

使用FLUOVIEW FV3000对猕猴大脑皮层和丘脑之间神经结构进行的观察

人类的前额叶皮层(PFC)不成比例地扩大, 负责高级认知和执行机能。它的运转失灵可能导致精神疾病, 如精神分裂症和阿尔茨海默氏症。人们对小鼠PFC进行了积极研究, 但它缺乏与颗粒状额叶皮层相对应的区域, 这表明它与灵长类动物存在巨大的结构性差异。因此, 灵长动物模型的研究对于将小鼠与人类的研究联系起来非常重要。我们的研究小组正在使用猕猴这种原产于南美洲的小型猴子作为灵长动物模型。

在这项实验中, 我们研究了PFC与丘脑网状核(TRN)之间的相互作用, 后者是丘脑周围的一组抑制性神经元。TRN就像一扇门, 控制着从大脑皮层向丘脑的信息传输。我们研究了TRN中轴突纤维的详细形态, 它们将信号从PFC传递到丘脑。

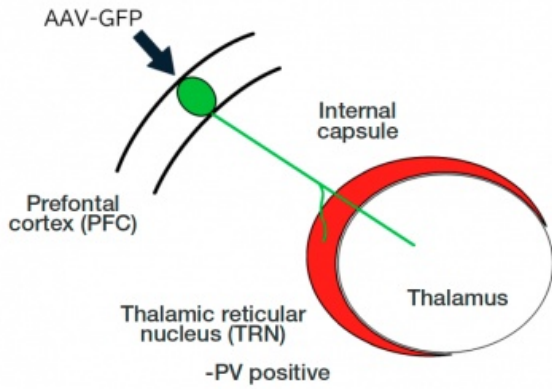


图1.显示神经轴突如何从前额皮质通过丘脑网状核进入丘脑的示意图。丘脑网状核起着通往丘脑大门的作用。

采用简单工作流程的宏观到微观成像

起源于PFC的轴突纤维以厚束形式穿过一个叫做内囊的通道。这个轴突束穿过TRN的前部进入丘脑，在那里通过分裂和重新定向呈现出复杂的形态。为了准确识别TRN，我们使用了PV（小白蛋白）作为标记物（图1）。

FLUOVIEW FV3000共焦激光扫描显微镜的宏观到微观功能可无缝连接宏观和微观视图以实现共焦成像。我们利用此功能获得了PFC轴突纤维穿过PV阳性细胞的低放大倍率全景，然后切换到高放大倍率来观察细微轴突纤维和蕾状神经末梢的分支。

为了进行高放大倍率的观察，使用了硅油浸泡物镜在高分辨率下对样品深部区域进行了详细的观察。在低放大倍率下，我们只能观察到粗轴突纤维穿过TRN。使用40倍硅油浸泡物镜时，我们可以观察到穿过TRN的纤维出现细微分支，并伴有无数蕾状颗粒结构（图2）。

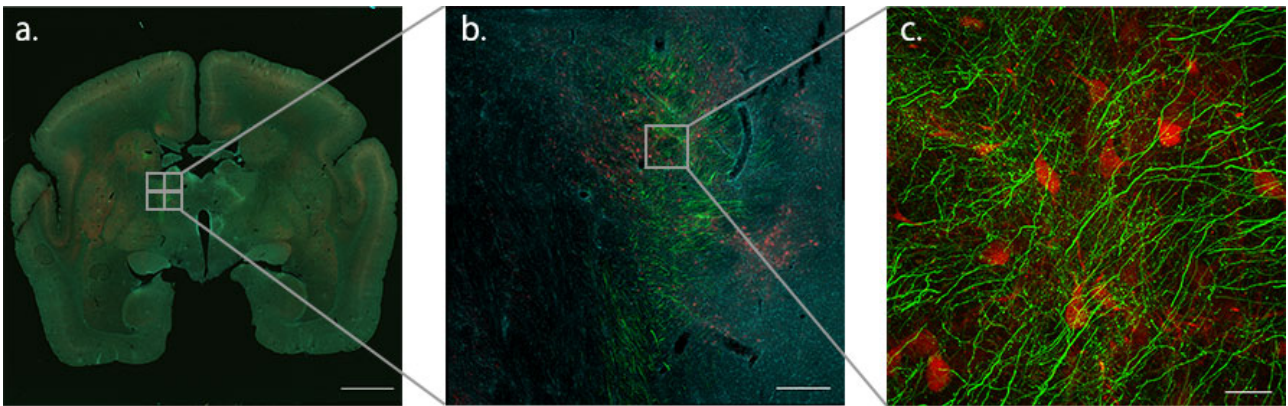


图2.使用宏观到微观功能绘制轴突纤维在从猴大脑的PFC到丘脑的途中与TRN相遇的位置。由于TRN神经元由PV阳性抑制性神经元组成，因此可以通过PV抗体（红色）加以识别。绿色代表来自大脑皮层的轴突末梢，青色代表细胞核。

成像条件

显微镜：FLUOVIEW FV3000共焦激光扫描显微镜

激光：405 nm (DAPI, 青色)、488 nm (绿色荧光蛋白, 绿色)、561 nm (小白蛋白, 红色)

a.物镜：PLAPON1.25X, 拼接方式：3 × 3, 比例尺：3000 μm

b.物镜：UPLXAPO10X, 拼接方式：2 × 2, 比例尺：300 μm

c. 物镜：UPLSAPO40XS, 拼接方式：2 × 2, 73切片, 比例尺：30 μm (仅显示绿色和红色)

轴突纤维微细结构的高分辨率三维观察

使用100倍硅油浸泡物镜拍摄了Z堆栈图像以进行三维重建（图3）。我们得以观察到包围TRN神经元的蕾状颗粒的详细三维结构。

Video: [movie_1_observation-of-neural-structures.mp4](#)

图3.从猕猴PFC前往丘脑途中的TRN内轴突纤维的高放大倍率3D观察

成像条件

显微镜：FLUOVIEW FV3000
共焦激光扫描显微镜

激光：488 nm (绿色荧光蛋白, 绿色)、561 nm (小白蛋白, 红色)

物镜：UPLSAPO100XS

Watakabe博士的评论

在这个实验中，我们需要在低放大倍率物镜和高放大倍率物镜之间进行切换。FV3000显微镜的宏观到微观映射功能使得这种转换可以顺利进行，并使我们能够浏览大脑的整体图像，同时在高倍率下捕获到微细结构。硅油浸泡物镜帮助我们观察到了蕾状神经末梢的细微形态。

鸣谢：

Akiya Watakabe博士

理研脑科学中心高等脑功能分子分析实验室



研究背景

这项研究是作为“集成式疾病研究神经技术大脑测绘”(Brain/MINDS)项目的一部分进行的。该项目旨在加深我们对人类精神和神经障碍的理解，并最终通过研究灵长类动物模型的神经回路来克服这些障碍。Watakabe博士所属的研究小组负责绘制猕猴大脑结构图谱，尤其专注于前额皮质(PFC)的联结器。

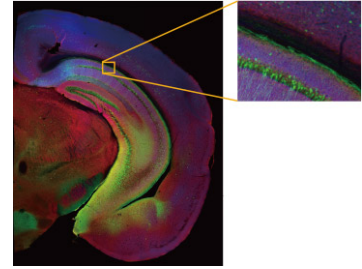
相关文献：

Okano, H., Sasaki, E., Yamamori, T., Iriki, A., Shimogori, T., Yamaguchi, Y., Kasai, K., Miyawaki, A. "Brain/MINDS:." *Neuron.*, 2016, Nov. 2;92(3):582-590. doi:10.1016/j.neuron.2016.10.018.

FV3000共焦激光扫描显微镜如何简化实验流程

神经结构映射的宏观到微观观察

FV3000共焦激光扫描显微镜的宏观到微观工作流程使得通过一个简单的工作流程就可以捕捉整个组织的结构和观察细胞的微观结构。



硅油浸泡物镜：实现厚组织样品的明亮成像

奥林巴斯的高性能硅油浸泡物镜可实现对透明标本进行高分辨率的深层组织观察。由于硅油的折射率（ $n_e \approx 1.40$ ）接近活体组织的折射率（ $n_e \approx 1.38$ ），这些物镜有助于防止折射率变化造成的球面像差，从而能够采集高清晰度的组织结构3D图像。

Video: [Silicone_Objectives_withVO\(4\)_720.mp4](#)

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