

高分解能ライトフィールド技術による三次元再構成フリーな三次元多粒子追跡の開発

Development of 3D reconstruction-free 3D multi-particle tracking

今村隆輝¹、白杵深²、片岡直也³、杉拓磨¹

¹広島大学大学院 統合生命科学研究科、²静岡大学電子工学研究所、³名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学分野

生命機能は細胞や分子のミリ秒スケールの三次元的な運動と活動から生じる。機能発現のメカニズムを理解する直接的な方法として、それら細胞や分子の場所と活性を操作することにより、機能を再構成する方法が挙げられる。その操作には(1)機能発現過程における細胞や分子の三次元的な位置と活性の計測と(2)その計測データから即座にフィードバックして位置や活性を操作する技術が必要である。しかし、共焦点顕微鏡やライトシート顕微鏡などのスキャン型三次元イメージングでは、空間スキャンを必要とするため、細胞や分子の三次元的な位置と活性をミリ秒スケールの機能発現過程でリアルタイムに計測するのは難しい。一方、通常のライトフィールド(LF)顕微鏡では、シングルショットで三次元空間を二次元LF画像として撮影できるため、細胞や分子の位置と活性の計測は可能であるが、高分解能の三次元像を再構成するために膨大な計算時間を要するデコンボリューション処理が必要なため、即座にフィードバックして位置や活性を操作することが不可能である。今回我々は、デコンボリューション法を用いずにLF顕微鏡の空間分解能を細胞解像度まで向上させる技術を開発することで、三次元再構成なしに20FPSの速度で細胞や分子の三次元的な位置情報と活性を抽出・追跡する3D MPT (multi-particle tracking)法を開発した。画像は、マウス視床下部背内側部にGCaMPを発現させた固定スライスのライトフィールド画像(左)とその3次元再構成像(右)である。我々の方法を用いることでライトフィールド画像から三次元位置を1細胞分解能で直接抽出可能であり、橙色、紫色、黄色部分の細胞の三次元位置はそれぞれxyz座標の順に橙色:162.1 μm 、355.0 μm 、30.6 μm 、紫色:159.1 μm 、366.5 μm 、18.8 μm 、黄色:159.2 μm 、354.8 μm 、33.2 μm と算出された(左図中拡大図)。