



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111226115 A

(43)申请公布日 2020.06.02

(21)申请号 201880055465.3

埃莉莎·德卢卡

(22)申请日 2018.07.27

皮尔·保罗·皮穆帕

(30)优先权数据

102017000087291 2017.07.28 IT

(74)专利代理机构 深圳中一联合知识产权代理有限公司 44414

代理人 王丽

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.02.26

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IT2018/050142 2018.07.27

G01N 33/68(2006.01)

B01J 23/89(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2019/021336 EN 2019.01.31

B01J 35/02(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

(71)申请人 意大利学院科技基金会

地址 意大利热那亚

(72)发明人 罗伯托·马洛塔

蒂齐亚诺·卡特拉尼

毛罗·莫格利亚内蒂

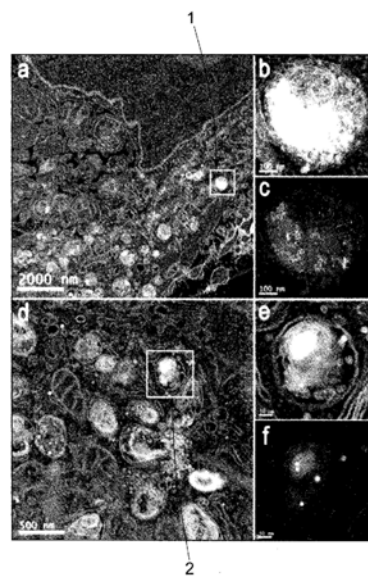
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

生物样品的成像方法和相应的探针

(57)摘要

使用显微镜的生物样品的成像方法,例如荧光光学显微镜、电子显微镜或关联显微镜,其提供了使用成像探针来获得图像,在图像中可能可以识别成像探针和/或与它们相关的分子。本发明还涉及可以功能化的成像探针,所述探针可以用于CLEM实验和免疫细胞化学实验中。



1. 一种使用显微镜对生物样品进行成像的方法,其特征在于,提供在所述生物样品中使用铂纳米颗粒、氧化剂和可氧化底物,以获得定位在所述铂纳米颗粒周围的电子致密的亲铁性沉淀物,所述亲铁性沉淀物通过所述可氧化底物的氧化相获得,所述可氧化底物被所述铂纳米颗粒和所述氧化剂激活。

2. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述可氧化底物包括:选自由3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、3,3'-二氨基联苯胺(DAB)、对苯二胺-邻苯二酚和高香草酸所组成的组中的至少一种化合物。

3. 如权利要求1或2所述的方法,其特征在于,所述氧化剂选自:由过氧化氢、叔丁基过氧化物、叔丁基过氧化氢、过氧乙酸、过氧化苯甲酰、过氧化氢异丙苯、花生四烯酸5-氢过氧化物和十二烷基-2-甲氧基丙烷-2-偶酰过氧化物组成的组。

4. 如权利要求1或2所述的方法,其特征在于,所述氧化剂是过氧化氢。

5. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其特征在于,所述铂纳米颗粒直接或间接地与至少一个能够与所述生物样品中存在的特定物质依次结合的相关分子结合,所述相关分子选自:由抗体、蛋白质、适体、肽、糖、多糖、生物分子和化合物组成的组。

6. 如权利要求5所述的方法,其特征在于,所述方法提供在生物样品中使用金和/或银纳米颗粒,所述金和/或银纳米颗粒与至少一个相关分子直接或间接结合,所述至少一个相关分子不同于与铂纳米颗粒结合的所述相关分子中的至少一个。

7. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其特征在于,所述铂纳米颗粒的尺寸等于或小于100nm。

8. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其特征在于,所述显微镜选自:由荧光光学显微镜、电子显微镜、关联显微镜、离子束显微镜、电磁辐射显微镜及其组合所组成的组。

9. 一种能够使用显微镜在生物样品中检测以实施如前述权利要求中任一项所述的成像方法的成像探针,其特征在于,所述成像探针包含铂纳米颗粒、氧化剂和可氧化底物,所述铂纳米颗粒和所述氧化剂用于激活所述可氧化底物的氧化,以获得位于所述铂纳米颗粒周围的电子致密的亲铁性沉淀。

10. 如权利要求9所述的探针,其特征在于,所述可氧化底物包括选自由3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、3,3'-二氨基联苯胺(DAB)、对苯二胺-邻苯二酚和高香草酸所组成的组中的至少一种化合物。

11. 如权利要求9或10所述的探针,其特征在于,所述氧化剂选自:由过氧化氢、叔丁基过氧化物、叔丁基过氧化氢、过氧乙酸、过氧化苯甲酰、过氧化氢异丙苯、花生四烯酸5-氢过氧化物和十二烷基-2-甲氧基丙烷-2-偶酰过氧化物所组成的组。

12. 如权利要求9或10所述的探针,其特征在于,所述氧化剂是过氧化氢。

13. 如权利要求9至12中任一项所述的探针,其特征在于,所述铂纳米颗粒直接或间接地与至少一个相关分子结合,所述至少一个相关分子能够依次与所述生物样品中存在的特定物质结合,所述相关分子选自:由抗体、蛋白质、适体、肽、糖、多糖、生物分子和化合物所组成的组。

14. 铂纳米颗粒、氧化剂和可氧化底物用于获得位于所述铂纳米颗粒周围的电子致密的亲铁性沉淀物作为权利要求9至13中任一项所述的成像探针,以实施如权利要求1-8中任一项所述的使用显微镜的生物样品的成像方法的用途。

## 生物样品的成像方法和相应的探针

### 技术领域

[0001] 本发明的制剂涉及使用可用于显微镜,特别是荧光光学显微镜、电子显微镜或关联显微镜(CLEM光电关联显微镜),中的成像探针对生物样品进行成像的方法。

[0002] 此处和下文中,成像我们指获取生物样品或其一部分(例如细胞)的图像,其中可以识别成像探针和/或与之相关的分子。

[0003] 本发明还涉及用于通过显微镜对生物样品进行实验的成像探针,例如免疫细胞化学实验或鉴定目标特定分子的实验。

### 背景技术

[0004] CLEM是生物领域的主要显微镜技术之一,因为它通常可以可视化、识别和跟踪生物样品中特定分子在由几十微米到几纳米定义的空间尺度上的运动。

[0005] 该技术结合了荧光光学显微镜(FOM)和透射电子显微镜(TEM)的优势,从而能够高精度地在生物样品中定位目标特定分子。

[0006] 其他电子显微镜技术提供了进行免疫细胞化学实验的机会,在该特定领域中也称为免疫金,在纳米尺度上定位生物样品中的特定抗原。

[0007] 在这些实验中,使用的探针通常由胶体金纳米颗粒与能识别并结合特定抗原的抗体或蛋白质共轭而成。

[0008] 在这种情况下,变得有必要能够使用可用于CLEM并进行免疫细胞化学实验的探针,以使高精度检测特定分子而不会在生物样品中产生假象和/或改变。

[0009] 由量子点或量子棒组成的探针是已知的,或者由与电子致密纳米颗粒(例如,具有约1nm直径的金纳米颗粒,在该特定领域中也称为“纳米金”)共轭的荧光团组成的组合探针。

[0010] 尽管此类探针能够穿透生物样品中可能存在的单个细胞内部,但使用TEM很难检测,需要通过称为银或金增强的吸积通道。

[0011] 这种吸积通道需要在一种或多种还原剂存在下,使用银盐或金盐的溶液,这需要添加非特异性贡献,这使得获得的图像解释有问题。

[0012] 其他CLEM探针利用与之关联的分子荧光,以将联苯胺的衍生物,二氨基联苯胺(DAB)光转换为DAB聚合物,形成TEM清晰可见的亲钼性沉淀。

[0013] 但是,如果要通过电子显微镜进行双重免疫定位,则这些探针需要使用由抗生物素蛋白和生物素化的过氧化物酶组成的复合物,这些复合物通过与第一抗体结合而氧化DAB,使其具有亲钼性,因此对于TEM可见。

[0014] 从能量角度和成本角度来看,这都是昂贵的,因为它需要较长的操作时间。

[0015] 作为光转化的替代,也可以通过与过氧化物酶共轭的探针,特别是辣根过氧化物酶(HRP),来生产DAB亲钼性聚合物。

[0016] 与“纳米金”不同,HRP酶不仅保持其大小不变,而且对pH、温度和压力条件敏感。

[0017] 这意味着HRP酶不能渗透到单个细胞内部,相对于其所在的环境条件,它经常会发

生变性。

[0018] 因此,与HRP酶共轭的探针必须恒定地保持在受控环境中。

[0019] 一些已知的解决方案提供了使用包括掺杂有能够与特定分子偶联的发光离子的晶格的无机纳米颗粒,以允许在生物样品中对其进行检测。

[0020] 例如,文献EP-A-1.801.593提供了使用复杂的无机纳米粒子,例如无机盐、氧化物或半导体的晶格,承载了激活发光的稀土阳离子或过渡金属。

[0021] 由于与生物样品成分的典型尺寸相比尺寸较大,这些已知的晶格可能潜在地干扰与其相关的特定分子以及生物样品本身。

[0022] 此外,这些已知的晶格通常具有高毒性,因此可以显著改变生物样品的行为。

[0023] 一些已知的生物样品成像方法具有许多缺点,这些缺点与所用探针的尺寸、电子密度和毒性密切相关。

[0024] 尺寸在几纳米范围内或电子密度低的探针很难通过TEM进行检测,而较大的探针会显著干扰抗原-蛋白质的活性,从而无法获得没有假象和/或改变的图像。

[0025] 在打算同时检测两种不同蛋白质的情况下,这些问题甚至更为明显,在这种情况下,使用了增大尺寸的探针对或特定的复合物。

[0026] 因此,需要完善和提供一种用于生物样品的成像方法,该方法克服了现有技术中的至少一个缺点。

[0027] 还需要完善并提供可用于获得生物样品图像的成像探针,该成像探针克服了现有技术中的至少一个缺点。

[0028] 本发明旨在提供一种成像方法,该成像方法能够获得图像,其中即使在亚细胞尺度上也可以容易地在生物样品中鉴定出特定分子,而无需进行银或金的增强或使用复合物。

[0029] 本发明的另一个目的是提供一种成像探针,其允许通过CLEM以及通过进行未改变和/或没有假象的免疫细胞化学实验来获得图像。

[0030] 本发明的另一个目的是提供一种成像探针,该成像探针具有低毒性并且在很宽的pH、温度和压力范围内稳定,而不必保持在可控环境中。

[0031] 申请人已经设计、测试和实施了本发明,以克服现有技术的缺点并实现这些以及其他目的和优点。

## 发明内容

[0032] 在独立权利要求中阐述和表征了本发明,而从属权利要求描述了本发明的其他特征或主要发明思想的变型。

[0033] 这里描述的实施例涉及一种使用显微镜对生物样品进行成像的方法,所述显微镜作为优选示例是,例如,荧光光学显微镜、电子显微镜、关联显微镜、离子束显微镜、电磁辐射显微镜及其上述组合。

[0034] 根据本发明的一个方面,该方法提供了在生物样品中使用铂纳米粒子、氧化剂和可氧化底物,该可氧化底物能够在铂纳米粒子周围产生电子致密的亲钼性沉淀。

[0035] 根据本发明,通过氧化由铂纳米颗粒和氧化剂激活的可氧化底物获得亲钼性沉淀。

[0036] 该解决方案允许进行CLEM和免疫细胞化学实验,可能用生物分子和/或能够发射荧光的分子即荧光标记物使铂纳米颗粒功能化。

[0037] 申请人已经发现,铂纳米颗粒具有固有的和高过氧化物酶活性,其在可氧化底物和氧化剂,例如,过氧化氢的存在下,激活可氧化底物的氧化并在铂纳米颗粒的周围产生亲铁性沉淀。

[0038] 亲铁性沉淀具有高电子密度,这使其可以在电子显微镜中放大信号,因此即使在较小放大倍数和宽阔视野下,铂纳米颗粒也清晰可见。

[0039] 申请人已经发现,在电子显微镜中,与铂纳米颗粒有关的信号放大倍数比具有相同尺寸但已知电子致密性更高的金纳米颗粒可获得的信号大约大一个数量级。

[0040] 这极大地简化了电子显微镜图像与相应荧光图像之间的相关性,这是当前在关联显微镜领域中的关键点。

[0041] 由于信号的放大,有可能检测出生物样品中可能存在细胞内部甚至大小约为1nm的铂纳米颗粒,而无需通过银或金增强来进行纳米颗粒的积聚。

[0042] 因此,根据本发明,可以使用电子致密性比金纳米颗粒低的铂纳米颗粒,以便进行生物样品的成像。

[0043] 根据可能的解决方案,可氧化底物包含:选自由3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、3,3'-二氨基联苯胺(DAB)、对苯二胺-邻苯二酚和高香草酸所组成的组中的至少一种化合物。

[0044] 根据可能的实施例,氧化剂选自由过氧化氢、叔丁基过氧化物、叔丁基过氧化氢、过氧乙酸、过氧化苯甲酰、过氧化氢异丙苯、花生四烯酸5-氢过氧化物(arachidonic acid 5-hydroperoxide)和十二烷基2-甲氧基丙烷-2-偶酰过氧化物(dodecyl 2-methoxypropan-2-yl peroxide)组成的组。

[0045] 根据可能的实施例,氧化剂是过氧化氢。

[0046] 取决于所选择的氧化剂,有可能在每种情况下定义与特定需求相关的氧化时间和氧化程度。

[0047] 根据可能的实施例,铂纳米颗粒直接或间接地与至少一个能够与生物样品中存在的特定物质依次结合的相关分子结合,所述相关分子选自:由抗体、蛋白质、适体、肽、糖、多糖、生物分子和化合物组成的组。

[0048] 申请人发现铂纳米颗粒可以用特定的相关分子或荧光染料官能化,而后者不损害铂纳米颗粒的过氧化物酶活性。

[0049] 铂纳米颗粒不仅具有低细胞毒性,而且具有不需要复杂的表面功能化或生物偶联程序的优势。

[0050] 此外,与HRP酶不同,可能被官能化的铂纳米颗粒在很宽的pH、温度和压力范围内都具有很高的稳定性。

[0051] 这允许甚至在环境温度下也保留纳米颗粒,而无需依赖于维持确定环境条件的系统。

[0052] 根据可能的实施例,该方法提供在生物样品中使用金和/或银的纳米颗粒,其与至少一个相关分子直接或间接结合,该至少一个相关分子不同于与铂纳米颗粒结合的至少一个相关分子。

[0053] 分别使用具有和不具有过氧化物酶活性的铂纳米颗粒和金和/或银的纳米颗粒，可以通过前者相对于其他分子产生的不同信号识别与它们相关的两个相关分子，例如两种蛋白质。

[0054] 在本发明的上下文中，在生物样品中同时进行两个相关分子的双重定位的可能性意味着可以使用小的探针，因为大大降低了探针可能干扰目标蛋白质的风险。

[0055] 本发明的制剂还涉及能够通过显微镜，例如作为优选实例，荧光光学显微镜、电子显微镜、关联显微镜、离子束显微镜、电磁辐射显微镜和以上组合在生物样品中检测的成像探针。

[0056] 根据本发明的一方面，该探针包含铂纳米颗粒、氧化剂和可氧化底物。

[0057] 铂纳米颗粒和氧化剂被用于激活可氧化底物的氧化以获得位于铂纳米颗粒周围的电子致密的亲铁性沉淀。

## 附图说明

[0058] 通过以下一些实施例的描述，本发明的这些和其他特征将变得显而易见，这些实施例是作为非限制性示例并参考附图给出的，其中：

[0059] -图1显示了根据本发明成像方法描述的一个可能实施方案获得的两个生物样品的两组放大图像(以字母“a”至“c”标记的正方形表示第一组，以字母“d”至“f”标记的正方形表示第二组)；

[0060] -图2示出了一系列根据本发明成像方法描述的一个可能实施方案获得的生物样品的CLEM放大图像(以字母“a”标记的正方形是FOM图像，以字母“b”至“g”标记的正方形是TEM图像)。

## 具体实施方式

[0061] 这里描述的实施例涉及一种用于对生物样品进行成像以获得至少一部分生物样品图像的方法，其中可以在每种情况下检测目标特定分子。

[0062] 该成像方法提供了在生物样品中使用能够通过显微镜检测的成像探针。

[0063] 根据可能的解决方案，显微镜选自：由荧光光学显微镜、电子显微镜、关联显微镜、离子束显微镜、电磁辐射显微镜及其组合所组成的组。

[0064] 作为非限制性实施例，根据本发明的成像探针既可以用于CLEM，也可以用于进行免疫细胞化学实验或免疫金实验。

[0065] 根据本发明，所述成像方法提供用于生物样品中的成像探针，所述探针由铂纳米颗粒、氧化剂和可氧化底物组成。

[0066] 根据可能的解决方案，可氧化底物可包含一种或多种显色和/或氧化分子。

[0067] 铂纳米颗粒可以固有地发荧光，或与能够发出荧光的分子结合，例如荧光团和/或荧光标记物。

[0068] 铂纳米颗粒的固有荧光与铂纳米颗粒的尺寸有关，因为它们可以通过荧光发射与特定定义尺寸有关的电磁辐射。

[0069] 根据可能的解决方案，铂纳米颗粒具有等于或小于100nm的尺寸。

[0070] 根据可能的解决方案，铂纳米颗粒的尺寸在0.5nm至20nm之间。

- [0071] 根据可能的解决方案,铂纳米颗粒的尺寸在2nm至10nm之间。
- [0072] 这些尺寸范围不仅包括铂纳米颗粒固有荧光的特定尺寸,而且还允许铂纳米颗粒渗透到生物样品中可能存在的细胞中。
- [0073] 如在下文中将清楚的,这在空间分辨率和成本方面是有利的,因为其允许在无需银或金增强的情况下获得亚细胞尺度的图像。
- [0074] 根据本发明,成像探针基于铂纳米颗粒特殊和固有的过氧化物酶活性,特别是具有这种尺寸的铂铂纳米颗粒。
- [0075] 根据可能的变体实施例,铂纳米颗粒可以构成纳米颗粒的纳米簇,即铂纳米颗粒的团聚物。
- [0076] 申请人已经发现,铂纳米颗粒能够使用可氧化底物来催化氧化剂的还原,例如水中的过氧化氢,从而促进了位于铂纳米颗粒周围的亲铁性沉淀的产生。
- [0077] 由于具有高电子密度,这种亲铁性沉淀在电子显微镜下清晰可见。
- [0078] 由于铂纳米颗粒表面过氧化物酶活性诱导的亲铁性沉淀的定位,有可能利用亲铁性沉淀物的电子致密作用将铂纳米颗粒定位在生物样品中。
- [0079] 申请人发现,以摩尔计,铂纳米颗粒的过氧化物酶活性比天然过氧化物酶高得多,并且与后者不同,铂纳米颗粒在宽的pH、温度和压力范围内是极其稳定的。
- [0080] 根据可能的实施例,可氧化底物包含选自以下的至少一种化合物:3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB),3,3'-二氨基联苯胺(DAB),对苯二胺-邻苯二酚和高香草酸。
- [0081] 根据可能的解决方案,底物可以包含其他联苯胺衍生物。
- [0082] 根据可能的实施例,氧化剂选自一组包含:过氧化氢、叔丁基过氧化物、叔丁基过氧化氢、过氧乙酸、过氧化苯甲酰、过氧化氢异丙苯、花生四烯酸5-氢过氧化物和十二烷基2-甲氧基丙烷-2-偶酰过氧化物。
- [0083] 根据可能的优选方案,氧化剂是过氧化氢。
- [0084] 根据可能的实施例,铂纳米颗粒也可以被表面官能化,即它们可以与至少一个相关分子直接或间接结合。
- [0085] 相关分子是指能够依次与生物样品中存在的特定物质结合的分子。
- [0086] 根据可能的解决方案,相关分子选自:由抗体、蛋白质、适体、肽、糖、多糖、生物分子和化合物所组成的组。
- [0087] 所述性质不影响过氧化物酶活性,并允许形成由外部被抗体和/或蛋白质功能化的纳米颗粒组成的复杂系统,该系统可用于使用FOM和/或TEM鉴定,例如,特定抗原。
- [0088] 这使得既可以在CLEM实验中使用成像探针,也可以进行免疫细胞化学实验。
- [0089] 根据本发明的成像探针提供的另一种可能性是监测生物样品内部甚至小于10nm的铂纳米颗粒的动力学,如今,其难以通过电子显微镜技术观察。
- [0090] 申请人已通过实验测试了铂纳米颗粒作为CLEM和免疫细胞化学实验成像探针的实际功效。
- [0091] 为了测试由铂纳米颗粒的过氧化物酶活性产生的电子致密信号的实际放大,申请人存在DAB底物和过氧化氢的情况下,在生物样品内部使用了各种尺寸的铂纳米颗粒。
- [0092] 显然,在不脱离本发明领域的情况下,可以对以上描述的成像方法和成像探针进行部分的修改和/或增加。

[0093] 显然,根据所描述的任一实施例,铂纳米颗粒、氧化剂和可氧化底物用于获得定位在所述铂纳米颗粒周围的电子致密的亲铁性沉淀物作为成像探针,以实现如所描述任一实施例中使用显微镜的生物样品的成像方法的用途被包括在本发明的保护范围内。

[0094] 同样清楚的是,尽管已经参考一些具体示例描述了本发明,但是本领域技术人员将当然实现具有权利要求中所述特征的成像方法和成像探针的许多其他等效形式。因此,所有这些等效形式都属于由此定义的保护范围。

[0095] 现在,我们将根据本说明书描述实现成像方法的一些示例和非限制性实施例。

[0096] 示例1

[0097] 为了测试由细胞内生物样品中铂纳米颗粒的过氧化物酶活性产生的电子致密信号的实际放大,在图1所示的示例中,将含有肿瘤细胞系(HeLa)的生物样品与具有4nm和10nm铂纳米颗粒的成像探针一起培养。

[0098] 在图1正方形中显示的图像。是通过电子显微镜获得的,具体是通过HAADF(高角环形暗场像)扫描TEM(STEM)获得的,其中正方形“b”和“c”是正方形“a”突出显示的区域1的放大,“e”和“f”是正方形“d”突出显示的区域2的放大。

[0099] 如图1所示,申请人已经观察到,对于所使用的铂纳米颗粒的所有尺寸类别,电子致密信号的显著增加,这使得即使在低放大率下也能够识别它们(正方形“a”和“d”)。

[0100] 获得的图1清楚地显示了如何可能已经在低放大率下鉴定出与4nm(正方形“a”)和10nm(正方形“d”)高电子致密性隔室的铂纳米颗粒孵化的细胞的细胞质。

[0101] 这证明了具有氧化剂的铂纳米颗粒在可氧化底物的氧化激活之后被高电子致密区域所包围,该电子致密区域对应于在这种情况下由DAB聚合物组成的亲铁性沉淀的信号。

[0102] 通过作用于电子显微镜的参数,可以优化对比度以突出各个铂纳米颗粒(正方形“c”和“f”)。

[0103] 示例2

[0104] 在图2的示例中,通过CLEM测试成像探针的功效以可视化细胞内转铁蛋白的内体途径。

[0105] 在所示的实例中,铂纳米颗粒与特定的蛋白质,即与荧光转铁蛋白生物共轭,适当地使铂纳米颗粒的表面功能化。

[0106] 特别地,这允许在蛋白质表面上存在的氨基和铂纳米颗粒表面上存在的羧基之间产生酰胺键。

[0107] 参考图2中字母“a”标记的正方形,对于FOM清楚地识别了与荧光转铁蛋白生物共轭的铂纳米颗粒的荧光信号,用黑色表示,用附图标记“T”表示,而线粒体用灰色表示,用附图标记“M”表示。

[0108] 使用上述放大程序,在TEM中确认了用FOM观察到的定位。

[0109] 应该考虑使用TEM放大并可视化区域3,并以正方形“b”显示。

[0110] 正方形“c”是区域4的放大,而正方形“d”和“f”分别是区域5和区域6的两个放大。正方形“e”和“g”分别是区域7和区域8的两个放大部分。

[0111] 实际上,由FOM识别的目标区域的TEM分析表明,即使在低放大率下,也能识别出强烈的电子密集信号(图2中的正方形“b”和“c”)。

[0112] 更高倍放大TEM图像显示在电子致密区域内(箭头所指示的正方形“e”和“g”)存在

单个铂纳米颗粒。

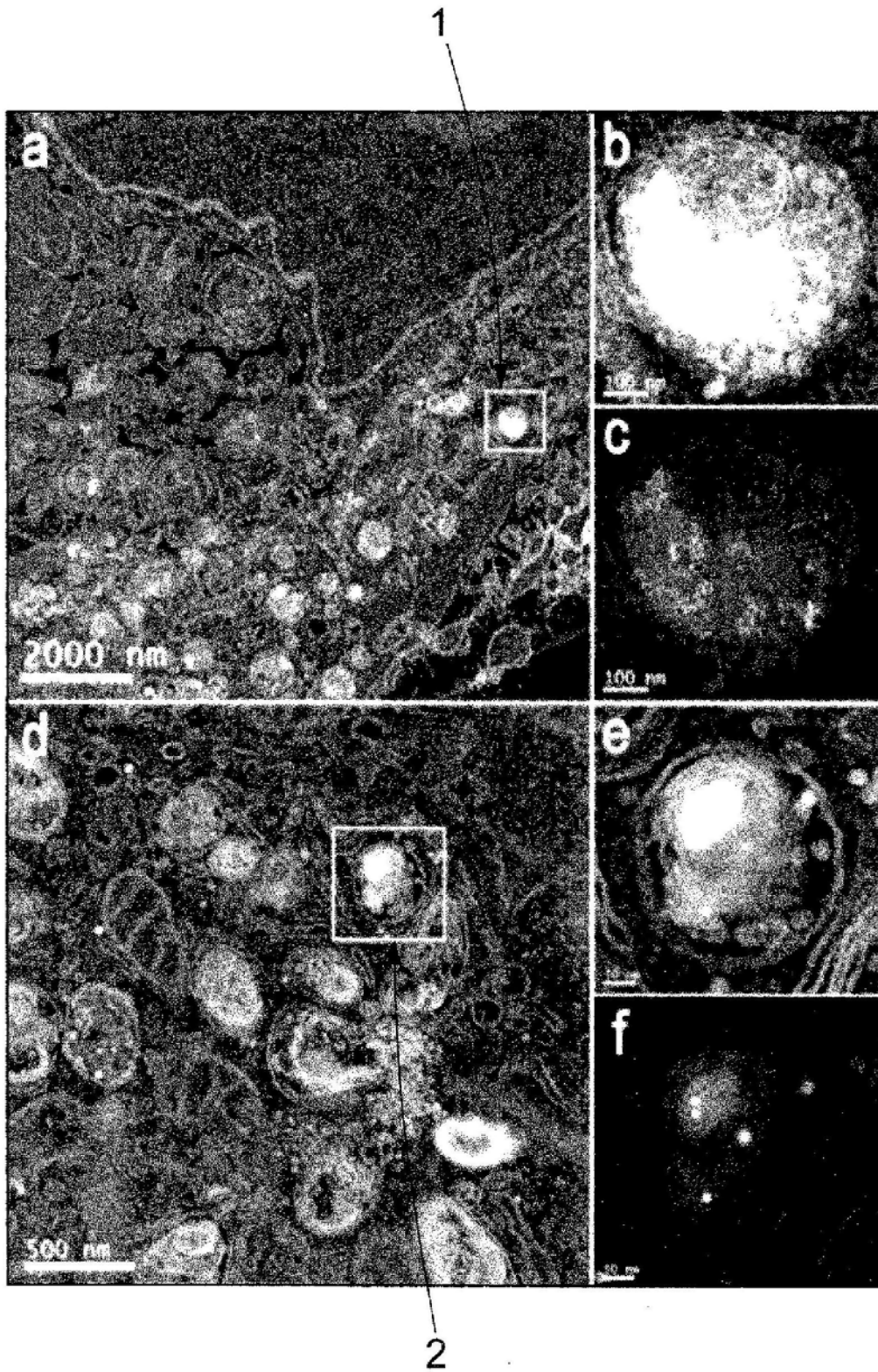


图1

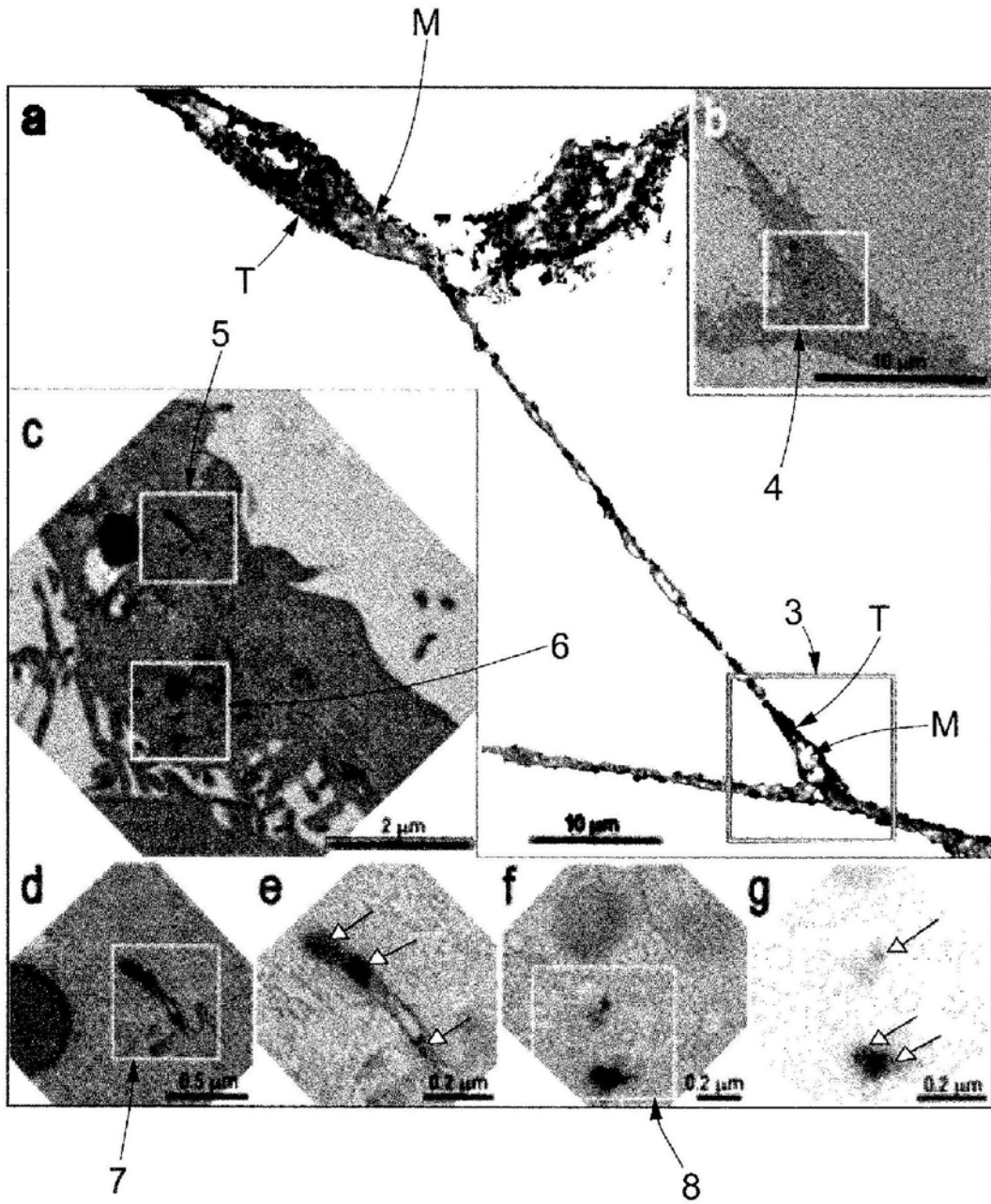


图2

专利名称(译)	生物样品的成像方法和相应的探针		
公开(公告)号	<a href="#">CN111226115A</a>	公开(公告)日	2020-06-02
申请号	CN201880055465.3	申请日	2018-07-27
[标]申请(专利权)人(译)	意大利学院科技基金会		
申请(专利权)人(译)	意大利学院科技基金会		
当前申请(专利权)人(译)	意大利学院科技基金会		
发明人	罗伯托·马洛塔 蒂齐亚诺·卡特拉尼 毛罗·莫格利亚内蒂 埃莉莎·德卢卡 皮尔·保罗·皮穆帕		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/68 B01J23/89 B01J35/02 G01N33/543 G01N33/58		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54346 G01N33/582 G01N33/587 G01N33/68 B82Y35/00 G01N21/6458 G01N21/6486 G01N2223/418		
代理人(译)	王丽		
优先权	102017000087291 2017-07-28 IT		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

使用显微镜的生物样品的成像方法，例如荧光光学显微镜、电子显微镜或关联显微镜，其提供了使用成像探针来获得图像，在图像中可能可以识别成像探针和/或与它们相关的分子。本发明还涉及可以功能化的成像探针，所述探针可以用于CLEM实验和免疫细胞化学实验中。

