

報道関係者各位

2021年7月13日

国立大学法人 群馬大学 大学院医学系研究科
慶應義塾大学先端生命科学研究所

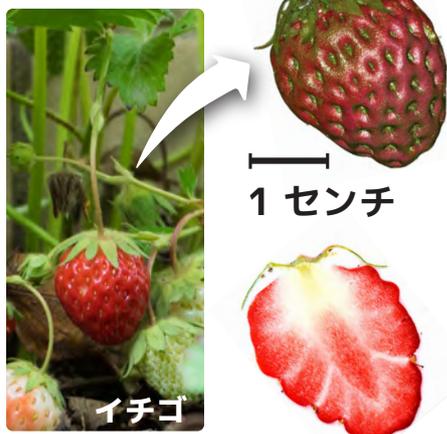
もっと手軽に3Dイメージング

生命科学研究で広く利用できる、高精細かつ低コスト3Dイメージング装置と手法を開発

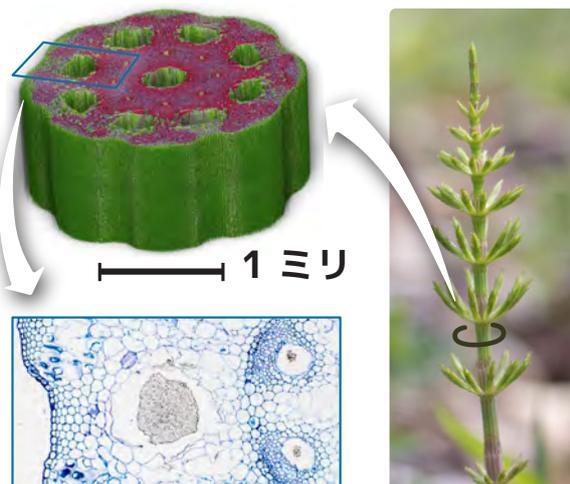
国立大学法人 群馬大学 大学院医学系研究科(群馬県前橋市、以下「群馬大」) 多鹿 友喜講師、慶應義塾大学先端生命科学研究所(山形県鶴岡市、以下「慶大先端生命研」) ガリボン ジョゼフィーヌ特任助教らの研究グループは、新しい3Dイメージング装置と手法を開発しました。生命科学研究で用いる多様な生物標本で、高精細な立体形態解析「3Dイメージング」を行えるようになります。また、開発した装置は低コストで構築でき、3Dデータの扱いも簡便です。立体解析とあわせて、平面解析(顕微鏡による薄切標本の観察)が行えることも特徴です。装置構築や標本準備に関する情報と、本法で取得した立体画像をまとめた論文が、イギリスの出版社Nature Publishing Groupのオンライン雑誌『Scientific Reports』(6月23日付)に掲載されました。

1. 研究の概要図 同一標本で立体も平面も解析できる手法(CoMBI法)を開発・改良

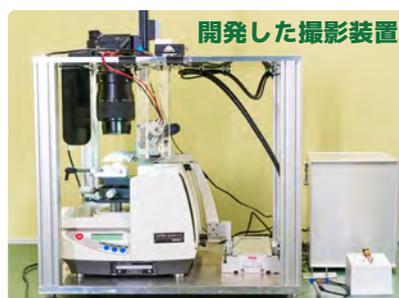
従来のCoMBI装置では、凍結標本のみに対応



新開発の装置では、高精細な立体画像凍結標本とパラフィン包埋標本に両対応



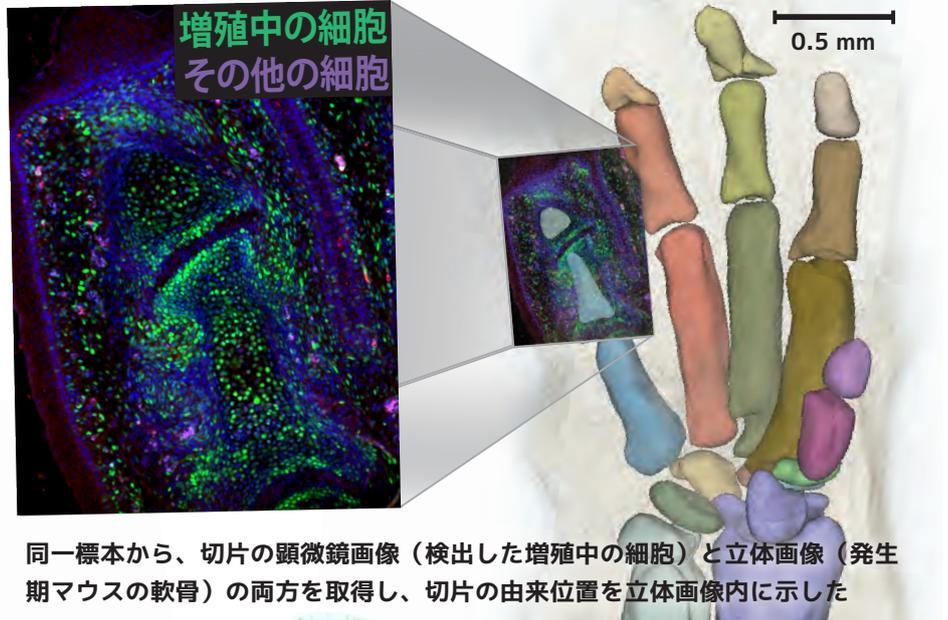
- ✓ より高精細な立体解析
- ✓ より低価格に
- ✓ 多様な標本で
- ✓ 特定の構造物を描出



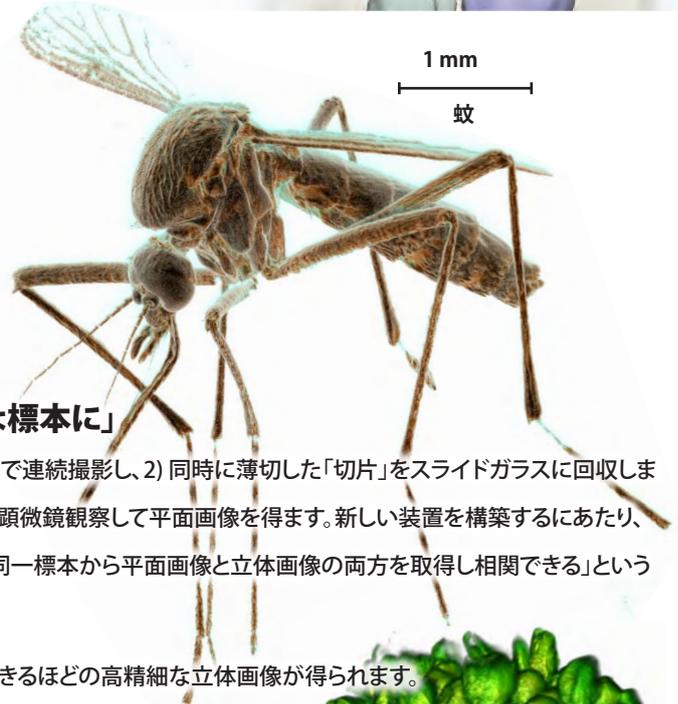
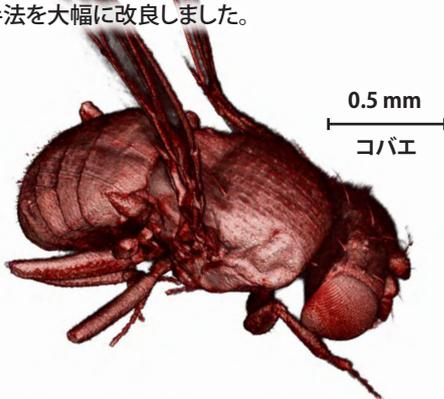
スギナ

2. 研究の背景「その切片、標本のどこからとってきたの？」

生命科学研究では、生物標本を顕微鏡で観察する「形態解析」は、ごく一般的に行われます。通常、標本を薄く切った「切片」をつかって、顕微鏡観察します。しかし、切片が標本中のどこにあったか分からないという課題がありました。もし、それが分かれば、顕微鏡写真を解釈しやすくなり、顕微鏡画像データの信頼性もあがります。群馬大学などの研究グループは2017年に「同一標本から、切片の顕微鏡画像（平面画像）と連続ブロック画像（立体画像）の両方を取得でき、切片の由来位置を示せる手法」を確立し、「CoMBI法」と名付けました。以来、CoMBI法の改良と普及に努めてきました。現在までにCoMBI装置は国内外の研究室に導入され、カブトムシの角形成、アホロートル（ウーパーレーパー）の再生能力、マウスの腎臓や肺の発生、脳神経組織の微細立体解剖図作成などの研究で成果を上げています。これらの共同研究などを通して挙がってきたニーズとして「より高精細な立体画像の取得と多様な標本への適合」がありました。これらを満たすために、CoMBI法の装置を新たに開発し、手法を大幅に改良しました。



同一標本から、切片の顕微鏡画像（検出した増殖中の細胞）と立体画像（発生期マウスの軟骨）の両方を取得し、切片の由来位置を立体画像内に示した

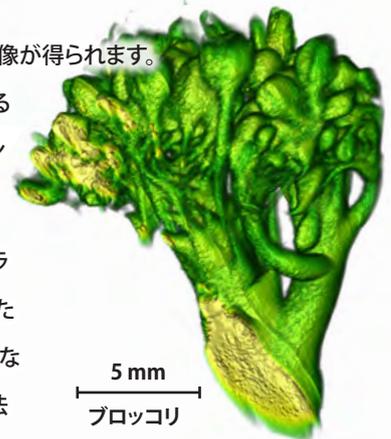


3. 研究の成果「もっと高精細に、もっと多様な標本に」

CoMBI装置は、1) 標本を薄切しながら、すべての切断面をカメラで連続撮影し、2) 同時に薄切した「切片」をスライドガラスに回収します。その結果、連続切断面画像から立体画像を再構築し、切片を顕微鏡観察して平面画像を得ます。新しい装置を構築するにあたり、切削装置や撮影機材の選定から見直し、今回発表した装置は「同一標本から平面画像と立体画像の両方を取得し相関できる」という従来からの特徴に加えて、以下の特徴も併せ持ちます。

- ✓ 観察時の拡大率は、従来比5倍に向上 細胞一つを認識できるほどの高精細な立体画像が得られます。
- ✓ 装置の構築にかかるコストは、従来型の2分の1 装置は、研究機関に広く普及しているマイクローム（標本薄切装置）と一般向けデジタルカメラで構築し、画像処理は、オープンソース（無料）のソフトウェアを利用するので、低コストです。

従来装置では、凍結した標本のみを解析対象としていましたが、新開発の装置と手法は、パラフィン包埋標本からも平面および立体画像を得られます。パラフィン包埋標本への適合にあたっては、透明なパラフィンを不透明にする必要がありました。透明なままでは立体画像の元となる連続切断面画像に背景ノイズが多く混入するためです。研究チームは、2通りの不透明化法



を確立してこの問題を解決しました。群馬大・大学院生の石井希和(筆頭著者)らは、アガロースゲルに白絵の具を加え、標本を不透明なゲルに前もって包埋する方法を確立しました。この手法は、小さい標本(例:コバエ、蚊)に適しています。また、慶大先端生命研・研究助手の白幡大純(当時、山形県立鶴岡中央高等学校生)らは、パラフィンに直接白クレヨンを加え不透明化するとともに、標本台を独自にデザインし3Dプリンタで製作しました。この手法は、大きめの標本(例:ブロッコリ)に適しています。これらのパラフィン不透明化法以外にも、標本準備手法の開発・改良を行い、下記の特徴を実現させました。

- ✓ **凍結標本とパラフィン包埋標本に両対応** 使用したマイクロームは、凍結標本用とパラフィン包埋標本用の運転モードを選べます。
- ✓ **標本の内部構造および表面構造の視認性向上** パラフィンなどの標本包埋剤を不透明化する手法を確立し、標本の表面構造を明瞭に立体描出します。また、標本染色法を開発し、標本内部構造の視認性が改善しました。さらに、研究対象としたい特定構造物だけを標識し、立体画像データにすることも成功しました。



不透明ゲルで前包埋



不透明パラフィンで包埋



3Dプリンタによる白色台

4. 研究の将来性

新しいCoMBI装置と手法によって、生命科学研究の広い分野で、標本の立体解析が気軽に実施されるようになり、顕微鏡データの信頼性向上が期待されます。研究グループは、再生医学、神経科学、発生生物学の分野での利用を進めており、今回の発表論文でも各分野での立体画像データを示しています。掲載誌は、オンラインのオープンアクセス誌です。だれでも無料でご覧いただけます。下記のWebアドレス(URL、QRコード)に是非アクセスしてください。

5. 発表論文の情報

論文表題: Correlative microscopy and block-face imaging (CoMBI) method for both paraffin-embedded and frozen specimens.

(パラフィン包埋標本および凍結標本に対応する相関型イメージング手法; CoMBI)

雑誌名: Scientific Reports (2021年6月23日18時JST 掲載)

論文URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-92485-5>

著者: Nobukazu Ishii^{1,2}, Yuki Tajika^{1*}, Tohru Murakami¹, Josephine Galipon^{3,4}, Hiroyoshi Shirahata^{3,5}, Ryo Mukai⁶, Daisuke Uehara⁷, Ryosuke Kaneko⁸, Yuichi Yamazaki⁷, Yuhei Yoshimoto² & Hirohide Iwasaki^{1*} (*責任著者)

所属: 群馬大学大学院医学系研究科¹機能形態学²脳神経外科学⁶眼科学⁷消化器・肝臓内科学⁸生物資源センター、³慶應義塾大学先端生命科学研究所、⁴名古屋大学大学院理学研究科附属ニューロサイエンス研究センター、⁵山形県立鶴岡中央高等学校

支援: 科学研究費(25860138、16K08460、19K07241、15K08128、18K06499)、AMED(JP20ek0109435、JP21ek0109435) 山形県および鶴岡市による研究助成



6. お問い合わせ先

 取材および掲載画像の利用をご希望の際は、下記までご連絡ください

国立大学法人 群馬大学 大学院医学系研究科 <https://www.med.gunma-u.ac.jp/>

群馬大学昭和地区事務部総務課広報係 TEL 027-220-7895, FAX 027-220-7720, E-MAIL m-koho@jimu.gunma-u.ac.jp

機能形態学分野 講師 多鹿 友喜(たじかゆうき)

慶應義塾大学先端生命科学研究所 <http://www.iab.keio.ac.jp>

渉外担当 TEL 0235-29-0802 FAX 0235-29-0809 E-MAIL office@ttck.keio.ac.jp

バイオプリンティンググループリーダー 政策・メディア研究科 特任助教 ガリボン ジョゼフィーヌ