

深層機能イメージング (DFI) FEMTO 3D ATLAS

2 光子顕微鏡の最も重要な利点の 1 つは、組織の表面だけでなく、より深い層も検査できることです。共焦点顕微鏡は組織を貫通できますが、その深さはわずか数十マイクロメートルに制限されます。

そこで、根本的な疑問が生じます：

脳内のどの深度まで効果的に視覚化できるのでしょうか？

その答えは、レーザーの波長と種類、ラベリングの品質、組織の種類、準備の品質など、多数の外部パラメータに依存します。さらに、イメージングソリューション自体が、表面から 1 mm を超える深さを実現する上で重要な役割を果たします。これに関連して、深部機能イメージングへのアプローチを紹介します。

より深い皮質層と海馬は、広く研究されている脳領域です。FEMTO3D Atlas と FEMTO3D Atlas Plug & Play を使用した深部機能イメージング (DFI) は、さまざまな深部脳領域に対する高速 3D イメージング手段も提供します。

顕微鏡の深度浸透能力の向上には、いくつかの技術的要素が貢献しており、それらはすべて、付属の駆動ソフトウェアである MES とともに、FEMTO3D Atlas および FEMTO3D Atlas Plug & Play に統合されています。

- 適切な分散補償
- 横方向および深さ依存の強度補正
- 散乱光に最適化された大NA非デスクアン検出器
- 高品質に最適化されたフィルターセット
- 高QE GaAsP検出器モジュール
- 深さに応じたビーム拡大

イメージング中に
何が起きて
いるのか？

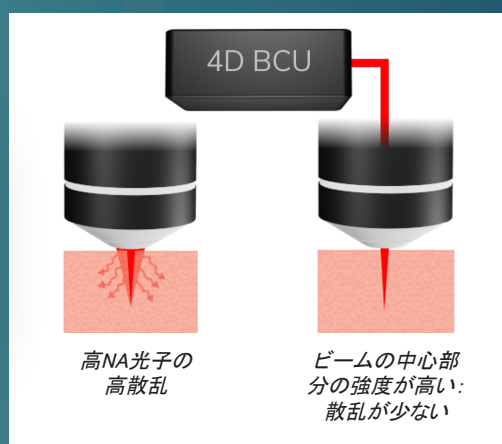
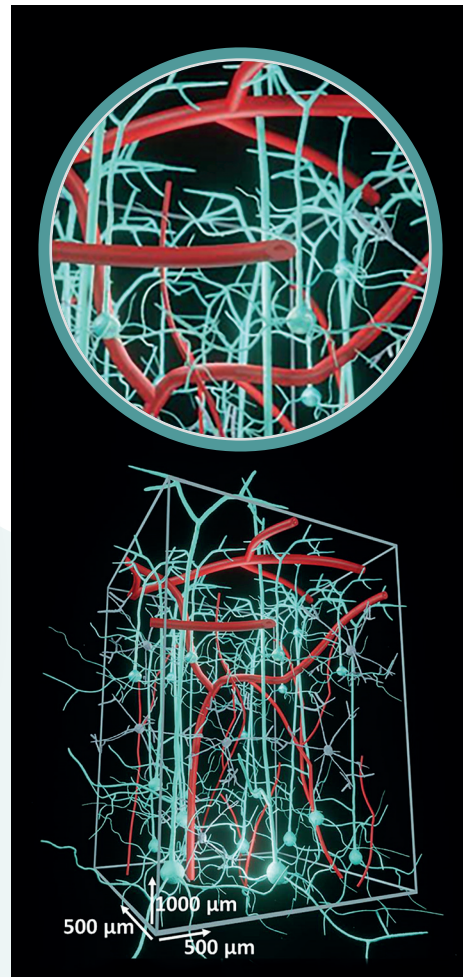


図 1. 深部イメージング中に対物レンズをアンダーフィルした場合の影響を示す図。高 NA の光子は焦点に到達する前に散乱する傾向があります。逆に、対物レンズをアンダーフィルすると光子はより狭いビームに焦点を合わせられるため、光子の散乱が減少します。



より深い領域に到達すると、特に開口数 (NA) の高い対物レンズの場合、ビーム コーンの端で光子の散乱がより顕著になります。その結果、イメージングの強度が大幅に低下します。この問題に対処するには、イメージングレーザー ビームの直径を小さくすることが重要です。レーザー ビームを細くすると散乱が最小限に抑えられ、組織のより深い部分での画質が向上します (図 1)。

深層機能イメージング (DFI)

FEMTO
3D ATLAS

全てに深みを

DFI は、精密な染色技術を適用することで、組織構造を物理的限界まで詳しく調べる可能性を提供します。光の波長はイメージングの深度に重要な役割を果たし、波長が長いほど、より深く浸透することができます。

表面から測定すると、最適化されたビーム径で 1 mm の深さを実現できます (図 2)。この機能は、生体内での覚醒実験中に脳のメカニズムを視覚化することにも拡張されます。

特徴:

- 4D BCU および MES に完全に統合。
- 対物レンズ瞳孔でのビーム径の便利な直接制御。
- スライディング レンズ機構によって実現される低い指向性は、Atlas スキャンヘッドのビーム安定化システムによって完全に補正。
- 波長に依存しないビーム径調整。
- 特定のレーザーに合わせて調整。
- 750~1050 nm の波長範囲に最適化され、AR コーティング処理。
- 対物レンズ下の焦点シフトは最小限で、対物レンズの移動または AO フォーカスによって簡単に補正。
- Z スタックおよびメタプロトコル中にプログラムで調整可能。
- アップグレードとしてインストール可能。

機能的イメージング中のSNRの向上

強度が高ければ高いほど、イメージング中に取得される情報量も増加します。海馬の画像化は、DFI の可能性を強調する優れた例です

(図 2)。組織の損傷を回避することで、より高い信号対雑音比 (SNR) を実現でき、取得時間の延長と空間分解能の向上が可能になります。

利点:

- 有効励起開口数の正確な制御。
- 浸透深度は最大1mm。
- 深部イメージング中の散乱による電力損失の低減。
- 焦点スポット (PSF) サイズを微調整して、モーションアーティファクトを補正したり、イメージングや光刺激のポリウムを増強。
- 収差によるパワー損失の減少 (未補正カバーガラスによる)
- 中倍率および高倍率対物レンズの透過率が向上。
- より高い $|Z|$ 値でも透過率が向上し、有効な音響光学 Z (I モード) フォーカス範囲が拡大。

マウス大脳新皮質における深部機能イメージングの例。

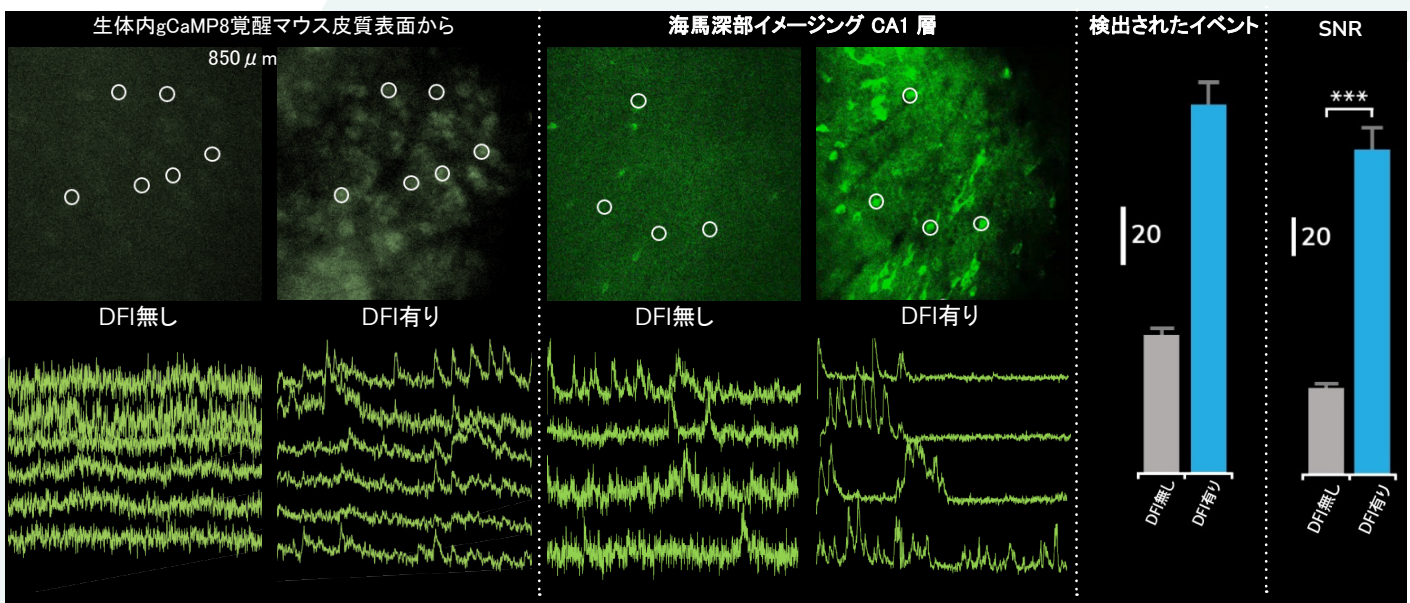


図 2. 提供された例で DFI の利点を示しています。左側には、 $-850 \mu m$ での新皮質取得が表示され、右側には CA1 Pyr 層からの海馬画像が表示されています。曲線は、検出可能なイベント数と信号対雑音比の向上を表しています。