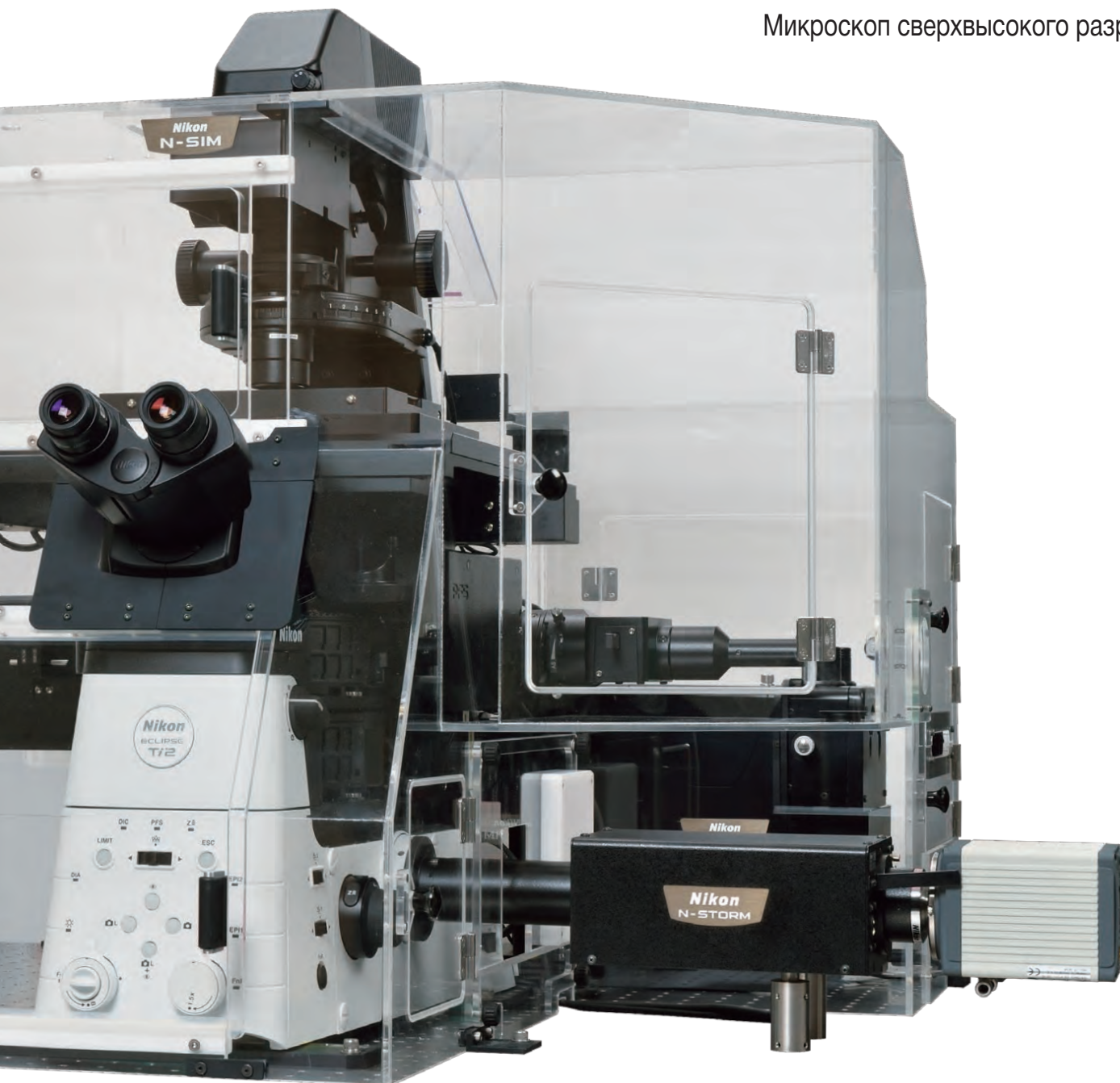




Nikon
100th
anniversary

N-SIM N-STORM

Микроскоп сверхвысокого разрешения



Микроскопы сверхвысокого разрешения компании Nikon позволяют проводить исследования на уровне наноскопии, преодолевая дифракционный предел.

Микроскоп сверхвысокого разрешения N-SIM/N-STORM компании Nikon позволяет изучать наноскопические структуры и их функции в живых клетках. Разрешение обычных оптических микроскопов, даже оснащенных объективами с самой высокой числовой апертурой, ограничено дифракцией и составляет приблизительно 200 нм.

Благодаря использованию высокочастотного структурированного освещения, N-SIM достигает разрешения в 115 нм*, что ранее считалось невозможным для оптических микроскопов. Более того, обеспечивая временное разрешение 0,6 с/кадр**, N-SIM позволяет совершать покадровую съемку динамических молекулярных взаимодействий в живых клетках в сверхвысоком разрешении.

В N-STORM временное разрешение заменено на пространственное, благодаря чему достигаются невероятные показатели в 20 нм, что в 10 или более раз превосходит разрешение обычного оптического микроскопа. Используя микроскопию стохастической оптической реконструкции изображения (STochastic Optical Reconstruction Microscopy - STORM), можно исследовать взаимодействия между протеинами на молекулярном уровне.

Микроскопы сверхвысокого разрешения Nikon, оснащенные непревзойденными оптическими технологиями, сочетают в себе высокоэффективные запатентованные технологии с простыми в использовании оптимизированными платформами. N-SIM/N-STORM может значительно повысить возможности исследований в области наноскопии и внушить уверенность в выводах, которые можно сделать из ваших данных.

* Возбуждается лазером 488 нм, в режиме 3D-SIM

** В режиме 2D-SIM/TIRF-SIM



kiwami

Японская каллиграфия, читается "кивами," что означает познание или стремление к совершенству.



CFI SR HP Apochromat
TIRF 100x Oil

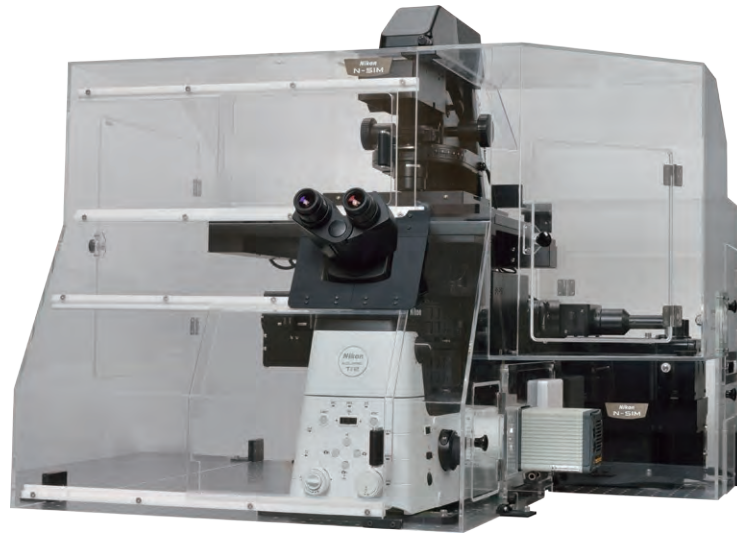


CFI SR Plan Apochromat
IR 60x WI



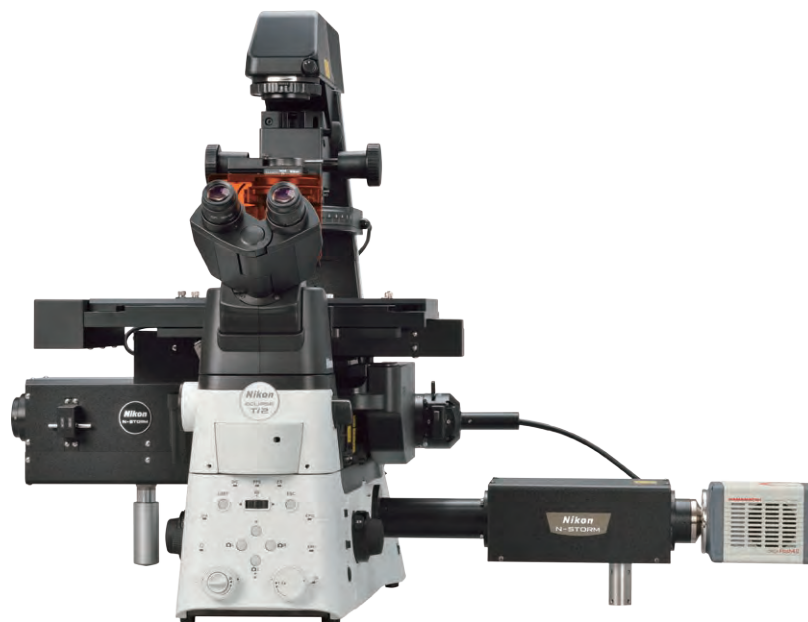
CFI HP Plan Apochromat
VC 100x Oil

Микроскоп сверхвысокого разрешения
N-SIM/N-STORM



N-SIM

Увидеть то, что не видели раньше



N-STORM

Временное разрешение 0,6 с/кадр позволяет проводить покадровую съемку динамических молекулярных взаимодействий в живых клетках в сверхвысоком разрешении.

В микроскопе SIM (Structured Illumination Microscopy - SIM) неизвестные мелкие клеточные структуры изучаются путем анализа муарового рисунка, который появляется при освещении образца структурированным излучением с известной высокой пространственной частотой. Микроскоп Nikon SIM (N-SIM) обеспечивает разрешение в 115 нм с многоцветной визуализацией. Кроме того, с его помощью можно проводить непрерывную съемку в сверхвысоком разрешении при временном разрешении 0,6 с/кадр, что позволяет исследовать динамические взаимодействия в живых клетках.

* При режиме 2D-SIM/TIRF-SIM

Съемка живых клеток с разрешением, в два раза превышающем разрешение обычных оптических микроскопов

В N-SIM используется инновационный подход Nikon к технологии «микроскопии структурированного освещения». Благодаря комбинации этой мощной технологии с известным объективом CFI Apochromat TIRF series 100x Oil (NA 1.49) от компании Nikon, N-SIM почти в два раза превосходит (приблизительно до 115 нм*) пространственное разрешение обычных оптических микроскопов и обеспечивает детальную визуализацию мельчайших внутриклеточных структуры и их интерактивных функций.

*Эти значения измеряются по ширине на половине высоты интенсивности флуоресценции шариков 100 нм при возбуждении лазером 488 нм в режиме 3D-SIM. В режиме TIRF-SIM достигается разрешение 86 нм за счет использования шариков 40 нм при возбуждении лазером 488 нм.

Временное разрешение 0,6 с/кадр – удивительно быстрый микроскоп сверхвысокого разрешения

N-SIM обеспечивает высокую скорость получения изображений с помощью технологии структурированного освещения при временном разрешении до 0,6 с/кадр, что эффективно при визуализации живых клеток (в режиме TIRF-SIM/2D-SIM; визуализация при разрешении приблизительно до 1 с/кадр возможна в режиме 3D-SIM (послойная реконструкция)).

Различные режимы наблюдения

Режим TIRF-SIM/2D-SIM

TIRF-SIM/2D-SIM захватывает 2D изображения со сверхвысоким разрешением, на высокой скорости и с невероятным контрастом. Режим TIRF-SIM использует преимущества исследований методами флуоресценции полного внутреннего отражения при разрешении, вдвое превышающем показатели обычного TIRF-микроскопа, что облегчает понимание молекулярных взаимодействий на поверхности клетки.

Режим 3D-SIM

Возможны два метода восстановления изображения. Послойная реконструкция позволяет получать осевые изображения с высоким разрешением и с толщиной среза 300 нм в образцах живых клеток. Реконструкция стека позволяет получать изображения более толстых образцов с более высоким контрастом, чем послойная реконструкция.

Одновременная визуализация на двух длинах волн в сверхвысоком разрешении

Используя две камеры EMCCD/sCMOS, прикрепленных к микроскопу с помощью специального адаптера, возможна одновременная визуализация в сверхвысоком разрешении на двух длинах волн при возбуждении лазерами с длиной волны 488 нм и 561 нм.

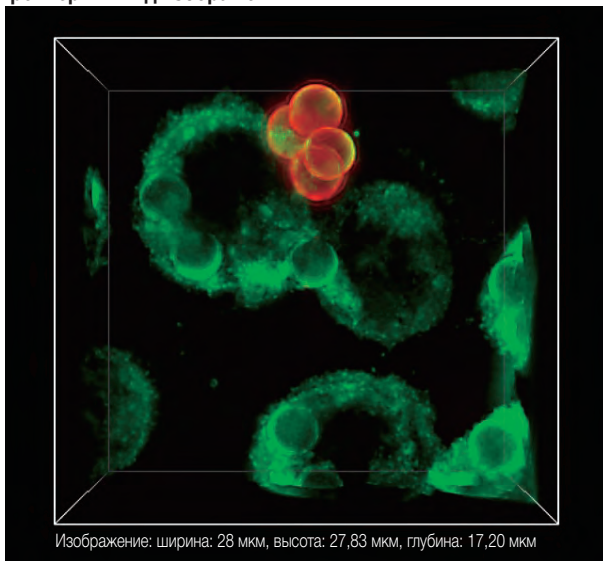
Пятицветная визуализация в сверхвысоком разрешении

Лазерный модуль LU-NV позволяет проводить SIM визуализацию со сверхвысоким разрешением на пяти длинах волны. Многоцветная визуализация важна для понимания динамических взаимодействий молекулярных структур.

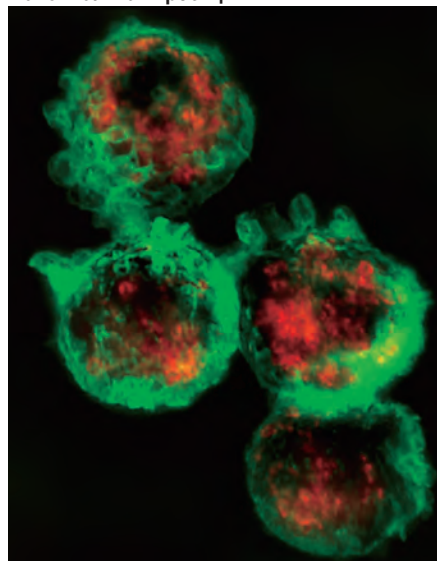


Разрешение в два раза выше, чем у обычного оптического микроскопа

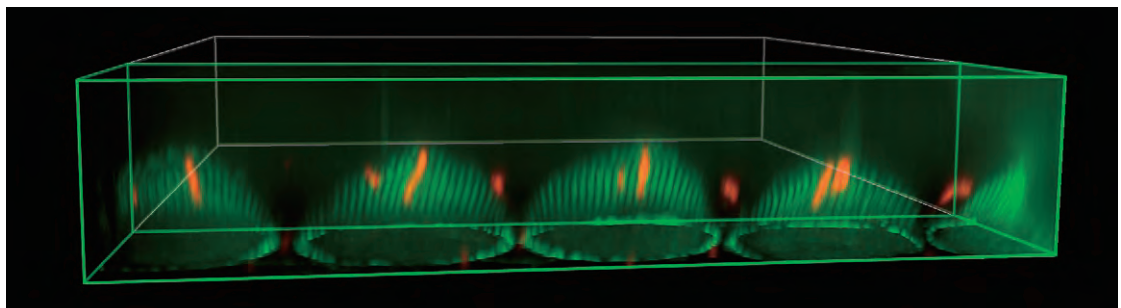
Трехмерный вид изображения



Максимальная проекция



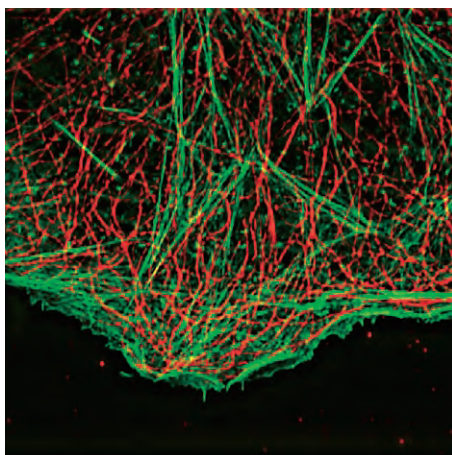
Макрофаги (клетки J774, экспрессирующие mVenus-SNAP23) в процессе фагоцитоза опсонизированных сфер, инкубированных при помощи вторичных антител, маркированных Alexa Fluor 555 после связывания. Сферы без красных сигналов находятся в фагосомах, содержащих mVenus-SNAP23.
Фото предоставлено: Drs. Chie Sakurai, Kiyotaka Hatsuzawa и Ikuo Wada, Медицинский университет Фукусимы, Школа медицины



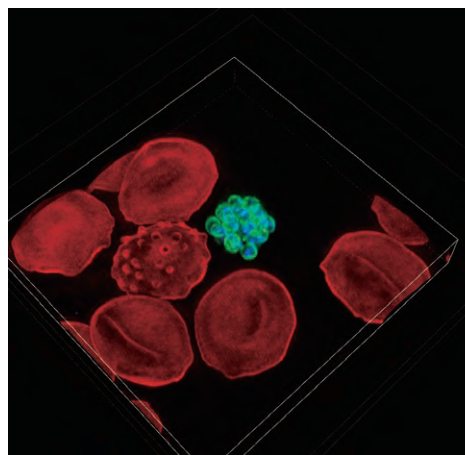
Люминальная поверхность органа Корти, один день после рождения (мышь)

Зеленый: F-актин, красный: ацетилованный тубулин

Фото предоставлено: Drs. Kanoko Kominami, Hideru Togashi и Yoshimi Takai, Подразделение молекулярной и клеточной биологии, Университет Кобе, Высшая школа медицины/Факультет медицины



Передний край клетки эпителия F-актин подсвечен фаллоидином (зеленый), микротрубочки маркированы антитубулиновым антителом (красный)
Фото предоставлено: Dr. Ulrike Engel, Центр обработки изображений Nikon в Университете Гейдельберга



Поверхность малярийного паразита (MTIP), маркированная Alexa Fluor 488 (зеленый), эритроцитарная мембрана (Band 3), маркированная Alexa Fluor 568 (красный), ДНК, маркированная DAPI (голубой)
Фото предоставлено: Drs. Masayuki Morita, Eizo Takashima, Tadahiro Iimura и Takafumi Tsuboi, Университет Эхимэ, Центр исследований белка

N-SIM

Визуализация динамических взаимодействий живых клеток с высоким разрешением



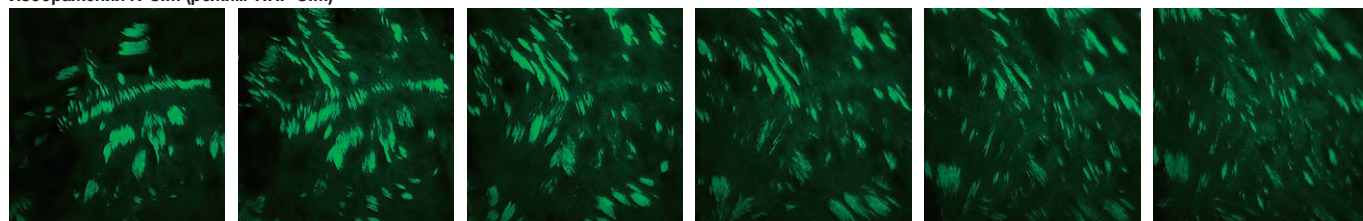
N-SIM изображения митохондрии живых клеток, маркированные Mito-Tracker red.

Снимки, сделанные при помощи N-SIM, показывают динамическое взаимодействие митохондрии при двойном пространственном разрешении. Также четко различимы кристы митохондрий. Режим: 3D-SIM (послойная реконструкция)

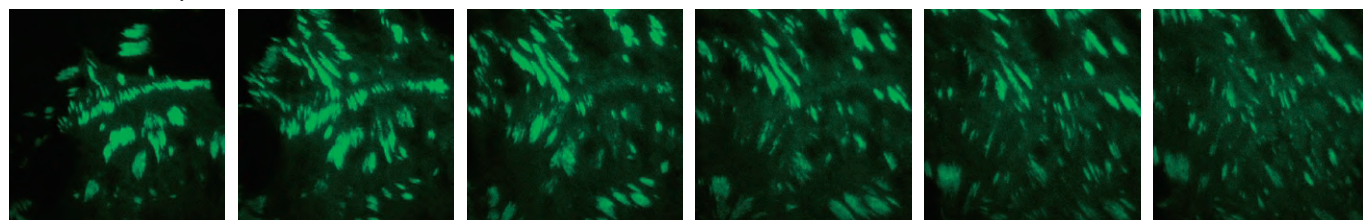
Объектив: CFI Aplanochromat TIRF 100x Oil (NA 1.49)

Интервал получения изображений: приблизительно 1 с (фильм)

Изображения N-SIM (режим TIRF-SIM)



Обычные TIRF изображения



0 мин.

48 мин.

96 мин.

144 мин.

192 мин.

240 мин.

Клетки FoLu (легкое лисы), экспрессирующие eGFP-винкулин

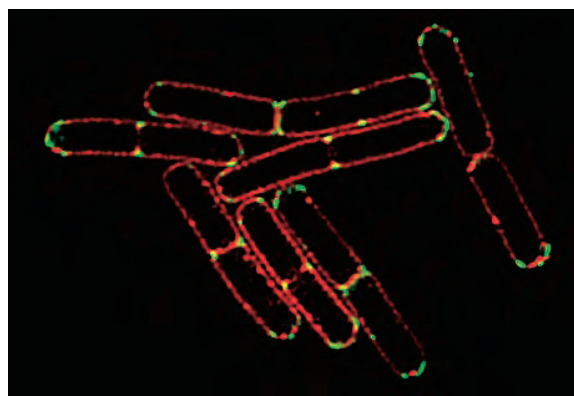
Режим: TIRF-SIM

Фото предоставлено: Dr. Michael W. Davidson, Национальная лаборатория интенсивных магнитных полей, Университет Флориды

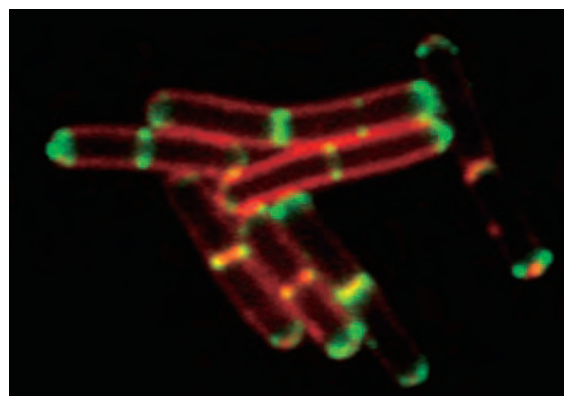
Изображения 3D-SIM

Послойная реконструкция подходит для покадровой съемки деятельности живых клеток на определенных глубинах

Изображение N-SIM (режим 3D-SIM)



Обычное широкопольное изображение

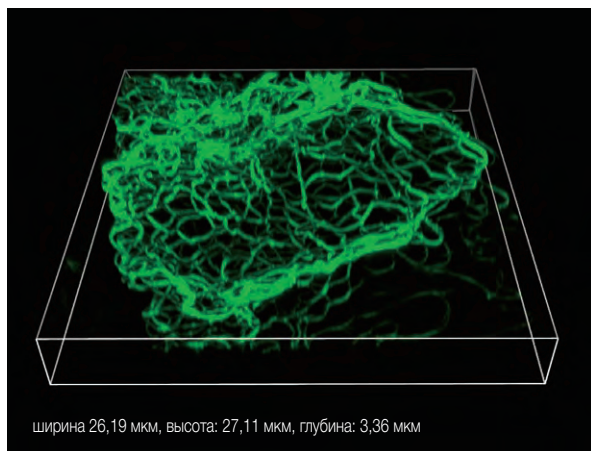


Сенная палочка, помеченная мембранным красителем Nile Red (красный), экспрессирующая белок клеточного деления DivIVA, связанного с GFP (зеленый). N-SIM обеспечивает точную локализацию белка в процессе деления.

Метод реконструкции: послойный

Фото предоставлено: Drs. Henrik Strahl и Leendert Hamoen, Центр биологии бактериальных клеток, Университет Ньюкасла

Стековая реконструкция на основе теории Густафссона подходит для получения объемных данных.

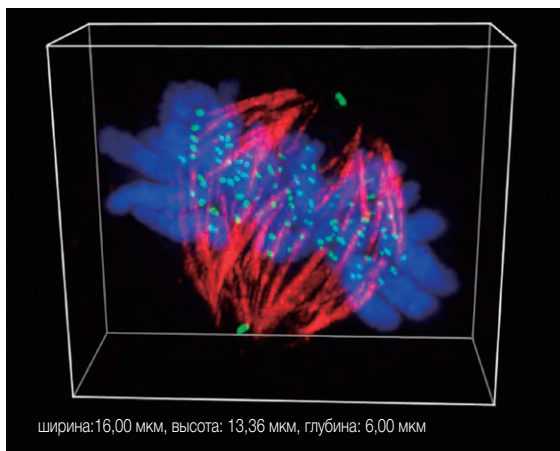


ширина 26,19 мкм, высота: 27,11 мкм, глубина: 3,36 мкм

Кератиноцит мыши, маркированный антителом для контраста с промежуточными филаментами кератина и связанным вторым антителом, окрашенным Alexa Fluor 488.

Метод реконструкции: стековый

Фото предоставлено: Drs. Reinhard Windoffer, RWTH Университет Аахена



ширина: 16,00 мкм, высота: 13,36 мкм, глубина: 6,00 мкм

Человеческая клетка U2OS в метафазе митоза

Клетка маркирована зеленым (kinetochore protein CENP-B), красным (alpha-tubulin) и голубым (DNA).

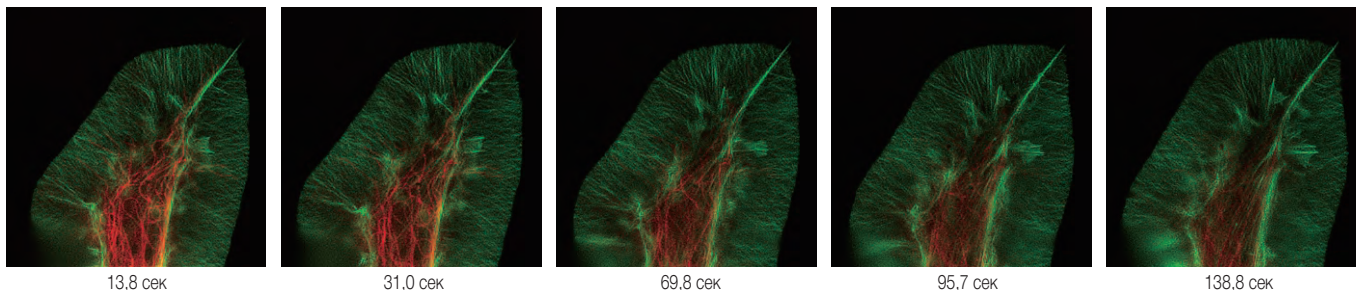
Метод реконструкции: стековый

Фото предоставлено: Dr. Alexey Khodjakov, Уодсвортский центр, Олбани, Нью-Йорк

Одновременная визуализация на двух длинах волн в сверхвысоком разрешении (опция)

Используя две камеры EMCCD/sCMOS, прикрепленных к микроскопу с помощью специального адаптера*, возможна одновременная визуализация в сверхвысоком разрешении на двух длинах волн при возбуждении лазерами с длиной волны 488 нм и 561 нм.

* Andor Technology Ltd.



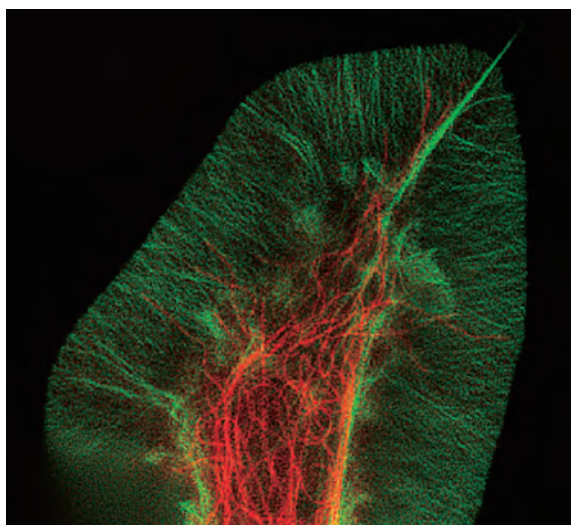
13,8 сек

31,0 сек

69,8 сек

95,7 сек

138,8 сек



1 сек

Конус роста клетки NG108, экспрессирующий GFP-LifeAct (F-актин, зеленый) и mCherry-tubulin (микротрубочки, красный)

Фото предоставлено: Dr. Kaoru Katoh, Национальный институт передовых технологий (AIST)

Адаптер для съемки двумя камерами (для N-SIM)



* Реальный адаптер может немного отличаться от изображения

N-SIM

Принцип микроскопии структурированного освещения

Аналитическая обработка сохраненных муаровых рисунков, полученных путем наложения известной структуры с высокой пространственной частотой, математически восстанавливает структуру образца, не поддающуюся визуализации при имеющемся разрешении.

Использование лазерной интерференции с высокой пространственной частотой для освещения структур образца, не поддающихся визуализации при имеющемся разрешении, приводит к образованию муаровых интерференционных полос, которые фиксируются. Эти муаровые полосы содержат в себе информацию о структурах образца, не поддающихся визуализации. Во время обработки изображения неизвестную информацию об образце можно восстановить для достижения разрешения, превышающего показатели обычного микроскопа.



Освещение известной структурой с высокой пространственной частотой позволяет получить информацию с высоким разрешением на основе имеющихся муаровых интерференционных полос.

Создание изображения с высоким разрешением за счет обработки нескольких изображений муарового рисунка

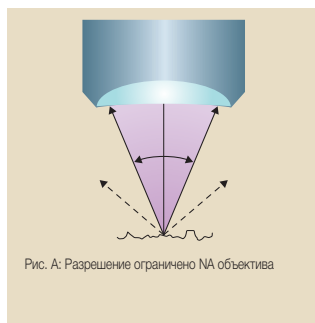
Изображение муаровых рисунков, полученное в ходе данного процесса, включает в себя информацию о мельчайших структурах образца. Многочисленные фазы и ориентации структурированного освещения фиксируются, и затем извлекается смещенная информация «с высоким разрешением» на основе муаровых интерференционных полос. Данная информация комбинируется математическими методами в пространстве «Фурье» или апертуры и затем снова преобразуется в пространство изображения, создавая изображение, разрешение которого в два раза превышает обычный предел разрешения.



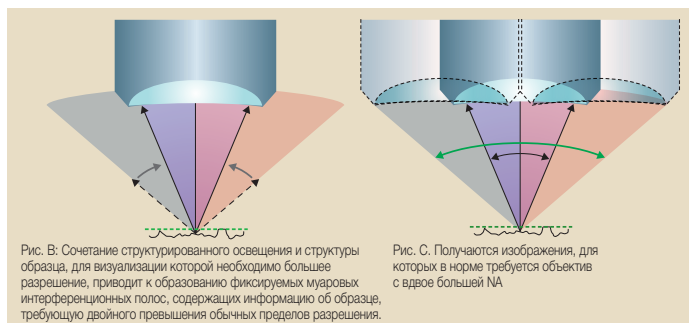
Использование высокочастотного структурированного освещения для удвоения разрешения

Получение информации с высоким разрешением и высокой пространственной частотой ограничивается числовой апертурой (NA) объективов, при этом пространственные частоты структуры за пределами апертуры оптической системы исключаются (Рис. А).

Освещение образца при помощи высокочастотного структурированного освещения, которое умножено на неизвестную структуру в образце находящуюся за пределами классического разрешения, помогает увидеть в апертуре оптической системы смещенную информацию «с высоким разрешением» (Рис. В).

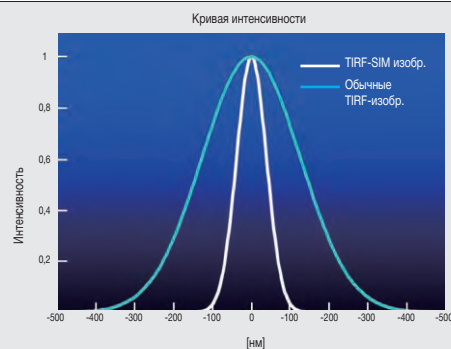
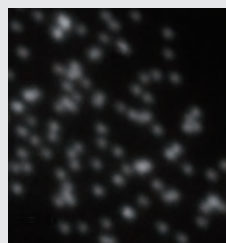


Затем данная информация «с высоким разрешением» математически сочетается со стандартной информацией, получаемой при помощи объектива, в результате получается изображение, для которого требуется разрешение, обеспечиваемое объективом с вдвое большей числовой апертурой (Рис. С).



Сравнение изображений TIRF-SIM и обычных лазерных TIRF-изображений

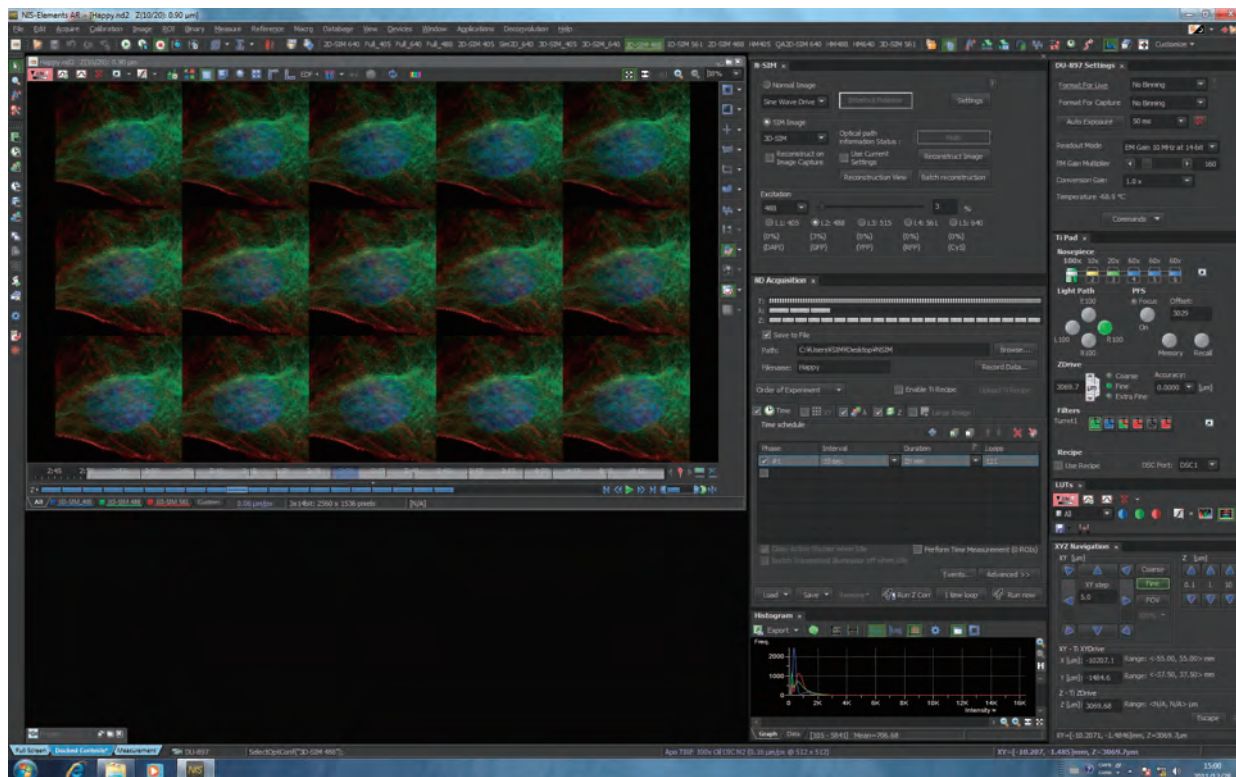
Изображения флуоресцентных сфер диаметром 100 нм полученные при помощи обычного оптического микроскопа и микроскопа с высоким разрешением N-SIM. Профили интенсивности точечных изображений показывают, что разрешающая способность микроскопа N-SIM в два раза превышает показатель обычного эпифлуоресцентного микроскопа.



Программное обеспечение для N-SIM



Обработка, реконструкция и анализ изображений N-SIM выполняются при помощи программного модуля N-SIM, встроенного в NIS-Elements - универсальное межплатформенное программное обеспечение компании Nikon. Платформа NIS-Elements обеспечивает такой же уровень интуитивного взаимодействия с N-SIM, который существует в других системах обработки изображений Nikon, таких как конфокальные микроскопы.



Получение изображения N-SIM (3D-SIM)

Получение изображения

- Выбор режима N-SIM
- Контроль мощности лазера
- Настройка параметров

Настройка параметров получения изображения

Имеется пять различных доступных длин волны лазера. Настраиваемые пользователем параметры спектра, Z-стеков и времени съемки управляются автоматически, что позволяет с легкостью пройти путь от получения изображения до реконструкции изображения N-SIM. Реконструкция изображений N-SIM может быть оптимизирована с помощью изменения параметров реконструкции после получения изображений.

Обработка изображения

- Ручная настройка параметров реконструкции изображения N-SIM
- Оптимизация параметров реконструкции изображения N-SIM
- Вид после реконструкции
- Групповая реконструкция

Настройка реконструкции изображения

Автоматические настройки позволяют ПО автоматически выбрать наиболее подходящие параметры реконструкции для восстановления изображений N-SIM на основе полученных изображений. Пользователи могут оптимизировать реконструкцию путем ручной корректировки указанных параметров.

Вид после реконструкции

Вид после реконструкции дает пользователям возможность предварительного просмотра результатов выбранных параметров реконструкции текущего/выбранного кадра, что позволяет эффективно выбирать подходящие параметры.

Высокоскоростная обработка информации с применением графического процессора

Использование графического процессора позволяет обрабатывать изображения в пять раз быстрее, чем при использовании центрального процессора (при условии, что используются рекомендуемые компьютер и графический процессор).



N-SIM

Объективы для микроскопов сверхвысокого разрешения

Иммерсионные объективы

Благодаря юстировке и контролю линз, с использованием измерения aberrации волнового фронта, объектив серии SR для микроскопа сверхвысокого разрешения обладает превосходными оптическими характеристиками с минимально возможной ассиметричной aberrацией.

Длительный срок службы при возбуждении мощным лазерным излучением и минимальная осевая хроматическая aberrация позволяют объективу серии SR HP демонстрировать великолепные результаты при съемке со сверхвысоким разрешением без необходимости смены объективов между системами N-SIM и N-STORM.



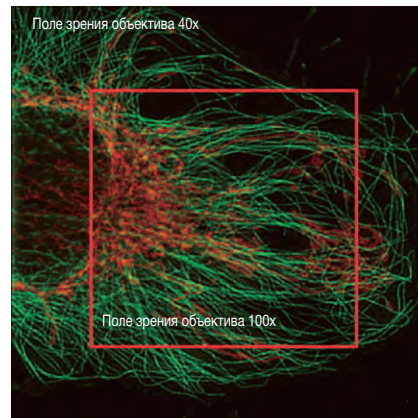
CFI SR HP Apochromat TIRF 100x C Oil
CFI SR Plan Apochromat IR 60x W

Сухие объективы

Модель N-SIM совместима с сухими объективами, благодаря чему можно осуществлять конфокальную съемку и съемку со сверхвысоким разрешением, не меняя объективы. Объективы с малым коэффициентом увеличения и широкопольные сухие объективы позволяют проводить наблюдения с высоким разрешением даже на периферии образца. * Сухие объективы поддерживают режимы 2D-SIM и 3D-SIM (послойная реконструкция)



CFI Plan Apochromat λ 60x
CFI Plan Apochromat λ 40x



Автоматическое коррекционное кольцо (опция)

Это уникальное автоматическое коррекционное кольцо с гармоническим приводом и алгоритмом автоматической коррекции обеспечивает идеальную настройку коррекционного кольца объективов серии AC, легко и точно компенсируя изменения температуры, отклонения толщины покровного стекла или распределения показателя преломления в образцах.

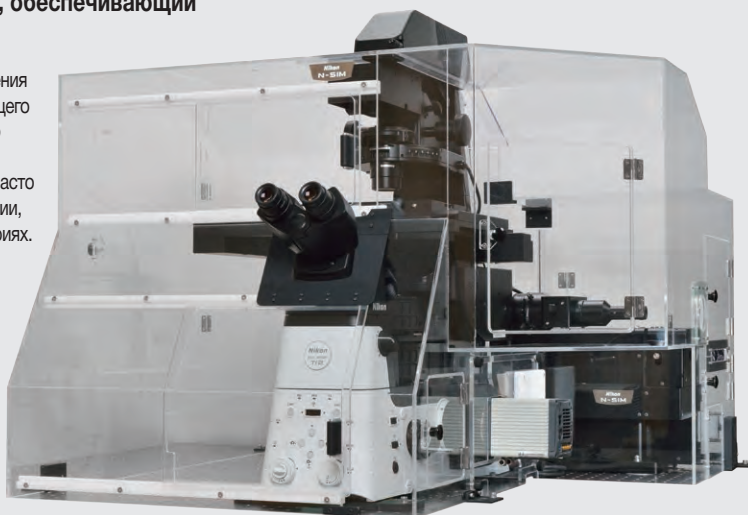


Микроскоп сверхвысокого разрешения N-SIM E

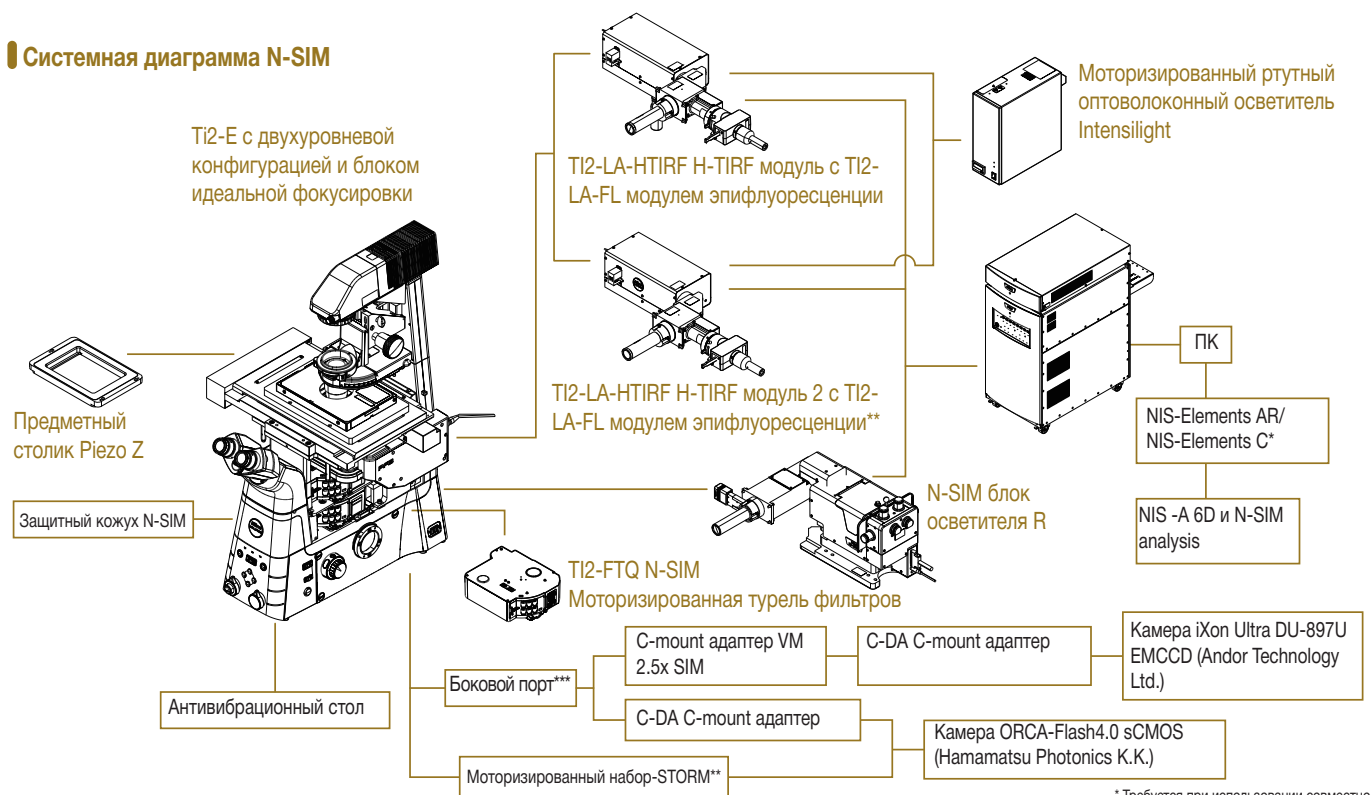
Личный микроскоп сверхвысокого разрешения, обеспечивающий такое же высокое разрешение, как и N-SIM

Применение технологии микроскопии структурированного освещения позволяет N-SIM E достигнуть разрешения, в два раза превышающего показатели обычного оптического микроскопа (приблизительно до 115 нм). N-SIM E – это оптимизированный бюджетный микроскоп сверхвысокого разрешения, поддерживающий только основные, часто используемые длины волн возбуждения и режимы визуализации, что делает его идеальным для использования в частных лабораториях.

- Разрешение, в два раза превышающее показатели обычных оптических микроскопов (115 нм)
- Временное разрешение 1 с/кадр
- Съемка осевых изображений со сверхвысоким разрешением в режиме 3D-SIM
- Возможность трехцветной визуализации со сверхвысоким разрешением с специализированным компактным лазерным блоком.



Системная диаграмма N-SIM



* Требуется при использовании совместно с конфокальной системой

** Требуется при конфигурации с N-STORM

*** Поставляется со штативом микроскопа

Спецификации N-SIM/N-SIM E

	N-SIM	N-SIM E
Разрешение в горизонтальной плоскости	115 нм* в режиме 3D-SIM, 86 нм** в режиме TIRF-SIM	115 нм* в режиме 3D-SIM
Разрешение в вертикальной плоскости	269 нм* в режиме 3D-SIM	
Время получения изображений	До 0.6 с/кадр (TIRF-SIM/2D-SIM) До 1 с/кадр (3D-SIM)	До 1 с/кадр (3D-SIM)
Режим визуализации	TIRF-SIM 2D-SIM 3D-SIM (Методы реконструкции: послойная, стековая)	3D-SIM Методы реконструкции: послойная, стековая (опционально)
Цветная съемка	До пяти цветов	До трех цветов
Одновременная цветная съемка	Два цвета	-
Совместимый лазер	Лазерный модуль серии LU-NV Стандарт: 405 нм, 488 нм, 561 нм, 640 нм Опция: 445 нм, 514 нм Сочетание лазеров: 405 нм/445 нм/488 нм/561 нм/647 нм	Лазерный модуль серии LU-N3-SIM 488 нм, 561 нм, 640 нм
Совместимый микроскоп	Моторизированный инвертированный микроскоп ECLIPSE Ti2-E Система идеального фокуса Моторизованный XY столик с кодовым датчиком положения Предметный столик Piezo Z	Моторизированный инвертированный микроскоп ECLIPSE Ti2-E Система идеального фокуса Моторизованный XY столик с кодовым датчиком положения Моторизованное колесо барьерных фильтров Предметный столик Piezo Z (опционально)
Объектив	CFI SR HP Apochromat TIRF 100xC Oil (NA 1.49) CFI SR Apochromat TIRF AC 100x Oil (NA 1.49) CFI SR Plan Apochromat IR 60x WI (NA 1.27) CFI SR Plan Apochromat IR AC 60x WI (NA 1.27) CFI Plan Apochromat λ 60x (NA 0.95)*** CFI Plan Apochromat λ 40x (NA 0.95)***	
Камера	iXon Ultra DU-897U EMCCD-камера (Andor Technology Ltd.) ORCA-Flash 4.0 sCMOS-камера (Hamamatsu Photonics K.K.)	ORCA-Flash 4.0 sCMOS-камера (Hamamatsu Photonics K.K.)
Программное обеспечение	NIS-Elements Ar/NIS-Elements C (для конфокального микроскопа A1+/A1R+) Оба требуют дополнительные программные модули NIS-A 6D и N-SIM Analysis	NIS-Elements Ar/NIS-Elements C (для конфокального микроскопа) Оба требуют дополнительные программные модули NIS-A 6D и N-SIM Analysis
Условия работы	20–28 °C (± 0,5 °C)	

*Эти значения измеряются с использованием шариков диаметром 100 нм, возбуждаемых при 488 нм. Фактическое разрешение зависит от длины волны лазера и оптической конфигурации. ** Это значение измеряется с использованием шариков диаметром 40 нм, возбуждаемых при 488 нм. Фактическое разрешение зависит от длины волны лазера и оптической конфигурации. *** Поддерживают режимы 2D-SIM и 3D-SIM (послойная реконструкция)

Достижение разрешения в 10 раз большего, чем у обычного микроскопа, позволяет проводить исследования на молекулярном уровне

Микроскопия стохастической оптической реконструкции (STORM) восстанавливает флуоресцентное изображение со сверхвысоким разрешением с помощью точной информации о локализации отдельных флуорофоров в сложных флуоресцентных образцах. Технология N-STORM использует возможности мощного инвертированного микроскопа Ti2-E компании Nikon и применяет высокоточную многоцветную локализацию и реконструкцию в трех измерениях (xyz) для получения изображений со сверхвысоким разрешением, десятикратно превышающим разрешение обычных оптических микроскопов (до 20 нм в плоскости xy). Эта мощная технология позволяет визуализировать молекулярные взаимодействия на наноскопическом уровне, открывая новые возможности для научных исследований.

Модель N-STORM полностью усовершенствована до версии N-STORM 4.0, позволяющей на высокой скорости визуализировать динамические межклеточные взаимодействия с использованием технологии микроскопии стохастической оптической реконструкции при широком поле зрения.

- ▮ Разрешение, десятикратно превышающее показатели обычного оптического микроскопа по осям x, y и z
- ▮ Динамическая визуализация при сверхвысоком разрешении на наноскопическом уровне
- ▮ Возможность цветной визуализации
- ▮ Высокая четкость и насыщенность изображений
- ▮ Большая область захвата изображения

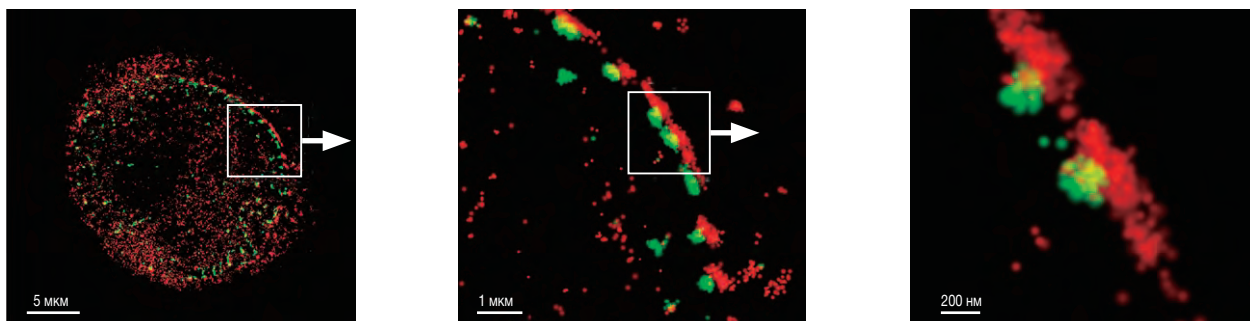


Разрешение, десятикратно превышающее показатели обычного оптического микроскопа по осям x, y и z

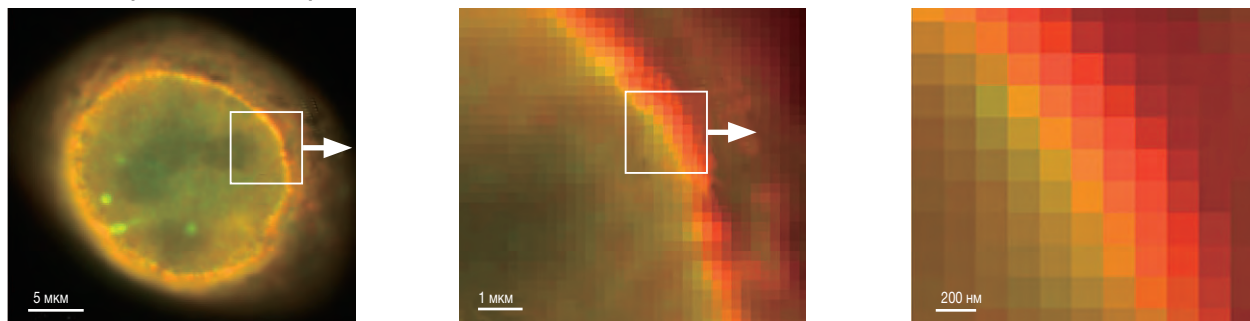
Разрешение в горизонтальной плоскости до 20 нм

Технология N-STORM использует высокоточную информацию о локализации тысяч отдельных флуорофоров в поле зрения для создания изображений со сверхвысоким разрешением в 10 раз превышающим характеристики обычных оптических микроскопов.

Изображения N-STORM



Обычные широкопольные изображения

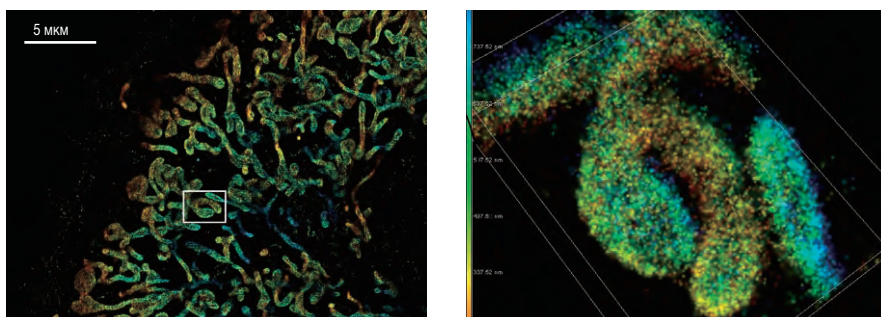


Человеческие клетки рака шейки матки (HeLa S3), маркированные Alexa Fluor 647 (NUP153) и ATTO 488 (TPR)
Фото предоставлены: Dr. Michael W. Davidson, Национальная лаборатория интенсивных магнитных полей, Университет Флориды

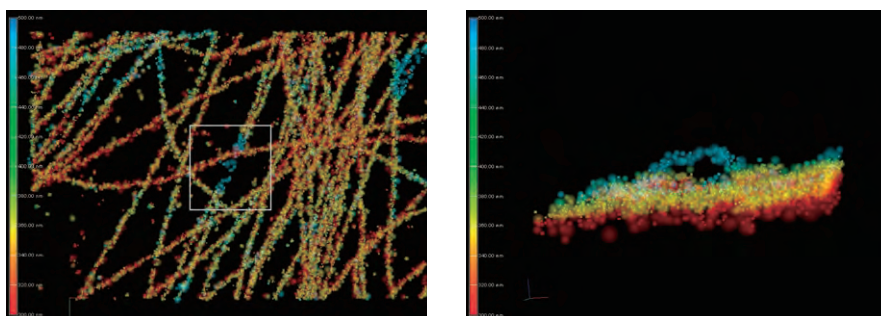
Разрешение в вертикальной плоскости до 50 нм

В дополнение к сверхвысокому разрешению в горизонтальной плоскости, в N-STORM используются запатентованные методы, позволяющие достигнуть десятикратного увеличения разрешения в вертикальной плоскости по сравнению с обычными оптическими микроскопами и эффективно получать 3D информацию в нанодиапазоне.

Функция 3D-Stack позволяет получать и комбинировать несколько 3D STORM снимков с различными координатами по оси z для получения полного STORM изображения.



Tom20 митохондрии, маркированный Alexa Fluor 647



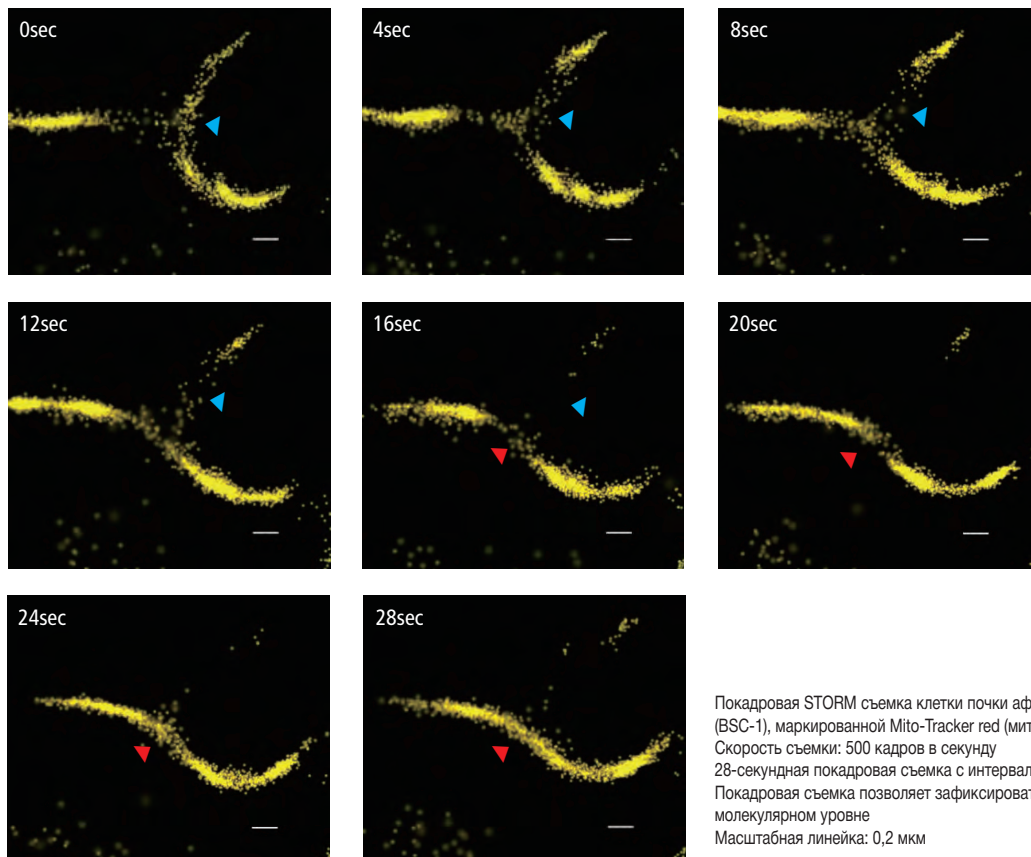
Тубулин BSC-1, маркированный Alexa Fluor 647

N-STORM

Динамическая визуализация при сверхвысоком разрешении на наноскопическом уровне

Скорость получения изображений была значительно улучшена, сократившись с минут до секунд* на один кадр, благодаря недавно разработанным оптике и системам освещения, оптимизированным для использования с камерой sCMOS, способной делать снимки приблизительно в 10 раз быстрее, чем ранее. Благодаря этим улучшениям, сейчас возможно формировать изображение живых препаратов с разрешением в 10 раз больше, чем у обычных оптических микроскопах.

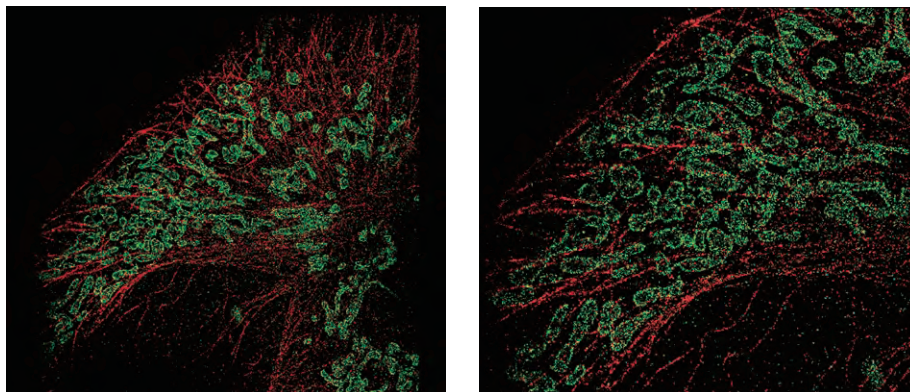
*При использовании высокоскоростного режима (поле зрения 20мкм x 20мкм)



Покадровая STORM съемка клетки почки африканской зеленой мартышки (BSC-1), маркированной Mito-Tracker red (митохондрия)
Скорость съемки: 500 кадров в секунду
28-секундная покадровая съемка с интервалом 2 с
Покадровая съемка позволяет зафиксировать движения митохондрии на молекулярном уровне
Масштабная линейка: 0,2 мкм

Возможность цветной визуализации

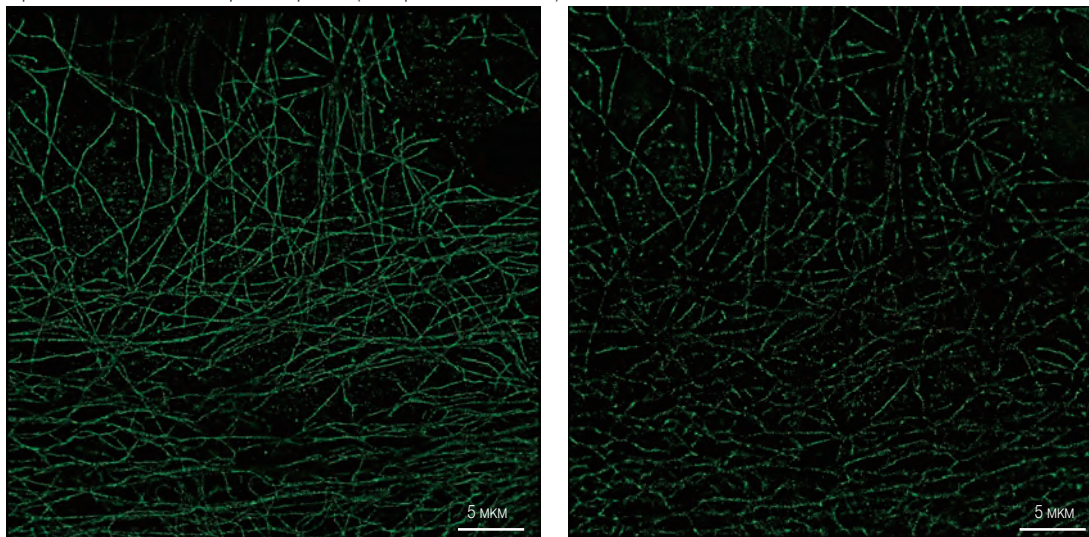
Цветную визуализацию в сверхвысоком разрешении можно осуществлять либо с использованием пар красителей, из которых один служит для активации, а другой – для получения изображения, либо с использованием стандартных вторичных антител, доступных для приобретения для визуализации с непрерывной активацией. Это позволяет пользователям критически оценить характеристики локализации и взаимодействия нескольких протеинов на молекулярном уровне.



Двухцветный STORM снимок микротрубочки (Alexa Fluor 405 – Alexa Fluor 647) и митохондрии (Cy3 - Alexa Fluor 647) в клетке млекопитающего.
Объектив: CFI Plan Achromat VC 100x Oil (1.40)

Высокая четкость и насыщенность изображений

Недавно разработанная линза, усиливающая освещение, улучшает эффективность лазерного возбуждения и повышает скорость получения изображений, увеличивает плотность молекул на единицу поверхности и способствуют получению более четких снимков с высоким числом молекул.
*При использовании высокоскоростного режима (поле зрения 20мкм x 20мкм)



Слева: изображение улучшенного качества

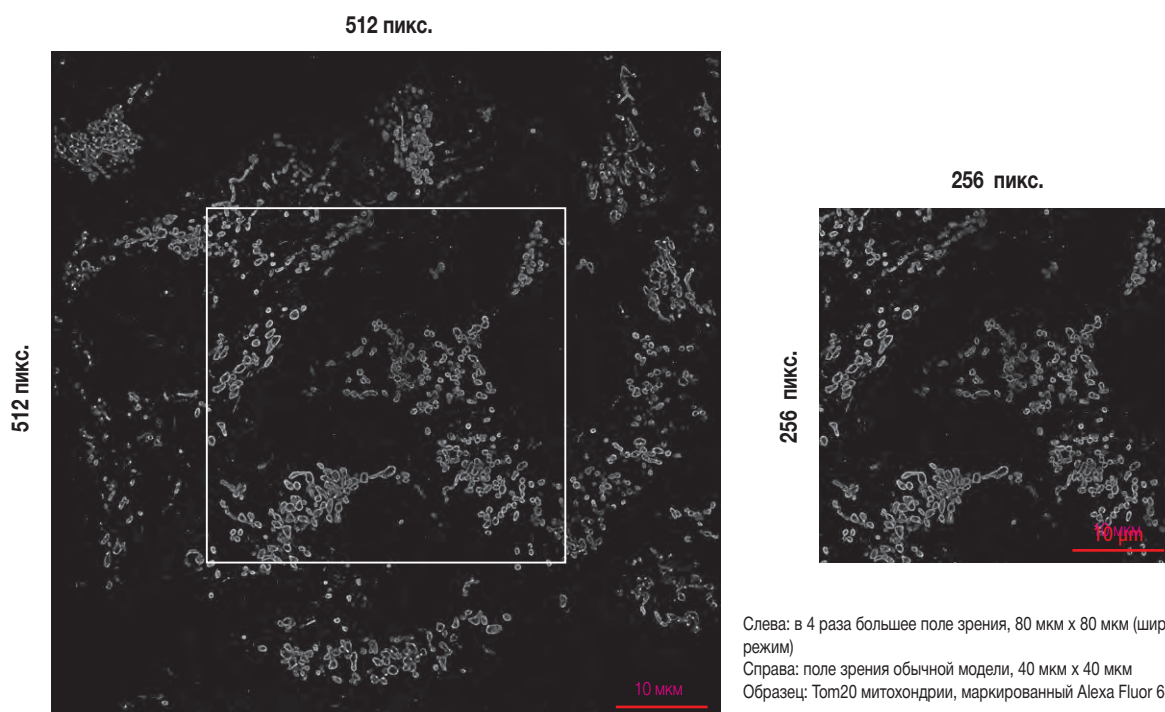
Справа: до улучшения

Качество снимков со сверхвысоким разрешением заметно лучше при том же времени получения изображений

Пример: Тубулин BSC-1, маркированный Alexa Fluor 647, время получения изображения: 20 секунд

Большая область захвата изображения

Промежуточные линзы в системе формирования изображений были недавно разработаны и оптимизированы для создания широкого поля зрения. Широкопольный режим достигается при показателях 80 мкм x 80 мкм, что в четыре раза больше, чем раньше.



Слева: в 4 раза большее поле зрения, 80 мкм x 80 мкм (широкопольный режим)

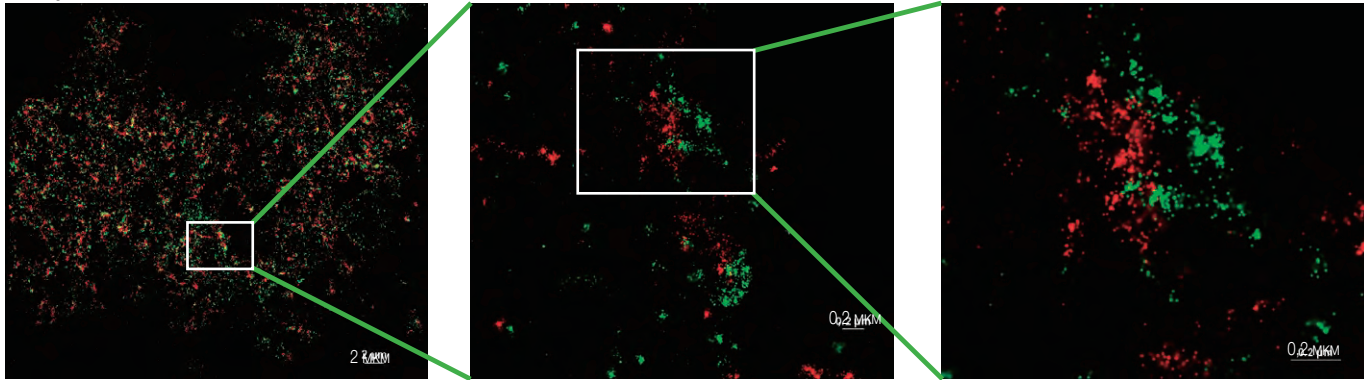
Справа: поле зрения обычной модели, 40 мкм x 40 мкм

Образец: Tom20 митохондрии, маркированный Alexa Fluor 647

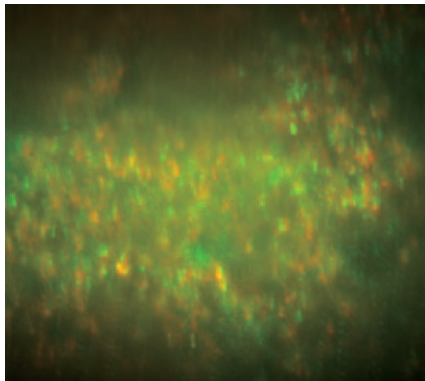
N-STORM

2D снимки, сделанные с использованием N-STORM

Изображения STORM

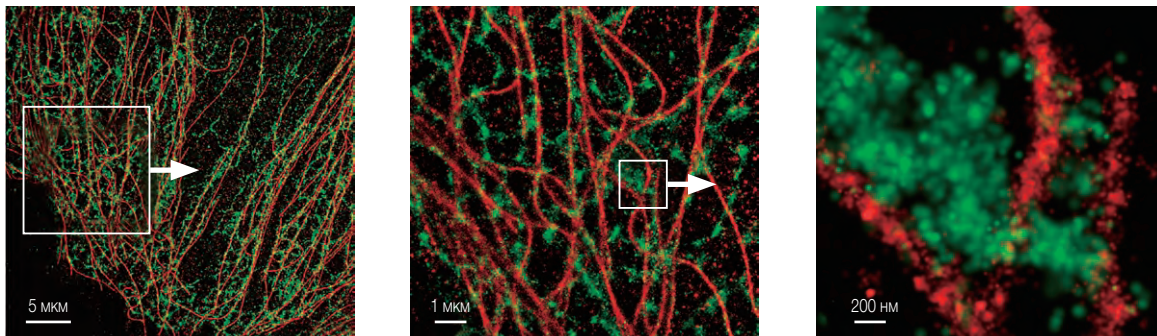


Широкопольное изображение

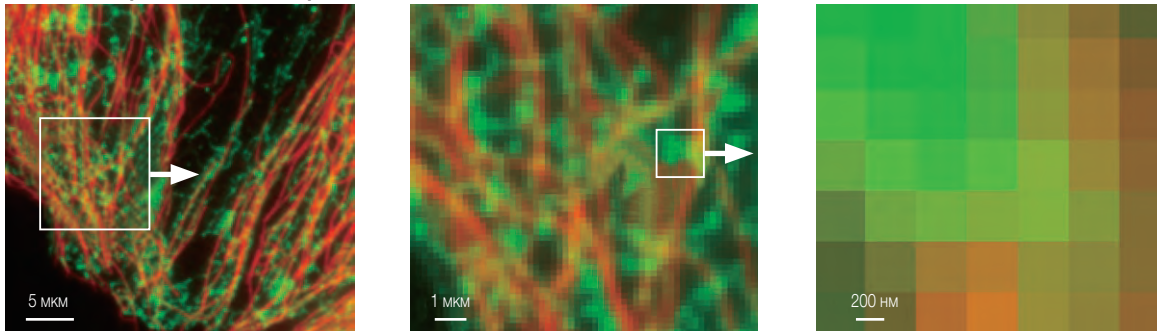


Замороженный срез мозга мыши в возрасте двух недель (область CA1 гиппокампа)
Съемка VGLUT1/PSD-95 в нервной клетке мыши с использованием STORM и широкопольной микроскопии
Три изображения STORM были получены при увеличении 3X, 40X и 90X
Красный: VGLUT1 Cy3 и Alexa Fluor 647 (пресинапс). Зеленый: PSD-95 Alexa Fluor 405 - Alexa Fluor 647 (постсинапс)
При использовании STORM структуры пресинапса и постсинапса видны четко и отдельно.
Фото предоставлены: Drs. Naosuke Hoshina и Tadashi Yamamoto, Окинавский институт науки и технологии

Изображения N-STORM

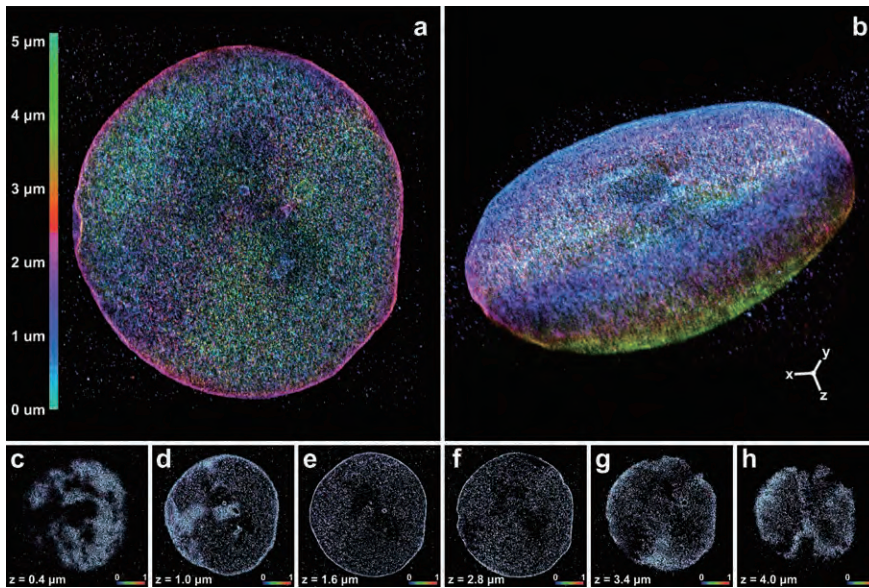


Обычные широкопольные изображения

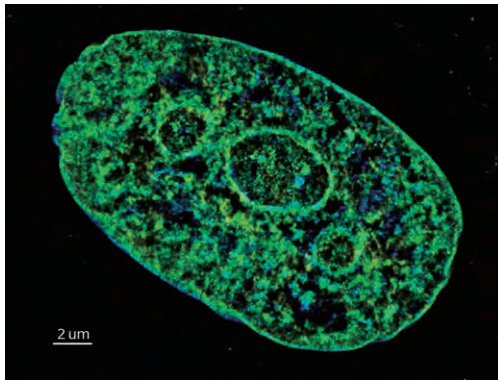


Клетки почки африканской зеленой мартышки (BSC-1), маркированные Alexa Fluor 647 (Тубулин) и АТТО 488 (Калретикулин)
Фото предоставлены: Dr. Michael W. Davidson, Национальная лаборатория интенсивных магнитных полей, Университет Флориды

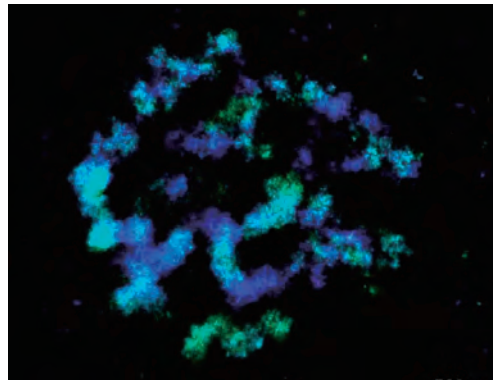
3D STORM изображение



3D изображение белка Lamin A/C в фиксированной клетке CV-1, маркированного DNA-PAINT
 Глубина изображения: 5,1 мкм
 Шаг: 100 нм
 (a) 3D изображение с цветовой кодировкой по оси z
 (b) 3D объемная визуализация
 (c-h) отдельные плоскости по оси z, глубина обозначена в левом нижнем углу

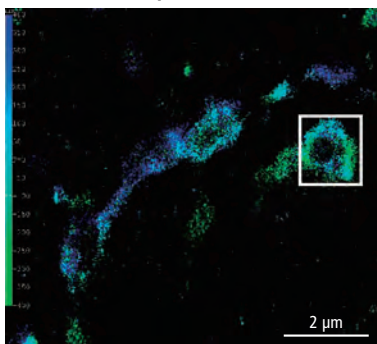


Человеческий фибробласт, маркированный EdU - Alexa Fluor 647 для визуализации ДНК с помощью 3D-STORM
 Фото предоставлено: Drs. Jason Otterstrom и Melike Lakadamyali, Институт фотонных наук, Кастельдефельс



Первичная клеточная культура мозга дрозофилы
 3D STORM изображение ДНК в нейробласте дрозофилы, маркированной EdU.
 Фото предоставлено: Drs. Anna Oddone и Melike Lakadamyali, Институт фотонных наук, Кастельдефельс

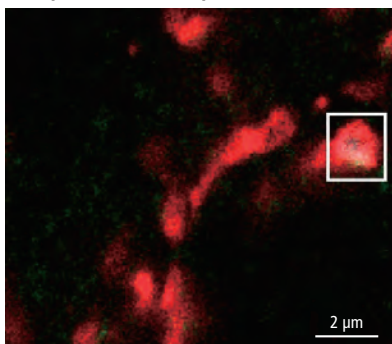
3D STORM изображение



Срез мозга мыши (область CA1 гиппокампа), окрашенный с использованием иммунной метки, и каннабиноидные рецепторы CB1, маркированные Alexa Fluor 647
 На изображении STORM мембрана терминалей аксона видна намного четче.

Фото предоставлены: Drs. Barna Dudok, Laszlo Barna и Istvan Katona, Лаборатория молекулярной нейробиологии, Институт экспериментальной медицины венгерской академии наук.

Конфокальное изображение



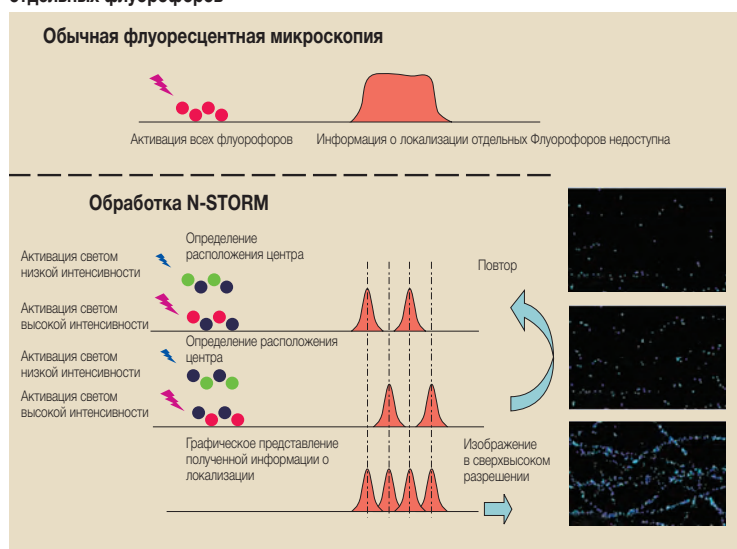
N-STORM

Принцип микроскопии стохастической оптической реконструкции

Микроскопия стохастической оптической реконструкции (STORM) реконструирует изображение с высоким разрешением путем объединения высокоточной информации о локализации отдельных флуорофоров в трех измерениях и различных цветах

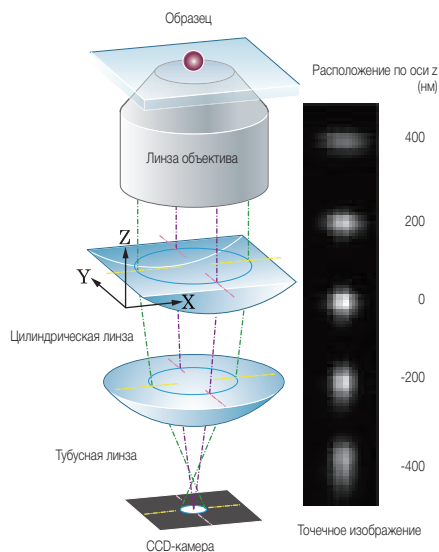
Технология N-STORM использует стохастическую активацию относительно небольших количеств молекул флуорофора с помощью света очень низкой интенсивности. Такая случайная стохастическая «активация» флуорофора делает возможным временное разделение отдельных молекул, обеспечивая их высокоточную локализацию по осям x и y. С помощью специальной оптики 3D-STORM технология N-STORM также позволяет с высокой точностью локализовать отдельные молекулы по оси z. Объединение координат молекулы в трех измерениях при помощи компьютера в результате дает 3D изображения наноскопического мира со сверхвысоким разрешением.

Реконструкция изображений N-STORM при помощи информации о локализации отдельных флуорофоров



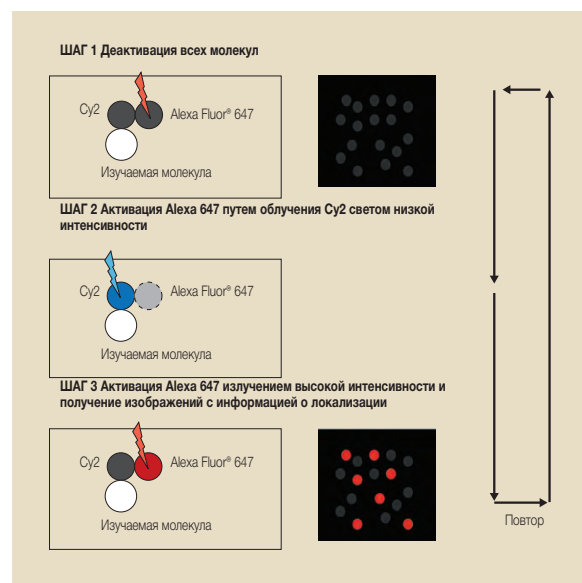
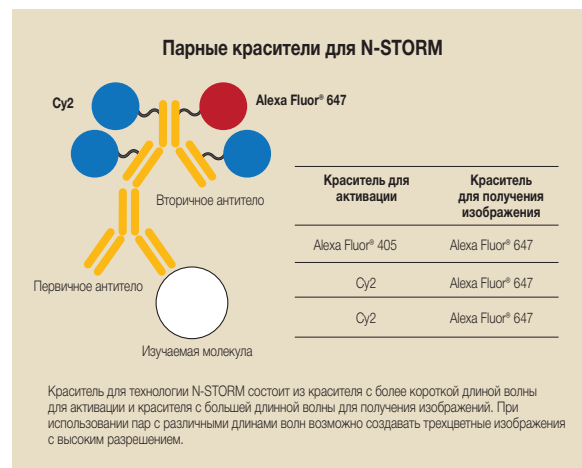
Высокоточное определение положения по оси z

Цилиндрическая линза, которая асимметрично собирает излучение в направлении x или y, позволяет определить положение молекулы на оси z с точностью до 50 нм. Положение на оси z вычисляется путем определения ориентации астигматического искажения изображения в направлении x или y, а также размера точечных изображений, находящихся не в фокусе. Флуоресцентные 3D-изображения можно реконструировать путем комбинации определенного местоположения на оси z с местоположением на осях xy.



Специальные парные красители для максимально точной локализации

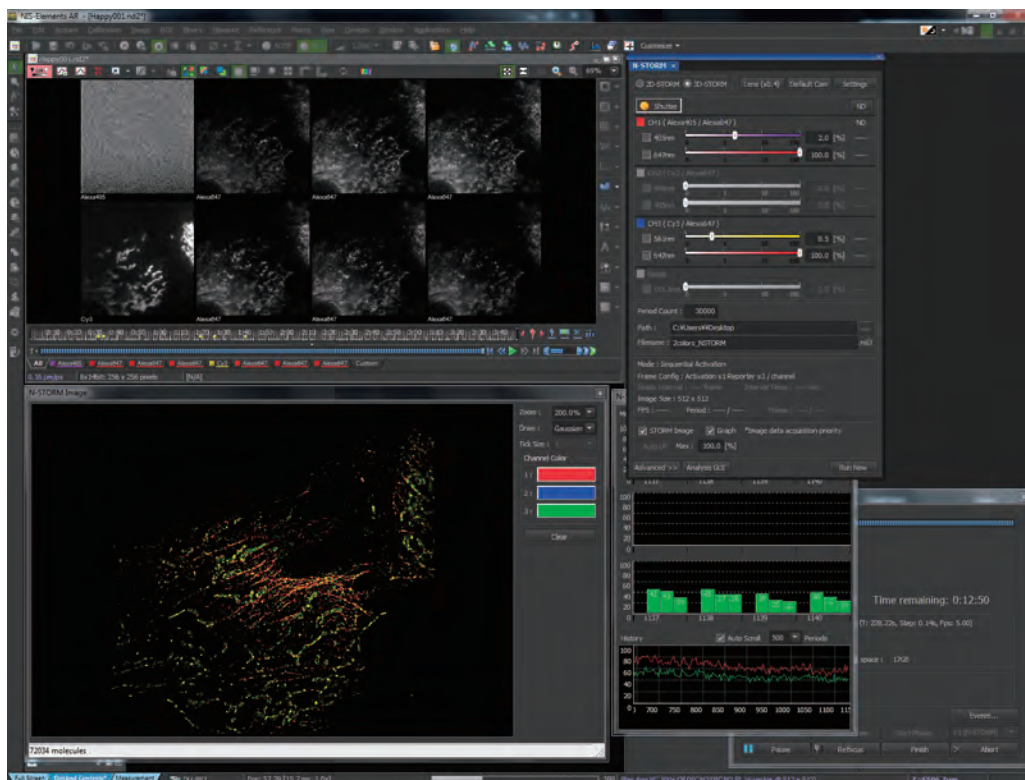
В технологии N-STORM используются специальные флуоресцентные парные красители, содержащие «активатор» (активация относительно короткой длиной волны) и «репортер» (активация относительно большей длиной волны), что позволяет использовать различные сочетания цветов и таким образом обеспечивать мультиканальное сверхвысокое разрешение. Технология N-STORM также может быть реализована с помощью обычных одноцветных связанных антител для получения изображений с постоянной активацией.



Программное обеспечение для N-STORM



NIS-Elements и N-STORM Analysis, программное обеспечение для обработки изображений от компании Nikon, помогают выполнить различные операции, от получения изображений N-STORM до реконструкции. При получении изображений можно в реальном времени просматривать широкопольные и реконструированные изображения, а также локализованные молекулы.



Диалоговое окно получения изображений N-STORM

Получение изображения

Настройки для получения изображений

Возможно простое переключение между режимами 2D-STORM и 3D-STORM.

Настройка условий получения изображений

Возможно одновременное получение многоцветных изображений в режиме непрерывной активации. Для поправки на смещение по осям x, y и z используются координатные метки, позволяющие точно локализовать молекулы, что особенно полезно при изучении образцов живых клеток.

Отражение локализации в реальном времени

При получении изображений N-STORM количество локализованных флуоресцентных молекул отражается в реальном времени с помощью изображений и графиков. Нажатием кнопки Auto LP (Автоматическая мощность лазера) можно автоматически скорректировать мощность лазера в зависимости от количества локализованных флуоресцентных пятен.

Обработка изображения

Анализ группы изображений

Возможен одновременный анализ нескольких изображений N-STORM.

Вычитание помех

Вычитает количество флуоресцентных пятен, полученных в результате помех при активации. После корректировки настроек вычета помех сразу отображается полученное изображение.

Вид отображения изображения N-STORM

Имеется три вида отображения: по Гауссу, перекрестное или перекрестное по Гауссу.

Отображение 3D

Важной характеристикой технологии N-STORM является получение и анализ 3D изображений сверхвысокого разрешения. После анализа полученные изображения можно отображать под любым углом.

Увеличение изображения

Выбранные участки изображения можно увеличить до 20 000%.

N-STORM

N-STORM модуль 2

N-STORM модуль 2 автоматически фокусирует лазер и настраивает угол падения для освещения в режиме TIRF. Моторизованные увеличивающие линзы (1x, 2x, 4x, 8x) осветителя позволяют легко переключать мощность освещения и ширину поля зрения для настройки любых приложения N-STORM.



Моторизованный набор N-STORM

Включает увеличивающую линзу 0,4x для съемки с помощью камеры CMOS и цилиндрическую линзу для 3D съемки. Обе линзы моторизованы и могут быть введены в оптический канал или выведены из него с помощью программного обеспечения. Идущая в комплекте прямоугольная полевая диафрагма ограничивает поле зрения до области получения изображения, минимизируя нежелательное фотообесцвечивание вне этой области.



Объективы, оптимизированные для получения изображений N-STORM

Объектив HP адаптированные к мощному лазерному излучению, необходимы для быстрого возбуждения флуорофоров. Благодаря улучшенной коррекции осевой хроматической аберрации, стало возможно получать цветные флуоресцентные 3D изображения с точностью, недостижимой раньше.

Объектив SR HP обеспечивает более высокое качество изображения 3D STORM, достигнув превосходных показателей в визуализации со сверхвысоким разрешением.



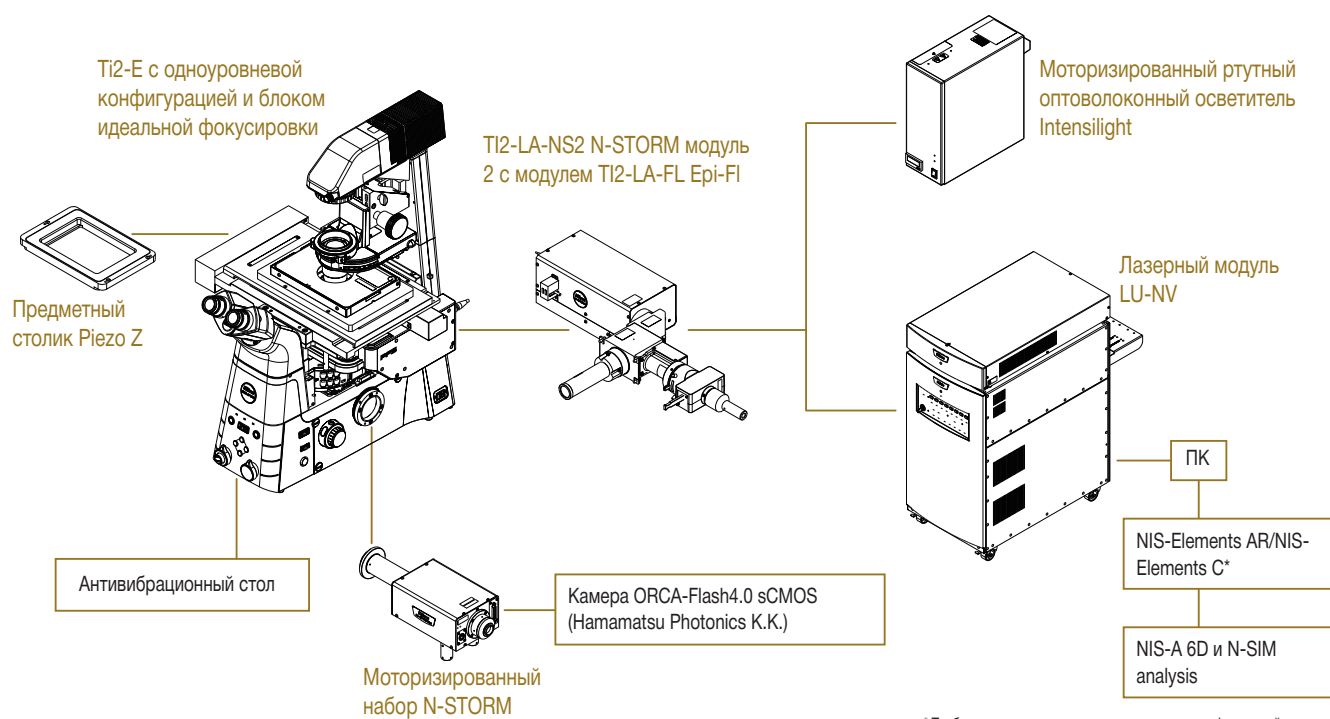
CFI SR HP Apochromat TIRF 100x Oil
CFI HP Plan Apochromat VC 100x Oil

Автоматическое коррекционное кольцо (опция)

Это уникальное автоматическое коррекционное кольцо с гармоническим приводом и автоматическим корректирующим алгоритмом, позволяет достичь идеальной настройки коррекционного кольца объективов серии AC, легко и точно компенсируя изменения температуры, отклонения в толщине покровного стекла и распределение показателя преломления в образцах.



Системная диаграмма N-STORM



Спецификации N-STORM	
Разрешение в горизонтальной плоскости	Приблизительно 20 нм
Разрешение в вертикальной плоскости	Приблизительно 50 нм
Режим получения изображений	2D-STORM (обычный и непрерывный), 3D-STORM (обычный и непрерывный), функция 3D-Stack
Максимальное поле зрения	80 мкм x 80 мкм
Скорость получения изображений	До 50 Гц
Цветная съемка	До трех цветов
Совместимый лазер	Лазерный модуль LU-NV Стандарт: 405 нм, 488 нм, 561 нм, 647 нм Опционально: 445 нм, 458 нм Сочетание лазеров: 405 нм/445 нм/488 нм/561 нм/647 нм, 405 нм/458 нм/488 нм/561 нм/647 нм
Совместимый микроскоп	Моторизованный инвертированный микроскоп ECLIPSE Ti2-E Система идеального фокуса Моторизованный XY столик с кодовым датчиком положения Предметный столик Piezo Z
Объектив	CFI SR HP Achromat TIRF 100x Oil (NA 1.49) CFI HP Achromat TIRF AC 100x Oil (NA 1.49) CFI HP Plan Achromat VC 100x Oil (NA 1.40)
Камера	ORCA-Flash 4.0 sCMOS-камера (Hamamatsu Photonics K.K.)
ПО	NIS-Elements Ar/NIS-Elements C (для конфокального микроскопа A1+/A1R+) Оба требуют дополнительные программные модули NIS-A 6D и N-SIM Analysis
Условия работы	20–25 °C (± 0,5 °C)

Совмещение микроскопов сверхвысокого разрешения и других устройств получения изображения

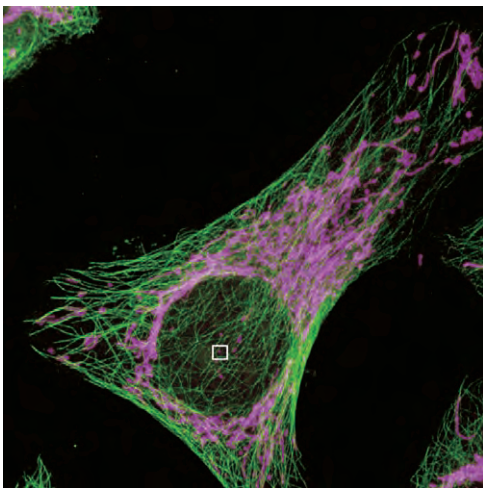
Микроскопы сверхвысокого разрешения N-SIM и N-STORM можно оснастить дополнительными устройствами получения изображений для моторизованного инвертированного микроскопа ECLIPSE Ti2-E, расширяя функционал и гибкость системы получения изображений.

N-SIM/N-STORM с конфокальными микроскопами

N-SIM и N-STORM могут быть совмещены с системой конфокальной микроскопии, такой как A1+ и легко переключаться между конфокальным режимом и режимом со сверхвысоким разрешением.

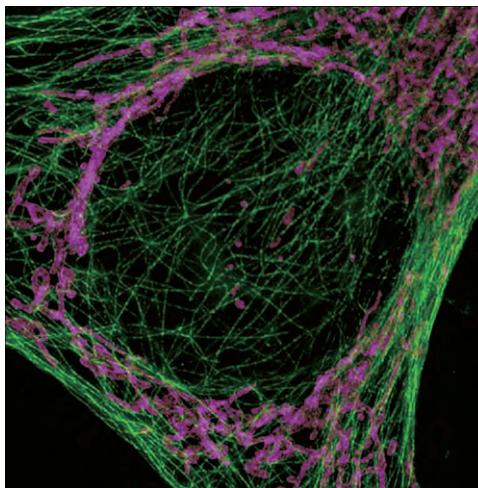
Желаемое место на образце можно указать при малом увеличении/широком поле зрения в конфокальном режиме, а затем получить изображение со сверхвысоким разрешением, просто переключив режим. Сочетание конфокального микроскопа с системой сверхвысокого разрешения не только обеспечивает большую видимость информации со сверхвысоким разрешением, но и предоставляет способ эффективного сравнения конфокальных данных с данными со сверхвысоким разрешением.

Конфокальное изображение

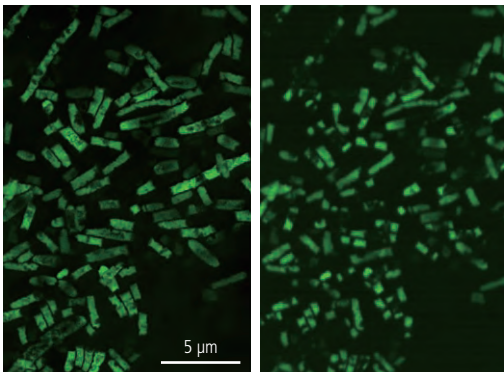


Выбор местоположение для получения изображения SIM на конфокальном изображении

Изображение со сверхвысоким разрешением

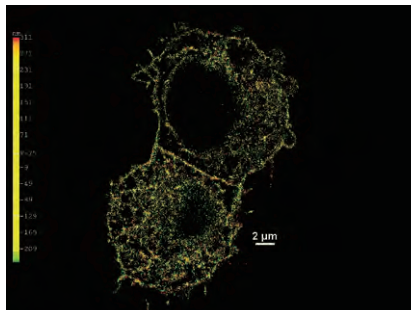


Получение изображения SIM выбранной области

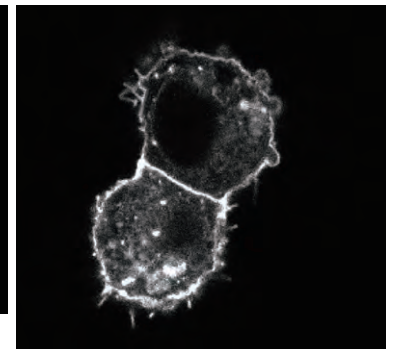


C N-SIM

C конфокальным микроскопом



C N-STORM

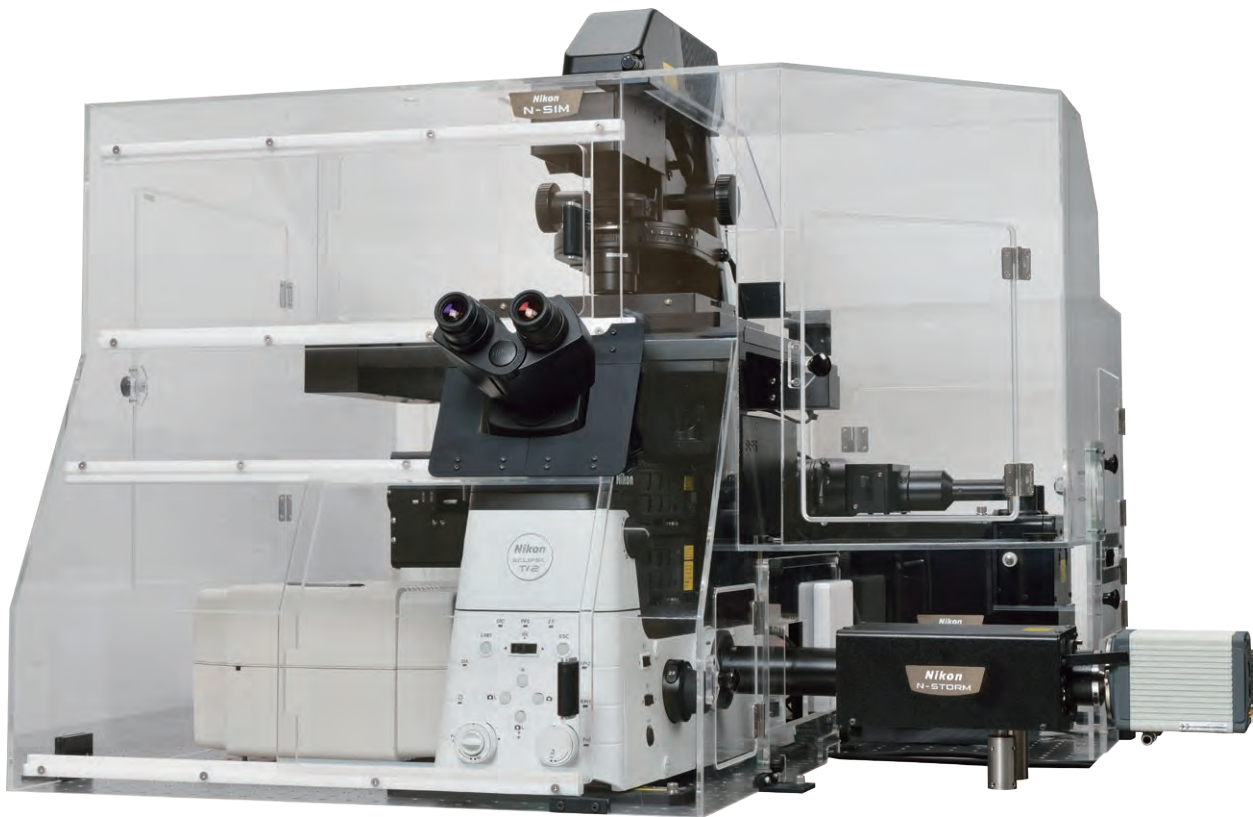


C конфокальным микроскопом

E. coli (XL1-blue), экспрессирующие SGFP2
Фото предоставлены: Drs. Takahisa Suzuki и Ikuo Wada,
Медицинский университет Фукусимы, Школа медицины

Клетки HEK, экспрессирующие eGFP-CB1, были визуализированы с помощью конфокального и 3D STORM модулей на одной платформе для получения и обработки изображений. CB1 был контр-окрашен с использованием вторичных антител, маркированных парными красителями Cy3 – Alexa Fluor 647, для STORM визуализации. GFP был визуализирован с помощью конфокального модуля.

Структуры мембраны видны на STORM изображении в более высоком разрешении, чем на конфокальном изображении. Кроме того, внутриклеточные мембранные структуры, неразличимые на конфокальном изображении из-за ограничений в динамическом диапазоне и разрешении, видны на STORM изображении. Фото предоставлены: Drs. Barna Dudok, Laszlo Barna и Istvan Katona, Лаборатория молекулярной нейробиологии, Институт экспериментальной медицины венгерской академии наук.



Комбинация N-SIM, N-STORM и конфокального микроскопа A1+

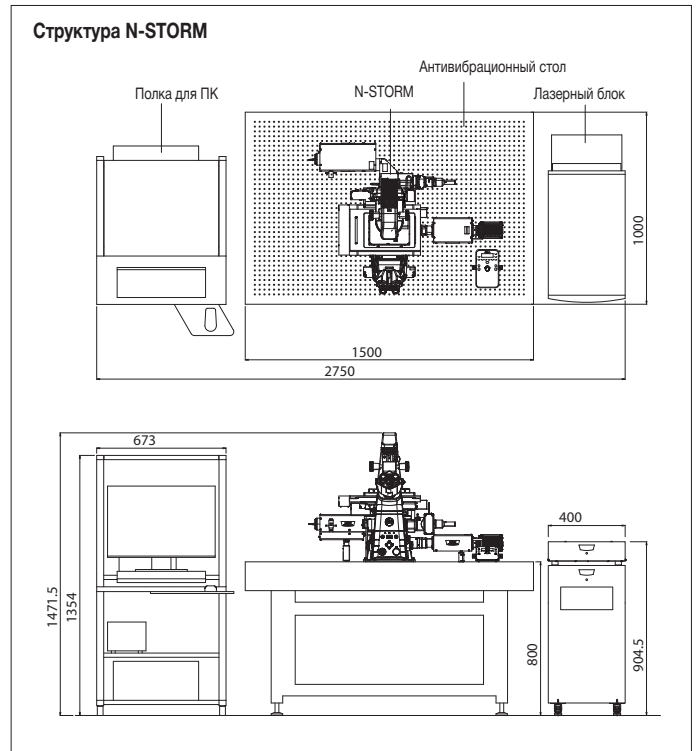
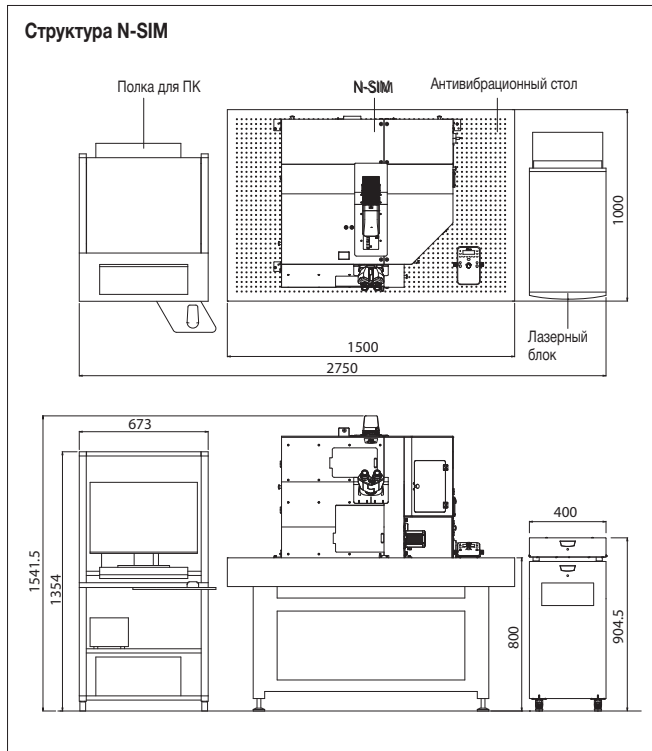
N-SIM и N-STORM

Комбинируя N-SIM и N-STORM на одной платформе для получения и обработки изображений, пользователь получает возможность использовать уникальные преимущества обоих методов визуализации со сверхвысоким разрешением, расширяя функционал каждой из этих технологий. Например, N-SIM позволяет получать изображения более толстых образцов, таким образом, предоставляя информацию для данных полученных на одномолекулярном уровне, предоставляемых N-STORM. N-SIM также можно использовать для визуализации дополнительных структур, не фиксируемых с помощью N-STORM, обеспечивая более исчерпывающий молекулярный ландшафт для интерпретации данных со сверхвысоким разрешением, полученных с помощью N-STORM.



Моторизованный набор N-STORM

Обе предоставляемые линзы (0,4x и цилиндрическая) моторизованы и могут быть помещены в оптический канал или выведены из него с помощью программного обеспечения, что обеспечивает легкое переключение между N-SIM и N-STORM без необходимости смены адаптера для цифровой камеры.

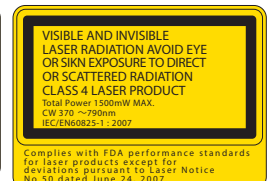
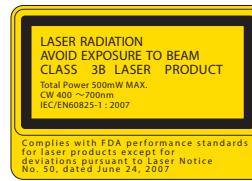


Единицы измерения: мм

Спецификации и оборудование могут быть изменены без какого-либо уведомления или обязательства со стороны производителя. Декабрь 2016 ©2010-16 NIKON CORPORATION

ВНИМАНИЕ! ПЕРЕД ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДАННОГО ОБОРУДОВАНИЯ НЕОБХОДИМО ВНИМАТЕЛЬНО ОЗНАКОМИТЬСЯ С РУКОВОДСТВОМ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ.

Изображения монитора смоделированы.
 Названия компаний и продуктов, упоминаемые в данной брошюре, а также их зарегистрированные торговые марки или торговые марки, N.V. Экспорт продукции*, упоминаемой в данной брошюре, контролируется в соответствии с законодательством Японии и валюты и внешнеэкономической деятельности. В случае экспорта из Японии требуется пройти соответствующую экспортную процедуру.
 *Продукция: Аппаратное обеспечение и касающаяся его техническая информация (включая ПО)



NIKON CORPORATION
 Shin-Yurakucho Bldg., 12-1, Yurakucho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8331, Телефон в Японии:
 +81-3-3216-2375 Факс: +81-3-3216-2385
<http://www.nikon.com/instruments/>

ISO 14001 Certified
 for NIKON CORPORATION

ISO 9001 Certified
 for NIKON CORPORATION
 Microscope Solutions Business Unit
 Industrial Metrology Business Unit



<http://www.nikon-micro.ru>

Россия, 199106, Санкт-Петербург
 Большой пр. В.О., д.68, лит. А
 Тел./факс: (812) 3050606
 info@biovitrum.ru

Россия, 127287, г. Москва,
 ул. Хутурская, д. 38А, стр. 8, этаж 7
 Тел./факс: (495) 7874046
 moscow@biovitrum.ru

Россия, 630001, г.Новосибирск,
 ул. Советская 52, офис 415а
 Тел./факс: (383) 2304900
 sibir@biovitrum.ru

Региональные представители:
 Г. Казань
 Г. Уфа
 Г. Нижний Новгород
 Г. Владивосток
 Г. Екатеринбург

Россия, 344016, г. Ростов-на-Дону
 ул.Таганрогская, 128
 Тел./факс: +7 (863) 2550305
 garegin.khachaturyan@biovitrum.ru

Казахстан, 010000, Астана
 ул. Московская 40, офис 108
 Тел./факс: +7 (7172) 592717
 kz@biovitrum.ru