

肿瘤原位荧光标记技术设计和探索虚拟仿真实验

宦双燕^{1,*}, 李珂², 张晓兵¹, 罗伟平¹, 王玉枝¹, 尹霞¹, 任天兵¹, 高红霞¹, 梁志武¹

¹湖南大学化学化工学院, 长沙 410082

²中南大学化学化工学院, 长沙 410083

摘要: 原位荧光成像技术为细胞和活体水平生化信息获取提供了强有力的手段, 基于固态发光荧光探针的长时间原位标记技术能应用于精准成像与手术导航肿瘤切除。但该科研实验存在周期长、成本高、消耗大等困难, 无法引入本科教学。采用U3D三维虚拟现实技术平台将该最新研究成果转化为“肿瘤原位荧光标记技术设计和探索虚拟仿真实验”, 通过37步交互操作和基于重要科学问题的探究式教学, 培养学生动手能力、科学思维和创新意识, 实现科学素养和科研价值观的引导。

关键词: 原位荧光成像; 虚拟仿真实验; 荧光探针; 手术导航

中图分类号: G64; O6

Virtual Simulation Experiment for the Design and Exploration of Tumor *in Situ* Fluorescence Labeling Technology

Shuangyan Huan^{1,*}, Ke Li², Xiaobing Zhang¹, Weiping Luo¹, Yuzhi Wang¹, Xia Yin¹, Tianbing Ren¹, Hongxia Gao¹, Zhiwu Liang¹

¹ College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China.

² College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China.

Abstract: *In situ* fluorescence imaging technology offers an efficacious method for garnering biochemical information at cellular and organismal scales. Prolonged *in situ* labeling techniques, using solid-state fluorescent probes, are particularly suited for precise imaging and surgical navigation during tumor resections. However, the inherent challenges, including extended research cycles, high costs, and substantial resource utilization, often preclude their inclusion in undergraduate teaching. To surmount these obstacles, we transformed the latest research findings into a “virtual simulation experiment of tumor *in situ* fluorescent labeling technology design and exploration” utilizing the U3D three-dimensional virtual reality technology platform. Through an interactive 37-step operation and exploratory teaching approach centred on crucial scientific issues, we aim to hone students’ practical skills, foster scientific thinking and innovative awareness, actively guide the development of their scientific literacy, and instil values pertinent to scientific research.

Key Words: *In situ* fluorescence imaging; Virtual simulation experiment; Fluorescent probes; Surgical navigation

收稿: 2023-03-16; 录用: 2023-05-18; 网络发表: 2023-05-29

*通讯作者, Email: syhuan@hnu.edu.cn

基金资助: 湖南省普通高等学校课程思政建设研究项目(HNKCSZ-2020-0074); 湖南省普通高等学校教学改革研究项目(HNJG-2021-0024)

分子影像学(molecular imaging, MI)近年来发展迅速,借助特定的分子探针与成像技术可以探查细胞或分子水平的化学信息差异,进而实现分子水平上的无损、实时成像和定性、定量研究^[1,2]。医学上借助电子计算机断层扫描(CT)、核磁共振成像等技术只能观测到发生结构解剖学改变的图像,而借助分子成像技术能够获取尚无结构解剖学改变之前的异常化学信息,为生命和疾病过程研究、早期诊断和疗效评价提供新的研究手段^[3,4]。

其中,基于荧光成像技术的有机小分子探针具有结构设计性强、响应迅速、易代谢、样本损伤小等优势,是细胞和活体水平生化信息获取的强有力手段。然而,现有的荧光分子探针大多是基于水溶性或脂溶性的荧光染料构建而成,其在生理应用过程中因溶解性较大而容易从反应位点扩散开,难以实现目标物的原位检测以及真实反映目标物局部浓度的变化^[5,6]。此外,基于该类染料构建的小分子探针在活体肿瘤等重大疾病的精准成像上存在明显缺陷,无法明确区分正常组织和病变组织的界限,难以为此类疾病的手术切除提供可靠指导。本研究团队发展的固态发光荧光探针能够实现细胞膜上靶标分子的长时间原位荧光标记^[7],该技术还能进一步用于肿瘤的原位精准成像和成像指导的手术切除。

该科研成果属于化学与生物学交叉前沿领域,即发展新型化学研究工具,解决生物学领域关键科学问题的研究。将具有原创性的重要科研成果转化为本科教学项目,服务“知识、素质、能力”培养,促进科研思维和创新能力提升,也契合新时代对高校本科人才培养的新要求^[8]。但该科研实验存在周期长、成本高、消耗大的困难,需要系列昂贵仪器设备,涉及大量细胞和活体操作以及生物成像实验,并且需要丰富的分子设计、合成和生物学实验经验,属于大型综合训练,在真实实验条件下难以引入本科教学。

基于U3D三维虚拟现实技术平台,将固态发光原位荧光成像机理、标记探针的设计与合成、结构表征与多参数性能测试、细胞原位荧光成像、小鼠和模拟人体肿瘤原位成像与切除等过程采用可视化的虚拟仿真手段展现,开发了“肿瘤原位荧光标记技术设计和探索虚拟仿真实验”,该实验包含三个模块:(1)肿瘤原位荧光标记探针的设计;(2)肿瘤原位荧光标记探针的合成及性质测试;(3)原位荧光成像与导航手术切除肿瘤。虚拟仿真实验中设计了17个步骤、37步交互操作,帮助学生深入理解分子结构与光谱性质、成像性能的关系,通过探究理解如何获得一个高性能分子成像工具。该虚拟仿真实验项目解决了上述科研引入本科教学的难题,在项目设计上体现了科学思维训练的高阶性、创新性和挑战度,为“互联网+”化学化工本科创新人才培养提供了有力平台。

1 实验目标

通过该虚拟仿真实验训练,希望学生能够理解原位荧光标记技术及肿瘤原位精准成像基本原理,掌握有机合成实验基本技能与操作,探究基于构效关系的抗扩散固态发光染料分子设计与优化的原理与方法,理解探针响应性能研究的实验设计思路 and 性能评价,了解细胞、活体水平原位荧光成像及成像指导手术切除的基本操作,在探究基础上初步形成高性能化学分子工具设计与应用的创新研究思路。实验的关键是理解分子结构设计的基本思路,学会结构与光谱性质、成像性能之间关系的分析,能够从实验探索中总结规律。

2 虚拟实验仪器试剂和功能设计

虚拟实验涉及的仪器有旋转蒸发仪、通风橱、无菌操作台、细胞培养箱、激光共聚焦显微镜、紫外分光光度计、荧光光谱仪、X射线单晶衍射仪、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪、核磁共振波谱仪、小动物多模式成像系统等。使用到的耗材包括离心管、移液枪、比色皿、细胞培养瓶、96孔板、共聚焦培养皿,以及称量、取液、有机合成与分离的玻璃仪器。使用的虚拟试剂除了常见有机溶剂、缓冲溶液、培养基、有机试剂外,还有毒性较强的三光气、细胞膜和细胞核定位试剂,以及肝癌、卵巢癌等细胞系。

该虚拟实验采用全三维建模,虚拟实验室应包括实验中所需要的各类实验场景,如实验室、虚拟仪器设备以及仿真室内工作场景,可实现多场景室内自由漫游。虚拟仿真实验系统采用B/S构架设计,基于网络实验中心管理系统平台运行。系统采用数据层、支撑层、仿真层和应用层的四层架构。

实验采用Win7以上操作系统的电脑,只使用键盘鼠标操作,无需外加设备、无需安装客户端的情况下,可以通过浏览器顺利打开该虚拟仿真软件进行实验,有效链接网址为:<http://hnu-ygbj.dlvrtec.com>。学生用手机外网登录该虚拟仿真实验平台,用浏览器可以打开进行实验,无需安装客户端,从校外互联网网络链接地址可直接指向实验项目。

虚拟实验软件提供虚拟实验的演示、学习和考核等不同模式,并且在整个实验过程中可以在不同模式之间无缝自由切换。在演示模式中,系统自动执行虚拟实验演示操作方法。在学习模式中,通过打开提示,可以根据详细的步骤提示、3D物体上的红光闪烁引导对于实验操作步骤进行学习,在引导下完成虚拟实验。在考核模式下,操作者在没有提示的情况下独立完成整个实验。

虚拟实验通过W、A、S、D控制前进、后退、左移和右移,Z、X控制放大、缩小,鼠标右键控制角度,鼠标左键控制选取物品。实验配备了语音系统,操作过程通过语音系统,朗读操作步骤提示,操作过程中可以听到操作步骤说明。朗读内容可以通过平台自由修改,并且与实验中所显示的文字提示内容可以分别独立修改。在实验过程中可以在不同的大步骤之间自由切换,可以随时跳转到其他大步骤。

3 虚拟仿真实验内容与思路

肿瘤原位荧光标记技术设计和探索虚拟仿真实验设计了三大模块17个步骤,包含37步学生可交互操作的实验过程。

3.1 模块一:肿瘤原位荧光标记探针的设计

结合开场动画演示,首先引入两个问题,为什么传统膜靶向探针难以实现原位分析?已报道固态荧光探针可以释放疏水荧光染料,用于活细胞中原位成像生物标记物,但它们难以实现长时间原位分析,为什么?由此引入本虚拟仿真实验的设计目标(图1),基于传统的固态荧光染料HPQ (2-(2-羟苯基)-4(3氢)-喹啉酮),设计一个强疏水性和低亲脂性的荧光染料,并将其发射波长从远红外延长到近红外区域。



图1 模块一肿瘤原位荧光标记探针的设计操作界面

通过动画演示和互动操作,能够初步理解传统易扩散荧光探针和本实验拟合成的沉淀型固态发光荧光探针的本质区别,了解HPQ类染料的结构特点和ESIPT(激发态分子内质子转移)的固态发光机理,理解探针设计时为什么要降低亲脂性和提高疏水性,以实现在细胞膜上长时间的原位成像,以及为什么要将波长移动到近红外区,增加探针的组织穿透深度,以实现活体应用。

通过在HPQ分子的R位置引入不同的取代基(图2),学生可以键盘操作拖拽19个不同的取代基到R取代基位置,获得相应化合物结构,选定某化合物后可以进入结构分析。可以获得每个化合物溶解和过滤后的荧光光谱对比,荧光比色皿中过滤前后肉眼可见的颜色变化对比,以及结构分析的说明。如果过滤前是强荧光,而过滤后几乎无荧光,则说明化合物几乎完全不溶,而过滤后依然保持荧光则说明化合物溶解性很好。从荧光光谱的发射波长可以看出化合物是否接近近红外区。学生需要通过不同化合物之间荧光光谱的比较,具有强疏水性、低亲脂性和近红外发射的沉淀型荧光染料HYPQ,同时了解结构设计的一些窍门,如通过给电子基团(D)-吸电子基团(A)相互作用和 π -共轭体系的组合,使荧光发射波长有效红移;良好的平面性可以促进分子间 π - π 堆叠相互作用,从而降低溶解度并实现抗扩散成像。进一步在HYPQ染料中引入水溶性的谷氨酸基团,提高其生物相容性,设计GGT(γ -谷氨酰转肽酶)激活型原位成像荧光探针,同时可以点击查看其余对比分析探针的结构。

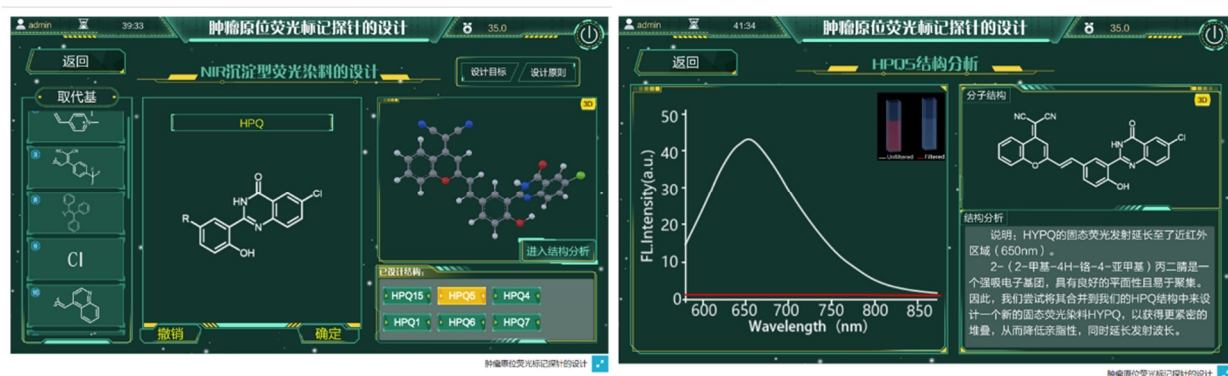


图2 R位不同取代基化合物结构及光谱性质示意图

模块一设计了交互操作(1)–(3),完成相应的分步实验操作,获得相应的赋分,模块一的总赋分为20分,侧重于对固态发光原位荧光探针基本原理的理解和探针的设计。

3.2 模块二: 肿瘤原位荧光标记探针的合成及性质测试

学生可根据对实验的掌握情况,自主选择进行肿瘤原位荧光标记探针的合成或性质分析实验,点击选择不同的近红外(NIR)沉淀型荧光染料或探针,然后进入合成路线界面(图3),虚拟仿真实验中提供了8种探针的合成步骤,其中HYPQ和抗扩散的GGT原位成像探针HYPQG两个探针可以进一步进入实验合成操作步骤。

合成步骤中首先对实验用到的试剂耗材和反应装置有一个简单介绍,操作界面提供了多种视角,如初始视角、实验视角、仪器视角和辅助视角等,学生可以操纵鼠标进行360度的漫游观察整个虚拟实验室的场景,如通风橱、实验台、所有仪器设备等(图4),增加沉浸式实验感受。

实验中点击对应的试剂即可加入反应瓶,搭建反应装置,进行化合物的合成。仪器设备完全复原了探针合成的实验场景,反应时间可以加速。反应完成后,对合成产物进行后处理和纯化,然后测试核磁共振氢谱、碳谱和质谱(图5)。合成HYPQ后可进一步合成HYPQG探针。合成步骤设计了交互操作(4)–(7),赋分19分。

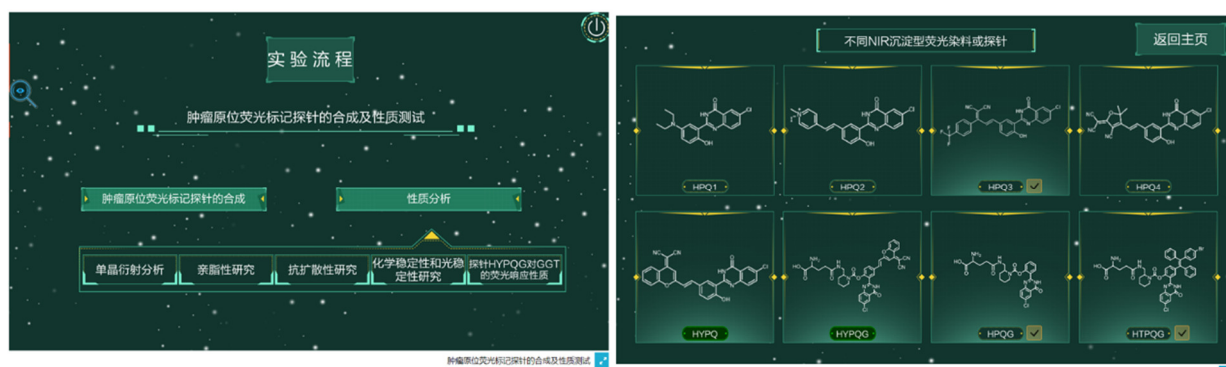


图3 模块二实验流程界面及8种探针结构示意图

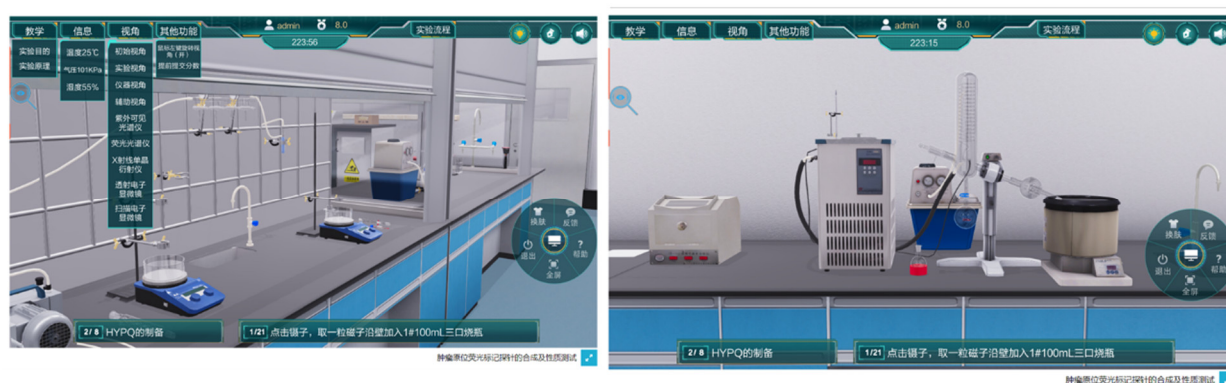


图4 虚拟实验室场景及功能键界面示意图

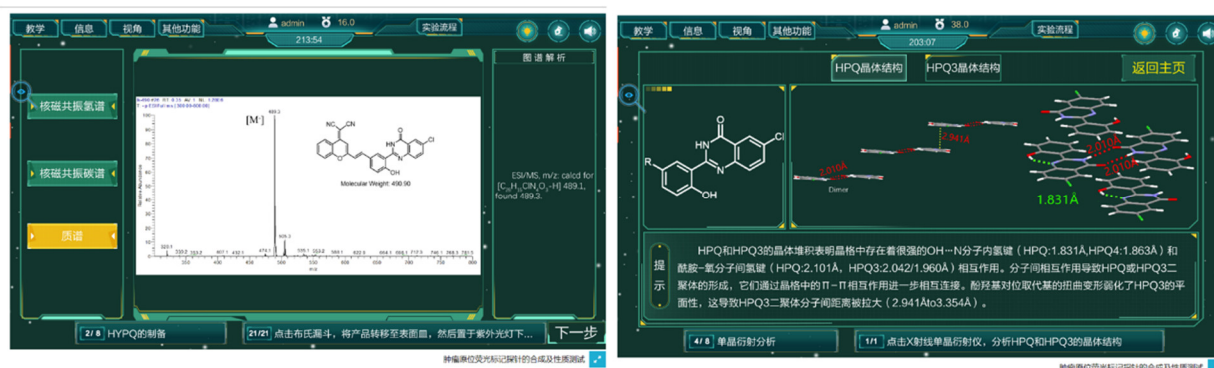


图5 HYPQ的质谱解析界面及HPQ单晶衍射分析界面示意图

完成HYPQG的合成和结构表征后,进一步对单晶衍射、亲脂性、抗扩散性、化学稳定性、光稳定性、探针对GGT的荧光响应性质进行分析。以亲脂性研究为例,又分5个小步骤,对比HPQ、HTPQ、HYPQ在二氯甲烷中的荧光颜色差异,对比三者在薄层色谱板上展开后的荧光差异,用荧光光谱仪测试在溶剂中和过滤后的荧光差异,用紫外光谱仪比较三者在不同溶剂中、过滤前后的紫外光谱差异,通过紫外吸收法测定三者在不同溶剂中浓度与吸光度的曲线。再如在探针对GGT响应的荧光性质测试中,包括HYPQ和HYPQG在不同溶剂中的紫外光谱测试(图6),HYPQG随GGT浓度增加的荧光发射光谱变化,反应后基质辅助激光解析-飞行时间质谱(MALDI-TOF/MS)的谱图变化,在不同浓度GGT抑制剂作用下HYPQG的荧光响应变化,实时测定650 nm处荧光随时间变化的情况,测试不同

活性物种对反应的影响,对HYPQG与GGT反应转化的沉淀颗粒进行激光粒度、透射电镜、扫描电镜等分析(图7)。全部完成后,也可根据掌握程度选择性地进入实验再次学习。性能表征部分设计了交互操作(8)–(28),赋分31分。



图6 HPQ、HTPQ和HYPQ的亲脂性实验及HYPQG对GGT响应的荧光光谱示意图

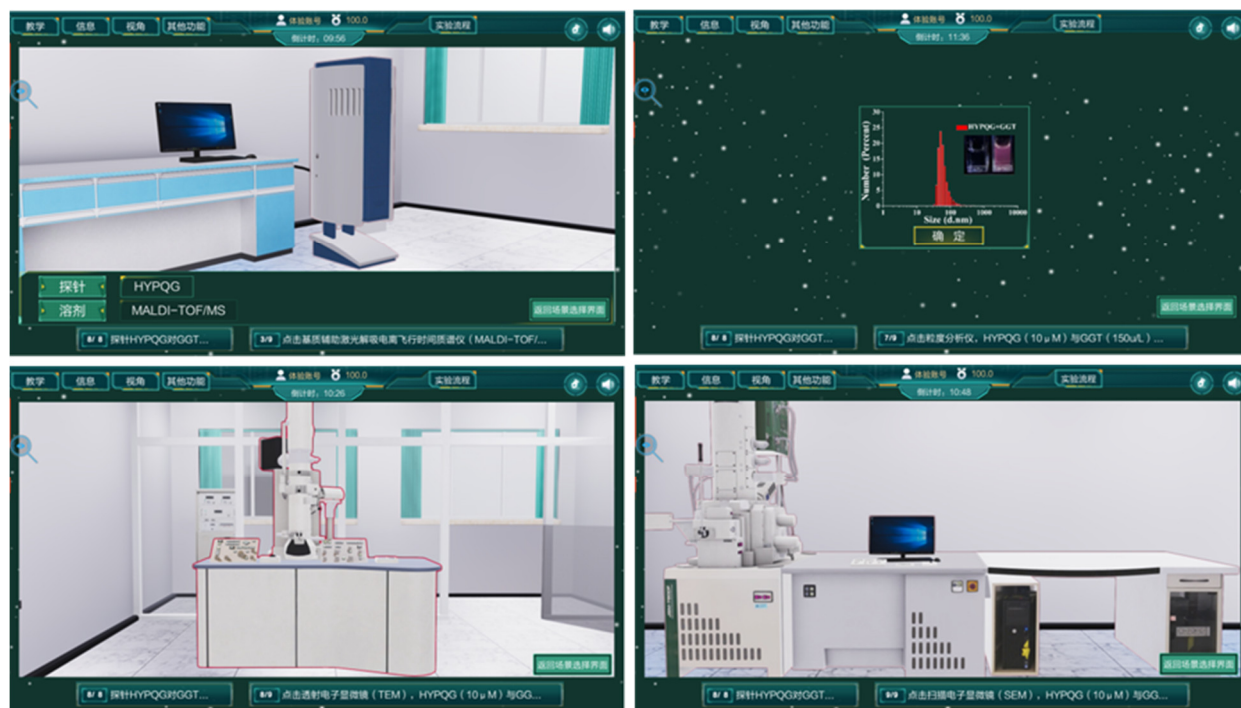


图7 质谱仪、激光粒度分析仪、透射电镜和扫描电镜等高端仪器实验界面

模块二共设计25步交互操作,总赋分为50分,侧重于对有机合成步骤与操作的掌握,以及对结构-性能关系的理解,通过模块二的训练,学习如何合成、表征一个原位荧光成像探针,研究其响应性能并验证其内在响应机理,从而对分子结构设计和性能研究有了更深层次的理解,该模块也是本虚拟仿真实验的核心部分。

3.3 模块三: 原位荧光成像与导航手术切除肿瘤

获得性能优异的荧光成像探针HYPQG后,还要进一步研究其在细胞和活体层面的荧光成像性能,以及在肿瘤切除手术导航中的应用(图8)。该模块细胞层次的虚拟仿真实验涉及到细胞培养、细胞活性测试、共聚焦荧光成像、细胞共定位实验、细胞Z-轴扫描和3D重建、细胞膜长时间原位成像

等研究。活体层次的实验涉及小鼠肿瘤的长时间原位GGT成像、小鼠体内肿瘤切除和模拟人体内肿瘤切除实验。该模块设计了交互操作(29)–(37)，赋分30分。

实验完成后，实验结果、成绩能够自动上传至平台，学生可以根据课程要求在线填写实验报告。

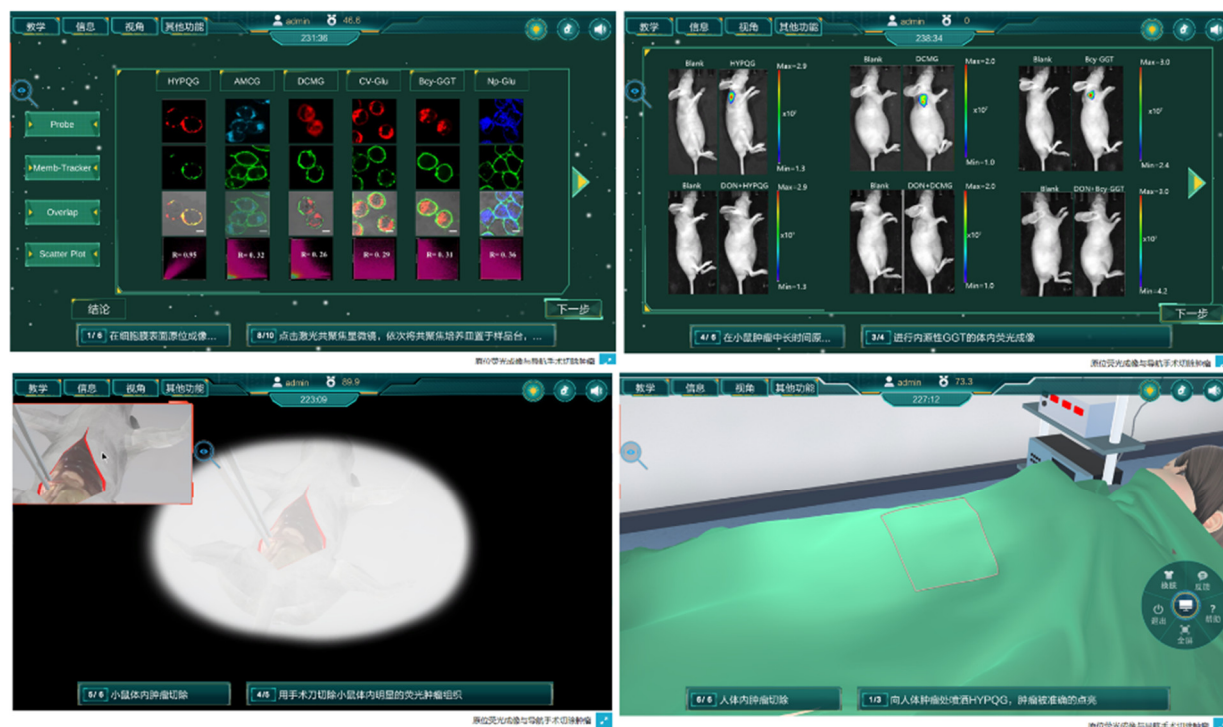


图8 模块三原位荧光成像与活体导航手术切除肿瘤实验示意图

4 线上线下混合式教学设计与实施

本实验采用三维虚拟仿真方式实现实验过程全景漫游与动态实时交互设计，学生通过授权ID登录使用本虚拟仿真实验系统，不受时间空间限制，实验中学习模式与考核模式可以无缝切换，为多样化的教学方式提供了可行性。

本虚拟仿真实验教学采用探究式线上线下混合式教学。课前布置了预习任务，让学生了解肿瘤手术切除中存在的问题和困难，同时结合讲义了解小分子荧光探针、细胞膜原位生物成像、沉淀型荧光染料、GGT原位成像荧光探针的预备知识，通读该虚拟仿真实验密切关联的文献。通过实验简介视频和教学引导视频，让学生熟悉本虚拟仿真实验的核心思想、模块设计和基本实验要求。预习后完成预习测试题，考查学生实验前对固态发光原位荧光探针相关预备知识的掌握情况。90%以上的学生都能够按照要求预习，并完成预习测试练习。

课中通过互动了解学生对课前布置的调研问题的思考，针对实验的核心原理边演示边讲解，先引导学生对实验设计有一个整体思路的理解，认识到固态发光荧光探针设计在活体原位精准成像和手术导航应用中的重要科学意义。再结合三大模块的重难点问题，如HPQ染料固态发光和沉淀的机理是什么？分子结构设计中的官能团效应影响，结构表征与性能表征中谱图如何分析？探针具备好的光谱性能后如何走向细胞和活体应用？同时对学生预习过程涉及的实验操作问题进行答疑。线下课堂在虚拟仿真实验中心机房进行，讲解答疑完毕再进行线上虚拟仿真实验的操作练习以及操作考核。学生操作中遇到问题既可以请教老师，也可以切换成学习模式，自主学习后再返回考核模式。但该过程系统会自动记录，切换累积到一定次数时，系统会自动扣分。实验后再进一步对实验中的

问题进行交流讨论。

实验过程中通过三大模块17个步骤的37步交互式操作,引导学生通过探究找到分子结构与光谱性质、成像性能之间的关系,理解如何获得一个高性能的分子成像工具。

在模块一中,以虚拟动画演示传统膜定位探针与固态发光原位荧光探针的区别,首先形成对原位成像探针的直观理解。再通过动手操作在HPQ染料中引入不同取代基获得19个不同类型的衍生化合物,每个化合物的荧光光谱和溶解性质都可以查看,学生通过结构与性质的比较,从中选择出性质最优的HPYQ,对构效关系有了初步理解。再进一步引入谷氨酸基团,提高探针的生物相容性,得到HYPQG探针。

在模块二中,学生重点练习原位荧光成像探针的合成与性质测试。首先进行实验中常用工具的熟悉和认知,再进行实验装置的搭建和相关化合物的合成、纯化和初步表征,在此基础上进行单晶结构解析。在加样、装置搭建顺序、溶剂选择等步骤均设置互动,让学生了解每个实验操作需要注意的关键点。通过实验,学生对HYPQG探针的合成路线、合成方法、纯化方式、结构表征手段有了直观的理解。合成获得所需探针后,能否进一步用于原位荧光成像,还需要对探针的亲脂性、稳定性、抗扩散性质、响应性能、抗干扰能力等进行测试,在模块二的性质测试中,设计了相应的实验,让学生深入理解,如何设计对照实验,选择合适的对照探针来验证探针的响应性能,并进一步理解分子结构与光谱性质之间的关系。

在模块三中,学生重点探索HYPQG探针在细胞和活体原位荧光成像及导航手术切除肿瘤中的应用,该实验侧重生物医学实验和荧光成像实验操作的训练。合成的探针能否用于生物体系原位成像和手术导航,还需要进行细胞膜表面原位成像、抗扩散性能比较、长时间原位成像研究,然后才能进行小鼠等活体原位成像和成像指导的肿瘤切除实验。学生通过这些实验的操作,不仅对原位精准生物成像有了直观理解,还从生物医学应用的角度对分子结构与成像性能关系有了深入认识。

虚拟仿真实验完毕后,一周内在线提交实验报告,由于该系统有详细的实验过程和打分记录,对学生实验报告的要求进行了改革。针对三个模块分别设计了5个拓展思考问题,学生对每个模块任选2个问题来填写实验报告。设计的问题都需要结合实验数据分析和思考归纳才能回答,如“要想获得高性能的NIR沉淀型HPQ类固态荧光染料,有哪些重要的设计原则需要考虑?”“如何判断设计的探针HYPQG对GGT能够选择性响应?需要设计什么实验验证?”“HYPQG与市售L-谷氨酸 γ -(7-氨基-4-甲基香豆素)(AMCG)探针、以及细胞膜示踪红色探针Memb-Tracker Red的比较实验能够说明什么问题?可对你探索的这几个实验获得的成像图进行分析”。学生在实验后结合拓展思考题,对三大模块虚拟仿真实验探究中的结果进行反思,从设计原则、光谱性质特点、验证性实验设计、谱图区别、结构与光谱及成像性能关系等方面总结内在规律。

通过课前、课中、课后教学环节设计,以及线上线下混合式教学,学生在充分的交互操作体验中,能够从分子水平理解结构和谱学特征、响应性能的内在关系,加强对设计高性能分子成像工具创新思路的理解。同时在课后,感兴趣的同学还可以借助实验进行进一步的拓展研究,如进入分子成像实验室了解该方向的最新进展,参与相关科研训练等。本实验总成绩构成中,考勤和预习测试占20%,实验操作考核占70%,在线实验报告占10%,虚拟实验的各个环节在总成绩中均有体现。

5 本虚拟仿真实验的特色与创新

5.1 以学生核心能力培养为中心进行虚拟仿真实验的设计

本虚拟仿真实验将最新科研成果转化为实验教学内容,为学生提供与原位荧光标记探针设计筛选的核心过程进行全面交互的机会。

学生在本科学习中,使用单晶衍射仪、荧光共聚焦显微镜、质谱等高端仪器的机会少,将这些大型精密仪器转换为虚拟仿真的形式,不仅实验安全系数大大提高,学生能够直观了解和动手操作的机会大大增加。实际科研实验周期长、成本高、消耗大,而且涉及大量细胞、活体实验和生物成

像, 需要丰富的经验才能完成, 无法引入本科教学, 而本虚拟仿真实验对科研实验的内容进行优化重组, 围绕探针设计、合成与性能测试、成像与手术导航构建了三大模块, 每个模块相对独立又互为一体, 使学生能够循序渐进地理解科研实验的原理与分子设计, 合成表征与构效关系, 原位成像与生物医学应用。

在虚拟仿真实验各模块的设计中也体现了以学生为中心的理念, 虚拟场景设计形象、生动、直观, 围绕核心能力培养, 设计了37步可交互操作的步骤, 让学生身临其境地体会高性能分子工具的结构设计、合成、优化和筛选过程, 掌握结构解析与表征方法, 探究结构与光物理化学性质之间的密切关系, 了解其在细胞和活体肿瘤成像和手术导航中的应用潜力。通过深入探究, 对肿瘤原位荧光标记技术达到深层次理解, 逐步形成高性能化学成像分子工具设计的思路, 加强了动手能力、高阶思维和创新能力的培养。

本虚拟仿真实验能够服务于化学化工本科生的“知识、素质、能力”培养, 极大地拓展了基础实验教学的深度和广度, 2021年获评湖南省虚拟仿真实验教学一流本科课程。

5.2 基于重要科学问题的探究式教学和育人元素融入

本虚拟仿真实验的教学中采用基于重要科学问题的探究式教学。课前引导学生调研发现肿瘤手术切除中存在的问题, 认识到精准标记与成像导航的重要性, 并在线上观看实验指导相关视频, 完成预习练习题。课中引导学生发现现有荧光成像技术的问题, 了解如何以重要科学问题为导向进行分子结构设计, 并依据响应性能优化结构设计, 解决细胞和活体原位荧光成像中的科学问题, 实现肿瘤手术导航的应用。在三大模块学习中借助插入性问题引导学生思考, 同时完成虚拟仿真实验的考核, 在实验结束后的报告填写中, 结合6个思考题的回答来引导学生课后的拓展思考。通过课前预习练习、实验考核和问题回答, 可以了解学生虚拟仿真实验的操作技能和对科学问题的思考情况。

在教学中注重科学素养和科研价值观的培养。在实验原理的探究中, 结合恶性肿瘤的精准诊断与治疗这一面向国家重大需求和人民健康的科学问题, 从减轻患者痛苦的角度考虑如何对分析方法进行改进与创新。通过虚拟仿真实验探索, 了解如何通过分子水平的结构设计赋予探针精准原位标记新功能, 实现肿瘤边界的精确界定, 为精准诊疗提供研究工具。在37步交互操作细节中培养严谨的科学态度和分析解决问题的科学探究精神。通过该虚拟仿真实验的探究, 理解科研如何面向国家需求, 服务人民健康来解决科学难题, 理解“精准”中蕴含的“求真”“求实”和“求新”思想, 进一步实现科研价值观的积极引导。

参 考 文 献

- [1] Ntziachristos, V. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2006**, *8*, 1.
- [2] Yang, Y.; Zhao, Q.; Feng, W.; Li, F. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 192.
- [3] Landau, M. J.; Gould, D. J.; Patel, K. M. *Ann. Transl. Med.* **2016**, *4* (20), 392.
- [4] 娄霄峰, 任天兵, 徐帅, 袁林, 张晓兵. *中国科学(化学)*, **2022**, *52* (9), 1462.
- [5] Li, X.; Gao, X.; Shi, W.; Ma, H. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (1), 590.
- [6] Devaraj, N. K.; Upadhyay, R.; Haun, J. B.; Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (38), 7013.
- [7] Li, K.; Lyu, Y.; Huang, Y.; Xu, S.; Liu, H.; Chen, L.; Ren, T.; Xiong, M.; Huan, S.; Yuan, L.; *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2021**, *118* (8), e2018033118.
- [8] 教育部办公厅关于2017–2020年开展示范性虚拟仿真实验教学项目建设的通知. [2017-07-21]. http://www.moe.gov.cn/srcsite/A08/s7945/s7946/201707/t20170721_309819.html