



バイオイメージングニュース

特集: スフェロイド等のタイムラプスイメージングが可能な
ライトシート顕微鏡 TruLive3D Imager

はじめに

スフェロイド・オルガノイド・受精卵といったライブサンプルのタイムラプスイメージングにおいては、以下の2点を考慮することが必要になります。

1点目は蛍光退色・光毒性です。長期間のタイムラプスイメージングにおいて蛍光退色や光毒性は大きな問題となります。例えば共焦点レーザー顕微鏡では光学切片を作り、S/Nの良い画像を得ることが出来ますが、一方でZスキャンのプロセスにおいては、焦点面以外にも繰り返し励起光の照射を受けることとなります。

2点目がボリュウムの正確なイメージングです。前述の蛍光退色の問題に加え、共焦点レーザー顕微鏡は、長い撮影時間や、1本の対物レンズで励起と検出を行うため、イメージングにおいて様々な制限を受け、スフェロイドや受精卵のようなボリュウムのあるサンプルの全体像を正確に撮影することは非常に困難です。

ライトシート顕微鏡は上記2点の課題を克服し、例えば、1週間に渡るような長期間のタイムラプスイメージングを可能にし、また、正確なボリュウムのイメージングを可能にします。

今回のニュースレターではライトシート顕微鏡でスフェロイドのような培養細胞などをライトシート顕微鏡を用いてイメージングする際の利点と、BRUKER社のライブイメージング用ライトシート顕微鏡TruLive3D Imagerをご紹介します。

1. ライトシート顕微鏡の利点

「はじめに」で述べたように、通常の蛍光顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡でのスフェロイド等のタイムラプスには2つの課題がありました。この2点について、ライトシート顕微鏡がどのようにしてこの課題を克服することが出来るか、以下にご説明いたします。

① 蛍光退色、光毒性の克服

図.1のように走査型共焦点レーザー顕微鏡やスピニングディスク共焦点レーザー顕微鏡は、Zスキャンをする際に、焦点面以外にも励起光が照射されます。また、Zスキャンのプロセスの中で、サンプルは繰り返し余分な露光を受け、蛍光退色や光毒性の原因となります。対して、ライトシート顕微鏡は、励起側の対物レンズの光路と検出側の対物レンズの光路が直交する形で配置されており、励起側の対物レンズから非常に薄い光(ライトシート)を照射し、光学切片を作成

します。この時、撮影の焦点面以外には励起光は照射されず、退色や光毒性の影響は最小限に抑えられます。

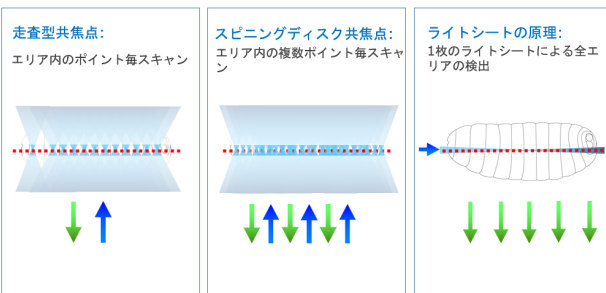


図1. 共焦点レーザー顕微鏡とライトシート顕微鏡の照射の違い

青: 励起光
緑: 蛍光

Vol.3

発行日 2023年10月20日

ハイライト:

- 蛍光退色・光毒性の克服
- ボリュウムの正確なイメージング
- TruLive3D Imager について

②ボリュームの正確なイメージング

ボリュームを作成する場合、従来は共焦点レーザー顕微鏡を利用して光学切片をZスキャンしながら撮影する必要がありました。これは①で見てきたように、退色の問題があり、またポイントスキャンのため、ハイボリュームでは非常に時間が掛かります。しかし、図.2にあるようにライトシート顕微鏡は、励起用対物レンズにて必要な焦点面のみを限定的に励起し、光学切片を作ります。ライトシート顕微鏡は、励起と検出のそれぞれに必要な特性の対物レンズを配置することが出来るため、より広い視野で限定された光学切片のみをsCMOSカメラで高速に撮影が可能で、より鮮明かつ正確にイメージングすることが可能になります。

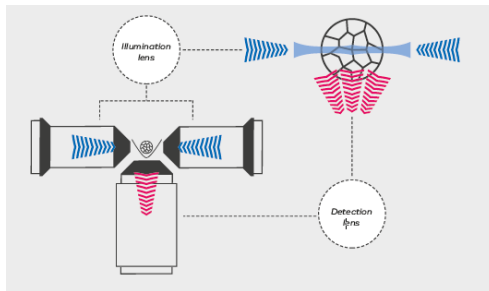


図.2 TruLive3D Imagerの光学配置

青色: 励起光

赤色: 蛍光

※ 励起と蛍光でそれぞれに異なる倍率、NAの対物レンズを配置している。

2. TruLive3D Imagerについて

現在、他の主要メーカーのライトシート顕微鏡は主に透明化サンプルやゼブラフィッシュのような小動物を対象サンプルとしておりますが、**TruLive3D Imager**はスフェロイド、オルガノイド、受精卵などのライブサンプルのタイムラプスに特化した非常にユニークなライトシート顕微鏡になります。



■ 特徴

- 100サンプル程度まで同時タイムラプス可能
- 共焦点系光学系を採用、高画質
- 簡便 … キャリブレーションはソフトウェア上で完結
- フル環境(ガス、温度、湿度)管理
- 光刺激オプションあり

まとめ

スフェロイド、オルガノイド等のライブサンプルのイメージングでライトシート顕微鏡を利用することは大きく2つの利点があります。1つは蛍光退色、光毒性を従来の顕微鏡と比べて大幅に抑えることが出来ること、2つ目はボリュームの正確なイメージングが挙げられます。後半にご紹介しましたTruLive 3D Imagerはこれら2点の利点を持つのみならず、① 共焦点光学系を利用した画質が良いこと、② 1度に100サンプル程度まで同じ条件でタイムラプスが可能で、実験のスループットを上げることが出来る、③ 撮影前のキャリブレーション作業が非常に簡便である、等の利点があります。

これまで記載した問題がご研究のイメージング上の課題となる場合は、ライトシート顕微鏡のご検討をお勧め致します。



アイリックス株式会社

〒135-0007
東京都江東区新大橋1-12-13 深鉄ビル
4F

電話: 03-4513-1223
FAX: 03-6659-4476
電子メール: info@airix.co.jp

<https://www.airix.co.jp>

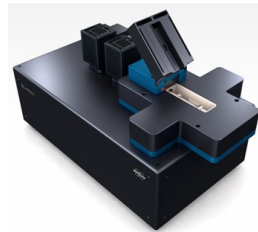


BRUKER Luxendo社について

Luxendo社は、2015年に欧州分子生物学研究所(EMBL)から研究者がスピノフして設立されました。ライトシート顕微鏡の開発および提供を行うライトシート顕微鏡に特化した専門会社です。アプリケーション毎のライトシート顕微鏡がラインアップされており、世界中の科学者に広く使用されています。

2017年5月より最先端の科学分析機器を提供するBRUKERグループの傘下となり、益々開発を加速させています。

TruLive 3D Imager 主な仕様:



- 3本の対物レンズ構成
- 照明用対物レンズ: 2本 10x 0.3 NA 水浸
- 検出用対物レンズ: 1本 25x 1.1 NA 水浸
- 最大フレームレート >80 fps (フルフレーム時)
- レーザー: 6本まで搭載可能 405 ~ 685 nm
- FOV: 420um(31.3x), 210um(62.5x)

関連リンク:

■ LUXENDO社 light-sheet microscopy Products | アイリックス株式会社
<https://www.airix.co.jp/product/product19.html>

■ TruLive3D Imager | BRUKER
<https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/fluorescence-microscopy/light-sheet-microscopes/trulive3d-imager.html>

アイリックス 株式会社 について

アイリックス株式会社は日本の研究者の皆様、世界中から最新のイメージング動向の情報と、ユニークかつ最先端のバイオイメージング機器・ソフトウェアを提供いたします。