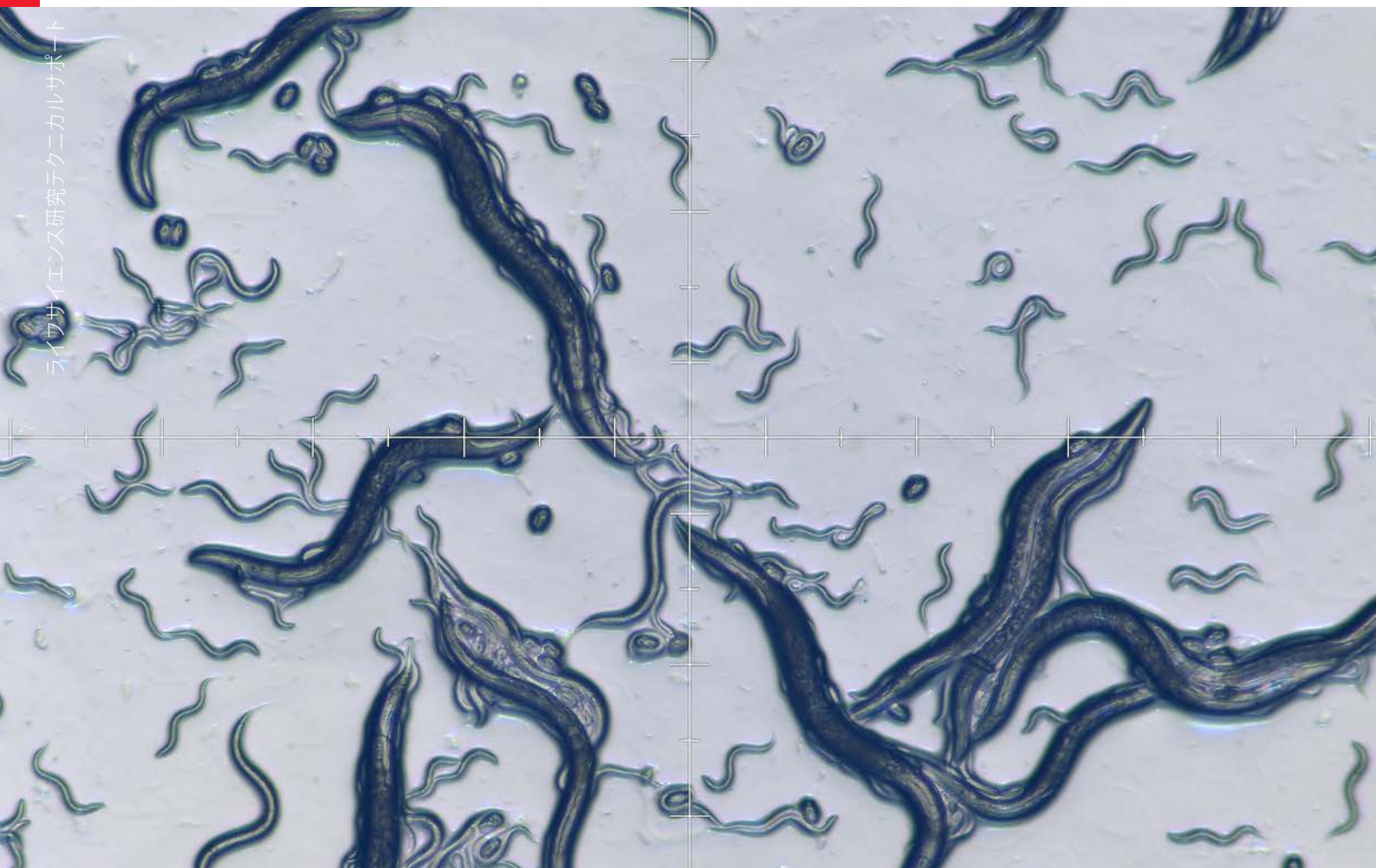


From Eye to Insight

Leica
MICROSYSTEMS

ライツサイエンス研究テクニカルサポート



実体および共焦点顕微鏡を用いた発生生物学での効率的な作業： 線虫

筆者

James DeRose, Ph.D.

Scientific Writer, Applied Microscopy Marketing,
[Leica Microsystems AG](#), Switzerland

Heinrich Bürgers, Ph.D.

Product Manager, Life Science Research Stereo Microscope,
[Leica Microsystems AG](#), Switzerland

Martin Gamerdinger, Ph.D.

Scientific Project Leader, [Molecular Microbiology](#),
[University of Constance](#), Germany

要約

本報告書は、研究実験室または教室において線虫を用いて作業を行う科学者、技術者、教師に対し、日々の作業を改善するのに役立つ有益な情報を提供することを目指しています。目標となるのは、線虫の採集、遺伝子導入、RNA 干渉、スクリーニング、機能イメージングの各作業ステップを効率化することです。また、線虫研究実験室や、線虫の手法について説明する生物学教室 / 教育実験室を配備するための多様な方法についても詳しく説明します。

はじめに

線虫 (*Caenorhabditis elegans*) は、神経科学、発生生物学、分子生物学、遺伝学のモデル生物として、40 年以上にわたり用いられてきました [1]。これは全ゲノム配列が解読された最初の多細胞生物であり [2]、現在のところコネクトーム（神経系内のニューロンの接続図）が完全にマッピングされた唯一の生物です [3]。この線虫は、遺伝子学的に決まった数の細胞を有する、細胞定数性の生物であり、幼虫期の終わりには一定数のままとなり、神経系には 302 個のニューロン（神経細胞）が含まれます。この線虫は、神経発達、細胞分化、アポトーシス（プログラム細胞死）、老化などにおける研究において、モデル生物として用いられています。線虫の多くの遺伝子は哺乳類の遺伝子と似たように機能します。線虫ゲノムの遺伝子の約 1/3 は、ヒトの一部の遺伝子と相同性を有しており（共通の祖先から派生している）、線虫はヒトに関連する疾患の研究でもモデル生物として有益です。線虫は、実験室内で簡単・迅速に培養することができ、飼育温度は通常、室温よりも若干低め（15～20℃）に維持します。成体の線虫は長さ約 1 mm で、直径は 75 μm 未満です。線虫は、寒天平板、つまり、餌として細菌（大腸菌）を入れたシャーレ内の寒天ゲルで飼育します。

線虫の手法

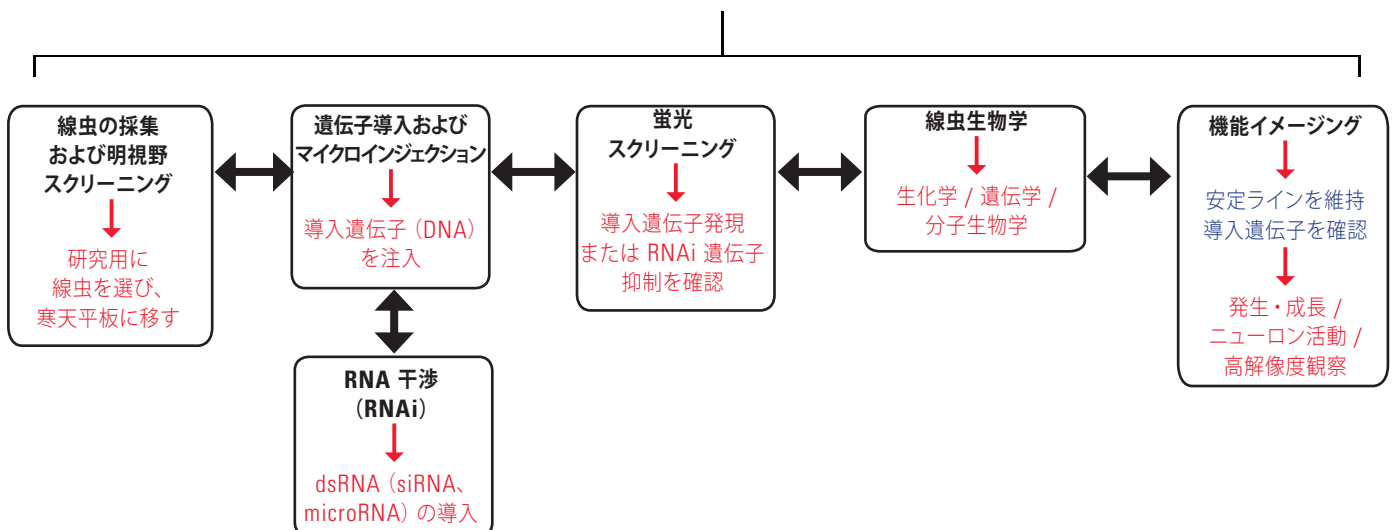


図 1：線虫実験室で行われる典型的な作業ステップ。詳しくは、次ページ以降の説明をご覧ください。

線虫の全体的な作業ステップ

線虫を用いたルーチン実験室での作業には、共通するステップがいくつかあります (図 1) :

1. 線虫の採集 [4]
2. a) 遺伝子導入 [5, 6] : ゲノムを改変するために線虫に導入遺伝子を微小注入
b) RNA 干渉 (RNAi) [7] : 遺伝子発現を抑制するために 2 本鎖 (ds) RNA を線虫に導入
3. スクリーニング : RNAi または遺伝子導入の成否を調べるために線虫を評価
4. 分子生物学、生化学、遺伝学の多様な手法による線虫の研究
5. 線虫の記録作成または機能イメージング、共焦点または光学顕微鏡がよく使用される

p. 2 に記載した作業ステップは、必ずしも直線的な順序で実施するわけではありません (非直線的「ワークフロー」)。まず最初に線虫を選んで「採集」し、次に遺伝子またはタンパク質発現の操作を行い、さらに一定期間、線虫を飼育する必要があります。ついで、線虫を表現型 (観察可能な特徴) によって区別することで、求められている特徴を備えたものを見つけます。これらの線虫の数が少なすぎる場合は、ここまでのステップを繰り返します。関心のある特徴を備えた十分な数の線虫が得られたら、それらを再び「採集」し、固定し、最後に機能イメージングを実施します。

下の写真 (図 2) は、ドイツのコンスタンツ大学の分子微生物学部の典型的な線虫実験室の様子です。



図 2 : 定評ある線虫実験室 (ドイツのコンスタンツ大学の分子微生物学部) の写真。線虫の培養と分析のためには、一般にフラスコ、シャーレ、電気泳動装置、遠心分離機が使用されます。

作業効率の効率化のために考慮すべき重要な事柄

作業効率の最適化は、アプリケーションと用途 (実験室での研究なのか、教室での授業なのか) によって異なります。

一般的な線虫の培養とイメージング

線虫の培養、採集、スクリーニングなどを行う場合は、考慮すべきポイントがいくつかあります。

- 寒天平板の交換時の焦点合わせを回避 → どれも同じ量 (同じ高さ) の寒天
- より鮮明な線虫の顕微鏡画像を得る → 寒天上の大腸菌 (餌) の濃度を低くする
- 線虫イメージングプレートの蛍光バックグラウンド (自家蛍光) を低減する → 寒天の層を薄くし、ペプトンは使用しない [4]
- 線虫が寒天から判別される必要がある → 透過光では良好なコントラストが重要
- より優れた画像結果を得るために微弱な蛍光信号も検出する → 良好な蛍光 S/N 比と暗いバックグラウンドが重要
- 高い総合倍率 (60× 以上) での線虫のイメージング時には良好なコントラストと高解像度を確保する

線虫の採集

研究実験室

適切な線虫を採集し、それを遺伝学または生化学的分析用に処理するには、実体顕微鏡を用いて線虫を選別し、小さな白金線またはアイラッシュを用いて採集します（図 3）。ついで、生殖巣へのマイクロインジェクションにより遺伝子改変を行うために、線虫をスライドガラス上の乾燥した小さな寒天パッドの上に置きます（図 3）。

教室および教育実験室

教育目的の場合、研究アプリケーションとは異なる事柄を考慮する必要があります。寒天または線虫採集器具による顕微鏡光学系の汚染の危険を低減する必要があります。例えば、快適な作動距離、高倍率、深い焦点深度を備えたライカ S6 実体顕微鏡 [8] は、こうした課題を克服し、効率的に作業するのに役立ちます。LED 2500 照明 [9]（図 4）と組み合わせることで、ライカ S6 は教室や教育実験室での線虫の採集にとって最適なソリューションとなります。経験の浅い学生は、高解像度よりも高倍率を好む傾向があります。そのため、一般には 10×の接眼レンズが使用されますが、より高倍率の 16×の接眼レンズを推奨します。

明視野での線虫のスクリーニング

迅速な処理のために線虫の効率的なスクリーニングは、ライカ マイクロシステムズの複数の実体顕微鏡システムによって実現することができます。LED2500 透過光スタンドまたは小型の照明サブベースを組み合わせたライカ S6 ルーチン実体顕微鏡 [8] は、線虫のスクリーニング [9] に非常に適しています。1.6× フロントレンズアクセサリを用いて操作すると、さらに高い倍率と解像度が可能になります。コンパクト設計により、S6 は実験室でもあまりスペースを取りません。これらの顕微鏡では、たとえ低倍率でも、高コントラストの線虫の画像を容易に得ることができます。教育スタッフにとっては、特に優れたソリューションとなります。



図 4：ライカ S6 と LED2500 透過光スタンド（左）を用いて撮影した、寒天上の線虫の画像（右）。画像の鮮明なコントラストにより、線虫を寒天から容易に判別することができます。

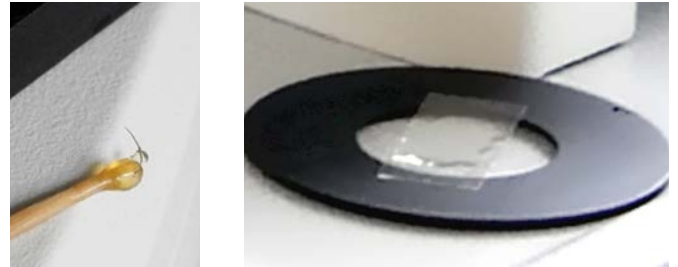


図 3：寒天平板の表面から線虫を「採集」するために使用される、端に接着剤がついたアイラッシュ付きの木製スティック（左）。線虫へのマイクロインジェクションのために使用されるスライドガラス上の寒天ゲルパッド（右）。



図 5：ライカ S6 と照明サブベース（右）を用いて撮影した、寒天上の線虫の画像（左）。線虫のコントラストを高めるために、サブベースの拡散反射ミラーを用いて、片側暗視野照明で撮影された画像。

次の表は、ライカ S6 顕微鏡をライカ LED2500 ライトベースまたはサブベース照明と組み合わせて使用した、明視野での線虫スクリーニングの利点をまとめたものです。

利点の比較：LED2500透過光ベースとサブベース (ライカ S6)	
ライカ LED 2500 スタンド	ライカ照明サブベース
<ul style="list-style-type: none"> ● 複数の寒天平板を同時に置くのに十分なスペースがあるため、平板が不意に落下する可能性が最小限に抑えられ、試料の取扱いが容易になる ● 対物レンズの下でユーザーの手を動かすのに十分なスペースがあり、線虫の採集やマイクロインジェクションなどの作業を行うのに便利 ● ベースから落下する可能性のある外部ランプ、ケーブル、機器類がなく、学生向けの授業に適した、すっきりとした配置 ● センタリングされた LED により、試料イメージングにとって良好なコントラストと均一な照明が得られる ● 顕微鏡一式を収納棚に収めやすいので、使用しない場合は保管が容易 	<ul style="list-style-type: none"> ● 強い画像コントラスト：明視野と片側暗視野照明の両方 ● 操作が容易なため、授業とトレーニングに最適 ● 小さな設置面積：顕微鏡一式をテーブル上の小さなスペースに置くことが可能

ライカ M80 実体顕微鏡 [10] を TL3000 ST 透過光スタンドベース [11] と組み合わせて使用することで、効率的な線虫スクリーニングを行うことができます (図6)。ライカ M80 には平行光学系 (CMO) が備わっているため、傾斜したフォーカス面はなく、両眼の視野全体で鮮明なフォーカスが得られます。また、システムはモジュラー式であるため、コンポーネントの追加や交換が柔軟・迅速に行えます。レポート用に高解像度画像を撮影すると共に、複数のユーザーが試料画像の同時観察を希望する場合は、デジタルカメラを取り付けることができます。例えば、500 万ピクセルを超えるライカ MC 170/190 HD カメラ [12] は、高精細 (HD) のライブ画像と記録画像をもたらします。



図 6：ライカ M80 と TL3000 ST 透過光スタンドベース (右) を用いて撮影した、寒天平板上の線虫の画像 (左)。暗視野により、線虫をよく観察することができます。

遺伝子導入、マイクロインジェクション、RNAi

線虫の遺伝子 / タンパク質発現を改変するには、複数の方法があります。安定した一時的な遺伝子改変は、線虫へのマイクロインジェクションによって行います。2 つの主な方法は、トランスポゾン [13] (別名ジャンピング遺伝子) と CRISPR/Cas9 [14] システムです。CRISPR を用いると、遺伝子導入の収量が少なく、選別のために 1 世代サイクルが必要になりますが、導入遺伝子の挿入はいつでも安定します。トランスポゾン法は、効率的で収量が多く、注入する線虫の数も減りますが、導入遺伝子がゲノムに組み込まれる場所は必ずしも明確ではありません。

スライドガラス上の乾燥した寒天パッドに線虫を置いたら、すばやく作業することが重要です。そうしないと、この間に線虫が乾燥し、死滅する可能性があります。線虫の乾燥を遅らせるために、通常、ハロカーボンやパラフィンなどのオイルで覆います [6]。一般に、マイクロインジェクションは 5 分以内に終わらせる必要があります。寒天パッドを載せたスライドを倒立型顕微鏡のステージに配置し、線虫を置き、導入遺伝子 (DNA) を末端の生殖巣に注入します。

ついで、線虫をリカバリー液で覆い、白金線またはアイラッシュで採集し、個別の寒天平板に置き、さらに培養・増殖させます。この作業ステップは、通常、微分干渉コントラスト (DIC) [15] またはモジュレーションコントラスト (IMC) 照明 [16] を装備した手動の倒立型顕微鏡、例えばライカ DMi8 (図 7) や DM IL LED などを実施します [17]。収量を高めるために、顕微鏡の下を防振仕様とすることを強く推奨します。マイクロインジェクション時の精密な針の位置決めには、ナリシゲ (Narishige Instruments) 社製などの高精度の 3 軸オイルマニピュレータを使用するのが便利です。

翻訳段階でタンパク質発現を改変するには、RNA 干渉 (RNAi) を用います。このためには、2 本鎖 (ds) RNA を発現する遺伝子導入細菌を餌として線虫に与えます。線虫は dsRNA を摂取し、これは線虫の細胞のすべて (ニューロンを除く) に入り込み、細胞生化学的なプロセスを経て、低分子干渉 (si) RNA が生成されます。細胞の中に存在すると、siRNA はタンパク質発現を改変します。



図 7：線虫の生殖巣へのマイクロインジェクションのために使用されるカスタマイズされたオイルマイクロマニピュレータを備えたライカ DMi8 倒立型複式顕微鏡。

遺伝子導入線虫の飼育と蛍光スクリーニング

注入後は、線虫をさらに培養し、次の世代を実験のために使用します。線虫は、増殖のために 20°C に維持します。線虫の乾燥を避ける必要があるため、寒天平板は通常、プラスチック製の箱に保管します。大量の線虫を得るために、三角フラスコ内での液体培養も第 2 の選択肢となります。

ウエスタンブロット分析（タンパク質の特定）のためには、線虫は約 5 匹で十分です [18]。しかし、密度によって細胞器官とタンパク質を分離する密度勾配遠心分離のためには、10 万匹の線虫が必要です [19]。

通常、導入遺伝子は緑色蛍光タンパク質（GFP）と組み合わされるので [20]、実体蛍光顕微鏡を使って選別することができます。DsRed [20] のような他の蛍光マーカーの場合、高い発現レベルにおいて毒性を持つ可能性があるため、通常は GFP がマーカーとして最適です。

線虫は、明視野と Rottermann contrast（ロッターマンコントラスト法）（広い視野 [FOV]）を使用して位置を特定し、蛍光信号を調べ、さらなる実験のために採集する必要があります。イメージング用に

は一般に若い線虫が好まれます。老いた線虫は通常、特に消化管において高い自家蛍光を示すからです。選んだ線虫は、自家蛍光を抑制するためにペプトンも大腸菌もない特別な小型の寒天平板上に置きます。自家蛍光をさらに抑制するために、大抵、寒天の層を非常に薄くします。

ライカ M165 FC [21] または MZ10 F [22] 実体蛍光顕微鏡と TL4000 RC [11] 透過光スタンドベース（図 8）を用いると、効率的に線虫の蛍光スクリーニングを行うことができます。

利点：

- ライカ M165 FC と TL4000 の構成では、多くの照明コントラストが利用可能なため、線虫の個々の細胞が容易に判別できます。
- ライカ M165 FC または MZ10 F と TL4000 の組み合わせは、高度な記録作成とイメージングのために、コントラストを迅速に切り替えられるので、ユーザーにとって非常に実用的かつ効率的です。
- TripleBeam テクノロジーによる高い S/N 比により鮮明な蛍光信号を検出可能 [23] → 励起と観察向けに独立した光路。

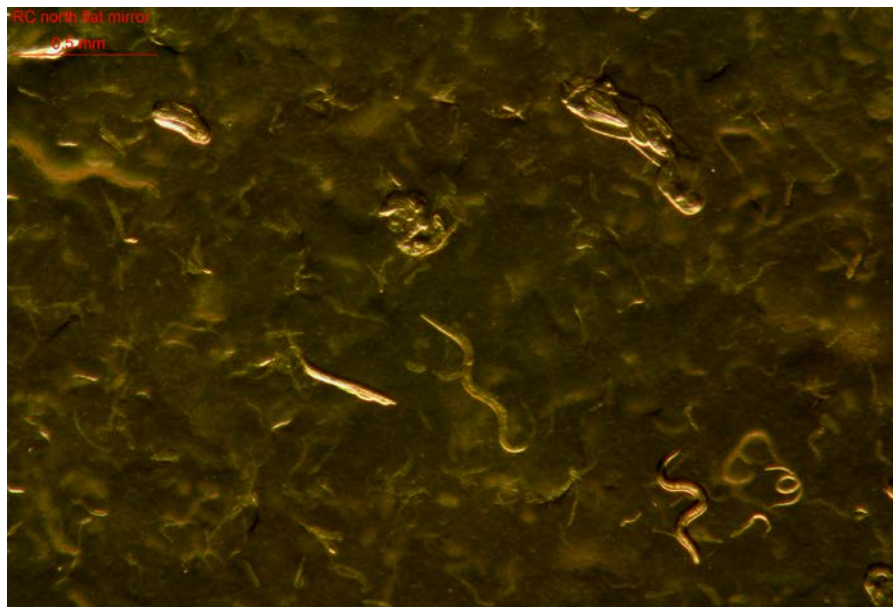


図 8：ライカ M165 FC と TL4000 RC 透過光スタンドベース（右）を用いて撮影した線虫の画像（左）。Rottermann contrast（ロッターマンコントラスト法）により、寒天のバックグラウンド上に線虫がはっきりと見えます。

寒天平板上の線虫のビデオを YouTube で見ることができます。下のビデオをクリックしてください。蛍光から放出される光だけが検知され、他に照明は使用していません（暗いバックグラウンド）。ビデオで見られる線虫の多くに、消化管内の自家蛍光が見られます [24]。1 匹の線虫だけが二重陽性で、咽頭で発現される蛍光タンパク質 mCherry [20] から明るい信号を示します。このビデオは、ライカ M205 FA 実体蛍光顕微鏡とライカ DMC4500 デジタルカメラを用いて録画されました。ビデオの再生速度は、オリジナルの録画速度よりも若干速いので、線虫の動きが実際よりも速く見えることがあります。



蛍光スクリーニング時に考慮すべき重要な事柄

- 洗練された構造の透過光ベースが高倍率での光コンデンサのような役割を果たし、最高のコントラストと解像度を実現します。
- ライカ透過光スタンドベースでは、蛍光イメージング時のバックグラウンド光「ノイズ」がほとんど（あるいはまったく）生成されません。
- ライカ TL4000 RCI [11] ベースで、両面ミラーの凹側を使用すると、高倍率でも優れたコントラストと解像度の画像が得られます。
- 外部光源とともにライカ TL4000 RC ベースを使用するときは、線虫を加熱しないように留意します。
- 自家蛍光が高い場合、蛍光励起の強度を弱めると S/N 比が上昇します。多くの場合、線虫からの蛍光信号は最大になり、それ以上増大できませんが、バックグラウンド（蛍光）はつねに増大する可能性があります。
- 個々のユーザーの予算と要望に応じて、ライカ TL3000 ST、TL4000 BFD [11]、TL4000 RC の各透過光スタンドベースがすべて利用できます。

機能イメージング

細胞内構造と高分子構造の高解像度画像を得るために線虫のイメージングと記録作成を行うには、通常、共焦点および顕微鏡（ライカ TCS SP8 または TCS SPE 共焦点システム [25] や、ライカ DM6 または DM2500 正立顕微鏡 [26] など）を使用します。

共焦点イメージング時には、前述のように線虫は各種の蛍光タンパク質を発現します。すなわち、GFP、赤色蛍光タンパク質（RFP、mCherry、DsRed）、黄色蛍光タンパク質（YFP）、シアン色蛍光タンパク質（CFP） [20] です（図 9 および 10）。

線虫は寒天平板の層の上部にくるため、望ましいのは、正立構造の共焦点顕微鏡です。線虫の動きは比較的速いので、通常は薬物 Levamisol によって麻酔をかけてから、その上にカバーガラスを置き、液浸対物レンズで観察します。

幼虫期の若い線虫は光に非常に敏感な場合があるので、共焦点レゾナントスキャナー [27] を用いることで、短い滞留時間により、光毒性の問題を最小限に抑えることができます。レゾナントスキャナーにより、大きな損傷を与えることなく、線虫の幼虫を長期間観察できます。

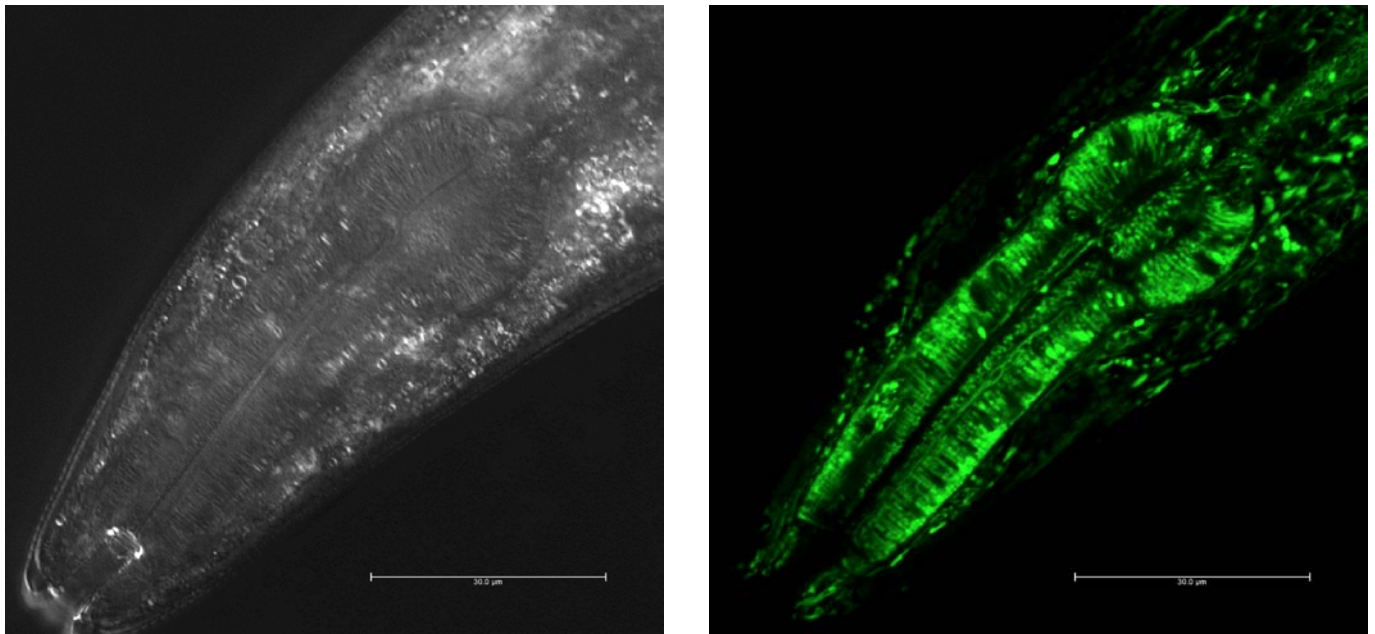


図 9：GFP を発現する線虫の咽頭の明視野画像（左）および共焦点（右）画像。どちらの画像も、ライカ TCS SP8 共焦点顕微鏡システムで撮影。

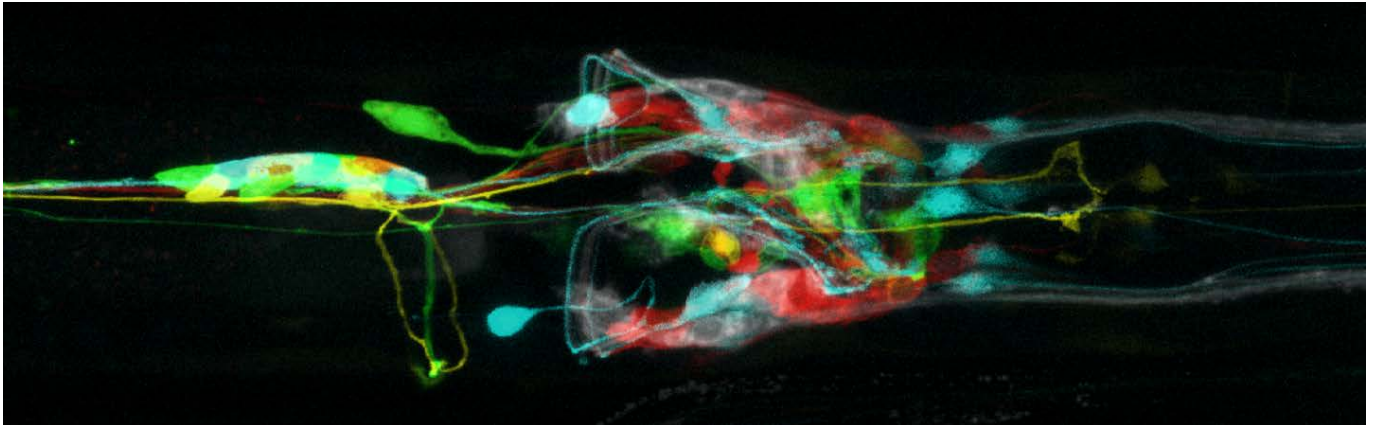


図 10：線虫の脳および神経系の共焦点画像（ライカ SP2）（線虫の腹側から見た状態）。ニューロン細胞が蛍光タンパク質 CFP、GFP、YFP、DsRed を発現し、さらに白の脂溶性トレーサー色素 DiI で標識。画像提供：カナダ BC 州バーナビー市のサイモンフレーザー大学生物科学学部、H. Hutter [28]。

要約と結論

線虫の共通の手法 [29] には、実体 / 複式 / 共焦点顕微鏡を用いた複数の作業ステップが含まれます。線虫実験室によって、要件が異なる場合があります。各作業ステップで行う特定の作業に取り組むには、さまざまな構成や装置を使用する場合があります。

以下は、一般に使用される顕微鏡ソリューションの一覧です。

- 線虫の採集は、多くの場合、グリーン実体顕微鏡（ライカ S6 など）と高コントラストを生み出す透過光ベース（ライカ TL3000 ST など）を用いて行います。
- 導入遺伝子マイクロインジェクションは、倒立型顕微鏡（ライカ DMi8 など）に加え、針の位置決め用のマイクロマニピュレータ、および DNA 向けインジェクターを用いて行います。最適な照明法は、モジュレーションコントラスト法です。
- 蛍光スクリーニングは、一連の実体蛍光顕微鏡（ライカ MZ10 F または M165 FC など）と、非常に良好なコントラストが得られる透過光ベース（ライカ TL4000 RC など）を用いて行います。
- 明視野スクリーニングは、通常、高コントラストな透過光ベース（TL4000 RC など）を備えた平行光学系（CMO）実体顕微鏡（ライカ M80）を用いて行います。
- 機能イメージング、すなわち細胞分化、アポトーシス（プログラム細胞死）、老化、ニューロン活動などの研究のための遺伝子導入線虫の解析は、正立または共焦点顕微鏡（ライカ DM6 または TCS SP8）で行います。
- 不活発化した線虫は、より高性能な実体蛍光顕微鏡（ライカ M205 FA）と透過光ベース（TL5000 Ergo など） [11] を用いて、妥当な解像度でイメージングすることもできます。
- 線虫の胚をイメージングするには、光毒性の低い共焦点レゾナントスキャナーが推奨されます。
- 教室、教育実験室およびトレーニングの場合、顕微鏡の構成の要件は、研究実験室での要件とは異なる可能性があります。

この短いレポートは、必要な作業ステップを効率的に実施するのに求められる多様な装置を説明したもので、線虫実験室を立ち上げる場合に有益なリファレンスまたはガイドラインとなる可能性があります。

謝辞

線虫の脳および神経系の共焦点画像を提供してくださった Harald Hutter教授（カナダ BC 州バーナビー市のサイモンフレーザー大学生物科学学部）に感謝いたします。

参考資料

1. S. Brenner 著、[Nature's Gift to Science](#)、Nobel Prize Lecture (December, 2002)、The Nobel Foundation
2. The *C. elegans* Sequencing Consortium 著、[Genome Sequence of the Nematode *C. elegans*: A Platform for Investigating Biology](#)、Science, vol. 282 (1998)
3. S.W. Emmons 著、[The beginning of connectomics: a commentary on White et al. \(1986\) 'The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*'](#)、Philosophical Transactions of the Royal Society B, vol. 370, iss. 1666 (2015), DOI: 10.1098/rstb.2014.0309
4. T. Stiernagle 著、[Maintenance of *C. elegans*](#)、Wormbook: The Online Review of *C. elegans* Biology (2006)
5. P.J. Schweinsberg, B.D. Grant 共著、[C. elegans gene transformation by microparticle bombardment](#)、Wormbook: The Online Review of *C. elegans* Biology (2013)
6. T.C. Evans 著、[Transformation and microinjection](#)、Wormbook: The Online Review of *C. elegans* Biology (2006)
7. J. Ahringer 著、[Reverse genetics](#)、Wormbook: The Online Review of *C. elegans* Biology (2006)
8. [ライカ S6](#)、製品ページ、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
9. [ライカ実体顕微鏡照明](#)、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
10. [ライカ M50、M60、M80、カタログ](#)、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
11. [ライカ透過光ベース](#)、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
12. [ライカ MC170 HD デジタルカメラ](#)、製品ページ、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
13. L.A. Pray 著、[Transposons: The jumping genes](#)、Nature Education, vol. 1 iss. 1, p. 204 (2008),
14. F.A. Ran, P.D. Hsu, J. Wright, V. Agarwala, D.A. Scott, F. Zhang 共著、[Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system](#)、Nature Protocols, vol. 8, pp. 2281–2308 (2013), doi:10.1038/nprot.2013.143
15. W. Ockenga 著、[Differential Interference Contrast \(DIC\) \(微分干渉コントラスト \(DIC\)\)](#)、サイエンスラボ
16. B. Kleine, T. Veitinger 共著、[Integrated Modulation Contrast \(IMC\): Oblique Illumination Enhances Visibility of Living Cells \(モジュレーションコントラスト \(IMC\) : 生細胞の視認性を向上させる斜照明\)](#)、サイエンスラボ
17. [ライカ倒立型複式顕微鏡](#)、製品ページ、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト

18. T. Mahmood, P.-C. Yang 共著、[Western Blot: Technique, Theory, and Trouble Shooting](#)、N. Am. J. Med. Sci. vol. 4, iss. 9, pp. 429–434 (2012), doi: 10.4103/1947-2714.100998
19. T. Mašek, L. Valášek, M. Pospíšek 共著、[Polysome analysis and RNA purification from sucrose gradients](#)、Methods Mol. Biol. vol. 703, pp. 293-309 (2011), doi: 10.1007/978-1-59745-248-9_20
20. C. Greb 著、[Fluorescent Proteins – Introduction and Photo Spectral Characteristics](#)、サイエンスラボ
21. [ライカ M165 FC、M205 FA、カタログ](#)、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
22. [ライカ MZ10 F、カタログ](#)、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
23. B. Fuchs 著、[Stereo microscopes with TripleBeam Technology: Third illumination path for better signal-to-noise ratio in fluorescence microscopy \(TripleBeam 技術を用いた実体顕微鏡：蛍光顕微鏡における SN 比を向上させる第 3 の光路\)](#)、サイエンスラボ
24. Z. Pincus, T.C. Mazer, F.J. Slack 共著、[Autofluorescence as a measure of senescence in *C. elegans*: look to red, not blue or green](#)、Aging, vol. 8, no. 5, pp. 889-898 (2016)
25. [ライカ共焦点システム](#)、製品ページ、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
26. [ライカ正立顕微鏡](#)、製品ページ、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
27. [ライカ共焦点スキャナー技術](#)、製品ページ、ライカ マイクロシステムズのウェブサイト
28. H. Hutter 著、[Five-colour in vivo imaging of neurons in *Caenorhabditis elegans*](#)、Journal of Microscopy, vol. 215, pt. 2, pp. 213 –218 (2004), doi: 10.1111/j.0022-2720.2004.01367.x
29. [Worm Book: The Online Review of *C. elegans* Biology](#)

CONNECT
WITH US!



Leica Microsystems (Switzerland) Ltd. · Max-Schmidheiny-Strasse 201 · 9435 Heerbrugg, Switzerland
T +41 71 726 34 34 · F +41 71 726 34 44

www.leica-microsystems.com