

Optische Methoden zum in vivo Monitoring von Protein-Interaktionen am Beispiel der Alzheimer Demenz

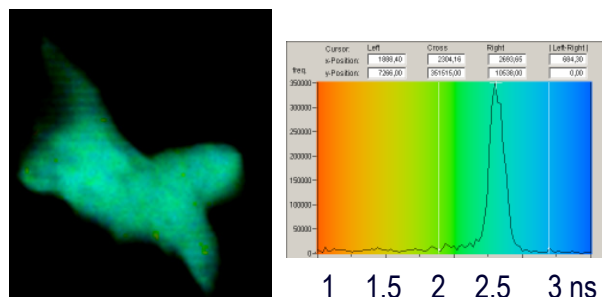
Das OPTIMA (Optische Methoden zum in vivo Monitoring von Protein-Interaktionen am Beispiel der Alzheimer Demenz) Projekt ist ein Verbundprojekt, welches vom Institut für Laser in der Medizin und Messtechnik (ILM) und der Abteilung Neurologie der Universität Ulm gemeinsam durchgeführt wird. Ziel des Projektes ist die Entwicklung eines optischen Verfahrens zum in vivo Monitoring von komplexen intrazellulären Protein Interaktionen. Dazu soll ein in-vivo FLIM („fluorescence lifetime imaging“) System mit hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung entwickelt werden, mit dem es möglich ist, die Dynamik und die Interaktion mehrerer Proteine, sowohl in Zellkultur, als auch an komplexeren Systemen, wie der CAM (Chorioallantoismembran befruchteter Hühnereier) oder am lebenden Tier zu verfolgen. Die Untersuchungen sollen auf der sogenannten FLIM/FRET – Methode basieren. Dabei wird die Interaktion zwischen zwei Proteinen über den resonanten Energietransfer (FRET) eines Donormoleküls auf ein Akzeptormolekül, üblicherweise über die Fluoreszenzabklingzeit des Donor-Proteins, beobachtet. Findet FRET statt, so wird die Fluoreszenzabklingzeit des Donors kürzer (siehe Beispiel unten). Die Fluoreszenzabklingzeit soll in der Zeitdomäne über TCSPC („time-correlated-single-photon-counting“) gemessen werden. Am Beispiel der Alzheimer Demenz (AD) soll diese Methode evaluiert werden. Durch das Projekt werden entscheidende Erkenntnisse zur Entstehung der AD und anderer Erkrankungen erwartet, die der Prävention und Therapie dienen und deshalb zum in vivo Screening neuer potentieller Medikamente von Bedeutung sind.

Komplexe Protein-Interaktionen spielen bei intrazellulären Signal- und Transportmechanismen, z. B. im Rahmen der AD und anderer neurologischer Erkrankungen eine wesentliche Rolle. Das Verständnis dieser Mechanismen ist notwendig, um die Funktionsstörungen in Zellen, die zur Entstehung dieser Erkrankungen beitragen, aufzuklären. Damit können dann gezielt neue Medikamente getestet und entwickelt werden.

Als verbesserte Kontrastmethode soll insbesondere die spektral aufgelöste FLIM-Technik (SLIM) für in vivo Anwendungen optimiert und die Datenerfassung und Datenauswertung beschleunigt und vereinfacht werden. Durch diese Technik werden die Abklingzeiten aller spektralen Komponenten, also insbesondere von Donor und Akzeptor gleichzeitig erfasst. Mit Hilfe einer globalen Analyse ist damit eine verbesserte FRET-Analyse zu erwarten, die besonders bei komplexen, mehrere Interaktionspartner umfassenden Interaktionen von Bedeutung ist. Die Datenanalyse erfordert jedoch einen zuverlässigen Algorithmus, mit dem das Resultat schnell und einfach dargestellt werden kann und der im Rahmen dieses Projektes entwickelt wird.

Beispiel Neuroblastomzelle:

FLIM des Donors ohne FRET (EGFP)



FLIM des Donors mit FRET (EGFP-mRFP)

