

Steinernema kraussei 线虫的共聚焦拉曼高分辨快速成像

Katherine Lau 和 Tim Smith

Renishaw plc, Old Town, Wotton-under-Edge, GL12 7DW UK

简介

- 线虫是用于理解基因和蛋白质功能，以及人类疾病，如艾滋病、阿尔茨海默氏症的关键有机体模型
- 在基因改变的线虫里，基因型-表现型研究提供了重要的基因和蛋白质功能信息
- 现在流行的生物试验多半依赖着色剂、染料或标记，和/或侵入技术
- 拉曼光谱成像首次被开发作为用来分析线虫的非入侵/无标记的工具
- inVia的StreamLine快速成像技术以高空间分辨率的拉曼图像揭示了该区域内化学结构的信息
- 结果得到的图像提供了用以评价线虫亚微米尺度的表型改变的方法，这种方法十分有力，并且可视

实验

清洗过的 *S. kraussei* 线虫，放置在石英载片上，风干。拉曼测量使用532 nm激光激发以及具有高空间分辨率（衍射极限）的inVia拉曼显微镜（雷尼绍公司，英国）。样品浸泡在0.9%浓度的盐水中，使用浸入液面的50倍 (NA 0.75) 水浸式显微物镜（尼康，日本）。

完整的线虫

- StreamLine Plus成像
- 步长1.3 μm
- 约84 800光谱
- 采集时间约1小时

部分蠕虫截面

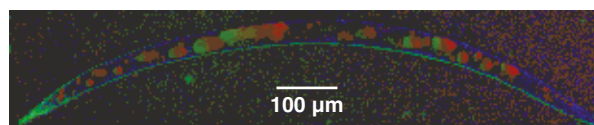
- StreamLineHR成像
- 步长0.5 μm
- 中截面约41 500光谱
- 采集时间小于6小时

数据分析

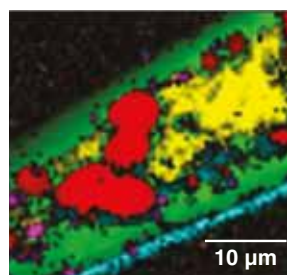
用WiRE™3软件（雷尼绍公司，英国）和Matlab®（MathWorks，美国，麻省）对数据集使用主要成分分析法（PCA）。根据主成分的负载情况为主成分分配成像区域。拉曼图像的显示基于对拉曼光谱的认证。

结果

完整的线虫



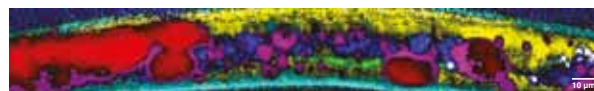
一个完整的线虫由三个部分组成：油脂富集区域（红）、胶原蛋白和类胡萝卜素富集区域（绿）和蛋白质富集区域（蓝）。



尾部

纯油脂区（红），肌肉区（黄），外皮（青），球蛋白（紫），主要蛋白质和油脂蠕虫体（绿）。

中截面



| 主成分 | 分类 | 颜色 |
|-----|--------------|-----|
| 1 | 背底 | 黑 |
| 2 | 油脂富集（弱蛋白质存在） | 洋红 |
| 3 | 纯油脂 | 红 |
| 4 | 外皮 | 青 |
| 5 | 未认定 | 蓝 |
| 6 | 肌肉 | 黄 |
| 7 | 胶原蛋白和类胡萝卜素 | 白 |
| 8 | 溶解的细胞，不确定来源 | 淡黄绿 |

结论

这个工作显示的是首个例子，以无需标记和非入侵的方式分辨一个线虫里化学和结构细节，达到前所未有的水平。

拉曼信号表现出丰富的信息，使得广泛的生化分子得以在一个样品中探索研究。StreamLine快速大面积拉曼成像技术有潜力成为一个主要的用于确定模型组织里表象变化的分析工具，并在寻求人类疾病的治疗中扮演一个关键角色。