

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: 20520110153700

UDC _____

厦门大学

博士 学位 论文

基于罗丹明衍生物的酸敏感荧光分子探针在细胞生物学和肿瘤诊断中的应用

Application of rhodamin-based acid sensitive fluorescent probe in
cell biology and tumor diagnosis

李柱

指导教师姓名: 韩守法 教授

专业名称: 化学生物学

论文提交日期: 2016 年 5 月

论文答辩时间: 2016 年 7 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 5 月

**Application of acid sensitive fluorescent probe in cell biology and
tumor diagnosis**

A Thesis Presented

by

Zhu Li

Supervisor: Professor Shoufa Han

Submitted to the Graduated School of Xiamen University

for the Degree of DOCTOR of Science

May, 2016

Department of Chemical Biology, Xiamen University

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- () 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。
- () 2.不保密，适用上述授权。
- (请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人（签名）：

年 月 日

摘要

荧光分子探针具有特异性、专一性、灵敏性、快速便捷以及可视化等优点，近年来逐渐在环境监测、生命科学研究、医学诊断等领域得到重视。尤其是在生物医学领域，人们对于应用荧光探针来检测细胞内环境的变化以及实现肿瘤的可视化诊断越来越有兴趣。细胞内或肿瘤内环境具有特殊的性质，如溶酶体的pH要比其他细胞内囊泡的pH更低，肿瘤的pH比正常组织更低。利用这一性质可以为肿瘤的早期诊断提供思路。本文总结了现有的研究成果，设计了新的酸敏感的荧光分子探针R6G-EDA，基于该探针设计了一系列测定胞内酸度的纳米颗粒，并研究了酸敏感纳米颗粒在肿瘤诊断中的应用。

一、基于罗丹明衍生物“开关环”机理的酸敏感探针R6G-EDA

设计了以罗丹明内酰胺(intra-lactam)的“开关环”(open-closed ring)机理为基础的酸敏感探针R6G-EDA。该探针利用罗丹明这类荧光分子具有酸响应的内酰胺结构“开关环”机理，实现对溶酶体酸度的高灵敏响应。该探针具有低背景，高亮度，抗淬灭，良好的生物兼容性，长时间保留等优点，是一类有前景的溶酶体酸性探针，有希望在生命科学基础研究中广泛应用。

二、基于罗丹明内酰胺的双色二氧化硅荧光纳米颗粒

设计了基于罗丹明内酰胺为响应发光团，偶联有高亮度的荧光分子荧光素(FITC)作为内参，以二氧化硅为载体的双色荧光纳米颗粒，可以实现溶酶体内酸度的高灵敏的比率测定。二氧化硅纳米颗粒具有良好的生物兼容性，该荧光纳米颗粒可以实现细胞内酸度的测定，基于该探针我们用流式细胞仪的方法测定了在细胞凋亡(apoptosis)过程中细胞内溶酶体酸度的变化。

三、罗丹明偶联丹磺酰氯的比率型荧光分子探针Lyso-DR

设计了基于丹磺酰氯(dansyl)共价偶联酸敏感的罗丹明R6G-EDA的比率型荧光小分子探针Lyso-DR，实现细胞内酸性囊泡的pH精确测定。以丹磺酰氯为内参，通过测定罗丹明发光团对酸度的响应，从而精确测定囊泡的酸度。该探针可以精确测定细胞内单个溶酶体的酸度变化。利用该探针我们探索了HeLa细胞和L929细胞的酸度差异，证实了肿瘤细胞酸性强于正常细胞的事实，并用于比较细胞凋亡和细胞坏死时细胞酸度的差异，证明了细胞凋亡时pH要高于细胞坏死时，这

是首次基于图像法得到的比较凋亡和坏死这两种重要信号转导通路的研究。

四、偶联有罗丹明内酰胺的聚苯乙烯马来酸酐高分子纳米在肿瘤成像中的研究

设计了偶联有酸敏感的脱氧罗丹明内酰胺（rhodamin-deoxylactam）的聚苯乙烯马来酸酐高分子，实现小鼠体内肿瘤组织的成像。我们发展了一个比之前工作报道的罗丹明内酰胺（R6G-EDA）更优良的探针脱氧罗丹明内酰胺（rhodamin-deoxylactam, dRB-EDA），该探针具有亮度更高，对酸更加敏感等优点。将此探针偶联在生物兼容性良好的聚苯乙烯马来酸酐高分子上，利用生物体内肿瘤血管的EPR(Enhanced permeability and retention)效应，以及肿瘤细胞比正常组织更酸等特性，实现对肿瘤的特异性聚集和低背景成像。该高分子具有特异性、低背景、良好的生物兼容性、较长的保留时间等优点，有望在肿瘤成像中发挥作用。

五、基于罗丹明脱氧内酰胺检测细胞表面的唾液酸

细胞膜表面唾液酸具有多种生物学功能，如免疫、信号传递等，研究细胞膜表面的唾液酸一直是研究的热点。设计了对醛基灵敏的脱氧内酰胺罗丹明dRB-EDA，可以有效监测细胞表明的唾液酸。和传统唾液酸监测方法不同的是，dRB-EDA只有在和醛基反应后，脱氧内酰胺的环打开才会有荧光，因而具有低背景、高灵敏度等优点。

Abstract

Fluorescence molecular probe has advantages such as specificity, sensitivity, fast, convenient and visualization. In recent years, people pay great attention to its application in environmental monitoring, medical diagnostics, and other fields. Especially in the biomedical field, people have great interests for the application of fluorescent probe to detect cellular changes in the environment and visualization diagnosis of tumors. Environment within cells or tumor has special properties, for examples, lysosomes has a lower pH than that of the other intracellular vesicles, and pH of tumor is lower than those of normal tissue. Use of this nature can offer ideas for the early diagnosis of tumors. This paper summarizes the existing research results, designs a new acid sensitive R6G fluorescence molecular probe, the R6G-EDA. We design a series of intracellular pH responsive nanoparticles based on the probe, and study the application of acid sensitive nanoparticles in cancer diagnosis.

1, pH probes based on ring “open-closed” mechanism of rhodamine

We designed acid sensitive probe R6G-EDA based on rhodamine lactam (intra-lactam) ring "switch" (open-closed ring) mechanism. Using rhodamine lactam structure of this kind of fluorescent molecules with acid response "switch ring" mechanism, the probe realize the high sensitive corresponding lysosome acidity. The probe has a low background, high brightness, resistance to quenching, good biological compatibility, a long retention time, and is a kind of promising lysosome acid probe, hoping to be widely used in the basic research of life science.

2, Ratiometric pH fluorescent probe based on rhodamine lactam

Based on rhodamine lactam in response to the chromophore, we design a two-color fluorescent nanoparticles with silicon dioxide as a carrier, coupled with high brightness of the fluorescent molecules fluorescein (FITC) as an internal, which can realize to dissolve ratio of high sensitive determination of the acidity *in vivo*. Silica nanoparticles has good biological compatibility, the fluorescent nanoparticles can realize the determination of the acidity in cells. We use flow cytometry instrument to determine lysosome acidity change *in vivo* in the process of apoptosis.

3, Dual colored mesoporous silica nanoparticles with pH activable rhodamine-lactam for ratiometric sensing of lysosomal acidity

We designed ratiometric pH fluorescent probe Lyso-DR based on the dansyl chloride (dansyl) covalent coupling acid sensitive rhodamine R6G small molecules, which can realize accurate measurement of the pH value of the acidic vesicle in the cell. With dansyl chloride as internal, we can get accurate pH determination of vesicles through the determination of rhodamine luminophor response to acidity. The probe can measure precise single lysosome acidity change in the cell. Using the probe we explored the difference of acidity between Hela and L929 cell, confirmed the acidity of tumor cells is stronger than that of normal cells, and is used to compare the difference of acidity between apoptosis and necrosis, proved that the pH of apoptosis

cells is higher than the that of necrosis cell, which is the first time to get the comparison of apoptosis and necrosis, the two kinds of important signal transduction pathways, based on imaging methods.

4, Rhodamine-deoxylactam functionalized nanoparticles as lysosome activatable probes for intraoperative detection of tumors

We design polystyrene maleic anhydride polymer, coupled with acid sensitive deoxidization rhodamine lactam (rhodamin-deoxylactam), realize the tumor imaging in mice. We developed an excellent probe rhodamine lactam (rhodamin-deoxylactam), better than the previous reported rhodamine lactam (R6G-EDA). The probe has higher brightness, and is more sensitive to pH. The probe based on polystyrene polymer maleic anhydride, which has good biological compatibility, realized the tumor specific aggregation and low background image using EPR(Enhanced permeability and retention) effect in tumor blood vessels and the much lower pH of tumor tissues. The polymer has specificity, low background, good biological compatibility and longer retention time, is expected to play a role in tumor imaging.

5, Detectioning of sialic acid on cell surfaceusing rhodamine lactam

Sialic acid on the cell membrane surface has a variety of biological functions, such as immunity, signal transmission, while the research on the sialic acid of the cell membrane has always been a research hot spot. We designed deoxidization lactam rhodamine dRB-EDA which has a sensitive aldehyde responding group, can effectively monitor sialic acid on cell surface. Different to traditional sialic acid monitoring method, dRB-EDA will not has fluorescentce until reacting with aldehyde with the deoxidization lactam ring opening, thus has the advantages of low background and high sensitivity.

目 录

| | |
|--|-----|
| 摘要 | I |
| Abstract | III |
| 第一章 绪论 | 1 |
| 1.1 荧光分子概述 | 1 |
| 1.1.1 概述 | 1 |
| 1.1.2 荧光机理 | 1 |
| 1.1.3 种类 | 2 |
| 1.1.4 荧光分子探针的识别设计 | 2 |
| 1.1.4.1 光诱导的电子转移 | 3 |
| 1.1.4.2 分子内电子转移 | 4 |
| 1.2 罗丹明类荧光分子探针的研究进展 | 5 |
| 1.2.1 罗丹明的结构和性质 | 5 |
| 1.2.2 罗丹明类探针的合成 | 6 |
| 1.2.3 罗丹明类探针的应用 | 6 |
| 1.3 酸敏感荧光探针的研究进展 | 8 |
| 1.4 应用于体内肿瘤成像的探针研究进展 | 11 |
| 1.4.1 放射性同位素示踪成像 | 11 |
| 1.4.2 核磁共振成像（Nucler Magnetic Resonance Imaging, MRI） | 12 |
| 1.4.3 超声成像（Ultrasonic contrast） | 12 |
| 1.4.4 光学成像 | 12 |
| 1.5 本论文的研究目的和主要设想 | 14 |
| 参考文献 | 14 |
| 第二章 基于罗丹明衍生物“开关环”机理的酸敏感探针 R6G-EDA | 17 |
| 2.1 前言 | 17 |

| | |
|---|----|
| 2.2 实验部分 | 19 |
| 2.2.1 实验仪器与试剂..... | 19 |
| 2.2.1.1 仪器..... | 19 |
| 2.2.1.2 试剂..... | 20 |
| 2.2.2 实验方法 | 20 |
| 2.2.2.1 标记细胞内溶酶体的方法..... | 20 |
| 2.2.2.2 罗丹明 6G-EDA 和罗丹明 6G 荧光光谱的比较 | 21 |
| 2.2.2.3 罗丹明 6G-EDA 的 PH 滴定..... | 21 |
| 2.2.2.4 罗丹明 6G-EDA 的专一性和选择性的测定..... | 21 |
| 2.2.2.5 用罗丹明 6G-EDA 观察 L929 细胞内的自吞噬小泡..... | 21 |
| 2.2.2.6 罗丹明 6G-EDA 在 L929 细胞内保留时间的观察..... | 21 |
| 2.2.2.7 罗丹明 6G-EDA 低背景观察 | 22 |
| 2.2.2.8 罗丹明 6G-EDA 和 LysotrackerGreen 的抗光淬灭研究. | 22 |
| 2.2.2.9 罗丹明 6G-EDA 的细胞毒性分析 | 22 |
| 2.2.2.10 在凋亡的 L929 细胞中实时监测溶酶体的形态 | 22 |
| 2.3 结果和讨论 | 23 |
| 2.3.1 R6G-EDA 的酸敏感性检测 | 23 |
| 2.3.2 R6G-EDA 对酸的选择性选择性响应 | 24 |
| 2.3.3 R6G-EDA 对活细胞的染色和成像 | 25 |
| 2.3.4 用 R6G-EDA 检测细胞内的自吞噬囊泡 | 27 |
| 2.3.5 R6G-EDA 在活细胞中保留时间的研究 | 29 |
| 2.3.6 R6G-EDA 的细胞毒性测试 | 30 |
| 2.3.7 R6G-EDA 的抗光淬灭研究 | 30 |
| 2.3.8 R6G-EDA 在细胞中低背景的研究 | 32 |
| 2.3.9 使用 R6G-EDA 在凋亡细胞中对溶酶体的形态进行观察 | 32 |
| 2.4 本章小结 | 34 |
| 参考文献 | 34 |
| 第三章 基于罗丹明内酰胺的 pH 比率型荧光探针 | 38 |

| | |
|--|----|
| 3.1 前言 | 38 |
| 3.2 实验部分 | 39 |
| 3.2.1 实验仪器与试剂..... | 39 |
| 3.2.1.1 试剂..... | 39 |
| 3.2.1.2 仪器和软件 | 39 |
| 3.2.2 方法 | 40 |
| 3.2.2.1 合成 R6G-lactam-diethylenetriaminde (R6G-DTA) | 40 |
| 3.2.2.2 Lyso-DR 的合成..... | 40 |
| 3.2.2.3 Dansyl-EDA-R6G 的合成 | 41 |
| 3.2.2.4 在溶液中用双波长激发检测 Lyso-DR 和 Dansyl-R6G, 观察其对 pH 的比率变化 | 41 |
| 3.2.2.5 在溶液中用单波长激发检测 Lyso-DR 观察其对 pH 的比率变化 | 41 |
| 3.2.2.6 将 Lyso-DR 用于活细胞的溶酶体标记 | 42 |
| 3.2.2.7 将 Lyso-DR 用于活细胞的溶酶体标记, 进行 pH 依赖性研究 | 42 |
| 3.2.2.8 将 Lyso-DR 用于活细胞的溶酶体标记, 并进行活细胞的 pH 滴定 | 42 |
| 3.2.2.9 用 Lyso-DR 分析活细胞内单个溶酶体的酸度变化..... | 42 |
| 3.2.2.10 在细胞的凋亡和坏死中进行溶酶体酸度的比率型计算 | 43 |
| 3.2.2.11 对 Lyso-DR 进行细胞毒性测试 | 43 |
| 3.3 结果和讨论 | 43 |
| 3.3.1 Lyso-DR 在溶液中的 pH 滴定 | 43 |
| 3.3.2 研究 Lyso-DR 在细胞内的分布 | 45 |
| 3.3.3 Lyso-DR 和其结构类似物的比较 | 46 |
| 3.3.4 Lyso-DR 在质子泵抑制剂破坏酸度的环境中的研究 | 47 |
| 3.3.5 用 Lyso-DR 对尼日尼亚素处理的细胞模型中溶酶体酸度的研 | |

| | |
|---|-----------|
| 究..... | 48 |
| 3.3.6 用 Lyso-DR 对细胞内单个溶酶体进行成像..... | 49 |
| 3.3.7 用 Lyso-DR 对细胞内单个溶酶体进行成像和精确测量..... | 51 |
| 3.3.8 在凋亡和坏死细胞中用 Lyso-DR 研究二者溶酶体酸度的不同..... | 52 |
| 3.3.9 细胞毒性实验..... | 54 |
| 3.4 本章小结 | 55 |
| 参考文献 | 55 |
| 第四章 双荧光二氧化硅纳米颗粒的 pH 比率型荧光探针 | 59 |
| 4.1 前言 | 59 |
| 4.2 实验部分 | 60 |
| 4.2.1 试剂和仪器..... | 60 |
| 4.2.1.1 试剂..... | 60 |
| 4.2.1.2 仪器..... | 60 |
| 4.2.2 实验方法 | 61 |
| 4.2.2.1 合成 R6G-APTS..... | 61 |
| 4.2.2.2 合成 FITC-APTS..... | 61 |
| 4.2.2.3 合成含有 R6G 和 FITC 的双荧光二氧化硅纳米颗粒 R6G-FITC-MSN | 61 |
| 4.2.2.4 将二氧化硅纳米颗粒上修饰聚乙二醇 PEG | 62 |
| 4.2.2.5 对合成好的 R6G-FITC-MSN 以及 PEG 化修饰的 MSN 进行表征 | 62 |
| 4.2.2.5 在水溶液中对 R6G-FITC-MSN 进行双波长激发的 pH 比率型测定 | 63 |
| 4.2.2.6 在水溶液中对 R6G-FITC-MSN 进行单波长激发的 pH 比率型测定 | 64 |
| 4.2.2.7 对 R6G-FITC-MSN 进行离子和干扰物的选择性分析 .. | 64 |
| 4.2.2.8 研究 R6G-FITC-MSNs 在活细胞中被溶酶体内吞 | 64 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.2.9 用 R6G-FITC-MSN 对细胞内的溶酶体酸度进行滴定 .. | 64 |
| 4.2.2.10 在 L929 细胞中对溶酶体酸度进行比率型测定。 | 65 |
| 4.2.2.11 用 R6G-FITC-MSN 研究 L929 细胞发生凋亡时溶酶体酸度的变化 | 65 |
| 4.2.2.12 对 R6G-FITC-MSN 在细胞中存留时间的长短对溶酶体 pH 的影响进行分析 | 65 |
| 4.3 结果和讨论 | 65 |
| 4.3.1 罗丹明内酰胺和荧光素标记的二氧化硅纳米颗粒的合成..... | 65 |
| 4.3.2 R6G-FITC-MSN 的化学表征 | 67 |
| 4.3.3 双荧光 R6G-FITC-MSN 对 pH 响应的体外测定..... | 68 |
| 4.3.4 单波长激发的 R6G-FITC-MSN 对 pH 响应的体外测定 | 69 |
| 4.3.5 R6G-FITC-MSN 对溶酶体 pH 专一性研究 | 70 |
| 4.3.6 R6G-FITC-MSN 在细胞内定位的研究..... | 71 |
| 4.3.7 R6G-FITC-MSN 在细胞内对酸性响应的研究 | 71 |
| 4.3.8 R6G-FITC-MSN 在细胞内对酸性响应的比率型研究..... | 72 |
| 4.3.9 应用 R6G-FITC-MSN 监测细胞坏死过程中细胞内溶酶体的 pH 值的变化 | 74 |
| 4.4 小结 | 75 |
| 参考文献 | 76 |
| 第五章 罗丹明脱氧内酰胺作为溶酶体酸响应的 pH 探针应用于手术内的肿瘤检测 | 82 |
| 5.1 前言 | 82 |
| 5.2 实验部分 | 84 |
| 5.2.1 试剂和仪器..... | 84 |
| 5.2.1.1 试剂..... | 84 |
| 5.2.1.2 仪器和软件 | 84 |
| 5.2.2 实验方法 | 85 |

| | |
|---|-----------|
| 5.2.2.1 dRB-EDA, dRB-amine and RB-EDA 的合成。 | 85 |
| 5.2.2.2 dRB-EDA, dRB-amine and RB-EDA 的 pH 滴定 | 85 |
| 5.2.2.3 在 L929 细胞中将 dRB-EDA 和 LysotrackerGreen 或者 DAPI 共染 | 86 |
| 5.2.2.4 验证活细胞中 dRB-EDA 对溶酶体的染色是 pH 依赖性的 | 86 |
| 5.2.2.5 检测 dRB-EDA 对细胞的毒性 | 86 |
| 5.2.2.6 合成并鉴定 PSSM-dRB, PSM-1-dRB, and PSM-1-dRB . | 86 |
| 5.2.2.7 对 PSSM-dRB, PSM-1-dRB 和 PSM-1-dRB 进行 pH 滴定 | 87 |
| 5.2.2.8 用 PSSM-dRB, PSM-1-dRB 和 PSM-1-dRB 标记 L929 细胞的溶酶体 | 87 |
| 5.2.2.9 在 L929 细胞中测试 dRB-EDA, PSSM-dRB, PSM-1-dRB 和 PSM-2-dRB 的细胞毒性..... | 87 |
| 5.2.2.10 在 L929 细胞中测试 dRB-EDA, PSSM-dRB, PSM-1-dRB 和 PSM-2-dRB 在溶酶体中的保留时间 | 88 |
| 5.2.2.11 观察荧光高分子纳米颗粒 dRB-EDA, PSSM-dRB, PSM-1-dRB 和 PSM-2-dRB 在小鼠肿瘤中的成像 | 88 |
| 5.2.2.12 PSSM-dRB 在小鼠体内肿瘤中保留时间的测试 | 88 |
| 5.3 结果和讨论 | 88 |
| 5.3.1 dRB-EDA 和 RB-EDA 荧光分子荧光属性的比较 | 88 |
| 5.3.2 dRB-EDA 在活细胞内定位和酸敏感响应的研究 | 90 |
| 5.3.3 证明 dRB-EDA 在细胞内酸响应的研究..... | 91 |
| 5.3.4 合成和鉴定脱氧罗丹明内酰胺(dRB-EDA)修饰的高分子纳米颗粒..... | 92 |
| 5.3.5 验证 PSSM-dRB 对酸敏感的响应 | 95 |
| 5.3.6 验证荧光高分子纳米在细胞溶酶体内的定位..... | 97 |
| 5.3.7 荧光纳米颗粒高分子在细胞内的保留时间和毒性试验 | 100 |
| 5.3.8 应用荧光高分子纳米颗粒标记小鼠体内的肿瘤 | 102 |

| | |
|--------------------------------------|------------|
| 5.3.9 荧光纳米颗粒在小鼠体内肿瘤中保留时间的测定 | 105 |
| 5.4 本章小结 | 106 |
| 参考文献 | 106 |
| 第六章 基于罗丹明脱氧内酰胺检测细胞表面的唾液酸..... | 110 |
| 6.1 前言 | 110 |
| 6.2 实验部分 | 112 |
| 6.2.1 试剂和仪器..... | 112 |
| 6.2.1.1 试剂..... | 112 |
| 6.2.1.2 仪器..... | 112 |
| 6.2.2 dRB-EDA 的合成 | 113 |
| 6.2.3 溶液中 dRB 和罗丹明 B 对甲醛反应的比较..... | 117 |
| 6.2.5 溶剂对 dRB-EDA 响应甲醛的影响 | 118 |
| 6.2.6 dRB-EDA 及其结构类似物对甲醛的不同响应..... | 119 |
| 6.2.7 dRB-EDA 对甲醛灵敏度的响应 | 119 |
| 6.2.8 dRB-EDA 对不同醛类灵敏度的响应 | 119 |
| 6.2.9 用 dRB-EDA 标记活细胞表面的糖蛋白..... | 119 |
| 6.3 结果和讨论 | 120 |
| 6.3.1 dRB-EDA 的合成及其对醛基响应的机制..... | 120 |
| 6.3.2 dRB-RDA 对甲醛响应的条件的探索 | 122 |
| 6.3.3 dRB-EDA 对甲醛反应的机理探索 | 124 |
| 6.3.4 dRB-EDA 标记活细胞表明的糖蛋白 | 126 |
| 6.4 本章小结 | 127 |
| 参考文献 | 129 |
| 作者攻读博士学位期间发表论文 | 143 |
| 致谢 | 145 |

Table of contents

| | |
|---|------------|
| Abstract in Chinese | I |
| Abstract in English | III |
| Chapter 1. Overview | 1 |
| 1.1 Fluorescent probes | 1 |
| 1.1.1 Overview | 1 |
| 1.1.2 Mechanism of fluorescent probes | 1 |
| 1.1.3 Category of fluorescent probes | 2 |
| 1.1.4 Sensor mechanism of fluorescent probe design | 2 |
| 1.4.1.1 Photoinduces Electron Transfer | 3 |
| 1.4.1.2 Intramolecular Charge Transfer | 4 |
| 1.2 New developments of rhodamine fluorescent probes | 5 |
| 1.2.1 Structure of rhodamine fluorescent probes | 5 |
| 1.2.2 Synthesis of rhodamine fluorescent probes | 6 |
| 1.2.3 Applicaion of rhodamine fluorescent probes | 6 |
| 1.3 New developments of pH sensitive fluorescent probes | 8 |
| 1.4 New developments of probes applied in tumor imaging <i>in vivo</i> | 11 |
| 1.4.1 Radioisotope tracer imaging | 11 |
| 1.4.2 Nucler Magnetic Resonance Imaging | 12 |
| 1.4.3 Ultrasonic contrast | 12 |
| 1.4.4 Optics imaging | 12 |
| 1.5 Proposal of dissertation | 14 |
| Reference | 14 |
| Chapter 2. pH probes based on ring “open-cloesed” mechanism of rhodamine | 17 |

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.