

核酸适体靶向红苋烯有机纳米探针 用于肿瘤成像研究

李传胜 吴亚运 姜涛 张鹏飞 龚萍 蔡林涛

(中国科学院深圳先进技术研究院 中国科学院健康信息学重点实验室 广东省纳米医药重点实验室
深圳医用生物活性材料工程实验室 深圳 518055)

摘 要 近二十年来, 肿瘤在我国的发生率和死亡率呈现不断增高的趋势。若能早期发现癌变位点并及时对其进行靶向治疗, 将有助于提高癌症的治愈率。伴随着纳米技术的发展, 用于癌症早期诊断成像和治疗的纳米材料的开发也得到了人们的广泛关注。文章介绍了一种基于核酸适体靶向肿瘤细胞的有机荧光纳米探针, 其制备过程快速简便, 所制得的纳米颗粒不仅表现出优异的靶向能力, 而且具有良好的生物相容性和稳定性, 该研究为肿瘤的靶向诊疗提供了有力工具。

关键词 肿瘤成像; 核酸适体; 纳米探针; 红苋烯

中图分类号 R 331 **文献标志码** A

Aptamer-Functionalized Rubrene-Nanoprobes for Tumor-Targeted Imaging

LI Chuansheng WU Yayun JIANG Tao ZHANG Pengfei GONG Ping CAI Lintao

(Shenzhen Bioactive Materials Engineering Lab for Medicine, Guangdong Key Laboratory of Nanomedicine, CAS Key Laboratory of Health Informatics, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Science, Shenzhen 518055, China)

Abstract Over the past twenty years, the morbidity and mortality of tumor in our country was increasing. If the the cancer could be detected at early stages, targeting therapy would be performed which contribute to improve the cure rate of cancer. With the development of nanotechnology, nanomaterials used in early diagnosis of cancer imaging and treatment have aroused wide concern. A kind of organic fluorescent nanoprobes based on aptamer for tumor-targeted imaging with rapid, simple synthetic process was developed in this research. The nanoprobes not only exhibit excellent targeting function but also have good biocompatibility and stability, and provide a powerful tool for further tumor diagnosis and treatment.

Keywords tumor imaging; aptamer; nanoprobes; rubrene

收稿日期: 2016-04-26 修回日期: 2016-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(81501591、21305152、21375141); 深圳市知识创新计划基础研究项目(JCYJ20130402103240486、JCYJ20140417113430607、KQCX20140521115045447); 中国科学院仪器专项(YZ201439)

作者简介: 李传胜, 硕士研究生, 研究方向为纳米探针与分子影像; 吴亚运, 硕士, 研究方向为纳米探针与分子影像; 姜涛, 硕士研究生, 研究方向为纳米探针与分子影像; 张鹏飞, 硕士, 研究方向为纳米探针与分子影像; 龚萍, 博士, 副研究员, 研究方向为生物纳米探针制备及其医学成像应用; 蔡林涛(通讯作者), 博士, 研究员, 研究方向为纳米功能材料与生物医用材料、分子诊断及靶向治疗, E-mail: lt.cai@siat.ac.cn。

1 引 言

据世界卫生组织发布的《2014 年世界癌症报告》所述,癌症已成为当今人类社会的主要杀手之一,同时全球新增癌症病例速度也在加快,而新增病例的一半来自亚洲,而亚洲新增病例主要在我国,因此我国已经成为全球新增病例数最多的国家^[1]。目前,大多数确诊为癌症的患者都已发展为癌症晚期,此时对患者进行治疗难度加大,因此如何早期发现肿瘤病进行干预是目前肿瘤治疗的重要手段和方法。随着近几十年来生物成像技术的不断发展和积累,其在生物领域中的应用被广泛研究^[2]。作为生物成像技术中的一个重要分支,荧光成像技术可以对复杂的生物系统和过程进行高空间和时间分辨率的、非侵入式的观察和分析。荧光成像技术的发展对细胞生物学、诊断学、临床研究的发展起到了积极的推进作用,已经成为有力的工具之一^[3-7]。近几十年来,随着纳米技术的发展,一系列的荧光纳米材料(如半导体量子点、金属纳米团簇、荧光染料包裹纳米颗粒等)被相继研发出来,特别是当这些纳米材料被连接上亲和配体时(如抗体、肽、核酸适配子、一些小分子),就可以特异性地对肿瘤的生物分子标志物进行检测和追踪成像,并用于癌症早期诊断和治疗^[8-10]。半导体荧光量子点具有较宽的吸收光谱和较窄的发射光谱,抗光漂白、高亮度,但其毒性是导致较难用于临床转化研究的一个重要瓶颈^[11-16]。而基于包裹小分子荧光染料的荧光纳米探针在最近几年得到了广泛关注。小分子荧光探针多数为疏水的,且光稳定性差、易漂白。通过选择生物相容性材料包裹构建有机荧光纳米探针,一方面可以提高染料在水溶液中的溶解能力;另一方面也可以提高其稳定性。目前已经有大量的研究将有机纳米荧光探针用于体外肿瘤细胞成像和体内肿瘤组织成像^[17-27]。

核酸适体(Aptamer)是一种短的 RNA/DNA 链,由 30~60 个核苷酸分子组成,可借助氢键、范德华力、疏水作用等折叠成特殊的二、三级结构,并且可以特异性地识别高亲和性的结合有机小分子到生物大分子蛋白质甚至整个细胞^[28-30]。核酸适配子于 20 世纪 90 年代通过配体指数富集系统进化技术(SELEX)被首次发现^[31,32]。随后,核酸适配子作为一个新的靶向配体被广泛应用于诊断和治疗领域^[33-36]。其相对于抗体分子表现出了较大的优势:一方面其分子量较小,更易接近肿瘤^[37],且其合成容易,价格便宜,在不影响其活性的情况下易修饰;另一方面,核酸适配子没有抗体的可结晶片段,不会对机体产生免疫刺激,以免产生负面影响^[38,39]。到目前为止,已经有一种核酸适配子应用到疾病治疗中,还有 10 种正处在临床试验^[40]。红荧烯(Rubrene)小分子染料,结构式见图 1,其分子式为 $C_{42}H_{28}$,是一种有机半导体材料,具有优异的光学性质,已广泛用在太阳能电池、发光二极管等中。因为它有着接近 100% 的光致量子产率的特性^[41,42],我们利用其优异的光学性质,尝试用于生物领域。本文通过简单的一步方法制备了生物相容红荧烯荧光纳米颗粒,将纳米颗粒同核酸适配体通过自组装结合在一起,用于肿瘤的靶向成像。

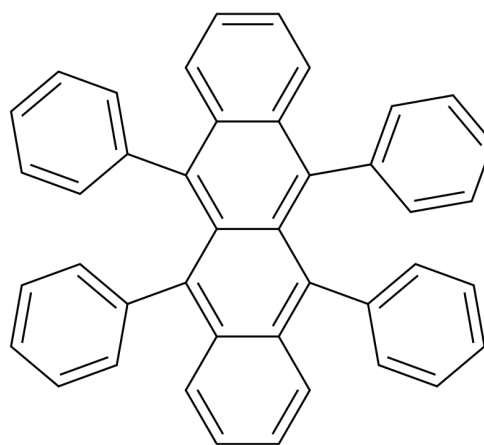


图 1 红荧烯的结构式

Fig. 1 Structural formula of Rubrene

2 材料和方法

2.1 实验材料和实验设备

实验材料: 二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC) 购于美国 Avanti Polar Lipids 公司, 红荧烯、HEPES (4-羟乙基哌嗪乙磺酸) 购于美国 Sigma-Aldrich 公司, DMEM (dulbecco's modified eagle medium, 改良杜氏伊格培养基) 培养基、胎牛血清 (FBS) 购于美国 HyClone 公司, CCK-8 试剂盒购于东仁化学科技(上海)有限公司。胆固醇修饰的核酸适配体来自于中国的生工生物工程股份有限公司, 胆固醇来自于中国的百灵威科技集团有限公司, DSPE-PEG2000 购于中国的艾韦特医药科技有限公司。

实验设备: 激光共聚焦显微镜(德国莱卡公司)、全波长酶标仪(美国赛默飞世尔公司)、C6 流式细胞仪(美国 BD 公司)、紫外-可见吸收分光光度计(美国珀金埃尔默股份有限公司)、爱丁堡 F900 荧光光谱仪(英国爱丁堡公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 红荧烯荧光纳米颗粒的合成

将二棕榈酰磷脂酰胆碱、胆固醇、DSPE-PEG2000、红荧烯溶于氯仿中, 加入到 5 mL 圆底烧瓶中旋干溶剂, 然后将 pH=7.6 的 HEPES 缓冲液加入圆底烧瓶中, 超声约 3 分钟得到红荧烯荧光纳米颗粒。制备核酸适体靶向的红荧烯荧光纳米颗粒, 需将溶解有核酸适体的 HEPES 缓冲液加入圆底烧瓶中, 超声约 3 分钟即可得到靶向荧光纳米颗粒。

2.2.2 红荧烯荧光纳米颗粒的表征

将已合成好的荧光纳米颗粒溶于超纯水中, 将其滴在镀碳膜高分辨铜网上, 经磷钨酸负染后, 用透射电镜(TEM)观察分析。

将已合成好的荧光纳米颗粒溶于超纯水中, 分别用马尔文粒度仪、紫外-可见吸收分光光度计、爱丁堡 F900 荧光光谱仪测其粒径、电位及

其吸收和发射光谱。

2.2.3 红荧烯纳米颗粒的稳定性分析

为了测定红荧烯纳米颗粒的稳定性, 需要配制不同 pH 值和含不同离子水溶液。不同 pH 值水溶液的配制方法是: 以 pH=7.2 的磷酸缓冲盐溶液(Phosphate Buffer Saline, PBS)为基础液, 用稀释过的 HCl 溶液和 NaOH 溶液对 PBS 溶液进行调节, 用 pH 计分别配制出 pH 值为 3、5、7、9 的溶液。在各溶液中加入相同量的红荧烯纳米颗粒, 用荧光光谱仪测各个溶液的荧光强度。

2.2.4 细胞的培养

本实验选择大鼠胶质瘤细胞系 C6 和正常人胚胎肾细胞系 293T 为实验对象。首先配制完全培养基, 该培养基由 DMEM 培养基加上 1% 双抗(青霉素和链霉素)及 10% 胎牛血清配制而成。C6 或 293T 细胞均匀地悬入到含有完全培养基的培养皿中, 放入到二氧化碳培养箱中培养, 待细胞所占培养皿区域达到 80% 左右时, 对细胞进行传代培养。

2.2.5 激光共聚焦实验

为了测定肿瘤细胞对红荧烯纳米颗粒的摄取情况及红荧烯纳米颗粒的靶向性能, 用激光共聚焦荧光显微镜对细胞进行成像观察。首先吸干培养皿中的培养基, 用 PBS 溶液对培养皿中的 C6 或 293T 细胞清洗一次, 1% 胰蛋白酶消化 2 分钟, 然后以每孔 3 000 个细胞的量将其铺于八孔板中。过夜培养后, 吸干原完全培养基, 分别加入含红荧烯纳米颗粒和具有靶向功能的核酸适体红荧烯纳米颗粒的 HBSS 溶液, 在二氧化碳培养箱中放置 30 分钟; 然后用 PBS 液清洗两次, 用 4% 多聚甲醛对细胞进行固定处理, 在二氧化碳培养箱中放置 10 分钟; 用 PBS 液清洗两次, 加入含 Hoechst 33258 的 PBS 液对细胞核进行染色, 同样在二氧化碳培养箱中放置 10 分钟后, 再用 PBS 液清洗两次, 用激光共聚焦显微镜对细胞进行成像观察。

2.2.6 流式细胞术实验

为了进一步测定红荧烯纳米颗粒的靶向性能和细胞对其的摄取情况,我们用流式细胞仪对其进行进一步的验证。用 1% 胰蛋白酶将 C6 或 293T 细胞消化 2 分钟,以每管 10 万个细胞的量置于 1.5 mL 离心管中,以 1 400 r/min 离心 4 分钟,去掉培养基,分别加入 300 μ L 含红荧烯纳米颗粒和具有靶向功能的核酸适体红荧烯纳米颗粒的 HBSS 溶液,在二氧化碳培养箱中放置半小时后,加入 PBS 液,离心去掉上清液。同样步骤再操作一次后,加入 PBS 液,用流式细胞仪对细胞进行分析检测。

2.2.7 CCK-8 细胞毒性实验

为了对荧光纳米颗粒的生物相容性进行评测,我们用 CCK-8 毒性实验来测量荧光纳米颗粒的毒性。将 C6 或 293T 细胞以每孔 4 000 个细胞的量铺于 96 孔板中,每孔中含 DMEM 完全培养基 100 μ L。过夜孵育后,将不同浓度的荧光纳米颗粒和具有靶向作用的核酸适体红荧烯纳米颗粒加入孔中,纳米颗粒最终浓度分别是 62.5 μ g/mL、125 μ g/mL、250 μ g/mL、500 μ g/mL、1 000 μ g/mL。24 小时后,去掉旧培养基,加入 100 μ L 新鲜的完全培养基,每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液,在二氧化碳培养箱中孵育 4 小时后,用全波长酶标仪测各孔的在 490 nm 处的光密度(OD)值。

3 结果与讨论

3.1 红荧烯荧光纳米颗粒的表征

按照文献方法^[43]我们分别获得了红荧烯荧光纳米颗粒及具有靶向作用的核酸适体红荧烯荧光纳米颗粒,其表征见图 2~4。合成的红荧烯荧光纳米颗粒负染后电镜观察,可以看到纳米颗粒呈球形,大小均一,形貌较好,粒径大小为 40 nm 左右。两种纳米颗粒的水合粒径都小于 100 nm,同时由于加入了胆固醇修饰的核酸适体,因此核

酸适体红荧烯荧光纳米颗粒的粒径相对较大。由于核酸适体是单链的 DNA,一般带负电荷,因此 AS1411-红荧烯荧光纳米颗粒的电位相对较低。吸收和发射光谱表明,无论红荧烯溶于氯仿还是包裹于纳米颗粒,其吸收光谱不变,均在 494 nm 和 530 nm 有吸收峰。而红荧烯荧光纳米颗粒的发射峰出现“红移”现象,但是荧光发射峰形状没有变化,说明核酸适体的加入对荧光纳米颗粒的吸收和发射光谱没有影响。由于采用一步自组装的方法将核酸适体固定在纳米颗粒上,不需要加入任何偶联试剂,因此,相比传统的化学偶联(如 EDC/NHS 等)更加便捷,同时可以在最大程度上保持生物分子的活性。

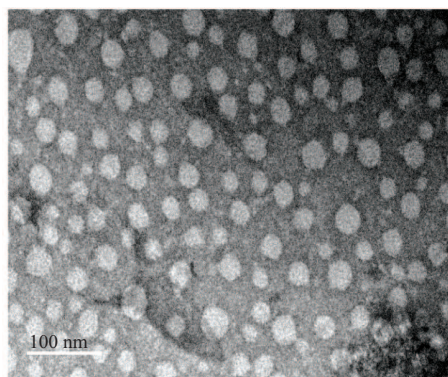


图 2 红荧烯纳米颗粒的透射电镜照片

Fig. 2 TEM image of Rubrene nanoparticles

3.2 红荧烯纳米颗粒的稳定性分析

红荧烯荧光纳米颗粒的荧光稳定性评价:在不同的 pH 溶液中和含不同高浓度的离子溶液中加入红荧烯荧光纳米颗粒,测其荧光强度,结果如图 5~6 所示。实验结果表明,红荧烯纳米颗粒在强酸和强碱中依然可以保持其荧光的稳定性。同样,在不同的高浓度盐溶液中,其在发射峰的荧光强度变化甚微。这可能是因为红荧烯本身不带电荷,以至于离子不会对其造成影响。

3.3 激光共聚焦实验结果

核酸适配子 AS1411 是一种富含 G(鸟嘌呤)

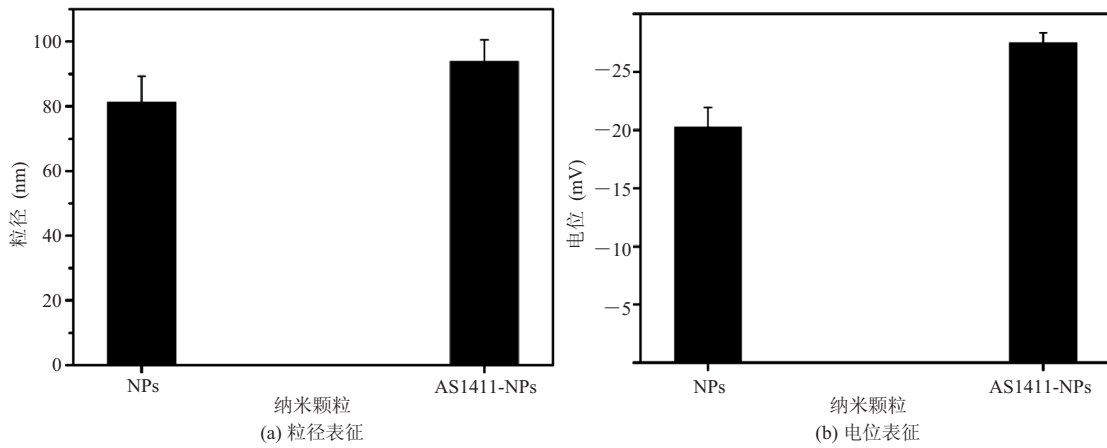


图 3 红荧烯纳米颗粒的粒径和电位表征

Fig. 3 Size and potential characterization of Rubrene nanoparticles

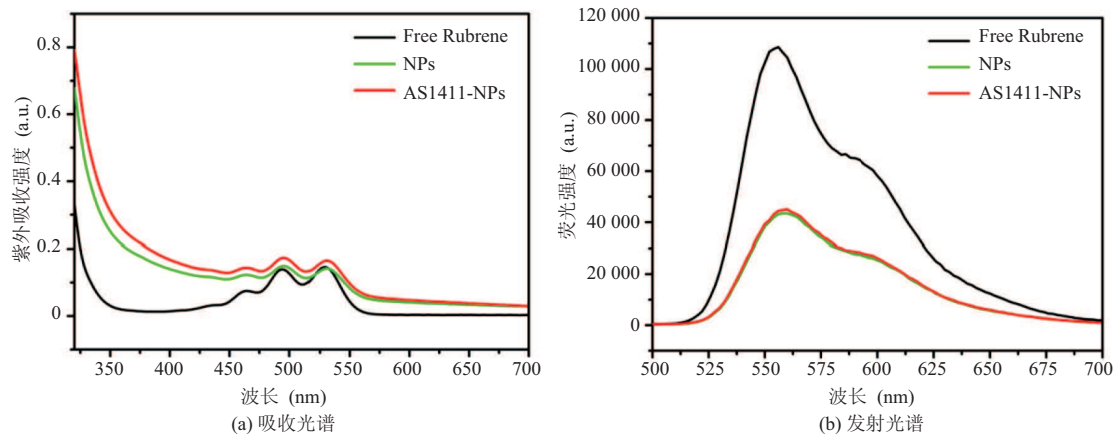


图 4 红荧烯染料和红荧烯荧光纳米颗粒的吸收和发射光谱

Fig. 4 Absorption and emission spectra of Rubrene and Rubrene fluorescent nanoparticles

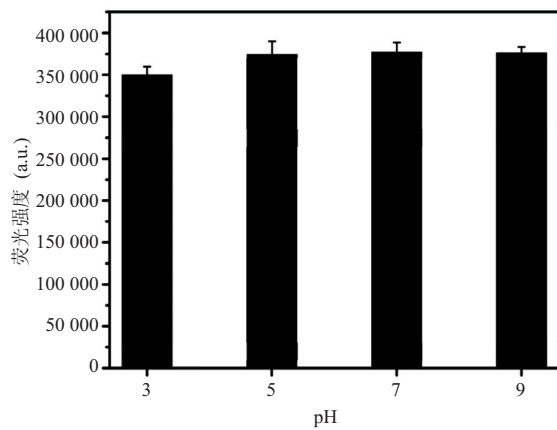


图 5 不同 pH 条件下红荧烯纳米颗粒的荧光稳定性

Fig. 5 Fluorescent stability of Rubrene fluorescent nanoparticles under different pH conditions

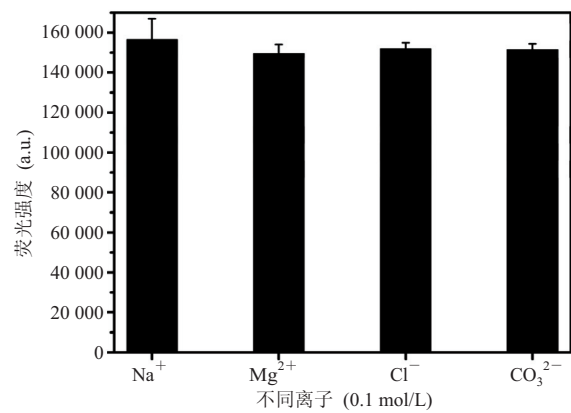


图 6 不同高浓度盐离子条件下红荧烯纳米颗粒的荧光稳定性

Fig. 6 Fluorescent stability of Rubrene fluorescent nanoparticles under different ions conditions

的短单链 DNA 片段^[44], 目前处于临床二期试验中, 能够靶向肿瘤细胞膜上的核仁素。在一般情况下, 正常细胞在细胞膜表面是不表达核仁素的, 而肿瘤细胞由于变异, 其在细胞膜上可以表达出大量的核仁素。在纳米颗粒上修饰上 AS1411 核酸适配体, 可以实现其特异性靶向在细胞膜表达出核仁素的肿瘤细胞。为了测定核酸适配体红苋烯荧光纳米颗粒的靶向效果, 我们选择细胞膜上高表达核仁素的肿瘤细胞系 C6 细胞, 并用正常细胞系 293T 细胞作为对照, 用激光共聚焦显微镜进行成像分析, 结果如图 7~8 所示。在 C6 细胞组中, 相对于无靶向功能的红苋烯荧光纳米颗粒, 核酸适配体红苋烯荧光纳米颗粒处理的大鼠胶质瘤 C6 细胞具有较强的荧光强度。同时, 我们对肿瘤细胞的细胞核进行了染色定位, 可以看到细胞摄取了纳米颗粒。在正常细胞 293T 组中, 无靶向功能的红苋烯荧光纳米颗粒和核酸适配体红苋烯荧光纳米颗粒处理的细胞都没有表现出较强的荧光信号; 另外, 也可以看

到, 所有纳米颗粒处理组相对于空白组都有一定的荧光信号出现, 这可能是细胞对纳米颗粒具有一定的非特异性内吞造成的。这些结果表明, AS1411 核酸适配体已经成功修饰在纳米颗粒表面, 并可以增加肿瘤细胞对纳米颗粒的摄取, 对肿瘤细胞具有较强的靶向性。

3.4 流式细胞术结果

采用流式细胞术进一步测试了红苋烯荧光纳米颗粒的靶向效果。红苋烯荧光纳米颗粒发射峰在 560 nm 左右, 所以采用 FL2 通道对细胞进行检测, 检测结果见图 9。由图可以看到, 在 293T 细胞组中 AS1411-红苋烯荧光纳米颗粒处理组和红苋烯荧光纳米颗粒处理组中细胞的荧光信号没有差异, 但相对于空白组, 却具有一定强度的信号, 进一步证实细胞无特异内吞作用; 在 C6 细胞组中, AS1411-红苋烯荧光纳米颗粒处理组中的细胞较红苋烯荧光纳米颗粒处理组表现出了较强的荧光信号, 进一步说明核酸适配体的靶向作用, 增加了肿瘤细胞对纳米颗粒的摄取。

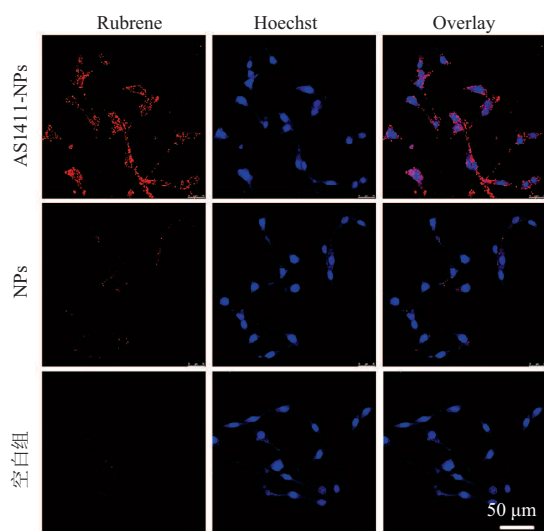


图 7 激光共聚焦检测核酸适配体红苋烯荧光纳米颗粒对 C6 肿瘤细胞的靶向效果

Fig. 7 Laser confocal fluorescence microscopy images of atpamer-functionalized Rubrene fluorescent nanoparticles for C6 cells

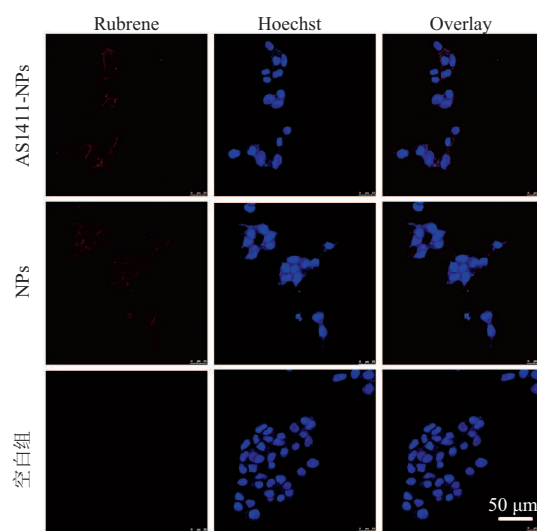


图 8 激光共聚焦检测核酸适配体红苋烯荧光纳米颗粒对 293T 正常细胞的靶向效果

Fig. 8 Laser confocal fluorescence microscopy images of atpamer-functionalized Rubrene fluorescent nanoparticles for 293T cells

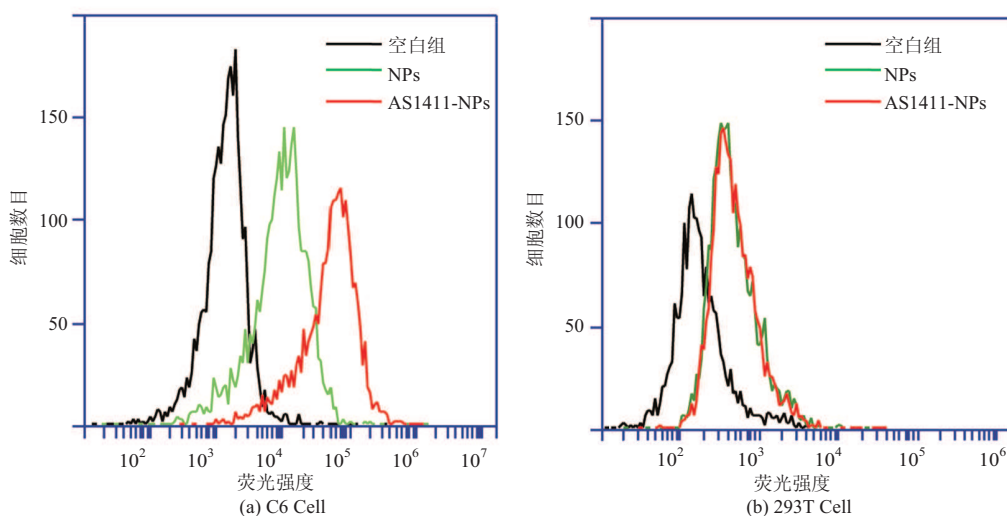


图 9 流式细胞术检测 AS1411-红荧烯荧光纳米颗粒的靶向效果

Fig. 9 Test result of targeting effect of AS1411- Rubrene fluorescent nanoparticles by FACS

3.5 红荧烯纳米颗粒对细胞的毒性实验

为了测定红荧烯纳米颗粒的毒性, 我们采用 CCK-8 毒性评测方法测试, 结果如图 10 所示。由图可以看到, 在 24 小时内, 随着纳米颗粒浓度的增加, 无论是红荧烯荧光纳米颗粒组还是核酸适配体红荧烯荧光纳米颗粒组, 正常细胞 293T 和肿瘤细胞 C6 的生长没有受到很大影响, 即使纳米颗粒的浓度达到 1 mg/mL, 正常细胞和肿瘤细胞的存活率依旧达到 80% 以上。这说明了红荧烯纳米颗粒具有优良的生物相容性, 对细胞的生长影响甚微。

4 结 论

本文利用自组装原理建立了一个简单快速的方法用于制备具有靶向作用的荧光纳米颗粒, 将胆固醇修饰的核酸适配体 AS1411 嵌入到脂质纳米颗粒中, 而红荧烯作为一种高效的光电材料, 广泛应用于发光二极管以提高有机发光二极管的效率和稳定性。我们利用其较好的荧光性质, 将其和适配体的靶向作用结合起来用于肿瘤细胞的成像。结果表明, 该纳米探针不仅具有良好的荧

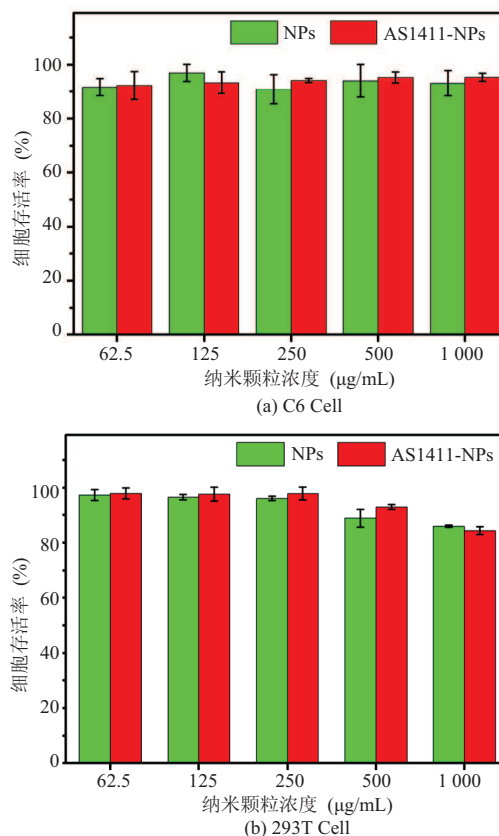


图 10 CCK-8 毒性检测

Fig. 10 Toxicity test of nanoparticles using CCK-8
光稳定性, 而且能够特异性靶向到肿瘤细胞表面, 同时具有良好的生物相容性, 为癌症的早期

诊断提供了新的工具。由于红荧烯的发射波长为可见光波段的荧光染料, 如果采用近红外荧光染料, 则可以将其应用于活体成像研究, 相关研究工作正在进行中。

参 考 文 献

- [1] Stewart BW, Wild CP. World Cancer Report 2014 [M]. IARC Nonserial Publication, 2015.
- [2] Kikuchi K. Design, synthesis and biological application of chemical probes for bio-imaging [J]. Chemical Society Reviews, 2010, 39(6): 2048-2053.
- [3] Domaille DW, Que EL, Chang CJ. Synthetic fluorescent sensors for studying the cell biology of metals [J]. Nature Chemical Biology, 2008, 4(3): 168-175.
- [4] Kobayashi H, Ogawa M, Alford R, et al. New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging [J]. Chemical Reviews, 2010, 110(5): 2620-2640.
- [5] Duong TQ, Kim JS. Fluoro-and chromogenic chemodosimeters for heavy metal ion detection in solution and biospecimens [J]. Chemical Reviews, 2010, 110(10): 6280-6301.
- [6] Demchenko AP. The concept of λ -ratiometry in fluorescence sensing and imaging [J]. Journal of Fluorescence, 2010, 20(5): 1099-1128.
- [7] Lee DE, Koo H, Sun IC, et al. ChemInform abstract: multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis [J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(7): 2656-2672.
- [8] Liu Z, Cai W, He L, et al. In vivo biodistribution and highly efficient tumour targeting of carbon nanotubes in mice [J]. Nature Nanotechnology, 2007, 2(1): 47-52.
- [9] Weissleder R, Kelly K, Sun EY, et al. Cell-specific targeting of nanoparticles by multivalent attachment of small molecules [J]. Nature Biotechnology, 2005, 23(11): 1418-1423.
- [10] Lee ES, Na K, Bae YH. Polymeric micelle for tumor pH and folate-mediated targeting [J]. Journal of Controlled Release, 2003, 91(1-2): 103-113.
- [11] Kuno M, Fromm DP, Hamann, HF, et al. Nonexponential "blinking" kinetics of single CdSe quantum dots: a universal power law behavior [J]. Journal of Chemical Physics, 2000, 112(7): 3117-3120.
- [12] Crouch CH, Sauter O, Wu X, et al. Facts and artifacts in the blinking statistics of semiconductor nanocrystals [J]. Nano Letters, 2010, 10(5): 1692-1698.
- [13] Stewart MH, Susumu K, Mei BC, et al. Multidentate poly(ethylene glycol) ligands provide colloidal stability to semiconductor and metallic nanocrystals in extreme conditions [J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 132(28): 9804-9813.
- [14] Yong KT, Law WC, Liu LW, et al. Nanotoxicity assessment of quantum dots: from ellular to primate studies [J]. Chemical Society Reviews, 2013, 42(3): 1236-1250.
- [15] Tsoi KM, Dai Q, Alman BA, et al. Are quantum dots toxic? Exploring the discrepancy between cell culture and animal studies [J]. Accounts of Chemical Research, 2013, 46(3): 662-671.
- [16] Smith WE, Brownell J, White CC, et al. In vitro toxicity assessment of amphiphilic polymer-coated CdSe/ZnS quantum dots in two human liver cell models [J]. ACS Nano, 2012, 6(11): 9475-9484.
- [17] An FF, Ye J, Zhang JF, et al. Non-blinking, highly luminescent, pH- and heavy-metal-ion-stable organic nanodots for bio-imaging [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2013, 1(25): 3144-3151.
- [18] Li M, Feng LH, Lu HY, et al. Tetrahydro[5] helicene-based nanoparticles for structure-dependent cell fluorescent imaging [J]. Advanced Functional Materials, 2014, 24(28): 4405-4412.
- [19] Petkau K, Kaeser A, Fischer I, et al. Pre- and postfunctionalized self-assembled π -conjugated fluorescent organic nanoparticles for dual targeting [J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(42): 17063-17071.
- [20] Jana A, Devi KS, Maiti TK, et al. Perylene-3-ylmethanol: fluorescent organic nanoparticles as a single-component photoresponsive nanocarrier with real-time monitoring of anticancer drug release [J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(18): 7656-7659.
- [21] Fery-Forgues S. Fluorescent organic nanocrystals and non-doped nanoparticles for biological applica-

- tions [J]. *Nanoscale*, 2013, 5(18): 8428-8442.
- [22] Jana A, Nguyen KT, Li Xin, et al. Perylene-derived single-component organic nanoparticles with unbleached emission: efficient anticancer drug carriers with real-time monitoring of drug release [J]. *ACS Nano*, 2014, 8(6): 5939-5952.
- [23] Zhang JF, An FF, Li YN, et al. Simultaneous enhanced diagnosis and photodynamic therapy of photosensitizer-doped perylene nanoparticles via doping, fluorescence resonance energy transfer, and antenna effect [J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(73): 8072-8074.
- [24] Genin E, Gao ZH, Varela JA, et al. Nanoparticles: "hyper-bright" near-infrared emitting fluorescent organic nanoparticles for single particle tracking [J]. *Advanced Materials*, 2014, 26(14): 2258-2261.
- [25] Gao YT, Feng GX, Jiang T, et al. Biocompatible nanoparticles based on Diketo-Pyrrolo-Pyrrole (DPP) with aggregation-induced Red/NIR emission for in vivo two-photon fluorescence imaging [J]. *Advanced Functional Materials*, 2015, 25(19): 2857-2866.
- [26] Shao AD, Xie YS, Zhu SJ, et al. Far-red and near-IR AIE-active fluorescent organic nanoprobe with enhanced tumor-targeting efficacy: shape-specific effects [J]. *Angewandte Chemie*, 2015, 127(15): 7383-7388.
- [27] Lan MH, Zhang JF, Zhu XY, et al. Highly stable organic fluorescent nanorods for living-cell imaging [J]. *Nano Research*, 2015, 8(7): 2380-2389.
- [28] Nimjee SM, Rusconi CP, Sullenger BA. Aptamers: an emerging class of therapeutics [J]. *Annual Review Medicine*, 2005, 56(1): 555-583.
- [29] Bunka DH, Stockley PG. Aptamers come of age at last [J]. *Nature Review Microbiology*, 2006, 4(8): 588-596.
- [30] Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. SELEX—A (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands [J]. *Biomolecular Engineering*, 2007, 24(4): 381-403.
- [31] Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage-T4 DNA-polymerase [J]. *Science*, 1990, 249(4968): 505-510.
- [32] Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. *Nature*, 1990, 346(6287): 818-822.
- [33] Sefah K, Phillips JA, Xiong XL, et al. Nucleic acid aptamers for biosensors and bio-analytical applications [J]. *Analyst*, 2009, 134(9): 1765-1775.
- [34] Mairal T, Özalp VC, Sánchez PL. Aptamers: molecular tools for analytical applications [J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2008, 390(4): 989-1007.
- [35] Shum KT, Zhou JH, Rossi JJ. Aptamer-based therapeutics: new approaches to combat human viral diseases [J]. *Pharmaceuticals*, 2013, 6(12): 1507-1542.
- [36] Zhou JH, Bobbin ML, Burnett JC, et al. Current progress of RNA aptamer-based therapeutics [J]. *Frontiers in Genetics*, 2012, 3: 234.
- [37] Hicke BJ, Stephens AW, Gould T, et al. Tumor targeting by an aptamer [J]. *Journal of Nuclear Medicine, Official Publication Society of Nuclear Medicine*, 2006, 47(4): 668-678.
- [38] Daeron M. Fc receptor biology [J]. *Annual Review of Immunology*, 1997, 15(1): 203-234.
- [39] Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc-receptors as regulators of immunity [J]. *Advances in Immunology*, 2007, 96: 79-204.
- [40] Lao YH, Phua KK, Leong KW. Aptamer nanomedicine for cancer therapeutics: barriers and potential for translation [J]. *ACS Nano*, 2015, 9(3): 2235-2254.
- [41] 李天乐, 李晓, 李文连. 红荧烯衍生物的红光电致发光器件及其在照明中的应用 [J]. *功能材料*, 2012, 43(22): 3171-3174.
- [42] 邓金祥, 康成龙, 杨冰, 等. 真空蒸镀红荧烯薄膜及其形貌分析 [J]. *真空科学与技术学报*, 2012, 32(8): 678-681.
- [43] Cao ZH, Tong R, Mishra A, et al. Reversible cell-specific drug delivery with aptamer-functionalized liposomes [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, 48(35): 6494-6498.
- [44] Bates PJ, Laber DA, Miller DM, et al. Discovery and development of the G-rich oligonucleotide AS1411 as a novel treatment for cancer [J]. *Experimental & Molecular Pathology*, 2009, 86(3): 151-164.