

新次元の ライブイメージング



ZEISS Dynamics Profiler

生体試料の分子ダイナミクスの観察が容易に



zeiss.com/dynamics-profiler

Seeing beyond

ZEISS Dynamics Profiler

分子インサイトでライブイメージング解析を強化

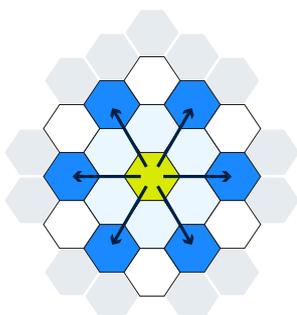
ZEISS Dynamics Profiler では、生体試料中の分子濃度とダイナミクスを簡単に測定できます。ZEISS Airyscan 検出器で収集した情報を用いて、細胞凝縮物の調査に理想的な、不均一な拡散挙動を特性評価することが可能です。フロー測定は、液体中の活発な動きの速度と方向を決定し、マイクロ流体工学と器官チップに関連する一意的な新しいデータを提供します。非常に繊細な試料でも、過度に光を照射したり長時間実験をすることなく観察でき、データ収集の幅を広げることで研究の質を高めることができます。

分子データは、生体試料に関する新しい、そして見過ごされがちな考察をもたらしてくれます。蛍光相関分光法 (Fluorescence Correlation Spectroscopy : FCS) は、分子特性を調べるための確立された方法です。FCS は正確で非常に高感度な方法でありながら、従来は極めて低い発現レベルや、生きた研究試料中の実験的発現レベルをはるかに下回る分子濃度にしかな用いることができませんでした。

ZEISS Airyscan は全検出素子を使用した独自の 방법으로、測定ごとに 32 個の FCS 強度トレースを収集します。明るい試料であっても、内側にある素子 19 個の平均値を用いて分子濃度と分子ダイナミクスを確実に測定し、信頼できるデータを取得します。さらに、エリア検出器では、単一の検出素子を組み合わせることで様々な空間相互相関分析が可能です。

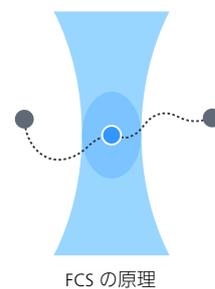
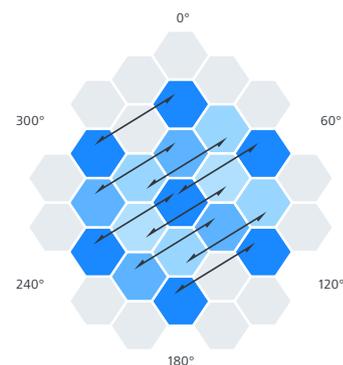
非対称拡散の測定

非対称拡散の解析は、検出器の中央の素子と外側のリングの素子を相互相関させることで計算され、1つの励起体積内の不均一な特性を明確にするとともに、細胞凝縮体のような試料の調査に最適です。



フロー測定

励起体積に沿って複数の方向にグループ化・整列された検出器ペアの相互相関により、マイクロ流体システムや血流内の蛍光色素など、活発に移動する分子の速度と方向を測定することが可能です。



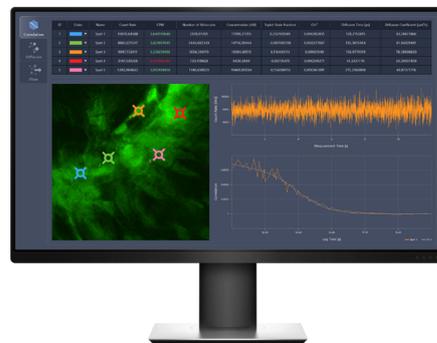
FCS の原理



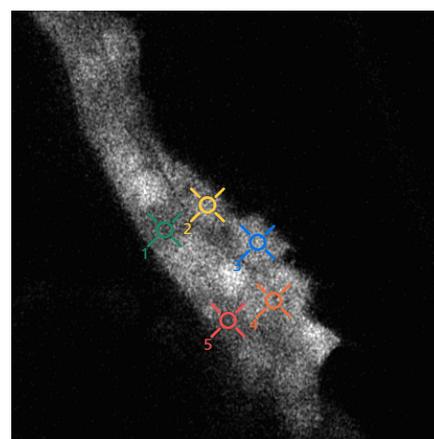
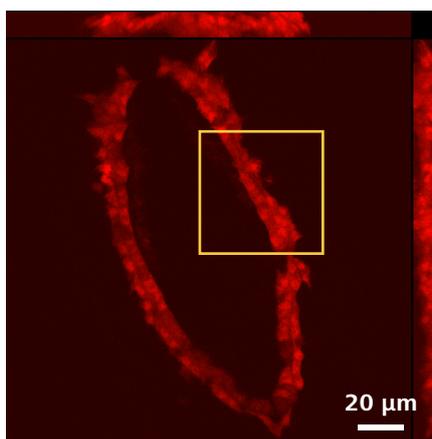
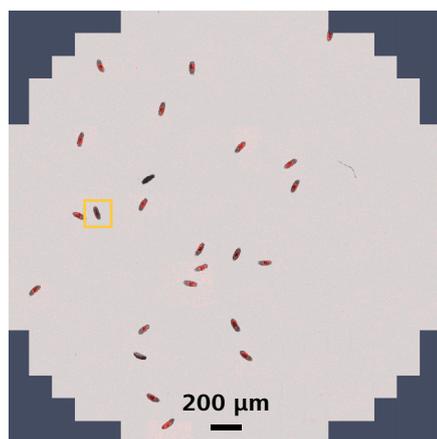
Dynamics Profiler の原理

分子ダイナミクスへのアクセスが、驚くほど簡単に 品質管理が組み込まれたガイド付き測定ウィザード

分子ダイナミクスの実験は、必要な装置や高度な訓練を受けた人材の不足によって、制限されがちです。Airyscan 検出器搭載の ZEISS 共焦点顕微鏡には、Dynamics Profiler 機能を簡単に追加できます。この機能があれば、共焦点顕微鏡に慣れたユーザーなら、従来の共焦点イメージングを超えて、目的のタンパク質に関する分子濃度やダイナミクスの情報を収集することができます。また、ガイド付きワークフローウィザードによって、正確な収集設定と使いやすいデータ品質管理が保証されます。リファレンス画像は、試料の背景や測定位置の文書化に有用で、包括的なデータ可視化により、取得した情報への直感的なアクセスが可能となります。現在の生体試料実験に分子ダイナミクス測定を追加することが、かつてないほど容易になりました。



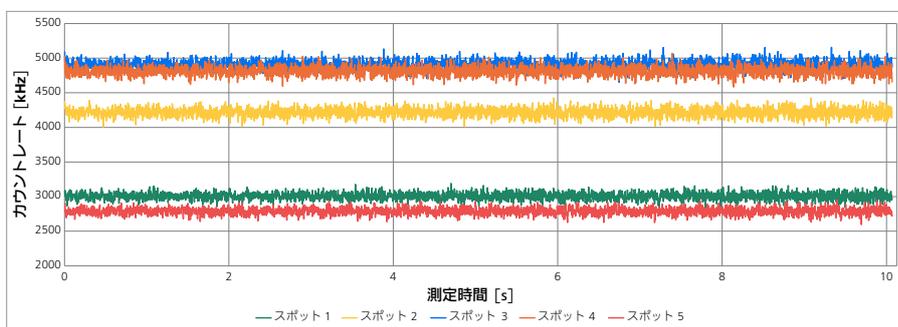
複雑で明るい試料を用いたライブイメージング実験に、分子ダイナミクス情報を追加する



従来の蛍光画像取得：ZEISS LSM Plus と 10x 対物レンズで取得したオーバービュー画像（左）、ZEISS LSM 980 with Airyscan 2 と 40x/1.2W オートコア対物レンズで取得したショウジョウバエ心臓の Z スタック（右）。

同一システムにおける同一胚内での、その後の Dynamics Profiler 測定

蛍光タンパク質のダイナミクスや濃度測定を共焦点実験にプラスするのは容易です。この試料は、3 番目のイントロン内に位置する心筋・造血エンハンサー（Han and Olson, 2005）の Hand 遺伝子の制御下で mCherry を発現しているショウジョウバエの胚を示しています。このレポーターの発現は、心臓における内因性の Hand の発現を模倣しており、心筋細胞だけでなく心膜細胞においても胚発生を通じて維持されています。このような明るい試料でさえも、Dynamics Profiler ならロバストな FCS データを取得し、異なる細胞内の分子濃度を比較することが可能です。



	濃度 [nM]	拡散係数 [$\mu\text{m}^2/\text{s}$]
■ スポット 1	17918.27355	83.74677466
■ スポット 2	14716.59444	81.16029492
■ スポット 3	18384.69515	78.38938829
■ スポット 4	14063.53361	92.30007408
■ スポット 5	10469.80034	49.87371716

試料ご提供：Prof. Dr. Achim Paululat and Dr. Christian Meyer, Osnabrück University, Department of Zoology and Developmental Biology, Germany

生体試料から新たな洞察を得る

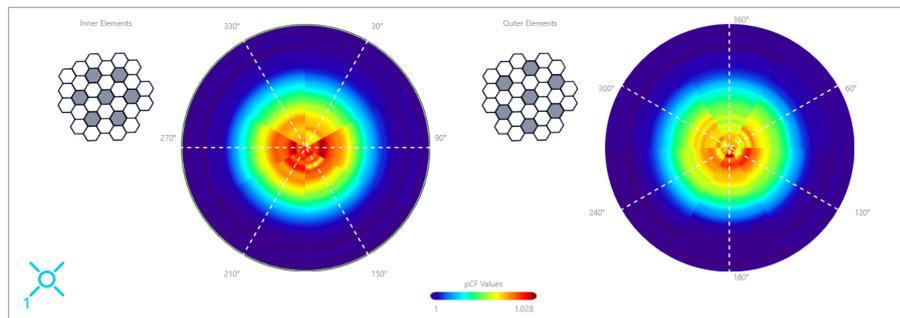
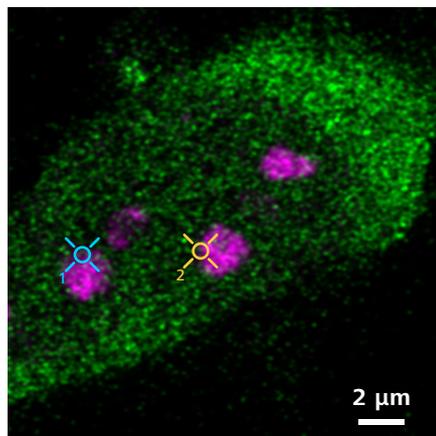
現在の実験にダイナミクス測定を追加する

これまでの共焦点法では、各試料につき1回しか測定できないことや、露光による光毒性があるなどの制約があるにもかかわらず、光退色後蛍光回復法（Fluorescence Recovery after Photobleaching：FRAP）のようなテクニックを応用して分子ダイナミクスを測定してきました。また、従来の蛍光相関分光法（Fluorescence Correlation Spectroscopy：FCS）は、蛍光タンパク質の濃度を正確に測定できませんが、追加の装置が必要な上に、経験豊富なユーザーでさえ難しい技法です。Dynamics Profilerは、直感的で使いやすいインターフェースを採用した初めてのツールであり、共焦点イメージング実験中に、短時間かつ少ない光量で、これらのデータに簡単かつ同時にアクセスすることができます。FCSを基に開発された独自の方法により、明るく観察が困難な試料でも測定が可能です。



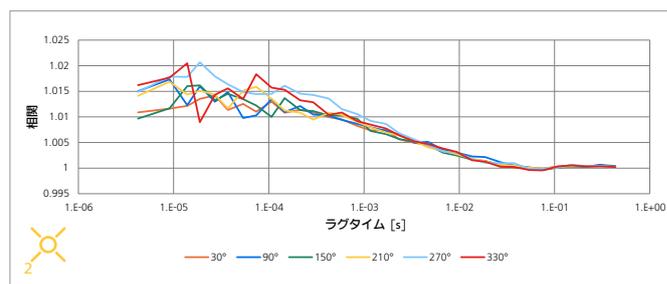
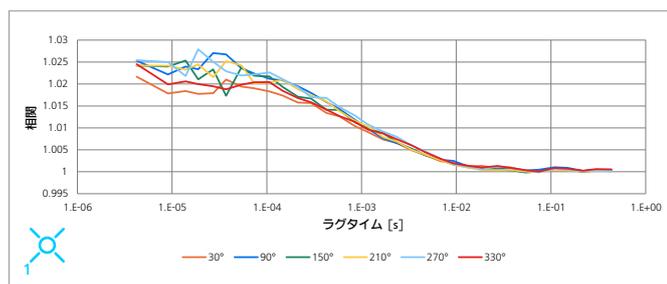
核小体の境界におけるダイナミックな変化を見極める

四量体EGFPおよび単量体赤色蛍光タンパク質でタグ付けされた、核小体タンパク質フィブリラリンを一時的に共発現させた生きたU-2 OS細胞に対して、共焦点オーバービュー画像に示される核小体の境界で、Dynamics Profilerによる測定を実施しました。試料ご提供：P. Hemmerich and T. Ulbricht (Core Facility Imaging, Leibniz Institute on Aging, Jena, Germany)



上:ZEISS LSM 900 with Airyscan 2のDynamics Profilerで取得し、測定用スポットを配置したリファレンス画像。

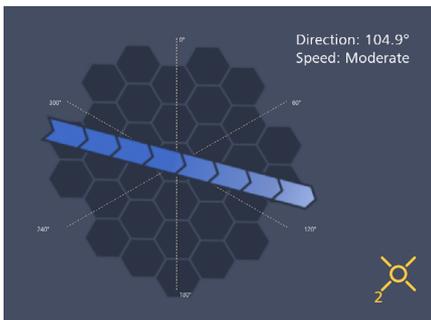
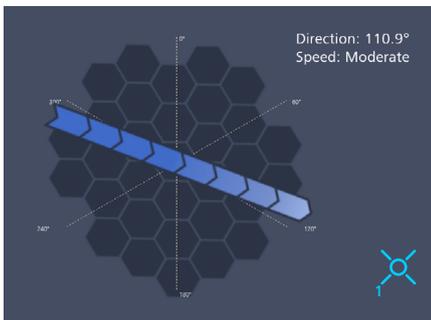
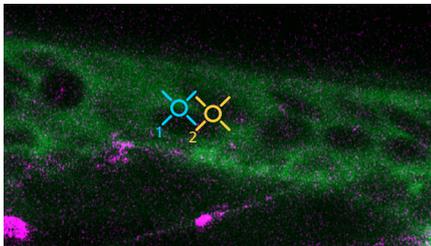
右:スポット1(上段)とスポット2(下段)における非対称拡散測定のグラフ。核小体境界におけるEGFPの分子ダイナミクスの解析。



スポット1(左)とスポット2(右)内の6つの角度に沿った内側のAiryscan素子の対相関による非対称拡散測定

新しい分子的知見を得る 非対称拡散とフロー解析

従来の FCS において、分子測定は単一の励起体積に制限されてきました。Airyscan エリア検出器を利用すれば、Dynamics Profiler がさらなる空間情報を捉え、1 回の測定でこれまでにない詳細な分子プロファイル解析が行えるようになります。非対称拡散ツールは、細胞凝縮につながる液液相分離の界面など、単一の点拡散関数内における非対称拡散挙動を捉えることができます。フロー解析ツールは、1 回の励起体積内で蛍光分子の速度と方向を測定でき、血流中の生物学的プロセスなどの溶液の活発な動きや、器官オンチップなどのマイクロ流体システムの測定に最適です。各測定の生データは、さらにカスタマイズされた分析に利用できます。

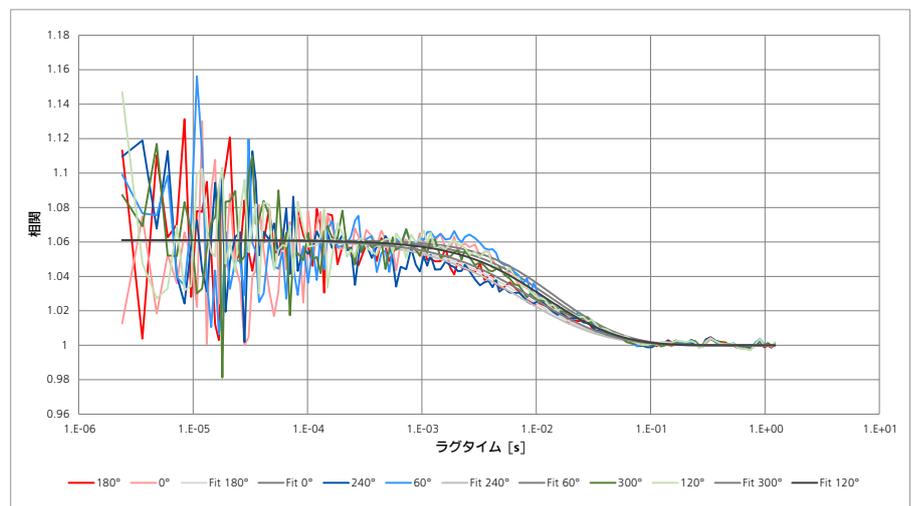
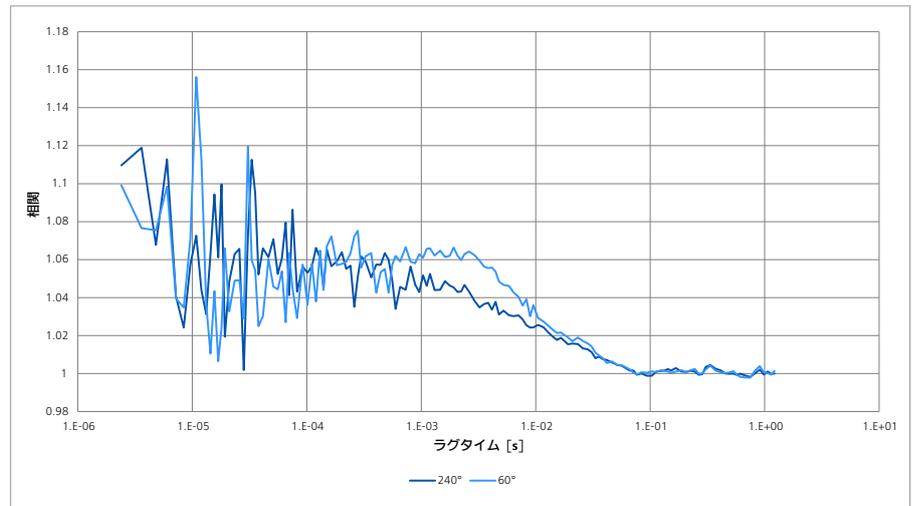


LSM 980 with Airyscan 2, 40x/1.2W オートコア対物レンズで取得したリファレンス画像と Dynamics Profiler データ。血管を流れる分子の方向と速度を、2つの異なるスポットで測定。グラフ(右)は、スポット1内における測定の相関曲線: 選択した角度の相関曲線(上)、3軸に沿った6つの相互相関のうち実際の流速と方向の結果(下)。

ご提供: V. Hopfenmüller, Leibniz Institute on Aging - Fritz Lipmann Institute (FLI), Germany

ゼブラフィッシュ幼生の血管内における流速を測定する

Airyscan 検出器が提供する空間情報によって、血液中の分子流速を求める分析が可能となります。テトラメチルローダミン標識デキストラン (10 kDa、Dynamics Profiler 測定) とフルオレセイン標識デキストラン (40 kDa、血管標識) を、1% 低融点アガロースに包埋した 5 日齢のゼブラフィッシュ幼生の血管に注入しました。



共焦点顕微鏡用 ZEISS Dynamics Profiler

システムアップグレードにより隠れた分子プロファイルを解明



ZEISS LSM 980 with Airyscan 2

高速・低ダメージのマルチプレックスイメージングによる独自の共焦点体験

→ zeiss.com/lsm980



ZEISS LSM 900 with Airyscan 2

低ダメージのマルチプレックスイメージングとスマートな解析を可能にするコンパクト共焦点顕微鏡

→ zeiss.com/lsm900

ZEISS Dynamics Profiler の特長

ガイド付きワークフローウィザード	✓
オリエンテーションのためのリファレンス画像	✓
最大 10 点まで測定可能	✓
データ評価と品質管理を容易にするグラフィカルなビジュアル	✓
明るい試料の測定	✓
対相関（非対称拡散）	✓
フロー測定（速度、方向）	✓
カスタマイズされたフィットモデルのための生データ	✓
データ・グラフ・画像のエクスポート	✓
追加キャリブレーションなしの拡散係数と分子濃度	✓
自動 Airyscan キャリブレーション	✓
時間分解能	1.2 μ s、0.5 μ s
FCCS	n/a*
最大 7 チャンネルのスペクトル FCS	n/a*

互換性

LSM 980 Airyscan 2	C-Apochromat 40x/1.2 W Corr FCS
	LD LCI Plan-Apochromat 40x/1.2 Imm Corr DIC FCS
	C-Apochromat 63x/1.2 W Corr FCS
	LD LCI Plan-Apochromat 25x/0.8 Imm Corr DIC
LSM 800/900 Airyscan 2 Type 40x	C-Apochromat 40x/1.2 W Corr FCS
	LD LCI Plan-Apochromat 40x/1.2 Imm Corr DIC FCS
LSM 800/900 Airyscan 2 Type 63x	C-Apochromat 63x/1.2 W Corr FCS

* LSM 980 FCS で使用可能

Carl Zeiss Microscopy GmbH
07745 Jena, Germany
microscopy@zeiss.com
www.zeiss.com/dynamics-profiler

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