

TissueCyte 1400FC

Hight-Speed AutoMated Whole Organ Histology

2フォトン共焦点顕微鏡対応 全自動多光子マルチセクショニング画像収録システム



TissueCyte 1400FC は、例えばマウス の摘出脳を上部から、内臓される高性能ス ライサーで順次自動セクショニングを行 い、2フォトン共焦点顕微鏡にて高倍率に て、X-Y-Z 方向に画像ファイリングしま す。切片厚 100μm、1.4μm/ピクセル の条件の場合、全脳の詳細な画像ファイリ ング作業は、全自動で4時間で行えます。 マウス脳による画像ファイリング時間の一例 1.4 µm/ピクセル ×100 µm 切片厚 150 セクション 4h 1.4 µm/ピクセル × 50 µm 切片厚 300 セクション 8h 0.35 µm/ピクセル ×100 µm 切片厚 150 セクション 20h

本器搭載全自動セクショニングシステムの性能

切削表面全域に亘る2光子スキャンを行っても画像に影響が出ないような、ゆがみの少ない高精度なセクショニングが、最小 50 ミクロン厚のセクションニングが行えます。また、切削したサンプルは回収可能です。



TissueVision は、世界で初めてオートマルチセクションニング、 2フォトン共焦点顕微画像三次元ファイリングを実現しました。





原理·構成図

2 Photon(STP) Tomography としての TissueCyte1400FC には、通常の two-photon microscope が配置されま す。共焦点顕微鏡については様々な論文 に記載されていますので説明は省略しま す。対物レンスの配下には、専用ワーク ステーションで制御される高性能 XYZ ステージが配置され、脳固定チャンバー の位置制御を行います。

Coronal に固定された脳は、上面から、 最小 40µm(一般的には 100 µm)毎に、内 臓される高性能スライサーによってセク ショニングされます。セクショニング終 了、電動ステージによって最初の撮像開 始ポジションに顕微鏡の対物レンズ下に 移動され撮像を開始します。撮像された い解像度は対物レンズに依存されます。 よって、各セクションの画像ファイリン グ時間は異なってきます。解像度を高め るほど時間は要します。セクション毎の 画像は、2080x2080(16bitTIFF)で保存され、 セクショニング+二次元的画像ファイリ ングの繰り返しで、標本の三次元的画像 ファイリングを全自動にて行います。 TissueCyte1400FC 用ワークステーショ ンには、充実したソフトウエアが付属さ れ、連続する二次元的ファイルは、三次 元的ファイルに集約されます。研究目的 によって標識ラベルされた部位は、どこ の方向からも切り出しが行え、二次元の みならず、三次元的に標的物質の局在が 把握することができます。C: 3D 表示 されたマウス脳を、任意の部位でカット。 コロナルセクション(GFPM, 20xObject,0.5 µm XY 撮像)、スケー ルバーは、d-e は、25 µm、d の枠内 は、5μm です。

NIH Public Access: **Serial two-photon tomography: an automated method for ex-vivo mouse brain imaging** Timothy Ragan1,*, Lolahon R. Kadiri2,*, Kannan Umadevi Venkataraju2, Karsten Bahlmann1,Jason Sutin1, Julian Taranda2, Ignacio Arganda-Carreras3, Yongsoo Kim2, H. Sebastian Seung3, and Pavel Osten2 1TissueVision, Inc., One Kendall Square, Cambridge, MA 02139 2Cold Spring Harbor Laboratory, One Bungtown Road, Cold Spring Harbor, NY 11724 3Department of Brain and Cognitive Sciences, Massachusetts Institute of Technology, Howard Hughes Medical Institute, Cambridge, MA 02139 装置論文より掲載



Oh, Seung Wook, Julie A. Harris, Lydia Ng, Brent Winslow, Nicholas Cain, Stefan Mihalas, Quanxin Wang, et al. "A Mesoscale Connectome of the Mouse Brain." Nature 508, no. 7495 (April 10, 2014): 207–14.

Vélez-Fort, Mateo, Charly V. Rousseau, Christian J. Niedworok, Ian R. Wickersham, Ede A. Rancz, Alexander P. Y. Brown, Molly Strom, and Troy W. Margrie. "The Stimulus Selectivity and Connectivity of Layer Six Principal Cells Reveals Cortical Microcircuits Underlying Visual Processing." Neuron 83, no. 6 (September 17, 2014): 1431–43.

Feng, David, Chris Lau, Lydia Ng, Yang Li, Leonard Kuan, Susan M. Sunkin, Chinh Dang, and Michael Hawrylycz. "Exploration and Visualization of Connectivity in the Adult Mouse Brain." Methods, Spatial mapping of multi-modal data in neuroscience, 73 (February 2015): 90–97.

Kim, Yongsoo, Kannan Umadevi Venkataraju, Kith Pradhan, Carolin Mende, Julian Taranda, Srinivas C. Turaga, Ignacio Arganda-Carreras, et al. "Mapping Social Behavior-Induced Brain Activation at Cellular Resolution in the Mouse." Cell Reports 10, no. 2 (January 13, 2015): 292–305.

Vousden, Dulcie A., Jonathan Epp, Hiroyuki Okuno, Brian J. Nieman, Matthijs van Eede, Jun Dazai, Timothy Ragan, et al. "Whole-Brain Mapping of Behaviourally Induced Neural Activation in Mice." Brain Structure and Function, (April 24, 2014): 1–15.

Ragan, T., Kadiri, L.R., Venkataraju, K.U., Bahlmann, K., Sutin, J., Taranda, J., Arganda-Carreras, I., Kim, Y., Seung, H.S., and Osten, P. Serial two-photon tomography: an automated method for ex-vivo mouse brain imaging. Nature Methods, 2012.

Ragan, T., et al., High-resolution whole organ imaging using two-photon tissue cytometry. Journal of Biomedical Optics, 2007. 12(1): p. 014015.

Gleave, Jacqueline A., Jason P. Lerch, R. Mark Henkelman, and Brian J. Nieman. "A Method for 3D Immunostaining and Optical Imaging of the Mouse Brain Demonstrated in Neural Progenitor Cells." PLoS ONE 8, no. 8 (August 6, 2013):

Kim, K.H., et al., Three-dimensional tissue cytometer based on high-speed multiphoton microscopy. Cytometry. Part A : The Journal of the International Society for Analytical Cytology, 2007. 71(12): p. 991-1002.

Bahlmann, K., et al., Multifocal multiphoton microscopy (MMM) at a frame rate beyond 600 Hz. Optics Express, 2007. 15(17): p. 10991-10998.



Figure 3.

Anterograde tracing by AAV-GFP and brain warping. (a) 3D view of a coronal section comprising the injection site (i) and several anterogradely labeled regions (ii-v). Lower left: position of the section in the whole brain (approximately -1.9 mm from Bregma). (b) Coronal (top) and sagittal (bottom) views of the injection site. (c) The injection site (S1BF). (d) Brain regions (ii-v) marked up in (a), comprising: (ii) ipsilateral caudoputamen (CP);(iii) axon fibers in the internal capsule (ic) (iv) ventral posteromedial thalamus (VPM) and posterior thalamus (PO), and (v) contralateral barrel cortex (S1BF). The enlarged views show inverted grayscale images for better visualization of axon fibers and varicosities. The scale bar in (c) and (d-ii) and the enlarged view of (d-ii) is 250 µm. (e) One section from a combined "virtual" two-tracer dataset generated by warping AAV-GFP brain onto CTBAlexa-488 brain (see Supplementary Video 8). (f) Brain region marked up in (e) comprising motor cortex (M1) with overlapping anterograde (AAV-GFP, red color) and

Serial Two-Photon Tomography Dataset: SSp



大阪営業所 ■