



FV3000共聚焦多色荧光成像

对小鼠内侧前额叶皮层的形态学特征描述

认知功能障碍的机制研究往往需要把大脑形态学变化与生理响应关联起来。在同一个脑片样本上鉴别不同的形态学结构，对于理解病变状态和药物治疗如何影响大脑的形态尤为重要。在本篇研究中，共聚焦显微镜FV3000的全真光谱TruSpectral检测技术的使用成功地在小鼠内侧前额叶皮层（medial prefrontal cortex, mPFC）观察到6种不同的细胞结构，包括小胶质细胞，锥体细胞，抑制型神经元，神经细胞膜，神经细胞轴突起始段和细胞核。

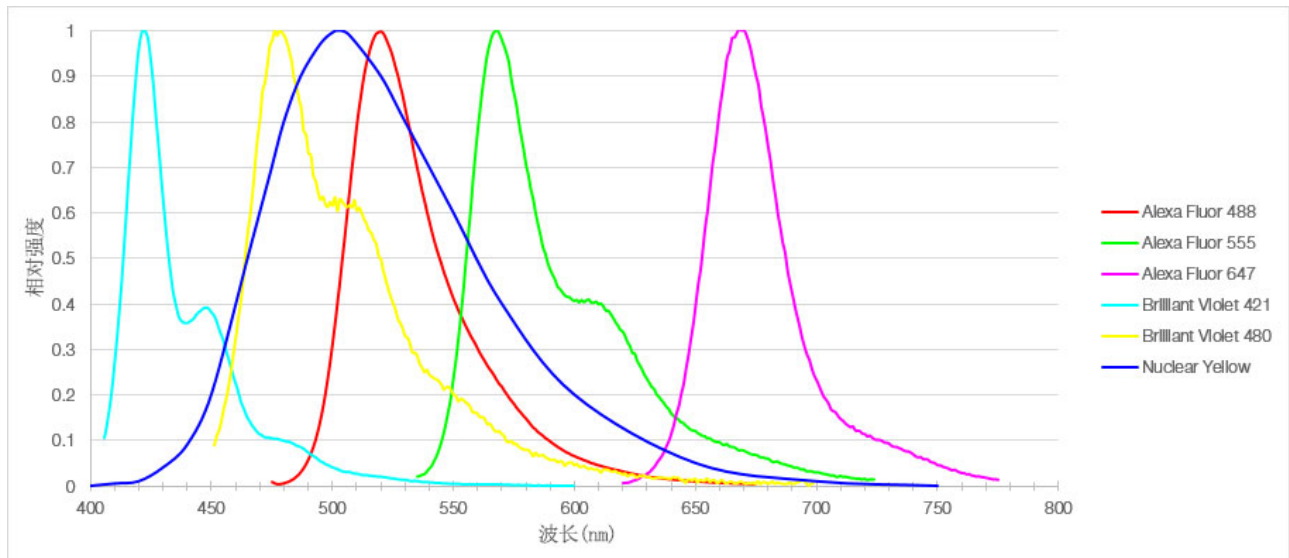


图1 用于标记小鼠mPFC切片的6种荧光染料发光光谱

全真光谱TruSpectral检测技术帮助区分6种不同的形态学结构

在本次实验中，科研人员使用了6种不同的荧光染料分别标记了30 μ m厚的小鼠内侧前额叶皮层固定标本的不同细胞结构，并使用搭载了UPLSAPO20X物镜的Olympus共聚焦显微镜FV3000进行多色荧光脑切片3D成像。通过全真光谱TruSpectral检测，不仅可以针对不同的荧光染料单独设定最优的采集条件，还能优化检测光谱，避免荧光串色。结果显示每一种荧光染料都有明亮的信号和独特的发射光谱特征，确保了同一种样品的多种结构的检测精度。

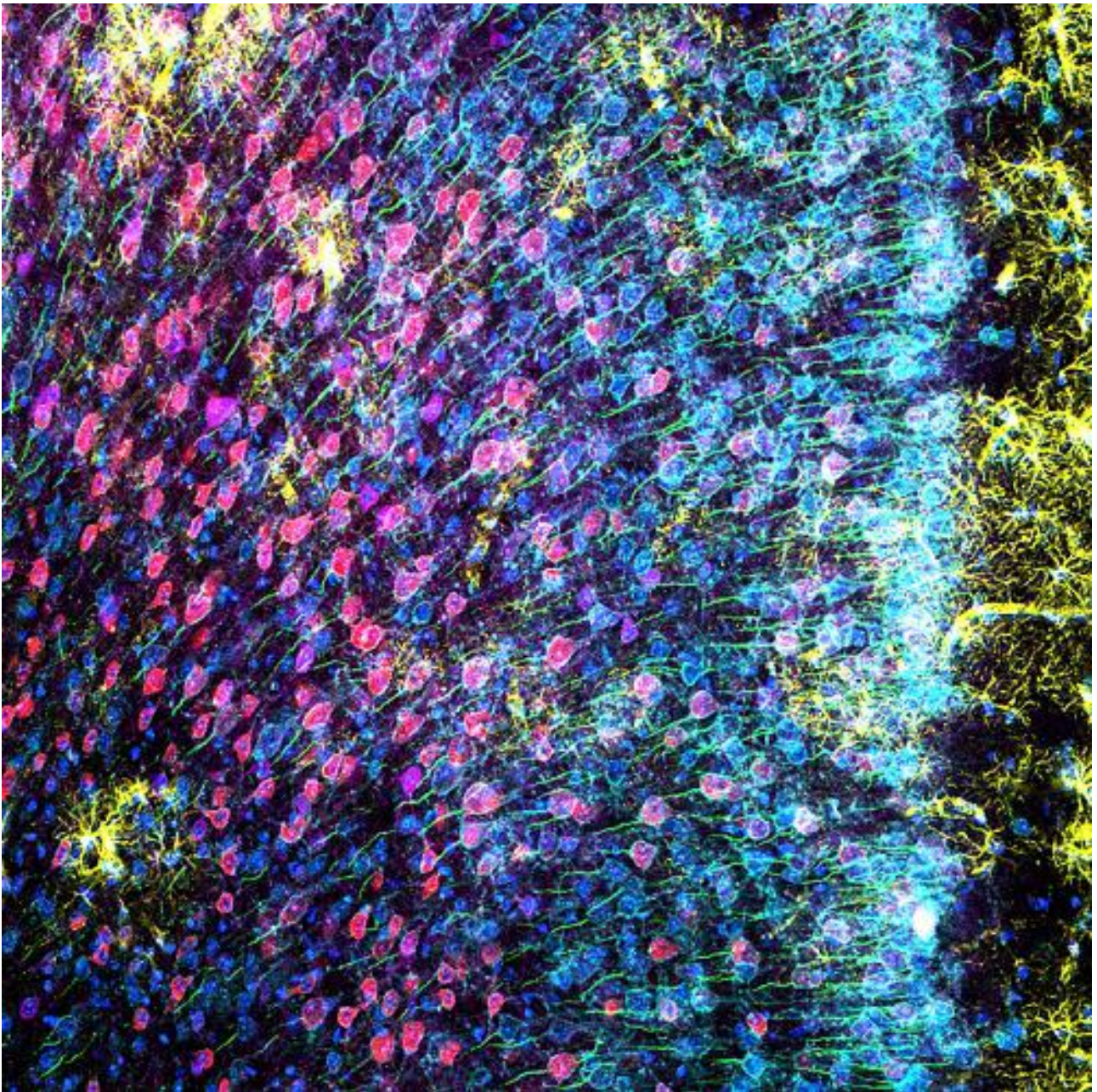


图2 小鼠内侧前额叶皮层切片6色标记：神经胶质纤维酸性蛋白（GFAP，小胶质细胞，黄色），钙调蛋白依赖蛋白激酶 II（CaMKII，锥体细胞，红色），Amphoterin诱导蛋白1前体（AMIGO-1，神经细胞膜，青蓝色），细小清蛋白（PV，抑制型神经，紫色），后锚蛋白G（AnkG，神经细胞轴突起起始段，绿色），核黄（细胞核，蓝色）

拍摄条件

显微镜：FV3000激光扫描共聚焦显微镜

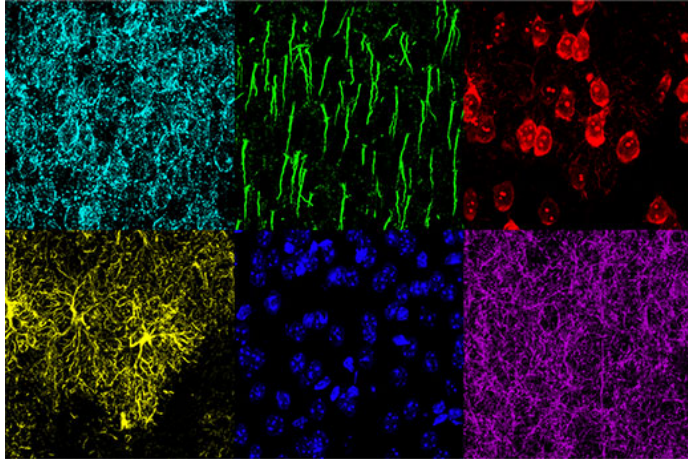
物镜：20x空气镜（UPLSAPO20X）

激光：405 nm (BV421，核黄)，445 nm (BV480)，488 nm (AF488)，561 nm (AF555)，640 nm (AF647)

100x硅油物镜实现深度高分辨率成像

为了获得小鼠内侧前额叶皮层切片高分辨图像，科研人员使用了100x硅油物镜，并配合全真光谱TruSpectral高灵敏检测器，采集到大脑皮层明亮清晰的6色信号。这样的设备组合可以帮助科研人员清晰地捕捉到内侧前额叶皮层不同群体神经元的形态。

(A)



(B)

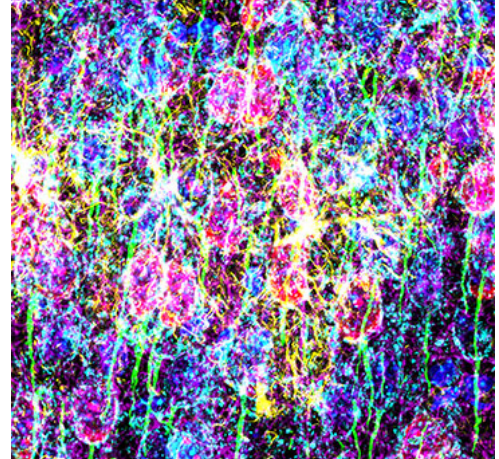


图3 小鼠内侧前额叶皮层切片6色标记：神经胶质纤维酸性蛋白（GFAP，小胶质细胞，黄色），钙调蛋白依赖蛋白激酶 II（CaMKII，锥体细胞，红色），Amphoterin诱导蛋白1前体（AMIGO-1，神经细胞膜，青蓝色），细小青蛋白（PV，抑制型神经，紫色），后锚蛋白G（AnkG，神经细胞轴突起起始段，绿色），核黄（细胞核，蓝色）。（A）6色荧光（B）多色叠加图

拍摄条件

显微镜：FV3000激光扫描共聚焦显微镜

物镜：100x硅油镜（UPLSAPO100XS）

激光：405 nm (BV421, 核黄), 445 nm (BV480), 488 nm (AF488), 561 nm (AF555), 640 nm (AF647)

FV3000共聚焦显微镜如何助力我们的应用？

高灵敏GaAsP检测器和全光谱成像系统高效实现多色荧光成像

硅油物镜UPLSAPO100XS实现厚标本的明亮成像

UPLSAPO系列超级复消色差物镜在球差和色差方面都有出色的校正，在可见光到近红外范围均有很高的透光率。硅油的折射率 ($n_e \approx 1.40$) 接近于活细胞组织的折射率 ($n_e \approx 1.38$)，降低了由于介质和活体组织间因折射率不匹配所导致的球差，从而提高了图像分辨率和组织的观察深度。



放大倍率：100x

数值孔径NA：1.35（硅油浸物镜）

工作距离WD：0.2mm

色差校准：超级复消色差（SAPO）

使用FV3000共聚焦显微镜研究神经性疼痛对大脑分子水平的影响

Stephanie Shiers教授的点评：

Theodore Price博士的点评：



我们研究的首要目标是了解认知过程中神经性疼痛如何影响大脑结构变化。认知障碍是神经性疼痛很重要的共发病，但目前对其分子机理的了解非常少。我们对于小鼠内侧前额叶皮层的研究工作已经发现神经性疼痛会精细地改变神经细胞轴突起始段的结构。这个发现离不开FV3000共聚焦显微镜对于内侧前额叶皮层超微结构高质量成像，无疑为我们对神经性疼痛的研究带来很关键的视角。

致谢

感谢以下研究人员协助制作本应用材料

Stephanie Shiers, Ph.D. Candidate, Price Lab, University of Texas at Dallas

Theodore J. Price, Ph.D., Price Lab, Eugene McDermott Professor, Director,

Center for Advanced Pain Studies, Department of Neurobiology, School of Behavioral and Brain Sciences, University of Texas at Dallas

相关产品

激光扫描共聚焦显微镜



FV3000

- 配有常规扫描单元的FV3000或配有常规/共振混合扫描单元的FV3000RS
- 可在所有通道上进行高效、准确的全真光谱检测
- 具有针对活细胞成像进行优化的高灵敏度和低光毒性

- 倒置和正置镜架选项可适应各种应用和样品类型

学习更多内容 ▶ <https://www.olympus-lifescience.com/laser-scanning/fv3000/>

超级复消色差物镜



UPLSAPO

- 为从可见光到近红外区域的球差和色差提供全补偿。
- 在荧光、明场和Nomarski DIC观察时获取锐利、清晰的图像，没有色彩偏移。
- 为各种数码成像的质量和性能需求提供无与伦比的解决方案 – 包括在活体组织内使用硅油物镜实施的高分辨率观察。

学习更多内容 ▶ <https://www.olympus-lifescience.com/objectives/upsapo-c/>

"平场超级复消色差硅油物镜 / 平场超级复消色差水镜"



UPLSAPO-S/UPLSAPO-W

这些超级复消色差物镜提供球面像差和色差补偿以及从可见光到近红外区域的高透过率。它们使用硅酮油或水浸介质，其折射率与活细胞的折射率很接近，可在活组织深层实现高分辨率成像。

- 补偿球面像差和色差，并且从可见光到近红外区域具有高透过率
- 硅酮油或水浸介质有助于在活组织深处实现高分辨率成像和减少球面像差，因为它们的折射率与活细胞折射率相近

学习更多内容 ▶ <https://www.olympus-lifescience.com/objectives/upsapo/>