

共焦点イメージングスペクトロフォトメーター

樋口 亜紺^{*1}・名取 静恵^{*2}

Confocal imaging spectrophotometer

Akon HIGUCHI^{*1}, Shizue NATORI^{*2}

成蹊大学ハイテクリサーチセンター整備事業に伴い、プロジェクト2「人に優しい次世代有機・バイオ材料の開発と評価」において、共焦点イメージングスペクトロフォトメーター（ライカ マイクロシステムズ社、TCS SL）を2005年度に導入された。共焦点イメージングスペクトロフォトメーターの特徴は、従来の蛍光顕微鏡では観察できなかった組織や細胞の3次元構造を解析することが可能である。光源には、一般の蛍光顕微鏡で用いられている水銀光源ではなく、光を集光可能なレーザー光源を用いられていることで、試料をスキャンしながら蛍光の画像を取り込める。また、焦点面のみの画像が得られるために、厚みのある組織などを光学的にセクションを行うことができ、最終的にコンピュータ上で3次元立体構築画像を得ることが可能である。共焦点イメージングスペクトロフォトメーターの概略を図1に示す。

共焦点イメージングスペクトロフォトメーターの機能は、
(a) 一般光学顕微鏡としての組織切片・培養細胞の観察、
(b) 蛍光顕微鏡としての蛍光染色した試料の観察、

(c) レーザー光源を用いてスキャンすることで、より解像度の高い画像の取得、
(d) 共焦点機能を用いることで焦点面以外の画像を取り除き焦点面のみの画像を取得、
(e) 取り込んだ画像を呼び込んで、三次元立体構築像の作成、
(f) 多重蛍光染料試料の同時取り込み、
などである。

共焦点イメージングスペクトロフォトメーターを用いて、取得した画像の一例を図2に示す。図2には、心筋細胞、繊維芽細胞、植物プリオニウムの細胞、フルオ細胞のレーザー共焦点像を示す。励起光は450 nmから750 nmまでの波長で、最大8励起波長まで同時に使用でき、組み合わせの自由度が高い、図2のような多重染色が可能となり、より詳細な細胞の形態・内部構造を鮮明に観察できる。



Fig.1 Overview of Confocal imaging spectrophotometer.

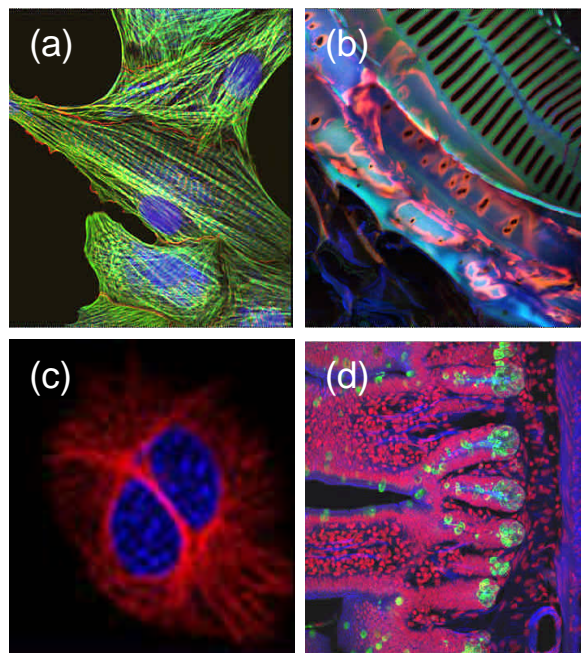


Fig. 2 Confocal spectra of heart muscle (a), prionium (b), fibroblasts (c), and fluocells (d).

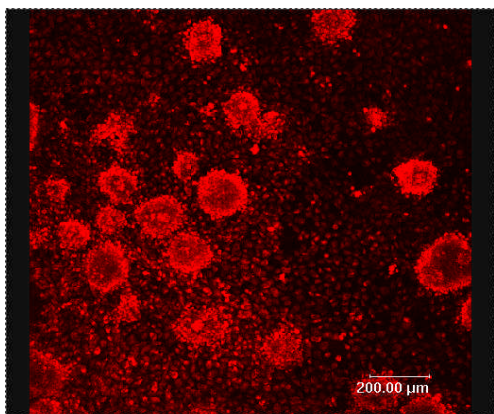
^{*1} 成蹊大学理工学部物質生命理工学科教授 (Professor, Dept. of Materials and Life Science)

^{*2} 成蹊大学理工学部物質生命理工学科 (Dept. of Materials and Life Science)

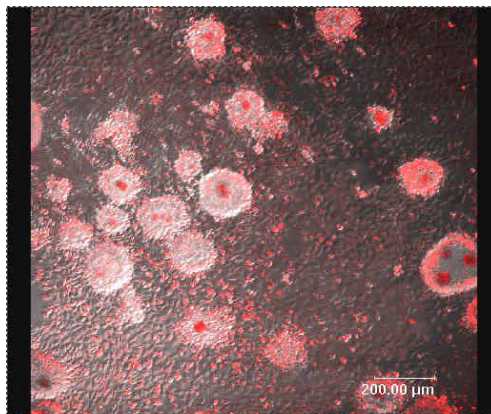
図3には、本プロジェクトで開発したバイオイナートな細胞培養基板上で培養したマウス繊維芽細胞のレーザー共焦点像 (a) とレーザー共焦点像と微分干渉顕微鏡との重ね合わせ像を示す。このような細胞の詳細な接着形態を観測する技術は、本プロジェクトで開発しているバイオイナートな材料表面における各種 stem cell (幹細胞) の分離・培養に関する応用において、真価を発揮する

にちがいないと考えている。

最近、3次元多孔体中に肝細胞を培養して、ハイブリッド型人口肝臓の構築を基礎的に研究を行っている。3次元多孔体中の肝細胞を生きた状態で観察し、さらに断層像を観察するのにも、本機器は大いに役立っている(図4参照)。



(a) Confocal laser scanning microscope image



(b) Overlapped image taken from confocal laser scanning microscope and differential interference microscope

Fig. 3 L929 cells cultured on Pluronic dish after 7days incubation. Image taken from a confocal laser scanning microscope (a) and overlapped image taken from confocal laser scanning microscope and differential interference microscope (b)

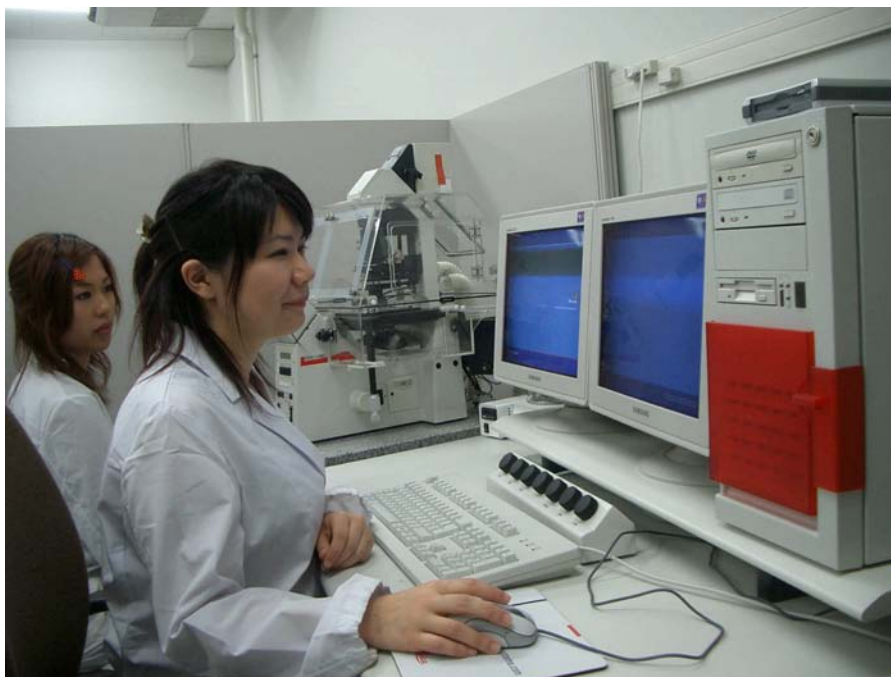


Fig. 4 Analytical scene of cells using confocal imaging spectrophotometer.