

Cobolt Flamenco™ 660nm 誘導放出抑制(STED)顕微鏡用

光の回折とそれによって生じる空間分解能の限界は、長い間光学顕微鏡の障害となってきました。研究者が直面する主な問題は、生きた細胞の構造の鮮明な画像を取得することが難しいことです。

90年代半ばに STED(誘導放出減少)と GSD(基底状態減少)を皮切りに、空間回折限界を超える遠視野光学顕微鏡、いわゆる蛍光ナノスコープが開発されました。STED、GSD(IM)、PALM、STORM などの高度なナノスコープ技術は、蛍光シグナルを変調する機能を使用し、分子スケールまでの空間分解能、つまり従来の(共焦点)顕微鏡法(図 1)よりもはるかに優れた空間分解能で(生きている)細胞の画像をキャプチャすることを可能にします。

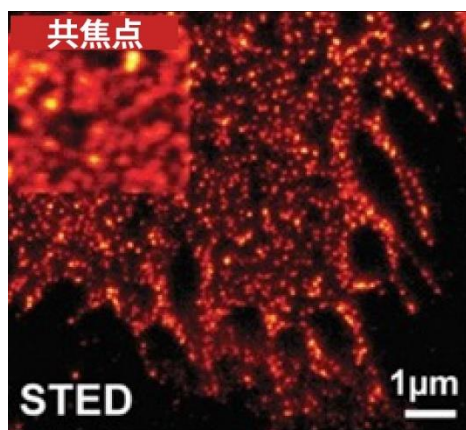


図 1

このアプリケーションノートでは、STED ナノスコープセットアップで Cobolt Flamenco™ 660nm を使用して実施した実験の結果を紹介します。STED ナノスコープ技術は、ドイツのゲッティンゲンにあるマックスプランク生物物理化学研究所の Stefan Hell によって開発されました。典型的な STED 顕微鏡では、蛍光励起レーザービームがドーナツ型 STED ビームと同一線上に配置され、焦点中心を除くあらゆる場所で誘導放出によって蛍光発光を一時的に抑制します(図 2)。サンプル上の縮小された焦点をスキャンすると、サブ回折解像度の画像が生成されます。

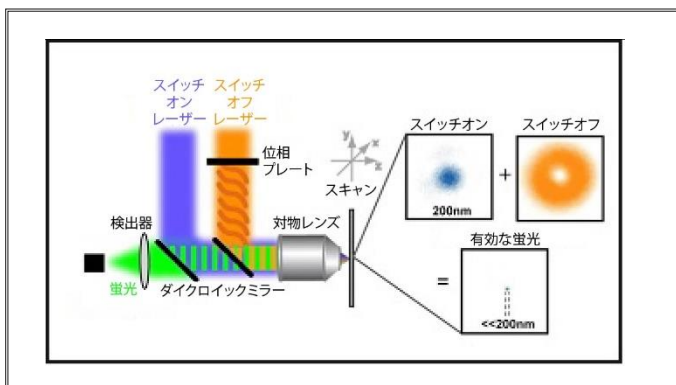
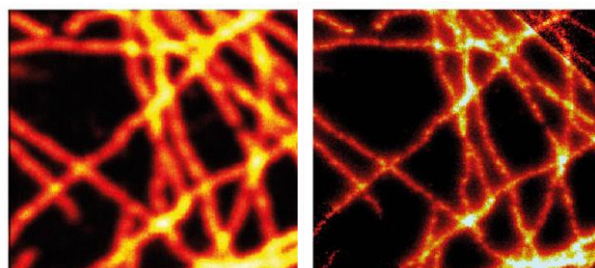


図 2

最近、STED ナノスコープは連続波(CW)レーザーを使用して実現されました (Willig et al., Nature Methods 2007, 4: 915-918)。ゲート検出と組み合わせると、出力が 500mW 未満のコンパクトな CW レーザーを使用してナノスケールの空間解像度で画像をキャプチャすることも可能になります (Vicidomini et al., Nature Methods 2011, 8: 571-573)。

図 3 は、Cobolt Flamenco™ 660nm レーザーの 180mW CW 光を使用した回折限界(左)、CW-STED(右)、およびゲート制御 CW-STED(左下隅と右上隅)記録の固定哺乳動物細胞の標識微小管の蛍光走査画像を示しています。STED 記録では、空間解像度の向上が明らかです。

Cobolt Flamenco™ 660nm DPSS レーザーを使用すると、コンパクトで強力な STED ナノスコープの設計が可能になり、より大型で複雑で高価なレーザー光源を置き換えることができる可能性があります。



S

図 3

Cobolt Flamenco™ 660 nm

Cobolt Flamenco™は、完璧な品質の TEM00 ビーム(M2<1.1)で最大 300mW の出力を備え、660nm で動作する連続波単一周波数 DPSS レーザーです。このレーザーは、Cobolt 独自の HTCure™テクノロジーを使用して、コンパクトな密閉パッケージで製造されており、環境条件の変化に対する非常に高いレベルの感度と比類のない信頼性を提供します。



図 4 Cobolt Flamenco™ 660 nm

Cobolt Flamenco™の一般的なノイズ性能は、ピークツーピークノイズ<1%、rms ノイズ<0.1%を示します。この種のシングルモード DPSS レーザーは、非常に優れたパワー安定性を提供するため、蛍光ナノスコピー (STED、GSD(IM)、PALM、STORM)、DNA シークエンシング、ラマン分光法などの要求の厳しいアプリケーションでの使用に特に魅力的であり、ほぼ完璧な TEM00 モードの低発散ビーム(M2<1.1)。これらはすべて、良好な結果を得るために必要なパフォーマンス特性です。

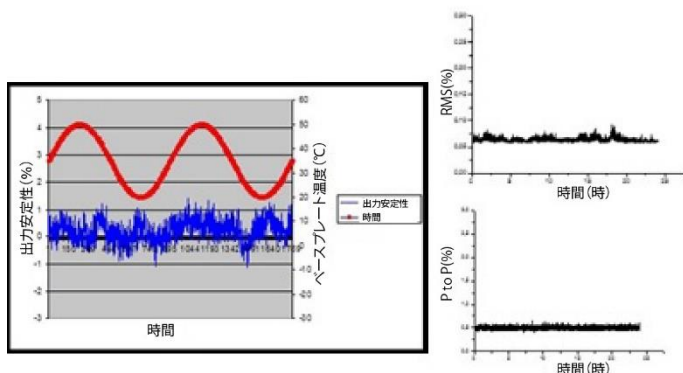


図 5 一般的なノイズ性能