

利安隆是一家全球领先的生物化学平台型公司，公司秉承以创新驱动发展的经营理念，通过全球化布局实现生产与运营的高效协同，聚焦化学和生物领域前瞻、高效、成熟的新技术，为客户提供高品质的产品和服务，做细分行业的领导者。

为实现百年利安隆品牌的愿景，公司规划布局了第一生命曲线——高分子材料抗老化业务、第二生命曲线——润滑油添加剂业务、第三生命曲线——生命科学业务，基于三条业务曲线扎实的基本盘，公司持续扩展新业务的管理能力、实体经济运营能力和全球营销能力，我们又拓展布局了新兴业务——聚酰亚胺 (PI) 等新材料领域，持续推动公司高质量发展。

利安隆坚持以“客户至上、奋斗为本，创新驱动、追求卓越，简单高效、开放包容”的核心价值观，践行“用化学和生物创造多彩生活”的企业使命，力争成为客户信赖、员工自豪、社会尊重、可持续发展的世界一流企业。



天津汉沽基地 TIANJIN HANGU



宁夏中卫基地 NINGXIA ZHONGWEI



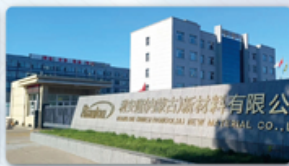
浙江常山基地 ZHEJIANG CHANGSHAN



河北衡水基地 HEBEI HENGSHUI



广东珠海基地 GUANGDONG ZHUHAI



内蒙古赤峰基地 NEIMENGGU CHIFENG



辽宁锦州基地 LIAONING JINZHOU

## 全球认证



美国

FDA



欧盟

10/2011/EU



日本

JCI



全线产品

REACH

## 全球客户

通过近三十年的积累和发展，公司客户遍及全球，几乎涵盖所有高分子材料及各个应用领域全球著名的高分子材料公司。



36/50

全球化工50强



30/57

TFS 57家



09/10

全球涂料10强

天津利安隆新材料股份有限公司

地址:天津华苑产业区开华道20号智慧山西塔20层 邮编:300384

电话:022-83718769

邮箱:market@rianlon.com

公司网址:www.rianlon.com



# 温敏聚合物荧光纳米温度计研究进展

葛淑凡, 白亚焯, 张妍, 杨萌, 张荣月, 王敏, 乔娟\*

(北京石油化工学院 新材料与化工学院, 北京 102617)

**摘要:** 活细胞中存在大量的生化反应, 细胞利用这些反应中产生和释放的自由能进行各种活动, 在将细胞内多余的能量以热能的形式排出体外的过程中, 细胞自身温度升高, 从而诱导基因表达、肿瘤代谢等。用理想的荧光探针实现纳米尺度上对细胞内的温度进行灵敏测量, 在生物化学及分析领域是一个巨大的挑战。利用聚合物可调节的临界相变温度范围和良好的生物相容性优势, 温敏聚合物荧光纳米温度计能够在细胞水平, 以高时空分辨率准确地测定温度, 已引起人们的广泛关注。该文从温敏聚合物和荧光染料两方面总结了温敏聚合物荧光纳米温度计的设计和制备策略; 综述了近年来温敏聚合物荧光纳米温度计在细胞中温度测定及荧光成像的应用; 从开发温敏聚合物单体和荧光染料、探究分子连接和改性方法、设计灵敏度更高、尺寸更小的聚合物纳米温度计、构建新型比率型纳米温度计等方向, 展望了适用于细胞内温度传感成像的温敏聚合物荧光纳米温度计的未来发展方向。

**关键词:** 温敏聚合物; 荧光; 纳米温度计; 细胞; 温度成像

**中图分类号:** O644; TB383.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2025) 08-1696-10

## Research progress on thermo-sensitive fluorescent polymer nano-thermometers

GE Shufan, BAI Yaxuan, ZHANG Yan, YANG Meng,  
ZHANG Rongyue, WANG Min, QIAO Juan\*

(College of New Materials and Chemical Engineering, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China)

**Abstract:** A series of biochemical reactions occur in living cells, producing and releasing energy required for various cellular activities. Excess energy is released in the form of heat, leading to an increase in cell temperature and thus influencing the gene expression, tumor metabolism, etc. Using ideal fluorescent probes to achieve sensitive measurement of intracellular temperature at the nanoscale is a huge challenge in the fields of biochemistry and analysis. By utilizing the adjustable critical phase transition temperature range and good biocompatibility of polymers, temperature sensitive polymer fluorescent nanothermometers can accurately measure temperature at the cellular level with high spatiotemporal resolution, which has attracted widespread attention. Herein, the design and preparation strategies of thermosensitive polymer fluorescent nanothermometers were summarized from the aspects of thermosensitive polymers and fluorescent dyes. The applications of thermosensitive polymer fluorescent nanothermometers in temperature measurement and fluorescence imaging in cells in recent years were reviewed. From the development of temperature sensitive polymer monomers and fluorescent dyes, exploration on molecular connection and modification methods, design of polymer nanothermometers with higher sensitivity and smaller size, and construction of new ratio type nanothermometers, the future development of temperature sensitive polymer fluorescent nanothermometers suitable for intracellular temperature

收稿日期: 2024-09-10; 定用日期: 2024-10-14; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240692

基金项目: 国家自然科学基金项目 (22074148); 北京石油化工学院致远科研基金项目 (2024004); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (2023310325)

作者简介: 葛淑凡 (1998—), 女, 硕士生, E-mail: geshufan@bipt.edu.cn. 联系人: 乔娟 (1980—), 女, 教授, E-mail: qiaojuan@bipt.edu.cn.

sensing imaging was discussed.

**Key words:** thermo-sensitive polymers; fluorescence; nano-thermometers; cells; temperature imaging

细胞是生物体最基本的结构和功能单元, 细胞温度是调节细胞功能的关键参数, 受到细胞内生化反应的影响<sup>[1-3]</sup>, 其变化取决于细胞内的新陈代谢<sup>[4]</sup>。细胞中的线粒体通过氧化、磷酸化等各种生化反应释放大量的热量<sup>[5]</sup>, 从而引起细胞温度升高。在正常细胞中, 线粒体数量和活性变化会导致细胞和器官之间的温度在一定范围内波动, 当其波动超出正常范围时, 可视为一些疾病的临床症状。因此, 温度监测和细胞内热成像不仅有助于解释细胞事件, 而且提供了在细胞水平上发现许多疾病的可能性, 因此基于温度变化的诊断和治疗方法被研究。例如: 患有线粒体疾病的个体, 由于氧化磷酸化受损而表现出显著的脑温度下降<sup>[6]</sup>, 而癌细胞和炎性细胞则因为线粒体代谢增强, 出现细胞温度升高的现象<sup>[7]</sup>。总之, 细胞内温度变化与基因表达、细胞分裂、代谢、酶效应等细胞事件相互关联并彼此影响<sup>[8-9]</sup>。因此, 测量细胞内温度对理解复杂的生物过程具有重要意义。

然而, 在复杂的活细胞中, 以高时空分辨率准确监测温度, 将是具有挑战性的研究课题, 检测细胞内温度分布, 将是科学界的研究热点之一<sup>[10]</sup>, 但只有精确到纳米级的温度测量才能达到温度传感和成像的要求, 传统温度计对此无计可施。与传统的热电偶<sup>[11]</sup>和红外传感<sup>[12]</sup>温度检测等方法相比, 荧光温度测量已经成为细胞和线粒体温度检测的重要手段<sup>[13]</sup>。因为荧光技术具有生物侵入性低、响应快速、操作简单、灵敏度和时空分辨率高等优点<sup>[14]</sup>, 已广泛应用于多个领域<sup>[15]</sup>。

随着光学技术的快速发展, 人们利用荧光显微镜在活细胞中建立了多种温度传感方法, 它们具有如下优点: 荧光显微镜可以在生理温度范围内准确地记录荧光强度、荧光寿命等多种荧光特征随温度的变化; 荧光显微成像技术具有较高的时空分辨率, 可作为活细胞测温的非接触技术; 荧光显微成像技术可以获得高分辨率的光学图像和选定深度的聚焦图像。因此, 包括荧光成像<sup>[16]</sup>、双光子荧光成像<sup>[17]</sup>和荧光寿命成像<sup>[18]</sup>在内的荧光显微技术已被应用于细胞内温度传感。

近年来, 随着纳米技术的快速发展, 新型材料可能会弥补荧光材料的局限性。有机染料<sup>[19]</sup>、共轭聚合物<sup>[20]</sup>、量子点 (QDs)<sup>[21]</sup>、稀土发光纳米粒子 (RENPs)<sup>[22]</sup>、纳米管<sup>[23]</sup>等, 被用于开发不同的荧光温度计。其中, 聚合物纳米温度计含有多功能反

应基团, 具有良好的生物相容性, 是细胞内温度传感和成像的重要材料。目前, 基于温敏聚合物、温度诱导聚合物相变和聚合物热响应纳米颗粒<sup>[24]</sup>、溶致变色染料<sup>[25]</sup>等的聚合物纳米温度计已有相关报道, 但大多集中于纳米材料在纳米尺度上的感温性能研究, 较少涉及利用聚合物纳米材料进行细胞内温度传感和成像的研究。

本文拟从温敏聚合物荧光纳米温度计的制备和应用两方面阐述其在设计、组合、性能以及在细胞内温度传感和成像等特殊应用的优势, 综述近年来基于温敏聚合物荧光纳米温度计的研究进展, 最后展望适用于细胞内温度传感成像的温敏聚合物荧光纳米温度计的未来发展方向。

## 1 温敏聚合物荧光纳米温度计的制备

荧光温敏聚合物纳米温度计采用荧光信号指示来显示温敏相变部分, 具有连续、可逆、不损坏样品的特点。聚合物荧光纳米温度计通常是由温敏聚合物和荧光染料 (“指示” 染料) 组成, 以此实现温度传感的作用。荧光温敏聚合物纳米温度计的温度响应机理为: 温敏聚合物的相变可以转化为荧光染料信号<sup>[26]</sup>, 并随着环境温度的变化而发生光学性能或发射特性的变化。如图 1 所示, 首先, 荧光染料与温敏聚合物结合, 制成温敏聚合物荧光纳米温度计; 然后, 通过测量荧光信号的变化, 简单快速地确定活细胞温度的变化。当温度低于最低临界溶解温度 (LCST) 时, 温敏聚合物呈链状; 当温度高于 LCST 后, 温敏聚合物响应当下环境温度, 由链状转变为球状<sup>[27-28]</sup>。与此同时, 可以观察到作为 “指示” 部分的荧光染料的信号传输。

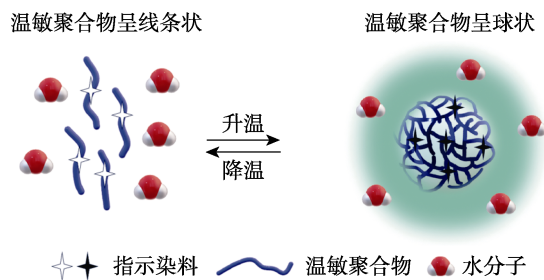


图 1 聚合物相变过程和聚合物荧光纳米温度计的温度响应机理示意图

Fig. 1 Schematic diagram of polymer phase transition process and temperature response mechanism of polymer fluorescence nanothermometer

### 1.1 温敏聚合物

温敏聚合物可在很大程度上响应外部温度刺激，并对自身结构作出相应调整，作为制备纳米温度计的原材料受到广泛的关注<sup>[29]</sup>。温度响应性聚合物属于物理刺激响应材料，是研究较早、发展较成熟的一类智能聚合物，多用于生命医学领域。在生物体的代谢过程中，发烧、炎症甚至癌症等病征往往伴随着机体温度的异常变化。选用不同温度响应范围的温敏聚合物，可以实现聚合物荧光纳米温度计的温度监测。常见的温敏聚合物单体包括 *N*-异丙基丙烯酰胺 (NIPAM)<sup>[30]</sup>、*N*-异丙基甲基丙烯酰胺 (NIPMAM)<sup>[31]</sup>、二乙二醇二甲基丙烯酸酯 (OEGMA)<sup>[32]</sup>、*N*-正丙基丙烯酰胺 (NNPAM)<sup>[33]</sup> 和 *N*-乙烯基己内酰胺 (Vca) 等<sup>[34]</sup>。以上述温敏聚合物单体制备的聚合物荧光纳米温度计的温度响应范围为 15~50 °C。需要注意的是，温敏范围还取决

于荧光染料和共聚物主链中的共聚单体。

在众多温度响应性聚合物中，聚(*N*-异丙基丙烯酰胺) (PNIPAM) 应用最为广泛。因为 PNIPAM 的结构简单、价格便宜，且其 LCST (32 °C 左右) 与人体的正常体温 (36.5 °C 左右) 接近。另外，PNIPAM 还可通过改变聚合物的相对分子质量或者与其他单体共聚来调节其 LCST<sup>[35-36]</sup>。近年来，PNIPAM 制备的具有温度响应性的载体已被广泛用于药物递送<sup>[37]</sup>、基因转染<sup>[38]</sup>和生物成像<sup>[39]</sup>等研究领域。

### 1.2 荧光染料

根据热响应机理，用于制备聚合物荧光纳米温度计的荧光染料可分为溶致变色染料、激发态分子内电荷转移染料和分子间  $\pi$ - $\pi$  堆积染料。

#### 1.2.1 溶致变色染料

图 2 为几种典型的溶致变色染料结构式<sup>[40-47]</sup>。

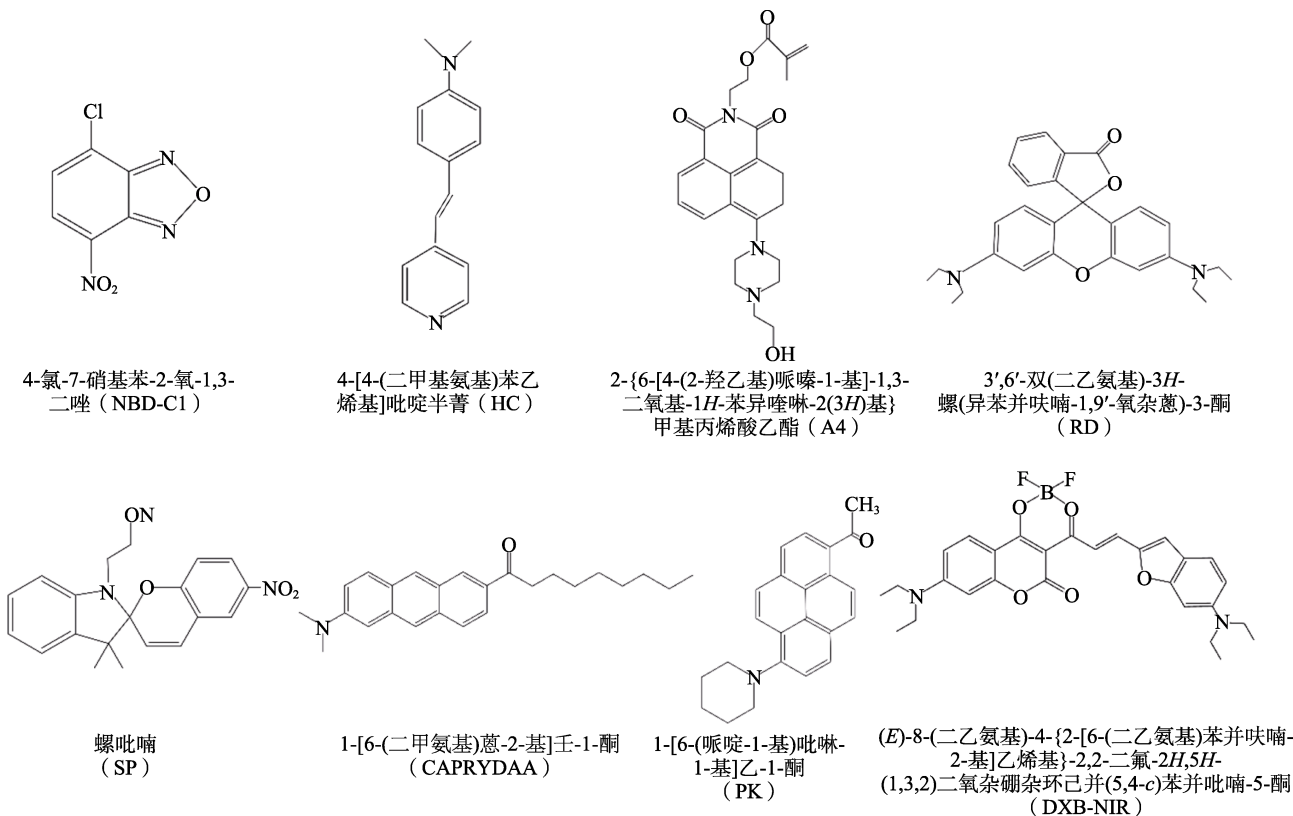


图 2 几种溶致变色染料结构式<sup>[40-47]</sup>

Fig. 2 Structure of several solvatochromic dyes used for the fluorescent polymer nano-thermometers<sup>[40-47]</sup>

此类染料的共性在于染料的吸收光谱和荧光光谱随着溶剂极性的改变而改变，并导致变色现象，这归因于染料在极性和非极性溶剂中表现为两种不同的共振结构 (图 3a)，如质子化和去质子化<sup>[40]</sup>、苯型和醌型<sup>[41]</sup>、两性离子和醌型<sup>[44]</sup>。此外，通过紫外-可见吸收光谱，并利用密度泛函理论计算，可以解释染料的荧光强度随溶剂极性的变化<sup>[48]</sup>。因此，

极性溶剂的介电常数和氢键对荧光信号的影响很大。随着温敏聚合物引起的微环境的变化，荧光强度通常会随着温度的升高而增加，如 7-硝基苯吡喃丙烯酸酯 (NBDAA)<sup>[49]</sup>、半菁<sup>[41]</sup>和 2-{6-[4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基]-1,3-二氧基-1*H*-苯异喹啉-2(3*H*)基}甲基丙烯酸乙酯，这对于细胞内温度传感在复杂生物基质中的应用尤为重要。

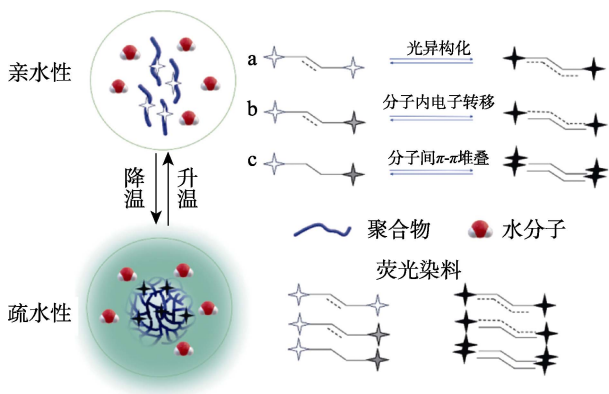


图 3 热响应聚合物调节荧光染料信号变化的机理示意图  
Fig. 3 Schematic diagram of mechanism of fluorescent dyes signal change tuned by thermo-sensitive polymer

GOTA 等<sup>[49]</sup>和 CHUMA 等<sup>[50]</sup>报道了一系列关于

硝基苯并噻二唑类 (NBD) 衍生物作为单发射荧光染料的改性和性能的研究, 并利用溶致变色染料 (NBD 单元) 修饰聚合物作为纳米温度计, 通过荧光成像方法实现了细胞内温度传感<sup>[49]</sup>。

### 1.2.2 分子内电荷转移染料

与单发射荧光探针相比, 分子内电荷转移染料 (图 4) 通常具有自校准信号的比例荧光<sup>[51-53]</sup>。此类型的荧光染料是基于供体- $\pi$ 键-受体 (D- $\pi$ -A) 原理设计的 (图 3b)。供体通常选择量子产率高、消光系数大的基团, 并具有响应环境极性变化的特性<sup>[54]</sup>; 而受体通常选择具有电子共轭作用的吸电子芳香基团<sup>[55]</sup>。基于此策略, 利用具有分子内电荷转移的荧光分子合成的聚合物温度计, 通常表现为此消彼长的 2 个荧光发射峰。

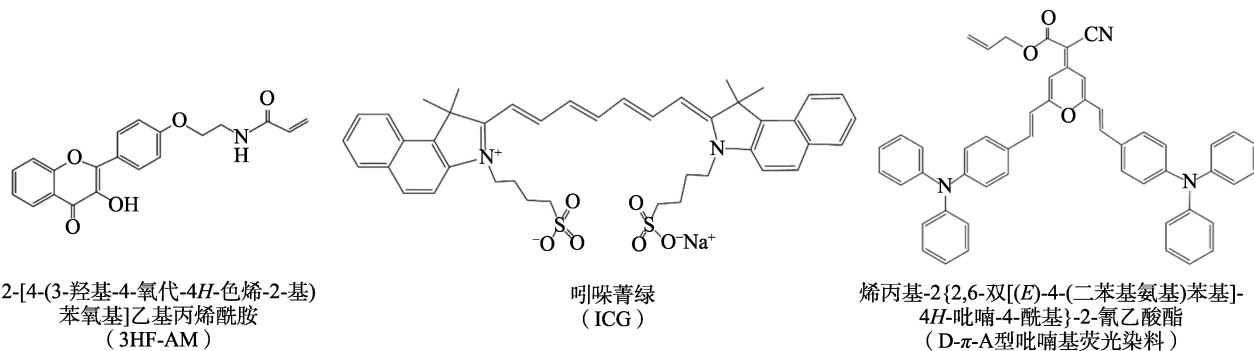


图 4 几种激发态分子内电荷转移染料的结构式<sup>[51-53]</sup>

Fig. 4 Structure of several excited state intramolecular charge transfer dyes<sup>[51-53]</sup>

### 1.2.3 分子间 $\pi$ - $\pi$ 堆积染料

图 5 为几种典型的分子间  $\pi$ - $\pi$  堆积染料<sup>[56-60]</sup>。温敏聚合物的结构因荧光分子中荧光基团的旋转抑制或二聚体的形成而坍塌, 导致分子间  $\pi$ - $\pi$  堆积染料的荧光强度随之发生变化<sup>[61]</sup> (图 3c)。如氟硼二吡咯荧光染料 (BODIPY) 会因为吡啶基团抑制旋转造成分子间  $\pi$ - $\pi$  堆积, 进而导致荧光量子产率急

剧下降<sup>[62]</sup>。由此可见, 吡啶单元的  $\pi$ - $\pi$  堆积对发射性能有重要的影响。荧光染料苝<sup>[63]</sup>具有聚集诱导发射 (AIE) 性质, 在非极性环境 (如疏水溶剂) 中会发生分解, 其分子发射荧光强度会随着单体发射的增加而降低。通常, 当温度升高时, 分子间  $\pi$ - $\pi$  堆积染料与温敏聚合物结合设计的纳米温度计的分子发射荧光强度会降低。

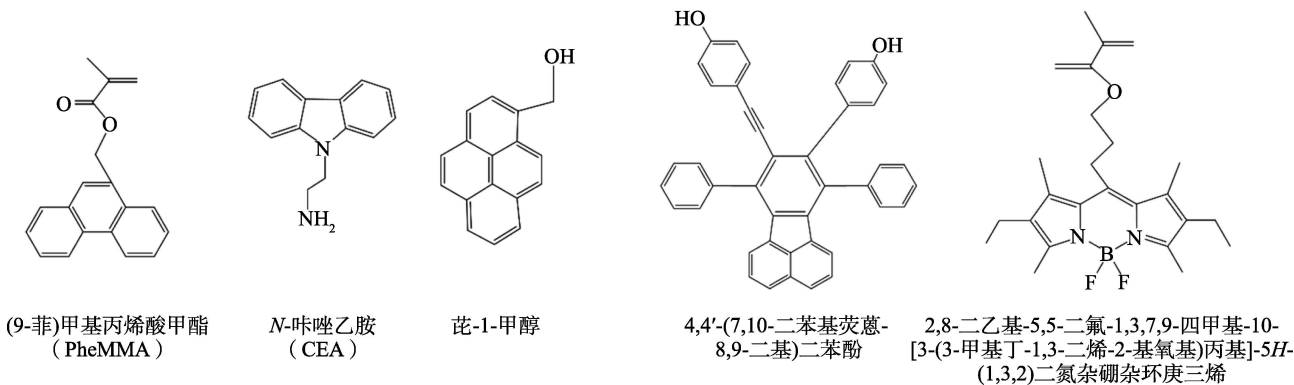


图 5 几种典型的分子间  $\pi$ - $\pi$  堆积染料的结构式<sup>[56-60]</sup>

Fig. 5 Structure of intermolecular  $\pi$ - $\pi$  stacking dyes<sup>[56-60]</sup>

### 1.3 温敏聚合物和荧光染料的结合

通过自由基聚合 (FRA)<sup>[43]</sup>、可逆加成-断裂链转移聚合 (RAFT)<sup>[64]</sup>和原子转移自由基聚合 (ATRP)<sup>[65]</sup>等方法, 将温敏聚合物与荧光染料结合, 制备荧光温敏聚合物。其中, RAFT 和 ATRP 均易于制备嵌段共聚物<sup>[66-67]</sup>, 并将活性引发的转移试剂嵌入其中<sup>[68]</sup>。目前, 用于制备聚合物纳米温度计的聚合物主要有线型聚合物 (无规共聚物、嵌段共聚物和接枝共聚物) 和交联共聚物 (聚合物凝胶和纳米颗粒), 其中, 交联共聚物凝胶可以进行高

灵敏度和高分辨率的细胞内温度传感<sup>[49]</sup>。然而, 由于交替结构和凝胶相对尺寸较大, 在表征细胞器之间的温度分布方面存在不足。聚合物纳米温度计具有分子性质, 能很好地分散在细胞器内, 已应用于细胞内温度成像研究。

## 2 温敏聚合物荧光纳米温度计的应用

表 1 为用于细胞内热传感和成像的聚合物荧光纳米温度计的温敏特性。

表 1 聚合物荧光纳米温度计的温敏特性  
Table 1 Temperature-sensitive properties of polymer fluorescent nanothermometers

| 序号 | 荧光染料              | 温敏聚合物            | 刺激响应温度/°C | 发射波长/nm | 性能        |       |  | 类型              | 参考文献 |
|----|-------------------|------------------|-----------|---------|-----------|-------|--|-----------------|------|
|    |                   |                  |           |         | 温度分辨率/°C  | 生物相容性 | 其他                                     |                 |      |
| 1  | ICG               | PEI, PF-127      | 22.0~40.0 | 800~840 | —         | —     | —                                      | 胶束大小膨胀/收缩控制荧光信号 | [52] |
| 2  | NBD-AA            | PNIPAM           | 27.0~33.0 | 520~573 | 0.29~0.50 | 良好    | —                                      | —               | [67] |
| 3  | DBD-AA            | PNNPAM           | 29.0~39.0 | 520~573 | 0.18~0.58 | 良好    | 空间分辨率: 200 nm                          | 微环境极性变化         | [69] |
| 4  | NBD-Cl, RhB       | PNIPAM           | 28.0~40.0 | 510~670 | 0.30~0.50 | 良好    | —                                      | —               | [70] |
| 5  | AMC               | PNIPAM           | 24.0~44.0 | 400~500 | —         | 良好    | —                                      | —               | [71] |
| 6  | TRICT, HMA        | Pluronic P85     | 20.0~37.0 | 500~600 | —         | —     | 时间分辨率: 10.5 ms (20 °C)、25.9 ms (37 °C) | —               | [72] |
| 7  | RhB               | PFBT, PFPV       | 10.0~70.0 | 500~650 | —         | —     | 空间分辨率: 20~160 nm                       | 光收集和放大的能量转移     | [73] |
| 8  | NBD-Cl            | PNIPAM           | 31.8~38.5 | 510~670 | 0.30~0.50 | 良好    | —                                      | —               | [74] |
| 9  | TPEBT             | P(NIPAM-co-TPSS) | 32.0~40.0 | 420~640 | —         | —     | —                                      | 胶束大小膨胀/收缩控制荧光信号 | [75] |
| 10 | W-VO <sub>2</sub> | PEG              | 35.0~45.0 | —       | 0.30      | 良好    | —                                      | 光收集和放大的能量转移     | [76] |

注: ICG 为吖啶菁绿; DBD-AA 为 *N*-{2-[(7-*N,N*-二甲氨基磺酰基)-2,1,3-苯并噁二唑-4-基](甲基)氨基}乙基-*N*-甲基丙烯酰胺; NBD-AA 为 7-硝基苯并咪唑丙烯酸酯; RhB 为罗丹明 B; AMC 为 7-氨基-4-甲基香豆素; TRICT 为异硫氰酸四甲基罗丹明; HMA 为甲基丙烯酸羟磷索; TPEBT 为 3-乙基-2-[4-(1,2,2-三苯乙基)苯乙基]苯并噁唑-3-碘化铷物; W-VO<sub>2</sub> 为钨-二氧化钒; PEI 为聚乙烯亚胺; PF-127 为聚氧乙烯-聚氧丙烯醚共聚物; PNNPAM 为聚(*N*-正丙基丙烯酰胺); Pluronic P85 为聚氧乙烯-聚氧丙烯-聚氧乙烯嵌段共聚物; PFBT 为聚{(9,9-二辛基氟壬基-2,7-二基)-*co*-[1,4-苯并-(2,10,3)-噻二唑]}; PFPV 为聚{(9,9-二辛基-2,7-二乙基-氟壬基)-盐-*co*-[2-甲氧基 5-(2-乙基己氧基)-1,4-苯基]}; P(NIPAM-*co*-TPSS) 为聚(*N*-异丙基丙烯酰胺-共-四丁基磷苯磺酸盐); PEG 为聚乙二醇。“—”代表未提及。下同。

### 2.1 将聚合物纳米温度计引入细胞

为实现在单细胞水平上对细胞内温度变化和分布进行荧光成像, 需要将聚合物荧光温度计引入活细胞内, 常用的方法包括显微注射、受体介导的内吞和批量内吞作用等。2009 年, GOTA 等<sup>[49]</sup>报道了经显微注射器注入到细胞内的聚合物纳米凝胶温度计的细胞内测温, 其成像结果显示, 高亲水性纳米凝胶在细胞质中分布均匀, 无沉淀。然而, 显微注射技

术难以将聚合物纳米凝胶温度计注入尺寸较小 (≤ 10 μm, 如酵母细胞) 或有细胞壁的细胞, 虽然有一些成功案例, 但其更适合于将聚合物纳米温度计引入到尺寸通常在 10~30 μm 的普通动物细胞中<sup>[76]</sup>。XUE 等<sup>[77]</sup>建立了一种新的方法, 通过在聚合物主链中聚合阳离子单体来提高聚合物纳米温度计的内吞能力, 使纳米温度计能够自发快速地进入尺寸 < 10 μm 的细胞, 并在细胞质中保持稳定。高碱性和

带正电的脂肪族聚合物, 如 PEI 也被用于聚合物胶束纳米温度计的制备, 以促进纳米温度计有效地向细胞内转移<sup>[52]</sup>。值得注意的是, 聚合物主链中阳离子单体的比例会影响荧光信号对温度变化的敏感性<sup>[78]</sup>。作为替代方案, QIAO 等<sup>[74]</sup>将修饰转铁蛋白-纳米金簇 (Tf-AuNCs) 引入到聚合物纳米温度计中<sup>[74]</sup>, 构建了基于转铁蛋白的受体介导内吞方法, 使纳米材料更易进入细胞内。基于转铁蛋白的肿瘤细胞靶向性能, 利用 Tf-AuNCs 作为靶向和荧光比率组成聚合物纳米温度计, 可显著提高聚合物纳米温度计进入 HeLa 细胞的内吞效率, 避免对细胞造成损伤。此外, 该策略为亚细胞器靶向和温度传感实现温度分布的研究提供了途径。

YIN 等<sup>[75]</sup>报道了一种纳米温度计 TPEBT-P(NIPAM-

co-TPSS), 其通过荧光探针 TPEBT 与热响应聚合物 P(NIPAM-co-TPSS) 的结合, 制备并自组装成以 TPEBT 为疏水核、PNIPAM 为亲水壳的胶束。当温度升高时, PNIPAM 链从线形转变为致密的球形, 成为胶束的核心, 同时 TPEBT 从聚集态转变为分散态, 并在胶束壳中重新分布。P(NIPAM-co-TPSS) 的温度驱动相变介导了 TPEBT 的可逆聚集和解聚, 并使纳米温度计具有温度依赖的 AIE 特性和在 32~40 °C 温度传感的良好灵敏度。如图 6 所示, 通过能量依赖的内吞途径介导, TPEBT-P(NIPAM-co-TPSS) 进入 HeLa 细胞内部, 且主要分布在溶酶体中, 能够对来自羰基氰化物 4-(三氟甲氧基) 苯胺、寡霉素、京尼平和脂多糖的刺激作出反应的原位热动力学进行定量可视化, 可进一步进行光热诱导的细胞内温度变化的实时监测。

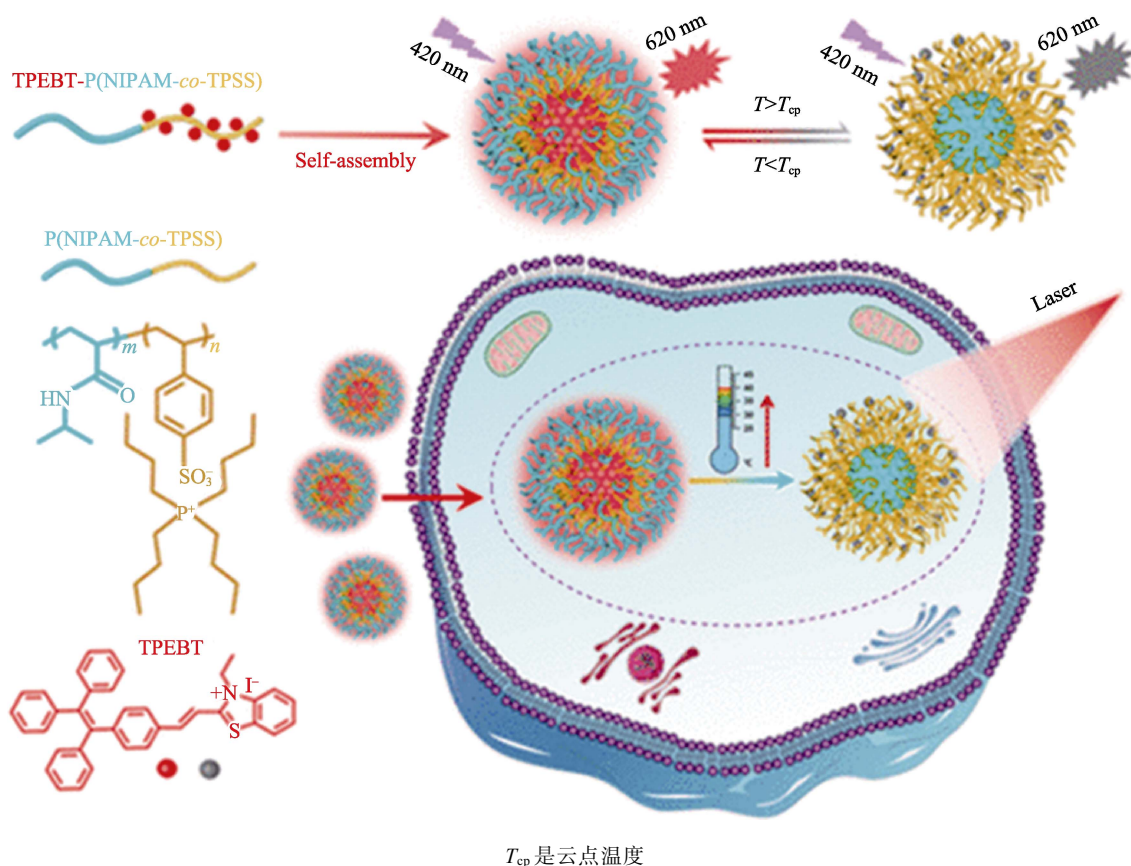


图 6 TPEBT-P(NIPAM-co-TPSS) 纳米温度计的制备及细胞内温度监测示意图<sup>[75]</sup>

Fig. 6 Schematic illustration for preparation of TPEBT-P(NIPAM-co-TPSS) nano-thermometer and monitoring of intracellular temperature<sup>[75]</sup>

### 2.2 细胞内温度荧光成像技术

由于荧光信号是聚合物纳米温度计的报告单元, 所以采用荧光成像技术来测定细胞内温度时, 通常需要考虑荧光信号的强度与寿命这两个关键参数。

荧光强度成像法测定细胞内温度时, 根据聚合物纳米温度计的荧光特性, 一般采用共聚焦激光扫

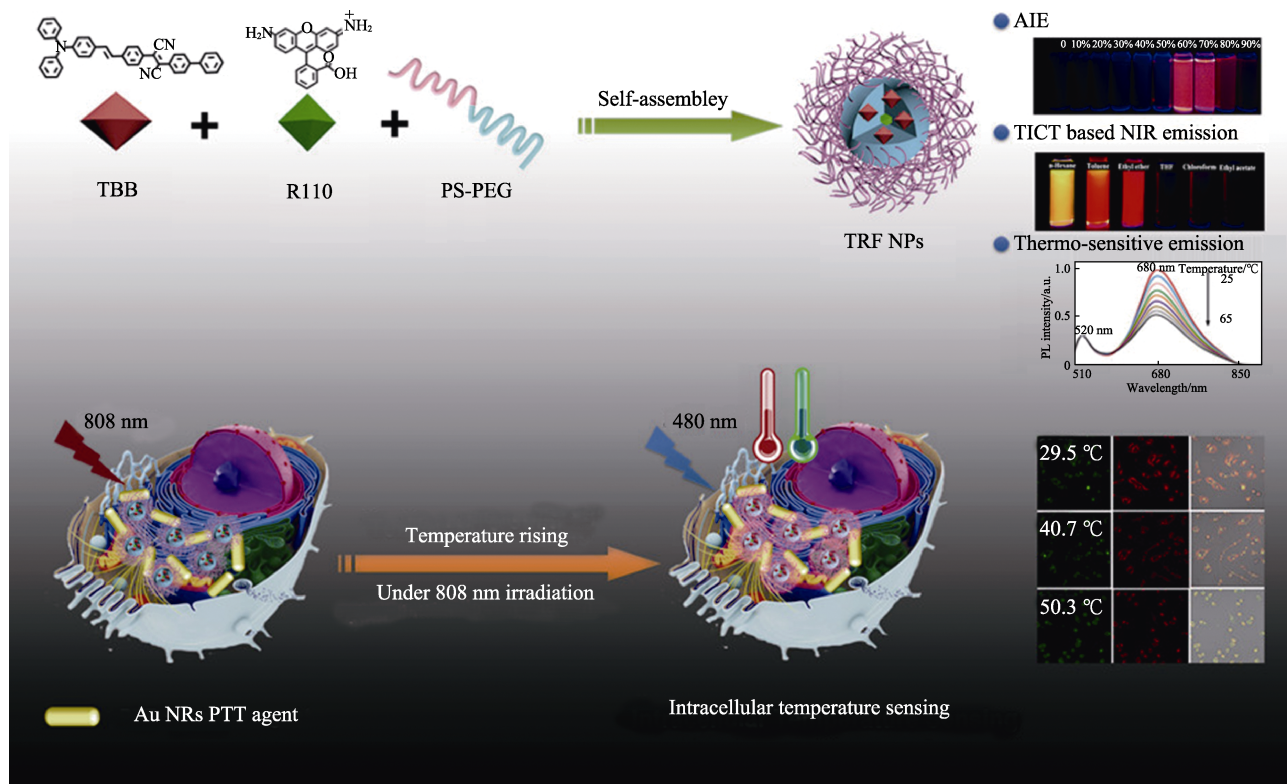
描显微镜法 (CLSM) 和倒置荧光显微镜法 (IFM)。因 CLSM 具有激光的聚焦特性, 可获得高分辨率图像。而且, CLSM 在深度方向上具有更出色的选择性, 可通过扫描不同深度层面的荧光信号构建三维图像, 更加全面地反映细胞内的温度分布。但 CLSM 一次只能在一个深度水平成像, 并且需要逐层扫描, 相对耗时<sup>[79]</sup>。IFM 可观察到光线穿透的细胞内部,

无需逐层扫描，但在深度方向上的分辨率逊色于 CLSM。

MENG 等<sup>[80]</sup>设计并合成了一种发光体 2-[(1,1-联苯基)-4-基]-3-[4-(*E*)-4-(二苯基氨基)苯乙烯基]苯基富马腈 (TBB)。TBB 具有可旋转的 D- $\pi$ -A 结构，还具有分子内扭曲电荷转移 (TICT) 的 AIE 特性和对环境温度特征的敏感性。如图 7 所示，通过一锅自组合法，用 F127 基质包封热敏荧光团 (TBB) 和参比染料罗丹明 110 (R110) 构建比率荧光温度计 (TRF NPs)。TRF NPs 温度敏感范围为 25~65 °C，发射可逆性好。采用 CLSM 法将 TRF NPs 用于监测光热治疗加热过程中人肝癌细胞 (Hep-G2) 的温度变化，发现纳米金簇 (Au NRs) 孵育的 Hep-G2 显示双荧光颜色，包括红色 (TBB) 和绿色 (R110)

通道。随着温度的升高，CLSM 图像中红色通道的荧光强度明显降低。表明荧光温度计 TRF NPs 可用于微环境测温。

基于时间相关单光子计数 (TCSPC) 系统的荧光寿命成像显微镜 (FLIM) 采用荧光寿命成像法测定细胞内温度<sup>[81]</sup>，其发展为高空间和温度分辨率的温度成像提供了技术。利用该法可在高时空分辨率下充分进行细胞内温度定位，揭示活细胞的热分布，包括细胞内温度梯度和亚细胞器 (细胞核、中心体和线粒体) 的产热。INADA 等<sup>[82]</sup>开发了一种用聚合物荧光温度计 (FPT) 和 FLIM 分析细胞内温度变化的方法。结果发现，在哺乳动物的细胞内存在 >1 °C 的温差，并且细胞核以及线粒体和中心体附近区域的温度高于细胞质中其他区域。



PS-PEG 即 F127 基质

图 7 基于荧光显微镜的聚合物纳米温度计细胞内热传感技术<sup>[80]</sup>

Fig. 7 Intracellular heat sensing by a polymer nanothermometer based on fluorescence microscopy<sup>[80]</sup>

温度荧光成像可分为单波长荧光成像<sup>[83]</sup>和比率荧光成像<sup>[84]</sup>。其中，比率荧光成像可以建立 2 个发射波段的校准，并为定量测量提供足够的精度，可消除样品环境、传感器浓度、漂白和仪器效率引起的大部分误差。由此逐渐发展出了许多用于细胞内温度研究的比例荧光成像方法，并进一步证明了这些方法有助于了解活细胞的温度变化<sup>[68]</sup>。LI 等<sup>[85]</sup>提出了一种全新的温度响应机理：利用超分子诱导

的分子构象可逆转变，以及温控自组装平衡移动的策略，构建了一种灵敏度高、响应快速、高度可逆、检测范围可调，且具有开关功能的智能超分子荧光温度探针。这一超分子温度探针被进一步应用在炎症模型下的活细胞内温度的实时监测，观察到细胞受到炎症因子的刺激时，会产生一个小幅的温度上升现象 (图 8)。此探针在生物体内温度检测领域具有潜在的应用价值。

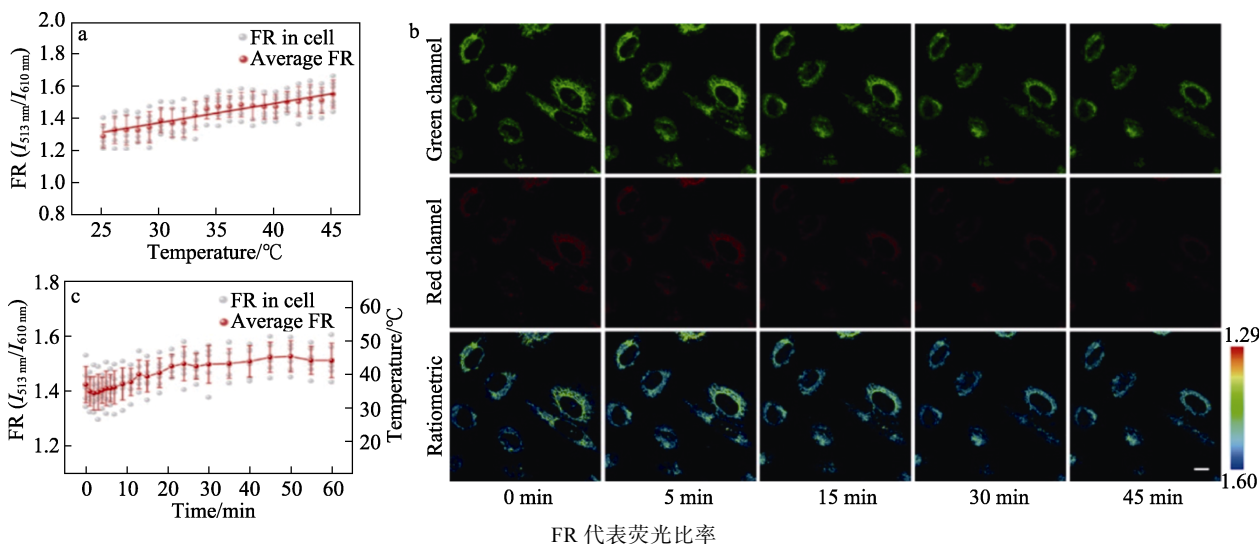


图 8 基于比率荧光成像的聚合物纳米温度计细胞内热传感技术<sup>[85]</sup>

Fig. 8 Intracellular heat sensing by a polymer nanothermometer based on ratiometric fluorescence imaging<sup>[85]</sup>

### 3 结束语与展望

目前, 多种聚合物荧光纳米温度计被开发并用于细胞内热传感和热成像, 取得了满意的温度测定分辨率。其发展为分析细胞内产热、传热和与环境的能量交换提供了研究基础。温敏材料的科学发展和荧光光谱技术的进步对荧光温敏成像的研究具有重要的意义。聚合物纳米温度计作为一种分子温度计, 在细胞和亚细胞的细胞器中表现出良好的分散性。与无机纳米颗粒制备的温度计相比, 通过温敏聚合物制备的聚合物纳米温度计具有更多的优点, 例如: 可提高时空分辨率和获取活细胞内温度成像中生物事件的化学信息; 在细胞内温度传感方面具有良好的生物相容性, 因为聚合物组成结构易调整, 可获得更加亲水的纳米温度计; 可避免有毒金属对细胞的潜在危害, 因为在聚合反应中通常不使用有毒金属; 温度响应性不受活细胞内复杂生理环境的影响; 聚合物骨架上的多官能团可以为制备多响应性纳米温度计提供反应位点, 同时提供产热和其他生理信息等。

尽管聚合物纳米温度计的研究已经取得了巨大的进步, 但其在细胞内温度传感和成像方面的发展仍然面临着巨大的挑战。未来细胞内纳米温度传感器可从以下方面进行研究: (1) 开发新的温敏聚合物单体, 以便合成新型的热响应聚合物。(2) 开发更符合温度传感要求的荧光染料, 以实现深层目标的灵敏清晰成像, 具有更低的自发背景荧光, 以及更深的组织穿透性和更高的图像信背比。(3) 寻找热敏聚合物与荧光染料结合的新型连接分子和改性方法。(4) 针对特殊细胞和细胞内亚细胞器, 设计灵敏度更高、尺寸更小的聚合物纳米温度计。(5)

将纳米颗粒与聚合物纳米温度计结合, 构建新型比率型纳米温度计, 更好地了解温度相关的细胞内信号传导、能量转换和细胞分裂。

开发能够在微米到纳米尺度上实现高灵敏度、高分辨率的温度监测的纳米温度计, 以满足从纳米尺度的细胞生命活性观测到微米尺度的病变成像和治疗监控的实际需求, 已经成为相关研究领域的共识。因此, 聚合物纳米温度计在活细胞内部精确的温度分布成像以及与热疗相关疾病的研究等方面具有潜在的应用。

#### 参考文献:

- [1] KNAPP B D, HUANG K C. The effects of temperature on cellular physiology[J]. *Annual Review of Biophysics*, 2022, 51: 499-526.
- [2] WANG F X, HAN Y X, GU N. Cell temperature measurement for biometabolism monitoring[J]. *ACS Sensors*, 2020, 6(2): 290-302.
- [3] LIANG H Y, YANG K D, YANG Y T, *et al.* A lanthanide upconversion nanothermometer for precise temperature mapping on immune cell membrane[J]. *Nano Letters*, 2022, 22(22): 9045-9053.
- [4] WEBER C, ZHOU Y J, LEE J G. Temperature-dependent sex determination is mediated by pSTAT3 repression of Kdm6b[J]. *Science*, 2020, 60(6488): 303-306.
- [5] HE P, FENG J J, XIA X T, *et al.* Discovery of a potent and oral available complex I OXPHOS inhibitor that abrogates tumor growth and circumvents MEKi resistance[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 66(9): 6047-6069.
- [6] LUO J J, SHEN S W, XIA J J, *et al.* Mitochondria as the essence of Yang Qi in the human body[J]. *Phenomics*, 2022, 2(5): 336-348.
- [7] RUAN L F, CHEN J, DU C C, *et al.* Mitochondrial temperature-responsive drug delivery reverses drug resistance in lung cancer[J]. *Bioactive Materials*, 2022, 13: 191-199.
- [8] RAZA A, SIDDIQUE K H M, HU Z L. Chloroplast gene control: Unlocking RNA thermometer mechanisms in photosynthetic systems[J]. *Trends in Plant Science*, 2024, 29(6): 623-625.
- [9] O'SULLIVAN D, STANCZAK M A, VILLA M, *et al.* Fever supports CD<sup>8+</sup> effector T cell responses by promoting mitochondrial translation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(25): e20237521118.
- [10] ALI A, DAVIDSON S, FRAENKEL E, *et al.* Single cell metabolism: Current and future trends[J]. *Metabolomics*, 2022, 18(10): 1-22.

- [11] HUANG L Q, DING X L, PAN X T, *et al.* Single-cell thermometry with a nanothermocouple probe[J]. *Chemical Communications*, 2023, 59(7): 876-879.
- [12] MA J C, ZHENG H B, SUN Y H, *et al.* Temperature compensation method for infrared detection of live equipment under the interferences of wind speed and ambient temperature[J]. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 2021, 70: 1-9.
- [13] XUE K, WANG C, WANG J X, *et al.* A sensitive and reliable organic fluorescent nanothermometer for noninvasive temperature sensing[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, 143(35): 14147-14157.
- [14] YIN J L, HUANG L, WU L L, *et al.* Small molecule based fluorescent chemosensors for imaging the microenvironment within specific cellular regions[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50(21): 12098-12150.
- [15] QUAN W, ZHANG G H, HUANG L, *et al.* A novel fluorescent probe for high-fidelity imaging of mitochondria viscosity changes[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2021, 333: 115973.
- [16] WANG C, HE Y M, XU Y L, *et al.* "Light on" fluorescence carbon dots with intramolecular hydrogen bond-regulated co-planarization for cell imaging and temperature sensing[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2022, 10(4): 2085-2095.
- [17] JAQUE D, MAESTRO L M, ESCUDERO E, *et al.* Fluorescent nano-particles for multi-photon thermal sensing[J]. *Journal of Luminescence*, 2013, 133: 249-253.
- [18] SU P R, WANG T, ZHOU P P, *et al.* Self-assembly-induced luminescence of Eu<sup>3+</sup>-complexes and application in bioimaging[J]. *National Science Review*, 2022, 9(1): 107-117.
- [19] NI Z Q, ZHANG D, ZHEN S J, *et al.* NIR light-driven pure organic Janus-like nanoparticles for thermophoresis enhanced photothermal therapy[J]. *Biomaterials*, 2023, 301: 122261.
- [20] HOU H Y, TANG D S, ZHANG L P, *et al.* NIR light triggered intracellular polymerization *via* nanoparticles containing acrylates prodrugs and azo polymers for inhibiting cisplatin efflux for combined chemotherapy and immunotherapy[J]. *Nano Today*, 2023, 50: 101858.
- [21] CHEN L L, ZHAO L, WANG Z G, *et al.* Near infrared-II quantum dots for *in vivo* imaging and cancer therapy[J]. *Small*, 2022, 18(8): e2104567.
- [22] ZHANG C, HUANG J, GUO X S, *et al.* NIR light-driven photocatalytic NAD(P)H oxidation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation *in situ* for enhanced chemodynamic therapy and immune response[J]. *Nano Today*, 2023, 50: 101824.
- [23] WANG H, MU X Y, YANG J, *et al.* Brain imaging with near-infrared fluorophores[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2019, 380: 550-571.
- [24] GIBSON M I, O'REILLY R K. To aggregate, or not to aggregate? Considerations in the design and application of polymeric thermally-responsive nanoparticles[J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42(17): 7204-7213.
- [25] PIETSCH C, SCHUBERT U S, HOOGENBOOM R. Aqueous polymeric sensors based on temperature-induced polymer phase transitions and solvatochromic dyes[J]. *Chemical Communications*, 2011, 47(31): 8750-8765.
- [26] YU S F, LIU K L, TIAN Y Y, *et al.* Color-shifting fluorescent system based on an AIE polymer with an upper critical solution temperature[J]. *Macromolecules*, 2023, 56(11): 4278-4286.
- [27] LIU J Y, GUO H Z, GAO Q J, *et al.* Coil-globule transition of a water-soluble polymer[J]. *Macromolecules*, 2022, 55(19): 8524-8532.
- [28] WANG Z Y (王中义), SUN J S (孙金声), HUANG X B (黄贤斌), *et al.* Research on LCST-type temperature-sensitive polymers and their application progress in drilling fluids[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2024, 41(10): 2103-2119.
- [29] LI Q Q, XIAO S G, GE X G, *et al.* Temperature-activated near-infrared-II fluorescence and SERS dynamic-reversible probes for long-term assessment of osteoarthritis *in vivo*[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2024, 136(35): e202408792.
- [30] PIETSCH C, HOOGENBOOM R, SCHUBERT U S. Soluble polymeric dual sensor for temperature and pH value[J]. *Angewandte Chemie*, 2009, 48(31): 5653-5656.
- [31] LIU G F, ZHOU W, ZHANG J Q, *et al.* Polymeric temperature and pH fluorescent sensor synthesized by reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization[J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2012, 50(11): 2219-2226.
- [32] VANCOILLIE G, FRANK D, HOOGENBOOM R. Thermoresponsive poly(oligo ethylene glycol acrylates)[J]. *Progress in Polymer Science*, 2014, 39(6): 1074-1095.
- [33] WEDEL B, HERTLE Y, WREDE O, *et al.* Smart homopolymer microgels: Influence of the monomer structure on the particle properties[J]. *Polymers*, 2016, 8(4): 162.
- [34] ADREES M, IQBAL S S, AHMAD A, *et al.* Characterization of novel polydimethylsiloxane (PDMS) and copolymer polyvinyl chloride-co-vinyl acetate (PVCA) enhanced polymer blend membranes for CO<sub>2</sub> separation[J]. *Polymer Testing*, 2019, 80: 106163.
- [35] FANG Y, LABORIE P, LONETTI B, *et al.* Dual thermo- and pH-responsive block copolymer of poly(*N*-isopropylacrylamide)-block-poly(*N,N*-diethylamino ethyl acrylamide): Synthesis, characterization, phase transition, and self-assembly behavior in aqueous solution[J]. *Macromolecules*, 2023, 56(10): 3703-3720.
- [36] YANG Z X, HE Y L, MA Y C, *et al.* A reversible adhesive hydrogel tape[J]. *Advanced Functional Materials*, 2023, 33(12): 2213150.
- [37] ZHU Z, WANG J, PEI X B, *et al.* Blue-ringed octopus-inspired microneedle patch for robust tissue surface adhesion and active injection drug delivery[J]. *Science Advances*, 2023, 9(25): eadh2213.
- [38] LYU Z Y, HUANG M X, YANG J, *et al.* A smart DNA-based nanosystem containing ribosome-regulating sirna for enhanced mRNA transfection[J]. *Advanced Materials*, 2023, 35(36): e2300823.
- [39] ZHAO C, SUN S, LI S, *et al.* Programmed stimuli-responsive carbon dot-nanogel hybrids for imaging-guided enhanced tumor phototherapy[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2022, 14(8): 10142-10153.
- [40] AL-DIRBASHI O, KURODA N, NAKASHIMA K. Characterization of the fluorescence properties of 4-fluoro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole derivatives of some primary and secondary sympathomimetic amines[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1998, 365(1/2/3): 169-176.
- [41] YASUHIRO S, RYO M, TAKAYUKI H, *et al.* A hemicyanine-conjugated copolymer as a highly sensitive fluorescent thermometer[J]. *Langmuir the ACS Journal of Surfaces & Colloids*, 2008, 24(8): 4273-4279.
- [42] YIN L Y, HE C S, HUANG C S, *et al.* A dual pH and temperature responsive polymeric fluorescent sensor and its imaging application in living cells[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(37): 4486-4488.
- [43] SHIRAIISHI Y, MIYAMOTO R, ZHANG X, *et al.* Rhodamine-based fluorescent thermometer exhibiting selective emission enhancement at a specific temperature range[J]. *Organic Letters*, 2007, 9(20): 3921-3924.
- [44] MARCELLE R, BROUX R, LECOMTE J. Spiropyran-conjugated thermoresponsive copolymer as a colorimetric thermometer with linear and reversible color change[J]. *Organic Letters*, 2009, 11(3): 1571-1574.
- [45] CASTRO-CASTILLO V, GAJARDO J, SANDOVAL-ALTAMIRANO C, *et al.* CAPRYDAA, an anthracene dye analog to LAURDAN: A comparative study using cuvette and microscopy[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8(1): 88-99.
- [46] VALANCIUNAITE J, KEMPF E, SEKI H, *et al.* Polarity mapping of cells and embryos by improved fluorescent solvatochromic pyrene probe[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92: 6512-6520.
- [47] ASHOKA H A, ASHOKKUMAR P, KOVTUN Y P, *et al.* Solvatochromic near-infrared probe for polarity mapping of biomembranes and lipid droplets in cells under stress[J]. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2019, 10(10): 2414-2421.
- [48] QIAO J, CHEN C F, QI L, *et al.* Intracellular temperature sensing by a ratiometric fluorescent polymer thermometer[J]. *Journal of*

- Materials Chemistry B, 2014, 2(43): 7544-7550.
- [49] GOTA C, OKABE K, FUNATSU T, *et al.* Hydrophilic fluorescent nanogel thermometer for intracellular thermometry[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(8): 2766-2767.
- [50] CHUMA S, KIYOSUE K, AKIYAMA T, *et al.* Implication of thermal signaling in neuronal differentiation revealed by manipulation and measurement of intracellular temperature[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 3473.
- [51] CHEN C Y, CHEN C T. A PNIPAM-based fluorescent nanothermometer with ratiometric readout[J]. *Chemical Communications*, 2011, 47(3): 994-996.
- [52] CHEN Y P, LI X D. Near-infrared fluorescent nanocapsules with reversible response to thermal/pH modulation for optical imaging[J]. *Biomacromolecules*, 2011, 12(12): 4367-4372.
- [53] LEE E M, GWON S Y, JI B C, *et al.* Fluorescent thermometer based on poly(*N*-vinylcaprolactam) with 2D- $\pi$ -A type pyran-based fluorescent dye[J]. *Fibers & Polymers*, 2011, 12(2): 288-290.
- [54] JIANG N, FAN J L, XU F, *et al.* Ratiometric fluorescence imaging of cellular polarity: Decrease in mitochondrial polarity in cancer cells[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54: 2510-2514.
- [55] BUTLER N D, SABYASACHI S, BROWN L B, *et al.* A platform for distributed production of synthetic nitrated proteins in live bacteria[J]. *Nature Chemical Biology*, 2023, 19(7): 911-920.
- [56] GAN D J, LYON L A. Interfacial nonradiative energy transfer in responsive core-shell hydrogel nanoparticles[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2001, 123(34): 8203-8209.
- [57] YAN Q, YUAN J Y, YUAN W Z, *et al.* Copolymer logical switches adjusted through core-shell micelles: From temperature response to fluorescence response[J]. *Chemical Communications*, 2008, 46: 6188-6190.
- [58] PIETSCH C, VOLLRATH A, HOOGENBOOM R, *et al.* A fluorescent thermometer based on a pyrene-labeled thermoresponsive polymer[J]. *Sensors*, 2010, 10(9): 7979-7990.
- [59] GUO Y Z, YU X, XUE W W, *et al.* Synthesis, structures, and properties of a fluoranthene-based biphenol polymer as a fluorescent nano-thermometer[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2014, 240: 319-330.
- [60] KIYONAKA S, KAJIMOTO T, SAKAGUCHI R, *et al.* Genetically encoded fluorescent thermosensors visualize subcellular thermoregulation in living cells[J]. *Nature methods*, 2013, 10(12): 1232-1238.
- [61] TANG L, JIN J K, QIN A J, *et al.* A fluorescent thermometer operating in aggregation-induced emission mechanism: Probing thermal transitions of PNIPAM in water[J]. *Chemical Communications*, 2009, 33: 4974-4976.
- [62] CHU J C H, ESCRICHE-NAVARRO B, XIONG J L, *et al.*  $\beta$ -Galactosidase-triggered photodynamic elimination of senescent cells with a boron dipyrromethene-based photosensitizer[J]. *Advanced Science*, 2024, 11(31): e2401012.
- [63] LOU X Y, WANG J, ZHANG G, *et al.* Pyrene-armed pillararene nanostructure-facilitated enhanced fluorescence and self-driven gelation[J]. *ACS Applied Nano Materials*, 2022, 5(10): 13720-13728.
- [64] MANNA K, DEY S, PHUKAN A, *et al.* Alginate acid-based pH and thermo responsive reversible switched polymeric micelle via RAFT polymerization[J]. *Polymer*, 2024, 291: 126581.
- [65] LORANDI F, FANTIN M, MATYJASZEWSKI K. Atom transfer radical polymerization: A mechanistic perspective[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, 144(34): 15413-15430.
- [66] CAI W B, YANG S Q, ZHANG L, *et al.* Efficient synthesis and self-assembly of segmented hyperbranched block copolymers via raft-mediated dispersion polymerization using segmented hyperbranched macro-raft agents[J]. *Macromolecules*, 2022, 55(13): 5775-5787.
- [67] BON F D, FANTIN M, PEREIRA V A, *et al.* Electrochemically mediated atom transfer radical polymerization driven by alternating current[J]. *Angewandte Chemie*, 2024, 63(29): e202406484.
- [68] QIAO J, DONG P, MU X Y, *et al.* Folic acid-conjugated fluorescent polymer for up-regulation folate receptor expression study via targeted imaging of tumor cells[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2016, 78: 147-153.
- [69] OKABE K, INADA N, GOTA C, *et al.* Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy[J]. *Nature Communications*, 2012, 3(1): 705.
- [70] QIAO J, WU D Y, SONG Y Y, *et al.* Simultaneous monitoring of intracellular temperature and norepinephrine variation by fluorescent probes during norepinephrine reuptake[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(44): 14743-14747.
- [71] QIAO J, QI L, SHEN Y, *et al.* Thermal responsive fluorescent block copolymer for intracellular temperature sensing[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(23): 11543-11549.
- [72] LI F, WESTPHAL A H, MARCELIS A T M, *et al.* Thermally sensitive dual fluorescent polymeric micelles for probing cell properties[J]. *Soft Matter*, 2011, 7(23): 11211-11215.
- [73] YE F M, WU C F, JIN Y H, *et al.* Ratiometric temperature sensing with semiconducting polymer dots[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(21): 8146-8149.
- [74] QIAO J, HWANG Y H, CHEN C F, *et al.* Ratiometric fluorescent polymeric thermometer for thermogenesis investigation in living cells[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(20): 10535.
- [75] YIN N N, LIN B, HUO F, *et al.* Nanothermometer with temperature induced reversible emission for evaluation of intracellular thermal dynamics[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(35): 12111-12119.
- [76] SUN T, ZHANG Z H, CUI D D, *et al.* Quantitative 3D temperature rendering of deep tumors by a NIR-II reversibly responsive WVO<sub>2</sub>@PEG photoacoustic nanothermometer to promote precise cancer photothermal therapy[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(15): 14604-14618.
- [77] XUE K, WANG C, WANG J X, *et al.* A sensitive and reliable organic fluorescent nanothermometer for noninvasive temperature sensing[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, 143(35): 14147-14157.
- [78] TSUJI T, YOSHIDA S, YOSHIDA A, *et al.* Cationic fluorescent polymeric thermometers with the ability to enter yeast and mammalian cells for practical intracellular temperature measurements[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(20): 9815-9823.
- [79] SUN Z Q, LI T W, WU F, *et al.* Precise synergistic photothermal therapy guided by accurate temperature-dependent NIR-II fluorescence imaging[J]. *Advanced Functional Materials*, 2024, 34: 2311622.
- [80] MENG L C, JIANG S, SONG M Y, *et al.* TICT-based near-infrared ratiometric organic fluorescent thermometer for intracellular temperature sensing[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(24): 26842-26851.
- [81] HAYASHI T, FUKUDA N, UCHIYAMA S, *et al.* A cell-permeable fluorescent polymeric thermometer for intracellular temperature mapping in mammalian cell lines[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0117677.
- [82] INADA N, OKADA M, HAYASHI T, *et al.* Imaging intracellular temperature using fluorescent polymeric thermometer[J]. *Regulation of Plant Growth & Development*, 2021, 56(2): 112-116.
- [83] YAN D L, LIU L K, LIU X B, *et al.* Simultaneous discrimination of Cys/Hcy and GSH with simple fluorescent probe under a single-wavelength excitation and its application in living cells, tumor tissues, and zebrafish[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 856994.
- [84] GE X G, SU L C, CHEN Z X, *et al.* A radio-pharmaceutical fluorescent probe for synergistic cancer radiotherapy and ratiometric imaging of tumor reactive oxygen species[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 135(29): e202305744.
- [85] LI D, HAN Y J, JIANG Y R, *et al.* Achieving adjustable multifunction based on host-guest interaction-manipulated reversible molecular conformational switching[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2022, 14(1): 1807-1816.