

Denoise.aiを使用した、レゾナントスキャナーによる高速高解像度3Dイメージング

レゾナントスキャナーは高い時間分解能での共焦点イメージングが可能のため、生細胞イメージングに適しているが、解像度の点においてはガルバノスキャナーのほうが優れている。しかし、共焦点レーザー顕微鏡システムAX Rのレゾナントスキャナーは、2Kのピクセル解像度を実現しているため、高解像度な画像を高速で取得できる。さらに、画像統合ソフトウェアNIS-Elementsの顕微鏡用AIモジュールDenoise.aiを使用することにより、レゾナントスキャンの際に発生するショットノイズの除去が可能である。露光時間を短縮し光退色を低減できるため、固定標本の画像取得にも有効である。本アプリケーションノートでは、Denoise.aiを使用することにより、レゾナントスキャナーを使用して高精細画像を高速で取得した例を紹介する。

レゾナントスキャナーによる高速Zスタック画像取得

神経筋接合部 (Neuromuscular junction: NMJ) では、運動ニューロンの神経終末から神経伝達物質のアセチルコリンが放出され、筋肉細胞に存在するアセチルコリン受容体がこれを受け取ることで、筋肉細胞の脱分極と筋収縮が誘導される。高速レゾナントスキャナーを使用することにより、NMJの構造およびサルコメアと呼ばれる筋肉特有の縞構造を、短時間で観察できた (図1)。

レゾナントスキャナーはガルバノスキャナーよりも高速で画

像取得できるため、ガルバノスキャナーを用いて図1の画像を1XのアベレーシングでZスタック取得した場合は、レゾナントスキャナーの約1.6倍の9分53秒の時間を要した。また、AX Rのレゾナントスキャナーは2Kまでの解像度に対応し、ガルバノスキャナーに匹敵する高画質画像を短時間で取得できる。さらにDenoise.aiを使用することにより、レゾナントスキャナーに特有のショットノイズを除去した高精細な画像を得ることができた (図2)。

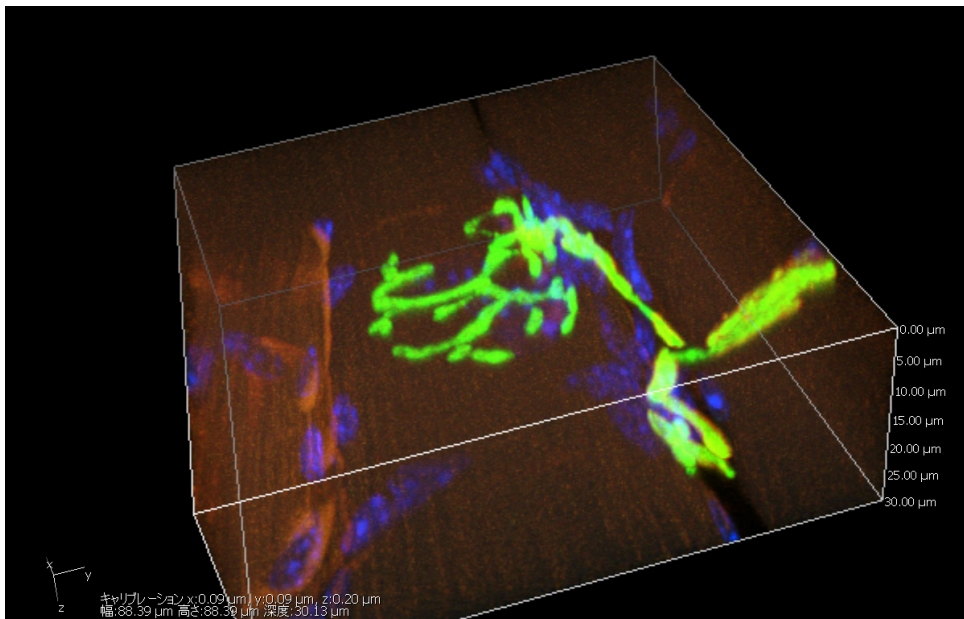
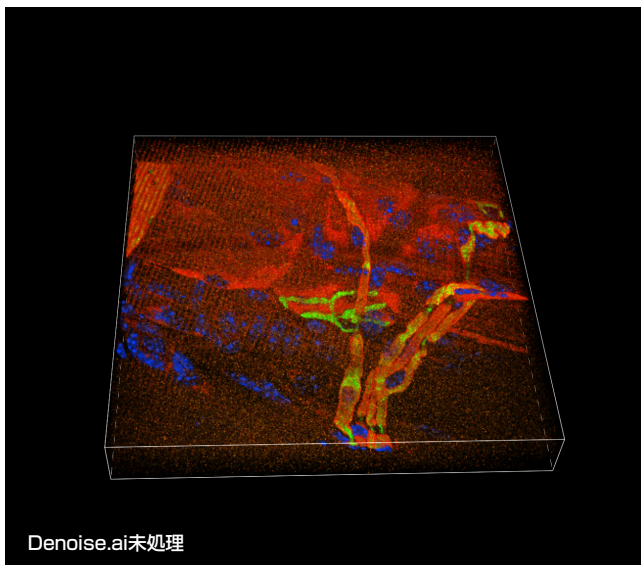
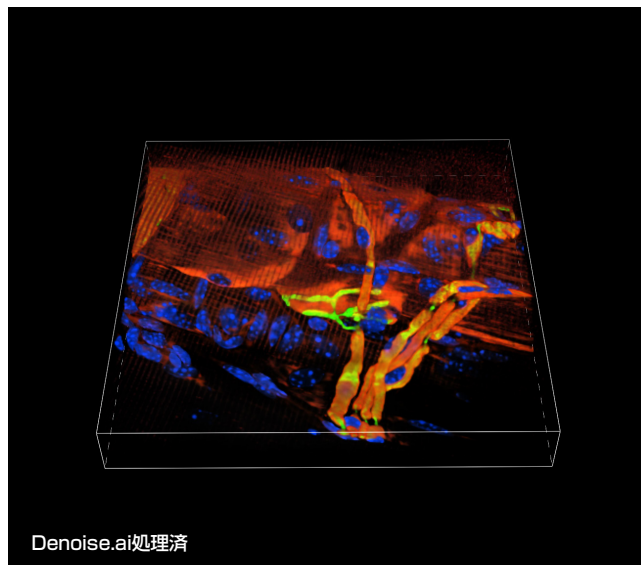


図1. レゾナントスキャナーによる高速イメージングで取得したNMJ

サンプル：マウスの神経筋接合部 (Neuromuscular junction: NMJ)
 DAPI：核 (青)、GFP：運動ニューロン (緑)、Alexa 555：アセチルコリン受容体 (橙)、CMDR、細胞膜 (赤)
 スキャナー：レゾナント、アベレーシング：8X (毎フレーム2.1秒)、解像度：1K x 1K画素
 Zスタック取得時間：6分15秒、Z深度：30.127 μm、Zステップ：0.205 μm、148枚撮影、
 チャンネル：Minimal crosstalk、スキャンモード：双方向スキャン
 対物レンズ：CFI Plan Apochromat Lambda S 40XC Sil



Denoise.ai未処理



Denoise.ai処理済

図2. レゾナントスキャナーで取得したNMJ (左図) とDenoise.aiで処理した後の作例 (右図)

スキャナー：レゾナント、アベレーシング：なし、解像度：1K x 1K画素、
Zスタック取得時間：1分35秒、Z深度：30 μm、Zステップ：0.343 μm、89枚撮影
チャンネル：Minimal crosstalk、スキャンモード：双方向スキャン
対物レンズ：CFI Plan Apochromat Lambda S 25XC Sil

Denoise.aiとの組み合わせで、レゾナント画像の低ノイズ化を実現

Denoise.aiは、レゾナントスキャンに特有のショットノイズを自動で除去する顕微鏡用AIモジュールである。レゾナントスキャナーと組み合わせて使用することにより、アベレーシング処理を行うことなく、低ノイズの画像取得が可能である。AX Rのレゾナントスキャナーを高解像化したこと、およびDenoise.aiを開発したことにより、画像取得時間を短縮し光退色を軽減しながら、ノイズを抑えた高解像度の画像が取得可能となった(図2)。これは、レゾナントスキャナーを使用した、生体組織切片など大型サンプルの3次元イメージングにおいて非常に有用である。

まとめ

レゾナントスキャナーは高速でイメージングできるため、ガルバノスキャナーよりも画像取得時間を短縮でき、イメージングの効率化が図れる。さらに、Denoise.aiを使用することにより、レゾナントスキャン時に生じるショットノイズを除去し、鮮明な画像を取得することが可能である。

製品情報

共焦点レーザー顕微鏡システム AX/AX R

AX/AX Rは、従来機比4倍の8K x 8K画素の高解像度画像を実現。対角25 mmの広視野でサンプルの広範囲を一度に取得でき、光毒性を低減します。AX Rのレゾナントスキャナーは、2K x 2Kの高解像度を実現。毎秒720フレーム(2048 x 16画素)の高速取得により、生きたサンプルの動態を逃さずとらえます。

