

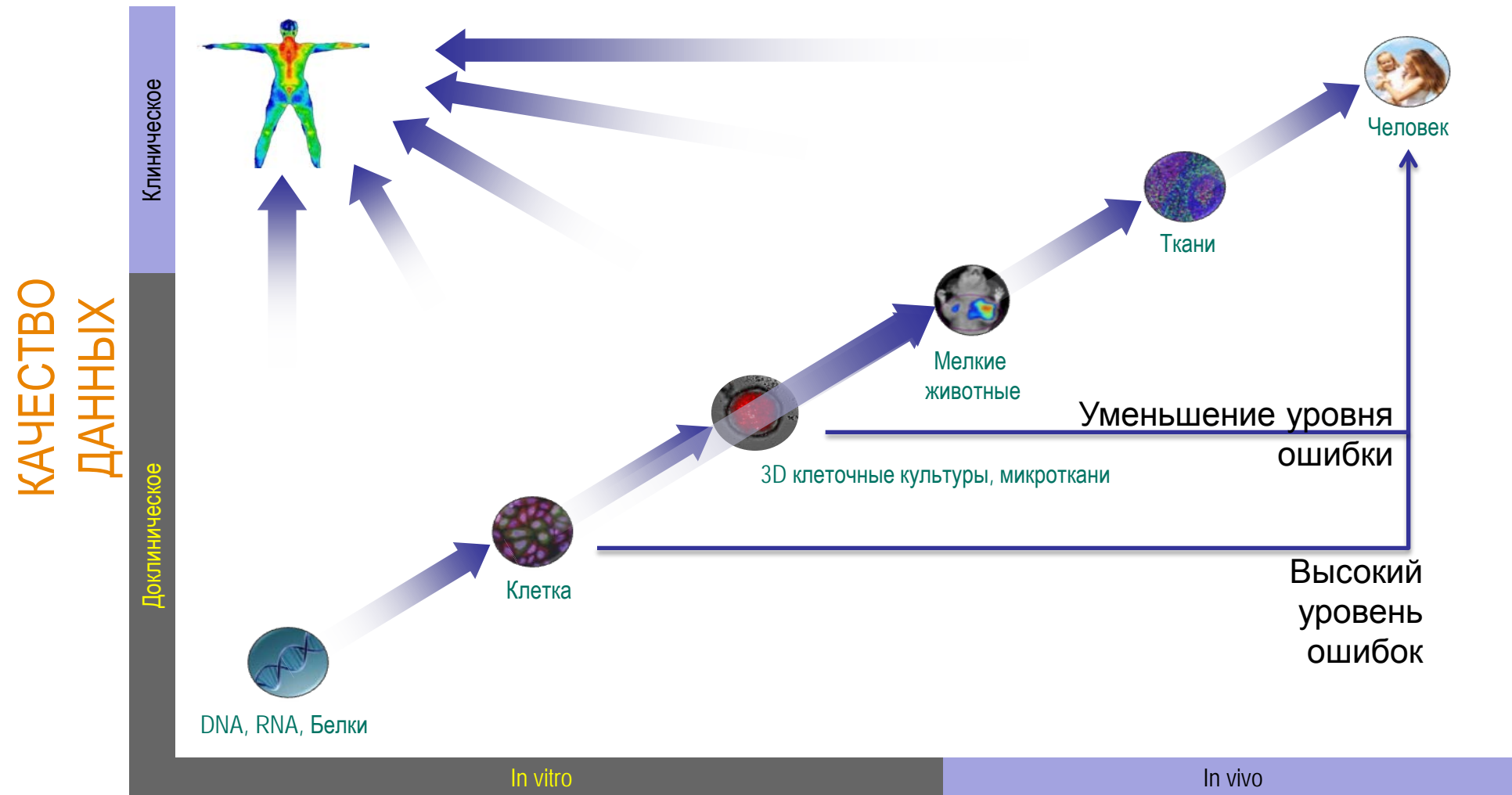


Имиджинг In Vivo

Открытия со скоростью света

Чалов Сергей Евгеньевич (кхн)





СТОИМОСТЬ ТЕСТИРОВАНИЯ

Хорошее понимание *in vitro* – уменьшению рисков нового соединения

Локализовать, Определить и Рассчитать значения на системах PKI

ДНК

РНК

Белок

Клетка

Организм

The image displays various scientific instruments and diagrams corresponding to each level of biological organization:

- ДНК (DNA):** Includes a diagram of a DNA double helix with a probe and HRP enzyme, and a Koba® Fluorimetric CCD Imager.
- РНК (RNA):** Includes a diagram of FRET (Förster Resonance Energy Transfer) between a donor and acceptor fluorophore, and a plate reader.
- Белок (Protein):** Includes a diagram of a protein structure with various isotopes (131I, 3H, 51Cr, 32P, 111In, 14C, 35S, 33P, 25I) and a fluorescence microscope.
- Клетка (Cell):** Includes a diagram of a cell with a probe and a plate reader.
- Организм (Organism):** Includes a diagram of a cell with a probe and a plate reader.

Additional scientific equipment shown includes:

- Microscopes (fluorescence and confocal)
- Plate readers (e.g., Columbus™)
- Imaging systems (e.g., Velocity, Acapella™)
- Test tubes and vials
- Computer workstations

МИКРОСКОПИЯ

UltraVIEW® VoX 3D
Система для работы
на клеточном уровне
в реальном времени

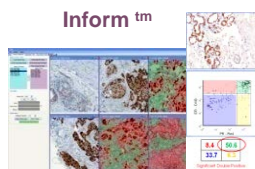


Velocity®
Программное
обеспечение для
работы с 3D
изображениями



Columbus™ Серверное
программное обеспечение
для работы с данными и
проведением анализа

Vectra™
Система для
анализа тканей



- Программное обеспечение
- Морфологический анализ тканей
- Количественная оценка
- Анализ тканей на клеточном уровне
- "Тканевая цитометрия"

СКРИНИНГ



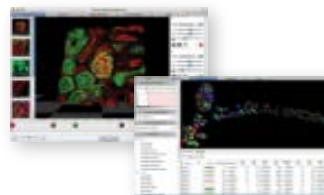
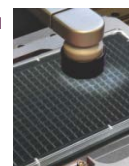
Opera® Полностью
авторизованная
система
высокоскоростного
скрининга клеточных

Operetta® система
высокоскоростного
скрининга
клеточных
культур



cell::explorer™
Автоматизированная
платформа

Микропланшеты



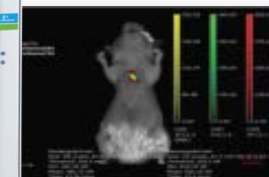
Velocity 3D Image
Программное
обеспечение

Columbus – Программное
обеспечение сервера для
сохранения и проведения
анализа данных



Флуоресцентные
красители, *in vitro*

ДОКЛИНИКА



FMT® Система для
визуализации *in vivo*

I vis-Spectrum CT Система
оптической визуализации
нескольких объектов с
возможностью
проведения
компьютерной
томографии *in-vivo*



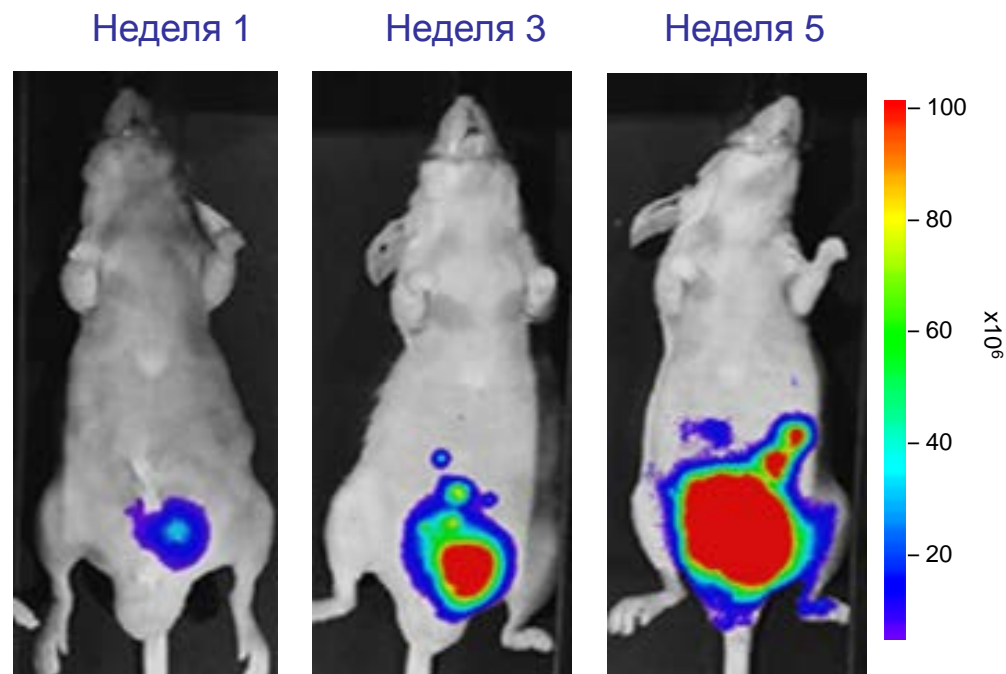
Многофункциональные
модули для
животных

Флуоресцентные
красители, *in vivo*



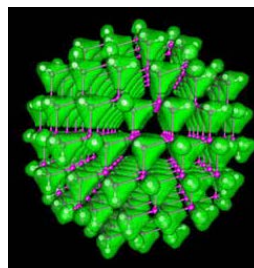
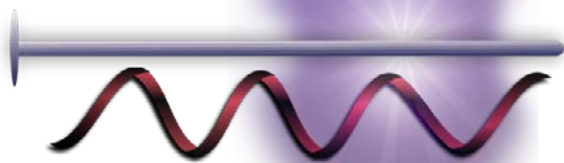
Зачем делается оптический имидж ?

- Оптический имиджинг - технология которая позволяет измерять свет, продуцируемый живыми животными моделями.
- Это позволяет контролировать биологические процессы (экспрессия генов) в реальном времени на живых модельных системах.



Репортерные молекулы

Люцифераза,
флуоресцентные белок



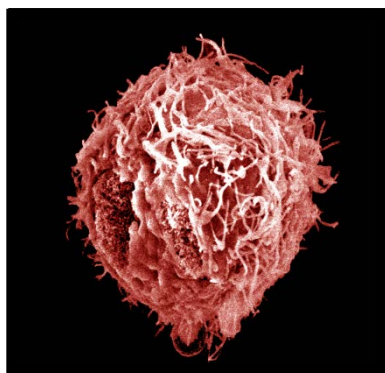
Квантовые точки

Флуоресцентные красители

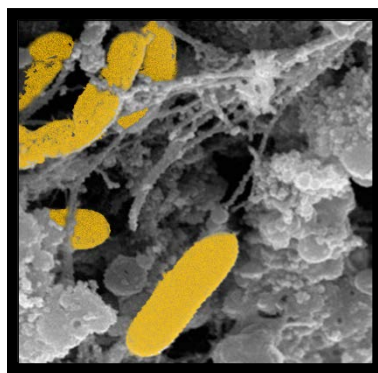


АТФ и O₂ требуется для Люциферазы

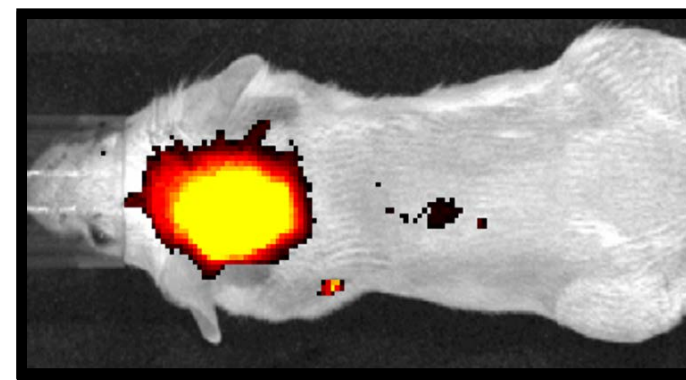
Меченные клетки



Меченные бактерии



Меченные гены



Почему оптический имидж?

In vivo контролирование и мониторинг опухолевых-клеток, стволовые клетки, бактерии
Изучение функций генов

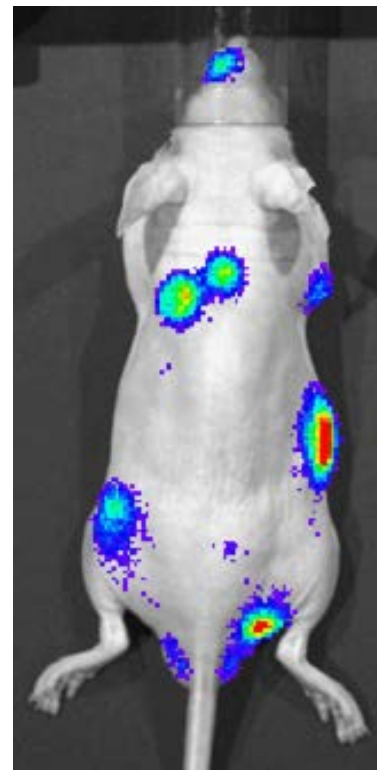
- Свет продуцируется трансгенными животными

Идеально для имиджинга небольших животных

- Небольшая глубина тканей
- Довольно простое оборудование
- Нет радиации
- Легко обучаться

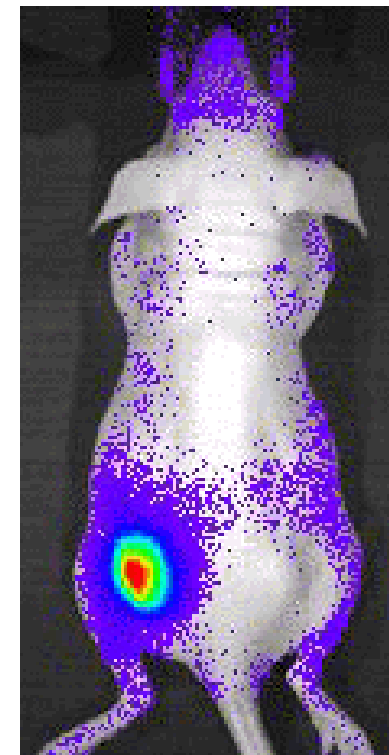
Количественная оценка –
испускаемый свет пропорционален количеству меченных клеток

Биолюминесценция



B16F10-luc
меланома
метастазы

Флуоресценция



PC3M клетки
меченные с
красителем
PKH-26

Lumina III: система детекции флуоресценции/биolumинесценции



Lumina III XR: система с рентгеновским излучением



Kinetic III: система с режимом высокоскоростной съемки в реальном времени



Ivis-Spectrum: система количественной 3-х мерной визуализации



FMT: система для флуоресцентной томографии



Ivis Spectrum CT: система 3-х мерной количественной визуализации с возможностью компьютерной томографии



Maestro 2: полностью автоматизированная системы для флуоресцентной томографии

Quantum FX: система для проведения компьютерной томографии



Maestro EX: система для детекции флуоресценции

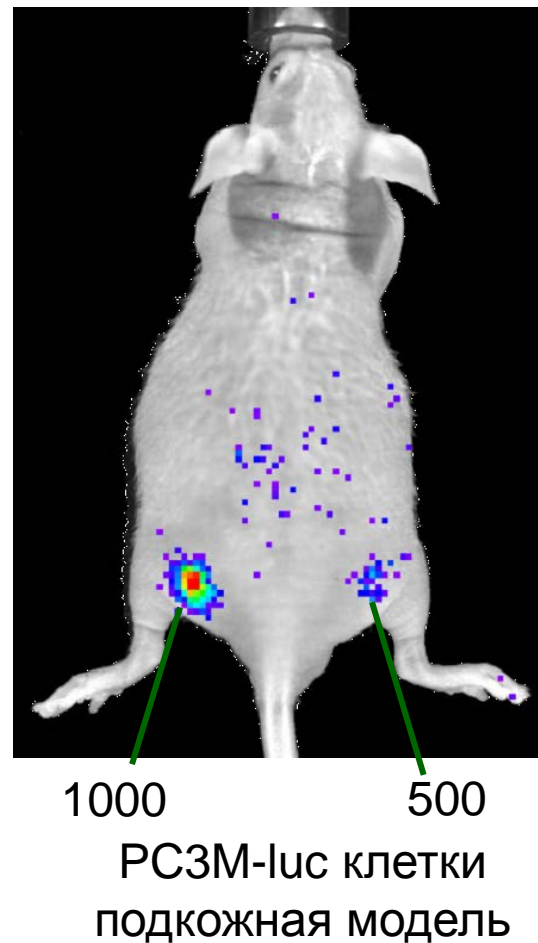
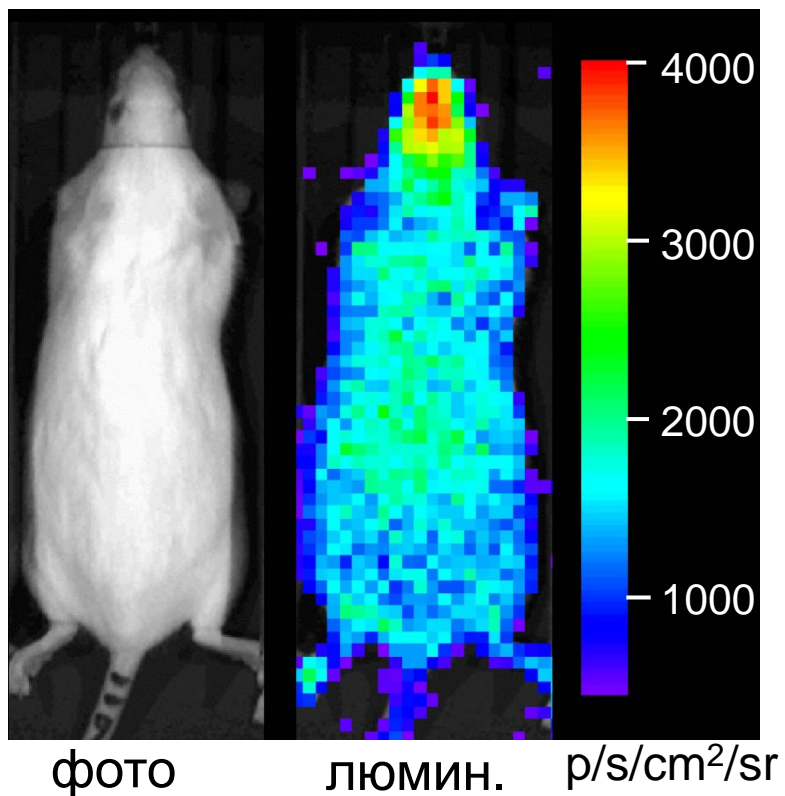


система детекции флуоресценции/биolumинесценции



Чувствительность билюминесцентной детекции

Низкий уровень фона
аутолюминесценции в живых
моделях

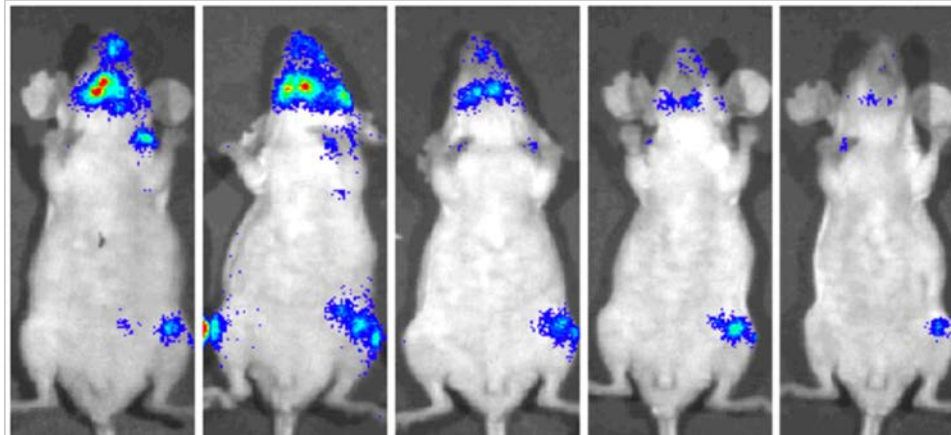


Онкология: Экспериментальная метастатическая модель

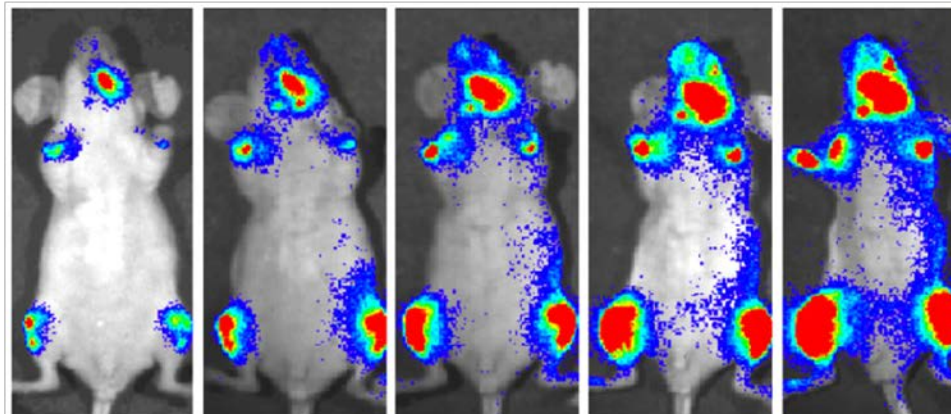
PC-3M-luc (3x10⁶ клеток, интракардиальное введение)

день 20 день 23 день 27 день 30 день 34

Paclitaxel
Начало на 20 день



Placebo



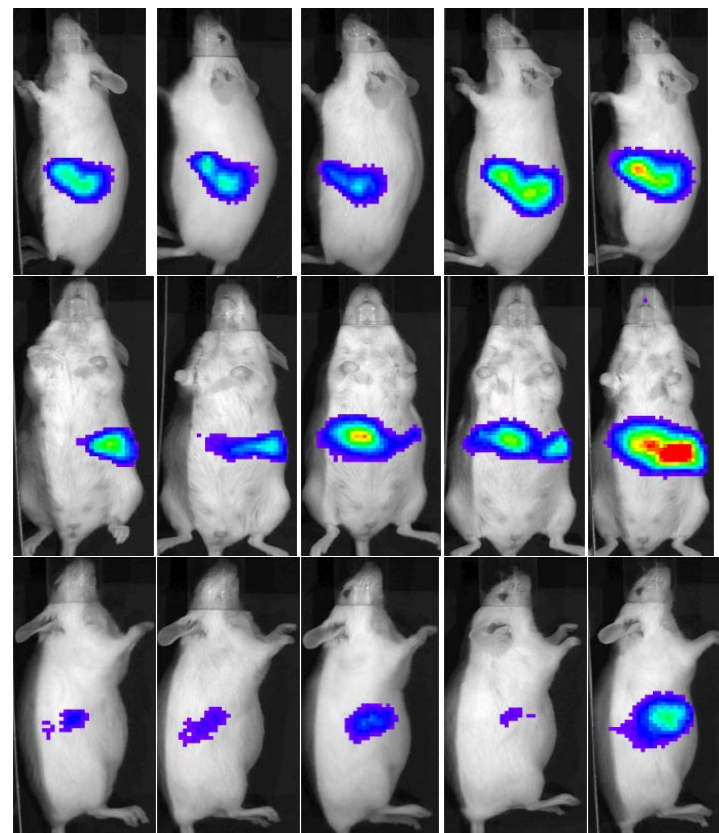
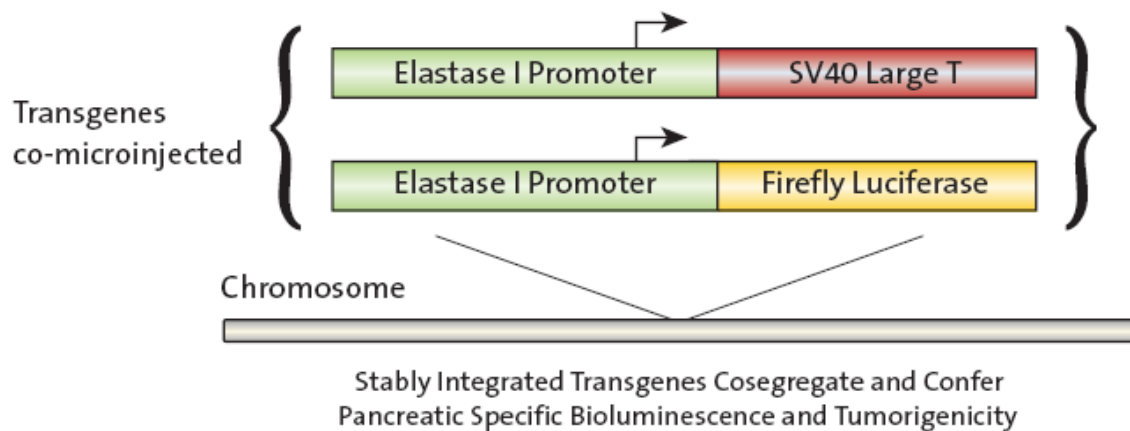
Источник: Корпорация Novartis
Институт для биохимических
исследований / Xenogen Corporation

Трансгенные животные:

Модель (панкреатической аденокарциномы): EL1-Luc/EL1-TAg мышь (OncoMouse®)

Эластаза I обеспечивает трансгенную экспрессию
в Асинар клетках поджелудочный железы

человеческая
панкреатическая аденокарцинома

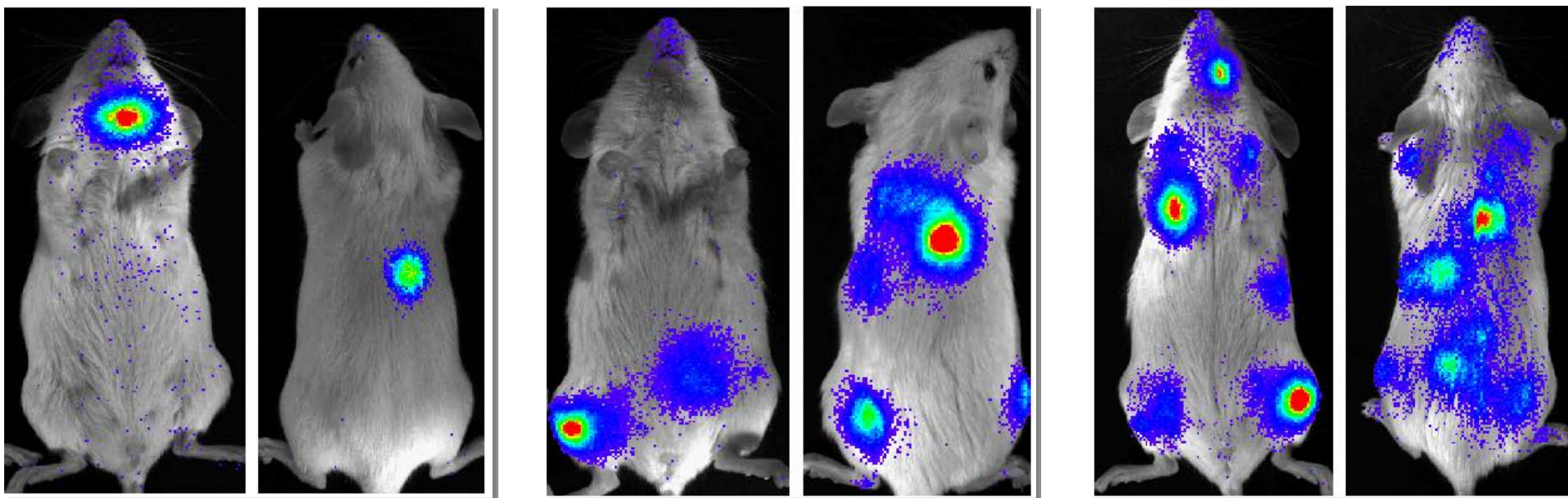


6 weeks 7 weeks 8 weeks 9 weeks 10 weeks

Трансгенные животные: адаптивный трансфер

используются донорские клетки и ткани из конститутивных LPTAs
(трансгенных мышей, продуцирующих свет)

Привитые фракции HSC (гемопозитические стволовые клетки)



10 HSC

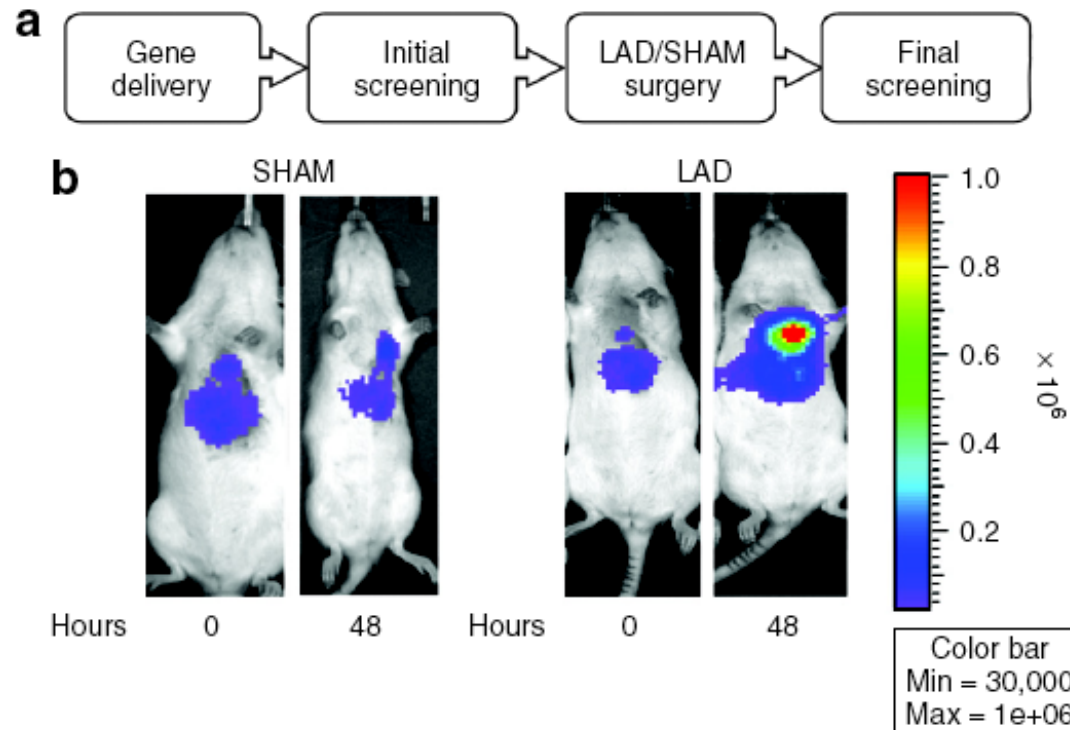
50 HSC

250 HSC

Cao *et al*, 2004

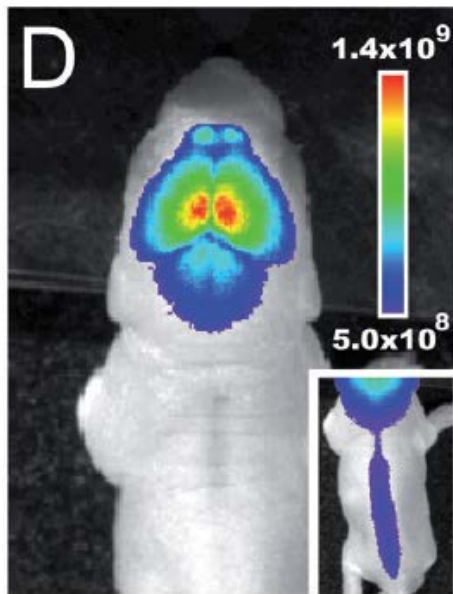
Кардиология: неинвазивный мониторинг гипоксии в сердечной мышце, после ишемической болезни

Уникальная вектор-основанная система, регулирующая гипоксию с двойными кислород-чувствительными транскрипционными элементами, была разработана для быстрой и надежной гипоксия-регулируемой экспрессии генов в сердце



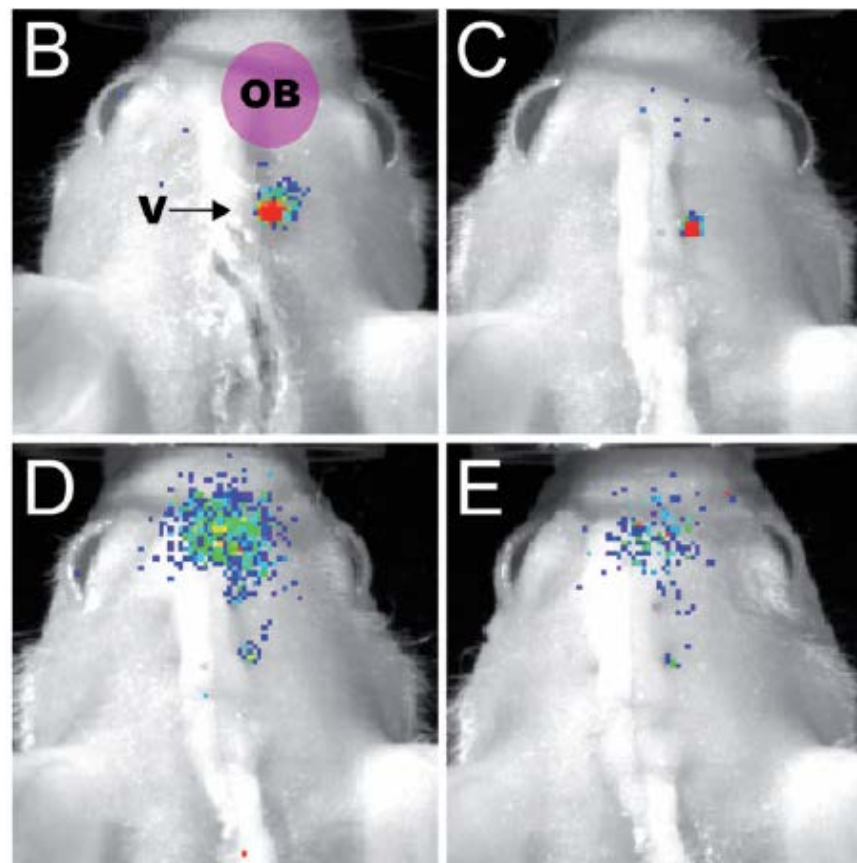
Нейрология: Оптический имиджинг при нейрогенезе

Doublecortin (DCX) специфически быстро экспрессирующийся в популяции нейрональных клеток-предшественников и молодых нейронов



Однодневная опухоль DCX-промолюцеферазная мышь

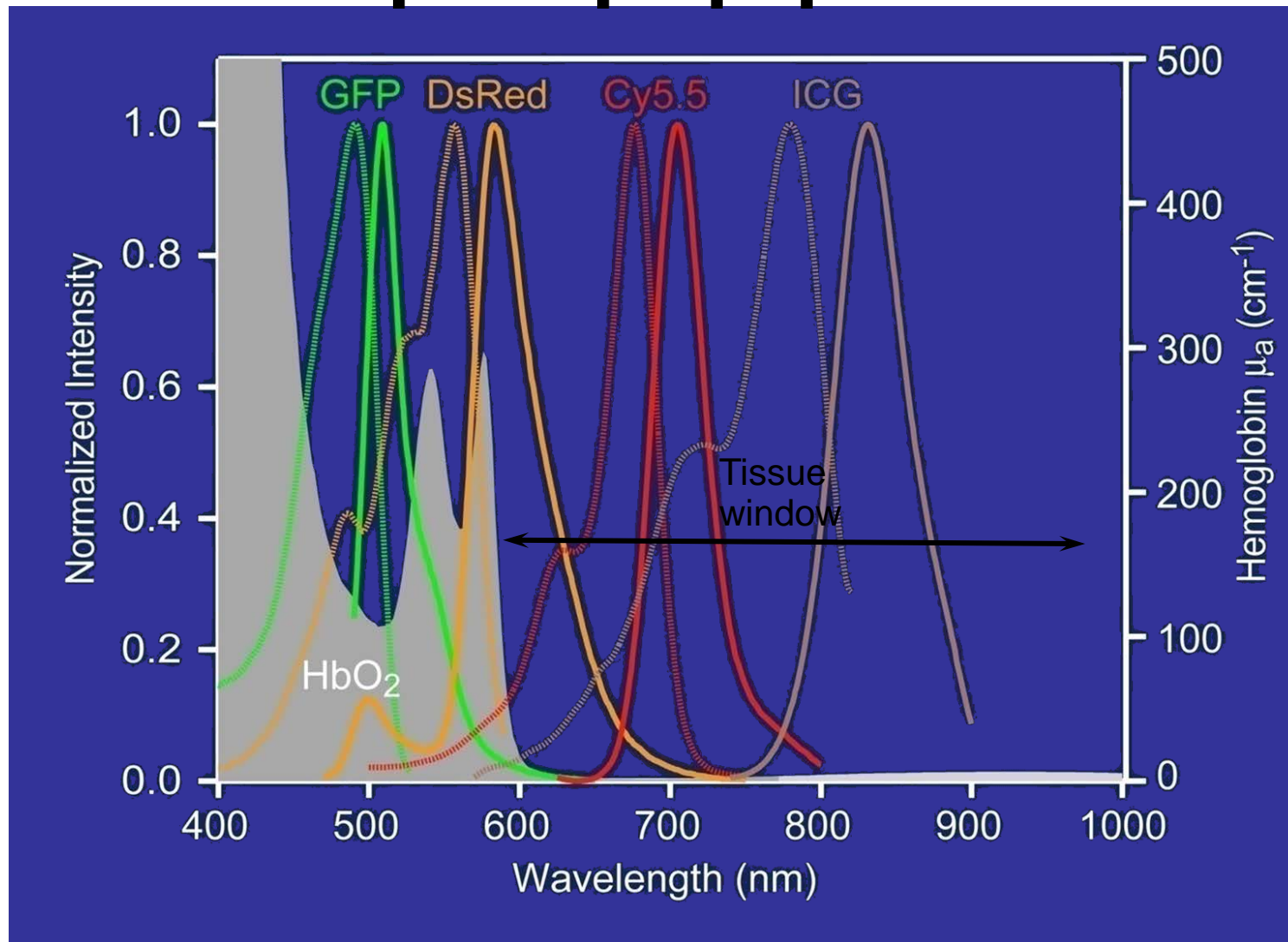
Couillard-Despres *et al.* 2008



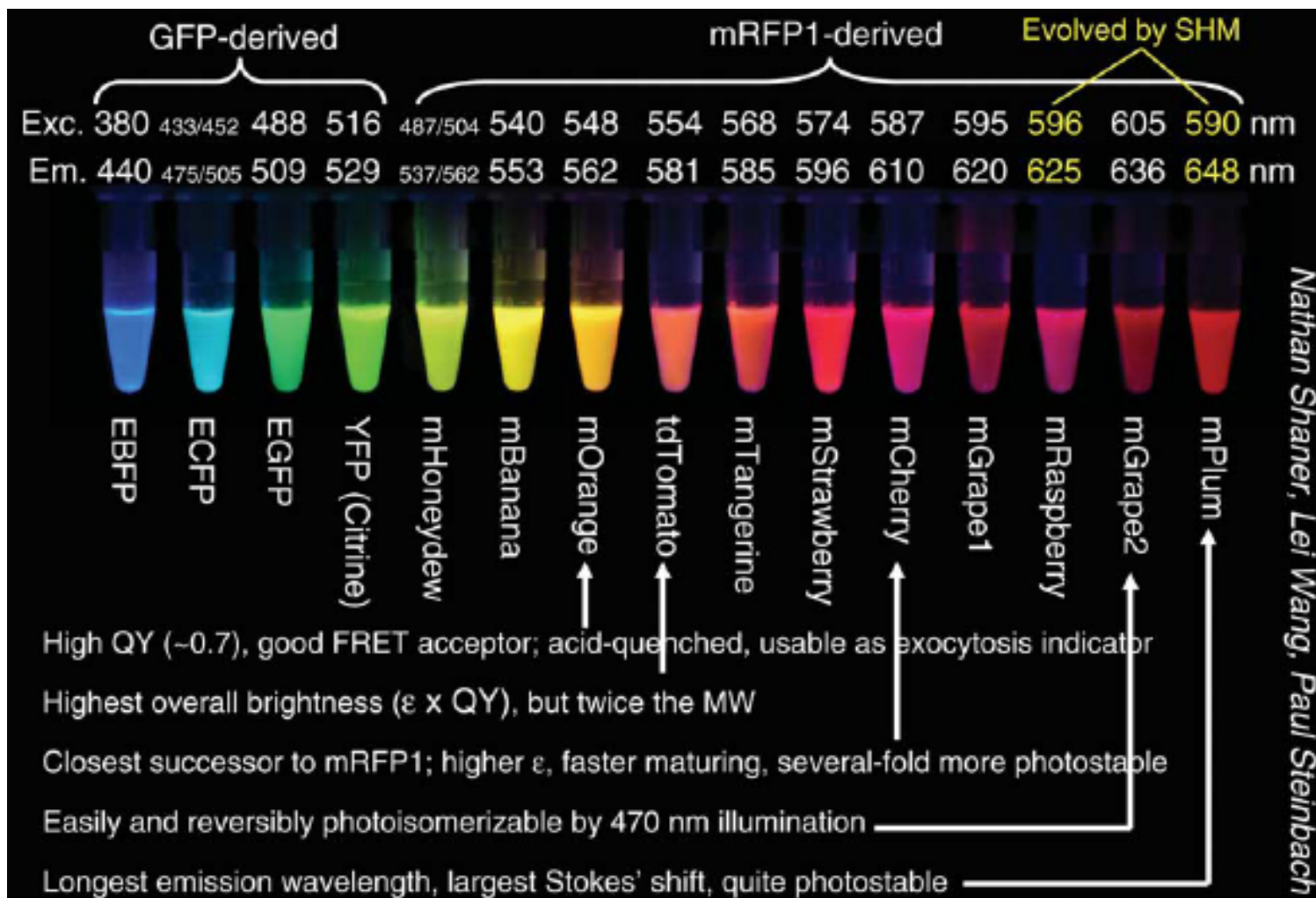
10^5 нейронных клеток-предшественников были введены в правый желудочек сердца NMRI Nu/Nu мыши. Наблюдаемое перераспределение: (B) 6 дней, (C) 8 дней, (D) 10 дней, и (E) 12 дней после трансплантации клеток

Флюоресцентный Имиджинг

Флюоресцентный спектр общеизвестных флюорофоров



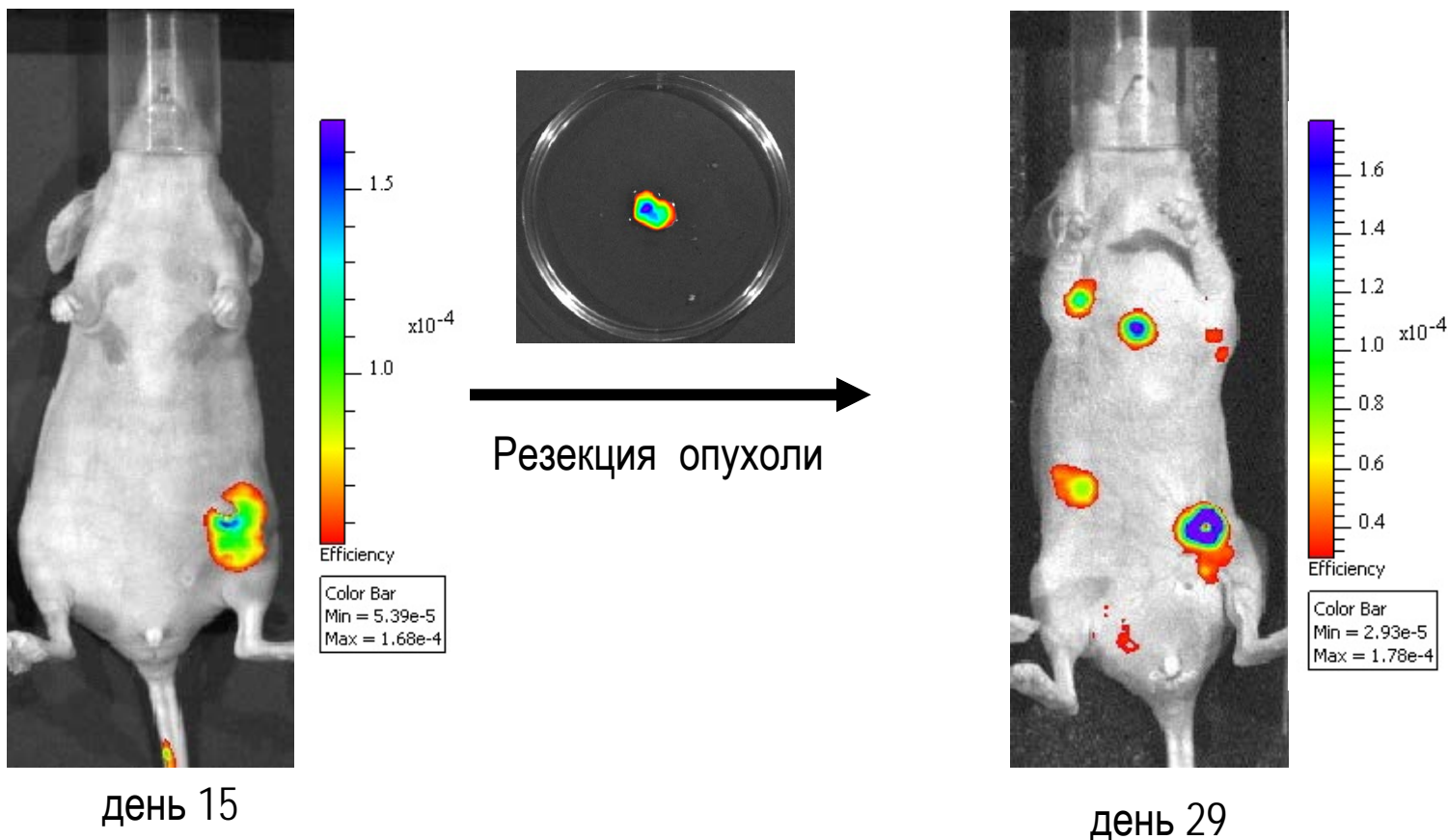
Палитра используемых флюоресцентных белков



Roger Tsien 2005

Bioware Ультра *красный*

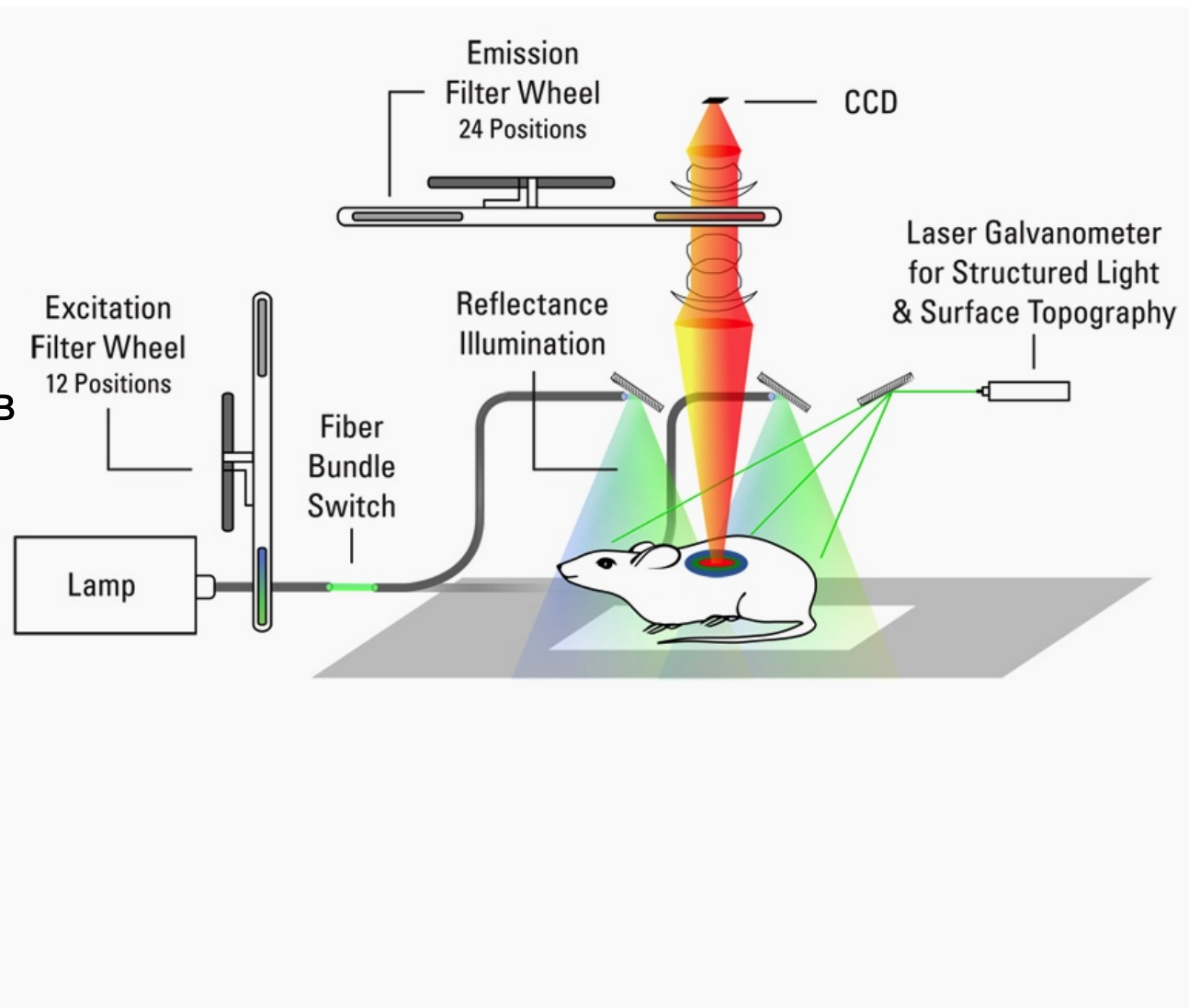
Рост ортотопической опухоли (клеточная линия 4T1-tdTomato)



Изучение процесса образования множества метастазов после резекции первичной опухоли

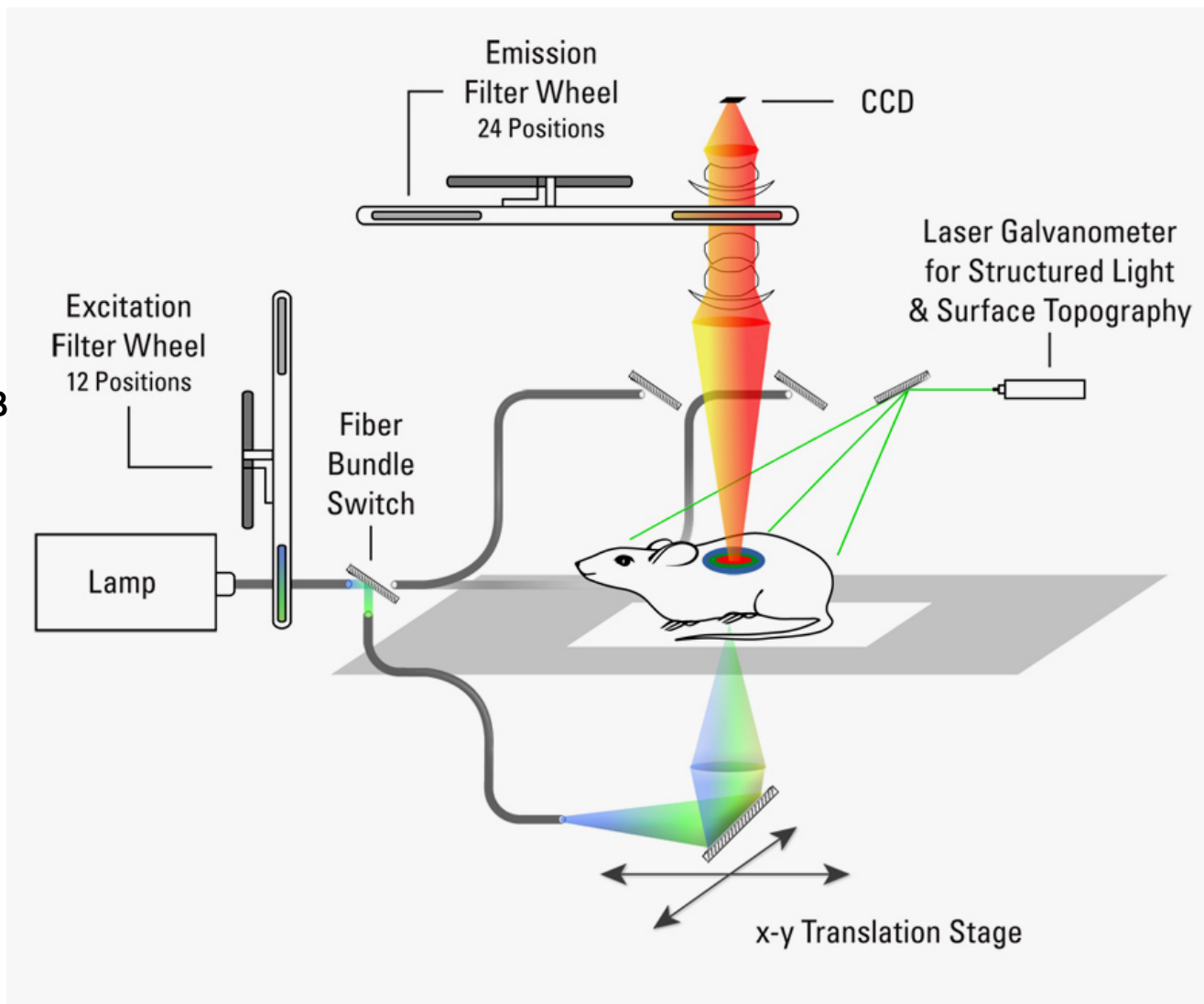
IVIS Spectrum

Режим работы в
отражённом
свете



IVIS Spectrum

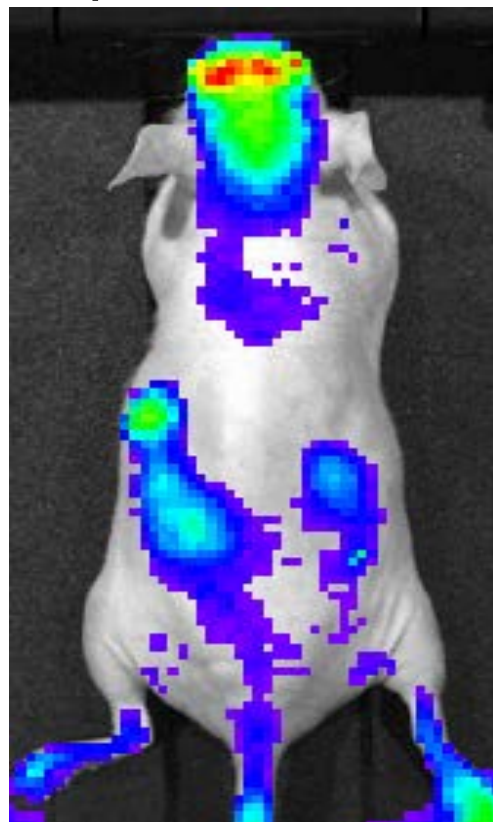
Режим работы в
проходящем
свете
(трансиллюминация)



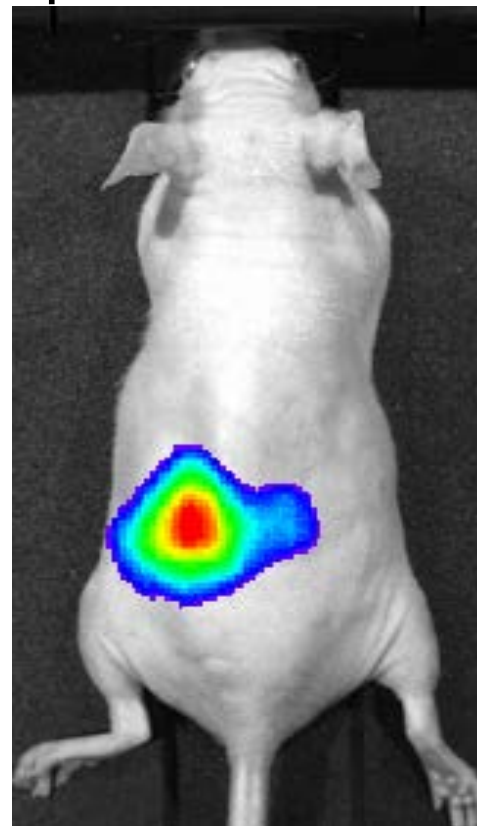
Трансиллюминация AlexaFluor 680

Клетки Pillow имплантированы в левую почку, 1×10^{15} молекул

Ері-иллюминация Трансиллюминация



sig/ bkg=1.10



sig/ bkg=1.10

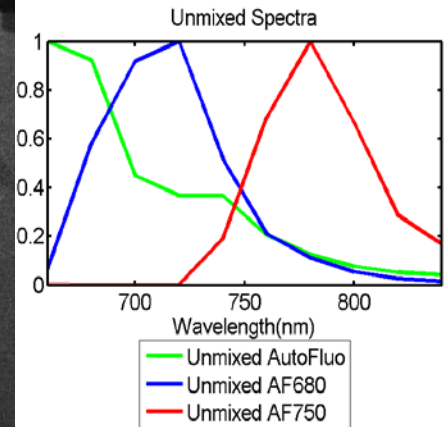
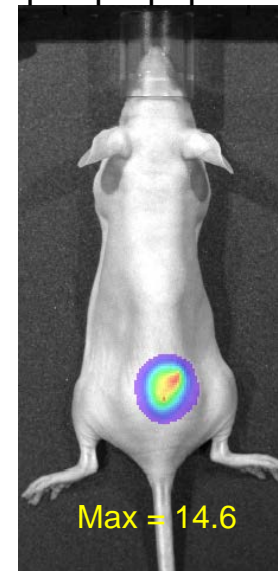
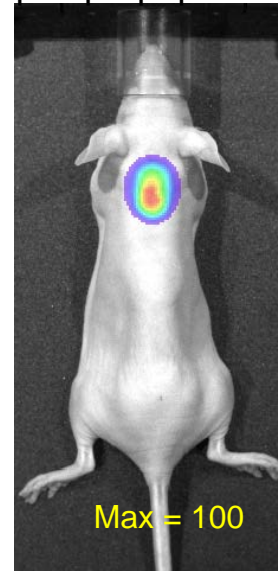
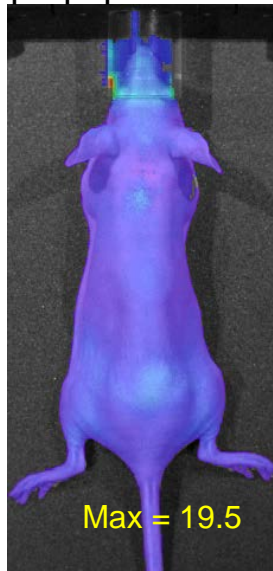
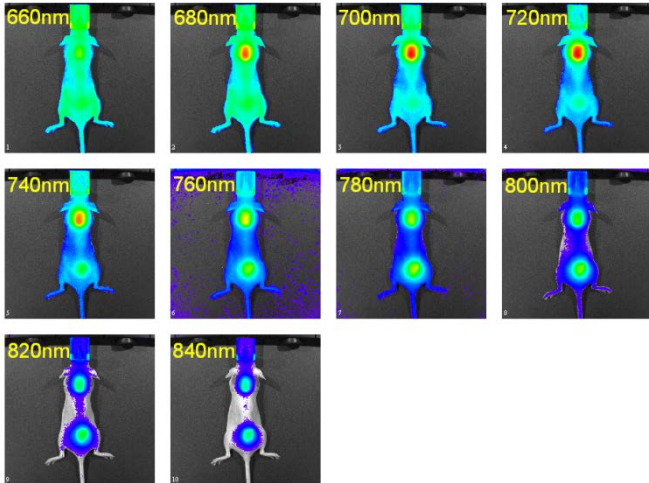
Мультимодальный Имиджинг



Спектральное разделение Alexafluor 680/750

флюорофор AutoFluor флюорофор AF680 флюорофор AF750

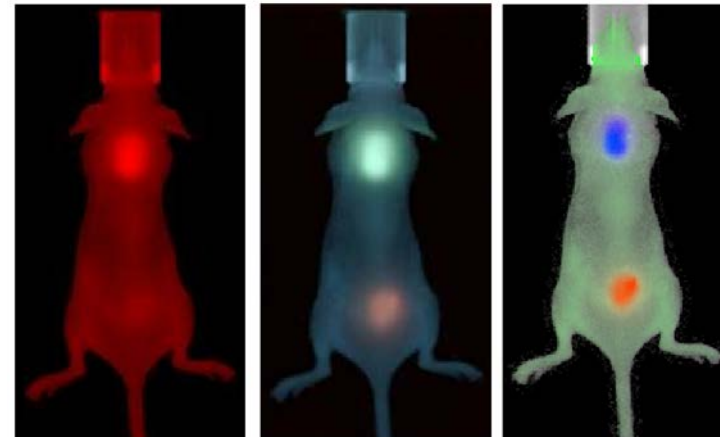
Исходные спектральные данные



Real RGB

Adaptive RGB

Composite



Подкожные инъекции 10^{14} молекул Alexafluor 680 и Alexafluor 750

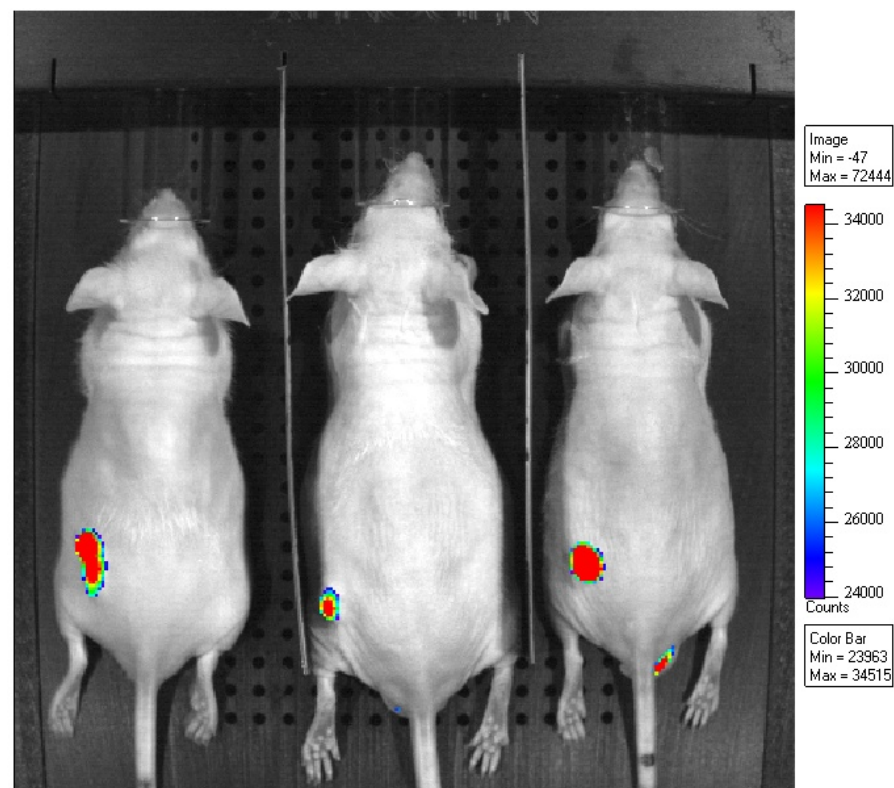
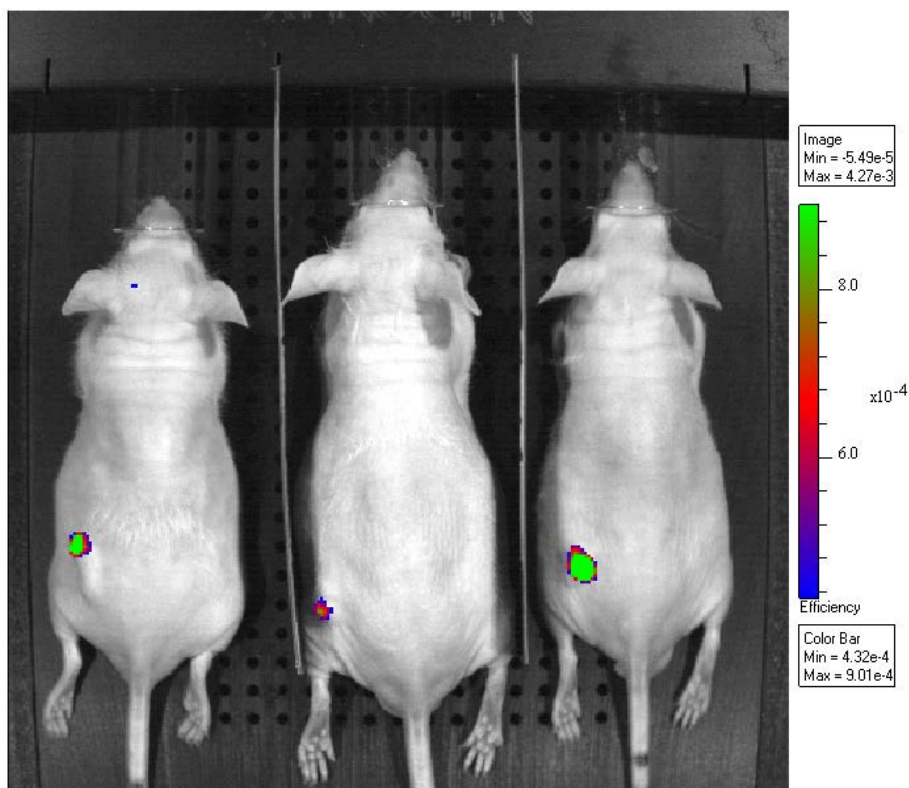
Режим работы в отражённом свете

Мониторинг развития опухоли и ангиогенеза

Регистрация флюоресценции и биолюминесценции

Флюоресцентный имиджинг опухоли

Биолюминесцентный имиджинг VEGFR2



VEGFR2-luc KI мышам были привиты 1 миллион LL/2-GFP опухолевых клеток. Изображения получены на 18 день

Использование любых продуктов или материалов, содержащих кодирующую последовательность мутантного белка из *Aequorea victoria* требует лицензионного с компанией GE Healthcare UK Limited

Томографический Имиджинг

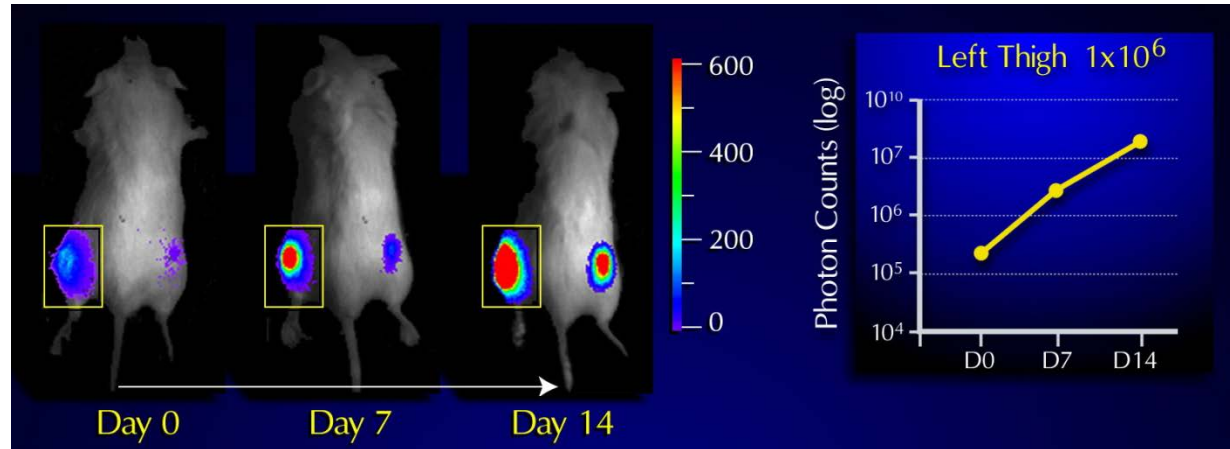
3D-диффузная томография

Мониторинг и контроль

Относительное измерение

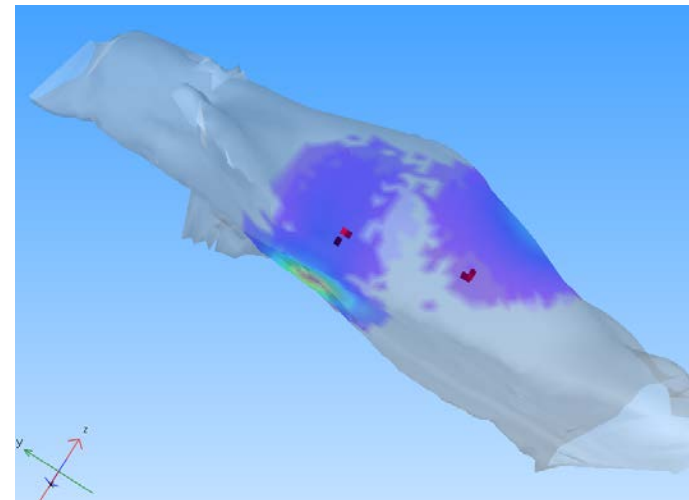
- Нельзя сравнивать опухоли с разной локализацией

PC-3M-luc рост опухоли



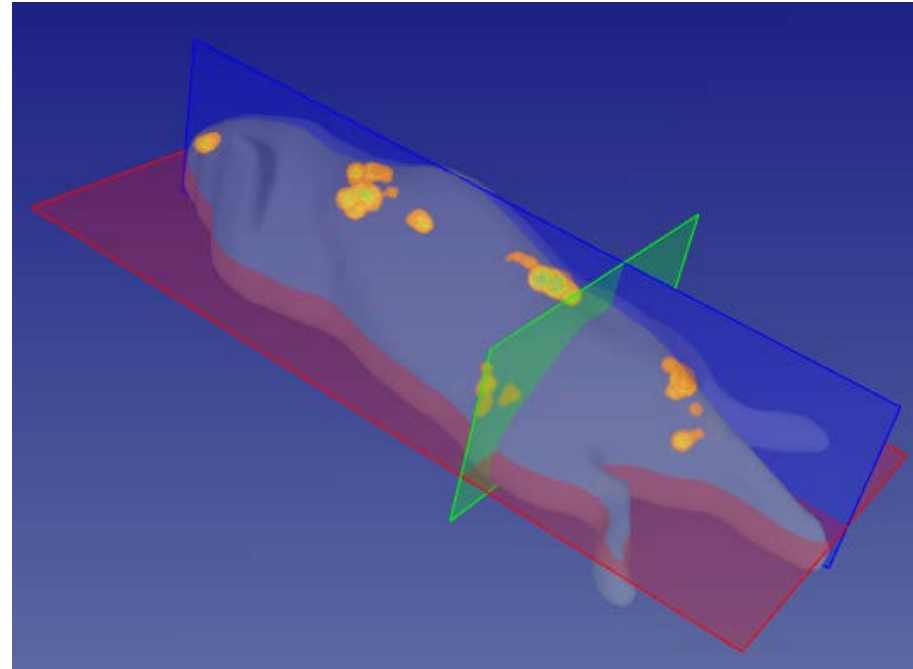
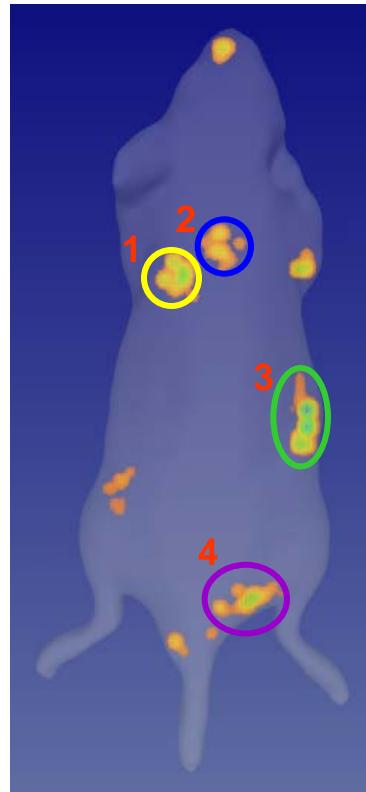
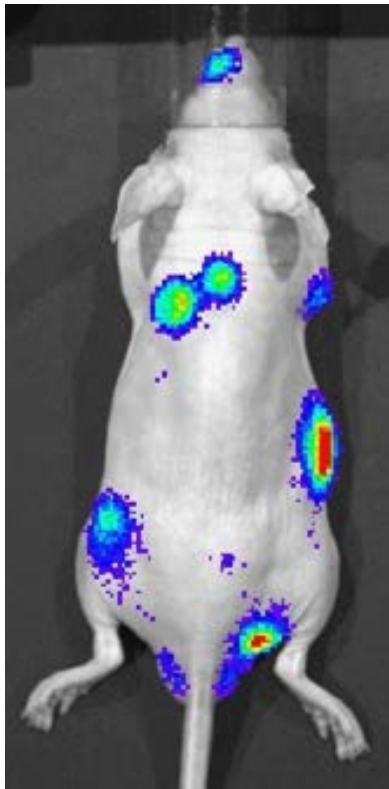
3D Томография

- Возможность получить количественную оценку и выявить 3D локализацию по цветовой интенсивности исследуемого района
- Рассеянная люминесцентно-имиджинговая томография (DLIT™)
- Требуется мульти-множественный вид /спектральные имиджи
- Возможное разрешение $\sim 1-3$ мм



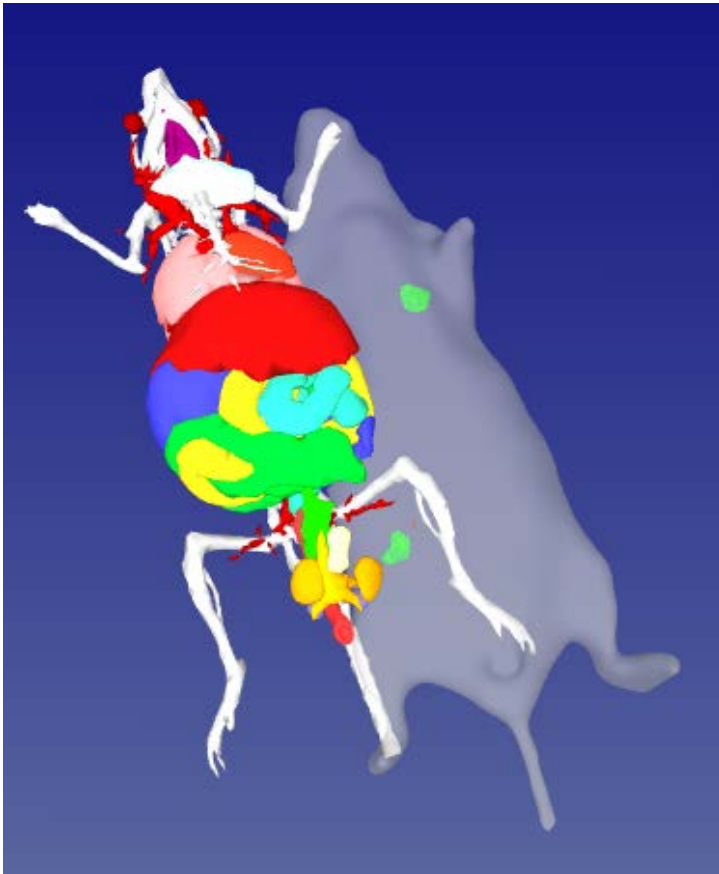
Метастазная модель меланомы B16F10

Вид со спины

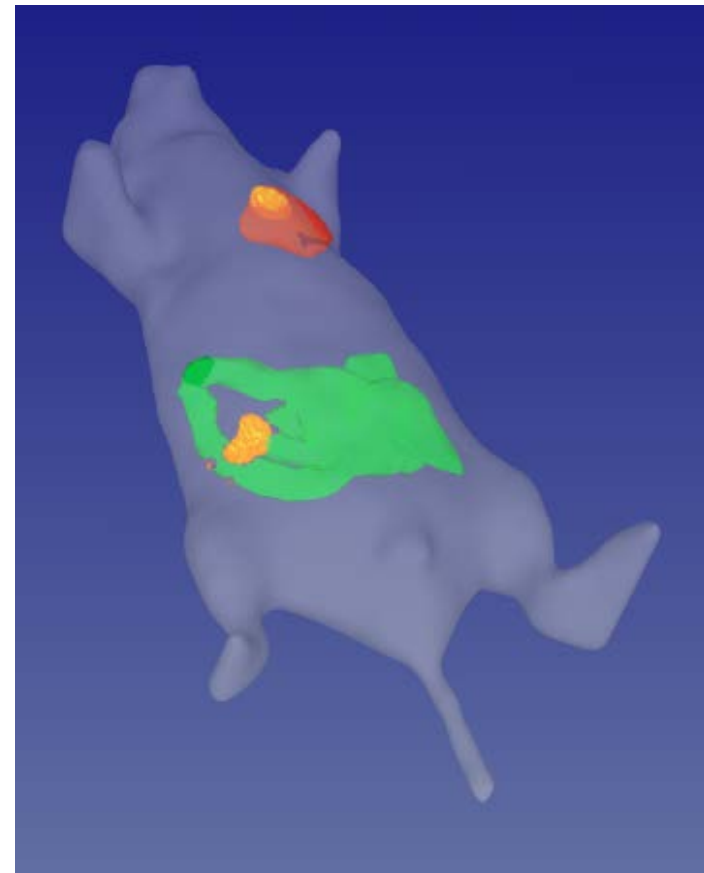


- 5×10^5 клеток (внутривенное введение)
 - снято на 17 день
- Используется 5 фильтров (560-640 nm)

Автоматическая регистрация исследуемого изображения с изображением из атласа органов мыши Наличие цифрового атласа в программном обеспечении LI4.0



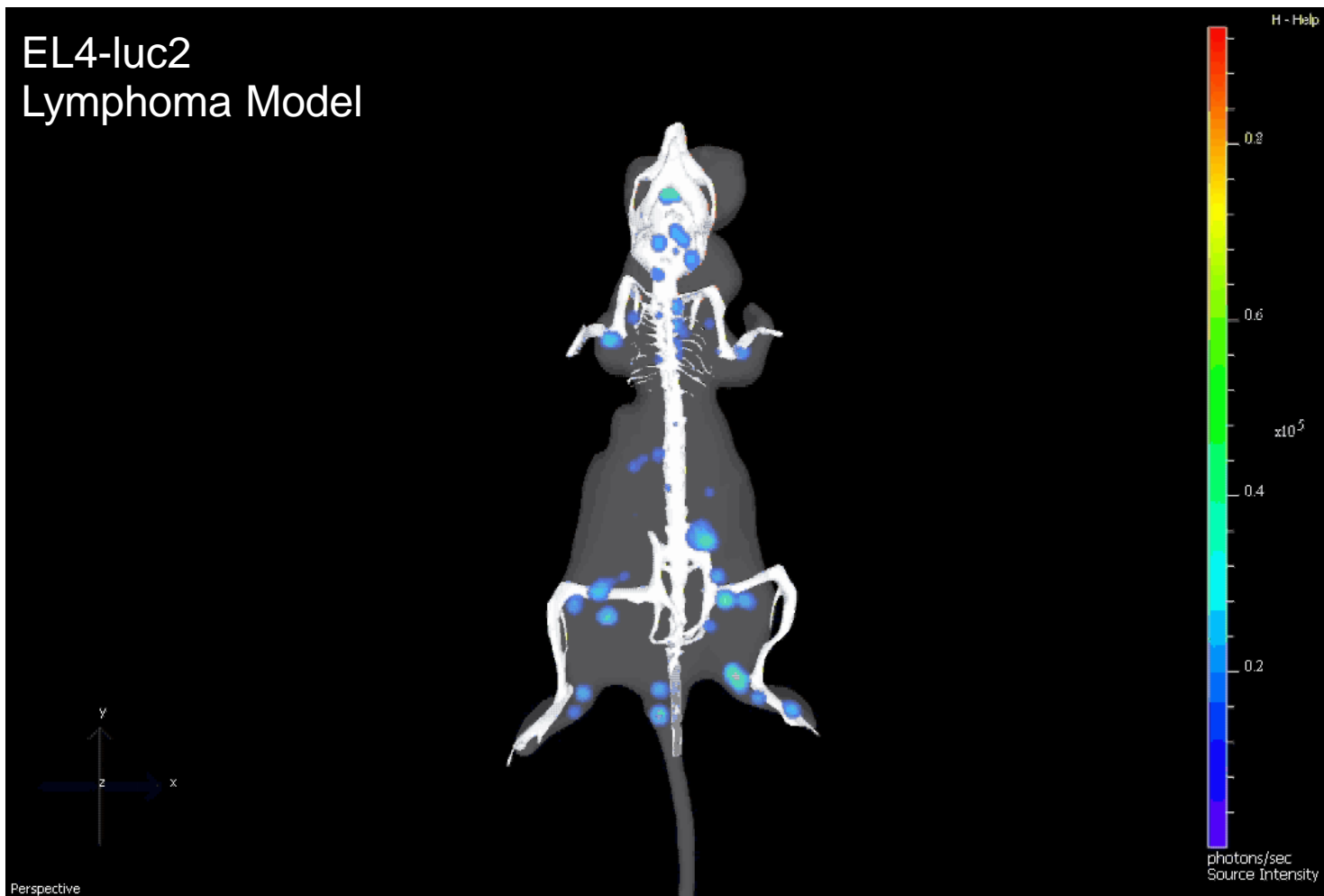
Отдельные изображения



Наложение изображений

3D Билюминесценция

Сопоставление изображения экспериментальной мыши с анатомическим атласом





Caliper
LifeSciences



PerkinElmer[®]
For the Better

Официальный представитель компании Caliper a PerkinElmer Inc.

«ЗАО Приборы - Pribori Oy»

Москва, 109028 Певческий пер., 4, стр.1,

Тел. (495) 937-45-94

факс (495) 937-45-92

www.pribori.com



Pribori Oy

