

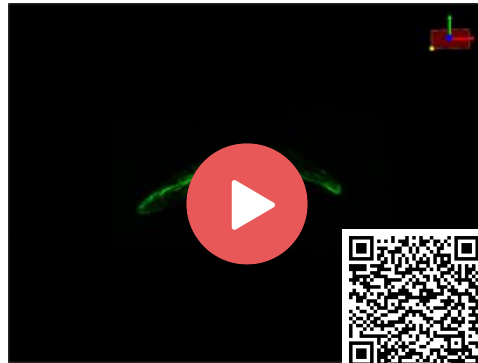


Dynamische volumetrische Bildgebung mit dem konfokalen Mikroskop FV3000RS: 3D-Rekonstruktion der Aktindynamik in einer Spore von *Colletotrichum graminicola*

Colletotrichum graminicola ist ein weit verbreiteter Pilzkeim und eine Hauptursache von Getreidekrankheiten wie etwa bei Weizen und Mais. Bei Mais verursachen Pilzinfektionen mit *C. graminicola* eine Anthracnose (Brennfleckenkrankheit), die zu schweren Schäden der Ernte und erheblichen wirtschaftlichen Verlusten in der Landwirtschaft führt. Die Kenntnis über die Dynamik des Zytoskeletts bei der Keimung von *C. graminicola*-Sporen könnte daher zur Verhinderung der Krankheit beitragen.

Anordnung von Aktinfilamentbündeln vor der Keimung

Für diese Untersuchung wurde das FLUOVIEW FV3000RS Mikroskop verwendet, um die Aktindynamik einer *C. graminicola*-Spore vor der Keimung zu untersuchen. Aktinfilamentbündel sind in einer noch nicht gekeimten, sichelförmigen Spore zu beobachten. Die Bündel verlaufen an der Ebene der Oberflächenkontaktstelle der Länge nach durch die Spore. Sie ziehen sich von der Mitte zu beiden Enden der Spore zurück.



Video: [3d-actin-dynamics-fig-1.mp4](#)

Abbildung 1: XYZT-Rekonstruktion der Aktindynamik in einer C. graminicola-Spore vor der Keimung.

Bildgebungsbedingungen

Objektiv: 100X Ölimmersion, 1,49 NA TIRF-Objektiv (UAPON100XOTIRF)

Mikroskop: Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop FLUOVIEW FV3000RS

Laser: 488 nm (GFP, grün), 561 nm (DIC, grau)

Scanner: Resonanzscanner

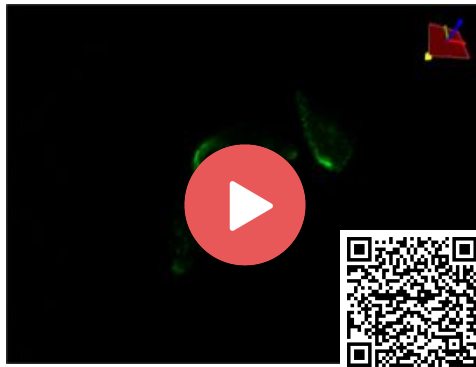
XY Bilder: 0,272 s/Bild

Z-Serie: 22 Schritte (6 s/Schnitt)

T-Serie: 30 Z-Stapel, aufgenommen über 3 Minuten

Betrachtung von zwei unterschiedlichen Ereignissen im Zytoskeletts während der Keimung

Nach der Anordnung von Aktin zu Bündeln ist der Keimungsprozess einer *C. graminicola*-Spore durch zwei aufeinanderfolgende Ereignisse im Zytoskeletts gekennzeichnet, wobei bei beiden Ereignissen die Bildung von Patches und von Bündeln stattfindet. Zunächst ordnet sich das Zytoskelett neu an, um ein Septum zu bilden, das die Pilzspore in zwei verschiedene Zellen unterteilt (dargestellt durch die mediale Barriere über die Breite der Spore). Nach der Bildung des Septums entstehen Aktinbündel an der Keimstelle und verlaufen in Richtung der Spitze des sich entwickelnden Keimschlauchs. Diese beiden Ereignisse sind in den Abbildungen 2 und 3 zu sehen.



Video: [3d-actin-dynamics-fig-2.mp4](#)

Abbildung 2: XYZT während der Septumbildung in einer keimenden C. graminicola-Spore, gefolgt von der Entstehung eines Keimschlauchs.

Bildgebungsbedingungen

Objektiv: 100X Ölimmersion, 1,49 NA TIRF-Objektiv (UAPON100XOTIRF)

Mikroskop: Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop FLUOVIEW FV3000RS

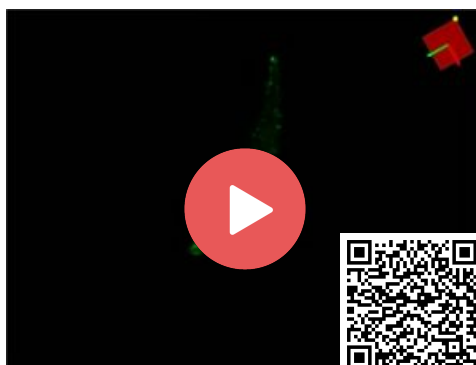
Laser: 488 nm (GFP, grün), 561 nm (DIC, grau)

Scanner: Resonanzscanner

XY Bilder: 0,470 s/Bild

Z-Serie: 31 Schritte (5,35 s/Stapel)

T-Serie: 34 Z-Stapel, die in Intervallen von 1 bis ca. 33 Min. aufgenommen wurden



Video: [3d-actin-dynamics-fig-3.mp4](#)

Abbildung 3: 3-D-Rekonstruktion des Aktin-Zytoskeletts in einer keimenden C. graminicola-Spore mit deutlich sichtbarem, sich entwickelndem Keimschlauch.

Bildgebungsbedingungen

Objektiv: 100X Ölimmersion, 1,49 NA TIRF-Objektiv (UAPON100XOTIRF)

Mikroskop: Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop FLUOVIEW FV3000RS

Laser: 488 nm (GFP, grün), 561 nm (DIC, grau)

Scanner: Galvano-Scanner

Z-Abschnitte: 17 Schritte

Vorteile des konfokalen Mikroskops FV3000 für unsere Untersuchung

Beibehaltung des Fokus während des 4-dimensionalen Zeitraffers mit dem TruFocus Z-Drift-Kompensationssystem von Olympus

Schnelle 4D-Erfassung mit dem Resonanzscanner

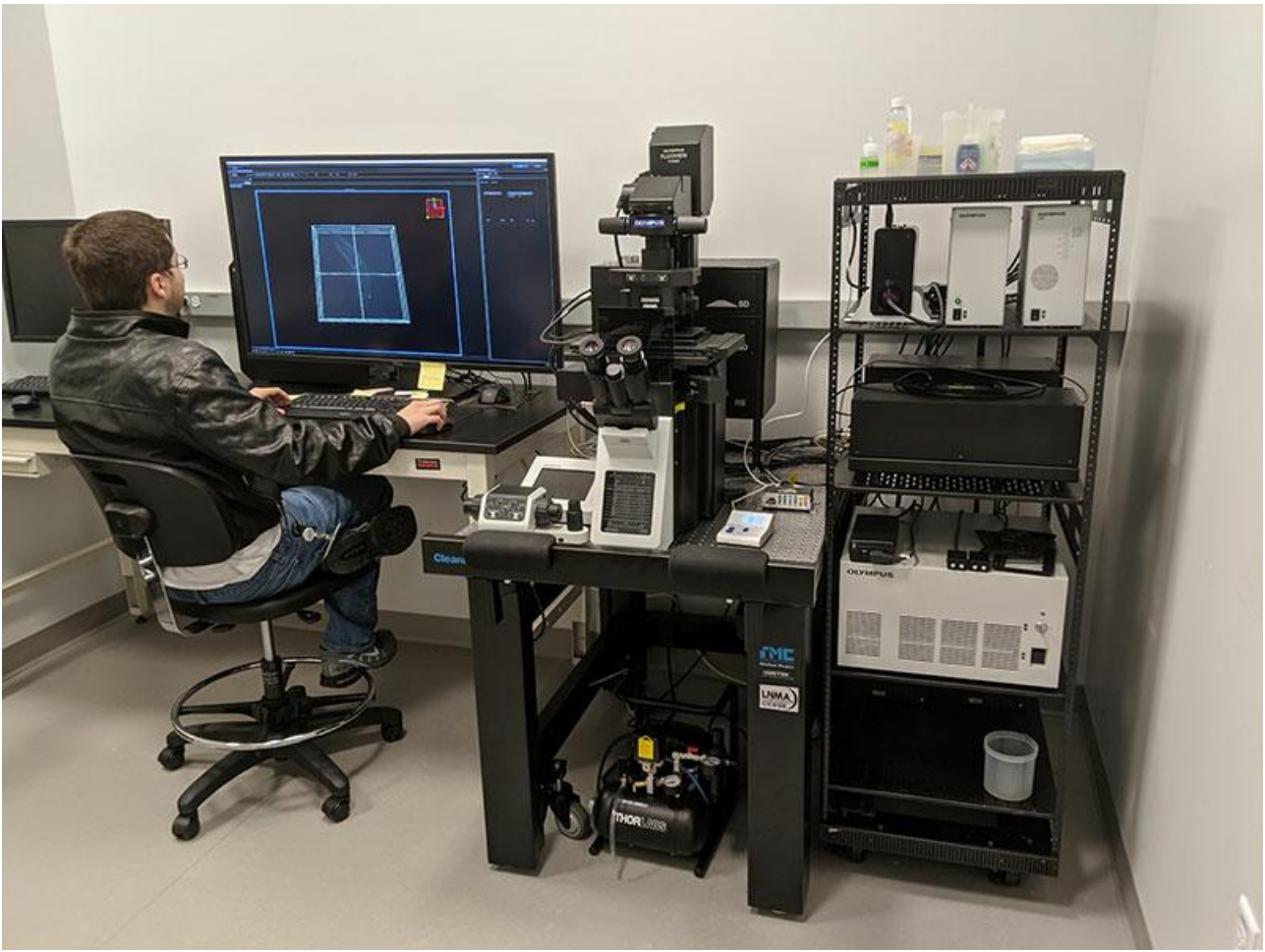
Das FV3000RS Mikroskop verfügt über einen hochleistungsfähigen Resonanzscanner für schnelle Zeitraffer-Aufnahmen der Dynamik von Lebendzellen. Der Resonanzscanner des FV3000RS Mikroskops mit der Sehfeldzahl (FN) 18 (1X) erzeugt 30 Bilder pro Sekunde mit 512×512 Pixeln. Der Resonanzscanner ermöglicht die Aufnahme von Z-Stapeln mehrerer Ebenen in Sekundenschnelle und liefert damit hochauflösende Z-Stapel schnell ablaufender Phänomene in Lebendzellen.

TruSpectral GaAsP Detektoren bieten hohe Empfindlichkeit für die Lebendzell-Bildgebung

Die TruSpectral Detektionstechnologie ist in alle Konfokalmikroskope FV3000 integriert und ermöglicht einen höheren Lichtdurchsatz als herkömmliche Spektraldetektionseinheiten. Das Volumenphasenhologramm beugt Licht mit bis zu dreifach höherer Transmissionseffizienz als Reflexionsgitter. In Kombination mit hocheffizienten GaAsP PMTs benötigt der hochempfindliche Spektraldetektor des FV3000 Mikroskops nur eine minimale Laserleistung, um Bilder mit hohem Signal-Rausch-Verhältnis zu erzeugen. Somit ist eine leistungsstarke und dennoch schonende Bildgebung von Lebendzellen möglich.

Kommentar von Joseph Vasselli und Dr. Brian Shaw

„Wir interessieren uns für die Rolle des Zytoskeletts und endozytischer Proteine beim Wachstum und der Entwicklung von Fadenpilzen. Die Rückverfolgung der raumzeitlichen Lokalisierung dieser Proteine während Verschiebungen der Wachstumspolarität ist für unsere Untersuchungen von entscheidender Bedeutung. Die hervorragende Z-Drift-Kompensation, die hochempfindlichen Detektoren und der schnelle Resonanzscanner des FV3000 Mikroskops ermöglichen es uns, hochauflösende XYZT Bilder aufzunehmen, um die Dynamik dieser Proteine in Lebendzellen effektiv darzustellen.“



Anmerkung:

Dieses Anwendungsbeispiel wurde unter Mitwirkung folgender Wissenschaftler erstellt:



Dr. Brian D. Shaw, Professor,
Fungal Biology, Department of
Plant Pathology and Microbiology,
Texas A&M University



Joseph Vasselli, Graduate
Student, Department of Plant
Pathology and Microbiology,
Texas A&M University

Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop

FV3000



- Erhältlich als reine Galvanometer-Konfiguration (FV3000) oder als Hybrid-Galvanometer-/Resonanzscanner-Konfiguration (FV3000RS)
- Neue hocheffiziente und genaue TruSpectral Erkennung auf allen Kanälen
- Optimiert für die Bildgebung von lebenden Zellen mit hoher Empfindlichkeit und geringer Fototoxizität
- Inverted and upright frame options to suit a variety of

applications and sample types

Mehr erfahren ► <https://www.olympus-lifescience.com/laser-scanning/fv3000/>



Hochauflösende Objektive für Superauflösung/TIRF

APON-TIRF/UAPON-TIRF/UPLAPO-HR

Diese Achromat-Objektive verfügen über unsere höchsten numerischen Aperturwerte und sind für eine kontrastreiche TIRF- und suprauflösende Bildgebung optimiert. Mit der hohen NA der UPLAPO-HR-Objektive wird eine umfassende Planität erreicht, die eine hochauflösende Abbildung von Lebzellen und Mikroorganellen in Echtzeit ermöglicht.

- Hohe NA zur Erzeugung evaneszenter Wellen für kontrastreiche TIRF-Bilder oder Superauflösung
- Die Objektive der HR-Serie sind die weltweit ersten* Plan-Achromate mit NA 1,5 und hoher Verzeichnungsfreiheit

* Ab November 2018. Nach Angaben der Olympus Forschung.

Mehr erfahren ► <https://www.olympus-lifescience.com/objectives/tirf-hr>

Z-Drift-Kompensator



IX3-ZDC2

- Stets im Fokus
- Anwenderfreundliches Design
- Speziell für das Lebzell-Imaging
- Hochpräzises Imaging mehrerer Bereiche mit der cellSens Software

Mehr erfahren ► <https://www.olympus-lifescience.com/microscopes/inverted/ix83/TruFocus/>