

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-4-17-27>

# Принципы и подходы к созданию флуоресцентных гидрогелей для диагностики онкологических заболеваний

П.М. Соколов<sup>1,2</sup>, П.С. Самохвалов<sup>1,2</sup>, Д.А. Баранова<sup>2</sup>, А.В. Суханова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ЛИФТ (Life Improvement by Future Technologies) Центр; Россия, 121205 Москва, Сколково, ул. Нобеля, 5;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; Россия, 115409 Москва, Каширское шоссе, 31;

<sup>3</sup>Университет Реймса Шампань-Арденн; Франция, 51100 Реймс, ул. Когнак Жэ, 51

**Контакты:** Павел Михайлович Соколов [socolovpm87@mail.ru](mailto:socolovpm87@mail.ru)

**Введение.** Ранняя чувствительная и высокоспецифичная диагностика является одной из важных составляющих успешной терапии онкологических заболеваний. Флуоресцентные гидрогели позволяют создавать универсальные биосенсоры благодаря повышенной емкости связывания биологических распознающих и репортерных молекул, возможности проведения высокочувствительной флуоресцентной детекции, а также гибкости комбинирования их структурных и функциональных элементов.

**Цель исследования** – рассмотреть принципы дизайна и методические подходы к созданию биосенсоров на основе флуоресцентных гидрогелей для детекции онкомаркеров, а также обобщить и систематизировать данные по применяемым в них принципам детекции и генерации детектируемого сигнала.

**Результаты.** Флуоресцентные гидрогели являются примером трехмерных сенсорных платформ – структур, объединяющих репортерную флуоресцентную функцию с биологическими распознающими молекулами, которые позволяют сохранить уникальные оптические свойства флуоресцентных нанокристаллов на макроуровне. Пористая структура гидрогелей позволяет увеличить активную площадь поверхности биосенсоров для трехмерной иммобилизации флуоресцентных меток и биологических распознающих молекул, при этом сохраняя структуру последних для специфического связывания детектируемых молекул образца, что обеспечивает чувствительность, превосходящую традиционные методы иммуноферментного и иммунохроматографического анализа. В качестве биологических распознающих молекул могут выступать не только традиционно применяемые антитела, но и ферменты и гликопротеины, аптамеры и олигонуклеотиды, а также полимеры, полученные методом молекулярного импринтинга, что расширяет круг специфически детектируемых аналитов.

**Заключение.** В обзоре представлены примеры биосенсоров на основе флуоресцентных гидрогелей для детекции маркеров онкологических заболеваний, изложены подходы к получению этих гелей, иммобилизации биологических распознающих молекул и принципы генерации оптического детектируемого сигнала. Показаны основные преимущества флуоресцентных гидрогелевых биосенсоров перед классическими тестами, применяемыми в области экспресс-диагностики онкологических заболеваний.

**Ключевые слова:** флуоресцентные гидрогели, онкологические маркеры, флуоресцентные нанокристаллы, процесс гелеобразования, биосенсинг

**Для цитирования:** Соколов П.М., Самохвалов П.С., Баранова Д.А., Суханова А.В. Принципы и подходы к созданию флуоресцентных гидрогелей для диагностики онкологических заболеваний. Российский биотерапевтический журнал 2023;22(4):17–27. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-4-17-27>

## Principles and approaches in the development of fluorescent hydrogels for cancer diagnosis

Pavel M. Sokolov<sup>1,2</sup>, Pavel S. Samokhvalov<sup>1,2</sup>, Daria A. Baranova<sup>2</sup>, Alyona V. Sukhanova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Life Improvement by Future Technologies (LIFT) Center; 5 Nobelya St., Skolkovo, 121205 Moscow, Russia;

<sup>2</sup>National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute); 31 Kashirskoe Shosse, 115409 Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Université de Reims Champagne-Ardenne, 51 rue Cognacq Jay, 51100 Reims, France

**Contacts:** Pavel Mikhailovich Sokolov [socolovpm87@mail.ru](mailto:socolovpm87@mail.ru)

**Introduction.** Early sensitive and highly specific diagnosis is crucial for successful cancer therapy. The use of fluorescent hydrogels (FHG) makes it possible to develop versatile biosensors due to the increased binding capacity of biological capture and reporter molecules, sensitive fluorescence detection, and the flexibility of combining their structural and functional elements.

**Aim.** Analyzing the principles of designing biosensors based on FHG for the detection of cancer markers and the methodological approaches to their development, as well as summarizing and systematizing the data on the principles of detection and target signal generation used in these sensors.

**Results.** FHG represent 3D sensing platforms, i. e., structures that combine the reporter fluorescence function with biological capture molecules, allowing the unique optical properties of fluorescent nanocrystals at the macro level to be preserved. The porous structure of hydrogels increases the active surface area of biosensors for 3D immobilization of fluorescent labels and biological capture molecules, while preserving the structure of these molecules, which ensures specific binding of the detected molecules of the sample. This ensures a higher sensitivity compared with the traditional methods of immunoenzymatic and immunochromatographic analyses. Not only the traditionally used antibodies, but also enzymes and glycoproteins, aptamers and oligonucleotides, as well as polymers obtained by molecular imprinting, can serve as biological capture molecules, which extends the range of specifically detectable analytes.

**Conclusion.** The review presents examples of biosensors based on FHG intended for the detection of cancer markers and describes approaches to the preparation of FHG and immobilization of biological capture molecules, as well as principles of generation of the detected optical signal. The main advantages of fluorescent hydrogel biosensors over the classical tests used for quick diagnosis of cancer are shown.

**Keywords:** fluorescent hydrogels, cancer markers, fluorescent nanocrystals, gel formation, biosensing

**For citation:** Sokolov P.M., Samokhvalov P.S., Baranova D.A., Sukhanova A.V. Principles and approaches in the development of fluorescent hydrogels for cancer diagnosis. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2023;22(4):17–27. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-4-17-27>

## Введение

Подходы к снижению смертности от злокачественных новообразований включают ранний низкоинвазивный скрининг и разработку и внедрение методов терапии онкологических заболеваний (ОЗ). Ранняя диагностика обеспечивает при прочих равных условиях более высокую выживаемость. Так, пациенты с раком предстательной железы (РПЖ) при его обнаружении на I стадии имеют практически 100 % 1-летнюю выживаемость, в то время как при обнаружении его на более поздних стадиях выживаемость падает до 87,6 %; в случае колоректального рака при его обнаружении на I или IV стадии выживаемость снижается с 97,7 до 43,9 % соответственно, а в случае рака легкого выживаемость на аналогичных стадиях снижается с 87,3 до 18,7 % [1]. Однако до 1/2 всех ОЗ диагностируются только на поздних стадиях [2].

Диагностика ОЗ представлена методами визуализации опухолей, такими как ультразвуковая диагностика, компьютерная, позитронно-эмиссионная, магнитная и другие виды томографий, а также методами молекулярной диагностики, включая секвенирование, жидкостную биопсию, иммуногистохимию, методы иммуноферментного анализа и многие др. [3]. Первая группа методов позволяет детектировать опухоли размером от нескольких миллиметров, а также устанавливать их локализацию, но при этом требуют использования дорогостоящего оборудования и применяются для скрининга только отдельных типов ОЗ. В то же время методы молекулярной диагностики позволяют детектировать даже единичные

раковые клетки [4]. В частности, А.М. Lutz и соавт. на основе реальных клинических данных создали математическую модель, позволяющую оценивать минимальный объем опухоли, которую можно детектировать по сывороточным маркерам CA125 (опухольный антиген CA125) и PSA (простатоспецифический антиген) [5]. В результате установлено, что существующие тест-системы по выявлению сывороточных онкомаркеров (ОМ) способны диагностировать опухоли на самых начальных стадиях, когда их размер составляет от 0,21 мм<sup>3</sup> для PSA и от 0,11 мм<sup>3</sup> — для CA125.

Чувствительность методов молекулярной диагностики при детекции биомаркеров обусловлена качеством применяемых аффинных меток, например антител, а также репортерных меток, применяемых для генерации детектируемого сигнала, в качестве которых выступают ферменты и хромогенные или флуоресцентные красители (ФК). Традиционно применяемые тест-системы для экспресс-диагностики представлены системами иммуноферментного анализа или иммунохроматографического анализа, в которых для детекции применяют пары антител, одно из которых служит для связывания аналита, а второе конъюгировано с метками для детекции, в качестве которых чаще всего выступают пероксидаза хрена и наночастицы коллоидного золота либо органические ФК. При этом связывающие антитела иммобилизуют на поверхности лунок планшета, выполненного из полистирола или поливинилхлорида, или на нитроцеллюлозной мембране, что ограничивает объем

сенсорной области, по сравнению с системами, в которых взаимодействие аналитов с аффинными метками происходит в 3 измерениях. Примером таких тест-систем с трехмерной сенсорной областью являются флуоресцентные гидрогели (ФГГ). Известно, что флуоресцентная детекция является самой чувствительной в сравнении с другими оптическими методами детекции [6], а выбор оптимального типа флуоресцентных меток (ФМ), например органических красителей, флуоресцентных белков (ФБ) или флуоресцентных нанокристаллов (ФНК), зависит от конкретных задач. Использование трехмерной структуры пористого гидрогеля (ГГ) позволяет увеличить эффективный объем взаимодействия, а значит, и количество детектируемых ОМ, детектирующих аффинных молекул и генерирующих детектируемый сигнал ФМ, что повышает чувствительность диагностики.

Флуоресцентные гидрогели представляют собой полимерные структуры, стабилизируемые ковалентными, гидрофобными, водородными или статическими связями [7], в которые внедрены ФМ, или структуры, образованные из коллоидных нанокристаллов (НК) за счет фазового перехода «золь–гель» [8]. Гидрогели обладают разветвленной структурой, которая подходит для иммобилизации аффинных, флуоресцентных и других меток и вспомогательных элементов, и обладает гидрофильностью и пористостью, необходимыми для проникания в гидрогели исследуемых аналитов. В большинстве случаев для специфического распознавания аналита используют функционализацию ГГ аффинными метками, а также особенности самой структуры или материала ГГ [9]. Для генерации детектирующего сигнала в гидрогеле могут быть использованы особенности свойств материалов ГГ, способных растворяться или набухать при изменении рН [10], или применение оптических меток, генерирующих флуоресцентный [11] или хромогенный [12] сигналы, либо соединений, способных изменять свои электрохимические [13] или электропроводные [14] свойства. Далее мы рассмотрим подходы к созданию ФГГ и принципы применений биосенсоров на их основе для детекции ОМ и метаболитов при ОЗ.

### Свойства флуоресцентных гидрогелей и способы их формирования

Применение трехмерных полимерных ГГ в качестве матриц для детекции изучаемых взаимодействий позволяет не только перейти от двумерной модели детекции к трехмерной, что позволяет увеличить емкость связывания флуоресцентных и аффинных меток, но и обеспечивает лучшее сохранение структуры биологических молекул. Действительно, иммобилизация биомолекул на плоских поверхностях часто приводит к их денатурации [15], тогда как использо-

вание для иммобилизации распознающих молекул 3D-матриц позволяет сохранить их специфичность и чувствительность, необходимые для связывания детектируемых аналитов [16]. Эти факторы позволяют увеличить чувствительность детекции для биосенсоров на основе ФГГ, по сравнению с их аналогами, где иммобилизация биологических распознающих и вспомогательных молекул происходит на пластиковой подложке или нитроцеллюлозной мембране. При иммобилизации распознающих меток в трехмерной структуре ГГ их пространственная ориентация становится неважна, так как исследуемый аналит в любом случае будет проходить со всех сторон от них, что увеличивает чувствительность его детекции. Так, Y. Gao и соавт. продемонстрировали, что эффективность гибридизации ДНК на поверхности в 20–40 раз ниже, чем в растворе [17]. При иммобилизации антител на плоской поверхности они также теряют аффинность и специфичность связывания своих антигенов, многочисленные примеры этого приведены в обзоре N.G. Welch и соавт. [18] – с одной стороны. С другой стороны, В. Feng и соавт. показали, что при реализации трехмерной организации антител даже на плоской поверхности можно добиться повышения чувствительности детекции в 64 раза [19]. Вместе с тем в качестве биологических распознающих молекул могут быть использованы как традиционно применяемые для этого антитела, так и, как мы увидим далее, ферменты, молекулы нуклеиновых кислот и другие биомолекулы. Поскольку физиологической средой для биологических молекул являются биологические жидкости, то логичным требованием к биосенсорам является гидрофильность их активной сенсорной зоны. Гидрогели представляют собой сеть сшитых между собой гидрофильных полимеров, которые нерастворимы в воде, а также могут сохранять свои физико-химические свойства при дегидратации и последующем погружении в водную среду [20]. Важно, что это их свойство может быть использовано при производстве биосенсоров, которые для увеличения срока хранения могут выпускаться в дегидратированном виде.

Один из основных компонентов ФГГ – ФМ, которые и придают им флуоресцентные свойства. В качестве таких меток могут быть использованы органические ФК [21], ФБ и пептиды [22], ароматические углеводороды [23], металлические наночастицы [24], а также квантовые точки (КвТ) и другие НК [25]. Основные требования к ФМ заключаются в возможности мультиплексной детекции, высокой интенсивности флуоресцентного сигнала (ФС), фотостабильности, а также возможности надежной и удобной иммобилизации ФМ внутри ГГ. Для мультиплексной детекции необходимо, чтобы были доступны ФМ с различными спектрами флуоресценции, а также

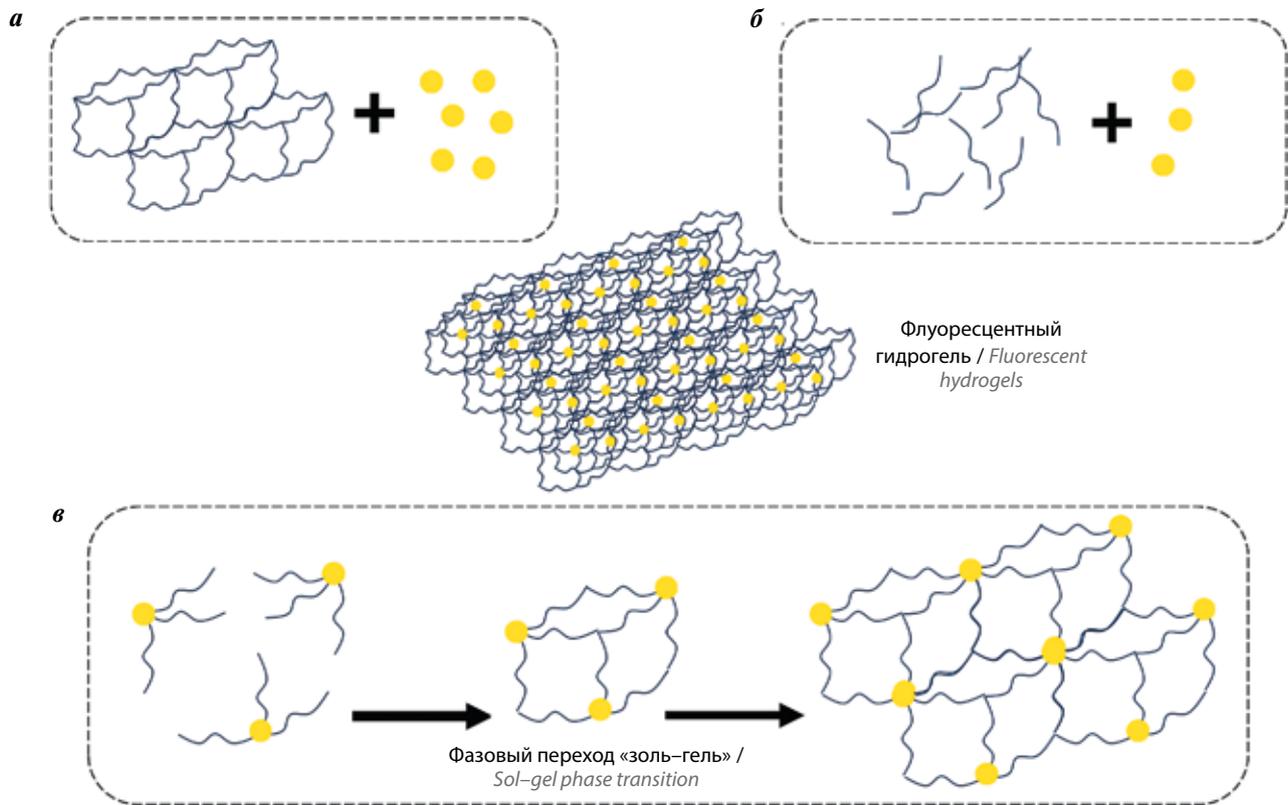
чтобы спектры поглощения красителей разных цветов совпадали или перекрывались, что позволило бы проводить их одновременное возбуждение одним источником излучения с заданной длиной волны. Органические ФК и ФБ представлены множеством различных цветов во всем диапазоне от видимой до ближней инфракрасной области спектра. Однако в сравнении с ФНК они обладают большей шириной спектров флуоресценции и меньшей шириной спектров поглощения, что затрудняет одновременное возбуждение и детекцию ФС [26]. Флуоресцентные НК — это полупроводниковые структуры размером порядка единиц, иногда десятков нанометров, а их оптические свойства, такие как спектр флуоресценции и поглощения, зависят от их размера, структуры и состава. Ядра НК чаще всего представлены элементами III–V, II–VI или IV–VI групп периодической системы и могут содержать верхнюю эпитаксиальную неорганическую оболочку, которая улучшает оптические свойства и делает НК более устойчивыми к факторам внешней среды [27]. Покрытие НК эпитаксиальной оболочкой из широкозонных материалов ZnS или CdS снижает рекомбинацию пар носителей заряда на поверхностных дефектах ядра и подавляет снижение квантового выхода флуоресценции. В зависимости от состава НК различаются не только их оптические свойства, но также и их потенциальная токсичность, которая в случае с НК состава CdSe, CdTe (элементы II–VI групп) или PbS, PbSe (элементы IV–VI групп) достаточно высока из-за применения тяжелых металлов, которые вредны не только в процессе изготовления и использования, но также представляют значительную проблему при их утилизации. НК InP (элементы III–V групп), хотя и не содержат тяжелых металлов, но обладают худшими оптическими свойствами по сравнению с токсичными аналогами [28]. Безопасной альтернативой являются тройные НК, ядро которых состоит из 3 элементов I–III–VI групп, например состава CuInS<sub>2</sub> (CIS) или AgInS<sub>2</sub> (AIS). Для улучшения квантового выхода на поверхность НК CIS и AIS наносят эпитаксиальные оболочки состава ZnS или ZnS<sub>x</sub>/Se<sub>1-x</sub>, что снижает рекомбинацию зарядов на поверхности ядер и увеличивает квантовый выход флуоресценции [29]. Флуоресцентные НК обладают размером менее боровского радиуса для выбранного материала, благодаря чему в них проявляется эффект размерного квантования, что позволяет подстраивать спектры флуоресценции под конкретные задачи выбором их размера [30]. Фотостабильность, то есть сохранение флуоресцентных свойств при облучении светом, у НК выше, чем у органических ФК [31], что позволяет проводить длительное накопление сигнала для повышения чувствительности, а также осуществлять продолжительную детекцию, например, при ис-

следовании длительных процессов или нескольких последовательных образцов, не опасаясь снижения уровня ФС со временем.

В зависимости от типа флуоресцентной метки, ФГГ на их основе могут быть получены различными путями. Например, ФБ или органические ФК могут быть внедрены в уже готовые ГГ (рис. 1, а) [32]. ФГГ на основе НК также могут быть получены путем пост-синтетического внедрения НК в ГГ. Например, С.У. Li и соавт. использовали подобный способ для внедрения углеродных КвТ в гели из полиметакриловой кислоты, а иммобилизацию в гидрогеле проводили за счет образования водородных связей между аминогруппами оболочки КвТ и карбоксильными группами полимера, из которого состоял ГГ [33]. Также внедрение ФМ может быть проведено в ходе полимеризации ГГ (рис. 1, б). В этом случае, как показано в работе J. Xu и соавт. [34], поверхность НК может быть функционализирована химическими соединениями, которые вызывают полимеризацию метилметакрилата или глицидилметакрилата и могут выступать в качестве сшивок для мономеров. В другой работе T. Yang и соавт. описали полимеризацию ФГГ на основе акриловой кислоты и акриламида с НК состава CdS с использованием гамма-излучения в качестве инициатора полимеризации [35]. Стоит отметить, что оба указанных способа требуют дополнительных процедур для получения равномерного распределения ФМ во всем объеме, например обработки ультразвуком [36]. Формирование ФГГ также возможно в процессе фазового перехода «золь–гель» (рис. 1, в). Например, N. Garonik и соавт. описали возможность гелеобразования для НК состава CdTe, поверхность которых функционализирована соединениями, содержащими тиольные группы [37]. M. Hörner и соавт. описали ГГ на основе производных полиэтиленгликоля с внедренным в него ФБ mCherry, который получили в процессе фазового перехода «золь–гель» [38].

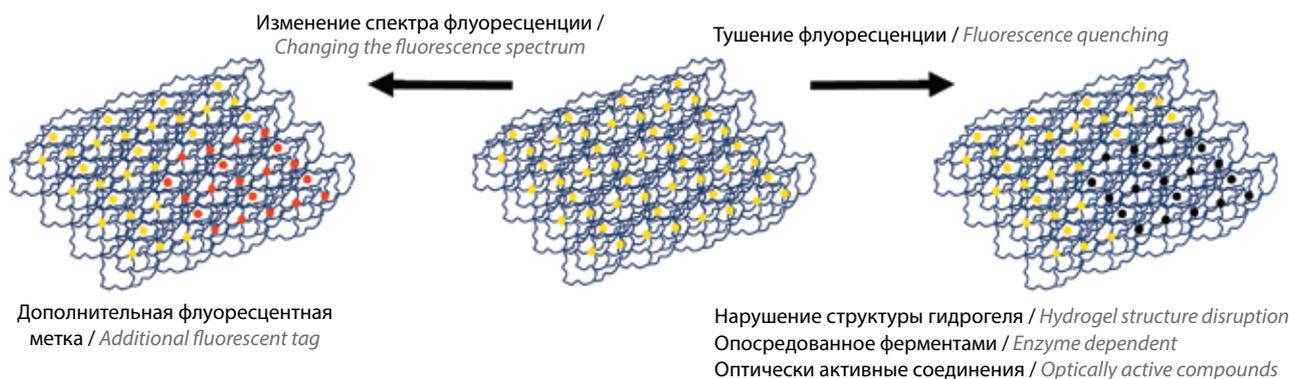
#### Детекция аналитов с помощью ФГГ

Детекция аналитов с помощью ФГГ основана на детекции изменений их оптических свойств, которые связаны либо с тушением флуоресценции оптических меток, либо с появлением новых ФС (рис. 2). Вместе с тем благодаря гибкости структуры и состава ФГГ существует множество механизмов, вызывающих тушение или изменение спектров флуоресценции. Тушение флуоресценции, как правило, основано на переносе энергии от ФМ к неизлучающим компонентам, например по механизму ферстеровского резонансного переноса энергии, а изменения в спектре связаны с активацией новых ФМ, в том числе и по указанному механизму. Стоит отметить, что тушение флуоресценции также возможно за счет дегградации НК или за счет дегградации структуры ГГ,



**Рис. 1.** Способы получения флуоресцентных гидрогелей: а – внедрение флуоресцентных меток (ФМ) в готовый гидрогель (ГГ); б – внедрение ФМ в ГГ на этапе его полимеризации; в – внедрение ФМ в ГГ в ходе фазового перехода «золь-гель». Желтый круг – флуоресцентная метка; синяя линия – мономер для синтеза ГГ

**Fig. 1.** Methods of obtaining fluorescent hydrogels: a – the introduction of fluorescent labels into the polymerized hydrogel; b – introduction of fluorescent labels into the hydrogel at the stage of its polymerization; c – incorporation of fluorescent labels into the hydrogel during the sol-gel phase transition. Yellow circle – fluorescent label; blue line – monomer for hydrogel synthesis



**Рис. 2.** Пути изменения оптических свойств флуоресцентных гидрогелей

**Fig. 2.** Ways to change the optical properties of fluorescent hydrogel

приводящей к агрегации НК и снижению их флуоресценции [39].

Раковый антиген СА19–9 является одним из скрининговых маркеров, которые применяются при диагностировании рака поджелудочной железы (РПЖЖ) и одобрены Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств

(FDA) США с 2002 г. [40]. А.М.Л. Piloto и соавт. создали биосенсор на основе целлюлозного ГГ и НК состава CdTe для детекции СА19–9 [41]. В качестве аффинных меток, селективно связывающих СА19–9, использовали полимер, полученный методом молекулярного импринтинга, которым затем покрывали НК, а их, в свою очередь, включали в целлюлозный

ГГ. В результате при контакте с ГГ CA19–9 селективно связывался с полимером на поверхности НК, вызывая снижение их флуоресценции. Авторами показано, что применение ГГ позволило повысить стабильность полимера, полученного методом молекулярного импринтинга, а также достичь чувствительности детекции до  $1,58 \times 10^{-3}$  Ед/мл. В результате была продемонстрирована детекция CA19–9 в образцах сыворотки в диапазоне от  $2,76 \times 10^{-2}$  до  $5,23 \times 10^2$  Ед/мл с высокой специфичностью и селективностью, что хорошо коррелирует с пороговым значением концентрации CA19–9 при диагностике РПЖЖ, которое составляет порядка 23 Ед/мл.

Е. Ahmadi-Sangachin и соавт. описали биосенсор на основе ФГГ, состоящего из молекул одноцепочечной ДНК (оцДНК) в качестве материала ГГ и нанокластеров серебра в качестве ФМ для детекции PSA, который является одним из традиционно измеряемых ОМ при диагностике РПЖ [42]. Представлено, что ГГ образован из двух видов структур: Y-образных ДНК (Y-ДНК), состоящих из 3 частично комплементарных оцДНК, и линкерных ДНК (Л-ДНК) структур, состоящих из аптамера, селективно связывающего PSA, и комплементарного аптамеру участка оцДНК. В отсутствие PSA оцДНК образовывали стабильный ГГ за счет комплементарных взаимодействий между участками Y-ДНК и Л-ДНК структур. К полученному таким способом ГГ добавляли раствор  $\text{AgNO}_3$  и  $\text{NaBH}_4$ , что приводило к формированию нанокластеров серебра в петлевых доменах Y-ДНК структур и придавало ГГ флуоресцентные свойства. Для определения PSA чистый белок добавляли в раствор Л-ДНК структур, а затем полученную смесь добавляли в раствор Y-ДНК структур с нанокластерами серебра. В результате специфического связывания аптамера с PSA нарушается образование Л-ДНК структур, что нарушает формирование ГГ и приводит к его агрегации и снижению интенсивности флуоресценции. Авторам удалось детектировать PSA в диапазоне от 0,05 до 8 нг/мл с чувствительностью детекции до 4,4 пг/мл, в том числе в образцах сыворотки крови. Следует отметить простоту проведения анализа и низкую стоимость изготовления биосенсора, что свидетельствует о высоком потенциале предлагаемой разработки.

Развитие методов секвенирования и высокочувствительной детекции ДНК и РНК привело к тому, что они все чаще стали применяться для диагностики ОЗ, и уже создаются биосенсоры на основе ФГГ для детекции нуклеиновых кислот. МикроРНК (мкРНК) регулируют экспрессию множества генов на посттрансляционном уровне. Например, мкРНК-21 ассоциирована с раком молочной железы (РМЖ), раком легких и РПЖ, а также множеством других ОЗ и является одной из первых обнаруженных мкРНК,

которая регулирует гены супрессоров опухоли, связанные с пролиферацией, апоптозом и инвазией. Ознакомиться с ролью мкРНК-21 в качестве биомаркера ОЗ можно в обзоре D. Bautista-Sánchez и соавт. [43]. S. Mohammadi и соавт. в работе описали создание биосенсора на основе ФГГ из хитозана и углеродных КвТ для детекции мкРНК-21 [44]. Для этого из хитозана, содержащего  $-\text{NH}_2/-\text{OH}$  группы, углеродных КвТ, содержащих  $-\text{COH}$  группы, и этилендиаминтетрауксусной кислоты, содержащей  $-\text{COOH}$  группы, был получен ФГГ, стабилизированный водородными связями, обработан ультразвуком до полного разрушения ГГ, после чего к нему был добавлен функционализированный амином оцДНК-зонд. Связывание мкРНК-21 с ДНК-зондом на поверхности углеродных КвТ приводит к реорганизации структуры получаемого ГГ, в результате чего происходила частичная агрегация КвТ и снижение флуоресценции ГГ. В экспериментах с чистой мкРНК-21 удалось добиться линейного диапазона детекции при концентрациях мкРНК-21 в диапазоне от 0,1 до 125 фМ и лимита детекции в 0,03 фМ. Между тем неспецифического снижения флуоресценции при использовании мкРНК всего с одной нуклеотидной заменой в последовательности не было обнаружено. Эксперименты по детекции клеток линии РМЖ MCF-7, экспрессирующих мкРНК-21, показали, что раковые клетки могут быть детектированы при концентрации от 310 клеток/мл.

Еще одним представителем мкРНК, ассоциированной с различными видами ОЗ, является мкРНК-141. Так, изменение уровня экспрессии мкРНК-141 наблюдается при многих видах рака; в частности, при раке яичников, РПЖ, щитовидной железы и мочевого пузыря наблюдается повышенная экспрессия мкРНК-141, а при раке желудка, РПЖЖ и РПЖ экспрессия мкРНК-141, наоборот, снижена [45]. С. Li и соавт. сконструировали биосенсор на основе ГГ, состоящего из ДНК, функционализированной интеркалирующим красителем SYBR Green I, или НК состава CdTe, конъюгированными с ДНК зондами, для детекции мкРНК-141 [46]. Для получения ГГ они использовали ДНК с акридитом на 5'-конце, который содержит метакриловую группу и позволяет включать ДНК в структуру акриламидных гелей. Для детекции целевой мкРНК-141 была использована гибридизационная цепная реакция в комбинации с технологией амплификации ДНК – DNA walker, которая при обнаружении целевой нуклеотидной последовательности позволяет резко увеличить количество двухцепочечной ДНК в смеси. Применение структуры ГГ позволяет повысить стабильность применяемых ДНК-зондов и многократно увеличить емкость связывания исследуемых молекул РНК и ФМ, что позволяет достичь чувствительности детекции на уровне  $10^{-4}$  фМ, это на 2–4 порядка превосходит

чувствительность детекции с помощью других методов каскадной амплификации РНК с флуоресцентной детекцией [47].

Фолатный рецептор служит для транспорта внутрь клеток фолата (витамина  $B_9$ ), играющего активную роль в эпигенетической регуляции, синтезе нуклеиновых кислот, делении и росте клетки, поэтому опухолевые клетки требуют большого количества фолата. G. Zhang и соавт. использовали ФГГ, включающий конъюгаты НК с фолиевой кислотой, для детекции раковых клеток, на поверхности которых оверэкспрессирован фолатный рецептор [48]. Предел детекции с помощью сконструированного ими биосенсора составил порядка  $10^4$  клеток/мл в случае с клеточными линиями MCF-7 (РМЖ) и HeLa (рак шейки матки). При этом неспецифического сигнала на клеточных линиях A549 (рак легких) и 3T3 (фибробласты мыши), которые не экспрессируют фолатный рецептор, не обнаружено.

Фермент лакказы обладает противоопухолевой активностью против клеток РМЖ, предотвращая связывание  $17\beta$ -эстрадиола с эстрогеновым рецептором и блокируя миграцию и инвазию раковых клеток [49]. С. Ruiz-Palomego и соавт. описали создание ФГГ для детекции лакказы, чувствительность которого не зависит от их ферментативной активности [50]. Для этого они синтезировали ФГГ из наноцеллюлозы и КвТ из графена, дополнительно легированных серой и азотом для придания им необходимых оптических свойств. Лакказы, взаимодействуя с графеновыми слоями, стабилизированными наноцеллюлозой, вызывает перенос энергии и тушение флуоресценции КвТ, что позволяет детектировать изменение сигнала при концентрации лакказы всего 0,048 Ед/мл.

Спермин является маркером нарушения биохимических процессов, ассоциированных со злокачественными опухолями, и имеет диагностический потенциал для детекции рака на ранних стадиях [51]. R. R. Nair и соавт. в работе описали высокоселективный биосенсор спермина/спермидина на основе ГГ с синтезированным ими ФК – 3-((7-гидрокси-4-метилкумарин) метил) аминифенилбороновой кислотой (КБ) [52]. Для получения ФГГ краситель КБ был растворен в буфере, прогрет до  $90^\circ\text{C}$ , при постоянном перемешивании к нему была добавлена агароза, а после ее полного растворения смесь охлаждали для формирования ГГ. При контакте КБ со спермином/спермидином происходило усиление флуоресценции КБ за счет снижения неизлучательного переноса фотовозбужденных электронов в КБ. В результате авторам удалось детектировать спермин в диапазоне концентраций от 6 мкМ до 2,5 мМ, в том числе и в образцах сыворотки крови и мочи.

Глутатион является важным регуляторным соединением клетки, участвует в активации ферментов,

регуляции экспрессии генов, передачи сигналов, а также является одним из самых распространенных клеточных антиоксидантов, помогая противостоять активным формам кислорода. Повышенный уровень глутатиона наблюдается во множестве раковых клеток, а пониженный его уровень способствует окислительному стрессу, связанному с прогрессией опухолей [53]. Оригинальный пример использования ФГГ для детекции глутатиона предложили R. Wu и соавт. [54], которые синтезировали ФГГ путем нагрева смеси аминированного полиакриламида и флуоресцеина, с последующим гидролизом гидроксидом натрия и промывкой этанолом и водой. Полученный ГГ помещали в стеклянную пипетку Пастера с закупоренным нижним концом и тонкими отверстиями по всей длине, которые позволяют проникать внутрь исследуемым анализам, но не пропускают частицы ФГГ. При добавлении  $\text{Cu}^{2+}$  объем ФГГ уменьшался, а добавление глутатиона приводило к конкурентному связыванию ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и восстановлению объема ГГ и его флуоресцентных свойств. Полученный таким образом биосенсор позволяет детектировать глутатион в диапазоне от  $2,0 \times 10^{-6}$  до  $1,2 \times 10^{-4}$  моль/л и не чувствителен к таким соединениям, как аминокислоты, витамин С, дофамин и др.

Современные исследования показывают, что риск возникновения и развитие различных типов рака коррелируют с дофаминовым сигнальным путем и дофаминовыми рецепторами, и рассматривают их в качестве возможных путей противоопухолевой терапии [55]. Биосенсор на основе флуоресцентного ГГ для детекции дофамина может быть основан на его распознавании не с помощью традиционно применяемых антител, а на использовании фермента тирозиназы, которая катализирует его окисление до дофамин-о-хинона [56]. Для получения ФГГ авторы использовали НК состава CdTe, поверхность которых была функционализирована меркаптоантарной кислотой, в результате чего ФГГ формировался в ходе фазового перехода «золь–гель». Полученный ФГГ имел размер пор примерно 10–50 нм, что подходит для инкапсулирования в его структуре белковых молекул. Для внедрения тирозиназы ГГ был разрушен ультразвуком и смешан с тирозиназой, после чего структура ГГ была восстановлена для иммобилизации фермента в порах ГГ. При контакте полученного ФГГ с дофамином тирозиназа катализирует его окисление до дофамин-о-хинона, который гасит флуоресценцию НК CdTe. Сконструированный таким образом биосенсор обладает пределом обнаружения дофамина  $5,0 \times 10^{-8}$  моль/л, и он подходит для определения дофамина в диапазоне от  $5,0 \times 10^{-5}$  до  $1,0 \times 10^{-3}$  моль/л.

Метаболические нарушения являются одной из возможных причин развития ОЗ, а гиперурикемия – одной из частых причин метаболических нарушений.

Повышенный уровень мочевой кислоты в крови коррелирует с общим уровнем воспаления и окислительным стрессом, а также может выступать проонкогенным фактором [57]. N. E. Azmi и соавт. разработали биосенсор на основе ФГГ для детекции мочевой кислоты в привычном формате 96-луночного планшета [58]. Для этого они использовали НК состава CdS, функционализированные меркаптопропионовою кислотой, которая позволяет получать на их основе ФГГ. При этом для формирования ГГ исполь-

зовали конъюгаты НК, ковалентно связанные с ферментом уриказой и пероксидазой хрена, полученные в ходе N-гидроксисульфосукцинимидной и 1-[3-(диметиламино)-пропил]3-этилкарбодиимидной реакций. Биосенсор получен путем смешивания компонентов ГГ: аминопропил-триметоксисилана, 3-глицидоксипропил-триметоксисилана и этанола, добавления конъюгат НК и ферментов и последующего раскапывания полученной смеси в 96-луночный планшет для формирования ГГ. При добавлении мо-

*Биосенсоры на основе флуоресцентных гидрогелей для детекции онкомаркеров и метаболитов при онкологических заболеваниях*

*Biosensors based on fluorescent hydrogels for detection of cancer markers and metabolites associated with cancer*

Аналит Analyte	Тип аналита Type of analyte	Диапазон измерения Measurement range	Лимит детекции Limit of detection	Ссылка Reference
CA19-9	Маркер, применяемый при диагностировании рака поджелудочной железы The marker used in the diagnosis of pancreatic cancer	$2,76 \times 10^{-2}$ $5,23 \times 10^2$ Ед/мл $5,23 \times 10^2$ U/ml	$1,58 \times 10^{-3}$ Ед/мл $1,58 \times 10^{-3}$ U/ml	[41]
PSA	Маркер, применяемый при диагностировании рака предстательной железы The marker used in the diagnosis of prostate cancer	0,05–8 нг/мл 0,05–8 ng/ml	4,4 пг/мл 4,4 pg/ml	[42]
мкРНК-21 miRNA-21	Маркер при раке молочной железы, предстательной железы, колоректальном раке и др. The marker of breast cancer, prostate cancer, colorectal cancer, etc.	0,1–125 фМ 0,1–125 fM	0,03 фМ 0,03 fM	[44]
мкРНК-141 miRNA-141	Маркер при раке молочной железы, желчного пузыря, предстательной железы и др. The marker of breast cancer, gallbladder cancer, prostate cancer, etc.	10–4 фМ – 10 пМ 10–4 fM – 10 pM	$10^{-4}$ фМ $10^{-4}$ fM	[46]
Фолатный рецептор Folate receptor	Фолатный рецептор сверхэкспрессирован на поверхности некоторых типов раковых клеток, например при раке легкого, почек, молочной железы и яичников The folate receptor is overexpressed on the surface of some cancer cell, for example in lung, kidney, breast, and ovarian cancer cells	–	$10^4$ клеток/мл $10^4$ cells/mL	[48]
Спермин Spermine	Маркер нарушения биохимических процессов, ассоциированных со злокачественными опухолями The marker of impaired biochemical processes, associated with malignant tumors	6 мкМ – 2,5 мМ 6 $\mu$ M – 2,5 mM	6 мкМ 6 $\mu$ M	[52]
Глутатион Glutathione	Повышенный уровень глутатиона наблюдается во множестве раковых клеток, а пониженный способствует окислительному стрессу, связанному с прогрессией опухолей Elevated glutathione level are found in many cancer cells, while decreased levels contribute to oxidative stress associated with tumor progression	$2,0–120 \times 10^{-6}$ моль/л $2,0–120 \times 10^{-6}$ mol/L	$2,0 \times 10^{-6}$ моль/л $2,0 \times 10^{-6}$ mol/L	[54]
Дофамин Dopamine	Дофаминовый сигнальный путь рассматривается как один из возможных путей противоопухолевой терапии The dopamine signaling pathway is considered as one of the possible pathway for antitumor therapy	$5,0–100 \times 10^{-5}$ моль/л $5,0–100 \times 10^{-5}$ mol/L	$5,0 \times 10^{-8}$ моль/л $5,0 \times 10^{-8}$ mol/L	[56]
Мочевая кислота Uric acid	Мочевая кислота является проонкогенным фактором The uric acid is a pro-oncogenic factor	60–2000 мкМ 60–2000 $\mu$ M	50 мкМ 50 $\mu$ M	[58]

чевой кислоты она окисляется уриказой с образованием перекиси водорода, которая затем окисляется пероксидазой хрена до кислорода и вызывает тушение флуоресценции НК. Работоспособность сконструированного биосенсора проверена на клинических образцах мочи без ее предварительной пробоподготовки и показала, что он позволяет детектировать мочевую кислоту с чувствительностью до 50 мкМ в диапазоне от 60 до 2000 мкМ.

Еще одним из развивающихся направлений в диагностике ОЗ на ранних стадиях является исследование нетипичного гликозилирования белков [59]. Y. Koshi и соавт. разработали 6 различных ФГГ, каждый на основе одного из лектинов, флуоресцентно меченных флуоресцеином, обладающих специфичностью к связыванию различных углеводов [60]. Перед анализом к ФГГ добавляли специфичные к данному лектину молекулы гасителей флуоресценции, что приводило к снижению общего ФС, конъюгированного с лектином флуоресцеина, причем добавление исследуемых образцов, содержащих белки, гликозилированные сахарами, которые имеют большее сродство к лектинам, вызывало высвобождение гасителя и увеличение ФС. С помощью созданного биосенсора исследованы различные гликопротеины, а также клеточные раковые линии. Полученные данные позволили провести исследования уникальных профилей гликозилирования и типирование различных клеток для определения уровня их клеточной адгезии и межклеточного сигналинга. При этом оказалось, что чувствительность детекции может быть подстроена под конкретные задачи путем варьирования количества молекул гасителя флуоресценции, а типичные лимиты детекции с помощью сконструированного биосенсора достигали 1 мМ для глюкозы и 30 мкМ — для гликопротеина Ribo B.

Несмотря на то что биосенсоры на основе ФГГ являются сравнительно новой разработкой, уже су-

ществует множество примеров их использования для детекции ОМ и метаболитов, связанных с развитием различных ОЗ (см. таблицу).

### Заключение

Флуоресцентные гидрогели и биосенсоры на их основе позволяют детектировать аналиты в более удобном формате с высокой чувствительностью. Гидрогели позволяют иммобилизовать большее количество распознающих молекул, сохранить их структуру, а также ориентировать все участки связывания аналита в сторону раствора, что обеспечивает максимальную специфичность и чувствительность детекции. Кроме того, использование ФС позволяет повысить чувствительность детекции аналитов по сравнению с методами хромогенной окраски, традиционно применяемыми в системах иммуноферментного анализа и иммунохроматографического анализа. Поскольку изменение уровня ФС в большинстве случаев обратимо, то биосенсоры на основе ФГГ могут использоваться несколько раз для анализа различных образцов, что снижает издержки на проведение анализа. Применение в ГГ в качестве ФМ НК КвТ обеспечивает повышение чувствительности и стабильности биосенсоров.

Сегодня биосенсоры на основе ФГГ используются для детекции ОМ и метаболитов, связанных с развитием различных ОЗ. На основе ФГГ действуют биосенсоры, работающие в проточном режиме, например, при их интегрировании в микрофлюидные устройства, в классическом формате 96-луночного планшета, совместимые с флуоресцентными ридерами, или в формате сенсорных микроволокон. Существует также множество примеров ФГГ-биосенсоров для детекции ионов металлов, антибиотиков и бактерий, а расширение спектра детектируемых аналитов и внедрение биосенсоров на основе ГГ в клиническую практику является вопросом ближайшего будущего.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hawkes N. Cancer survival data emphasise importance of early diagnosis. *BMJ* 2019;364:1408. DOI: 10.1136/bmj.1408
- Crosby D., Bhatia S., Brindle K.M. et al. Early detection of cancer. *Science* 2022;375(6586):eaay9040. DOI: 10.1126/science.aay9040
- Pulumati A., Pulumati A., Dwarakanath B.S. et al. Technological advancements in cancer diagnostics: Improvements and limitations. *Cancer Rep (Hoboken)* 2023;6(2):e1764. DOI: 10.1002/cnr2.1764
- Sukhanova A., Ramos-Gomes F., Chames P. et al. Multiphoton deep-tissue imaging of micrometastases and disseminated cancer cells using conjugates of quantum dots and single-domain antibodies. *Methods Mol Biol* 2021;2350:105–23. DOI: 10.1007/978-1-0716-1593-5\_8
- Lutz A.M., Willmann J.K., Cochran F.V. et al. Cancer screening: a mathematical model relating secreted blood biomarker levels to tumor sizes. *PLoS medicine* 2008;5(8):e170. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050170
- You P.Y., Li F.C., Liu M.H., Chan Y.H. Colorimetric and fluorescent dual-mode immunoassay based on plasmon-enhanced fluorescence of polymer dots for detection of PSA in whole blood. *ACS Appl Mater Interfaces* 2019;11(10):9841–9. DOI: 10.1021/acsami.9b00204
- Li Y., Huang Z.-Z., Weng Y., Tan H. Pyrophosphate ion-responsive alginate hydrogel as an effective fluorescent sensing platform for alkaline phosphatase detection. *Chem Commun (Camb)* 2019;55(76):11450–3. DOI: 10.1039/C9CC05223B

8. Guglielmi M., Martucci A. Semiconductor quantum dot-doped sol–gel materials. In: Martucci A., Santos L., Estefanía Rojas Hernández R., Almeida R., eds. Sol–gel derived optical and photonic materials. Cambridge: Woodhead Publishing, 2020. P. 209–226.
9. Richter A., Paschew G., Klatt S. et al. Review on hydrogel-based pH sensors and microsensors. *Sensors (Basel)* 2008;8(1):561–81. DOI: 10.3390/s8010561
10. Zhang Z., He C., Chen X. Hydrogels based on pH-responsive reversible carbon–nitrogen double-bond linkages for biomedical applications. *Mat Chem Front* 2018;2:1765–78. DOI: 10.1039/C8QM00317C
11. Hashim H., Maruyama H., Akita Y. et al. Hydrogel fluorescence microsensor with fluorescence recovery for prolonged stable temperature measurements. *Sensors (Basel)* 2019;19(23):5247. DOI: 10.3390/s19235247
12. Jia Z., Sukker I., Müller M., Schönherr H. Selective discrimination of key enzymes of pathogenic and nonpathogenic bacteria on autonomously reporting shape-encoded hydrogel patterns. *ACS Appl Mater Interfaces* 2018;10(6):5175–84. DOI: 10.1021/acsami.7b15147
13. Liang Z., Zhang J., Wu C. et al. Flexible and self-healing electrochemical hydrogel sensor with high efficiency toward glucose monitoring. *Biosens Bioelectron* 2020;155:112105. DOI: 10.1016/j.bios.2020.112105
14. Chen Z., Chen Y., Hedenqvist M.S. et al. Multifunctional conductive hydrogels and their applications as smart wearable devices. *J Mater Chem B* 2021;9(11):2561–83. DOI: 10.1039/D0TB02929G
15. Larsson A., Ekblad T., Andersson O., Liedberg B. Photografted poly(ethylene glycol) matrix for affinity interaction studies. *Biomacromolecules* 2007;8(1):287–95. DOI: 10.1021/bm060685g
16. Jung I.Y., Kim J.S., Choi B.R. et al. Hydrogel based biosensors for *in vitro* diagnostics of biochemicals, proteins, and genes. *Adv Healthc Mater* 2017;6(12):1601475. DOI: 10.1002/adhm.201601475
17. Gao Y., Wolf L.K., Georgiadis R.M. Secondary structure effects on DNA hybridization kinetics: A solution *versus* surface comparison. *Nucleic Acids Res* 2006;34(11):3370–7. DOI: 10.1093/nar/gkl422
18. Welch N.G., Scoble J.A., Muir B.W., Pigram P.J. Orientation and characterization of immobilized antibodies for improved immunoassays (Review). *Biointerphases* 2017;12(2):02D301. DOI: 10.1116/1.4978435
19. Feng B., Huang S., Ge F. et al. 3D antibody immobilization on a planar matrix surface. *Biosens Bioelectron* 2011;28(1):91–6. DOI: 10.1016/j.bios.2011.07.003
20. Su X., Hao D., Xu X. et al. Hydrophilic/hydrophobic heterogeneity anti-biofouling hydrogels with well-regulated rehydration. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020;12(22):25316–23. DOI: 10.1021/acsami.0c05406
21. Missirlis D., Baños M., Lussier F., Spatz J.P. Facile and versatile method for micropatterning poly(acrylamide) hydrogels using photocleavable comonomers. *ACS Appl Mater Interfaces* 2022;14(3):3643–52. DOI: 10.1021/acsami.1c17901
22. Xia Y., Xue B., Qin M. et al. Printable fluorescent hydrogels based on Self-assembling peptides. *Sci Rep* 2017;7(1):9691. DOI: 10.1038/s41598-017-10162-y
23. Kar T., Patra N. Pyrene-based fluorescent supramolecular hydrogel: Scaffold for nanoparticle synthesis. *J Phys Org Chem* 2019;33:e4026. DOI: 10.1002/poc.4026
24. Wu Y., Jin X., Ashrafzadeh Afshar E. et al. Simple turn-off fluorescence sensor for determination of raloxifene using gold nanoparticles stabilized by chitosan hydrogel. *Chemosphere* 2022;305:135392. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.135392
25. Liu C., Li Q., Wang H. et al. Quantum dots-loaded self-healing gels for versatile fluorescent assembly. *Nanomaterials (Basel)* 2022;12(3):452. DOI: 10.3390/nano12030452
26. Pisanic T.R. 2<sup>nd</sup>, Zhang Y., Wang T.H. Quantum dots in diagnostics and detection: principles and paradigms. *Analyst* 2014;139(12):2968–81. DOI: 10.1039/c4an00294f
27. Linkov P.A., Vokhmintcev K.V., Samokhvalov P.S., Nabiev I.R. Ultrasmall quantum dots for fluorescent bioimaging *in vivo* and *in vitro*. *Opt Spectrosc* 2017;122(1):8–11. DOI: 10.1134/S0030400X17010143
28. Kandi D., Mansingh S., Behera A., Parida K. Calculation of relative fluorescence quantum yield and Urbach energy of colloidal CdS QDs in various easily accessible solvents. *J Lumin* 2021;231:117792. DOI: 10.1016/j.jlumin.2020.117792
29. Neo D.C.J., Goh W.P., Lau H.H., Shanmugam J. CuInS<sub>2</sub> quantum dots with thick ZnSexS<sub>1-x</sub> shells for a luminescent solar concentrator. *ACS Appl Nano Mater* 2020;3:6489–96. DOI: 10.1021/acsanm.0c00958
30. Dey S.C., Nath S.S. Size-dependent fluorescence in CdSe quantum dots. *Emer Mat Res* 2012;1(3):117–20. DOI: 10.1680/emr.11.00004
31. Montón H., Nogués C., Rossinyol E. et al. QDs *versus* Alexa: reality of promising tools for immunocytochemistry. *J Nano-biotechnology* 2009;7:4. DOI: 10.1186/1477-3155-7-4
32. Benson K., Ghimire A., Pattammattel A., Kumar C.V. Protein biophosphors: Biodegradable, multifunctional, protein-based hydrogel for white emission, sensing, and pH detection. *Adv Funct Mater* 2017;27:1702955. DOI: 10.1002/adfm.201702955
33. Li C.Y., Zheng S.Y., Du C. et al. Carbon dot/poly(methylacrylic acid) nanocomposite hydrogels with high toughness and strong fluorescence. *ACS Appl Polym Mater* 2020;2:1043–52. DOI: 10.1021/acsapm.9b00971
34. Xu J., Zhang Y., Zhu W. et al. Synthesis of Polymeric nanocomposite hydrogels containing the pendant ZnS nanoparticles: Approach to higher refractive index optical polymeric nanocomposites. *Macromol* 2018;51(Is. 7):2672–81. DOI: 10.1021/acs.macromol.7b02315
35. Yang T., Li Q., Wen W. et al. Cadmium sulfide quantum dots/poly(acrylic acid-co-acrylic amide) composite hydrogel synthesized by gamma irradiation. *Rad Phys Chem* 2018;145:130–4. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2017.10.012
36. Zhang H., Wang X., Liao Q. et al. Embedding perovskite nanocrystals into a polymer matrix for tunable luminescence probes in cell imaging. *Advan Func Mat* 2017;27(7):1604382. DOI: 10.1002/adfm.201604382
37. Gaponik N., Wolf A., Marx R. et al. Three-dimensional self-assembly of thiol-capped CdTe nanocrystals: Gels and aerogels as building blocks for nanotechnology. *Advan Mat* 2008;20(Is.22):4257–62. DOI: 10.1002/adma.200702986
38. Hörner M., Becker J., Bohnert R. et al. A photoreceptor-based hydrogel with red light-responsive reversible sol-gel transition as transient cellular matrix. *Adv Mat Tech n/a*:2300195. DOI: 10.1002/admt.202300195
39. Bhattacharya S., Nandi S., Jelinek R. Carbon-dot–hydrogel for enzyme-mediated bacterial detection. *RSC Advances* 2017;7:588–94. DOI: 10.1039/C6RA25148J
40. Lee T., Teng T.Z.J., Shelat V.G. Carbohydrate antigen 19-9 – tumor marker: Past, present, and future. *World J Gastrointest Surg* 2020;12(12):468–90. DOI: 10.4240/wjgs.v12.i12.468
41. Piloto A.M.L., Ribeiro D.S.M., Rodrigues S.S.M. et al. Cellulose-based hydrogel on quantum dots with molecularly imprinted polymers for the detection of CA19-9 protein cancer biomarker. *Mikrochim Acta* 2022;189(4):134. DOI: 10.1007/s00604-022-05230-8
42. Ahmadi-Sangachin E., Mohammadnejad J., Hosseini M. Fluorescence Self-assembled DNA hydrogel for the determination of prostate specific antigen by aggregation induced emission. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2023;303:123234. DOI: 10.2139/ssrn.4313053
43. Bautista-Sánchez D., Arriaga-Canon C., Pedroza-Torres A. et al. The promising role of miR-21 as a cancer biomarker and its importance in RNA-based therapeutics. *Mol Ther Nucleic Acids* 2020;20:409–20. DOI: 10.1016/j.omtn.2020.03.003
44. Mohammadi S., Mohammadi S., Salimi A. A 3D hydrogel based on chitosan and carbon dots for sensitive fluorescence detection

- of microRNA-21 in breast cancer cells. *Talanta* 2021;224:121895. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121895
45. Gao Y., Feng B., Han S. et al. The roles of microRNA-141 in human cancers: From diagnosis to treatment. *Cell Physiol Biochem* 2016;38(2):427–48. DOI: 10.1159/000438641
  46. Li C., Li H., Ge J., Jie G. Versatile fluorescence detection of microRNA based on novel DNA hydrogel-amplified signal probes coupled with DNA walker amplification. *Chem Commun (Camb)* 2019;55(27):3919–22. DOI: 10.1039/C9CC00565J
  47. Gong X., Zhou W., Chai Y. et al. MicroRNA-induced cascaded and catalytic self-assembly of DNA nanostructures for enzyme-free and sensitive fluorescence detection of microRNA from tumor cells. *Chem Commun (Camb)* 2016;52(12):2501–4. DOI: 10.1039/C5CC08861E
  48. Zhang G., Zhou S., Yan G. et al. Quantum dot-crosslinked light-guiding hydrogels for sensing folate receptor-overexpressed cancer cells. *Sens Actuators B Chem* 2021;349:130815. DOI: 10.1016/j.snb.2021.130815
  49. Bolli A., Galluzzo P., Ascenzi P. et al. Laccase treatment impairs bisphenol A-induced cancer cell proliferation affecting estrogen receptor alpha-dependent rapid signals. *IUBMB life* 2008;60(12):843–52. DOI: 10.1002/iub.130
  50. Ruiz-Palmero C., Benítez-Martínez S., Soriano M.L., Válcárcel M. Fluorescent nanocellulosic hydrogels based on graphene quantum dots for sensing laccase. *Anal Chim Acta* 2017;974:93–9. DOI: 10.1016/j.aca.2017.04.018
  51. Tse R.T.-H., Wong C.Y.-P., Chiu P.K.-F., Ng C.F. The potential role of spermine and its acetylated derivative in human malignancies. *Int J Mol Sci* 2022;23(3):1258. DOI: 10.3390/ijms23031258
  52. Nair R.R., Debnath S., Das S. et al. A highly selective turn-on biosensor for measuring spermine/spermidine in human urine and blood. *ACS Appl Bio Mater* 2019;2(6):2374–87. DOI: 10.1021/acsabm.9b00084
  53. Traverso N., Ricciarelli R., Nitti M. et al. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. *Oxid Med Cell Longev* 2013;2013:972913. DOI: 10.1155/2013/972913
  54. Wu R., Ge H., Liu C. et al. A novel thermometer-type hydrogel sensor for glutathione detection. *Talanta* 2019;196:191–6. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.12.020
  55. Grant C.E., Flis A.L., Ryan B.M. Understanding the role of dopamine in cancer: Past, present and future. *Carcinogenesis* 2022;43(6):517–27. DOI: 10.1093/carcin/bgac045
  56. Yuan J., Wen D., Gaponik N., Eychmüller A. Enzyme-encapsulating quantum dot hydrogels and xerogels as biosensors: Multifunctional platforms for both biocatalysis and fluorescent probing. *Angew Chem Int Ed Engl* 2013;52(3):976–9. DOI: 10.1002/anie.201205791
  57. Fini M.A., Elias A., Johnson R.J., Wright R.M. Contribution of uric acid to cancer risk, recurrence, and mortality. *Clin Transl Med* 2012;1(1):16. DOI: 10.1186/2001-1326-1-16
  58. Azmi N.E., Rashid A.H.A., Abdullah J. et al. Fluorescence biosensor based on encapsulated quantum dots/enzymes/sol-gel for non-invasive detection of uric acid. *J Luminescence* 2018;202:309–15. DOI: 10.1016/j.jlumin.2018.05.075
  59. Wang M., Zhu J., Lubman D.M., Gao C. Aberrant glycosylation and cancer biomarker discovery: a promising and thorny journey. *Clin Chem Lab Med* 2019;57(4):407–16. DOI: 10.1515/cclm-2018-0379
  60. Koshi Y., Nakata E., Yamane H., Hamachi I. A fluorescent lectin array using supramolecular hydrogel for simple detection and pattern profiling for various glycoconjugates. *J Am Chem Soc* 2006;128(32):10413–22. DOI: 10.1021/ja0613963

**Вклад авторов**

П.М. Соколов: сбор, анализ данных литературы, подготовка текста;  
 П.С. Самохвалов, Д.А. Баранова: анализ данных литературы;  
 А.В. Суханова: анализ данных литературы, экспертный анализ текста.

**Author's contributions**

P.M. Sokolov: collection and analysis of literature data, text preparation;  
 P.S. Samokhvalov, D.A. Baranova: analysis of literature data;  
 A.V. Sukhanova: analysis of literature data, validation of the text.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

П.М. Соколов / P.M. Sokolov: <https://orcid.org/0000-0001-5321-3753>  
 П.С. Самохвалов / P.S. Samokhvalov: <https://orcid.org/0000-0002-2878-8376>  
 Д.А. Баранова / D.A. Baranova: <https://orcid.org/0009-0008-6381-5107>  
 А.В. Суханова / A.V. Sukhanova: <https://orcid.org/0000-0003-2796-7898>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Данная работа была поддержана грантом № 075-15-2021-935 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

**Financing.** This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation through the grant № 075-15-2021-935.

Статья поступила: 04.08.2023. Принята в печать: 04.10.2023.

Article received: 04.08.2023. Accepted for publication: 04.10.2023.