

共焦点スキャナユニットCSUシリーズの 低退色・低光毒性

共焦点スキャナユニットCSUシリーズ

はじめに：CSU システムはタイムラプス実験に最適

現在ライフサイエンス分野では長時間細胞を生きたまま観察すること（タイムラプス実験）は必須の手法となっています。共焦点スキャナユニットCSUシリーズを含むCSUシステムは3Dタイムラプス実験に必要な条件をすべてクリアしています。

- ・ 高速スキャン（最大2000fps：CSU-X1）
- ・ S/Nが良い鮮明な画像を高速に取得可能
最適条件下では通常露光時間30msで画像が取得できるため、サブミクロンレベルのスライス画像による3次元データを1-2秒間で取得できます
- ・ 光毒性、蛍光退色ともに他の共焦点方式に比べて相対的に最小レベル
長時間にわたって撮影ができます
- ・ EMCCDカメラに対応
より微弱な蛍光も撮影できます

光毒性と蛍光退色を抑えるためには、励起光を最小限に抑える必要がありますが、共焦点スキャナユニットCSUシリーズは微弱蛍光まで検出できるため、細胞のダメージを抑え、長時間のタイムラプス実験ができます。今回はその特性をいかした長時間タイムラプス事例についてご紹介いたします。

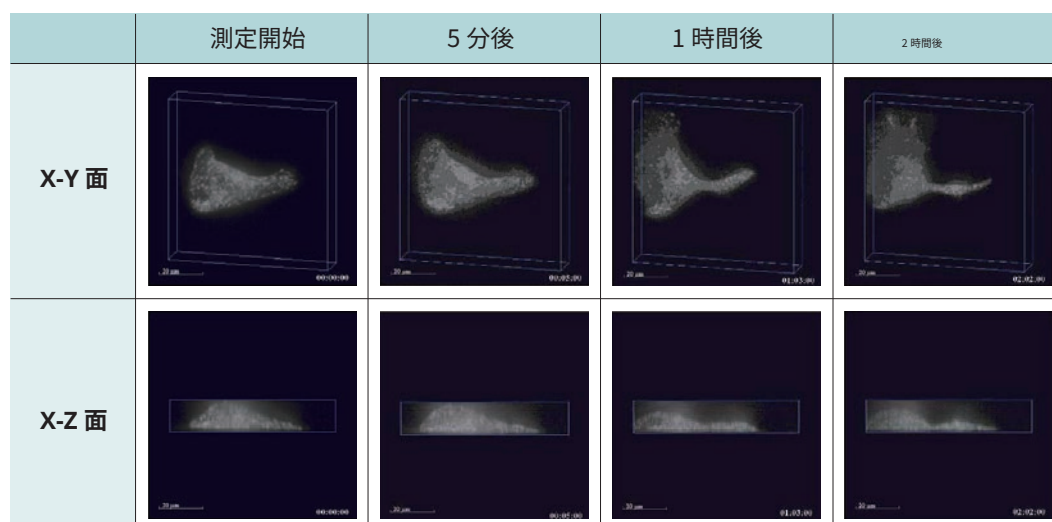


図1 rab7-eGFPをトランジェントに導入した MDCK上皮細胞のタイムラプス画像

参考リンク：<http://www.microscopyu.com/articles/livecellimaging/index.html>

参考文献：Goldman, R., and Spector, D. (2005) Live Cell Imaging:
A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press.

実験手順

下記の条件で5時間のタイムラプス実験を行いました。

試料	rab7* ¹ -eGFPをトランジェントに導入したMDCK細胞 実験開始3時間前に、細胞/dishを顕微鏡ステージにセットし、環境温度を十分に安定化する	
システム	共焦点スキャナユニット	CSU10
	レーザ	ArKr (488nm、568nm、647nm)
	カメラ	iXon air cooled EMCCD camera (Andor)
	顕微鏡	Nikon TE-2000U、対物レンズ：100x Oil NA 1.4
	その他	35mmガラスボトムシャーレ用ステージヒーター、対物レンズヒーター、加湿、CO ₂
励起光強度	rab7-eGFPの蛍光強度に合わせた最小レベルに設定	
撮影条件	露光時間31ms、速度16fps 前半の120立体 (3480画像) は2秒毎に1立体データ、後半の120立体 (3480画像) は、毎分1立体データ取得	
3Dデータ取得条件	29画像 / 1立体 (0.5μステップ) 512 x 512 pixels	

*1 rab7:細胞内を高速移動するendosomes特異的たんぱく質
pH、温度などの環境が劣化して細胞が弱った場合、rab7の移動速度が遅くなったり停止するため、細胞の状態を簡便に観察可能な実験系

結果と考察

5時間で240立体像 (6,960画像) を取得した後も、蛍光退色は殆ど無く、Endosomeが細胞内を活発に移動する様子は変化がありませんでした。温度条件 (37℃、5% CO₂) を保った結果、5時間のタイムラプス実験中フォーカスドリフトがありませんでした。

長時間タイムラプス実験にはCSUシステムは最適であることが明らかになりました。

横河電機株式会社

〒180-8750 東京都武蔵野市中町 2-9-32

E-mail : CSU@CSV.yokogawa.co.jp

URL : <https://www.yokogawa.co.jp/solutions/products-and-services/life-science/spinning-disk-confocal/>



記載内容は、お断りなく変更することがありますのでご了承ください。
本文中に使用されている会社名、団体名、商品名およびロゴ等は、各社または各団体の登録商標または商標です。
All Rights Reserved. Copyright © 2009, Yokogawa Electric Corporation.

[Ed:04/d]