

レゾナントスキャナーを使用した、 マウス神経筋接合部の高精細イメージング

レゾナントスキャナーは、ガルバノスキャナーよりも高い時間分解能での共焦点イメージングが可能のため、多くのケースにおいて高速の生命現象の取得に使用される。それに対して、新世代共焦点レーザー顕微鏡システム AX Rのレゾナントスキャナーは、最大2Kまでの取得にも対応できるため、高速イメージングから高精細イメージングまでの幅広い目的で使用可能になった。本アプリケーションノートでは、レゾナントスキャナーを用いて、マウスの神経筋接合部の構造を高精細3次元イメージングで観察した例を紹介する。

キーワード：高速XY-Z、高解像、広視野

神経筋接合部の高解像イメージング

神経筋接合部 (Neuromuscular junction: NMJ) では、運動ニューロンの神経終末から神経伝達物質のアセチルコリンが放出され、筋肉細胞に存在するアセチルコリン受容体を受け取ることで、筋肉細胞の脱分極と筋収縮が誘導される。運動ニューロンは、筋肉の繊維構造のすき間に、木が枝を伸ばすように延伸している (図1 A, 1 B)。その先端にある神経終末が筋肉細胞を掴むように接着し、その周りにアセチルコリン受容体が分布する様子をとらえた (図1 C)。

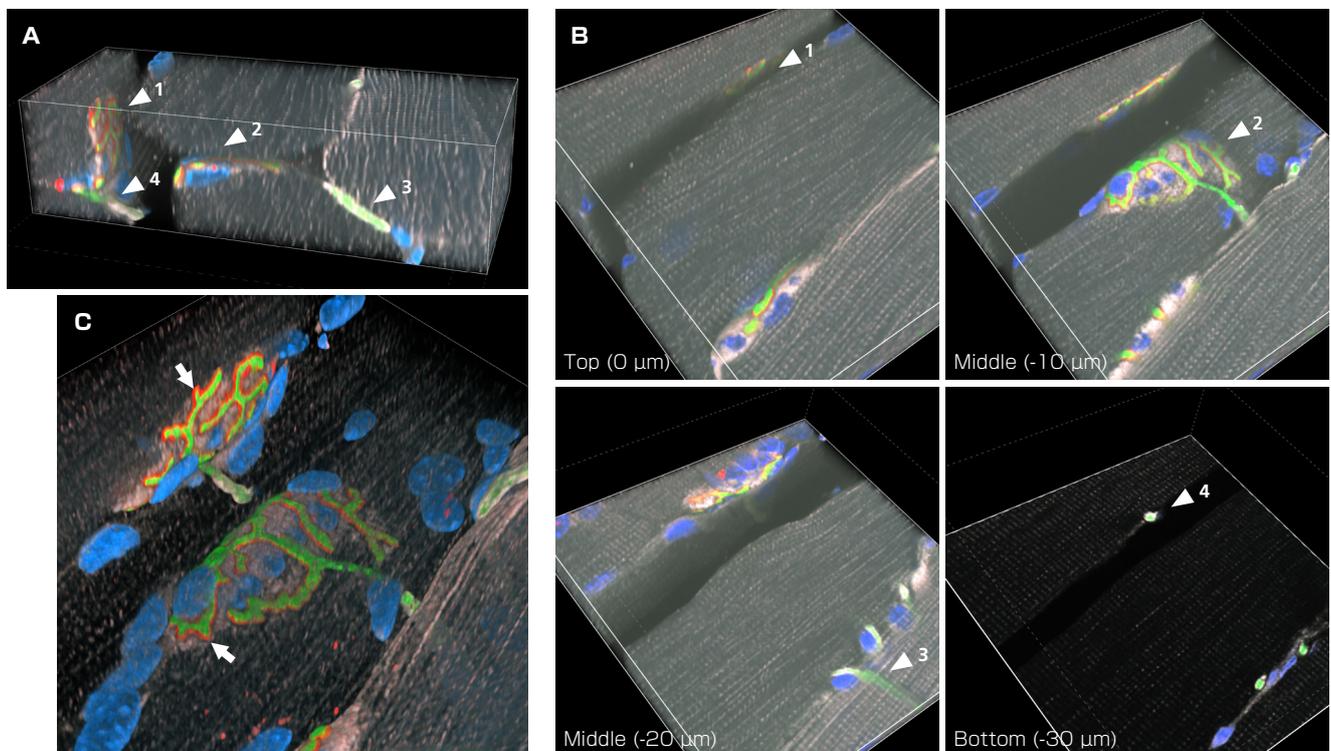


図1. マウスの神経筋接合部 (NMJ) の高解像度3Dイメージング

(A) レゾナントスキャナーで撮影したNMJを3次元表示。ニューロン (緑) が筋肉繊維のすき間に入り込むように伸びている。
 (B) 画像Aの3次元画像を、深さを変えて表示 (Top 0 μm , Middle -10 μm , Middle -20 μm , Bottom -30 μm)。画像Aの矢尻▶で示す部分が、異なるZ位置に分布している。
 (C) 神経終末が筋肉細胞に接着する様子。白矢印は、ニューロン (緑) を囲むように、アセチルコリン受容体 (赤) が分布している様子を示す。
 DAPI: 細胞核 (青), GFP: ニューロン (緑), Alexa 555: アセチルコリン受容体 (赤), CMDR: 細胞膜 (グレー)
 対物レンズ: CFI Plan Apochromat Lambda S 25x C Sil

高解像度だけではない、2Kによる広視野イメージング

今回の観察対象である筋肉組織は、大きさが数ミリ程度あり、広い範囲にわたってNMJが分布している。またNMJは三次元的に延びているため、顕微鏡で目的の箇所を探すためにはZ方向にも深い領域を撮影する必要がある。10倍対物レンズは、一度に約1.8ミリ弱の広視野を撮影できるため、筋肉組織全体をわずか数枚のタイリング撮影により取得できる(図2A)。さらにレゾナントスキャナーは、視野の広さは維持しつつZスタック画像を短時間で取得できるため、観察対象を容易に探すことができる(図2B)。また、共焦点ズームの使用により、さらに高解像度の観察が可能である。AX Rでは、レゾナントスキャナーが最大2Kに対応するようになったため、同じXY解像度で従来の4倍の面積を撮影することが可能となった。同じピクセル解像度にするために、従来の1Kでは5倍のズームが必要であるが、2Kでは2.5倍のズームしか必要ないため、より広い視野の画像を取得できる。これにより、神経筋接合部の全体像だけでなく、周辺の構造も観察することが可能である。つまり2Kは、高解像度であるだけでなく、大型サンプルの広視野観察の点でも非常に有効である(図2C、2D)。

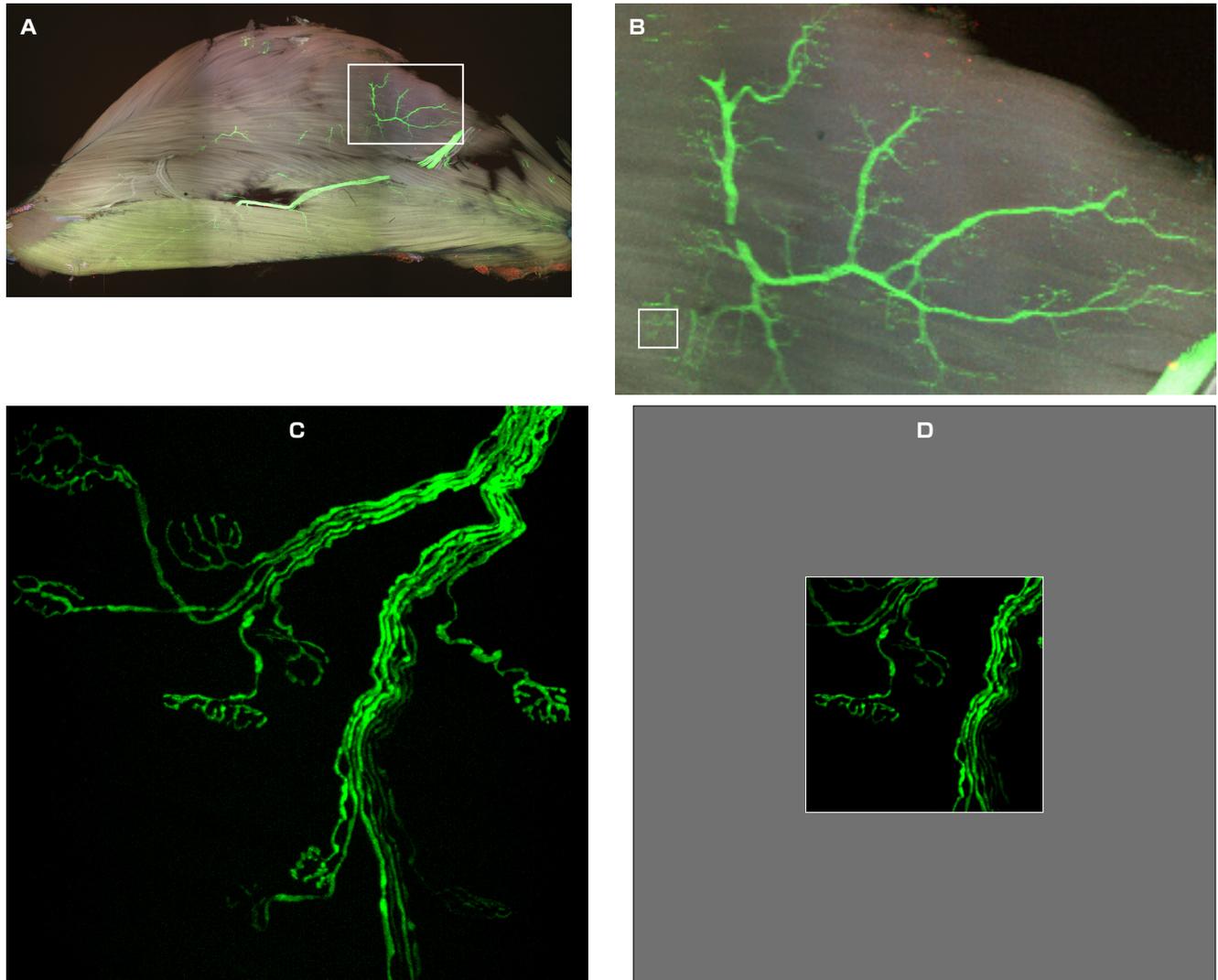


図2. レゾナントスキャナーを使用した広視野撮影

(A) マウス筋肉組織の全体像。レゾナントスキャナーを使用し、Zスタック撮影しながら56枚の画像をタイリング。画像解像度：1024 x 1024画素。

Zスタック撮影した画像をMIP表示。対物レンズ：CFI Plan Apochromat Lambda 10X

(B) 画像Aの白枠部分を拡大表示。NMJは筋肉組織に三次元方向に広く延伸している。

(C) 画像Bの白枠部分を、25倍の対物レンズを使用して、ナイキスト解像度(0.123 $\mu\text{m}/\text{pixel}$)になるように共焦点ズームを行い撮影。2Kのレゾナントスキャナーでは0.25 mm平方の領域が観察できる。

(D) 1Kのレゾナントスキャナーでは0.12 mm平方の領域が観察できる。

結果とまとめ

レゾナントスキャナーを使用した、筋肉組織の観察例を紹介した。新世代共焦点レーザー顕微鏡システムAX Rは、最大2Kまでのピクセル解像度が選択可能であり、NMJのように複数の異なる構造を持つ観察領域において、それぞれの形態や局在を解析するケースにも使用できる。また、共焦点ズームを使用して同一のピクセル解像度を得る場合、AX Rの2Kレゾナントスキャナーは、従来機の1Kレゾナントスキャナーの4倍もの面積の広視野画像が取得できるため、大型サンプルの観察にも非常に適している。

製品情報

共焦点レーザー顕微鏡システム AX/AX R

AX/AX Rは、従来機比4倍の8K x 8K画素の高解像度画像を実現。対角25 mmの広視野でサンプルの広範囲を一度に取得でき、光毒性を低減します。AX Rのレゾナントスキャナーは、2K x 2Kの高解像度を実現。毎秒720フレーム(2048 x 16画素)の高速取得により、生きたサンプルの動態を逃さずとらえます。

