

共焦点顕微鏡とDenoise.aiによる、様々な形状を示す胃の求心性神経終末のマクロイメージング探索と高解像度3Dイメージング

胃壁に分布する求心性神経終末は、蠕動運動に伴う胃壁の機械刺激を受容するため、様々な形態を呈している。

岩手医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野の齋野朝幸先生、横山拓矢先生、平川正人先生らは、網目状の構造を有する迷走神経求心性神経終末がP2X3型ATP受容体を発現し、小彎側幽門前庭の漿膜下層に分布することを明らかにしている。この網状神経終末は小彎側幽門前庭に存在するsling musclesの外側に分布している。形態的に、網状神経終末は蠕動運動に伴う幽門前庭壁の機械的変形を受容する迷走神経機械受容器の一種である可能性がある。また、網状神経終末の一部は、籠状の神経終末を形成して漿膜下神経節を包み込んでいることを明らかにしている。籠状神経終末は、幽門前庭壁の蠕動運動に対する網状神経終末の感度を高めるための特殊な終末構造であることが示唆されている。

本アプリケーションノートでは、先生方にサンプル作製のご協力をいただき、共焦点レーザー顕微鏡システム AX Rとシリコン浸対物レンズを用いて様々な形状を示す胃の求心性神経終末を捉えた様子をご紹介します。

キーワード：共焦点顕微鏡、胃、P2X3プリノセプター、神経終末、免疫組織化学

撮影の概要

染色 青：DAPI (核マーカー)

緑：P2X3

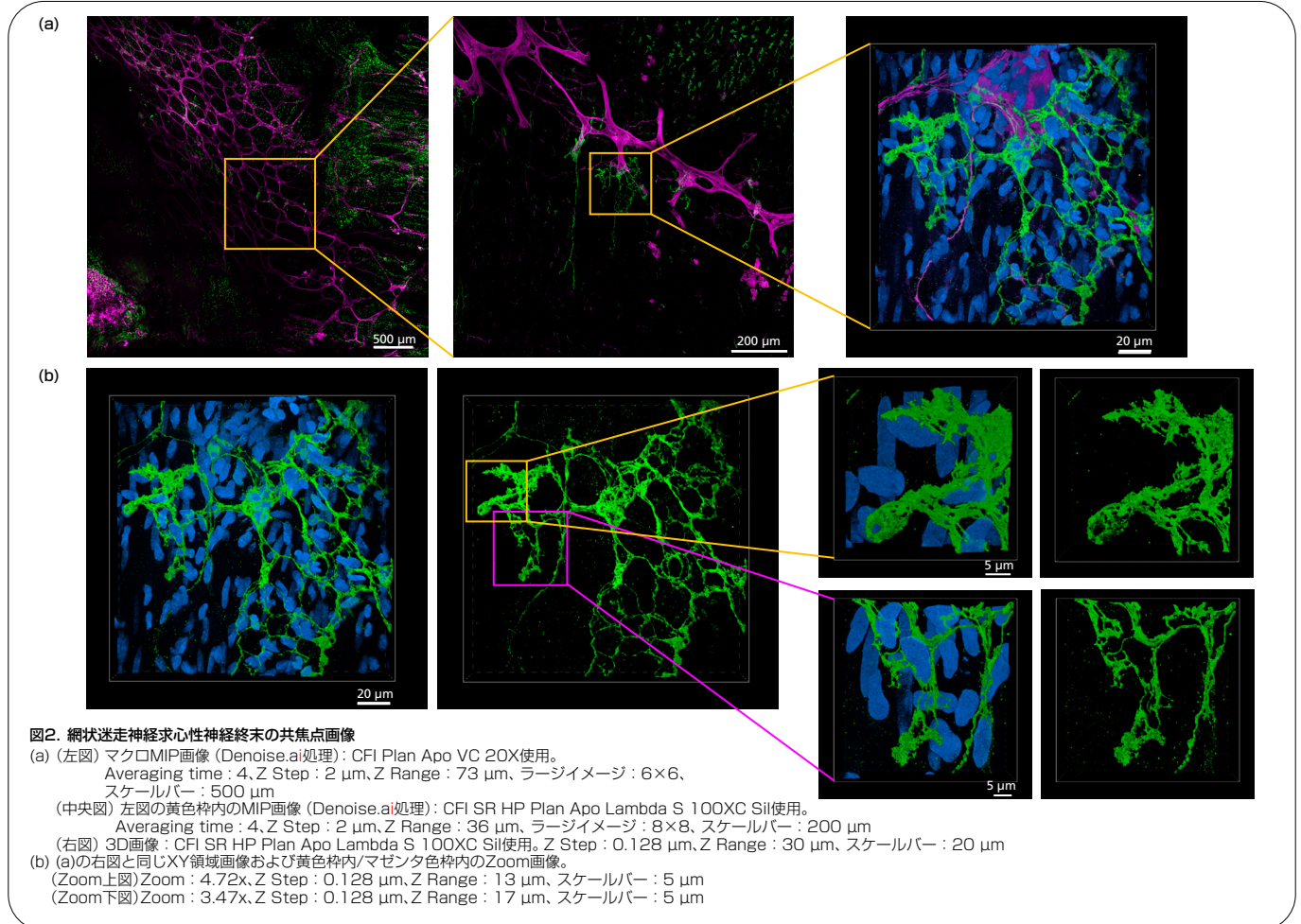
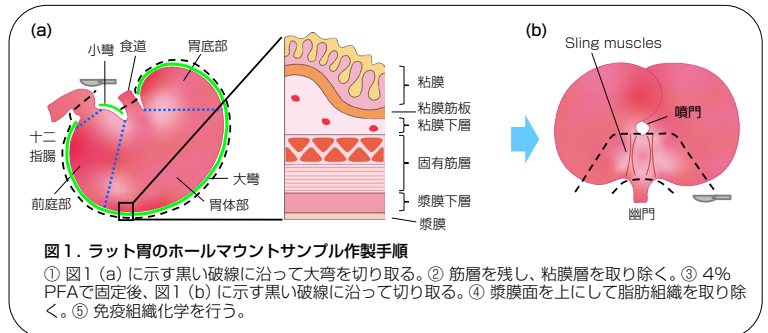
マゼンタ：Neurofilament 200 (神経細胞マーカー)

使用システム：AX R

スキャナー：レゾナント (図2.(a) 左図、中央図)、ガルパノ

Averaging Time：レゾナント 4、ガルパノ 1

解像度：1024×1024画素



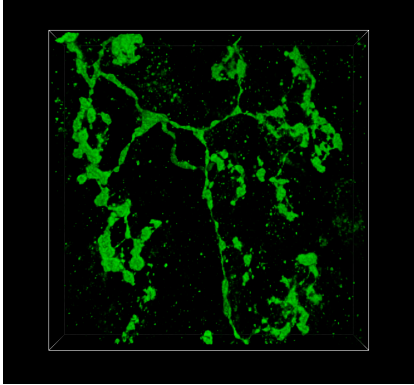
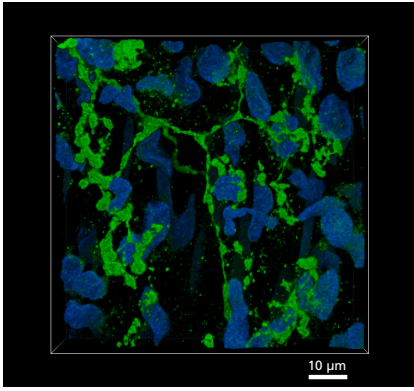


図3. 網状迷走神経求心性神経終末の共焦点画像
CFI SR HP Plan Apo Lambda S 100XC SiI使用。
Zoom : 2.4x, Z Step : 0.128 μm,
Z Range : 30 μm, スケールバー : 10 μm
図2とは異なり、先端がやや丸い葉状の形状をしている。

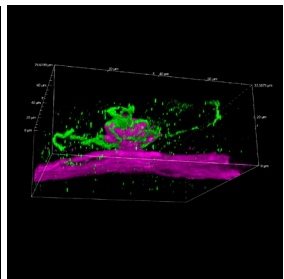
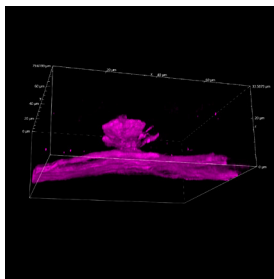
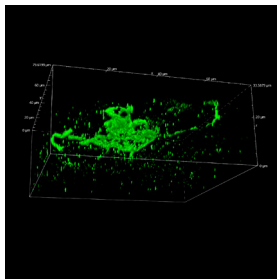
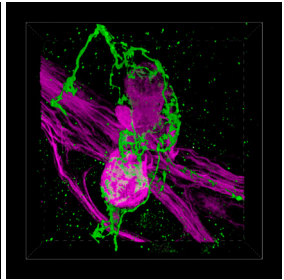
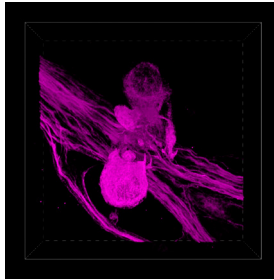
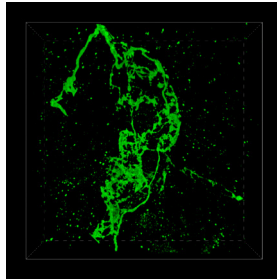
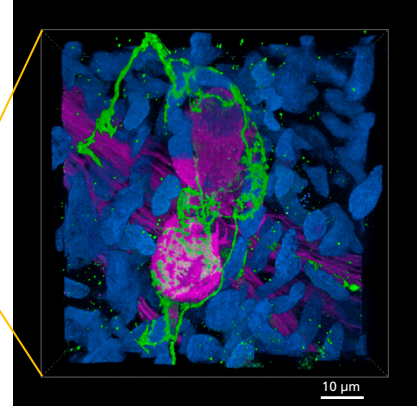
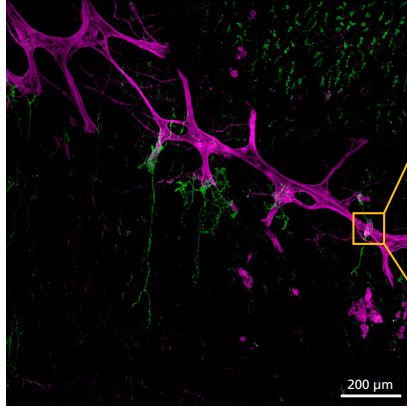


図4. バスケット様漿膜下神経終末の共焦点画像
CFI SR HP Plan Apo Lambda S 100XC SiI使用。Zoom : 2.2x, Z Step : 0.17 μm, Z Range : 33.6 μm

まとめ

共焦点レーザー顕微鏡システム AX Rを使用すると、ホールマウントサンプルのように厚く、厚みにばらつきのある生じやすいサンプルでも、高速でZ stack+Large Image撮影が可能である(図2. (a))。レゾナントモードとDenoise.aiで取得したマクロ画像によって、胃の神経終末の大まかな位置を把握した上で、ガルバノモードと高倍対物レンズで高精細に画像取得することにより、様々な形状を示す微小な神経終末を捉えることに成功した(図2,3,4)。3D構築でいろいろな角度から観察することにより、バスケット様漿膜下神経終末が、Neurofilament 200によって標識された神経細胞を取り囲んでいる様子も撮影できた(図4)。

謝辞

サンプルの作製ならびに提供、イメージングに関する全般において多大なご協力をいただいた岩手医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野の齋野朝幸先生、横山拓矢先生、平川正人先生に深謝致します。

参考文献

Morphology of P2X3-immunoreactive basket-like afferent nerve endings surrounding serosal ganglia and close relationship with vesicular nucleotide transporter-immunoreactive nerve fibers in the rat gastric antrum
Masato Hirakawa, Takuya Yokoyama, Yoshio Yamamoto, Tomoyuki Saino
<https://doi.org/10.1002/cne.25219>
Distribution and morphology of P2X3-immunoreactive subserosal afferent nerve endings in the rat gastric antrum
Masato Hirakawa, Takuya Yokoyama, Yoshio Yamamoto, Tomoyuki Saino
<https://doi.org/10.1002/cne.25069>

製品情報

CFI SR HP プランアポクロマート Lambda S 100XC SiI

レンズ偏心誤差と軸上色収差を低減し、高出力レーザーのアプリケーションに対応。
・ NA : 1.35
・ WD : 0.31-0.28
・ 対応カバーガラス厚 : 0.15-0.19



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光退色の少ない高速・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 2048 × 16画素)
・ 高解像度 : 最高8K (ガルバノ)/2K (レゾナント)
・ 高スループット : 視野数25 mmの超広視野

