

活体生物发光成像技术

■ 生物发光成像概述

生物发光成像是用荧光素酶(Luciferase)基因标记细胞或 DNA，利用其产生的蛋白酶与相应底物发生生化反应产生生物体内的探针光信号；生物发光成像利用的是动物体内的自发光，不需要激发光源，可通过高度灵敏的 CCD 直接捕捉光信号。通过这个系统，可以观测活体动物体内肿瘤的生长及转移、感染性疾病发展过程、特定基因的表达等生物学过程。

■ 生物发光成像的特点

1、特异性强，无自发荧光

以荧光素酶作为体内报告源的生物发光方法，特异性极强。由于动物本身没有任何自发光，生物发光具有极低的背景和极高的信噪比，灵敏度及成像质量高。

2、高灵敏度

生物体内很多物质在激发光的照射下，也会发出荧光，这些非特异性荧光背景会影响检测灵敏度。荧光成像的灵敏度最高可在动物体内检测到约 10^4 细胞，而生物发光具有在动物体内监测 10^2 数量级细胞的灵敏度。

3、安全、更加环保

与传统 CT、PET 以及 MRI 等成像技术相比，活体生物发光成像技术的成像原理为荧光素酶与底物荧光素相互作用而产生生物发光，不涉及核物质和放射线，更为安全和环保。

4、发光强度可以精确定量

由于荧光素酶基因是插入细胞染色体中稳定表达的，单位细胞的发光数量、发光条件相对稳定，即使标记细胞在动物体内有复杂的定位，亦可从动物体表的信号水平测量出发光细胞的相对数量。



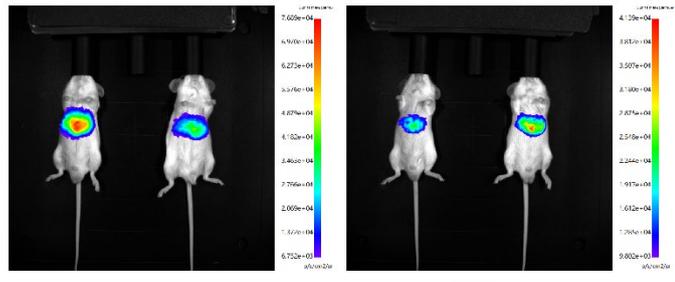
■ 生物发光成像应用

1、肿瘤学

应用活体生物发光成像技术可以在活体内无创伤地定量检测小鼠体内原位瘤、转移瘤的生长状态，并可对肿瘤治疗中癌细胞对抗肿瘤药物的反应进行实时观测和评价[1-3]。

2、药物研究及药效评价

利用活体成像技术高灵敏度、观察方便的特点，在抗肿瘤药物临床前研究中，通过给予肿瘤接种的小鼠不同剂量，不同给药时间、不同给药途径，观察抗肿瘤药物的最佳

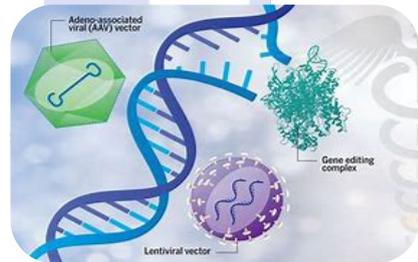


(左：对照；右：治疗；)

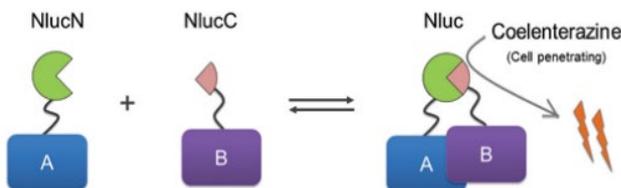
给药途径、给药剂量及给药时间从而制定合适的剂型与服药时间；在药效学评价方面，荧光素酶癌症模型可用于癌症体内用药在整体动物水平上进行长期疗效跟踪观察。

3、基因研究及基因治疗

荧光素酶基因可以被插入目的基因启动子下游，成为某种基因的报告基因，稳定整合于实验动物染色体中，构建出转基因动物模型[4,5]，通过这种方法可实现荧光素酶和目的基因的平行表达，从而直接观察目的基因的表达及影响其表达的因素。还可应用荧光素酶基因标记与某种疾病密切相关的基因，应用转基因小鼠模型，通过特定药物的作用来研究该疾病的发病机理和探究基因治疗的效果。



4、蛋白相互作用



将荧光素酶基因的 N 末端和 C 末端分离[6]，分别连接所研究的两种蛋白的编码 DNA，然后导入细胞或动物体内表达为融合蛋白，当两种蛋白存在相互作用时，被分离成两部分的荧光素酶基因



相互靠近就形成有活性的荧光素酶，在有底物荧光素存在的情况下即可出现发光，从而证明所研究的两种蛋白即存在相互作用。应用此技术可以观察到在体外实验中无法模拟的活体环境对蛋白质相互作用的影响，可应用于药理学，肿瘤学及其相关的细胞信号传导通路等分子生物学研究

5、细胞凋亡

具体原理是用分子生物学方法在荧光素酶的两端连接上抑制其发光的蛋白（如雌激素），但在其连接处加上 caspase（细胞凋亡时特异表达的一种酶）的酶切点。细胞发生凋亡时，表达 caspase，切开抑制荧光素酶发光的蛋白，使荧光素酶开始发光。

■ 相关产品：

博鹭腾提供荧光素及其类似物，与各自对应的荧光素酶反应可获得高灵敏度的发光，在动物活体成像中有更优良的表现。

产品编号	产品名称
LS001	D-荧光素钾盐
LAL001	AKalumine 盐酸盐
LCL001	CycLuc1
LFZ001	Furimazine
LDTZ001	Diphenylterazine (DTZ)
LCFZ001	Cephalofurimazine (CFz)
LMFFZ001	Methylfluorofurimazine (MFFz)
LHFFZ001	Hydroxylfluorofurimazine (HFFz)

参考文献：

[1]Soling A, Rainov N G. Bioluminescence imaging in vivo application to cancer research. Expert Opin Biol Ther,2003, 3(7): 1163-1172.



- [2]Yu Y A, Timiryasova T, Zhang Q, et al. Optical imaging: bacteria, viruses, and mammalian cells encoding light-emitting proteins reveal the locations of primary tumors and metastases in animals. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 377: 964-972.
- [3]Wang W, EL-Deiry, W S. Bioluminescent molecular imaging of endogenous and exogenous p53-mediated transcription in vitro and in vivo using an HCT116 human colon carcinoma xenograft model. *Cancer Biol Ther*, 2003, 2:196-202.
- [4]Mendel D B, Laird A D, Xin X H, et al. In vivo antitumor activity of SU 1248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(1):327-337
- [5]Zhang W S, Purchio A F, Chen K, et al. A transgenic mouse model with a luciferase reporter for studying in vivo transcriptional regulation of the human CYP3A4 gene. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(8):1054-1064
- [6]PAULMURUGAN R, UMEZAWA Y, GAMBHIR S S, et al. Noninvasive imaging of protein-protein interactions in living subjects by using reporter protein complementation and reconstitution strategies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(24):15608-15613.

PHOTON TECHNOLOGY

