



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201215876 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：100129191

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 08 月 16 日

(51)Int. Cl. : **G01N21/25 (2006.01)**

A61B5/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/08/16 美國

61/374,131

2010/12/21 美國

61/425,490

2011/02/11 歐洲專利局

11001148.3

(71)申請人：紐洛普堤克斯公司 (美國) NEUROPTIX CORPORATION (US)

美國

(72)發明人：哈頓 保羅 D HARTUNG, PAUL D. (US)；瓦佛 文森 VALVO, VINCENT (US)；

凱貝吉 查理斯 KERBAGE, CHARLES (FR)；卡勾 葛拉德 D CAGLE, GERALD

D. (US)；尼藍 丹尼斯 J NILAN, DENNIS J. (US)

(74)代理人：閻啟泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：103 項 圖式數：12 共 80 頁

(54)名稱

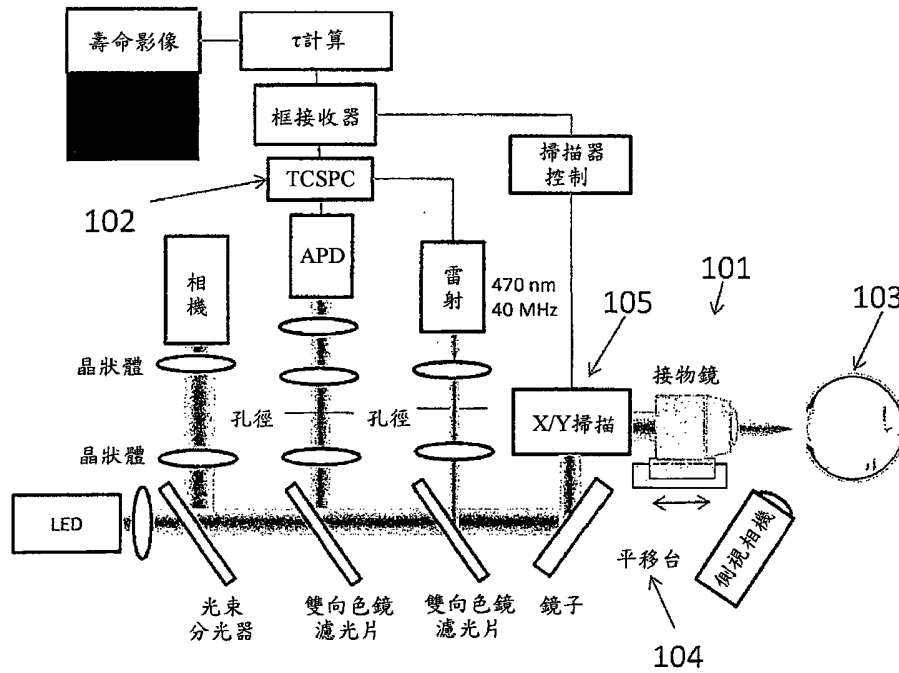
用於檢測類澱粉蛋白之系統及方法

SYSTEM AND METHOD FOR DETECTING AMYLOID PROTEINS

(57)摘要

根據本發明之一具體實例，提供一種用於檢測哺乳動物眼睛中之類澱粉蛋白的裝置及方法。方法包含以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射眼睛，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白；及測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。

光學系統示意圖



101：接物鏡

102：突崩光電二極體
檢測器(APD)

103：樣品(眼睛)

104：平移台

105：電流計鏡



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201215876 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：100129191

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 08 月 16 日

(51)Int. Cl. : **G01N21/25 (2006.01)**

A61B5/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/08/16 美國

61/374,131

2010/12/21 美國

61/425,490

2011/02/11 歐洲專利局

11001148.3

(71)申請人：紐洛普堤克斯公司 (美國) NEUROPTIX CORPORATION (US)

美國

(72)發明人：哈頓 保羅 D HARTUNG, PAUL D. (US)；瓦佛 文森 VALVO, VINCENT (US)；

凱貝吉 查理斯 KERBAGE, CHARLES (FR)；卡勾 葛拉德 D CAGLE, GERALD

D. (US)；尼藍 丹尼斯 J NILAN, DENNIS J. (US)

(74)代理人：閻啟泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：103 項 圖式數：12 共 80 頁

(54)名稱

用於檢測類澱粉蛋白之系統及方法

SYSTEM AND METHOD FOR DETECTING AMYLOID PROTEINS

(57)摘要

根據本發明之一具體實例，提供一種用於檢測哺乳動物眼睛中之類澱粉蛋白的裝置及方法。方法包含以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射眼睛，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白；及測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於用於檢測哺乳動物眼睛中之類澱粉蛋白的裝置及方法。

【先前技術】

一直需要檢測出處於早期進展中的疾病。早期檢測使得能夠進行早期治療，一般已證實早期治療在多種疾病的治療中產生較高成功率。已發現分析人的眼睛，詳言之眼睛之晶狀體可得到多種類型之疾病的指示。舉例而言，研究者已在阿茲海默氏病（Alzheimer's disease, [AD]）受害者眼睛之晶狀體之核上發現 β 類澱粉肽及其聚集體。參看 Goldstein 等人之美國專利第 7,297,326 號。因為核上僅為 1 mm 厚之部分，所以自晶狀體之此區域獲得之量測需要位置精確、資訊詳細及獲取快速。由於人類眼睛甚至在患者凝視所照射之目標時亦幾乎持續運動，所以該量測尤其需要此等特點。

已顯示 β 類澱粉肽及其聚集體於測試哺乳動物眼睛之核上及/或皮質晶狀體區域中的存在或相較於正常對照值之量的增加指示測試哺乳動物罹患神經退化性疾病（諸如致澱粉樣病症）或處於發展該疾病之風險中。

迫切需要允許早期檢測出致澱粉樣病症之系統及方法。

【發明內容】

根據本發明之一具體實例，提供一種用於檢測哺乳動

物眼睛中之類澱粉蛋白，諸如包含聚集體之類澱粉蛋白的方法。在一些具體實例中，類澱粉蛋白之檢測為致澱粉樣病症之指示。該方法包含以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射眼睛，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白；接收包括由照射眼睛產生之螢光的光；及測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。

在其他相關具體實例中，該方法可進一步包含測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光強度。基於強度及時間衰變率中至少一者可測定結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物的量。該方法可進一步包含基於由眼睛之組織發出的天然螢光引起之螢光信號增加測定眼界面（諸如眼睛之晶狀體囊）的位置。可使用光源之照射取樣眼睛之至少一個區域，該取樣包含執行整個區域之量測或使用光源照射取樣區域內之不同位置中之至少一者，取樣不同位置包含照射眼睛內至少一個點、平面及/或體積。取樣可包含在眼睛的一個以上區域上取樣不同位置。舉例而言，可在沿逐深度延伸至眼睛中的垂直軸之連續平面中使用光源執行眼睛之平面掃描。可基於以下測定眼睛之核上位置：(i) 與特定解剖學結構（諸如眼睛之晶

狀體囊界面或角膜界面)之距離或(ii)檢測強度量度之變化(斜率)。辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之存在可包含區別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物與眼睛組織之背景自發螢光以及其他非特定粒子及未結合顯影劑之自發螢光。該方法可包含辨別以下一者以上的存在及量之至少一者：類澱粉結合化合物；結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物；及類澱粉蛋白。類澱粉蛋白可包含聚集體或前類澱粉蛋白聚集體(包括肽 $A\beta_{1-42}$ 及/或 $A\beta_{1-40}$ 之二聚體、三聚體或更高級寡聚物)。舉例而言，類澱粉蛋白可包含 β 類澱粉。致澱粉樣病症可包含阿茲海默氏病。

在其他相關具體實例中，類澱粉結合化合物可包含分子轉子、金黃胺(Chrysamine)及/或金黃胺衍生物、剛果紅(Congo red)及/或剛果紅衍生物類澱粉結合化合物；金黃胺 G 或金黃胺 G 衍生物類澱粉結合化合物；硫代黃素 T 或硫代黃素 T 衍生物類澱粉結合化合物；及硫代黃素 S 或硫代黃素 S 衍生物類澱粉結合化合物。該方法可包含至少僅基於螢光檢測辨別類澱粉蛋白之存在。該方法可進一步包含測定特定眼睛區域中具有比衰變率之平均光子數。可基於檢測之螢光測定類澱粉結合化合物至眼睛中之傳遞速率、傳遞至眼睛中的類澱粉結合化合物之空間分佈、及/或眼睛角膜界面處之類澱粉結合化合物之濃度梯度。此外，可基於檢測之螢光測定類澱粉結合化合物之空間分佈及/或類澱粉結合化合物於眼房液中之時間分佈。

該方法可進一步包含基於眼睛之解剖學結構或子結構

之至少一部分的天然螢光激發測定解剖學結構或子結構的至少一個尺寸。測定該至少一個尺寸可包含以下至少一者：測定結構或子結構之厚度、測定結構或子結構之形狀及測定眼睛之一或多個結構或子結構之間的距離。舉例而言，測定該至少一個尺寸可包括測定角膜厚度、角膜形狀、眼房液深度、晶狀體形狀或晶狀體厚度，或測定眼睛之晶狀體或其他結構或子結構內的內部量度，諸如晶狀體表面與皮質或核或核上之距離。該方法可進一步包含使用光檢測器裝置檢測由眼睛產生之螢光，光檢測器裝置係諸如光電二極體、光電倍增器、電荷耦合裝置(CCD)及增強電荷耦合裝置(ICCD)中之至少一者；例如快速突崩光電二極體檢測器。該方法可包含執行由眼睛產生之螢光的時間相關單光子計數。時間相關單光子計數可包含使光源呈脈衝形式及基於隨時間通道單元變化之光子計數分佈測定螢光之時間衰變率。

在其他相關具體實例中，該方法可包含在眼睛內掃描以測定激發之天然螢光且從而測定眼睛中至少一個所關注區域；及使用光源照射取樣眼睛的至少一個所關注區域，該取樣包含執行至少一個區域的至少一個完整區域的量測或使用光源照射取樣至少一個區域內的不同位置中之至少一者，取樣不同位置包含照射至少一個區域內的點、平面或體積中之至少一者；其中該取樣係為了測定至少由至少一個取樣區域內結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光強度及螢光之時間衰變率。舉例而言，該

方法可包含向眼睛逐深度執行軸向掃描（ z 掃描）以測定沿軸向掃描之各點的激發之天然螢光，且從而測定眼睛的至少一個所關注位置；及在與軸向掃描之方向垂直的連續平面中使用光源執行眼睛之平面掃描以測定至少由各平面掃描之各點處結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光強度及螢光之時間衰變率。該方法使得能夠即時搜尋到眼睛中指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白。

在其他相關具體實例中，該方法可進一步包含以具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光激發光譜之峰區域之適當波長的光照射眼睛；及檢測眼睛接收的具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光發射光譜之峰區域之適當波長的光。類澱粉結合化合物可為第 11 號化合物。激發光譜可具有約 470 nm 之峰，眼睛之照射在激發光譜之峰加或減約 20 nm 內之波長處，且發射光譜可具有約 580 nm 之峰，且檢測眼睛接收之光在發射光譜之峰加或減約 20 nm 內的波長處。

在本發明之另一具體實例中，提供一種用於檢測哺乳動物眼睛中之類澱粉蛋白的裝置。該裝置包含光源，其經組態以發出照射眼睛且具有光波長、光偏振或其組合中至少一者之光，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，類澱粉結合化合物已引入眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白；及光學單元，其經組態以接收包括由照射眼睛產生之螢光的光且測定至少由結合於類

澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。

在其他相關具體實例中，該光學單元可經組態以測定以下至少一者之時間衰變率：分子轉子類澱粉結合化合物；剛果紅或剛果紅衍生物類澱粉結合化合物；金黃胺類澱粉結合化合物；金黃胺衍生物類澱粉結合化合物；金黃胺 G 或金黃胺 G 衍生物類澱粉結合化合物；硫代黃素 T 或硫代黃素 T 衍生物類澱粉結合化合物；及硫代黃素 S 或硫代黃素 S 衍生物類澱粉結合化合物。該光學單元可測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光強度。該光學單元可經組態以基於強度及時間衰變率之至少一者測定結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物的量。該光學單元可經組態以測定特定眼睛區域中具有比衰變率之平均光子數。光源可包含脈衝雷射。該裝置可進一步包含經組態以掃描眼睛中各位置上來自光源之光的光學掃描單元。該光學掃描單元可包含安置於平移台上之接物鏡及包含電流計鏡之掃描器。該光學掃描單元可經排列以使用光源照射取樣眼睛中之至少一個區域，該取樣包含執行至少一個區域之至少一個完整區域的量測或使用光源照射取樣至少一個區域內之不同位置中之至少一者，該取樣不同位置包含照射該至少一個區域中的點、平面或體積中之至少一者。該光學掃描單元可經排列以取樣眼睛一個以上區域中的不同位置。在一實例中，該光學掃描單元可經

排列以在沿逐深度延伸至眼睛中的垂直軸之連續平面中使用光源執行眼睛的平面掃描。該裝置可進一步包含用於檢測由眼睛發出之螢光的光檢測器單元，諸如光電二極體、光電倍增器、電荷耦合裝置（CCD）及增強電荷耦合裝置（ICCD）中之至少一者；例如突崩光檢測器。

在其他相關具體實例中，該裝置可進一步包含時間相關單光子計數模組，其接收來自光檢測器單元的指示來自眼睛之螢光的光子計數之電信號。該裝置可包含至少一個處理器模組，其經組態以基於隨時間通道單元變化之光子計數分佈測定螢光之時間衰變率。該光學單元可經組態以辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物與眼睛組織的背景自發螢光以及其他非特定粒子及未結合類澱粉結合化合物之自發螢光。該光學單元可經組態以辨別以下一者以上之存在及量中之至少一者：類澱粉結合化合物；結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物；及類澱粉蛋白。類澱粉蛋白可包含聚集體或前類澱粉蛋白聚集體。舉例而言，類澱粉蛋白可包含 β 類澱粉。致澱粉樣病症可包含阿茲海默氏病。

在其他相關具體實例中，該光學單元可經組態以至少僅基於螢光檢測辨別類澱粉蛋白之存在。該光學單元可經組態以基於檢測之螢光測定類澱粉結合化合物至眼睛中之傳遞速率、傳遞至眼睛中的類澱粉結合化合物之空間分佈、及/或眼睛角膜界面處之類澱粉結合化合物之濃度梯度。該光學單元可經組態以基於檢測之螢光測定類澱粉結

合化合物於眼房液中的空間分佈及時間分佈之至少一者。該光學單元可經組態以基於由眼睛之組織發出的天然螢光引起的螢光信號增強測定眼界面（諸如眼睛之晶狀體囊）的位置。該光學單元可經組態以基於以下測定眼睛之核上位置：(i) 與特定解剖學結構（諸如眼睛之晶狀體囊界面或角膜界面）之距離或 (ii) 檢測強度量度之變化（斜率）。該光學單元可經組態以基於解剖學結構或子結構之至少一部分的天然螢光激發測定眼睛解剖學結構或子結構之至少一個尺寸，其中測定該至少一個尺寸可包含以下至少一者：測定結構或子結構厚度、測定結構或子結構形狀及測定眼睛之一或多個結構或子結構之間的距離。

在其他相關具體實例中，該光學單元可經組態以在眼睛內掃描來測定激發之天然螢光且從而測定眼睛中至少一個所關注區域；及使用光源照射取樣眼睛之至少一個所關注區域，該取樣包含執行至少一個區域之至少一個完整區域的量測或使用光源照射取樣至少一個區域內的不同位置中之至少一者，取樣不同位置包含照射至少一個區域中的點、平面或體積中之至少一者；其中該取樣係為了測定至少由至少一個取樣區域內結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光強度及螢光之時間衰變率。舉例而言，該光學單元可經組態以測定沿逐深度進入眼睛之軸向掃描（z 掃描）之各點的激發天然螢光，且從而測定眼睛之至少一個所關注位置；且在與 z 掃描之方向垂直的連續平面中使用光源測定至少由眼睛之一組平面掃描（xy 掃描）

之每一者的各點處結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光強度及螢光之時間衰變率。該裝置可經組態以使得能夠即時搜尋到眼睛中指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白。

在其他相關具體實例中，該光源可經組態以發出具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光激發光譜之峰區域的適當波長之光，且該光學單元可經組態以檢測具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光發射光譜之峰區域的適當波長之光。類澱粉結合化合物可為第 11 號化合物。激發光譜可具有約 470 nm 之峰，光源經組態以發出在激發光譜之峰加或減約 20 nm 內之光，且發射光譜可具有約 580 nm 之峰，且光學單元經組態以檢測在發射光譜之峰加或減約 20 nm 內之光。類澱粉蛋白可為致澱粉樣病症之指示。

在本發明之另一具體實例中，提供一種在哺乳動物中診斷致澱粉樣病症或對其之易感性的方法，哺乳動物為例如靈長類動物（諸如人類）、犬、貓、綿羊、牛及其類似動物。該方法包含以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射哺乳動物眼睛，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，類澱粉結合化合物已引入眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白；接收包括由照射眼睛產生之螢光的光；及測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢

光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。眼睛中類澱粉結合化合物與類澱粉蛋白之結合相較於正常對照結合程度之增加指示在哺乳動物中診斷出致澱粉樣病症或具有發展致澱粉樣病症之風險。致澱粉樣病症可為阿茲海默氏病。

在本發明之另一具體實例中，提供一種用於識別哺乳動物眼睛中之解剖學結構的方法。該方法包含以具有波長特性、偏振特性或其組合中至少一者之光源照射眼睛，該等特性各適於在眼睛之解剖學結構中產生天然螢光；及測定眼睛中由光源照射產生之天然螢光的強度變化最大之位置，該測定允許基於天然螢光之強度變化最大的位置識別解剖學結構。在一特定具體實例中，在該方法中使用根據本發明之一具體實例的本文所述裝置。

在其他相關具體實例中，解剖學結構可包含眼睛前段之解剖學結構。識別解剖學結構可包含基於測定天然螢光強度增加最大之位置來測定解剖界面之位置，諸如測定眼睛之晶狀體囊界面的位置。識別解剖學結構可包含基於光源在眼睛中產生之天然螢光測定以下至少一者：眼睛之角膜厚度、角膜形狀、眼房液深度、晶狀體形狀、晶狀體厚度及晶狀體子結構（例如晶狀體囊、皮質、核上、核）之厚度及/或形狀；且可包含測定眼睛之至少兩種解剖學結構之間的眼內距離。該方法可進一步包含使用光源檢測哺乳動物眼睛中指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白。該方法可包

含以光源照射哺乳動物眼睛，該光源進一步包含波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，類澱粉結合化合物已引入眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白；接收包括由照射眼睛產生之螢光的光；及測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之存在可包含區別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物與眼睛組織之背景自發螢光以及其他非特定粒子及未結合類澱粉結合化合物之自發螢光。該方法使得能夠即時搜尋到眼睛中指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白。該方法可進一步包含以具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光激發光譜之峰區域的適當波長之光照射眼睛；及檢測眼睛接收的具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光發射光譜之峰區域之適當波長的光。類澱粉結合化合物可為第 11 號化合物。激發光譜可具有約 470 nm 之峰，眼睛之照射在激發光譜之峰加或減約 20 nm 內之波長處，且發射光譜可具有約 580 nm 之峰，檢測眼睛接收之光在發射光譜之峰加或減約 20 nm 內之波長處。

在其他相關具體實例中，一種方法可允許至少基於時間衰變率區別眼睛中具有類似螢光光譜之至少兩個不同螢

光團，該類似螢光光譜包含發射光譜及激發光譜中之顯著重疊中之至少一者。一種方法可進一步包含以兩個尺寸表現至少一個螢光團之螢光強度及壽命衰變中之至少一者的分佈。此外，一種方法可包含基於至少一個螢光團之螢光強度及壽命衰變中之至少一者測定眼睛中結合之光子數及未結合之光子數。一種方法可包含以兩個尺寸表現與蛋白質結合之類澱粉結合化合物及未與蛋白質結合之類澱粉結合化合物的螢光強度及壽命衰變之分佈。以兩個尺寸之表現可與掃描器及雷射中之至少一者同步。該方法可進一步包含藉由在眼睛之特定區域上對與比壽命衰變關聯之螢光強度取平均值來測定參數。此外，該方法可進一步包含沿共焦路徑使對準光源與眼睛對準以測定眼睛中之參考點。

在本發明之另一具體實例中，提供一種用於測定眼組織中蛋白質上結合的螢光團之方法。該方法包含以具有波長特性、偏振特性或其組合中至少一者之光源照射眼組織，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於蛋白質時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入眼組織中且特異性結合於蛋白質；接收包括由照射眼睛產生之螢光的光；及測定至少由結合於蛋白質之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於蛋白質之類澱粉結合化合物於眼組織中之存在。

如隨附圖式中所說明，前述內容將自本發明之具體實例之以下更特定描述而顯而易知，圖式中相同參考數字係

指不同視圖中的相同部件。圖式不必按比例縮放，而是著重說明本發明之具體實例。

【實施方式】

本發明之具體實例如下描述。

根據本發明之一具體實例，提供一種用於非侵襲性、早期並可靠檢測類澱粉蛋白之系統及方法，該類澱粉蛋白會形成或已形成聚集體。在一些具體實例中，類澱粉蛋白及/或聚集體之檢測為致澱粉樣病症之指示。致澱粉樣病症包括 AD、家族性 AD、偶發性 AD、克-亞二氏症 (Creutzfeld-Jakob disease)、變異性克-亞二氏症、海綿狀腦病、朊病毒疾病 (包括綿羊癢病、牛海綿狀腦病及其他獸醫學朊病毒病 (prionopathy))、帕金森氏病 (Parkinson's disease)、亨廷頓氏病 (Huntington's disease) (及三核苷酸重複序列疾病)、肌萎縮性側索硬化、唐氏症候群 (Down's Syndrome) (第 21 對染色體三體症 (Trisomy 21))、匹克氏病 (Pick's Disease) (額顳葉型癡呆)、路易體疾病 (Lewy Body Disease)、伴隨腦鐵積聚之神經退化 (髓素異常表像 (Hallervorden-Spatz Disease))、共核蛋白病 (包括帕金森氏病、多系統萎縮症、路易體癡呆及其他疾病)、神經元核內包涵體疾病、tau 蛋白病 (tauopathy) (包括進行性核上麻痺、匹克氏病、皮質基底核退化症、遺傳性額顳葉型癡呆 (伴隨或不伴隨帕金森氏症)、發病前神經退化性狀態及關島型肌萎縮性側索硬化 (Guam amyotrophic lateral sclerosis)/帕金森氏症-癡呆複合症)。此等病症可單獨或以

多種組合形式出現。類澱粉蛋白分析亦適用於檢測傳染性海綿狀腦病 (TSE)，其為特徵在於腦部致命性海綿狀神經退化之朊病毒介導之疾病且與嚴重及致命性神經病徵及症狀有關。TSE 朊病毒病包括克-亞二氏症 (CJD)；新變異性克-亞二氏症 (nv-CJD)；傑茨曼－斯脫司勒－史茵克症候群 (Gertsman-Straussler-Scheinker syndrome)；致命性家族性不眠症；庫路病 (Kuru)；阿爾帕症候群 (Alpers Syndrome)；牛海綿狀腦病 (BSE)；瘙癢病 (scrapie)；及慢性消耗病 (chronic wasting disease, CWD)。

可對哺乳動物之眼組織施行診斷法，哺乳動物為例如靈長類動物（諸如人類）、犬、貓、綿羊、牛及其類似動物。待測試之個體（例如人類個體）包括疑似罹患該等病症之個體（患者）或處於發展該等病症之風險中的個體。舉例而言，使用本文所述之技術測試具有 AD 家族史或其他風險因素（諸如高齡）之個體。亦測試並未已知罹患或處於發展該等病症風險中之個體。

診斷方法藉由使哺乳動物（例如人類個體）之眼組織與結合於類澱粉蛋白（例如 β 類澱粉 ($A\beta$)）之螢光團化合物接觸來進行。「類澱粉蛋白 (amyloid protein)」意謂與 AD 神經炎癡呆斑塊有關之蛋白質或肽，而不管類澱粉蛋白是否聚集（完全或部分）。類澱粉蛋白較佳為類澱粉前驅蛋白 (APP) 或 APP 之（例如天然存在之）蛋白水解裂解產物，諸如 $A\beta$ 。APP 裂解產物包括 $A\beta$ 1-40、 $A\beta$ 2-40、 $A\beta$ 1-42 以及氧化或交聯之 $A\beta$ 。螢光團化合物亦可結合於天然存在

的 APP 及 A β 之變異體，包括單核苷酸多晶型 (SNP) 變異體。螢光團化合物可 (但非必需) 結合於 β 類澱粉聚集體。結合於 β 類澱粉聚集體之螢光團的論述可見於 Goldstein 等人，「Cytosolic β -amyloid deposition and supranuclear cataracts in lenses from people with Alzheimer's disease,」Lancet 2003; 361: 1258-65 中，其全部揭示內容以引用方式併入本文中。

已發現含有 A β 之聚集體 (AD 中積聚之致病蛋白) 在阿茲海默氏病患者之晶狀體以及大腦中形成核上/深層皮質白內障。以晶狀體皮質纖維細胞之細胞溶質內的胞內聚集體形式收集 A β 沈積物。已顯示晶狀體 A β 以與正常成人腦中相同之含量以可溶性表觀單體及二聚物質形式存在於成人晶狀體內。晶狀體 A β 之實質部分與其他晶狀體蛋白結合，包括充足的晶狀體結構蛋白 α B 晶狀體球蛋白。A β 及 α B 晶狀體球蛋白展現試管內奈莫耳分子間結合親和力且自甲酸處理之人類晶狀體組織勻漿共免疫沈澱，表明蛋白質-蛋白質之間的強締合。人類 A β 1-42 隨 β 片含量增加促進晶狀體蛋白質聚集。藉由金屬螯合或活性氧物質清除劑阻斷 A β 增強之晶狀體蛋白質聚集，由此表明金屬蛋白氧化還原反應牽涉於 AD 中之此晶狀體蛋白質聚集過程及核上白內障形成中。

資料顯示 A β 與晶狀體蛋白質之間發生病理學相互作用。此外，晶狀體中此等 A β 介導之反應表明致澱粉樣 A β 物質，尤其主要牽涉於 AD 病理生理學中之人類 A β 1-42 物

質，為促使晶狀體蛋白質聚集及核上/皮質白內障形成之有效促氧化性肽。關於蛋白質聚集及白內障形成的其他資訊可見於 Goldstein 等人之美國專利第 7,107,092 號中，其全部教示以引用方式併入本文中。

根據本發明之一具體實例，螢光團化合物與眼組織（例如晶狀體細胞之胞內區室）之結合相較於正常對照結合程度之增加表明哺乳動物罹患 AD 或處於發展 AD 之風險中。如本文所用，「螢光團（fluorophore）」或「螢光團化合物（fluorophore compound）」為以特定波長及/或偏振特性之光照射時具有所要螢光特徵之任何物質。較佳地，在本文所述之技術中，螢光團為「類澱粉結合化合物（amyloid-binding compound）」，其如本文所用意謂結合於類澱粉蛋白之化合物，其中「類澱粉蛋白（amyloid protein）」如上文所定義。該螢光團可為當暴露於特定波長及/或偏振特性之光時天然發螢光的類澱粉結合化合物。另外或其他，螢光團可為包括螢光標籤部分與類澱粉結合化合物部分之組合的化合物，其中類澱粉結合化合物部分在螢光標籤不存在下一般將不展現所要螢光特徵。在一具體實例中，螢光團具有以下特性：在使用螢光團的任何介質中展現良好溶解性；穿透眼角膜；及結合於類澱粉蛋白。螢光團當結合於類澱粉時及未結合時可具有不同螢光特徵。舉例而言，當螢光團結合於類澱粉時螢光團之螢光的光譜強度及時間衰變率相較於未結合時可發生變化。第 11 號化合物（下文結合圖 5 進一步論述）為當化合物結合於類澱粉時時間衰變率相較

於未結合時發生變化的螢光團。螢光團（尤其第 11 號化合物）之該等特性的進一步論述可見於 J. Sutharsan 等人，「Rational Design of Amyloid Binding Agents Based on the Molecular Rotor Motif」，ChemMedChem 2010, 5, 56-60 中，其全部揭示內容以引用方式併入本文中。較佳地，螢光團化合物結合於 A β 1-42 或類澱粉前驅蛋白（APP）之另一片段。相較於含有其他 β 褶疊片之蛋白質，螢光團化合物可優先結合於類澱粉蛋白。如上文所述，螢光團化合物可含有螢光探針或可用作未添加螢光探針之螢光團。舉例而言，螢光探針或螢光團可為金黃胺或金黃胺衍生物化合物，諸如 {(反,反), -1-溴 -2,5-雙 -(3-羥基羰基 -4-羥基) 桂皮基苯 (BSB)}。在一特定具體實例中，螢光團可為第 11 號化合物（下文結合圖 5 進一步論述），其為根據分子轉子基元設計之螢光化合物。根據本發明之一具體實例，類澱粉結合化合物可為分子轉子、金黃胺及/或金黃胺衍生物。例示性螢光團論述於美國專利第 6,849,249 號（以全文引用的方式併入本文中）中，且包括金黃胺或金黃胺衍生物化合物，諸如 {(反,反), -1-溴 -2,5-雙 -(3-羥基羰基 -4-羥基) 桂皮基苯 (BSB)}。此項技術中已知金黃胺 G 及其衍生物（例如美國專利第 6,133,259 號；第 6,168,776 號；第 6,114,175 號）。此等化合物結合於 A β 肽，但並非螢光性的。診斷方法可利用螢光類澱粉結合金黃胺 G 衍生物來檢測眼睛中之 A β 肽。亦可使用生物可用之螢光探針。該等螢光團及探針市場有售，例如可購自 Molecular Probes 公司，Eugene, OR, U.S.A.。

一些染料（例如 X-34 或 {(反,反),-1-溴-2,5-雙-(3-羥基羰基-4-羥基)桂皮基苯（BSB）}）（Styren 等人，2000, J. Histochem. 48:1223-1232 ;Link 等人，2001, Neurobiol. Aging 22:217-226；及 Skrovonsksy 等人，2000, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97:7609-7614）已用於分析腦組織（並非眼睛組織）。此等探針發射藍色-綠色範圍內之光，因此診斷相關之螢光含量超過藍色-綠色範圍中人類晶狀體自發螢光之量。其他適用化合物包括可檢測之甲氧基試劑，諸如 Me-X04（1,4-雙(4'-羥基桂皮基)-2-甲氧基苯）。其他甲氧基試劑包括例如金黃胺或金黃胺衍生物化合物，諸如 {(反,反),-1-溴-2,5-雙-(3-羥基羰基-4-羥基)桂皮基苯（BSB）}。該等化合物描述於 Mathis 等人，Curr. Pharm. Des., 第 10(13) 卷:1469-93 (2004)；美國專利第 6,417,178 號；第 6,168,776 號；第 6,133,259 號及第 6,114,175 號中，其各自以全文引用的方式併入本文中。亦可使用其他類澱粉結合探針，諸如硫代黃素 T、硫代黃素 S、剛果紅染料、前述之衍生物、或其他衍生物。關於可檢測標記之化合物的其他資訊可見於 Goldstein 等人之美國專利第 7,297,326 號中，其全部教示以引用的方式併入本文中。此外，關於前述之其他資訊可見於美國專利申請公開案第 2008/0088795 號、美國專利申請公開案第 2009/0041666 號及美國專利第 7,107,092 號中，該等申請案及專利的全部教示以引用方式併入本文中。在一特定具體實例中，螢光團可為第 11 號化合物（下文結合圖 5 進一步論述）。

關於相關方法、致澱粉樣病症、類澱粉蛋白及螢光團化合物之其他資訊可見於 Goldstein 等人之美國專利第 7,297,326 號、Goldstein 等人之美國專利第 7,107,092 號及 Goldstein 等人之美國專利第 6,849,249 號中，所有該等專利之全部教示以引用方式併入本文中。此外，關於前述之其他資訊可見於美國專利申請公開案第 2008/0088795 號、美國專利申請公開案第 2009/0041666 號中，該等申請案之全部教示以引用方式併入本文中。

本文提供之方法可進一步包含在向適合對照組投予螢光團後比較測試患者晶狀體螢光。適合對照組之實例包括螢光團投予後非 AD 個體（或個體群體）之內源性自發螢光或非 AD 個體（或非 AD 個體群體）之螢光含量。

根據本發明之一具體實例，基於本文揭示之技術發現的眼睛中存在的類澱粉蛋白之量可與指示表示疾病病況或發展疾病病況之風險的類澱粉蛋白之量的統計學分析比較。不期望受理論約束，咸信健康成人典型地在眼睛晶狀體之核上區中具有至少一些最少含量之類澱粉蛋白。本文揭示之技術因此可用於測定個體眼睛中是否具有一定量之類澱粉蛋白，該量為高於眼睛中正常對照類澱粉蛋白含量的統計學顯著含量。患有阿茲海默氏病之個體眼睛中類澱粉蛋白沈積之研究可見於 Goldstein 等人，「Cytosolic β -amyloid deposition and supranuclear cataracts in lenses from people with Alzheimer's disease,」 *Lancet* 2003; 361: 1258-65 中，其全部揭示內容以引用方式併入本文中。

如下文結合實驗 1 進一步論述，已在本發明之一具體實例中顯示，與未結合之類澱粉結合化合物相比，當結合於類澱粉蛋白時能夠在類澱粉結合化合物之間辨別。詳言之，實驗 1 中之結果已發現本文之未結合螢光類澱粉結合化合物（第 11 號化合物）的時間衰變率為例如 1.4 奈秒；及本文之類澱粉結合化合物結合於類澱粉蛋白（聚集之 β 類澱粉（ $A\beta$ ）肽）時的時間衰變率為例如 2.25 奈秒。根據本發明之一具體實例，未結合類澱粉結合化合物（第 11 號化合物）之檢測可表示為時間衰變率 1.4 奈秒加或減 0.3 奈秒，而結合於類澱粉蛋白之經結合類澱粉結合化合物（第 11 號化合物）的檢測可表示為時間衰變率 2.25 奈秒加或減 0.3 奈秒。可使用區別類澱粉結合化合物與類澱粉蛋白之其他衰變率及置信等級。

根據本發明之一具體實例，提供一種用於在眼睛晶狀體中檢測類澱粉結合化合物標記之 β 類澱粉（ $A\beta$ ）蛋白之螢光成像方法及裝置，及其用途。在一態樣中，本文提供之裝置為光學成像裝置，其採用與壽命波譜組合之螢光掃描機制使得能夠檢測螢光分子並提供關於其空間分佈以及其周圍環境特性之資訊。

根據本發明之一具體實例，該裝置（例如多功能光學掃描螢光系統）使得能夠基於天然螢光激發識別眼睛前段之解剖學結構；且可提供關於眼睛前段之空間資訊（諸如角膜厚度及晶狀體形狀），且可提供眼內距離。

此外，根據本發明之一具體實例的多功能光學掃描系

統提供用於眼睛中未結合於類澱粉蛋白的外源性螢光類澱粉結合化合物之活體內眼部藥物動力學研究工具。舉例而言，該系統可測定角膜界面（諸如淚液腺/角膜上皮界面）處類澱粉結合化合物之梯度濃度。此外，該系統可測定關於類澱粉結合化合物於眼房液中之生物可用性的空間及時間資訊。

此外，本發明之一具體實例之多功能光學掃描系統允許基於光學性能（諸如螢光衰變時間（ τ ））檢測螢光分子及其間的區別。該系統允許檢測眼睛晶狀體中結合於 A β 之經標記螢光類澱粉結合化合物；檢測眼睛中之天然螢光；及辨別（i）眼睛晶狀體中結合於 A β 之經標記螢光類澱粉結合化合物與（ii）眼睛中之天然螢光。如本文所用，「天然螢光（natural fluorescence）」表示眼睛中可獨立於引入之顯影劑出現的天然螢光。

圖 1 為本發明之一具體實例之光學裝置的示意圖。藉由高數值孔徑接物鏡 101 在眼睛中聚焦的脈衝雷射束實現螢光激發。使用時間相關單光子計數（TCSPC）技術藉由與快速突崩光電二極體檢測器（APD）102 之共焦組態檢測螢光。藉由重複使用短脈衝之光激發樣品（眼睛）103 且記錄隨後隨時間變化之螢光發射來執行 TCSPC。此操作一般在奈秒時間標度內進行。

在圖 1 之具體實例中，晶狀體之解剖學結構的識別藉由使用平移台 104 在軸上掃描接物鏡 101 來執行。量測沿掃描之每一點處的信號，以揭示前段（諸如晶狀體之角膜、

晶狀體囊及核上區域)之解剖學結構。此外，掃描提供關於施用至眼睛之外源類澱粉結合化合物之藥物動力學的資訊。該資訊不僅提供類澱粉結合化合物之空間及時間資訊，而且亦提供穿透角膜進入眼房液之類澱粉結合化合物的濃度。

在圖 1 之具體實例中，一旦自沿軸向掃描之每一點量測之激發天然螢光已知眼睛中的所關注位置，即在與使用一組電流計鏡 105 的光學軸垂直的平面(xy)中執行另一掃描。為了確保向二維掃描之相應位點分配量測之螢光衰變曲線，使電流計組掃描與時間相關個別光子計數之雷射脈衝及光檢測同步。該 xy 掃描揭示圖像之各位點(像素)的螢光衰變時間資訊。在圖 1 之具體實例中，可使用專用特殊硬體模組及/或使用特定程式化以實施模組功能之通用電腦執行一或多個模組，包括例如框接收器模組、TCSPC 模組、 τ 計算模組及掃描器控制模組。通用電腦及/或一或多個特殊硬體模組可經由適於模組功能之資料電纜及資料埠自彼此接收資料。

在圖 1 之具體實例中，對於時間相關個別光子計數，記錄晶狀體之各掃描位置處的自發螢光之衰變曲線且因此可基於螢光衰變時間以及強度評估並分析螢光團分佈之二維表現。所計算衰變時間之影像可由偽色編碼且可與強度影像重疊以進行更佳臨床解釋。因為螢光衰變時間為每一螢光分子之特徵，所以吾人可測定並分離在樣品體積中激發之螢光團(來自晶狀體之天然螢光的類澱粉結合化合物)

物)。藉由組合螢光強度與壽命量度，獲得額外尺寸資訊以區別若干螢光標記。

如本文所論述，本發明之一具體實例的裝置可包含光源。如本文所用，「光源 (light source)」可為可經組態以發出照射眼睛且具有光之波長及偏振特性中之至少一者之光的任何光源，其中光之波長及偏振特性適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於類澱粉蛋白時該類澱粉結合化合物產生螢光，照射方式使得隨後可基於因照射而接收之螢光測定螢光之時間衰變率。

在本發明之一具體實例中，光源可經組態以發出具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光激發光譜之峰區域的適當波長之光，且光學單元可經組態以檢測具有針對眼睛中結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物之螢光發射光譜之峰區域的適當波長之光。舉例而言，當類澱粉結合化合物為第 11 號化合物時，激發光譜具有約 470 nm 之峰，且光源可經組態以發出約 470 nm 之峰加或減約 20 nm 內的光，諸如 470 nm 加或減 5 nm 內、加或減 10 nm 內、加或減 15 nm 內或加或減 20 nm 內。此外，第 11 號化合物之發射光譜具有約 580 nm 之峰，且光學單元可經組態以檢測約 580 nm 之峰加或減約 20 nm 內的光，諸如 580 nm 加或減 5 nm 內、加或減 10 nm 內、加或減 15 nm 內或加或減 20 nm 內。一般而言，在螢光化合物的激發光譜之峰與發射光譜之峰之間典型地存在位移。根據本發明之一具體實例，適合使用發射光譜之峰相對於激發光譜顯

著移位之化合物，以使得能夠區別經結合螢光團之螢光與眼睛之天然自發螢光。舉例而言，峰大於約 500 nm 之發射光譜有利於與眼睛之天然自發螢光的區分。經證實第 11 號化合物適於該目的，其具有峰為約 580 nm 之發射光譜，與峰為約 470 nm 之激發光譜有顯著移位。圖 12 為本發明之一具體實例之螢光類澱粉結合化合物（第 11 號化合物）在 470 nm 處激發時的發射光譜。熟習此項技術者基於上述內容將顯而易知可使用之其他激發及發射光譜。

根據本發明之一具體實例，該裝置可使用「光學單元 (optical unit)」，如本文所用之光學單元意謂可經組態以接收包括由照射眼睛產生之螢光的光且測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光時間衰變率的任何單元，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。舉例而言，參看圖 1，該光學單元可包括以下一或多者：接物鏡 101、平移台 104、掃描器 105、光檢測器 102、相機、LED、多種透鏡、光圈、光束分光器、二向色濾光片、時間衰變計算模組、框接收器模組、TCSPC 模組及掃描器控制模組。光學單元之部分功能可藉由特定程式化之通用電腦或專用硬體實施，例如用於執行時間衰變計算。

根據本發明之一具體實例，接物鏡 101、平移台 104 及具有電流計鏡 105 之掃描器的功能可使用多種不同可能裝置代替彼等組件或另外執行。總體而言，平移台、接物鏡及具有電流計鏡之掃描器的功能在本文中稱為由「光學掃

描單元 (optical scanning unit)」實施，其可指在眼睛之所關注所要區域上執行掃描光束之相等功能的任何裝置或裝置總稱，包括用於測定眼睛內參考點之目的及用於分析眼睛內螢光團之目的。該光學掃描單元可執行誘導晶狀體平移運動或晶狀體沿運動之多維路徑之運動的功能；且可執行掃描所關注區域上之光的功能，例如執行光束在所關注區域上點、平面、體積或其他類型之掃描，例如在光束之光學路徑中在鏡子或其他光學裝置中誘導運動。

在圖 1 之具體實例中，使用共焦排列意謂無需使用擴張劑，如在需要光以例如 45 度角進入眼睛離軸之系統中可能需要的。此對患者而言為便利的。

圖 2A 為沿眼睛之照射路徑掃描 (z 掃描) 時執行用於檢測晶狀體界面之算法期間量測到的天然螢光強度相對於位移之曲線圖，且圖 2B 為根據本發明之一具體實例，圖 2A 之圖的一階導數圖。算法之基本原理為天然螢光強度值增加的位置是最大每單位掃描距離之假設為晶狀體邊界開始處的合理指示。詳言之，該算法測定與對應於螢光強度之最大反曲點的 z 掃描起始點的距離。在一具體實例中，算法如下進行，且可即時運作：

- 1) 於二維陣列中收集資料，其中第一 (自變數) 維為經由旋轉編碼器量測的與起點之距離，亦即掃描距離，且第二維 (因變數) 為經由光子檢測器 (APD) 量測之螢光強度。

- 2) 用 5 點移動平均值型態對資料陣列迴旋運算以使強

度值平滑，亦即移除干擾微分之高頻雜訊。

3) 用微分型態對平滑資料陣列迴旋運算以獲得強度陣列之一階導數。

4) 搜尋最大微分強度值之強度一階導數陣列。此為最大反曲點。測定相應掃描距離。

如圖 2A 及圖 2B 所示，可使用上述技術測定晶狀體囊之位置。此外，亦可測定解剖學結構（諸如角膜、眼房液及晶狀體）之位置及其間之距離。可施加差量以規定沿任何軸之比基準面的量測距離。

圖 3A 及圖 3B 為說明根據本發明之一具體實例的螢光衰變時間之測定的圖。可藉由一次或兩次擬合指數（圖 3A）與強度曲線（本文，以光子/秒為單位）、相對於時間（本文，以奈秒為單位）計算螢光衰變時間。其亦可藉由與斜率線性擬合獲得（圖 3B）。如本文所用，「螢光之時間衰變率（time decay rate of fluorescence）」指示螢光強度之衰變曲線的特徵時間常數；例如指數時間常數或與螢光衰變曲線擬合之斜率。

圖 2A、圖 2B 及圖 3A、圖 3B 之上述算法可例如使用專用特殊硬體模組及/或使用特定程式化以執行上述算法之通用電腦實施。該等模組可例如使用或接收來自圖 1 之具體實例的 TCSPC 模組、框接收器模組、 τ 計算模組之資料。

圖 4 為說明根據本發明之一具體實例的時間相關單光子計數之使用的示意圖。脈衝光源 406 重複激發樣品 403。藉由檢測器單元突崩光電二極體（APD）402 觀測樣品發

射，而藉由同步模組（SYNC）407 檢測激發閃光。恆比鑑別器（CFD）408 僅回應於檢測器 402 檢測之第一光子，與其振幅無關。來自樣品發射之此第一光子為時間振幅轉換器（TAC）409 之停止信號。激發脈衝觸發起始信號。多通道分析器（MCA）410 記錄 TAC 409 之單光子事件的重複開始-停止信號，產生隨時間通道單元變化之光子計數直方圖。自此直方圖計算壽命。MCA 可使用專用特殊硬體模組及/或使用特定程式化以執行該等任務之通用電腦實施；且可與特定程式化之通用電腦資料連通。

在本發明之一具體實例中，包含螢光類澱粉結合化合物及裝置之系統欲幫助在適當臨床檢查後診斷患者的可能阿茲海默氏病，該等患者具有與阿茲海默氏型癡呆一致之症狀或病徵。該裝置採用與螢光壽命光譜技術組合之共焦掃描機制。該裝置使得能夠識別眼睛前段之解剖學結構，且基於其光學特徵辨別螢光性螢光團。

圖 5 顯示第 11 號化合物之結構，其可用作本發明之一具體實例之螢光類澱粉結合化合物。第 11 號化合物為根據分子轉子基元設計之螢光化合物，且已顯示結合於聚集之 β 類澱粉（ $A\beta$ ）肽。此與天然螢光組合，表明第 11 號化合物為已在阿茲海默氏病患者之晶狀體組織中發現的 $A\beta$ 聚集體之活體內標記物的良好候選物。第 11 號化合物之化學名稱為 [(E)-2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基-2-氰基-3-(6-(哌啶-1-基)萘-2-基)丙烯酸酯]。關於第 11 號化合物之其他資訊可見於 J. Sutharsan 等人，「Rational Design of Amyloid

Binding Agents Based on the Molecular Rotor Motif」, ChemMedChem 2010, 5, 56-60 中，其全部揭示內容以引用方式併入本文中。第 11 號化合物已調配成眼用軟膏（第 11 號化合物眼用軟膏），其含有約 5 mg/g 第 11 號化合物、80% 凡士林（petrolatum）及 20% 礦物油。

根據本發明之一具體實例，螢光團類澱粉結合化合物可施用於待以多種不同可能形式中之任一種測試的個體之眼睛。舉例而言，螢光團類澱粉結合化合物可以軟膏形式、溶液形式、使用隱形眼鏡、藉由注射、以液體形式、固體形式、藉由離子導入療法或藉由其他技術施用。

本發明之一具體實例之裝置經設計以在具有高靈敏度及速度之時域中在共焦檢測流程中檢測螢光。該裝置具有兩個主要功能：1) 使用平移台及電流計掃描器傳遞及掃描到達眼睛前段（諸如晶狀體之核上）之處置的光束；及 2) 基於螢光壽命量測識別及辨別螢光性螢光團。

本發明之一具體實例的裝置使用軸向掃描或 z 掃描識別眼部解剖學結構，該掃描基於眼組織沿眼睛之光軸之天然螢光的雷射激發以獲得關於眼內距離之資訊。z 掃描揭示天然螢光強度隨深度變化之曲線圖，其提供關於待執行壽命量測之位置的資訊。靶向之位置可為例如人類眼睛中晶狀體之核上。掃描可在數秒內完成，例如 2 秒或 2 秒以內，諸如約 0.2 秒、0.3 秒、0.4 秒、0.5 秒、0.6 秒、0.7 秒、0.8 秒、0.9 秒、1.0 秒、1.2 秒、1.4 秒、1.6 秒、1.8 秒或 2.0 秒內以減少眼睛運動偽訊，或在適於減少眼睛運動偽訊之

另一時間量內完成。另外或其他，裝置可與眼睛運動追蹤結合使用以減少運動偽訊。壓電驅動、線性馬達及其他控制運動裝置可用於該目的。軸向掃描亦可允許量測類澱粉結合化合物於眼界面（諸如淚液腺/角膜上皮界面）處的梯度濃度，以及類澱粉結合化合物於眼房液中之生物可用性。

本發明之一具體實例之裝置藉由執行 xy 掃描識別螢光分子，其中樣品經電流計驅動之裝置光柵掃描。記錄人類晶狀體之各掃描位置的螢光壽命，且因此可基於螢光衰變率以及強度評估並分析螢光團分佈之二維表示。基於衰變壽命之螢光團分佈的二維表示亦可（但並非必需）包括基於螢光強度之二維表示，在本文中稱為「螢光壽命影像（fluorescence lifetime image）」。

根據本發明之一具體實例，螢光壽命量測係基於以短雷射脈衝重複激發眼睛且記錄隨時間變化之隨後的螢光發射。因為螢光衰變時間為各螢光分子之特徵，所以可測定及分離在樣品體積中激發的來自晶狀體之天然螢光的類澱粉結合化合物。

詳言之，在本發明之一具體實例中，可藉由時間相關單光子計數技術（TCSPC）獲得螢光壽命量測。掃描速度及資料獲取可例如在 0.5 秒內同步及執行以減少任何眼睛運動偽訊，或使用適於減少眼睛運動偽訊之另一時間量。TCSPC 原理係基於由脈衝雷射發射之單光子的檢測及記錄到達的個別光子之檢測時間。當檢測到光子時，量測相應檢測器脈衝之時間。針對許多檢測到之光子的事件收集於

記憶體中。可藉由自個別時間量測建構直方圖來計算螢光衰變壽命。以 TCSPC 模式操作的本發明之一具體實例之裝置可實現例如每秒約 10^7 個光子之計數速率。因此，在小於 1 毫秒內可收集到 10^4 個光子。當需要高速度來獲取人類眼睛晶狀體之快速掃描資訊時，該等計數速率係重要的。可使用其他計數速率。

本發明之一具體實例之裝置可經設計以獲得來自人類眼睛晶狀體之特定位置的特定資訊。該等位置之實例包括核上、晶狀體囊、核、角膜及眼房液。

此係藉由精確對準個體、對眼睛之眼部解剖學的瞭解及獲得具有高特異性及靈敏度之晶狀體的掃描區域中之螢光團資訊而實現。圖 1 顯示本發明之一具體實例之光學平台的示意圖（上文亦論述）。藉由高數值孔徑接物鏡 101 在眼睛 103 中聚焦的脈衝雷射束實現螢光激發。儘管亦可使用其他重複頻率及脈寬，但雷射可例如在約 40 MHz 之重複頻率處脈動且產生約 200 皮秒寬之脈衝。舉例而言，可使用低至約 1 MHz 至約 240 MHz 之重複頻率，且可使用約 40 皮秒至約 400 皮秒之脈寬。光束隨後反射離開成對電流計掃描器且藉由安裝於平移台 104 上的高數值接物鏡 101 聚焦。藉由首先對準個體眼睛與裝置且執行 1) z 掃描以測定所關注區域之位置 (ROI) 及 2) xy 掃描以獲得核上內之區域的特定資訊，來獲得眼睛之核上的螢光量測。

根據本發明之一具體實例，個體對準由識別作為量測之參考起點的接物鏡之焦平面組成。亦用作固定目標之發

光二極體 (LED) 藉由接物鏡 101 在眼睛 103 之角膜上聚焦為環形。使用相機目測環反射離開角膜表面。一旦此完成，即可執行眼睛掃描來獲得必要資訊。

根據本發明之一具體實例，藉由使用平移台 104 沿光軸（軸上）掃描接物鏡 101 來執行晶狀體解剖學結構之識別。z 掃描涉及以雷射源激發天然螢光且識別前段（諸如角膜、晶狀體囊及晶狀體之核上區域）之解剖學結構及其相對距離。此外，掃描可提供關於施用至眼睛之外源類澱粉結合化合物之藥物動力學的資訊。

根據本發明之一具體實例，一旦使用 z 掃描量測識別出眼睛中的所關注區域，即使用電流計鏡在與軸向掃描垂直的平面中執行平面掃描（xy 掃描）。為了確保將所量測螢光衰變曲線分配於二維掃描之相應位點，使電流計鏡與 TCSPC 量測之資料獲取板同步。xy 掃描可能需要例如在 0.5 秒內掃描人類眼睛之核上 $50 \times 50 \mu\text{m}$ 之區域且開方求出壽命衰變值。應瞭解，可使用其他尺寸及位置之區域、及掃描時間。

根據本發明之一具體實例，使用 TCSPC 藉由與快速突崩光電二極體檢測器 (APD) 102 之共焦組態實現檢測。使用相同接物鏡 101 收集激發雷射形式之來自激發分子之螢光，經具有抑制剩餘散射雷射光之其他帶通濾光片之雙向色鏡濾光且通過小孔徑以使得能夠共焦檢測。使用快定時選項，APD 102 可例如提供優於 50 皮秒半峰全寬 (Full Width Half Maximum) 的在 550 nm 下光子檢測效率為 49% 的定時

解析，但亦可使用其他定時解析及光子檢測效率。

根據本發明之一具體實例，資料獲取及 TCSPC 後之電子學的說明於圖 4 中展示（上文亦論述）。脈衝光源 406 在（例如）40 MHz 重複頻率下重複激發樣品 403，同時藉由同步（SYNC）模組 407 檢測激發脈衝，該模組亦設為（例如）40 MHz。激發脈衝觸發起始信號。恆比鑑別器（CFD）408 僅回應於檢測器 402 檢測之第一光子，與其振幅無關。來自樣品發射之此第一光子為時間振幅轉換器（TAC）409 之停止信號。當 APD 402 檢測光子時，在 PMT 輸出處形成短脈衝。該脈衝由 CFD 408「清除」且以「停止」脈衝形式進入 TAC 409。一旦檢測到停止脈衝（亦即首先到達之光子），即停止電壓斜升且電壓值（等於開始脈衝與停止脈衝之間的時間差）傳輸至多通道分析器（MCA）410。MCA 410 記錄來自 TAC 409 之單光子事件的重複開始-停止信號且增加通道中對應於檢測電壓（時間）之計數。針對各脈衝重複此過程，且最終在多次循環之後，產生隨時間通道單元變化之光子計數的直方圖。該直方圖表示隨時間變化之螢光強度，由此獲得螢光衰變壽命。

根據本發明之一具體實例，可使用以特殊時間標記之時間分解模式工作的 *PicoHarp 300 TCSPC*（PicoQuant, GmbH, Berlin, Germany）PC 板執行資料獲取，其儲存每一檢測光子之所有相關資訊以供進一步資料分析。詳言之，在檢測器中與雷射激發脈衝及樣品位置及檢測通道數同步記錄每一個光子之到達時間。獲取板之同步速率可例如設

為 40 MHz，時間解析度為 4 皮秒且通道計數深度為 16 位元（可使用其他同步速率、時間解析度及通道計數深度）。

根據本發明之一具體實例，可使用 *SymPhoTime*（PicoQuant, GmbH, Berlin, Germany）執行之軟體獲取可經由 TCP/IP 網路控制且經 TTL 信號與電流計掃描器及獲取板同步以限定圖像之線及框。可例如記錄 *LSM* 指令模式之 *SymPhoTime*，且展現螢光壽命及強度影像。

根據本發明之一具體實例，可記錄人類晶狀體內各掃描位置之螢光壽命，且因此可基於螢光衰變率及強度評估及分析螢光團分佈之二維表示。基於螢光壽命衰變之建構顏色編碼影像可重疊於強度影像上以便於臨床解釋。可藉由將對應於一個像素之所有光子在直方圖中分類，其接著與指數衰變函數擬合以開方求出壽命資訊，從而完成螢光壽命影像之計算。接著針對影像中每一像素重複此程序。軟體算法可使用尾擬合以及數值再卷積擬合資料與多指數衰變函數。因為擬合程序依賴於用於擬合之起始參數的品質，所以作為區域掃描上特定螢光團之指示的比衰變率之光子的頻率計數可直接由影像開方求出。前述算法可由電腦實施，且可涉及在諸如電腦監視器之二維顯示器上展現資料。

在本發明之一具體實例中，與比壽命衰變有關聯的平均強度可用作類澱粉蛋白之聚集的量度。亦即，可藉由在特定區域上對與比壽命衰變關聯之螢光強度取平均值生成參數。此參數可用作聚集之量度，例如基於參數變化監視

個體中疾病之進展。該參數可由電腦或其他特定硬體測定。

藉由本發明之一具體實例之裝置獲得的螢光類澱粉結合化合物（第 11 號化合物）之螢光直方圖於圖 6 中顯示。單指數擬合得到 2 奈秒之壽命衰變率。

圖 7 顯示根據本發明之一具體實例獲得的第 11 號化合物之螢光壽命影像及其相應強度影像。影像為在 0.5 秒內獲得之 100×100 像素且表示 $50 \times 50 \mu\text{m}$ 之掃描區域。

本發明之一具體實例使用螢光時域技術來基於壽命特徵檢測及解析螢光團。藉由組合螢光強度與壽命量度，獲得額外尺寸資訊以辨別螢光標記。實驗 1 中論述之試管內研究證明本發明之一具體實例基於壽命衰變特徵區別螢光性螢光團之能力。此外，對實驗 2 中論述的兔眼之藥物動力學研究顯示螢光類澱粉結合化合物（第 11 號化合物）於晶狀體核上的可檢測之螢光信號。更重要的是，在兔眼晶狀體中檢測到的信號容易識別且屬於類澱粉結合化合物本身。

熟習此項技術者應理解，本文提出之任何方法（以及其個別步驟及此等方法若干後續步驟之組合），尤其涉及收集及視情況處理相關資料之技術步驟，由此獲得資料與正常對照值的比較及/或彼比較期間任何顯著偏差的發現可在後續單獨診斷步驟之前、與其無關及在準備後續單獨診斷步驟時執行，亦即在造成所獲得值與針對特定致澱粉樣病症，諸如阿茲海默氏病的正常對照值（實際診斷）之間的潛在偏差之前。尤其涵蓋在後續單獨診斷步驟之前、與其

無關及在準備後續單獨診斷步驟時執行的此等方法（包括個別步驟以及此等方法之若干後續步驟之組合）作為本發明之個別具體實例。

根據本發明之一具體實例，現有供應商可供應系統之多個子組件。舉例而言，激發源可為 PicoQuant of Berlin, Germany 出售之 Picosecond Pulsed Laser, LDH 系列；Becker & Hickl of Berlin, Germany 出售之 Picosecond Diode Laser, BDL 系列；或 Hamamatsu Photonics of Hamamatsu, Japan 出售之 Picosecond Light Pulser, PLP 系列。可使用 PicoQuant, Berlin, Germany 出售之 TCSPC 模組；Becker & Hickl, Berlin, Germany 出售之 TCSPC 模組，SPC 系列；或 Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan 出售之 Synchronous Delay Generator, C10647 執行資料獲取。光子計數檢測器可為 PicoQuant, Berlin, Germany 出售之 Detector Unit, PMA 系列；Becker & Hickl, Berlin, Germany 出售之 Detector Unit, ID-100 系列；或 Streakscope (C10627 系列，Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan 出售)。應瞭解，可使用其他激發源、資料獲取模組及光子計數檢測器。

本發明之上述具體實例的部分可使用一或多個電腦系統實施。舉例而言，具體實例可使用硬體、軟體或其組合實施。當在軟體中實施時，軟體碼可在以單個電腦提供或分配於多個電腦中的任何適合處理器或處理器集合上執行。

此外，應瞭解電腦可以多種形式中任一種具體化，諸

如機架式電腦、桌上型電腦、膝上型電腦、平板電腦、單元電路板電腦或晶片上之系統。此外，電腦可嵌入一般不視為電腦但具有適合處理能力之裝置中，包括個人數位助理（Personal Digital Assistant，PDA）、智慧型手機或任何其他適合攜帶型或固定電子裝置。

同樣，電腦可具有一或多個輸入及輸出裝置。此等裝置尤其可用於呈現使用者介面。可用於提供使用者介面之輸出裝置之實例包括用於視覺呈現輸出之印表機或顯示幕及用於聲訊呈現輸出之揚聲器或其他發聲裝置。可用於使用者介面之輸入裝置之實例包括鍵盤及指標裝置，諸如滑鼠、觸控墊、觸控螢幕及數位化輸入板。作為另一實例，電腦可藉由語音辨識或其他聲訊型式接收輸入資訊。

該等電腦可藉由一或多個網路以任何適合形式互連，包括區域網路或廣域網路形式，諸如企業網路或網際網路。該等網路可基於任何適合技術且可根據任何適合方案操作且可包括無線網路、有線網路或光纖網路。

同樣，本文所述之多種方法或加工可編碼為可在一或多個處理器上執行之軟體，該等處理器採用多種操作系統或平台中之任一者。此外，該軟體可使用多種適合程式化語言及/或程式化或劇本式工具中之任一者寫入，且亦可編譯為在框架或虛擬機上執行的可執行機器語言碼或中間碼。

在此方面，本發明之至少一部分可具體化為經一或多種程式編碼之電腦可讀媒體（或多電腦可讀媒體）（例如電

腦記憶體、一或多個軟磁碟、緊密光碟 (compact disc)、光碟、磁帶、快閃記憶體、場可程式化閘陣列或其他半導體裝置中之電路組態、或其他有形電腦儲存媒體)，該等程式當在一或多個電腦或其他處理器上執行時，執行實施上述本發明多個具體實例的至少一部分之方法。電腦可讀媒體可傳輸，使得其上儲存之程式可加載至一或多個不同電腦或其他處理器上以實施上文所述本發明之多個態樣。

在此方面，應瞭解上述具體實例的至少一部分的一種實施包含至少一種經電腦程式（例如複數個指令）編碼的電腦可讀媒體，其在處理器上執行時，執行此等具體實例之一些或所有上述功能。如本文所用，術語「電腦可讀媒體 (computer-readable medium)」僅涵蓋可視為機器或製造品（亦即製造物品）之電腦可讀媒體。電腦可讀媒體可為例如可編碼或儲存電腦可讀資訊之有形媒體、可編碼或儲存電腦可讀資訊之儲存媒體、及/或可編碼或儲存電腦可讀資訊之非暫時性媒體 (non-transitory medium)。電腦可讀媒體之其他非詳盡實例包括電腦記憶體（例如 ROM、RAM、快閃記憶體或其他類型之電腦記憶體）、磁碟或磁帶、光碟、及/或可視為機器或製造品的其他類型之電腦可讀媒體。

術語「程式 (program)」或「軟體 (software)」以通用意義用於本文中，係指可用於程式化電腦或其他處理器以實施上述本發明之多個態樣的任何類型之電腦碼或電腦可執行指令集。此外，應瞭解根據此具體實例之一態樣，執行時的一或多個電腦程式無需常駐於單個電腦或處理器即

可執行本發明方法，而且可以模組形式分配於許多不同電腦或處理器以實施本發明之多個態樣。

電腦可執行指令可為由一或多個電腦或其他裝置執行的許多形式，諸如程式模組。一般而言，程式模組包括執行特定任務或實施特定抽象資料類型的常式、程式、物件、組件、資料結構等。典型地，程式模組之功能可如多個具體實例中所述進行組合或分配。

實驗 1-具有 β 類澱粉肽 (1-42) 的 Neuroptix 螢光配位體之試管內研究：

根據本發明之一具體實例，進行結合於第 11 號化合物之聚集 $A\beta$ 肽的試管內研究。使用本發明之一具體實例之裝置執行具有聚集 $A\beta$ 肽之第 11 號化合物的螢光壽命量測。圖 8A 為顯示根據本發明之一具體實例，第 11 號化合物及結合於聚集 $A\beta$ 肽之第 11 號化合物的螢光壽命影像，其對應的螢光壽命直方圖顯示於圖 8B 中。藉由擬合壽命直方圖，測定出衰變率。結果表明本發明之一具體實例能夠以低水準之光子檢測區分壽命差異低至 0.85 奈秒的螢光團之優越效能。實驗描述如下。

此試管內研究之目的為識別第 11 號化合物類澱粉結合化合物之光學特徵，及表徵其結合於聚集 $A\beta$ 肽時的螢光特性。詳言之，研究目標為：1) 表徵第 11 號化合物之壽命衰變率；及 2) 檢測並區分結合及未結合於 β 類澱粉 ($A\beta$) 肽之第 11 號化合物的能力。

裝置：

Neuroptix SAPPHIRE II 裝置 (Neuroptix Corporation, Acton, MA, U.S.A.) 為用於人類臨床研究之特製裝置，其適於試管內量測此實驗。其採用與允許區分螢光團之螢光壽命光譜組合的共焦掃描機制。該裝置允許 1) 使光束掃描至眼睛前段之特定位置 (諸如核上) 及 2) 基於螢光壽命量測識別螢光性螢光團。

方法 - 聚集的 A β 肽製備：

藉由將 A β (1-42) 溶解於 PBS pH 7.4 中直至最終濃度為 100 μ M 來製備聚集的 A β 肽。此溶液在 1200 rpm 下在室溫下磁力攪拌 3 天。將 100 μ M A β (1-42) 於 PBS 中之儲備溶液等分且在 -80°C 下冷凍高達 4 週，而其特性無顯著改變。將 150 μ L 前聚集的 A β (1-42) 添加至 2.85 mL 第 11 號化合物中以獲得 5 μ M A β (1-42) 及 4 μ M 第 11 號化合物之最終濃度。將溶液轉移至 5 mL 小瓶中且在 25°C 下執行螢光量測。

實驗及結果

由第 11 號化合物組成之樣品置於 Neuroptix SAPPHIRE II 裝置的前部。一旦測定樣品中之掃描位置，即執行光柵掃描以獲得螢光壽命量測值。圖 8A 顯示在 1 秒獲取時間內獲得的掃描範圍 100 μ m $\times$ 100 μ m 之影像 (200 $\times$ 200 像素)。陰影之影像表示壽命衰變。構成多數影像背景之陰影表示 1.4 奈秒之壽命衰變，其對應於螢光類澱粉結合化合物之壽命衰變。影像中所檢測之點為表示 2.25 奈秒之壽命衰變的聚集 A β 肽。圖 8B 之曲線圖顯示針對第 11 號化合物及結合

於聚集 A β 肽之第 11 號化合物計算的螢光衰變率。

結論

以 Neuroptix SAPPHERE II 裝置執行具有聚集 A β 肽的第 11 號化合物之試管內螢光壽命量測。基於螢光壽命衰變率，可解析與第 11 號化合物結合或未結合之肽。結果表明僅藉由幾百個光子之檢測水準即能夠區分壽命具有 0.85 奈秒差異之螢光團的 SAPPHERE II 裝置之優越效能。

實驗 2 – 荷蘭-白肩兔 (Dutch-Belted Rabbit) 中之眼部藥物動力學研究：

根據本發明之一具體實例，使用本發明之一具體實例之裝置執行第 11 號化合物於兔眼睛中之活體內藥物動力學研究。圖 9A 為對兩隻以類澱粉結合化合物給藥之兔以及對照兔量測的比衰變率之光子頻率計數之曲線圖。根據本發明之一具體實例，自螢光直方圖 (圖 9B) 計算關於螢光類澱粉結合化合物 (第 11 號化合物) 之比衰變率之光子頻率計數。結果表明類澱粉結合化合物穿透角膜且由兔眼睛之晶狀體中的裝置檢測之能力。實驗描述如下。

引言

在荷蘭-白肩兔中進行經局部投予螢光類澱粉結合化合物的劑量反應之眼部藥物動力學研究。使用呈軟膏形式之第 11 號化合物類澱粉結合化合物每天測試兔子持續 4 天。兩隻動物在右眼中以軟膏形式之第 11 號化合物 (0.5%) 給藥。一隻動物未經處理且用作對照動物。動物在特定時間點給藥持續 4 天，且在每天開始及結束時以 SAPPHERE II

系統測試螢光強度及壽命量測。

結果表明：

1) 在重複局部投予後以軟膏形式之 5 mg/g 第 11 號化合物之濃度實現可檢測螢光信號。

2) 每天開始及結束時執行且持續 4 天之螢光量測顯示兔眼睛之晶狀體核中第 11 號化合物的螢光增加。

方法：

以下表所述之時間間隔及劑量濃度執行眼部量測。

組	處理	動物編號	毒物劑量	主持者進行之眼部量測
1	5 mg/g (軟膏)	2	以 830、1130 及 1430 給藥 4 天之軟膏	每天開始及結束時的 SAPPHERE II 測試
對照	-	1		每天開始及結束時的 SAPPHERE II 測試

表 1：測試之動物組、投予之劑量及量測時間

研究在 4 天內交錯且在單個位置及單個儀器上進行。在專用於該研究之昏暗房間中進行測試。

所有動物經由局部眼施藥以第 11 號化合物給藥且在右眼中測試。麻醉動物且手動固持於 Neuroptix SAPPHERE II 裝置前部的平台上。藉由動物處理器進行總定位，且藉由 Neuroptix SAPPHERE II 操作器細調量測位置。一旦對準，SAPPHERE II 操作器即起始量測工序。在給藥之前，且隨後在每天開始及結束時對動物進行基線量測（表 1）。

實驗設計及劑量：

在每天開始及結束時在眼睛中執行螢光壽命及強度量

測。量測限定軸向掃描 (z 掃描) 免眼睛以獲得眼內資訊且平面掃描 (xy 掃描) 以在眼睛之特定區域 (在此情形中為晶狀體核) 執行壽命衰變量測。

一旦識別所關注之位置，即在執行 xy 掃描時起始時間相關單光子計數 (TCSPS)。接著獲得螢光壽命影像，其中獲得各像素位置之衰變壽命直方圖。計算之衰變時間為在螢光壽命影像中編碼之顏色。各量測執行三次。自 xy 掃描中獲得之第 11 號化合物特徵的衰變率頻率計算比衰變率之光子頻率計數且對三次量測取平均值。每天對螢光染料進行一次校準量測且顯示在整個研究期間無表觀漂移之可重複效能。該裝置為人類使用特別設計，而平台稍作修改以供固持家兔。

經由向各動物之右眼局部眼施用藉由毒物標竿 (Toxikon staff) 執行給藥。

第 1 組：皮下注射得麻效 (Dexdomitor) (0.5 mg/kg)、克他明 (Ketamine) (5 mg/kg) 麻醉動物。接著每天三次向測試組各動物之右下眼瞼施用約 1/2 吋長的軟膏帶，持續 4 天。

對照組：對於對照組，一隻動物以與測試組中之動物相同的方式處理，但未向眼睛投予軟膏或溶液。

結果概述：

在每天開始 (早晨) 及結束 (晚上) 執行眼睛中類澱粉結合化合物之螢光強度及壽命量測。圖 10A 及圖 10B 為顯示關於第 11 號化合物之比衰變率之光子頻率計數的曲線

圖，其中在 5 隻兔晶狀體核中，在 4 天研究期間，早晨量測基線值且在給藥後在每天結束時量測。圖 10A 為早晨量測之曲線圖，且圖 10B 為晚上量測之曲線圖，兩個量測皆對以第 11 號化合物眼用軟膏給藥之家兔進行。對以第 11 號眼用軟膏給藥的兩隻兔子（1002 及 1003）進行的量測顯示眼睛核中之螢光信號有顯著增加。圖 10A 及圖 10B 顯示在每天以 3 小時間隔給藥三次後，沿 4 天研究期量測累積螢光信號。

圖 11A 及圖 11B 為基線及第四天研究結束後使用動物 1003 採集的兩個螢光壽命影像。基線量測展現指示眼睛晶狀體中第 11 號化合物不存在的黑影像。4 天後，xy 掃描揭示 2 奈秒之衰變率之壽命影像（以灰色展現），其為螢光壽命之特徵。兩隻兔子之間收集的信號之差異可能歸因於技術員的給藥變化及動物閃動。

結論

主要目標以 5 mg/g 濃度之第 11 號化合物眼用藥膏實現。重複局部投予第 11 號化合物傾向於在施藥若干小時後在核中積聚且傾向於停留至少 12 小時。

本文引用的所有專利、公開之申請案及參考文獻的教示以全文引用方式併入本文中。

儘管已參考具體實例特定顯示及描述本發明，但熟習此項技術者應理解可作出形式及細節的多種變化而不悖離隨附申請專利範圍所涵蓋的本發明範疇。

【圖式簡單說明】

圖 1 為本發明之一具體實例之光學系統的示意圖。

圖 2A 為執行用於檢測 z 掃描眼睛中的晶狀體界面之算法期間量測到的螢光強度相對於位移之曲線圖，且圖 2B 為根據本發明之一具體實例，圖 2A 之曲線圖的一階導數之曲線圖。

圖 3A 及圖 3B 為說明根據本發明之一具體實例的螢光衰變時間之測定的曲線圖。

圖 4 為說明根據本發明之一具體實例的時間相關單光子計數之使用的示意圖。

圖 5 展示第 11 號化合物之結構，其可用作本發明之一具體實例之螢光類澱粉結合化合物。

圖 6 為藉由本發明之一具體實例之裝置獲得的螢光類澱粉結合化合物（第 11 號化合物）之螢光直方圖。

圖 7 為根據本發明之一具體實例獲得的第 11 號化合物之螢光壽命影像及其相應強度影像的圖。

圖 8A 為顯示本發明之一具體實例之類澱粉結合化合物及結合於聚集體肽上之類澱粉結合化合物的螢光壽命影像。

圖 8B 為顯示根據本發明之一具體實例的圖 8A 之螢光壽命影像之類澱粉結合化合物及結合於聚集體肽上之類澱粉結合化合物的相應螢光壽命直方圖的圖。

圖 9A 為根據本發明之一具體實例的在活體內研究中在兔子中量測的關於螢光類澱粉結合第 11 號化合物之比衰變率之光子頻率的曲線圖。

圖 9B 為根據本發明之一具體實例的對應於圖 9A 之研究的螢光直方圖。

圖 10A 及圖 10B 為顯示在本發明之一具體實例之實驗中，關於在兔子研究期間早晨量測的基線值及在給藥後在每天結束時量測的螢光類澱粉結合化合物(第 11 號化合物)的比衰變率之光子頻率的曲線圖。

圖 11A 及圖 11B 為在本發明之一具體實例之實驗中，基線時及在動物研究第四天結束後採集的兩個螢光壽命影像。

圖 12 為本發明之一具體實例之螢光類澱粉結合化合物(第 11 號化合物)在 470 nm 處激發之發射光譜。

【主要元件符號說明】

101：接物鏡

102：突崩光電二極體檢測器 (APD)

103：樣品 (眼睛)

104：平移台

105：電流計鏡

402：突崩光電二極體 (APD)

403：樣品

406：脈衝光源

407：同步模組 (SYNC)

408：恆比鑑別器 (CFD)

409：時間振幅轉換器 (TAC)

410：多通道分析器 (MCA)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100129191

※申請日：100.09.13

※IPC 分類：G01N 21/25 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

AGIB 5/00 (2006.01)

用於檢測類澱粉蛋白之系統及方法

SYSTEM AND METHOD FOR DETECTING AMYLOID
PROTEINS

二、中文發明摘要：

根據本發明之一具體實例，提供一種用於檢測哺乳動物眼睛中之類澱粉蛋白的裝置及方法。方法包含以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射眼睛，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之類澱粉蛋白；及測定至少由結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於時間衰變率辨別結合於類澱粉蛋白之類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。

三、英文發明摘要：

In accordance with an embodiment of the invention, there is provided a device and method for detecting an amyloid protein in an eye of a mammal. A method comprises

illuminating the eye with a light source having at least one of a wavelength property, a polarization property or a combination thereof, each appropriate to produce fluorescence in at least an amyloid-binding compound when the amyloid-binding compound is bound to the amyloid protein, the amyloid-binding compound having been introduced to the eye and specifically binding to the amyloid protein indicative of the amyloidogenic disorder; and determining a time decay rate of fluorescence for at least the fluorescence produced by the amyloid-binding compound bound to the amyloid protein, the determining permitting distinguishing of the presence of the amyloid-binding compound bound to the amyloid protein in the eye based on at least the time decay rate.

七、申請專利範圍：

1. 一種用於檢測哺乳動物眼睛中之類澱粉蛋白之裝置，該裝置包含：

光源，其經組態以發出照射該眼睛且具有光波長、光偏振或其組合中之至少一者的光，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於該類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入該眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之該類澱粉蛋白；及

光學單元，其經組態以接收包括由於照射該眼睛而產生的螢光之光及測定至少由結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生之該螢光的螢光時間衰變率，該測定允許至少基於該時間衰變率辨別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物於眼睛中之存在。

2. 如申請專利範圍第 1 項之裝置，其中該光學單元經組態以測定以下至少一者之時間衰變率：分子轉子類澱粉結合化合物；剛果紅（Congo red）或剛果紅衍生物類澱粉結合化合物；金黃胺（Chrysamine）類澱粉結合化合物；金黃胺衍生物類澱粉結合化合物；金黃胺 G 或金黃胺 G 衍生物類澱粉結合化合物；硫代黃素 T 或硫代黃素 T 衍生物類澱粉結合化合物；及硫代黃素 S 或硫代黃素 S 衍生物類澱粉結合化合物。

3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元測定至少由結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物

物產生之該螢光的螢光強度。

4.如申請專利範圍第3項之裝置，其中該光學單元經組態以基於該強度及該時間衰變率之至少一者來測定結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之量。

5.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該光學單元經組態以測定該眼睛之特定區域中具有比衰變率之平均光子數。

6.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該光源包含脈衝雷射。

7.如申請專利範圍第6項之裝置，其中該脈衝雷射經組態以發出重複頻率介於約1 MHz與約240 MHz之間的光。

8.如申請專利範圍第6項之裝置，其中該脈衝雷射經組態以發出脈寬介於約40皮秒與約400皮秒寬之間的光。

9.如申請專利範圍第6項之裝置，其中該脈衝雷射經組態以發出重複頻率為約40 MHz且脈寬為約200皮秒寬之光。

10.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其進一步包含經組態以掃描該眼睛位置上來自該光源之光的光學掃描單元。

11.如申請專利範圍第10項之裝置，其中該光學掃描單元包含安裝於平移台上之接物鏡及包含電流計鏡之掃描器。

12.如申請專利範圍第10項之裝置，其中該光學掃描單元經排列以使用該光源之照射取樣該眼睛中至少一個所關

注區域，該取樣包含照射至少一個區域內的點、平面或體積中之至少一者及檢測螢光發射。

13.如申請專利範圍第 10 項之裝置，其中該光學掃描單元經排列以取樣該眼睛之一個以上區域上的不同位置。

14.如申請專利範圍第 10 項之裝置，其中該光學掃描單元經排列以在沿逐深度延伸至該眼睛中的垂直軸之連續平面中使用該光源執行該眼睛之平面掃描。

15.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其進一步包含用於檢測自該眼睛發出之螢光的光檢測器單元。

16.如申請專利範圍第 15 項之裝置，其中該光檢測器單元包含光電二極體、光電倍增器、電荷耦合裝置及增強電荷耦合裝置中之至少一者。

17.如申請專利範圍第 15 項之裝置，其中該光檢測器單元包含突崩光檢測器。

18.如申請專利範圍第 15 項之裝置，其進一步包含接收來自該光檢測器單元的指示來自該眼睛之螢光的光子計數之電信號的時間相關單光子計數模組。

19.如申請專利範圍第 18 項之裝置，其進一步包含至少一個經組態以基於隨時間通道單元變化之光子計數分佈測定螢光之時間衰變率的處理器模組。

20.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元經組態以區別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物與眼睛組織之背景自發螢光、其他非特定粒子及未結合類澱粉結合化合物之自發螢光。

21.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該光學單元經組態以辨別以下一者以上的存在或量中之至少一者：該類澱粉結合化合物；結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物；及該類澱粉蛋白。

22.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該類澱粉蛋白包含聚集體。

23.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該類澱粉蛋白包含前類澱粉蛋白聚集體。

24.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該類澱粉蛋白包含 β 類澱粉。

25.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該致澱粉樣病症包含阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease)。

26.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該光學單元經組態以僅基於檢測之螢光至少辨別該類澱粉蛋白之存在。

27.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該光學單元經組態以基於檢測之螢光測定該類澱粉結合化合物至該眼睛之傳遞速率。

28.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該光學單元經組態以基於檢測之螢光測定傳遞至該眼睛之該類澱粉結合化合物的空間分佈。

29.如申請專利範圍第1項或第2項之裝置，其中該光學單元經組態以基於檢測之螢光測定該類澱粉結合化合物於該眼睛之角膜界面處的濃度梯度。

30.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元經組態以基於檢測之螢光測定在該眼睛之眼房液中該類澱粉結合化合物之空間分佈及該類澱粉結合化合物之時間分佈中之至少一者。

31.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元經組態以基於由該眼睛之組織發出之天然螢光引起的螢光信號增加測定該眼睛之眼界面位置。

32.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元經組態以基於以下至少一者測定該眼睛之核上位置：(i) 與該眼睛之解剖學結構的距離及 (ii) 強度量度之變化的檢測。

33.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元經組態以基於該眼睛之解剖學結構或子結構之至少一部分的天然螢光激發測定該解剖學結構或子結構之至少一個尺寸。

34.如申請專利範圍第 33 項之裝置，其中測定該至少一個尺寸包含以下至少一者：測定該結構或子結構之厚度、測定該結構或子結構之形狀及測定該眼睛之一或多個結構或子結構之間的距離。

35.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元經組態以在該眼睛內掃描，以測定激發之天然螢光，且從而測定該眼睛中的至少一個所關注區域；及

使用該光源之照射取樣該眼睛中之至少一個所關注區域，該取樣包含執行該至少一個區域之至少一個完整區域

的量測或使用該光源之照射取樣該至少一個區域內之不同位置中之至少一者，該取樣不同位置包含照射該至少一個區域中的點、平面或體積中之至少一者；

該取樣係為了測定至少由該至少一個取樣區域中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生之該螢光的螢光強度及螢光之時間衰變率。

36.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光學單元經組態以測定沿逐深度進入該眼睛中的軸向掃描之各點的激發之天然螢光，且從而測定該眼睛中之至少一個所關注位置；及

其中該光學單元經組態以測定至少由使用該光源之該眼睛的在與該軸向掃描之方向垂直的連續平面中的一組平面掃描每一者之各點處結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生的該螢光之螢光強度及螢光之時間衰變率。

37.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，該裝置經組態以使得能夠在該眼睛中即時搜尋到指示該致澱粉樣病症之該類澱粉蛋白。

38.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該光源經組態以發出具有針對該眼睛中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之螢光激發光譜之峰區域的適當波長之光，且其中該光學單元經組態以檢測具有針對該眼睛中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之螢光發射光譜之峰區域的適當波長之光。

39.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該類

澱粉結合化合物為第 11 號化合物。

40.如申請專利範圍第 38 項之裝置，其中該激發光譜之峰為約 470 nm，該光源經組態以發出在該激發光譜之峰加或減約 20 nm 內之光，且其中該發射光譜之峰為約 580 nm，且該光學單元經組態以檢測在該發射光譜之峰加或減約 20 nm 內之光。

41.如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之裝置，其中該類澱粉蛋白為致澱粉樣病症之指示。

42.一種用於檢測哺乳動物眼睛中之類澱粉蛋白之方法，該方法包含：

以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射該眼睛，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於該類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入該眼睛中且特異性結合於指示致澱粉樣病症之該類澱粉蛋白；

接收光，包括由於照射該眼睛產生之螢光；及

測定至少由結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於該時間衰變率辨別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物於該眼睛中之存在。

43.如申請專利範圍第 42 項之方法，其進一步包含測定至少由結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生的該螢光之螢光強度。

44.如申請專利範圍第 43 項之方法，其進一步包含基於

該強度及該時間衰變率之至少一者測定結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之量。

45.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中以該光源照射該眼睛包含以脈衝雷射照射該眼睛。

46.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其包含以重複頻率介於約 1 MHz 與約 240 MHz 之間的光照射該眼睛。

47.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其包含以包含約 40 皮秒至約 400 皮秒寬之脈寬的光照射該眼睛。

48.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其包含以重複頻率為約 40 MHz 且脈寬為約 200 皮秒寬之光照射該眼睛。

49.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含：

基於由該眼睛之組織發出的天然螢光引起的螢光信號增加測定該眼睛之眼界面的位置。

50.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含：

使用該光源之照射取樣該眼睛中之至少一個所關注區域，該取樣包含照射該至少一個區域中的點、平面或體積中之至少一者且檢測該等螢光發射。

51.如申請專利範圍第 50 項之方法，其中該取樣包含取樣該眼睛一個以上區域上的不同位置。

52.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含：

在沿逐深度延伸至該眼睛中的垂直軸之連續平面中使用該光源執行該眼睛之平面掃描。

53.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含基於以下至少一者測定該眼睛之核上位置：(i) 與該眼睛之解剖學結構的距離及 (ii) 強度量度之變化的檢測。

54.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該辨別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之存在包含區別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物與眼睛組織之背景自發螢光、其他非特定粒子及未結合類澱粉結合化合物之自發螢光。

55.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含辨別以下一者以上的存在及量中之至少一者：該類澱粉結合化合物；結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物；及該類澱粉蛋白。

56.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該類澱粉蛋白包含聚集體。

57.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該類澱粉蛋白包含前類澱粉蛋白聚集體。

58.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該類澱粉蛋白包含 β 類澱粉。

59.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方

法，其中該致澱粉樣病症包含阿茲海默氏病。

60.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該類澱粉結合化合物包含分子轉子。

61.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該類澱粉結合化合物包含以下至少一者：剛果紅或剛果紅衍生物類澱粉結合化合物；金黃胺類澱粉結合化合物；金黃胺衍生物類澱粉結合化合物；金黃胺 G 或金黃胺 G 衍生物類澱粉結合化合物；硫代黃素 T 或硫代黃素 T 衍生物類澱粉結合化合物；及硫代黃素 S 或硫代黃素 S 衍生物類澱粉結合化合物。

62.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其包含僅基於檢測之螢光至少辨別該類澱粉蛋白之存在。

63.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含基於檢測之螢光測定該類澱粉結合化合物至該眼睛的傳遞速率。

64.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含測定在該眼睛之特定區域中具有比衰變率之平均光子數。

65.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含基於檢測之螢光測定傳遞至該眼睛之類澱粉結合化合物的空間分佈。

66.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含基於檢測之螢光測定該類澱粉結合化合物

物在該眼睛之角膜界面處的濃度梯度。

67.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含基於檢測之螢光測定於該眼睛之眼房液中該類澱粉結合化合物之空間分佈及該類澱粉結合化合物之時間分佈中之至少一者。

68.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含基於該眼睛之解剖學結構或子結構之至少一部分的天然螢光激發測定該解剖學結構或子結構之至少一個尺寸。

69.如申請專利範圍第 68 項之方法，其中測定該至少一個尺寸包含以下至少一者：測定該結構或子結構之厚度、測定該結構或子結構之形狀及測定該眼睛之一或多個結構或子結構之間的距離。

70.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含使用光檢測器裝置檢測該眼睛產生之螢光。

71.如申請專利範圍第 70 項之方法，其中該光檢測器裝置包含光電二極體、光電倍增器、電荷耦合裝置及增強電荷耦合裝置中之至少一者。

72.如申請專利範圍第 71 項之方法，其中該光檢測器裝置包含快速突崩光電二極體檢測器。

73.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含執行由該眼睛產生之螢光的時間相關單光子計數。

74.如申請專利範圍第 73 項之方法，其中執行該時間相關單光子計數包含使該光源呈脈衝形式及基於隨時間通道單元變化之光子計數分佈測定螢光之時間衰變率。

75.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其包含：

在該眼睛內掃描以測定激發之天然螢光且從而測定該眼睛中之至少一個所關注區域；及

使用該光源之照射取樣該眼睛中之至少一個所關注區域，該取樣包含照射該至少一個區域中的點、平面或體積中之至少一者；

該取樣係為了測定至少由該至少一個取樣區域中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生之該螢光的螢光強度及螢光之時間衰變率。

76.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其包含：

向該眼睛中逐深度執行軸向掃描以測定沿該軸向掃描之各點的激發之天然螢光且從而測定該眼睛中至少一個所關注位置；及

在與該軸向掃描之方向垂直的連續平面中使用該光源執行該眼睛之平面掃描，以測定至少由該等平面掃描之各點處結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生之該螢光的螢光強度及螢光之時間衰變率。

77.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該方法使得能夠在該眼睛中即時搜尋到指示該致

澱粉樣病症之該類澱粉蛋白。

78.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含以具有針對該眼睛中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之螢光激發光譜之峰區域的適當波長之光照射該眼睛；及

檢測該眼睛接收的具有針對該眼睛中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之螢光發射光譜之峰區域的適當波長之光。

79.如申請專利範圍第 78 項之方法，其中該類澱粉結合化合物為第 11 號化合物。

80.如申請專利範圍第 78 項之方法，其中該激發光譜之峰為約 470 nm，該眼睛之照射在該激發光譜之峰加或減約 20 nm 內之波長處，且其中該發射光譜之峰為約 580 nm，檢測該眼睛接收之光在該發射光譜之峰加或減約 20 nm 內的波長處。

81.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該類澱粉蛋白為致澱粉樣病症之指示。

82.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其中該方法允許至少基於該時間衰變率區別具有類似螢光光譜之至少兩個不同螢光團，該類似螢光光譜包含發射光譜與激發光譜中之顯著重疊中之至少一者。

83.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含以兩個尺寸表現至少一個螢光團之螢光強度及壽命衰變中之至少一者的分佈。

84.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含基於至少一個螢光團之螢光強度及壽命衰變中之至少一者測定結合之光子數及未結合之光子數。

85.如申請專利範圍第 84 項之方法，其進一步包含以兩個尺寸表現與蛋白質結合之類澱粉結合化合物及未與蛋白質結合之類澱粉結合化合物的螢光強度及壽命衰變之分佈。

86.如申請專利範圍第 85 項之方法，其進一步包含使以兩個尺寸之表現與掃描器及雷射中之至少一者同步。

87.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含藉由在該眼睛之特定區域上對與比壽命衰變關聯之螢光強度取平均值來測定參數。

88.如申請專利範圍第 42 項至第 44 項中任一項之方法，其進一步包含沿共焦路徑使對準光源與該眼睛對準以測定該眼睛中之參考點。

89.一種用於識別哺乳動物眼睛中之解剖學結構之方法，該方法包含：

以具有波長特性、偏振特性或其組合之至少一者之光源照射該眼睛，該等特性各適於在該眼睛之該解剖學結構中產生天然螢光；及

測定該眼睛中由該光源照射產生之天然螢光的強度變化最大之位置，該測定允許基於該天然螢光強度變化最大之位置識別該解剖學結構。

90.如申請專利範圍第 89 項之方法，其中該解剖學結構

包含該眼睛之前段的解剖學結構。

91.如申請專利範圍第 89 項或第 90 項之方法，其中該識別該解剖學結構包含測定解剖學界面之位置。

92.如申請專利範圍第 91 項之方法，其中該測定該解剖學界面之位置包含基於測定該天然螢光強度中增加最大之位置來測定該眼睛之晶狀體囊之界面位置。

93.如申請專利範圍第 89 項或第 90 項之方法，其中該識別該解剖學結構包含基於該光源在該眼睛中產生之天然螢光測定以下至少一者：角膜厚度、角膜形狀、眼房液深度、晶狀體形狀、晶狀體厚度，及該眼睛之晶狀體的至少一個子結構之厚度及形狀中之至少一者中。

94.如申請專利範圍第 93 項之方法，其中該晶狀體之該至少一個子結構包含該眼睛之晶狀體囊、皮質、核上及核中之至少一者。

95.如申請專利範圍第 89 項或第 90 項之方法，其中該識別該解剖學結構包含測定該眼睛之至少兩個解剖學結構之間的眼內距離。

96.如申請專利範圍第 89 項或第 90 項之方法，其進一步包含使用該光源檢測該哺乳動物之該眼睛中指示該致澱粉樣病症之類澱粉蛋白。

97.如申請專利範圍第 96 項之方法，其進一步包含：

以該光源照射該哺乳動物之該眼睛，該光源進一步包含波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於指示該致澱粉

樣病症之該類澱粉蛋白時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入該眼睛中且特異性結合於指示該致澱粉樣病症之該類澱粉蛋白；

接收光，包括由於照射該眼睛產生之螢光；及

測定至少由結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於該時間衰變率辨別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物於該眼睛中之存在。

98.如申請專利範圍第 97 項之方法，其中該辨別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之存在包含區別結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物與眼睛組織之背景自發螢光、其他非特定粒子及未結合類澱粉結合化合物之自發螢光。

99.如申請專利範圍第 89 項或第 90 項之方法，其中該方法使得能夠在該眼睛中即時搜尋到指示該致澱粉樣病症之該類澱粉蛋白。

100.如申請專利範圍第 89 項或第 90 項之方法，其進一步包含以具有針對該眼睛中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之螢光激發光譜之峰區域的適當波長之光照射該眼睛；及

檢測該眼睛接收的具有針對該眼睛中結合於該類澱粉蛋白之該類澱粉結合化合物之螢光發射光譜之峰區域的適當波長之光。

101.如申請專利範圍第 100 項之方法，其中該類澱粉結

合化合物為第 11 號化合物。

102.如申請專利範圍第 100 項之方法，其中該激發光譜之峰為約 470 nm，該眼睛之照射在該激發光譜之峰加或減約 20 nm 內之波長處，且其中該發射光譜之峰為約 580 nm，檢測該眼睛接收之光在該發射光譜之峰加或減約 20 nm 內的波長處。

103.一種用於測定眼組織中之蛋白質上結合的螢光團之方法，該方法包含：

以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射該眼組織，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於該蛋白質時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入該眼組織中且特異性結合於該蛋白質；

接收光，包括由於照射該眼睛產生之螢光；及

測定至少由結合於該蛋白之該類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於該時間衰變率辨別結合於該蛋白質之該類澱粉結合化合物於該眼組織中之存在。

八、圖式：

(如次頁)

合化合物為第 11 號化合物。

102.如申請專利範圍第 100 項之方法，其中該激發光譜之峰為約 470 nm，該眼睛之照射在該激發光譜之峰加或減約 20 nm 內之波長處，且其中該發射光譜之峰為約 580 nm，檢測該眼睛接收之光在該發射光譜之峰加或減約 20 nm 內的波長處。

103.一種用於測定眼組織中之蛋白質上結合的螢光團之方法，該方法包含：

以具有波長特性、偏振特性或其組合中之至少一者之光源照射該眼組織，該等特性各適於當至少一種類澱粉結合化合物結合於該蛋白質時在該類澱粉結合化合物中產生螢光，該類澱粉結合化合物已引入該眼組織中且特異性結合於該蛋白質；

接收光，包括由於照射該眼睛產生之螢光；及

測定至少由結合於該蛋白之該類澱粉結合化合物產生之螢光的螢光之時間衰變率，該測定允許至少基於該時間衰變率辨別結合於該蛋白質之該類澱粉結合化合物於該眼組織中之存在。

八、圖式：

(如次頁)

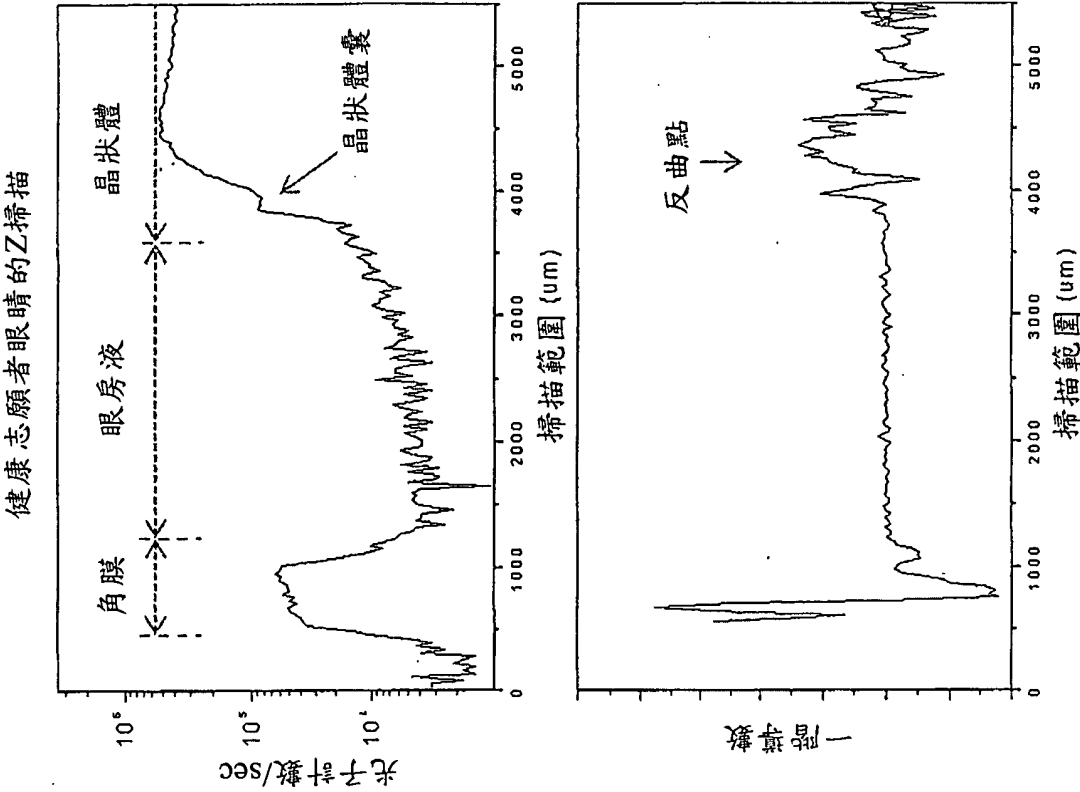


圖2A及圖2B

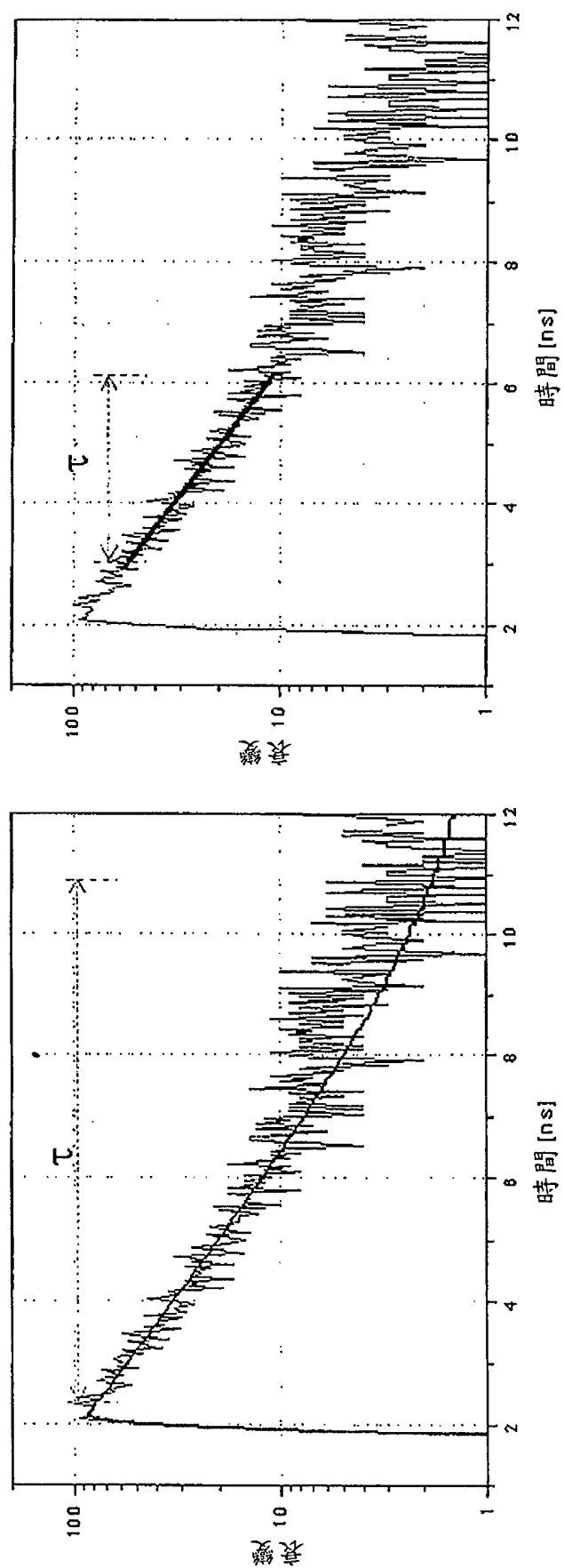


圖3A及圖3B

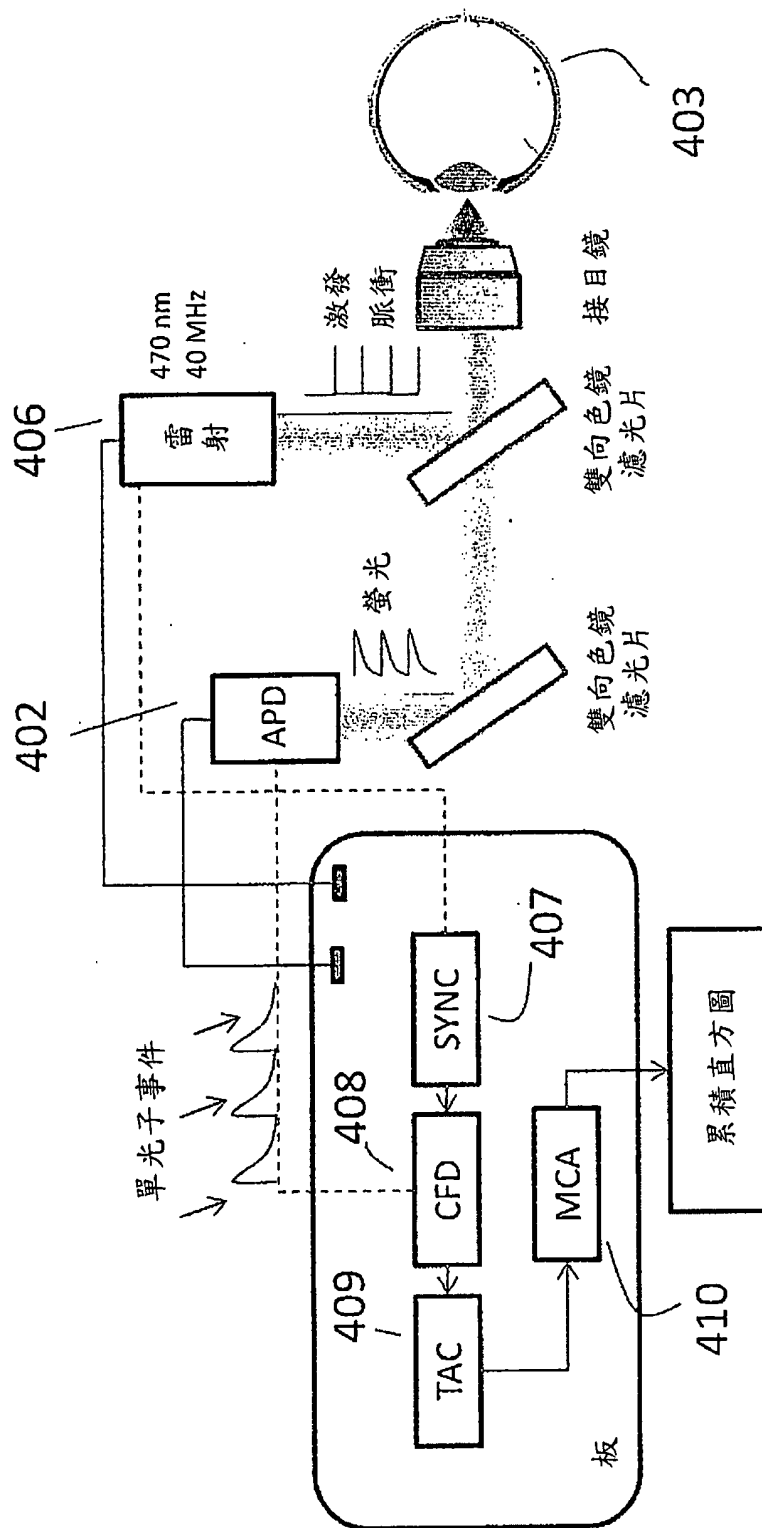


圖4

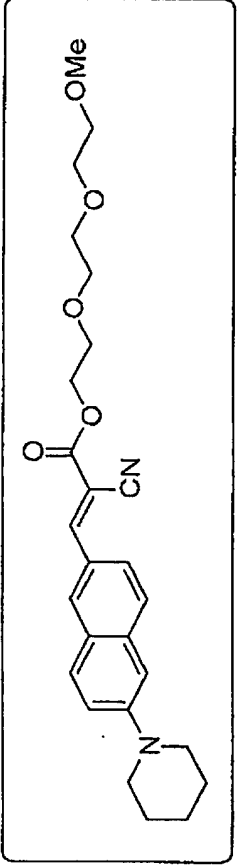


圖 5

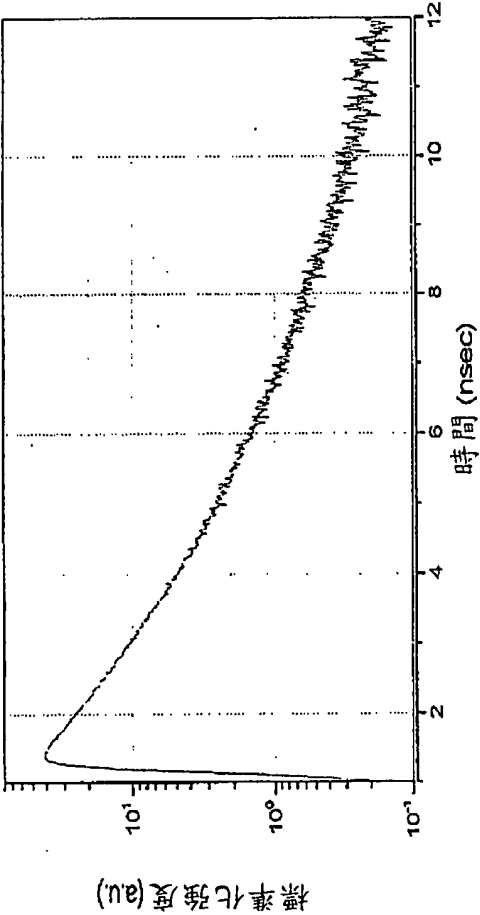


圖6

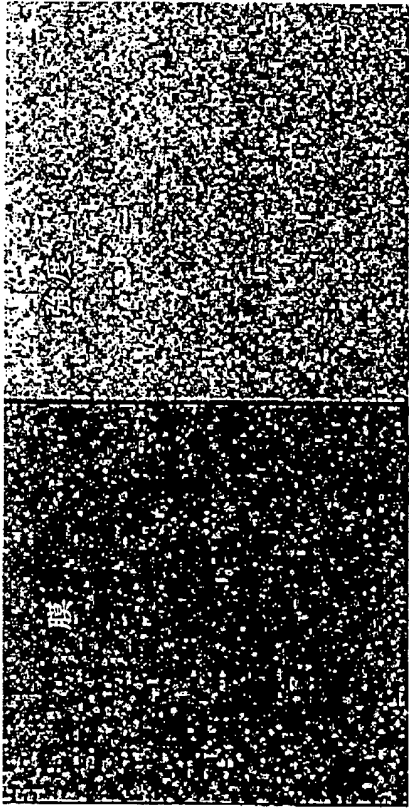


圖7

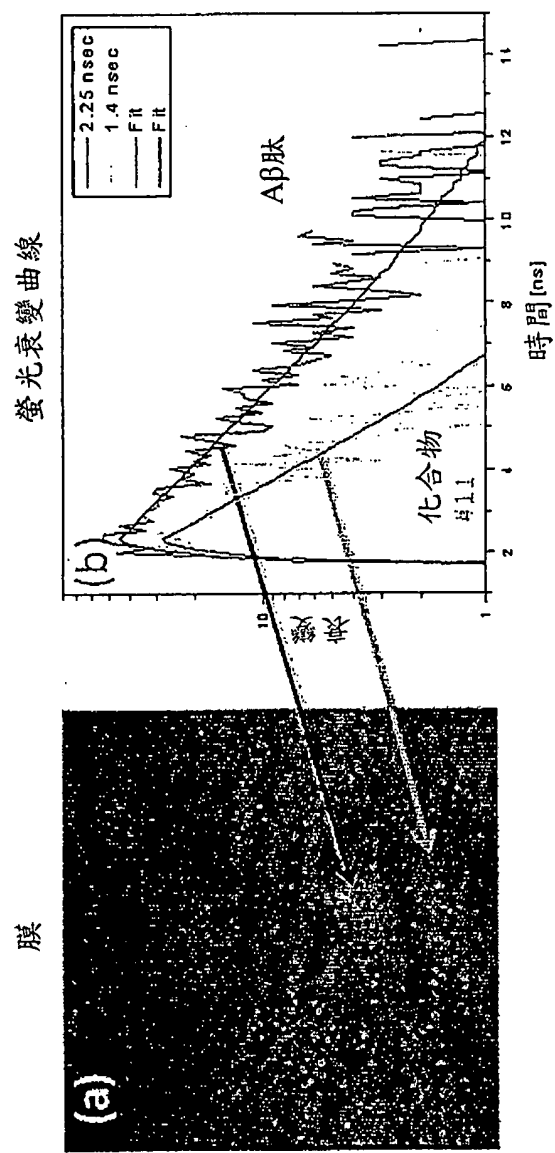


圖8A及圖8B

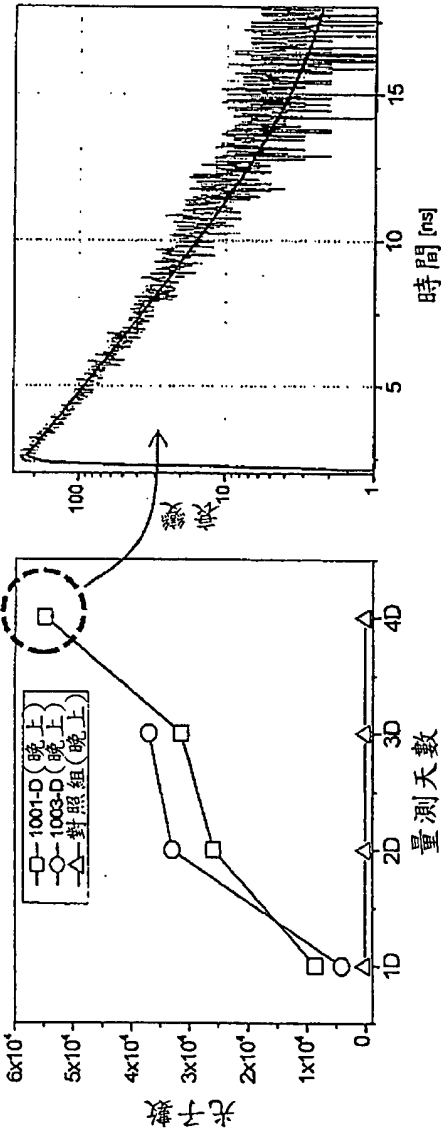


圖9A及圖9B

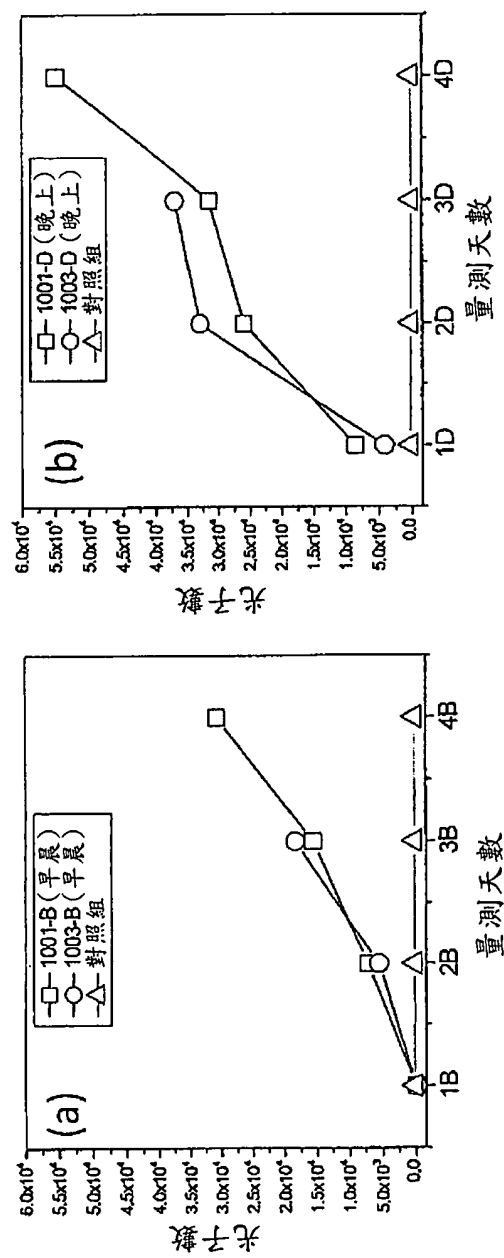


圖10A及圖10B

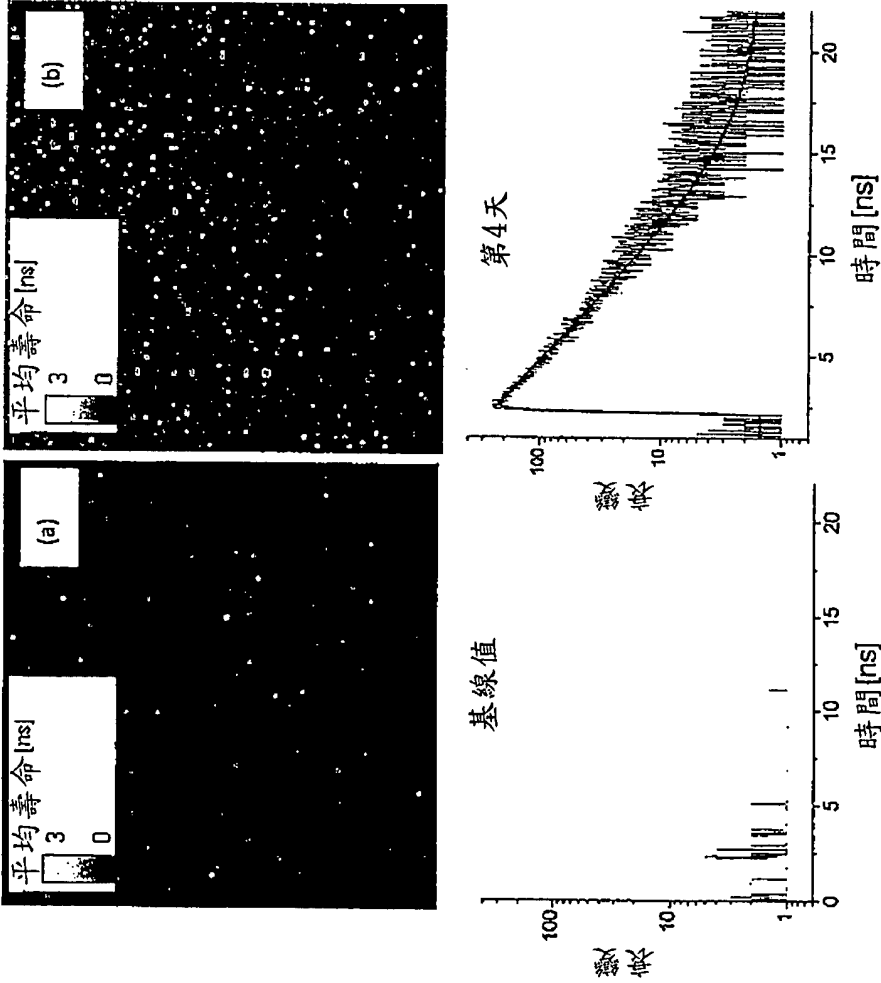


圖11A及圖11B (灰度)

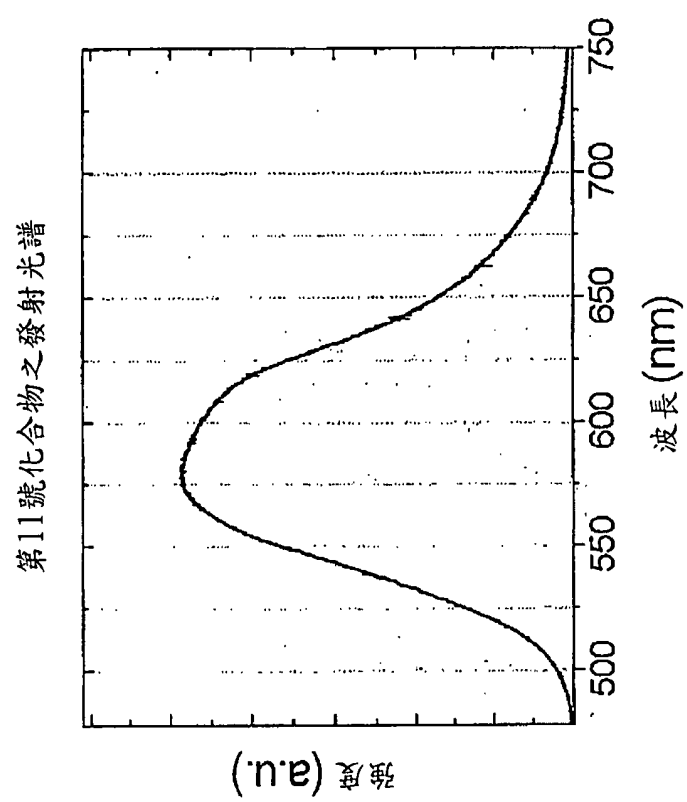


圖12

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：圖 1。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

101：接物鏡

102：突崩光電二極體檢測器（APD）

103：樣品（眼睛）

104：平移台

105：電流計鏡

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無