

全新Fucci (CA) 蛋白：用于细胞周期可视化的荧光探针

Fucci (基于荧光泛素化的细胞周期指示剂) 是一种用于实时细胞周期监测、具有两个荧光探针的基因编码蛋白。2017年新开发的Fucci (CA) 蛋白使用mCherry (红色) 或mVenus (蓝色) 标记不同细胞周期的细胞核。Fucci (CA) 蛋白的红色荧光mCherry可以在整个G1期间大量表达, 并能在G1期结束时迅速降低, 从而可以准确检测短暂的G1期并区分S期和G2期, 在过去如此精细的细胞周期区分是很难实现的。

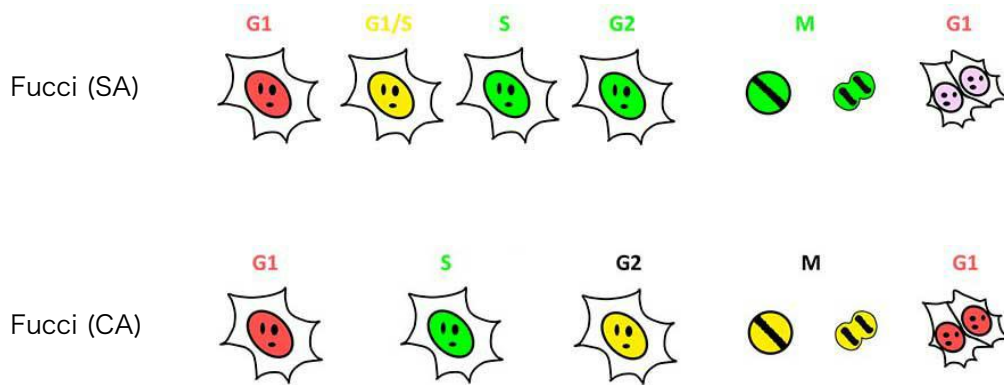


图1：Fucci (SA) 和Fucci (CA) 实现细胞周期进程可视化

未分化胚胎干细胞的低光毒性时间序列成像

未分化胚胎干细胞的增殖速度很快而且细胞很敏感脆弱。成像过程中光毒性问题很可能造成胚胎干细胞损伤，并降低细胞增殖速度，因此在胚胎干细胞延时成像中很难维持同等的生理环境。针对这类应用，FV3000共聚焦显微镜通过高效的光路和高灵敏的检测设计，以极低的激光功率实现低光毒性的长时程成像。FV3000的这些特性让研究小组成功获得长达57个小时的延时成像，涵盖了未分化胚胎干细胞快速分裂过程中三个完整的细胞周期。

Video: [appnote-new-fucci-02_480.mp4](#)

图2：带Fucci (CA) 2.1标记的小鼠胚胎干细胞的时间序列观察

成像条件

样本：小鼠胚胎干细胞

物镜：硅油物镜 (UPLSAPO30XS)

显微镜：FLUOVIEW FV3000共聚焦显微镜系统

激光：445 nm (AmCyan) , 594 nm (mCherry)

对短G1期的检测

Fucci (CA) 利用很强的红色荧光对G1期全面标记，即便在迅速增殖的未分化胚胎干细胞中也能精确测量分裂时期的边界。通过单细胞水平的时序观察发现小鼠胚胎干细胞 (mESCs) 的增殖时间约为11小时，而G1期仅为1小时。

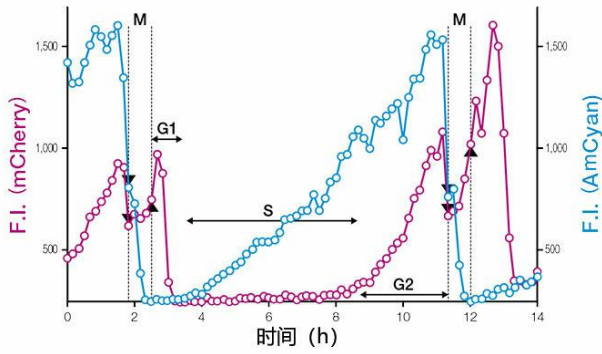
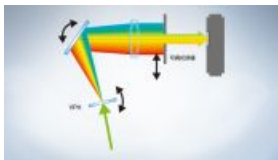


图3：表达Fucci (CA) 2.1的单细胞细胞核荧光强度 (F.I.) 的时间变化曲线

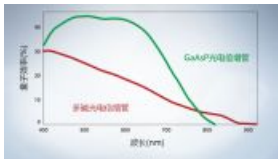
FV3000共聚焦显微镜如何助力我们的实验

全光谱系统实现高灵敏检测



FV3000共聚焦显微镜采用奥林巴斯全真光谱TruSpectral检测技术，通过体相位全息透射光栅提高检测效率。与采用反射型光栅的传统光谱检测单元相比，该技术可实现更高的光通量。

低激发光下的高信噪比 (S / N)



FV3000的高灵敏检测单元最多可配四个GaAsP高灵敏检测器，以高达45%的量子效率捕获微弱的荧光信号。此外，配套的Peltier固体制冷技术可将背景噪声降低至20%。这些特点确保FV3000即便在低激发光下也能够实现高信噪比成像。

采集具有生理准确性的细胞周期图像：Dr. Asako Sakaue-Sawano的

点评

我们一般使用XYZT成像检测未分化的小鼠胚胎干细胞 (mESC) 在三维空间中的分裂和迁移。由于未分化的小鼠胚胎干细胞对光毒性高度敏感，延时成像过程中激光反复扫描可能会诱导细胞周期发生改变。FV3000共聚焦显微镜系统帮我们实现温和的4维 (XYZT) 成像，观察到小鼠胚胎干细胞的在极短的G1期下实现快速增殖，并在单细胞水平对整个细胞周期实现准确表征。

致谢

本应用指南的编写得到以下研究人员的协助：

Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Center for Brain Science



Dr. Masahiro Yo

(负责成像实验)



Dr. Asako Sakaue-Sawano

(第一作者)



Dr. Atsushi Miyawaki

(团队负责人)

参考文献

有关本应用指南相关研究的更多详细信息，请参考以下文章：

A. Sakaue-Sawano, *et al.* "Genetically Encoded Tools for Optical Dissection of the Mammalian Cell Cycle." *Molecular Cell*, volume 68, issue 3 (October 2017): pp. 626–640.e5.

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/>

"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/>

EVIDENT

lifescience.evidentscientific.com.cn

Copyright 2024 EVIDENT, All rights reserved.

Evident Corporation is certified to ISO 9001, and ISO 14001.

All specifications are subject to change without notice. All brands are trademarks or registered trademarks of their respective owners and third party entities. Evident and the Evident logo are trademarks of Evident Corporation or its subsidiaries.

联系我们

lifescience.evidentscientific.com.cn/contact-us