

第5回ライブセルイメージング講習会（講義一覧） 20090907 版（講義タイトルは仮題）

10月5日 **【光学顕微鏡の基礎（顕微鏡の仕組み）】**

光学顕微鏡の世界	石舘文善	（ツアイス）
光学顕微鏡の基礎	阿部勝行	（オリンパス）
昼休み（）		
蛍光顕微鏡の基礎	櫻井孝司	（浜松医大）
共焦点顕微鏡	技術担当	（ツアイス）
微分干渉，位相差，偏光顕微鏡	松為久美子	（ニコン）
光が拓く未来の研究	寺川進	（浜松医大）

10月6日 **【光学顕微鏡の展開①（蛍光蛋白と蛍光染色1）】**

GFPは何故光るか？-機能指示薬作成法と生理機能の可視化- 永井健治（北大）

【光学顕微鏡の展開②（分子動態の解析1 (FRET と揺らぎ解析)）】

フェルスター共鳴エネルギー移動（FRET）を利用したバイオセンサー作成法

永井健治（北大）

もっと様々な光で細胞機能をみよう

高松哲郎（京都府医大）

FCS と FCCS

金城政孝（北大）

10月7日

【光学顕微鏡の展開①（蛍光蛋白と蛍光染色2）】

蛍光試薬の特性と選び方

池上 天（同仁化学研究所）

Q-dot とナノ粒子

佐藤 和好（大阪大学）

【光学顕微鏡の展開③（カルシウムイメージングと光計測）】

顕微鏡用 CCD カメラの基礎

伊東克秀（浜松ホトニクス）

カルシウム指示薬とカルシウムイメージング

廣瀬謙造（東京大学）

細胞マルチイメージング

最上秀夫（浜松医大）

10月8日

【光学顕微鏡の展開④（分子動態の解析2（1分子計測））】

TIRF 顕微鏡

利光邦夫（ニコン）

1 分子生物物理学

船津高志（東大）

【光学顕微鏡の展開⑤（組織の中の細胞計測）】

2 光子顕微鏡の技術

上野牧男（オリンパス）

2 光子励起顕微鏡による脳組織の形態観察

根東 覚（東大）

10月9日

【光学顕微鏡の展開⑥（共焦点顕微鏡の発展と利用）】

高速共焦点顕微鏡

東 拓哉（横河電機）

スペクトル共焦点顕微鏡

長谷川茂（ニコン）

FRAP の基礎

木村 宏（阪大）

【講習会の纏め】

光学顕微鏡でどこまでみえるか

加藤 薫（産総研）

【基礎実習】(10/5、16:00～)

メーカー各社の専門の方から、ケーラー照明、明視野、位相差、微分干渉、蛍光顕微鏡の調整法を学びます。初日に、顕微鏡の基礎をマスターします。

【専門実習】(10/6-9) 下記の4セクションを4日間でローテーションします。

1. GFP 1

【共焦点の基礎】

Zeiss の技術の方から、共焦点の基本を学びます。毎年、人気があります。

【蛍光観察の基礎とレーザーディセクション】

メーカーの技術の方から、蛍光顕微鏡でのタイムラプス観察の基本を学びます。また、レーザーディセクションシステムで、遺伝子が入っている、細胞を選択し回収を試みます。

2. GFP 2

【共焦点（多重染色）と TIRF】

共焦点顕微鏡を用いて、多重染色細胞（CFP, GFP, YFP, DsRED の四重染色を予定）の観察を行います。また、分厚いサンプルとして、線虫の観察も試みます。蛍光顕微鏡と共焦点顕微鏡、全反射顕微鏡での見え方の違いを確認します。

（時間が許せば、全反射顕微鏡でのスペックル観察に挑戦します。）

【デコンボリューション】

デコンボリューション法を用いて、蛍光顕微鏡画像を元に三次元再構成を試みます。点像分布関数と光学顕微鏡の画像の意味について、平易に解説します。また、レンズの取り扱いや清掃など基本についても学びます。

3. 計測

【分子内 FRET と FRAP】

スペクトル共焦点を用いて、イエローカメレオンによる分子内 FRET を利用したカルシウム計測を行います。FRAP により蛍光を褪色させ回復過程から分子の動態について考察します。

【様々な Ca 計測】

冷却 EMCCD と倒立顕微鏡を用いて、各種の蛍光試薬での Ca^{2+} 濃度計測を行います。蛍光カルシウム計測の基礎～高速計測まで体験します。（昨年は高速 3D カルシウム濃度計測を行いました。本年は 3D カルシウム計測は機材など交渉中で、加わる可能性があります。）

4. 脳神経

【2光子顕微鏡】

2光子顕微鏡を用いて、生きたマウスの脳の観察を試みます。（失敗の可能性もあります。）

【神経の蛍光計測】

冷却 EMCCD を用いて、神経の蛍光計測（Ca などを予定）を行います。

専門実習での使用機材一覧

GFP 1	GFP2	計測	脳神経	
GFP1A 【共焦点の基礎】 機材提供 カールツアイス 使用機材 共焦点顕微鏡 META510 (カールツアイス)	GFP2A 【共焦点 (多重染色) と TIRF】 機材提供 ライカ 東海ヒット (アンドール) (同仁化学) 使用機材 共焦点顕微鏡 TCS SP5 (高速対応) (ライカ) 全反射顕微鏡 AF6000LX+TIRF (ライカ) EMCCD iXon(アンドール) 恒温ステージ (東海ヒット)	計測 A 【分子内 FRET と FRAP】 機材提供 ニコン 浜松ホトニクス 使用機材 スペクトル共焦点 C1Si (ニコン) 冷却 EMCCD ImagEM (浜松ホトニクス) 恒温ステージ (東海ヒット)	脳神経 A 【2光子顕微鏡】 機材提供 オリンパス 使用機材 2光子顕微鏡 FV1000-2P	
GFP1B 【蛍光観察の基礎と レーザーディセクション】 機材提供 カールツアイス 使用機材 蛍光顕微鏡 Cell observer (カールツアイス) レーザーディセクションシステム (カールツアイス)	GFP2B 【デコンボリューション】 機材提供 セキテクノトロン 和光純薬 使用機材 デコンボリューション顕微鏡システム デルタビジョン (セキテクノトロン) 遺伝子導入装置 Nucleofector (和光純薬)	計測 B 【様々な Ca 計測】 機材提供 ニコン 浜松ホトニクス アンドール 東海ヒット 同仁化学 (ソリューションシステムズ) 使用機材 電動倒立顕微鏡 Ti (ニコン) TE2000 (ニコン) 冷却 EMCCD ImagEM (浜松ホトニクス) iXon (アンドール) 恒温ステージ (東海ヒット) (高速共焦点 (交渉中))	脳神経 B 【神経の蛍光計測】 機材提供 オリンパス 日本ローパー (同仁化学) 使用機材 倒立顕微鏡 IX71 (オリンパス) 冷却 EMCCD evolve (ローパー) 冷却 CCD Retiga 2000DC (ローパー)	

日程（敬称略）

（2009 年 9 月 7 日版）

		10月5日	10月6日	10月7日	10月8日	10月9日	定員
午前	講義	オリエンテーション	【応用編】 試料の標識・染色，顕微鏡用の CCD カメラ，高速共焦点顕微鏡，スペクトル共焦点顕微鏡，2 光子顕微鏡，全反射顕微鏡，カルシウムイメージング，生体組織のイメージング，1 分子イメージング，GFP と FRET 等の講義を行います。				聴講のみ (1 万 5 千円)
		【基礎編】 (顕微鏡画像への招待、顕微鏡光学系の基礎)					
		新製品・技術情報セミナー(20-30 分程度)，[各社の製品の技術紹介、宣伝]					
昼食		昼休み (40 分)	聴講のみの方 → 顕微鏡等の装置見学 (30 分) (4 グループに別れ，4 日でローテーションします) 実習受講者 → 昼休み (40 分)				
午後	講義	【基礎編】 (蛍光、共焦点)	I. GFP による細胞イメージング 1 (LSM510META, Cell Observer) 蛍光顕微鏡システム，スペクトル共焦点顕微鏡，FRAP，スペクトルイメージング，タイムラプス法		スペクトル共焦点、分子内 FRET によるカルシウム計測 (YC3.60)，Fura2 によるカルシウム計測、カルシウムと蛋白動態の同時計測 (fluo4 と mCherry)、FRAP による分子動態の解析		講義+実習 32名程度 (5 万 5 千円) 講義費用も含む
		新製品・技術情報セミナー (20 分)					
	【基礎編】 (微分干渉，位相差、顕微鏡の未来)	II. GFP による細胞イメージング 2 (TCS SP5,電動 TIRF (ライカ) ,デルタビジョン) 高速共焦点顕微鏡，タイムラプス法,全反射 (TIRF) 顕微鏡，スペックルイメージング、多重染色標本の観察、3D デコンボリューション、primary cell culture への遺伝子導入		IV. 脳神経イメージング(2 光子と神経の計測) (FV1000，蛍光顕微鏡) 2 光子顕微鏡法，マウス脳スライスのシナプス観察，脳 (マウス) の GFP イメージング，神経の Ca 計測を例にした、画像処理ソフトの使用法。			
	実習 基礎実習 ケーラー照明，位相差，微分干渉，落斜蛍光の調整法	III.計測--カルシウム計測と FRAP、FRET (C1si、EMCCD 他)		I～IV をローテーションします。			
					懇親会		