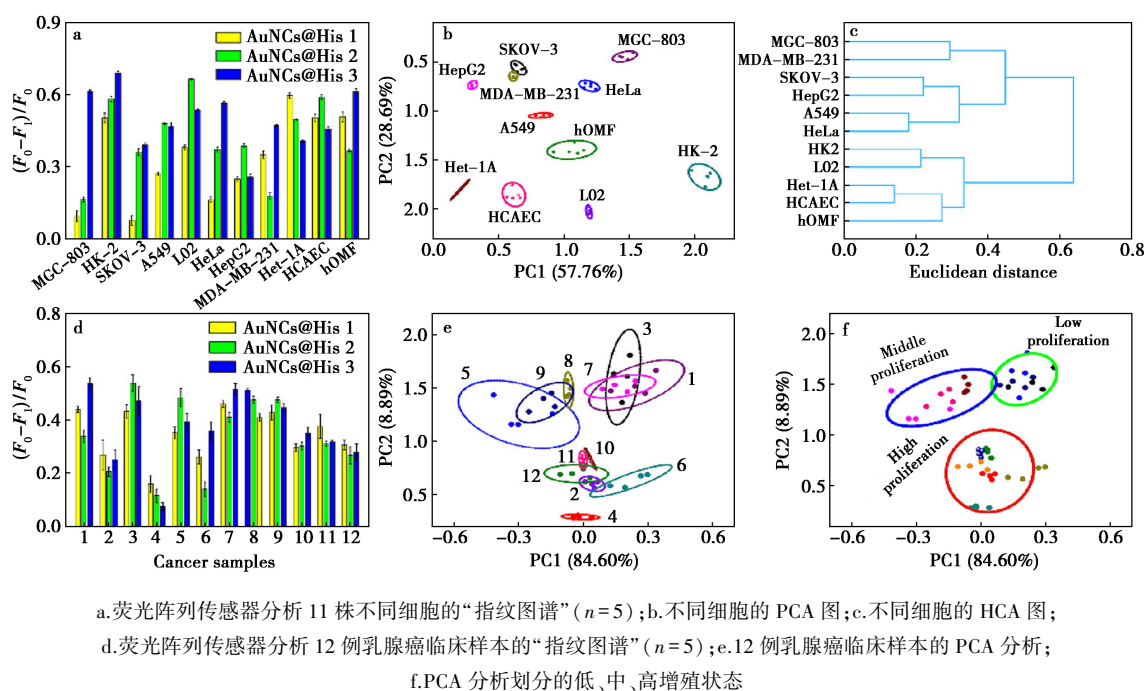


图 5 肿瘤细胞的模式识别

Fig.5 Pattern recognition of cancer cells

3 结论

本文制备了 pH 可控的多色 AuNCs@His 1、2 和 3, 并成功构建了 ROS 响应的荧光传感器阵列用于癌症的精准诊断。构建的荧光传感器阵列响应 6 种类型的 ROS, 从而形成独特的光学“指纹”, 通过 PCA 可以很好地将其聚集成几个独立的组, 而不会重叠。基于 ROS 响应模式, 传感器阵列不仅区分了不同的癌细胞, 而且区分了它们的增殖状态。与先前报道的方法相比, 本文的传感器阵列具有以下突出的优点。首先, 具有不同

荧光轮廓的单配体修饰的 AuNCs 具有相似的表面性质, 保证了相似的内吞效率。其次, 通过使用 ROS 响应的荧光传感器阵列和 PCA, 可以快速准确地识别各种癌细胞和癌症增殖状态, 从而提高诊断效率。第三, 传感器阵列的配置非常简单, 没有复杂的合成和昂贵的仪器。总的来说, ROS 响应的荧光传感器阵列在癌症的精确诊断方面具有巨大的应用潜力。然而, 所提出的传感器阵列不便于癌症的早期诊断。进一步的研究需要开发用于血清 ROS 模式识别的智能传感器阵列。

参考文献:

- [1] Guerra C E, Sharma P V, Castillo B S. *Annu. Rev. Med.*, 2024, **75**(1): 67-81.
- [2] Lawrence R, Watters M, Davies C R, Pantel K, Lu Y J. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2023, **20**(7): 487-500.
- [3] Pan Y W, Wang Y J, Chen X X, Zhang X M, Huo C H. *Anal. Lab.*, 2023, **42**(10): 1 395-1 405.
潘艺文, 王钰结, 陈晓雯, 张晓敏, 霍朝晖. 分析试验室, 2023, **42**(10): 1 395-1 405.
- [4] Sasmal R, Das S N, Pahwa M, Rao S, Joshi D, Inamdar M S, Sheeba V, Sgasti S S. *Anal. Chem.*, 2018, **90**(19): 11 305-11 314.
- [5] Shi F F, Jiang Y T, Gong G A, Qin J Y, Mei Y. *Phys. Test. Chem. Anal., Part B*, 2024, **60**(1): 495-501.
史峰峰, 蒋裕婷, 龚国傲, 覃江阳, 梅勇. 理化检验-化学分册, 2024, **60**(5): 495-501.
- [6] Sun W, Nan J, Che Y, Shan H, Sun Y, Xu W, Yang B. *Biosens. Bioelectron.*, 2024, **261**: 116 469.
- [7] Ecker D M, Jones S D, Levine H L. *mAbs*, 2015, **7**(1): 9-14.
- [8] Askim J R, Mahmoudi M, Suslick K S. *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**(22): 8 649-8 682.
- [9] Anzenbacher J P, Lubal P, Buček P, Palacios M A, Kozelkova M E. *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**(10): 3 954-3 979.
- [10] Yang B, Chen Y, Shi J. *Chem. Rev.*, 2019, **119**(8): 4 881-4 985.
- [11] Tong L, Chuang C C, Wu S, Zuo L. *Cancer lett.*, 2015, **367**(1): 18-25.
- [12] Zhou Z, Song J, Nie L, Chen X. *Chem. Soc. Rev.*, 2016, **45**(23): 6 597-6 626.
- [13] Aggarwal V, Tuli H S, Varol A, Thakral F, Yerer M B, Sak K, Sethi G. *Biomolecules*, 2019, **9**(11): 735.
- [14] Murphy M P, Holmgren A, Larsson N G, Halliwell B, Chang C J, Kalyanaraman B, Winterbourn C C. *Cell Metab.*, 2011, **13**(4): 361-366.
- [15] Zhao S, Zang G, Zhang Y, Liu H, Wang N, Cai S, Wang G. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, **179**: 113 052.
- [16] Cheung E C, Vousden K H. *Nat. Rev. Cancer*, 2022, **22**(5): 280-297.
- [17] Zheng Y, Wei M, Wu H. *J. Nanobiotechnol.*, 2022, **20**(1): 328.
- [18] Hong L, Dong W N, Wu Z N, Wang L. *Chin. J. Appl. Chem.*, 2024, **41**(9): 1 238-1 247.
洪乐, 董伟男, 武振楠, 王林. 应用化学, 2024, **41**(9): 1 238-1 247.
- [19] Pei Y, Wang P, Ma Z, Xiong L. *Acc. Chem. Res.*, 2018, **52**(1): 23-33.
- [20] Wang Y J, Hu Y X, Sun Y C, Gong T, Guo R. *Chem. Reagents*, 2024, **46**(8): 10-18.
王艺洁, 胡怡萱, 孙毓琛, 弓韬, 郭睿. 化学试剂, 2024, **46**(8): 10-18.
- [21] Noreldeen H A A, Huang K Y, Wu G W, Peng H P, Deng H H, Chen W. *Anal. Chem.*, 2022, **94**(26): 9 287-9 296.
- [22] Xu S, Lu X, Yao C, Huang F, Jiang H, Hua W, Ouyang J. *Anal. Chem.*, 2014, **86**(23): 11 634-11 639.
- [23] Zhao F, Yu H, Liang L, Wang C, Shi D, Zhang X, Ying Y, Cai W, Li W, Li J, Zheng J, Qiao L, Che S, Yu J. *Adv. Healthcare Mater.*, 2023, **12**(29): 2 301 346.
- [24] Li S L, Hou H Y, Chu X, Zhu Y Y, Zhang Y J, Duan M D, Liu J, Liu Y. *ACS Nano*, 2024, **18**(11): 7 769-7 795.
- [25] Song P, Han X, Li X, Cong Y, Wu Y, Yan J, Wang Y, Wang X, Mu Z, Wang L, Li X, Zhang H. *Mater. Horiz.*, 2023, **10**(8): 2 927-2 935.
- [26] Naghaviyan A, Hashemi-moghaddam H, Zavareh S, Ebrahimi V M. *Mol. Pharmaceutics*, 2023, **20**(1): 101-117.
- [27] Lu H, Lu Q, Sun H, Wang Z, Shi X, Ding Y, Ran X, Pei J, Pan Y, Zhang Q. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2023, **15**(32): 38 381-38 390.
- [28] Xiao F, Chen Y, Qi J, Yao Q, Xie J, Jiang X. *Adv. Mater.*, 2023, **35**(20): 221 0412.
- [29] Young A J, Sauer M, Rubio G M, Sato A, Foelske A, Serpell C J M, Reithofer M R. *Nanoscale*, 2019, **11**(17): 8 327-8 333.
- [30] Chang Y, Chen J Y, Yang J, Lin T, Zeng L, Xu J F, Hu J L, Zhang X. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2019, **11**(42): 38 497-38 502.