

简介

人们对成像技术的开发兴趣越来越浓，包括在小动物身上使用的电脑断层扫描 (CT)、超声波 (US)、核磁共振成像 (MRI)、以及较小的不太昂贵的光学分子成像设备等等。该项目对带 Chromalight™激发光源的 Alpha Innotech 公司改良型 FluorChem® HD 成像系统在活体内的应用进行了评估。在~470 nm 波长激发和在~ 510 nm 波长发光的绿色荧光蛋白质是试验中所使用的荧光团。

该项目含 4 部分:

1. 把信号强度与 U373/GFP 肿瘤细胞的计数相关联。
2. 监测四个裸鼠皮下肿瘤 U373/GFP 进展。
3. 监测 GFP 的表达、复制缺陷、肝靶向病毒药物。
4. 测试荧光微球测定肿瘤脉管系统的可行性。

材料与方方法

在培养基中培养 U373/GFP 脑肿瘤细胞。把不同浓度的细胞放置在一块微孔板上成像。细胞 (~10⁶) 注入四个雌性裸鼠右翼腰窝。每周对麻醉小鼠成像两次。图像采用 AIF 数据采集程序的点密度函数分析。AB6 雄性小鼠被用于病毒研究中，最初注射复制缺陷腺病毒 (IX~8x10⁸)。在最后试验中，把 0.5 毫升 10 μ m 的黄绿色荧光微球注射到患 MCF7 乳腺肿瘤的雌性裸鼠腰窝。



图 1. Alpha Innotech 公司的 FluorChem® 9900 成像系统采用-10°C冷却的黑白 CCD 照相机在暗箱内成像(右侧)

结果

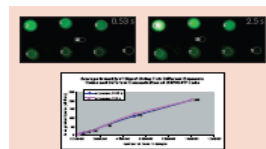


图 2 项目 1: 背景修正后平均强度随 U373/GFP 肿瘤细胞数目的增加而线性增加。另外，尽管亮度增加，曝光时间看起来不影响标准化平均强度。注：图像已经通过伪彩处理。

1 小时后

3 天

6 天

9 天



13 天

16 天

21 天

图 3 项目 2: 小鼠(Set I-hole)原始图像。其他图像经颜色处理和增强处理，以提高可视度。

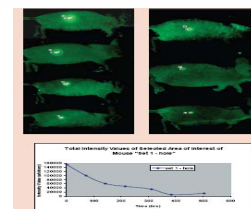


图 4 项目 2: 21 天时间内在小鼠 (Set I-hole) 肿瘤灶位修饰性图像 (远顶端) 和描述总荧光强度下降的图表

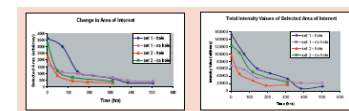


图 5 项目 2: 肿瘤生长到 21 天 (504 小时) 的总结。每个肿瘤的总荧光强度减少并且肿瘤自然消退。

*所有数据点的背景经过修正。

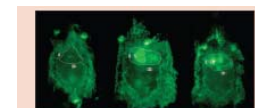


图 6 项目 3: 小鼠接受 8*10¹⁰ 单位病毒剂量。病毒活动高峰介于 3 至 5 天之间，大约应该活动 30 天。3 至 10 天之间可以看见荧光强度的变化。另一张图像在第 17 天捕捉，但是由于印度水獭引发的皮肤炎症，导致图像质量较差。



图7 项目 4: 第一张图像 (左上) 注射黄绿色 0.5 mL 10 μ m 荧光微球 10 分钟后捕捉。第二张图像 (右上) 在注射后 1 小时捕捉, 小鼠已经死亡, 在心脏区域发现大量的信号。第三张图像 (左下) 是肿瘤图像, 解剖后放置微孔板上, 提示肿瘤脉管系统分布不均匀。

结论

Alpha Innotech 公司的 FluorChem® HD 成像系统配备 Chromalight™ 激发光源, 可用于皮下靶组织成像处理, 如项目 2 中 gfp 肿瘤图像所示; 也能够充分检测深层组织, 如项目 3。

项目 4 的结果很有趣, 但是这种结果可能是由活体组织数目引起, 也可能是由微球浓度和相对粒径使实验结果发生错

误。

当区分荧光和自体荧光/反射光时, 有些问题就要进行解释。当处理像皮下肿瘤一样集中的样品时, 毫无问题。然而, 不太集中的 *since tissues* 和血液散射光源等可能会引起争论。后续测试采用新型的、高度发荧光的、红移明显 (大于 600nm) 的微球, 可以减少自体荧光, 并提高灵敏度。

鸣谢

Ralph P. Mason 理学博士, C. Chem 导师, Li Liu 博士和 Ya Ren 医学博士, Dawen Zhao 医学博士和理学博士, Vikram Kodibagkar 理学博士 (常规指导), Weina Cui 理学博士 (她在微球研究中提供小鼠), Sarah Gidner, Dwain L. Thiele 医学博士 (合作腺病毒研究), Liz Lummus, Craig Smith 硕士,

Ben Tepichin 和 Alpha Innotech 公司, 癌症 UTSW SURF 项目预后放射学实验室放射科。

P20 加利福尼亚成像项目 (Pre-ICMIC)

FluorChem® 生物成像系统家族转为化学发光、荧光和可见光成像应用而设计。FluorChem® 系列产品结合灵敏度、分辨率和动态范围为客户提供基于凝胶、膜和微孔板检测的优质图像处理功能。



 **Alpha
Innotech**