

3D アンチモーション テクノロジー

FEMTO 3D ATLAS

時間分解能は、脳内のニューロン ネットワークがどのように情報を処理するかを理解するための鍵です。高速運動の蛍光プローブ (GCaMP7f, Dana ら、2019 年) と新しい電圧センサー (Chavarha ら、2018 年) は、マイクロ秒スケールで時間的事件を分解するのに十分な感度があり、超高速スキャンを備えた FEMTO3D Atlas は最新の方法に遅れをとりません。私たちは、行動中の動物モデルで実行される生体内アプリケーションに非常に役立つ 3D アンチモーション技術を開発しました。このアプリケーションでは、組織のわずかな変位でも信号品質が低下する可能性があります。FEMTO3D Atlas に統合された 3D アンチモーション技術と新しいスキャン方法を組み合わせることで、高フレームレートで大量のモーション補正データを収集するための柔軟なソリューションが提供されます。

行動する動物モデルからクリーンなデータを取得する

3D アンチモーション テクノロジー

Atlas の 3D ランダム アクセス ポイント スキャン モードを使用して組織サンプル内の異なる場所をスキャンすると、時間分解能はこれまでにない速度に到達できます。ただし、生体サンプルが静止していることはめったにないため、非静止組織 (覚醒した頭部固定の動物モデル) でオブジェクトごとに 1 つのポイント (たとえば、樹状突起棘ごとに 1 つのポイント、図 1 上部を参照) のみを使用してターゲットをサンプリングすると、記録されたデータの信号対雑音比 (SNR) が最適にはなりません。3D アンチモーション テクノロジーは、当社の音響光学顕微鏡制御ソフトウェアに実装されている最新の理論的結果を適用して、3D のサンプリング ポイントを任意の指定方向に沿った線に拡張します (ドリフト スキャン、Szalay 他 2016、Neuron)。多数の同一線が正確に整列すると、自由形状の平面を 3D でスキャンできます (図 1 下部を参照)。生体内実験中、サンプルはほぼ常に、血管の脈動、呼吸、または四肢の動きによるモーション アーティファクトを示します。リボンまたはキューブでスキャンすると、ターゲットの特徴がスキャン領域内に留まることが保証され、信号品質が大幅に向上します (図 2)。

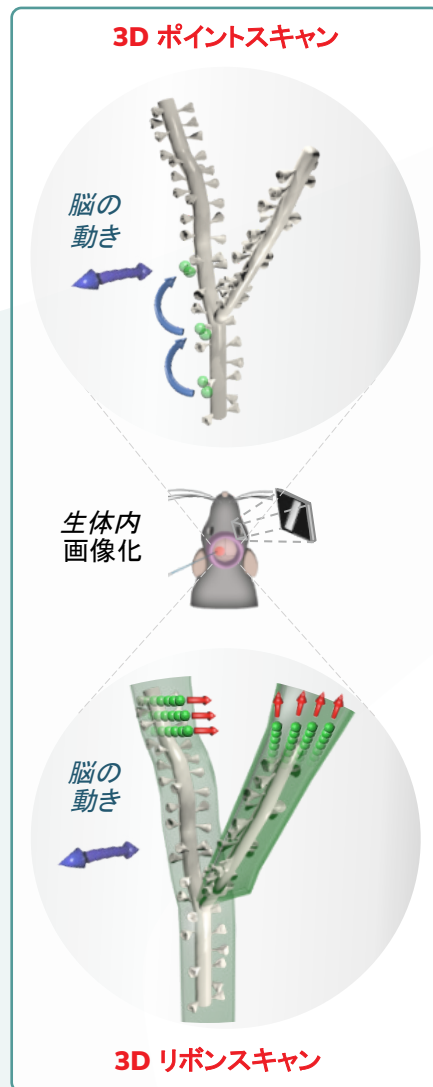


図 1

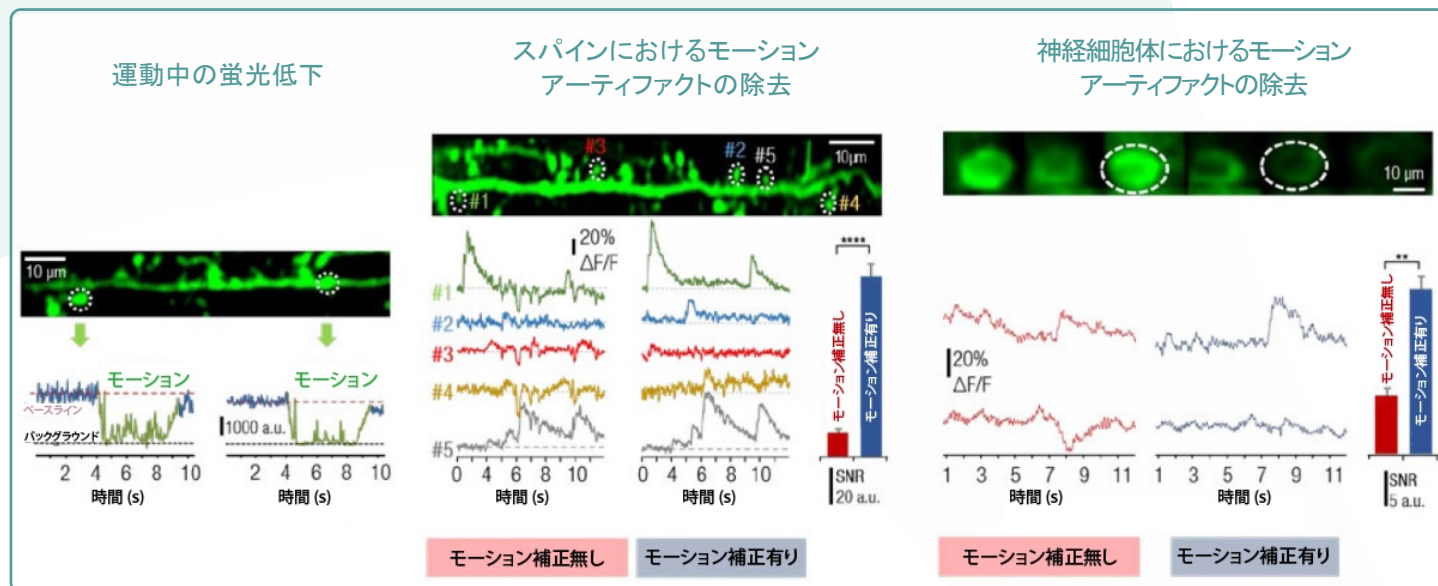


図 2: 3D アンチモーションテクノロジーと追加のアルゴリズムツールを組み合わせることで、行動中の動物モデルの SNR が1桁以上向上します。

3Dアンチモーションテクノロジーによる柔軟なスキャンモード

FEMTO3D Atlas の柔軟性は、脊椎画像などの最小の空間スケールから、「チェスボード」または「マルチキューブ」スキャン手法で大きなモーションアーティファクトに対処しながら高品質の蛍光データを生成する実験まで、幅広いアプリケーション（図 3）に役立ちます。ユーザーは、サンプリングレートを最大化するため、または多数の細胞からデータを取得するために、スキャンモードを簡単に調整できます。MES 制御ソフトウェアの測定および分析機能は、3D スキャンで完全な柔軟性を提供し、複雑なニューロン構造を処理するための適切な視覚化およびデータ選択ツールを提供します。

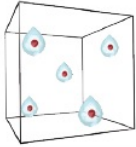
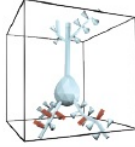
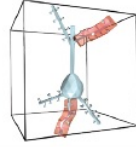
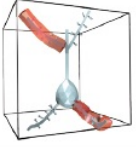
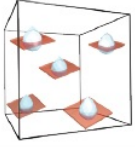
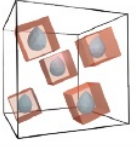
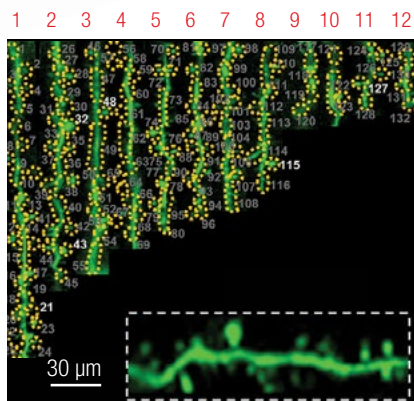
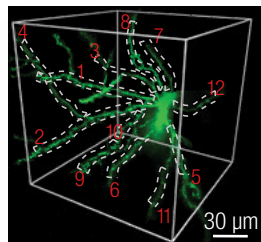
	3D ランダム アクセス ポイント	3D 軌道と マルチライン	3D リボン	3D スネーク	3D チェスボード	3D マルチキューブ
技術						
速度	30 kHz / ポイント	最大 30 kHz / スパイン	最大 3 kHz 50 μm 長の 樹状セグメントにて	最大 300 Hz 50 μm 長の 樹状セグメントにて	最大 3 kHz 2D ROI(関心領域) 毎に	最大 300 Hz ボリューム 毎に
同時スキャン 可能な領域の数	2000 超のセル	最大 1000 スパイン	最大 1000 μm 長の 樹状セグメントまで	最大 300 μm 長の 樹状セグメントまで	最大 300 領域	最大 30 ボリュームまで
神経科学における メリット	大規模細胞集団 における 3D ネットワーク イメージング	中断することなく 樹状突起をイメージングし 150 を越える スパインの活動を 記録	12 以上の棘状樹状 セグメントの活動の 画像化	大振幅運動中の 樹状突起の 画像化	高速細胞体記録 ネットワークイメージング	大振幅運動中の 細胞体の画像化

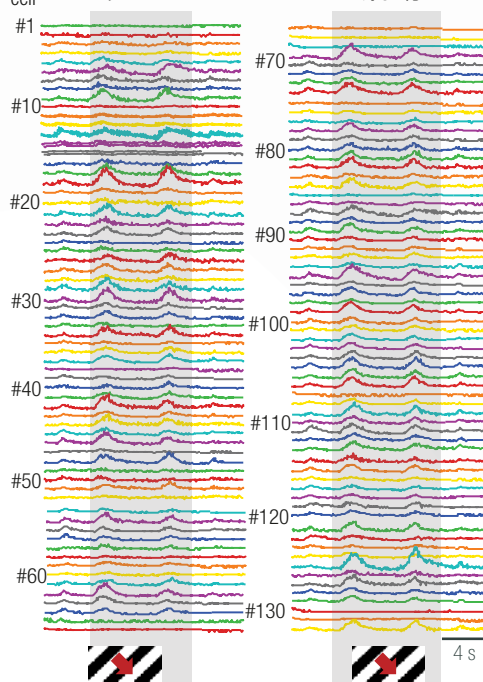
図 3: FEMTO3D アトラスによって可能になった新しい実験手法

12 個の樹状突起の 3D リボンスキャン



12 個の樹状突起と
その 132 個の棘の選択

132 本のスパインの Ca^{2+} トランジェントとしての活動



3D リボンスキャンによる 測定例

図 4: 生きたマウスの脳内で測定された、GCaMP6 標識層 II/III 錐体ニューロンの 12 個の樹状突起セグメントとその棘を囲む 3D リボン。視覚刺激によって引き起こされる活動は、選択された 132 個のスパインから記録され、古典的な Ca^{2+} トランジェントの形で視覚化されました。

詳細な技術およびアプリケーションの詳細については、関連記事「Szalay et al., Neuron, 2016」をお読みください。