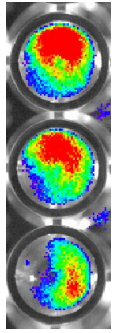


UCCH Core Facility für Optical *in vivo* Imaging



Optical Imaging (OI) basiert auf der Detektion von Licht, das von lebenden Zellen emittiert und für molekulare Bildgebung angewendet werden kann. Als Signalquelle dient die Biolumineszenz (Bioluminescence Imaging: **BLI**) oder die Fluoreszenz (Fluorescence Imaging: **FLI**). Detektiert wird das emittierte Licht durch eine äußerst sensitive, signalverstärkende cooled charge-coupled device (CCD) Kamera.

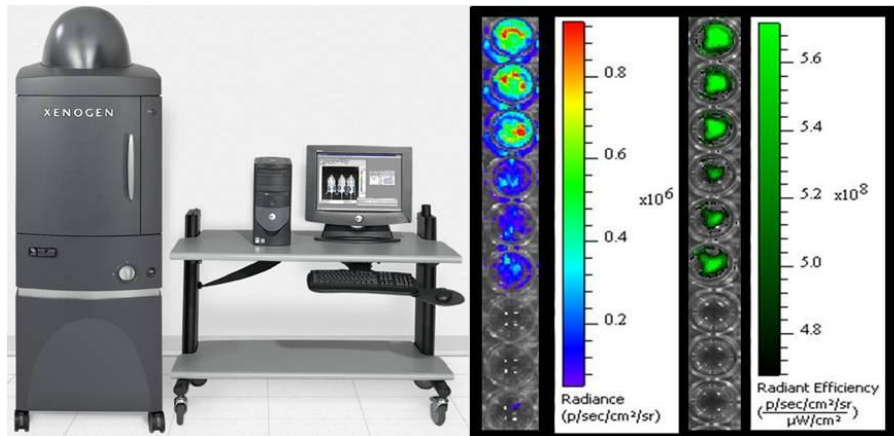
Für das **BLI** wird ein Reporter-Gen in die Zielzellen oder Gewebe eingebracht, das die genetische Information für das lichtgenerierende Enzym Luziferase enthält. Luziferasen stammen meist vom nordamerikanischen Glühwürmchen (*Photinus pyralis*) und von der Seequalle (*Renilla reniformis*). Die Firefly Luziferase von *Photinus pyralis* setzt ihr Substrat, D-Luciferin, in Oxyluciferin um und emittiert grünes Licht mit einer Wellenlänge von 562 nm. *Renilla* Luziferase von *Renilla reniformis* hingegen benutzt das Substrat Coelenterazin und emittiert blaues Licht mit einer Wellenlänge von 482 nm. Zellen welche dieses Enzym exprimieren oxidieren das Substrat Luziferin in Anwesenheit von Sauerstoff und ATP und erzeugen dabei sichtbares Licht. Da das Gewebe von Säugern kein Licht emittiert, ist ein Vorteil von *in vivo* **BLI** das sehr geringe Hintergrundsignal. So können bereits eine geringe Menge an Zellen *in vivo* nachgewiesen und visualisiert werden (5-500).

Für **FLI** werden fluoreszierende Proteine oder Farbstoffe verwendet, die durch eine externe Lichtquelle angeregt werden müssen. Die meist genutzten fluoreszierenden Proteine sind GFP (green fluorescent protein) und RFP (red fluorescent protein). Der Vorteil dieser Proteine ist, dass das Signal substratunabhängig ist. Der Nachteil von FLI liegt in einer erhöhten Autofluoreszenz und dem damit einhergehenden Hintergrundrauschen, welche durch endogene Moleküle, wie etwa Hämoglobin oder Cytochrome erzeugt werden.

Vorteile gegenüber anderen bildgebenden Verfahren:

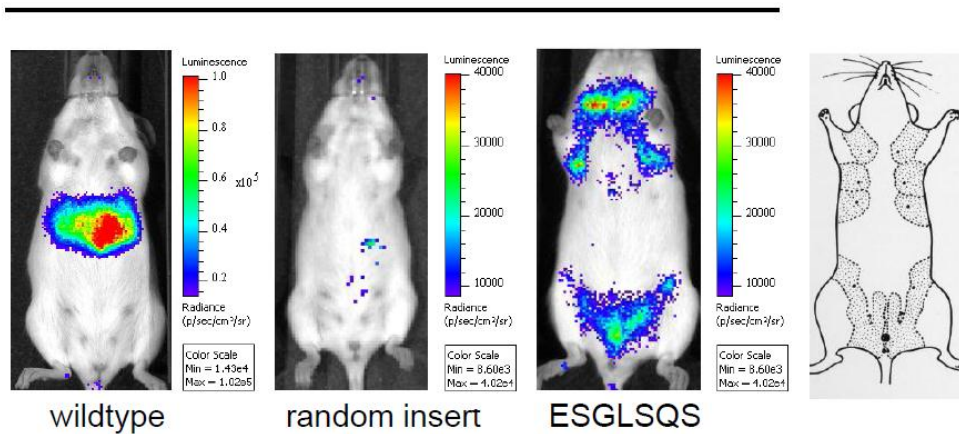
- -große Sensitivität
- -geringe Messdauer
- -Ermöglicht high-throughput Messungen
- -Longitudinale Studien am selben Objekt oder Tier
- -Anzahl der Versuchstiere wird deutlich reduziert (RRR)
- -Nicht invasiv
- -Breites Anwendungsspektrum

Beispiele



Links: IVIS200 Imaging System mit XGI-8 Anästhesie Kammer und PC. Rechts: Optical Imaging von Tumorzellen *in vitro*: Humane Tumorzellen wurden mit kapsidmodifiziertem viralen Vektoren auf Basis des adeno-assoziierten Virus (AAV) infiziert, welcher die Expression von Luziferase (links) und die von eGFP (rechts) ermöglicht. Das Ivis200 ermöglicht den optischen und quantitativen Nachweis der Genexpression.

PymT +/T



In vivo Biolumineszenz –Imaging der Luziferase Genexpression nach systemischer Injektion von kapsidmodifizierten Vektoren auf Basis adeno-assoziierten Viren einem transgenen Mammakarzinom-Mausmodell. Links: Während Vektoren mit wildtyp-AAV-Kapsid v.a. die Leber transduziert ermöglicht das Kapsid mit der Peptidvariante ESGLSQS eine selektive Transduktion des Tumorgewebes. Rechts: Schema der Anordnung des Brustdrüsengewebes der Maus, das im hier verwendeten Modell als ganzes maligne entartet ist (aus: *Biology of the Laboratory Mouse*, *The Jackson Laboratory*).

Das Ivis200-Gerät unserer Core Facility ermöglicht *in vivo* Imaging von:

- Biolumineszenz (BLI)
- Fluoreszenz (FLI)
- 3D Analyse

Modelle und Anwendungsbereiche:

- Zelllinien und Primärzellen
- Mikroorganismen
- Transgene Mausmodelle
- Zelluläres Trafficking
- Disseminierung und Metastasierung von Tumorzellen
- Therapieeffekte
- Wirkstoffentwicklung and Metabolismus
- Toxikologie
- Infektionserkrankungen Infektionsprozesse
- Stammzellen & Transplantation
- Entzündung
- Protein-Protein-Interaktionen

Die UCCH Optical Imaging Core Facility bietet Ihnen diese Funktionen auf einer Fee-for-Service-Basis deutlich unterhalb des Selbstkostenpreises an.

KONTAKT

**Core Facility für Optical Imaging
Universitäres Cancer Center Hamburg (UCCH) @ AG Trepel
Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf
Campus Forschung (N27)
Martinistr.52
20246 Hamburg**

Telefon: 040 / 7410 – 58751

Ansprechpartner: Dr. Stefan Michelfelder

Email: s.michelfelder@uke.de