



(21) 申请号 202211248494.6

(22) 申请日 2022.10.12

(71) 申请人 广东省大湾区华南理工大学聚集诱导发光高等研究院

地址 510535 广东省广州市黄埔区开源大道11号科技企业加速器C3栋401室

(72) 发明人 唐本忠 龚晚君 王志明 刘勇

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司  
11332

专利代理师 刘二艳

(51) Int. Cl.

G01N 21/64 (2006.01)

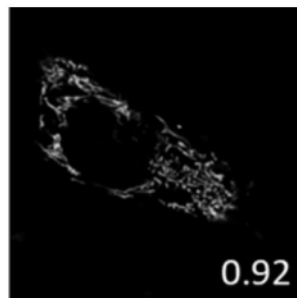
权利要求书2页 说明书9页 附图1页

(54) 发明名称

一种荧光探针成像性能的评估方法及系统

(57) 摘要

本发明提供一种荧光探针成像性能的评估方法及系统。所述评估方法包括如下步骤：(1) 对荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行评分，得到通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值；(2) 对步骤(1)得到的通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值进行分析得到总分，完成所述荧光探针成像性能的评估。本发明通过对荧光探针的不同功能参数进行评分、分析，客观、全面的完成了荧光探针成像性能的评估，解决了现有技术中只能通过比较荧光探针的单一参数，无法全面反映荧光探针成像性能的问题。



1. 一种荧光探针成像性能的评估方法,其特征在于,所述评估方法包括如下步骤:

(1) 对荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行评分,得到通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值;

(2) 对步骤(1)得到的通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值进行分析得到总分,完成所述荧光探针成像性能的评估。

2. 根据权利要求1所述的评估方法,其特征在于,所述通用功能包括光稳定性、合成效果和光谱范围;

优选地,通用功能的分值包括光稳定性的分值、合成效果的分值和光谱范围的分值。

3. 根据权利要求2所述的评估方法,其特征在于,测试所述荧光探针的荧光信号损失,所述荧光信号损失 $<5\%$ ,所述光稳定性的分值为5分,所述荧光信号损失为 $5\sim 10\%$ ,且不为 $10\%$ ,所述光稳定性的分值为4分,所述荧光信号损失为 $10\sim 20\%$ ,且不为 $20\%$ ,所述光稳定性的分值为3分,所述荧光信号损失为 $20\sim 30\%$ ,且不为 $30\%$ ,所述光稳定性的分值为2分,所述荧光信号损失 $\geq 30\%$ ,所述光稳定性的分值为1分。

4. 根据权利要求2或3所述的评估方法,其特征在于,所述合成效果包括合成步骤和总收率;

所述荧光探针的合成步骤为1步或者总收率 $\geq 85\%$ ,所述合成效果的分值为5分,所述荧光探针的合成步骤为 $2\sim 3$ 步或者总收率为 $75\sim 85\%$ ,所述合成效果的分值为4分,所述荧光探针的合成步骤为 $4\sim 5$ 步或者总收率为 $50\sim 75\%$ ,所述合成效果的分值为3分,所述荧光探针的合成步骤为 $5\sim 6$ 步或者总收率为 $25\sim 50\%$ ,所述合成效果的分值为2分,所述荧光探针的合成步骤 $>6$ 步或者总收率 $\leq 25\%$ ,所述合成效果的分值为1分。

5. 根据权利要求2-4任一项所述的评估方法,其特征在于,所述荧光探针的荧光最大发射波长 $>600\text{nm}$ ,所述光谱范围的分值为5分,所述荧光探针的荧光最大发射波长为 $450\sim 600\text{nm}$ ,且不为 $450\text{nm}$ ,所述光谱范围的分值为4分,所述荧光探针的荧光最大发射波长 $400\sim 450\text{nm}$ ,且不为 $400\text{nm}$ ,所述光谱范围的分值为3分,所述荧光探针的荧光最大发射波长 $350\sim 400\text{nm}$ ,且不为 $350\text{nm}$ ,所述光谱范围的分值为2分,所述荧光探针的荧光最大发射波长 $\leq 350\text{nm}$ ,所述光谱范围的分值为1分。

6. 根据权利要求1-5任一项所述的评估方法,其特征在于,所述专业功能包括细胞器共定位系数、细胞毒性、细胞适用性、检测限、线性范围、选择性、灵敏度中的任意一种或至少两种的组合;

所述专业功能的分值包括细胞器共定位系数的分值、细胞毒性的分值、细胞适用性的分值、检测限的分值、线性范围的分值、选择性的分值、灵敏度的分值中的任意一种或至少两种的组合;

优选地,所述补充功能包括摩尔消光系数、荧光量子产量、细胞光毒性中的任意一种或至少两种的组合;

所述补充功能的分值包括摩尔消光系数的分值、荧光量子产量的分值、细胞光毒性的分值中的任意一种或至少两种的组合。

7. 根据权利要求1-6任一项所述的评估方法,其特征在于,步骤(2)所述分析得到总分的方法为:

$$\text{总分} = \sum_{i=1}^n \text{功能}i \times \text{权重}i$$

;

其中,功能*i*表示荧光探针的通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值中的任意一种;

权重*i*表示通用功能的权重、专业功能的权重和补充功能的权重中的任意一种;

*n*表示荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能的个数和。

8.根据权利要求7所述的评估方法,其特征在于,所述通用功能的权重为25%,所述专业功能的权重为70%,所述补充功能的权重为5%;

优选地,所述通用功能的权重包括光稳定性的权重、合成效果的权重、光谱范围的权重;

所述光稳定性的权重为10%,所述合成效果的权重为10%,所述光谱范围的权重为5%。

9.根据权利要求1-8任一项所述的评估方法,其特征在于,所述总分 $\geq 4.5$ ,所述荧光探针的成像性能为特优;

所述总分为3.8~4.5,且不为4.5,所述荧光探针的成像性能为优;

所述总分为3.2~3.8,且不为3.8,所述荧光探针的成像性能为良;

所述总分为2.5~3.2,且不为3.2,所述荧光探针的成像性能为中;

所述总分 $< 2.5$ ,所述荧光探针的成像性能为差。

10.一种荧光探针成像性能的评估系统,其特征在于,所述评估系统采用如权利要求1-9所述的评估方法运行。

## 一种荧光探针成像性能的评估方法及系统

### 技术领域

[0001] 本发明属于荧光探针技术领域,具体涉及一种荧光探针成像性能的评估方法及系统。

### 背景技术

[0002] 荧光探针是在紫外-可见-近红外区有特征荧光,并且其荧光性质(激发和发射波长、强度、寿命、偏振等)可随所处环境的性质,如极性、折射率、粘度等改变而灵敏地改变的一类荧光性分子。荧光探针与核酸(DNA或RNA)、蛋白质或其他大分子结构非共价相互作用而使其荧光性质发生改变,因此,荧光探针可用于研究大分子物质的性质和行为。随着人们的荧光探针的深入研究,荧光探针种类及制备方法也引起了人们的广泛关注。

[0003] CN111154481A公开了一种用于检测去泛素化酶的纳米荧光探针的制备方法。所述纳米荧光探针的制备方法包括:将介孔硅纳米颗粒分散在含有菲啰啉-硅的二氯甲烷溶液中反应,得到介孔硅-菲啰啉纳米颗粒;介孔硅-菲啰啉纳米颗粒与 $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 在乙醇中混合,回流,加入1,3-二苯基-1,3-丙二酮反应,得到纳米荧光探针前驱体;将纳米荧光探针前驱体悬浮在聚乙烯亚胺水溶液中进行聚乙烯亚胺涂覆,得到聚乙烯亚胺改性的纳米荧光探针前驱体;聚乙烯亚胺改性的纳米荧光探针前驱体分散在混合溶液中,搅拌,得到纳米荧光探针。该技术方案制备得到的纳米荧光探针对UCH-L1的检测具有良好的灵敏度和选择性。

[0004] CN111647407A公开了一种用于检测头孢氨苄残留的比率荧光探针的制备方法及其制备的荧光探针和应用。所述制备方法包括:(1)将乳糖和Tris溶解在水中,并水热回流反应得到碳量子点;(2)将碲粉、硼氢化钠、水通气反应得到碲氢化钠前驱体;将氯化镉、巯基丙酸、水混合再加入碲氢化钠前驱体继续反应,得到碲化镉量子点;(3)将步骤(1)制得碳量子点、原硅酸四乙酯、3-氨基丙基三乙氧基硅烷、氨水在乙醇溶液中反应生成表面氨基官能化的硅包覆碳点;(4)将碲化镉量子点、硅包覆碳点、头孢氨苄抗体、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N-羟基丁二酰亚胺混合反应制成荧光探针。该技术方案制备得到的用于检测头孢氨苄残留的比率荧光探针灵敏度高,同时具有高选择性和特异性,仅对头孢氨苄有荧光响应。

[0005] CN113061427A公开了一种低于冰点的肝脏细胞标记用纳米荧光探针溶液及应用。所述纳米荧光探针溶液包括作为分散质分散于其中的纳米荧光探针;纳米荧光探针包括纳米荧光颗粒和偶联在纳米荧光颗粒表面的靶向分子,靶向分子能够用于靶向肝脏特定细胞;并且,纳米荧光探针溶液中还包括防冻物质,防冻物质的浓度满足使纳米荧光探针溶液在低于冰点的温度下保持液态。该技术方案通过对纳米荧光探针溶液的细节结构及组成进行改进,能够以预先选定细胞种类的肝脏特定细胞为目标细胞,基于纳米荧光探针实现在低于冰点时对肝细胞进行免疫荧光标记,具有快速、简便、高效的特点,尤其适用于作为荧光标记物应用于肝脏显微光学切片层析成像技术中。

[0006] 随着荧光技术进步与发展,基于荧光探针的成像已经逐渐从科研走向了临床,但是在说明荧光探针性能的时候,往往只能通过实际测量及通过同类型探针的横向比较来突

出探针的优点,例如细胞器荧光探针,虽然其共定位系数是其成像性能参数中最直观的一种,但是在实际应用中,单纯的共定位系数无法完整反映出荧光探针成像性能的好坏与使用范围。比较荧光探针的单一成像参数,无法客观全面的反映出荧光探针的成像性能。因此,如何提供一种通过荧光探针的不同功能参数,客观、全面的评估荧光探针的成像性能的方法,已成为目前亟待解决的技术问题。

## 发明内容

[0007] 针对现有技术的不足,本发明的目的在于提供荧光探针成像性能的评估方法及系统。本发明中,通过对荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行评分,得到通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值,然后对各个功能的分值进行分析,客观、全面的完成了荧光探针成像性能的评估。

[0008] 为达此目的,本发明采用以下技术方案:

[0009] 第一方面,本发明提供了一种荧光探针成像性能的评估方法,所述评估方法包括如下步骤:

[0010] (1) 对荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行评分,得到通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值;

[0011] (2) 对步骤(1)得到的通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值进行分析,得到总分,完成所述荧光探针成像性能的评估。

[0012] 本发明中,通过对荧光探针的不同功能参数进行评分、分析,具体为通过对荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行评分,得到通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值,然后对各个功能的分值进行分析,客观、全面的完成了荧光探针成像性能的评估,解决了现有技术中只能通过比较荧光探针的单一参数,无法全面反映荧光探针成像性能的问题。

[0013] 以下作为本发明的优选技术方案,但不作为对本发明提供的技术方案的限制,通过以下优选的技术方案,可以更好的达到和实现本发明的目的和有益效果。

[0014] 作为本发明的优选技术方案,所述通用功能包括光稳定性、合成效果和光谱范围。

[0015] 优选地,通用功能的分值包括光稳定性的分值、合成效果的分值和光谱范围的分值。

[0016] 作为本发明的优选技术方案,测试所述荧光探针的荧光损失,所述荧光信号损失 $<5\%$ (例如可以是 $1\%$ 、 $2\%$ 、 $3\%$ 、 $4\%$ 、 $4.2\%$ 或 $4.9\%$ 等),所述光稳定性的分值为5分,所述荧光信号损失为 $5\sim 10\%$ ,且不为 $10\%$ (例如可以是 $5\%$ 、 $6\%$ 、 $7\%$ 、 $8\%$ 、 $9\%$ 或 $9.8\%$ 等),所述光稳定性的分值为4分,所述荧光信号损失为 $10\sim 20\%$ ,且不为 $20\%$ (例如可以是 $10\%$ 、 $11\%$ 、 $12\%$ 、 $13\%$ 、 $14\%$ 、 $15\%$ 、 $16\%$ 、 $17\%$ 、 $18\%$ 、 $19\%$ 或 $19.8\%$ 等),所述光稳定性的分值为3分,所述荧光信号损失为 $20\sim 30\%$ ,且不为 $30\%$ (例如可以是 $20\%$ 、 $21\%$ 、 $22\%$ 、 $23\%$ 、 $24\%$ 、 $25\%$ 、 $26\%$ 、 $27\%$ 、 $28\%$ 、 $29\%$ 或 $29.8\%$ 等),所述光稳定性的分值为2分,所述荧光信号损失 $\geq 30\%$ (例如可以是 $30\%$ 、 $32\%$ 、 $34\%$ 、 $36\%$ 、 $38\%$ 、 $40\%$ 、 $42\%$ 、 $44\%$ 、 $46\%$ 、 $48\%$ 或 $50\%$ 等),所述光稳定性的分值为1分。

[0017] 需要说明的是,所述荧光探针的荧光损失的测试方法为:使用激光共聚焦显微镜,在激光功率不低于 $0.5\text{mW}$ (例如可以是 $0.5\text{mW}$ 、 $0.6\text{mW}$ 、 $0.7\text{mW}$ 、 $0.8\text{mW}$ 、 $0.9\text{mW}$ 或 $1\text{mW}$ 等)的情况

下,对荧光探针进行40次扫描成像,计算荧光信号损失。

[0018] 作为本发明的优选技术方案,所述合成效果包括合成步骤和总收率;

[0019] 所述荧光探针的合成步骤为1步或者总收率 $\geq 85\%$ (例如可以是85%、87%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%等),所述合成效果的分值为5分,所述荧光探针的合成步骤为2~3步或者总收率为75~85%(例如可以是75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%或85%等),所述合成效果的分值为4分,所述荧光探针的合成步骤为4~5步或者总收率为50~75%(例如可以是50%、52%、55%、57%、60%、63%、66%、68%、70%、72%或75%等),所述合成效果的分值为3分,所述荧光探针的合成步骤为5~6步或者总收率为25~50%(例如可以是25%、27%、30%、33%、36%、38%、40%、42%、46%或50%等),所述合成效果的分值为2分,所述荧光探针的合成步骤 $> 6$ 步或者总收率 $\leq 25\%$ (例如可以是15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%或25%等),所述合成效果的分值为1分。

[0020] 需要说明的是,所述荧光探针的合成步骤的取值为 $\geq 1$ 的整数;总收率是指荧光探针的收率。

[0021] 同时需要说明的是,本发明中合成效果的分值选用合成步骤的分值和总收率的分值中较高者。例如若荧光探针的合成步骤为3步,总收率为90%,则按照合成步骤而言,其合成效果的分值为4分,按照总收率而言,其合成效果的分值为5分,由于合成效果的分值为合成步骤的分值和总收率的分值中较高者,因此,在这种情况下,合成效果的分值取5分。

[0022] 作为本发明的优选技术方案,所述荧光探针的荧光最大发射波长 $> 600\text{nm}$ (例如可以是600nm、610nm、620nm、630nm、640nm、650nm、660nm、670nm、680nm、690nm或700nm等),所述光谱范围的分值为5分,所述荧光探针的荧光最大发射波长为450~600nm,且不为450nm(例如可以是455nm、460nm、470nm、500nm、520nm、540nm、560nm、580nm或600nm等),所述光谱范围的分值为4分,所述荧光探针的荧光最大发射波长400~450nm,且不为400nm(例如可以是405nm、410nm、415nm、420nm、425nm、430nm、435nm、440nm、445nm或450nm等),所述光谱范围的分值为3分,所述荧光探针的荧光最大发射波长350~400nm,且不为350nm(例如可以是355nm、360nm、365nm、370nm、375nm、380nm、385nm、390nm、395nm或400nm等),所述光谱范围的分值为2分,所述荧光探针的荧光最大发射波长 $\leq 350\text{nm}$ (例如可以是250nm、260nm、270nm、280nm、290nm、300nm、310nm、320nm、330nm、340nm或350nm等),所述光谱范围的分值为1分。

[0023] 需要说明的是,所述荧光探针的荧光发射波长的测试方法为:使用紫外吸收光谱仪或者荧光光谱仪对荧光探针进行测试,得到荧光发射波长。

[0024] 作为本发明的优选技术方案,所述专业功能包括细胞器共定位系数、细胞毒性、细胞适用性、检测限、线性范围、选择性、灵敏度中的任意一种或至少两种的组合;

[0025] 所述专业功能的分值包括细胞器共定位系数的分值、细胞毒性的分值、细胞适用性的分值、检测限的分值、线性范围的分值、选择性的分值、灵敏度的分值中的任意一种或至少两种的组合;

[0026] 需要说明的是,由于不同种类的荧光探针具有不同的专业功能,因此需要对不同种类的荧光探针的专业功能的分值分别进行评估。

[0027] 对于细胞器成像探针,其专业功能包括细胞器共定位系数、细胞毒性和细胞适用

性。

[0028] 对细胞器成像探针的细胞器共定位系数进行测试,细胞器共定位系数 $\geq 0.95$ (例如可以是0.95、0.96、0.97、0.98或0.99等),所述细胞器共定位系数的分值为5分;细胞器共定位系数为0.9~0.95,且不为0.95(例如可以是0.9、0.91、0.92、0.93、0.94或0.945等),所述细胞器共定位系数的分值为4分;细胞器共定位系数为0.85~0.9,且不为0.9(例如可以是0.85、0.86、0.87、0.88、0.89或0.895等),所述细胞器共定位系数的分值为3分;细胞器共定位系数为0.8~0.85,且不为0.85(例如可以是0.8、0.81、0.82、0.83、0.84或0.845等),所述细胞器共定位系数的分值为2分;细胞器共定位系数 $< 0.8$ (例如可以是0.7、0.72、0.74、0.76、0.78或0.79等),所述细胞器共定位系数的分值为1分。

[0029] 需要说明的是,本发明对于细胞器共定位系数的测试方法不做任何特殊限制,本领域常用的测试方法均适用,示例性地包括但不限于:先使用荧光探针对细胞进行染色,再使用商品化探针对细胞进行染色,通过共聚焦荧光显微镜对不同通道的细胞进行荧光成像,使用仪器自带的共定位算法计算共定位系数。

[0030] 根据标准MTT或者CCK-8方法测定细胞毒性,细胞器成像探针的浓度 $\geq 50\mu\text{M}$ (例如可以是50 $\mu\text{M}$ 、51 $\mu\text{M}$ 、52 $\mu\text{M}$ 、53 $\mu\text{M}$ 、54 $\mu\text{M}$ 、55 $\mu\text{M}$ 、56 $\mu\text{M}$ 、57 $\mu\text{M}$ 、58 $\mu\text{M}$ 、59 $\mu\text{M}$ 或60 $\mu\text{M}$ 等),所述细胞毒性的分值为5分;细胞器成像探针的浓度为30~50 $\mu\text{M}$ ,且不为50 $\mu\text{M}$ (例如可以是30 $\mu\text{M}$ 、32 $\mu\text{M}$ 、34 $\mu\text{M}$ 、36 $\mu\text{M}$ 、38 $\mu\text{M}$ 、40 $\mu\text{M}$ 、42 $\mu\text{M}$ 、44 $\mu\text{M}$ 、46 $\mu\text{M}$ 、48 $\mu\text{M}$ 或49 $\mu\text{M}$ 等),所述细胞毒性的分值为4分;细胞器成像探针的浓度为10~30 $\mu\text{M}$ ,且不为30 $\mu\text{M}$ (例如可以是10 $\mu\text{M}$ 、12 $\mu\text{M}$ 、14 $\mu\text{M}$ 、16 $\mu\text{M}$ 、18 $\mu\text{M}$ 、20 $\mu\text{M}$ 、22 $\mu\text{M}$ 、24 $\mu\text{M}$ 、26 $\mu\text{M}$ 、28 $\mu\text{M}$ 或29 $\mu\text{M}$ 等),所述细胞毒性的分值为3分;细胞器成像探针的浓度为1~10 $\mu\text{M}$ ,且不为10 $\mu\text{M}$ (例如可以是1 $\mu\text{M}$ 、2 $\mu\text{M}$ 、3 $\mu\text{M}$ 、4 $\mu\text{M}$ 、5 $\mu\text{M}$ 、6 $\mu\text{M}$ 、7 $\mu\text{M}$ 、8 $\mu\text{M}$ 或9 $\mu\text{M}$ 等),所述细胞毒性的分值为2分;细胞器成像探针的浓度 $< 1\mu\text{M}$ (例如可以是0.1 $\mu\text{M}$ 、0.2 $\mu\text{M}$ 、0.3 $\mu\text{M}$ 、0.4 $\mu\text{M}$ 、0.5 $\mu\text{M}$ 、0.6 $\mu\text{M}$ 、0.7 $\mu\text{M}$ 、0.8 $\mu\text{M}$ 或0.9 $\mu\text{M}$ 等),所述细胞毒性的分值为1分。

[0031] 对细胞器成像探针的细胞适用种类数进行测试,若细胞适用种类数为 $\geq 7$ 的整数(例如可以是7、8、9、10、11或12等),则细胞适用性的分值为5分;若细胞适用种类数为5或6,所述细胞适用性的分值为4分;若细胞适用种类数为3或4,所述细胞适用性的分值为3分;若细胞适用种类数为2,所述细胞适用性的分值为2分;若细胞适用种类数为1,所述细胞适用性的分值为1分。

[0032] 需要说明的是,本发明中对于测试荧光探针是否适用某种细胞的测试方法不做任何特殊的限定,本领域常用的方法均适用,示例性地包括但不限于:使用荧光探针对细胞器共定位系数进行测试,若细胞器共定位系数大于等于0.75,则说明该探针适用于该细胞,反之,为不适用。

[0033] 针对离子探针,其专业功能包括检测限、选择性、线性范围。

[0034] 对离子探针的检测限进行测试,采用标准方法测试离子探针的检测限,参考相应的国家标准、行业标准及临床数据,针对不同应用场景的探针,进行测试。其检测限 $\geq$ 特定标准,所述离子探针的检测限的分值为1分;检测限处于特定标准的0.1~1倍(例如可以是0.1倍、0.2倍、0.3倍、0.4倍、0.5倍、0.6倍、0.7倍、0.8倍或0.9倍等),且不为1倍的范围内,所述离子探针的检测限的分值为2分;检测限处于特定标准0.01~0.1倍,且不为0.1倍的范围内(例如可以是0.01倍、0.02倍、0.04倍、0.06倍、0.08倍或0.09倍等),所述离子探针的检测限的分值3分;检测限处于特定标准0.001~0.01倍,且不为0.01倍的范围内(例如可以是

0.001倍、0.002倍、0.004倍、0.006倍、0.008倍或0.009倍等),所述离子探针的检测限的分值4分;检测限 $\leq$ 特定标准0.001倍(例如可以是0.0001倍、0.0002倍、0.0004倍、0.0006倍、0.0008倍或0.0009倍等),所述离子探针的检测限的分值5。

[0035] 对离子探针的选择性进行测试,参考相应的国家标准、行业标准及临床数据,针对不同应用场景的探针,进行测试,选择性为待测离子的响应值与干扰离子的响应值之比。当选择性 $\leq 2$ (例如可以是1.2、1.4、1.6、1.8或2等),所述离子探针的选择性分值为1分;选择性为2~5,且不为2时(例如可以是2.5、3、3.5、4、4.5或5等),所述离子探针的选择性分值为2分,选择性为5~10,且不为5时,所述离子探针的选择性分值为3分,选择性10~20,且不为10时(例如可以是11、12、14、16、18或20等),所述离子探针的选择性分值为4分,选择性 $> 20$ 时(例如可以是22、24、26、28或30等),所述离子探针的选择性分值为5分。

[0036] 对离子探针的线性范围进行测试,参考相应的国家标准、行业标准及临床数据,针对不同应用场景的离子探针,进行测试。测得所述离子探针线性范围被标准范围所涵盖,所述离子探针的线性范围的分值为1分;测得离子探针线性范围的最低值或最高值有一方被标准范围所涵盖,所述离子探针的线性范围的分值为2分;测得离子探针线性范围涵盖标准范围的最低值 $\geq$ 标准范围最低值的0.5倍(例如可以是0.5倍、0.6倍、0.7倍、0.8倍、0.9倍或1倍等)或者离子探针线性范围涵盖标准范围的最高值 $\leq$ 标准范围最高值的2倍(例如可以是1.2倍、1.4倍、1.6倍、1.8倍或2倍等),所述离子探针的线性范围的分值为3分;测得离子探针线性范围涵盖标准范围的最低值 $\geq$ 标准范围最低值的0.2~0.5倍,且不为0.5倍(例如可以是0.2倍、0.3倍、0.4倍、0.45倍或0.48倍等),或者离子探针线性范围涵盖标准范围的最高值 $\leq$ 标准范围最高值的2~5倍,且不为2倍(例如可以是3倍、3.5倍、4倍、4.5倍或5倍等),所述离子探针的线性范围的分值为4分;测得离子探针线性范围涵盖标准范围的最低值 $<$ 标准范围最低值的0.2倍(例如可以是0.05倍、0.07倍、0.08倍、0.1倍、0.15倍或0.18倍等)或者离子探针线性范围涵盖标准范围的最高值 $>$ 标准范围最高值的5倍(例如可以是6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍或9倍等),所述离子探针的线性范围的分值5分。

[0037] 需要说明的是,若测得离子探针线性范围满足上述2个分值的情况,则取最低分。例如若测得离子探针线性范围涵盖标准范围的最低值 $<$ 标准范围最低值的0.5倍(分值5分),离子探针线性范围涵盖标准范围的最高值 $\leq$ 标准范围最高值的2~5倍(分值4分),则取最低分4份作为最终离子探针的线性范围的分值。

[0038] 作为本发明的优选技术方案,所述补充功能包括摩尔消光系数、荧光量子产量、细胞光毒性中的任意一种或至少两种的组合;

[0039] 所述补充功能的分值包括摩尔消光系数的分值、荧光量子产量的分值、细胞光毒性的分值中的任意一种或至少两种的组合。

[0040] 本发明中,对于摩尔消光系数、荧光量子产量、细胞光毒性的测试方法均不做任何特殊的限制,采用本领域常用的测试方法即可测试得到相应测试结果。

[0041] 需要说明的是,补充功能的分值按补充功能项得分,可为负分。设定荧光探针补充功能的初始得分为4分,如补充功能的某一项功能较差,低于现有技术中该类探针此功能测试结果的20%,则该荧光探针的补充功能扣1分,为3分;如补充功能的某一项功能较好,高于现有技术中该类探针此功能测试结果的20%,则该荧光探针的补充功能加1分,为5分。

[0042] 作为本发明的优选技术方案,步骤(2)所述分析得到总分的方法为:



$$[0043] \quad \text{总分} = \sum_{i=1}^n \text{功能}i \times \text{权重}i ;$$

[0044] 其中,功能*i*表示荧光探针的通用功能的分值(包括光稳定性的分值、合成效果的分值和光谱范围的分值)、专业功能的分值和补充功能的分值中的任意一种;

[0045] 权重*i*表示通用功能的权重(包括光稳定性的权重、合成效果的权重、光谱范围的权重)、专业功能的权重和补充功能的权重中的任意一种;

[0046] *n*表示荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能的个数和。

[0047] 步骤(2)分析得到总分的方法为对荧光探针的通用功能的分值乘以通用功能的权重、专业功能的分值乘以专业功能的权重、补充功能的分值乘以补充功能的权重,进行求和,得到总分。

[0048] 需要说明的是,权重代表该功能在总体评分中的占比,权重越高代表该功能对探针的成像性能的影响越大。

[0049] 作为本发明的优选技术方案,所述通用功能的权重为25%,所述专业功能的权重为70%,所述补充功能的权重为5%。

[0050] 优选地,所述通用功能的权重包括光稳定性的权重、合成效果的权重、光谱范围的权重;

[0051] 所述所述通用功能中光稳定性的权重为10%,所述合成效果的权重为10%,所述光谱范围的权重为5%

[0052] 需要说明的是,不同类型的荧光探针具有不同的专业功能,不同专业功能中各个专业功能的权重不同,可根据每个专业功能对于荧光探针成型性能的影响程度设定其权重。例如,对于细胞器成像探针,其专业功能包括细胞器共定位系数、细胞毒性和细胞适用性,所述细胞器共定位系数的权重为50%,细胞毒性的权重为10%,细胞适用性的权重为10%;对于离子探针,其专业功能包括检测限、选择性、线性范围,针对检出需求的应用场景,其专业功能权重分别为35%、15%、10%,针对复杂环境的应用场景(干扰因素>3个的应用场景),其专业功能权重分别为20%、30%、10%,针对含量需求的应用场景,专业功能权重分别为10%、15%、35%。优选地,所述补充功能的权重为5%。

[0053] 作为本发明的优选技术方案,所述总分 $\geq 4.5$ ,所述荧光探针的成像性能为特优;

[0054] 所述总分为3.8~4.5(例如可以是3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3或4.4等),且不为4.5,所述荧光探针的成像性能为优;

[0055] 所述总分为3.2~3.8(例如可以是3.2、3.3、3.4、3.5、3.6或3.7等),且不为3.8,所述荧光探针的成像性能为良;

[0056] 所述总分为2.5~3.2(例如可以是2.5、2.6、2.7、2.8、2.9或3.1等),且不为3.2,所述荧光探针的成像性能为中;

[0057] 所述总分 $< 2.5$ (例如可以是2.0、2.1、2.2、2.3或2.4等),所述荧光探针的成像性能为差。

[0058] 本发明提供一种荧光探针成像性能的评估方法,所述评估方法具体包括如下步骤:

[0059] (1)对荧光探针的合成效果、光谱范围、光稳定性、专业功能和补充功能分别进行

评分,得到合成效果的分值、光谱范围的分值、光稳定性的分值、专业功能的分值和补充功能的分值;

[0060] (2) 将光稳定性的分值 $\times 10\%$ +合成效果的分值 $\times 10\%$ +光谱范围的分值 $\times 5\%$ +专业功能的分值 $\times 70\%$ +补充功能的分值 $\times 5\%$ ,得到总分,完成所述荧光探针成像性能的评估。

[0061] 需要说明的是,本发明中所述的评估方法中,可通过自制或者根据现有报道制备荧光探针,然后对于荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行测试,然后再分别进行评分、分析,最终完成对荧光探针成像性能的评估;也可以根据现有技术中,对荧光探针通用功能、专业功能和补充功能的性能测试结果,对荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行评分、分析,最终完成对荧光探针成像性能的评估。为了避免现有技术中,对荧光探针通用功能、专业功能的性能测试结果不全面,对于没有具体测试数据或者测试数据不全面的功能参数,其分值可取均分3分;对于补充功能,其均分取4分。

[0062] 第二方面,本发明提供一种荧光探针成像性能的评估系统,所述评估系统采用如第一方面所述的评估方法运行。

[0063] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0064] 本发明中,通过对荧光探针的不同功能参数进行评分、分析,具体为通过对荧光探针的通用功能、专业功能和补充功能分别进行评分,得到通用功能的分值、专业功能的分值和补充功能的分值,然后对各个功能的分值进行分析,客观、全面的完成了荧光探针成像性能的评估,解决了现有技术中只能通过比较荧光探针的单一参数,无法全面反映荧光探针成像性能的问题。

## 附图说明

[0065] 图1为本发明实施例1提供的细胞线粒体探针的共聚焦成像图;

[0066] 图2为本发明实施例1提供的商品化探针的共聚焦成像图;

[0067] 图3为本发明实施例1提供的细胞线粒体探针的细胞器共定位系数表征图。

## 具体实施方式

[0068] 下面结合附图并通过具体实施方式来进一步说明本发明的技术方案。本领域技术人员应该明了,所述实施例仅仅是帮助理解本发明,不应视为对本发明的具体限制。

[0069] 实施例1

[0070] 本实施例提供一种细胞线粒体探针成像性能的评估方法,所述细胞线粒体探针参照DOI号为10.1039/C5CC04731E文章中的制备方法制备得到。具体评估方法如下:

[0071] (1) 合成效果:根据DOI号为10.1039/C5CC04731E文章可知,合成细胞线粒体探针,其合成步骤为4步,总收率为60%,合成效果的分值为3分,权重为10%;

[0072] 光谱范围:使用紫外吸收光谱仪对细胞线粒体探针进行测试,得到荧光发射波长 $>600\text{nm}$ ,光谱范围的分值为5分,权重为5%;

[0073] 光稳定性:使用激光共聚焦显微镜,在激光功率为0.5mW的情况下,对细胞线粒体探针进行40次扫描成像,计算荧光信号损失,得到荧光信号损失 $<5\%$ ,光稳定性的分值为5分,权重为10%;

[0074] 细胞器共定位系数:通过标准细胞共定位实验对细胞线粒体探针的细胞器共定位系数进行测试,测试结果如图1-3所示,由图1-3可知,其细胞器共定位系数为0.92,细胞器共定位系数的分值为4分,权重为50%;

[0075] 细胞毒性:根据标准MTT对细胞线粒体探针的细胞毒性进行测试,发现24小时后无明显细胞毒性,细胞线粒体探针的浓度 $\geq 50\mu\text{M}$ ,细胞毒性的分值为5分,权重为10%;

[0076] 细胞适用性:对不同细胞进行细胞共定位结果测试发现,细胞线粒体探针在7种细胞中均有较好的定位效果(细胞器共定位系数 $\geq 0.75$ ),细胞适用性的分值为5分,权重为10%;

[0077] 补充功能:上述文章中未具体说明该探针其他功能,因此,对于补充功能而言,补充功能的分值为4分,权重为5%。

[0078] (2) 计算总分:

[0079] 总分 $=3\times 10\%+5\times 5\%+5\times 10\%+4\times 50\%+5\times 10\%+5\times 10\%+4\times 5\%=4.25$ 。

[0080] 因此,胞线粒体探针的成像性能为优。

[0081] 实施例2

[0082] 本实施例提供一种溶酶体探针成像性能的评估方法,所述溶酶体探针的制备方法以及性能测试结果均由“Yao, J.; Zhuang, Z.; Yao, H.; Shi, R.; Chang, C.; Zhou, J.; Zhao, Z. Tetraphenylethene-Based Polymeric Fluorescent Probes for 2,4,6-Trinitrophenol Detection and Specific Lysosome Labelling. *Dyes and Pigments* 2020, 182.”可得。

[0083] 具体评估方法如下:

[0084] (1) 合成效果:合成步骤为8步,总收率为10%,合成效果的分值为1分,权重为10%;

[0085] 光谱范围:溶酶体探针的荧光发射波长为450~600nm,光谱范围的分值为4分,权重为5%;

[0086] 光稳定性:无数据报道,取均分3分,权重为10%;

[0087] 细胞器共定位系数:根据文献内容可知,其细胞器共定位系数为0.75,细胞器共定位系数的分值为1分,权重为50%;

[0088] 细胞毒性:根据标准MTT对溶酶体探针的细胞毒性进行测试,发现24小时后高浓度有细胞毒性,细溶酶体探针的浓度 $30\mu\text{M}$ ,细胞毒性的分值为3分,权重为10%;

[0089] 细胞适用性:该文献仅测试了溶酶体探针在1种细胞中的较好的定位效果(其细胞器共定位系数为0.75),数据不全面,因此细胞适用性的分值取均分3分,权重为10%;

[0090] 补充功能:上述文章中未具体说明该溶酶体探针其他功能,因此,对于补充功能而言,补充功能的分值为4分,权重为5%;

[0091] (2) 计算总分:

[0092] 总分 $=1\times 10\%+4\times 5\%+3\times 10\%+1\times 50\%+3\times 10\%+3\times 10\%+4\times 5\%=1.9$ 。

[0093] 因此,胞线粒体探针的成像性能差。

[0094] 由上述内容可知,本发明中通过对荧光探针的不同功能参数进行评分、分析,然后对各个功能的分值进行分析,客观、全面的完成了荧光探针成像性能的评估,解决了现有技术中只能通过比较荧光探针的单一参数,无法全面反映荧光探针成像性能的问题。

[0095] 申请人声明,本发明通过上述实施例来说明本发明的详细工艺流程,但本发明并不局限于上述详细工艺流程,即不意味着本发明必须依赖上述详细工艺流程才能实施。所属技术领域的技术人员应该明了,对本发明的任何改进,对本发明产品各原料的等效替换及辅助成分的添加、具体方式的选择等,均落在本发明的保护范围和公开范围之内。

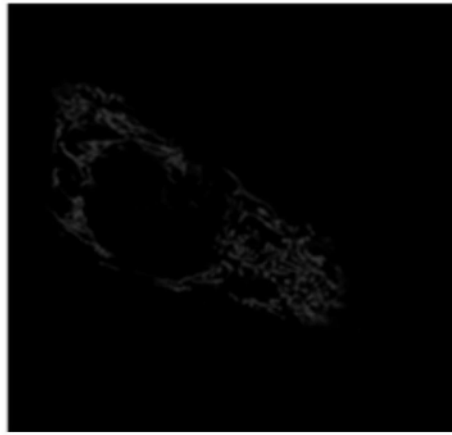


图1

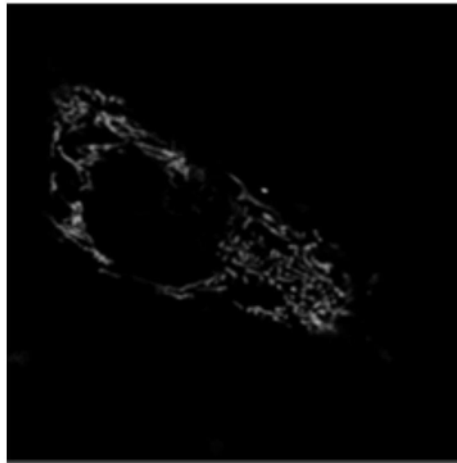


图2

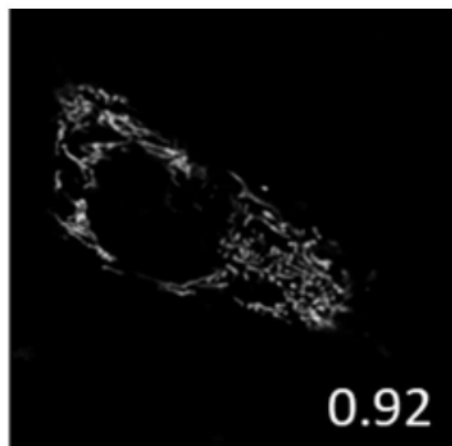


图3