

# 目新しいチューニングアプローチで強化される超解像度脳イメージング

光学顕微鏡で理論的に達成可能な約250nm分解能は、生きたニューロンなど微細な細胞構造を徹底的に調べるにはとても十分とは言えない。誘導放射抑制(STED)顕微鏡は、そのような生きたニューロンを高い解像度で、深いイメージングを可能にするが、研究者は、さらに上回る方法を発見した。

仏ボルドー大の研究者は、簡素かつ効果的で新しい補正法を開発した。より正確なSTEDイメージングを一段と深い組織深度で可能にする。チームは、「適応光学に基づいた方法を検証して、イメージング深度の関数として球面収差を事前に補正すること」を究極的に目指していた。

Neurophotonicsに発表された研究は、「生物サンプルのSTED顕微鏡法における系統誤差の主因の1つ」、つまり、枯渇ビームの球面収差を分析及び補正するアプローチを紹介している<sup>(1)</sup>。

ヴァランタン・ネガール教授(U. Valentin Nägerl)をリーダーとするチームによると、「40μm以上の非常に

深い位置の組織サンプルのイメージングでは、枯渇ビームが、さまざまな種類の焦点ずれや劣化(収差)の影響を受け、慎重に作成した形状を失う」、STED法では致命的である。研究者は、「最大の元凶」と言及している球面収差を特別に調べた。

研究では、チームはまず、金と蛍光ナノ粒子の幻影サンプルの収差を計測した。これらは、脳組織と屈折率がほぼ一致するアガロースゲル中に浮かんでいる。空間光変調器を使い、チームは正しい位相シフトを適用した。これにより明瞭な視覚化ができ、研究者は、枯渇ビームの形状が、深く進むにつれてどのようにひずむかを定量化することができた。

研究によると、イメージングは、特注直立STED顕微鏡で達成された。これは、900nmのパルス励起及び592nmパルス枯渇に基づいている(図参照)。

「われわれは補正方針を利用して、生体組織内90nmの深さで80nmの小さなニューロン構造を計測することが

できた。また、球面収差補正後、60%の信号増を達成した」とネガール教授は話している。

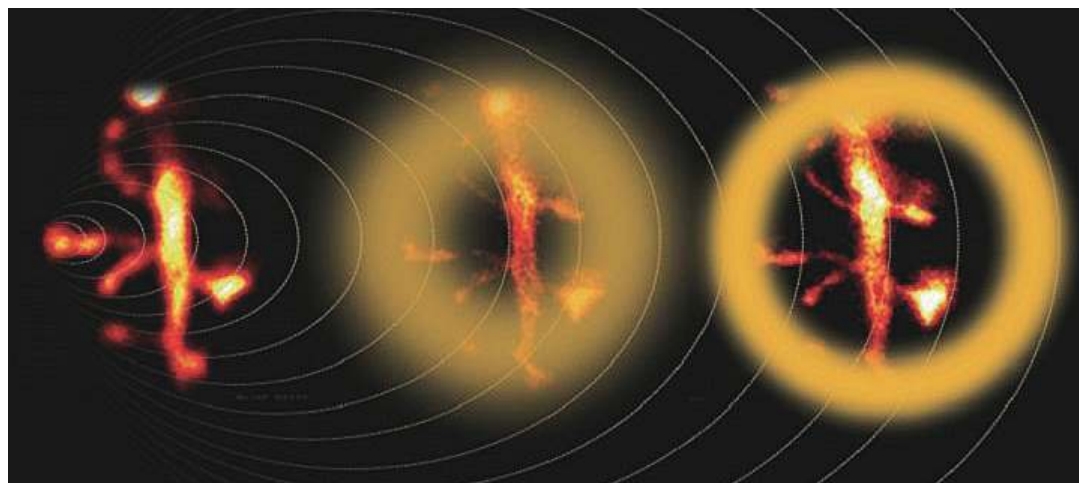
最終的にチームは、補正されたSTED画像が、「標準STED画像よりもはるかに優れた深部神経樹状突起の細部をとらえた」ことを確認した。

研究者は、その「新しい補正プロセス」は「ロバストで、容易に実装でき、比較的安価」であり、標準のラボ実践との統合が容易になっていることを確認した。これによりSTED顕微鏡で、より優れた成果が得られる。ただし「準備された幻影サンプルが生体試料の光学特性と一致する限りにおいて」である。

「われわれのアプローチは、脳のサンプルに限られない」とネガール教授は言う。「既知の比較的均一な屈折率の他の組織、また多種の標本、無傷の生きたマウスの脳でさえ適用可能である」。(Justine Murphy)

## 参考文献

- (1) S. Bancelin et al, Neurophotonics (2021); doi:10.1117/1.nph.8.3.035001.



適応光学によって強化されたマルチフォトンSTED顕微鏡がニューロン樹状突起の細部をとらえる。