

共焦点観察と比較した 構造化照明顕微鏡法 (SIM)

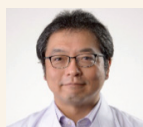
神経研究分野での事例

澤田和明 先生

北海道大学電子科学研究所 光細胞生理研究分野

川上良介 准教授

愛媛大学大学院医学系研究科 分子病態医学講座



根本知己 教授

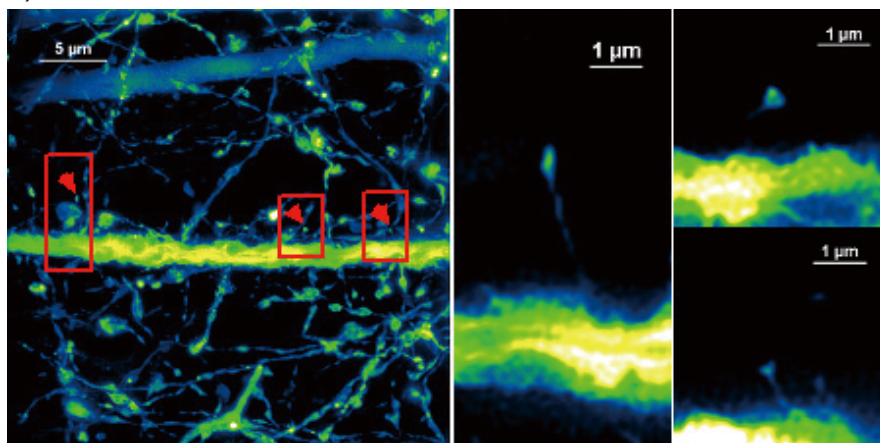
北海道大学電子科学研究所 光細胞生理研究分野、
北海道大学 ニコンイメージングセンター

これまで構造化照明顕微鏡 (SIM) は神経細胞における樹状突起スパインの観察に用いることは多くありませんでした。これは組織内での散乱及び、インデックスミスマッチに依存した光学収差による要因で、画像の質が下がるといった課題が存在したためです。この課題を解決するため、大脳皮質サンプルに対してクリアリング試薬LUCIDによる処理を施し、SIMによるイメージングでより深い位置で空間的な解像度を改善することができました。従来は20 μ m程度までの深さのイメージングでしたが、本手段を用いることにより60 μ m程度の深さまで解像度よくイメージングできることを確認できました。さらに、下図に示すように、SIMの画像A) はコンフォーカル顕微鏡画像B) よりも、樹状突起スパインの形状をより正しく認識することができたと考えています。今後はこのような「高解像な画質」という構造化照明顕微鏡SIMのメリットを活かしたイメージングが多用され、神経分野研究でより多く、活用されることが期待されます。

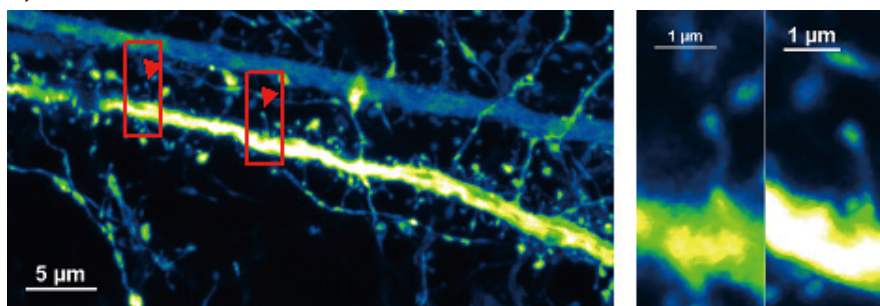
論文情報：

European Journal of Neuroscience, Vol. 47, pp. 1033–1042, 2018

A) 構造化照明顕微鏡の画像



B) コンフォーカル顕微鏡の画像



サンプル：透明化した固定マウス大脳皮質中のEYFPが発現した神経細胞。

A) 構造化照明超解像顕微鏡N-SIMの3D-SIMモードにてZ-Stack取得し、再構築した画像。対物レンズ CFI Apo TIRF 100XC Oil/ NA 1.49を使用。

B) コンフォーカル顕微鏡A1R でZ-Stack取得した画像。対物レンズCFI Apo TIRF 60XC Oil /NA 1.49を使用。

微生物分野での事例



川本純 助教

京都大学化学研究所

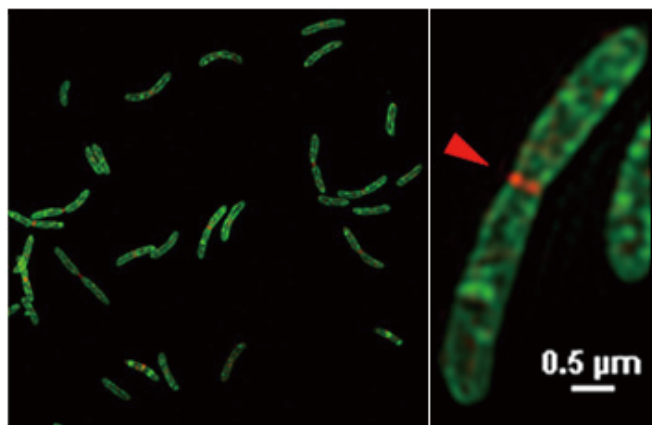
研究室 URL : <http://www.scl.kyoto-u.ac.jp/~mmsicr/mmstojp/Top.html>

ニコンの超解像顕微鏡N-SIMは近年多くの研究分野で使用されており、我々も以下の点で優れた特徴を有した顕鏡法と考えています。

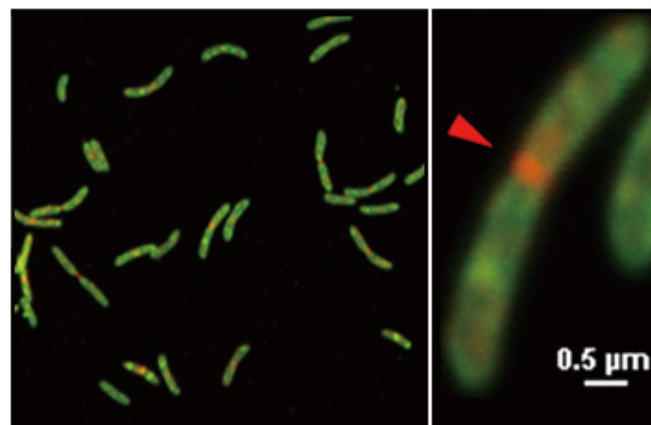
- 1) 細菌の細胞膜を構成する脂質の分布や細胞分裂タンパク質の観察に適している。
- 2) 共焦点顕微鏡ではぼやけて観察された細胞膜辺縁や、細胞分裂タンパク質が超解像顕微鏡N-SIMを使用することで明瞭に観察される。
- 3) 細菌細胞膜における脂質分子の不均一な分布が明確に観察できる。

微生物の観察において、このように高分解能な特徴を生かし、これまでよりも研究の現場で構造化照明顕微鏡が多く使用されることが期待されます。

構造化照明顕微鏡の画像



コンフォーカル顕微鏡の画像

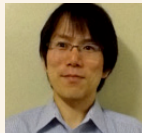


サンプル種類：細菌

脂質分子は Alexa488、細胞分裂タンパク質は Alexa555 で標識。

封入剤は ProLong Gold。対物レンズCFI SR Apo TIRF 100Xを使用。

細胞生物学分野での事例



北河憲雄 講師

福岡歯科大学 生体構造学講座

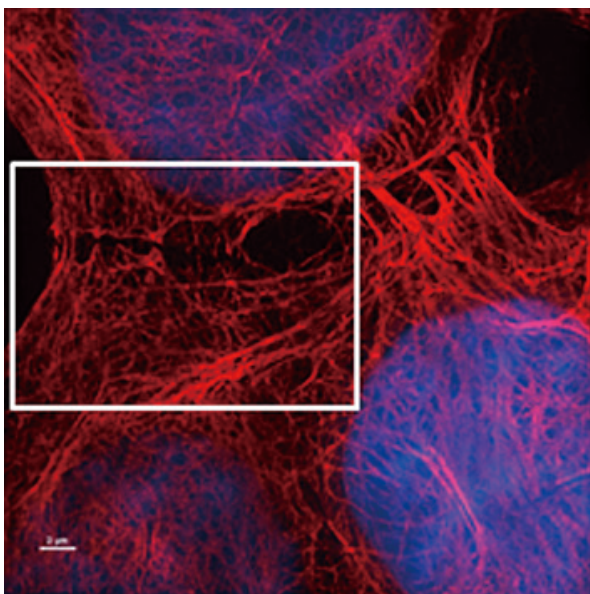
研究室 URL : <http://www.fdcnet.ac.jp/col/info/teacher/kouza/kouzou.html>

ニコンの超解像顕微鏡N-SIMは近年多くの研究分野で使用されており、我々も以下の点で優れた特徴を有した顕鏡法と考えています。

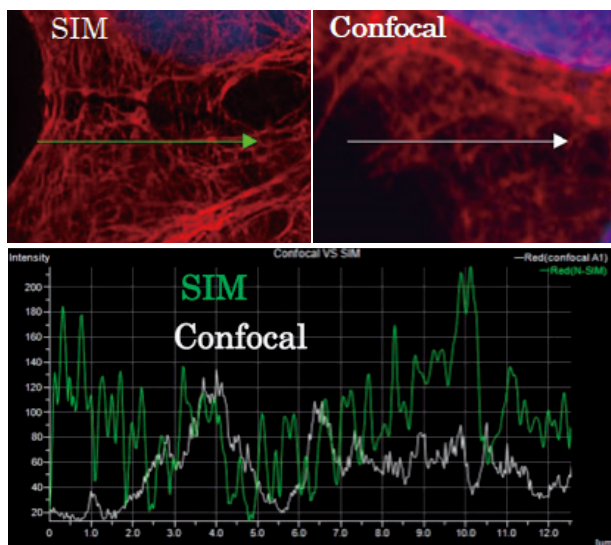
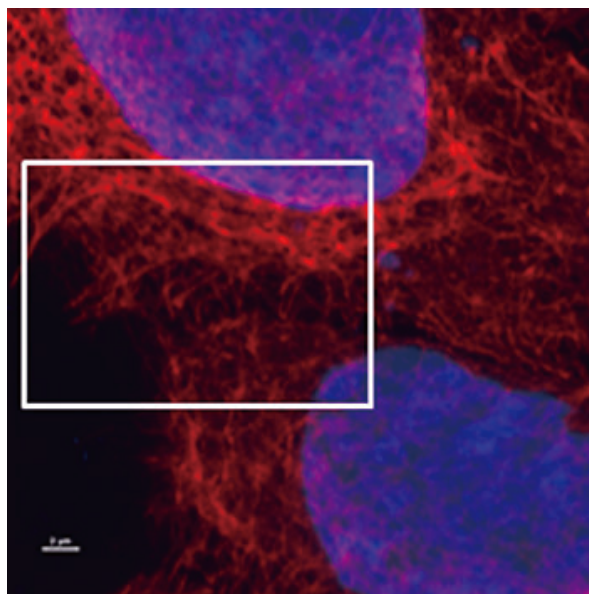
- 1) 細胞骨格を構成する蛋白質の分布変化の観察に適している。
- 2) 共焦点顕微鏡ではぼやけて観察された細胞辺縁の構造や細い細胞骨格が、構造化照明顕微鏡では明瞭に観察される。そのため、ぼやけた部分の強調となりやすい三次元に構築した画像でも、より明瞭に構造を観察することができる。
- 3) 細胞内小胞による細胞骨格の分布の変化や細胞の突起の観察にも威力を発揮することが期待できる。

細胞観察においてこのように高分解能な特徴を生かし、これまでよりも研究の現場で構造化照明顕微鏡がより多く使用されることが期待されます。

構造化照明顕微鏡の画像



コンフォーカル顕微鏡の画像



サンプル: ヒト表皮角化細胞

(一次抗体) rabbit anti-keratin 17 polyclonal antibody

(二次抗体) anti-rabbit IgG conjugated with Alexa 568

核はDAPIで染色。封入剤はベクタシールド。対物レンズCFI SR Apo TIRF 100Xで厚み5-6μmのZスタック撮影。

細胞生物学分野での事例

正田 健 准教授

京都工芸繊維大学 昆虫先端研究推進拠点昆虫
バイオメディカル研究部門



井上 喜博 准教授

京都工芸繊維大学 昆虫先端研究推進拠点
昆虫バイオメディカル研究部門

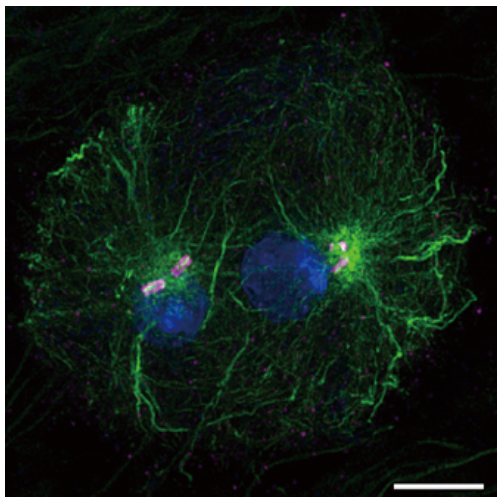
研究室 URL : <http://www.ibrc.kit.ac.jp/>
研究室 URL : <https://sites.google.com/site/ibmrcdrosophila/home>

ニコンの超解像顕微鏡N-SIMは近年多くの研究分野で使用されており、我々も以下の点で優れた特徴を有した顕微鏡法と考えています。

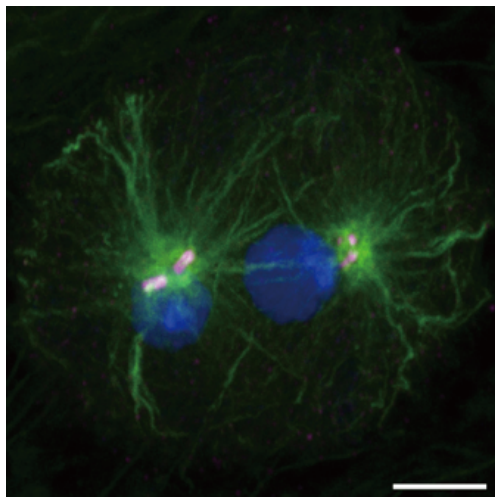
- 1) 大きさが1ミクロンの数分の1しかない中心体などの細胞内微細構造も、N-SIMを使うとその内部まではっきりと観察することができます。
- 2) 共焦点顕微鏡観察では微小管の集合中心はぼやけた画像しか得られなかったが、N-SIMでは鮮明に観察できる。とくに三次元構築した画像は個々の微小管や束構造まではっきり観察することができる。
- 3) N-SIMではミトコンドリア内部にあるクリステ構造まで鮮明に観察できるので、その生理的、病的条件下での構造変化をも捉えることができる。

これらの特徴を生かし、これまでよりも研究の現場で構造化照明顕微鏡がより多く使用されることが期待されます。

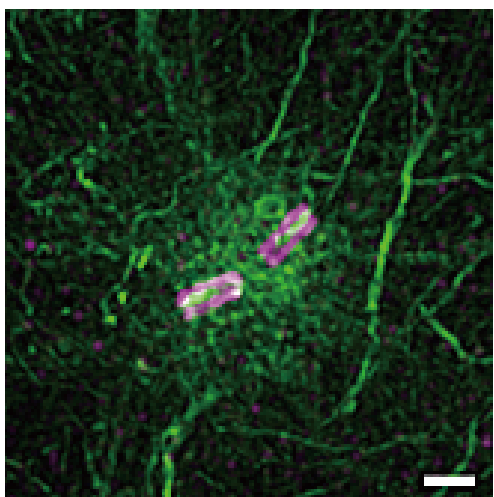
構造化照明顕微鏡の画像



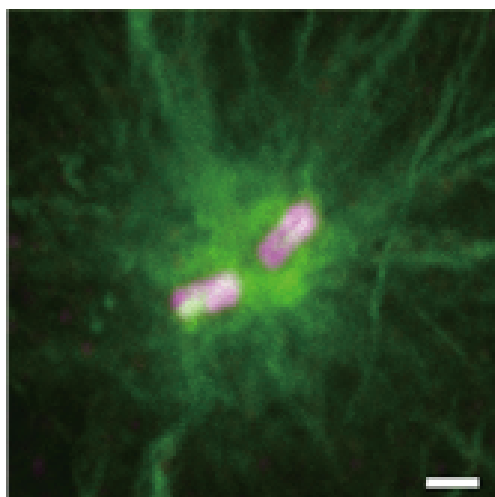
コンフォーカル顕微鏡の画像



構造化照明顕微鏡の画像 (拡大)



コンフォーカル顕微鏡の画像 (拡大)



サンプル：減数第一分裂中のショウジョウバエ精母細胞。Scale bar: 5μm (拡大図内: 1μm)

核はDAPI染色、微小管はTubulin-GFP蛍光観察、中心小体は抗Asterless抗体による免疫染色。封入剤はProlong Diamond*1。
対物レンズCFI SR Apo TIRF 100Xを用いて厚み9μmのZスタック撮影。

*1: Prolong DiamondはThermo Fisher Scientific Inc. の登録商標です。



microscopyu.com



nikon-instruments-inc-



nikoninstrumentsinc



nikoninst



nikoninstruments

Nikon Instruments Inc. | www.microscope.healthcare.nikon.com | nikoninstruments@nikon.net