中国科学: 化学 2024 年 第 54 卷 第 10 期: 1817 ~ 1825
SCIENTIA SINICA Chimica chemcn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
评 述 陕西师范大学建校80周年专刊

生物活性含硒化合物的荧光成像分析

田勇[1*], 张小玲[2*]

1. 深圳大学材料学院和物理与光电工程学院, 深圳 518060
2. 北京理工大学化学与化工学院, 北京 102488
*通讯作者, E-mail: yongtian@szu.edu.cn; zhangxl@bit.edu.cn

收稿日期: 2024-05-31; 接受日期: 2024-07-24; 网络版发表日期: 2024-09-26
国家自然科学基金(编号: 22174008)和深圳市自然科学基金(编号: JCYJ20210324142211031)资助项目

摘要 硒是一种生命系统内必需的微量元素, 并且发挥着至关重要的生物功能. 硒的生物功能主要由含硒化合物所承载, 具有各种各样的生物功能, 如抗氧化、抗炎及促甲状腺激素等功能. 目前, 绝大多数含硒化合物在不同生理和病理过程中所发挥的具体生物功能仍未明确. 因此, 探究含硒化合物在不同生理和病理过程中的生物功能受到了极大的关注. 近年来, 采用荧光探针对含硒化合物进行荧光成像分析的研究方法得到快速发展. 本文对这一研究领域的进展进行了概述, 根据含硒化合物的种类分为4个部分: (1) 硒代半胱氨酸的荧光分析; (2) 硒化氢的荧光分析; (3) 硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光分析; (4) 亚硒酸的荧光分析. 最后对该领域未来的发展进行了展望.

关键词 硒代半胱氨酸, 硒化氢, 硫氧还蛋白氧化还原酶, 亚硒酸, 荧光成像

1 引言

硒元素是由瑞典化学家Jöns Jacob Berzelius于1817年发现的, 并以希腊月亮女神Selene的名字命名[1]. 作为硫族元素之一, 硒在自然界中能够以6种稳定的同位素以及多种不同特性的放射性核素的形式存在. 长期以来, 生物学理论都认为硒是一种毒药和致癌物. 这一观点直到Schwarz和Foltz[2,3]发现硒能够防治大鼠肝脏坏死, 并且是一种细菌、哺乳动物以及鸟类体内的微量营养素后才被改写. 近几十年来, 硒的生物学研究发展迅速, 现在人们已经知道硒作为一种必需的微量元素以多种多样的形式存在于生命系统中. 硒在人体中的生物功能主要以具有生物活性的含硒化合物实现. 这些含硒化合物与人类及其他哺乳动物的健康有着密切的关系, 如降低癌症发病率、预防心血管疾病、治疗肌肉失调以及延缓艾滋病病发等[4]. 因而, 硒的生物功能得到了广泛研究, 并且相关的研究方法也随之蓬勃发展[4~10].

目前, 用于研究生物体内含硒化合物的方法有荧光法[11]、原子吸收法[12]、氢化物原子荧光[13]法、等离子体发射光谱法[14]、比色法[15]及中子活化法[16]等. 但是, 这些方法都无法实现对生物体内的含硒化合物进行非侵入型实时动态的监测. 相较而言, 基于荧光探针的荧光成像分析法因具有操作简单、成本低廉、检测快速、灵敏度和选择性高、生物相容性好以及可在生物环境中进行原位、实时、动态的定量分析等优点, 从而成为不可或缺的研究方法[17~25]之一. 近年来, 用于监测生物体内硒代半胱氨酸(Sec)、硒化氢(H_2Se)、硫氧还蛋白氧化还原酶(TrxRs)以及亚硒酸盐(SeO_3^{2-})等生物活性含硒化合物的荧光探针被相继开

引用格式: Tian Y, Zhang X. Fluorescence imaging of bioactive selenocompounds. *Sci Sin Chim*, 2024, 54: 1817–1825, doi: 10.1360/SSC-2024-0110

© 2024 《中国科学》杂志社

发出来. 但目前关于这一研究领域的最新进展概述还未有报道. 因此, 本文对生物体内Sec、H_2Se、TrxRs以及SeO_3^{2-}这4种重要的含硒化合物的荧光成像分析方法进行了总结, 主要包括4个内容: (1) 硒代半胱氨酸的荧光分析; (2) 硒化氢的荧光分析; (3) 硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光分析; (4) 亚硒酸的荧光分析. 本文期望能够对该领域的研究者有所帮助, 并鼓励更多的研究者加入揭开硒元素神秘面纱的行列.

2 硒代半胱氨酸的荧光分析

硒代半胱氨酸是半胱氨酸(Cys)的类似物, 其硫醇基团被硒醇基团取代, 并且硒代半胱氨酸也是第21种可基因编码的氨基酸. 在生物体内, 硒代半胱氨酸是硒的主要存在形式, 且可通过终止密码子UGA编码至硒蛋白(SePs)中[5]. 硒代半胱氨酸中的硒醇基团(pK_a=5.8)在生理环境下几乎完全电离, 从而使得硒代半胱氨酸具有较高的反应活性, 同时也赋予了硒蛋白较高的催化效率. 由于硒代半胱氨酸在众多生理过程中发挥着重要作用, 所以开发出生物相容性好的荧光探针用于建立可靠、快速的硒代半胱氨酸检测方法是十分必要的. 但由于生理环境中存在与硒代半胱氨酸化学性质相似的高浓度生物硫醇, 会对硒代半胱氨酸的检测造成较大的干扰. 迄今为止, 仅有少数可用于检测生理环境中硒代半胱氨酸的荧光探针被报道. 2006年, Maeda等[26]报道了第一例用于检测硒代半胱氨酸的荧光探针**1** (图1). 此前探针**1**已被报道用于生物硫醇的检测. 但当环境pH值低于7时, 探针**1**能够选择性地识别高亲核性的硒代半胱氨酸而对生物硫醇不响应. 该结果表明探针**1**在pH值为5.8~7.4的磷酸缓冲溶液中对硒代半胱氨酸和生物硫醇的荧光响应截然不同. 在pH值为5.8的环境中, 探针**1**对硒代半胱氨酸的荧光响应比对生物硫醇荧光响应高200倍. 但该探针无法在生理环境pH(7.4)下实现对硒代半胱氨酸的检测.

鉴于此, 开发出可在生理条件下选择性检测硒代半胱氨酸的探针尤为重要. 受硫醇探针的检测机制以及硒代半胱氨酸的高亲核性的启发, 房建国等[27]在2014年报道了第一例可在生理环境pH(7.4)下检测硒代半胱氨酸的荧光探针. 通过设计和制备一系列不同亲电性的淬灭基团和连接基团的荧光探针, 从中筛选出一个能够在pH为7.4的水溶液中对硒代半胱氨酸荧光响应增强100倍的香豆素类荧光探针**2**(图2). 相比之下, 探针**2**对生物硫醇、胺类和醇类则无明显的荧光响应. 该探针的检测机制是利用了硒代半胱氨酸在中性pH值下比生物硫醇更强的亲核性以及荧光团良好的离去性. 探针**2**对硒代半胱氨酸的实际检测限为0.5 μM, 而理论检测限为62 nM. 该探针具有较高的灵敏度, 可实现对健康成人血清中硒代半胱氨酸(浓度>500 nM)的定量检测. 但无法准确测定克山病或Kashin-Beck病患者血清中硒代半胱氨酸(浓度~100 nM)的浓度. 探针**2**还实现了对硫氧还蛋白氧化还原酶中的硒代半胱氨酸的定量分析, 以及对活HepG2细胞中内源性硒代半胱氨酸的荧光成像分析. 此外, 探针**2**可适用于鉴定细胞中各种含硒化合物的硒醇代谢物, 以及阐明不同含硒化合物的细胞毒性机制.

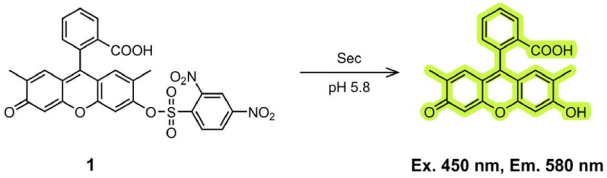


图 1 (网络版彩图)探针**1**检测硒代半胱氨酸的反应式

Figure 1 (Color online) The detection illustration of probe **1** toward Sec.

2015年, 唐波等[28]报道了第一例基于Se–N键为识别位点的荧光探针**3**用于硒代半胱氨酸的荧光成像分析(图3). 探针**3**采用半花菁为荧光基团, 苯并硒二唑为识别基团. 硒代半胱氨酸能够高选择性地切断Se–N键, 从而使得探针在580 nm处的荧光得到增强, 且对硒代半胱氨酸的检测限达到7 nM. 此外, 探针**3**成功用于活细胞和小鼠内硒代半胱氨酸的荧光成像分析.

相较于可见光发射的荧光探针, 近红外(NIR, 650~900 nm)荧光探针更适用于活体动物的成像研究, 由于其对生物样本的光损伤较低、组织穿透较深、受活体生物分子的背景荧光干扰最小且光散射较低, 因此, 近红外荧光探针深受青睐. 林伟英等[29]在2015年报道了第一例近红外荧光探针**4**用于硒代半胱氨酸的荧光成像分析(图4). 该探针以2,4-二硝基苯磺酰胺为识别基团, 半花菁染料为近红外信号基团. 探针**4**可在pH为7.4的PBS缓冲液中高选择性识别硒代半胱氨酸, 且在712 nm处的荧光增强了65倍. 此外, 探针**4**成功用于活细胞和小鼠中硒代半胱氨酸的荧光成像分析.

同年, 邱仁华等[30]报道了第一例纳米荧光探针**5**

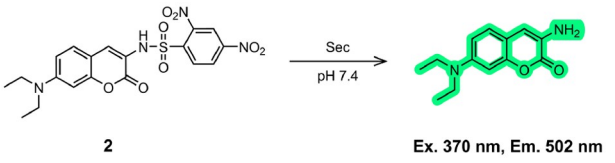


图 2　(网络版彩图)探针**2**检测硒代半胱氨酸的反应式

Figure 2　(Color online) The detection illustration of probe **2** toward Sec.



图 3　(网络版彩图)探针**3**检测硒代半胱氨酸的反应式

Figure 3　(Color online) The detection illustration of probe **3** toward Sec.

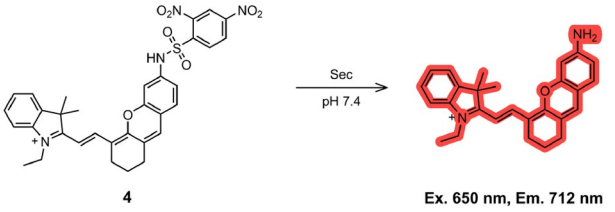


图 4　(网络版彩图)探针**4**检测硒代半胱氨酸的反应式

Figure 4　(Color online) The detection illustration of probe **4** toward Sec.

用于硒代半胱氨酸的荧光成像分析(图5). 探针**5**采用聚碳酸酯作为纳米微囊泡, 阿霉素作为荧光信号基团, 2,4-二硝基苯磺酰作为识别基团. 当硒代半胱氨酸与囊泡外的2,4-二硝基苯磺酰反应后, 囊泡外层疏水性转变为亲水性, 从而导致囊泡破裂, 进而释放出包裹在囊泡内的阿霉素, 实现对硒代半胱氨酸的荧光增强检测. 探针**5**对硒代半胱氨酸的检测限为0.05 μM. 此外, 探针**5**成功用于活细胞和组织中硒代半胱氨酸的荧光成像分析.

2016年, 唐波等[31]又报道了一种基于Au–S键为识别位点的近红外金纳米颗粒荧光探针**6**用于硒代半胱氨酸的荧光成像分析(图6). 探针**6**是由硫醇修饰的花菁染料和金纳米颗粒通过Au–S键连接制备而成. 由于花菁和金纳米颗粒之间形成荧光共振能量转移, 从而淬灭花菁的荧光. 当硒代半胱氨酸切断Au–S键后, 使得花菁的近红外荧光得以恢复, 从而实现对硒代半胱氨酸的检测, 且对硒代半胱氨酸的检测限达到0.38 nM. 此外, 探针**6**成功用于肝癌细胞和小鼠肿瘤凋亡

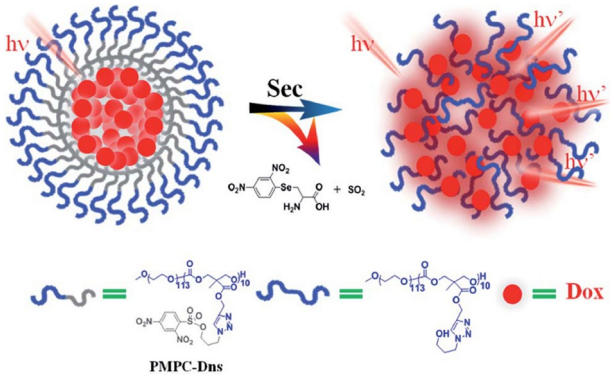


图 5　(网络版彩图)探针**5**检测硒代半胱氨酸的反应式

Figure 5　(Color online) The detection illustration of probe **5** toward Sec.

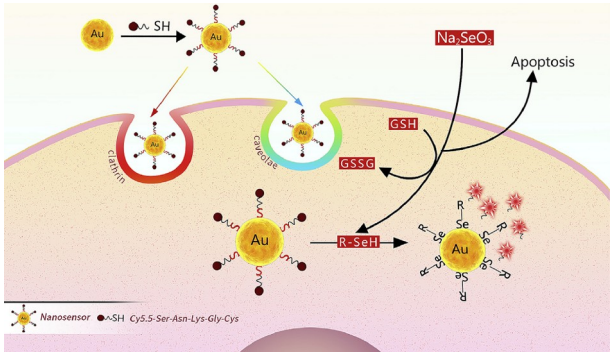


图 6　(网络版彩图)探针**6**检测硒代半胱氨酸的反应式

Figure 6　(Color online) The detection illustration of probe **6** toward Sec.

过程中硒代半胱氨酸的荧光成像分析. 研究结果表明在乏氧条件下硒代半胱氨酸的浓度水平上升, 这一结果将有助于了解硒代半胱氨酸的在肿瘤中的生物功能.

同年, 杨广福等[32]在探针**2**的基础上, 采用环张力策略限制C_7–N键的转动来增强探针的灵敏度以期降低对硒代半胱氨酸的检测限(图7). 如期所料, 探针**7**的检测限低至18 nM, 且依然能高选择性识别硒代半胱氨酸. 基于探针**7**, 通过流式细胞仪成功实现了对单细胞中内源性硒代半胱氨酸的检测, 并对斑马鱼体内的硒代半胱氨酸进行了荧光成像分析. 此外, 探针**7**还具有区分癌细胞和正常细胞的能力. 研究结果表明癌细胞内的硒代半胱氨酸水平较高, 而正常细胞内的硒代半胱氨酸水平较低.

之后, Rao等[33]合成了一系列丹酰与吡喃葡萄糖通过三唑连接的荧光化合物, 并探索了它们对硒代半

胱氨酸的响应性能. 在这些化合物中, 探针**8**能够在磷酸缓冲液中高灵敏度和高选择性地响应硒代半胱氨酸, 且在550 nm处的荧光增强了210倍(图8). 探针**8**对硒代半胱氨酸的检测限可达150 nM. 探针**8**含有吡喃葡萄糖基可溶于水, 因此可作为设计水溶性探针的典范. 由于探针**8**对硒代半胱氨酸的检测限高于探针**2**, 因此无法实现对克山病或Kashin-Beck病患者血清中硒代半胱氨酸的检测.

上述探针都是基于单一波长下荧光信号强度的变化来对细胞及活体内的硒代半胱氨酸进行荧光成像分析. 相较于单波长型荧光探针, 双波长比率型荧光探针具有多信号自校准的特性, 可提供更准确的定量结果, 增强荧光成像分析的时空分辨率以及降低生物组织内环境因素(pH值、黏度、极性等)对荧光信号的干扰等优势. 鉴于此, 本课题组[34]在2017年报道了第一例比率型荧光探针**9**用于硒代半胱氨酸的荧光成像分析(图9).

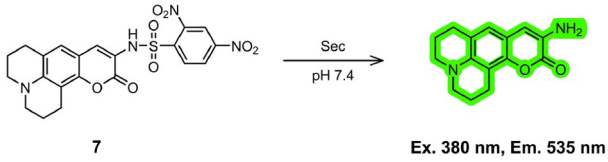


图 7 (网络版彩图)探针**7**检测硒代半胱氨酸的反应式
Figure 7 (Color online) The detection illustration of probe **7** toward Sec.

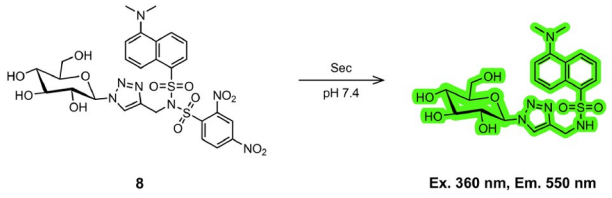


图 8 (网络版彩图)探针**8**检测硒代半胱氨酸的反应式
Figure 8 (Color online) The detection illustration of probe **8** toward Sec.

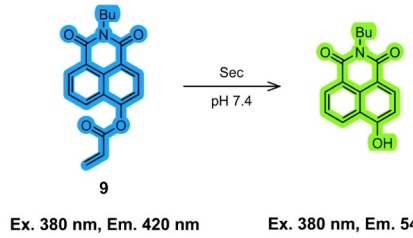


图 9 (网络版彩图)探针**9**检测硒代半胱氨酸的反应式
Figure 9 (Color online) The detection illustration of probe **9** toward Sec.

当与硒代半胱氨酸反应后, 探针**9**在420 nm处的荧光强度降低, 同时在546 nm处的荧光强度增强, 基于这两种荧光信号的比率型变化, 成功建立了一种对HeLa细胞内硒代半胱氨酸的比率型荧光成像定量分析方法.

3 硒化氢的荧光分析

硒化氢(H_2Se)是硫化氢(H_2S)的类似物, 正如硒代半胱氨酸被视为半胱氨酸的类似物一样. 硒化氢是一种重要的硒代谢中间体, 参与许多生理和病理过程[35]. 但目前用于硒化氢检测的荧光探针还相对较少. Zhao和Wu[36]在2007年报道了第一例纳米结构的硫化镉量子点荧光探针用于硒化氢的检测. 探针能够在pH为7.4的Tris-HCl缓冲溶液中高选择性地检测硒化氢, 对硒化氢的检测限达0.087 μM. 但该探针未能应用于细胞或活体内硒化氢的荧光成像分析.

2015年, 唐波等[37]报道了一种基于Se–N键为识别位点的近红外荧光探针**10**用于硒化氢的荧光成像分析(图10). 探针**10**采用半花菁为荧光基团, 硒二唑结构为识别基团. 探针可高选择性地识别硒化氢而不识别硫化氢、硒代半胱氨酸以及其他生物硫醇, 且对硒化氢的检测限达7 nM. 此外, 探针**10**成功用于活细胞和小鼠中内源性硒化氢的荧光成像分析. 研究结果表明硒在乏氧实体瘤内可能是通过非氧化应激的机制来杀伤癌细胞. 但该结论仍需多方验证.

次年, 唐波等[38]又报道了一种基于双硫键为识别位点的荧光探针**11**用于硒化氢的荧光成像分析(图11). 探针**11**采用半花菁为荧光基团, 含双硫键的六元环为识别基团. 当与硒化氢反应后, 探针**11**在535 nm处的荧光强度增强, 对硒化氢的检测限达0.68 μM. 此外, 探针**11**成功用于活细胞和小鼠中内源性硒化氢的荧光成像分析. 研究结果同样表明硒可能是通过非氧化应激机制来杀伤癌细胞, 并且探针**11**能够为研究硒化氢的生物功能和硒的抗癌机制提供一个有效的工具.

2019年, 本课题组[39]报道了第一例靶向溶酶体的小分子荧光探针**12**用于硒化氢的荧光成像分析(图12). 探针采用萘酰亚胺类染料作为荧光基团, 硒二唑结构作为识别基团, 吗啉作为溶酶体靶向基团. 当与硒化氢反应后, 探针在535 nm处的荧光增强, 对硒化氢的检测限达1.2 μM. 此外, 基于探针**12**成功建立了一种对溶酶体内硒化氢的荧光成像分析方法. 研究结果表

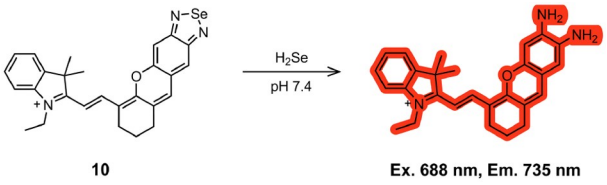


图 10　(网络版彩图)探针**10**检测硒化氢的反应式

Figure 10　(Color online) The detection illustration of probe **10** toward hydrogen selenite.

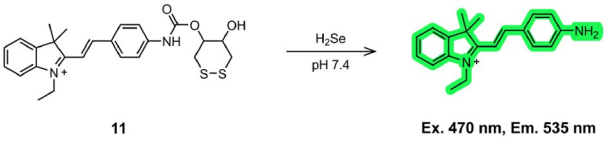


图 11　(网络版彩图)探针**11**检测硒化氢的反应式

Figure 11　(Color online) The detection illustration of probe **11** toward hydrogen selenite.

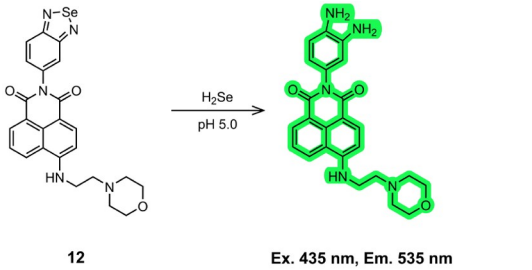


图 12　(网络版彩图)探针**12**检测硒化氢的反应式

Figure 12　(Color online) The detection illustration of probe **12** toward hydrogen selenite.

明在乏氧条件下溶酶体内硒化氢的水平上升，可为研究硒的抗癌机制提供一个新的思路.

4　硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光分析

另一类重要的生物活性含硒化合物是硫氧还蛋白氧化还原酶家族，其存在于所有细胞和不同的细胞器内. 硫氧还蛋白氧化还原酶1主要位于细胞质和细胞核中，而硫氧还蛋白氧化还原酶2主要位于线粒体内，硫氧还蛋白氧化还原酶3主要在睾丸中表达. 硫氧还蛋白氧化还原酶通常在多种癌细胞内过表达，且其与肿瘤增殖及抗药性有着密切的联系[40]. 因此，亟需开发便捷、直接的方法检测活细胞中硫氧还蛋白氧化还原酶的活性. 但目前为止, 仅有少数荧光探针可用于硫氧还蛋白氧化还原酶的检测.

2014年，房建国等[41]报道了第一例小分子荧光探针**13**用于硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光成像分析(图13). 探针**13**采用萘酰亚胺类染料作为荧光团，含双硫键的五元环结构作为识别基团. 当与硫氧还蛋白氧化还原酶反应后，双硫键被切断并形成1个硫内脂的五元环结构，该五元环结构随即从探针**13**上脱离，使得探针在538 nm处的荧光信号大幅增强. 此外，探针**13**成功用于细胞内硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光成像分析, 以及硫氧还蛋白氧化还原酶抑制剂的筛选, 并为靶向硫氧还蛋白氧化还原酶的抗癌药物的开发提供一种有效工具.

探针**13**是一种非共价标记型探针，因此在识别硫氧还蛋白氧化还原酶后荧光团只是通过弱相互作用聚集在蛋白周围, 而当处于稀溶液环境时, 就会与蛋白产生非特异性解离，从而限制了该探针在生物学中的应用. 因此，卜宪章等[42]报道了第一例用于共价标记硫氧还蛋白氧化还原酶的探针**14**(图14). 探针**14**采用香豆素类染料作为荧光团，双键呋喃酮作为标记基团. 由于探针产生分子内电荷转移效应，从而导致香豆素的荧光被淬灭. 当硫氧还蛋白氧化还原酶与探针上的双键发生迈克尔加成反应后，切断了分子内的电荷转移过程, 使得探针荧光信号增强. 此外, 探针**14**成功用于癌细胞内硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光成像分析. 尽管该共价标记型探针具有其独特性，但仍需开发更多的荧光探针用于活体内硫氧还蛋白氧化还原酶的检测和成像.

2017年, Singh等[43]报道了一种纳米结构的荧光探针**15**用于硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光成像分析(图15). 探针**15**采用碳点作为能量供体, 萘酰亚胺类染料作为能量受体, 生物素作为癌细胞靶向基团. 碳点与萘酰亚胺之间通过双硫键相连接，并形成荧光共振能量转移系统. 当用360 nm光源激发后，碳点的荧光被萘酰亚胺吸收，从而只在565 nm处发射萘酰亚胺的荧光. 当与硫氧还蛋白氧化还原酶反应后，萘酰亚胺从碳点表面脱离，使得碳点在440 nm处的荧光信号得以恢复. 此外，探针**15**成功用于癌细胞内硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光成像分析，并且在光照条件下探针**15**能够产生活性氧有效地杀伤癌细胞.

2020年, Strongin等[44]报道了一种基于双硒键为识别位点的荧光探针**16**用于硫氧还蛋白氧化还原酶的荧光成像分析(图16). 探针**16**采用罗丹明类染料作为荧

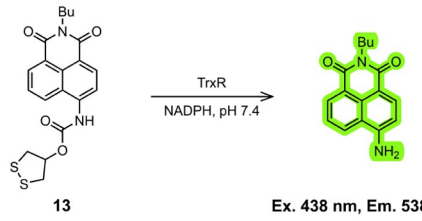


图 13 (网络版彩图)探针**13**检测硫氧还蛋白氧化还原酶的反应式

Figure 13 (Color online) The detection illustration of probe **13** toward TrxR.

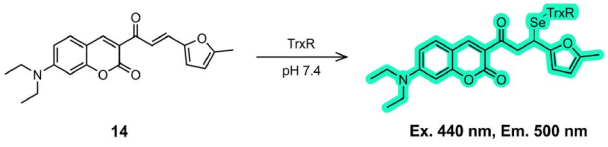


图 14 (网络版彩图)探针**14**检测硫氧还蛋白氧化还原酶的反应式

Figure 14 (Color online) The detection illustration of probe **14** toward TrxR.

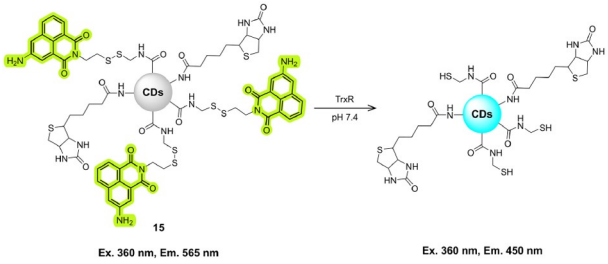


图 15 (网络版彩图)探针**15**检测硫氧还蛋白氧化还原酶的反应式

Figure 15 (Color online) The detection illustration of probe **15** toward TrxR.

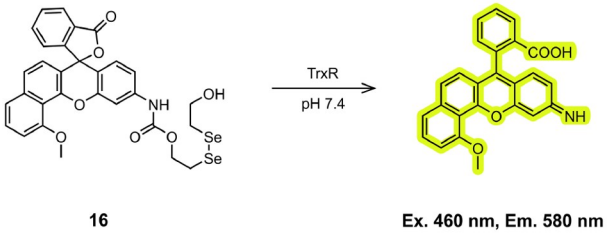


图 16 (网络版彩图)探针**16**检测硫氧还蛋白氧化还原酶的反应式

Figure 16 (Color online) The detection illustration of probe **16** toward TrxR.

光团, 含二硒键的直链烷烃作为识别基团. 当与硫氧还蛋白氧化还原酶反应后, 探针在580 nm处的荧光增强. 此外, 探针**16**成功用于肺癌细胞内硫氧还蛋白氧化还原酶1的荧光成像分析, 并为检测黑色素瘤提供一种有效的工具.

5 亚硒酸的荧光分析

以上总结了检测生物活性有机硒的荧光探针的研究进展. 但硒元素还存在大量的无机形态. 无机硒具有4种不同的氧化价态, 包括单质硒(Se^0)、硒化物(Se^{2-})、亚硒酸盐(SeO_3^{2-})和硒酸盐(SeO_4^{2-}). 目前, 仅有少数检测亚硒酸(SeO_3^{2-})的荧光探针被报道. 2013年, 郇延富等[45]报道了第一例用于检测亚硒酸的荧光探针**17**. 探针**17**采用醛基和酰胺取代的芳香类结构. 在乙醇溶液中探针能够与亚硒酸离子之间形成配位作用, 使得探针在475 nm处的荧光信号增强. 通过工作曲线表明探针与亚硒酸离子之间的配位比是2:1. 但该探针的水溶性较低, 限制了其在水环境中的应用. 之后, 费强等[46]和Awual等[47]分别报道了一种基于罗丹明6G类的荧光探针**18**和一种基于腙类结构的荧光探针**19**. 这两种探针也都是基于配位作用来实现对亚硒酸离子的检测, 并且都无法在生理环境中使用(图17).

上述探针的水溶性、生物相容性以及灵敏度较低, 因而其实用性受到一定的限制. 鉴于此, Mateo等[48]在2010年报道了一种环糊精类的荧光探针用于检测亚硒酸离子. 探针采用邻苯二胺类结构作为识别基团, 并将其与环糊精进行组装形成复合型探针. 探针可在水溶液中与亚硒酸离子反应生成苯并硒二唑结构, 检测限可达13 nM. 但探针对亚硒酸离子的选择性不高. 基于相同的检测机理, 田熙科等[49]在2016年报道了一种比率型的量子点荧光探针**20**用于亚硒酸离子的检测(图18). 探针**20**采用碲化镉量子点作为参比信号基团, 邻苯二胺类结构作为识别基团, 并通过酯基将二者相连接. 当与亚硒酸反应后, 生成的苯并硒二唑结构在530 nm处的荧光信号增强, 再与量子点在635 nm处荧光信号相比, 即可实现对亚硒酸的比率型荧光检测, 且对亚硒酸的检测限达6.68 nM.

由于上述探针的使用条件苛刻以及生物相容性低, 而无法用于生物环境中亚硒酸的检测. 鉴于此, 本课题组[50]在2019年报道了第一例可用于检测生物环境中亚硒酸的比率型荧光探针**21**(图19). 探针**21**采用2-萘苯并噻唑类结构染料作为荧光基团, 1,4-二羰基烷

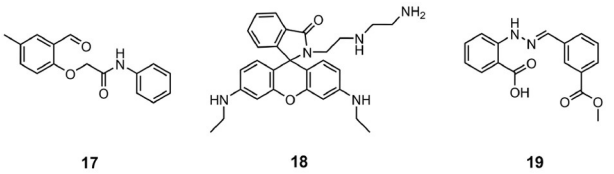


图 17　探针**17**、**18**、**19**的结构式
Figure 17　The structures of probe **17**, **18**, and **19**.

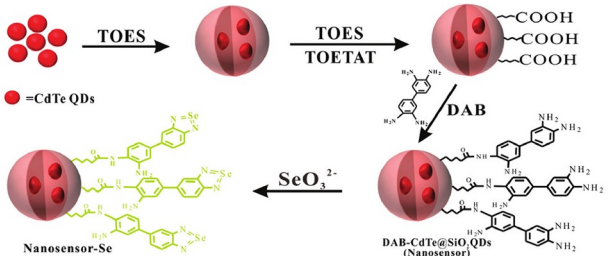


图 18　(网络版彩图)探针**20**检测亚硒酸的反应式
Figure 18　(Color online) The detection illustration of probe **20** toward selenite.

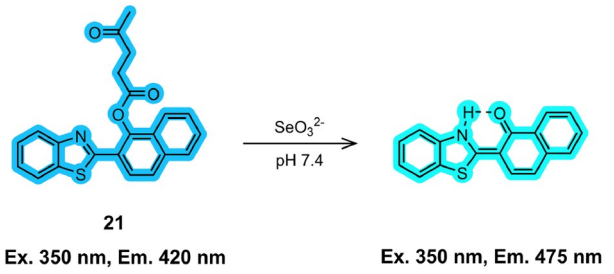


图 19　(网络版彩图)探针**21**检测亚硒酸的反应式
Figure 19　(Color online) Detection illustration of probe **21** toward selenite.

烃作为识别基团. 探针**21**是一种典型的激发态分子内质子转移型荧光团, 当与亚硒酸反应后, 其在410 nm处的醇式结构荧光强度降低, 同时在475 nm处的酮式结构荧光增强, 基于这两种荧光信号的比率型变化, 成功建立了一种对活细胞内亚硒酸的比率型荧光成像定量分析方法.

6　总结与展望

硒是一种生命系统中非常重要的微量元素, 它不仅在各种生理过程中发挥着重要作用, 而且在各种病理过程中也发挥着重要作用. 因此, 用于监测细胞和活体内生物活性含硒化合物的荧光探针和荧光成像分析方法在近些年得到了快速发展. 在本文中, 我们大致总结了检测生物活性含硒化合物的荧光探针的研究进展, 尤其针对检测硒代半胱氨酸、硒化氢、硫氧还蛋白氧化还原酶及亚硒酸这4种生物活性含硒化合物的荧光探针进行了较为详细的讨论. 尽管在荧光探针的设计和测试方面取得了一定的进展, 但仍存在一些问题和挑战. 首先, 由于能够与生物活性含硒化合物发生特异性的反应类型较少, 从而导致可应用于检测这些生物活性含硒化合物的荧光探针数量有限. 其次, 在设计新探针时需首要考虑探针的结构对选择性和灵敏度的影响. 例如, 将不同的荧光团与相同的识别基团(如硒二唑、双硫键、双硒键)组合而成的荧光探针用于区分检测硒代半胱氨酸、硒化氢及硫氧还蛋白氧化还原酶. 再者, 可考虑采用理论计算的方法来取代通过大量的有机合成以筛选出潜在的荧光探针. 最后, 需综合高选择性、高灵敏度、高光稳定性、低细胞毒性、低自氧化性、良好的水溶性、良好的细胞渗透性以及强的抗干扰性等因素作为设计用于检测生物活性含硒化合物的荧光探针的原则. 希望本文能够为设计检测生物活性含硒化合物的荧光探针提供一些思路, 并期望能够鼓励更多的研究者致力于这一新兴领域.

参考文献

1　Rayman MP. *Lancet*, 2000, 356: 233–241
2　Schwarz K, Foltz CM. *J Biol Chem*, 1958, 233: 245–251
3　Schwarz K, Foltz CM. *Nutr Rev*, 1978, 36: 338–340
4　Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigo R, Gladyshev VN. *Science*, 2003, 300: 1439–1443
5　Hatfield DL, Tsuji PA, Carlson BA, Gladyshev VN. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39: 112–120
6　Bhabak KP, Mugesh G. *Acc Chem Res*, 2010, 43: 1408–1419
7　Mugesh G, du Mont WW, Sies H. *Chem Rev*, 2001, 101: 2125–2180
8　Nogueira CW, Zeni G, Rocha JBT. *Chem Rev*, 2004, 104: 6255–6286

9 Reich HJ, Hondal RJ. *ACS Chem Biol*, 2016, 11: 821–841

10 Rayman MP. *Lancet*, 2012, 379: 1256–1268

11 Ji QX, Liu Y, Xiang YZ. Determining the selenium content in seaweed products using fluorescence spectroscopy, *Studies Trace Elements Health*, 2004, 21: 25 (in Chinese) [纪庆宪, 刘源, 相有章. 荧光分光光度法测定海藻产品中的硒含量. 微量元素与健康研究, 2004, 21: 25]

12 Capelo J, Fernandez C, Pedras B, Santos P, Gonzalez P, Vaz C. *Talanta*, 2006, 68: 1442–1447

13 Zeng XD, Zhu L, Wang YX, Zhang FS. Determination of total selenium and inorganic selenium in seaweed mud by atomic fluorescence spectrometry, *Chin J Spectro Lab*, 2013, 30: 933–935 (in Chinese) [曾晓丹, 朱琳, 王云霞, 等. 原子荧光光谱法测定海藻泥中的总硒以及无机硒. 光谱实验室, 2013, 30: 933–935]

14 Yu ZH, Wang XR, Jing M, Chen DY, Yang HH, Huang YL. Microwave digestion-Inductively coupled plasma mass spectrometry for measuring selenium content in kelp. *Studia Marina Sini*, 2008, 1: 133–137 (in Chinese) [于振花, 王小如, 荆淼, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱测定海带中硒的含量. 海洋科学集刊, 2008, 1: 133–137]

15 Bagheri N, Saraji M. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411: 7441–7449

16 Kim IJ, Watson RP, Lindstrom RM. *Anal Chem*, 2011, 83: 3493–3498

17 Wu D, Chen L, Kwon N, Yoon J. *Chem*, 2016, 1: 674–698

18 Lou Z, Li P, Han K. *Acc Chem Res*, 2015, 48: 1358–1368

19 Manjare ST, Kim Y, Churchill DG. *Acc Chem Res*, 2014, 47: 2985–2998

20 Panda S, Panda A, Zade SS. *Coord Chem Rev*, 2015, 300: 86–100

21 Fernández-Lodeiro J, Pinatto-Botelho MF, Soares-Paulino AA, Gonçalves AC, Sousa BA, Princival C, Dos Santos AA. *Dyes Pigments*, 2014, 110: 28–48

22 Wu D, Sedgwick AC, Gunnlaugsson T, Akkaya EU, Yoon J, James TD. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 7105–7123

23 Park SH, Kwon N, Lee JH, Yoon J, Shin I. *Chem Soc Rev*, 2020, 49: 143–179

24 Valand RS, Sivaiah A. *J Mater Chem B*, 2023, 11: 2614–2630

25 Wang J, Chen M, Zhang Z, Ma L, Chen T. *Coord Chem Rev*, 2023, 493: 215278

26 Maeda H, Katayama K, Matsuno H, Uno T. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 1810–1813

27 Zhang B, Ge C, Yao J, Liu Y, Xie H, Fang J. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 757–769

28 Kong F, Hu B, Gao Y, Xu K, Pan X, Huang F, Zheng Q, Chen H, Tang B. *Chem Commun*, 2015, 51: 3102–3105

29 Chen H, Dong B, Tang Y, Lin W. *Chem Eur J*, 2015, 21: 11696–11700

30 Nan Y, Zhao W, Xu X, Au CT, Qiu R. *RSC Adv*, 2015, 5: 69299–69306

31 Hu B, Cheng R, Liu X, Pan X, Kong F, Gao W, Xu K, Tang B. *Biomaterials*, 2016, 92: 81–89

32 Sun Q, Yang SH, Wu L, Dong QJ, Yang WC, Yang GF. *Anal Chem*, 2016, 88: 6084–6091

33 Areti S, Verma SK, Bellare J, Rao CP. *Anal Chem*, 2016, 88: 7259–7267

34 Tian Y, Xin F, Gao C, Jing J, Zhang X. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 6890–6896

35 Cupp-Sutton K, Ashby M. *Antioxidants*, 2016, 5: 42

36 Wu CL, Zhao YB. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 388: 717–722

37 Kong F, Ge L, Pan X, Xu K, Liu X, Tang B. *Chem Sci*, 2016, 7: 1051–1056

38 Kong F, Zhao Y, Liang Z, Liu X, Pan X, Luan D, Xu K, Tang B. *Anal Chem*, 2017, 89: 688–693

39 Tian Y, Xin F, Jing J, Zhang X. *J Mater Chem B*, 2019, 7: 2829–2834

40 Nordberg J, Arnér ESJ. *Free Radical Biol Med*, 2001, 31: 1287–1312

41 Zhang L, Duan D, Liu Y, Ge C, Cui X, Sun J, Fang J. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 226–233

42 Huang L, Chen Y, Liang B, Xing B, Wen G, Wang S, Yue X, Zhu C, Du J, Bu X. *Chem Commun*, 2014, 50: 6987–6990

43 Sidhu JS, Singh A, Garg N, Singh N. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 25847–25856

44 Mafireyi TJ, Laws M, Bassett JW, Cassidy PB, Escobedo JO, Strongin RM. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 15147–15151

45 Song C, Fei Q, Shan H, Feng G, Cui M, Liu Y, Huan Y. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2013, 116: 497–500

46 Feng G, Dai Y, Jin H, Xue P, Huan Y, Shan H, Fei Q. *Sens Actuat B-Chem*, 2014, 193: 592–598

47 Awual MR, Hasan MM, Khaleque MA. *Sens Actuat B-Chem*, 2015, 209: 194–202

48 Martínez-Tomé MJ, Esquembre R, Mallavia R, Mateo CR. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51: 484–489

49 Chen L, Tian X, Zhao Y, Li Y, Yang C, Zhou Z, Liu X. *Analyst*, 2016, 141: 4685–4693
50 Tian Y, Xin F, Jing J, Zhang X. *Dyes Pigments*, 2019, 164: 133–138

Fluorescence imaging of bioactive selenocompounds

Yong Tian[1*], Xiaoling Zhang[2*]

[1] *School of Materials Science and Engineering, College of Physics and Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China*
[2] *School of Chemistry and Chemical Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing 102488, China*
**Corresponding authors (email: yongtian@szu.edu.cn; zhangxl@bit.edu.cn)*

Abstract: Selenium is an essential trace element in living systems, and performs vital biological functions. The biological functions of selenium are mainly presented by selenocompounds, including antioxidant, anti-inflammatory and enhancing thyroid function. Currently, the specific biological functions of most selenocompounds in different physiological and pathological processes remain unclear. Therefore, exploring the biological functions of selenocompounds in different physiological and pathological processes has received great attention. In recent years, the fluorescence imaging of selenocompounds has been rapidly developed. This review provides an overview of the progress in this research field, which is divided into four sections based on the types of selenocompounds: (1) fluorescence analysis of selenocysteine; (2) fluorescence analysis of hydrogen selenide; (3) fluorescence analysis of thioredoxin oxidoreductase; and (4) fluorescence analysis of selenite. Finally, an outlook on the future development of the field is given.

Keywords: selenocysteine, hydrogen selenide, thioredoxin oxidoreductase, selenite, fluorescence imaging

doi: 10.1360/SSC-2024-0110