

聚集诱导发光分子探针的设计及在细胞器成像中的应用

翟 哲, 刘雷静, 田文晶

(吉林大学超分子结构与材料国家重点实验室, 长春 130012)

摘要 对细胞器及其微环境的时空动态分析是理解细胞生命活动的关键. 传统荧光染料存在高浓度猝灭及光稳定性差等局限, 难以满足长时程、高信噪比的活细胞成像需求; 基于此, 聚集诱导发光(Aggregation-induced emission, AIE)材料被开发并展现出独特优势. 本文系统总结了AIE分子探针的设计策略及其在线粒体、溶酶体、脂滴、细胞膜、细胞核、内质网和高尔基体等细胞器成像方面的应用, 分析了超分辨成像、近红外AIE探针的分子设计、跨物种成像、逻辑响应和毒性评估等方面所面临的挑战, 并展望了AIE分子探针细胞器成像的未来发展.

关键词 聚集诱导发光; 分子探针; 细胞器成像

中图分类号 O621.2; O625

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20260078

Molecular Design of Aggregation-induced Emission Probes and Their Applications in Organelle Imaging

ZHAI Zhe, LIU Leijing*, TIAN Wenjing*

(State Key Laboratory of Supramolecular Structure and Materials, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract The spatio-temporal analysis of organelles and their microenvironments is pivotal to understanding cellular life processes. Conventional fluorescent dyes suffer from limitations such as quenching at high concentrations and poor photostability, rendering them unsuitable for long-term, high signal-to-noise ratio live-cell imaging. Aggregation-induced emission (AIE) materials have emerged to address these challenges, demonstrating unique advantages. This paper systematically summarises design strategies for AIE molecular probes and their imaging applications in organelles including mitochondria, lysosomes, lipid droplets, cell membranes, nuclei, endoplasmic reticulum, and Golgi apparatus. It identifies challenges in super-resolution imaging, molecular design of near-infrared AIE probes, cross-species imaging, logic response, and toxicity assessment, while outlining future directions for organelle imaging with AIE molecular probes.

Keywords Aggregation-induced emission; Molecular probe; Organelle imaging

细胞作为生命活动的基本结构和功能单位, 其内部生理过程高度依赖于线粒体、溶酶体、脂滴、细胞核、内质网和高尔基体等细胞器间的精准协同作用^[1-4]. 这些细胞器不仅执行新陈代谢、生物大分子合成和信息传递等基础生物学功能, 更通过构建独特的物理化学微环境(如pH值、黏度、极性和氧化还原水平)来调控细胞的生命活动^[5,6]. 研究表明, 细胞器的形态畸变、功能紊乱或微环境稳态的失衡, 往往是恶性肿瘤、神经退行性疾病及代谢性疾病等重大疾病的诱发因素与早期表征^[2,7-9]. 因此, 开发

收稿日期: 2026-02-10. 网络首发日期: 2026-04-01.

联系人简介: 刘雷静, 女, 博士, 教授, 主要从事有机高分子光电功能材料结构和性质方面的研究. E-mail: liuleijing@jlu.edu.cn

田文晶, 女, 博士, 教授, 主要从事有机高分子材料光电功能方面的研究. E-mail: wjtian@jlu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 22275065)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.22275065).

具备高时空分辨率、高灵敏度且能实时监测的成像技术,对于在细胞水平揭示生命本质、实现疾病早期诊断及筛选候选药物具有重要意义。

在众多生物成像技术中,荧光成像凭借其高灵敏度、非侵入性、操作简便及可实现多色成像等优势,已成为生命科学研究中最常用的成像手段之一^[10]。衡量成像质量的一个重要标准是信噪比(Signal-to-noise ratio, SNR),即探针特异性结合到目标(如特定细胞器、靶点)后所发出的有效荧光强度与背景荧光的比值。高质量荧光成像的实现依赖于高性能的荧光探针。然而,传统的有机荧光染料(如荧光素、罗丹明和花菁类衍生物等)在稀溶液中表现出优异的发光性能,但在高浓度或聚集状态下,常因分子平面刚性结构导致分子间的强烈 π - π 堆积相互作用,发生非辐射能量衰变,引发严重的聚集导致荧光猝灭效应,这种现象被称为“聚集导致猝灭”(Aggregation-caused quenching, ACQ)^[11]。ACQ效应成为传统荧光探针在细胞器成像中的一大限制:为了获得高信噪比的图像,探针往往需要富集在特定的区域内,但高局部浓度反而导致荧光减弱甚至消失。此外,传统荧光染料在长时间的激光照射下容易发生光漂白,难以满足对细胞器的动态过程进行长时程追踪的需求。

2001年, Tang等^[12]发现了一类独特的发光现象:某些噻咯类衍生物在稀溶液中几乎不发光,而在聚集状态或固态下却发出强烈的荧光。这种与ACQ截然相反的光物理现象被称作“聚集诱导发光”(Aggregation-induced emission, AIE)。机理研究表明, AIE分子的转子结构在分散状态下可以自由旋转或振动,通过非辐射跃迁消耗激发态能量;而在聚集状态下,由于空间位阻作用,分子内运动受限(Restriction of intramolecular motion, RIM),非辐射衰变通道被阻断,从而通过辐射跃迁释放能量,产生强荧光^[13]。

AIE特性的发现为解决传统细胞成像中的瓶颈问题提供了革命性的方案。AIE材料具有“越聚越亮”的特性,这使其在目标区域特异性富集时不仅不会发生猝灭,反而会增强荧光信号;结合其在游离状态下极低的背景荧光,可以实现高信噪比成像^[14-24]。此外, AIE材料在聚集态下优异的抗光漂白能力,保障了长时间、连续动态观测的稳定性,非常适合研究细胞器的动态过程^[25-27]。

因此,基于AIE材料的荧光探针在细胞器成像领域展现出巨大的应用潜力和独特的优势,已成为当前生物成像和材料科学交叉领域的研究热点。本文系统总结了近年来AIE材料在细胞器成像中的最新研究进展。首先,简述AIE荧光探针分子的设计策略;随后,重点阐述靶向线粒体、溶酶体、脂滴、细胞膜、细胞核、内质网及高尔基体等不同细胞器的各类特异性AIE探针分子的设计、传感机制及其在生理病理过程监测中的应用;最后,讨论了当前研究在超分辨成像、分子设计、跨物种成像、逻辑响应和毒性评估等方面面临的挑战,并对AIE分子探针未来的发展进行了展望,以为相关领域的研究人员提供有益的参考与启示。

1 AIE探针的设计及对细胞器的成像

大多数细胞器靶向探针遵循经典的“荧光团-连接臂-靶向基团”模块化设计策略(图1)。在AIE分子探针的设计中,需要保证探针分子在溶解状态(胞质溶胶或培养基中)保持以非辐射跃迁为主的激发态能量耗散途径,使其不发光或只有微弱荧光;当探针特异性结合靶标或富集于特定细胞器后,受限于空间位阻、环境黏度等因素,分子内运动受限,辐射跃迁通道打开,从而实现高信噪比的“开启式”成像。



Fig. 1 AIE probe design strategy

供体-受体(Donor-acceptor, D-A)结构是荧光探针设计的基石. 首先, 通过在共轭体系中引入给电子基团(Donor)和吸电子基团(Acceptor), 可以改变最高占据分子轨道(Highest occupied molecular orbital, HOMO)和最低未占据分子轨道(Lowest unoccupied molecular orbital, LUMO)之间的能级差, 从而实现光谱红移, 若将探针的发射波长红移至近红外(Near-Infrared, NIR)发射, 可以突破生物组织穿透深度的限制并有效抑制背景自荧光干扰, 常见的给电子基团有三苯胺、甲氧基和氨基等, 吸电子基团有氰基、吡啶基/吡啶盐和苯并噻二唑等. 其次, D-A结构可以增大斯托克斯位移(Large Stokes shift, LSS). 较小的斯托克斯位移(Stokes shift, <30 nm)容易导致激发光与发射光光谱重叠严重, 引起自吸收效应(Self-absorption effect), 且在成像时难以滤除激发光的散射背景. D-A结构通过分子内电荷转移(Intramolecular charge transfer, ICT)机制在激发态下使电子从供体部分转移至受体部分, 此时分子偶极矩相对于基态有明显变化, 随后溶剂弛豫过程会极大地稳定这一高极性激发态, 使得发射光子的能量远低于吸收光子, 产生大斯托克斯位移, 实现高信噪比成像; 同时, D-A结构能够缩小单线态与三线态能隙(ΔE_{st}), 促进系间窜越(Intersystem crossing, ISC)过程, 高效生成活性氧(Reactive oxygen species, ROS)以实现光动力治疗(Photodynamic therapy, PDT)^[28]. 这种独特的分子设计策略, 使得探针分子能够同时兼顾深层成像与PDT协同抗肿瘤治疗, 完美契合了诊疗一体化的需求.

下面重点阐述靶向线粒体、溶酶体、脂滴、细胞膜、细胞核、内质网及高尔基体等不同细胞器的各类特异性靶向AIE探针分子的设计与成像、超分辨成像、传感及在生理病理过程监测和诊疗中的应用.

1.1 线粒体靶向探针

线粒体不仅是细胞的能量代谢中心, 还是细胞内多种信号传导通路的枢纽^[29-31]. 除了能量代谢, 线粒体在维持钙离子稳态^[32]、ROS产生与清除^[33]及细胞凋亡调控^[34]中发挥着核心作用. 大量研究表明, 线粒体的形态异常或功能障碍与多种病理过程密切相关, 包括神经退行性疾病(如阿尔茨海默症)、心血管疾病、代谢紊乱及癌症的发生与转移^[35-38]. 因此, 对线粒体进行高保真、实时的成像监测, 对于理解相关疾病的发病机制及药物筛选具有极其重要的意义.

线粒体拥有双层膜结构和很高的负膜电位(-180 mV)^[39]. 常见的靶向策略是在AIE母核上引入亲水性阳离子, 如三苯基磷盐(TPP)、吡啶鎓、喹啉鎓和季铵盐, 探针凭借这些基团能在负电位驱动下在线粒体中富集.

在线粒体成像方面, Teng等^[40]合成了一系列含有四嗪的四苯乙烯(Tetraphenylethylene, TPE)探针[图2(A)], 其核心结构是四嗪单元直接或通过 π 桥(如乙烯基、噻吩基和苯环等)连接到TPE的苯环上, 四嗪单元通过跨键能量转移(Through Bond Energy Transfer, TBET)机制, 将TPE的激发态能量转移至自身, 使TPE的荧光与AIE特性被完全猝灭, 即使探针聚集也无信号. 然后利用三苯基磷(TPP)的线粒体靶向特性, 合成了BCN-TPP探针(BCN为应变炔烃双环[6.1.0]壬炔, 是生物正交反应的关键配对基团). 成像时, 先使BCN-TPP预先靶向线粒体, 然后TPE探针的四嗪基团与BCN发生逆电子需求狄尔斯-阿尔德(iEDDA)反应, 四嗪转化为哒嗪, 荧光猝灭消失, 实现荧光“开启”. 该探针同时利用了AIE和TBET这两种机制降低未靶向线粒体时的荧光, 实现了高信噪比的线粒体成像.

但正电性的线粒体探针在与线粒体结合时, 往往会改变线粒体膜的电性, 干扰线粒体的微环境, 不适合长时间成像. 为此, Devarajan等^[41]以三苯胺(Triphenylamine, TPA)和丙烯腈为核心, 引入吩噻嗪(Phenothiazine, PTZ)形成供体-受体- π -供体(D-A- π -D)分子结构, 构建了中性探针F2[图2(B)]. 在MCF-7乳腺癌细胞中, F2与商用线粒体特异性染料罗丹明123(Rhodamine 123)共孵育后, 两者的皮尔逊相关系数高达0.987. F2无显著正电荷基团, 不会因线粒体负膜电位驱动的静电吸附强行积累, 却能通过中性分子的膜通透性, 自然渗透至线粒体基质. 这是因为TPA的螺旋桨状结构和PTZ的蝶形三环杂芳烃均为强疏水基团, 而线粒体膜的成分是磷脂双分子层(疏水尾部朝向膜内侧). F2通过疏水单元与膜内侧疏水区域的范德华力和疏水相互作用, 实现对线粒体膜的优先吸附与嵌入, 减少在细胞质中的非特异性扩散. 由于F2不会改变线粒体膜电位, 因此可以实现长达数天的线粒体形态动态追踪. 然而, 中性探针虽然生物相容性好, 但由于没有电荷驱动, 需要染色近1 h才能定位线粒体, 并且这种

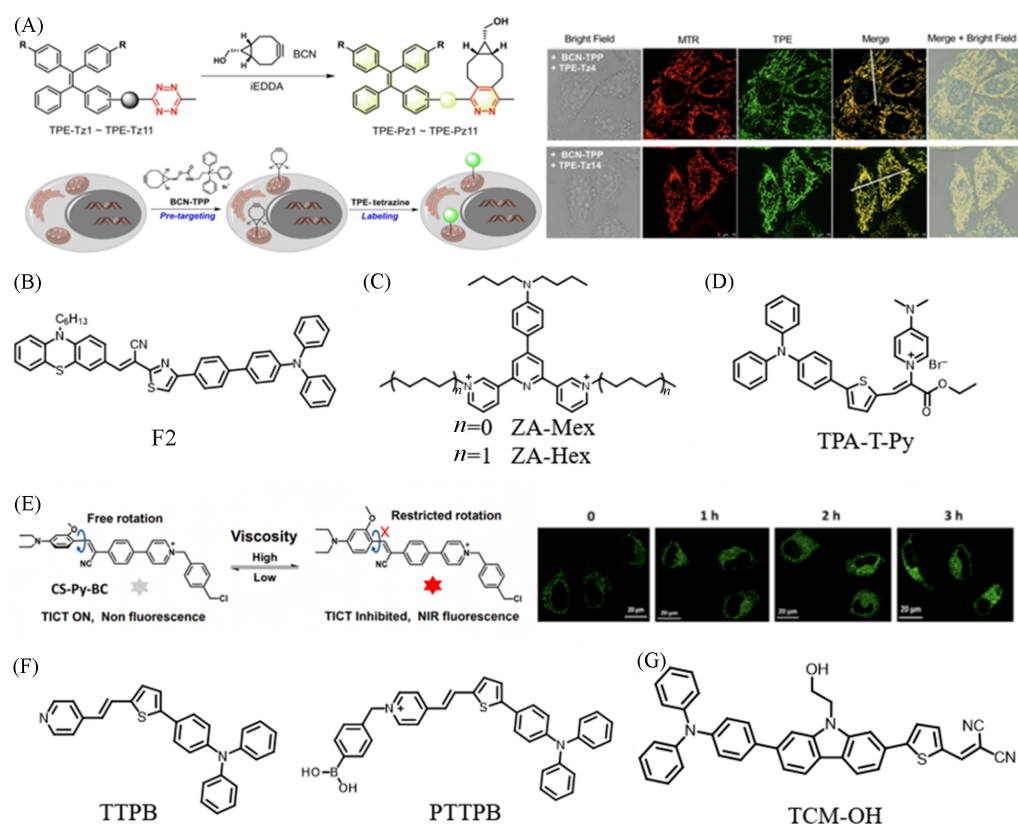


Fig. 2 Chemical structures, fluorescence imaging and response mechanism of mitochondria-targeted AIE probes

(A) Synthesis of pyridazine cycloadducts TPE-Pz1—TPE-Pz11, schematic diagram of the bio-orthogonal imaging of mitochondria in live HeLa cells and cell imaging of HeLa cells co-incubated with BCN-TPP and TPE-Tz^[40]; (B—D) Chemical structures of F1 (B), ZA, ZA-Mex and ZA-Hex (C) and TPA-T-Py (D); (E) illustration of real-time monitoring of mitophagy using the Probe CS-Py-BC in cells and fluorescence images of HeLa cells co-incubated with CS-Py-BC (5 $\mu\text{mol/L}$)^[45]; (F) chemical structures of TTPB and PTPPB; (G) chemical structure of TCM-OH.

(A) Copyright 2022, the Royal Society of Chemistry; (E) copyright 2021, American Chemical Society.

策略是否通用还有待验证,而且如何保证高选择性也是一个挑战.

多光子荧光寿命成像显微镜 (Fluorescence lifetime imaging microscopy, FLIM) 被认为是传统荧光成像的优良替代技术,它能有效消除短寿命背景荧光,并提供高信噪比的荧光图像^[42]. Wang等^[43]设计合成了3种D-A构型三联吡啶衍生物(ZA、ZA-Mex和ZA-Hex)[图2(C)],探针以三联吡啶衍生物为核心骨架,引入4-二丁氨基苯甲醛基团,其富电子特性可增强分子内电荷转移(Intramolecular Charge Transfer, ICT)效率,提升非线性光学响应(多光子吸收能力).以三联吡啶环为受体单元,其氮原子通过质子化或不同长度烷基链的烷基化修饰,调控分子亲疏水性、电荷特性、细胞器靶向性及激发态寿命.研究发现,通过延长烷基链可以增强ICT,从而赋予探针优异的三光子AIE特性.该探针能够凭借吡啶鎓的正电性特异性累积在线粒体中,利用FLIM技术,在不同pH值下均能稳定工作.

在线粒体相关的疾病检测方面,传统的线粒体内特定离子检测多采用“单钥匙-锁”设计策略,在转运过程中可能因非目标位点存在一定浓度的生物标志物而被非特异性解锁,检测准确性受影响;“双钥匙-锁”型探针基于双因素协同刺激机制设计而成,能够大幅提升在复杂生物环境中的检测准确性. Li等^[44]提出了一种新颖的“双钥匙-锁”检测策略,TPA-T-Py的分子结构[图2(D)]中含带正电的吡啶鎓基团和具有 π 电子的噻吩基团,而 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 作为带负电的阴离子通过静电相互作用($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的负电荷可与TPA-T-Py吡啶鎓基团的正电荷结合)和配位作用($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 中的硫原子可与 Ag^+ 形成配位键,同时TPA-T-Py噻吩基团的 π 电子也可与 Ag^+ 形成 σ 键),促使TPA-T-Py分子大量聚集从而增强荧光发射,成功实现细胞内线粒体中 Ag^+ 与 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的成像检测. Wang等^[45]开发出了线粒体近红外AIE黏度探针CS-Py-BC

[图2(E)], 实现了线粒体自噬过程中黏度变化的实时监测. CS-Py-BC以氰基二苯乙烯为骨架, 通过在骨架上引入二乙胺、甲氧基(D)和吡啶阳离子(A), 构建D- π -A电子结构, 使荧光发射红移至650 nm近红外区. 引入的吡啶鎓基团与线粒体负膜电位的静电相互作用, 实现线粒体特异性定位, 苄基氯基团通过与线粒体肽和蛋白质中的活性巯基发生亲核取代反应, 使探针稳定固定于线粒体上, 使其不受膜电位波动影响. 在低黏度环境中, 分子内键自由旋转使探针处于扭曲分子内电荷转移(Twisted intramolecular charge transfer, TICT)状态, 激发态非辐射衰减导致荧光减弱; 在高黏度环境中, 分子旋转受限, TICT被抑制, 分子共轭增强, 荧光显著增强. 在细胞内线粒体黏度监测应用中, 借助CS-Py-BC实现了对线粒体功能异常及自噬过程中黏度变化的精准监测.

在以线粒体为靶点的诊疗方面, Li等^[46]设计了AIE光敏剂TTPB[图2(F)], TTPB采用三苯胺(D)和吡啶鎓(A)的D-A共轭结构, D-A结构的强推拉电子效应缩小了 ΔE_{st} , 促进ISC, 高效生成 1O_2 , 可用于光动力治疗. 然后将TTPB与聚多巴胺(Polydopamine, PDA)结合在一起构建了PTTPB复合纳米材料. PDA含大量邻苯二酚、氨基等官能团, 可通过 π - π 堆积、氢键等作用与TTPB结合, 作为载体提高了TTPB在水中的分散性. 该材料不仅能通过苯硼酸基团结合癌细胞膜表面过表达的唾液酸(Sialic acid, SA)以增强摄取, 还能凭借吡啶鎓的正电荷精准靶向线粒体. 在光照下, 它能产生单线态氧进行PDT, 同时利用聚多巴胺的光热效应, 实现了PDT与光热治疗(Photothermal therapy, PTT)的协同抗癌. Wang等^[47]同样选择非平面螺旋结构的TPA, 并且引入咪唑为电子供体, 氰基和吡啶鎓为电子受体, 噻吩单元作为柔性连接链, 构建了D-D- π -A结构的I型线粒体靶向光敏剂TCM-OH[图2(G)]. D-D- π -A结构促进了ICT和ISC, 有利于ROS的生成. 将该光敏剂用两亲性聚合物DSPE-PEG_{2k}包裹形成纳米颗粒TCM-OH NPs, 以提升生物相容性和稳定性, 能够在Hela细胞中高效靶向线粒体. TCM-OH NPs还能在光照下在线粒体内原位产生超氧阴离子和羟基自由基, 触发“凋亡-铁死亡”协同死亡通路, 有效克服了肿瘤缺氧环境的限制, 首次实现了“线粒体靶向I型PDT”与“凋亡-铁死亡协同”的结合, 突破了缺氧肿瘤的治疗瓶颈.

1.2 溶酶体靶向探针

溶酶体(Lysosomes)是一种具有单层膜结构的细胞器, 被形象地称为细胞的“回收中心”和“消化系统”^[48]. 溶酶体内部的pH值被严格维持在4.5~5.0之间, 与其周围pH值约为7.2的细胞质环境形成显著的质子浓度梯度, 这种酸性环境是维持溶酶体内酸性水解酶活性的必要条件^[49,50]. 溶酶体不仅负责细胞内的物质降解与循环利用, 更是细胞自噬过程的终端. 因此, 利用高特异性的荧光探针实时监测溶酶体的动态融合过程及降解能力, 对于深入解析细胞代谢调控机制具有重要意义.

对于荧光探针设计而言, 这种独特的低pH值环境提供了理想的靶向切入点. 溶酶体靶向探针大多通过引入嗜酸性基团, 如氨基和咪唑等碱性基团, 利用质子化效应在酸性环境下实现特异性的细胞器富集或荧光开启.

Uvarov等^[51]将环楞胺(1,4,7,10-四氮杂环十二烷)引入BODIPY骨架, 设计了水溶性AIE染料AM-BODIPY[图3(A)]. 环楞胺的空间结构可破坏硼二吡咯亚甲基(Boron-dipyrromethene, BODIPY)分子的平面 π -共轭性, 抑制分子间 π - π 堆积; 同时, 环楞胺的氨基可通过空间位阻限制BODIPY母核的分子内运动, 减少非辐射跃迁, 最终在聚集态实现“荧光开启(turn-on)”. 环楞胺在细胞质的中性环境(pH=7.4)中仅部分质子化, 分子整体仍保持适度亲脂性, 可通过被动扩散穿透细胞膜进入细胞内部. 当探针扩散至溶酶体内部(pH \leq 5)时, 环楞胺的氨基被进一步质子化, 质子化后的探针极性显著增强, 无法再穿透溶酶体膜返回细胞质; 带正电荷的铵盐还可与溶酶体膜内侧带负电荷的基团(如磷脂酰丝氨酸的羧基)形成静电相互作用, 进一步锚定在溶酶体内部, 实现靶向富集. Su等^[52]借助咪唑基团锚定溶酶体, 设计了一种基于TBET机制与AIE双传感机制的比率型双光子粘度荧光探针Vis-sun[图3(B)]. Vis-sun以香豆素衍生物为能量供体、喹啉衍生物为能量受体, 通过苯基键连接构建TBET体系, 实现了485 nm与605 nm双发射峰的基线分离, 核心AIE单元为喹啉衍生物, 其比率信号和AIE特性克服了自噬过程中背景信号的干扰和微环境波动对荧光强度的影响, 提高了自噬监测准

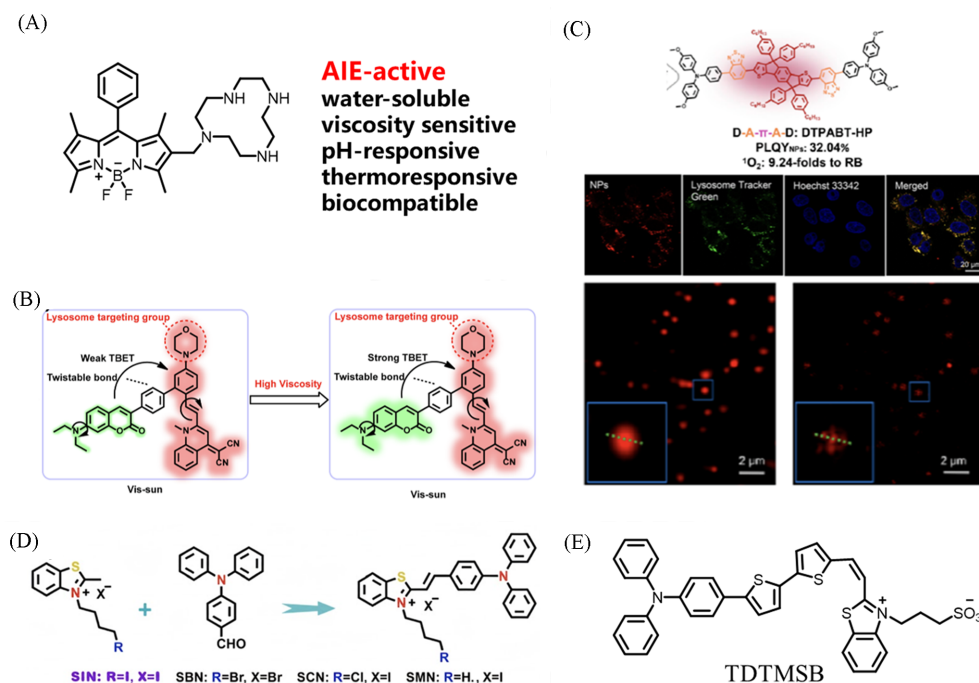


Fig. 3 Chemical structures and fluorescence imaging of lysosome-targeted AIE probes

(A) Chemical structure of AM-BODIPY; (B) chemical structure and response mechanism of the probe Vis-sun^[52]; (C) chemical structure of DTPABT-HP and fluorescence images of DTPABT-HP NPs stained HeLa cells captured by CLSM and STED nanoscopy^[53]; (D) chemical structures of SIN, SBN, SCN and SMN; (E) chemical structure of TDTMSB.

(B) Copyright 2022, American Chemical Society; (C) copyright 2024, American Chemical Society.

确性并支持生物靶点的无创传感与长期实时示踪成像。并且, Vis-sun可以监测溶酶体的黏度变化,在氧糖剥夺/复氧(OGD/R)细胞模型与小鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)中风模型中, Vis-sun可监测中风过程中炎症诱导的自噬,证明炎症反应诱导自噬并导致溶酶体黏度升高。该探针在小鼠体内生物相容性优异,脑组织成像深度可达175 μm ,为脑卒中及其诱导自噬的研究提供了高效的双光子荧光成像工具,在自噬动态监测与相关疾病的机制研究中具有重要应用价值。

针对超分辨成像需求, Wang等^[53]设计了DTPABT-HP探针[图3(C)]. 该探针以三苯胺为电子供体(D), 苯并噻二唑为电子受体(A), 通过引入吡啶并二噻吩(IDT)作为 π 共轭桥, π 桥侧链链接苯基, 有效避免强 π - π 相互作用, 避免聚集态下的荧光猝灭, 构建了D-A- π -A-D结构, 其纳米颗粒(Nanoparticles, NPs)呈600~850 nm红移发射。苯基修饰使分子的自旋轨道耦合(Spin-orbit coupling, SOC)常数从DTPABT-H的0.057 cm^{-1} 提升至0.139 cm^{-1} , 同时降低 ΔE_{st} , 加速单线态激发态向三线态转化, 最终使¹O₂产率达到玫瑰红(Rose bengal, RB)的9.24倍, 同时可产生羟基自由基($\cdot\text{OH}$)。在细胞实验中, DTPABT-HP NPs借助TPA的碱性和细胞的内吞作用, 能靶向溶酶体且在光照下展现剂量依赖性光毒性; 借助受激发射损耗(Stimulated Emission Depletion Microscopy, STED)纳米显微镜, 可实现溶酶体和微管的超高分辨率成像(分辨率低至102 nm), 并清晰捕捉PDT过程中溶酶体的动态结构变化。该研究首次实现了单一AIE材料同时用于STED超高分辨率成像与PDT, 为多功能光诊疗试剂设计及光诊疗机制研究提供了重要参考, 具有显著的应用价值。

在诊疗方面, Pan等^[54]将苯并噻唑(A)与三苯胺(D)结合, 构建了D-A结构的一系列AIE溶酶体探针, 其中SIN为代表性分子[图3(D)]. BZT-TPA母核HOMO和LUMO能级差仅2.34 eV, 更易被激发。并且该分子对黏度高度敏感, 在高黏度环境下荧光增强, 光照生成¹O₂, 能够杀伤癌细胞。Ma等^[55]将苯并噻唑和两性磺酸盐(A)通过噻吩桥与三苯胺(D)连接, 构建了D- π -A结构, 制备了具备近红外II区长发射(860 nm)的TDTMSB[图3(E)], 其能特异性识别肿瘤细胞溶酶体, 实现了NIR I/II荧光成像、光声成像与光热成像的多模态成像。

1.3 脂滴靶向探针

长期以来,脂滴(Lipid droplets, LDs)一直被单纯地视为细胞内的能量储存库,然而随着细胞生物学研究的深入,这一认知已被彻底颠覆.现代观点认为,脂滴是一种高度动态、功能复杂的细胞器,被誉为细胞内的“脂质代谢枢纽”^[56].它们由疏水性的中性脂核心(其主要成分为三酰甘油和胆固醇酯),以及包裹其外的磷脂单分子层和表面蛋白^[57]构成.脂滴不仅通过参与脂解和脂质的生成来调控细胞内的能量稳态,还参与膜转运、蛋白质降解及信号传导等关键生理过程,能与内质网、线粒体、溶酶体等多种细胞器进行频繁的物理接触和物质交换^[58].

脂滴最显著的结构特征在于其独特的“油/水”界面和高度疏水的内部环境.作为细胞内唯一的单层膜细胞器,脂滴内部充斥着高浓度的中性脂质,这造就了其与细胞质截然不同的低极性和高黏度微环境^[56].这种特殊的理化性质为AIE荧光探针的设计提供了良好的靶向设计思路:利用“相似相溶”原理,构建具有适宜亲脂性的AIE分子,使其能够自发穿过亲水的细胞质并特异性累积于脂滴核心.此外,脂滴内部的高黏度环境能够有效限制AIE分子的分子内旋转或振动,从而阻断非辐射跃迁途径,极大地增强了荧光量子产率.基于此机制设计的AIE探针,不仅能以极高的信噪比实现脂滴成像,往往还能作为微环境传感器,实时反馈脂滴内部的极性 or 黏度波动.

Guo等^[59]利用TPA的给电子性能和螺旋桨状空间结构,在BODIPY的 α 位引入TPA单元,构建了NIR的AIE材料TPAB[图4(A)].该分子自组装形成的纳米粒子(TPAB NPs)具有大的斯托克斯位移和双光子吸收特性.TPAB NPs可特异性靶向脂滴,双光子成像结果表明其适用于深层样本观测,离体小鼠肝组织成像可清晰重建脂滴3D分布,活体斑马鱼成像中荧光集中于富含脂质的卵黄囊且无生物毒性.Su等^[60]设计了一款靶向脂滴的NIR AIE探针LD-920[图4(B)],该探针在喹啉的2,3位连接两个4-(二甲氨基)苯基(D)与6位连接的苯甲酰基(A),通过可旋转C—C单键与喹啉核心连接,形成向不同方向延伸的“螺旋桨状”结构,通过苯甲酰基团与丙二腈反应引入双氰亚甲基双光子吸收单元,实现了725 nm波长发射和优异的双光子吸收性能,在波长920 nm的光激发下,双光子吸收截面达

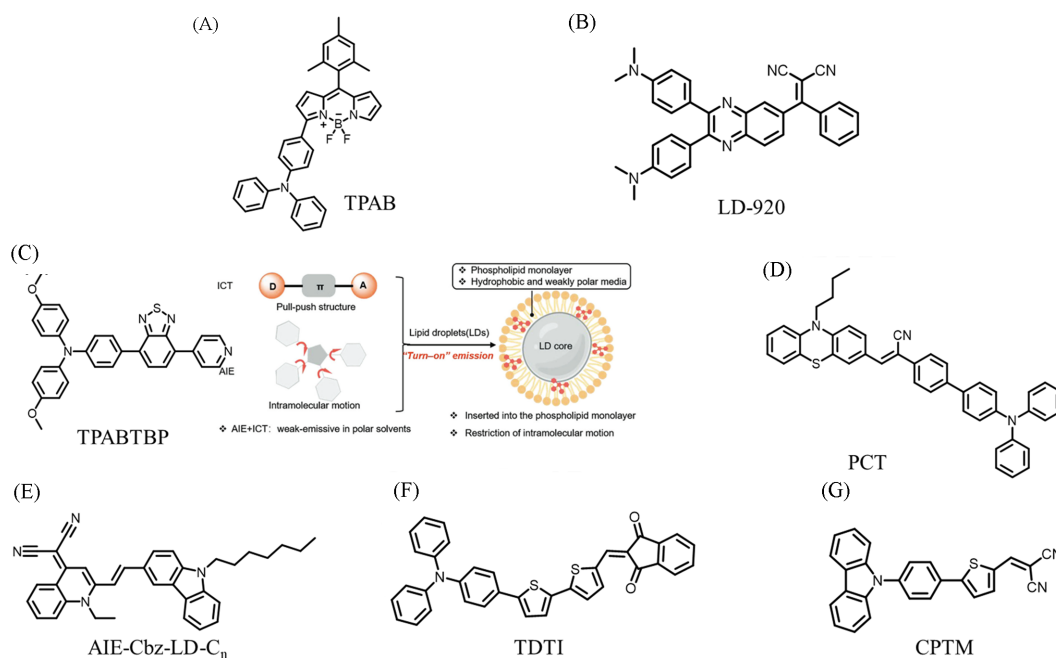


Fig. 4 Chemical structures of lipid-targeted AIE probes

(A) Chemical structure of TPAB; (B) chemical structure of LD-920; (C) chemical structure and the design strategy of TPABTBP and its photophysical properties^[61]; (D) chemical structure of PCT; (E) chemical structure of AIE-Cbz-LD-C_n; (F) chemical structure of TDTI; (G) chemical structure of CPTM.

(C) Copyright 2024, Wiley-VCH GmbH.

112 GM, 白光照射下可高效生成 ROS. 并且 LD-920 细胞毒性极低(100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下细胞存活率近 100%), 光稳定性突出, 单光子(488 nm 激发)和双光子(1000 nm 激发)模式下连续扫描 15 min, 荧光强度分别保持近 100% 和下降低于 5%.

在超分辨成像方面, Wang 等^[61]开发的 TPABTBP 探针[图 4(C)]能特异性定位在脂滴的磷脂单分子层膜上. 该探针通过苯环等共轭单元连接给体单元三苯胺(D)与受体单元苯并噻二唑-吡啶(A), 延长分子共轭链, 调控荧光发射波长, 增强分子脂溶性($\lg P=7.16$), 构建典型 D- π -A 结构. TPABTBP 探针的 SIM 成像的衍射极限可低至 61 nm, 能够捕捉到传统共聚焦显微镜无法分辨的脂滴细微形态差异. 该探针精准靶向 LD 磷脂单分子层, 揭示了在再灌注早期脂滴积累增加, 而在晚期通过脂噬作用减少的动态规律, 指出抑制脂滴分解可减轻脂质过氧化.

在疾病监测方面, Lei 等^[62]设计了一种具有双态发射特性的分子 PCT[图 4(D)]. 该分子采用 D- π (A)-D' 结构, 主电子给体(D)是吩噻嗪, 次级电子给体(D')是三苯胺, 电子受体(A)为氰基, 双键连接的苯环为 π 共轭桥. 通过吩噻嗪与三苯胺的空间位阻差异, 使 PCT 分子呈现高度扭曲的三维构象. 这种构象既避免了聚集时分子间的紧密 π - π 堆积, 又通过 π 共轭桥维持了电子离域能力, 保证发光效率, 最终实现了“稀溶液与固态均高效发光”——稀溶液中量子产率达 52.3%, 固态量子产率达 74.6%. 利用其亲脂性($\lg P=2.53$)特异性靶向活细胞中的脂滴, 并用于监测细胞饥饿期间脂滴被消耗的过程. Chen 等^[63]设计了一系列的 AIE 探针 AIE-Cbz-LD-C_n[图 4(E)]: 喹啉-丙二腈提供 AIE 特性, 吡啶的疏水性可以增强探针与脂滴中性脂质核心的亲和力, 然后通过调整烷基链长度/结构, 优化探针的脂溶性($\lg P$)和 AIE 效应强度, 实现脂滴靶向. 在该系列探针中, C₁(甲基)链长过短, 疏水性不足, 脂滴靶向性弱; 中等链长的 C₃(丙基)、C₅(戊基)和 C₇(庚基)疏水性适中($\lg P$ 更高), 可精准聚集于脂滴内, 共定位系数分别达 0.90、0.96 和 0.92, 且 AIE 效应强, C_{OMe}[2-(2-甲氧基乙氧基)乙烷]含亲水性醚链, 疏水性下降, 脂滴靶向性减弱. 其中 AIE-Cbz-LD-C₇ 被成功用于揭示脂噬过程: 在铁死亡发生时, 不仅观察到脂滴与溶酶体的相互作用, 还捕捉到内质网区域新生脂滴数量显著增加的现象.

在诊疗方面, Pei 等^[64]报道了双功能探针 TDTI[图 4(F)]. 该探针以 TPA 为电子给体, 1,3-茚满二酮为电子受体, 通过二噻吩乙烯作为扩展 π 桥构建 D- π -A 结构, 降低 ΔE_{st} , 促进 ROS 生成, 同时延长发射波长以减少生物组织自发荧光的干扰. TDTI 通过 TPA 和二噻吩乙烯的疏水单元协同作用, 使探针的 $\lg P$ 值达 9.41, 具备强脂溶性, 可快速富集于脂滴, 能以高信噪比点亮脂滴, 凭借癌细胞与正常细胞脂滴含量差异区分 A549、HeLa、HepG2 等癌细胞与 TM3、MPC5、LO2 等正常细胞, 实现癌症诊断; 还能在白光照射下快速产生 ROS(60 s 内达到平衡), 诱导 HeLa 细胞凋亡, 实现了脂滴成像引导下的精准 PDT. 并且 TDTI 光稳定性突出, 连续激光扫描 15 min(30 次)荧光强度无显著变化, 可动态追踪活细胞内的脂滴运动, 在 3 日龄斑马鱼模型中能特异性标记卵黄囊区域的脂滴. 针对瓣膜性心脏病中脂质沉积的问题, Zhuang 等^[65]制备了推拉电子结构的探针 CPTM[图 4(G)]. CPTM 采用苯基咪唑为电子供体, 其分子扭曲结构可抑制 π - π 堆积, 减少荧光猝灭, 提升光稳定性; 引入噻吩环为 π 桥, 延长分子共轭体系, 扩大斯托克斯位移(减少自吸收干扰), 同时增强分子脂溶性, 为靶向脂质环境奠定基础; 丙二腈为电子受体, 与供体形成了显著的电子推拉作用, 使分子在不同极性环境中发生电荷分布变化, 进而调控荧光发射特性. 由于 TICT 效应, 该探针在水相(600 nm)和油相(508 nm)中呈现显著的颜色切换. 利用这一特性, 在人瓣膜间质细胞和病变主动脉瓣膜中实现了脂滴的高特异性成像.

1.4 细胞膜靶向探针

细胞膜(Cell Membrane), 又称质膜, 它不仅是一道简单的物理屏障, 将细胞内部复杂的生化反应环境与外界隔离开来, 更是细胞维持稳态, 细胞与外界进行物质交换和信息交流的“门户”^[66,67]. 细胞膜的主要成分包含蛋白质、脂质(磷脂和胆固醇)及来自糖蛋白和糖脂的碳水化合物残基^[68]. 细胞膜不仅能阻止有毒物质进入细胞, 还能促进物质跨膜运输, 包括调控代谢过程的酶, 并在细胞信号传导与通讯中发挥关键作用.

如何让探针分子只停在膜上而不透膜是细胞膜探针设计时面临的最主要问题, 通常的设计策略是

两亲性设计: 亲水头常用磺酸基($-\text{SO}_3^-$)、季铵盐($-\text{N}^+\text{R}_3$)或聚乙二醇(Polyethylene glycol, 简称 PEG)链, 这部分露在膜外的水相中, 防止分子完全进入细胞; 疏水尾通常为 AIE 母核或疏水烷基链, 这部分插入脂质双分子层中因运动受限而发光. 有时会将 AIE 分子与大分子(如壳聚糖、多肽)或大位阻基团偶联, 利用位阻效应阻止其被细胞内吞. 并且, 细胞膜整体上表现为负电性, 利用电荷作用锚定细胞膜也是常见的策略.

Zhang 等^[69]设计了香豆素-TPE 结合的探针, 该荧光探针[Probe A, 图 5(A)]通过 α, β -不饱和酮(查尔酮)将香豆素染料与 TPE 衍生物连接. TPE 提供 AIE 特性, 在疏水环境中限制了分子内旋转, 增强荧光; 香豆素增强探针与细胞膜的亲和力, 并辅助双发射形成. 该探针在纯 THF 中于 470 nm 处单发射, 随水含量的升高呈现 AIE 效应, 在 95% 水相下于 591 nm 处出现新的发射峰. 该探针虽然未依赖传统探针的亲水性两性离子头部与疏水性脂肪族尾部结构, 但由于分子整体的疏水性, 直接通过疏水相互作用与细胞膜结合. 实验证明, 即使无长疏水链, 探针仍能在细胞膜上实现长滞留性, 且避免了长链带来的细胞毒性.

针对膜探针容易被内吞的问题, Zhang 等^[70]提出了“抗渗透”策略[图 5(B)]: 在 AIE 分子(TPA)上引

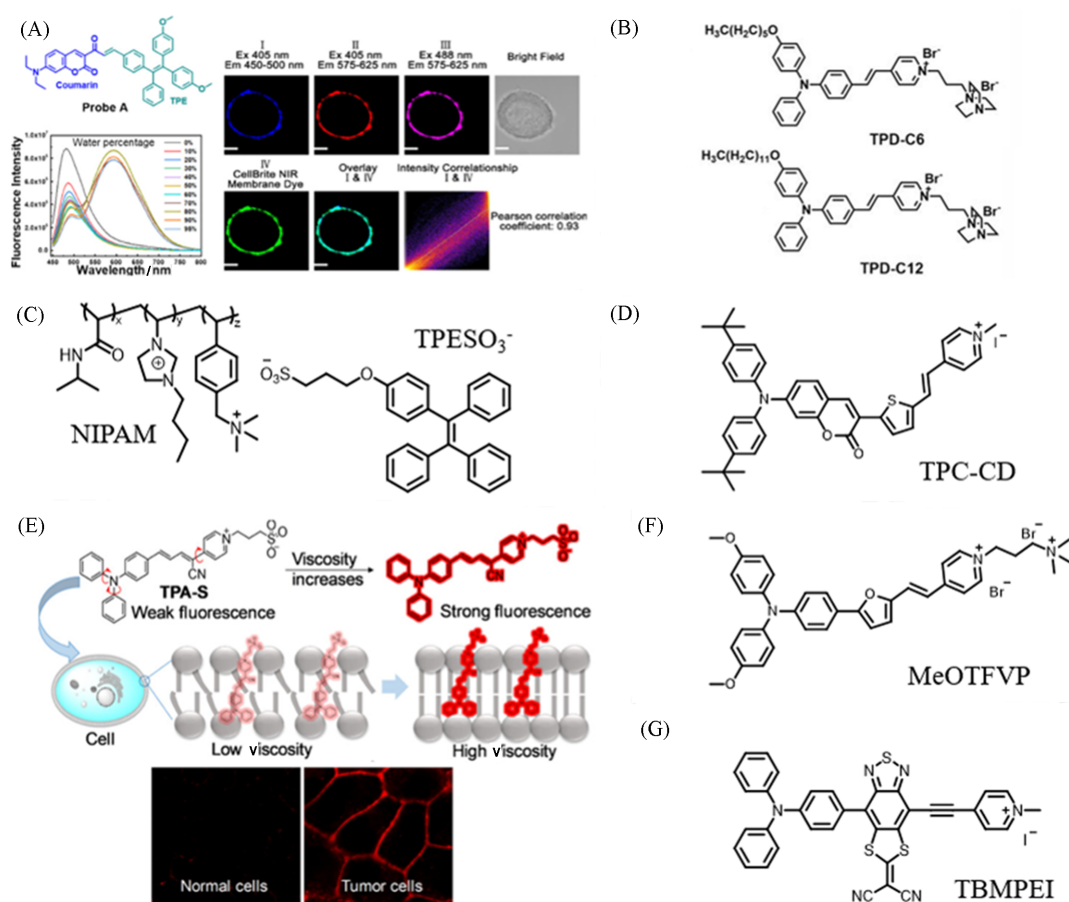


Fig. 5 Chemical structures and fluorescence imaging of cell membrane-targeted AIE probes

(A) Chemical structure of Probe A, fluorescence spectra of Probe A in the mixture solutions of water and acetonitrile with various water percentages, fluorescence images of a HeLa cell incubated with 10 $\mu\text{mol/L}$ probe and 5 $\mu\text{mol/L}$ CellBrite cytoplasmic NIR dye for 15 min under excitation of 405 and 488 nm for probe A, and 630 nm for CellBrite cytoplasmic NIR dye. Pearson correlation coefficient of channel I with channel IV is 0.88. A confocal fluorescence microscope (Olympus IX 81) was employed to collect cellular fluorescence images. Concentration of probe A: 10 $\mu\text{mol/L}$; excitation wavelength: 430 nm^[69]. (B) Chemical structures of TPD-C6 and TPD-C12. (C) Chemical structures of NIPAM and TPESO₃⁻. (D) Chemical structure of TPC-CD. (E) Schematic diagram of a viscosity-sensitive plasma membrane-locating probe TPA-S and cell images of normal cells and tumor cells^[73]. (F) Chemical structure of MeOTFVP. (G) Chemical structure of TBMPEI.

(A) Copyright 2020, American Chemical Society; (E) Copyright 2023, American Chemical Society.

入吡啶鎓，并在吡啶鎓上通过烷基链引入带正电的刚性空间位阻基团(1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷)阻断探针穿透细胞膜，双正电荷通过“静电相互作用”(细胞膜磷脂分子带负电)强化探针与膜的结合，然后通过改变TPA上烷基链的长度(C_6-C_{12})调节疏水相互作用，使探针长期锚定膜内且不渗透。实验表明，在人肝癌HepG2细胞中，TPD- C_{12} 因长烷基链增强疏水作用，在 $10.0\ \mu\text{mol/L}$ 浓度下0.5 h即可完整染色细胞膜，1.5 h无细胞内信号。不仅如此，该探针也可用于植物组织的成像，在拟南芥幼苗、洋葱表皮细胞等植物体系中，TPD- C_6 可穿透细胞壁，在 $10.0\ \mu\text{mol/L}$ 浓度下1.5 h仍特异性染色细胞膜，且质壁分离实验证实其主要靶向细胞膜而非细胞壁。

AIE细胞膜探针在温度传感、膜电位、黏度传感和膜锚定诊疗方面有着突出的表现。Yin等^[71]开发了一种智能AIE纳米温度计[图5(C)]。该探针具有亲疏水结构，由温敏聚合物(NIPAM)和AIE荧光团组装而成。探针中两种带正电的阳离子片段[3-丁基-1-乙烯咪唑溴盐([VBI⁺m] Br)的咪唑阳离子环和乙烯基苄基三甲基氯化铵(VBTMACl)的季铵盐阳离子]可与细胞膜负电基团结合，同时[VBI⁺m] Br中的丁基疏水链与荧光单元TPE的芳香环结构构成探针的疏水区域，可以嵌入细胞膜的磷脂双分子层。随着温度的升高(25~41 °C)，聚合物构象变化驱动荧光团从疏水核转移到亲水壳，导致荧光变化。由于其带有正电荷和适宜的两亲性，该纳米温度计能锚定在细胞膜上，实现了微波加热过程中细胞膜表面温度分布的原位实时传感。Liu等^[72]设计了一种新型阳离子AIE荧光探针TPC-CD[图5(D)]，用于无参比的癌细胞区分研究。该探针采用D- π -A结构设计，将香豆素和TPA结合为荧光团，在TPA结构的苯环上引入二(4-叔丁基苯基)胺基团平衡亲脂性与跨膜能力，通过噻吩桥连接带正电的吡啶鎓基团，借助强静电作用聚集于癌细胞膜，而在正常细胞中因弱静电作用易穿透膜进入胞质，形成截然不同的亚细胞分布模式。对癌细胞(HeLa、HepG2、4T1)与正常细胞(LO2、L929、293)的成像对比显示，该探针可通过分布差异实现两类细胞的可视化区分，无需依赖荧光强度对比，有效规避了探针浓度、光照条件及细胞个体差异等干扰因素。为了探究肿瘤与正常细胞膜的黏度差异并实现肿瘤选择性可视化，Li等^[73]开发了一种黏度敏感型细胞膜近红外探针TPA-S[图5(E)]，该探针具有两亲性D- π -A共轭结构，包含三苯胺(D)、乙腈吡啶盐(A)及磺酸盐单元，磺酸盐能避免探针在水溶液中沉淀，并且磺酸盐的亲水基团可以与细胞膜表面的极性基团(如磷脂头部)结合，同时疏水部分嵌入膜内核，显著提高了探针在细胞膜的滞留率，减少胞内扩散。细胞实验表明，TPA-S生物相容性优异，4 h内仅轻微内化；通过莫能菌素刺激(提升黏度)和温度调控实验，证实其对细胞膜黏度变化能够灵敏成像，对多种肿瘤细胞膜荧光显著增强，首次证实肿瘤细胞膜黏度高于正常细胞，而商用染料DiO无法区分。Mo等^[74]开发了一种具有AIE特性的膜锚定型近红外探针MeOTFVP[图5(F)]。该探针通过亲疏水结构(疏水 π -共轭骨架与亲水季铵盐尾部)实现对细胞膜的精准靶向，疏水部分插入磷脂双分子层，亲水的季铵盐阳离子与细胞膜表面的负电磷脂头部通过静电作用结合，借助TPA和吡啶鎓的D-A结构使发光红移至NIR波段，聚集态发射峰可达740 nm；该探针实现了对爪-背根神经节(DRG)神经回路的精确追踪和坐骨神经损伤的可视化。

细胞膜也是光动力治疗癌症的有力靶点。Niu等^[75]设计了一种具有AIE特性的NIR光敏剂TBMPEI[图5(G)]，通过D-A结构和可旋转单元TPA以及吡啶盐阳离子修饰的模块化设计，实现对细胞膜靶向。ROS检测显示，TBMPEI在白光照射下可生成I型($\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2\cdot^-$)与II型($^1\text{O}_2$)混合ROS。细胞实验表明，TBMPEI可在15 min内靶向4T1、A549及HeLa等癌细胞膜，黑暗条件下无明显细胞毒性，白光照射后产生ROS诱导坏死性凋亡，导致细胞膜破裂与DNA降解。

1.5 细胞核靶向探针

细胞核(Nucleus)作为真核细胞中最大、最重要的细胞器，被誉为细胞生命活动的“控制中心”和“大脑”。它由双层核膜包裹，内部储存着生物体绝大部分的遗传物质(DNA)。在细胞核内，DNA与组蛋白紧密缠绕形成染色质并进一步组装成染色体。细胞核不仅负责遗传信息的储存、复制与转录，还精确调控着基因表达，从而决定了细胞的生长、分化及功能特征^[76]。

由于核酸(DNA和RNA)具有丰富带负电荷的磷酸骨架，利用带正电荷的AIE分子与其进行静电吸

附、沟槽结合或插层作用, 能够实现对 DNA 的原位“点亮”。

在成像方面, Ma 等^[77]制备了带正电荷的超支化聚合物 TPPA-DBO[图 6(A)]. TPPA-DBO 的阳离子基团使探针整体带正电, 且超支化结构进一步增强了正电荷密度, 为探针与 DNA 静电作用提供了充足的结合位点. 该聚合物具有细胞膜穿透能力, 能特异性累积在细胞核. 通过调节聚合物结构, 可实现多色发光. 体外实验证实, 该聚合物对 DNA 的选择性显著优于对 RNA 的选择性, 是一种优秀的细胞核特异性探针. He 等^[78]通过将 TPA 与吡啶鎓整合到聚合物主链合成了探针 TPA-SPy-m[图 6(B)]. TPA (A) 与吡啶鎓(D)之间为单键连接, 构成了 D-A 共轭结构, 分子柔韧性高, 可通过静电作用靶向细胞核. Huang 等^[79]设计了菲啶衍生物探针 F1[图 6(C)]. F1 能选择性地浓缩在细胞核中, 菲啶及其衍生物(如菲啶鎓盐)在色散力驱动下, 可通过嵌入作用插入 DNA 双螺旋的相邻碱基对之间, 菲啶环的大平面共轭结构能与 DNA 碱基对的 π 电子云形成 π - π 堆积作用, 同时其杂原子 N 可通过氢键或静电作用与 DNA 骨架的磷酸基团、碱基上的氨基/羰基进一步结合, 强化探针与 DNA 的特异性相互作用, 为靶向细胞核奠定基础.

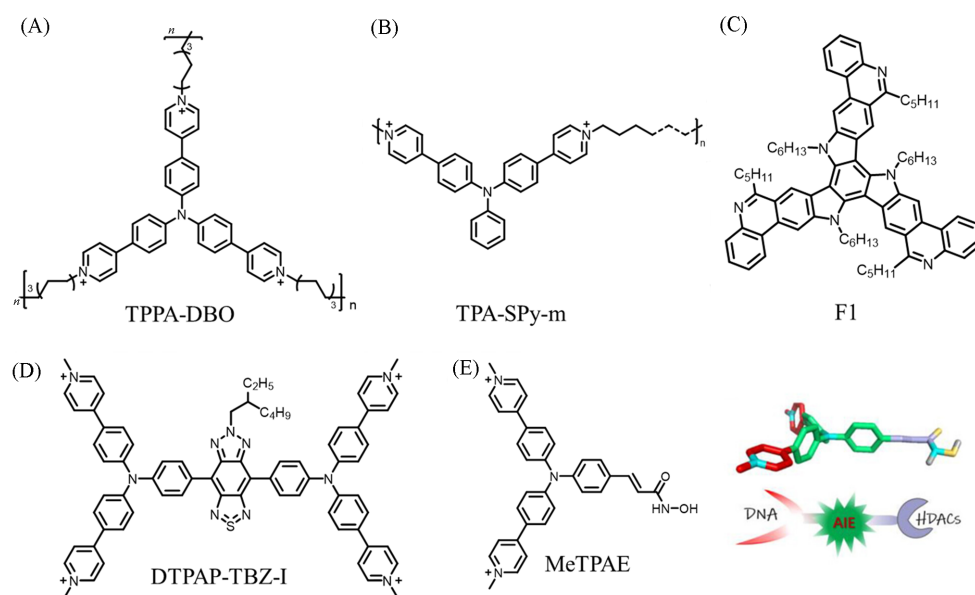


Fig. 6 Chemical structures and fluorescence imaging of nucleus-targeted AIE probes

(A—D) Chemical structures of TPPA-DBO(A), TPA-SPy-m(B), F1(C) and DTPAP-TBZ-I(D); (E) chemical structure of MeTPAE and schematic illustration of dual-responsive MeTPAE to nucleic acids and histone deacetylase^[81].

(E) Copyright 2022, Wiley-VCH GmbH.

在细胞核的超分辨成像方面, Xu 等^[80]合成了 DTPAP-TBZ-I 探针[图 6(D)], 通过将三苯胺(D)和噻二唑苯并三唑(A)连接在一起构成 D-A-D 结构, 并在三苯胺末端连接吡啶鎓提供靶向性. 利用 STED 纳米显微镜观察到探针的动态迁移. 在光活化下, 该分子会从线粒体迁移至细胞核. STED 技术以 184 nm 的分辨率清晰记录了这一过程, 证明了 AIE 材料在细胞器动态追踪中的巨大潜力.

在诊疗方面, Wang 等^[81]开发的细胞核靶向材料 MeTPAE[图 6(E)]以三苯胺为骨架构建 D-A 构型, 其两个侧臂延伸出带正电的阳离子吡啶单元, 形成“Y”型结构. 细胞核内的核酸因磷酸骨架带负电, 可通过静电相互作用与 MeTPAE 的带正电吡啶单元紧密结合, 这种非特异性但强亲和力的电荷作用, 成为 MeTPAE 向细胞核富集的基础驱动力, 帮助其跨越核膜后快速锚定于核酸分子. 第三个侧臂搭载的异羟肟酸基团, 一方面可通过氢键与核酸碱基的亚胺质子结合, 进一步强化与核酸的相互作用, 提升核内滞留能力; 另一方面, 该基团能特异性螯合细胞核内组蛋白去乙酰化酶(HDACs)活性中心的锌离子, 而 HDACs 是核内高表达的特征性酶类, 这种酶-配体特异性结合进一步引导 MeTPAE 向细胞核定向富集, 避免向细胞质或其它细胞器(如线粒体)分散. 该分子不仅具有 AIE 特性, 还能作为药物抑制组蛋白去乙酰化酶(HDACs), 抑制细胞增殖. 同时, 在光照下它能产生 ROS, 精确损伤端粒和核酸, 诱

导癌细胞周期阻滞与凋亡, 高效杀伤癌细胞。

1.6 内质网及高尔基体靶向探针

内质网不仅是物质合成中心, 更是细胞内最重要的信号转导枢纽之一, 尤其是作为细胞内最大的钙离子(Ca^{2+})储存库。内质网通过精细调节钙离子的释放与摄取, 控制着肌肉收缩、神经递质释放及基因表达等一系列生理活动^[82]。此外, 内质网并不是孤立存在的, 它通过膜接触位点与线粒体、脂滴及溶酶体等细胞器进行着频繁的物质与信息交换^[83]。

高尔基体不仅是分泌途径中的“加工与分拣中心”, 更是调控细胞代谢与信号整合的关键节点。它通过接收来自内质网的初级产物并进行复杂的糖基化、硫酸化及蛋白水解修饰, 参与蛋白质与脂质的运输与加工^[84]。高尔基体内部维持着独特的pH值梯度(从顺面到反面pH值逐渐由6.7降至6.0左右), 这种精细的酸化环境是维持各类酶活性的基础^[85]。此外, 高尔基体展现出极高的动态性, 它不仅通过囊泡运输与内质网、质膜及溶酶体进行着频繁的物质交换, 其结构的完整性还与细胞周期调控及应激信号传导密切相关, 被认为是细胞内的重要感受器^[86]。

针对内质网和高尔基体的探针设计, 主要是将AIE母核与二者膜上受体的靶向基团结合, 赋予探针靶向性。内质网膜上有丰富的磺酰脲受体, 将对甲苯磺酰胺、苯磺酰胺或更复杂的磺酰脲结构共价连接到AIE母核上是目前设计内质网靶向探针最常用、最有效的策略; 高尔基体中环氧化酶-2(COX-2)可以与苯磺酰胺环或吡啶美辛(IMC)结合。

在内质网成像方面, Zhu等^[87]开发了两亲性传感器QM-SO₃-ER[图7(A)]。该传感器通过在AIE基团喹啉-丙二腈(QM)上引入亲水性磺酸基来调控探针在水相的溶解度, 以维持初始“荧光关闭”状态, 同时借助对甲苯磺酰胺基增强亲脂分散性, 与内质网膜上的三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)敏感性钾通道(K_{atp})的磺脲类受体特异性结合, 通过分子内运动受限机制激活荧光。这种设计克服了亲脂性探针在到达靶点前非特异性发光的缺陷, QM-SO₃-ER具有高光稳定性与低毒性, 实现了极高信噪

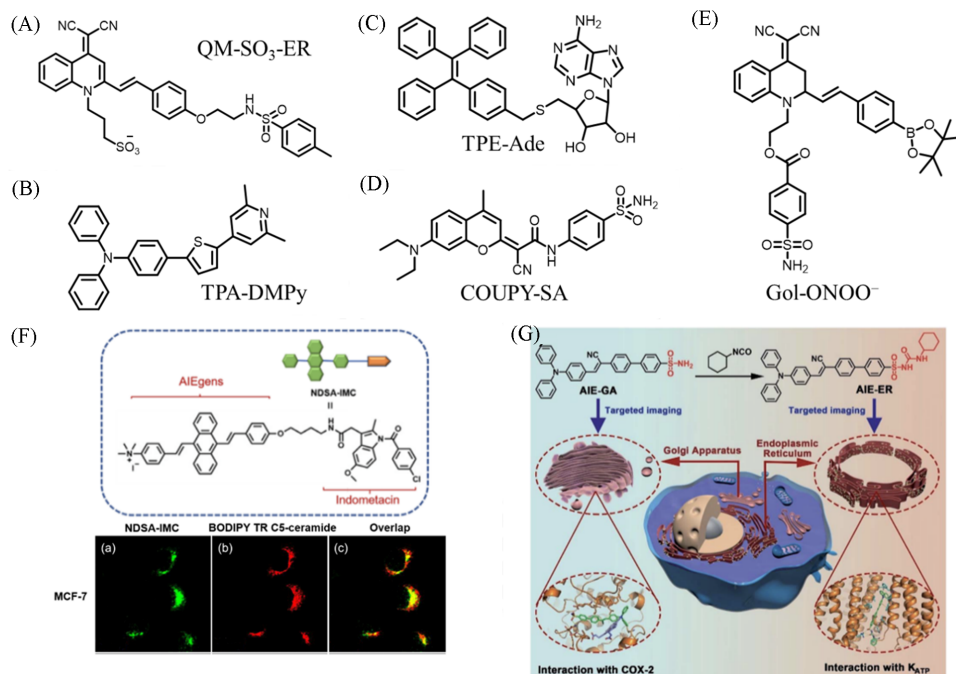


Fig. 7 Chemical structures and fluorescence imaging of endoplasmic reticulum-targeted/golgi-targeted AIE probes

(A—E) Chemical structure of QM-SO₃-ER (A), TPA-DMPy (B), TPE-Ade (C), COUPY-SA (D) and Gol-ONOO⁻ (E); (F) chemical structure of NDSA-IMC and cell imaging of MCF-7 cells co-incubated with NDSA-IMC and BODIPYTR C5-ceramide (5.0 $\mu\text{mol/L}$)^[92]; (G) schematic illustration of specific Golgi apparatus (GA) and endoplasmic reticulum (ER) targeting by AIEgens with one fluorophore through one-step conversion^[93].

(F) Copyright 2022, available open access; (G) copyright 2021, available open access.

比的内质网成像。Wu等^[88]设计了靶向内质网的探针TPA-DMPy[图7(B)]。TPA-DMPy以三苯胺(TPA)为母核,通过噻吩基团连接2,6-二甲基吡啶(2,6-DMPy),构成了典型的D- π -A结构。2,6-二甲基吡啶衍生物可直接调控细胞器膜上的Ca²⁺通道活性,而内质网是真核细胞内最主要的Ca²⁺储存细胞器,其膜上存在大量Ca²⁺转运通道。TPA-DMPy的2,6-二甲基吡啶单元可与内质网膜上的Ca²⁺通道或相关调控蛋白特异性结合,实现内质网富集。D- π -A结构促进了光诱导电子转移(Photoinduced electron transfer, PET),可以提升I型ROS的生成效率。在白光照射下,TPA-DMPy与抗糖尿病药物格列本脲协同作用,可高效诱导癌细胞凋亡:TPA-DMPy通过光激发促进内质网释放大量Ca²⁺,而格列本脲通过抑制内质网膜上的ATP敏感性钾通道(K_{atp})阻断K⁺内流,导致内质网膜电位去极化,进而加剧内质网应激;同时,该协同作用还激活内质网介导的caspase-12通路与线粒体介导的caspase-3/Bax通路,引发双重凋亡途径。

在高尔基体成像方面,2',3'-O-异亚丙基腺苷(Ade)是高尔基体中多种小分子(如糖基转移酶底物及信号分子)的活性位点结构片段。Xing等^[89]将TPE与Ade通过C-S键连接,合成了探针TPE-Ade[图7(C)],可精准定位高尔基体。Lai等^[90]开发了一种基于香豆素的靶向高尔基体的双响应AIE荧光探针COUPY-SA[图7(D)]。该探针以二乙氨基香豆素为电子供体(D)、氰基乙烯单元为电子受体(A),通过C=C双键作为 π 桥构建D- π -A体系,引入磺酰胺基团靶向高尔基体,可以通过双荧光通道实现对过氧亚硝酸盐(ONOO⁻)和黏度的同时检测,对ONOO⁻表现出比率型荧光信号。COUPY-SA借助碳碳双键识别ONOO⁻并发生氧化断裂,通过限制分子内旋转,抑制TICT过程,从而实现对黏度的响应。该探针成功在活细胞(RAW264.7细胞和HepG2细胞)、斑马鱼、小鼠肝组织中实现ONOO⁻和黏度波动的监测,清晰观察到对乙酰氨基酚(APAP)诱导肝损伤过程中二者的变化,还能检测镉离子(Cd²⁺)胁迫下拟南芥中ONOO⁻的释放。Li等^[91]报道了一种靶向高尔基体的具有AIE特性的荧光探针Gol-ONOO⁻[图7(E)]。该探针以喹啉丙二腈为荧光团、苯磺酰胺为靶向基团、硼酸酯为识别位点,对ONOO⁻具有即时响应性。细胞实验表明,Gol-ONOO⁻能精准靶向高尔基体,可实现活细胞内外源性(经ONOO⁻供体SIN-1诱导)与内源性[经脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)和干扰素- γ (Interferon- γ , IFN- γ)诱导]ONOO⁻的成像。

COX-2在几乎所有癌细胞中高表达,正常细胞中低表达,且能促进肿瘤生长、血管生成与转移,是重要的癌症标志物;高尔基体在细胞蛋白质翻译后修饰、分选包装中起关键作用,癌细胞高尔基体可运输分泌含COX-2的关键蛋白。Luo等^[92]将COX-2选择性抑制剂IMC作为识别单元,设计了基于AIE的COX-2荧光探针NDSA-IMC[图7(F)]。该探针与高尔基体特异性染料共染显示二者荧光高度重叠,表明探针可靶向癌细胞高尔基体中的COX-2。流式细胞术进一步量化验证了其对癌细胞的选择性标记能力。体内实验构建Hep-G2荷瘤小鼠模型,尾静脉注射NDSA-IMC 30 min后肿瘤部位出现强荧光,证明其可在体内特异性聚集于肿瘤部位。同样,Xiao等^[93]设计了AIE-GA(以TANBS为代表)和AIE-ER(以TANBSCH为代表)探针[图7(G)]。该研究分别将能与高尔基体中COX-2结合的苯磺酰胺基团和能与内质网膜上ATP敏感性钾通道(K_{atp})亚基磺酰脲受体1(Sulfonylurea receptor 1, SUR1)的格列本脲基团引入荧光团,实现对高尔基体和内质网的靶向。AIE-GA和AIE-ER在HeLa、A549及4T1等细胞中均表现出优异的靶向特异性;分子对接验证了AIE-GA通过苯磺酰胺环与COX-2疏水凹槽结合、TPA部分与Y409形成 π - π 作用,AIE-ER通过氢键与 π - π 堆叠作用结合SUR1的靶向机制。

1.7 双细胞器靶向探针

生命活动往往涉及多个细胞器的协同作用,单纯依赖单一靶向的探针难以捕捉这些跨细胞器的动态相互作用过程。鉴于此,构建能够同时点亮两个或多个细胞器的“双/多靶向探针”已成为可视化细胞器间交流过程的必然趋势。

Zheng等^[94]设计合成了具有两亲性和正电荷特性的AIE探针TPNPDA-C12[图8(A)],探针的两亲性结构(疏水烷基链和亲水的吡啶鎓)可嵌入磷脂双分子层,带正电荷的吡啶鎓通过与带负电荷的线粒体膜的静电相互作用实现线粒体富集。该探针结合AIE与TICT机制,可通过不同荧光通道同时且特异

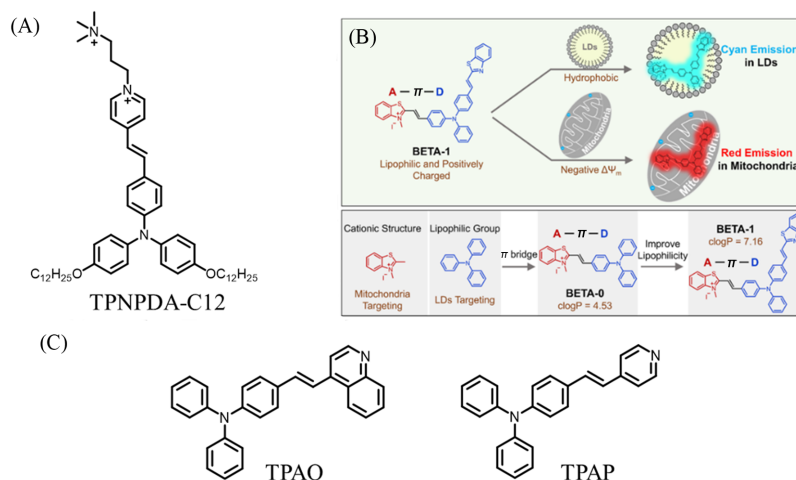


Fig. 8 Chemical structures of dual-organelle-targeted probes

(A) Chemical structure of TPNPDA-C12; (B) chemical structure of BETA-1 and the schematic illustration of dual-color visualization of lipid droplets (LDs) and mitochondria using BETA-1 and design of BETA-1^[95]; (C) chemical structures of TPAQ and TPAP.

(B) Copyright 2022, available open access.

性对活细胞的细胞膜和线粒体成像。同样, Zeng 等^[95]也集成了 AIE 和 TICT 机制设计了 BETA-1 探针 [图 8(B)], 引入 *N*-甲基苯并噻唑鎓(阳离子结构)作为电子受体(A), 承担线粒体靶向功能, 引入三苯胺(疏水性基团)作为电子供体(D), 承担脂滴靶向功能, 并通过后续结构优化提升脂溶性, 能同时双色成像并长时程追踪脂滴-线粒体的相互作用, 揭示了铁死亡过程中二者接触增加的现象。Zhang 等^[96]通过引入 D- π -A 结构, 以 TPA 为电子供体, 喹啉/吡啶为电子受体, 并利用喹啉基团和吡啶基团实现对酸性环境的响应性, 构建了双发射自我报告分子 TPAQ 和 TPAP [图 8(C)]. 在正常状态下它们位于脂滴; 当发生自噬时, 分子会易位至酸性的溶酶体, 导致荧光红移。这种易位现象实现了对自噬过程和随后细胞死亡的实时自我报告。

2 总结与展望

自 2001 年 AIE 概念被正式提出以来, 该领域在短短二十余年间已实现了从基础理论研究到细胞层面疾病诊疗的跨越。AIE 的出现不仅在物理层面上颠覆了 ACQ 效应中“聚集即猝灭”的传统认知, 同时也为实时观测生命微观结构和动态过程提供了强有力的工具。

在分子设计方面, 研究者已建立了一套成熟的“结构-性能”调控准则。通过对 TPE、二苯乙烯基蒽(DSA)及 TPA 等 AIE 母核的精细工程化修饰, 利用 RIM 和 TICT 等核心机制, 已实现对线粒体膜电位变化、溶酶体酸性波动、脂滴脂质极性、及细胞核内核酸分布的高灵敏检测。目前, 利用 AIE 探针, 已发展出具备多种传感能力(如温度、黏度、pH 值及特异性离子等)的传感器。

在技术融合方面, AIE 材料展现出卓越的兼容性, 已成为 NIR-II 深层成像及 STED, FLIM 等超分辨率成像技术的理想探针。此外, AIE 探针在“诊疗一体化”领域也表现卓越, 通过精准控制激发态能级流向, 实现了荧光成像引导下的高效 PDT 与 PTT。总体而言, AIE 材料已经成为连接基础化学与生物学的重要桥梁。

展望未来, AIE 材料在细胞生物学领域的应用将向以下几个维度深度拓展:

AIE 材料与超分辨和单分子成像技术深度结合突破了衍射极限的掣肘, 未来将充分利用 AIE 材料本身的高光稳定性、耐漂白及大斯托克斯位移特性, 将其专门优化用于 STED, FLIM 及 STORM 等超分辨平台, 有望实现对线粒体嵴、核孔复合物等微细结构的动态成像, 甚至单分子水平的追踪。但细胞器接触位点的尺寸通常远低于光学衍射极限, 且呈现高度动态变化的特征, 而空间分辨率的提升通常以牺牲时间分辨率为代价, 捕捉这些微小区域的动态演变仍是难点。目前利用脂质特异性尼罗红(Nile

Red)染料配合机器学习(Deep convolutional neural network, DCNN)已可实现在单一激光激发下同时追踪多达15种细胞器^[97],未来将把机器学习引入AIE探针的超分辨成像中来平衡空间分辨率、灵敏度、光毒性和成像速度。

NIR-II波段具有更好的组织穿透深度和更低的自荧光干扰,但开发兼具良好水溶性、高量子产率及精确靶向能力的NIR-II AIE探针仍然非常困难。传统的探针开发主要依赖经验驱动,例如,在设计阳离子型细胞核探针时,往往会因为其正电性非特异性地富集在线粒体造成不必要的背景干扰。未来,通过建立大规模的细胞器靶向性与物理性质数据库,利用机器学习(如随机森林和DCNN)构建多级预测架构,将会预先评估分子的激发态能级、溶剂化效应及特定细胞器的靶向概率,以及分子的黏度灵敏度及代谢稳定性需求,实现AIE探针的按需定制,必将极大地压缩实验周期和试错成本。

在现有的AIE探针中,线粒体、溶酶体和脂滴等有膜细胞器靶向策略(如电荷驱动、嗜酸性基团等)相对成熟,甚至对于胞外有膜细胞器迁移体也可以做到清晰成像^[98,99],但无膜细胞器(如核糖体和中心体)由于缺乏明显的膜结构或特殊的化学微环境梯度(如线粒体的高膜电位和溶酶体的极低pH值),荧光染料难以在此类结构中稳定富集,因此设计高特异性的AIE靶向探针极具挑战性。目前AIE探针的研究多集中于哺乳动物细胞,植物细胞膜成像^[70]、真菌液泡膜的成像与光动力抗菌^[100]、真菌线粒体标记与活力评估^[101]和高脂质产小球藻藻株筛选^[102]等研究工作证明了AIE探针完全有能力跨越物种界限,AIE探针的应用正在从哺乳动物细胞向植物及微生物等物种拓展。

细胞生命活动复杂多变,单一指标往往难以精准反映病理状态。在疾病诊疗方面,未来将发展更多的多条件激活的响应型AIE探针,实现多通路逻辑响应,只有当多个条件(如“酸性”且“特定酶高表达”)同时满足时才开启信号,这将极大提高癌症等疾病早期诊断的准确率,减少假阳性。此外,多条件激活机制还可以将探针转化为“逻辑递送系统”,通过设计响应多种内源性(如特定酶活性和低pH值)或外源性(如近红外光和超声)刺激的响应探针,可以实现药物在亚细胞水平的精准释放。

目前,AIE材料的研究多集中于实验室阶段,多数AIE探针的毒性评估研究仅停留在细胞水平的MTT实验(24~48 h)和大鼠或小鼠短期内的组织病理分析,缺乏系统且长时程的毒理学数据来评估其临床应用的安全性。未来的毒性评估必须引入长时程追踪,重点考察探针在体内的累积情况及清除动力学。同时,复杂的合成过程导致的高成本以及严苛的临床药物审批流程,也制约了其大规模的生产与转化应用。

参 考 文 献

- [1] Li S., Ge L., *Cell Res.*, **2025**, 35(9), 627—628
- [2] Zong Y., Li H., Liao P., Chen L., Pan Y., Zheng Y., Zhang C., Liu D., Zheng M., Gao J., *Signal Transduction Targeted Ther.*, **2024**, 9(1), 124
- [3] Jain A., Zoncu R., *Mol. Metab.*, **2022**, 60, 101481
- [4] Yang J., Griffin A., Qiang Z., Ren J., *Signal Transduction Targeted Ther.*, **2022**, 7(1), 379
- [5] Martínez-Reyes I., Chandel N. S., *Nat. Commun.*, **2020**, 11(1), 102
- [6] Maestri A., Garagnani P., Pedrelli M., Hagberg C. E., Parini P., Ehrenborg E., *Ageing Res. Rev.*, **2024**, 94, 102194
- [7] Wang Q., Sun Y., Li T. Y., Auwerx J., *Cell Res.*, **2026**, 36(1), 11—37
- [8] Liu T., Sun W., Guo S., Yuan Z., Zhu M., Lu J., Chen T., Qu Y., Feng C., Yang T., *Front Cell Neurosci.*, **2025**, 19, 1588645
- [9] Zhang Y., Wu Y., Zhang M., Li Z., Liu B., Liu H., Hao J., Li X., *Cell Death Discov.*, **2023**, 9(1), 51
- [10] Bigdeli A., Ghasemi F., Abbasi-Moayed S., Shahrajabian M., Fahimi-Kashani N., Jafarinejad S., Farahmand Nejad M. A., Hormozi-Nezhad M. R., *Anal. Chim. Acta*, **2019**, 1079, 30—58
- [11] He Z., Ke C., Tang B. Z., *ACS Omega*, **2018**, 3(3), 3267—3277
- [12] Luo J., Xie Z., Lam J. W. Y., Cheng L., Tang B. Z., Chen H., Qiu C., Kwok H. S., Zhan X., Liu Y., Zhu D., *Chem. Commun.*, **2001**, (18), 1740—1741
- [13] Qian H., Cousins M. E., Horak E. H., Wakefield A., Liptak M. D., Aprahamian I., *Nat. Chem.*, **2016**, 9(1), 83—87
- [14] Qian J., Tang B. Z., *Chem*, **2017**, 3(1), 56—91
- [15] Hu F., Liu B., *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14(42), 9931—9944
- [16] Mei J., Huang Y., Tian H., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, 10(15), 12217—12261
- [17] Esmaelpourfarkhani M., Ramezani M., Alibolandi M., Abnous K., Taghdisi S. M., *Talanta*, **2025**, 292, 127995

- [18] Zhang S., Jing J., Meng L., Xu B., Ma X., Tian W., *Chemosensors*, **2022**, 10(5), 195
- [19] Zhang J., Xu B., Tian W., Xie Z., *Chem. Sci.*, **2018**, 9(9), 2620—2627
- [20] Zhang J., Zheng M., Zhang F., Xu B., Tian W., Xie Z., *Chem. Mater.*, **2016**, 28(23), 8825—8833
- [21] Yan L., Zhang Y., Xu B., Tian W., *Nanoscale*, **2016**, 8(5), 2471—2487
- [22] Zhang Y., Chen Y., Li X., Zhang J., Chen J., Xu B., Fu X., Tian W., *Polym. Chem.*, **2014**, 5(12), 3824—3830
- [23] Wang Z., Xu B., Zhang L., Zhang J., Ma T., Zhang J., Fu X., Tian W., *Nanoscale*, **2013**, 5(5), 2065—2072
- [24] Gao X., Qing J., Hu Y. C., Shuangguan Z. C., Liang T. Z., Zhou Y. S., Zhang G. X., Zhang D. Q., *Chem. J. Chinese Universities*, **2026**, 47(4), 20250410(高鑫, 卿佳, 胡祜辰, 上官之春, 梁同玲, 周永胜, 张关心, 张德清, 高等学校化学学报, **2026**, 47(4), 20250410)
- [25] Balachandran Y. L., Jiang X., *CCS Chem.*, **2022**, 4(2), 420—436
- [26] Ma H., Hu D., Zhao J., Tian M., Yuan J., Wei Y., *CCS Chem.*, **2021**, 3(6), 1569—1606
- [27] Zhang Y., Wang Q., Zhu Z., Zhao W., Yan C., Liu Z., Liu M., Zhao X., Tian H., Zhu W. H., *CCS Chem.*, **2022**, 4(5), 1619—1632
- [28] Wu W. B., Liu B., *Chem. J. Chinese Universities*, **2020**, 41(2), 191—203(武文博, 刘斌, 高等学校化学学报, **2020**, 41(2), 191—203)
- [29] Chandel N., *BMC Biol.*, **2014**, 12, 34
- [30] Nunnari J., Suomalainen A., *Cell*, **2012**, 148(6), 1145—1159
- [31] Spinelli J. B., Haigis M. C., *Nat. Cell Biol.*, **2018**, 20(7), 745—754
- [32] Giorgi C., Marchi S., Pinton P., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2018**, 19(11), 713—730
- [33] da-Silva W. S., Gómez-Puyou A., de Gómez-Puyou M. T., Moreno-Sanchez R., de Felice F. G., de Meis L., Oliveira M. F., Galina A., *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279(38), 39846—39855
- [34] Galluzzi L., Vitale I., Aaronson S. A., Abrams J. M., Adam D., Agostinis P., Alnemri E. S., Altucci L., Amelio I., Andrews D. W., Annicchiarico-Petruzzelli M., Antonov A. V., Arama E., Baehrecke E. H., Barlev N. A., Bazan N. G., Bernassola F., Bertrand M. J. M., Bianchi K., Blagosklonny M. V., Blomgren K., Borner C., Boya P., Brenner C., Campanella M., Candi E., Carmona-Gutierrez D., Ceconi F., Chan F. K. M., Chandel N. S., Cheng E. H., Chipuk J. E., Cidlowski J. A., Ciechanover A., Cohen G. M., Conrad M., Cubillos-Ruiz J. R., Czabotar P. E., D'Angiolella V., Dawson T. M., Dawson V. L., de Laurenzi V., De Maria R., Debatin K. M., DeBerardinis R. J., Deshmukh M., Di Daniele N., Di Virgilio F., Dixit V. M., Dixon S. J., Duckett C. S., Dynlacht B. D., El-Deiry W. S., Elrod J. W., Fimia G. M., Fulda S., García-Sáez A. J., Garg A. D., Garrido C., Gavathiotis E., Golstein P., Gottlieb E., Green D. R., Greene L. A., Gronemeyer H., Gross A., Hajnoczky G., Hardwick J. M., Harris I. S., Hengartner M. O., Hetz C., Ichijo H., Jäättelä M., Joseph B., Jost P. J., Juin P. P., Kaiser W. J., Karin M., Kaufmann T., Kepp O., Kimchi A., Kitsis R. N., Klionsky D. J., Knight R. A., Kumar S., Lee S. W., Lemasters J. J., Levine B., Linkermann A., Lipton S. A., Lockshin R. A., López-Otín C., Lowe S. W., Luedde T., Lugli E., MacFarlane M., Madeo F., Malewicz M., Malorni W., Manic G., Marine J. C., Martin S. J., Martinou J. C., Medema J. P., Mehlen P., Meier P., Melino S., Miao E. A., Molkentin J. D., Moll U. M., Muñoz-Pinedo C., Nagata S., Nuñez G., Oberst A., Oren M., Overholtzer M., Pagano M., Panaretakis T., Pasparakis M., Penninger J. M., Pereira D. M., Pervaiz S., Peter M. E., Piacentini M., Pinton P., Prehn J. H. M., Puthalakath H., Rabinovich G. A., Rehm M., Rizzuto R., Rodrigues C. M. P., Rubinsztein D. C., Rudel T., Ryan K. M., Sayan E., Scorrano L., Shao F., Shi Y., Silke J., Simon H. U., Sistigu A., Stockwell B. R., Strasser A., Szabadkai G., Tait S. W. G., Tang D., Tavernarakis N., Thorburn A., Tsujimoto Y., Turk B., Vanden Berghe T., Vandenabeele P., Vander Heiden M. G., Villunger A., Virgin H. W., Vousden K. H., Vucic D., Wagner E. F., Walczak H., Wallach D., Wang Y., Wells J. A., Wood W., Yuan J., Zakeri Z., Zhivotovsky B., Zitvogel L., Melino G., Kroemer G., *Cell Death Differ.*, **2018**, 25(3), 486—541
- [35] Lowell B., Shulman G., *Science*, **2005**, 307(5708), 384—387
- [36] Dorn G. W., *Annu. Rev. Physiol.*, **2019**, 81(1), 1—17
- [37] Swerdlow R. H., Burns J. M., Khan S. M., *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, **2014**, 1842(8), 1219—1231
- [38] Wallace D. C., *Nat. Rev. Cancer*, **2012**, 12(10), 685—698
- [39] Poot M., Zhang Y., Krämer J., Wells K., Jones L., Hanzel D., Lugade A., Singer V., Haugland R., *J. Histochem. Cytochem.*, **1996**, 44(12), 1363—1372
- [40] Teng Y., Zhang R., Yang B., Yang H., Li X., Yin D., Feng X., Tian Y., *J. Mater. Chem. B*, **2022**, 10(42), 8642—8649
- [41] Devarajan K., Sivakalai M., Basu S. M., Biswas C., Chauhan M., Hasan U., Panneerselvam Y., Narayanan U. M., Raavi S. S. K., Giri J., Panda T. K., *Biomater. Sci.*, **2023**, 11(11), 3938—3951
- [42] Becker W., *J. Microsc.*, **2012**, 247(2), 119—136
- [43] Wang S., Lin Y., Zhang C., Zhu T., Tian X., Li D., Ma W., Zhang Q., Wu J., Tian Y., *Anal. Chem.*, **2022**, 94(10), 4335—4342
- [44] Li J., Huang H., Zhang C., Chen X., Hu Y., Huang X., *Talanta*, **2023**, 255, 124222
- [45] Wang X., Fan L., Wang S., Zhang Y., Li F., Zan Q., Lu W., Shuang S., Dong C., *Anal. Chem.*, **2021**, 93(6), 3241—3249
- [46] Li S., Chen Y., He P., Ma Y., Cai Y., Hou X., Zhang G., Zhang X., Wang Z., *Adv. Healthcare Mater.*, **2022**, 11(15), 2200242
- [47] Wang S., Qiu Y., Yu L., Lu K., Du B., Zhang J., Gong H., Ren A., Chen M., Zhang H., Zang X. F., Ye X., Cai L., Quan Y. Y., Huang Z. S., *J. Colloid Interface Sci.*, **2025**, 694, 137680
- [48] Settembre C., Fraldi A., Medina D. L., Ballabio A., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2013**, 14(5), 283—296
- [49] Mindell J. A., *Annu. Rev. Physiol.*, **2012**, 74, 69—86

- [50] Colacurcio D. J., Nixon R. A., *Ageing Res Rev.*, **2016**, *32*, 75—88
- [51] Uvarov D. Y., Sapoletova N. A., Kushnir S. E., Selektor S. L., Golovanov I. S., Chursin A. Y., Scherbakov A. M., Salmikova D. I., Kopnin P. B., Kolotyorkina N. G., Fakhrutdinov A., Malakhova V., Sibgatullina G., Samigullin D., Zavarzin I. V., Goze C., Denat F., Volkova Y. A., *Talanta*, **2025**, *295*, 128283
- [52] Su S., Chai L., An Q., Hu W., Wang L., Li X., Zhang H., Li C., *Anal. Chem.*, **2022**, *94*(43), 15146—15154
- [53] Wang Z., Zhou Y., Hao Y., Zhao Z., Gao A., Ma H., Zhang P., Shen Q., Xu R., Xu Y., Dang D., Meng L., *Nano Lett.*, **2024**, *24*(10), 3005—3013
- [54] Pan Z., Wang Y., Chen N., Cao G., Zeng Y., Dong J., Liu M., Ye Z., Li Y., Huang S., Lu Y. j., He Y., Liu X., Zhang K., *Bioorg. Chem.*, **2023**, *132*, 106349
- [55] Ma H., An Y., Han Y., Zhao F., Zuo Y., He G., Lu Z., Kwok R. T. K., Sun J., Lam J. W. Y., Wei Y., Tang B. Z., *Adv. Sci.*, **2025**, *12*(39), e07956
- [56] Walther T. C., Farese R. V., *Annu. Rev. Biochem.*, **2012**, *81*(1), 687—714
- [57] Fujimoto T., Parton R. G., *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2011**, *3*(3), a004838
- [58] Valm A. M., Cohen S., Legant W. R., Melunis J., Hershberg U., Wait E., Cohen A. R., Davidson M. W., Betzig E., Lippincott-Schwartz J., *Nature*, **2017**, *546*(7656), 162—167
- [59] Guo X., Tang B., Wu Q., Bu W., Zhang F., Yu C., Jiao L., Hao E., *J. Mater. Chem. B*, **2022**, *10*(29), 5612—5623
- [60] Su H. F., Peng Q. C., Liu Y. U., Xie T., Liu P. P., Cai Y. C., Wen W., Yu Y. H., Li K., Zang S. Q., *Biomaterials*, **2022**, *288*, 121691
- [61] Wang Y., Song Y., Xu L., Zhou W., Wang W., Jin Q., Xie Y., Zhang J., Liu J., Wu W., Li H., Liang L., Wang J., Yang Y., Chen X., Ge S., Gao T., Zhang L., Xie M., *Adv. Sci.*, **2024**, *11*(26), 2309907
- [62] Lei Y., Ji Z., Xiang W., Duan L., *Bioorg. Chem.*, **2024**, *153*, 107856
- [63] Chen R., Li Z., Peng C., Wen L., Xiao L., Li Y., *Anal. Chem.*, **2022**, *94*(39), 13432—13439
- [64] Pei S., Li H., Chen L., Nie G., Wang H., Liu C., Zhang C., *Anal. Chem.*, **2024**, *96*(14), 5615—5624
- [65] Zhuang W., Li J., Qu T., Shao R., Chen J., Li S., Chen M., Wang Y., *Talanta*, **2024**, *275*, 126069
- [66] Simons K., Ikonen E., *Nature*, **1997**, *387*(6633), 569—572
- [67] Singer S., Nicolson G., *Science*, **1972**, *175*(4023), 720—731
- [68] van Meer G., Voelker D. R., Feigenson G. W., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2008**, *9*(2), 112—124
- [69] Zhang Y., Yan Y., Xia S., Wan S., Steenwinkel T. E., Medford J., Durocher E., Luck R. L., Werner T., Liu H., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2020**, *12*(18), 20172—20179
- [70] Zhang X., Wang Z., Chu H., Xiong Z., Li Y., Chen Y., Zhu Q., Feng H., Zhu E., Zhou J., Huang P., Qian Z., *Anal. Chem.*, **2022**, *94*(9), 4048—4058
- [71] Yin N., Wei C., Shu Y., Wang J., *Anal. Chem.*, **2024**, *97*(1), 543—554
- [72] Liu C., He S., Guo X.-F., Wang H., *Anal. Chim. Acta*, **2025**, *1373*, 344551
- [73] Li Q., Zhu W., Gong S., Jiang S., Feng G., *Anal. Chem.*, **2023**, *95*(18), 7254—7261
- [74] Mo R., Peng Y., Ding Z., Xie H., Qiu Z., Alam P., Liu Y., Chen G., Zhang J., Zhao Z., Tang B. Z., *ACS Nano*, **2025**, *19*(1), 1070—1079
- [75] Niu N., Yu Y., Zhang Z., Kang M., Wang L., Zhao Z., Wang D., Tang B. Z., *Chem. Sci.*, **2022**, *13*(20), 5929—5937
- [76] Pederson T., *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2010**, *3*(5), a000521
- [77] Ma H., Yang Z., Cao H., Lei L., Chang L., Ma Y., Yang M., Yao X., Sun S., Lei Z., *J. Mater. Chem. B*, **2017**, *5*(4), 655—660
- [78] He Z., Han X., Yan Z., Guo B., Cai Q., Yao Y., *Mater. Chem. Front.*, **2022**, *6*(24), 3678—3690
- [79] Huang W., Feng S., Liu J., Liang B., Zhou Y., Yu M., Liang J., Huang J., Lü X., Huang W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2023**, *62*(9), e202219337
- [80] Xu Y., Zhang J., Wang Z., Zhang P., Zhang Z., Yang Z., Lam J. W. Y., Kwok R. T. K., Meng L., Dang D., Tang B. Z., *Biomaterials*, **2025**, *314*, 122847
- [81] Wang K. N., Liu L. Y., Mao D., Hou M. X., Tan C. P., Mao Z. W., Liu B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, *61*(15), e202114600
- [82] M.J. B., *Cell Calcium*, **2002**, *32*(5/6), 235—249
- [83] Phillips M. J., Voeltz G. K., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2015**, *17*(2), 69—82
- [84] Glick B. S., Nakano A., *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **2009**, *25*(1), 113—132
- [85] Kellokumpu S., *Front. Cell Dev. Biol.*, **2019**, *7*, 93
- [86] Wei J. H., Seemann J., *Traffic*, **2010**, *11*(11), 1391—1400
- [87] Zhu Z., Wang Q., Liao H., Liu M., Liu Z., Zhang Y., Zhu W. H., *Natl. Sci. Rev.*, **2021**, *8*(6), nwa198
- [88] Wu Y., Chen X., Zhu L., Wang D., Li X., Song J., Wang D., Yu X., Li Y., Tang B. Z., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2023**, *15*(44), 50821—50835
- [89] Xing X., Jia Y., Zhang J., Wu Z., Qin M., Li P., Feng X., Sun Y., Zhao G., *Sens. Actuators B*, **2021**, *329*, 129245
- [90] Lai H. J., Wu H., Wang Y., Bie H. Y., Fan Y. C., Wu W. N., Xu Z. H., James T. D., *Sens. Actuators B*, **2026**, *447*, 138723
- [91] Li J., Tang J., Yang X., Xie P., Liu J., Zhang D., Ye Y., *Sens. Actuators B*, **2022**, *358*, 131513
- [92] Luo Y., Zhang S., Wang H., Luo Q., Xie Z., Xu B., Tian W., *CCS Chem.*, **2022**, *4*(2), 456—463

- [93] Xiao P., Ma K., Kang M., Huang L., Wu Q., Song N., Ge J., Li D., Dong J., Wang L., Wang D., Tang B. Z., *Chem. Sci.*, **2021**, *12*(41), 13949—13957
- [94] Zheng Y., Ding Y., Ren J., Xiang Y., Shuai Z., Tong A., *Anal. Chem.*, **2020**, *92*(21), 14494—14500
- [95] Zeng S. T., Shao W., Yu Z. Y., Fang L., Tang G. X., Fang Y. Y., Chen S. B., Huang Z. S., Tan J. H., Chen X. C., *ACS Sens.*, **2022**, *8*(1), 40—50
- [96] Zhang R., Zhang C., Chen C., Tian M., Chau J. H. C., Li Z., Yang Y., Li X., Tang B. Z., *Adv. Sci.*, **2023**, *10*(18), 2301295
- [97] Zhanghao K., Li M., Chen X., Liu W., Li T., Wang Y., Su F., Wu Z., Shan C., Wu J., Zhang Y., Fu J., Xi P., Jin D., *Nat. Commun.*, **2025**, *16*(1), 2769
- [98] Ye Z., Qiu C., Liu Z., Wen H., Gao F., Zhang Y., Wang W.-J., Zhang J., Qiu Z., Zhang W., Alam P., Zhao Z., Tang B. Z., *J. Am. Chem. Soc.*, **2025**, *147*(31), 28442—28453
- [99] Chen K., Liu Q., Wang M., Kam C., Zhang M., Wang Z., Chen S., *Biomaterials*, **2026**, *328*, 123853
- [100] Wang B., Wang S., Li C., Li J., Yi M., Lyu J. W., Gu B., Kwok R. T. K., Lam J. W. Y., Qin A., Tang B. Z., *Mater. Today Bio.*, **2024**, *29*, 101329
- [101] Ge X., Gao M., He B., Cao N., Li K., Liu Y., Tang S., Liu K., Zhang J., Hu F., Zheng L., Situ B., *Biomaterials*, **2022**, *287*, 121618
- [102] Liu H., Yan N., Wong T. Y., Lam H., Lam J. W. Y., Kwok R. T. K., Sun J., Tang B. Z., *ACS Nano*, **2022**, *16*(9), 14973—14981

(Ed.: H, K, M)