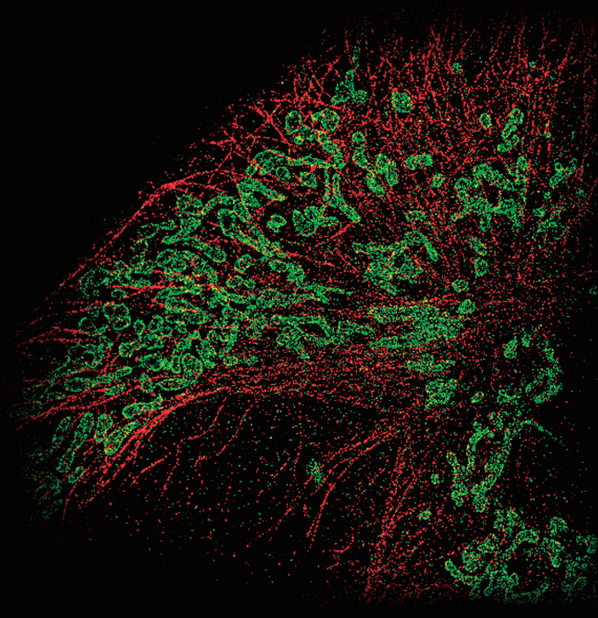
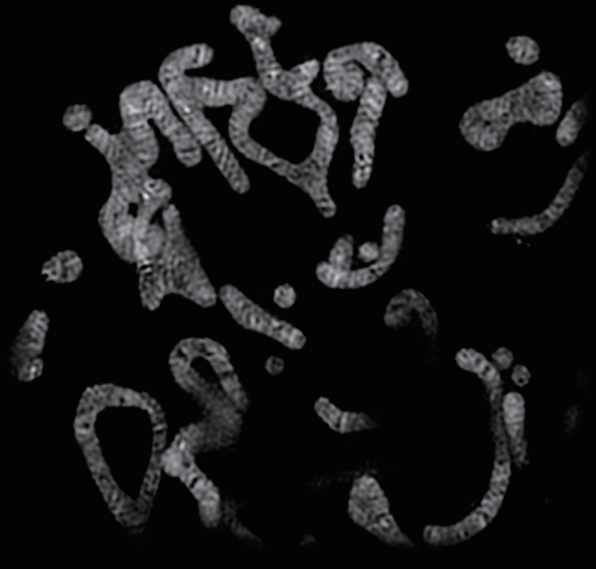


Микроскоп сверхвысокого разрешения

N-SIM/N-STORM



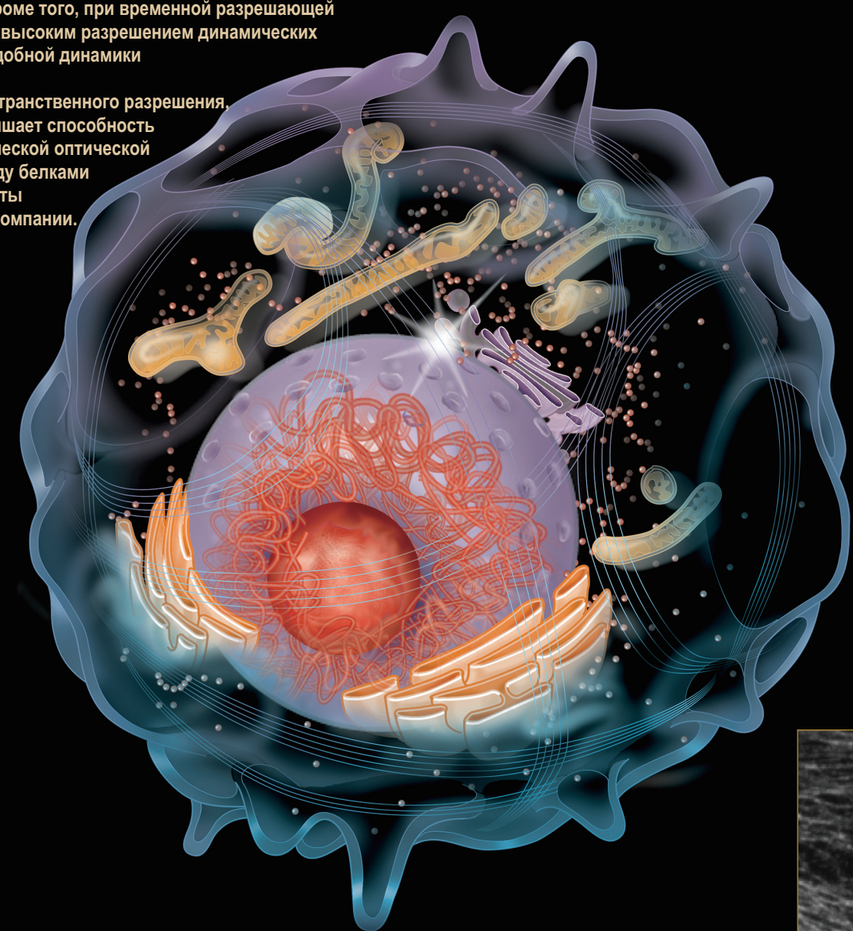
Увидеть так, как никогда раньше

Микроскоп сверхвысокого разрешения
N-SIM/N-STORM

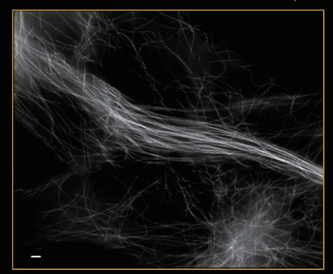
Микроскопы сверхвысокого разрешения Nikon переносят ваши исследования в мир наноскопии за дифракционным пределом.

Новый микроскоп сверхвысокого разрешения Nikon N-SIM/N-STORM дает возможность исследовать структуру и функции живых клеток на нано уровне.
Разрешение традиционных оптических микроскопов, даже оснащенных объективами с высокой числовой апертурой, ограничено дифракцией и составляет не более 200 нм.
Используя высокочастотное структурированное освещение, микроскоп Nikon N-SIM может обеспечить разрешение до 85 нм*, что ранее считалось невозможным для оптических микроскопов. Кроме того, при временной разрешающей способности до 0,6 сек/кадр**, микроскоп N-SIM обеспечивает съемку со сверхвысоким разрешением динамических процессов молекулярного взаимодействия в живых клетках. Наблюдение подобной динамики в таком разрешении может открыть перед учеными новые миры.
Микроскоп N-STORM использует временное разрешения для увеличения пространственного разрешения, что позволяет достичь разрешения порядка 20 нм, что в 10 и более раз превышает способность обычных оптических микроскопов. С использованием микроскопии стохастической оптической реконструкции (STORM) стало возможным исследовать взаимодействие между белками на молекулярном уровне. Микроскопы сверхвысокого разрешения Nikon просты в использовании, хотя и основаны на мощных технологических разработках компании. N-SIM и N-STORM существенно повышают возможность решения задач в области наноскопии и придают уверенность в правильности выводов, которые можно сделать на основе полученных данных.

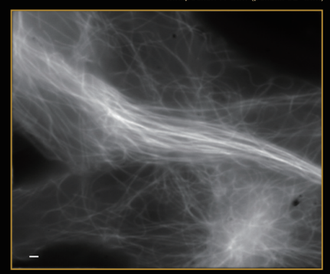
* При возбуждении лазером 488 нм, в режиме TIRF-SIM
**В режиме 2D-SIM/TIRF-SIM



Обычный микроскоп

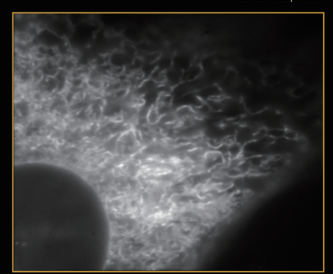


Микроскоп N-SIM (режим 3D-SIM)



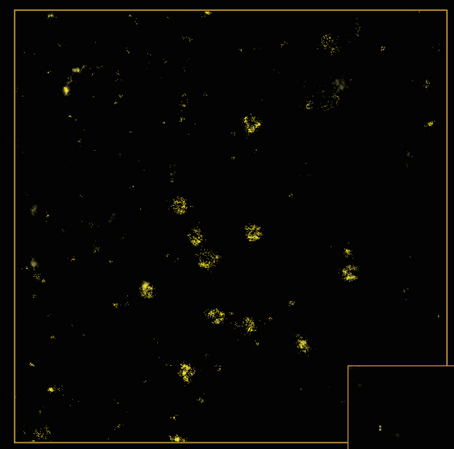
Микротрубочки в клетке меланомы B16, меченные YFP Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49)
Скорость захвата изображения: около 1,8 сек/кадр
Сфотографировано в сотрудничестве с: Ясуши Окада (Yasushi Okada), Ph.D., Факультет клеточной биологии и анатомии, Магистратура медицинского факультета, Университет Токио

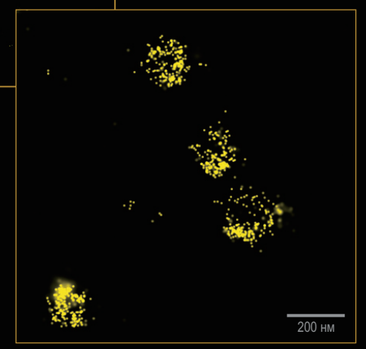
Обычный микроскоп



Микроскоп N-SIM (режим 3D-SIM)

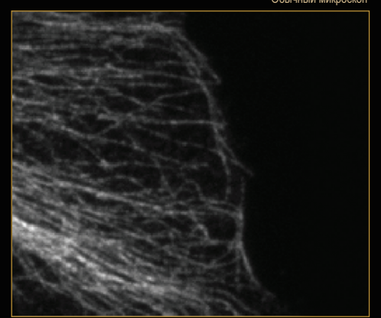
Эндоплазматический ретикулум (ЭР) в живой клетке HeLa, меченной GFP
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49) Скорость захвата изображения: около 1,5 сек/кадр
Сфотографировано в сотрудничестве с: Икуо Вада (Ikuo Wada), Ph.D., Институт биомедицинских наук, Медицинский факультет университета Фукушимы



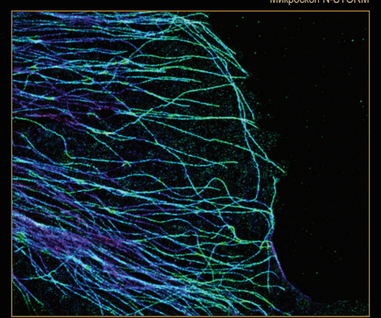


Одноцветное STORM-изображение клатриновых впадин в клетке млекопитающего, меченной Cy3-Alexa647
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49)

Обычный микроскоп



Микроскоп N-STORM



Микротрубочка, меченая флуоресцентным красителем

N-SIM

Временное разрешение 0,6 сек/кадр позволяет осуществить съемку со сверхвысоким разрешением динамических процессов в живых клетках

В микроскопии структурированного освещения неизвестная клеточная наноструктура изучается путем анализа муарового рисунка, появляющегося при освещении образца высокочастотным структурированным излучением.
Микроскопия структурированного освещения Nikon (N-SIM) обеспечивает сверхвысокое разрешение до 85 нм в нескольких цветах. Кроме того, она позволяет осуществлять непрерывную съемку со сверхвысоким разрешением со скоростью 0,6 сек/кадр, делая возможным исследование динамических взаимодействий в живых клетках.

Изображение живых клеток при разрешении в два раза превышающем (до приблизительно 85 нм) разрешение обычного оптического микроскопа

В микроскопе сверхвысокого разрешения N-SIM используется инновационный подход компании Nikon к технологии "микроскопии структурированного освещения".
Сочетая эту мощную технологию с использованием высокоапертурного объектива Nikon CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49), микроскоп N-SIM обеспечивает пространственное разрешение почти в два раза превышающее разрешение обычных оптических микроскопов (до приблизительно 85 нм*) и позволяет получить наглядное представление о мельчайших межклеточных структурах и их взаимодействии.

*При возбуждении лазером 488 нм, в режиме TIRF-SIM

Скорость захвата изображения 0,6 сек/кадр - удивительно быстрый микроскоп сверхвысокого разрешения

Микроскоп N-SIM обеспечивает сверхбыстрое получение изображений с использованием технологии структурированного освещения.
Временное разрешение составляет до 0,6 сек/кадр, что позволяет получать изображения живых клеток (в режиме TIRF-SIM/2D-SIM; получение изображений с временным разрешением до приблизительно 1 сек/кадр возможно в режиме 3D-SIM).

Различные режимы наблюдения

Режим TIRF-SIM/2D-SIM

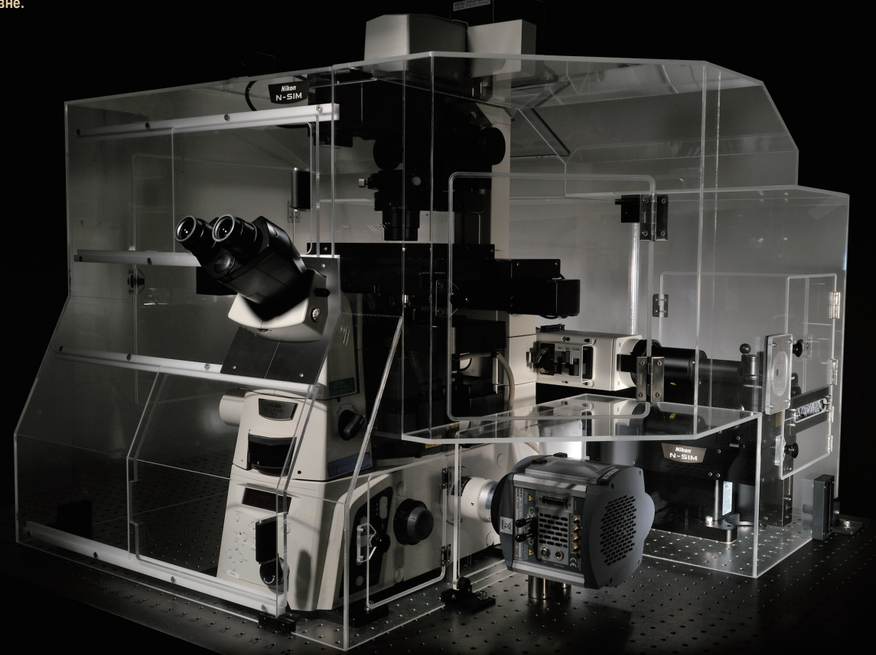
Этот режим обеспечивает получение двумерных изображений сверхвысокого разрешения на высокой скорости и с невероятно высокой контрастностью.
Режим TIRF-SIM использует преимущества наблюдения при флуоресценции полного внутреннего отражения с разрешением в два раза превышающим разрешение обычных микроскопов TIRF, что позволяет лучше понять взаимодействие молекул на поверхности клетки.

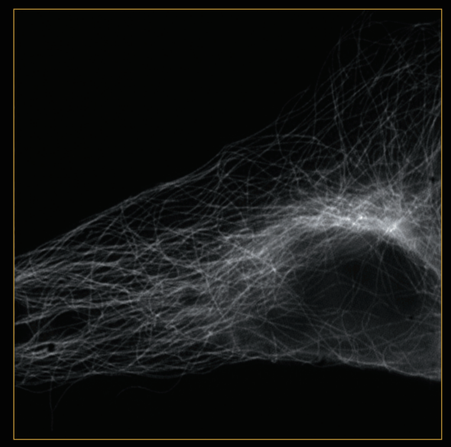
Режим 3D-SIM

Наблюдение с использованием микроскопа N-SIM при сверхвысоким аксиальном разрешении обеспечивает получение оптического среза образцов при разрешении 300 нм в клетках и тканях толщиной до 20μм. Кроме того, в режиме 3D SIM устраняется фоновая флуоресценция, что позволяет получить высококонтрастное изображение.

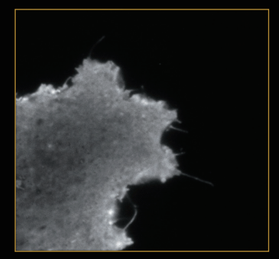
Возможность установки до 5 различных лазеров

Модуль Nikon LU-5 - это система предусматривающая установку до 5 различных лазеров, обеспечивающая естественное многоцветное изображение со сверхвысоким разрешением. Реальная цветопередача является существенной при исследовании динамического взаимодействия различных белков на молекулярном уровне.

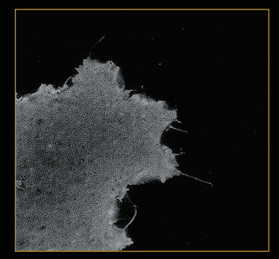




Микротрубочки клетки меланомы B16
Режим: 3D-SIM
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49)
Скорость захвата изображений: около 1,8 сек/кадр
Сфотографировано в сотрудничестве с: Ясуши Окада (Yasushi Okada), Ph.D., Факультет клеточной биологии и анатомии, Магистратура медицинского факультета, Университет Токио

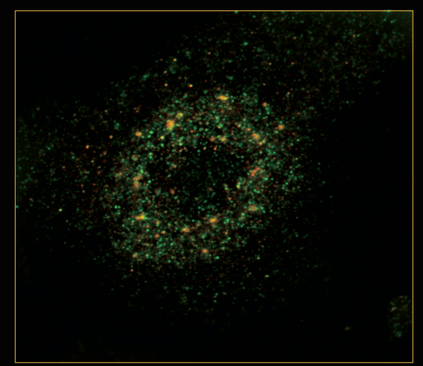


Обычный TIRF

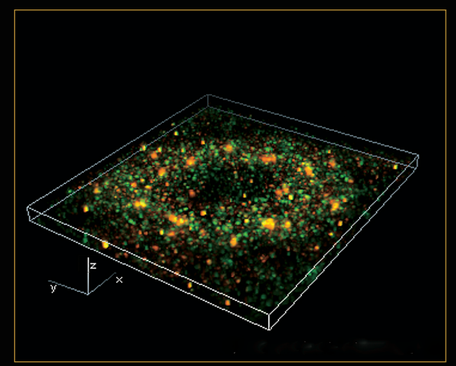


Режим TIRF-SIM

Цитоплазматическая мембрана клетки меланомы B16, меченая желтым флуоресцентным белком
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (ЧА 1,49)
Сфотографировано в сотрудничестве с: Ясуши Окада Yasushi Okada), Ph.D., Факультет клеточной биологии и анатомии, Магистратура медицинского факультета, Университет Токио



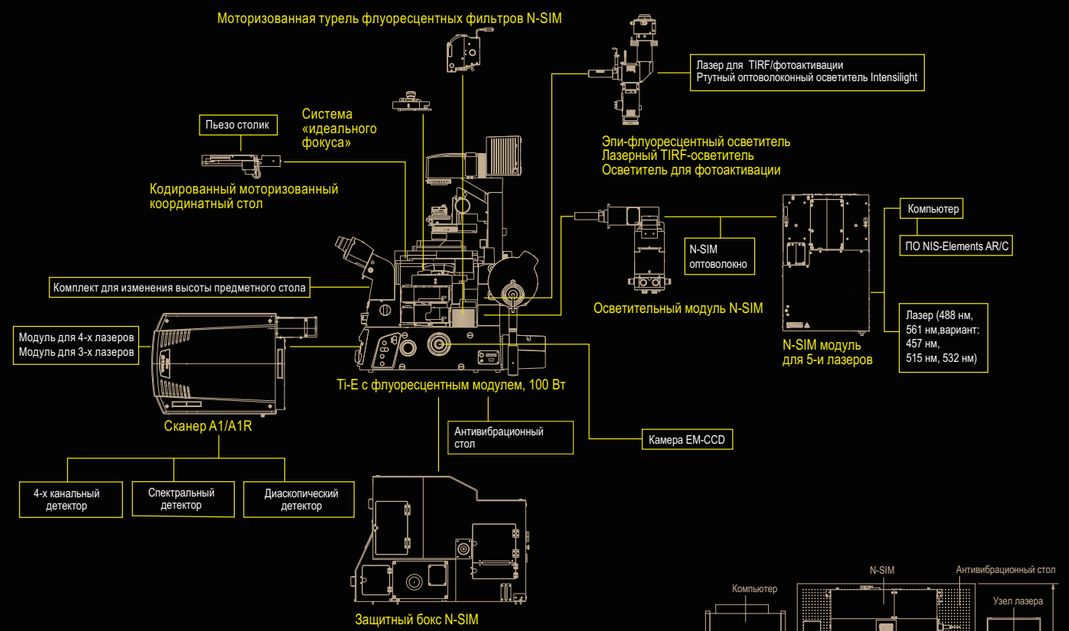
Колокализованные изображения исследуемого белка VGEF (Cy3) и его E3 убиквитин-лигазы E3 (FITC)
Можно наблюдать детализированную структуру ядра
Режим: 3D-SIM, Z-stack
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49)
Сфотографировано в сотрудничестве с: Хидетака Онуки (Hidetaka Ohnuki), Ph.D., Шигеки Хигашияма (Shigeki Higashiyama), Ph.D., Университет Эхиме, Магистратура медицинского факультета



3D-реконструкция изображения толщиной приблизительно 5μм (часть)

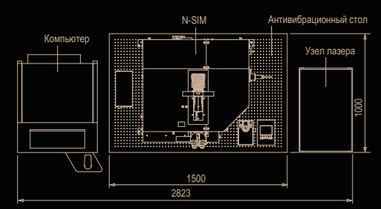
Динамика митохондрии, помеченной красителем Mito-tracker red
Видны кисты в митохондриях и можно наблюдать динамику митохондрии.
Режим: 3D-SIM
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49)
Интервал между снимками: около 1 сек.

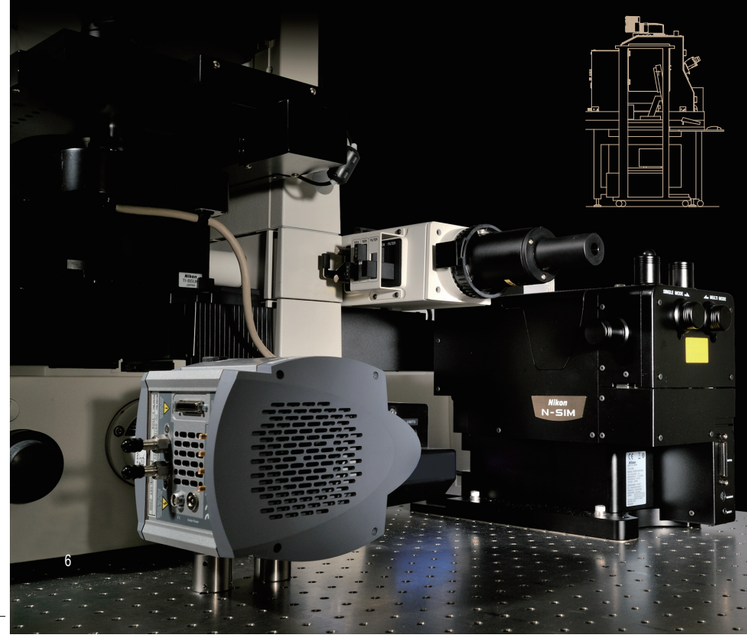
N-SIM



Размеры микроскопа

Единица измерения: мм

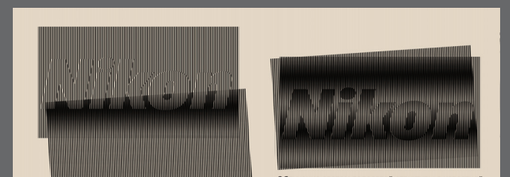




Принципы микроскопии структурированного освещения

Аналитическая обработка записанных муаровых изображений с помощью математических методов позволяет восстановить структуру образца со сверхвысоким разрешением.

Использование лазерной интерференции высоких пространственных частот для освещения структуры внутри образца дает муаровые интерференционные полосы, которые фиксируются. Эти муаровые интерференционные полосы включают модулированную информацию о структуре образца с более высоким разрешением. В процессе обработки изображения эта информация восстанавливается, что позволяет достичь разрешения, превышающего разрешение обычных оптических микроскопов.



Облучение светом полосатой структуры с известной пространственной частотой позволяет получать информацию от таких мельчайших структур, как муаровые интерференционные полосы.

Создание изображений сверхвысокого разрешения при помощи обработки многочисленных изображений муаровых узоров

Муаровые изображения содержат информацию о мельчайших структурах внутри образца. Фиксируются многочисленные фазы и ориентации структурированного освещения, а информация "сверхвысокого разрешения" извлекается из муаровых интерференционных полос. Эта информация комбинируется математически в "Фурье-пространстве" или апертурном пространстве, затем трансформируется обратно в пространство изображения, что позволяет получить изображение с разрешением в два раза превышающим обычный предел.

Использование высокочастотного структурированного освещения для увеличения разрешения в два раза.

Захват информации высокого разрешения, высокой пространственной частоты ограничен числовой апертурой (NA) объективов, и пространственные частоты структуры за пределами апертуры оптической системы не фиксируются (Рис. A).

Освещение образца высокочастотным структурированным излучением, которое позволяет получить изображение со свервысоким разрешением в пределах апертуры оптической системы (Рис. B).

Когда эта информация о "сверхвысоком разрешении" математически комбинируется со стандартной информацией, полученной посредством линз объектива, результатом становится удвоение значения NA и, соответственно, разрешения оптической системы (Рис. C).

Рис. A: Разрешение ограничено значением числовой апертурой NA объектива

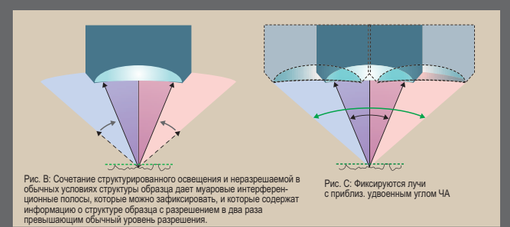
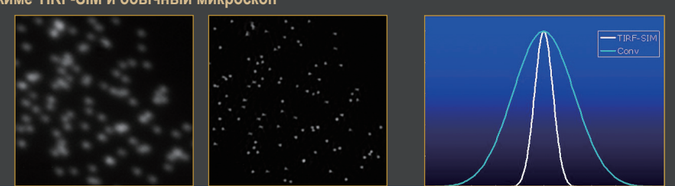


Рис. B: Сочетание структурированного освещения и неразрешаемой в обычных условиях структуры образца дает муаровые интерференционные полосы, которые можно зафиксировать, и которые содержат информацию о структуре образца с разрешением в два раза превышающим обычный уровень разрешения.

Рис. C: Фиксируются лучи с приблиз. удвоенным углом ЧА

Сравнение изображений: микроскоп в режиме TIRF-SIM и обычный микроскоп

Изображения флуоресцирующих точек диаметром 100 нм, зафиксированные обычным микроскопом и микроскопом сверхвысокого разрешения N-SIM. Профили интенсивности точечных изображений указывают, что разрешающая сила микроскопа сверхвысокого разрешения почти в два раза превышает разрешающую силу обычного эпи-флуоресцентного микроскопа.



Обычный эпи-флуоресцентный микроскоп

TIRF-SIM

Профили интенсивности

N-STORM

Достижение разрешения, превышающего разрешение обычного оптического микроскопа в 10 раз, позволяет проводить исследования на молекулярном уровне

Микроскопия стохастической оптической реконструкции (STORM) позволяет реконструировать флуоресцентное изображение со сверхвысоким разрешением при помощи объединения информации о точной локализации каждого флуорофора в образце. В микроскопе N-STORM применяется высокоточная многоканальная молекулярная локализация и реконструкция, полностью используя преимущества мощного инвертированного микроскопа Nikon Ti-E, что позволяет получить сверхвысокое разрешение, превышающее в 10 раз (приблизительно 20 нм в горизонтальной плоскости) разрешение обычных микроскопов.
Эта мощная технология позволяет изучать молекулярное взаимодействие в нано-диапазоне, открывая новые миры для исследований.

Сверхвысокое разрешение в 10 раз (приблизительно 20 нм в горизонтальной плоскости) превышающее разрешение обычных оптических микроскопов

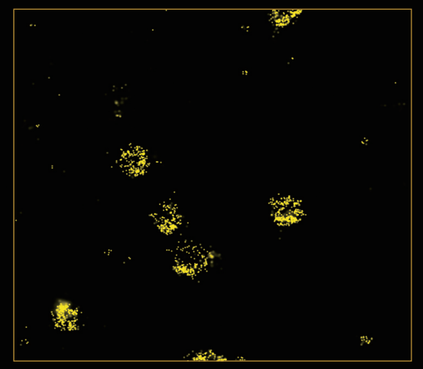
Микроскоп N-STORM использует высокоточную информацию о локализации (двумерную или трехмерную) от нескольких тысяч отдельных молекул-флуорофоров в образце - это позволяет создавать удивительные изображения со сверхвысоким разрешением превышающим в 10 раз разрешение обычных оптических микроскопов.

N-STORM также способен создавать и аксиальное изображение с разрешением в 10 раз превышающим обычное оптическое разрешение (приблизительно 50 нм)

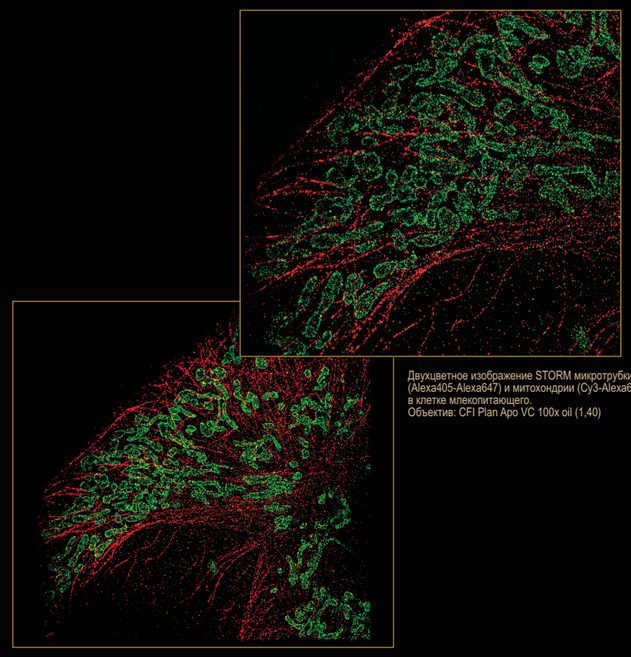
Помимо латерального сверхвысокого разрешения, N-STORM использует патентованные методы для достижения 10-кратного улучшения аксиального разрешения, предоставляя трехмерную информацию в наноскопическом масштабе.

Многоцветное изображение с использованием различных флуоресцирующих зондов

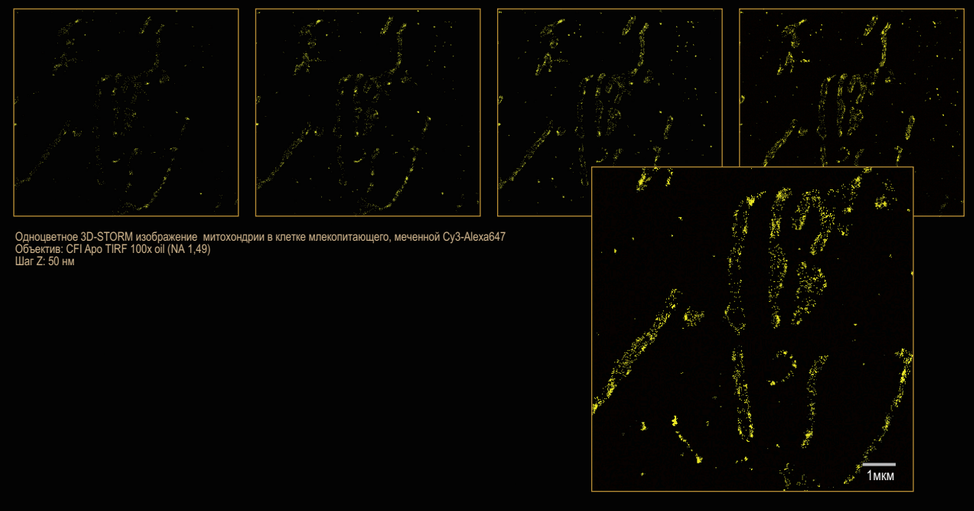
Получение многоцветных изображений со сверхвысоким разрешением возможно благодаря комбинированию различных зондов - "активаторов" и "репортеров".
Таким образом становится возможным получение важной информации о колокализации и взаимодействии многочисленных белков на молекулярном уровне.



Одноцветное STORM-изображение клатриновых впадин в клетке млекопитающего, меченной Cy3-Alexa647
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49)

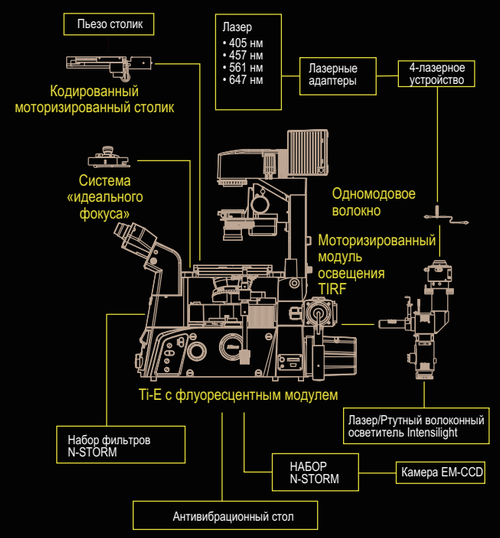


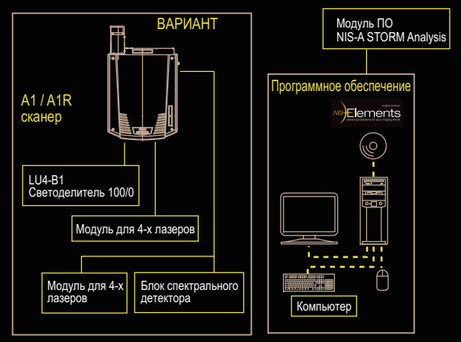
Двухцветное изображение STORM микротрубки (Alexa405-Alexa647) и митохондрии (Cy3-Alexa647) в клетке млекопитающего.
Объектив: CFI Plan Apo VC 100x oil (1,40)



Одноцветное 3D-STORM изображение митохондрии в клетке млекопитающего, меченной Cy3-Alexa647
Объектив: CFI Apo TIRF 100x oil (NA 1,49)
Шаг Z: 50 нм

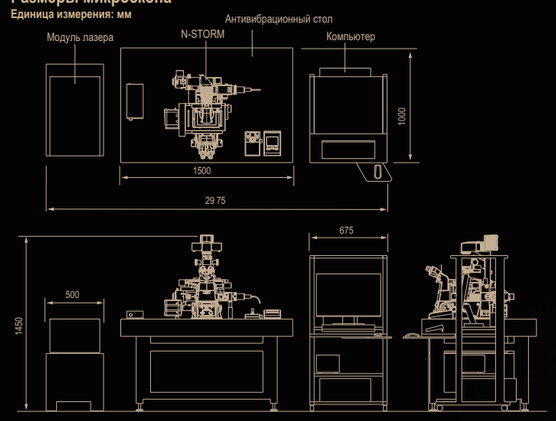
N-STORM





Размеры микроскопа

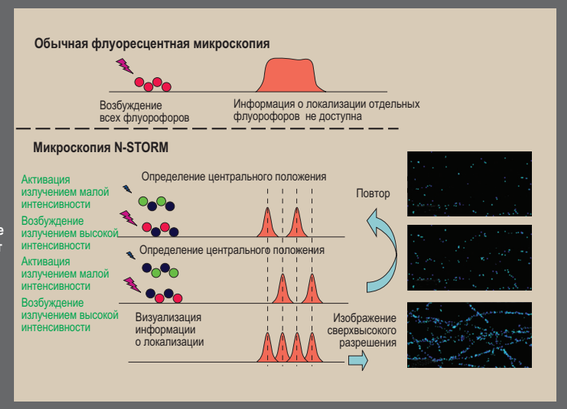
Единица измерения: мм



Принцип работы N-STORM (микроскопия стохастической оптической реконструкции)

При микроскопии стохастической оптической реконструкции (STORM) изображение сверхвысокого разрешения реконструируется путем сбора высокоточной информации о локализации каждого флуорофора в трех измерениях и различных цветах

В N-STORM используется стохастическая активация относительно небольшого количества молекул флуорофора с использованием очень малоинтенсивного света. Эта малоинтенсивная стохастическая "активация" отдельных молекул позволяет достичь высокоточного определения положения каждой молекулы в горизонтальной плоскости. Кроме того, используя преимущество искусственного астигматизма, полученного посредством специальной оптики 3D-STORM, N-STORM локализует каждую молекулу в вертикальной плоскости. Комбинирование путем вычислений молекулярных координат в трех измерениях приводит к получению высококонтрастных трехмерных изображений.



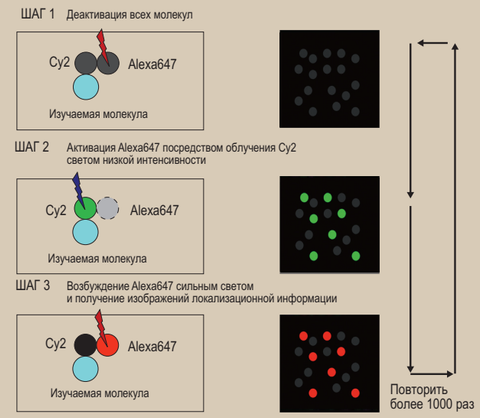
Специализированные флуоресцентные красители

При работе с N-STORM используются пары специализированных флуоресцентных красителей содержащие "активатор" (возбуждение в относительно коротковолновой области спектра) и "репортер" (возбуждение в сравнительно длинноволновой области спектра), что позволяет получить различные цветовые комбинации, упрощая достижение истинного многоканального сверхвысокого разрешения.

Красители для N-STORM

Краситель для активации	Краситель для получения изображений
Alexa405	Alexa647
Cy2	Alexa647
Cy3	Alexa647

Краситель для N-STORM состоит из красителя с наименьшей длиной волны для активации и красителя с наибольшей длиной волны для получения изображений. Создание двух цветных изображений сверхвысокого разрешения возможно только с парами красителей.



Технические характеристики

	N-SIM	N-STORM
Разрешение по XY	Приблизительно 100 нм (до 85 нм: теоретически, в режиме TIRF-SIM, 488-нм возбуждение)	Приблизительно 20 нм
Разрешение по оси Z	Приблизительно 300 нм	Приблизительно 50 нм
Скорость захвата изображения	До 0,6 сек/кадр (TIRF-SIM/2D-SIM) До 1 сек (3D-SIM) (необходимо еще 1-2 сек для подсчета)	10 минут или более
Режим получения изображений	TIRF-SIM (сверхвысокое разрешение TIRF XY) 2D-SIM (сверхвысокое разрешение по осям XY, до 3μм вглубь) 3D-SIM (сверхвысокое разрешение по осям XYZ, до 20μм вглубь)	TIRF-STORM 3D STORM
Многоцветные изображения	До 5 цветов	2 цвета одновременно
Совместимый лазер	Стандарт: 488 нм, 561 нм Опционнот: 457 нм, 515 нм, 532 нм	405 нм, 457 нм, 561 нм, 647 нм
Совместимые микроскопы	Моторизованный инвертированный микроскоп ECLIPSE Ti-E Система «идеального фокуса» Кодированный моторизированный XY стол Пьезо столик	
Объективы:	CFI Apo TIRF 100x oil (ЧА 1,49) CFI Plan Apo IR 60× WI (ЧА 1,27)	CFI Apo TIRF 100x oil (ЧА 1,49) CFI Plan Apo VC 100x oil (ЧА 1,40)
Камера	Камера Andor Technology iXon DU897 EMCCD	
Программное обеспечение	NIS-Elements AR/ NIS-Elements C (с конфокальным микроскопом A1)	NIS-Elements AR/ NIS-Elements C (с конфокальным микроскопом A1)
Рекомендуемые условия	25 C ± 0.5 C	от 20 C до 25 C (± 0.5 C)

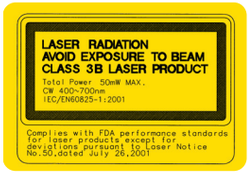


Фото на обложке (внизу) выполнено в сотрудничестве с: Хидетака Онуки, Ph.D., Шигеки Хигашияма, Ph.D, Университет Эхиме, Магистратура медицины

Технические характеристики и оборудование могут быть изменены без какого-либо уведомления.
Производитель не несет ответственности за эти изменения. Сентябрь 2010 ©2010 NIKON CORPORATION

⚠ ВНИМАНИЕ!	ЧТОБЫ ОБЕСПЕЧИТЬ ПРАВИЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ, ВНИМАТЕЛЬНО ПРОЧТИТЕ СООТВЕТСТВУЮЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПЕРЕД ТЕМ, КАК ИСПОЛЬЗОВАТЬ ОБОРУДОВАНИЕ.

Изображения мониторов смоделированы.
Названия компаний и продуктов, появляющиеся в данной брошюре, являются зарегистрированными товарными знаками или торговыми марками.
N.B.: Экспорт продукции*, упомянутой в данной брошюре, контролируется Законодательством Японии по иностранной валюте и международной торговле. В случае экспорта из Японии, необходимо соблюдать соответствующие экспортные процедуры.
*Продукция: Аппаратное обеспечение и техническая информация к нему (включая программное обеспечение)

ISO 9001 BUREAU VERITAS Certification — UKAS QUALITY MANAGEMENT 008
ISO 9001 Certified
NIKON CORPORATION
Instruments Company

ISO 14001 BUREAU VERITAS Certification — UKAS ENVIRONMENTAL MANAGEMENT 008
ISO 14001 Certified
NIKON CORPORATION

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/

NIKON INSTRUMENTS INC.
1300 Walt Whitman Road, Melville, N.Y. 11747-3064,
Телефон в США: +1-631-547-8500; +1-800-52-NIKON (только в США)
факс: +1-631-547-0306
http://www.nikoninstruments.com/

NIKON INSTRUMENTS EUROPE B.V.
Laan van Kronenburg 2, 1183 AS Amstelveen,
Телефон в Нидерландах: +31-20-44-96-300 факс: +31-20-44-96-298
http://www.nikoninstruments.eu/

NIKON INSTRUMENTS (SHANGHAI) CO., LTD.
Телефон в Китае: +86-21-6841-2050
факс: +86-21-6841-2060
(Пекинский филиал) телефон: +86-10-5831-2028
факс: +86-10-5831-2026
(филиал в Гуаньчжоу) телефон: +86-20-3882-0552
факс: +86-20-3882-0580

NIKON SINGAPORE PTE LTD
Телефон в Сингапуре: +65-6559-3618 факс: +65-6559-3668

NIKON MALAYSIA SDN. BHD.
Телефон в Малайзии: +60-3-7809-3688 факс: +60-3-7809-3633

NIKON INSTRUMENTS KOREA CO., LTD.
Телефон в Корее: +82-2-2186-8400 факс: +82-2-555-4415

NIKON CANADA INC.
Телефон в Канаде: +1-905-602-9676 факс: +1-905-602-9953

NIKON FRANCE S.A.S.
Телефон во Франции: +33-1-4516-45-16 факс: +33-1-4516-45-55

NIKON GMBH
Телефон в Германии: +49-211-941-42-20 факс: +49-211-941-43-22

NIKON INSTRUMENTS S.p.A.
Телефон в Италии: +39-055-300-96-01 факс: +39-055-30-09-93

NIKON AG
Телефон в Швейцарии: +41-43-277-28-67 факс: +41-43-277-28-61

NIKON UK LTD.
Телефон в Великобритании: +44-208-247-1717 факс: +44-208-541-4584

NIKON GMBH AUSTRIA
Телефон в Австрии: +43-1-972-6111-00 факс: +43-1-972-6111-40

NIKON BELUX
Телефон в Бельгии: +32-2-705-56-65 факс: +32-2-726-66-45

Отпечатано в Японии (1009-08)T

Code No. 2CE-SCJH-1

Эта брошюра отпечатана на бумаге вторичной переработки, изготовленной из 40% использованного сырья.

Ru