

APPLICATION NOTE

共焦点レーザー顕微鏡システム AX R

共焦点顕微鏡でマクロから詳細まで捉えた 口の中にたくさん並ぶ小さな花の蕾のような味蕾

甘いものが好きですか？酸っぱいものが好きですか？私たちは味を感じることで、栄養を摂取しつつ食事を楽しむことも、有害なものを体内に入れる前に判断することもできる。では、私たちはどのようにして味を感じ取っているのだろうか。そこで重要な役割を果たすのが、味という化学信号を電気信号に変換する味細胞が集まって形成する味蕾である。その名の通り、味蕾は花の蕾のような形状をしており、舌や軟口蓋（上顎の奥の柔らかい筋肉組織）、喉頭などに存在し、1つの味蕾は約50-150個の細胞から成る。

本アプリケーションノートでは、共焦点レーザー顕微鏡システムAX Rを用いて、その味蕾の構造を捉えた事例を紹介する。

キーワード：共焦点顕微鏡、味蕾、味細胞

研究の概要

味蕾は、高さが約60-80 μm 、幅が約40 μm あり、その長軸に沿って細長い味細胞が局在する。味蕾を構成する味細胞は、主にI型味細胞（支持細胞）、II型味細胞（受容細胞）、およびIII型味細胞（シナプス前細胞）に分類され、II型味細胞では甘味、苦味、うま味を受容する。また、III型味細胞では、酸味を受容する（図1）。

本事例では、II型味細胞のマーカであるGNAT3 (Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-3) とIII型味細胞のマーカであるSNAP25 (Synaptosomal-associated protein 25) を蛍光標識した軟口蓋の味蕾を、共焦点レーザー顕微鏡システムAX Rを用いて撮影した。

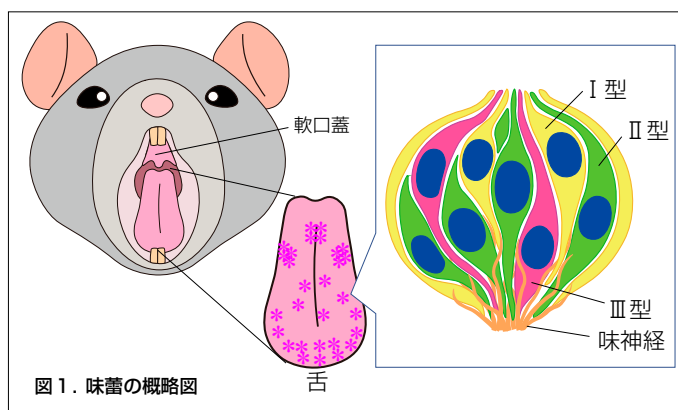
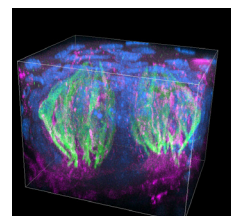


図1. 味蕾の概略図

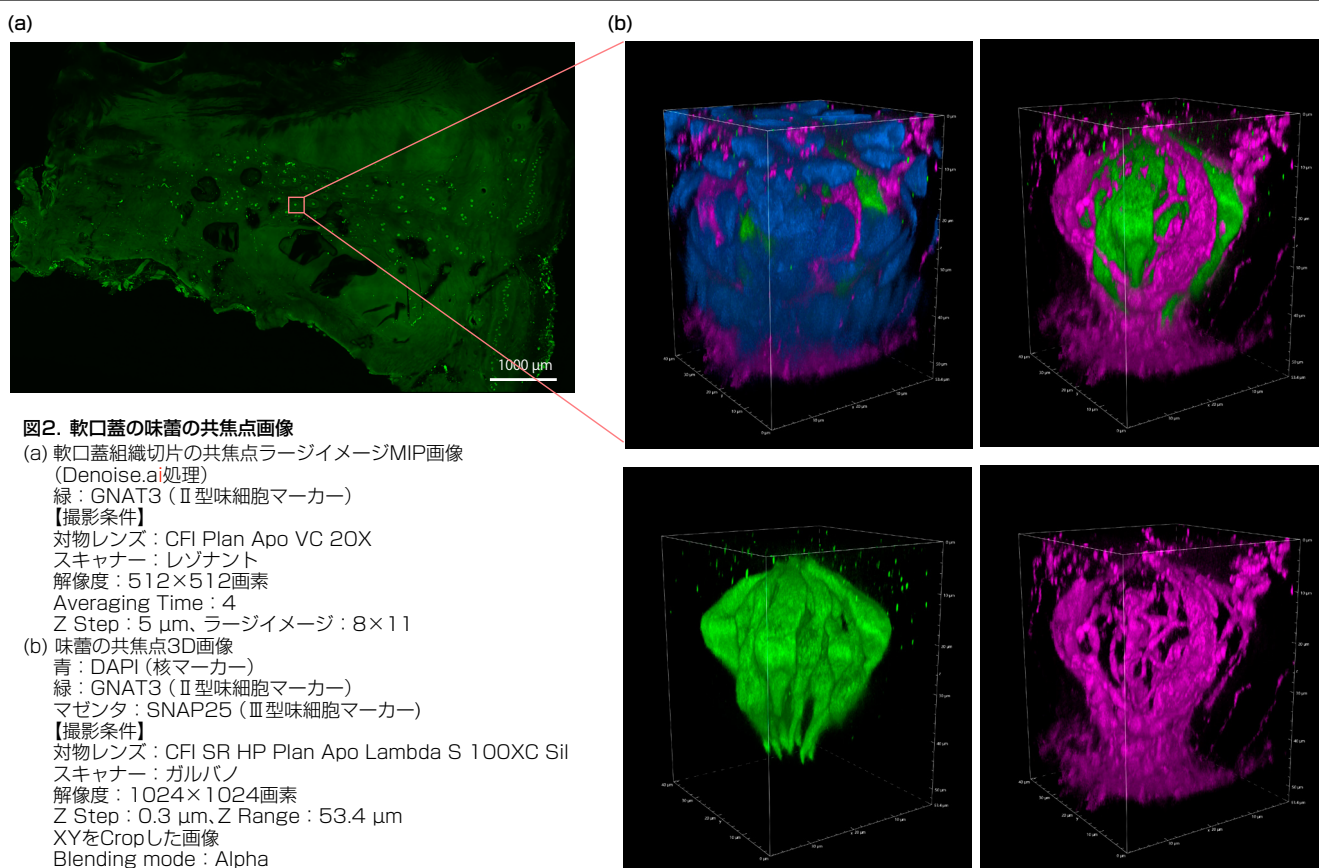


図2. 軟口蓋の味蕾の共焦点画像

(a) 軟口蓋組織切片の共焦点ラージイメージMIP画像 (Denoise.ai処理)

緑：GNAT3 (II型味細胞マーカ)

【撮影条件】

対物レンズ：CFI Plan Apo VC 20X

スキャナー：レゾナント

解像度：512×512画素

Averaging Time：4

Z Step：5 μm 、ラージイメージ：8×11

(b) 味蕾の共焦点3D画像

青：DAPI (核マーカ)

緑：GNAT3 (II型味細胞マーカ)

マゼンタ：SNAP25 (III型味細胞マーカ)

【撮影条件】

対物レンズ：CFI SR HP Plan Apo Lambda S 100XC Sil

スキャナー：ガルパノ

解像度：1024×1024画素

Z Step：0.3 μm 、Z Range：53.4 μm

XYをCropした画像

Blending mode：Alpha

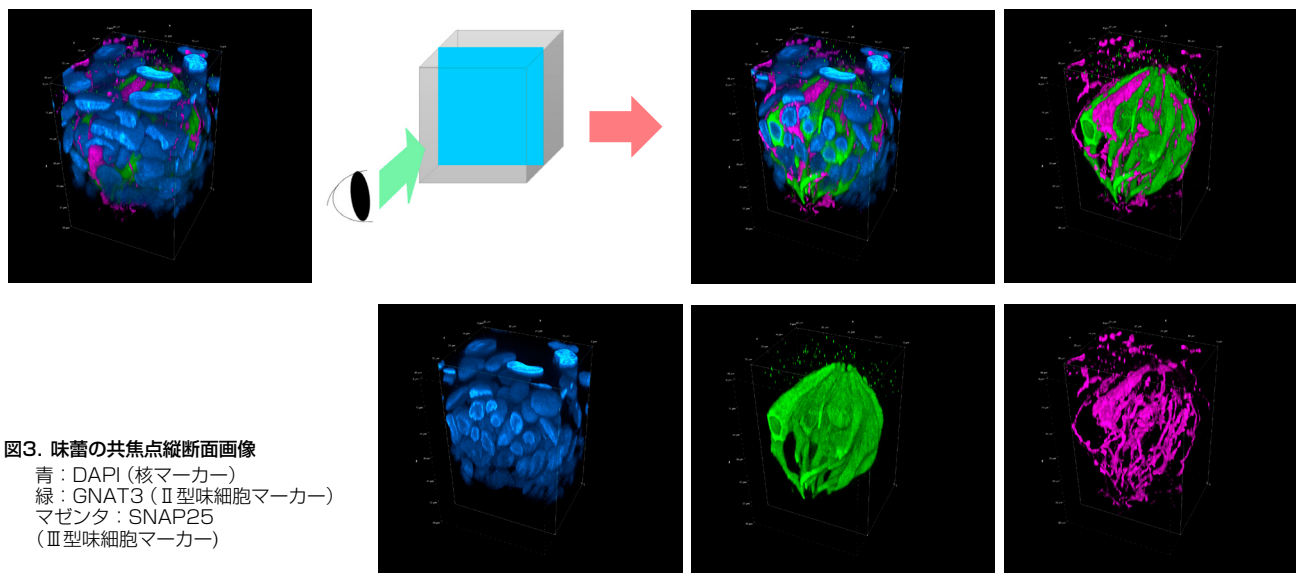


図3. 味蕾の共焦点縦断面画像

青：DAPI (核マーカー)
緑：GNAT3 (Ⅱ型味細胞マーカー)
マゼンタ：SNAP25
(Ⅲ型味細胞マーカー)

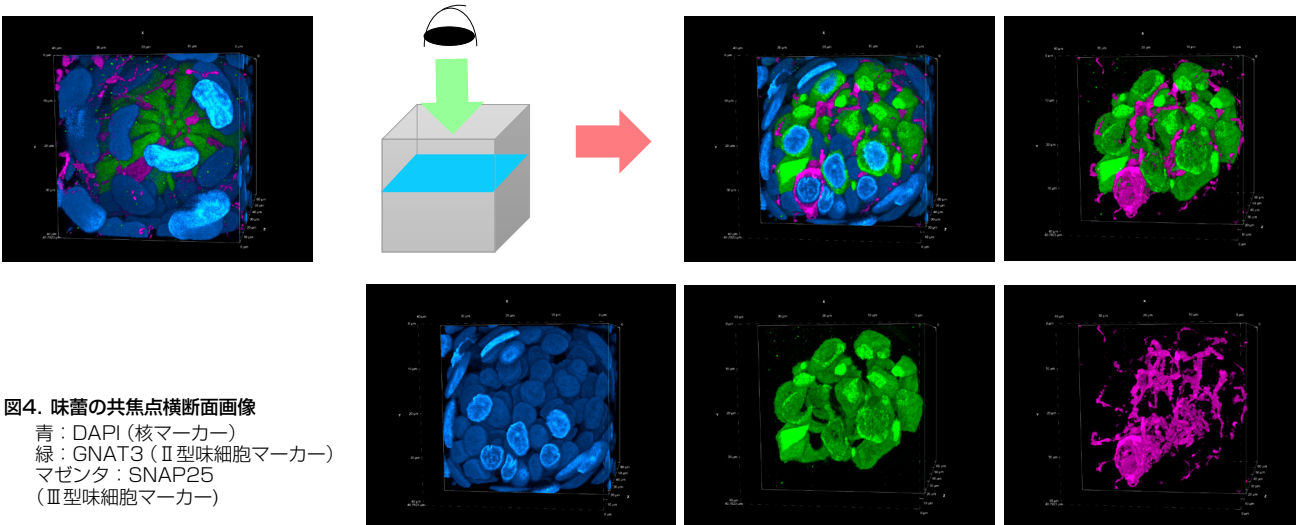


図4. 味蕾の共焦点横断面画像

青：DAPI (核マーカー)
緑：GNAT3 (Ⅱ型味細胞マーカー)
マゼンタ：SNAP25
(Ⅲ型味細胞マーカー)

まとめ

共焦点レーザー顕微鏡システムAX Rは、レゾナントモードでも広視野が得られるため、マクロ画像でおおよその位置を高速に捉えるのに有用である。レゾナントモードと Denoise.aiにより、味蕾の形を大まかに捉えられる程度の解像度でサンプル全体をラージイメージングすることで、味蕾の位置を把握できた(図2 (a))。また、ラージイメージ内でターゲットを選び、ガルバノモードと高倍・高NAの対物レンズを使用することで、味蕾の詳細な構造が捉えられた(図2 (b))。さらに、取得画像を3D構築して様々な切断面で切り出すことにより、味蕾内部の構造も確認できた(図3、図4)。このように、高速レゾナントモードと高解像度ガルバノモードでの広視野撮影が可能なAX R、高解像度対物レンズ、およびNIS-Elementsソフトウェアによる画像処理を組み合わせることで、大きなサンプルに存在する小さな構造をマクロからミクロまで捉えることができる。

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 and chemical characteristics of taste buds associated with P2X3-immunoreactive afferent nerve endings in the rat incisive papilla
Motoi Ito, Takuya Yokoyama, Masato Hirakawa, Yoshio Yamamoto, Wakana Sakanoue, Kenichi Sato, Tomoyuki Saino
<https://doi.org/10.1111/joa.13583>

味蕾の共焦点3D動画はこちら



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

