



LemnaTec Bonit

Softwaremodul für den Scanalyzer

Videodensitometrie an GFP-Fluoreszenzbildern

LemnaTec GmbH
Schumanstr. 18
52146 Würselen
02405 / 4126-0
info@lemnatec.de
www.lemnatec.de

Biologischer Hintergrund

Das Grünfluoreszenzprotein (GFP) ist zu einem wertvollen Hilfsmittel der Genforschung geworden. Es ist das einzige bekannte, natürliche Protein, das fluoresziert. Es wurde in der Tiefseequalle *Aequorea Victoria* gefunden. Wird blaues Licht eingestrahlt (489 nm) so fluoresziert das Protein bei 511 nm. Es werden zumeist Modifikationen des GFP Vektors angewandt, die Proteine mit verbesserten Eigenschaften und unterschiedlichen Fluoreszenz-Wellenlängen hervorbringen (z.B. BlueFP und YellowFP).



Bild 1: Aequorea Victoria

Mit der LemnaTec Scanalyzertechnologie kann neben vielen anderen biologischen Aufgabenstellungen auch für die video-densitometrische Messung der Fluoreszenz von GFP-exprimierenden Organismen genutzt werden. Dabei werden Methoden der digitalen Bildanalyse angewandt.

Hardware

Der LemnaTec Scanalyzer ist die Quelle erstklassiger digitaler Bilder. Dabei wurde den speziellen Bedürfnissen der Laborarbeit in jedem Detail Rechnung getragen. Für die Aufnahme von farbtreuen Bildern steht eine hochauflösende Digitalkamera zur Verfügung. Zusammen mit dem reflexionsmindernden Cloudy Day Scanalyzer-Beleuchtungssystem wird die Grundlage für eine verlässliche Bildanalyse geschaffen – ein digitales Präzisionsbild.

Speziell für die Videodensitometrie ist der LemnaTec Scanalyzer zusätzlich mit einer GFP-Imagingausrüstung erhältlich. Zur Anregung der Fluoreszenz wird eine Kaltlichtquelle mit Blaufilter genutzt.

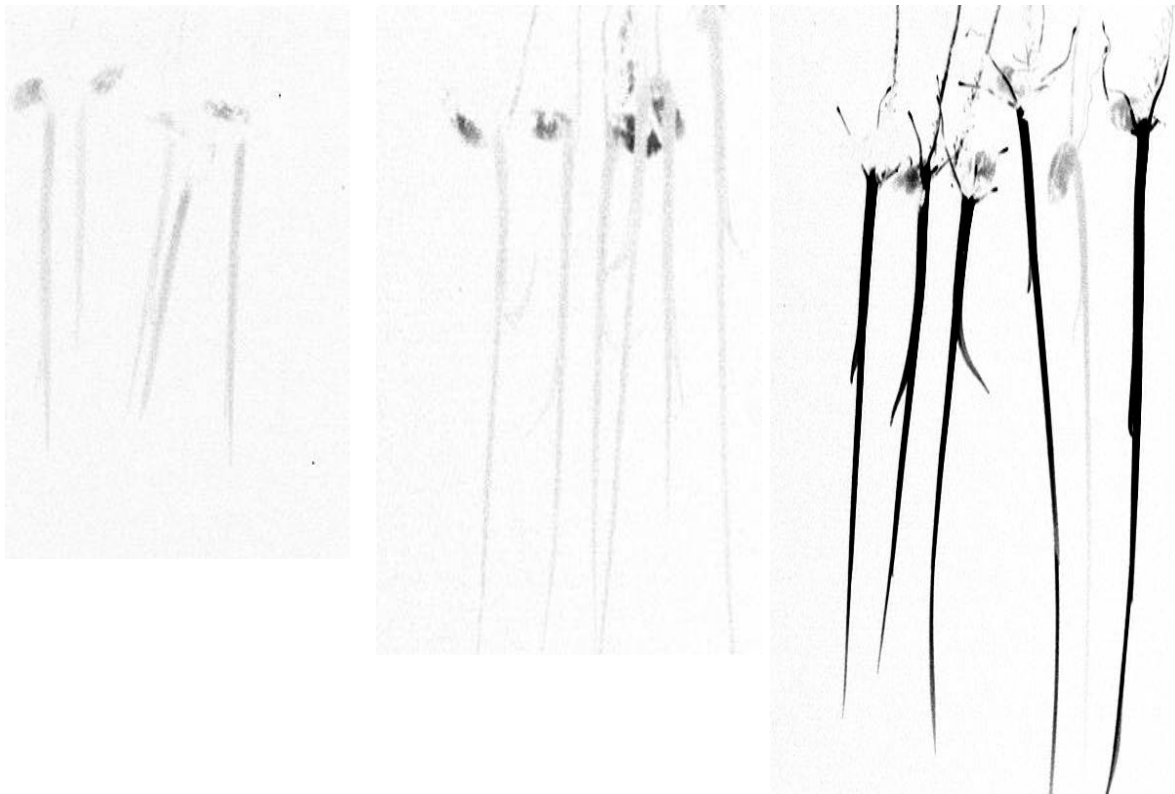
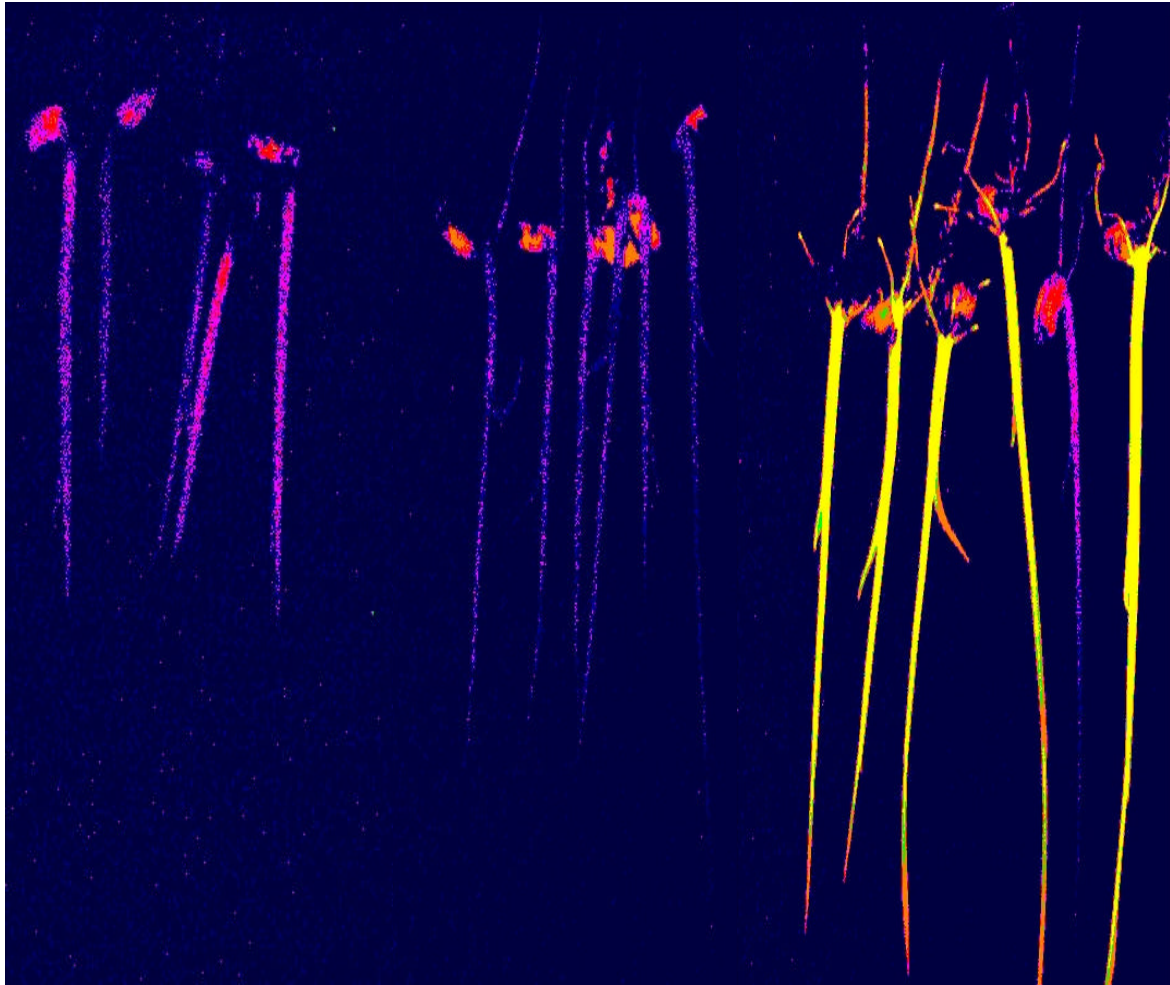


Bild 2: Inverse Originalbilder fluoreszierender Objekte

Die Detektion erfolgt durch eine empfindlichen schwarz-weiß Kamera mit entsprechendem Filtervorsatz (siehe Bild2). Bei der Fluoreszenzdetektion kommt es oft auf besonders hohe Lichtempfindlichkeit an. Diese wird zumeist durch den Einsatz kostspieliger Videokameras mit gekühlten CCD Chips erzielt. In diesem Bereich setzt LemnaTec jedoch auf moderne und kostengünstige Kameratechnik in Verbindung mit bildverstärkender Software ohne gekühlte Bauteile einsetzen zu müssen.

Software

Die LemnaTec Software ermittelt die Intensität der Fluoreszenz anhand der Pixelhelligkeit (Bild 2), diese wird mittels einer Falschfarbendarstellung visualisiert. Hierbei werden geringfügig unterschiedlich intensive Fluoreszenzen mit einem Blick deutlich. Auch eine schnelle Beurteilung der Verteilung der GFP Konzentration in den Organismen wird so unterstützt.



Intensität



Hoch

niedrig

Bild 3: Falschfarbendarstellung der Fluoreszenzintensität

Durch Normierung auf die Objektfläche wird ein Wert ermittelt, der in guter Korrelation zur GFP Expression steht. Anschließend können diese Daten als MS-Excel[®] File, HTML File oder im Textformat abgespeichert werden. So entstehen in kurzer Zeit anschauliche Grafiken, die eine schnelle und korrekte Bewertung der GFP-Expression ganzer Messreihen ermöglicht (siehe Bild 4).

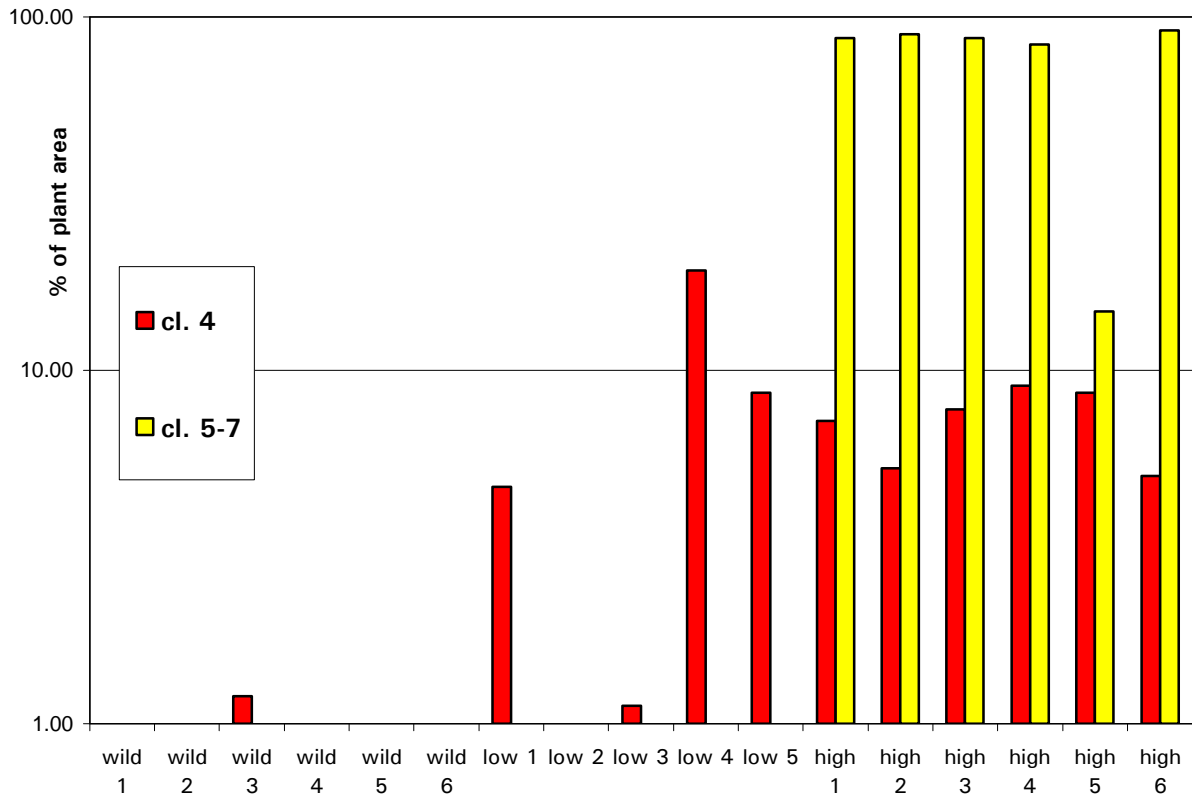


Bild 4: Vorkommen der Intensitätsklassen in Prozent der Objektfläche

Die LemnaTec Software ist konsequent darauf ausgerichtet, große Mengen an Proben in kurzer Zeit zu vermessen. Sie kann auch mit dem LemnaTec Scanalyzer HTS kombiniert werden, um selbst größte Screeningaufgaben zu bewältigen. Auch für die Desktop Version des Scanalyzers steht optional ein Barcodereader zur Verfügung um ein noch effizienteres Probenhandling zu ermöglichen.

Trotz einfachen Handlings wurden keine Kompromisse hinsichtlich der Datenvalidität eingegangen. Die Software ermöglicht das GLP-gerechte Schaffen von Daten durch ein passwortgesichertes Usermanagement und ein eindeutiges Probenhandling. Die Rohdaten – in diesem Fall digitale Bilddaten – werden zusammen mit allen GLP relevanten Daten gespeichert und im Zuge der Verarbeitung nicht verändert oder gelöscht.

Zusammen mit dem LemnaTec Scanalyzer bildet die Software ein wirtschaftliches, komfortables und valides System zur semi-quantitativen Auswertung der GFP-Expression.