

Magyar Geofizikusok Egyesülete
2016. február 17.

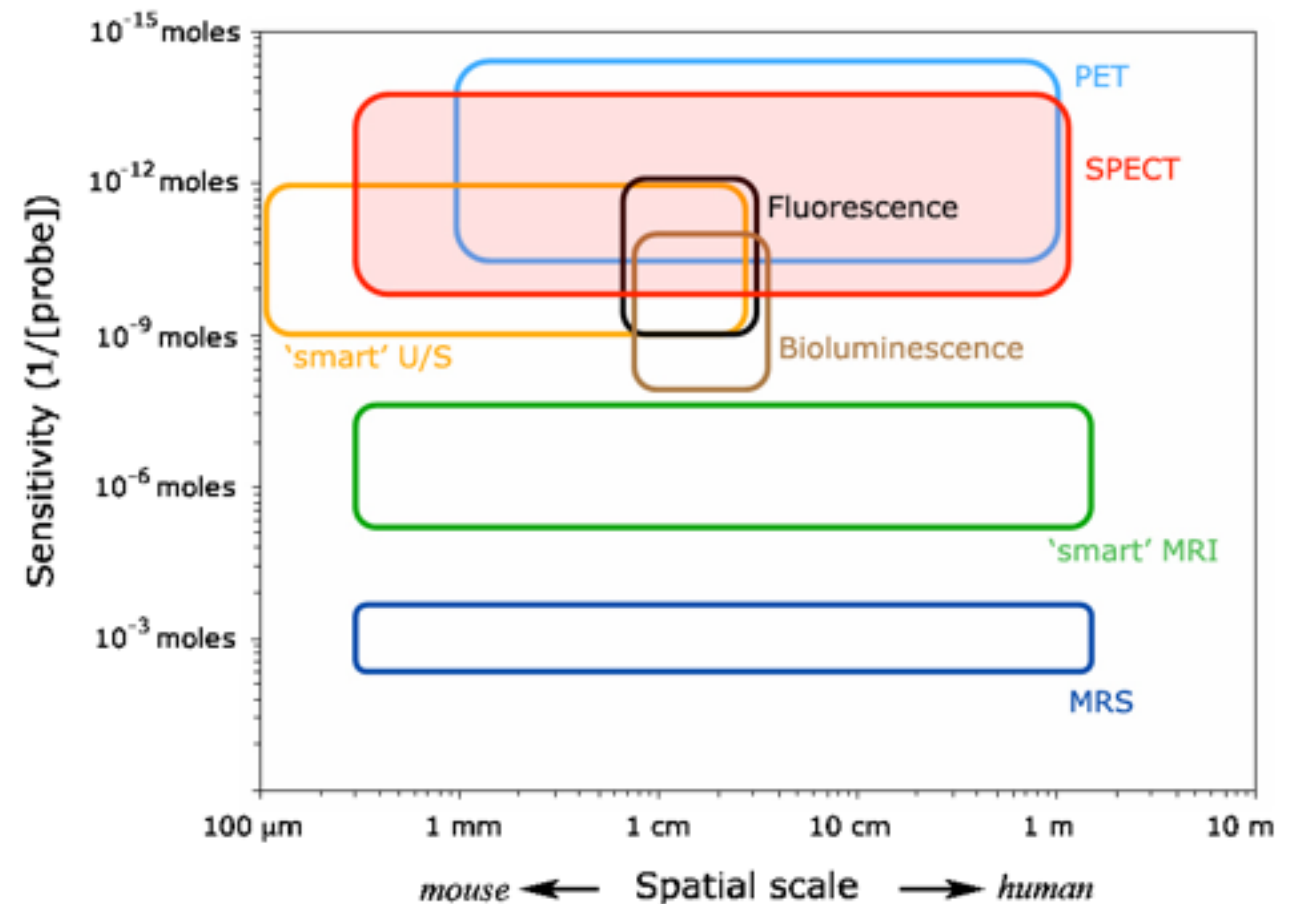
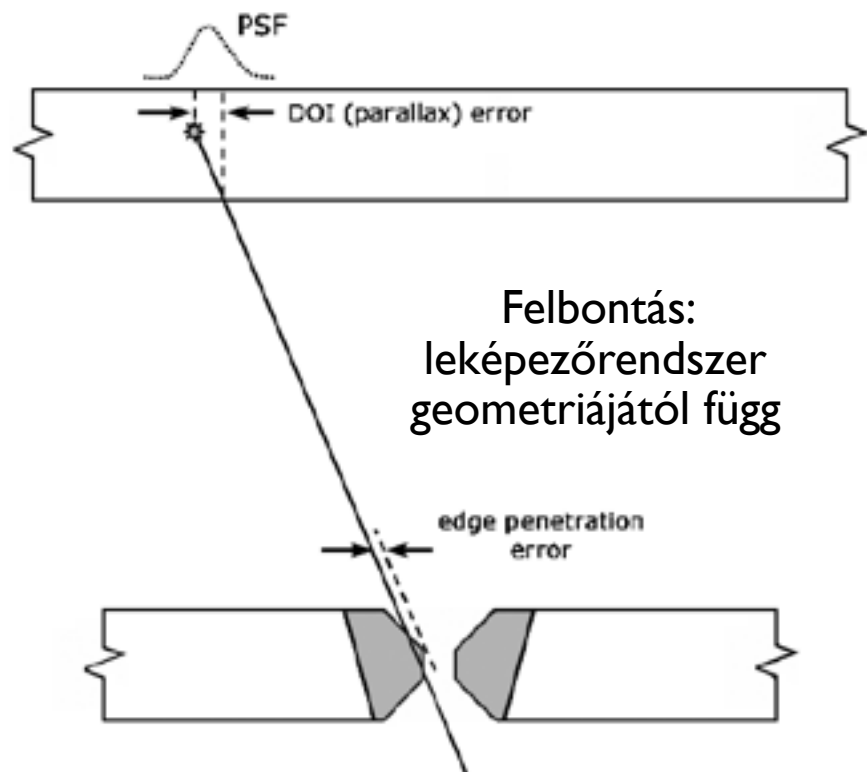
Korrelatív biomedicinális képalkotó eljárások

Kellermayer Miklós

Semmelweis Egyetem
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

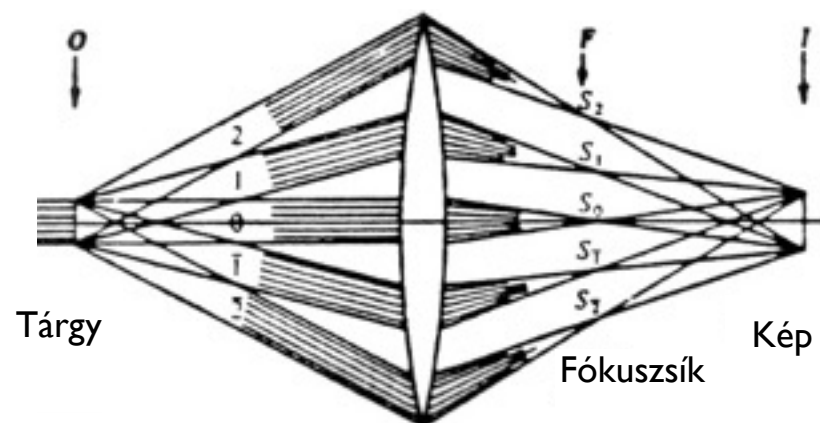
Térbeli problematika

Tomográfiás képalkotás



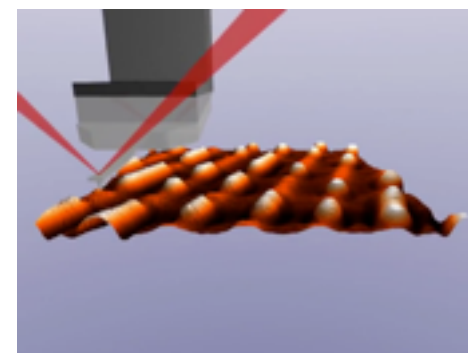
Meikle et al., Phys. Med. Biol. 50 (2005) R45-R61

Diffrakciólimitált képalkotás

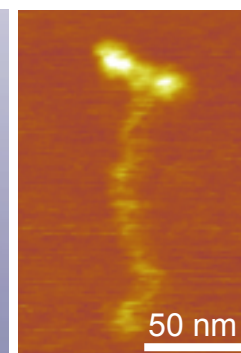


Felbontás: hullámhossztól függ

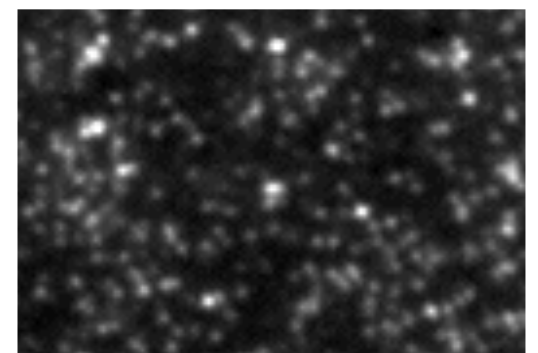
DE!



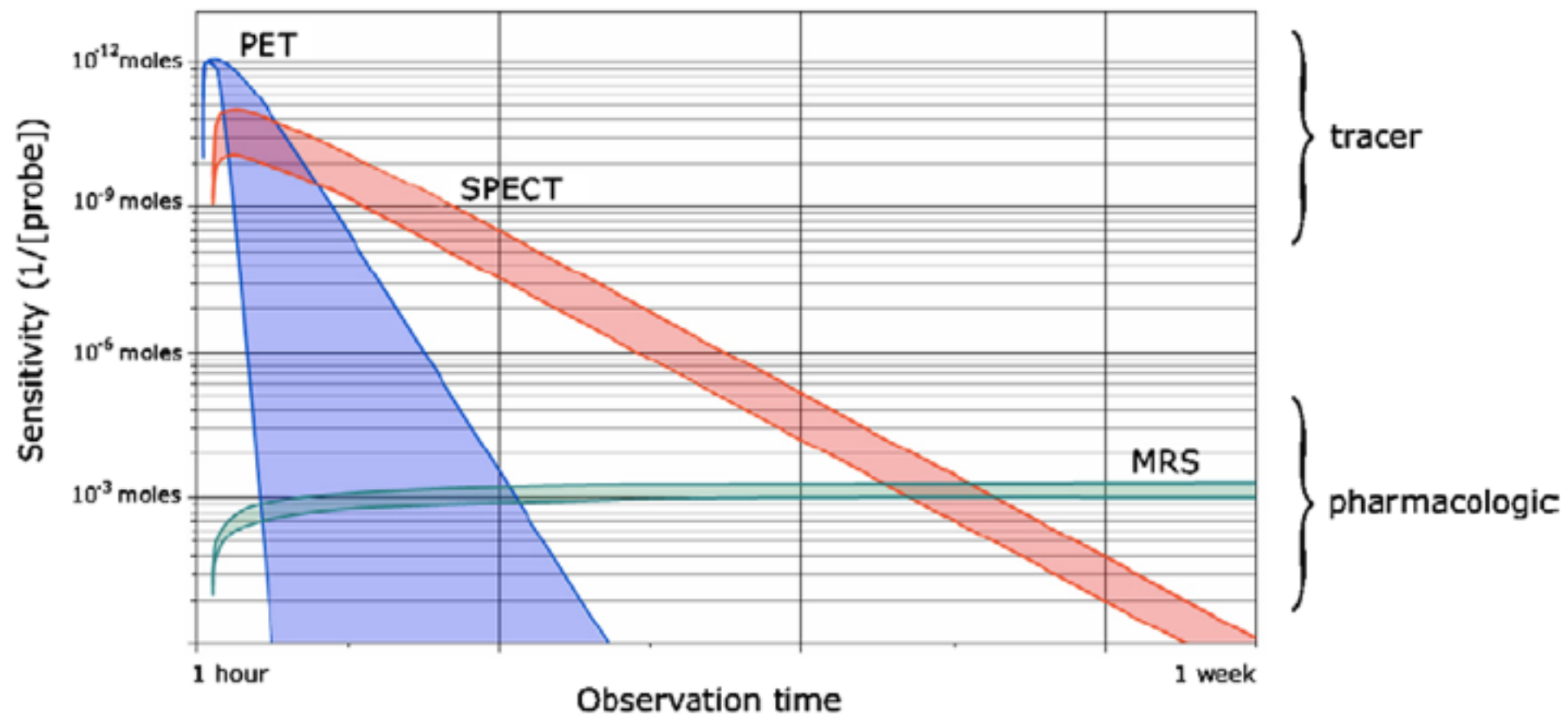
AFM: miozin molekula



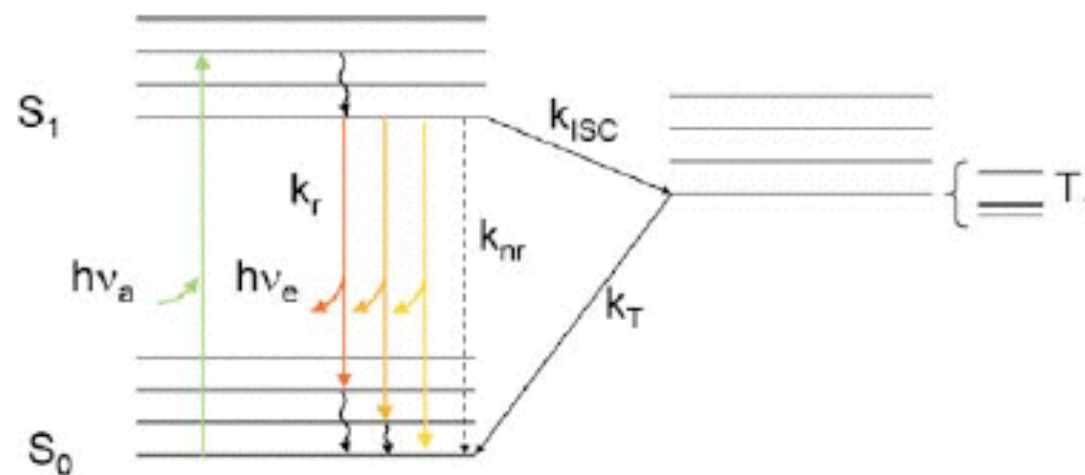
Fluoreszcencia:
PGK - Alexa 488



Időbeli problematika



DE!



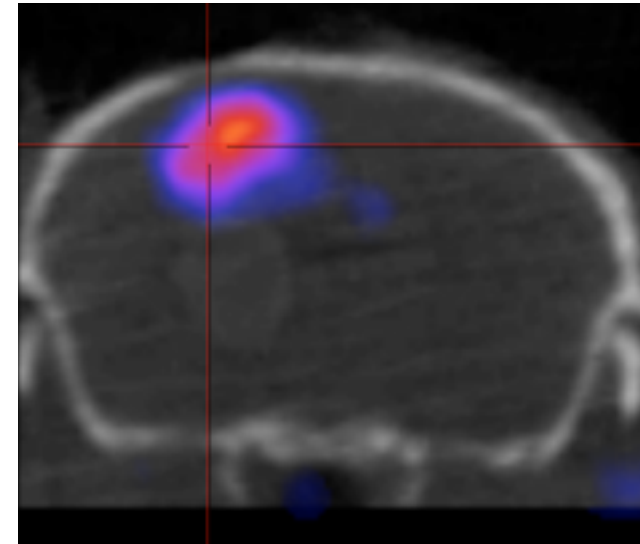
Fluoreszcencia - nanoszekundum

Erőter problematikája

- Kémiai “erőter”

koncentráció

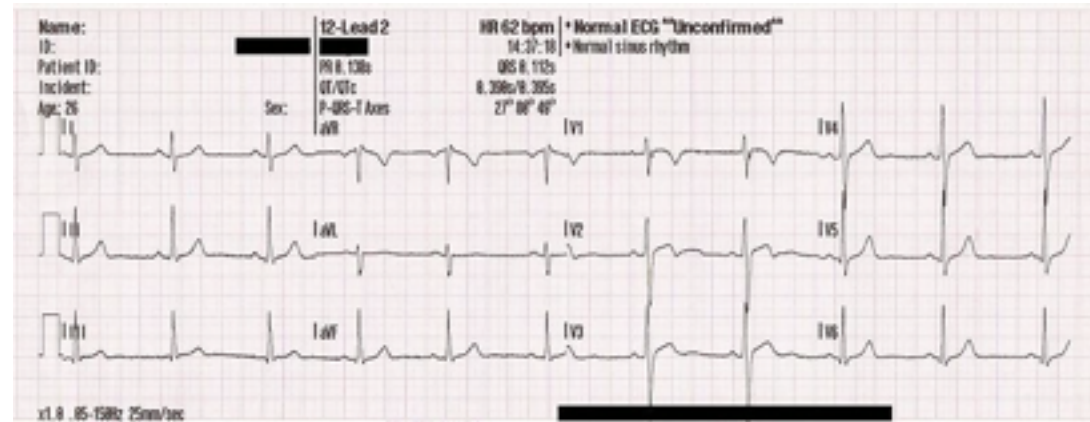
[funkcionális információ; ideálisan diszkrét jel - csak akkor detektálható, ha valamilyen funkció bekövetkezik (pl. interakció, kötődés, enzimreakció, stb.)]



- Elektromos erőter

feszültség,

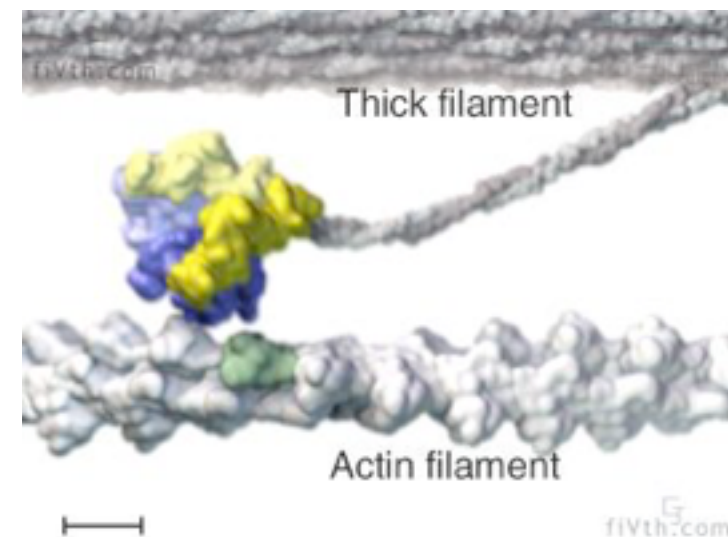
feszültségvektor-változások



- Mechanikai

rugalmasság, erőgenerálás

biológia elhanyagolt paramétere



“3M” ...

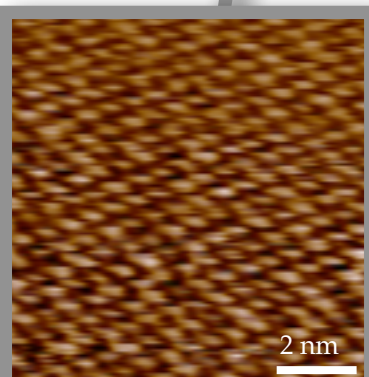


...”molecule - mouse - man”

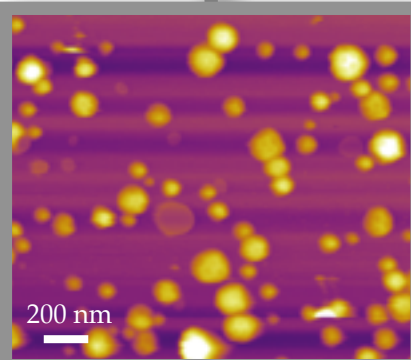
AFM
(AR MFP1D,
MFP3D,
Cypher)



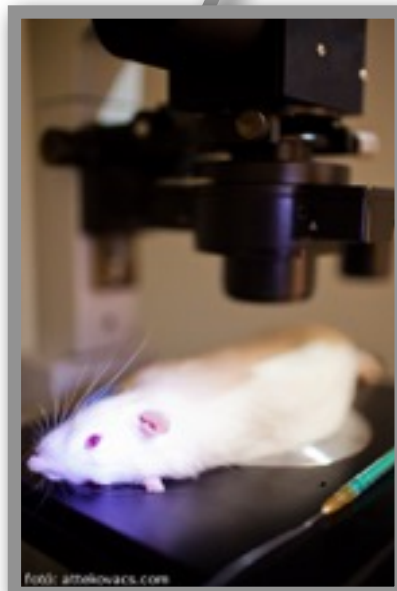
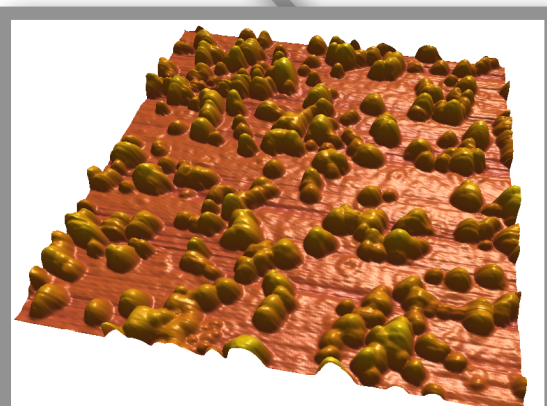
Lézersipeszek



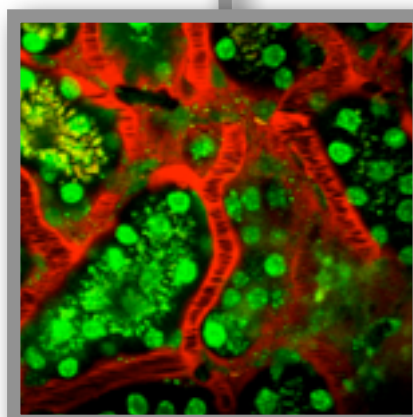
atomok csillám felületen



liposzómák



multi-
foton
mikroszkóp

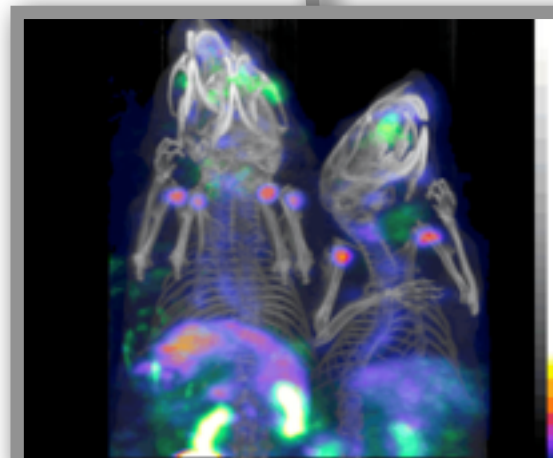


vesekéreg

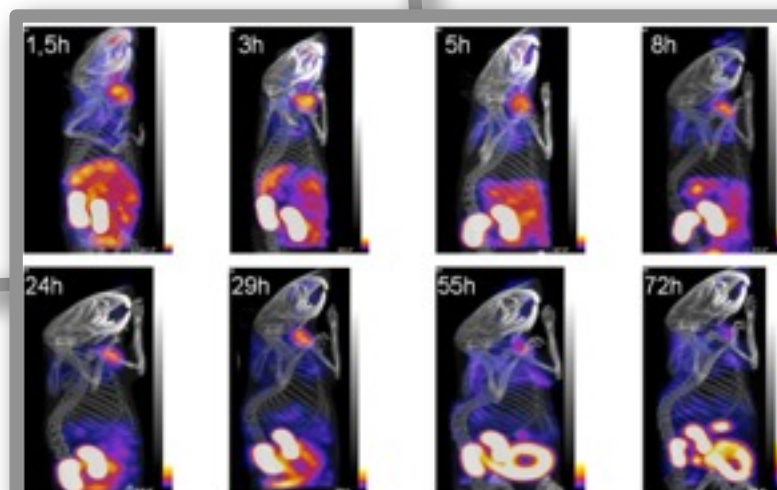
Berlini-kék multimodáli kontrasztú
nanopartikulumok



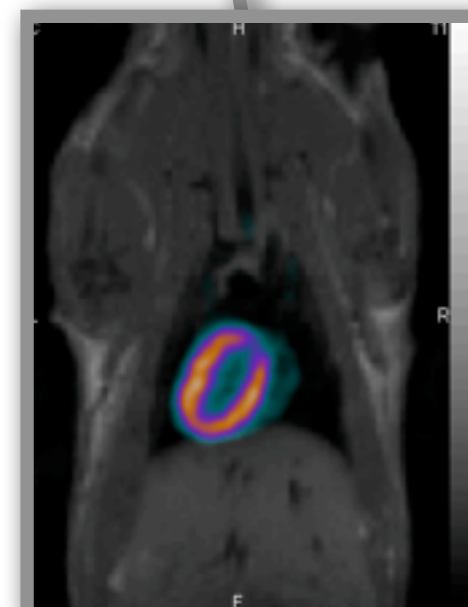
nanoSPECT/CT



^{99m}Tc -DTPA: BBB - **kék/vörös**
 ^{201}Tl -DDC: perfúzió - **zöld**



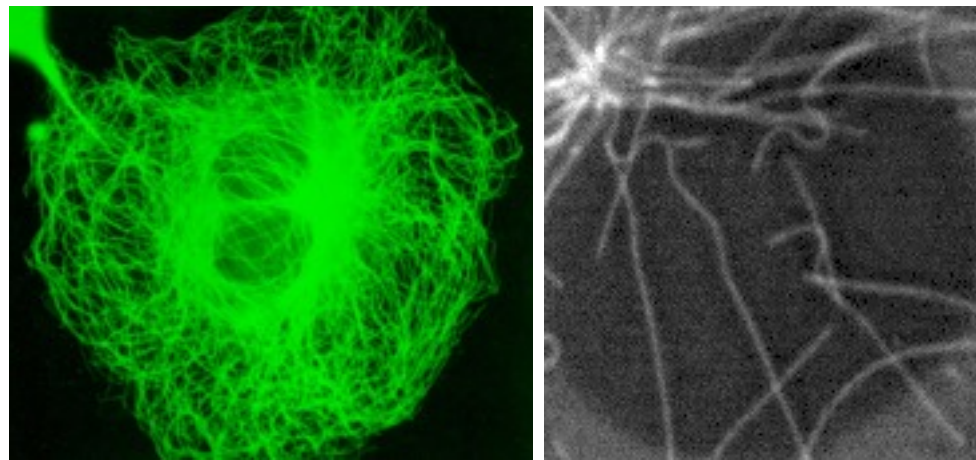
nanoPET/MRI



EKG-kapuzott ^{18}F FDG PET/MRI

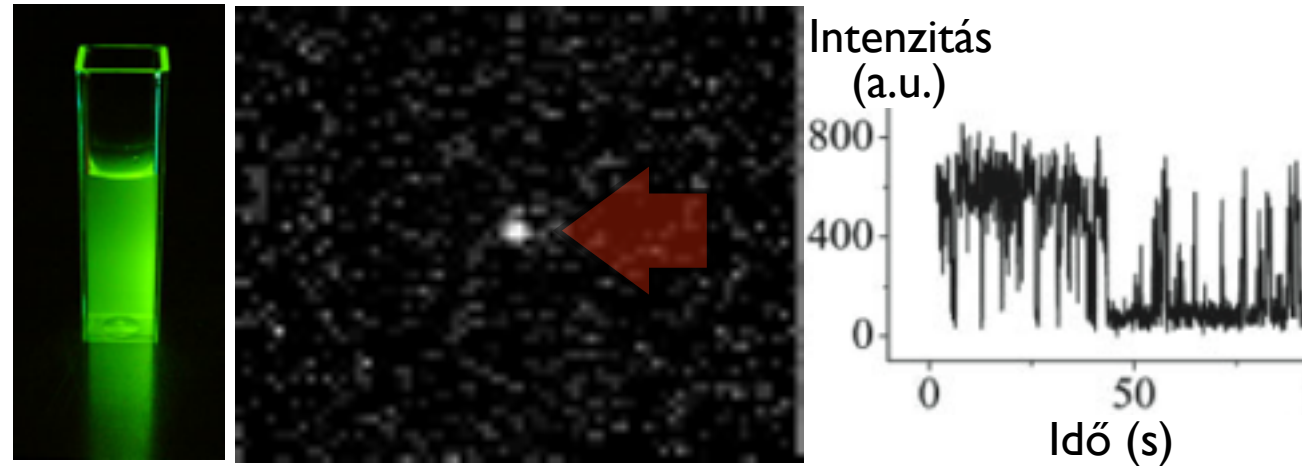
Molekulák - miért egyenként?

1. Egyéneket (tér- és időbeli trajektóriák) azonosíthatunk sokaságban



Sokaság - mikrotubuláris rendszer Egyedi mikrotubulusok - treadmilling

2. Sztochasztikus folyamatokat ismerhetünk meg

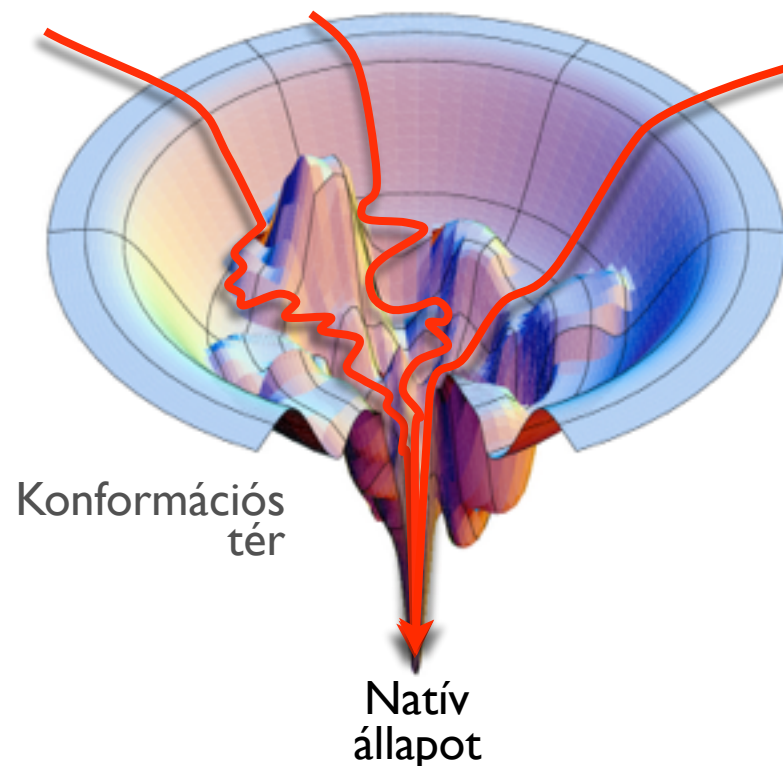


Sokaság - intenzitás

Egyedi kvantumpont - pislogás ("blinking")

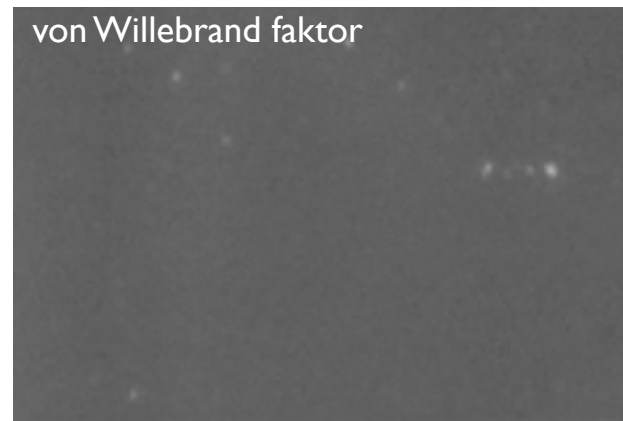
3. Párhuzamos útvonalakon zajló folyamatokat azonosíthatunk

Kigombolyodott állapot

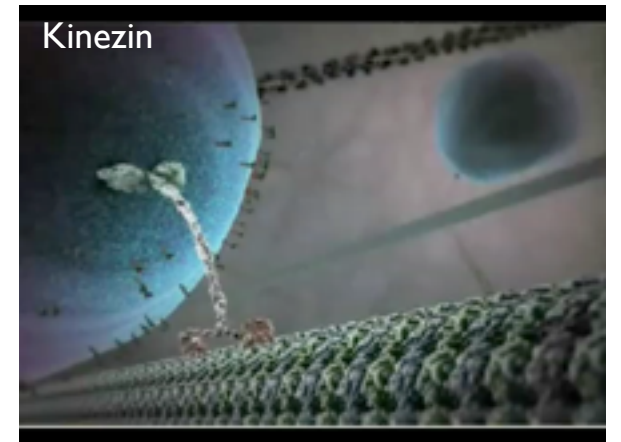


4. Biomolekulák mechanikáját jellemezhetjük

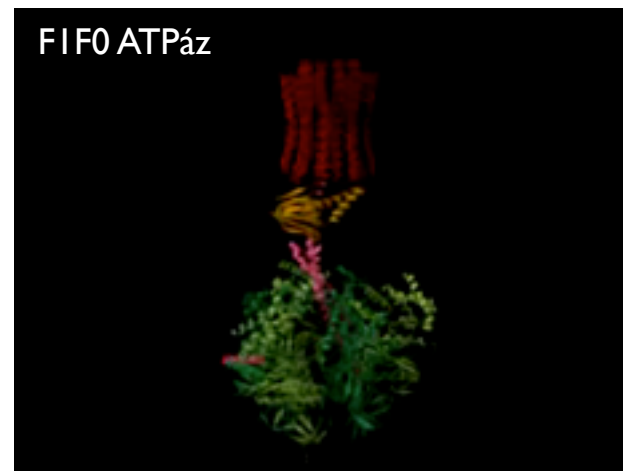
von Willebrand faktor



Kinezin



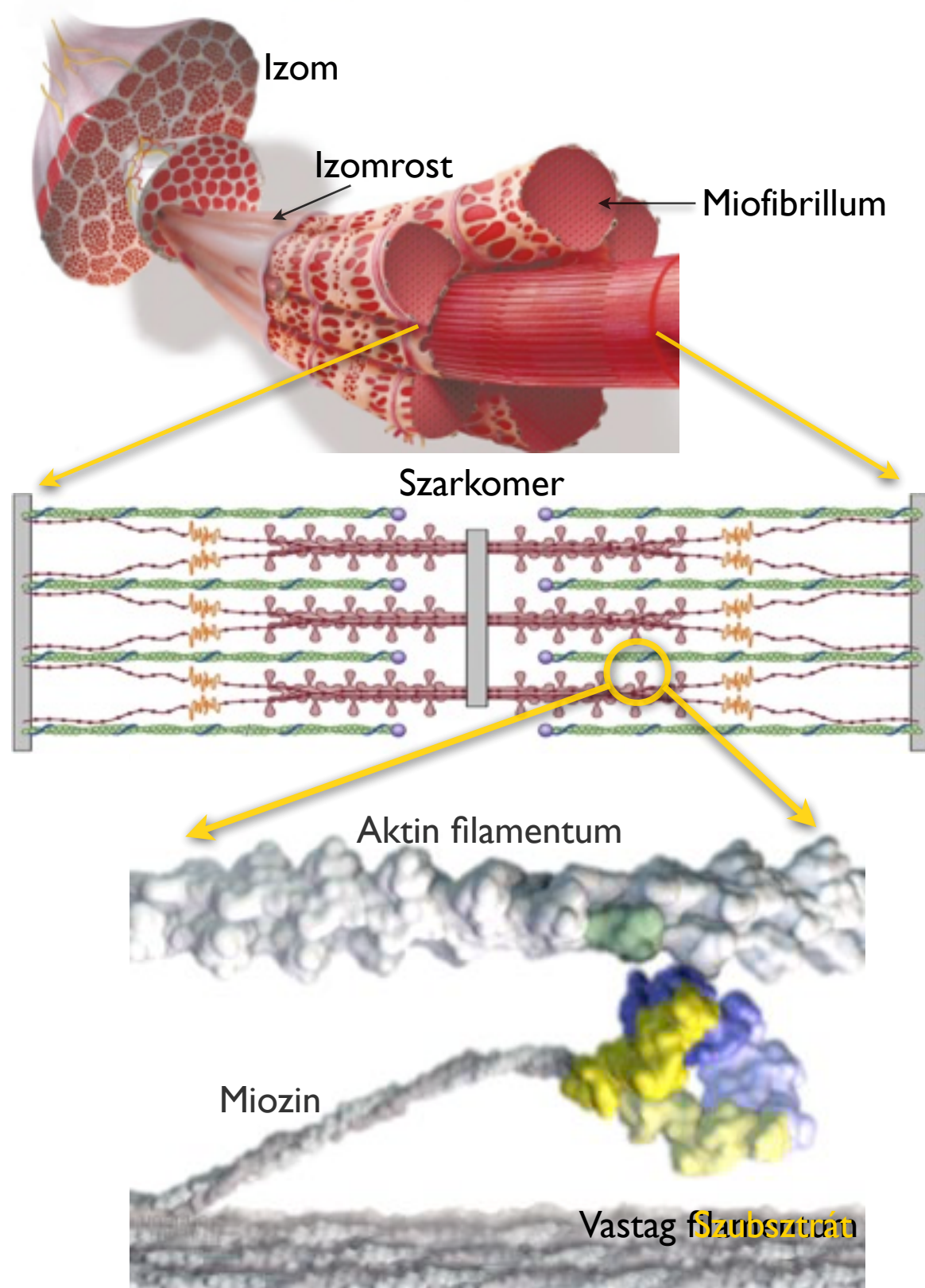
F1F0 ATPáz



Riboszóma



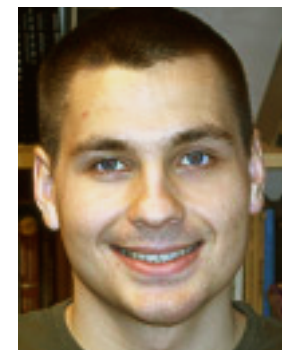
Egyedi aktin filamentumok fluoreszcencia mikroszkópban



Rodamin-jelölt aktin filamentumok motilitása - érzékenyített epifluoreszcencia videomikroszkópia

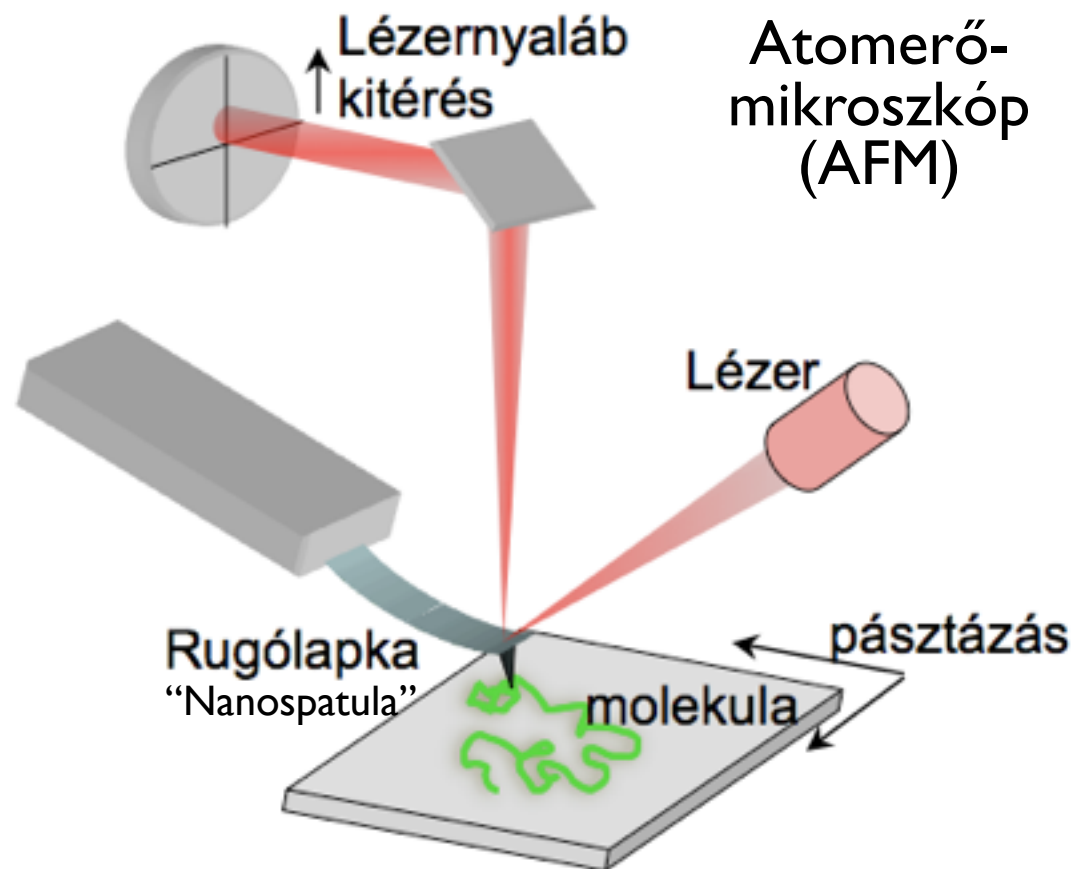


Bárdosné Nagy Irén

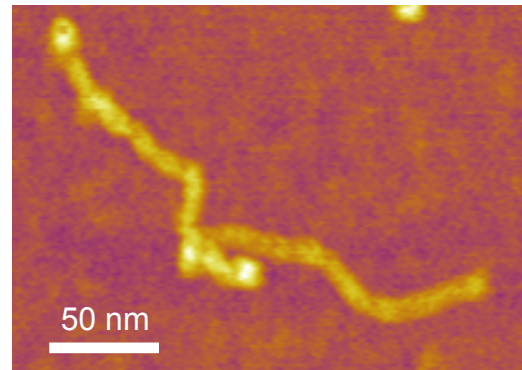


Agócs Gergely

Molekula vizualizálás AFM-mel



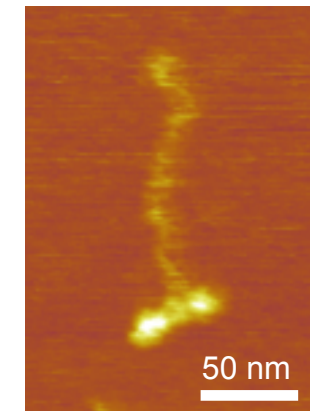
RNS-DNS hibrid



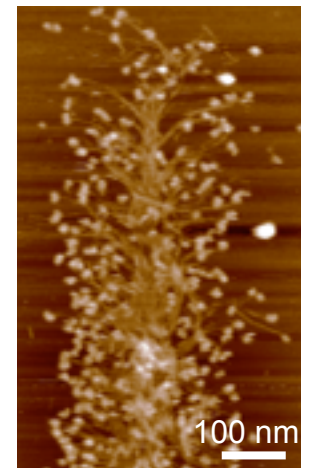
Pongor Csaba



Simon Melinda



Miozin-molekula



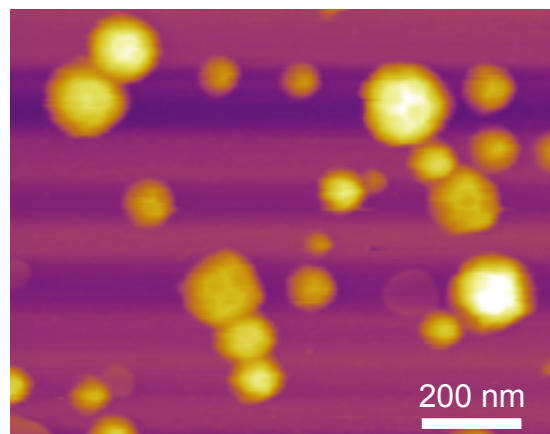
Miozin filamentum



Lakatos Eszter



Brennan Decker



Liposzómák

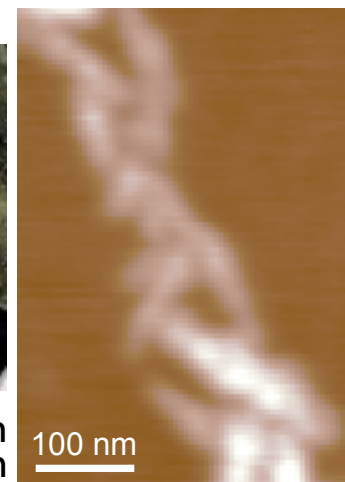


Bozó Tamás

Kiss Balázs



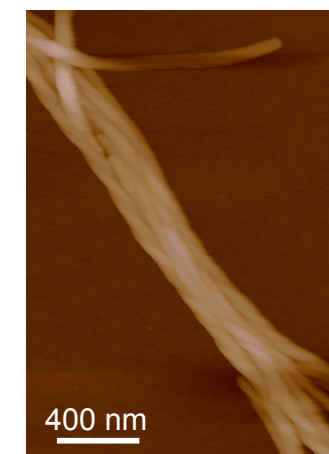
Dezmin filamentum



Murvai Ünige



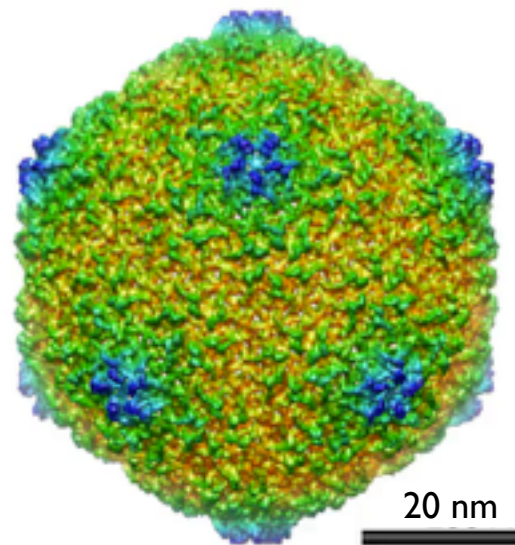
Amiloid fibrillum



Vírus kapszid nanomechanika

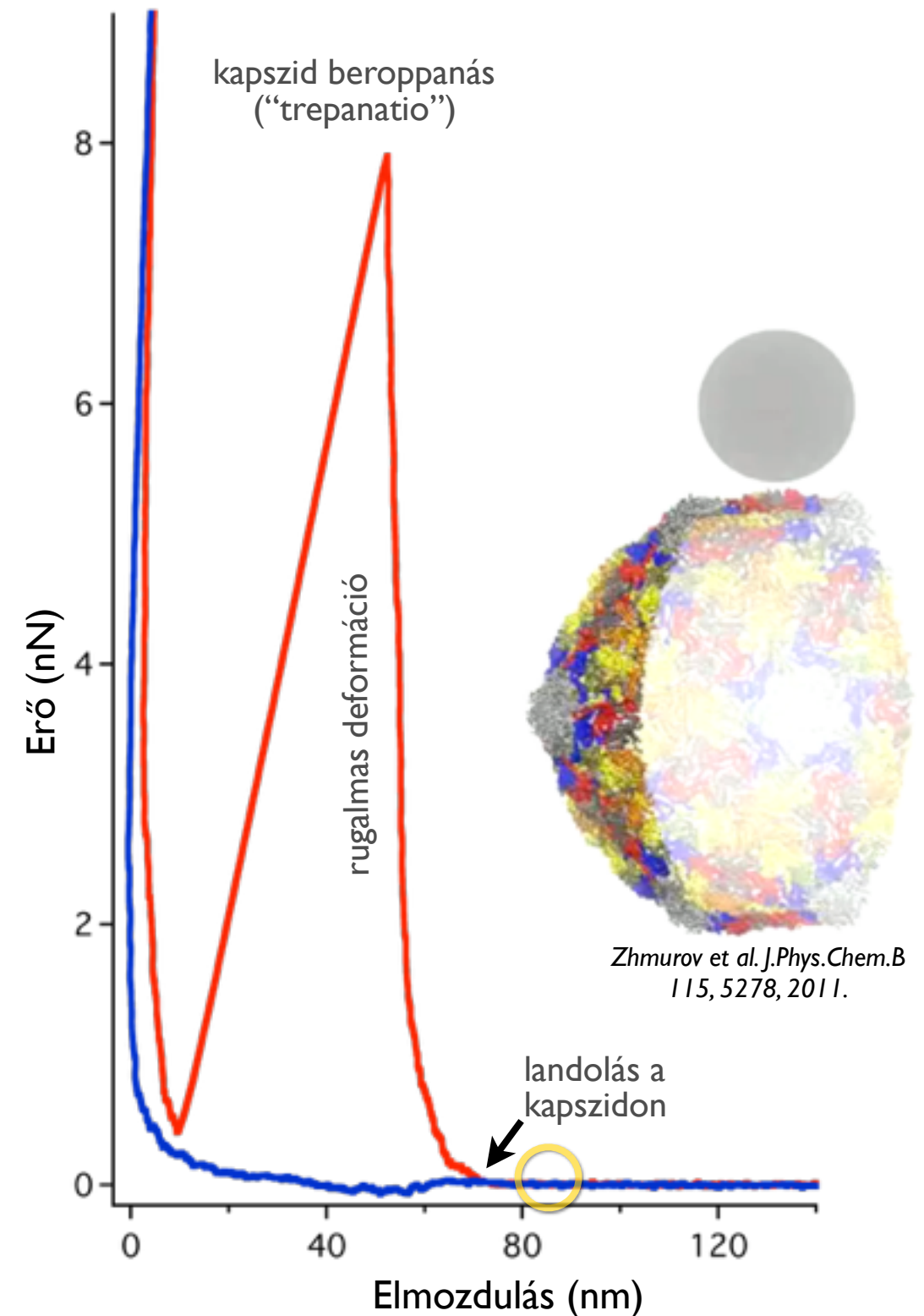
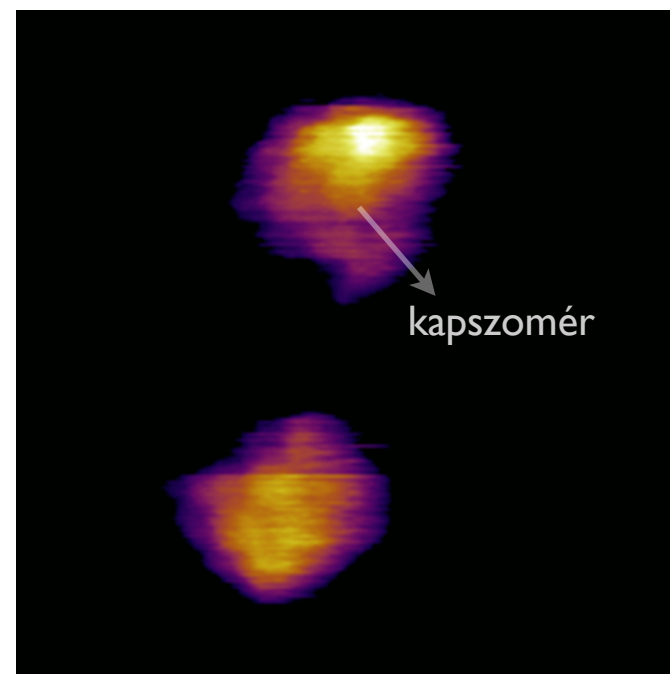
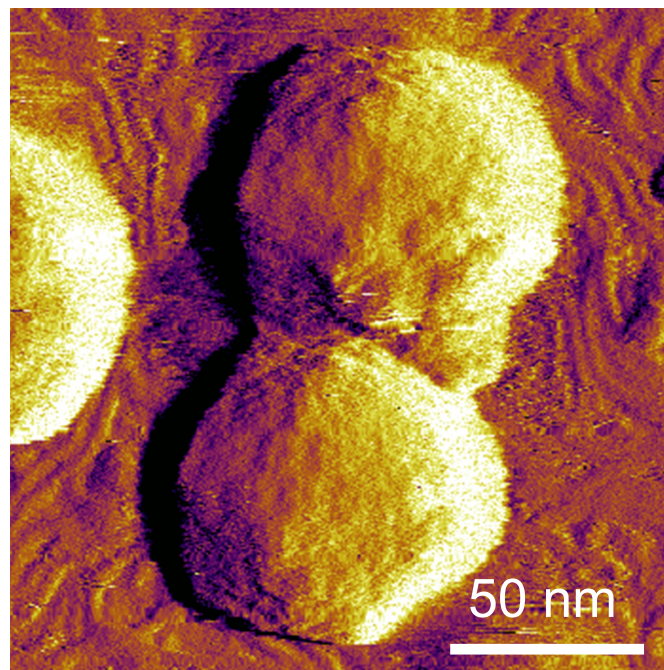


Vörös Zsuzsanna

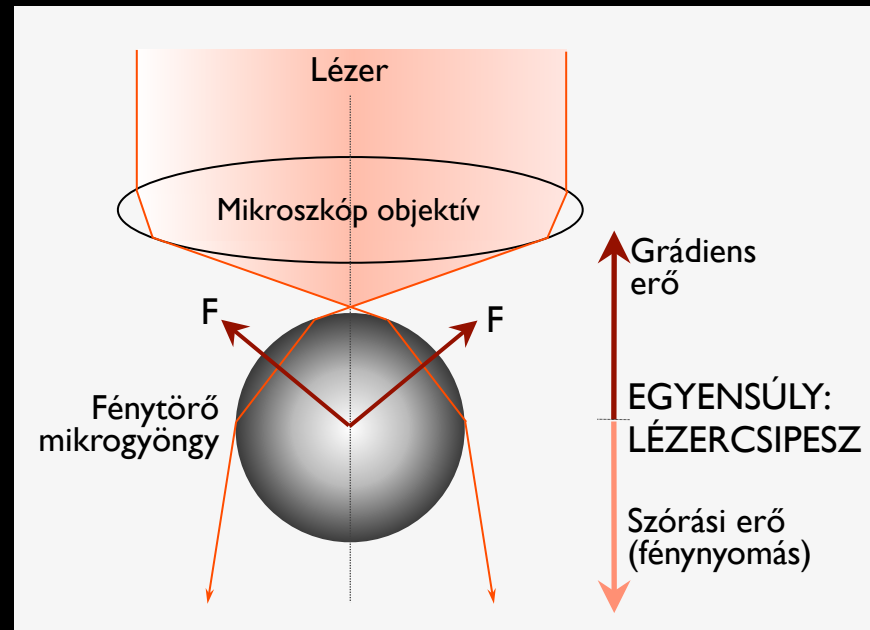


Ionel et al. *J.Biol.Chem.* 286, 234, 2010.

T7 bakteriofág AFM képe



Biomolekula manipulálás fénnnyel



E. coli baktériumsejt



Aktin filamentum



DNS

Fáziskontraszt kép



Fluoreszcencia kép

Arai et al. Nature 399, 446, 1999.

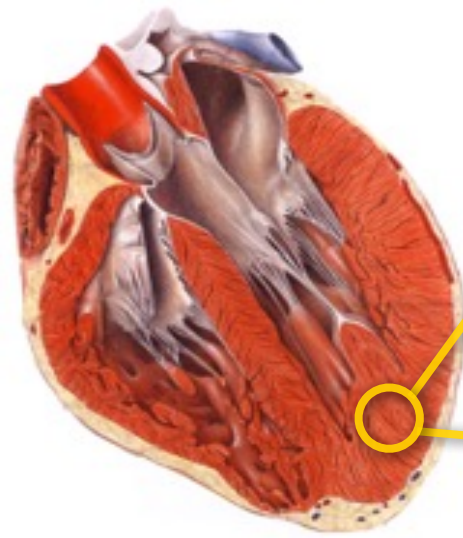
Titin manipulálás konstans-erő lézercsipeszszel



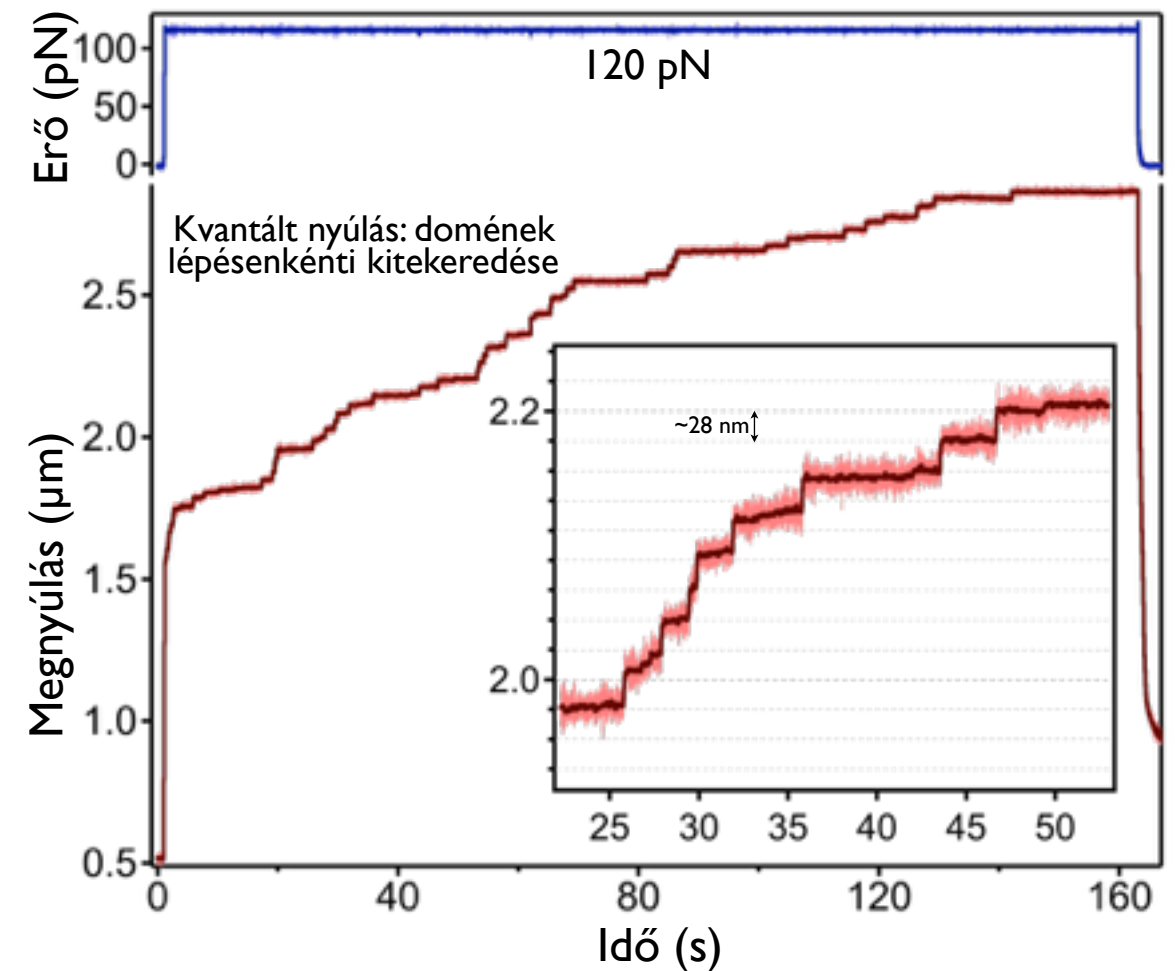
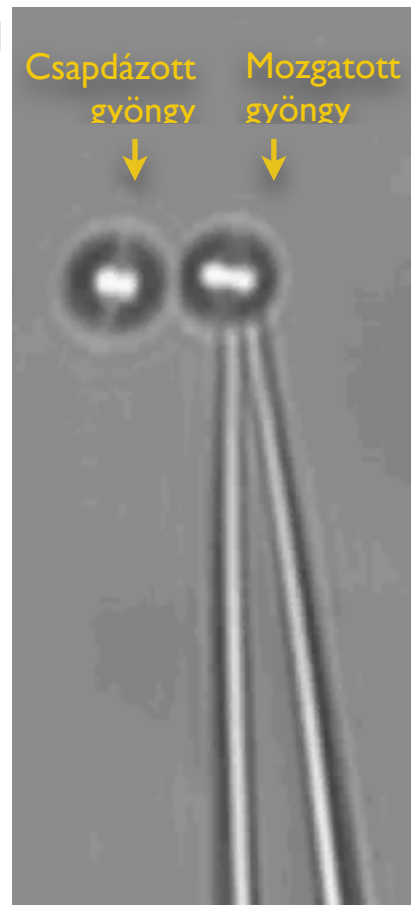
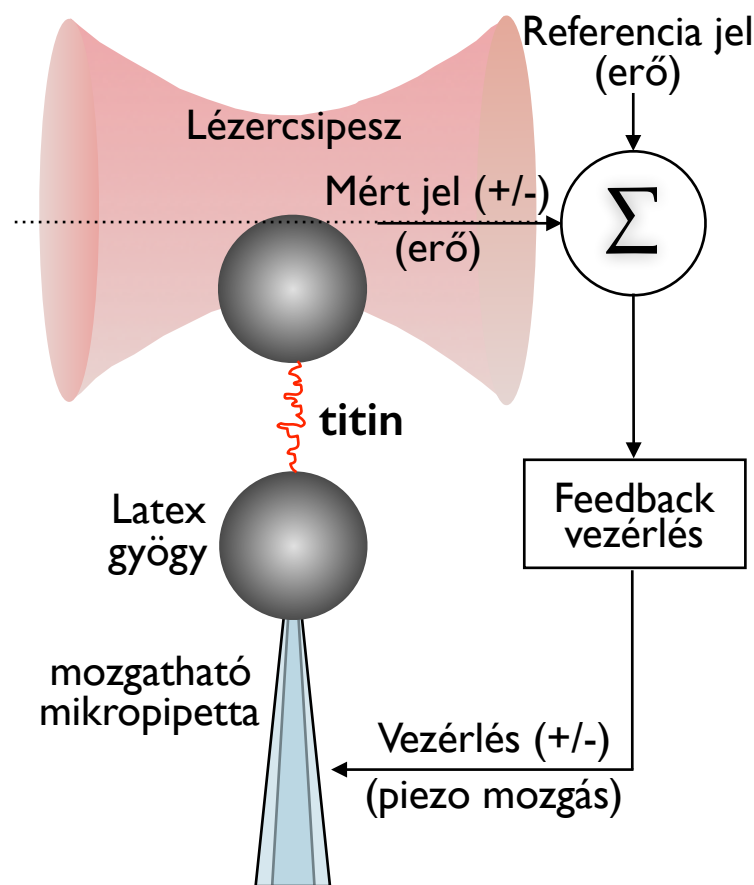
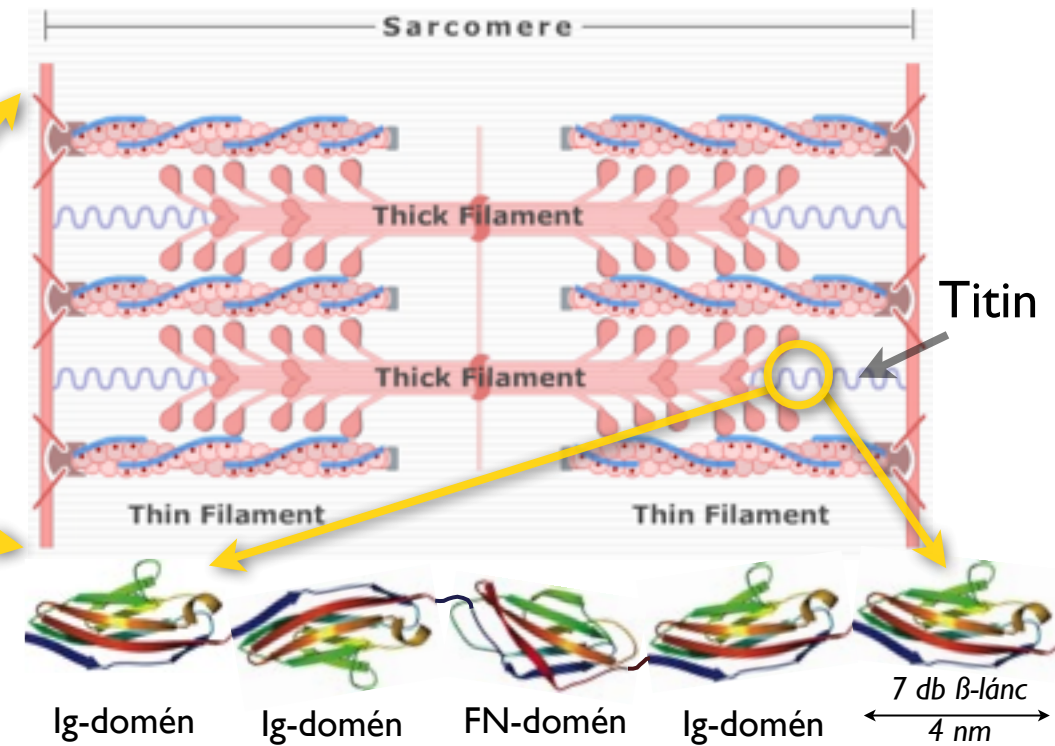
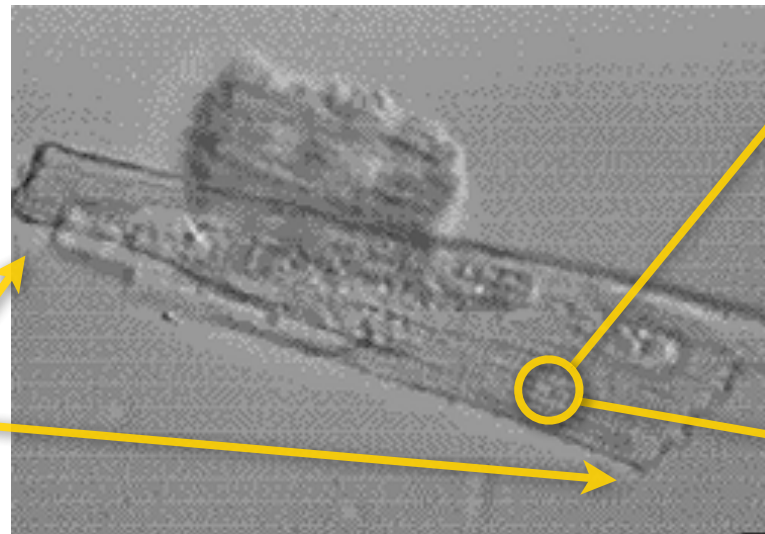
Mártonfalvi Zsolt



Pasquale Bianco

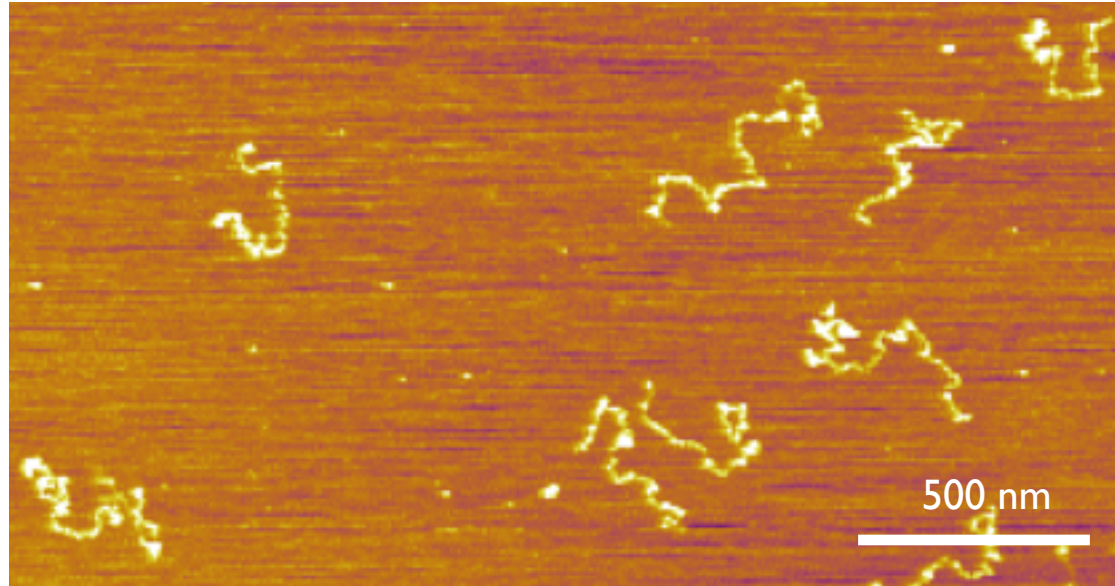


Kardiomiocita

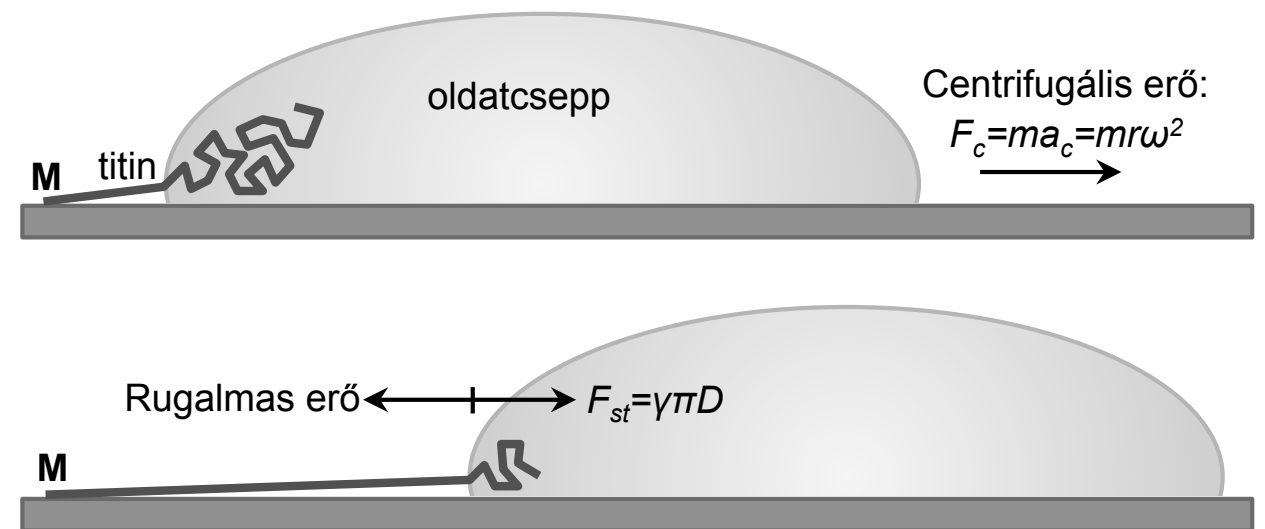


Hol vannak az erővel kitekert titin doménok?

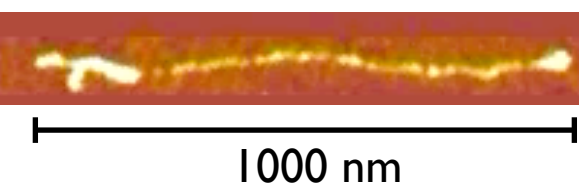
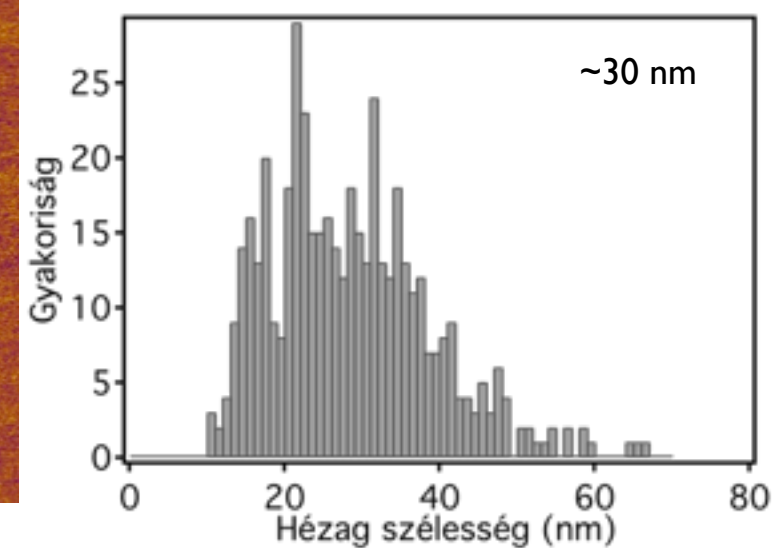
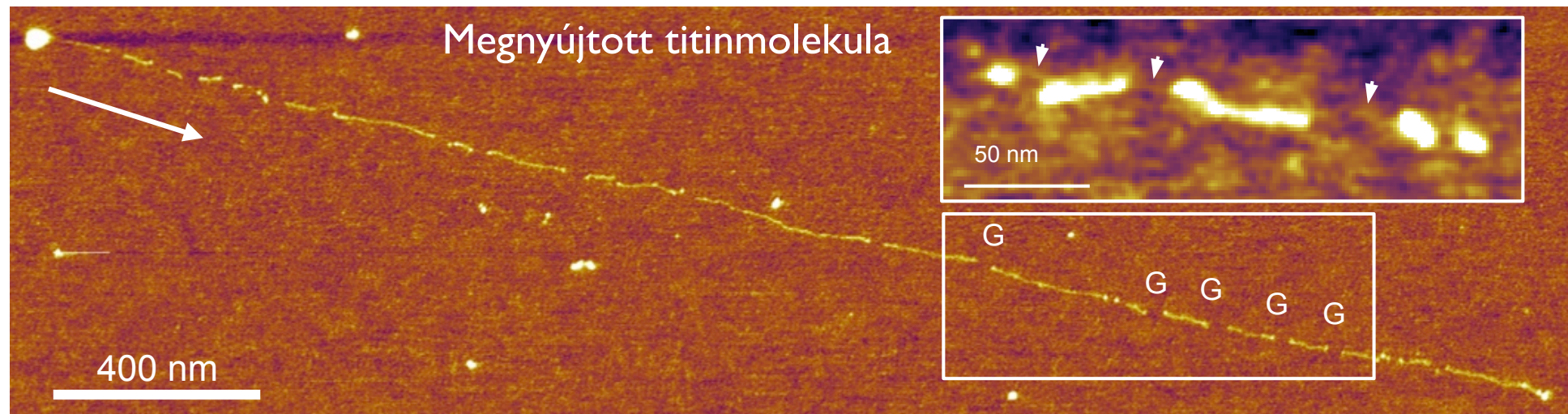
Relaxált titinmolekulák (AFM)



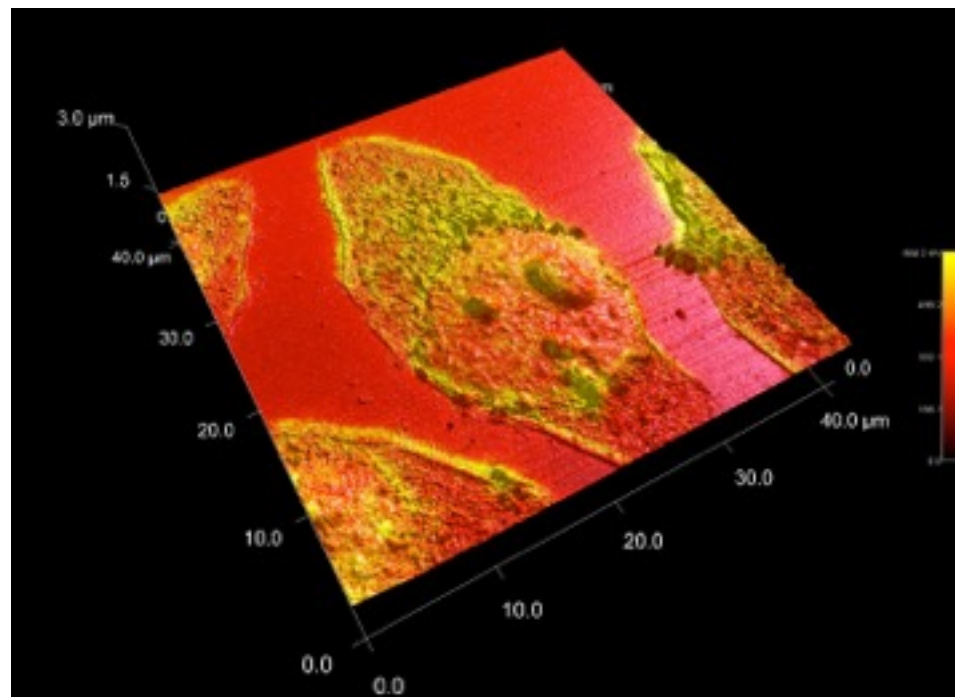
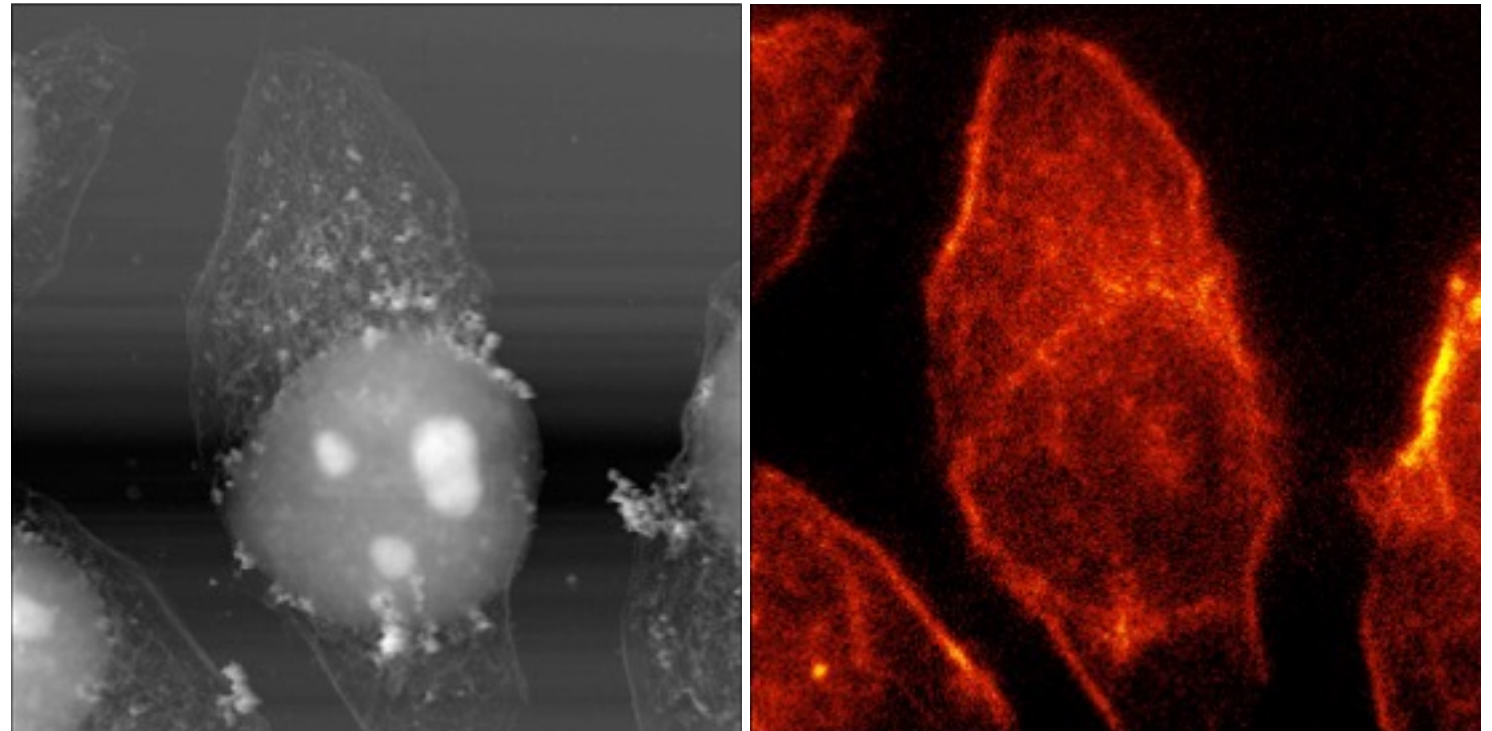
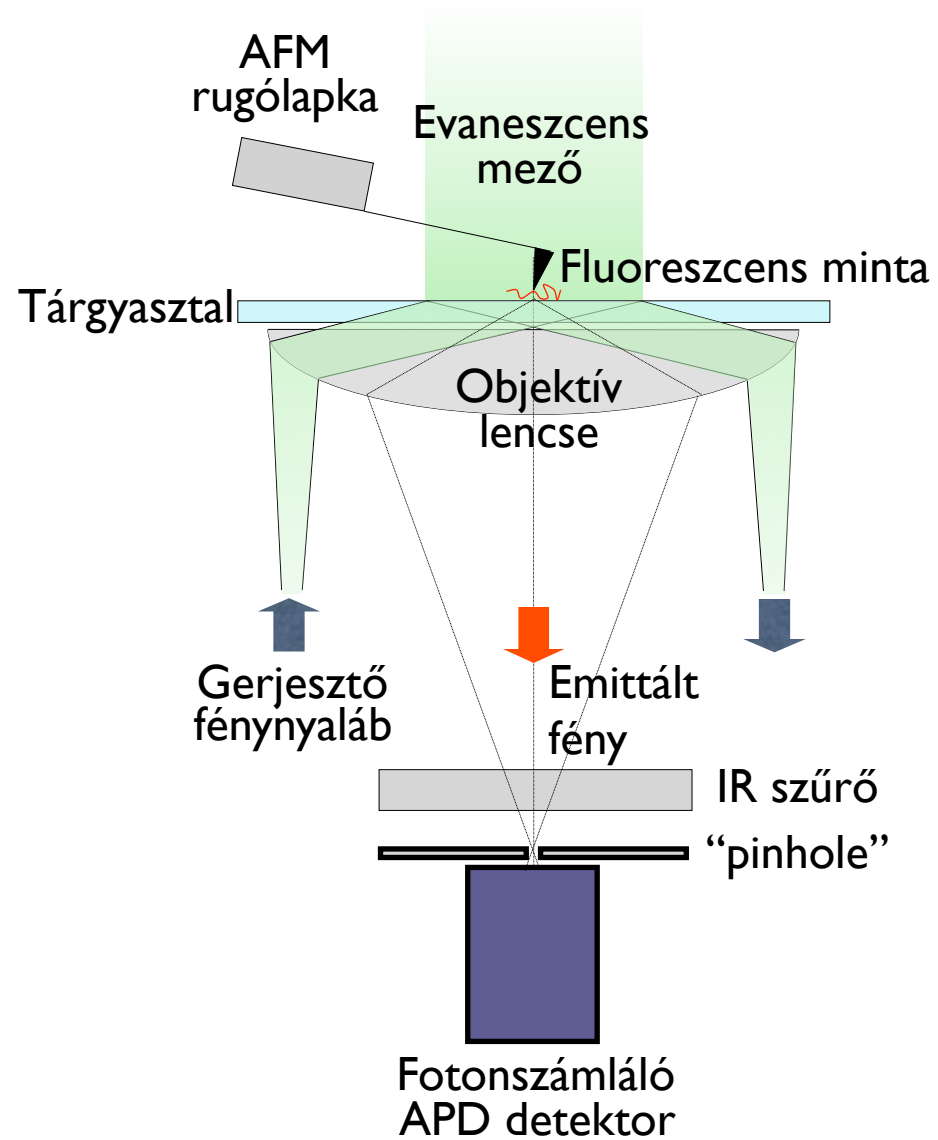
Titinnyújtás meniszkusz erővel



Megnyújtott titinmolekula



Fluoreszcencia kombinálása atomerőmikroszkóppal



Egyedi molekulák lokalizálása a sejtben: Szuperfelbontású mikroszkópia

Kémiai Nobel-díj, 2014



Eric
Betzig

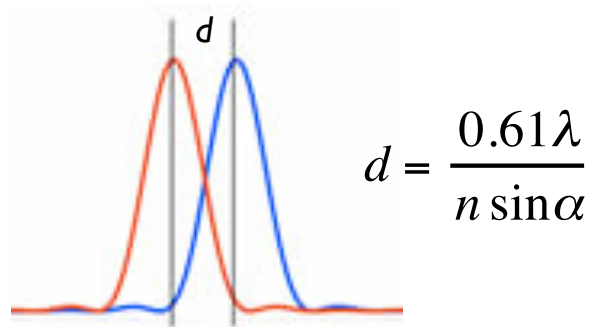


Stefan
Hell

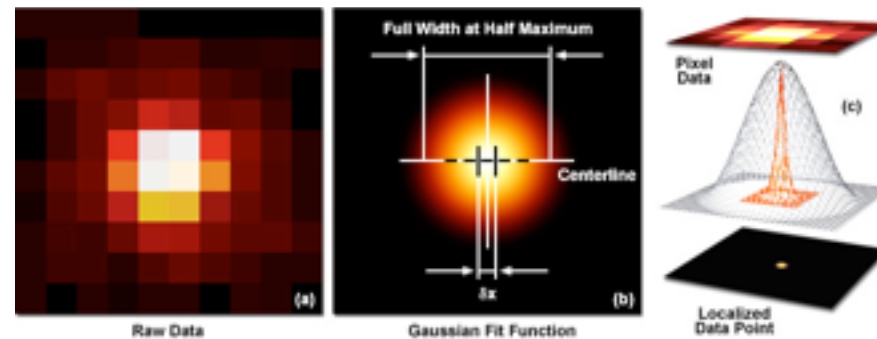


William E.
Moerner

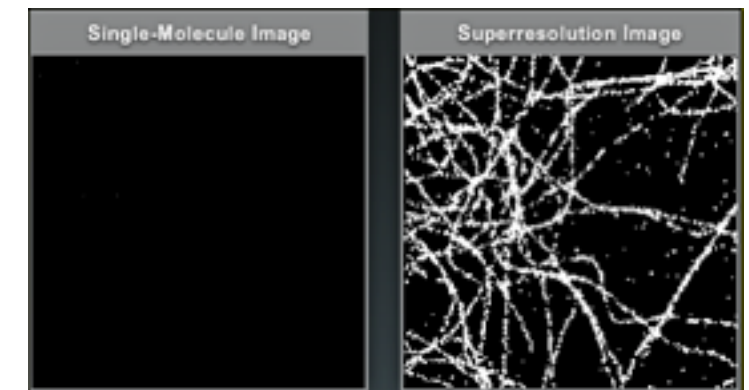
Feloldási probléma (Abbé-elv)



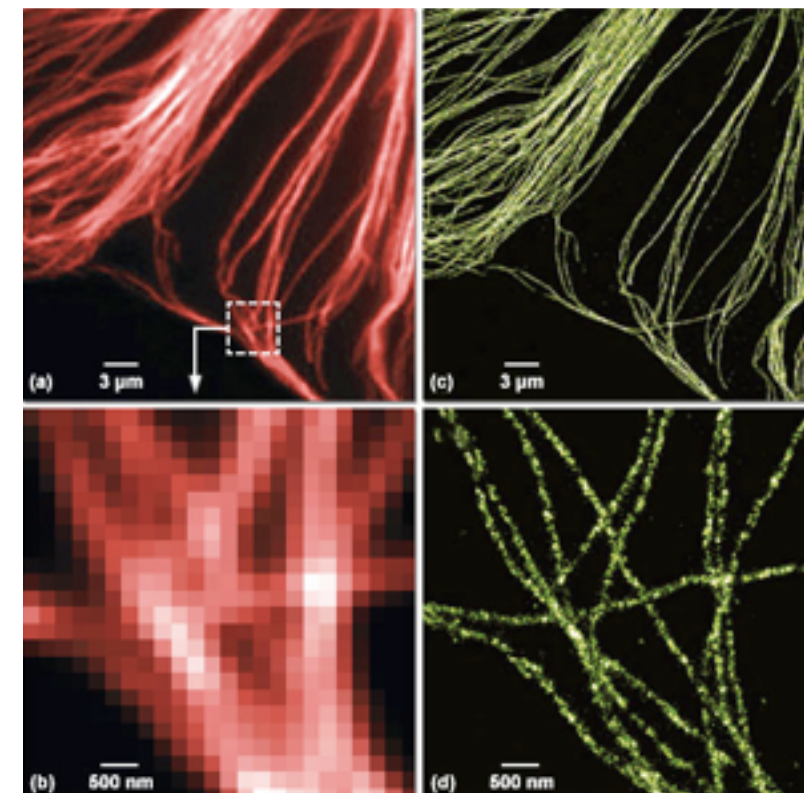
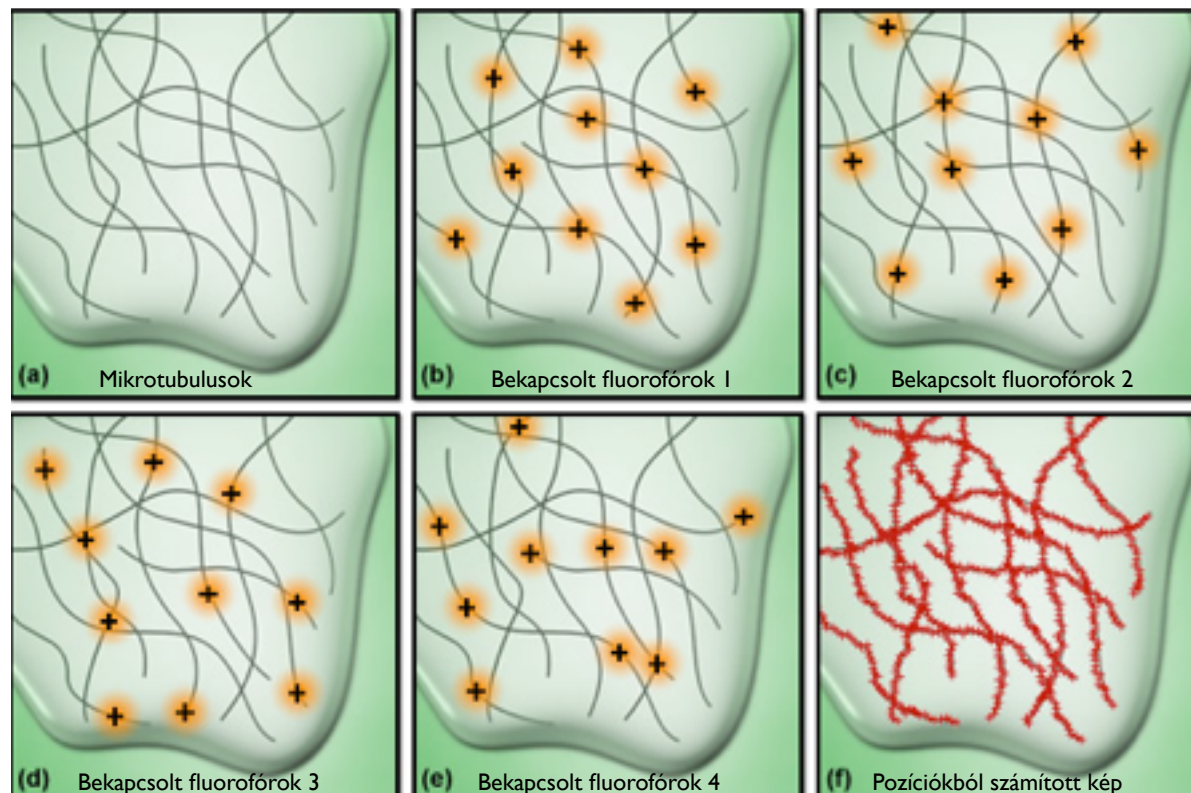
Pozíciómeghatározási probléma
(pontosság a foton számtól függ)



“Sztochasztikus” adatgyűjtés egyedi fluorofórokról



STORM (“stochastic optical reconstruction microscopy”); PALM (“photoactivated localization microscopy”)



Adatgyűjtési
folyamat

Mikrotubuláris
rendszer

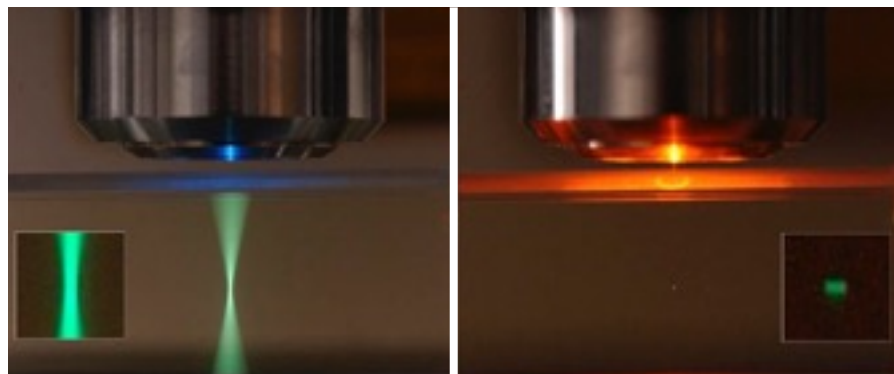
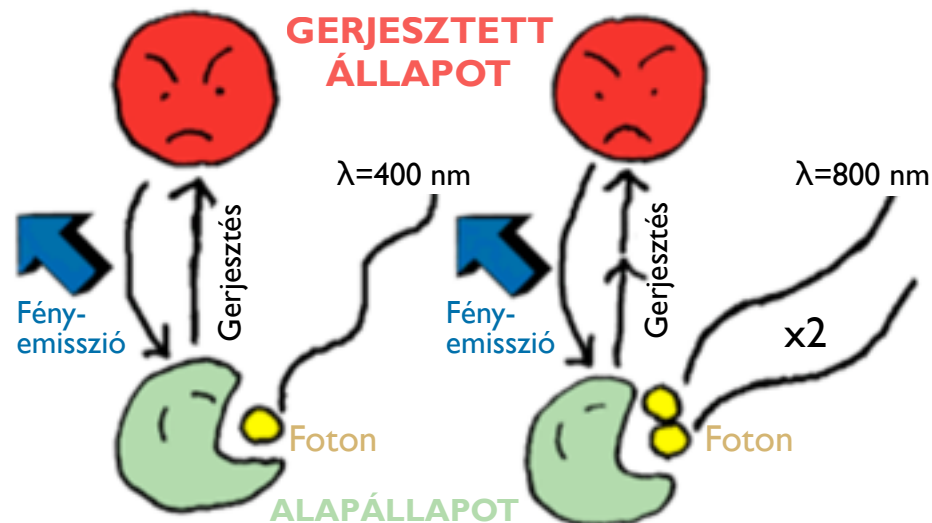
In vivo fluoreszcencia I.

Multifoton mikroszkópia

- Két (vagy több) foton energiája összeadódik a gerjesztéskor
- Gerjesztés (következésképp emisszió) csak a fókuszpontban (limitált fotokárosítás)
- Gerjesztés nagy (közele IR) hullámhosszú, rövid (fs) fényimpulzusokkal
- Nagy hullámhossz miatt mély optikai behatolás (akár 2 mm)
- Lokálisan aktivált fotokémiai reakciók lehetősége

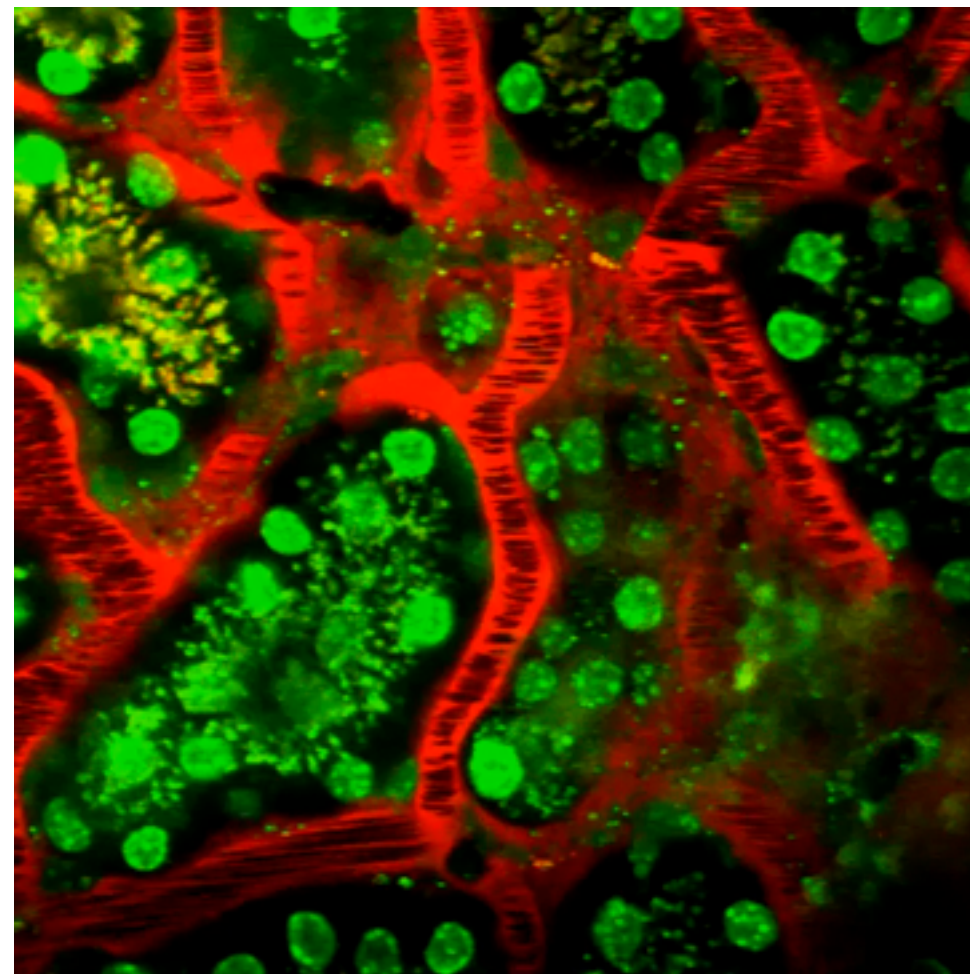


Kis Petik Katalin

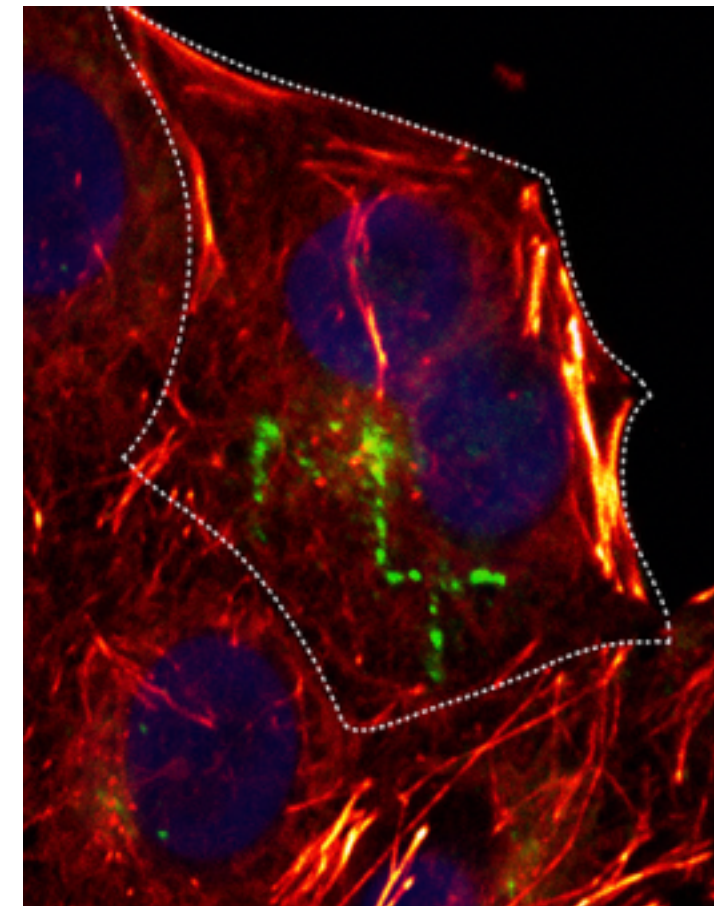


Egyfoton
fluoreszcencia

Kétfoton
fluoreszcencia



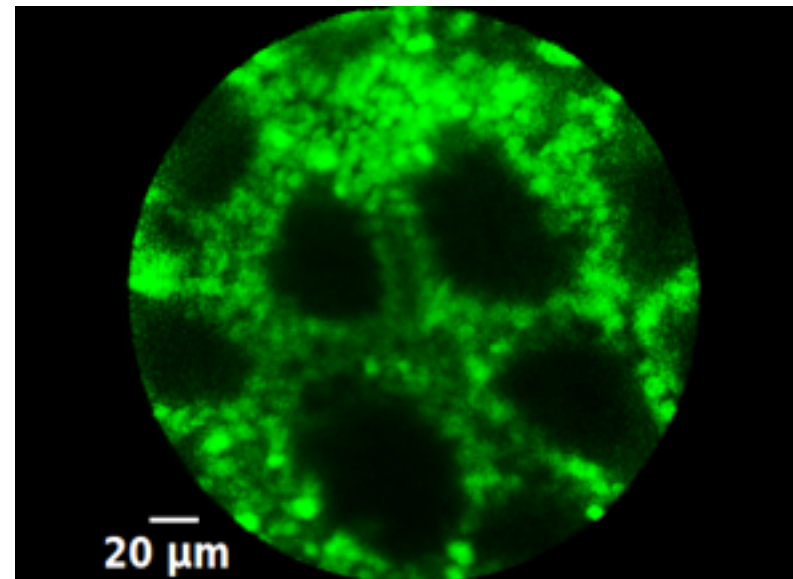
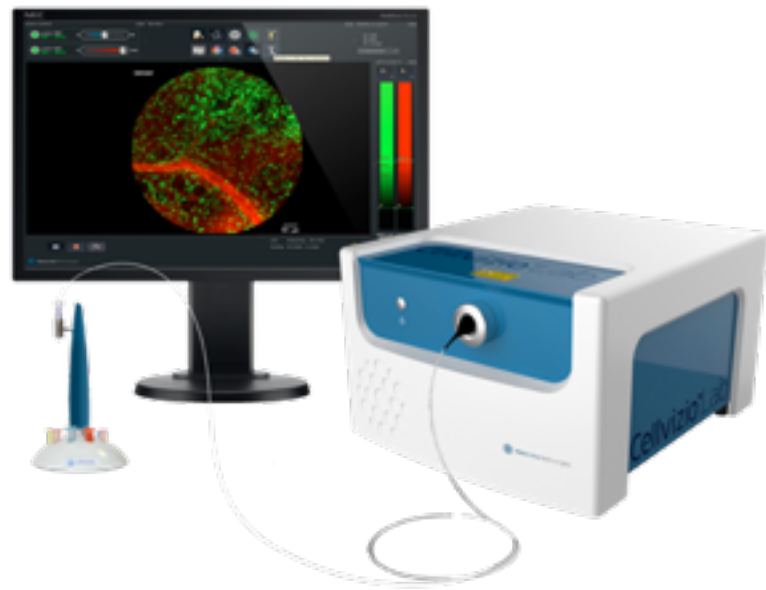
Zöld: proximális vesetubulusok; Vörös: albumin (plazma)



Molekuláris tetoválás:
térben lokalizált módon fotoaktivált
azido-blebbistatin (HeLa sejtben)

In vivo fluoreszcencia II.

Fluoreszcencia fiberoszkópia/endoszkópia



Bélbolyhok



Horváth Ildikó



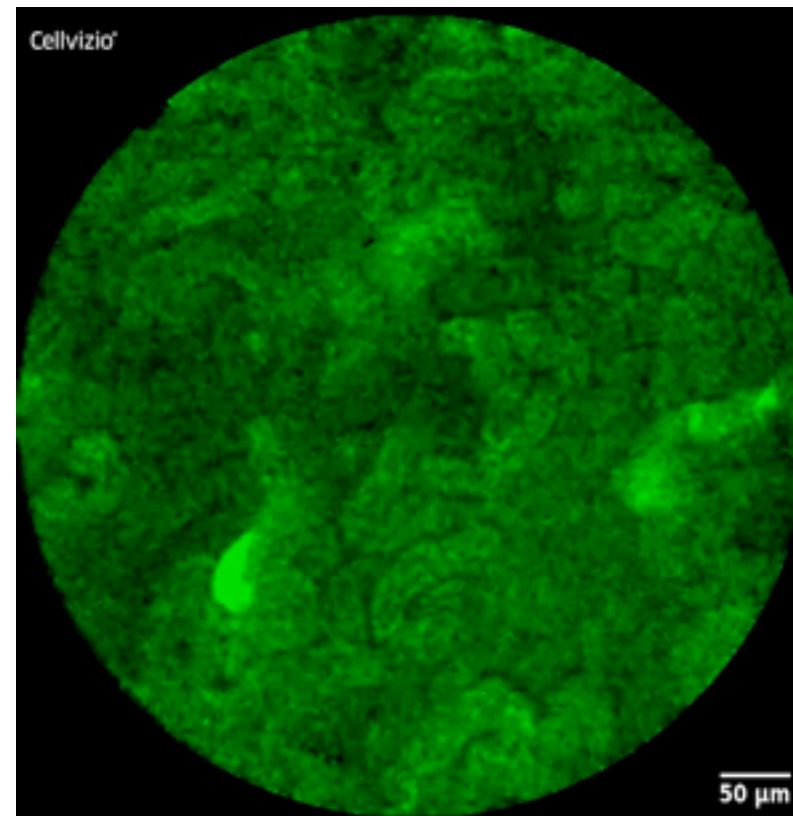
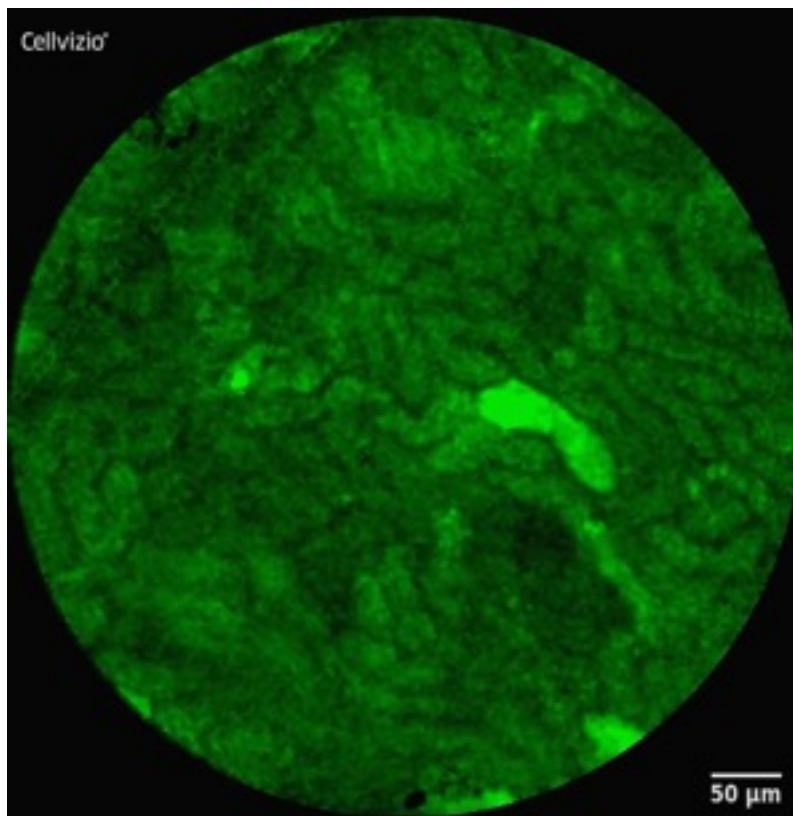
Veres Dániel



Szigeti Krisztián



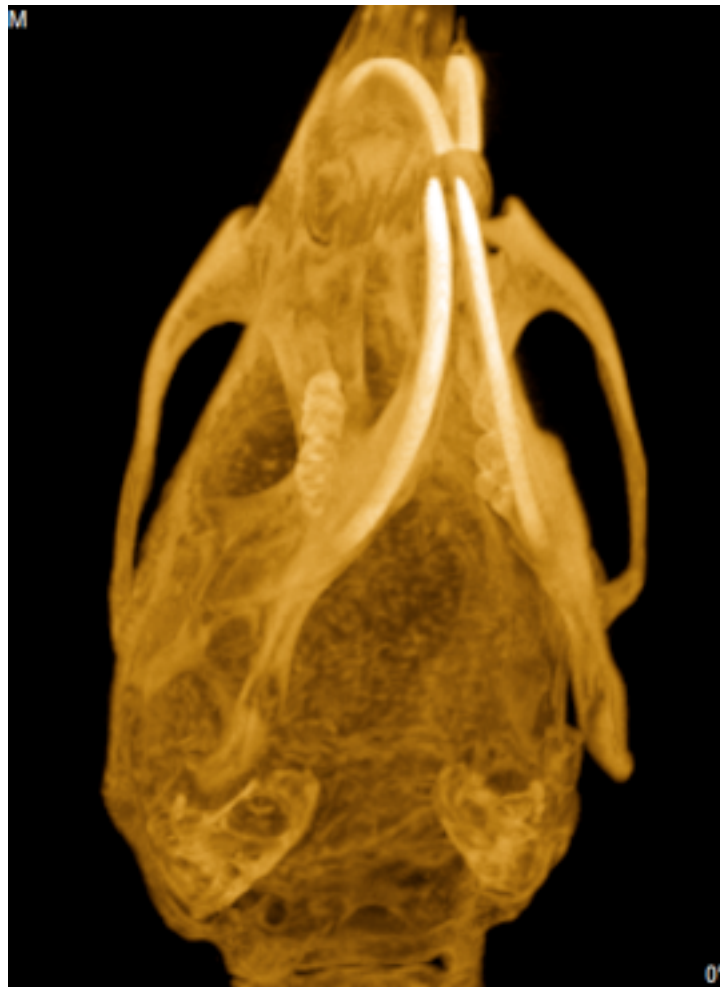
Máthé Domokos



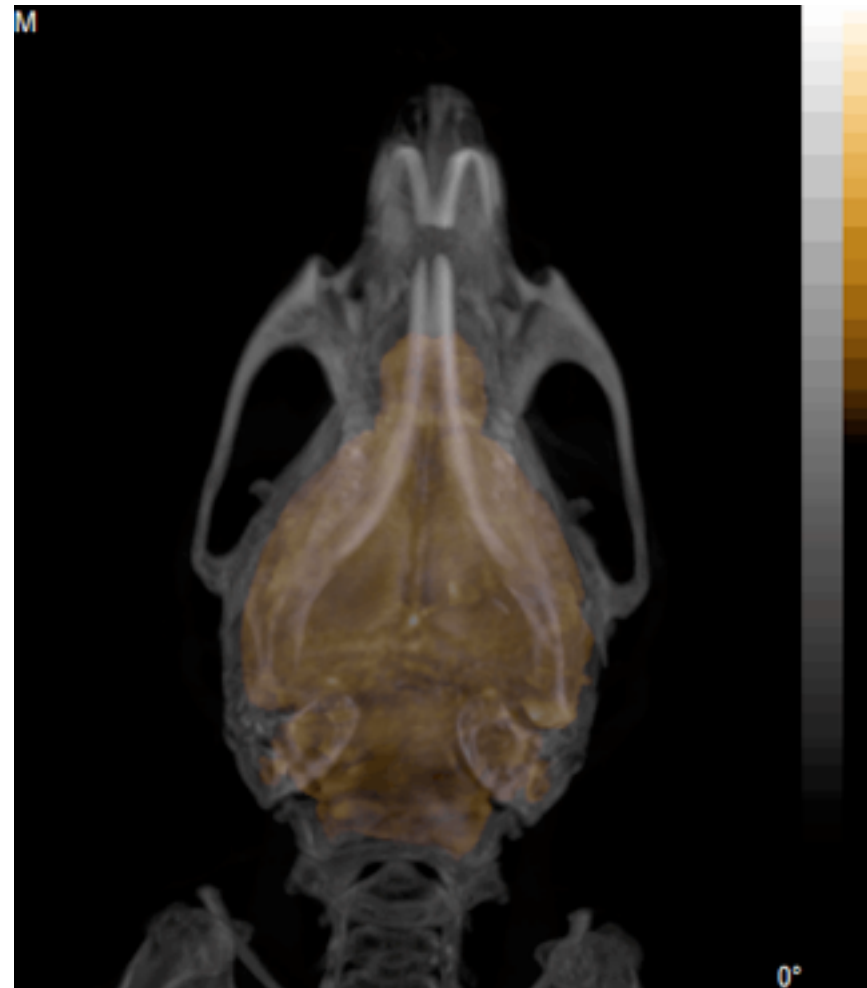
Vesekéreg - kalcium-kötő fehérjét expresszáló transzgenikus patkány

Kisállat CT

mikro-CT, nano-CT



CT: 36 μm voxelméret
Valós-idejű CT rekonstrukció



Intravénás CT
kontrasztanyag

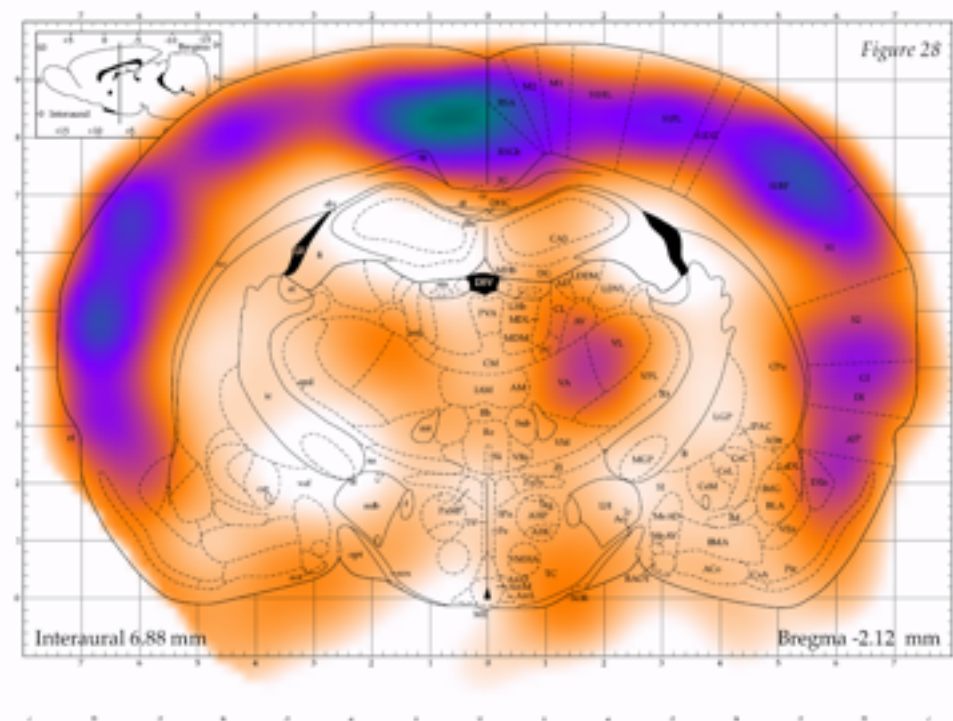


Emberi fog
(Széchenyi Pál)

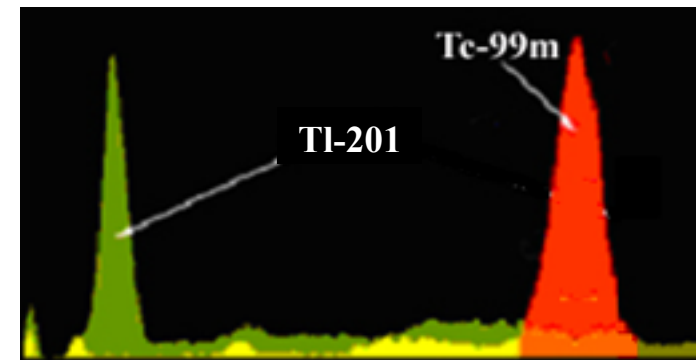
Kisállat SPECT



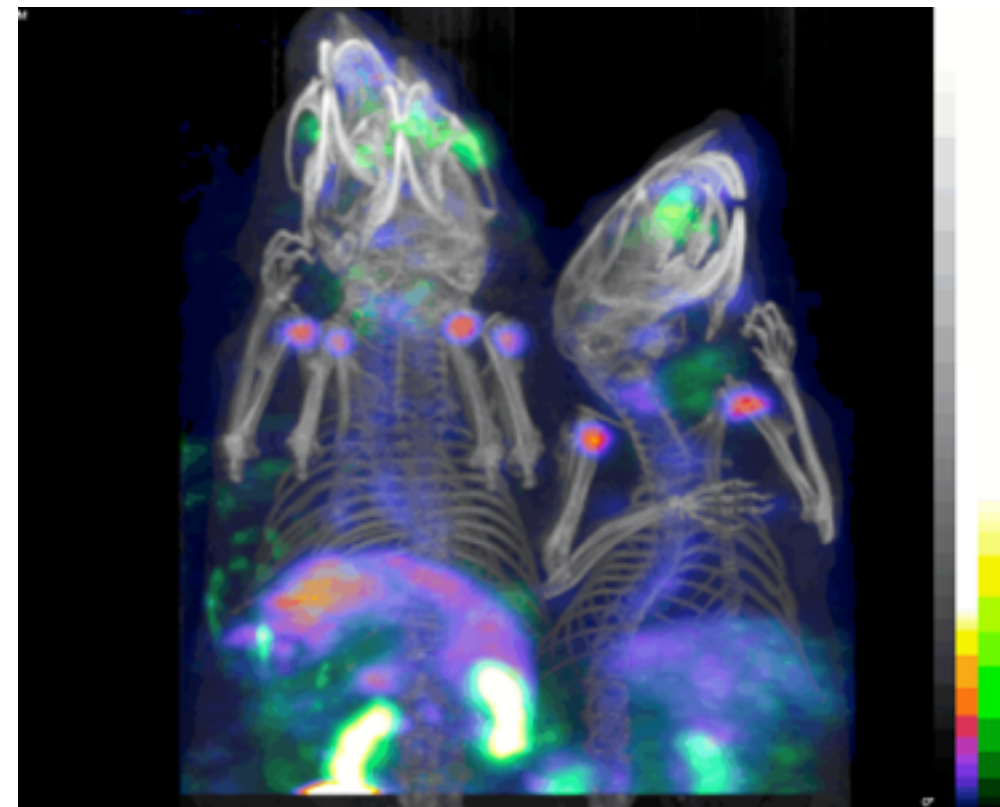
SPECT: ~300 μm voxelméret



Hova lokalizálódik a funkció?



“Dual-channel”
SPECT (energia
szelektivitás)



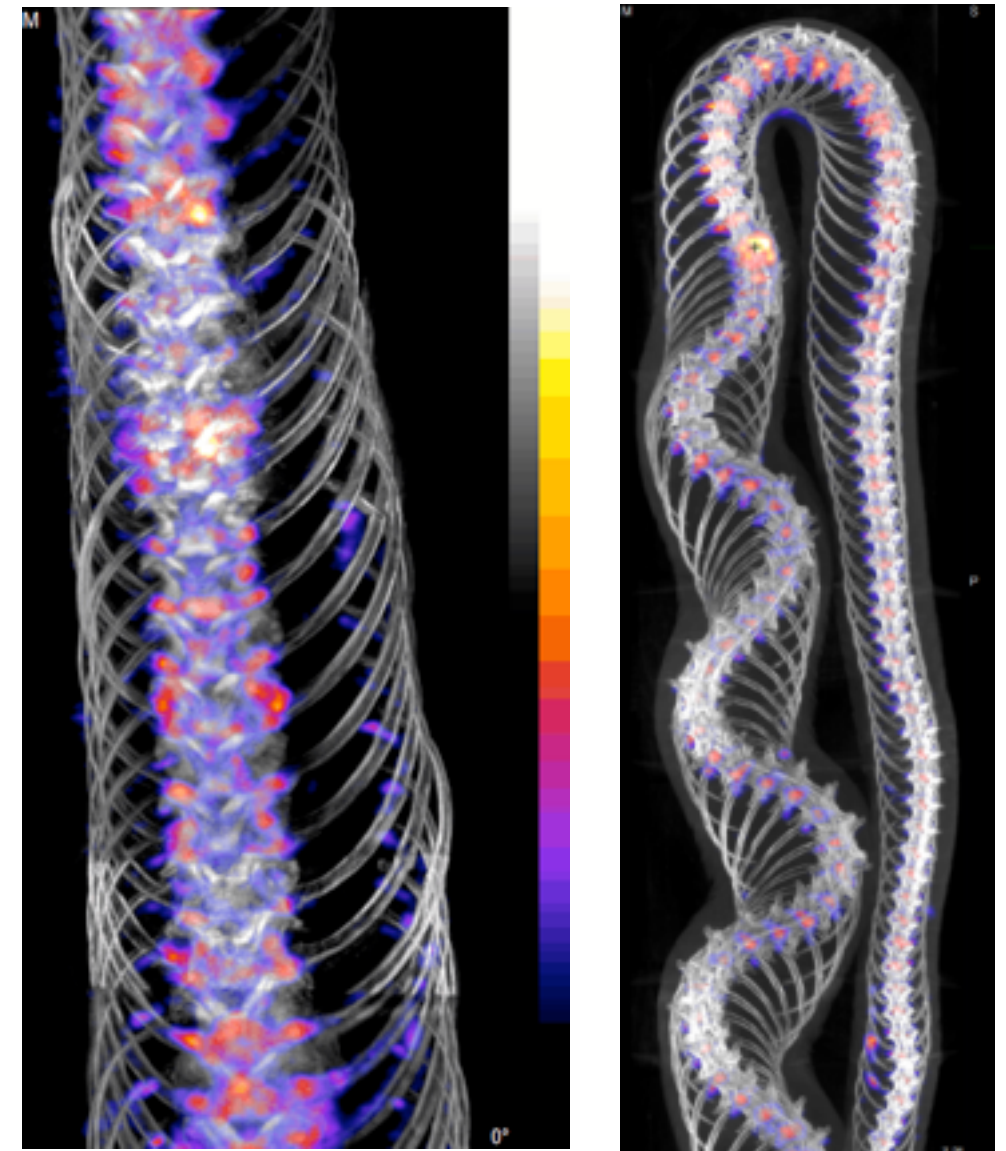
^{99m}Tc-HMPAO: hexamethylpropyleneamine oxime (perfúzió) - **kék/vörös**

²⁰¹Tl-DDC: diethylthiocarbamate (perfúzió) - **zöld**

NanoSPECT/CT



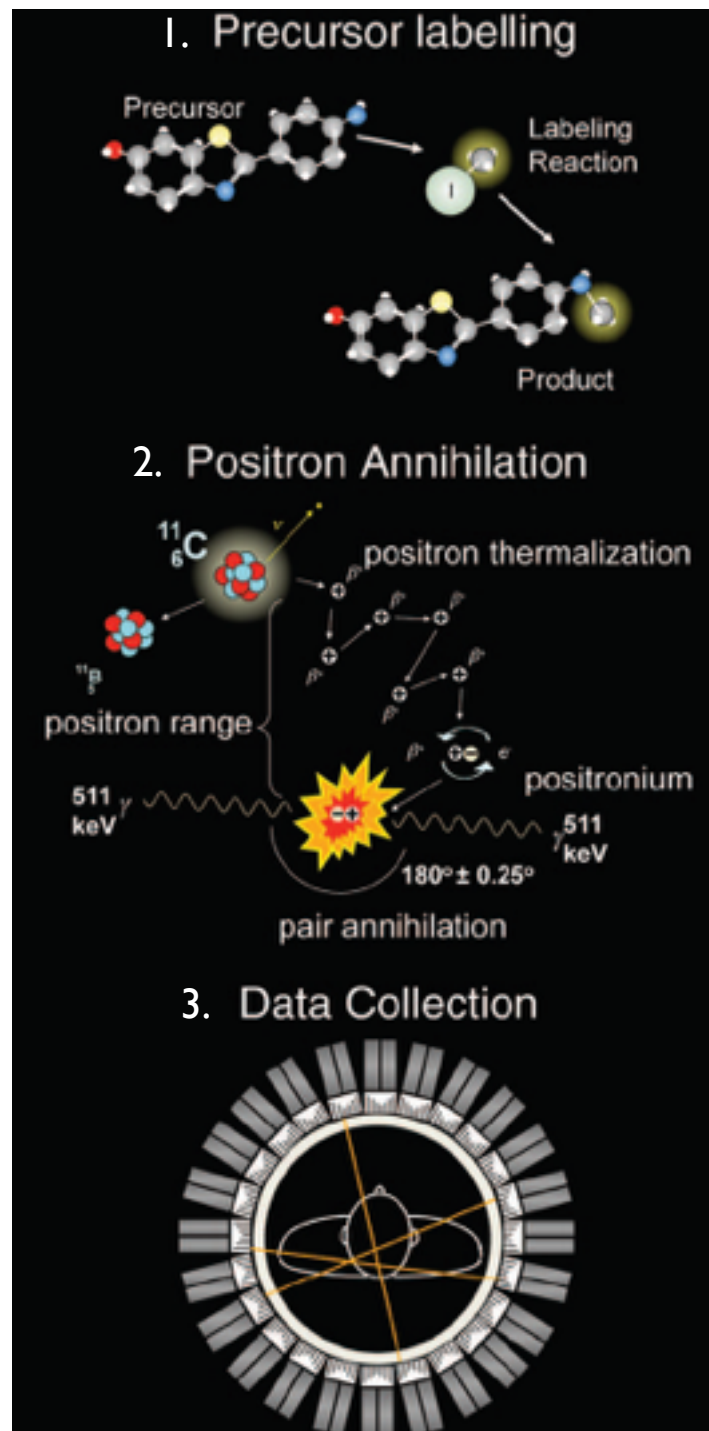
Boa constrictor



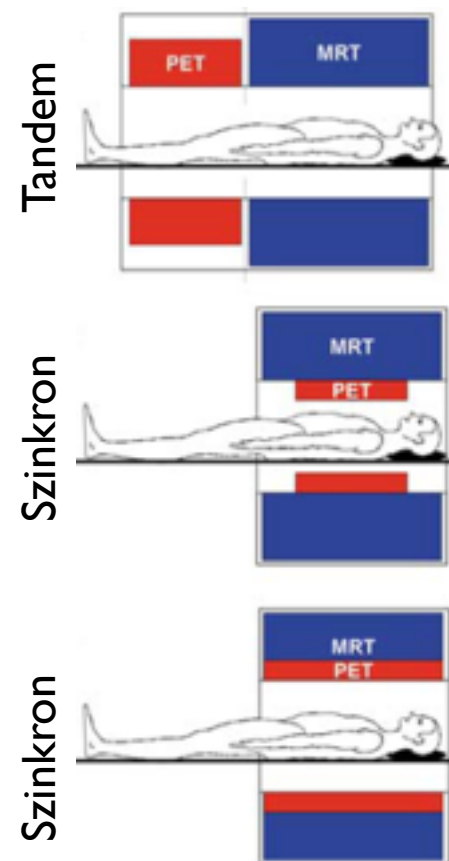
Osteomyelitis, ^{99m}Tc-MDP
(methylene-diphosphonate)

Kisállat PET, MRI, PET/MRI

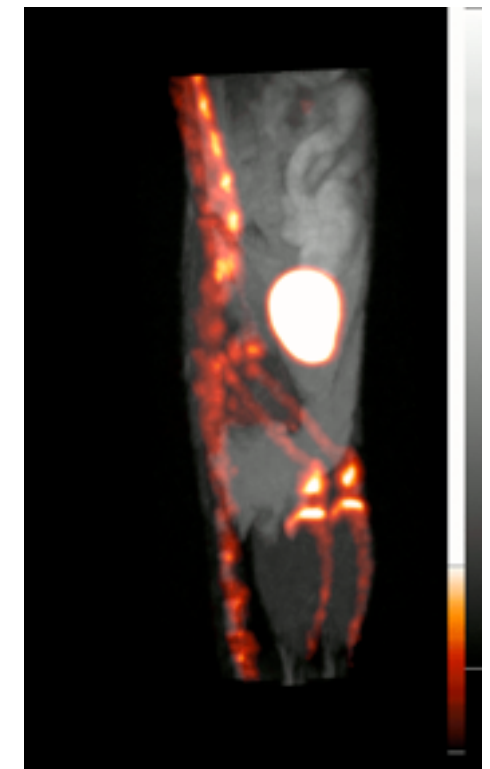
PET működés



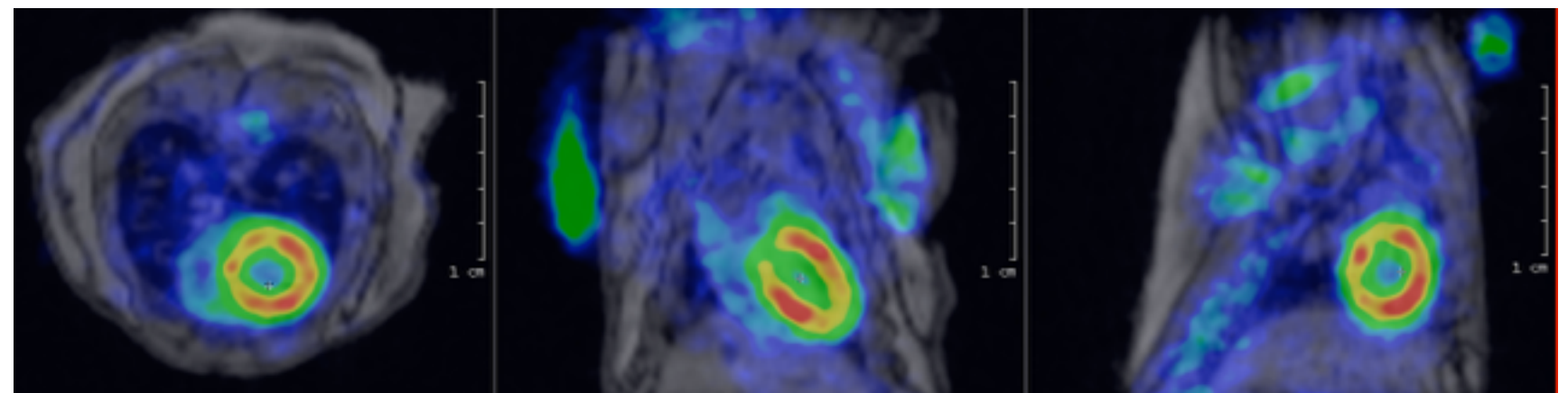
PET/MRI



Tandem nanoPET/MRI



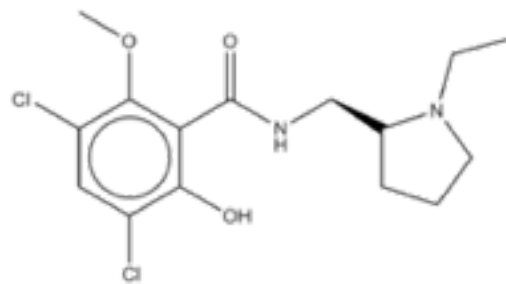
5.8MBq Na^{18}F , egérben, 90 min, csontbeépülés



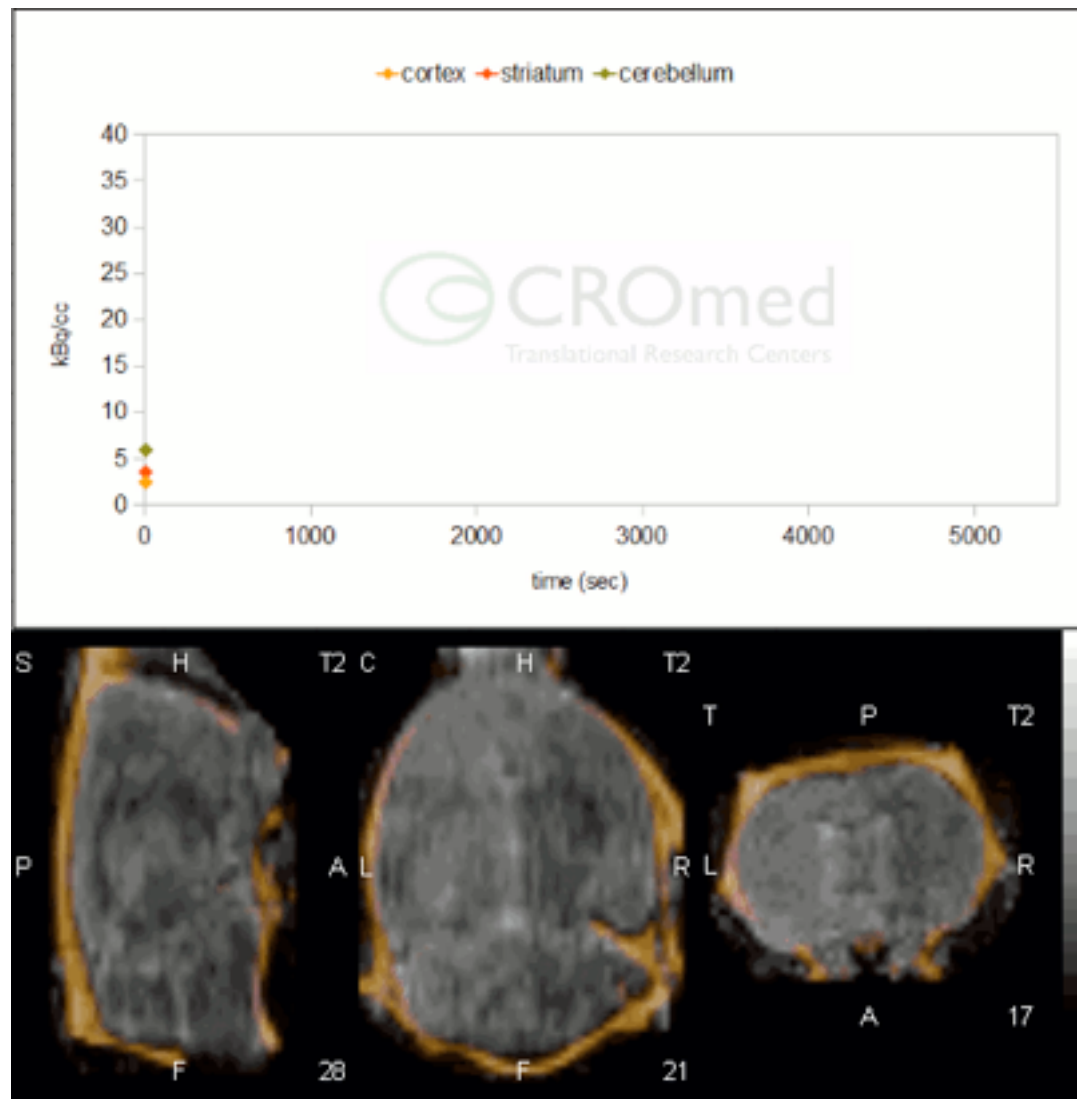
nanoPET/MRI - egér szívizom - ^{18}F FDG

NanoPET/MRI időfelbontású mérések

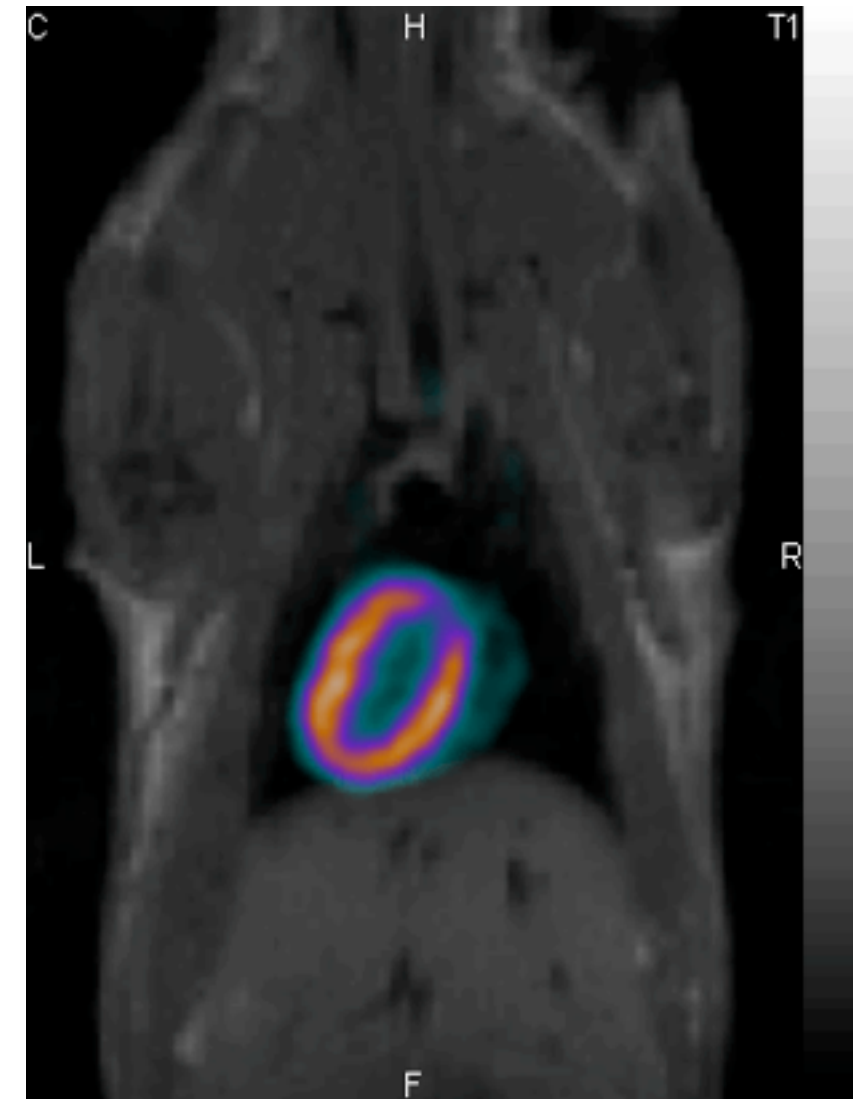
^{18}F -Racloprid ürülési kinetika egér agyban



Racloprid:
D₂ dopamin receptor
antagonista

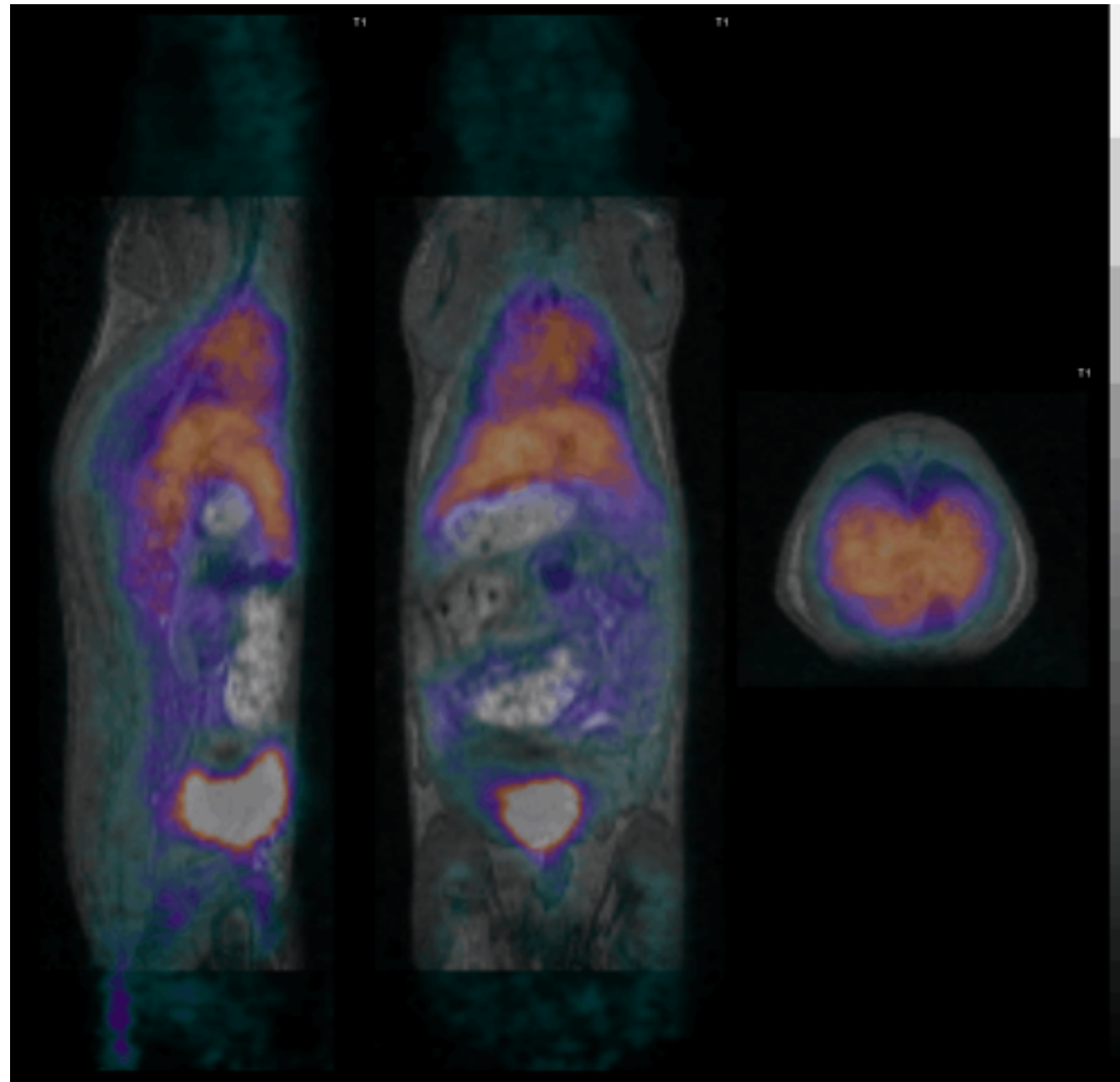


EKG-kapuzott ^{18}F FDG
PET/MRI



PET és MRI fejlesztések

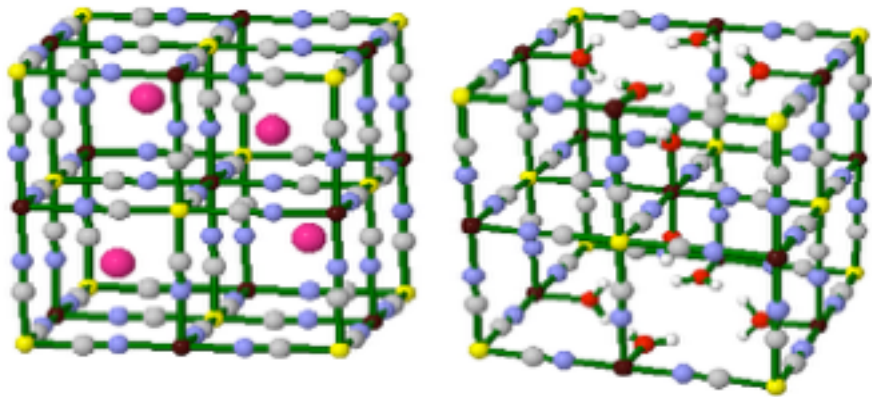
^{55}Co -PET



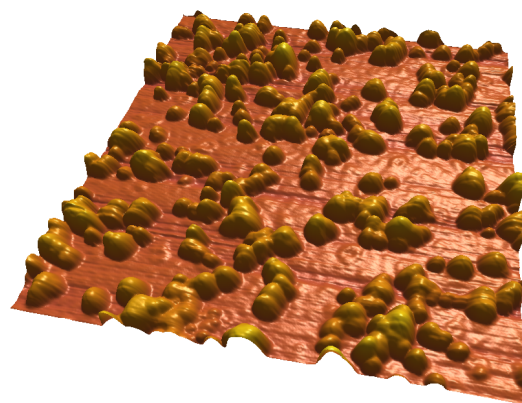
MnCl_2 : intravénás MRI kontrasztanyag



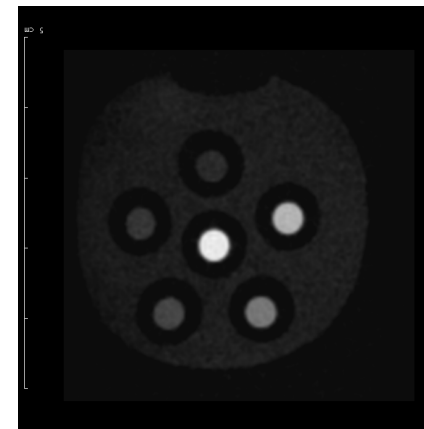
Multimodális, nanorészecske alapú kontrasztanyag



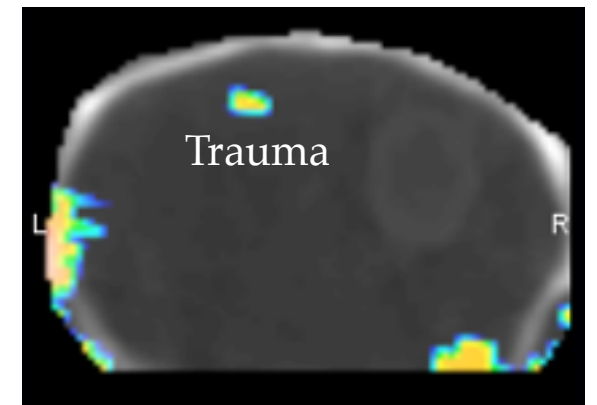
Berlini-kék ion-kelátor kristályszerkezet



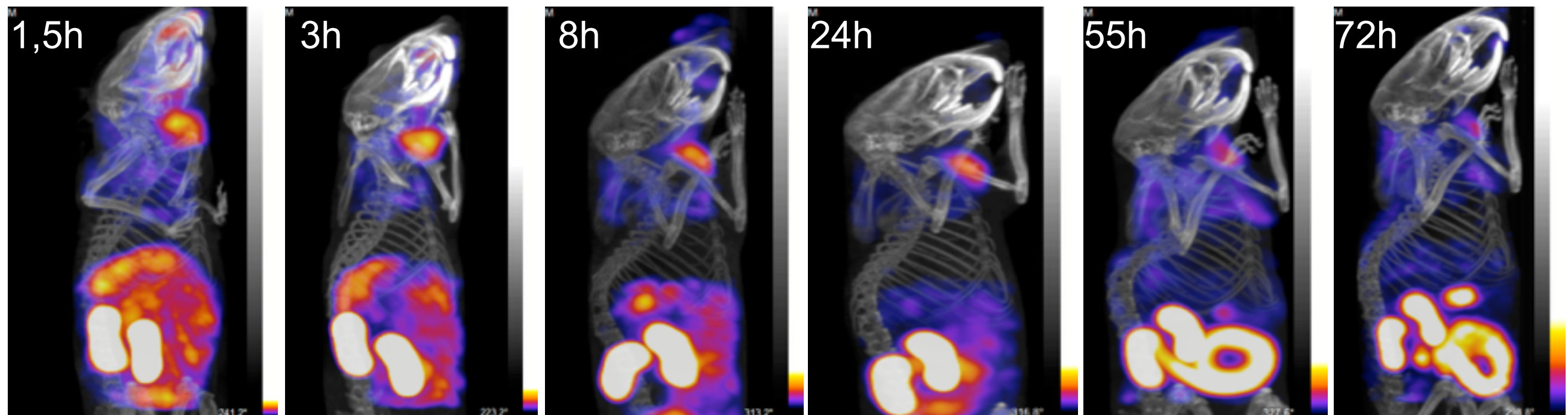
AFM: ~60 nm
nanopartikulumok



MRI, TI



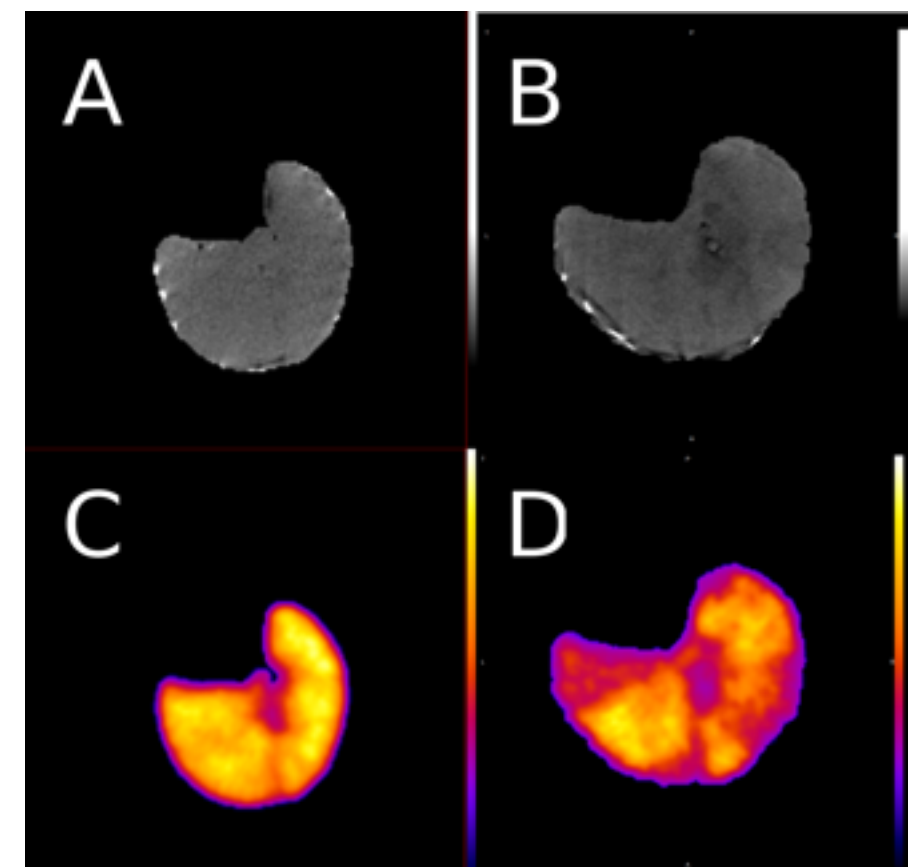
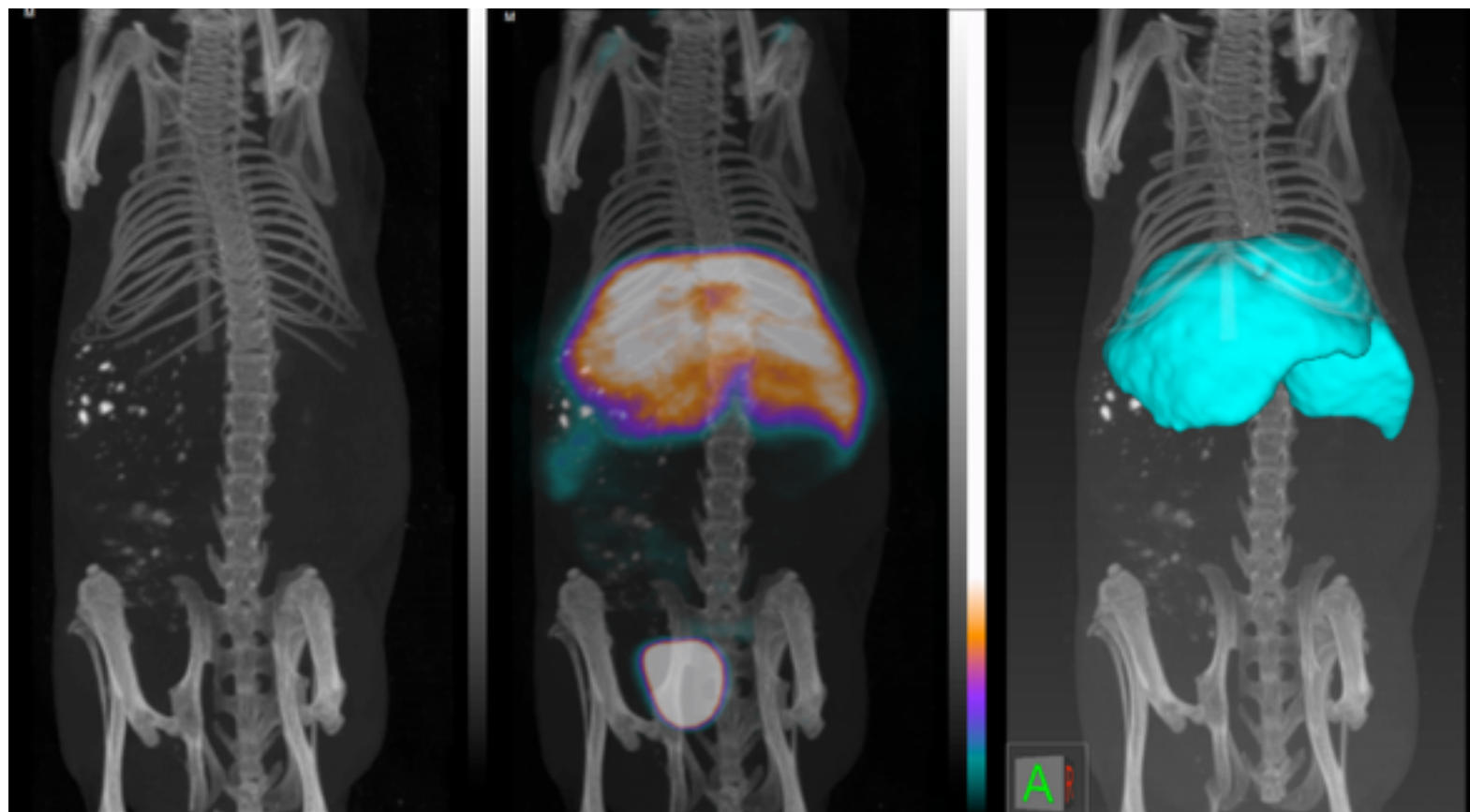
BBB-sérülés (^{201}Tl)



Berlini-kék nanopartikulumok biodisztribúciója és ürülése

Májtumor volumetria nanopartikulumokkal

- Kémiaileg indukált hepatocelluláris carcinoma
- [^{99m}Tc]-MAA - makroaggregált albumin: Kupffer sejtek veszik fel
- Szegmentációval a tumortérfogat pontosan mérhető
- Tumor térfogat - ex vivo tumortömeg korreláció validálható



Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



Trombitás Károly
Belágyi József
Gerald H. Pollack
Henk L. Granzier
Carlos Bustamante
Steven B. Smith
Penke Botond
Málnási-Csizmadia András
Nagy Attila
Paola Cacciafesta
Pasquale Bianco
Ferenczy György

SE I. sz. Gyermekklinika:
Prókai Ágnes
Csohány Rózsa

Pályázati támogatás:
HHMI, MTA, OTKA
FP5, FP7, ETT, TÉT
TÁMOP, GVOP, KFKT,
KTIA, VKSZ

