

## 有机聚合物点及生物光学应用

邓思乐, 陈昊彬\*

中南大学基础医学院生物医学工程系, 湖南 长沙 410013

**摘要** 近年来,有机半导体聚合物点(Pdots)以其光吸收截面大、稳定性好、生物相容性好、光物理性质可调等特性受到了广泛关注。聚合物点已被应用于生物传感、生物成像以及光学治疗等生物光学应用领域,对即时检测、活体成像、肿瘤治疗等具有重要意义。本文简要介绍了聚合物点的发光原理、制备方法、性能表征和修饰策略,总结了聚合物点在生物传感、生物成像以及光治疗应用中的最新研究进展,并分析了聚合物点在生物光学领域面临的挑战和未来的发展方向。

**关键词** 生物光学; 生物传感; 生物成像; 光学治疗; 有机半导体; 聚合物点

**中图分类号** R318 **文献标志码** A

**DOI:** 10.3788/CJL230551

## 1 引言

生物光学、光子学技术是生物医学领域实现医学诊断与治疗的重要手段之一,其以高分辨率、实时检测和非侵入等优点在生物传感、医学成像、组织工程、细胞靶向、癌症治疗等方面取得了巨大进展<sup>[1-4]</sup>。在相关的医学应用中,选用的材料对于检测效果至关重要。基于光学探针的生物传感器所发射的光学信号包含了生理信息,而且根据光学信号与生理信息之间的相关性可以进一步获取生物医学参数,快速准确地实现对待测分析物的特异性检测,有效推动了即时检测的发展<sup>[5-8]</sup>。医学成像技术利用造影剂的性质来实现生物体内部结构的可视化,或通过功能成像反映生物体的生理状况,帮助完成医学诊断<sup>[9-10]</sup>。癌症光学治疗技术则依赖于治疗药剂的高效能量转换实现对肿瘤组织的杀伤,同时尽量避免对正常组织的损伤<sup>[11-12]</sup>。然而,传统的有机小分子材料因具有寿命短、光稳定性差、量子效率低等缺陷,限制了与其相关的生物光学技术的灵敏性与效率,阻碍了其在医学诊断与治疗中的应用<sup>[13-15]</sup>。生物医学纳米材料因具有纳米级尺寸、易修饰、转换效率高等特点而被广泛用于生物光学技术,可以实现更高效的能量传递、更高质量的医学成像及治疗效果<sup>[16-22]</sup>。为了实现在生物医学领域的应用,生物医学纳米材料通常需要具有良好的光吸收截面、量子效率、光稳定性和生物相容性。目前已开发了若干种生物医学光学探针,例如无机量子点(Qdots)<sup>[23-24]</sup>、碳点(Cdots)<sup>[25]</sup>、上转换纳米颗粒(UCPNs)<sup>[26]</sup>、聚集诱导发光材料(AIE)<sup>[27-28]</sup>、聚合物点(Pdots)<sup>[29]</sup>等。

近年来,Pdots在生物光学领域受到了关注,并被广泛应用于生物医学研究,如生物传感、细胞标记、组织成像、药物运输及光学治疗等<sup>[30-31]</sup>。Pdots是疏水半导体聚合物链以 $\pi$ 共轭体系组装形成的有机纳米颗粒,直径一般小于50 nm,其中半导体聚合物的体积或质量分数一般达到50%以上<sup>[30]</sup>。Pdots具有直径小、光吸收截面大、荧光亮度高、光稳定性好、生物相容性好、光谱可调、制备与修饰形式多样等特点,可以实现复杂环境下的生物光学应用<sup>[32-33]</sup>。

本文对Pdots在生物传感、生物成像和癌症光学治疗领域的最新进展进行了综述。纳米材料的修饰及功能化是其生物学应用的重要基础,本文简要介绍了Pdots的制备与修饰方法,以及Pdots的发光机制与相关性质。目前,Pdots已被用于多种体外和体内生物传感、医学成像和治疗,如离子传感<sup>[34]</sup>、活性氧传感<sup>[35]</sup>、核酸检测<sup>[36]</sup>、活性酶检测<sup>[37]</sup>、荧光成像<sup>[38]</sup>、光声成像(PAI)<sup>[39]</sup>、超分辨成像<sup>[40]</sup>、光热疗法(PTT)<sup>[41]</sup>、光动力疗法(PDT)<sup>[42]</sup>、光免疫疗法<sup>[43]</sup>等,如图1所示。在生物传感领域,本文对Pdots在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(其氧化形式为 $\text{NAD}^+$ ,还原形式为 $\text{NADH}$ )、葡萄糖、核酸、癌症标志物及酶活性检测方面的应用进行了综述,解释了其工作原理及实验结果。在医学成像方面,介绍了Pdots作为光学探针在荧光成像、光声成像、多模态成像中的应用,其中重点描述了基于Pdots的近红外二区(NIR-II)荧光探针在医学成像中的重要性。在光学治疗方面,介绍了Pdots作为纳米治疗药剂在光热治疗、光动力治疗和光免疫治疗方面的应用。最后,本文对Pdots在生物光学领域面临的挑战和应用前景进行了分析说明。

收稿日期: 2023-02-21; 修回日期: 2023-03-26; 录用日期: 2023-03-30; 网络首发日期: 2023-04-11

基金项目: 国家自然科学基金(82202296)、中南大学引进人才科研启动项目(202045009)

通信作者: \*chenhb@csu.edu.cn

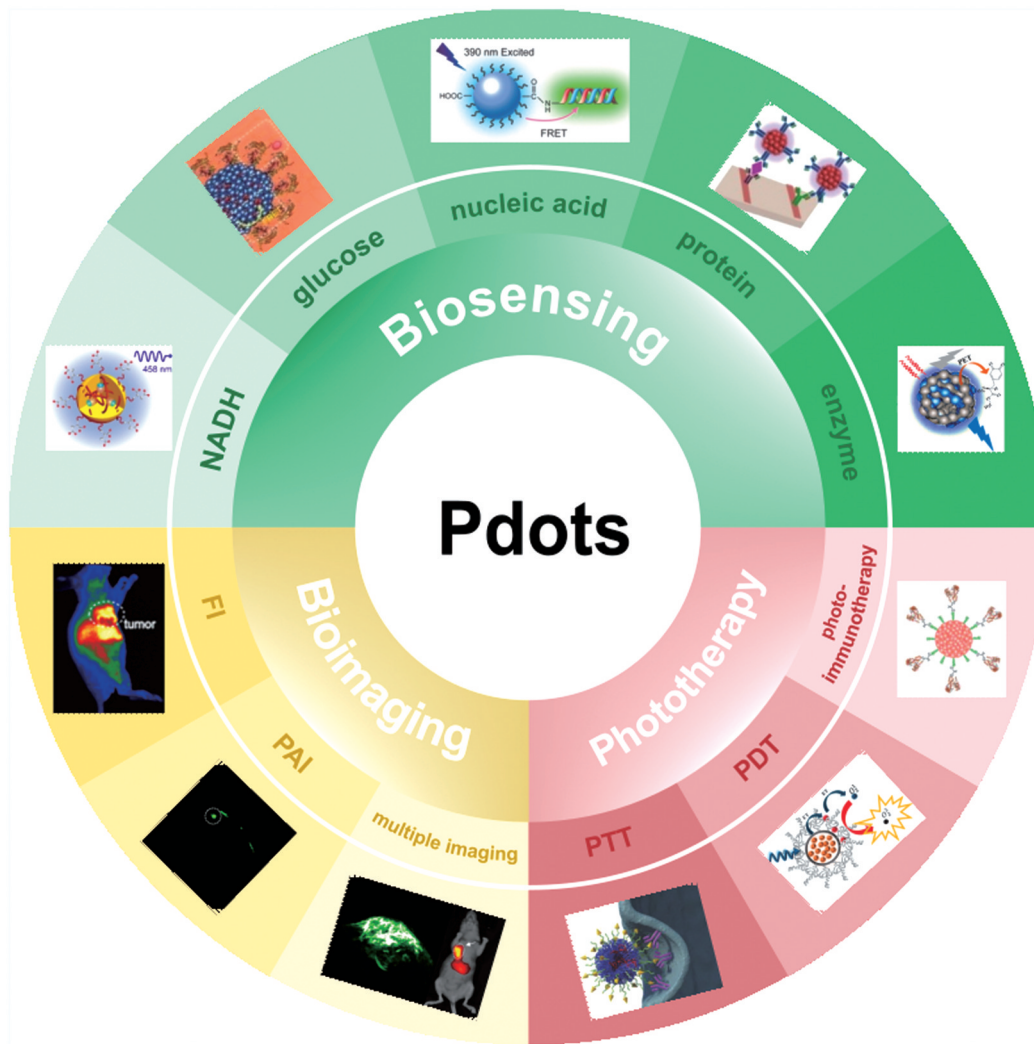


图1 Pdots在生物光学中的应用  
Fig. 1 Pdots for bio-optical applications

## 2 有机聚合物点

### 2.1 发光机制

有机聚合物点的发光机制可以根据 Jablonski 图进行解释(图 2)。Pdots 分子吸收激发光的能量后发生电子跃迁,从基态  $S_0$  到达单重态( $S_1$  和  $S_2$ )的不同振动能级,随后电子根据不同的途径由激发态返回基态  $S_0$ 。处于  $S_1$  和  $S_2$  高振动能级的电子首先会经过振动弛豫和内转换等非辐射跃迁的方式回到  $S_1$  的最低振动能级,其间损耗的能量与 Pdots 的斯托克斯位移相关,损耗的能量越多,斯托克斯位移越大。在完成以上过程后,电子将通过以下途径从  $S_1$  的最低振动能级返回基态  $S_0$ : 1) 电子通过辐射跃迁的方式到达  $S_0$ ,同时发出光子,产生荧光。2) 电子通过外转换和振动弛豫等非辐射跃迁方式到达  $S_0$ ,能量以热能形式散失。一般来说,分子内部辐射跃迁与非辐射跃迁的竞争情况是影响 Pdots 量子产率与光热转换效率等性质的重要因素,通过不同的修饰与功能化方法能够对其进行调节。3) 处于  $S_1$  最低振动能级的电子通过系间

跨越的非辐射跃迁形式到达三重态( $T_1$  和  $T_2$ ),同样经过内转换与振动弛豫跃迁至  $T_1$  的最低振动能级,最后经辐射跃迁或非辐射跃迁到达基态  $S_0$ ,其中辐射跃迁过程将发出光子,产生磷光。由于  $T_1$  的最低振动能级的能量相比  $S_1$  更低,且系间跨越所需时间更长,故而磷光的波长与寿命一般比荧光更长。此外,广泛应用于有机发光二极管的热活化延迟荧光(TADF)技术也受到了关注<sup>[44-47]</sup>。在 TADF 过程中会发生从  $T_1$  最低振动能级到  $S_1$  最低振动能级的热激活反向系间交叉过程,电子再经过辐射跃迁由  $S_1$  返回到基态  $S_0$  并发射延迟荧光信号<sup>[45]</sup>。

Pdots 具有大的光吸收截面以及可调节的发射光谱,因此可利用这一点将 Pdots 作为供体,与作为受体的掺杂染料共同构成荧光共振能量转移(FRET)对。FRET 是能量由供体荧光团转移至受体荧光团的现象,受体经激发后发射荧光,而供体发生荧光猝灭。Wu 等<sup>[48]</sup>发现一个受体分子可以有效猝灭由 100~200 个供体分子组成的纳米颗粒 90% 的荧光,并建立了高效 FRET 模型,以描述具有少量受体分子的纳米颗粒

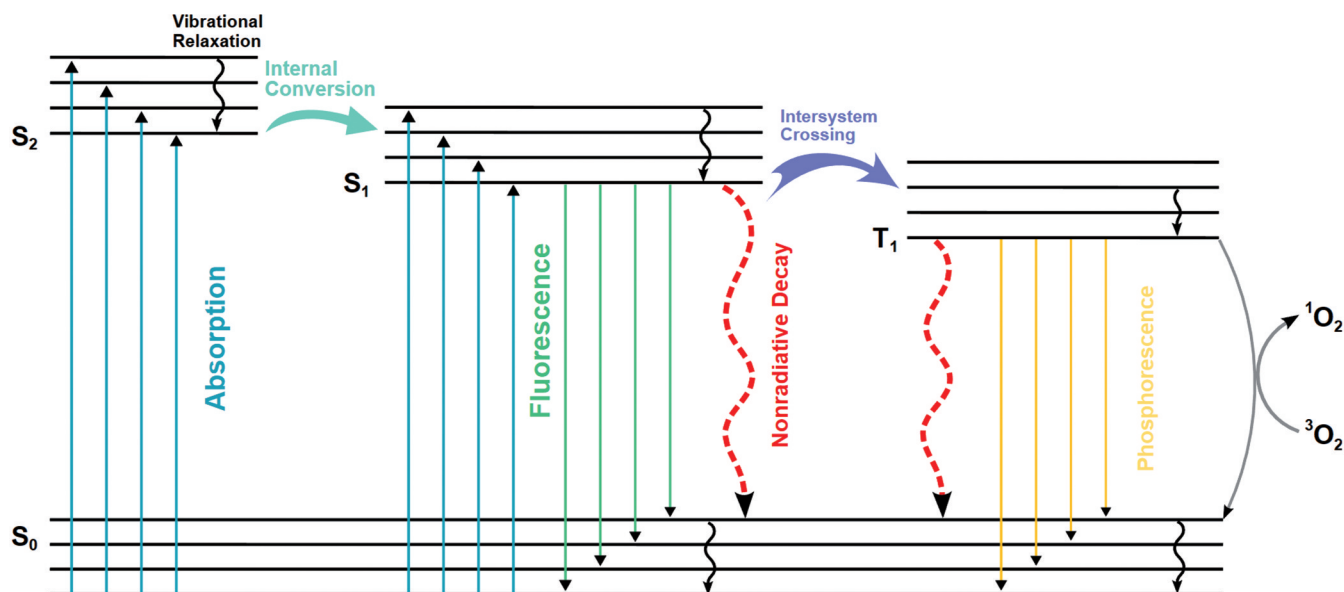


图2 Jablonski图

Fig. 2 Jablonski diagram

的猝灭行为。FRET 能够提供更宽的斯托克斯位移, 激发光谱与吸收光谱的重叠部分减少, 因此检测结果具有更低的信背比(SBR)和更高的准确性。FRET 的效率受供体与受体间距离的影响, 故纳米级尺寸的 Pdots 在 FRET 上具有许多优势, 如亮度高、吸收截面大和光稳定性好等<sup>[49]</sup>。

除此以外, Pdots 还可以利用余辉发光<sup>[50]</sup>、化学发光<sup>[51]</sup>、生物发光<sup>[52]</sup>、电化学发光<sup>[53]</sup>等形式发出荧光。余辉材料在停止提供激发光后的一段时间内仍能发射荧光。利用余辉发光, Pdots 可以有效分离余辉材料与生物组织的荧光, 降低背景干扰并提升 SBR, 获取更高质量的医学图像<sup>[54-55]</sup>。化学发光是物质化学反应过程中直接或间接的光辐射现象; 在此基础上, 生物发光进一步结合特殊酶的作用将化学能转变为光能; 而电化学发光作为将电能转换为光能的技术, 在电极表面发生独特的电启动化学发光反应。上述这些发光技术均可以在不涉及光吸收的情况下发射荧光, 同样能够显著降低背景干扰以及光对生物组织的损伤<sup>[56-61]</sup>。

## 2.2 制备方法

Pdots 的制备方法主要有直接聚合法、微乳液法、纳米沉淀法和自组合法。直接聚合法通过化学反应直接由相对分子质量小的单体制备 Pdots<sup>[62]</sup>, 微乳液法和纳米沉淀法都通过将共轭聚合物溶解在有机溶剂中并与水发生作用来制备 Pdots<sup>[63-64]</sup>, 自组合法则需要通过搅拌共轭聚合物和相关试剂的混合溶液来完成 Pdots 的制备与功能化。不同的制备方法会影响 Pdots 的粒径与性能, 需要根据应用场景选择合适的制备方法。本文主要介绍微乳液法和纳米沉淀法的操作方法及原理。

**微乳液法:** 将共轭聚合物和两亲性聚合物溶解于与水不混溶的有机溶剂中, 在超声振荡的同时进行搅拌, 此时水溶液中将产生微乳液滴, 向其中加入表面活性剂以避免微乳液滴聚集, 最后去除混合溶液中的有机溶剂, 便可获得均匀分散的 Pdots。在微乳液方法中, 表面活性剂与共轭聚合物的浓度均会影响 Pdots 的直径。

**纳米沉淀法:** 将共轭聚合物和两亲性聚合物溶解于与水混溶的有机溶剂中, 并在超声振荡作用下快速将混合溶液注入水中, 此时会形成聚合物纳米颗粒悬浮液, 最后去除有机溶剂, 便可获得具有良好水分散性的 Pdots。

微乳液法和纳米沉淀法的显著区别在于使用的有机溶剂是否与水相溶。微乳液法通常采用三氯甲烷等与水不相溶的有机溶剂, 而纳米沉淀法使用四氢呋喃(THF)等与水相溶的有机溶剂。微乳液法制备的 Pdots 的直径通常大于 40 nm, 相比纳米沉淀法制备的 Pdots 具有更大范围的直径<sup>[65]</sup>。在制备过程中, 采用不同的两亲聚合物也会实现对 Pdots 的不同修饰效果。Li 等<sup>[66]</sup>使用 poly(DL-lactide-co-glycolide)(PLGA)通过微乳液法制备了 Pdots。Wu 等<sup>[67]</sup>则采用 poly(styrene-co-maleic anhydride)(PSMA)通过纳米沉淀法制备了表面带有羧基的 Pdots, 以便进一步进行功能化。

## 2.3 性能与表征

纳米发光材料的性能一般从粒径、吸收光谱、发射光谱、光吸收截面、量子产率、光稳定性和生物毒性等方面进行表征。Pdots 的吸收与发射光谱是设计其工作原理的基础。不同波长范围的光线能够实现不同的应用效果, 如: 不同的窄带发射可以实现多重待

测物的检测,近红外光具有更深的穿透深度与更低的背景干扰<sup>[68]</sup>。通过调整斯托克斯位移可以实现激发光与发射光的分离,或者将不同材料的发射光谱和吸收光谱重叠构成 FRET 对,以提高能量转换效率。光吸收截面用于描述 Pdots 吸收特定波长光子的能力,Chiu 课题组<sup>[69-70]</sup>通过研究发现 Pdot 的单粒子峰值吸收截面要比 CdSe Qdots 高出 1~2 个数量级。量子产率是发射光子数与吸收光子数的比值,一般在 40% 以下<sup>[71]</sup>。量子产率与光吸收截面的乘积决定了荧光亮度,Pdots 的亮度比传统有机材料约高出 3 个数量级<sup>[69-70]</sup>。光稳定性可以通过光漂白量子产率来评估,而光漂白量子产率可由光漂白光子数与吸收光子数的比值计算得到。Pdots 的典型光漂白量子产率为  $10^{-4} \sim 10^{-6}$ ,Pdots 具有比传统有机荧光材料更强的抗光漂白能力<sup>[72]</sup>。Pdots 同样也被证明具有相当低的生物毒性,良好的生物相容性是其生物光学领域应用的重要基础<sup>[73-74]</sup>。

### 2.4 修饰及功能化方法

Pdots 的修饰及功能化是其生物光学应用中的重要部分,特定的官能团能进一步提升 Pdots 的性质并扩展其应用范围,这也一直是该研究领域的热点问题。Pdots 的生物功能化方法通常包括封装法、两亲聚合物共沉淀法和直接功能化法。用封装法对 Pdots 进行表面改性时,二氧化硅是常用的封装材料之一<sup>[75-76]</sup>。然而,二氧化硅外壳极有可能在生物环境中水解,并使

Pdots 与细胞表面的非特异性黏附增加。使用磷脂和 PLGA 等其他封装材料可以增加材料的稳定性并减少非特异性黏附,但会导致修饰的 Pdots 的粒径过大并限制其荧光亮度<sup>[77-79]</sup>。

由于封装法的上述缺陷,Chiu 研究团队<sup>[30,69]</sup>开发了两亲聚合物共沉淀法,用于实现 Pdots 的生物功能化。两亲聚合物的疏水端与疏水 Pdots 结合,而亲水端则暴露于水相中,形成了具有亲水基团的 Pdots,利用亲水基团进一步与生物分子共价连接便可实现 Pdots 的生物偶联。他们将 polystyrene-polyethyleneglycol-COOH (PS-PEG-COOH) 用于纳米沉淀法实现 Pdots 的表面改性,实验结果表明:修饰后的 Pdots 的平均直径约为 15 nm,且有效的荧光团成分达到了 80% 以上。Wu 等<sup>[67]</sup>利用 PSMA 实现了对 Pdots 的表面修饰,PSMA 的亲水端在水中会水解形成两个羧基,他们利用这一点进一步实现了 Pdots 的生物正交标记,如图 3(a) 所示。然而,由于官能团并非与 Pdots 共价连接,官能团易从 Pdots 表面脱落,进而影响 Pdots 的性能。Zhang 等<sup>[80]</sup>开发的直接功能化法能够实现官能团与 Pdots 间的共价连接,克服上述缺点。Yu 等<sup>[81]</sup>使用的交联方法可以增大细胞标记的效率,如图 3(b) 所示。Chen 等<sup>[82]</sup>报道的光交联技术可以使聚乙二醇或羧基共价连接到 Pdots 表面,实现生物偶联,从而完成特定的细胞标记,如图 3(c) 所示。

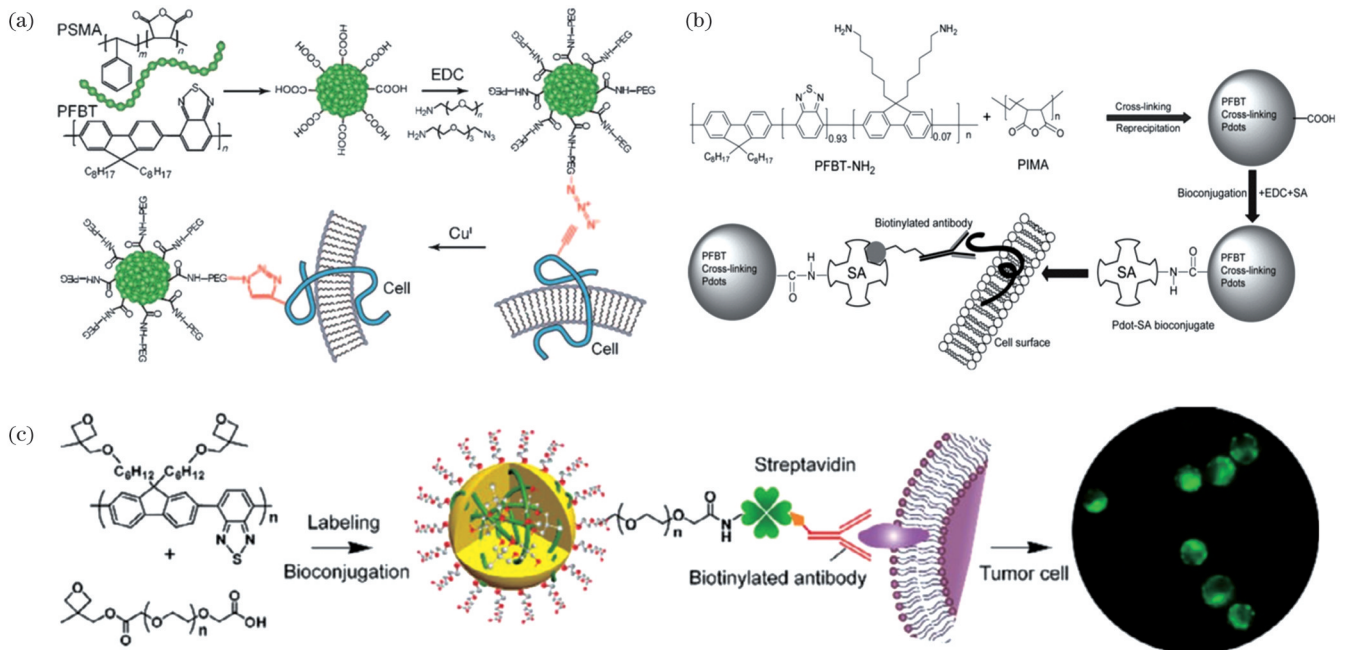


图 3 Pdots 的修饰及功能化。(a)Pdots 通过点击化学进行生物正交标记与两亲性聚合物 PSMA 共沉淀,经许可转载自参考文献 [67];(b)交联 PFBT-NH-PIMA Pdots 偶联链蛋白的制备,经许可转载自参考文献 [81];(c)用于细胞靶向的聚乙二醇化和羧基功能化的 Pdots,经许可转载自参考文献 [82]

Fig. 3 Modification and functionalization of Pdots. (a) Pdots co-precipitated with the amphiphilic polymer PSMA by click chemistry for bioorthogonal labeling, reproduced from Ref. [67] with permission; (b) preparation of cross-linked PFBT-NH-PIMA Pdots coupled chain protein, reproduced from Ref. [81] with permission; (c) poly(ethylene glycol) and carboxyl functionalization of Pdots for cell-targeted, reproduced from Ref. [82] with permission

### 3 有机聚合物点的生物传感应用

疾病通常会改变人体内的代谢情况与生理环境,通过对疾病相关代谢物或其他物质进行检测,可有效实现疾病的早期诊断和治疗。近期,即时检测成为医学诊断中的热点。即时检测是对目标分析物在实验室以外的地点进行的分析检测,可在保证与实验室检测达到相同水平准确性的同时,兼具测量的便捷性与响应的快速性。近年来,Pdots以其高荧光亮度、高光稳定性、低细胞毒性、高灵敏性被广泛应用于生物传感领域。本节主要对Pdots在 $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ 、苯丙氨酸、葡萄糖、核酸、蛋白质和酶活性等生物传感方面的应用进行综述。

#### 3.1 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸及相关代谢物

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸是生物体氧化还原反应过程中的重要物质,作为辅酶推动酶催化反应的进行,目前其氧化形式( $\text{NAD}^+$ )与还原形式( $\text{NADH}$ )浓度的异常变化已成为辅助诊断癌症、癫痫以及帕金森等疾病的标准之一<sup>[83-86]</sup>。基于Pdots的生物传感器可以实现对 $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ 的即时检测,有效推进相关疾病的研究进展。

Chen等<sup>[87]</sup>通过纳米沉淀法制备了一系列能够实现 $\text{NADH}$ 比率传感的Pdots,其中制备得到的DPA-CNPPV Pdots在385 nm激发光照射下的最大发射峰为627 nm。当 $\text{NADH}$ 存在时,受到激发的DPA-CNPPV的电子将转移至 $\text{NADH}$ 中,导致DPA-CNPPV荧光猝灭,表现为627 nm处的荧光强度降低。另外, $\text{NADH}$ 溶液本身在458 nm左右具有蓝色光发射,而DPA-CNPPV几乎不吸收该区域的能量,因此不会发生从 $\text{NADH}$ 向DPA-CNPPV的能量转移。综合以上因素,在生理浓度范围(0~2 mmol/L)内,随着溶液中 $\text{NADH}$ 浓度的增加,由DPA-CNPPV主导的627 nm处的荧光发射强度会因荧光猝灭而降低,而由 $\text{NADH}$ 主导的458 nm处的荧光发射强度将升高。实验结果表明,对 $\text{NADH}$ 浓度敏感的DPA-CNPPV Pdots在光稳定性、快速响应、选择性以及可逆性上都具有优异表现。Chen等还研究了DPA-CNPPV Pdots在小鼠体内对 $\text{NADH}$ 的即时检测能力。DPA-CNPPV的蓝色光与红色光的发射强度比例是检测 $\text{NADH}$ 的重要参数,与 $\text{NADH}$ 的浓度线性相关(随着 $\text{NADH}$ 浓度的增加而升高),可通过将智能手机拍摄的真彩色照片分为蓝色通道和红色通道进行计算得到。

Chen等<sup>[88]</sup>还将上述开发的对 $\text{NADH}$ 浓度敏感的Pdots应用于血液中苯丙氨酸的浓度检测,以实现对于婴儿和儿童早期的苯丙酮尿症(PKU)筛查以及PKU患者血液中苯丙氨酸浓度的即时检测。对 $\text{NADH}$ 敏感的Pdots与苯丙氨酸脱氢酶(PheDH)结合可组成苯丙氨酸生物传感器,苯丙氨酸会在PheDH的催化作用下

生成苯丙酮酸和 $\text{NADH}$ ,如图4(a)所示。根据上述DPA-CNPPV Pdots的发射原理,随着与苯丙氨酸浓度相关的 $\text{NADH}$ 浓度的升高,627 nm红色荧光猝灭,458 nm蓝色荧光强度增加,如图4(b)和图4(c)所示。计算二者的强度比,再根据校准曲线便可得到血液中苯丙氨酸的浓度。除了使用数码相机获取数据以外,Chen等还在苯丙氨酸生物传感器的基础上开发了基于试纸的苯丙氨酸浓度检测方法,提升了检测的便利性。在检测过程中,血浆样品被滴加至冻干了缓冲液的试纸上,缓冲液中含有对 $\text{NADH}$ 敏感的Pdots、 $\text{NAD}^+$ 和PheDH,以满足检测所需条件。根据蓝色通道和红色通道的发射强度比就可以计算得到血浆中苯丙氨酸的浓度,健康人和典型PKU患者的红蓝发射强度比有显著区别。然而,内源性 $\text{NADH}$ 的存在将引起检测误差。针对这一问题,Chen等采用的方法是分别检测含有和不含有PheDH的样品中的苯丙氨酸浓度,取二者浓度差来修正内源性 $\text{NADH}$ 引起的误差[如图4(d)所示],并根据试纸的校准曲线进一步获取准确的苯丙氨酸浓度[如图4(e)所示]。基于Pdots的苯丙氨酸浓度检测试纸可提升PKU疾病诊断的便捷性,在婴幼儿早期进行PKU筛查有利于尽早对患有PKU的婴幼儿采取措施,减轻婴幼儿的神经损伤。对于成年患者,PKU浓度的即时检测也能帮助其开展疾病管理。由于Pdots本身易于修饰的特性,以上系统经Chen等的实验证明可以推广至其他任何能够被 $\text{NAD}^+$ 氧化或被 $\text{NADH}$ 还原的代谢物(如乳酸、葡萄糖、谷氨酸及 $\beta$ -羟基丁酸盐)的浓度检测,这对于呼吸衰竭、败血症、糖尿病、高酮血症等疾病的诊断具有重要意义。

#### 3.2 葡萄糖

Pdots也可用于葡萄糖浓度检测和实时监测,帮助糖尿病患者管理自身血糖水平。近年来,葡萄糖氧化酶(GOx)常用于与Pdots共价连接以实现Pdots的功能化,进而设计出可实时监测葡萄糖的生物传感器<sup>[89]</sup>。Sun等<sup>[90]</sup>开发了一种超灵敏的基于Pdots的葡萄糖生物传感器,该传感器可以实现无线血糖监测。PDHF Pdots是吸收激发光的主体,其中掺杂了对氧敏感的磷光染料Pd(II) meso-tetra (pentafluorophenyl) porphine (PdTFPP),PDHF Pdots表面的羧基与GOx共轭连接构成了葡萄糖生物传感器(PD4Gx)。PDHF Pdots受到激发时会发射425 nm左右的荧光,PdTFPP则发射672 nm左右的磷光,该磷光强度会受到氧浓度的影响。存在葡萄糖时,GOx催化的葡萄糖氧化还原反应将引起检测环境中氧浓度的变化,进而引起PDHF和PdTFPP间的FRET,最终使得PDHF本身的蓝色荧光发生猝灭,而葡萄糖传感器发射红色磷光(来自磷光染料)。随着葡萄糖浓度的升高,蓝光与红光的比例发生变化,影响PD4Gx整体显示的颜色。为了研究基于Pdots的生物传感器在小鼠体内对葡萄糖的检测能力,Sun等在小鼠皮下植入PD4Gx传感器,并用智能手机

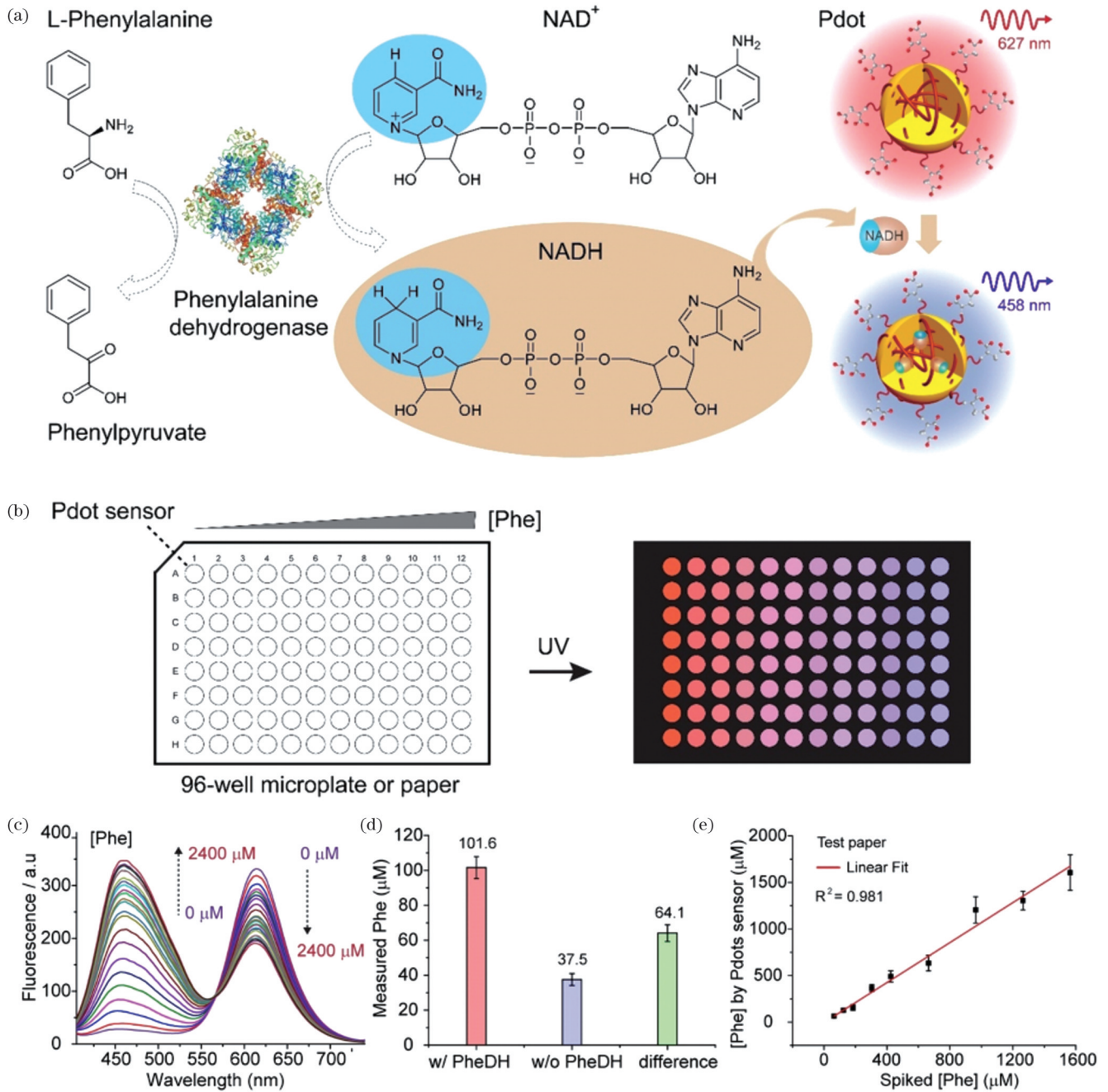


图 4 基于 Pdots 的 NADH 生物传感在检测苯丙氨酸中的应用,经许可转载自参考文献[88]。(a)基于对 NADH 敏感的 Pdots 构建的苯丙氨酸生物传感器示意图;(b)荧光发射随着苯丙氨酸浓度的增加从红色(Pdots 发射)变为蓝色(NADH 发射),可根据数码相机或读板器在溶液或试纸上测量的蓝/红通道发射比获得代谢物浓度;(c)在 0~2400 μmol/L 苯丙氨酸下,Pdots 生物传感器的荧光发射;(d)内源性 NADH 的校正;(e)苯丙氨酸检测试纸的校准曲线

Fig. 4 Application of Pdots-based NADH biosensing in the detection of phenylalanine, reproduced from Ref. [88] with permission. (a) Schematic diagram of the NADH-sensitive Pdots-based phenylalanine biosensor; (b) fluorescence emission changes from red (Pdots) to blue (NADH) with increasing phenylalanine concentration, and metabolite concentration is measured ratiometrically-based on the ratio of blue-to-red channel emission intensities, with a digital camera or plate reader-in solution- or paper-based assay formats; (c) fluorescence emission of the Pdots biosensor at 0-2400 μmol/L phenylalanine; (d) calibration for endogenous NADH; (e) calibration curve for phenylalanine detection test strips

拍摄经紫外光照射的发光部位,结果发现注射葡萄糖后图像的颜色发生了明显变化,如图 5(a)所示。通过将红/蓝发射比与校准曲线进行对比,如图 5(b)所示,可获得小鼠体内葡萄糖的浓度。实验证明 PD4Gx 的连续监测数据与市售血糖仪的监测结果一致,验证

了基于 Pdots 的 PD4Gx 具有良好的无线监测葡萄糖浓度的能力。

然而,在 GOx 催化氧化葡萄糖过程中产生的过氧化氢会引起光漂白,影响 PD4Gx 的发射强度与比例,从而降低了检测的准确性并产生细胞毒性,如图 5(d)

所示。Sun 等<sup>[91]</sup>针对这一问题,在上述 PD4Gx 生物传感器中加入过氧化氢酶来构建酶级联体系 [Pdots-GOx/CAT, 如图 5(c) 所示], 以快速分解葡萄糖氧化过程中产生的过氧化氢, 提升生物传感器的光稳定性与生物相容性, 保证其长期准确监测葡萄糖浓度的能

力 [如图 5(e) 所示]。但是, 除了 GOx 催化氧化葡萄糖引起的检测区域氧气消耗外, 过氧化氢分解产生的氧气以及生物体自身运动和疾病等多种因素都会影响体内氧气的含量, 都会导致葡萄糖浓度的测量误差。鉴于此, Sun 等<sup>[92]</sup>制备了另一种未经过 GOx 耦合的氧敏

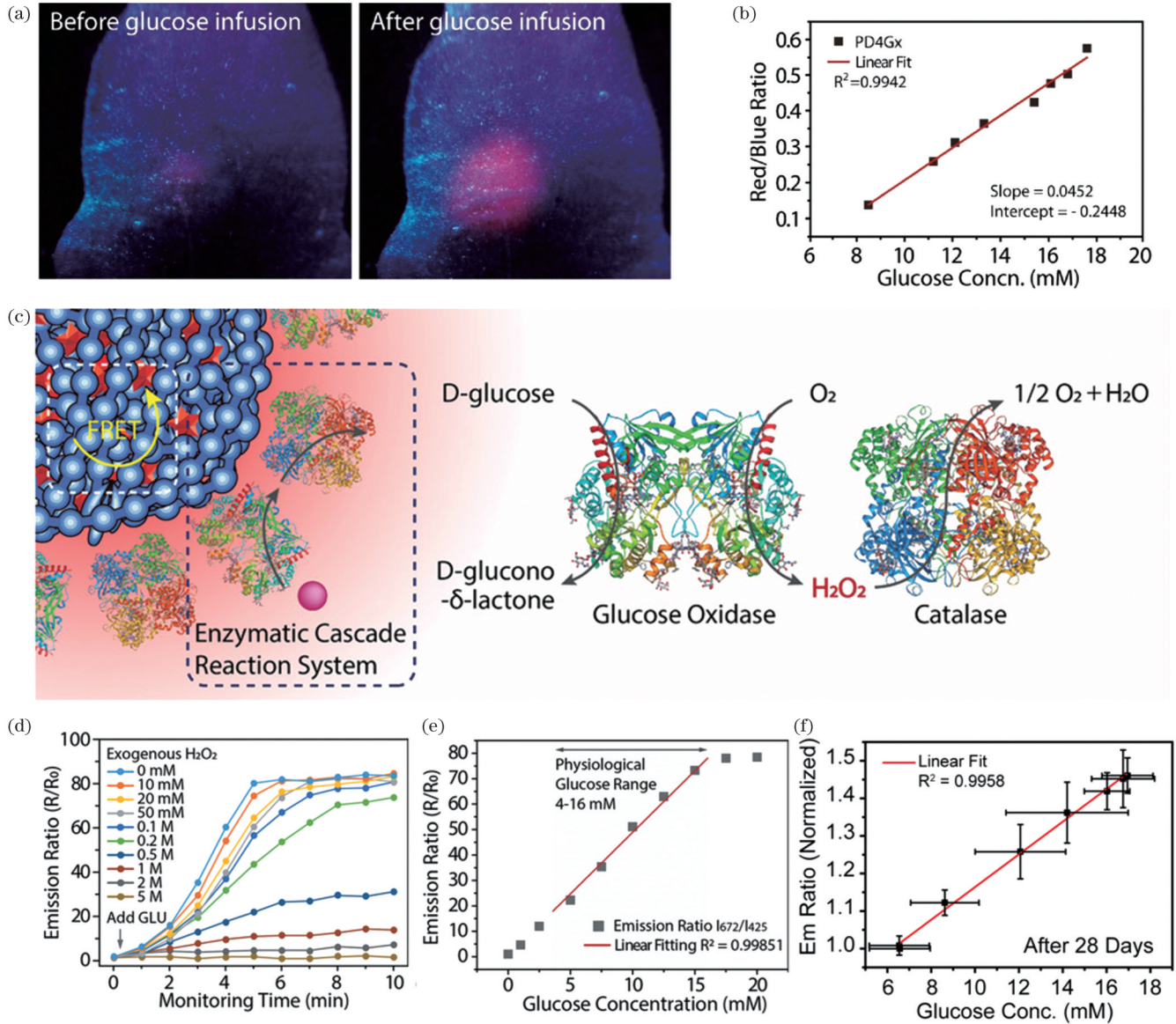


图 5 基于 Pdots 的无线血糖监测生物传感器。(a) 小鼠体内注射葡萄糖前后, PD4Gx 发射荧光的变化, 经许可转载自参考文献 [90]; (b) PD4Gx 红/蓝通道发射比与葡萄糖浓度的校准曲线, 经许可转载自参考文献 [90]; (c) Pdots-GOx/CAT 葡萄糖生物传感器示意图, 经许可转载自参考文献 [91]; (d) 存在不同浓度外源性过氧化氢时, 添加葡萄糖后 Pdots-GOx/CAT 生物传感器的发射比曲线, 经许可转载自参考文献 [91]; (e) 在生理浓度范围内, Pdots-GOx/CAT 生物传感器的荧光发射比率与葡萄糖浓度呈线性相关, 经许可转载自参考文献 [91]; (f) 小鼠皮下植入水凝胶-Pdots 生物传感器 28 d 后, 归一化荧光强度与血糖浓度呈线性相关, 经许可转载自参考文献 [93]

Fig. 5 Pdots-based biosensor for wireless glucose monitoring. (a) Changes in fluorescence from PD4Gx before and after glucose injection in mice, reproduced from Ref. [90] with permission; (b) calibration curve of PD4Gx red/blue channel ratio versus glucose concentration, reproduced from Ref. [90] with permission; (c) schematic of the Pdots-GOx/CAT glucose biosensor, reproduced from Ref. [91] with permission; (d) emission ratio curves of Pdots-GOx/CAT biosensor in the presence of different concentrations of exogenous hydrogen peroxide after the addition of glucose, reproduced from Ref. [91] with permission; (e) linear correlation between the fluorescence emission ratio of the Pdots-GOx/CAT biosensor and glucose concentration over a range of physiological concentrations, reproduced from Ref. [91] with permission; (f) linear correlation between the normalized fluorescence intensity and glucose concentration in mice 28 days after subcutaneous implantation of the hydrogel-Pdots biosensor, reproduced from Ref. [93] with permission

感生物传感器,将其置于检测区域附近,测量 PD4Gx 检测区域以外的氧气含量,以修正由其他因素引起的测量误差。除了以上问题,在生物组织中直接植入 Pdots 传感器可能会发生纳米颗粒聚集或迁移的情况,也会对生物传感器的发射强度造成影响。Liu 等<sup>[93]</sup>开发了一种可使 Pdots 均匀分散于其中的可注射式水凝胶植入体,以避免 Pdots 的迁移现象,提升了基于 Pdots 的葡萄糖生物传感器的长期监测能力。将水凝胶-Pdots 传感器植入小鼠体内 28 d 后,传感器仍表现出良好的血糖检测性能,如图 5(f)所示。

### 3.3 核 酸

脱氧核糖核酸(DNA)作为细胞中的遗传物质,起到储存和传递遗传信息的重要作用,快速准确的 DNA 检测方法对于基因组研究至关重要<sup>[94]</sup>。近年来,基于从共轭聚电解质(CPEs)到插层染料的 FRET 的无标记 DNA 检测因低成本与操作简便受到关注<sup>[95]</sup>。阴离子 DNA 和阳离子 CPE 之间的静电相互作用会使嵌入 DNA 杂化体中的染料与 CPE 靠近,此时 CPE 与染料间发生 FRET,导致荧光发射发生改变。然而,CPE 和生物分子间普遍存在的非特异性静电和生物相互作用极大地影响了检测的准确性。Bao 等<sup>[96]</sup>开发了一种基于羧酸功能化 Pdots 的生物偶联识别 DNA 生物传感器,该生物传感器可避免利用静电吸引检测 DNA,并提升了检测灵敏度与光稳定性。经羧酸功能化的聚氟烯(PFCOOH)通过再沉淀法形成 PFCOOH Pdots,其发射光谱与插层染料 PicoGreen (PG)的吸收光谱在 400~550 nm 范围内重叠,使得二者之间的 FRET 效率提高。PFCOOH Pdots 进一步与寡核苷酸生物偶联可应用于 DNA 的特异性检测。如图 6(a)所示,PF-DNAP Pdots 作为供体,插层染料 PG 作为受体,在 390 nm 激发下,PF-DNAP Pdots/PG 在 426 nm 处有强烈的荧光发射。当与目标检测物 ssDNAC 结合时,PF-DNAP Pdots 与 PG 发生 FRET,前者在 426 nm 处的蓝色荧光发生猝灭,插层染料 PG 在 530 nm 处的绿色荧光强度增加。ssDNAC 的浓度将影响 FRET 的效率,随着 ssDNAC 的浓度升高,530 nm 处的荧光强度明显升高,而 426 nm 处的荧光强度降低,可肉眼观察到 DNA 生物传感器的颜色由蓝色变为青色,如图 6(b)所示。该结果还表明,该生物传感器对血清样本中 ssDNAC 的检测精度可达到 nmol/L 级别,成功证明了 PF-DNAP Pdots 可在生物介质中准确识别 ssDNAC。

微小核糖核酸(miRNA)参与转录后基因表达的调控,其表达水平与癌症等疾病相关<sup>[97]</sup>。Luo 等<sup>[98]</sup>开发了一种用于检测 miRNA 的基于 PFBT-COOH Pdots 的双扩增电化学发光(ECL)生物传感器,将靶向催化的发夹组装和酶触发的双足 DNA walker 循环扩增相结合,实现了双信号扩增,如图 6(c)所示。在不添加任何共反应物的情况下,PFBT-COOH 作为

DNA S1 的基质能够获得超强 ECL 信号。接着,通过引入黑洞猝灭剂(BHQ)标记的 DNA S2(BHQ-S2),ECL 信号将被猝灭从而达到“signal-off”状态;最后,通过靶向催化的发夹组装和酶触发的双足 DNA walker 消耗猝灭剂实现循环扩增,ECL 信号便可达到“signal-on”状态,实现对 miRNA-155 的超灵敏检测。在不同浓度的 miRNA-155 下,生物传感器将产生相应的 ECL 信号,根据校准曲线可实现浓度检测,如图 6(d)和图 6(e)所示。Liu 等<sup>[99]</sup>利用这一体系,使用 PFO Pdots 作为基质、过氧化氢作为猝灭剂同样实现了对 miRNA-155 的检测。Zhang 等<sup>[100]</sup>设计了具有聚集诱导发射特性的 Pdots,用于 miRNA-21 的超灵敏 ECL 检测。Wang 等<sup>[36]</sup>开发了多种发光 Pdots(L-Pdots 和 N-Pdots),实现了 miRNA-21 和 miRNA-205 的多路 ECL 生物传感检测。

### 3.4 肿瘤标志物

癌症等疾病通常伴随着蛋白质的异常表达,通过对特定蛋白质的浓度进行检测可实现相关疾病的诊断。免疫层析试纸(ICTS)是对肿瘤标志物进行即时检测的重要工具,可以实现对特定蛋白质的定性、半定量、定量以及多重检测。由于 Pdots 优异的荧光强度及易修饰的特性,近年来 Pdots 已被广泛应用于针对肿瘤标志物进行检测的 ICTS 上。Fang 等<sup>[101]</sup>设计了基于 PF-TC6FQ/PFCN/PFO Pdots 的 ICTS,这些 Pdots 分别发射红/绿/蓝色荧光,可用一根试纸条同时实现对前列腺特异性抗原(PSA)、 $\alpha$ -胎蛋白(AFP)以及癌胚抗原(CEA)的多重检测。试纸条由吸收垫、共轭垫、样品垫和硝化纤维膜构成,其中由羧基功能化 Pdots 与 PSA/AFP/CEA 抗体偶联形成的 Pdots-抗体偶联物被添加到共轭垫中,而捕获抗体和裸 IgG 分别修饰硝化纤维膜上的检测线和对照线,如图 7(a)所示。由于毛细管力的作用,滴加至样品垫上的液体会朝着吸收垫方向移动。无论液体中是否存在目标肿瘤标志物,Pdots-抗体偶联物都将与对照线上的裸 IgG 连接并发出荧光,以表明试纸条的有效性。而在目标肿瘤标志物存在的情况下,Pdots-抗体偶联物会与检测线上的捕获抗体特异性结合,并发射荧光。如果检测线和对照线均能观察到荧光发射,则为阳性结果;如果只有对照线能观察到荧光发射,则为阴性结果。PSA/AFP/CEA 的多重定性检测可通过修饰对应的三条检测线来实现,可在紫外激发下肉眼观察到检测结果,如图 7(b)所示。该试纸条也可以根据检测线和对照线的发射荧光强度比( $T/C$ )完成对目标肿瘤标志物的定量检测。由于试纸条中 Pdots-抗体偶联物的数量是一定的,在目标分析物存在的情况下,在检测线上与捕获抗体结合的偶联物的数量越多,到达对照线的偶联物的数量就越少,从而导致检测线与对照线上的荧光强度出现差异。研究结果显示,当 PSA/AFP/CEA 的质量浓度在 3~15 ng/mL 范围内时, $T/C$ 与 PSA/



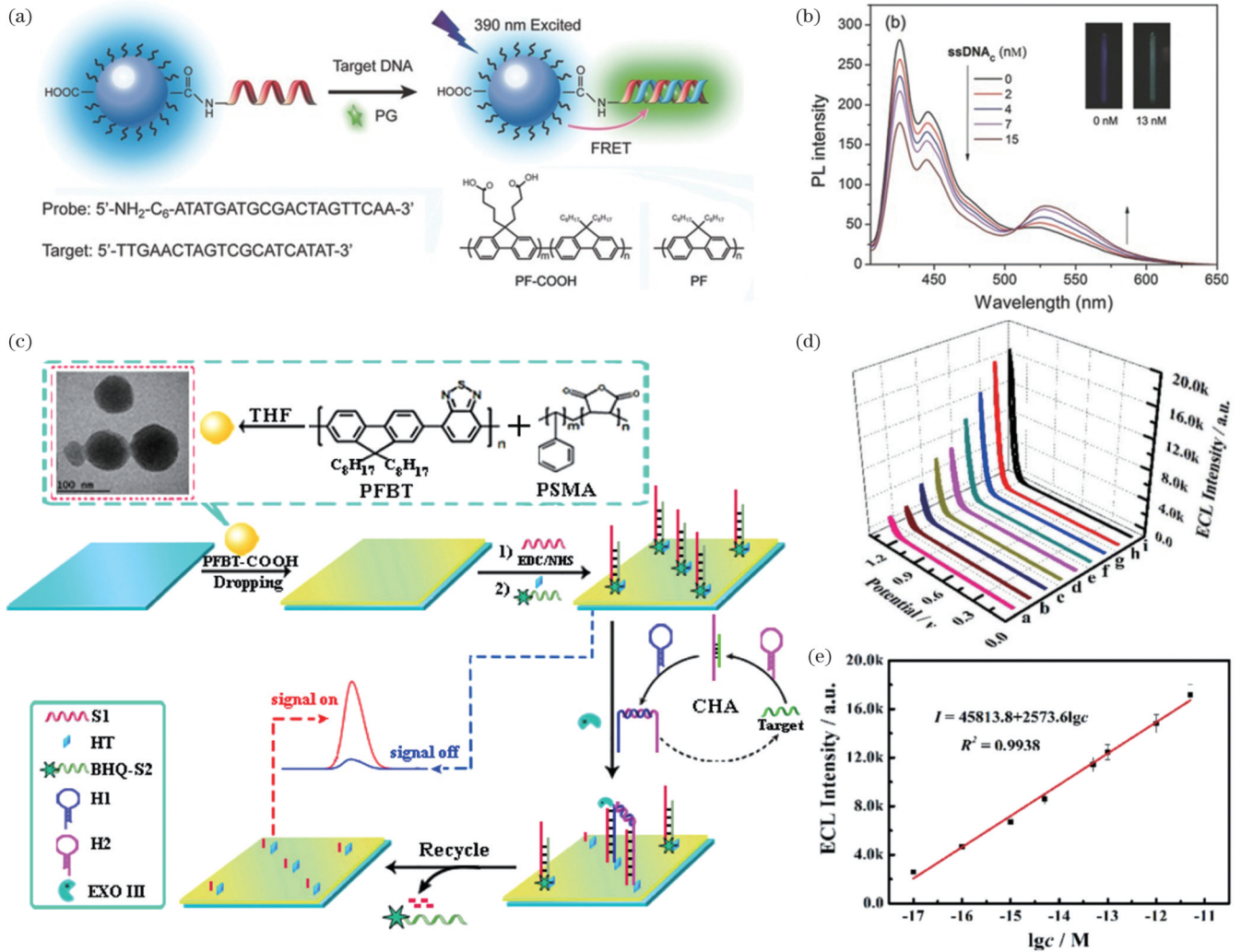


图 6 基于 Pdots 的 DNA 及 microRNA 生物传感。(a)PF-DNAP Pdots 的 DNA 检测示意图,经许可转载自参考文献[96];(b)PF-DNAP Pdots 的光致发光光谱在不同浓度 ssDNAC 下的变化,插图为含有/不含有 ssDNAC 的 PF-DNAP Pdots 的荧光图片,经许可转载自参考文献[96];(c)基于 PFBT-COOH Pdots 的生物传感器示意图,经许可转载自参考文献[98];(d)基于 PFBT-COOH Pdots 的生物传感器对不同浓度 miRNA-155 的 ECL 响应,经许可转载自参考文献[98];(e)ECL 强度与 miRNA-155 浓度对数对应的校准曲线,经许可转载自参考文献[98]

Fig. 6 Pdots-based DNA and microRNA biosensing. (a) Schematic of PF-DNAP Pdots for DNA detection, reproduced from Ref. [96] with permission; (b) variation of photoluminescence spectra of PF-DNAP Pdots at different concentrations of ssDNAC, the inset shows fluorescence images of PF-DNAP Pdots with/without ssDNAC, reproduced from Ref. [96] with permission; (c) schematic of PFBT-COOH Pdots-based biosensor, reproduced from Ref. [98] with permission; (d) ECL response of the PFBT-COOH Pdots-based biosensor to different concentrations of miRNA-155, reproduced from Ref. [98] with permission; (e) calibration curve of ECL intensity versus logarithm of miRNA-155 concentration, reproduced from Ref. [98] with permission

AFP/CEA 的对数值呈线性相关。基于 Pdots 的 ICTS 能够成功实现对肿瘤标志物的多重定性与定量检测,表明其在癌症的早期诊断和快速筛查方面具有应用潜力。

具有其他功能的 ICTS 也取得了研究进展,显示了基于 Pdots 的 ICTS 的优异性能和应用范围。Yang 等<sup>[102]</sup>根据 FRET 原理开发了一种具有类似交通灯信号的基于超亮 Pdots 的 ICTS,其荧光颜色随检测物浓度发生变化,可通过肉眼观察实现对 PSA 的定量检测。作为供体的 PCA Pdots 和作为受体的 PF-TC6FQ 构成了 FRET 对,在目标抗原存在的情况下,两种具有

不同发射的 Pdots 将共同锚定在检测线上。当 PCA 被激发时,将发生从 PCA 到 PF-TC6FQ 的能量转移,PSA 浓度将影响两种荧光的发射比率,通过肉眼观察发射颜色就可确定 PSA 浓度的范围。当不存在 PSA 或其浓度非常低时,即没有发生 FRET 现象,检测线将发射由 PCA 主导的荧光;混合的中间色代表 PSA 浓度适中;发射由 PF-TC6FQ 主导的荧光则代表 PSA 浓度高,发生了有效的 FRET。试纸条的共轭垫由 PF-TC6FQ 修饰,硝化纤维膜上有一条检测线和两条对照线(C1 和 C2),用于捕获 PSA 的功能化 PCA 修饰 T 线,而裸 PCA 和 IgG 二抗分别修饰 C1 和 C2,如图 7(c)

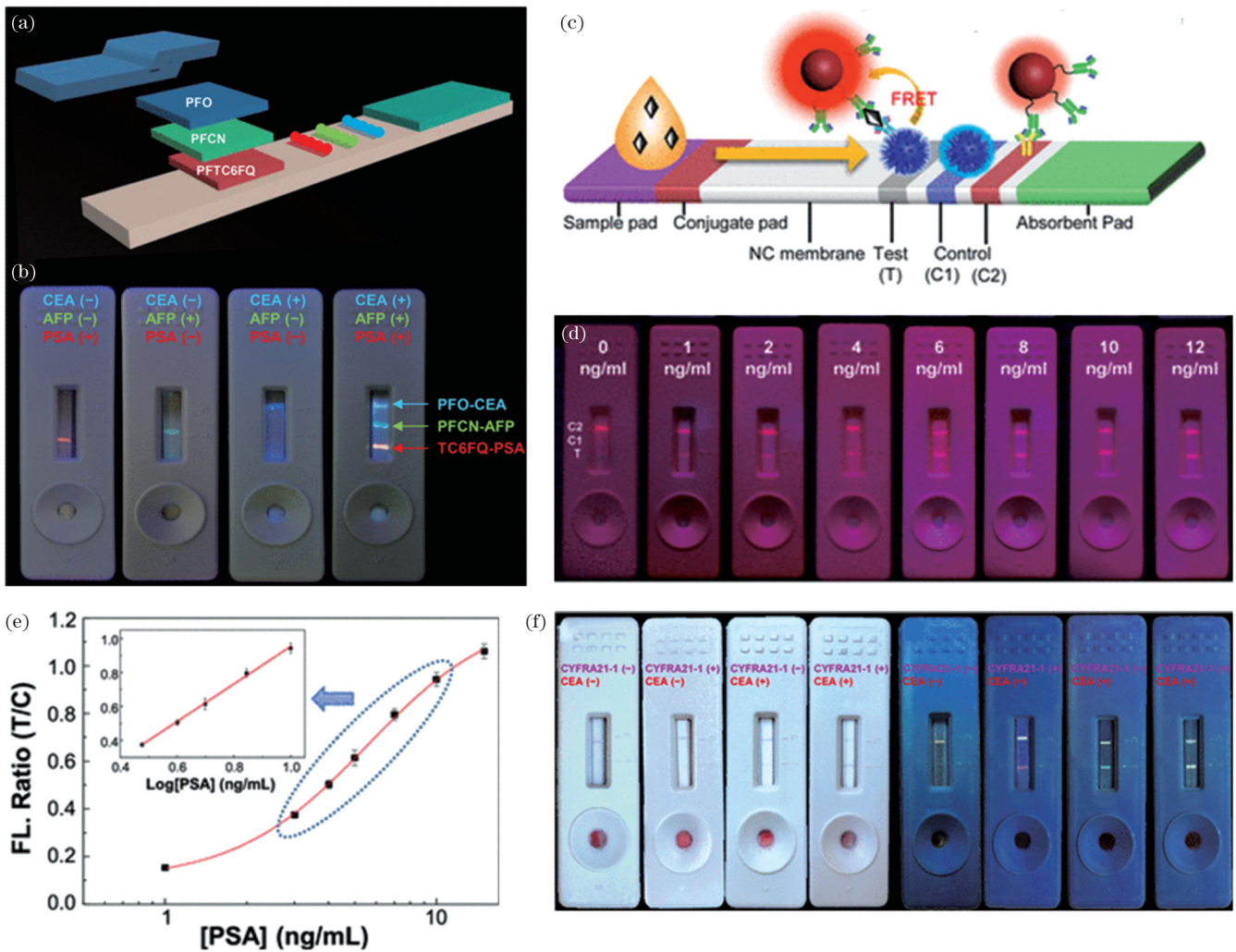


图 7 基于 Pdots 的用于肿瘤标志物检测的 ICTS。(a)用于 CEA/AFP/PSA 多重检测的 ICTS 结构,经许可转载自参考文献[101];(b)不同质量浓度(0/0/5,0/5/0,5/0/0,5/5/5 ng/mL)肿瘤标志物下的检测结果,经许可转载自参考文献[101];(c)基于 FRET 的交通信号灯 ICTS 示意图,经许可转载自参考文献[102];(d)在 410 nm 紫外激发与 600 nm 高通滤波器下的 ICTS 荧光图像,经许可转载自参考文献[102];(e)3~10 ng/mL PSA 下 Au650@Pd dot ICTS 的校准曲线,经许可转载自参考文献[103];(f)在环境光和紫外光下获得的含有不同浓度 CYFRA21-1 和 CEA 样品的 Au@Pd dot ICTS 的图像,经许可转载自参考文献[104]

Fig. 7 Pdots-based ICTS for tumor marker detection. (a) Structure of ICTS for CEA/AFP/PSA multiplex detection, reproduced from Ref. [101] with permission; (b) images of detection at different mass concentrations (0/0/5, 0/5/0, 5/0/0, 5/5/5 ng/mL) of tumor markers, reproduced from Ref. [101] with permission; (c) schematic of FRET-based traffic signal light ICTS, reproduced from Ref. [102] with permission; (d) ICTS fluorescence images under 410 nm UV excitation with 600 nm high-pass filter, reproduced from Ref. [102] with permission; (e) calibration curve of Au650@Pd dot ICTS at 3-10 ng/mL PSA, reproduced from Ref. [103] with permission; (f) images of Au@Pd dot ICTS containing different concentrations of CYFRA21-1 and CEA obtained under ambient light and UV light, reproduced from Ref. [104] with permission

所示。存在 PSA 时,PCA 与 PF-TC6FQ 之间发生 FRET,可观察到检测线上由蓝色到橙红色发射颜色的转变,C2 将作为该检测结果的参考。不存在 PSA 时,检测线上不发生 FRET,PCA 没有发生荧光猝灭,C1 将作为该检测结果的参考。随着 PSA 的质量浓度在 0~12 ng/mL 范围内增加,在 4~6 ng/mL 之间检测线的发射颜色由黄色转变为红色,利用 600 nm 高通滤波器可以直观地观察到荧光强度,如图 7(d)所示。PSA 质量浓度超过 4 ng/mL 可作为前列腺癌的诊断条件之一,这种 ICTS 有利于前列腺癌的快速筛查。

You 等<sup>[103]</sup>使用 Pdots-Au 杂化纳米复合材料设计了 ICTS,基于该 ICTS 可通过双比色法实现 PSA 的快速筛查或通过荧光强度分析法实现精准的定量检测,校准曲线如图 7(e)所示。Yang 等<sup>[104]</sup>开发了另一种基于 Pdots-Au 的双模态 ICTS,两条不同的检测线可以实现对非小细胞肺癌患者血液中 CEA 和细胞角蛋白 19 片段的多重定性检测,如图 7(f)所示。

### 3.5 酶活性

酶在生物体内的各种生理过程中具有重要的催化作用,通过检测疾病相关酶的活性能够帮助进行疾病

的诊断。近年来,基于FRET原理的酶活性生物传感器取得了许多研究进展。Yang等<sup>[105]</sup>利用PFO Pdots与金属有机骨架(MOF)间的FRET开发了可用于MMP-2(即明胶酶A)活性检测的荧光生物传感器。由于MOF与Pdots间的静电作用,经肽配体修饰的Pdots将锚定在MOF表面,同时由于肽链缩短了Pdots

与MOF的间距,二者之间发生的FRET会导致PFO Pdots荧光猝灭。当存在MMP-2时,肽配体会被MMP-2特异性识别并被切割,PFO Pdots将从MOF表面脱落并恢复其荧光发射,如图8(a)所示。PFO Pdots的荧光强度随着MMP-2质量浓度的增加而增加,且二者在0.1~2.5 pg/mL范围内线性相关,如图8(b)所示,

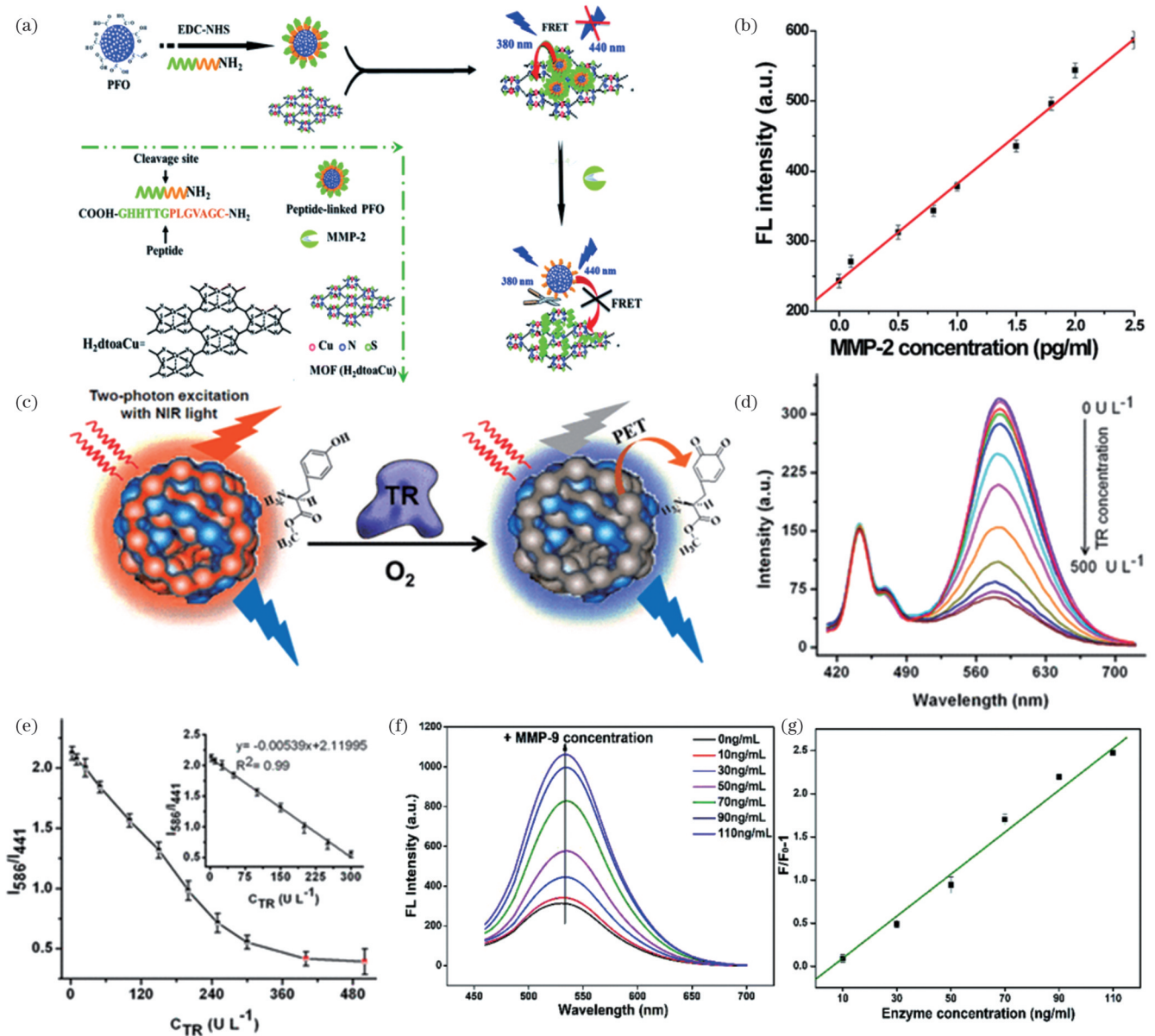


图8 基于Pdots的酶活性生物传感器。(a)基于PFO和MOF的MMP-2生物传感器示意图,经许可转载自参考文献[105];(b)生物传感器荧光强度与MMP-2质量浓度的校准曲线,经许可转载自参考文献[105];(c)Tyr-OMe功能化的TR生物传感器示意图,经许可转载自参考文献[106];(d)不同TR浓度下,Pdots@Tyr-OMe生物传感器的双光子荧光光谱,经许可转载自参考文献[106];(e)荧光强度比( $I_{586}/I_{441}$ )与TR浓度的相关性,经许可转载自参考文献[106];(f)(g)不同浓度MMP-9对GO-Pep-Pdots的荧光响应与猝灭后的荧光恢复,经许可转载自参考文献[37]

Fig. 8 Pdots-based biosensor for enzyme activity. (a) Schematic of the PFO and MOF-based MMP-2 biosensor, reproduced from Ref. [105] with permission; (b) calibration curve of biosensor fluorescence intensity versus MMP-2 mass concentration, reproduced from Ref. [105] with permission; (c) schematic of Tyr-OMe-functionalized TR biosensor, reproduced from Ref. [106] with permission; (d) two-photon fluorescence spectra of the Pdots@Tyr-OMe biosensor at different TR concentrations, reproduced from Ref. [106] with permission; (e) correlation of fluorescence intensity ratio ( $I_{586}/I_{441}$ ) with TR concentration, reproduced from Ref. [106] with permission; (f)(g) fluorescence response to GO-Pep-Pdots at different concentrations of MMP-9 and the fluorescence recovery after fluorescence quenching, reproduced from Ref. [37] with permission

可用于 MMP-2 的定量分析。

Sun 等<sup>[106]</sup>用 PFO 和 CN-PPV Pdots 共沉淀合成了具有双光子激发与双发射功能的 Pdots, 该 Pdots 通过与 L-酪氨酸甲酯(Tyr-OMe)静电组装实现了功能化, 可用于酪氨酸酶(TR)活性的比率荧光传感和生物成像, 如图 8(c) 所示。Pdots@Tyr-OMe 复合物在 800 nm 双光子激发下能发射蓝色与橙色荧光, 而 TR 的氧化产物能够通过光诱导电子转移选择性地猝灭混合 Pdots 中的橙色荧光, 而蓝色荧光则保持不变。586 nm 与 441 nm 处的荧光强度比与 TR 浓度具有线性关系[如图 8(d)、(e) 所示], 据此可实现对 TR 活性的检测。另外, 实验证明 Pdots@Tyr-OMe 的双光子激发具有比单光子激发更低的背景信号, 将 Pdots@Tyr-OMe 应用于双光子成像技术可以实现对黑色素瘤 B16 细胞中 TR 的活性检测。Li 等<sup>[37]</sup>通过构建氧化石墨烯-肽-Pdots(GO-Pep-Pdots)复合物实现了对 MMP-9 的检测。基于特定的肽, 该体系也可被推广应用于对其他蛋白酶的检测。不存在 MMP-9 时, 复合物处于“off”状态, 氧化石墨烯与 Pdots 之间的 FRET 导致荧光猝灭; 存在 MMP-9 时, 复合物处于“on”状态, Pdots 恢复荧光发射, 荧光信号强度与 MMP-9 的浓度线性相关, 如图 8(f)、(g) 所示。

## 4 有机聚合物点的生物成像应用

Pdots 具有荧光亮度高、光稳定性好、生物相容性好等优良性能, 适用于生物成像领域, 可实现对内部组织结构的显示以及疾病的早期诊断<sup>[62,107-109]</sup>。以往 Pdots 的吸收发射范围多为可见光区和近红外一区(NIR-I, 700~900 nm), 但生物组织在该波段会发射自体荧光, 并且该波段对生物组织的穿透性较差, 限制了该波段的成像分辨率<sup>[110-111]</sup>。近年来, NIR-II (1000~1700 nm) Pdots 光学探针取得了一定进展, 该探针可避免 NIR-I 窗口中出现的问题, 能够实现穿透深度大、生物组织光衰减和自体荧光少、背景干扰小、空间分辨率更高的生物成像<sup>[9]</sup>。

### 4.1 荧光成像

荧光成像不涉及电离辐射, 具有更高的空间分辨率, 可实现实时成像, 能够提供目标区域的准确位置、轮廓以及生理信息, 尤其是 NIR-II 荧光成像具有比可见光荧光成像更高的 SBR 和穿透深度。吡啶菁绿和亚甲基蓝是常用的近红外荧光剂, 但由于其量子产率和光稳定性差, 缺乏足够的肿瘤靶向性和特异性结合的能力, 在肿瘤成像应用方面的性能还有待提升<sup>[112-115]</sup>。作为 NIR-II 荧光剂, Pdots 以其优异的靶向性与光物理特性被广泛用于荧光成像的研究中, 可实现淋巴结定位<sup>[116]</sup>、肿瘤成像<sup>[117]</sup>、血管成像<sup>[118]</sup>、癌细胞示踪<sup>[119]</sup>等。

Xiong 等<sup>[120]</sup>制备了近红外荧光 Pdots, 用于体内肿瘤细胞示踪。近红外染料 NIR775 被掺杂到 MEH-

PPV Pdots 中以制备纳米荧光探针, 在 504 nm 光激发下, 作为供体的 MEH-PPV Pdots 与作为受体的 NIR775 之间的 FRET 可以实现 776 nm 的近红外荧光发射。为了检测 NIR Pdots 纳米荧光探针在生物体内进行肿瘤成像的能力, Xiong 等将经 20  $\mu\text{g}$  NIR Pdots 处理的 HeLa 细胞注入裸鼠体内, 7 d 后 NIR Pdots 能保持 75% 的荧光, 23 d 后荧光的保持率仍能达到 28%, 如图 9(a) 所示。实验结果证明, NIR Pdots 具有较低的细胞毒性、长期标记能力和优异的光稳定性, 恰当的斯托克斯位移减小了背景荧光的干扰。这表明基于 NIR Pdots 的荧光探针在肿瘤成像领域具有一定的潜力。Feng 等<sup>[121]</sup>制备了一种可用于靶向肿瘤细胞成像的超小 Pdots, 该 Pdots 不仅具备优异的特异性[如图 9(b) 所示]和快速清除能力, 还可以抑制非特异性的细胞摄取, 提升了成像的靶向性与灵敏度。

基于 NIR Pdots 对肿瘤细胞的靶向能力, 肿瘤成像技术也取得了进展。Liu 等<sup>[122]</sup>以 benzodithio-phenone (BDT) 作为供体、以 triazole [4,5-g]-quinoxaline (TQ) 作为受体制备了半导体聚合物 P1-Pdots, 这种聚合物具有约 1100 nm 波长的发射, SBR 可达到 2.1。使用 P1-Pdots 对小鼠进行 NIR-II 肿瘤成像, 在 24 h 内能明显观察到小鼠肿瘤内部荧光信号的增强, 如图 9(c) 所示。Liu 等<sup>[118]</sup>进一步研究了可提升上述 Pdots 在 NIR-II 窗口荧光亮度的氟化处理, 以推动 NIR-II Pdots 荧光剂在脑肿瘤成像中的应用。他们通过改变 TQ 上氟取代基的数量与位置对 PBTQ 进行氟化处理, 获取了具有更好光物理性能的产物 m-PBTQ4F。与近红外荧光团吡啶菁绿和 IR26 相比, m-PBTQ4F 具有更高的荧光强度与光稳定性。为了研究 m-PBTQ4F 的体内荧光成像能力, 用 m-PBTQ4F 对小鼠进行尾静脉注射, 以显示小鼠俯卧位和仰卧位的全身血管结构, 如图 9(d) 所示。小鼠处于俯卧位时, 背部血管结构能够清晰地显示出来, 证明 m-PBTQ4F 具有对体内血管结构进行荧光成像的优异能力。由于正常脑组织中的血管分布比较均匀, 而恶性脑肿瘤中存在微血管增生以及血管变形导致的血管分布混乱, 因此可利用 m-PBTQ4F 对小鼠进行 NIR-II 脑部血管成像来判断小鼠脑肿瘤的发育情况。

结合 TADF 技术的 NIR-II Pdots 同样在荧光成像中被广泛应用。Mayder 等<sup>[123]</sup>制备了水分散的 TADF Pdots 荧光探针, 实现了对人类宫颈癌细胞和肝癌细胞的荧光成像。Paisley 等<sup>[124]</sup>利用开环复分解聚合方法设计了具有近红外 TADF 的 Pdots, 并验证了其在免疫荧光标记人乳腺癌细胞中的能力。Hsu 等<sup>[125]</sup>制备的含有 TADF 单体的 Pdots 具有更高的发射荧光强度与量子产率, 可实现小鼠体内骨骼的 3D 成像。基于 TADF 的 Pdots 能有效降低背景荧光的干扰, 在高亮度 NIR-II 荧光成像方面具有极大潜力。

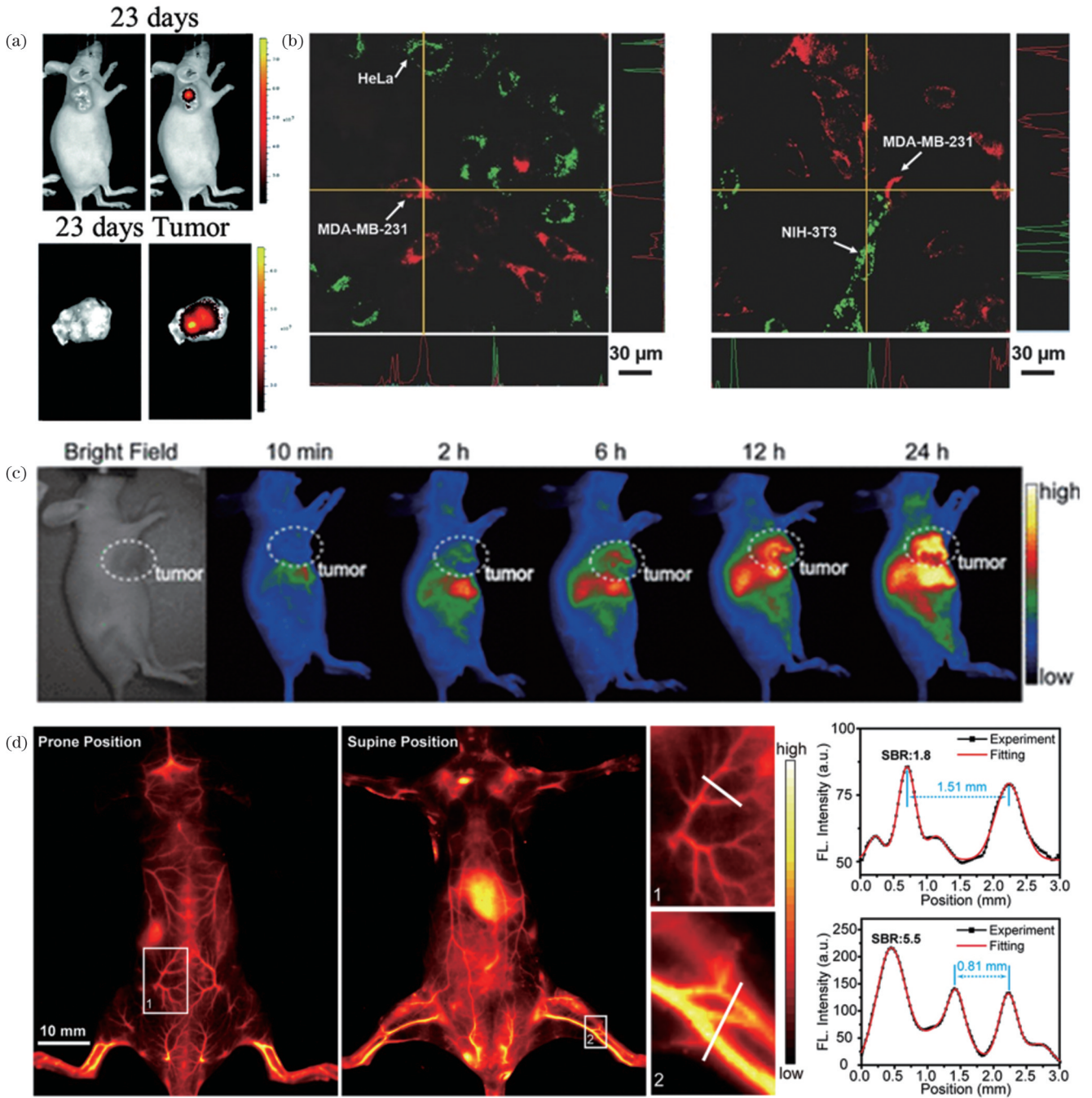


图9 基于Pdots的荧光成像。(a)对注射 NIR Pdots 培养的 HeLa 细胞的小鼠进行长期体内荧光和亮场成像,并对注射后 23 d 小鼠的肿瘤进行体外荧光成像,经许可转载自参考文献[120];(b)经超小 cRGD-CPN6 处理的细胞的 CLSM 图像,其中经预处理 HeLa 细胞和 NIH-3T3 细胞具有绿色发射,MDA-MB-231 细胞具有红色发射,经许可转载自参考文献[121];(c)经尾静脉注射 P1-Pdots 的裸鼠肿瘤的实时 NIR- II 荧光成像,经许可转载自参考文献[122];(d)经尾静脉注射 m-PBTQ4F 的小鼠俯卧位和仰卧位的 NIR- II 荧光图像,右图为沿白线测量的截面荧光强度分布,经许可转载自参考文献[118]

Fig. 9 Pdots-based fluorescence imaging. (a) Long-term *in vivo* fluorescence and bright-field imaging of mice injected with HeLa cells cultured with NIR Pdots, and *in vitro* fluorescence imaging of tumors from mice 23 days post-injection, reproduced from Ref. [120] with permission; (b) CLSM images of the cells treated with ultra-small cRGD-CPN6, where pre-treated HeLa and NIH-3T3 cells have green emission and MDA-MB-231 cells have red emission, reproduced from Ref. [121] with permission; (c) real-time NIR- II fluorescence imaging of tumors in nude mouse via tail vein injection of P1-Pdots, reproduced from Ref. [122] with permission; (d) NIR- II fluorescence images of mice in prone and supine positions via tail vein injection of m-PBTQ4F, right images shows the cross-sectional fluorescence intensity distribution measured along the white line, reproduced from Ref. [118] with permission

### 4.2 光声成像(PAI)

PAI作为非侵入式的生物成像技术,能实现更深组织的穿透,近年来在生物医学领域受到关注<sup>[126]</sup>。光声造影剂在脉冲激光照射下能够吸收能量并将其转化为热能,生物组织由于瞬间的热弹性膨胀而产生光声信号,光声信号中含有生物组织的光吸收信息,据此可重构出具有优异选择性和穿透深度的光声图像。基于Pdots的光声造影剂的光声信号强度往往取决于其内部荧光发射与非辐射散热之间的竞争,由于光热转换效率可以通过修饰与功能化进行调整,Pdots已被广泛用作PAI的光声造影剂<sup>[110,127-130]</sup>。

基于Pdots的光声造影剂性能的提升一直是研究人员的目标,比如放大光声造影剂的信号,以避免光声造影剂因使用剂量过大而在体内积累生物毒性<sup>[131-132]</sup>。Guo等<sup>[133]</sup>设计的Pdots可实现3.2 mm深度处肿瘤的PAI,同时具有高的光热转换效率以及高达47的SBR。Lü等<sup>[134]</sup>通过光诱导电子转移来增强荧光猝灭,使得Pdots的光声信号强度提升了2.6倍,光热温度最大值提高了1.3倍。根据水与二氧化硅之间的界面热导,Zhen等<sup>[135]</sup>通过二氧化硅封装Pdots来增强光声信

号强度。Duan等<sup>[136]</sup>开发的基于Pdots的复合材料因额外的产热与加速散热,能产生更高强度的光声信号。上述研究表明,Pdots可以通过多种修饰方法与设计策略来提升其作为光声造影剂的性能,在PAI领域具有巨大的发展前景。

大量研究表明,与NIR- I PAI相比,NIR- II PAI具有更高的SBR、穿透深度和图像分辨率<sup>[137-140]</sup>。Wu等<sup>[138]</sup>合成了一种具有强近红外吸收的NIR- II光声造影剂TSNPs,它能够在NIR- II窗口产生强烈的光声信号,而血红蛋白和脂质等内源性造影剂在此范围内的光声信号较弱。1100 nm和1300 nm的PAI波长可以有效降低来自生物组织的背景干扰,成像深度可达到5 cm以上,SBR为82。在肿瘤区域注射TSNPs后,肿瘤区域的光声信号强度在1100 nm激发下增强了7倍,在1300 nm激发下增强了13.3倍,如图10(a)所示。Guo等<sup>[139]</sup>使用BDT和benzobisthiadiazole(BBT)共聚合成了具有高成像对比度的NIR- II光声造影剂poly(benzodithiophene-alt-benzobisthiadiazole)(P1),成功实现了原位脑肿瘤的NIR- II PAI。将P1 Pdots注射进小鼠体内后,使用AR-PAM系统对脑肿瘤横截面进行双模态光声和超声成像,其中超声成像可以显示肿

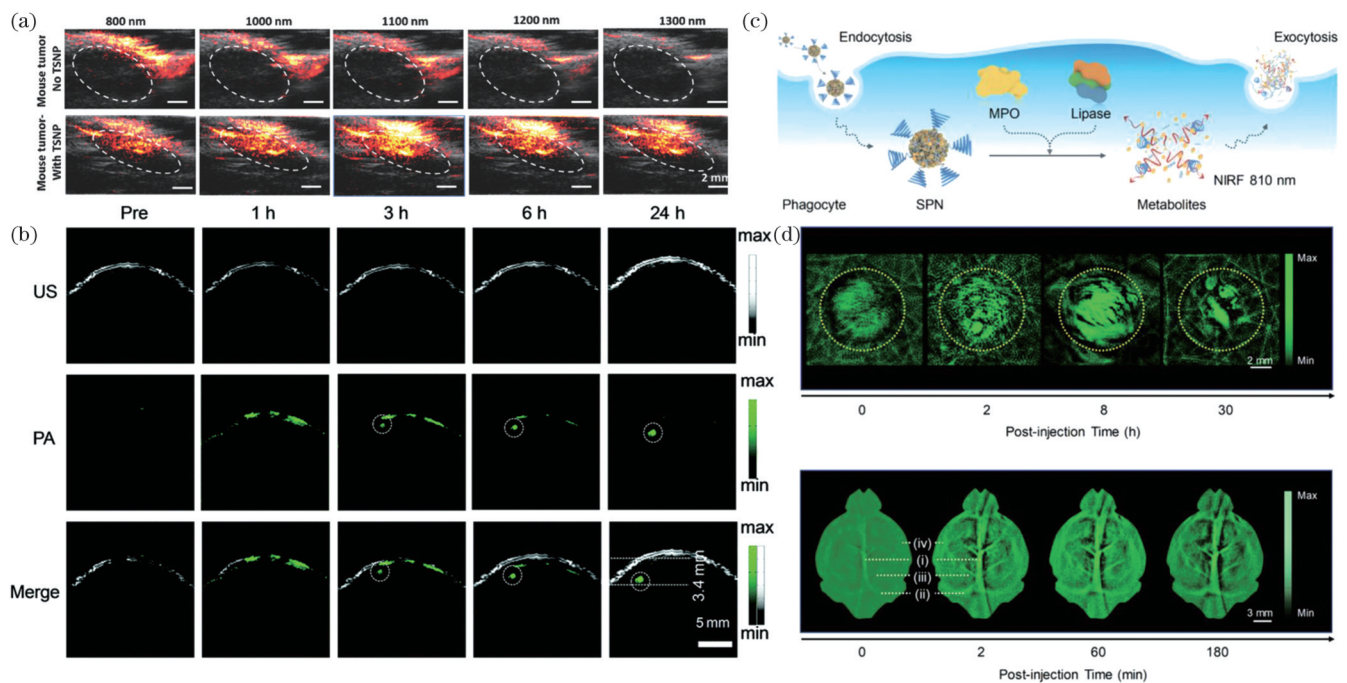


图 10 基于Pdots的NIR- II PAI。(a)小鼠肿瘤中未注射(上)与注射(下)TSNP后的活体超声/光声(US/PA)双模态成像,经许可转载自参考文献<sup>[138]</sup>; (b)脑肿瘤注射P1 Pdots前后的超声/光声图像,灰色超声图像显示皮肤和颅骨边缘,光声图像中的绿色信号为P1 Pdots,经许可转载自参考文献<sup>[139]</sup>; (c)SPN-PT Pdots在吞噬细胞中的降解和代谢过程,经许可转载自参考文献<sup>[141]</sup>; (d)在1064 nm光照射下,注射SPN-PT Pdots的小鼠在特定时间点的浅表肿瘤和脑血管PA图像,经许可转载自参考文献<sup>[141]</sup>

Fig. 10 Pdots-based NIR- II PAI. (a) *In vivo* US/PA bimodal imaging in mouse tumors uninjected (top) and injected (bottom) TSNP, reproduced from Ref. <sup>[138]</sup> with permission; (b) US/PA images of brain tumors before and after P1 Pdots injection, grey US images showing skin and skull margins and green signal in PA images showing the distribution of P1 Pdots, reproduced from Ref. <sup>[139]</sup> with permission; (c) degradation and metabolic processes of SPN-PT Pdots in phagocytes, reproduced from Ref. <sup>[141]</sup> with permission; (d) superficial tumor and cerebrovascular PA images of mice injected with SPN-PT Pdots at designed time points under 1064 nm irradiation, reproduced from Ref. <sup>[141]</sup> with permission

瘤的轮廓(便于确定肿瘤的空间位置),结合光声图像能够更好地观察肿瘤内部的信号强度变化。注射 2 h 后肿瘤区域清晰显像,且随着时间延长,脑肿瘤区域内光声信号强度与渗透深度迅速增加,如图 10(b)所示。注射 24 h 后,脑肿瘤中仍存在强烈的光声信号,是注射前初始光声信号的 94 倍,且成像深度可达到 3.4 mm, SBR 为 59。研究结果证明了 NIR-II 光声造影剂 P1 Pdots 能够成功穿过血脑屏障(BBB)并在肿瘤中积累,同时在 1064 nm 光激发下具有优异的光声成像效果。

然而,基于 Pdots 的 NIR-II 光声造影剂在生物体内的代谢能力与其生物毒性息息相关,是研发光声造影剂时必须考虑的因素之一。Jiang 等<sup>[141]</sup>开发了可代谢的 NIR-II Pdots 光声造影剂,其光声光谱范围为 680~1064 nm,而血液在 1064 nm 处的光声信号微弱,说明 NIR-II Pdots 光声造影剂在成像过程中的血液背景信号少, SBR 相应地获得提升。关于 NIR-II Pdots 光声造影剂的代谢能力的相关研究显示,制备得到的 SPN-PT 造影剂可被吞噬细胞中的酶降解为超微代谢产物后经肝脏与肾脏排泄清除。吞噬细胞中的髓过氧化物酶(MPO)可以有效降解半导体颗粒,而脂肪酶可以催化 SPN-PT 封装层中的酯键水解。经 MPO 和脂肪酶联合处理后, SPN-PT 的水动力直径可由 30 nm 减小至 1 nm,降解产物发射荧光并从吞噬细胞中排出,如图 10(c)所示。采用激光共聚焦扫描显微镜观察孵化 48 h 细胞中的细胞质,可以看到 SPN-PT 降解产物的 NIR-II 荧光信号,证明了吞噬细胞能有效降解 SPN-PT。为了研究 NIR-II Pdots 光声造影剂在生物体内的清除途径,将 SPN-PT 注射进小鼠体内,结果发现血液的荧光信号在第一天达到峰值,与肾脏相关的尿液中的荧光信号在第二天达到峰值,肝脏区域的信号则在第四天达到峰值,粪便中的信号峰值出现在第五天。以上结果表明, SPN-PT 可在小鼠体内降解并通过肾脏与肝脏被有效清除。通过静脉注射 SPN-PT 至浅表肿瘤模型与深层经颅脑血管系统模型中,结果发现肿瘤区域以及血管的光声信号强度明显增加,能有效实现对浅表肿瘤以及血管结构的观察,如图 10(d)所示。以上研究结果表明, SPN-PT 是有效的 NIR-II 光声造影剂,其高效的代谢能力使其同时具备优异的生物相容性。

### 4.3 多模态成像

多模态成像结合了多种成像方法,可以综合观察含有不同生理信息或位置信息的医学信号,能够实现更为全面、准确的诊断。目前已有具有双重成像能力的 Pdots 被研发出来, Pdots 在提供荧光信号的同时可给出其他形式的成像信号,如光声信号、磁共振信号、放射性信号等,能达到更好的成像效果<sup>[142-145]</sup>。Lü 等<sup>[146]</sup>制备了表面含有亚硝酸反应基团

的 Pdots (rSPNs), rSPNs 具有强烈的近红外吸收特性。在经尾静脉注射 rSPNs 的小鼠肿瘤中能够同时实现 PAI 与荧光成像[如图 11(a)和图 11(b)所示],证明了 Pdots 在肿瘤荧光与实时光声双重成像中的可能性。Hashim 等<sup>[147]</sup>开发了可用于荧光成像与磁共振成像(MRI)的双模态 Gd-Pdots。Gd-Pdots 由半导体聚合物、两亲性磷脂和含钆脂质制备得到,具有优异的荧光量子产率和 MRI T1 加权弛豫时间。图 11(c)分别显示了注射 Gd-Pdots 后小鼠经 IVIS 处理后的图像,其中 Gd-Pdots 发射的红色荧光和小鼠组织发射的绿色荧光能够明显区分开,而在 3T 和 7T 时的弛豫速率与小鼠体内含钆的 Gd-Pdots 浓度线性相关,如图 11(d)所示。Gd-Pdots 的荧光与磁共振性能表明 Pdots 在双模态荧光成像与 MRI 中具有潜在的应用价值。Sun 等<sup>[148]</sup>合成了含有金纳米颗粒的 Pdots 纳米复合物 Au-NP-Pdots,它可以实现 Pdots 荧光与金散射的双模态成像。如图 11(e)所示,通过配备了暗场模式的荧光显微镜可以实现哺乳动物细胞内 Au-NP-Pdots 的双模态成像,其中金纳米颗粒在暗场模式下可以实现长期示踪与成像。然而,细胞内的纳米级细胞器也存在着强烈的光散射现象,因此难以将其与金纳米颗粒的信号分开。纳米复合物中的 Pdots 可以将荧光模式下的亮点与暗场模式下的亮点一一对应,从而可以将同时产生荧光和散射信号的 Au-NP-Pdots 与其他纳米级细胞器区分开。

Duan 等<sup>[149]</sup>研制了一种能实现荧光成像、MRI 和 PAI 的高性能多模态成像造影剂,该造影剂能够穿透 BBB 完成对脑肿瘤的靶向成像。环状 RGD (cRGD)可以附着在纳米材料的表面,实现对新生血管中过表达的整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体的靶向作用,同时可将纳米材料内化到脑肿瘤微环境中以穿越 BBB<sup>[150-151]</sup>。以 cRGD 标记的脑肿瘤细胞膜作为纳米复合材料的外壳, Pdots 和超小氧化铁纳米颗粒作为核心,构成了对脑肿瘤具有靶向能力的多功能造影剂 cRGD-CM-CPIO。根据实验结果,小鼠注射 cRGD-CM-CPIO 造影剂 4 h 后便能明显观察到其在脑肿瘤区域的聚集,同时伴有强烈的荧光信号,而且 MRI 的结果与荧光成像结果一致。荧光成像能够提供包含浅表信息的图像, MRI 可给出大脑的整体图像,而 PAI 可作为补充提供脑肿瘤在横截面上的实时深度信息。由于 cRGD 的 BBB 靶向能力, cRGD-CM-CPIO 可延伸至整个脑肿瘤区域,其光声信号可覆盖脑肿瘤的完整横截面,在脑肿瘤区域产生更强的光声信号,如图 11(f)所示。结果表明,由于 Pdots 易于修饰与功能化的特性, Pdots 可以通过结合其他具有成像能力的纳米颗粒的方式构成复合物,实现包括荧光成像、PAI、MRI 在内的多模态成像。

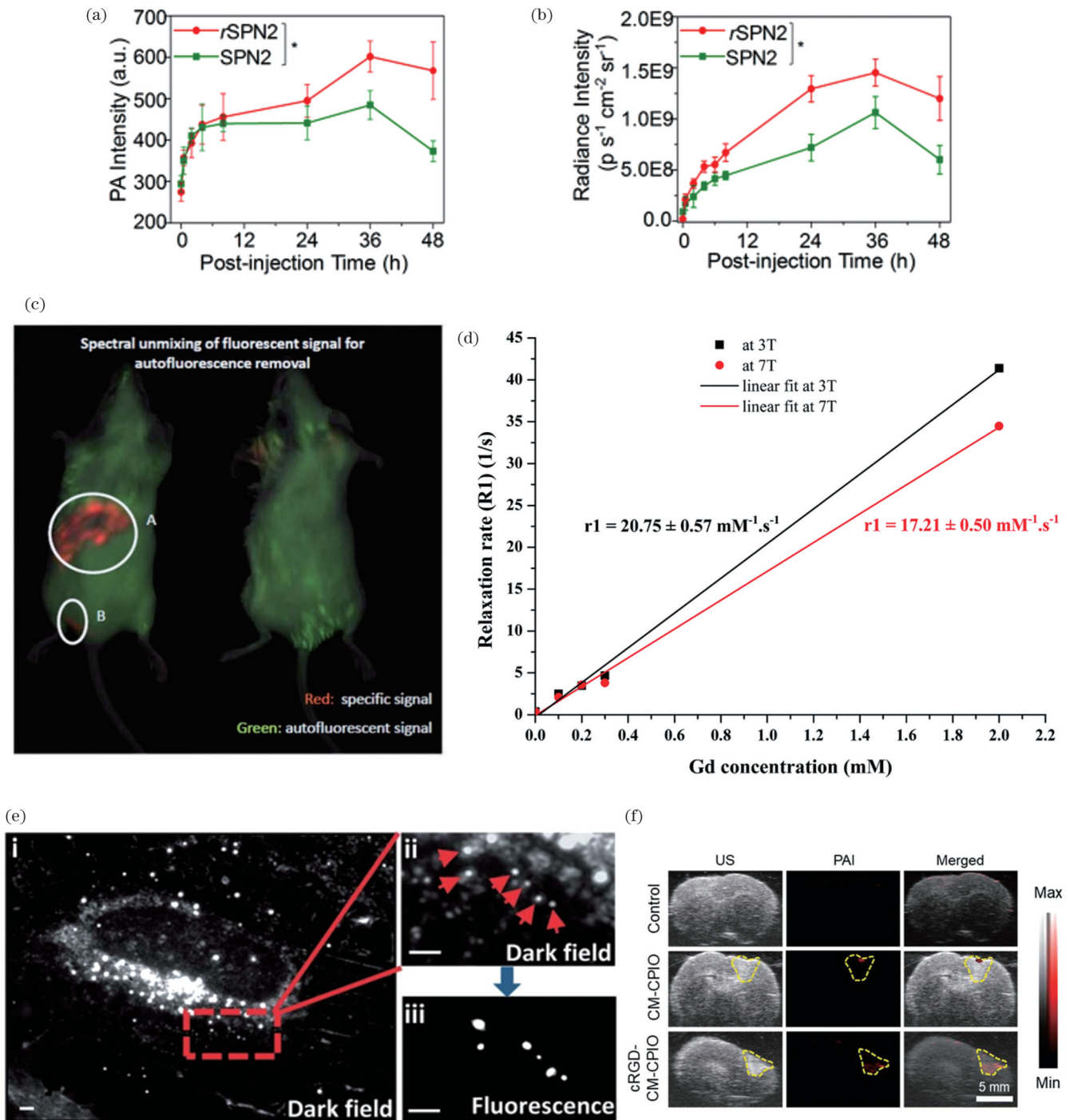


图 11 基于 Pdots 的多模态成像。(a) 光声信号强度和 (b) 荧光信号强度与注射药物 (rSPN2 和 SPN2 Pdots) 后时间的关系, 经许可转载自参考文献 [146]; (c) 注射 Gd-SPNs 后的小鼠经 IVIS 处理过的图像, 经许可转载自文献 [147]; (d) 弛豫速率值 (R1) 与 Gd-SPNs 中钆浓度之间的线性相关, 经许可转载自参考文献 [147]; (e) 哺乳动物细胞内 Au-NP-Pdots 的暗场和荧光图像, 经许可转载自参考文献 [148]; (f) 注射 cRGD-CM-CPIO 纳米复合材料 12 h 后, 脑肿瘤小鼠大脑的光声图像, 经许可转载自参考文献 [149]

Fig. 11 Pdots-based multimodal imaging. (a) PA signal intensity and (b) fluorescence signal intensity versus time after drug injection (rSPN2 and SPN2 Pdots), reproduced from Ref. [146] with permission; (c) IVIS-treated images of mice after injection of Gd-SPNs; (d) linear correlation between relaxation rate values (R1) and gadolinium concentration of Gd-SPNs, reproduced from Ref. [147] with permission; (e) dark field and fluorescence images of Au-NP-Pdots in mammalian cells, reproduced from Ref. [148] with permission; (f) PA images of brain tumor mouse's brain 12 h after injection of cRGD-CM-CPIO nanocomposites, reproduced from Ref. [149] with permission



## 5 有机聚合物点的光学治疗应用

近年来,光介导的肿瘤治疗方法引起了广泛关注,包括 PTT<sup>[152-155]</sup>、PDT<sup>[156-158]</sup>和光免疫治疗<sup>[43,159-160]</sup>等。药物在外界激发光或体内生化环境的影响下发生一系列光化学或光物理反应,通过释放热量或释放活性氧(ROS)的方式杀伤肿瘤细胞<sup>[30,161]</sup>。光免疫治疗通过光激活药物并使其在肿瘤区域释放,引发体内的免疫反应,从而实现癌症治疗<sup>[162]</sup>。然而,传统的 PTT 通常需要高温环境对肿瘤进行热消融,在改变肿瘤微环境的同时也会对正常的组织细胞造成损伤。对于 PDT,治疗过程中产生的 ROS 通常具有较短的寿命且有效作用范围有限,同时光敏剂在作用时易过度消耗氧气导致局部缺氧,进一步降低 ROS 的生成,限制了它的治疗效果<sup>[163]</sup>。Pdots 具有优异的生物相容性、光稳定性、转换效率、NIR-II 吸收能力等优势,被国内外认为是极具潜力的光学治疗剂<sup>[30,164]</sup>。尤其是 Pdots 易于表面修饰的特性,能够使治疗剂具有肿瘤靶向能力,顺利地将治疗药物输送到肿瘤区域,改善上述方法的治疗效果。

### 5.1 光热治疗(PTT)

PTT 需要治疗药剂吸收激发光的能量并将其转化为热能,实现对病变细胞的杀伤。选用的材料通常需要在近红外窗口具有强吸收能力,以降低生物组织对光的吸收从而提升光热转换效率。另外,由于光声信号与 PTT 效应都基于材料的光热转换,PAI 与 PTT 的协同放大策略常成为研究目标,因此本文 4.2 节所述的对基于 Pdots 的光声造影剂的信号放大策略同样可应用于提升基于 Pdots 的 PTT 治疗剂的性能,如调整 Pdots 的结构、增强荧光猝灭、加强产热等。

近年来,关于 NIR-II PTT 的研究不断有新的进展。与 NIR-II PAI 相对 NIR-I PAI 的优势相同,NIR-II PTT 也具有更大的组织穿透深度和最大允许曝光量<sup>[110,127,165-166]</sup>。Jiang 等<sup>[167]</sup>开发了一种在 NIR-I 和 NIR-II 窗口具有双峰吸收的 SPN<sub>I-II</sub> Pdots,并比较了其在 NIR-I 和 NIR-II 窗口的 PTT 性能。SPN<sub>I-II</sub> Pdots 在 808 nm 和 1064 nm 具有几乎相同的吸光度,在 808 nm 的极限最大允许曝光量(0.3 W/cm<sup>2</sup> 功率密度)下,808 nm 激发 SPN<sub>I-II</sub> Pdots 的最高温度为 40.2 °C,与 1064 nm 激发 SPN<sub>I-II</sub> Pdots 的最高温度 41.0 °C 接近。然而,在 1064 nm 的极限最大允许曝光量(1.0 W/cm<sup>2</sup> 功率密度)下,1064 nm 激发的 SPN<sub>I-II</sub> Pdots 的最高温度可达到 71.7 °C,是 808 nm 激发下最高温度的 1.8 倍,如图 12(a)所示。将鸡胸肉覆盖在注射了 SPN<sub>I-II</sub> Pdots 小鼠的体表,用于模拟深层组织中肿瘤的 PTT,1064 nm 激发下肿瘤区域温度升高至 58 °C,达到 PTT 的温度阈值 43 °C,而 808 nm 激发下肿瘤区域的温度仅达到 29.8 °C,未能实现肿瘤热消融,如图 12(b)所示。根据实验结果,NIR-II PTT 具有比

NIR-I 窗口更优越的性能与疗效。

为了提升 PTT 的安全性,人们研制出了可降解的 Pdots PTT 治疗剂。Li 等<sup>[168]</sup>开发了生物可降解 PTT 治疗剂 F8-PEG Pdots,巨噬细胞可实现 F8-PEG Pdots 的降解[如图 12(c)所示],同时 F8-PEG Pdots 具有高达 82% 的光热转换效率与良好的生物安全性。F8-IC 分子连接一个强电子供体和两个强受体形成 A-D-A 结构,其强烈的分子内电荷转移能导致几乎完全的荧光猝灭,极大地提升了光热转换效率,使 F8-PEG Pdots 具有极高的光热性能,从而有效实现对小鼠体内肿瘤的 PTT,如图 12(d)和图 12(e)所示。在巨噬细胞中 MPO 和过氧化氢的作用下,分子内的双键被氧化,使得 F8-PEG Pdots 在 750 nm 处的光吸收急剧减少。Lü 等<sup>[169]</sup>通过在 DPPT 上添加乙烯键制备了可生物降解的 DPPV Pdots,其光吸收率与光热转换效率与修饰前的 Pdots 相比均获得了提升。乙烯键的酶促分解可以使 DPPV Pdots 降解为水溶性小分子,保证了 PTT 的生物安全性。

PTT 还可以结合医学影像引导实现更好的肿瘤消融效果,各种成像技术可以帮助识别肿瘤的形状与位置,辅助光照下的光学治疗,减小对正常组织细胞的副作用。将影像引导与 PTT 相结合的技术,如荧光图像<sup>[170-171]</sup>、PAI 图像<sup>[132,172-174]</sup>、MRI 图像<sup>[175]</sup>等引导的 PTT 技术,能够有效提升 PTT 的选择性与治疗效率。Guo 等<sup>[174]</sup>开发了一种由环氧化酶修饰的 P1RGD Pdots[如图 12(f)所示],其在 NIR-II 窗口具有强吸收,而且具有优异的生物相容性与光稳定性,能够穿透 BBB 实现光声引导的脑肿瘤 PTT。通过实时的 PAI 系统,可以在近 3 mm 的深度准确定位脑肿瘤,辅助进行精准 PTT,有效抑制肿瘤生长。医学影像引导的 PTT 有望应用于肿瘤的精准确治疗,提升肿瘤治疗的精确性与治疗效率。

### 5.2 光动力治疗(PDT)

PDT 通过光敏剂吸收光能并转换能量从而产生 ROS 来杀伤肿瘤细胞。传统的小分子光敏剂存在水溶性和靶向能力差的问题,利用 Pdots 可以弥补小分子光敏剂的缺陷<sup>[176-179]</sup>。Pdots 与小分子染料间的相容性使得光敏剂能够顺利掺杂到 Pdots 中,在治疗过程中,具有高能转换效率与光吸收能力的 Pdots 可以有效吸收能量并传递给其中掺杂的光敏剂,从而实现高效的 PDT,达到癌症治疗的目的。

Shi 等<sup>[180]</sup>将磷光 Ir(III)掺杂到聚芴 Pdots 中形成的 FRET 系统可以有效地将外界能量传递给 Ir(III),如图 13(a)所示。在 488 nm 光激发下,该 PDT 治疗剂可以生成单线态氧,有效诱导肿瘤细胞的凋亡与死亡。除了可实现高效 PDT 以外,由于磷光响应与氧浓度线性相关,该治疗剂还可以应用于氧浓度的比率传感。Haupt 等<sup>[181]</sup>发现由 MEH-PPV 和 CN-PPV 组成的 Pdots 可以与光敏剂 m-THPC 稳定结合,m-THPC 可与 Pdots 的核心紧密相连形成稳定的结构。Pdots 与

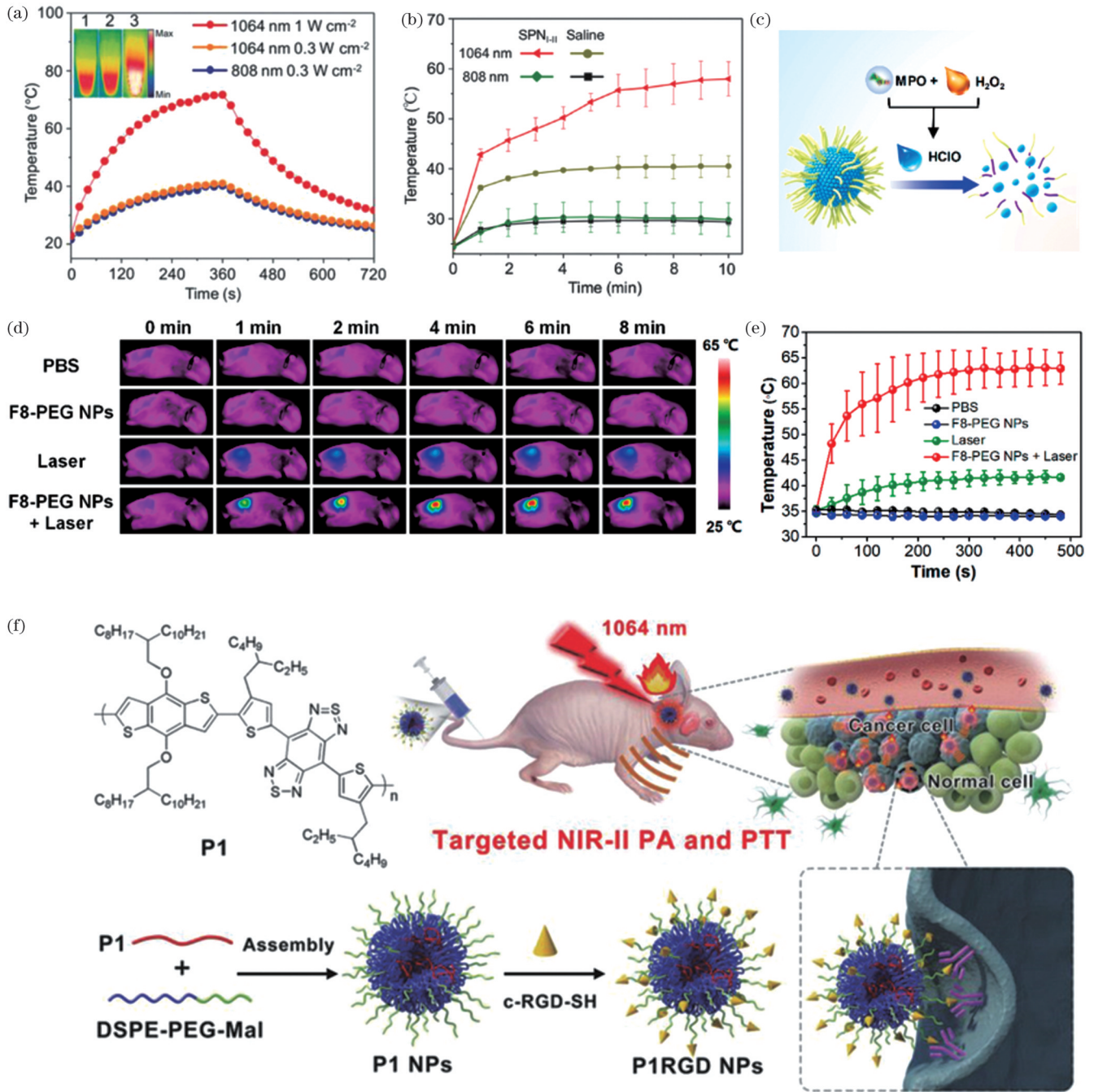


图 12 基于 Pdts 的 PTT。(a) 不同激光功率密度下, SPN<sub>I-II</sub> Pdots 溶液的光热加热和冷却曲线, 插图是对应的最高温度时的红外热像图, 经许可转载自参考文献 [167]; (b) 瘤内注射 SPN<sub>I-II</sub> Pdots 后平均肿瘤温度随激光照射时间的变化, 经许可转载自参考文献 [167]; (c) F8-PEG Pdots 的生物降解示意图, 经许可转载自参考文献 [168]; (d) 经不同处理后的裸鼠的红外热像图, 经许可转载自参考文献 [168]; (e) 不同组激光照射下肿瘤温度变化曲线, 经许可转载自参考文献 [168]; (f) P1RGD Pdots 体内脑肿瘤 PTT 和 PAI 示意图, 经许可转载自参考文献 [174]

Fig. 12 Pdts-based PTT. (a) Photothermal heating and cooling curves of SPN<sub>I-II</sub> Pdots solution at different laser power densities, the inset shows the infrared thermal images at the corresponding maximum temperature, reproduced from Ref. [167] with permission; (b) variation of mean tumor temperature with laser irradiation time after injection of SPN<sub>I-II</sub> Pdots, reproduced from Ref. [167] with permission; (c) schematic of F8-PEG Pdots biodegradation, reproduced from Ref. [168] with permission; (d) infrared thermal images of nude mice after different treatments, reproduced from Ref. [168] with permission; (e) tumor temperature change curves under different groups of laser irradiation, reproduced from Ref. [168] with permission; (f) schematic of *in vivo* PTT and PAI of brain tumors with P1RGD Pdots, reproduced from Ref. [174] with permission

m-THPC 间的高效 FRET 将增加单线态氧的产量, 加速肿瘤细胞死亡, 增强 PDT 的疗效, 如图 13(b) 所示。

由于掺杂在 Pdots 中的光敏剂有可能从纳米颗粒中泄漏, Tang 等<sup>[182]</sup> 制备了掺杂有光敏剂 Chlorin e6 (Ce6)

的光交联 Pdots, 如图 13(c) 所示。由于光交联的特性, Ce6 掺杂的 Pdots 颗粒间形成了独特的互穿结构, 有效防止了 Ce6 从纳米颗粒中泄漏, 避免了对正常组织器官造成损伤。Pdots 与 Ce6 之间的能量转移增加了单

线态氧的产生, 在低剂量(约  $60 \text{ J/cm}^2$ ) 的光照射下可以有效杀伤肿瘤细胞。经掺杂 Ce6 的 Pdots 处理的裸鼠体内 PDT 实验结果证明, 该材料可以显著抑制小鼠体内实体肿瘤的生长发育, 如图 13(d) 所示。

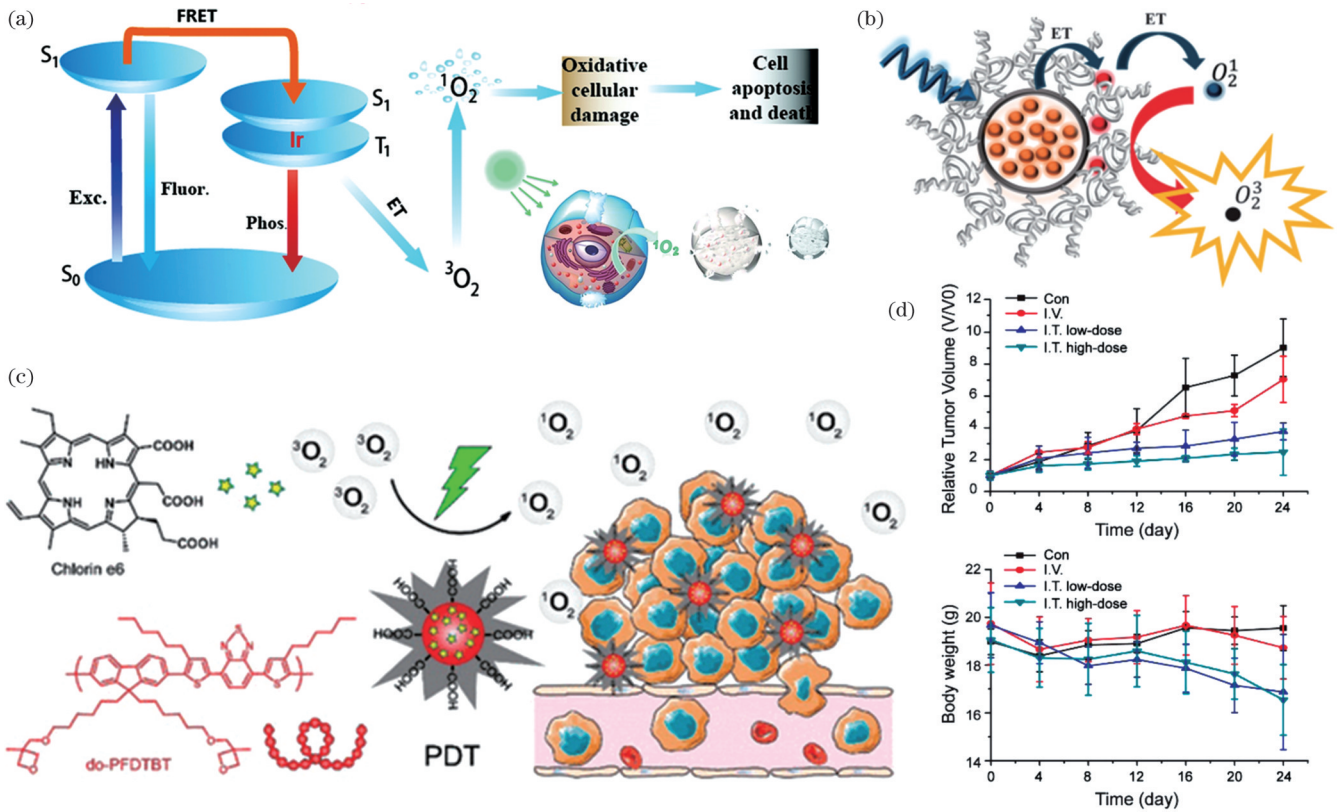


图 13 基于 Pdots 的 PDT。(a) Ir(III) 掺杂 Pdots 的氧传感与 PDT 机制, 经许可转载自参考文献 [180]; (b) Pdots 与 m-THPC 间的高效 FRET 增加了单线态氧产量, 经许可转载自参考文献 [181]; (c) Ce6 光交联 Pdots 的 PDT 机制, 经许可转载自参考文献 [182]; (d) 经处理的裸鼠体内肿瘤的相对体积(上)和体重(下)的变化, 经许可转载自参考文献 [182]

Fig. 13 Pdots-based PDT. (a) Oxygen sensing and PDT mechanism of Ir(III)-doped Pdots, reproduced from Ref. [180] with permission; (b) efficient FRET between Pdots and m-THPC increases single-linear state oxygen production, reproduced from Ref. [181] with permission; (c) PDT mechanism of Ce6 photo-crosslinked Pdots, reproduced from Ref. [182] with permission; (d) changes in relative tumor volume (top) and body weight (bottom) of nude mice after treatment, reproduced from Ref. [182] with permission

### 5.3 光免疫治疗

通过诱导免疫原性细胞死亡(ICD)可以刺激肿瘤区域的免疫反应, 杀死原发性和转移性肿瘤并提供长期的免疫保护<sup>[144,183]</sup>。光免疫治疗由于需要经过外部光触发, 相对传统癌症免疫疗法具有更高的选择性以及更低的副作用<sup>[184-185]</sup>。Li 等<sup>[186]</sup>制备了一种半导体聚合物光免疫治疗药剂 SPN<sub>II</sub>R, 它通过光热触发聚合物中的药物释放并实现对肿瘤的 NIR-II PTT。SPN<sub>II</sub>R 以 Pdots 为核心, 掺杂了激动剂作为辅助, 并且具有热响应的脂质外壳。在 NIR-II 激发下, SPN<sub>II</sub>R 将产热, 消融肿瘤并诱导 ICD, 同时使外层脂质层熔融释放出激动剂, 二者协同作用增强了肿瘤区域的免疫反应, 如图 14(a) 所示。将 SPN<sub>II</sub>R 应用于小鼠模型中, 可以观察到原发肿瘤的生长与转移明显受到抑制。Jiang 等<sup>[187]</sup>开发了一种 NIR-II 光诱导的免疫治疗药剂

APNA, 其通过将免疫刺激剂共价偶联到 Pdots 上构成, 如图 14(b) 所示。APNP 经 NIR-II 光照射介导光热效应, 触发肿瘤的热消融及 ICD, 同时切断刺激剂与 Pdots 的连接, 在肿瘤区域实现原位免疫激活, 实现全身抗肿瘤免疫并抑制肿瘤转移。NIR-II Pdots 可在激光照射下通过光热效应原位触发 ICD, 并提高 PTT 的穿透深度, 达到更好的治疗效果。

除了光免疫治疗, 光免疫代谢治疗也是癌症治疗的有效方法。光免疫代谢治疗通过释放抑制剂与特定靶点结合来抑制肿瘤的代谢, 并促进效应 T 细胞增殖, 实现治疗效果<sup>[188-190]</sup>。通过控制激发光的照射范围, 可以将光免疫代谢过程限制在肿瘤区域, 降低副作用<sup>[191-192]</sup>。Zeng 等<sup>[193]</sup>研制了一种由 NIR 光激活的有机聚合物纳米酶 (SPNK), 它可以通过产生单线态氧以及释放免疫调节酶 KYNase 来触发 PDT 和肿瘤免疫

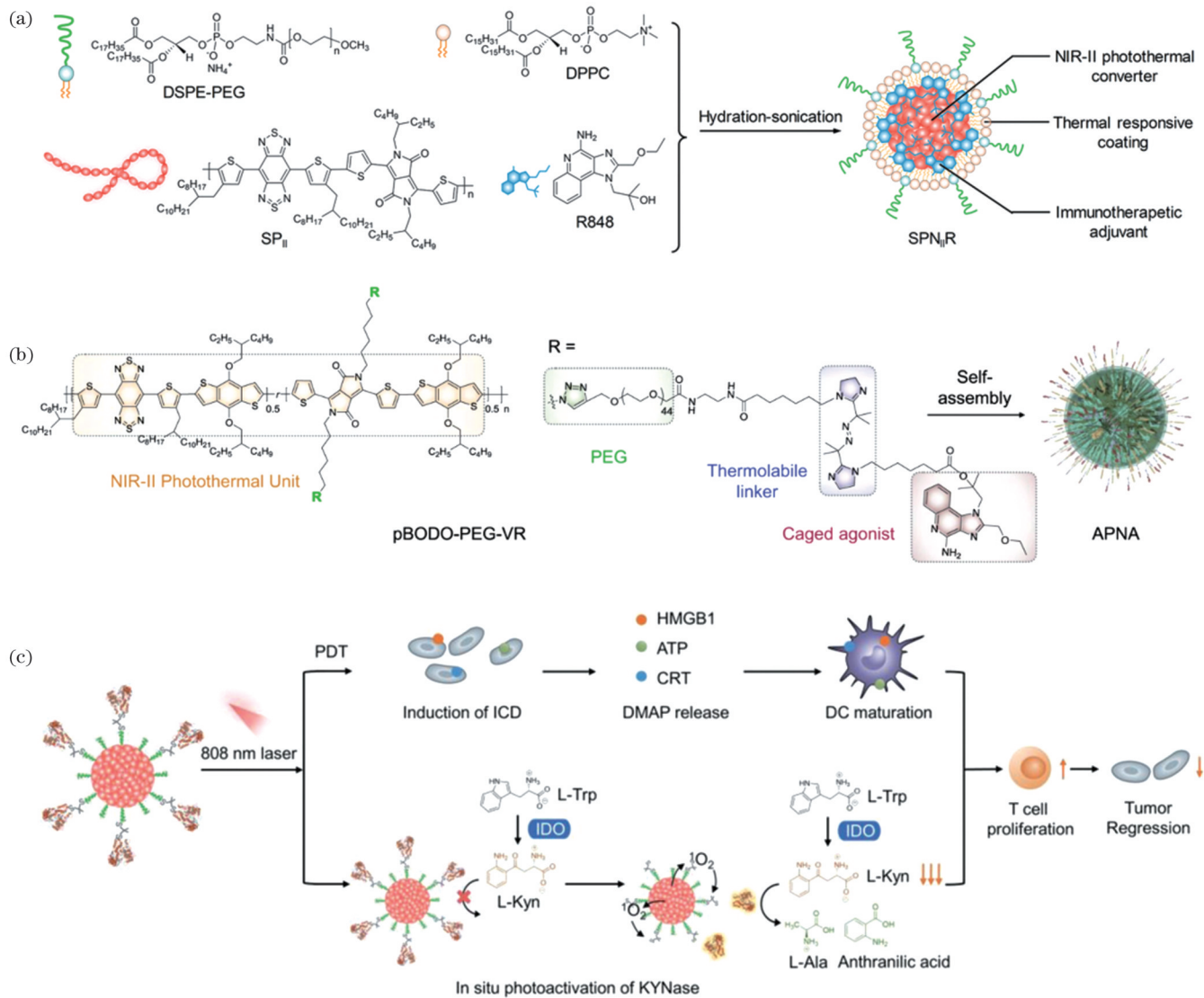


图 14 基于 Pdots 的光免疫治疗和光免疫代谢治疗。(a) NIR- II 光免疫治疗药剂 SPN<sub>II</sub>R 的制备, 经许可转载自参考文献 [186]; (b) NIR- II 光诱导的免疫治疗药剂 APNA 的制备, 经许可转载自参考文献 [187]; (c) NIR 光激活的光免疫代谢治疗药剂 SPNK 的作用机制, 经许可转载自参考文献 [193]

Fig. 14 Pdots-based photoimmunotherapy and photoimmunometabolic therapy. (a) Preparation of NIR- II photoimmunotherapeutic agent SPN<sub>II</sub>R, reproduced from Ref. [186] with permission; (b) preparation of NIR- II photoinduced immunotherapeutic agent APNA, reproduced from Ref. [187] with permission; (c) mechanism of NIR photoactivated photoimmunometabolic therapeutic agent SPNK, reproduced from Ref. [193] with permission

抑制, 如图 14(c) 所示。与上述效果一致, 在 NIR 光激发下, SPNK 可以有效抑制原发性肿瘤的生长发育。

## 6 结束语

Pdots 已成为生物传感、生物成像以及光学治疗中重要的材料之一, 有助于疾病的诊断与治疗, 尤其对肿瘤的光学治疗具有重要意义。本文介绍了 Pdots 的发光机制、性能表征与制备方法, 描述了 Pdots 在生物光学应用中的优势, 如光吸收截面大、光稳定性好、生物毒性低、转换效率高等, 并且已有许多研究证明可以通过多种方法提升 Pdots 的相关性能, 从而实现更好的诊疗效果。此外, Pdots 易于表面改性 with 功能化的能力使其具备优异的针对不同检测对象与应用范围的适应

能力。本文总结的众多应用实例均表明 Pdots 强大的粒径、性能与功能的可调性, 使其与传统材料相比具有更优越的适用性与灵活性。本文针对 Pdots 在生物光学中的应用进行了相关综述。在生物传感应用方面, Pdots 生物传感器已被广泛应用于 NADH 及相关代谢物、葡萄糖、蛋白质、核酸与酶活性的检测, 能够以快速、精准、低成本的方式实现目标分析物的检测, 对于医学诊断中以便捷为特点的即时检测具有重要意义。在生物成像方面, 基于 Pdots 的光学探针可以实现荧光成像、PAI 以及多模态成像, 应用于 NIR- II 窗口的 Pdots 造影剂能够实现更大的穿透深度以及更高的分辨率和 SBR, 实现更高质量的医学成像, 同时其优异的代谢能力可以保证成像过程中的生物安全性。在光

学治疗方面, Pdots 可以作为高效的光热转换剂实现肿瘤 NIR- II PTT, 或者可以作为掺杂光敏剂实现肿瘤靶向 PDT, 或者作为输送免疫治疗药剂的工具实现针对肿瘤区域的光免疫治疗与光免疫代谢治疗, 在提升肿瘤光学治疗精准性的同时降低治疗的副作用, 抑制原发性肿瘤的生长及转移。Pdots 的应用范围非常广并且具有相当优异的诊疗结果, 在生物光学领域极为重要。

在即时检测领域, 市场上的产品存在高度同质化现象, 应用于生物传感的 Pdots 的出现有力推动了即时检测技术的创新与发展。在生物成像与癌症光治疗领域, Pdots 可以弥补现有造影剂及治疗剂靶向性不足的缺陷, 提升成像质量与治疗效果。然而, Pdots 具有的宽发射波长范围限制了 Pdots 在多重检测中的能力, 因此设计具备窄带发射的 Pdots 对于即时检测来说具有重要意义。目前 Pdots 主要处于研发阶段, 距离疾病诊疗的临床应用仍存在一定距离, 在粒径、生物毒性与可降解能力上仍存在提升空间。为了加强 Pdots 相关应用的研究, 该领域未来需要结合以下多个方面进行攻关: 1) 研发可实现规模化生产、环境友好且成本低廉的 Pdots 制备方法; 2) 探索超小粒径以及窄带发射 Pdots 的制备方法, 突破体内研究的生物吸收与代谢问题, 提升 Pdots 的生物光学性能; 3) 优化可由外界信号激发的靶向 Pdots 的功能化策略; 4) 结合 NIR- II 窗口的优势, 进一步探索 Pdots 在这一范围内的生物传感应用; 5) 研发由有机与无机纳米材料混合构成的纳米复合材料, 以便在多模态成像以及协同治疗方面取得新的研究进展; 6) 结合机器学习技术开发 Pdots 在生物光学领域的应用, 快速准确地从背景干扰与庞大的数据中获取可靠的结果, 提升检测的效率及准确性。

### 参 考 文 献

- [1] Tadepalli S, Slocik J M, Gupta M K, et al. Bio-optics and bio-inspired optical materials[J]. Chemical Reviews, 2017, 117(20): 12705-12763.
- [2] Zhang Y, Zhang G P, Zeng Z L, et al. Activatable molecular probes for fluorescence-guided surgery, endoscopy and tissue biopsy[J]. Chemical Society Reviews, 2022, 51(2): 566-593.
- [3] Zhao L F, Zhao C, Zhou J S, et al. Conjugated polymer-based luminescent probes for ratiometric detection of biomolecules[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2022, 10(37): 7309-7327.
- [4] Qiu X, Xu J Y, dos Santos M C, et al. Multiplexed biosensing and bioimaging using lanthanide-based time-gated Förster resonance energy transfer[J]. Accounts of Chemical Research, 2022, 55(4): 551-564.
- [5] Giljohann D A, Mirkin C A. Drivers of biodiagnostic development [J]. Nature, 2009, 462(7272): 461-464.
- [6] Chen Y T, Lee Y C, Lai Y H, et al. Review of integrated optical biosensors for point-of-care applications[J]. Biosensors, 2020, 10(12): 209.
- [7] Holzinger M, le Goff A, Cosnier S. Nanomaterials for biosensing applications: a review[J]. Frontiers in Chemistry, 2014, 2: 63.
- [8] Cavalcante F T T, de A Falcão I R, da S Souza J E, et al. Designing of nanomaterials-based enzymatic biosensors: synthesis, properties, and applications[J]. Electrochem, 2021, 2(1): 149-184.
- [9] Kenry, Duan Y K, Liu B. Recent advances of optical imaging in the second near-infrared window[J]. Advanced Materials, 2018, 30(47): 1802394.
- [10] Haupt K, Rangel P X M, Bui B T S. Molecularly imprinted polymers: antibody mimics for bioimaging and therapy[J]. Chemical Reviews, 2020, 120(17): 9554-9582.
- [11] de Lázaro I, Mooney D J. Obstacles and opportunities in a forward vision for cancer nanomedicine[J]. Nature Materials, 2021, 20(11): 1469-1479.
- [12] Barreto J A, O' Malley W, Kubeil M, et al. Nanomaterials: applications in cancer imaging and therapy[J]. Advanced Materials, 2011, 23(12): H18-H40.
- [13] Resch-Genger U, Grabolle M, Cavaliere-Jaricot S, et al. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels[J]. Nature Methods, 2008, 5(9): 763-775.
- [14] Riahi C, Meares A, Esemoto N N, et al. Hydroporphyrin-doped near-infrared-emitting polymer dots for cellular fluorescence imaging[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(18): 20790-20801.
- [15] Zhang F, Tang B Z. Near-infrared luminescent probes for bioimaging and biosensing[J]. Chemical Science, 2021, 12(10): 3377-3378.
- [16] Wang X W, Zhong X Y, Li J X, et al. Inorganic nanomaterials with rapid clearance for biomedical applications[J]. Chemical Society Reviews, 2021, 50(15): 8669-8742.
- [17] Pei P, Chen Y, Sun C X, et al. X-ray-activated persistent luminescence nanomaterials for NIR-II imaging[J]. Nature Nanotechnology, 2021, 16(9): 1011-1018.
- [18] Zhou J J, Chizhik A I, Chu S, et al. Single-particle spectroscopy for functional nanomaterials[J]. Nature, 2020, 579(7797): 41-50.
- [19] Chung Y H, Cai H, Steinmetz N F. Viral nanoparticles for drug delivery, imaging, immunotherapy, and theranostic applications [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2020, 156: 214-235.
- [20] Wu Y, Ali M R K, Chen K C, et al. Gold nanoparticles in biological optical imaging[J]. Nano Today, 2019, 24: 120-140.
- [21] Meng Z H, Hou W Y, Zhou H, et al. Therapeutic considerations and conjugated polymer-based photosensitizers for photodynamic therapy[J]. Macromolecular Rapid Communications, 2018, 39(5): 1700614.
- [22] Zhuang Y L, Ren X L, Che X T, et al. Organic photoresponsive materials for information storage: a review[J]. Advanced Photonics, 2020, 3(1): 014001.
- [23] de Arquer F P G, Talapin D V, Klimov V I, et al. Semiconductor quantum dots: technological progress and future challenges[J]. Science, 2021, 373(6555): eaaz8541.
- [24] Ni H W, Wang Y L, Tang T, et al. Quantum dots assisted *in vivo* two-photon microscopy with NIR-II emission[J]. Photonics Research, 2022, 10(1): 189-196.
- [25] Liu J J, Li R, Yang B. Carbon dots: a new type of carbon-based nanomaterial with wide applications[J]. ACS Central Science, 2020, 6(12): 2179-2195.
- [26] Chen B, Wang F. Emerging frontiers of upconversion nanoparticles [J]. Trends in Chemistry, 2020, 2(5): 427-439.
- [27] Peng Q, Shuai Z G. Molecular mechanism of aggregation-induced emission[J]. Aggregate, 2021, 2(5): e91.
- [28] Zhang J Y, Zhao X Q, Shen H C, et al. White-light emission from organic aggregates: a review[J]. Advanced Photonics, 2021, 4(1): 014001.
- [29] Mayder D M, Tonge C M, Nguyen G D, et al. Polymer dots with enhanced photostability, quantum yield, and two-photon cross-section using structurally constrained deep-blue fluorophores[J]. Journal of the American Chemical Society, 2021, 143(41): 16976-16992.
- [30] Wu C F, Chiu D T. Highly fluorescent semiconducting polymer dots for biology and medicine[J]. Angewandte Chemie

- International Edition, 2013, 52(11): 3086-3109.
- [31] Massey M, Wu M, Conroy E M, et al. Mind your P's and Q's: the coming of age of semiconducting polymer dots and semiconductor quantum dots in biological applications[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2015, 34: 30-40.
- [32] Chabok A, Shamsipur M, Yeganeh-Faal A, et al. A highly selective semiconducting polymer dots-based "off-on" fluorescent nanoprobe for iron, copper and histidine detection and imaging in living cells[J]. Talanta, 2019, 194: 752-762.
- [33] Shi X M, Mei L P, Wang Q, et al. Energy transfer between semiconducting polymer dots and gold nanoparticles in a photoelectrochemical system: a case application for cathodic bioanalysis[J]. Analytical Chemistry, 2018, 90(7): 4277-4281.
- [34] Kuo S Y, Li H H, Wu P J, et al. Dual colorimetric and fluorescent sensor based on semiconducting polymer dots for ratiometric detection of lead ions in living cells[J]. Analytical Chemistry, 2015, 87(9): 4765-4771.
- [35] Cai L P, Deng L Y, Huang X Y, et al. Catalytic chemiluminescence polymer dots for ultrasensitive *in vivo* imaging of intrinsic reactive oxygen species in mice[J]. Analytical Chemistry, 2018, 90(11): 6929-6935.
- [36] Wang N N, Chen L Z, Chen W W, et al. Potential- and color-resolved electrochemiluminescence of polymer dots for array imaging of multiplex microRNAs[J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(12): 5327-5333.
- [37] Li Q Y, Wang Y L, Yu G P, et al. Fluorescent polymer dots and graphene oxide based nano complexes for off-on detection of metalloproteinase-9[J]. Nanoscale, 2019, 11(43): 20903-20909.
- [38] Peng H S, Chiu D T. Soft fluorescent nanomaterials for biological and biomedical imaging[J]. Chemical Society Reviews, 2015, 44(14): 4699-4722.
- [39] Ong S Y, Zhang C Y, Dong X, et al. Recent advances in polymeric nanoparticles for enhanced fluorescence and photoacoustic imaging[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2021, 60(33): 17797-17809.
- [40] Jiang Y F, Hu Q Z, Chen H B, et al. Dual-mode superresolution imaging using charge transfer dynamics in semiconducting polymer dots[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2020, 59(37): 16173-16180.
- [41] Yin C, Tai X Y, Li X Z, et al. Side chain engineering of semiconducting polymers for improved NIR-II fluorescence imaging and photothermal therapy[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 428: 132098.
- [42] Yuan Y, Hou W Y, Sun Z Z, et al. Measuring cellular uptake of polymer dots for quantitative imaging and photodynamic therapy[J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(18): 7071-7078.
- [43] Zhou W, He X W, Wang J H, et al. Semiconducting polymer nanoparticles for photoactivatable cancer immunotherapy and imaging of immunoactivation[J]. Biomacromolecules, 2022, 23(4): 1490-1504.
- [44] Huang T Y, Jiang W, Duan L. Recent progress in solution processable TADF materials for organic light-emitting diodes[J]. Journal of Materials Chemistry C, 2018, 6(21): 5577-5596.
- [45] Chen X K, Kim D, Brédas J L. Thermally activated delayed fluorescence (TADF) path toward efficient electroluminescence in purely organic materials: molecular level insight[J]. Accounts of Chemical Research, 2018, 51(9): 2215-2224.
- [46] Teng J M, Wang Y F, Chen C F. Recent progress of narrowband TADF emitters and their applications in OLEDs[J]. Journal of Materials Chemistry C, 2020, 8(33): 11340-11353.
- [47] Bryden M A, Zysman-Colman E. Organic thermally activated delayed fluorescence (TADF) compounds used in photocatalysis[J]. Chemical Society Reviews, 2021, 50(13): 7587-7680.
- [48] Wu C F, Peng H S, Jiang Y F, et al. Energy transfer mediated fluorescence from blended conjugated polymer nanoparticles[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2006, 110(29): 14148-14154.
- [49] Lü J X, Wang C F, Zhang X J. Rational construction of a mitochondria-targeted reversible fluorescent probe with intramolecular FRET for ratiometric monitoring sulfur dioxide and formaldehyde[J]. Biosensors, 2022, 12(9): 715.
- [50] Jiang Y Y, Huang J G, Zhen X, et al. A generic approach towards afterglow luminescent nanoparticles for ultrasensitive *in vivo* imaging[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 1-10.
- [51] Wang Y J, Shi L N, Ye Z F, et al. Reactive oxygen correlated chemiluminescent imaging of a semiconducting polymer nanoplatfor for monitoring chemodynamic therapy[J]. Nano Letters, 2020, 20(1): 176-183.
- [52] Su Y C, Walker J R, Park Y, et al. Novel NanoLuc substrates enable bright two-population bioluminescence imaging in animals [J]. Nature Methods, 2020, 17(8): 852-860.
- [53] Richter M M. Electrochemiluminescence (ECL)[J]. ChemInform, 2004, 35(34): 34291.
- [54] Miao Q Q, Xie C, Zhen X, et al. Molecular afterglow imaging with bright, biodegradable polymer nanoparticles[J]. Nature Biotechnology, 2017, 35(11): 1102-1110.
- [55] Xie C, Zhen X, Miao Q Q, et al. Self-assembled semiconducting polymer nanoparticles for ultrasensitive near-infrared afterglow imaging of metastatic tumors[J]. Advanced Materials, 2018, 30(21): 1801331.
- [56] Li M D, Huang X Y, Ren J C. Multicolor chemiluminescent resonance energy-transfer system for *in vivo* high-contrast and targeted imaging[J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(5): 3042-3051.
- [57] Zhen X, Zhang C W, Xie C, et al. Intraparticle energy level alignment of semiconducting polymer nanoparticles to amplify chemiluminescence for ultrasensitive *in vivo* imaging of reactive oxygen species[J]. ACS Nano, 2016, 10(6): 6400-6409.
- [58] Cui D, Li J C, Zhao X H, et al. Semiconducting polymer nanoreporters for near-infrared chemiluminescence imaging of immunoactivation[J]. Advanced Materials, 2020, 32(6): 1906314.
- [59] Yan Y C, Shi P F, Song W L, et al. Chemiluminescence and bioluminescence imaging for biosensing and therapy: *in vitro* and *in vivo* perspectives[J]. Theranostics, 2019, 9(14): 4047-4065.
- [60] He Y, Hu X X, Gong Z J, et al. A novel electrochemiluminescence biosensor based on the self-ECL emission of conjugated polymer dots for lead ion detection[J]. Microchimica Acta, 2020, 187(4): 237.
- [61] Sun F, Wang Z Y, Feng Y Q, et al. Electrochemiluminescent resonance energy transfer of polymer dots for aptasensing[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 100: 28-34.
- [62] Pecher J, Mecking S. Nanoparticles of conjugated polymers[J]. Chemical Reviews, 2010, 110(10): 6260-6279.
- [63] Ghariah A, Khoei S, Mahdavian A R. Emulsion and miniemulsion techniques in preparation of polymer nanoparticles with versatile characteristics[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2019, 269: 152-186.
- [64] He Y Z, Fan X Y, Sun J, et al. Flash nanoprecipitation of ultra-small semiconducting polymer dots with size tunability[J]. Chemical Communications, 2020, 56(17): 2594-2597.
- [65] Kietzke T, Neher D, Landfester K, et al. Novel approaches to polymer blends based on polymer nanoparticles[J]. Nature Materials, 2003, 2(6): 408-412.
- [66] Li K, Liu B. Polymer encapsulated conjugated polymer nanoparticles for fluorescence bioimaging[J]. Journal of Materials Chemistry, 2012, 22(4): 1257-1264.
- [67] Wu C F, Jin Y H, Schneider T, et al. Ultrabright and bioorthogonal labeling of cellular targets using semiconducting polymer dots and click chemistry[J]. Angewandte Chemie, 2010, 122(49): 9626-9630.
- [68] Verma M, Chan Y H, Saha S, et al. Recent developments in semiconducting polymer dots for analytical detection and NIR-II fluorescence imaging[J]. ACS Applied Bio Materials, 2021, 4(3): 2142-2159.

- [69] Wu C F, Schneider T, Zeigler M, et al. Bioconjugation of ultrabright semiconducting polymer dots for specific cellular targeting[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(43): 15410-15417.
- [70] Wu C F, Hansen S J, Hou Q, et al. Design of highly emissive polymer dot bioconjugates for *in vivo* tumor targeting[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2011, 50(15): 3430-3434.
- [71] Wu C F, Szymanski C, McNeill J. Preparation and encapsulation of highly fluorescent conjugated polymer nanoparticles[J]. *Langmuir*, 2006, 22(7): 2956-2960.
- [72] Eggeling C, Widengren J, Rigler R, et al. Photobleaching of fluorescent dyes under conditions used for single-molecule detection: evidence of two-step photolysis[J]. *Analytical Chemistry*, 1998, 70(13): 2651-2659.
- [73] Fernando L P, Kandel P K, Yu J B, et al. Mechanism of cellular uptake of highly fluorescent conjugated polymer nanoparticles[J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(10): 2675-2682.
- [74] Li K, Pan J, Feng S S, et al. Generic strategy of preparing fluorescent conjugated-polymer-loaded poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles for targeted cell imaging[J]. *Advanced Functional Materials*, 2009, 19(22): 3535-3542.
- [75] Ow H, Larson D R, Srivastava M, et al. Bright and stable core-shell fluorescent silica nanoparticles[J]. *Nano Letters*, 2005, 5(1): 113-117.
- [76] Wang L, Yang C Y, Tan W H. Dual-luminophore-doped silica nanoparticles for multiplexed signaling[J]. *Nano Letters*, 2005, 5(1): 37-43.
- [77] Li K, Liu Y T, Pu K Y, et al. Polyhedral oligomeric silsesquioxanes-containing conjugated polymer loaded PLGA nanoparticles with trastuzumab (herceptin) functionalization for HER2-positive cancer cell detection[J]. *Advanced Functional Materials*, 2011, 21(2): 287-294.
- [78] Howes P, Green M, Bowers A, et al. Magnetic conjugated polymer nanoparticles as bimodal imaging agents[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(28): 9833-9842.
- [79] Howes P, Green M, Levitt J, et al. Phospholipid encapsulated semiconducting polymer nanoparticles: their use in cell imaging and protein attachment[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(11): 3989-3996.
- [80] Zhang X J, Yu J B, Wu C F, et al. Importance of having low-density functional groups for generating high-performance semiconducting polymer dots[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(6): 5429-5439.
- [81] Yu J B, Wu C F, Zhang X J, et al. Stable functionalization of small semiconducting polymer dots via covalent cross-linking and their application for specific cellular imaging[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(26): 3498-3504.
- [82] Chen H B, Zhou H, Men X J, et al. Light-induced PEGylation and functionalization of semiconductor polymer dots[J]. *ChemNanoMat*, 2017, 3(10): 755-759.
- [83] Yang L F, Canaveras J C G, Chen Z H, et al. Serine catabolism feeds NADH when respiration is impaired[J]. *Cell Metabolism*, 2020, 31(4): 809-821.
- [84] Covarrubias A J, Perrone R, Grozio A, et al. NAD<sup>+</sup> metabolism and its roles in cellular processes during ageing[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2021, 22(2): 119-141.
- [85] Luongo T S, Eller J M, Lu M J, et al. SLC25A51 is a mammalian mitochondrial NAD<sup>+</sup> transporter[J]. *Nature*, 2020, 588(7836): 174-179.
- [86] Zaremba M, Dakineviciene D, Golovinas E, et al. Short prokaryotic Argonautes provide defence against incoming mobile genetic elements through NAD<sup>+</sup> depletion[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(11): 1857-1869.
- [87] Chen H B, Yu J B, Men X X, et al. Reversible ratiometric NADH sensing using semiconducting polymer dots[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(21): 12007-12012.
- [88] Chen H B, Yu J B, Zhang J C, et al. Monitoring metabolites using an NAD(P)H-sensitive polymer dot and a metabolite-specific enzyme[J]. *Angewandte Chemie*, 2021, 60(35): 19331-19336.
- [89] Sun K, Tang Y, Li Q, et al. *In vivo* dynamic monitoring of small molecules with implantable polymer-dot transducer[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(7): 6769-6781.
- [90] Sun K, Yang Y K, Zhou H, et al. Ultrabright polymer-dot transducer enabled wireless glucose monitoring via a smartphone [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(6): 5176-5184.
- [91] Sun K, Ding Z Y, Zhang J C, et al. Enhancing the long-term stability of a polymer dot glucose transducer by using an enzymatic cascade reaction system[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2021, 10(4): 2001019.
- [92] Sun K, Liu S Y, Liu J, et al. Improving the accuracy of Pdot-based continuous glucose monitoring by using external ratiometric calibration[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(4): 2359-2366.
- [93] Liu J, Fang X F, Zhang Z, et al. Long-term *in vivo* glucose monitoring by polymer-dot transducer in an injectable hydrogel implant[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(4): 2195-2203.
- [94] He S J, Song B, Li D, et al. A graphene nanoprobe for rapid, sensitive, and multicolor fluorescent DNA analysis[J]. *Advanced Functional Materials*, 2010, 20(3): 453-459.
- [95] Ren X S, Xu Q H. Label-free DNA sequence detection with enhanced sensitivity and selectivity using cationic conjugated polymers and PicoGreen[J]. *Langmuir*, 2009, 25(1): 43-47.
- [96] Bao B Q, Ma M F, Zai H F, et al. Conjugated polymer nanoparticles for label-free and bioconjugate-recognized DNA sensing in serum[J]. *Advanced Science*, 2015, 2(3): 1400009.
- [97] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [98] Luo J H, Li Q, Chen S H, et al. Coreactant-free dual amplified electrochemiluminescent biosensor based on conjugated polymer dots for the ultrasensitive detection of microRNA[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(30): 27363-27370.
- [99] Liu D, Zhang X L, Zhao J W, et al. An ultrasensitive sensing platform for microRNA-155 based on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> quenched hydroxide-dependent ECL emission of PFO Pdots[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 150: 111872.
- [100] Zhang N, Gao H, Jia Y L, et al. Ultrasensitive nucleic acid assay based on AIE-active polymer dots with excellent electrochemiluminescence stability[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(17): 6857-6864.
- [101] Fang C C, Chou C C, Yang Y Q, et al. Multiplexed detection of tumor markers with multicolor polymer dot-based immunochromatography test strip[J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(3): 2134-2140.
- [102] Yang Y Q, Yang Y C, Liu M H, et al. FRET-created traffic light immunoassay based on polymer dots for PSA detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(1): 1493-1501.
- [103] You P Y, Li F C, Liu M H, et al. Colorimetric and fluorescent dual-mode immunoassay based on plasmon-enhanced fluorescence of polymer dots for detection of PSA in whole blood[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(10): 9841-9849.
- [104] Yang Y C, Liu M H, Yang S M, et al. Bimodal multiplexed detection of tumor markers in non-small cell lung cancer with polymer dot-based immunoassay[J]. *ACS Sensors*, 2021, 6(11): 4255-4264.
- [105] Yang W Q, Zhang G Y, Weng W, et al. Signal on fluorescence biosensor for MMP-2 based on FRET between semiconducting polymer dots and a metal organic framework[J]. *RSC Advances*, 2014, 4(102): 58852-58857.
- [106] Sun J Y, Mei H, Wang S F, et al. Two-photon semiconducting polymer dots with dual-emission for ratiometric fluorescent sensing and bioimaging of tyrosinase activity[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(14): 7372-7377.
- [107] Tian Z Y, Yu J B, Wu C F, et al. Amplified energy transfer in

- conjugated polymer nanoparticle tags and sensors[J]. *Nanoscale*, 2010, 2(10): 1999-2011.
- [108] Yu J B, Rong Y, Kuo C T, et al. Recent advances in the development of highly luminescent semiconducting polymer dots and nanoparticles for biological imaging and medicine[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(1): 42-56.
- [109] Stevens A L, Kaeser A, Schenning A P H J, et al. Morphology-dependent energy transfer dynamics in fluorene-based amphiphilic nanoparticles[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(6): 4777-4787.
- [110] Jiang Y Y, Pu K Y. Molecular fluorescence and photoacoustic imaging in the second near-infrared optical window using organic contrast agents[J]. *Advanced Biosystems*, 2018, 2(5): 1700262.
- [111] Hong G S, Antaris A L, Dai H J. Near-infrared fluorophores for biomedical imaging[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1(1): 1-22.
- [112] Zhang R R, Schroeder A B, Grudzinski J J, et al. Beyond the margins: real-time detection of cancer using targeted fluorophores [J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2017, 14(6): 347-364.
- [113] Desmettre T, Devoisselle J M, Mordon S. Fluorescence properties and metabolic features of indocyanine green (ICG) as related to angiography[J]. *Survey of Ophthalmology*, 2000, 45(1): 15-27.
- [114] Levitus M, Ranjit S. Cyanine dyes in biophysical research: the photophysics of polymethine fluorescent dyes in biomolecular environments[J]. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 2011, 44(1): 123-151.
- [115] Altinoğlu E I, Russin T J, Kaiser J M, et al. Near-infrared emitting fluorophore-doped calcium phosphate nanoparticles for *in vivo* imaging of human breast cancer[J]. *ACS Nano*, 2008, 2(10): 2075-2084.
- [116] Xiong L Q, Shuhendler A J, Rao J H. Self-luminescing BRET-FRET near-infrared dots for *in vivo* lymph-node mapping and tumour imaging[J]. *Nature Communications*, 2012, 3(1): 1-9.
- [117] Men X J, Geng X R, Zhang Z, et al. Biomimetic semiconducting polymer dots for highly specific NIR-II fluorescence imaging of glioma[J]. *Materials Today Bio*, 2022, 16: 100383.
- [118] Liu Y, Liu J F, Chen D D, et al. Fluorination enhances NIR-II fluorescence of polymer dots for quantitative brain tumor imaging [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(47): 21049-21057.
- [119] Zhang Z, Yuan Y, Liu Z H, et al. Brightness enhancement of near-infrared semiconducting polymer dots for *in vivo* whole-body cell tracking in deep organs[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(32): 26928-26935.
- [120] Xiong L Q, Guo Y X, Zhang Y M, et al. Highly luminescent and photostable near-infrared fluorescent polymer dots for long-term tumor cell tracking *in vivo*[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, 4(2): 202-206.
- [121] Feng G X, Liu J, Liu R R, et al. Ultrasmall conjugated polymer nanoparticles with high specificity for targeted cancer cell imaging [J]. *Advanced Science*, 2017, 4(9): 1600407.
- [122] Liu Y, Liu J F, Chen D D, et al. Quinoxaline-based semiconducting polymer dots for *in vivo* NIR-II fluorescence imaging[J]. *Macromolecules*, 2019, 52(15): 5735-5740.
- [123] Mayder D M, Christopherson C J, Primrose W L, et al. Polymer dots and glassy organic dots using dibenzodipyridophenazine dyes as water-dispersible TADF probes for cellular imaging[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2022, 10(34): 6496-6506.
- [124] Paisley N R, Halldorson S V, Tran M V, et al. Near-infrared-emitting boron-difluoride-curcuminoid-based polymers exhibiting thermally activated delayed fluorescence as biological imaging probes[J]. *Angewandte Chemie*, 2021, 60(34): 18630-18638.
- [125] Hsu K F, Su S P, Lu H F, et al. TADF-based NIR-II semiconducting polymer dots for *in vivo* 3D bone imaging[J]. *Chemical Science*, 2022, 13(34): 10074-10081.
- [126] Kim H M, Cho B R. Small-molecule two-photon probes for bioimaging applications[J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(11): 5014-5055.
- [127] Miao Q Q, Pu K Y. Organic semiconducting agents for deep-tissue molecular imaging: second near-infrared fluorescence, self-luminescence, and photoacoustics[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(49): 1801778.
- [128] Li J C, Rao J H, Pu K Y. Recent progress on semiconducting polymer nanoparticles for molecular imaging and cancer phototherapy[J]. *Biomaterials*, 2018, 155: 217-235.
- [129] Pu K Y, Shuhendler A J, Jokerst J V, et al. Semiconducting polymer nanoparticles as photoacoustic molecular imaging probes in living mice[J]. *Nature Nanotechnology*, 2014, 9(3): 233-239.
- [130] Chen H B, Yuan Z, Wu C F. Nanoparticle probes for structural and functional photoacoustic molecular tomography[J]. *BioMed Research International*, 2015, 2015: 757101.
- [131] Zhen X, Pu K Y, Jiang X Q. Photoacoustic imaging and photothermal therapy of semiconducting polymer nanoparticles: signal amplification and second near-infrared construction[J]. *Small*, 2021, 17(6): 2004723.
- [132] Chen H B, Zhang J, Chang K W, et al. Highly absorbing multispectral near-infrared polymer nanoparticles from one conjugated backbone for photoacoustic imaging and photothermal therapy[J]. *Biomaterials*, 2017, 144: 42-52.
- [133] Guo B, Sheng Z H, Hu D H, et al. Molecular engineering of conjugated polymers for biocompatible organic nanoparticles with highly efficient photoacoustic and photothermal performance in cancer theranostics[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(10): 10124-10134.
- [134] Lü Y, Fang Y, Miao Q Q, et al. Intraparticle molecular orbital engineering of semiconducting polymer nanoparticles as amplified theranostics for *in vivo* photoacoustic imaging and photothermal therapy[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(4): 4472-4481.
- [135] Zhen X, Feng X H, Xie C, et al. Surface engineering of semiconducting polymer nanoparticles for amplified photoacoustic imaging[J]. *Biomaterials*, 2017, 127: 97-106.
- [136] Duan Y K, Xu Y, Mao D, et al. Photoacoustic and magnetic resonance imaging bimodal contrast agent displaying amplified photoacoustic signal[J]. *Small*, 2018, 14(42): 1800652.
- [137] Jiang Y Y, Upputuri P K, Xie C, et al. Broadband absorbing semiconducting polymer nanoparticles for photoacoustic imaging in second near-infrared window[J]. *Nano Letters*, 2017, 17(8): 4964-4969.
- [138] Wu J, You L Y, Lan L, et al. Semiconducting polymer nanoparticles for centimeters-deep photoacoustic imaging in the second near-infrared window[J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(41): 1703403.
- [139] Guo B, Sheng Z H, Kenry, et al. Biocompatible conjugated polymer nanoparticles for highly efficient photoacoustic imaging of orthotopic brain tumors in the second near-infrared window[J]. *Materials Horizons*, 2017, 4(6): 1151-1156.
- [140] Guo B, Chen J Q, Chen N B, et al. High-resolution 3D NIR-II photoacoustic imaging of cerebral and tumor vasculatures using conjugated polymer nanoparticles as contrast agent[J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(25): 1808355.
- [141] Jiang Y Y, Upputuri P K, Xie C, et al. Metabolizable semiconducting polymer nanoparticles for second near-infrared photoacoustic imaging[J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(11): 1808166.
- [142] Men X J, Yuan Z. Multifunctional conjugated polymer nanoparticles for photoacoustic-based multimodal imaging and cancer photothermal therapy[J]. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2019, 12(3): 1930001.
- [143] Yu N Y, Zhao L Z, Cheng D L, et al. Radioactive organic semiconducting polymer nanoparticles for multimodal cancer theranostics[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2022, 619: 219-228.
- [144] Xie C, Zhou W, Zeng Z L, et al. Grafted semiconducting polymer amphiphiles for multimodal optical imaging and combination phototherapy[J]. *Chemical Science*, 2020, 11(39): 10553-10570.



- [145] Jiang Y Y, Pu K Y. Multimodal biophotonics of semiconducting polymer nanoparticles[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2018, 51(8): 1840-1849.
- [146] Lü Y, Zhen X, Miao Y S, et al. Reaction-based semiconducting polymer nanoprobe for photoacoustic imaging of protein sulfenic acids[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(1): 358-367.
- [147] Hashim Z, Green M, Chung P H, et al. Gd-containing conjugated polymer nanoparticles: bimodal nanoparticles for fluorescence and MRI imaging[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(14): 8376-8386.
- [148] Sun W, Hayden S, Jin Y H, et al. A versatile method for generating semiconducting polymer dot nanocomposites[J]. *Nanoscale*, 2012, 4(22): 7246-7249.
- [149] Duan Y K, Wu M, Hu D H, et al. Biomimetic nanocomposites cloaked with bioorthogonally labeled glioblastoma cell membrane for targeted multimodal imaging of brain tumors[J]. *Advanced Functional Materials*, 2020, 30(38): 2004346.
- [150] Batrakova E V, Gendelman H E, Kabanov A V. Cell-mediated drug delivery[J]. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2011, 8(4): 415-433.
- [151] Quail D F, Joyce J A. The microenvironmental landscape of brain tumors[J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(3): 326-341.
- [152] Tian Q W, Hu J Q, Zhu Y H, et al. Sub-10 nm Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Cu<sub>2-x</sub>S core-shell nanoparticles for dual-modal imaging and photothermal therapy[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(23): 8571-8577.
- [153] Hu X M, Tang Y F, Hu Y X, et al. Gadolinium-chelated conjugated polymer-based nanotheranostics for photoacoustic/magnetic resonance/NIR-II fluorescence imaging-guided cancer photothermal therapy[J]. *Theranostics*, 2019, 9(14): 4168-4181.
- [154] Huang X H, El-Sayed I H, Qian W, et al. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(6): 2115-2120.
- [155] Wei Z W, Xin F L, Zhang J, et al. Donor-acceptor conjugated polymer-based nanoparticles for highly effective photoacoustic imaging and photothermal therapy in the NIR-II window[J]. *Chemical Communications*, 2020, 56(7): 1093-1096.
- [156] Song X J, Liang C, Gong H, et al. Photosensitizer-conjugated albumin-polypyrrole nanoparticles for imaging-guided *in vivo* photodynamic/photothermal therapy[J]. *Small*, 2015, 11(32): 3932-3941.
- [157] Kim S, Tachikawa T, Fujitsuka M, et al. Far-red fluorescence probe for monitoring singlet oxygen during photodynamic therapy [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(33): 11707-11715.
- [158] Skovsen E, Snyder J W, Lambert J D C, et al. Lifetime and diffusion of singlet oxygen in a cell[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2005, 109(18): 8570-8573.
- [159] Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age[J]. *Nature*, 2011, 480(7378): 480-489.
- [160] Rosenberg S A, Yang J C, Restifo N P. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines[J]. *Nature Medicine*, 2004, 10(9): 909-915.
- [161] Li J C, Pu K Y. Development of organic semiconducting materials for deep-tissue optical imaging, phototherapy and photoactivation [J]. *Chemical Society Reviews*, 2019, 48(1): 38-71.
- [162] Zhang C, Pu K Y. Molecular and nanoengineering approaches towards activatable cancer immunotherapy[J]. *Chemical Society Reviews*, 2020, 49(13): 4234-4253.
- [163] Dolmans D E J G J, Fukumura D, Jain R K. Photodynamic therapy for cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2003, 3(5): 380-387.
- [164] Yang T, Liu L, Deng Y B, et al. Ultrastable near-infrared conjugated-polymer nanoparticles for dually photoactive tumor inhibition[J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(31): 1700487.
- [165] Hong G S, Diao S, Chang J L, et al. Through-skull fluorescence imaging of the brain in a new near-infrared window[J]. *Nature Photonics*, 2014, 8(9): 723-730.
- [166] Robinson J T, Hong G S, Liang Y Y, et al. *In vivo* fluorescence imaging in the second near-infrared window with long circulating carbon nanotubes capable of ultrahigh tumor uptake[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(25): 10664-10669.
- [167] Jiang Y Y, Li J C, Zhen X, et al. Dual-peak absorbing semiconducting copolymer nanoparticles for first and second near-infrared window photothermal therapy: a comparative study[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(14): 1705980.
- [168] Li X Z, Liu L, Li S L, et al. Biodegradable  $\pi$ -conjugated oligomer nanoparticles with high photothermal conversion efficiency for cancer theranostics[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(11): 12901-12911.
- [169] Lü Y, Zeng J F, Jiang Y Y, et al. Enhancing both biodegradability and efficacy of semiconducting polymer nanoparticles for photoacoustic imaging and photothermal therapy[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(2): 1801-1810.
- [170] Yang Y Q, Fan X X, Li L, et al. Semiconducting polymer nanoparticles as theranostic system for near-infrared-II fluorescence imaging and photothermal therapy under safe laser fluence[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(2): 2509-2521.
- [171] Zhang W S, Deng W X, Zhang H, et al. Bioorthogonal-targeted 1064 nm excitation theranostic nanoplatfor for precise NIR-IIa fluorescence imaging guided efficient NIR-II photothermal therapy [J]. *Biomaterials*, 2020, 243: 119934.
- [172] Zhang J F, Chen J, Ren J K, et al. Biocompatible semiconducting polymer nanoparticles as robust photoacoustic and photothermal agents revealing the effects of chemical structure on high photothermal conversion efficiency[J]. *Biomaterials*, 2018, 181: 92-102.
- [173] Bao B Q, Tong L, Xu Y, et al. Mussel-inspired functionalization of semiconducting polymer nanoparticles for amplified photoacoustic imaging and photothermal therapy[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(31): 14727-14733.
- [174] Guo B, Sheng Z H, Hu D H, et al. Through scalp and skull NIR-II photothermal therapy of deep orthotopic brain tumors with precise photoacoustic imaging guidance[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(35): 1802591.
- [175] Hu X M, Lu F, Chen L, et al. Perylene diimide-grafted polymeric nanoparticles chelated with Gd<sup>3+</sup> for photoacoustic/T<sub>1</sub>-weighted magnetic resonance imaging-guided photothermal therapy[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(36): 30458-30469.
- [176] Abrahamse H, Hamblin M R. New photosensitizers for photodynamic therapy[J]. *The Biochemical Journal*, 2016, 473(4): 347-364.
- [177] Mitra K, Shettar A, Kondaiah P, et al. Biotinylated platinum(II) ferrocenylterpyridine complexes for targeted photoinduced cytotoxicity[J]. *Inorganic Chemistry*, 2016, 55(11): 5612-5622.
- [178] Zhao J Z, Wu W H, Sun J F, et al. Triplet photosensitizers: from molecular design to applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42(12): 5323-5351.
- [179] Zeng L L, Gupta P, Chen Y L, et al. The development of anticancer ruthenium(II) complexes: from single molecule compounds to nanomaterials[J]. *Chemical Society Reviews*, 2017, 46(19): 5771-5804.
- [180] Shi H F, Ma X, Zhao Q, et al. Ultrasmall phosphorescent polymer dots for ratiometric oxygen sensing and photodynamic cancer therapy[J]. *Advanced Functional Materials*, 2014, 24(30): 4823-4830.
- [181] Haupt S, Lazar I, Weitman H, et al. Pdots, a new type of nanoparticle, bind to mTHPC via their lipid modified surface and exhibit very high FRET efficiency between the core and the sensitizer[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics: PCCP*, 2015, 17(17): 11412-11422.
- [182] Tang Y, Chen H B, Chang K W, et al. Photo-cross-linkable polymer dots with stable sensitizer loading and amplified singlet oxygen generation for photodynamic therapy[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(4): 3419-3431.

- [183] Xu C, Pu K Y. Second near-infrared photothermal materials for combinational nanotheranostics[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50(2): 1111-1137.
- [184] Huang H C, Pigula M, Fang Y Y, et al. Immobilization of photo-immunoconjugates on nanoparticles leads to enhanced light-activated biological effects[J]. *Small*, 2018, 14(31): 1800236.
- [185] Cheng H W, Fan X S, Ye E Y, et al. Dual tumor microenvironment remodeling by glucose-contained radical copolymer for MRI-guided photoimmunotherapy[J]. *Advanced Materials*, 2022, 34(25): 2107674.
- [186] Li J C, Yu X R, Jiang Y Y, et al. Second near-infrared photothermal semiconducting polymer nanoadjuvant for enhanced cancer immunotherapy[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(4): 2003458.
- [187] Jiang Y Y, Huang J G, Xu C, et al. Activatable polymer nanoagonist for second near-infrared photothermal immunotherapy of cancer[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 1-14.
- [188] Xu C, Jiang Y Y, Huang J S, et al. Second near-infrared light-activatable polymeric nanoantagonist for photothermal immunometabolic cancer therapy[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(36): 2101410.
- [189] Koelwyn G J, Zhuang X Q, Tammela T, et al. Exercise and immunometabolic regulation in cancer[J]. *Nature Metabolism*, 2020, 2(9): 849-857.
- [190] McKinney E F, Smith K G C. Metabolic exhaustion in infection, cancer and autoimmunity[J]. *Nature Immunology*, 2018, 19(3): 213-221.
- [191] Liu Y J, Lu Y, Zhu X H, et al. Tumor microenvironment-responsive prodrug nanoplatform *via* co-self-assembly of photothermal agent and IDO inhibitor for enhanced tumor penetration and cancer immunotherapy[J]. *Biomaterials*, 2020, 242: 119933.
- [192] Wang M, Song J, Zhou F F, et al. NIR-triggered phototherapy and immunotherapy via an antigen-capturing nanoplatform for metastatic cancer treatment[J]. *Advanced Science*, 2019, 6(10): 1802157.
- [193] Zeng Z L, Zhang C, Li J C, et al. Activatable polymer nanoenzymes for photodynamic immunometabolic cancer therapy [J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(4): 2007247.

## Organic Polymer Dots and Their Bio-Optical Applications

Deng Sile, Chen Haobin\*

*Department of Biomedical Engineering, School of Basic Medical Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China*

### Abstract

**Significance** In recent years, there has been significant progress in the development and application of nanomaterials in the field of bio-optics. These advancements have led to benefits for medical diagnosis and treatment, such as biosensing, bioimaging, cell tracking, and phototherapy. Nanomaterials possess unique properties that allow for advances in targeting, precision, resolution, real-time and non-invasive detection for bio-optical applications. Among a large number of luminescent nanomaterials, organic semiconducting polymer dots (Pdots) have attracted extensive attention due to their large absorption cross sections, high brightness, stable photostability, excellent biocompatibility, and tunable spectra. Compared to traditional luminescent dyes, which have weak photostability, low brightness, and short lifetime, Pdots have smaller sizes and higher photophysical properties, which contribute to better conversion efficiency and detection results.

Pdots have been widely used in the bio-optical field, including in biosensing, bioimaging, and phototherapy applications, which are of great significance for point-of-care testing, *in vivo* imaging, and tumor therapy. Point-of-care testing based on biosensing technology enables the specific and rapid detection of analytes, which contain significant physiological information. This promotes patient self-management of health. The outstanding sensitivity, response time, selectivity, and reversibility of Pdots make it possible to ensure the convenience and speed of detection while maintaining the same accuracy as laboratory testing. Apart from biosensing, bioimaging technology realizes the visualization of internal structure of organisms and achieves functional imaging for significant medical signals, offering accurate and reliable information for disease diagnosis and treatment. Pdots used as optical probes usually provide near-infrared imaging, which has deeper penetration and lower background interference compared to conventional contrast agents. More importantly, the excellent specificity and tumor targeting capabilities of Pdots enable more effective medical images for *in vivo* tumor imaging. With their multimodal imaging ability, Pdots have been applied in the field of multimodal imaging, serving as fluorescent probes while giving other imaging signals such as photoacoustic imaging (PAI), magnetic resonance imaging, or computed tomography, which simultaneously provide location and physiological signals of the detection region. In addition, cancer phototherapy depends on energy transfer to damage or kill the tumor cells while avoiding damage to normal tissue, including photothermal therapy (PTT), photodynamic therapy (PDT), and photoimmunotherapy. Traditional therapeutic agents have limited therapeutic efficacy and are prone to cause damage to normal tissue. In contrast, Pdots possess the ability to be easily modified and have high conversion efficiency, resulting in enhanced tumor targeting and smoother drug delivery to the tumor area, which can improve treatment results.

The numerous advantages of Pdots make them suitable for bio-optical applications in complex physiological environments, which are highly valuable in biomedical research. Pdots have become one of the crucial materials for biosensing, bioimaging, and optical therapy, aiding in the diagnosis and treatment of diseases, especially in cancer treatment.

**Progress** The luminescence mechanisms of Pdots are summarized, including fluorescence, phosphorescence, and thermally

activated delayed fluorescence (Fig. 2). Moreover, this section presents the properties and methods of preparation, modification, and functionalization of Pdots, which are fundamental to their bio-optical applications as specific functional groups enhance the performance of Pdots and extend their range of applications (Fig. 3). Firstly, the biosensing applications of Pdots are introduced to demonstrate their potential in the field of point-of-care testing. NADH-sensitive Pdots bound to specific enzymes were used to detect the concentration of metabolites oxidized by  $\text{NAD}^+$  or reduced by NADH, including phenylalanine (Fig. 4), lactate, and glutamate. Similarly, oxygen-sensitive Pdots were coupled with glucose oxidase to achieve blood glucose concentration detection for diabetic self-management (Fig. 5). Different modification and functionalization strategies of Pdots enable diverse biosensing applications, including nucleic acids (Fig. 6), tumor markers (Fig. 7) and enzyme activity (Fig. 8). Subsequently, the bioimaging applications of Pdots are presented to show the advantages of Pdots-based probes compared to traditional dyes. Pdots as fluorescence probes ensured *in vivo* tumor imaging and vascular imaging of mice with a higher signal-to-background ratio and penetration depth (Fig. 9). Pdots-based contrast agents have been successfully applied in PAI for brain tumor imaging, thanks to their efficient metabolizable capacity and excellent biocompatibility (Fig. 10). Furthermore, Pdots that emitted fluorescent and photoacoustic signals have combined fluorescence imaging with PAI to yield dual-modal imaging. Similar principles were extended to other multimodal imaging (Fig. 11). Finally, phototherapy applications demonstrate the capability of Pdots in cancer treatment. Pdots-based PTT agents provided high photothermal conversion efficiency and biosafety to accomplish accurate and effective treatment (Fig. 12). The extraordinary energy transfer efficiency and tumor targeting capability of Pdots compensated for the shortcomings of conventional photosensitizers, resulting in inhibited tumor growth in mice (Fig. 13). In addition, the use of photoimmunotherapy agents in combination with Pdots enhanced the immune response in the tumor area which suppressed tumor growth and metastasis (Fig. 14).

**Conclusions and Prospects** Pdots have been widely used in bio-optical applications such as biosensing, bioimaging, and optical therapeutics. The excellent properties of Pdots allow them to be applied to a wide range of subjects and environments with good results in detection and treatment. In the future, Pdots can be further enhanced in terms of preparation and functionalization, and combined with emerging technologies to achieve intelligent detection and treatment.

**Key words** bio-optics; biosensors; biological imaging; phototherapy; organic semiconductor; polymer dots