

Solutions for *In Vivo* Imaging 小动物活体成像

活体成像技术概述 • 生物发光活体成像应用 • 简要操作流程与工具 • 应用举例 • 文献列表

活体成像技术

是指应用影像学方法，对活体状态下的生物过程进行组织、细胞和分子水平的定性和定量研究的技术（1）。

1. 动物活体成像技术分类

- 光学成像 (optical imaging)
- 核素成像 (PET/SPECT)
- 核磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI)
- 计算机断层摄影 (computed tomography, CT) 成像
- 超声 (ultrasound) 成像

2. 活体动物体内光学成像

活体动物体内光学成像 (Optical in vivo Imaging) 主要采用生物发光 (bioluminescence) 与荧光 (fluorescence) 两种技术。

生物发光是用萤光素酶 (Luciferase) 基因标记细胞或 DNA;

荧光技术则采用荧光报告基团 (GFP、RFP、Cyt 及 dyes 等) 进行标记。

3. 生物发光活体成像技术

是应用萤光素酶作为报告基因标记细胞，并在小动物体内进行活体成像检测的一种技术。将萤光素酶基因整合到需要观察的细胞染色体 DNA 上构建培养出稳定转染表达萤光素酶的细胞株，当细胞分裂、转移、分化时，萤光素酶也会稳定表达，并且只在活细胞内才会发光，发光强度与标记细胞数呈线性相关。

生物发光与荧光标记的方法相比的技术优势

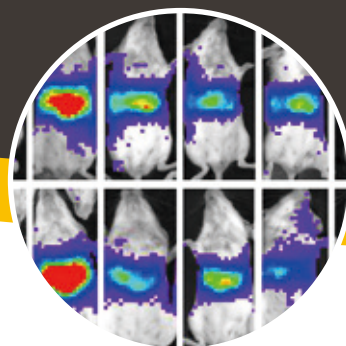
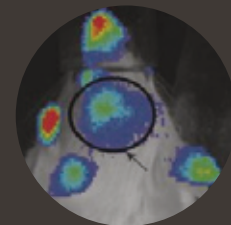
- **无组织自发荧光干扰**: 无需激发光，不存在激发光造成的组织非特异性荧光背景。
- **信噪比更高**: 无组织自发荧光背景，配合生物发光本身的优异灵敏度，检测信噪比更高。
- **数据 Window 更宽**



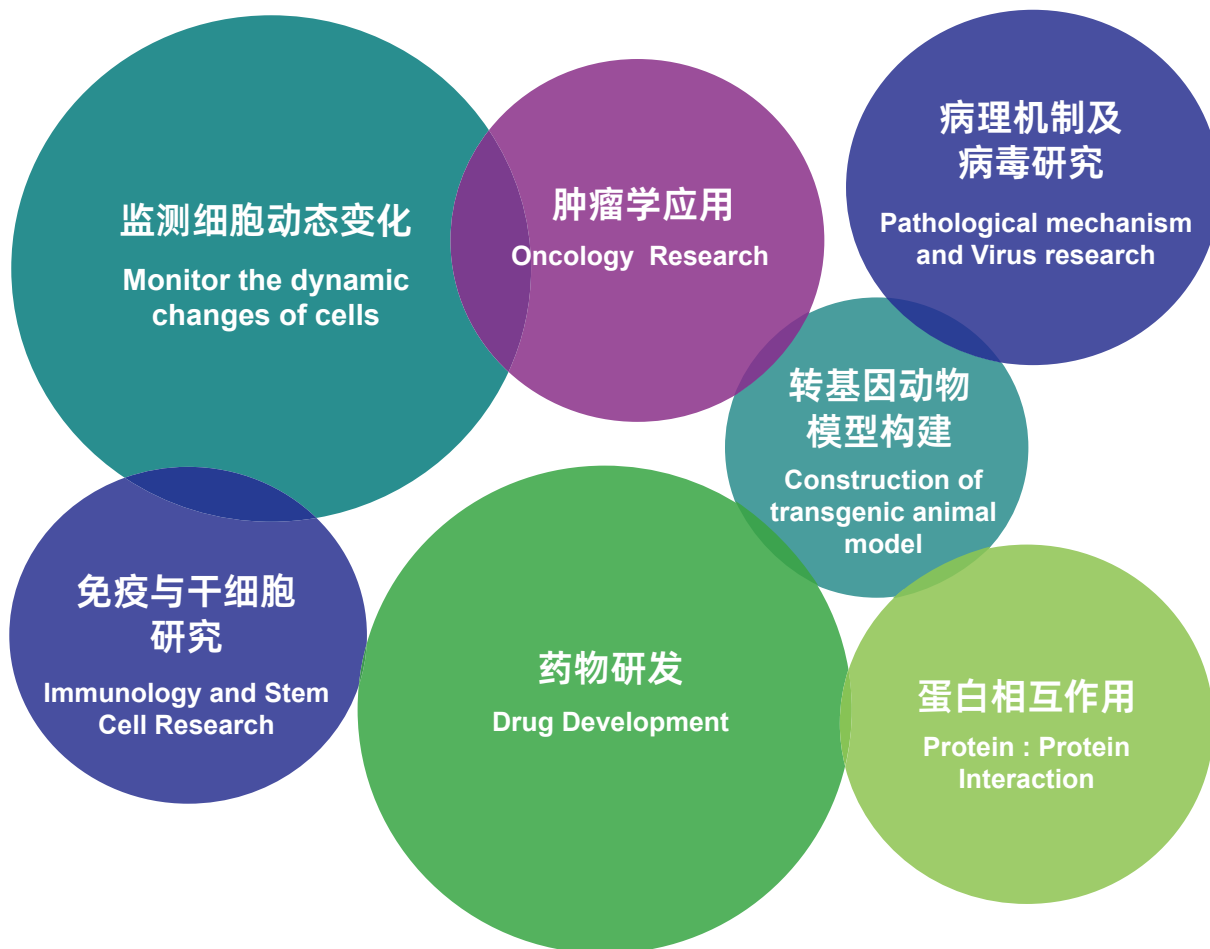
参考文献:

1. 李冬梅, 万春丽, 李继承. 小动物活体成像技术研究进展 [J]. 中国生物医学工程学报, 2009, 28(06): 916-921.

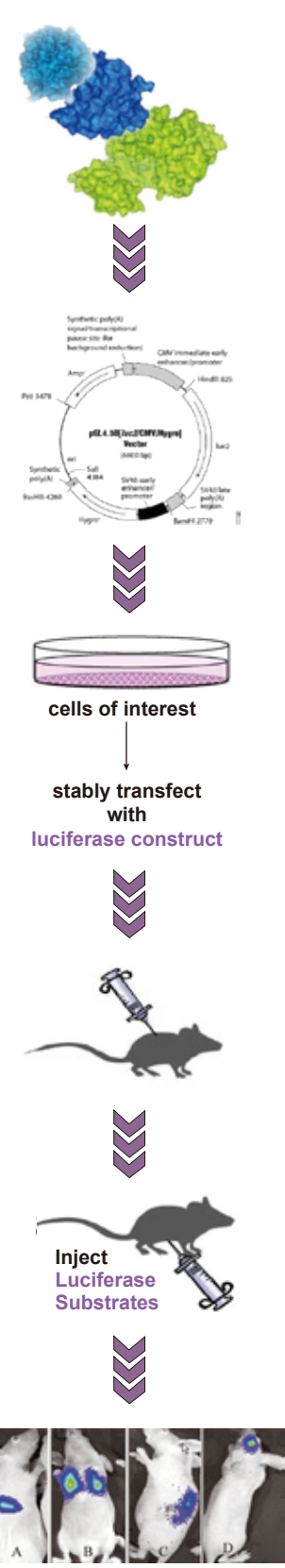
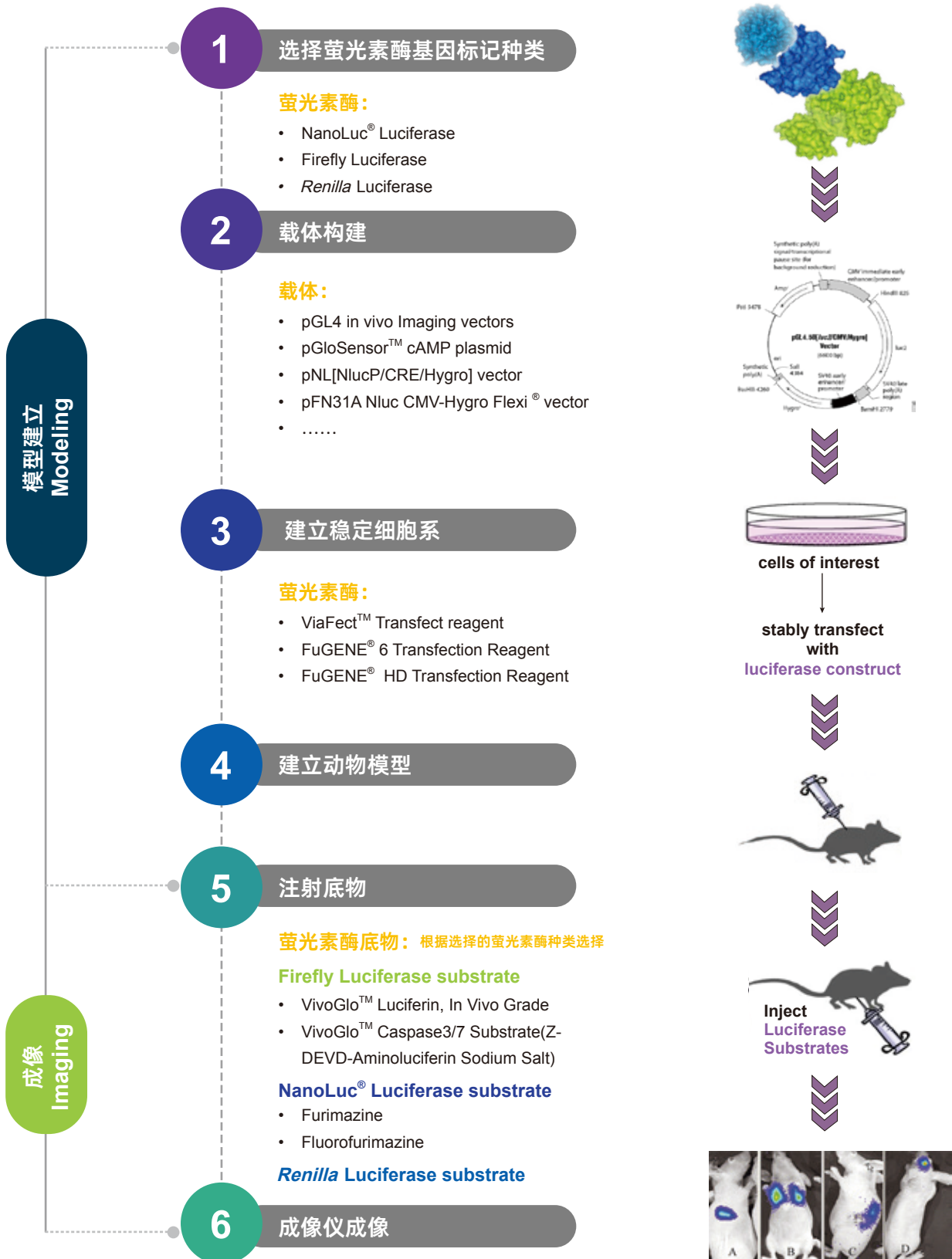
小动物活体成像能够反映细胞或基因表达的空间和时间分布，从而了解活体动物体内的相关生物学过程、特异性基因功能和相互作用。可以对同一个研究个体进行长时间反复跟踪成像，这样既可以增强数据的可比性（避免个体差异对实验结果的影响），也可以节省科研经费（无需杀死模式动物）。



生物发光活体成像技术的应用方向



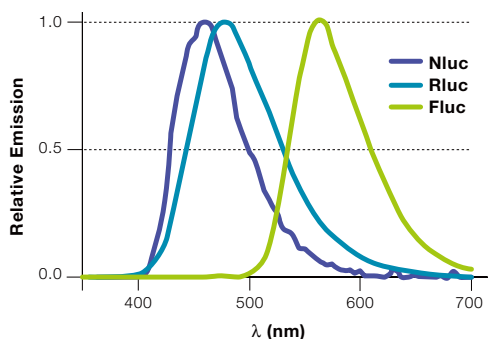
生物发光活体成像的简要操作流程及对应工具 (以肿瘤药物研究为例)



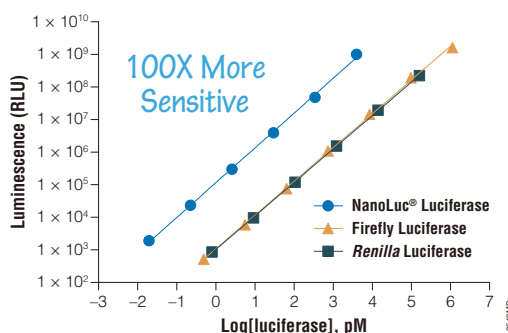
模型建立 >> 选择萤光素酶报告基因标记

• 萤光素酶报告基因种类

报告基因	NanoLuc®	Firefly	Renilla
来源	细角刺虾 萤光素酶突变体	鞘翅目萤火虫	腔肠动物海肾
分子量	19kD	61kD	36kD
颜色	蓝色	黄绿色	蓝色
底物	Furimazine	Luciferin	Coelenterazine
灵敏度	+++++	++++	++++
线性范围	10^{10}	10^8	10^8
Em _{max}	460nm	560nm	480nm



左图：发射光谱比较。Nluc: NanoLuc®, Rluc: Renilla, Fluc: Firefly。



右图：灵敏度比较。NanoLuc® luciferase 比 Firefly 和 Renilla Luciferase 高 100 倍。

• Firefly 萤光素酶

最大发射波长 560nm，在体内发生红移后约为 610nm，具有良好的组织穿透性，适用于动物内脏等较深部位的组织成像；

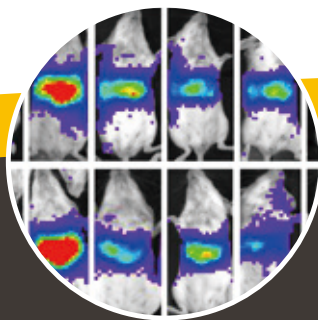
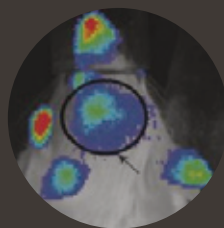
• Renilla 萤光素酶

最大发射波长 480nm，产生的蓝光组织穿透能力弱，适合用于动物浅表组织成像；

• NanoLuc® 萤光素酶 (Promega 新型专利萤光素酶)

最大发射波长为 460nm，光信号强度比萤火虫和海肾萤光素酶高两个数量级（如上述右图所示），可以在活体成像应用中得到足够的检测灵敏度。

了解更多 [NanoLuc® 萤光素酶技术应用](#) 或扫描下方二维码查看。



模型建立 >> 载体推荐

• 表征细胞健康和数量

报告基因	稳转筛选 Marker	说明	产品	目录号
萤火虫萤光素酶报告基因	Hygro	能用于筛选稳定表达萤光素酶的细胞系，可应用于活体动物的发光成像。	pGL4.50 [<i>luc2</i> /CMV/Hygro] Vector	E1310
	Neo		pGL4.51 [<i>luc2</i> /CMV/Neo] Vector	E1320

• 靶标蛋白相关研究

报告基因	稳转筛选 Marker	说明	产品	目录号
NanoLuc [®] 萤光素酶报告基因	Hygro	pF 载体系列，能通过 Flexi [®] 载体克隆系统生成 Nluc 的 N- 或 C- 端融合蛋白，是一种定向克隆技术。	pFN31A Nluc CMV-Hygro Flexi [®] Vector	N1311
	Neo		pFN31K Nluc CMV-Neo Flexi [®] Vector	N1321
	Hygro		pFC32A Nluc CMV-Hygro Flexi [®] Vector	N1331
	Neo		pFC32K Nluc CMV-Neo Flexi [®] Vector	N1341
	Hygro	pNLF 载体系列，可与全长 Nluc 蛋白生成 N 端或 C 端融合蛋白，或者可通过传统的多克隆位点 (MCS) 克隆将分泌型 Nluc 蛋白与目标蛋白 N 端融合。	pNLF1-N [CMV/Hygro] Vector	N1351
	Hygro		pNLF1-C [CMV/Hygro] Vector	N1361
	Hygro		pNLF1-secN [CMV/Hygro] Vector	N1371
	Neo		pNLF1-HIF1A [CMV/Neo] Vector System	N1381
	Neo		pNLF1-NRF2 [CMV/Neo] Vector System	N1391

• 信号通路研究

报告基因	应答元件 / 特点	信号通路	产品	目录号
萤火虫萤光素酶报告基因	其表达出的蛋白在 37°C 下的 HEK293 细胞中表现出良好的性能	cAMP	pGloSensor [™] -20F cAMP Plasmid	E1171
	其表达的蛋白在 cAMP 饱和状态下的信噪比更高	cAMP	pGloSensor [™] - 22F cAMP Plasmid	E2301
NanoLuc [®] 萤光素酶报告基因	Nuclear Factor of Activated T-Cells Response Element (NFAT RE)	Calcium/ Calcineurin	pNL[NlucP/NFAT-RE/Hygro]Vector	咨询 Promega
	Cyclic AMP Response Element (CRE)	cAMP/PKA	pNL[NlucP/CRE/Hygro]Vector	咨询 Promega
	p53 Response Element (p53 RE)	DNA Damage	pNL[NlucP/p53-RE/Hygro]Vector	咨询 Promega
	Activating Transcription Factor 4 Response Element (ATF4 RE)	ER Stress	pNL[NlucP/ATF4-RE/Hygro]Vector	咨询 Promega



更多载体信息请查阅[双萤光素酶报告基因解决方案](#)或[NanoLuc[®] 萤光素酶技术](#)，或扫描左侧二维码查看。也可直接咨询 Promega。

模型建立 >> 载体推荐

pGL4 in vivo Imaging vectors

萤火虫萤光素酶报告基因

带标记 marker

CMV 启动子

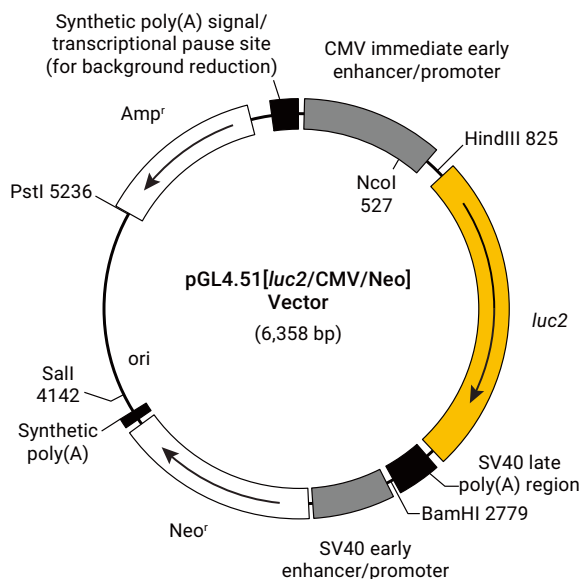
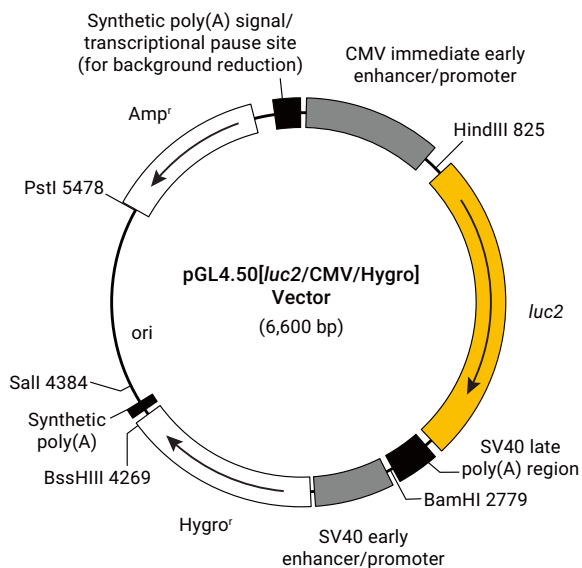
可用于活体成像

搭配 Firefly 萤光素酶底物使用。

pGL4 萤光素酶报告基因载体是新一代报告基因载体，对在哺乳动物细胞中表达进行了优化。pGL4.50 和 pGL4.51 可用于标记细胞系，为建立稳定转染的细胞系提供选择 Marker。可用于活体动物的生物发光成像应用。

优势

- 两种可选择的抗性标记，以构建稳转的哺乳动物细胞系
- 表达萤光素酶的细胞被用于在动物模型中研究细胞生理学的体内变化
- 萤火虫萤光素酶的表达受 CMV 启动子驱动



产品列表

应用	产品名称	规格	目录号
表征细胞健康和数量	pGL4.50[Luc2/CMV/Hygro] Vector	20µg	E1310
	pGL4.51[Luc2/CMV/Neo] Vector	20µg	E1320

Contact Us
联系我们

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

电话: 010-58256268

技术支持电话: 400 810 8133

技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com

模型建立 >> 转染细胞，建立稳转细胞株

在进行细胞转染实验时，Promega 推荐以下转染试剂：



1. FuGENE® 系列转染试剂

非脂质体

高效低毒

操作简单

多种细胞类型

千篇文献支持

FuGENE® 6 和 FuGENE® HD 转染试剂均为非脂质体制剂，用于将 DNA 转染到多种细胞系中，高效低毒。转染前无需去除血清或培养基，加入转染试剂与 DNA 复合物后，也无需洗涤或更换培养基。其中：

FuGENE® HD 转染试剂：不含任何动物来源成分，网上提供超过 40 种细胞类型的数据库，推荐用于难转染的原代细胞或干细胞。

FuGENE® 6 转染试剂：有数千篇参考文献引用，服务全球科学家超过 15 年，可满足大多数常规细胞系转染。

优势

- 更具生物相关性，毒性更低，对生理过程影响更小。
- 转染操作简单快速，无需更换培养基，给细胞环境带来的变化更小，与血清兼容。
- 对多种细胞类型均有效。
- 与荧光素酶检测试剂盒一起使用更理想，表达量更高，结果更灵敏。

产品列表

产品名称	规格	目录号
FuGENE® HD Transfection Reagent	1ml	E2311
	5x1ml	E2312
FuGENE® 6 Transfection Reagent	1ml	E2691
	5x1ml	E2692
	0.5ml	E2693



推荐

2. ViaFect™ 转染试剂

难转染细胞系

温和低毒

操作简单

转染效率高

性价比高

创新型混合脂质配方，可用于 DNA 转染，高效低毒。无需去除血清，导入转染试剂：DNA 复合物后，无需洗涤或更换培养基，是目的基因在细胞中表达实验的推荐选择。

优势

- 适用于多种类型的细胞系，成功案例包括：贴壁细胞，悬浮细胞，干细胞来源的细胞等。
- 转染效率更出色，在多种难转染的细胞中转染效率更高。
- 试剂作用温和，毒性低，使转染实验中的细胞处于健康和新陈代谢活跃的状态。
- 转染操作简单快速，无需在使用前去除血清或培养基。
- 性价比更高。

产品列表

产品名称	规格	目录号
ViaFect™ Transfection Reagent	0.75ml	E4981
	2 x 0.75ml	E4982
	0.2ml	E4983

模型建立 >> 细胞注射动物，构建模型

建立稳转细胞株后，通常需要将细胞注射至动物体内，构建模型，通过体内成像观察肿瘤的发生和发展。但是也需要根据肿瘤类型和研究目的，选择最适合的模型。一般肿瘤细胞的注射方式包括以下几种（1）：

注射方式	皮下注射	腹腔注射	原位注射	尾静脉注射	脾脏注射	左心室注射
操作	注射部位包括侧腹面、背侧面及腋下。	肿瘤细胞注射到小鼠腹腔。通常会有一定程度的腹水及浸润性转移。	将肿瘤细胞直接注射至原器官，所营造的肿瘤微环境更接近于人体。	肿瘤细胞经尾静脉注射，通过肺部的毛细血管网进入动脉血液循环系统，造成全身多发转移灶。	将肿瘤细胞注射在脾脏后通过血液循环转移到肝脏。	肿瘤细胞经过左心室注射进入小鼠体循环，经过一系列过程，最终造成不同器官的转移。
用途	为血液及皮肤肿瘤相关研究提供便利。	适合某些肿瘤转移过程，如卵巢癌。	适用于神经系统肿瘤如脊索瘤、脑胶质瘤等；前列腺癌，卵巢癌等的转移研究。	常见于血液肿瘤的研究中。	可以更好地模拟肝转移瘤形成。	常用于研究骨、脑及乳腺癌转移。

注：我们推荐查阅文献确定肿瘤转移模型，例如乳腺癌一般会从原位向骨，肺部和脑等器官转移，因此在研究乳腺癌转移后期的着床，生长，或药物筛选检测等，就可以选择原位注射或左心室注射。

参考文献：

1. 周云振, Santosh Kumar Jha, 孙海明, 孙冬琳, 金焰, 吴楠. 肿瘤小鼠模型建立应用进展 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2022, 29(02): 92-101.



模型建立的操作 Tips

- **细胞系的选择：**根据研究的肿瘤类型以及基因型选取相应的肿瘤细胞系，肿瘤细胞要保证较好的生长状态，无污染，处于对数生长期。不同肿瘤细胞系的成瘤率不同，结合自身选取成瘤率高的细胞系进行实验。
- **小鼠品系的选择：**肿瘤细胞系移植模型分为两种：将人的肿瘤细胞系移植到小鼠体内和将小鼠的肿瘤细胞移植到小鼠体内，前者为异种移植因此必须选择具有免疫缺陷的小鼠；后者为同种移植，选择与肿瘤细胞系来源一致的小鼠。
- **小鼠的性别、年龄及体重的选择：**通常选择 6-8 周龄，18-22g（部分模型会有差别）的小鼠，保证个体间差异较小；雌雄均可，但是也需要根据研究的肿瘤类型及肿瘤细胞系选择（例如：乳腺癌等建议选择雌性，前列腺癌等建议选择雄性）。
- **确定细胞接种量及稀释比例：**注入到血液的细胞相比皮下要少，因为细胞聚团易堵住血管，造成小鼠死亡。
- **关注小鼠状态：**如果将肿瘤细胞直接注入血液，随着小鼠血液循环，会对小鼠机体正常代谢产生较大的影响，因此必须密切观察，并定期称重。当小鼠无法自主摄取食水，身体健康状况较差或无法人为救治时，应当停止实验，对其实行安乐死。
- **接种位置的选择：**参考上述表格。

成像 >> 选择成像底物

Promega 新型专利萤光素酶—NanoLuc® Luciferase

可深部组织成像

分子量更小

背景更低

灵敏度更高

专利萤光素酶

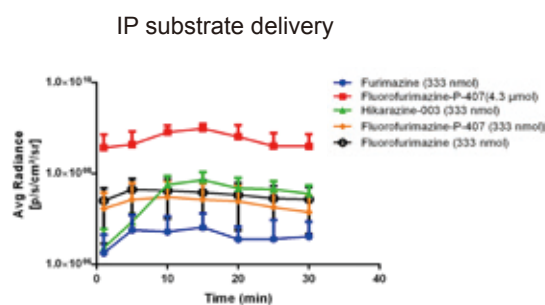
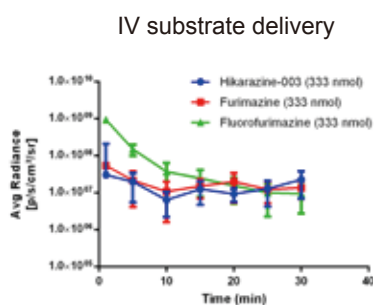
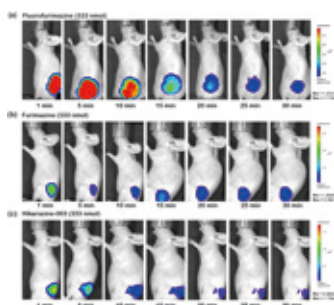
NanoLuc® 报告基因在小鼠浅表组织成像时提供了高灵敏度和低背景，并已成功用于深部组织的成像事件。Nano-Glo In Vivo Substrate, fluorofurimazin (FFz), 是一种优化的试剂，专门设计用于体内检测 NanoLuc® 萤光素酶，NanoLuc® 融合蛋白，或重组 NanoBiT® 萤光素酶。这种水溶性试剂增加了底物在体内的生物利用度，产生明亮的信号，处理方法与体内工作流程相兼容。此外，底物特异性使得 NanoLuc® 可以和萤火虫萤光素酶一起用于双萤光素酶分子成像研究，为创建整个动物报告模型提供了更多的选择。

NanoLuc® 底物

底物	Nano-Glo Substrate, Furimazine	Nano-Glo In Vivo Substrate, fluorofurimazin (FFz)
推荐使用量	参考文献中的方法计算用量	依据动物模型和成像仪参数灵活调整
推荐注射方式	尾静脉注射	腹腔注射或尾静脉注射均可
参考文献	1. NanoLuc reporter for dual luciferase imaging in living animals. Stacer AC, <i>et al.</i> (2013) <i>Molecular imaging</i> , 12 (7), 1-13.	1. Novel NanoLuc substrates enable bright two-population bioluminescence imaging in animals. Su, Y. <i>et al.</i> (2020) <i>Nature Methods</i> . 17, 852–860. 2. Evaluation of NanoLuc substrates for bioluminescence imaging of transferred cells in mice. Natasa Gasper. <i>et al.</i> (2021) <i>Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology</i> . 216 : 112128.

推荐

数据展示



左图：通过小鼠体内成像实验比较三种底物 FFz (a), Furimazine (b) 以及 Hikarazine (c) 的特性，结果表明，在底物注射量相同的条件下，FFz 底物组亮度最高。此外，FFz 底物可以兼容不同的注射方式，例如尾部静脉注射 IV (中图)，腹腔注射 IP (右图)。

数据来源：

Evaluation of NanoLuc substrates for bioluminescence imaging of transferred cells in mice. Natasa Gasper. *et al.* (2021) *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 216:112128.

<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112128>

成像 >> 选择成像底物

Promega 新型专利萤光素酶—NanoLuc[®] Luciferase

NanoBRET[™] 技术

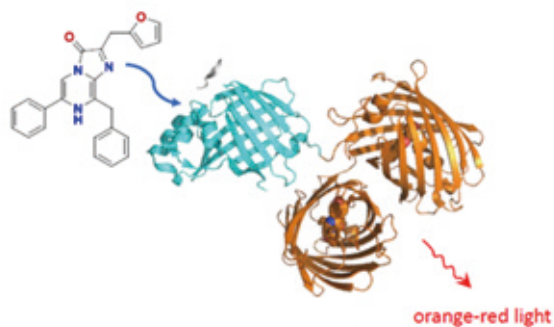
深部组织成像

文献支持

基于 NanoLuc[®] 萤光素酶的 BRET 技术已经开发了几种体内成像策略。这些技术利用明亮的 NanoLuc[®] 信号激发红移的荧光受体蛋白，建立增强型的深部组织成像解决方案。

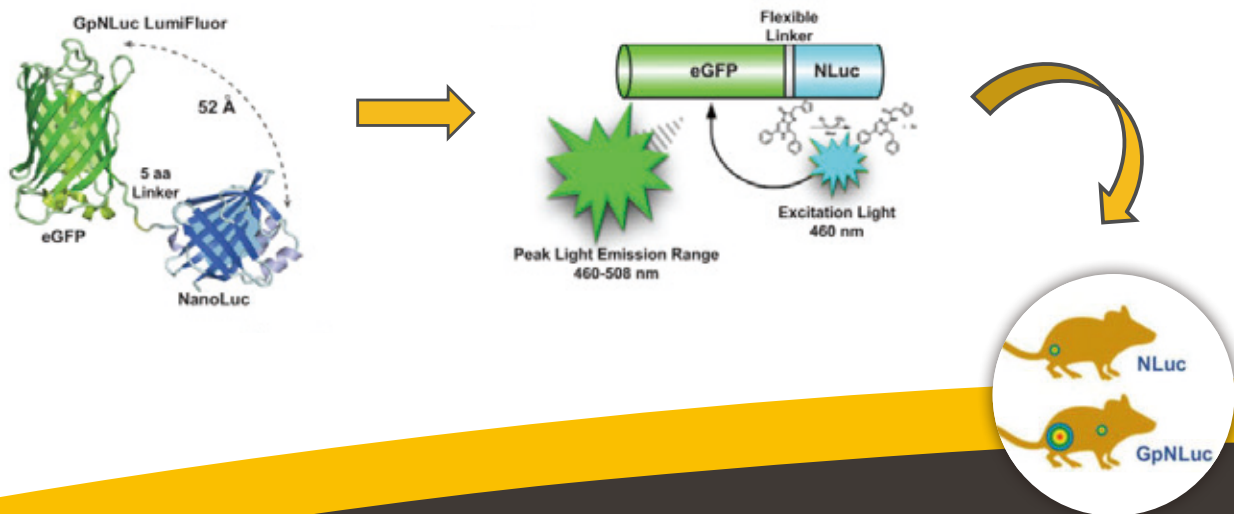
案例 1: Antares 报告基因系统的开发

将 NanoLuc[®] 萤光素酶融合到两个拷贝的青色可激发的橙红荧光蛋白 1 (CyOFP1) 上，使其发生红移，在对动物深部组织成像时可产生比萤火虫萤光素酶和其他生物发光蛋白更亮的信号 (1)。



案例 2: NanoLuc[®] 与荧光蛋白融合的 BRET

将 NanoLuc[®] 萤光素酶与增强型绿色荧光蛋白融合 (GpNLuc)，使荧光受体蛋白信号发生红移，具有更好的组织穿透性，可进行深部组织成像 (2)。



参考文献:

1. A bright cyan-excitable orange fluorescent protein facilitates dual-emission microscopy and enhances bioluminescence imaging in vivo. Jun Chu. *et al.* (2016) *Nature Biotechnology*. 34(7):760-7.
2. Fluorophore-NanoLuc BRET Reporters Enable Sensitive In Vivo Optical Imaging and Flow Cytometry for Monitoring Tumorigenesis. Franz X Schaub. *et al.* (2015) *Cancer Research*. 75(23):5023-33.

成像 >> 选择成像底物

Firefly 萤光素酶底物 VivoGlo™ 系列

经典报告基因

发射波长最长

应用最广泛

深部组织成像

优势

- VivoGlo™ 底物是最高质量的活体成像底物，可消除由于内毒素存在可能引起的干扰分析。
- 大多数产品都包装在带有隔膜的琥珀小瓶中，以确保产品的完整性，且产品的提供形式易于稀释，便于进行成像实验。
- 产品包装具有良好的包容性，以尽量减少对底物称重，并可提供多种规格，以满足各种实验设置。

产品介绍

底物名称	VivoGlo™ Luciferin, In Vivo Grade
产品描述	是 D- 萤光素的钾盐、是萤火虫萤光素酶的底物，在表达萤光素酶的模型中能够发光，该产品进行了内毒素质控，实验时去除了由于内毒素的存在而产生的潜在干扰，可用于活体成像应用。
推荐使用量	每只小鼠按照 150mg/kg 剂量注射（例如，小鼠体重 10g，需注射 1.5mg 的底物）
推荐注射方式	腹腔注射或尾静脉注射均可

产品列表

萤光素酶	产品特点	名称	目录号	规格 (mg)
萤火虫萤光素酶	钾盐，经过内毒素含量检测的活体成像底物	VivoGlo™ Luciferin, In Vivo Grade	P1041	50mg
			P1042	250mg
			P1043	1000mg

参考文献

1. In vivo imaging of S-TRAIL-mediated tumor regression and apoptosis. Shah K, *et al.* (2005) *Mol. Ther.* 11, 926-31.
2. Selective killing of hypoxia-inducible factor-1-active cells improves survival in a mouse model of invasive and metastatic pancreatic cancer. Kizaka-Kondoh, S. *et al.* (2009) *Clin. Cancer Res.* 15, 3433-41.
3. In vivo imaging of early stage apoptosis measuring real-time caspase-3 activation. Scabini, M. *et al.* (2011) *Apoptosis.* 16, 198-207

成像 >> 选择成像底物

Renilla 荧光素酶底物

ViviRen™ in vivo Renilla Luciferase Substrate

ViviRen™ in vivo 海肾荧光素酶底物是一种独特的、经过改造的腔肠素类 (coelenterazine) 化合物，带有受保护的氧化位点。这些改造旨在减少底物的降解和自发光。据已有文献报道，当被用于小鼠模型的活体成像时，与天然的腔肠素底物相比较，ViviRen™ Substrate 可能具有更强的信号。

推荐使用量

参考文献中的方法计算用量，举例如下 (1)：

- 首先将底物配置成终浓度为 60nM 的母液。
- 使用时将母液稀释 (可使用含 0.1% BSA 的 PBS 溶液稀释) 至 0.295mM 使用，注射 200ul 底物至小鼠体内。

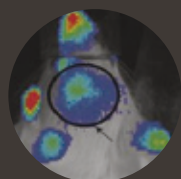
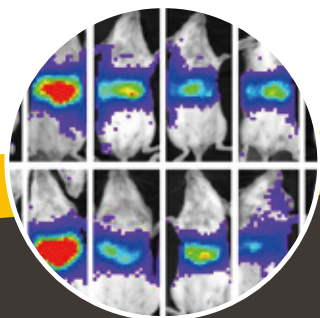
推荐注射方式：一般建议用静脉注射方式，因为腹腔注射容易有局部自发光干扰。

产品列表

产品名称	规格	目录号	提供形式
ViviRen™ In Vivo Renilla Luciferase Substrate	0.37mg	P1231	液体
	3.7mg	P1232	冻干粉

参考文献

1. In vivo testing of Renilla luciferase substrate analogs in an orthotopic murine model of human glioblastoma. Otto-Duessel, M. *et al.* (2006) *Mol Imaging*. 5, 57-64.
2. In Vivo Imaging of Chikungunya Virus in Mice and Aedes Mosquitoes Using a Renilla Luciferase Clone. Ziegler, *et al.* (2011) *Vector Borne Zoonotic Dis*. 11(11): 1471-1477.



Contact Us
联系我们

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

电话: 010-58256268

技术支持电话: 400 810 8133

技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com

成像 >> 选择成像底物

产品综合列表

• 活体成像底物

萤光素酶	产品特点	名称	目录号	规格 (mg)
NanoLuc® 萤光素酶	光信号更强	Fluorofurimazine (FFz)	N4100	1 each
			N4110	5 each
萤火虫萤光素酶	钾盐, 经过内毒素含量检测的活体成像底物	VivoGlo™ Luciferin, In Vivo Grade	P1041	50mg
			P1042	250mg
			P1043	1000mg
海肾萤光素酶	光信号更强	ViviRen™ In Vivo Renilla Luciferase Substrate	P1231	0.37mg
			P1232	3.7mg

• 相关产品

产品性质	应用	名称	目录号	规格
萤火虫萤光素酶载体 *	表征细胞健康和数量	pGL4.50[<i>luc2</i> /CMV/Hygro] Vector	E1310	20ug
		pGL4.51[<i>luc2</i> /CMV/Neo] Vector	E1320	20ug
海肾萤光素酶活细胞检测	细胞检测, BRET	EnduRen™ Live Cell Substrate	E6481	0.34mg
			E6482	3.4mg
			E6483	34mg
		ViviRen™ Live Cell Substrate	E6491	0.37mg
			E6492	3.7mg
			E6495	37mg
转染试剂	将载体高效低毒地转染入细胞, 构建稳转细胞系	ViaFect™ Transfection Reagent	E4983	0.2ml
			E4981	0.75ml
			E4982	2x 0.75ml



* 更多载体信息请查阅[双萤光素酶报告基因解决方案](#)以及 [NanoLuc® 萤光素酶技术](#), 其他相关产品可登录 [Promega 微官网](#)或直接咨询 Promega。

成像 >> 选择成像底物

注射底物 Tips:

底物注射部位

- 荧光素可通过腹腔注射或尾部静脉注射注入小鼠体内，约 1 分钟可扩散到小鼠全身。
- 对于腹腔注射，扩散较慢，开始发光较慢（注射约 10-20 分钟达到信号峰值），持续发光时间较长。
- 对于尾部静脉注射，扩散快，开始发光快（注射约 2-5 分钟达到信号峰值），但发光持续时间较短。

底物注射后检测时间

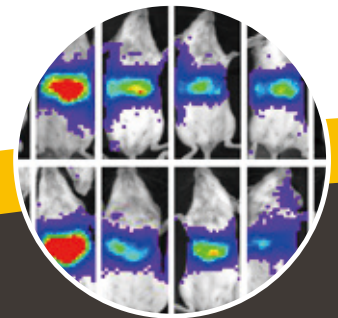
检测的时间需要根据报告基因、底物和实验细节（例如如何给药）进行经验优化。通常注射底物后需要等待一段时间让其分布均匀和在目标组织中聚集，然后发光信号会出现一段相对稳定的平台期。发光强度在最大值的 95% 以上，是检测的窗口期，通常会在底物注射后的 10-20min，之后由于底物的体内清除，信号会快速降低。

动物麻醉处理方式

- **吸入性麻醉：**是将气态或挥发性液态的麻醉剂经呼吸道吸入，在肺泡中被吸收进入血液循环，到达神经中枢后使中枢神经系统产生麻醉效应。该方法具有良好的可控性且对机体的影响较小，属于较为安全的麻醉形式。
- **非吸入性麻醉：**指不经吸入方式而使麻醉剂进入动物体并产生麻醉效应的方法。此类方法操作简单，无需特殊的麻醉装置，且一般无明显兴奋期。但这种麻醉不能灵活掌握用药的剂量，麻醉深度及持续时间。其输入途径多种多样，如皮下注射、肌肉注射、腹腔内注射、口服及直肠灌注等。

参考文献：

1. 孙乐天, 穆晓丽. 动物全身麻醉方法及用药研究进展 [J]. 畜牧兽医志, 2011, 30(02): 27-30.



成像 >> 选择成像仪

需要选择带有冷 CCD 镜头的 Camera

高灵敏度的制冷 CCD 镜头，温度可达零下 -90℃，其能捕获到信号极其微弱的荧光或化学发光样本图像，同时还能最大程度的降低噪音，减少背景，提供出色的图像清晰度。

带有麻醉装置系统最佳

因为麻醉系统可以对小鼠的麻醉情况包括时间，程度等有更精确的控制。使用起来也会更加方便。

应用举例

VivoGlo™ Luciferin

DDX3 Activates CBC-eIF3-Mediated Translation of uORF-Containing Oncogenic mRNAs to Promote Metastasis in HNSCC.

Hung-Hsi Chen, *et al.*

DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-18-0282](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0282)

● 研究背景

DDX3 是 DEAD-box RNA 解旋酶家族成员，参与 RNA 从转录到翻译调控的多个代谢步骤。已有研究报道，在几种癌症中发现了 DDX3 的过表达。最近的一项研究表明，非甾类抗炎药物酮咯酸（Ketorolac）可以通过抑制 DDX3 活性，从而抑制 4-硝基喹啉-1-氧化物诱导的小鼠 OSCC（口腔鳞状细胞癌）。阿霉素（Doxorubicin）也是一种 DDX3 抑制剂，可对 EGFR 抑制剂不敏感的 HNSCC（头颈部鳞状细胞癌）发挥强大的抗癌活性。因此，探究 DDX3 的功能对癌症研究有着重要意义。

● 实验设计

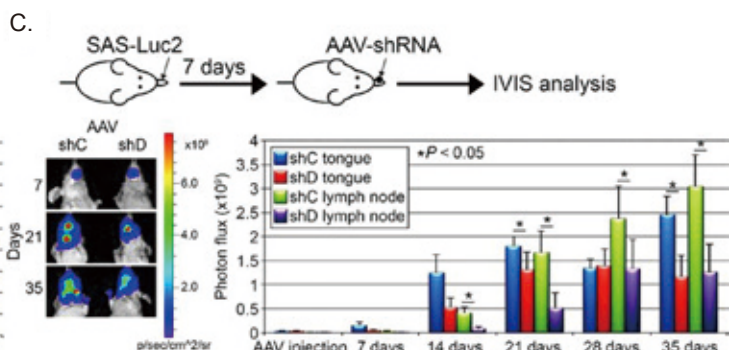
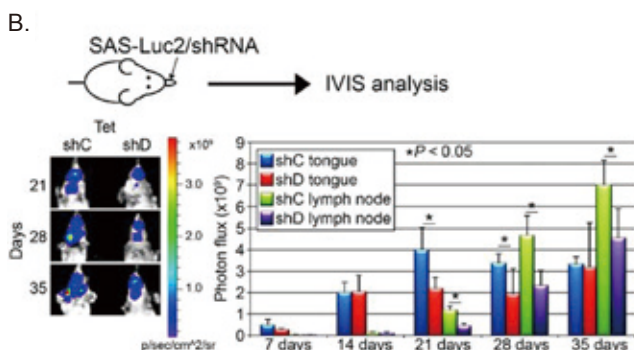
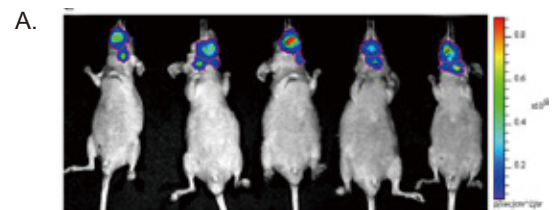
载体构建	建立稳转细胞系	细胞注射小鼠	注射底物	成像及数据分析
<ul style="list-style-type: none">pGL4 载体DDX3 shRNA 腺病毒（AAV）表达载体	<ol style="list-style-type: none">稳定表达萤火虫荧光素酶 Luc2 (SAS/Luc2) 的 SAS（人类口腔癌细胞）细胞系；含有四环素诱导 shRNA 的 SAS/Luc2 细胞	SAS 细胞系注射至小鼠体内	小鼠腹腔注射 150 mg/kg VivoGlo™ Luciferin	体内成像系统监测； 定量数据采用 Student t 检验进行分析。

● 实验结果

右图 A. 裸鼠舌粘膜下注射 SAS/Luc2 细胞后使用体内成像，观察到所有注射小鼠在 3 周时均发生了颈部淋巴结转移，且从淋巴结分离到的转移性的 SAS 细胞表达较高水平的 DDX3（结果未展示）。

下图 B. 将稳定表达萤光素酶 (Luc2) 和四环素诱导 shRNA 的 SAS 细胞注入小鼠舌部。体内成像显示，与对照组 (shC) 相比，表达 DDX3 shRNA 的 SAS/Luc2 细胞 (shD) 在小鼠体内肿瘤生长和转移能力下降。

下图 C. 为了探索靶向 DDX3 对 OSCC 的治疗潜力，将注射 OSCC 1 周的小鼠在瘤内注射对照载体 (shC) 或 DDX3 shRNA AAV 表达载体 (shD)。结果显示，在移植的 OSCC 肿瘤中敲除 DDX3 可以防止原发肿瘤生长和颈部淋巴结转移。证明了 DDX3 在 OSCC 转移中的作用。



● 研究背景

野生型哺乳动物的呼肠孤病毒 (MRV) 已被证明是抗各种癌症的溶瘤剂。但是由于难以产生自主复制的携带转基因的 MRV, 提高溶瘤活性的工程化的重组 MRV 还尚未实现。本文中, 作者构建了一个报告基因 MRV, 可用于在小鼠模型中通过溶瘤病毒 MRV 监测癌症的选择性感染。在众多溶瘤病毒中, MRV 的优势主要在于野生型病毒在患者中显示出显著的溶瘤活性, 而没有任何明显的副作用。本文开发的报告基因 MRV 将为开发带有抗癌转基因的重组 MRV 载体开辟道路。

● 实验设计

实验一:

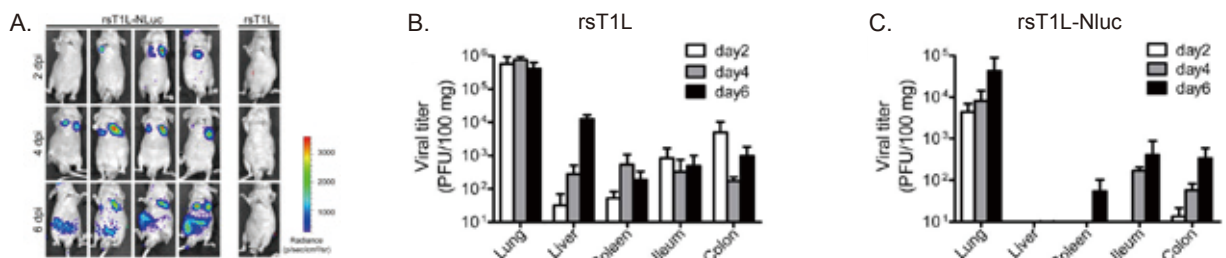
载体构建	分离重组病毒	病毒感染小鼠	注射底物	成像分析
pT7-L1T1L-Nluc (包含 Nluc 基因和来源于猪 teschovirus-1 的 P2A 肽序列), 生成表达 Nluc 的自主复制的重组 MRV 菌株 T1L (rsT1L-Nluc)	分离重组病毒 rsT1L-Nluc 和 rsT1L(野生型, 作为对照)	4 周龄雄性裸鼠 (BALB/cAJcl-nu/nu) 鼻内接种 rsT1L 或 rsT1L-Nluc	麻醉小鼠, 注射 100ul Nano-Glo [®] 底物 (PBS 中 1: 50 稀释)	体内成像系统监测; 定量数据采用 Student t 检验进行分析。

实验二:

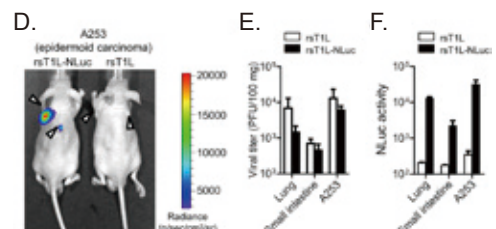
建立人肿瘤异种移植模型, 将 4 周龄雄性裸鼠 (BALB/cAJcl-nu/nu) 通过皮下植入人类癌细胞 A253 或 IGR-OV1	当肿瘤达到约 5mm 直径时, 将 rsT1L-Nluc 或 rsT1L 通过尾静脉注射入小鼠体内。	7dpi 时, 注射 100ul Nano-Glo [®] 底物 (PBS 中 1: 50 稀释), 1 分钟后进行成像。
---	--	--

● 实验结果

1. 如下图所示, 病毒感染后 2 天 (dpi) 首先在小鼠肺部观察到生物发光信号, 在 4 和 6dpi 时增强。此外, 在 6dpi 时, 小鼠的腹部区域也检测到了发光信号。该结果反映了 rsT1L-Nluc 引起小鼠肺部感染的实时动态。



2. 如右图所示, 病毒感染后 7dpi, 仅在 rsT1L-Nluc 感染小鼠中获得肿瘤特异性生物发光图像。而且肿瘤组织匀浆中检测到最高的病毒滴度和 Nluc 活性, 其次是肺部组织。IGR-OV1 的数据未显示。



该结果表明 rsT1L-Nluc 可用于跟踪 MRV 的肿瘤选择性感染。

生物发光活体成像应用文献列表

报告基因	应用方向	参考文献
NanoLuc® 萤光素酶	NanoLuc® Reporter Virus (病毒研究)	Ullah <i>et al.</i> , 2021. Live imaging of SARS-CoV-2 infection in mice reveals that neutralizing antibodies require Fc function for optimal efficacy. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.08.015 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine), Cat # N1120
		Tran <i>et al.</i> , 2013. Highly Sensitive Real-Time In Vivo Imaging of an Influenza Reporter Virus Reveals Dynamics of Replication and Spread. https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.02381-13 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine)
		Carossino <i>et al.</i> , 2021 Fatal neuroinvasion and SARS-CoV-2 tropism in K18-hACE2 mice is partially independent on hACE2 expression. https://doi.org/10.1101/2021.01.13.425144 应用产品: Fluorofurimazine (FFz) substrate (咨询 Promega)
	NanoLuc® Reporter Oncolytic Virus (溶瘤病毒研究)	Kanai <i>et al.</i> , 2019. In Vivo Live Imaging of Oncolytic Mammalian Orthoreovirus Expressing NanoLuc Luciferase in Tumor Xenograft Mice. https://doi.org/10.1128/JVI.00401-19 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine)
	HiBiT Oncolytic Virus (溶瘤病毒研究)	Gasper <i>et al.</i> , 2020. NanoBIT System and Hydrofurimazine for Optimized Detection of Viral Infection in Mice—A Novel in Vivo Imaging Platform. https://doi.org/10.3390/ijms21165863 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine)
	CAR T-Cell Tracking (细胞跟踪)	Theruvath <i>et al.</i> , 2020. Locoregionally administered B7-H3-targeted CAR T cells for treatment of atypical teratoid/rhabdoid tumors. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0821-8 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine)
		Su <i>et al.</i> , 2020. Novel NanoLuc substrates enable bright two-population bioluminescence imaging in animals. https://doi.org/10.1038/s41592-020-0889-6 应用产品: Fluorofurimazine (FFz) substrate
	Exosomes/ Extracellular Vesicles (外泌体 / 细胞外囊泡)	Luo <i>et al.</i> , 2020. Spatial and temporal tracking of cardiac exosomes in mouse using a nano-luciferase-CD63 fusion protein. https://doi.org/10.1038/s42003-020-0830-7 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine), Cat # N1110
		Rufino-Ramos <i>et al.</i> , 2022. Using genetically modified extracellular vesicles as a non-invasive strategy to evaluate brain-specific cargo. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121366 应用产品: Fluorofurimazine (FFz) substrate

生物发光活体成像应用文献列表

报告基因	应用方向	参考文献
NanoLuc® 萤光素酶	BRET-Based Cell Tracking (基于 BRET 技术进行细胞跟踪)	Wang <i>et al.</i> , 2021. Application of bioluminescence resonance energy transfer-based cell tracking approach in bone tissue engineering. https://doi.org/10.1177/2041731421995465 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine), Cat # N1120
	BRET- Based Receptor Binding (受体结合)	Tang <i>et al.</i> , 2019. A Bioluminescence Resonance Energy Transfer-Based Approach for Determining Antibody-Receptor Occupancy In Vivo. https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.05.003 应用产品: Nano-Glo substrate(Furimazine)
	Optogenetics (光学遗传学)	He <i>et al.</i> , 2021. Optogenetic Control of Non-Apoptotic Cell Death. https://doi.org/10.1002/adv.202100424 应用产品: Fluorofurimazine (FFz) substrate
Firefly 萤光素酶	信号通路研究	Jia-Yang Chen, <i>et al.</i> , 2019. A Novel Sialyltransferase Inhibitor Suppresses FAK/Paxillin Signaling and Cancer Angiogenesis and Metastasis Pathways. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1303 应用产品: Cat.# P1041, P1042, P1043
	转录重编程对肿瘤的影响机制研究	Vittoria Poli, <i>et al.</i> , 2018. MYC-driven epigenetic reprogramming favors the onset of tumorigenesis by inducing a stem cell-like state. https://doi.org/10.1038/s41467-018-03264-2 应用产品: Cat.# P1041, P1042, P1043
	胰腺导管癌的治疗机制研究	Fares Al-Ejeh, <i>et al.</i> , 2011. Gemcitabine and CHK1 Inhibition Potentiate EGFR-Directed Radioimmunotherapy against Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0048 应用产品: Cat.# P1781, P1782

Bioluminescence Imaging

www.promega.com/resources/technologies/nanoluc-luciferase-enzyme/bioluminescence-imaging



关注 Promega 微信公众号



价格查询



中文说明书



实验工具



技术资料



市场活动



经销商信息

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址：北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话：010-58256268

网址：www.promega.com

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2022.6