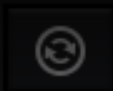
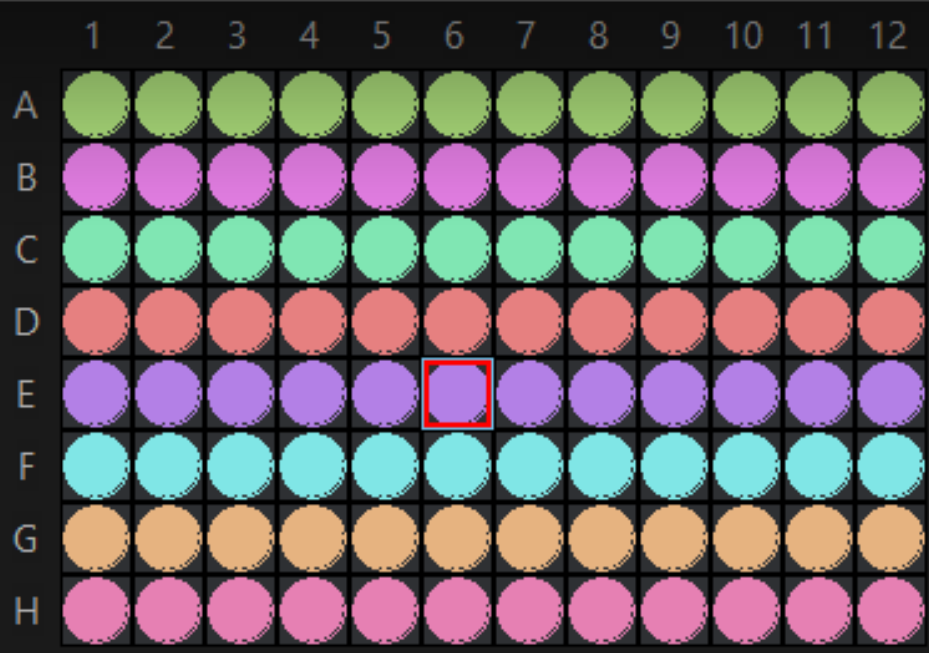




Stop stage

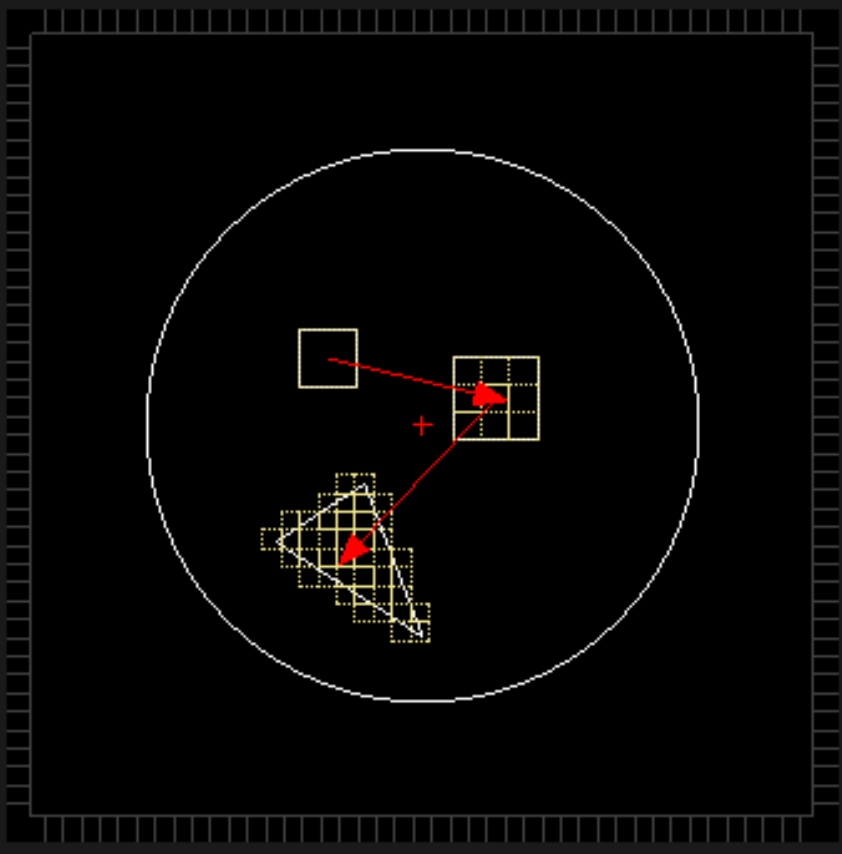


Calibration



E06

CH1



Selected :E06

Stg. positioned : E06

Stage position X: -4500[um] Y: 4500[um]

## 使用 Olympus FLUOVIEW FV3000 和 TruFocus Z 轴偏移补偿系统扩展细胞运动和增殖的延时成像

细胞培养物的成像分析是研究各种生物现象的基础。研究者可利用这项技术观察细胞增殖和随时间推移的动态。由于细胞群可以表现出局部多元化的蛋白质表达谱和运动模式，因此需要精心设计成像分析，才能避免因采样不足而产生的偏差和偏斜结果。因此，细胞培养物的成像试验应设计为能够在微孔板或培养设备上包括多个视野。本应用说明探究了 FV3000 显微镜如何利用复杂的采集参数协助多区域延时图像的采集，从而可在一次试验中获得完整、可靠的数据集。

### 在一次试验中拍摄多个视野

本实验使用 FV3000 共焦显微镜的多区域延时 (MATL) 模块，在约 12.5 小时内连续监测表达胞质绿色荧光蛋白 (GFP) 的人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 群的运动和增殖。设计试验时，用不同的放大倍数和 Z-stack 图像参数监测多个区域尤为关键。这样才能追踪单个细胞以及整个细胞群的动态。MATL 模块允许为每个位置或平铺区域登记独立的 XYZT 参数，因此可轻松地随时间推移而为多个区域的不同放大倍数和 Z-stack 参数编程不同的成像条件。

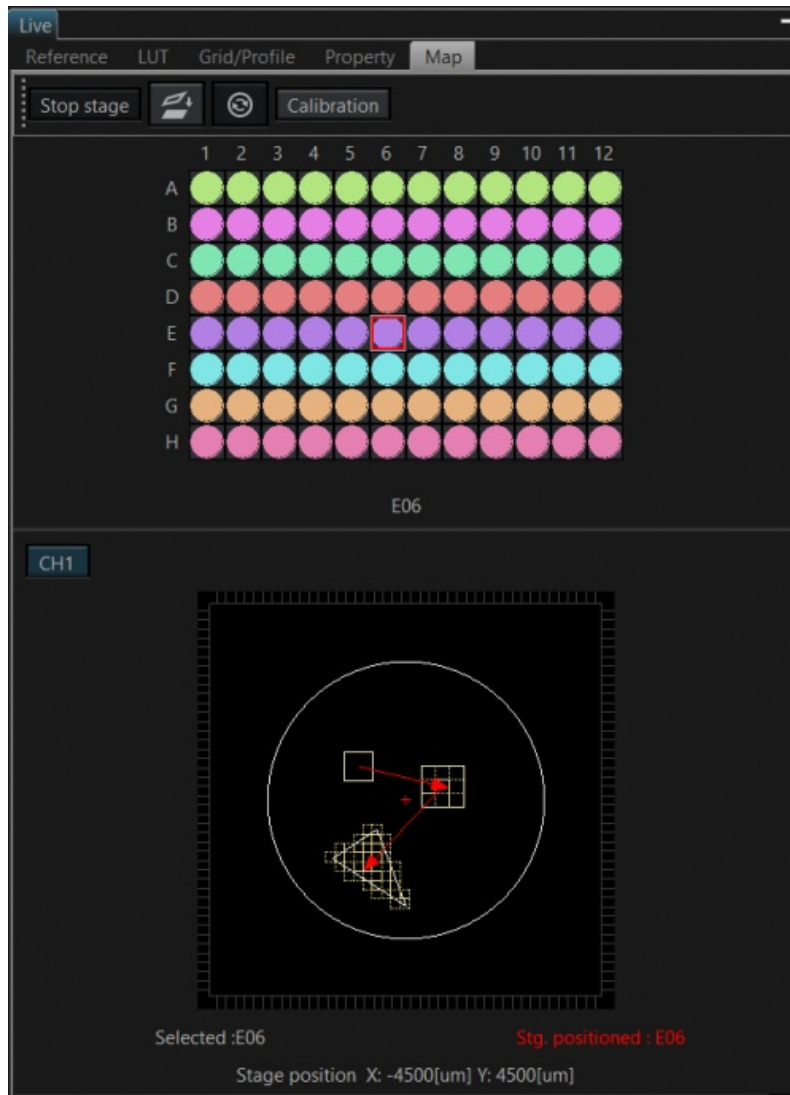


图 1. 多区域延时试验示意图。在多孔板中的每个孔中，编程了单个和平铺区域的多个位置以及不同的独立放大倍数和 Z-stack 参数。随后，在 12 小时 25 分钟周期中对这些登记的位置进行成像。

### 利用特定位置的自动对焦功能追踪 HUVEC 细胞运动和增殖

随着时间推移而对多个区域进行成像时，最大的难点在于显微镜室内环境温度的微小波动会导致焦点呈现逐渐漂移的趋势。此外，盖玻片表面和样品组织间的距离在整个表面上可能并不相同，因而难以在多个视野中获得清晰的图像。TruFocus Z 轴漂移补偿系统，通过利用无光毒性近红外激光器定位盖玻片与样品的界面，同时确定相应的焦点位置，从而可以解决这些问题。组合使用 TruFocus 系统与 MATL 功能后，即可利用特定位置的自动对焦功能轻松登记多个独立的 XYZT 位置。

本试验随时间推移而循环聚焦具有不同放大倍数和 Z-stack 参数的多个区域，从而可在单个细胞和细胞群水平上追踪 HUVEC 运动和增殖的变化。如图 2 中的视频集锦所示，组合使用 MATL 与 TruFocus 系统后，可对多个孔重复成像，同时在 12 小时的整个试验过程中保持了清晰的焦点。

Video: [16\\_MINUTE\\_LOOP.mp4](#)

图 2. 表达胞质 GFP 的 HUVE 的 XYZT 多区域延时成像。图中所示为具有不同采集参数的不同位置的 4 个示例图像。在 13 小时的试验过程中，TruFocus 系统用于保持不同视野中样品的对焦。

成像条件

顶部两个窗格：

物镜 UPLXAPO20X

显微镜：FLUOVIEW FV3000RS 激光扫描共焦显微镜

激光器：488nm (GFP, 绿色)

扫描仪：共振

Z 系列：16 阶

扫描区域总数：14

底部两个窗格：

物镜 UPLXAPO10X

显微镜：FLUOVIEW FV3000RS 激光扫描共焦显微镜

激光器：488nm (GFP, 绿色)

扫描仪：共振

Z 系列：15 阶

扫描区域总数：48

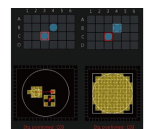
合计试验时间：13 小时 11 分钟。

## FV3000 共焦显微镜对我们的试验有何帮助

在多区域延时成像中使用 Olympus 的 TruFocus Z 漂移补偿系统保持对焦

### 多区域延时 (MATL) 软件模块支持独立的 XYZT 参数

多区域延时 (MATL) 软件模块控制着 FV3000 显微镜的电动 XY 载物台，允许为各个登记的位置或平铺区域设置独立的 XYZT 参数。MATL 模块利用 FV3000 倒置显微镜提供的完整集成硬件和精确计时功能，提供了可靠和准确的延时数据，因而非常适合对各种商用带盖玻璃底培养皿成像，甚至可对定制设备和微孔板成像。





## James Hoying 博士的评语

我们使用了排列于多孔板的很多孔内的多种 3D 血管化组织模型。我们通常需要使用 3D 脉管系统的高分辨率共焦图像来一次测量数十个组织中的血管形成和血管形态。因此，FV3000 显微镜的 TruFocus 系统和 MATL 功能对我们来说非常实用。

## 致谢

本应用说明的编写得到了以下研究者的帮助：

Advanced Solutions Life Sciences 公司首席科学家 James Hoying 博士

## 相关产品



### 激光扫描共焦显微镜

## FV4000

- 改变了游戏规则的大动态范围，实现从宏观尺度到亚细胞结构的成像
- 采用TruSpectral技术可扩展多达6个通道的同步多色成像能力
- 重新设计的高速、高分辨率扫描单元，可进行固定细胞和活细胞的高效成像
- 凭借出色的近红外（NIR）功能和高品质光学器件，提供优异的成像深度和灵敏度
- 可靠、可重复的SiIVIR探测器让研究者安枕无忧
- 业界出色的\*10条激光谱线，提供从405 nm到785 nm的更广光谱范围

\*截至2023年10月。

学习更多内容 ▶ <https://www.olympus-lifescience.com/laser-scanning/fv4000/>

### Z Drift Compensator



## IX3-ZDC2

- 随时保持焦点
- 易用性设计
- 专为活细胞影像设计
- 通过cellSens软件实现高精度，多区域成像

学习更多内容 ▶ <https://www.olympus-lifescience.com/microscopes/inverted/ix83/TruFocus/>