

腸管オルガノイドの3次元イメージング

共焦点イメージングにおいて、標本深部まで高解像度で観察するためには、対物レンズの選択が非常に重要である。本アプリケーションノートでは、国立研究開発法人国立成育医療研究センター 研究所再生医療センター 生殖医療研究部の阿久津英憲先生と川崎友之先生にご協力いただき、2種類の異なる対物レンズを用いて小腸オルガノイドの3次元イメージングを行い、画質の違いを比較した例を紹介する。

ご研究内容

阿久津先生らは、ヒト多能性幹細胞から腸管オルガノイドを作製し、小児の腸の難病の研究や創薬へ応用するバイオモデルとして活用されている。オルガノイドは、対象とする臓器や組織がもつ複数の細胞種を有し、その機能性も併せ持つ“疑似臓器”である。先生は独自の方法で、ヒト小腸類似の複雑な組織構造と機能性を有する腸管オルガノイド（ミニ腸）の作製に成功した。これにより、これまで困難だったヒト小腸組織発生の観察や病気の発症の追求が、ミニ腸の応用で可能となった。

実験概要

標本自体や封入材の持つ屈折率と対物レンズの浸液の屈折率との不一致によって発生する球面収差は、標本深部を観察する際に、コントラストの低下や像の伸長など、像質劣化の原因となる。本実験では腸管オルガノイドを標本とし、屈折率が封入剤に近いシリコンオイルを浸液として使用する対物レンズと、浸液が不要な対物レンズとを用いて、標本の同じ場所を撮影したときの画像を比較した。

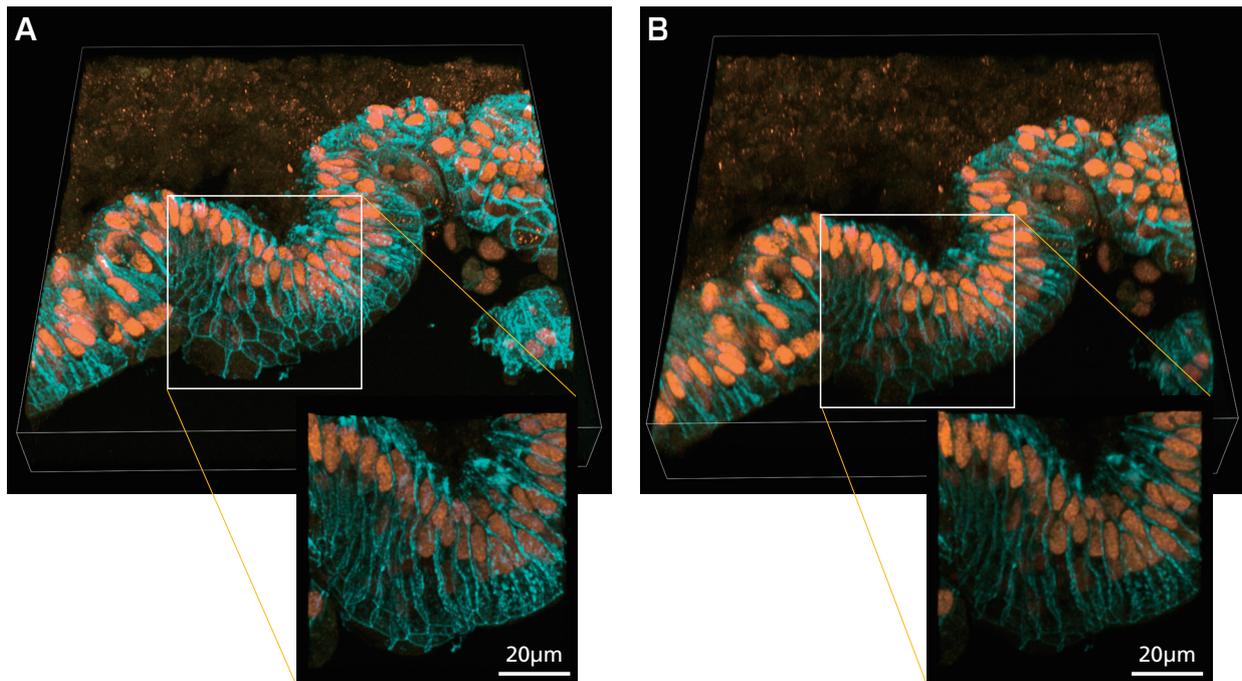
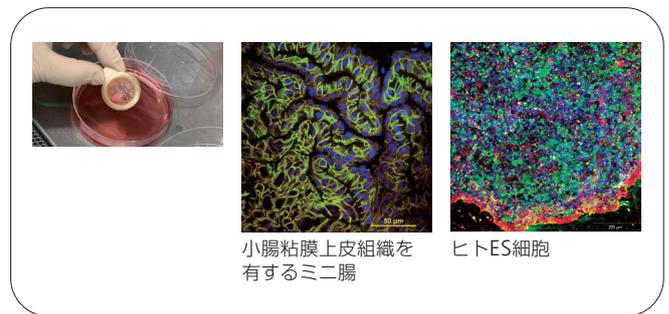


図1. 腸管オルガノイドの共焦点3次元イメージング

異なる2種類の40倍対物レンズで、30.5 μmの厚みを取得したZスタック画像。それぞれの白枠をクロップし、拡大した画像を右下に示す。シリコン浸対物レンズ（画像A：CFIプランアポクロマート Lambda S 40XC Sil/NA 1.25）で取得した画像は、ドライ対物レンズ（画像B：CFIプランアポクロマート Lambda 40XC/NA 0.95）で取得した画像よりも明るく、E-カドヘリンの構造や分布を高解像度で観察できている。シアン：Alexa488（E-カドヘリン）、オレンジ：Alexa546（CDX2）

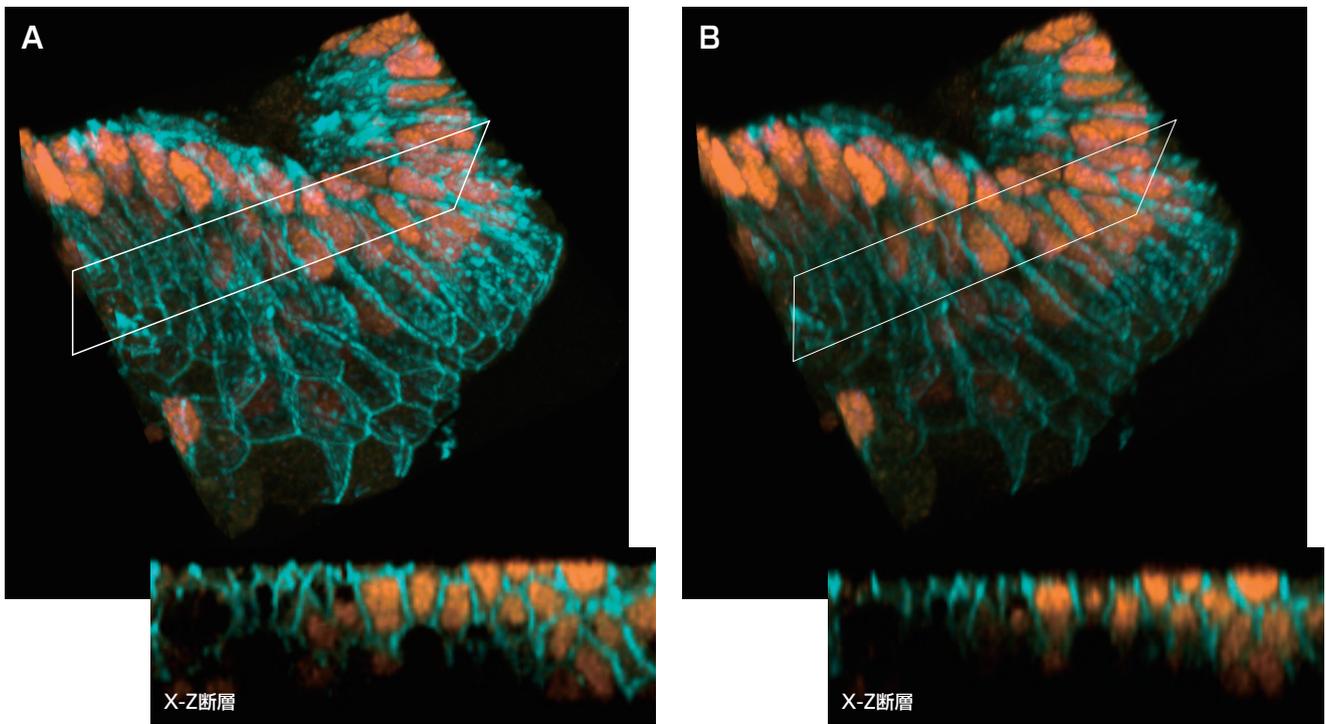


図2. 腸管オルガノイドの断層像

Zスタック画像の立体表示(画像Aおよび画像B)。それぞれの白枠のXZ断層画像を右下に示す。

シリコン浸対物レンズ(画像A: CFIプランアポクロマート Lambda S 40XC Sil/NA 1.25) で取得した画像は、ドライ対物レンズ(画像B: CFIプランアポクロマート Lambda 40XC/NA 0.95) で取得した画像よりも深部まで明るく、E-カドヘリンの3次元構造や細胞の層構造を鮮明に観察できている。

まとめ

CFIプランアポクロマートLambda S 40XC Sil対物レンズは、同倍率の対物レンズの中でも高開口数で、高解像度イメージングに適している。ドライ対物レンズと比較して、組織構造におけるタンパク質の局在をよりクリアに観察することができた。

また、封入剤に近い屈折率の浸液を使用するシリコン浸対物レンズを選択することで、腸管オルガノイドの高次構造も、深部まで明るく鮮明に観察可能であった。このように、実験の目的に応じて適切な対物レンズを使用することが、イメージングにおいて非常に重要である。

先天性の腸の疾患の一部は、特定タンパク質の細胞内局在の乱れが誘因となることが示唆されている。疾患オルガノイドに高解像度の共焦点イメージングを活用することで、未解明の腸管疾患の研究およびその治療法の開発が進展することが期待される。

謝辞

標本および画像をご提供いただきました、国立研究開発法人 国立成育医療研究センター 研究所再生医療センター 生殖医療研究部の阿久津英憲先生と川崎友之先生に深謝致します。

製品情報

共焦点レーザー顕微鏡システム A1R HD25

業界最大の25mmの広視野を実現した共焦点顕微鏡。

一度に広範囲を撮影できるため、大型の標本も、より効率的に観察することが可能です。



CFIプランアポクロマートLambda S 40XC Sil

可視域から近赤外域までの広い波長範囲で色収差を補正し、共焦点顕微鏡を用いたマルチカラーイメージングに最適な、高開口数の対物レンズ。

生物標本に近い屈折率を持つシリコンオイルを浸液に使用し、標本のより深部まで高解像度の画像が取得可能です。

