

高速な動きを鮮明に捉える マウス臓器の *in vivo* 共焦点イメージング

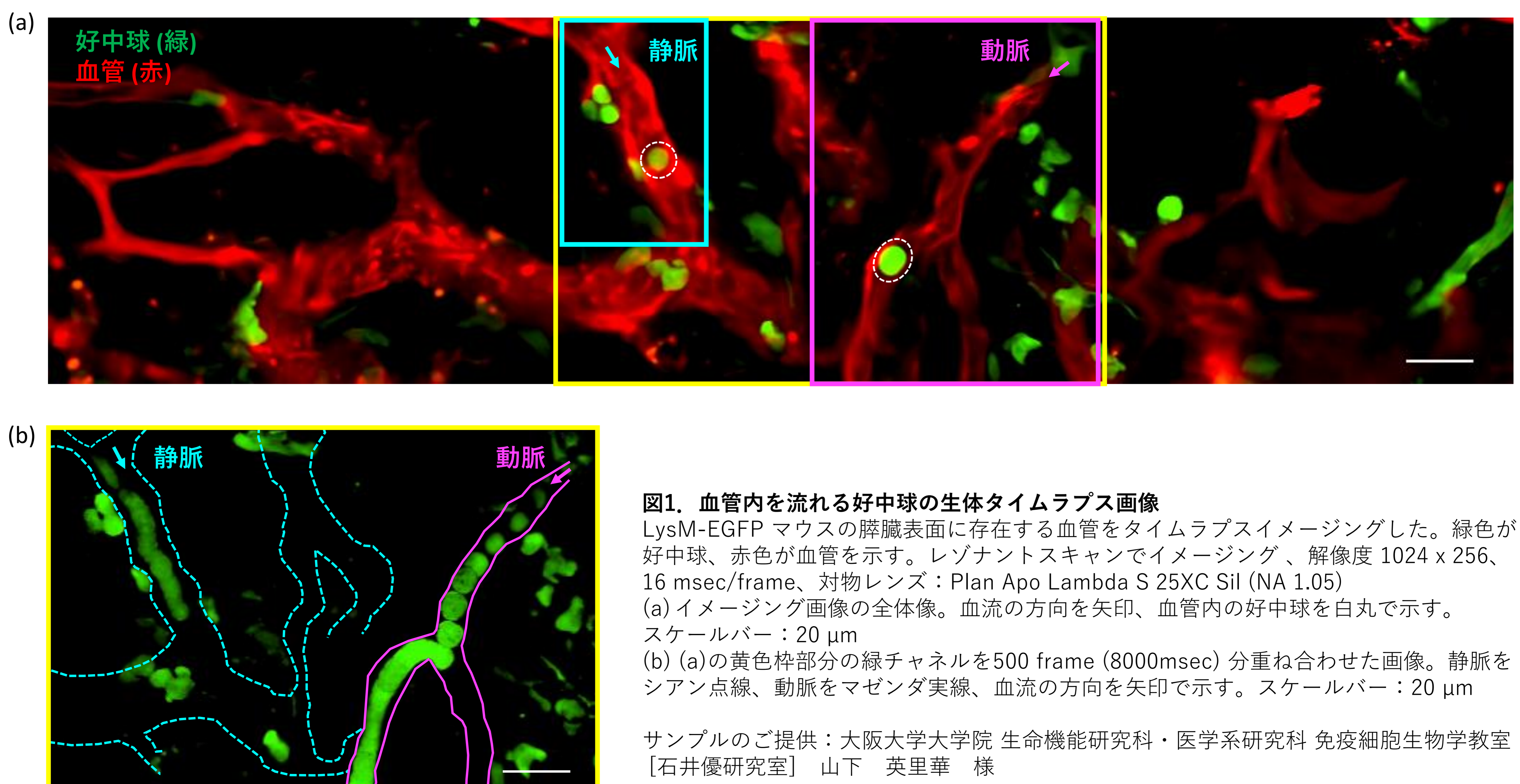
大阪大学大学院医学系研究科の石井優教授（免疫細胞生物学）らの研究グループは、顕微鏡イメージングの手法を用いて細胞を動的に可視化することで、生体内で免疫細胞がどのように動いているのかを研究しています。本アプリケーションノートでは、ニコンの共焦点レーザー顕微鏡システム AX Rを使用し、本顕微鏡の特徴の一つである高速レゾナントスキャンを活かして、臓器の血流内を流れる細胞の素早い動きを *in vivo* の状態で捉えた画像取得の例を紹介します。

背景

免疫細胞の1つである好中球は急性炎症が起こると末梢血から組織に浸潤し、炎症を起こした部位に集積することで細菌を除去します。一方で、好中球が血管や組織へ過剰に集積してしまうと臓器障害を引き起こすことが知られています。好中球が血管内皮と相互作用しながら組織に動員される過程を理解すること、またこの動員過程を標的とした薬剤の作用メカニズムを知ることで、敗血症をはじめとする急性炎症の理解や治療法の開発に大きく貢献することが期待されています。石井教授らの研究グループでは生体イメージングを用いることで、血管内外での好中球の動きに焦点を当てた研究を行っています。本アプリケーションノートではニコンの共焦点レーザー顕微鏡システム AX Rを用いて、脾臓の血管を流れる好中球を時空間的に可視化した事例を紹介します。

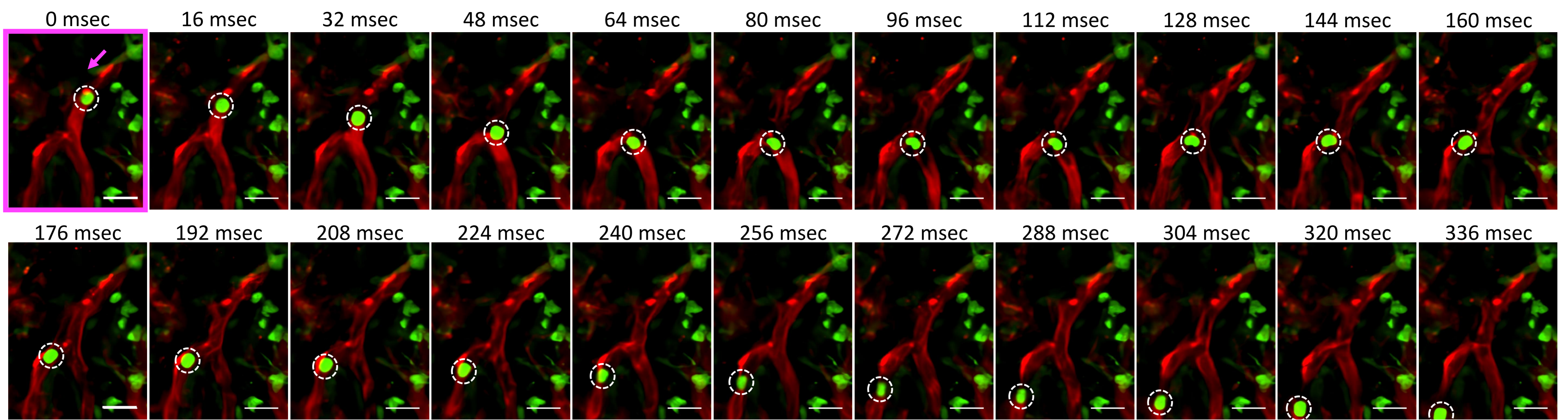
レゾナントスキャンによる高速取得

共焦点顕微鏡 AX Rはレゾナントスキャンを使った高速なイメージングが可能であり、さらに Denoise.ai 機能を加えることでショットノイズを除去した S/N の高い画像が取得できます。マウス臓器内の血管内を流れる細胞を撮像するなど、高い時間分解能が必要な場合にその効果が発揮されます。図1は好中球が GFP で標識された LysM-EGFP マウスの脾臓を観察した生体イメージング画像です。血流は赤色素にて標識しています。流れが比較的遅い静脈だけでなく、流れの早い動脈内でも血流によって高速に移動する好中球の様子が鮮明に捉えられています。特に静脈では好中球が血管壁に沿って特定の箇所に接着しながらローリングしている様子も詳細に観察できます。本顕微鏡のレゾナントスキャンと Denoise.ai 機能の組み合わせによって実現した高速な動きを鮮明に捉えるという特徴を示す一例です。



(c)

動脈内を流れる好中球



静脈内を流れる好中球

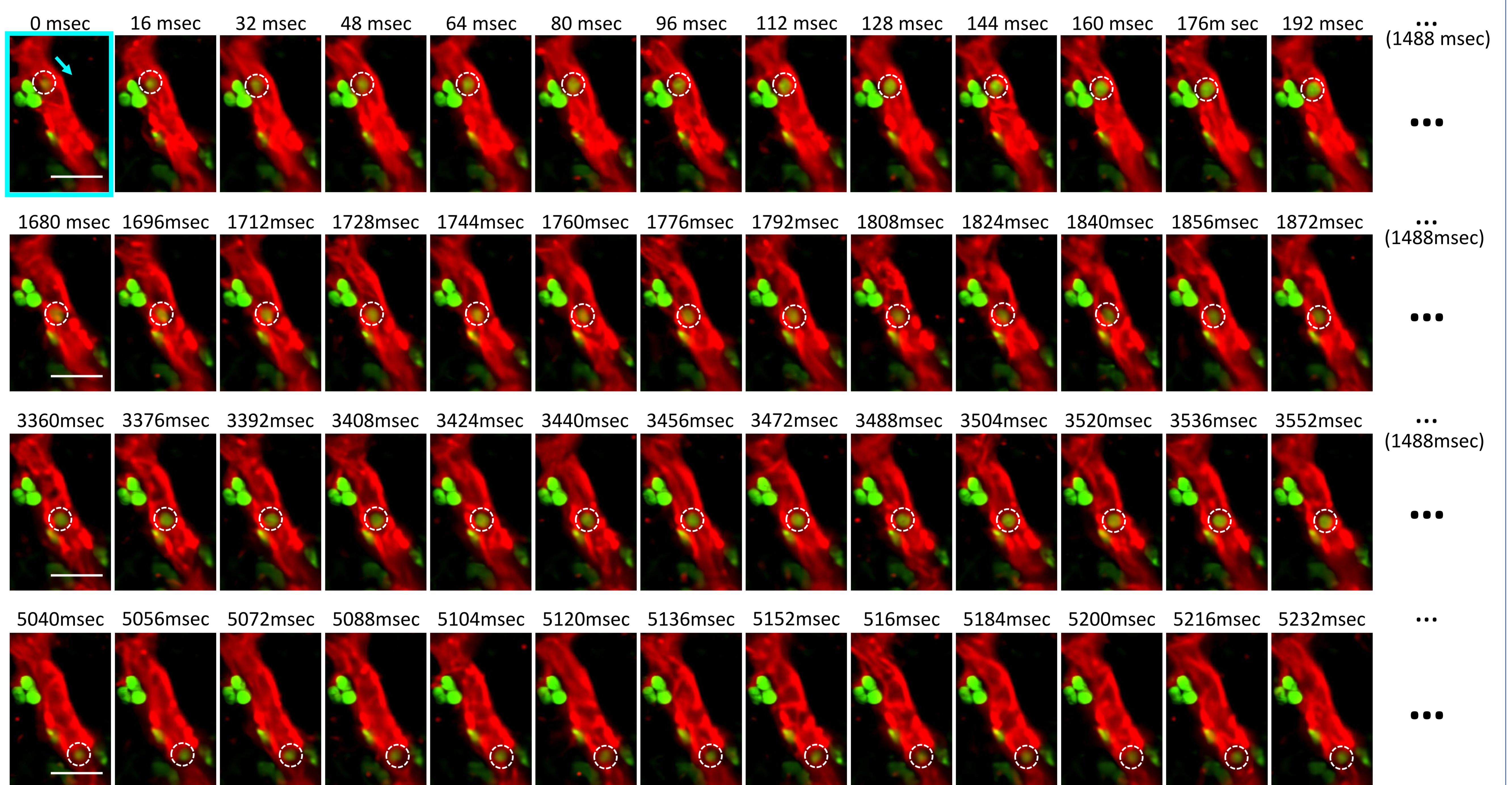


図1 (続). 血管内を流れる好中球の生体タイムラプス画像

LysM-EGFPマウスの脾臓表面に存在する血管をタイムラプスイメージングした。緑色が好中球、赤色が血管を示す。
 レゾナントスキャンでイメージング、解像度 1024 x 256、16 msec/frame、対物レンズ：Plan Apo Lambda S 25XC Sil (NA 1.05)
 (c) (a)の静脈(シアン枠)、動脈(マゼンダ枠)部分を拡大し、好中球が現れたタイミングを t = 0 secとして示したタイムラプス画像。
 血流の方向を矢印、血管内の好中球を白丸で示す。スケールバー：20 μm

まとめ

共焦点顕微鏡AX Rはレゾナントスキャンを活かした高速取得が可能で素早い細胞の動きなどを的確にとらえ、動態の解析等に効果を発揮します。さらに、レゾナントスキャンによる取得時にDenoise.ai機能による処理を加えることで、ショットノイズを除去してS/Nの高い画像の取得が可能となります。

製品情報

共焦点レーザー顕微鏡システム AX R

生細胞への光毒性が低く、褪色の少ない、高速・高解像度・広視野の共焦点イメージングをサポート。

- ・高速：最速毎秒720フレーム（レゾナントスキャン 2048x16Pix）
- ・高解像度：最高8K（ガルバノスキャン）最高2K（レゾナントスキャン）
- ・高スループット：視野数25mmの超広視野

