



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101982775 A

(43) 申请公布日 2011.03.02

(21) 申请号 201010500640.0 *A61K 36/537*(2006.01)
(22) 申请日 2010.10.09 *A61P 9/00*(2006.01)
(71) 申请人 浙江大学 *C12Q 1/02*(2006.01)

地址 310027 浙江省杭州市西湖区浙大路
38号

(72) 发明人 程翼宇 王毅 赵筱萍

(74) 专利代理机构 杭州求是专利事务有限公司
33200

代理人 张法高 赵杭丽

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

A61K 36/258(2006.01)

A61K 36/48(2006.01)

A61K 36/481(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 4 页

(54) 发明名称

一种基于细胞荧光图像的药物筛选方法

(57) 摘要

本发明提供一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法,通过控制荧光倒置显微镜上的高精度可控电动平台精确走位,应用荧光探针特异性标记细胞、细胞显微图像自动获取、荧光图像识别及数据生成,通过分析图像信息来获取心肌细胞保护作用的相关指标筛选和评价活性组分。本发明能够在活细胞内通过标记线粒体荧光强度来测量心肌细胞的活力状态从而对活性物质的保护效果进行评估,并能够对细胞的形态结构和分布进行实时监测,具有快速、经济、高通量的特征,可在定量筛选评价心血管疾病治疗药物中的应用。

1. 一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法,其特征是:通过控制荧光倒置显微镜上的高精度可控电动平台精确走位,应用荧光探针特异性标记细胞、细胞显微图像自动获取、荧光图像识别及数据生成,通过分析图像信息来获取心肌细胞保护作用的相关指标筛选和评价活性组分,具体通过以下步骤实现:

(1) 建立筛选模型:接种 H9C2 细胞于 48 孔板或 96 孔板,使其贴壁后以 H_2O_2 孵育, H_2O_2 孵育时间为 15、30、90 以及 120 分钟,使用荧光染料标记细胞后读取荧光图像,荧光拍摄参数为:绿色荧光滤光片或者红色荧光滤光片,扫描所得图像经过荧光图像拼接、识别软件处理并进行统计,通过绘制相对荧光强度的时效曲线确定最佳损伤时间,通过绘制相对荧光强度的量效曲线确定最佳损伤浓度,该最佳浓度即作为心肌细胞损伤模型,最佳染色浓度为 $10 \mu g/mL$;

(2) 筛选和评价:接种 H9C2 细胞于 96 孔板,贴壁后加药保护一定时间,用(1)所述的筛选模型进行损伤并检测荧光强度,并经过荧光图像拼接、图像识别以及数据输出系统将结果进行统计,计算公式为:

$$\text{保护率}\% = \frac{F_m - f}{F_m - F_c} \times 100\%$$

其中 F_m 为模型组即损伤组的荧光强度, f 为加药保护组的荧光强度, F_c 为正常未处理组的荧光强度;在筛选中设定正常细胞组、阳性对照组及溶剂对照组,通过计算保护率为正即判断具有保护作用,超过 50% 即判断具有较强的保护作用。

2. 根据权利要求 1 所述的一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法,其特征在于,步骤(1)所述标记细胞的荧光染料为线粒体膜电位探针 Rhodamine123。

3. 根据权利要求 1 所述的一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法,其特征在于,步骤(1)所述荧光拍摄选用 Rhodamine123 拍摄,参数为绿色荧光滤光片,激发光 460-500nm、发射光 512-542nm。

4. 根据权利要求 1-3 任一所述的一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法,其特征在于,所述活性组分为黄芪、丹参、三七、降香药材中的心肌保护活性组分。

5. 根据权利要求 1 所述的一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法在定量筛选评价心血管疾病治疗药物中的应用。

一种基于细胞荧光图像的药物筛选方法

技术领域

[0001] 本发明属于药物筛选与新药发现研究领域,涉及应用荧光探针特异性标记细胞、细胞显微图像自动获取技术、荧光图像识别及数据生成,通过分析图像信息来获取心血管疾病治疗作用的相关指标并用于外源物质(如中药材、中药复方、活性化合物等)心血管保护药效的筛选和评价,对于药物发现与药效评价具有重要意义。

背景技术

[0002] 冠状动脉粥样硬化性心脏病是指冠状动脉粥样硬化使血管腔阻塞,导致心肌缺血,缺氧而引起的心脏病,属中医“胸痹”“心痛”范畴;它和冠状动脉功能性改变(痉挛)一起统称为冠状动脉性心脏病,亦称缺血性心脏病。

[0003] 世界各国、特别是发达国家患病率甚高,我国近年来亦有上升的趋势。人们迫切需要研究冠心病的发病机制、影响因素和合理疗法,以便早期诊断、早期治疗。

[0004] 目前对于冠心病发病机制的研究主要集中在缺血再灌注损伤方面。缺血再灌注是机体所产生的一个自我修复过程,同时又是动脉粥样硬化疾病进展成继发性心血管疾病如急性心梗(AMI)、充血性心力衰竭、心律不齐等的共同病理基础与必经阶段,是影响冠心病预后的重要环节。

[0005] 心脏缺血达到一定程度,会引起心肌组织细胞的损伤。血液的重新灌注是防止损伤,使组织细胞存活下来的必要措施。但近年来越来越多的研究表明,再灌注不一定使缺血损伤的组织细胞得到恢复,在一定条件下反而加重了损伤,由此逐渐形成了缺血—再灌注损伤概念(ischemia-reperfusion injury, I-RI)。

[0006] 心肌是发生 IRI 的最常见组织之一,其发生机制可能与多种因素有关。近年已有一些实验和临床研究发现,细胞凋亡可能是心肌缺血再灌注损伤发病机制中的重要环节之一。造成心肌细胞凋亡的原因主要是心肌缺血再灌注后,大量氧自由基的产生、钙内流增加以及线粒体膜电位的改变等。

[0007] 中医治疗冠心病的历史悠久,中药尤其是中药复方具备多层面多靶点的整体治疗优势。然而,虽然现在市场上广泛应用的中成药临床效果显著,但其对缺血心肌的心脏保护的有效成分以及作用机制还不明确。因此,对这些天然产物进行有效成分的筛选和评价,将有望从传统中药中找出新的心血管疾病治疗药物。

[0008] 目前,对于心肌保护组分的筛选主要是体外针对抗氧化活性的筛选,如 DPPH 法,MTT 法、SOD 以及 LDH 等酶活测定。但这些方法存在着作用时间久、灵敏度低等缺陷,不足以满足化合物库以及中草药中多组分大量筛选的要求,因此,基于细胞荧光图像的高通量筛选方法成为研究热点,期望能够通过荧光标记细胞或者亚细胞器观察细胞形态学以及细胞器功能的改变,从而定量评价物质的心肌保护效果,从而快速筛选心血管疾病治疗药物。

发明内容

[0009] 本发明的目的是提供一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法,是一种基

于荧光标记线粒体膜电位的心肌保护药物活性组分筛选和药效评价方法,可用于心血管疾病治疗药物发现。该药物筛选方法通过控制荧光倒置显微镜上的高精度可控电动平台精确走位,应用荧光探针特异性标记细胞、细胞显微图像自动获取、荧光图像识别及数据生成,通过分析图像信息来获取心肌细胞保护作用的相关指标,用于外源物(药材以及复方)的心肌保护作用的筛选和评价;

[0010] 具体通过以下步骤实现:

[0011] 1. 本发明筛选和评价系统所涉及的硬件系统由一台荧光倒置显微镜及电脑构成,其中荧光倒置显微镜部件包括A. 荧光倒置显微镜主体,B. 高精度可控电动平台,C. 平台控制器,通过接线与A相连,D. 电荷耦合器(CCD),通过接口C-mount与显微镜相连,其获取的图像信息则进一步经由IEEE1394连接卡上传至电脑储存(IEEE1394连接卡购自于Leica公司,用户自己买),E. 汞灯,F. 汞灯控制器,通过接线与显微镜相连,用于控制荧光发光调节,G. 粗调节螺旋,H. 手动操纵杆,通过接线与A相连。软件系统主要包括:高精度可控电动平台控制与图像采集控制系统,图像拼接系统,图像识别系统。

[0012] 2. 罗丹明 123(Rhodamine123) 染色特异性标记线粒体膜电位

[0013] 罗丹明 123(Rhodamine 123) 是一种可透过细胞膜的阳离子荧光染料,是一种线粒体跨膜电位的指示剂。其在正常细胞中能够依赖线粒体跨膜电位进入线粒体基质,荧光强度减弱或消失。而在凋亡发生时,线粒体膜完整性破坏,线粒体膜通透性转运孔开放,引起线粒体跨膜电位($\Delta \Psi_m$)的降低,罗丹明 123 重新释放出线粒体,从而发出强绿色荧光,可用荧光显微镜、荧光光度计或流式细胞仪检测,通过荧光信号的强弱来检测线粒体膜电位的变化和凋亡的发生,可用于培养的细胞或从组织中提取出的线粒体的膜电位检测。

[0014] 准确称取罗丹明 1235mg 溶于 1mL 二甲基亚砜(DMSO,Merck 公司)中配成 5mg/mL 储备液,分装于 0.6mL 离心管中,置于 -20°C 避光储存,临用前,用 PBS 稀释储备液 500 倍待用。

[0015] (1)Rhodamine 123 最佳浓度的确立

[0016] 在 96 孔板中接种 H9C2 大鼠心肌细胞,5000 个/孔,只种 96 孔板中间 60 孔,置于细胞培养箱中过夜使细胞贴壁完全。第二天,在暗室中,弃去每孔中培养液,加入 $100\ \mu\text{L}$ /孔含系列浓度梯度罗丹明 123 的 PBS,置于室温(25°C) 孵育 15min,接着用 $100\ \mu\text{L}$ /孔 PBS 漂洗两遍,吸干,在荧光倒置显微镜平台上读取荧光图像。荧光拍摄参数为:绿色荧光滤光片(激发光 460-500nm、发射光 512-542nm),曝光时间 1000ms,物镜放大倍数 2.5 倍。每孔拍摄 6 幅图像,并经过荧光图像拼接、图像识别以及数据输出系统将结果进行统计,选择最佳 FDA 染色浓度,罗丹明 123 浓度梯度为:2.5,5,10,15 以及 $20\ \mu\text{g/mL}$,每个浓度 6 复孔。

[0017] (2) 罗丹明 123 荧光染色损伤模型的建立

[0018] a. 最佳损伤时间的选择

[0019] H9C2 细胞种于 96 孔板内 60 孔,5000 个/孔, 37°C 孵育 24h 使其贴壁。24h 后洗去上清液,并用 PBS 洗涤一遍,分别加入 100、200、400、600 $\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 孵育 15、30、90 以及 120min。孵育以及细胞染色条件同(1)。扫描所得图像经过荧光图像拼接、识别软件处理并进行统计。通过绘制相对荧光强度的时效曲线确定最佳损伤时间。

[0020] b. 最佳损伤浓度的选择

[0021] H9C2 细胞种于 96 孔板内 60 孔,5000 个/孔, 37°C 孵育 24h 使其贴壁。

[0022] 24h 后洗去上清液,并用 PBS 洗涤一遍,分别加入 100、200、300、400 以及 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 孵育 30min。孵育以及细胞染色条件同 (1)。扫描所得图像经过荧光图像拼接、识别软件处理并进行统计。通过绘制相对荧光强度的量效曲线确定最佳损伤浓度。该最佳浓度即作为心肌细胞损伤模型应用于心肌保护物质筛选。

[0023] 2. 筛选系统应用于阳性化合物 Vitamin C 的心肌保护作用评价

[0024] 接种 H9C2 细胞于 96 孔板上,5000 个 / 孔,24h 让其贴壁充分,用已知的心肌保护化合物 VitaminC 为阳性损伤对照,分别取 9.375、18.75、37.5、75、112.5 以及 150 $\mu\text{mol/L}$, 并取 0.5% DMSO(v/v) 作为阴性对照,每个浓度 6 复孔,每孔加入 100 μL 培养液,细胞培养箱中孵育 12h,接着弃去每孔中培养液,并用 PBS 洗涤一遍加入含 300 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 的培养液孵育 30min。之后弃去上清液,每孔加入罗丹明 123 的 PBS 溶液,避光室温孵育 15min,孵育以及细胞染色条件同 (1)。扫描所得图像经过荧光图像拼接、识别软件处理并进行统计。通过公式计算保护率并绘制保护率对浓度的量效曲线并计算 Vitamin C 的 IC_{50} 值。计算公式为

[0025]

$$\text{保护率}\% = \frac{F_m - f}{F_m - F_c} \times 100\%$$

[0026] 其中 F_m 为模型组即损伤组的荧光强度, f 为加药保护组的荧光强度, F_c 为正常未处理组的荧光强度。

[0027] 3. 用所建立的筛选模型筛选黄芪、丹参、三七、降香等药材中的心肌保护组分

[0028] 黄芪、丹参、三七、降香是文献中报道较多应用于心血管疾病治疗的药材,广泛出现于中药复方中。上述四种药材需要经过加热回流提取、中压柱分离及制备液相分离制备等手段,将药材分成不同的组分,每个组分用 DMSO 溶解成 20mg/mL 的储备液,用于筛选时使用的浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 。具体药材成分与细胞相互作用筛选及评价方法同 2。在筛选中设定正常细胞组、阳性对照组 (100 $\mu\text{mol/L}$ 的 Vitamin C) 及溶剂对照组 (0.1% DMSO, v/v)。通过计算保护率为正即判断具有保护作用,超过 50% 即判断具有较强的保护作用;对于筛选出来的候选组分进行后续的量效反应实验及进一步分离纯化、结构鉴定工作,再进一步进行量效关系的研究,计算 IC_{50} , 并与阳性药对照来评估其心肌保护活性。

[0029] 本发明的另一个目的是提供所述方法在定量筛选评价心血管疾病治疗药物中的应用。所述药物为黄芪、丹参、三七、降香等药材中的心肌保护组分。

[0030] 本发明主要应用于筛选和评价化学药物以及中草药中心肌保护物质,为进一步的分离纯化有效化合物以及结构鉴定提供依据,为先导化合物的发现奠定基础。本发明与传统的心肌保护物质筛选方法相比,能够在活细胞内通过标记线粒体荧光强度来测量心肌细胞的活力状态从而对活性物质的保护效果进行评估,并能够对细胞的形态结构和分布进行实时监测。同时,本筛选方法具有快速 (与传统的 MTT 法相比,能够在药物作用的初期观测到线粒体膜电位的变化)、经济、高通量的特征。

[0031] 本发明设计合理,提供的筛选和评价系统结构完善,具有很高的应用价值,而且设备简单、经济,适合于国内在早期开展对于治疗心血管疾病药物 (包括化学药以及中草药) 的筛选和先导化合物的发现,为中药现代化奠定基础。

附图说明

- [0032] 图 1 为本发明筛选和评价系统的构架。
- [0033] 图 2 正常组荧光图片及灰度图。
- [0034] 图 3 为罗丹明 123 最佳浓度选择。
- [0035] 图 4 为罗丹明 123 荧光染色损伤模型的建立。
- [0036] 图 5 为筛选系统应用于阳性化合物的心肌保护作用评价。
- [0037] 图 6 为高倍镜下观察 Vitamin C (112.5 μ M) 对于氧化损伤 H9C2 细胞的保护作用。
- [0038] 图 7 为本发明提供的方法用于筛选丹参、三七、黄芪、降香中心肌保护组分。

具体实施方式

- [0039] 本发明结合附图和具体实施例作进一步的说明。
- [0040] 试剂：
- [0041] DMEM 基础培养基；
- [0042] 胎牛血清 (FBS)；
- [0043] 非必须氨基酸
- [0044] 硫酸链霉素,青霉素钠；
- [0045] Vitamin C；
- [0046] Rhodamine 123；
- [0047] 二甲基亚砷 (DMSO)；
- [0048] 其它试剂均为国产分析纯。
- [0049] 仪器：
- [0050] Leica DMI 6000B 荧光倒置显微镜、DFC 310FX CCD；德国 Leica 公司；
- [0051] 二氧化碳培养箱：Thermo Forma Series II Water Jacketed CO2 Incubator；
- [0052] SB-840-2 型单人双面超净工作台；上海博迅实业有限公司医疗设备厂。
- [0053] 实施例 1 基于细胞荧光图像的药物筛选系统的设计和构建
- [0054] 参见图 1, 是本发明筛选和评价系统的构架。本发明涉及的硬件系统由一台荧光倒置显微镜及电脑构成, 其中荧光倒置显微镜部件包括 A. 荧光倒置显微镜主体；B. 高精度可控电动平台；C. 平台控制器, 通过接线与 A 相连；D. 电荷耦合器 (CCD), 通过接口 C-mount 与显微镜相连, 其获取的图像信息则进一步经由 IEEE1394 连接卡上传至电脑储存 (IEEE1394 连接卡购自于 Leica 公司, 用户自己买)；E. 汞灯；F. 汞灯控制器, 通过接线与显微镜相连, 用于控制荧光发光调节；G. 粗调节螺旋；H. 手动操纵杆, 通过接线与 A 相连。软件系统主要包括：高精度可控电动平台控制与图像采集控制系统, 图像拼接系统, 图像识别系统。
- [0055] 实施例 2 荧光图像识别处理
- [0056] 荧光图像识别系统主要是对荧光显微镜得到的荧光图片进行处理, 使得细胞生物学信息转化成数据, 结果可视化。具体处理步骤为荧光图片背景信号扣除、二值化处理、数据统计生成报表。通过这三个步骤的处理, 可以将人眼所分辨不出来的荧光信号可视化, 识别灵敏度高, 检测下限低, 自动化的批量处理荧光图片, 得出结果更快、更稳定, 且为多参数。识别示意图见图 2。
- [0057] 实施例 3 罗丹明 123 染色应用于心血管治疗药物的筛选与评价

[0058] (1) 罗丹明 123 最佳浓度选择。

[0059] 在 96 孔板中接种 H9C2 大鼠心肌细胞, 5000 个 / 孔, 只种 96 孔板中间 60 孔, 置于细胞培养箱中过夜使细胞贴壁完全。第二天, 在暗室中, 弃去每孔中培养液, 加入 100 μ L / 孔含系列浓度梯度罗丹明 123 的 PBS, 置于室温 (25 $^{\circ}$ C) 孵育 15min, 接着用 100 μ L / 孔 PBS 漂洗两遍, 吸干, 在荧光倒置显微镜平台上读取荧光图像。荧光拍摄参数为: 绿色荧光滤光片 (激发光 460-500nm、发射光 512-542nm), 曝光时间 1000ms, 物镜放大倍数 2.5 倍, 每孔拍摄 6 幅图像, 并经过荧光图像拼接、图像识别以及数据输出系统将结果进行统计, 选择最佳 FDA 染色浓度。(罗丹明 123 浓度梯度为: 1.25, 2.5, 5, 10, 15 以及 20 μ g/mL, 每个浓度 6 复孔)。

[0060] 结果显示 (参见图 3), 罗丹明 123 在 0-15 μ g/mL 浓度范围内荧光强度呈浓度依赖性。20 μ g/mL 罗丹明 123 染色荧光强度未见增加反而有所下降, 文献报道罗丹明 123 对细胞有呼吸抑制作用, 高浓度染料可能具有毒副作用, 因此最后选择 10 μ g/mL 作为最佳染色浓度。

[0061] (2) 罗丹明 123 染色损伤模型的建立

[0062] H9C2 细胞种于 96 孔板内 60 孔, 5000 个 / 孔, 37 $^{\circ}$ C 孵育 24h 使其贴壁。

[0063] 24h 后洗去上清液, 并用 PBS 洗涤一遍, 分别加入 100、200、300、400 以及 500 μ mol/L 的 H_2O_2 孵育 30min。孵育以及细胞染色条件同 (1)。扫描所得图像经过荧光图像拼接、识别软件处理并进行统计。通过绘制相对荧光强度的量效曲线确定最佳损伤浓度。

[0064] 结果显示 (参见图 4), 300 μ mol/mL H_2O_2 损伤 30min 时, 荧光强度增高达到最大, 反映此时膜电位降低幅度最大。由于低浓度短时间的氧化损伤会引起线粒体膜完整性破坏, 线粒体膜通透性转运孔开放, 引起线粒体跨膜电位 ($\Delta \Psi_m$) 的降低, 罗丹明 123 重新释放出线粒体, 从而发出强绿色荧光。而高浓度的损伤致使线粒体膜电位崩溃, 细胞坏死, 绝对细胞个数减少, 因此高于 300 μ M 的 H_2O_2 损伤组荧光强度反而有所降低。因此, 选择 300 μ M H_2O_2 损伤 30min。

[0065] (3) Vitamin C 对该损伤模型的保护作用

[0066] 接种 H9C2 细胞于 96 孔板上, 5000 个 / 孔, 24h 让其贴壁充分, 用已知的心肌保护化合物 Vitamin C 为阳性损伤对照, 分别取 9.375、18.75、37.5、75、112.5 以及 150 μ mol/L, 并取 0.5% DMSO (v/v) 作为阴性对照, 每个浓度 6 复孔, 每孔加入 100 μ L 培养液, 细胞培养箱中孵育 24h, 接着弃去每孔中培养液, 并用 PBS 洗涤一遍加入含 300 μ mol/L H_2O_2 的培养液孵育 30min。之后弃去上清液, 每孔加入罗丹明 123 的 PBS 溶液, 避光室温孵育 15min, 孵育以及细胞染色条件同 (1)。扫描所得图像经过荧光图像拼接、识别软件处理并进行统计。通过公式计算保护率并绘制保护率对浓度的量效曲线并计算 Vitamin C 的 IC50 值。计算公式为

[0067]

$$\text{保护率}\% = \frac{F_m - f}{F_m - F_c} \times 100\%$$

[0068] 其中 F_m 为模型组即损伤组的荧光强度, f 为加药保护组的荧光强度, F_c 为正常未处理组的荧光强度。

[0069] 结果参见图 5, 公认的抗氧化药物 Vitamin C 对于本模型具有很好的保护作用, 在

9. 375-150 μ M 范围内保护作用呈浓度依赖性。并且,在高倍镜下观察,当细胞处于正常状态时, Rhodamine 123 借导线粒体内外膜电位进入线粒体内部,荧光熄灭。当线粒体受损时,线粒体膜电位发生去极化,膜通透性转运孔重新开放,膜电位降低,引起罗丹明 123 重新释出线粒体进入胞质溶胶,被激发出绿色荧光。当使用阳性药 Vc 保护细胞时,荧光强度又恢复至正常水平(参见图 6)。

[0070] (4) 本发明提供的方法用于筛选丹参、黄芪、三七、降香中心肌保护成分本发明还被应用于有心肌保护作用的中药材中抗氧化成分的筛选。以上四种药材购于天士力陕西商洛基地,具体步骤先通过植化手段提取:

[0071] 药材粉碎,过筛并干燥,再用有机溶剂及水加热回流提取;分离:将分裂得到的浸膏进一步通过中压柱洗脱分离;制备:最后将得到的各部分浸膏上制备液相色谱进行分离,收集馏分,冷冻干燥后得到该药材的不同成分,用于筛选实验。

[0072] 提取、分离、制备四种药材的不同成分,再将 these 成分与 H9C2 细胞共孵育 24h,浓度都为 20 μ g/mL。同时设定正常组、阳性组(100 μ M Vitamin C)以及阴性对照组(0.1% 二甲基亚砜, v/v)。孵育之后按照按照实施例(3)中的测量方法,通过检测每孔中荧光强度计算保护率,并绘制柱状图(参见图 7)。

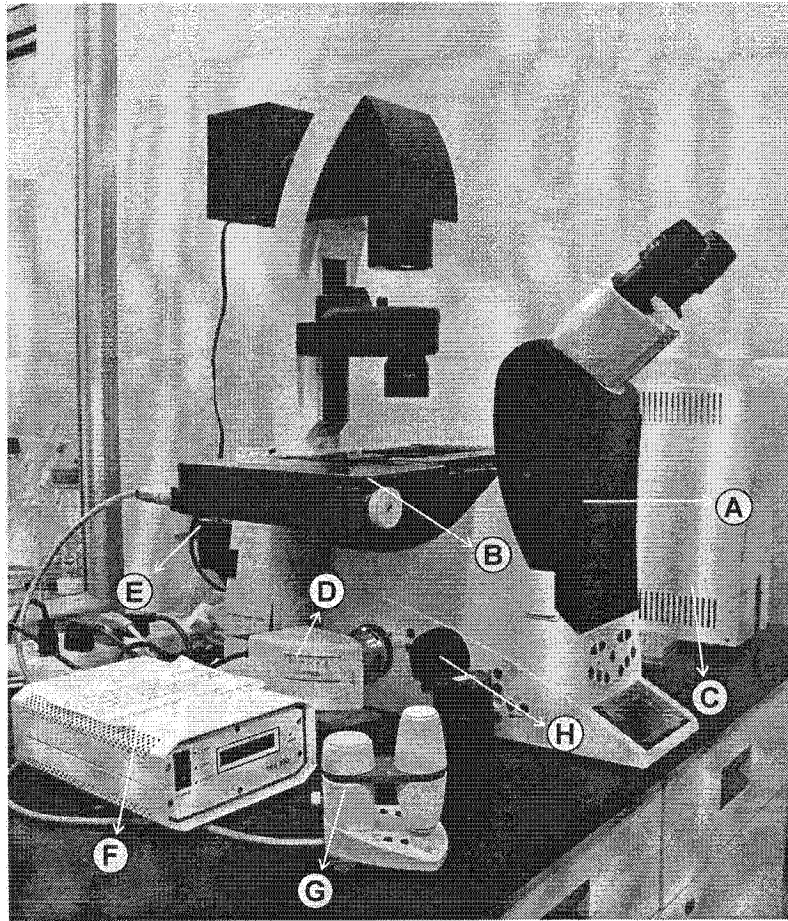


图 1

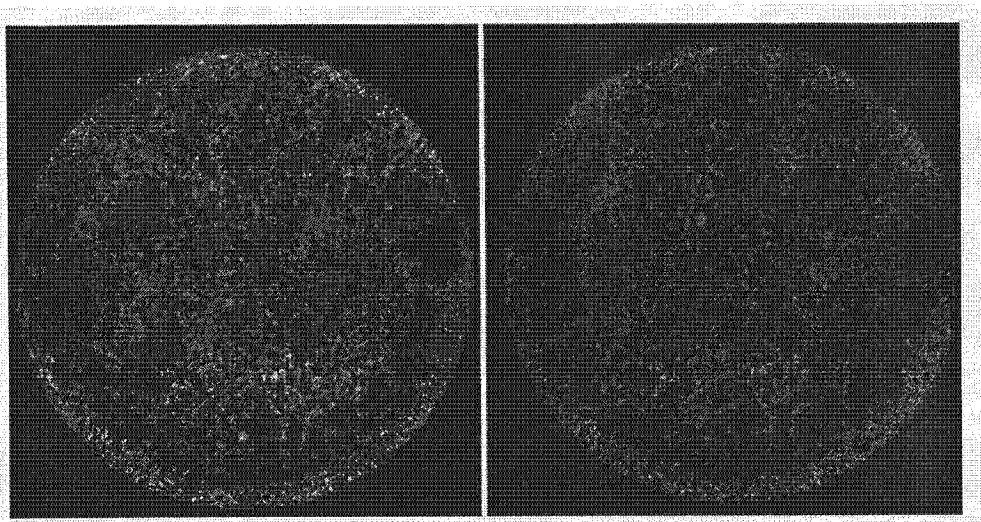


图 2

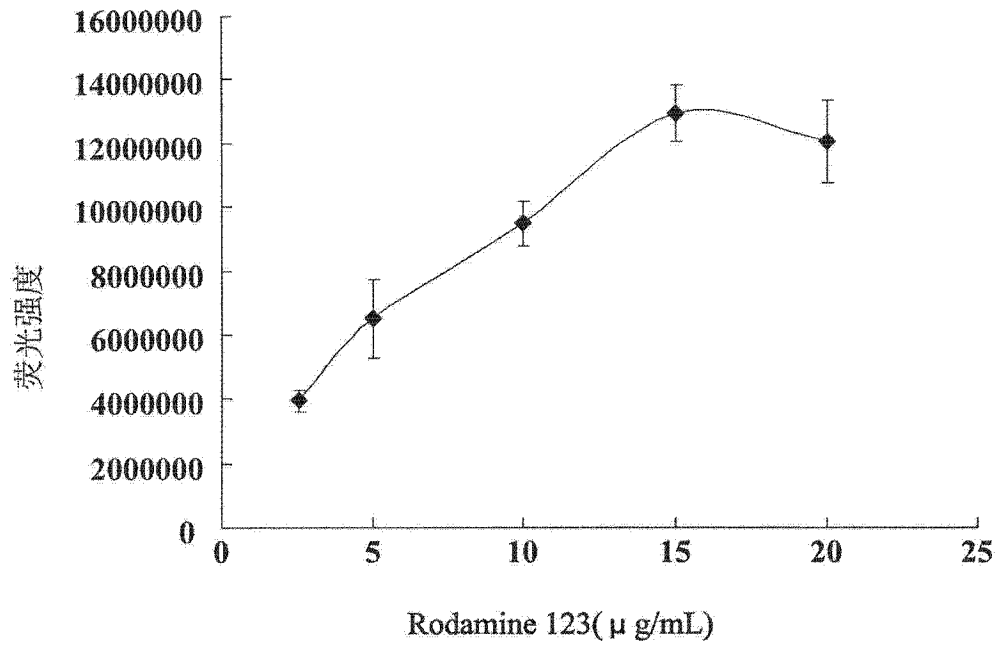


图 3

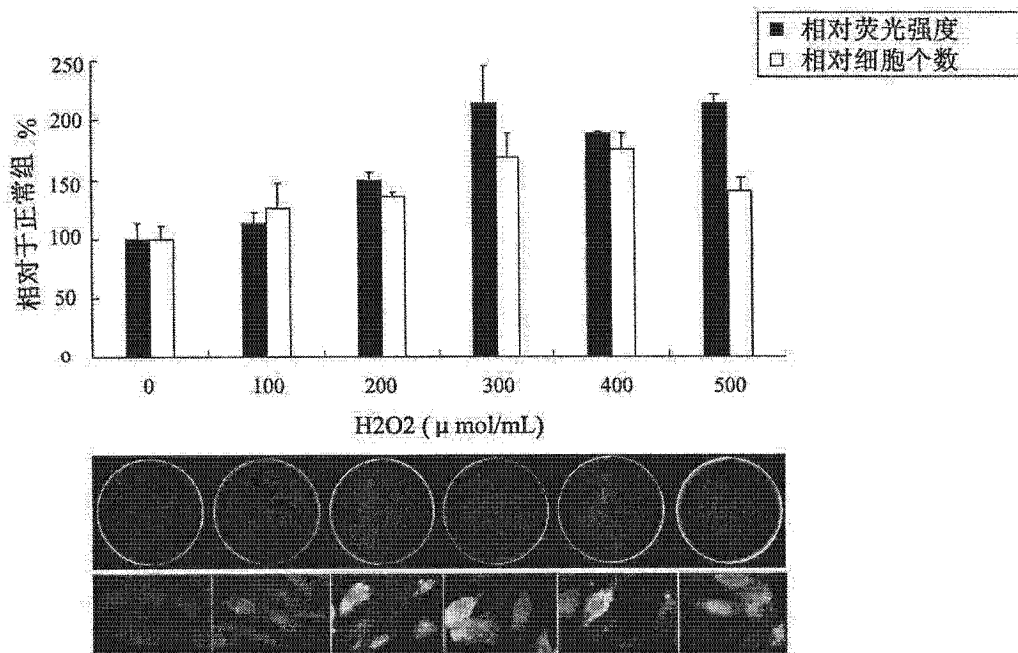


图 4

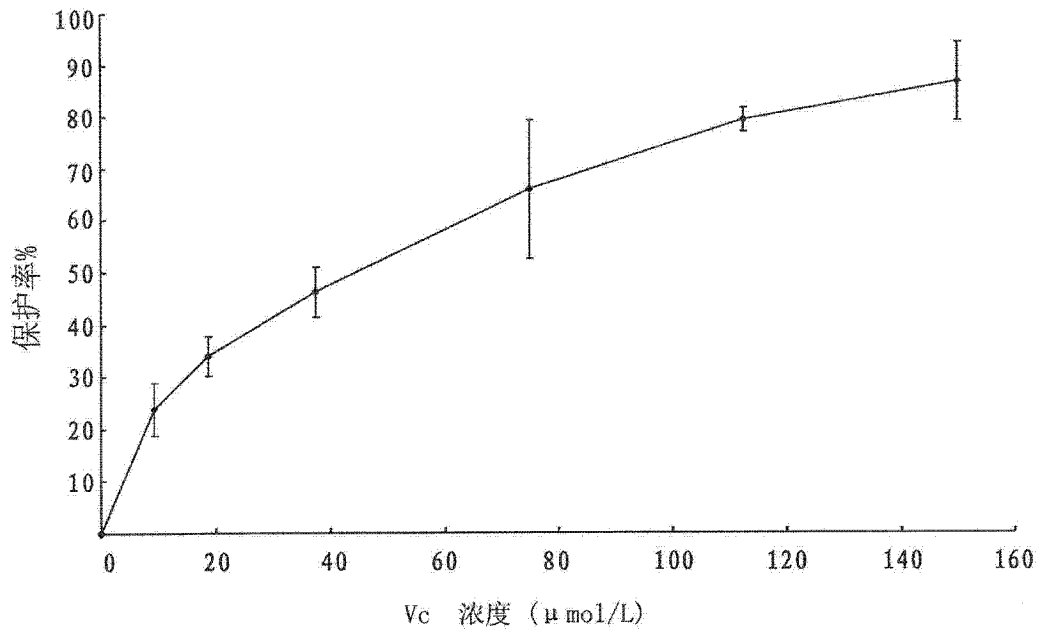
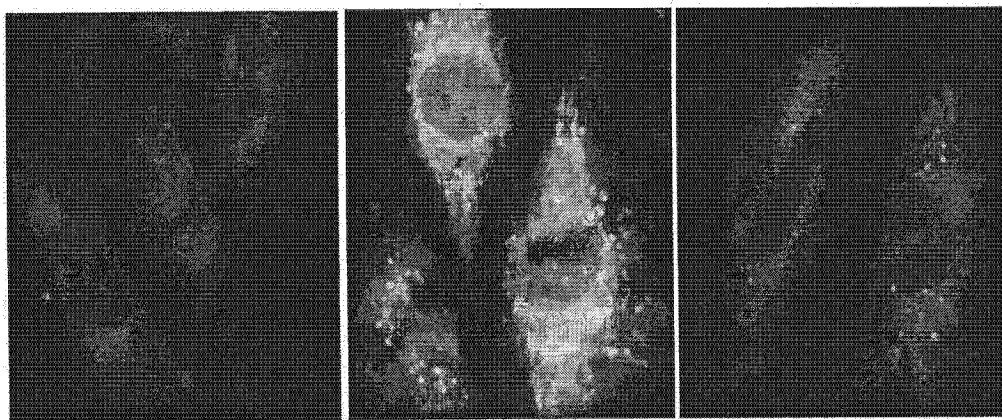


图 5



A 正常组

B 模型组

C Vc阳性组

图 6

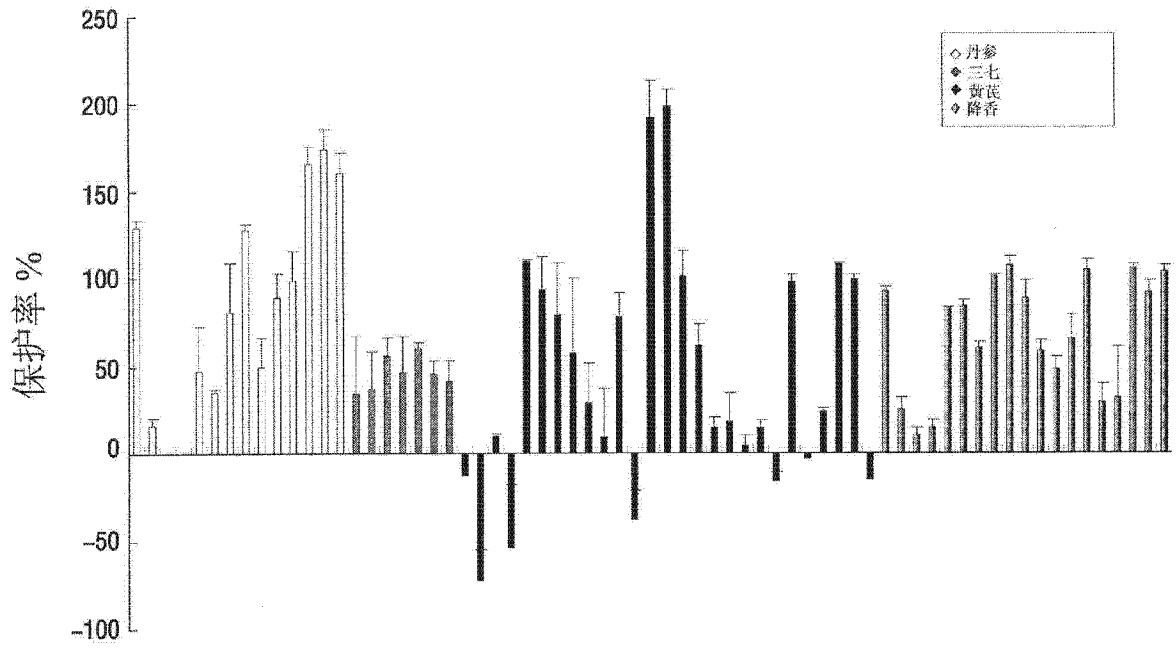


图 7

专利名称(译)	一种基于细胞荧光图像的药物筛选方法		
公开(公告)号	CN101982775A	公开(公告)日	2011-03-02
申请号	CN201010500640.0	申请日	2010-10-09
[标]申请(专利权)人(译)	浙江大学		
申请(专利权)人(译)	浙江大学		
当前申请(专利权)人(译)	浙江大学		
[标]发明人	程翼宇 王毅 赵筱萍		
发明人	程翼宇 王毅 赵筱萍		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/533 G01N21/64 A61K36/258 A61K36/48 A61K36/481 A61K36/537 A61P9/00 C12Q1/02		
其他公开文献	CN101982775B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种基于细胞荧光图像的药物活性组分筛选方法，通过控制荧光倒置显微镜上的高精度可控电动平台精确走位，应用荧光探针特异性标记细胞、细胞显微图像自动获取、荧光图像识别及数据生成，通过分析图像信息来获取心肌细胞保护作用的相关指标筛选和评价活性组分。本发明能够在活细胞内通过标记线粒体荧光强度来测量心肌细胞的活力状态从而对活性物质的保护效果进行评估，并能够对细胞的形态结构和分布进行实时监测，具有快速、经济、高通量的特征，可在定量筛选评价心血管疾病治疗药物中的应用。

$$\text{保护率}\% = \frac{F_m - f}{F_m - F_c} \times 100\%$$