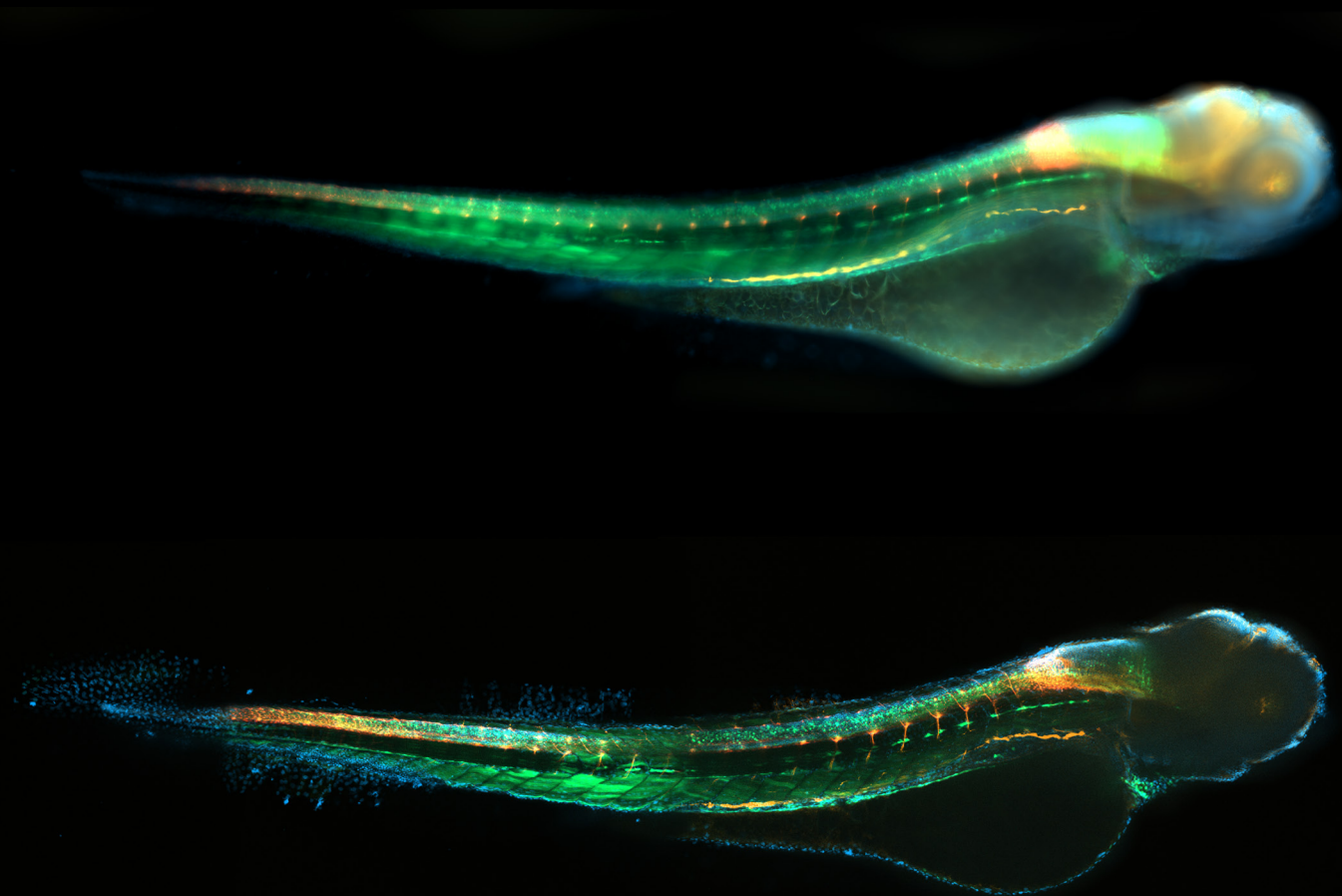


構造化照明を使って信頼性の高い光学断面を作成



ZEISS Apotome 3

実証済みアルゴリズムを用いたハードウェアベース
の定量的光学セクショニング

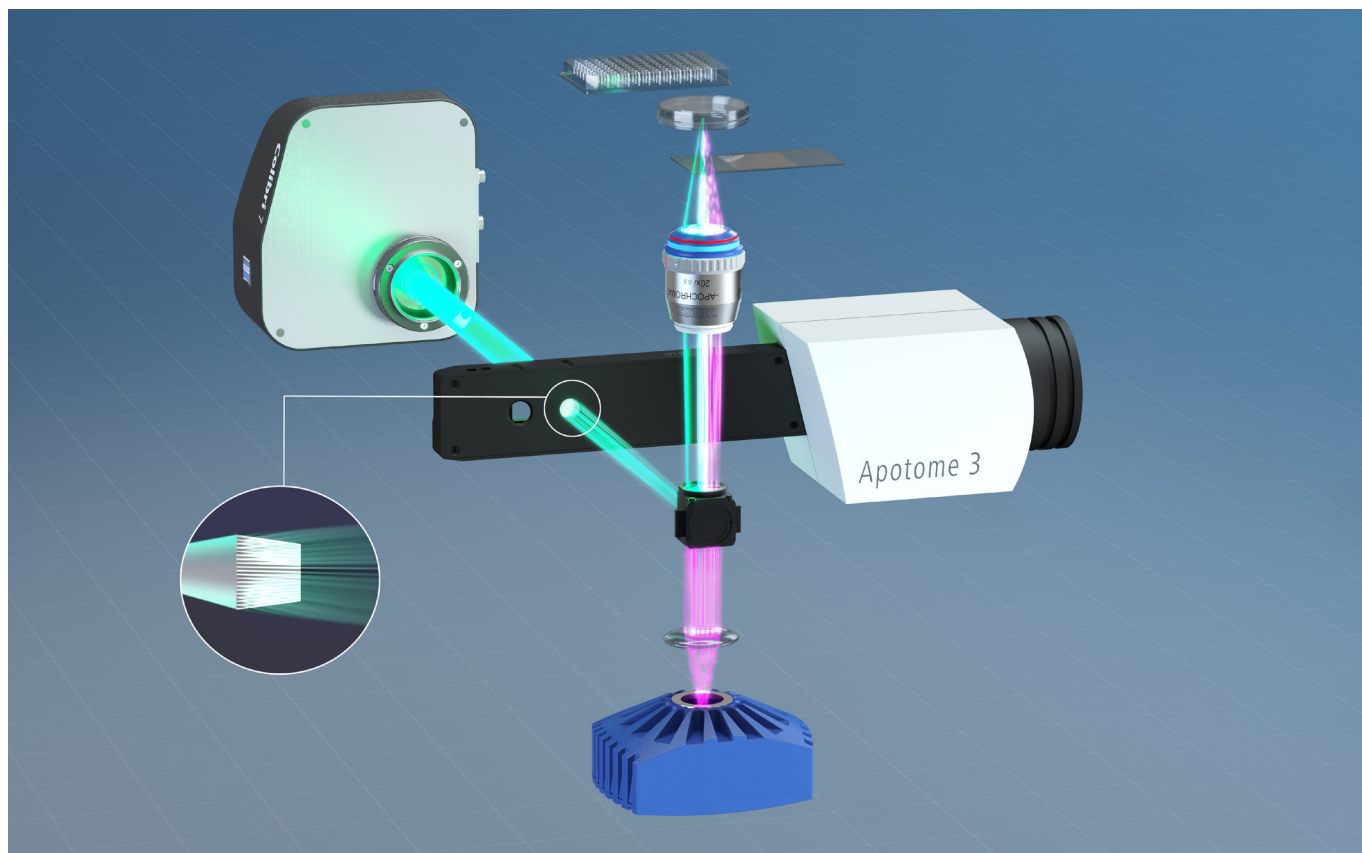


zeiss.com/apotome

Seeing beyond

定量的光学セクショニング

構造化照明による真の光学セクショニング



蛍光は生命科学における最も重要なイメージング技術の一つであり、対物レンズが試料から発せられる蛍光信号を集めることで、高コントラスト画像が得られます。しかし、対物レンズは焦点面の外からも光を集めます。ピントの合った画像情報を抽出するためには、バックグラウンドから発生し得る焦点外の光を除去する必要があります。光学セクショニングを使用すれば、焦点外光を効率的に抑えられ、鮮明なイメージを作成して3Dレンダリングを実行することができます。

ZEISS Apotome 3 は、グリッドを使用して輝度強度差のあるパターンを生成します。そして試料の領域中で焦点面外の光がある部分では、グリッドも焦点が合わなくなるため見えなくなります。あるグリッド位置の蛍光が取得されると、グリッドが次の位置に移動します。線形アプローチと実証済みのアルゴリズムを使用することで、個々の画像から信頼性の高い光学断面を計算することができます。

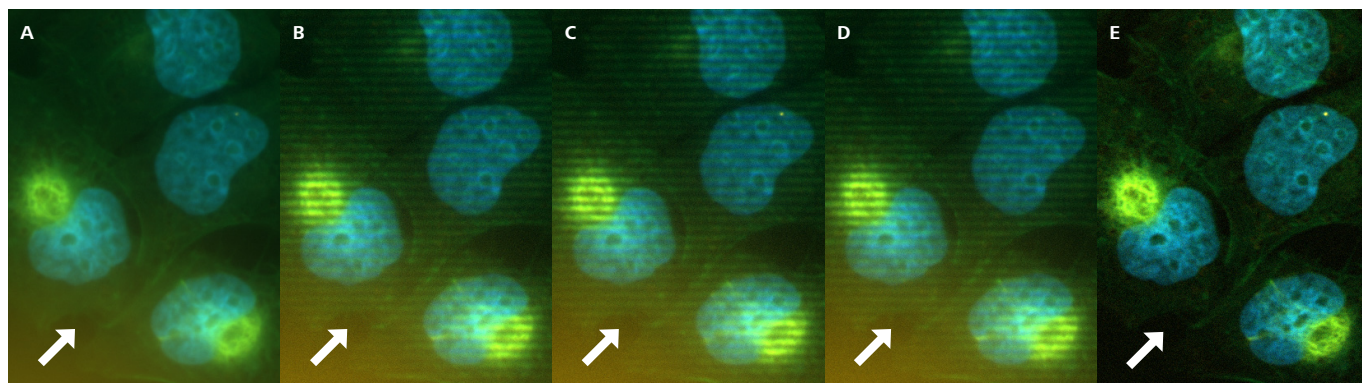


図1 グリッド投影の概念図。A: 通常の蛍光画像。B～D: 異なるグリッド位置のRaw データ画像。E: 光学断面の結果画像。焦点外の光は、構造化照明により効率的に除去されます(矢印)。

定量的光学セクションング

線形アプローチ、実証済みアルゴリズム

光学断面を作成するためのハードウェアベースの手法をさしおいて、近年は完全にソフトウェアベースの手法が出現しています。これらの方法は、試料に関する予備知識を必要とするか (AI ベースの手法)、もしくはピアレビューが行われていない複雑なアルゴリズムに依存しています。ソフトウェアソリューションは、取得されたワイドフィールド画像しか使用できないため、ユーザーはこういったブラックボックスのソリューションが正確な構造のみを生成し、画像を「強調」する際に構造が失われ、ということを信用するしかないのです。

図 2、図 3 は、ワイドフィールド画像、ソフトウェア処理をした背景減算画像、そして ZEISS Apotome で取得された画像を比較しています。背景減算画像は、コントラストが高く見た目が良いものの、正確な情報を表現していません。特徴が欠落しており、構造もまったく異なって見えます。実際の画像を知らなければ、これに気が付くことはほぼ不可能です。Apotome を使用すれば、さまざまな試料に使用できる、信頼性の高い定量的光学セクションングが活用できます。

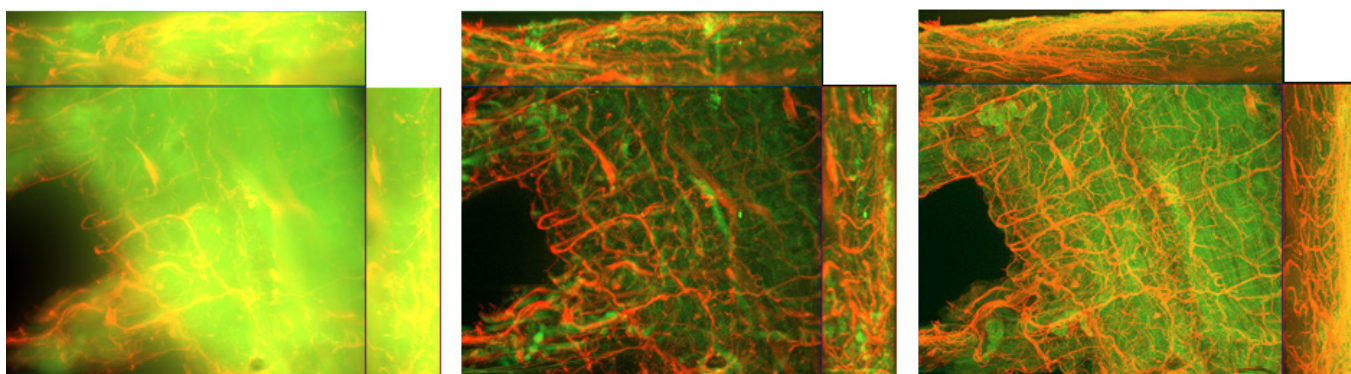


図 2 緑と赤で染色した多毛類のワイドフィールド画像を、最大輝度投影法でオルソ表示したもの (左)。ZEISS ZEN lite のローリングボール背景減算処理をした画像スタック (中央)。元のワイドフィールド画像と比較すると、背景減算処理データセットではより多くの構造が見えているものの、ZEISS Apotome を用いた光学セクションングによって得られた画像 (右) と比較した場合、多くの詳細部分が欠落しています。さらに、エッジにあるコンパクトな緑色構造が一部侵食されたように見えます。画像スタック高さ : 160 μm 、400 スライス。

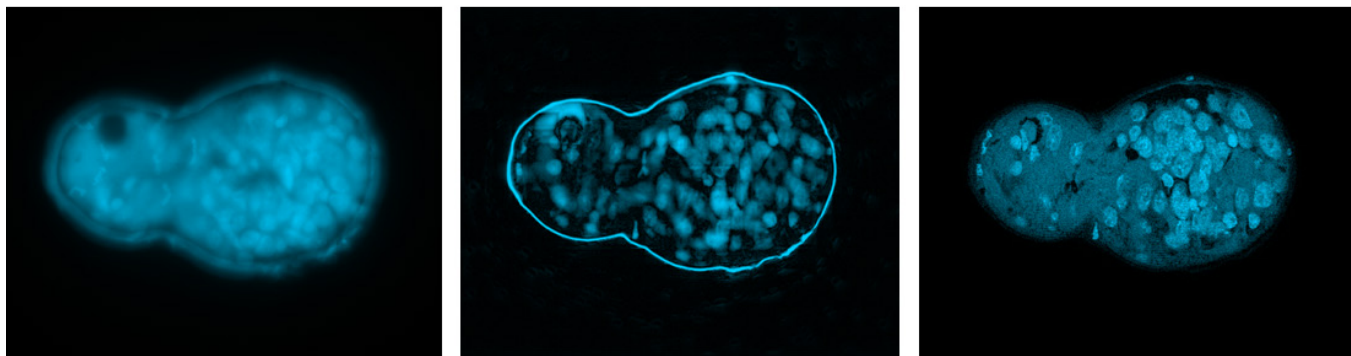
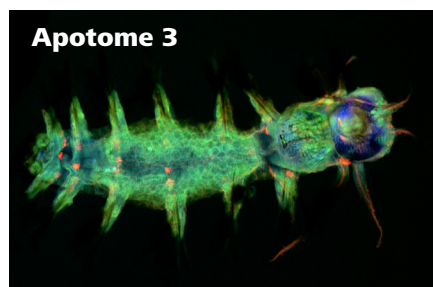
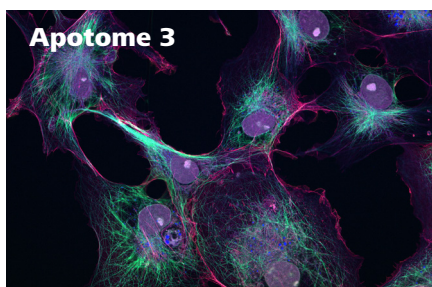
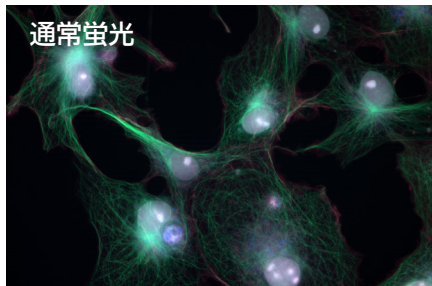
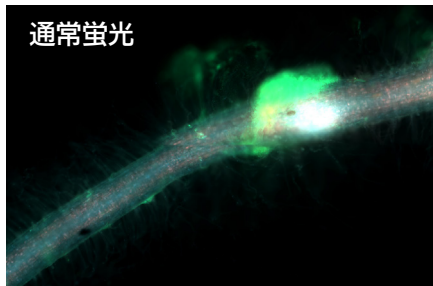


図 3 Hoechst 33342 で染色した巨大な生きた吸虫。ワイドフィールド画像 (左) の内部にある均一な蛍光は、バックグラウンド補正アルゴリズム (中央) にとって重大な問題となります。一部の構造は残っていますが、全般的に細胞間に多くの黒い間隙があります。これは、ZEISS Apotome (右) で取得した光学断面と比較するとよくわかります。特に、中央のパネルのバックグラウンド補正画像に見られる構造物の周囲の顕著なリムは、ワイドフィールド画像の干渉によるアーティファクトであり、光学セクションングシステムには見られません。

定量的光学セクションング

さまざまな試料を 2D および 3D で

2D 画像

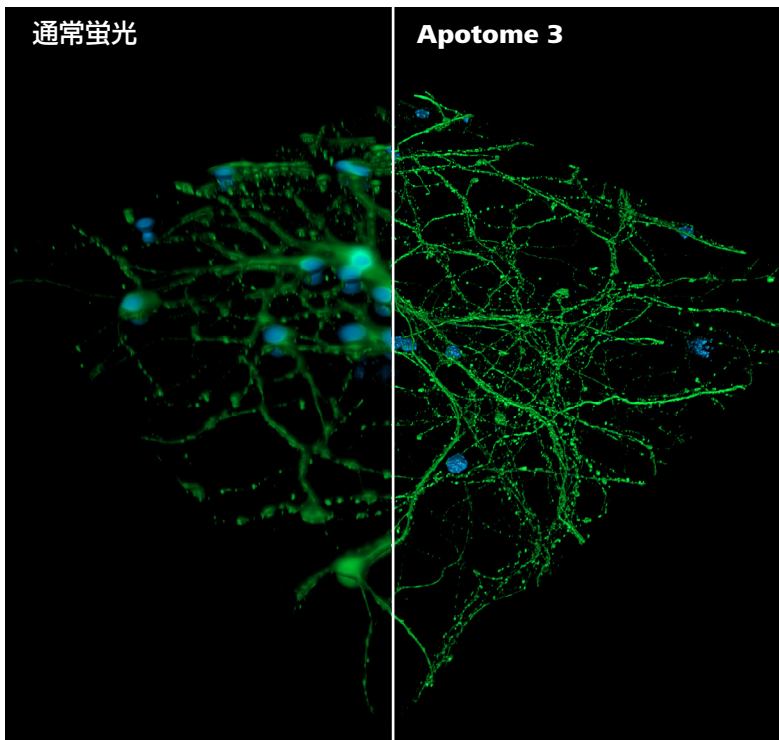
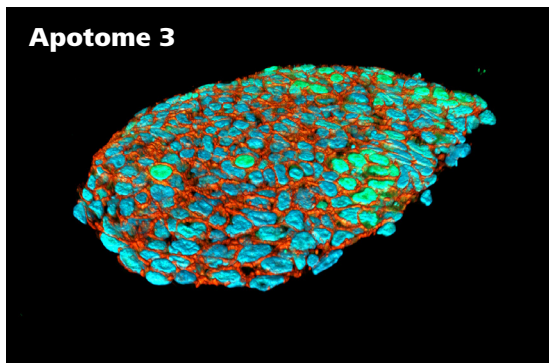
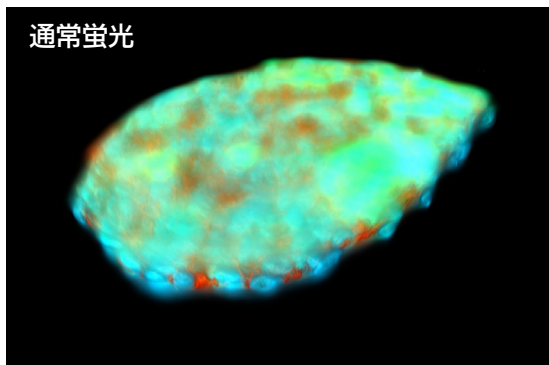


mCherry で染色した共生細菌に感染したミヤコグサの根の自家蛍光。
ご提供 : F. A. Ditengou, University of Freiburg, Germany

核を Hoechst、チューブリンを Alexa 488、ファロイジンを Alexa 568 で染色した Cos7 細胞。

核を DAPI、チューブリンを Alexa 488、ファロイジンを Alexa 568 で染色した *Streptosyllis websteri* ワーム。

3D レンダリング



マウスガストロイドの厚さ 5 μm の切片。ECM タンパク質は Alexa 647、膜タンパク質は Alexa 568、転写因子は Alexa 488、核は DAPI で染色。

ご提供 : Prisca Liberali and Simon Suppinger, FMI

DNA と微小管を染色した大脳皮質神経細胞の断面を 3D レンダリング。解像度が向上したことにより、画質が大幅に改善。

ご提供 : L. Behrendt, Leibniz-Institute on Aging – Fritz-Lipmann-Institut e.V. (FLI), Germany

ZEISS Apotome 3

構造化照明を使用した定量的光学セクションング

フレキシブルなスタンドの選択肢:



顕微鏡

- Axio Observer シリーズ (研究用倒立型顕微鏡)
- Axio Imager 2 シリーズ (研究用正立型顕微鏡)
- Axio Zoom.V16 (ズーム顕微鏡)
- 既存システムを容易にアップグレード

対物レンズ

最高レベルの画質を提供する推奨対物レンズクラス

- C-Apochromat
- Plan-Apochromat
- EC Plan-Neofluar

光源

- Colibri 5 および 7 (LED)
- Xylis LED (白色 LED)
- HBO (水銀ランプ)
- HXP 120 C (メタルハライド)

カメラ

- モノクロ低ノイズ ZEISS AxioCam カメラモデル
- 厳選されたサードパーティ製カメラ

ソフトウェア

推奨 ZEN モジュール

- マルチチャンネル、Z スタック
- タイル&ポジション (電動スキャンングステージを用いたイメージング)
- デコンボリューション (画像処理)
- ダイレクト プロセッシング
- 3DxI (多次元画像スタックの 3D レンダリング)
- 画像解析 +Intellesis、BioApps、APEER などの画像解析モジュール

適合アプリケーション:

- 細胞培養
- ライブセルイメージング
- ビブラトーム切片、組織標本、透明化組織イメージング
- ホールマウント



参考

ホワイトペーパー: [ワイドフィールド顕微鏡でより良い画像を得る方法](#)

Carl Zeiss Microscopy GmbH
07745 Jena, Germany
microscopy@zeiss.com
www.zeiss.com/apotome

Carl Zeiss Co., Ltd.
2-10-9 Kojimachi, Chiyoda-ku
Tokyo, 102-0083, Japan
Phone: + 81-570-02-1310

地域によって販売されていない製品もあります。製品を医療診断や治療を目的として使用することは、各国の規制により制限される場合があります。
細はZEISSジャパンにお問い合わせください。
JP_41_012_255 | CZ 10-2021 | 設計、お届けする製品の内容、技術的な内容は予告なく変更される場合があります。 | © Carl Zeiss Microscopy GmbH