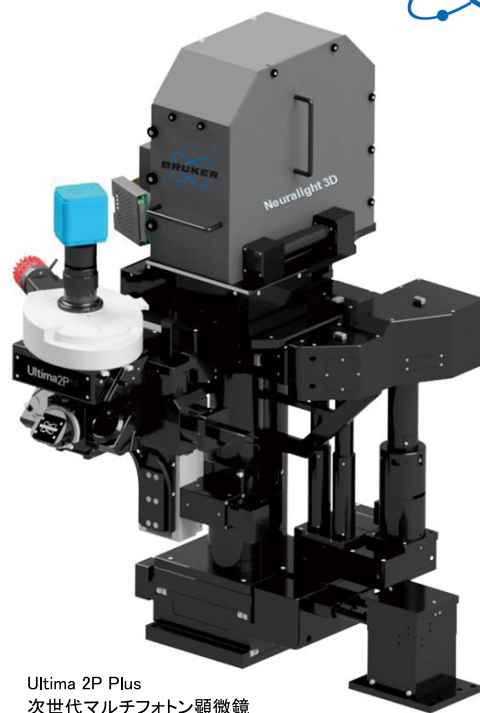


## Ultima 2Pplus

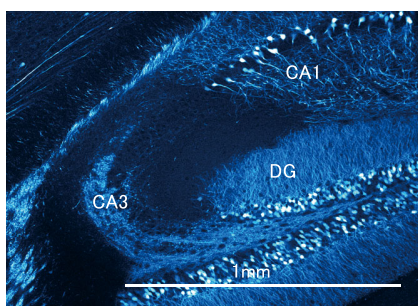
- 次世代マルチ光子顕微鏡

# 「世界最速」の2光子顕微鏡

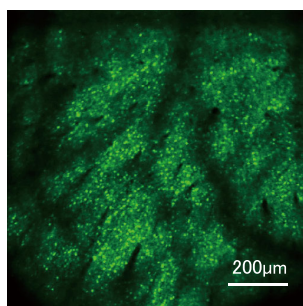
近年では ASAP4 (スタンフォード大開発)、JEDI-2D (ベイラー医科大学開発) に代表される GEVI (Genetically Encoded Voltage Indicator) を活用した膜電位イメージングの需要が急速に高まり、また GCaMP に代表される GECI (Genetically Encoded Calcium Indicator) も高速応答化が進んでおり、通常の高光子顕微鏡では撮像スピード不足でこれらの蛍光センサーのスペックを活かしきれなくなりました。このような現状を受けて、Bruker は「OptoVolt 高速膜電位イメージングモジュール」、「NeuraLeap 高速 Z フォーカスマジュール」、「NeuraLight 3D Ultra 高速 3D 光刺激モジュール」を次々と開発し、同社のマルチ光子顕微鏡 Ultima 2P Plus は次世代のマルチ光子顕微鏡と呼ぶにふさわしい「世界最速」の高速撮像を実現しました。



Ultima 2P Plus  
次世代マルチ光子顕微鏡



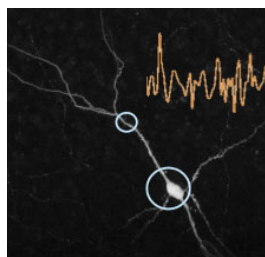
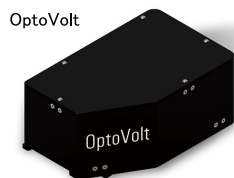
広い視野 (FN28) を活かし海馬全体をカバー



GCaMP6s + マウス視覚野 5A 層ニューロン

## ● 高速膜電位イメージング

**OptoVolt 高速膜電位イメージングモジュール**は独自の非球面マルチレンズアレーを用いたハイスループットスキニング技術により、1000FPS の撮像を可能としています。下の図は OptoVolt による高速膜電位イメージングで 1 個の神経細胞の軸索と細胞体を ROI にとり膜電位トレースを抽出したものです。このように膜電位イメージングでは細胞外電気生理記録で不可能な発火閾値以下の電位も記録でき、グリア等の膜電位も記録できるため、神経科学研究に新たな知見をもたらします。

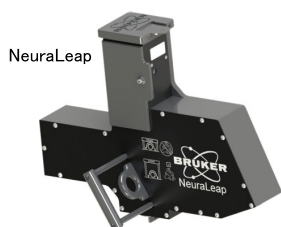


軸索の膜電位シグナル

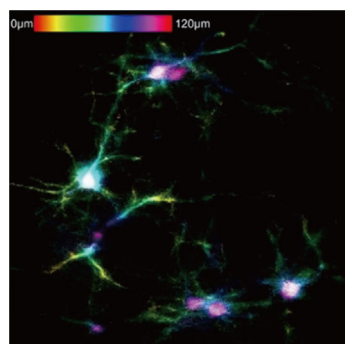


細胞体の膜電位シグナル

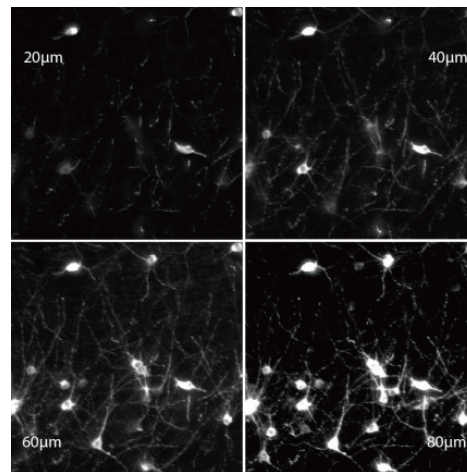
**NeuraLeap 高速 Z フォーカスマジュール**は超高速 DMD (Digital Micromirror Device) チップと長被写界深度レーザー励起モジュールを内蔵し、撮像面の Z 方向移動時間はわずか 20µs で、文字通り瞬時の Z 軸移動を可能としています。長距離の瞬時移動に対応しており、ワイドモードでは 400µm の瞬時移動が可能なので、異なる皮質層間の無遅延マルチプレーンイメージングが可能です。また、被写界深度を 150µm まで自由に換えられるので、Z のスイッチング無しで広範囲のニューロンを一度に記録できます。OptoVolt と NeuraLeap - この 2 つのモジュールの組み合わせでミリ秒オーダーの 3 次元膜電位イメージングが可能となります。



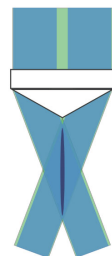
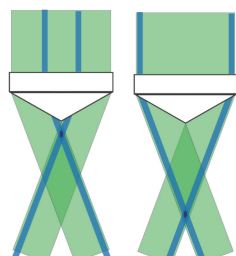
120µm 厚を 12 平面撮像した Z スタック像。深度をシュドカラー表示。GCaMP、運動皮質 (Costa Lab, Columbia 大)



長被写界深度モードで被写界深度を 20, 40, 60, 80µm と変化させ撮像。深度を長くすることでスイッチング無しで多くのニューロンを撮像可能。マウス VTA。

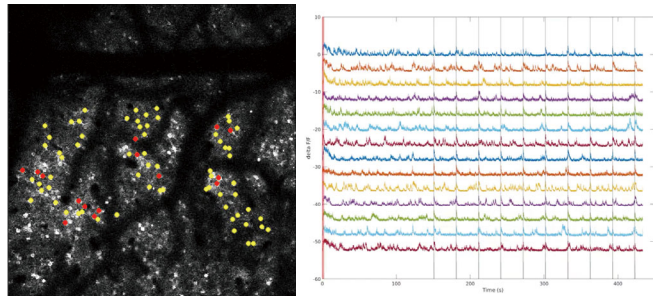


DMD による瞬時の Z フォーカス移動

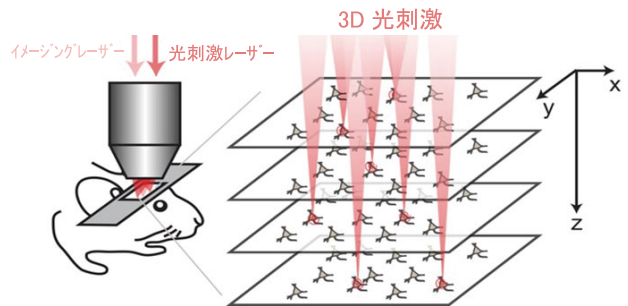


## ● 高速 3D オプトジェネティクス & イメージング

**NeuraLight 3D Ultra 高速 3D 光刺激モジュール**は 3D レーザーホログラムで 3 次元的な光刺激のパターンを実現する SLM(Spatial Light Modulator) で、刺激パターンのスイッチング速度は 600Hz (1.6ms) とこちらも「世界最速」です。神経発火の生理的な時間分解能にきわめて近い光刺激を行うことが可能です。左記の OptoVolt、NeuraLeap と組み合わせることで、記録した膜電位イメージングの発火パターンでそのまま刺激するような、これまで不可能だった新しいアプローチの実験が行えます。



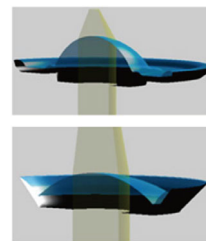
黄：刺激した 80 個の細胞 / 赤：右図に Ca 波形を表示した 80 個中 15 個の細胞 (Arac Lab, UCLA)



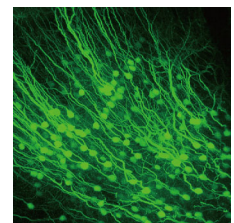
光刺激の 3D ホログラムを高い時間分解能 (1.6ms) でスイッチング。イメージングレーザーと光刺激レーザーそれぞれが独立した光路を持ち、3D イメージングと 3D 光刺激を同時に行うことが可能。

## ● ETL による遠隔 Z フォーカス

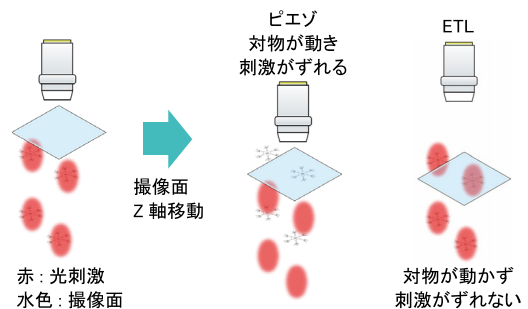
**ETL 液体レンズ遠隔 Z フォーカスモジュール**は Bruker が特許を取得した独自の液体レンズ (ETL: ElectroTunable Lens) で、電流によりレンズの形状をフレキシブルに変えることで高速に Z フォーカス面を移動できます。スイッチング速度は 10ms で、カルシウムイメージングを行う上では十分なスペックと言えます。また、Z 方向の可変レンジが 480 $\mu$ m と非常に長いのが特徴です (16x 対物レンズ使用時)。広範囲かつ長深度の 3 次元ボリュームカルシウムイメージングを行うのに適したモジュールです。ETL と NeuraLeap は互いにスワップ可能なモジュールになっていて、共通して遠隔フォーカスが可能なので、ピエゾ等他の技術と異なり Z 面の移動時に対物レンズの物理的な移動が起りません。これは SLM による光刺激を同時に行う場合に決定的に重要です - なぜならピエゾ等でイメージングのために対物レンズの Z が動くと、SLM の 3D ホログラムも一緒に動いてしまい、本来刺激したい位置からずれてしまうためです。Ultima 2P Plus は Z が動いても 3D ホログラムがずれないため、3D イメージングと 3D 光刺激を同時に行う上で大変理想的です。



形が変わる液体レンズ



ETL によるマウス皮質ニューロンの Z スタック像 (Dr. Michael Häusser, UCL)

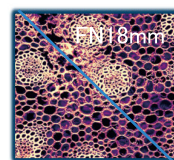


赤：光刺激  
水色：撮像面

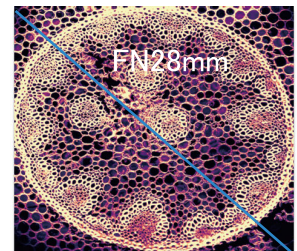
対物が動かず  
刺激がずれない

## ● 視野数 28 の広い視野

Ultima 2P Plus は一般的な視野数 FN18mm よりも 50% 広い視野数 28 を採用しています。これにより離れた距離のニューロン活動のイメージングおよびオプトジェネティクスが可能となり、GCaMP 等のカルシウムインジケータを用いた局所回路のファンクショナルイメージングにおいて大きな利点となります。最新のデザインにより全フィールドにおいて一様な空間的および時間的分解能となっています。



一般的な FN18mm

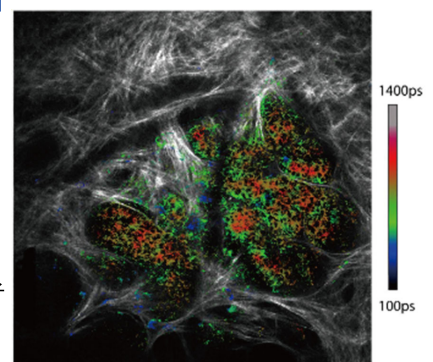


Ultima 2P Plus の FN28mm

## ● FLIM モジュールによる「蛍光寿命イメージング」

さらに Ultima 2P Plus を次世代機として特徴づけるオプションとして、**FLIM & PLIM 蛍光寿命イメージングモジュール**がございます。通常のマルチ光子顕微鏡では蛍光の強度を画像化しますが、Ultima 2P Plus は FLIM モジュールを追加することで蛍光分子へのレーザーパルス照射から蛍光が発生するまでの時間 (= 蛍光寿命) を画像化することが可能となります。蛍光寿命は主に分子の結合状態などで変化するため、タンパク質相互作用や細胞の代謝状態といったパラメータを、マルチ光子顕微鏡の特性を活かして高解像度で 2 次元・3 次元的に解析できます。また、りん光寿命イメージング (PLIM) にも対応しており、組織内酸素分圧イメージング等が可能です。

乳がん細胞の 2 光子 FLIM イメージング (カラー：FLIM 像  
モノクロ：SHG 像)



# 仕様

スキャニング方式	6mm ケンブリッジガルバノメーターペア / ラスター&スパイラルスキャニング
視野	~ 1.375 mm x 1.375 mm (16x 対物レンズ使用時)、FN: 28
スキャンスピード (ガルバノ)	ラスタースキャン: 1.65FPS@512x512, ~12FPS@64x64; スパイラルスキャン: 6FPS@512x512, ~30FPS@64x64
カスタムスキャン	直線、フリーハンド、円形 (無限) ラインスキャンをソフトウェア操作可能; ユーザー定義ピクセル・ライン: 1 ~ 2048; ~120xスキャンズーム; 360° スキャンローテーション; ポイントスキャン
レーザー光路	3 光路 (イメージングレーザー/ 光刺激レーザー/ レゾナントレーザー)
遠隔 Z フォーカスオプション	NeuraLeap モジュール、ETL モジュール、
アンケーシングオプション (ガルバノ)	同じスキャンヘッド内に 3mm or 6mmガルバノメーターペアを追加可能、高精度可視光 / 多光子アンケーシング
高速イメージングオプション	8kHz レゾナントガルバノメーター; 30FPS@512x512, >1300FPS@512x8 ROI
ディテクタ	
反射 NDD 型	1 ~ 4 個の浜松ホトニクス製マルチアルカリ PMT / 浜松ホトニクス製 GaAsP PMT にアップグレード可
透過 NDD 型	1 ~ 2 個の浜松ホトニクス製マルチアルカリ PMT / 浜松ホトニクス製 GaAsP PMT にアップグレード可
Dodt 勾配コントラスト	1 個の浜松ホトニクス製 PMT、DIC-like 撮像
透過型	1 個の浜松ホトニクス製 PMT、透過光撮像
カメラ	スタンダード C マウントカメラ、スキャンヘッド内蔵
光学系入力	
マルチフォトンレーザー	690 ~ 1700 nm のレーザー光に最適化
落射蛍光励起	落射蛍光タレットにハイパワー LED 内蔵
可視光レーザー	可視光レーザー用のファイバーレーザー入力
レーザー等級	クラス 3B、クラス 4 対応
適合レーザー	Spectra Physics、Coherent、Class 5、Amplitude Systems、Spark Lasers、etc.
モーター制御	
X, Y ステージ	X: 15cm、Y: 7.5cm、ステップサイズ ~0.3μm、高さ変更可能
X, Y 顕微鏡ベース	移動距離 ~35mm、ステップサイズ 0.1μm、粗動&微動
Z フォーカス	可動範囲 30mm、~0.2μm ステップサイズ
Z ピエゾ	可動範囲 ~1000μm、0.05μm ステップサイズ
回転ノーズピース	対物レンズの角度・回転をモーターで制御
PrairieView ソフトウェア	
Z スタック	スライス数、ステップサイズ、レーザーパワーを指定して簡単に Z スタックを取得可能
タイムシリーズ	Z スタック、トリガーイメージを含み、複雑なタイムシリーズ記録に対応
ステージモニタージュ	Atlas Imaging モジュールで 2D および 3D モニタージュを自動取得可能
周辺機器の統合	可視光・赤外光レーザーの波長およびパワーのコントロール機能
フォトアクティベーション	レーザーモジュレーションと同期し、点・範囲をレーザー照射
ROI (Region Of Interest)	ROI を指定し高速スキャニングが可能
輝度	蛍光強度マッピング、およびユーザーが定義した範囲の蛍光強度プロット
電圧入力 / 出力	電気生理実験、刺激制御、外部装置との同期等に使えるマルチ I/O を装備
OptoVolt モジュール	
倍増モード	x16: 1100FPS、x8: 550FPS
透過率	>70%
対応波長	920nm に最適化、700 ~ 1100 nm 対応可能
FOV	倍増モード FOV: 215x215μm@10x 対物レンズ; 150x150μm@16x 対物レンズ
NeuraLeap モジュール	
Z 方向撮像面移動速度	20μs
撮像面長距離ジャンプ機能	ナローモード: ~120μm、ワイドモード: ~400μm
長被写界深度モード	~150μm 厚を光学的にミックスして撮像可能
マルチポイントモード	Z 方向に互いに離れた 2 プレーンを光学的にミックスして撮像可能
NeuraLight 3D Ultra モジュール	
方式	SLM (Spatial Light Modulation)
刺激パターンスイッチング速度	600Hz (1.6ms)
ETL モジュール	
方式	液体レンズ、電流で焦点距離を制御可能
Z 方向撮像面移動速度	10ms
Z 方向可変レンジ	480μm@16x 対物レンズ



バイオリサーチセンター株式会社

www.brck.co.jp

mail: sales@brck.co.jp

本社/〒461-0001  
東京/〒101-0032  
大阪/〒532-0011  
福岡/〒813-0034  
仙台/〒984-0015

名古屋市東区泉2-28-24 東和高岳ビル4F  
東京都千代田区岩本町1-7-1 瀬木ビル2F  
大阪市淀川区西中島6-8-8 花原第8ビル2F  
福岡市東区多の津1-14-1 FRCビル4F  
仙台市若林区卸町5-2-10 卸町斎喜ビル208

TEL: 052-932-6421 FAX: 052-932-6755  
TEL: 03-3861-7021 FAX: 03-3861-7022  
TEL: 06-6305-2130 FAX: 06-6305-2132  
TEL: 092-626-7211 FAX: 092-626-7315  
TEL: 022-290-9352 FAX: 022-290-9353