

SEMでTEMレベル のイメージングを実現

ZEISS Sense BSD

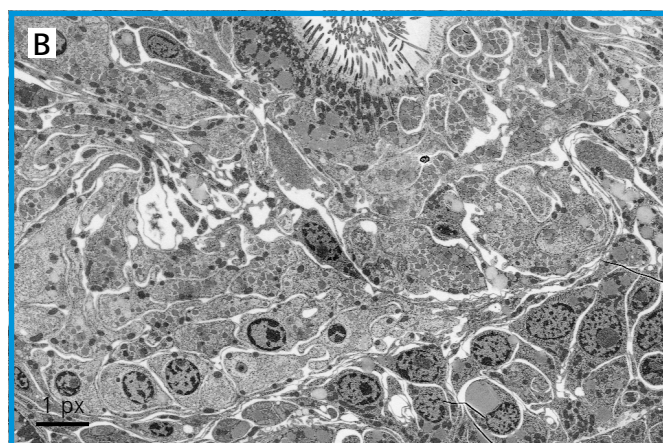
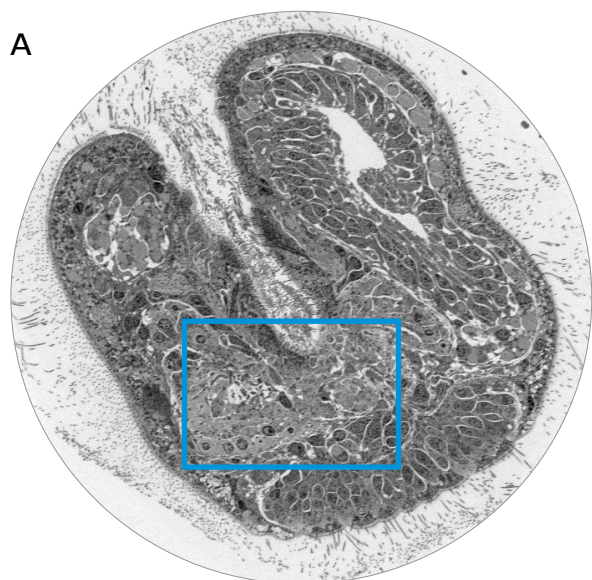
高速で試料ダメージが少ない微細構造
イメージングのための後方散乱電子検出器



Seeing beyond

これまでにない速度と品質で微細構造をイメージング

従来より、電子顕微鏡は組織や細胞内の構造の高分解能イメージングに利用されてきました。透過型電子顕微鏡 (TEM) はこのような微細構造イメージングに適していますが、後方散乱電子検出器を備えた走査型電子顕微鏡 (SEM) でも、高分解能の TEM のような画像を取得することができます。しかし SEM でのイメージングは、非導電性の生体試料の場合に課題があります。高分解能での高速イメージングには高い電子線量と加速電圧が必要となるため、帯電効果や試料の損傷が発生し、画質が低下する可能性があります。そこで ZEISS Sense BSD は、高効率、高感度な検出技術を用いることでこれらの課題を解決し、高分解能の生体材料イメージングを可能にします。これにより、生体試料において SEM で TEM レベルのイメージングを可能にします。



(A) コケムシ *Tricellaria inopinata* の幼虫の切片。ZEISS Sense BSD を用いて 1.5kV および 200 nm ピクセルサイズで取得。(B) (A) の挿入図は核や繊毛などの細胞構造を明確に示しています (1 kV、ピクセルサイズ: 50 nm)。

試料ご提供: Anna Seybold & Harald Hausen, Sars Centre for Marine Molecular Biology, University of Bergen, Norway

ソリューション

Sense BSD は新しいダイオード設計と優れた検出器感度によって非常に少数の電子を検出し、低信号を高コントラスト画像に変換します。また低加速電圧と低電子線量での高速画像取得が可能で、生体試料を損傷することなくイメージングでき、帯電効果による画質の低下を防止します。検出器は工場で調整されているため、追加の調整やキャリブレーションは必要ありません。ソフトウェア上で数回クリックするだけで、検出器でイメージングを行う準備が整います。

メリット

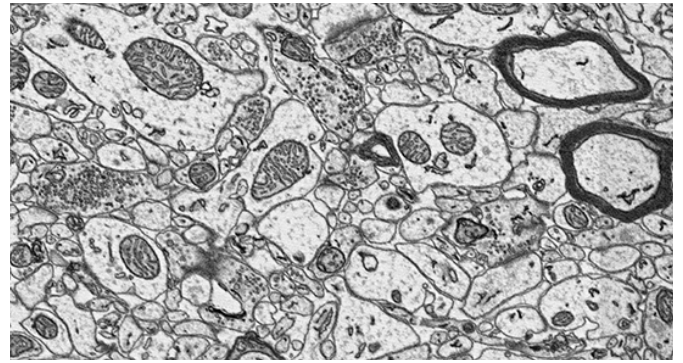
- 非導電性で帯電しやすい生体試料に最適
- 低加速電圧イメージングを行うことで試料ダメージを抑制し、画像の劣化を防止
- 検出器の感度向上により、高コントラストのイメージングが可能
- 短時間で高品質の画像を生成
- イメージングでは試料領域全体にアクセス可能。TEM グリッドによる視野の制限なし
- Sense BSD の検出器は工場で設定されており、すぐに使用可能
- 明確でシンプルなユーザーインターフェースにより操作が簡単

2D 単一画像の取得

ZEISS Sense BSD は、高分解能・高コントラストの 2D 画像取得用に設計されており、低加速電圧と低電子線量が生体試料のビーム損傷を防ぐとともに、組織または細胞の微細構造を明らかにします。同様に、画質劣化の原因となる帯電効果を防ぎます。

神経科学

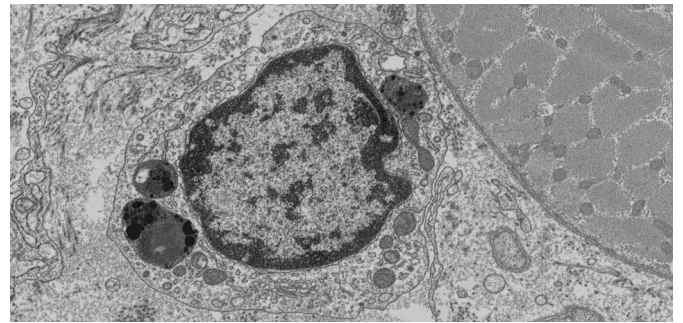
神経生物学的試料、特に脳組織は広範囲かつ密に詰まっています。片側にシナプス小胞を示し、反対側に樹状突起を示す軸索を伴うシナプスの可視化と解析は、試料の広い領域で観察する場合、特に困難です。このような場合、高コントラスト・高分解能のイメージングを用いると、神経細胞の経路、構造、つながりが明らかになります。



脳切片。ZEISS GeminiSEM および ZEISS Sense BSD で取得（1.5 kV、ピクセルサイズ：1 nm、dwell time：2 μ s）。試料ご提供：Mark H. Ellisman, National Center for Microscopy and Imaging Research, University of California San Diego

組織学

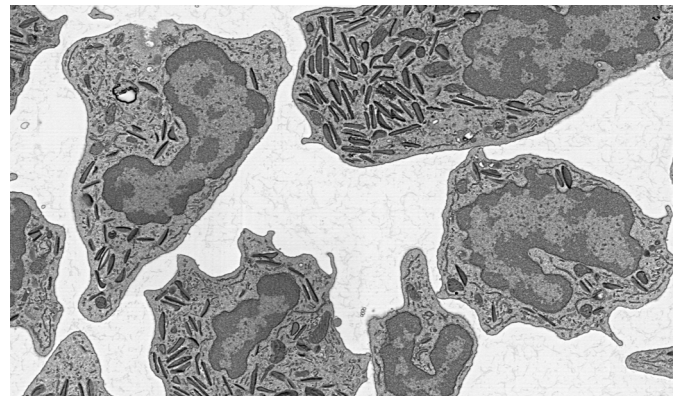
感度と信号対雑音比が向上した ZEISS Sense BSD なら、さまざまな組織の最も小さな構造でも可視化でき、最小の細胞成分でさえも明確に観察できます。また、低加速電圧の一次ビームが試料の帯電とそれによる画質の低下を防ぎます。



化学的に固定および染色されたマウスの筋肉組織。ZEISS GeminiSEM および ZEISS Sense BSD（2 kV、ピクセルサイズ：20 nm）で取得。筋繊維の束と筋フィラメントを伴う個々の筋原線維と細胞内の細胞区画が確認できます。

細胞生物学 / 免疫学

多くの場合、電子顕微鏡での観察用に調製された分離細胞は、非導電性の樹脂に囲まれています。これにより、特に加速電圧と電子線量が高い場合に帯電効果が発生し、画質が低下します。ここで帯電効果を防ぐ鍵となるのが低加速電圧イメージングであり、少数の後方散乱電子を収集して高コントラスト画像に変換するには高感度の検出器が必要となります。



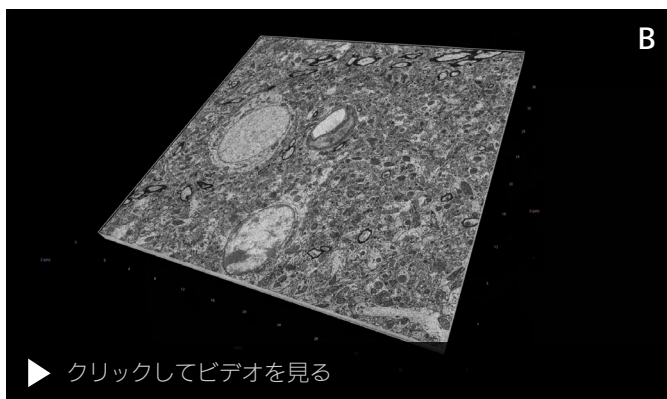
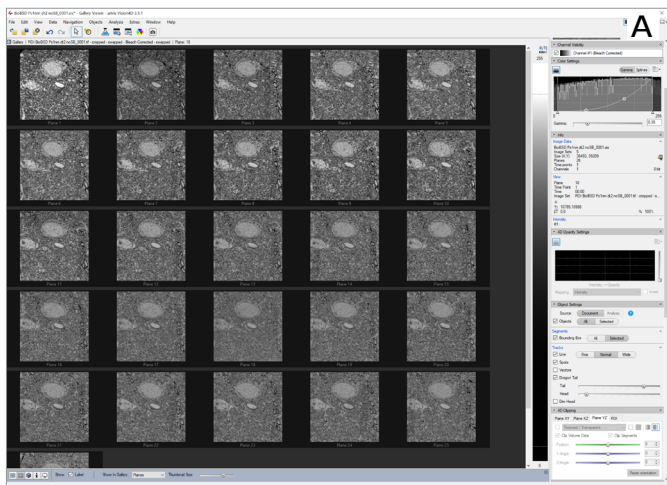
ゼブラフィッシュから免疫細胞を分離し、エポキシ樹脂に包埋し、100 nm の厚さに切断した極薄切片。ZEISS GeminiSEM および ZEISS Sense BSD で取得（1.5 kV、88 pA、ピクセルサイズ：3 nm、dwell time：1.6 μ s、ステージバイアス）。好中球や核、ミトコンドリアなどの他の細胞成分に典型的な、細長い電子密度の高い葉巻の形をした顆粒が明確に確認できます。

アレイトモグラフィーでのデータセット取得

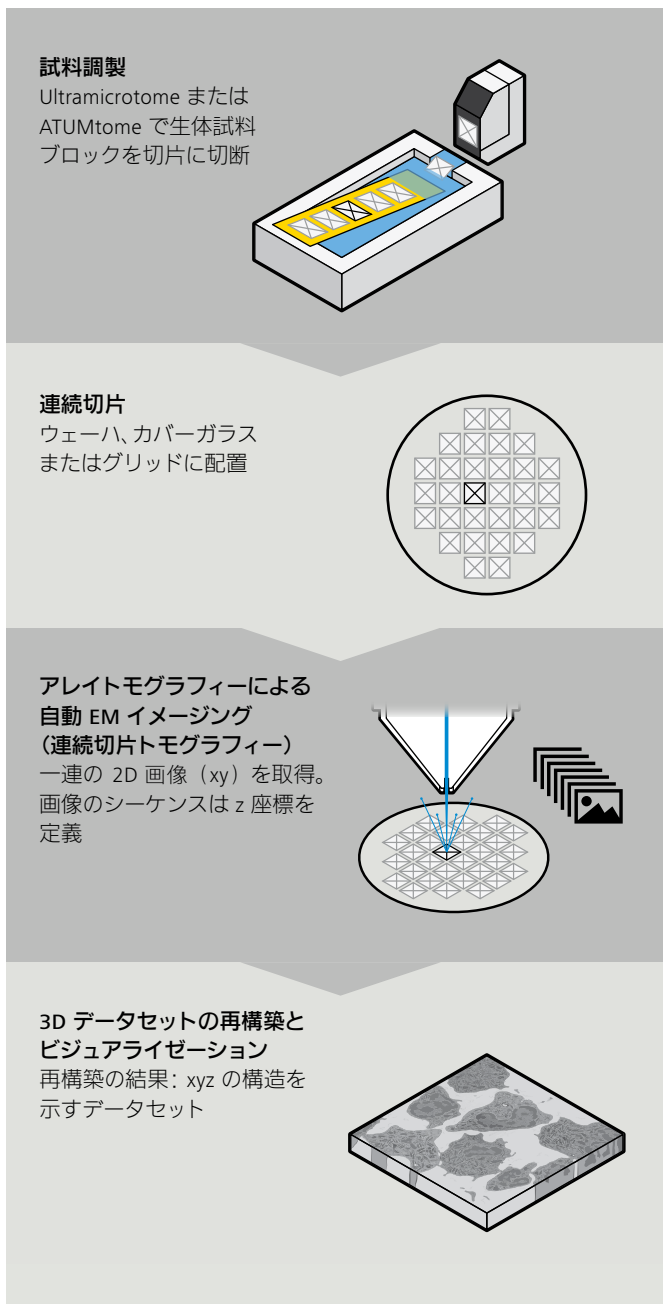
アレイトモグラフィーは樹脂に埋め込まれた生体試料の連続切片をイメージングし、画像シリーズから 3D データセットを再構築します。生体試料切片のイメージング要件に完全に適合する ZEISS Sense BSD の高感度検出器によって低加速電圧イメージングが可能になり、試料の損傷が防止できます。また、少ない後方散乱電子でも高コントラストな画像を取得可能なため、高速イメージングが実現します。

アプリケーション例：神経科学

脳試料のイメージングでは、ボリューム全体でニューロンを追跡すると同時に細胞構造を可視化するには高分解能と 3D 取得が必要です。そこでアレイトモグラフィーと ZEISS Sense BSD を組み合わせることで、シリアル切片の高コントラストイメージングとそれに続く x、y、z の高分解能の 3D データセットの再構成を可能にしました。



Serial Blockface Scanning EM 用の NCMIR の染色プロトコルで調製されたマウス海馬。(A) arivis Vision 4D のギャラリービューにある一連の 2D 画像からは、微細構造の詳細な考察が可能です。(B) シリーズのアニメーション化されたデータセットは 3D かつ広い範囲で詳細な構造を示しています。GeminiSEM および Sense BSD で取得 (1.5 kV、ピクセルサイズ: 1 nm、dwell time: 2 μ s)。
試料ご提供: Mark H. Ellisman, National Center for Microscopy and Imaging Research, University of California San Diego



バックグラウンドテクノロジー

ZEISS Sense BSD の各種コンポーネントは、生体試料を傷付けることなく迅速に、高品質の画像を提供するよう設計されています。



ケース

検出器を音響および機械的ノイズから保護し、安定したイメージング条件を保證する設計により、最高品質の高分解能画像が得られます。

アンプ

新設計のアンプは信号対雑音比を改善し、高速イメージングを可能にします。



ダイオード

シリコンタイプのダイオードは低加速電圧でのイメージング用に最適化されています。また、ビームに悪影響を与えることなく一次電子ビームの中央の穴を小さくすることで検出領域を拡大し、多くの後方散乱電子を検出できるようになりました。

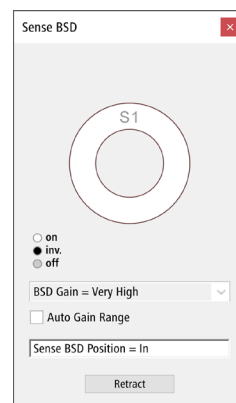


調整

ダイオードは対物レンズの真下にあります。検出器は出荷時に調整されるため、ユーザーによる追加の設定を必要としません。さらに、作動距離と倍率調整を組み合わせた対物レンズの自動調整が採用され、より使いやすくなりました。

ソフトウェアとユーザーインターフェイス

制御画面は SEM のオペレーティングソフトウェア、SmartSEM に統合されています。わかりやすいユーザーインターフェイスにより、数回操作するだけでコントラスト設定やゲイン選択などができるようになりました。また、プッシュボタンとプルボタンを使えば検出器の挿入・格納がワンクリックで可能になります。



テクニカルデータ

パラメーター	仕様
ダイオードの種類	後方散乱電子を検出するためのシリコンベースのダイオード、1つのセグメント
画像極性	設定可能。デフォルト:「TEM」と同様のコントラスト
最適作動距離	4 – 6 mm
エネルギー範囲	≤ 7 keV
最適な一次ビーム電流	50 pA – 1 nA
機械モジュール	音響減衰カバー付きの非常に安定した機械モジュール
シンプルなメンテナンス	プラグアンドプレイ方式のダイオード交換
保護	帯電やダイオードの損傷を防ぐための保護カバー 試料/チャンバーのプラズマクリーニング中の保護機能
寿命	検出器ダイオードの予想寿命: 平均的な使用条件で2年
システム統合	ZEISS ハードウェアを実装した衝突制御 加速電圧は7kV未満に限定 EO テーブル補正を適用
ユーザーインターフェイス	使いやすさを追求し、最適化されたインターフェース
挿入および格納	空気圧式

ZEISS Sense BSD 対応モデル:

- Sigma 300, 500
- GeminiSEM 360, 460, 560
- Crossbeam 350, 550
(3D トモグラフィーには利用不可)

ソフトウェア:

- Smart SEM (7.1以降)

後付け可能なシステム:

- GeminiSEM 300, 450, 500
- Crossbeam 540
- Merlin

* 表紙画像: *Tricellaria inopinata* の微細構造。試料ご提供:
Harald Hausen, Sars Centre for Marine Molecular Biology,
University of Bergen, Norway



Carl Zeiss Microscopy GmbH

07745 Jena, Germany
microscopy@zeiss.com
www.zeiss.com/microscopy

Carl Zeiss Co., Ltd.

2-10-9 Kojimachi, Chiyoda-ku
Tokyo, 102-0083, Japan
Phone: + 81-570-02-1310