

研究機器紹介

共焦点顕微鏡 CV1000 (横河電機製)

中央研究施設 形態部門

共焦点顕微鏡 CV1000 (図1) は、平成24年度の私学助成金補助を受けて平成25年3月に設置されました。当施設には同時期に設置されたもう1台の共焦点顕微鏡 Carl Zeiss 社製 LSM710 (本誌第43巻1号で紹介) がありますが、LSM710 が正立型顕微鏡システムであるのに対し、CV1000 は倒立型顕微鏡システムになっています。またこの機械には培養装置が組み込まれており、試料を生きた状態に保ちながら一定間隔で撮影する time-lapse 撮影法 (live cell imaging) に適した構造になっています。この装置を販売している横河電機(株)は以前より高性能の共焦点スキャナユニットを販売していることで知られていますが、この装置はそのスキャナユニットを含む光学系と培養装置等を一つの筐体に組み込んであり、共焦点顕微鏡としてはコンパクトな設計となっています。励起光源としては3種のレーザー (405 nm, 488 nm, 561 nm) を搭載し、画像検出には 1024×1024 pixels の電子増倍型 CCD (EMCCD) カメラを用いています。

この装置の優れた点としては蛍光検出感度が高く、高速撮影が可能であることが第一に挙げられます。画像取得に用いている EMCCD カメラは高感度であり、微弱蛍光の検出が可能であると同時に撮影時の露光時間が短くて済むため、高精細画像や広範囲画像の高速連続取得が可能です。また断層画像の撮影に必要な Z 軸方向制御モーターも高速に作動し、例えば1枚100万画素の Z 軸断層画像を50枚

撮影するのに要する時間は1色あたり約30秒で済みます。これは従来機種に比べると驚異的なスピードです。また XY 方向にも位置指定が可能な電動ステージが組み込まれているため、複数の撮影ポイントで多点撮影を行ったり、視野をずらしながらタイル状に撮影した複数の画像を組み合わせで1枚の広範囲画像を作成することも短時間に行なうことができます。もう一つの特徴は、撮影中の培養液蒸発やフォーカスのずれを最小限に抑えることができる密閉度の高い培養チャンバーが組み込まれているため、長時間の time-lapse 撮影が可能であることです (オートフォーカス機能あり)。φ35 mm dish を用いた場合、最長では1週間程度の連続撮影が可能です。この培養チャンバーには φ35 mm dish 以外にも各種プレート (6~96 穴) を装着可能なアタッチメントが用意されています。尚、鮮明な画像を撮影する為には底面が薄いガラス製のディッシュやプレートを使用する必要がありますが、培養器のメーカー毎に僅かに異なるサイズを考慮した付属品や設定情報が予め用意されているため、実験の際にはその中から適合する物を選ぶことによって最適な条件での撮影が可能です。

図2は CV1000 を用いて撮影した癌細胞の異常分裂を示しています。この細胞は甲状腺癌細胞に tubulin と GFP の融合遺伝子を導入し、GFP の蛍光により tubulin を可視化したものです。正常な細胞は2極性に分裂しますが、癌細胞ではしばしばこのような4極分裂や非対称分裂等の異常分裂を起こすことがあります。しかしその頻度は決して高くないため、このような瞬間を記録できることは稀です。この画像は48時間に亘ってタイムラプス撮影した際に偶然撮影されたものですが、多数の画像を連続して撮影可能な本機だからこそ撮影できたとも考えられます。

既に各方面で利用されていますが、試料作成法を含めて実験には比較的高い技術が必要となるため、装置の稼働頻度としてはそれほど高いわけではありません (2017年度の利用実績は209時間/19回)。初回使用時や使用中に疑問が生じた場合にはスタッフができる限りサポートしますので、今後更にこの装置が活用されることを期待します。



図1. CV1000 の全体像。

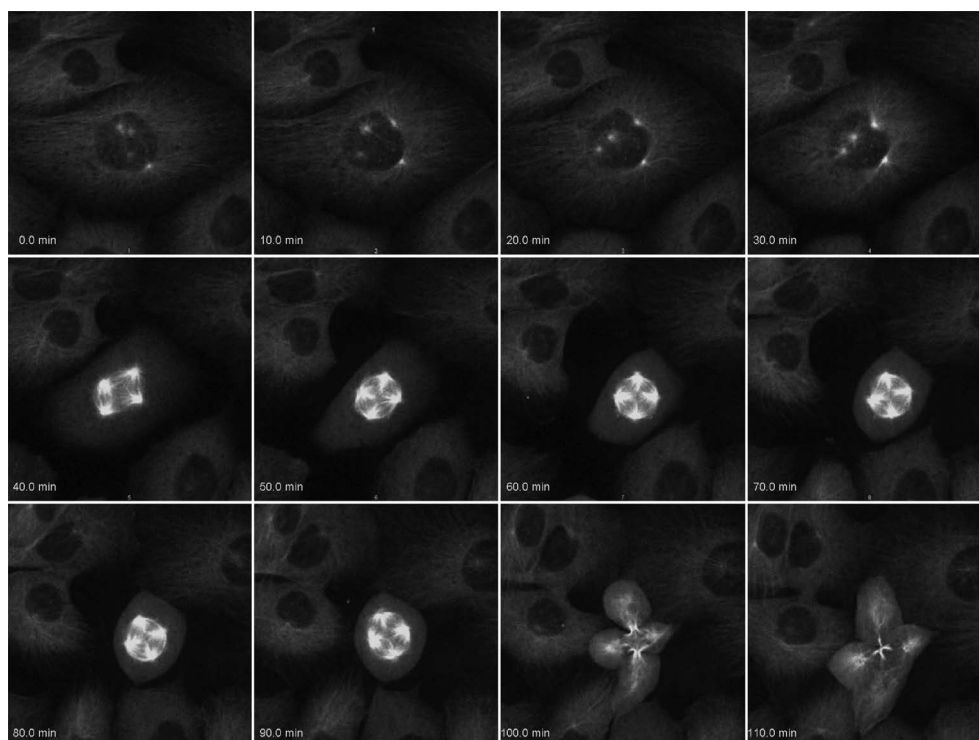


図 2. Tubulin-GFP を発現する甲状腺癌細胞 (KTC-1) の GFP 蛍光を記録した time-lapse 画像. 40 倍の対物レンズを使用し, 10 分間隔で 288 回 (48 時間) 撮影した画像の一部を抽出した. 1 回の撮影画像は, Z 方向に $0.5\ \mu\text{m}$ 間隔で 45 枚撮影した画像を重ね合わせて作成している. 分裂前に現れた 4 つの中心体を起点に 4 極性の紡錘体が形成され, 細胞が 4 極性に分裂する様子が記録されている.