stomdevice

Nikon

A1+

Конфокальный микроскоп

надежный поставщик стоматологического оборудования

A1+/A1R+ – конфокальный микроскоп последнего поколения



stomdevice

Воплотите технологии визуализации в жизнь!



Превосходная инновационная серия конфокальных лазерных микроскопов A1+ компании Nikon позволяет получать высококачественные изображения клеток и молекулярных процессов с непревзойденной скоростью. A1 удовлетворит самые изысканные требования в области визуализации.

Высокопроизводительный конфокальный микроскоп A1+ и конфокальный микроскоп A1R+ с дополнительным высокоскоростным резонансным сканером

Новая серия A1+ кардинально улучшает производительность конфокальной микроскопии и упрощает процесс работы. A1R+ с гибридным сканером поддерживает усовершенствованные методы исследования используя метод фотоактивации флуоресцентного белка. Эргономичный и удобный для пользователя дизайн облегчает работу как с живыми клетками, так и с огромным разнообразием новых методик получения изображений.



Динамика

Высокоскоростной резонансный сканер позволяет визуализировать динамику внутриклеточных процессов со скоростью 30 кадров в секунду (к/с) (с разрешением 512 x 512 пикселей). Кроме того, возможным стало также получение изображений со скоростью 420 к/с (с разрешением 512 x 32 пикселя). Гальванический (нерезонансный) сканер делает возможным получение изображения со скоростью в 10 к/с (с разрешением 512 x 512 пикселей) и 130 к/с (с разрешением 512 x 32 пикселя).

Взаимодействие

Синхронные процессы получения изображений и фотоактивации с помощью запатентованного гибридного сканера A1R+ раскрывают механизмы межмолекулярных процессов. Программное обеспечение для реализации методики FRET поставляется дополнительно.

Спектр

Быстрое получение спектрального изображения с 32-х канального спектрального детектора на максимальной скорости 24 к/с (512 x 32 пикселя). Функции спектрального разделения в реальном времени и виртуальной фильтрации расширяют возможности использования спектральных изображений.

Качество изображения

Эффективность флуоресценции увеличена на 30%, также увеличено отношение сигнал/-шум. Благодаря разнообразным новым технологиям, таким как пинхол-блок с системой виртуальной адаптируемой диафрагмы (VAAS), было достигнуто наивысшее качество изображений.

Два типа сканирующих головок обеспечивают высокую скорость получения высококачественных изображений

Для получения изображений высокого разрешения модель A1+ оснащена гальваническим (нерезонансным) сканером. Модель A1R+ снабжена гибридным сканером, включающим в себя как высокоскоростной резонансный сканер, так и гальванический сканер высокого разрешения. Благодаря такой комбинации двух сканеров модель A1R+ обеспечивает сверхбыстрое получение изображений, при котором возможна одновременная фотоактивация.

A1+/A1R+ Получение изображений высокого разрешения

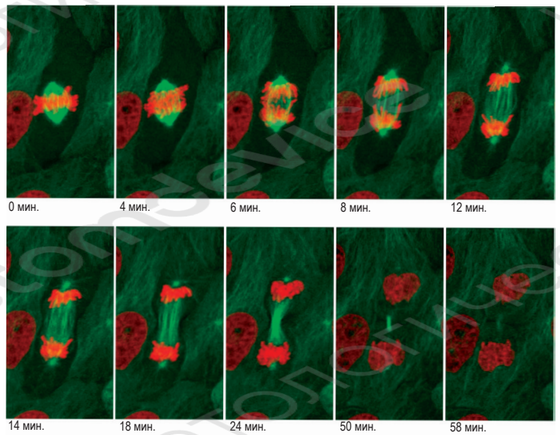
Получение многоцветных изображений

Стандартный четырехканальный детектор избавляет от необходимости приобретения дополнительного флуоресцентного детектора и позволяет с легкостью получать изображения образца, помеченного четырьмя зондами.



Изображение Zebra fish помеченной четырьмя зондами (получено с помощью гальванического сканера).
Ядро (синий) - Hoechst33342
Зрачок (зеленый) – GFP
Нервная ткань (желтый) – Alexa555
Мышечная ткань (красный) - Alexa647

Фотография сделана в сотрудничестве с докторами Казуки Хорикава (Kazuki Horikawa) и проф. Такегару Нагаи (Takeharu Nagai), Научно-исследовательский институт электроники, Университет Хоккайдо

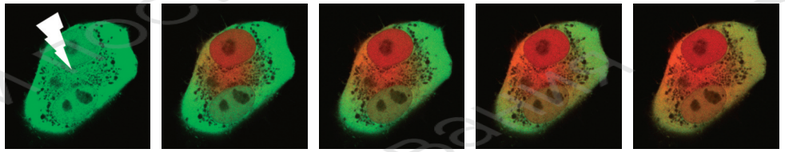


Серия Z-проекций XYZ изображений клетки LLC-PK1, экспрессирующей EGFP-альфа-тубулин (зеленый) и Histone H2B-mCherry (красный). Изображение фиксировалось каждые 2 минуты с помощью гальванического сканера.

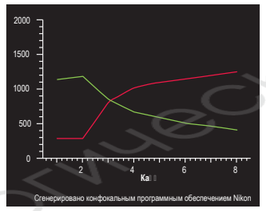
Фотографии любезно предоставлены: доктором Кейджу Камио (Keiju Kamijo), Департамент биологии стволовой клетки и гистологии, Университет Тохоку

Фото-конверсия флуоресцентного белка Kaede

Белок Kaede необратимо изменяет цвет флуоресценции с зеленого на красный из-за спектральной конверсии при воздействии на него излучения от ультрафиолетовой до фиолетовой области спектра.



В момент фиксации изображения клетки HeLa, экспрессирующей Kaede с зеленой и красной флуоресценцией, при помощи лазеров с длиной волны 488 нм и 561 нм, в качестве возбуждающих, для фото-конверсии белок Kaede в изучаемой области непрерывно активировался лазером с длиной волны 405 нм. На фотографиях представлена дисперсия красной флуоресценции Kaede, вызываемой фото-конверсией. Горизонтальная ось графика показывает время, а вертикальная – интенсивность флуоресценции (в пикселях). Зеленая и красная линии, соответственно, показывают изменение интенсивности зеленой и красной флуоресценции белка Kaede в изучаемой области.

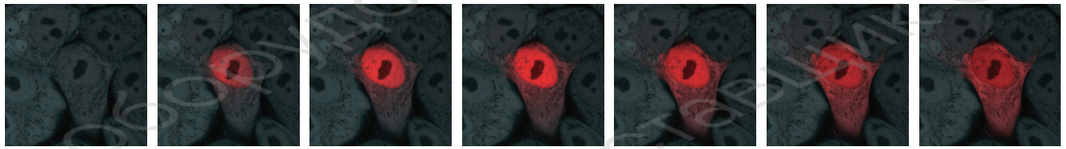


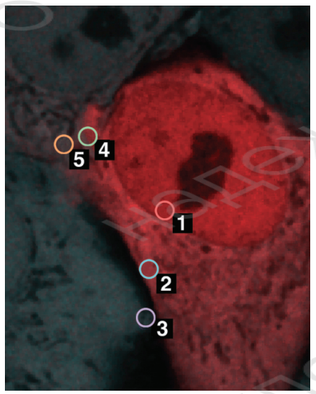
Длина волны активирующего лазера: 405 нм, длина волны лазера, фиксирующего изображение: 488 нм / 561 нм, размер изображения 512 x 512 пикселей, скорость захвата 1 к/с (при помощи гальванического сканера).

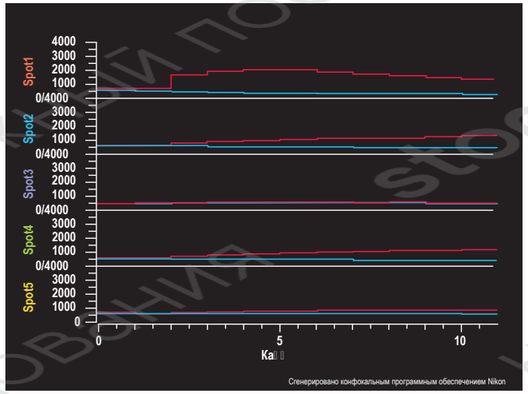
Фотографии любезно предоставлены: доктором Томоки Матсуда (Tomoki Matsuda) и проф. Такегару Нагаи (Takeharu Nagai), Научно-исследовательский институт электроники, Университет Хоккайдо.

Фотоконверсия белков Phamret (Резонансный перенос энергии за счет фотоактивации)

Фотоактивируемый белок Phamret - это гибридный белок состоящий из двух частей: белка CFP и белка PA-GFP. Когда белок PA-GFP активируются при помощи фиолетово-ультрафиолетового излучения, его светло-голубая флуоресценция в результате межмолекулярного резонансного переноса энергии от CFP к PA-GFP изменяется на зеленую.







Во время получения изображения клеток HeLa, экспрессирующих Phamret посредством голубой и зеленой флуоресценции, при помощи лазера с длиной волны 457 нм, часть PA-GFP в изучаемой области непрерывно возбуждается лазером с длиной волны 405 нм. Активированная часть, наблюдаемая в области голубой флуоресценции (показана на изображении оттенками серого) испускает зеленую флуоресценцию (на изображениях показана красным). Реакция, на которую указывает зеленое свечение, является реакцией дисперсии Phamret (на изображениях она показана красным).

График показывает изменения интенсивности флуоресценции в каждой изучаемой области. Синяя линия иллюстрирует изменение интенсивности флуоресценции CFP, красная линия показывает изменение интенсивности флуоресценции PA-GFP.

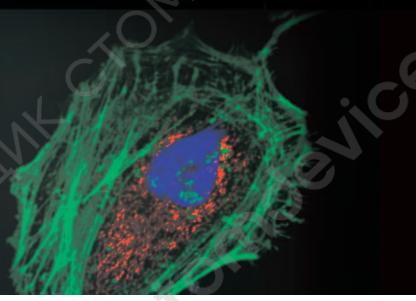
Сканирующая головка A1+/1R+ высокого разрешения

Гальванический сканер A1+/1R+ обеспечивает получение изображений с высоким разрешением (до 4096 x 4096 пикселей). Помимо этого, благодаря новейшим системам привода сканера и отбора образцов, а также уникальной технологии коррекции изображений Nikon, также возможно высокоскоростное получение изображений со скоростью 10 к/с (512 x 512 пикселей).



1D Сканирование	5200 строк в секунду (с/с)
2D Сканирование	130 к/с (512 x 32 пикселя)
Полнокадровое сканирование	10 к/с (512 x 512 пикселей)

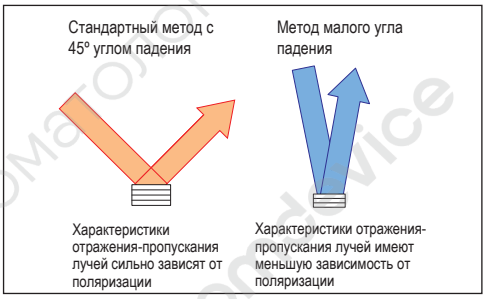
Динамика и взаимодействие

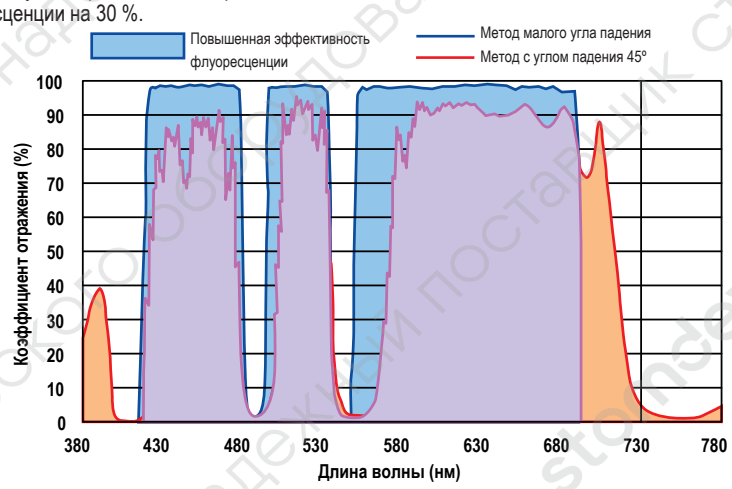


A1+/A1R+

Дихроичное зеркало с малым углом падения лучей на 30 % увеличивает уровень флуоресценции

В серии микроскопов A1+ технология малого угла падения лучей применена впервые на дихроичных зеркалах, благодаря чему увеличен уровень флуоресценции на 30 %.

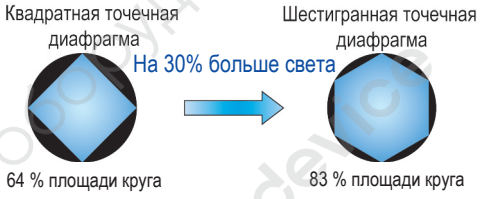




Сравнение эффективности флуоресценции

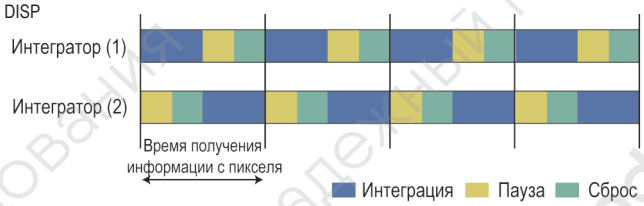
Более яркие изображения при применении шестигранной точечной диафрагмы с плавным изменением размера

Вместо квадратного точечного отверстия с плавным изменением размера, впервые используется точечная диафрагма шестигранной формы. Благодаря этому, при сохранении конфокальности, достигается более высокая яркость, почти эквивалентная идеально-круглому точечному отверстию.



DISP улучшает эффективность обработки сигнала

Для увеличения эффективности и предотвращения потери сигнала при обработке пиксельных данных системой оцифровки сигнала и при сбросе, в схеме процесса обработки изображений была реализована оригинальная разработка компании Nikon – технология двойной интегрированной обработки сигнала (DISP). Сигнал отслеживается в течение всего времени приема информации с пикселя, благодаря чему достигается чрезвычайно высокое соотношение сигнал/шум.



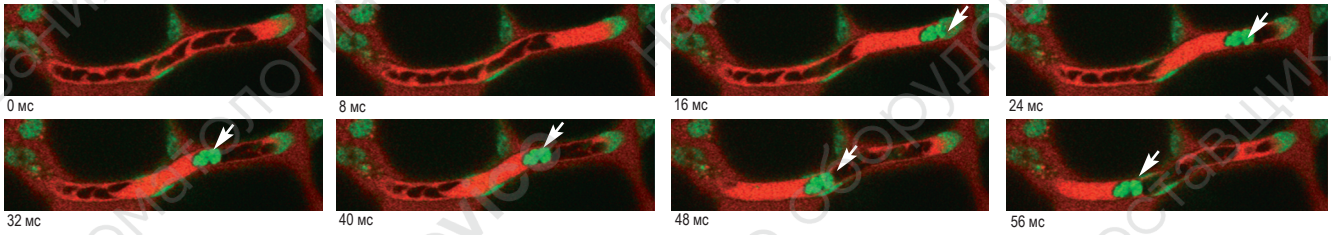
Два интегратора работают параллельно во время считывания оптической информации, что позволяет избежать пропусков.



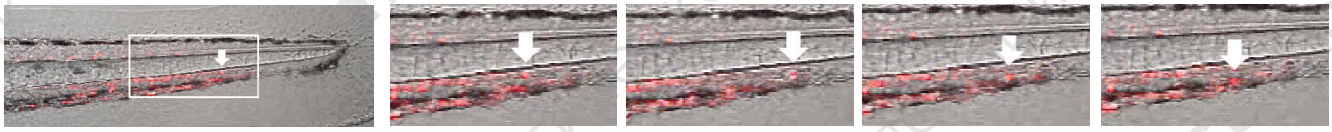
A1R+ Высокоскоростное получение изображений

Получение изображений in vivo

В хороших физиологических условиях возможно получение изображений динамики флуоресцентно-окрашенных агентов и витальных субстанций в живых организмах.



Визуализированное со скоростью 120 к/с (8 мс/к) движение Tetramethyl Rhodamine и Acridine Orange по кровеносным сосудам мыши.
Красный – кровеносный сосуд. Зеленый – ядро. Изображения снимались каждые 8 мс. Стрелки указывают на движение белых кровяных телец в кровеносном сосуде.
Фотографии любезно предоставлены: доктором Сатоши Нишимура (Satoshi Nishimura), отделение сердечнососудистой медицины, университет Токио, PRESTO, Японское Агентство Науки и Технологии.



Zebra fish, экспрессирующая DsRed в эритроцитах. Поток эритроцитов, отмеченный белыми стрелками на изображении, наблюдался одновременно при помощи метода ДИК (DIC) и конфокальных изображений со скоростью 60 к/с (16 мс/кадр, при помощи резонансного сканера).
Фотографии любезно предоставлены: докторомр Йун-Джен Чуанг (Yung-Jen Chuang), Институт биоинформатики и структурной биологии и кафедра бионауки, Национальный Университет Цинхуа

Высокоскоростная сканирующая головка A1R+

A1R+ представляет собой гибридную сканирующую головку, оснащенную как гальваническим, так и резонансным сканером, со сверхвысокой резонансной частотой 7,8 КГц. Она обеспечивает высокоскоростное получение изображений и фотоактивацию при 420 к/с (512 x 32 пикселя), что является самым быстрым результатом в мире.

1D Сканирование	15600 строк в секунду (с/с)
2D Сканирование	420 к/с (512 x 32 пикселя)
Полнокадровое сканирование	30 к/с (512 x 512 пикселей)



Стабильное высокоскоростное получение изображений

Для высокоскоростного получения изображения с помощью резонансного сканера используется оригинальная методика определения положения сканирующего зеркала компании Nikon. Постоянные тактовые импульсы генерируются оптическим способом, что обеспечивает отсутствие как эффекта мерцания, так и искажений даже на самой высокой скорости сканирования.

Высокоскоростная передача данных с помощью волоконно-оптической системы.

Волоконно-оптическая система передачи данных может транслировать данные с максимальной скоростью 4 Гбит в секунду. Это позволяет передавать изображения (512 x 512 пикселей, 16bit) в пяти режимах со скоростью 30 кадров в секунду.

Широкое поле обзора

Резонансные сканеры не страдают от перегрева мотора при высокоскоростном получении изображений. Таким образом, отсутствует необходимость в сокращении поля обзора сканированного изображения для предотвращения перегрева. Это обеспечивает большее поле обзора, чем у гальванического сканера.





A1R+ Высокоскоростное получение изображений с фотоактивацией

PA-GFP (фотоактивируемый зеленый флуоресцентный белок)

PA-GFP необратимо переходит из темного состояния в светлое, а его спектр поглощения смещается в область 488 нм при облучении излучением с длиной волны 405 нм.

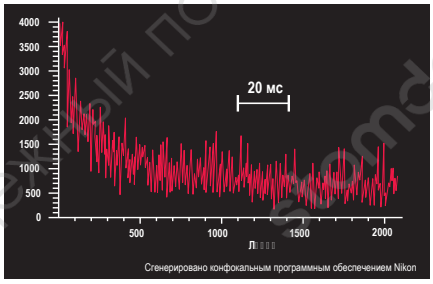


Наблюдение в режиме сканирования по участкамПолучение изображений со скоростью 420 к/с (2,4 мс/к, резонансный сканер)
Размер изображения 512 x 32 пикселей





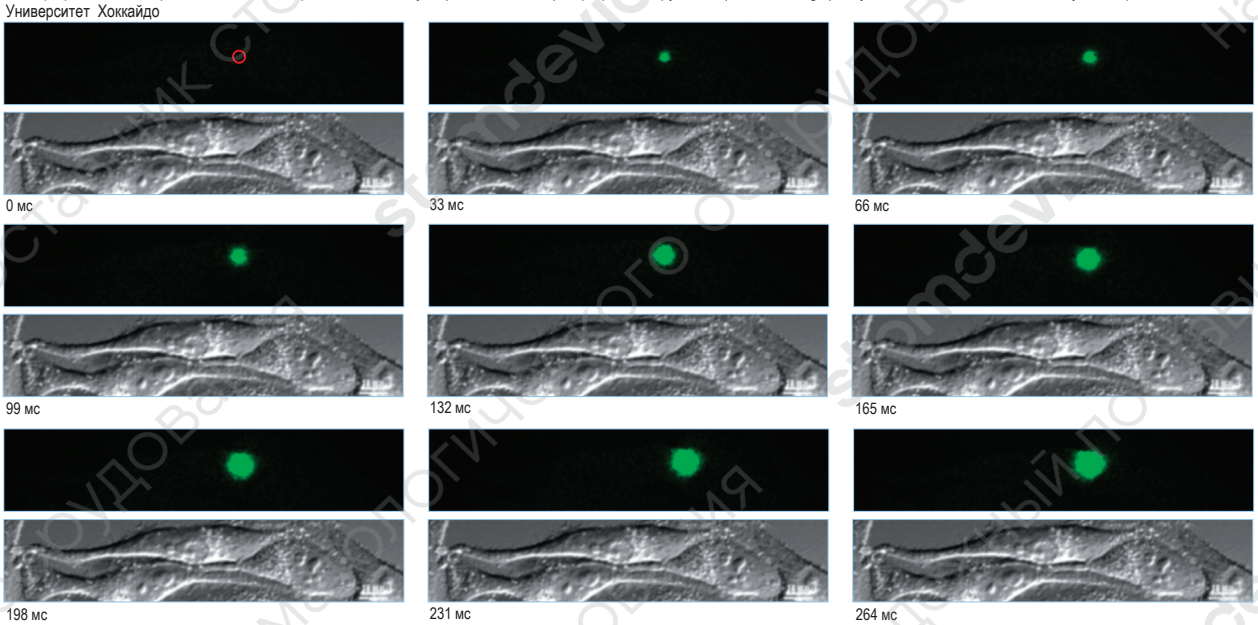
Наблюдение в режиме сканирования X-t.
Получение изображения с временным разрешением 64 мкс (15600 линий в секунду, резонансный сканер)



Клетки HeLa, экспрессирующие PA-GFP, возбуждались лазером с длиной волны 488 нм. Сразу после активации (при помощи лазера с длиной волны 405 нм) изучаемой области, регистрируется зеленая эмиссия (показана серым), генерируемая PA-GFP и последующее распространение фотоактивированного белка регистрируется на высокой скорости. Обратите внимание, что фотоактивация (при помощи лазера 405 нм) и последующее получение изображения (при помощи лазера 488 нм) производятся одновременно. Показаны результаты в режимах сканирования XYt и X-t. Графики показывают зависимость интенсивности флуоресценции (вертикальная ось) от времени (горизонтальная ось).

Длина волны активирующего лазера: 405 нм, длина волны лазера, фиксирующего изображение: 488 нм

Фотографии любезно предоставлены: доктором Томоки Матсуда (Tomoki Matsuda) и проф. Такегару Нагаи (Takeharu Nagai), Научно-исследовательский институт электроники, Университет Хоккайдо

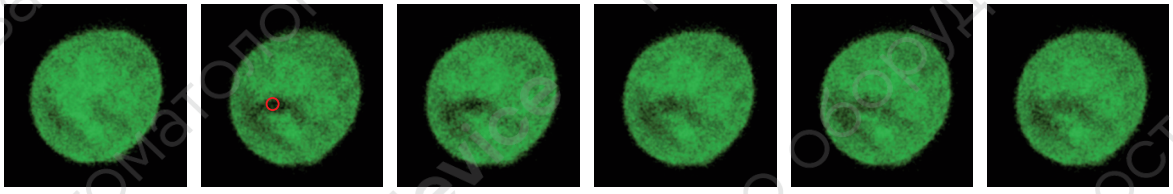


Красная изучаемая область в HeLa клетке была фотоактивирована лазером с длиной волны 405 нм в течение 1 секунды, изображение фиксировалось лазером 488 нм (30 к/с)
Одновременно были получены изображения методом ДИК.
Фотографии любезно предоставлены доктором Хироси Кимура (Hiroshi Kimura), доцент, Высшая школа инновационной бионауки, Университет Осака



FRAP (восстановление флуоресценции после фотообесцвечивания)

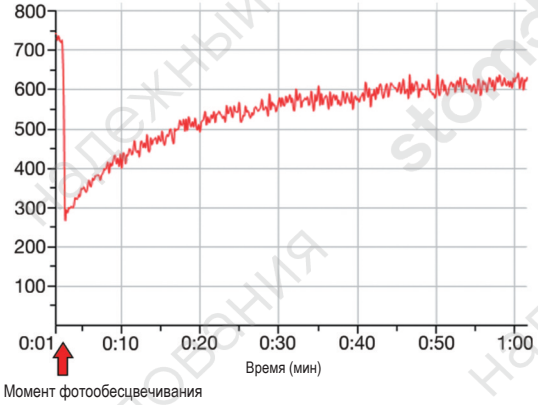
После обесцвечивания флуоресцентных красителей при помощи мощного воздействия лазерного излучения на изучаемую области, наблюдают процесс восстановления флуоресценции во времени для анализа скорости диффузии молекул.
Гибридный сканер A1R+ позволяет фиксировать восстановление флуоресценции во время обесцвечивания в изучаемой области.



До фотообесцвечивания | Сразу после фотообесцвечивания | Через 0,3 секунды после фотообесцвечивания | Через 1 секунду после фотообесцвечивания | Через 1,3 секунды после фотообесцвечивания | Через 2 секунды после фотообесцвечивания

Клетка HeLa, экспрессирующая CREB-GFP, обесцвечивается во время наблюдения FRAP. Красная изучаемая область фотообесцвечивается лазером с длиной волны 408 нм, во время параллельной фиксации изображений с помощью лазера с длиной волны 488 нм и скоростью 30 к/с при комнатной температуре.
График показывает изменение интенсивности красного излучения в изучаемой области, которая обесцвечивается в определенный момент.

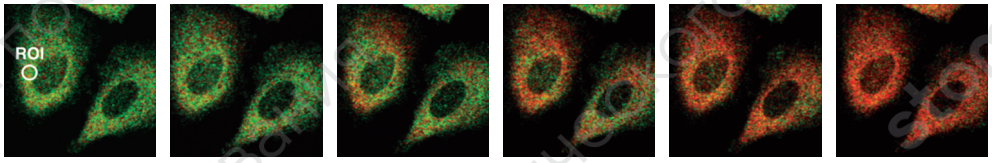
Фотографии любезно предоставлены доктором Хироши Кимура (Hiroshi Kimura), доцент, Высшая школа инновационной бионауки, университет Осака.

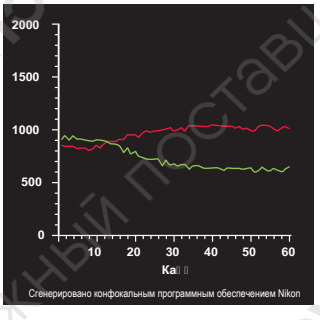


Момент фотообесцвечивания

FRET (Ферстеровский резонансный перенос энергии)

FRET – это физическое явление, наблюдаемое, когда две флуоресцентные молекулы сближаются на расстояние порядка 10 нм. Когда спектры испускания и поглощения флуоресцентных молекул перекрываются и ориентации электрических диполей молекул совпадают, может произойти безизлучательный перенос энергии от молекулы-донора к молекуле-акцептору.





Клетки HeLa, экспрессирующие Yellow Chameleon 3.60 были возбуждены лазером 457 нм. После стимуляции гистамином наблюдалась динамика концентрации ионов кальция. Эмиссия CFP (синяя) и эмиссия YFP (желтая) показаны как зеленый и красный каналы соответственно. График отражает зависимость интенсивности флуоресценции (вертикальная ось) от времени (горизонтальная ось). Зеленая и красная линии графика отражают эмиссию CFP (зеленая) и эмиссию YFP (красная) из изучаемой области. Одновременно с увеличением концентрации ионов кальция в клетке, эффективность переноса энергии между CFP и YFP возрастает, интенсивность флуоресценции CFP уменьшается, а интенсивность флуоресценции YFP увеличивается.

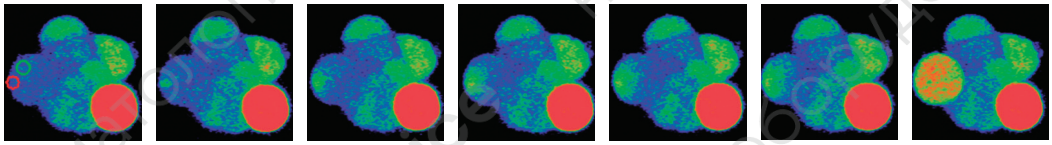
Длина волны активирующего лазера: 457 нм, размер изображения 512 x 512 пикселей, 30 к/с (при помощи резонансного сканера)

Фотографии любезно предоставлены: доктором Томоки Матсуда (Tomoki Matsuda) и проф. Такегару Нагаи (Takeharu Nagai), Научно-исследовательский институт электроники, Университет Хоккайдо

Динамика и взаимодействие

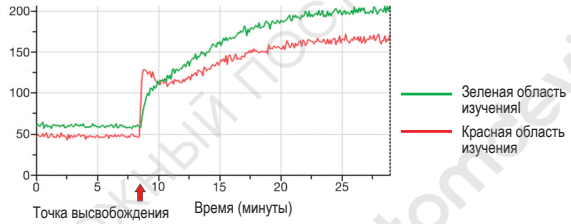
Клеточные составы

Содержащиеся в клетке составы – это биологически активные молекулы, которые были приведены в состояние функционально инертных, и могут быть мгновенно реактивированы при помощи ближнего ультрафиолетового излучения. За счет контроля световой экспозиции можно осуществлять активную молекулярную экспрессию в заранее заданных межмолекулярных центрах с высоким пространственным и временным разрешением.



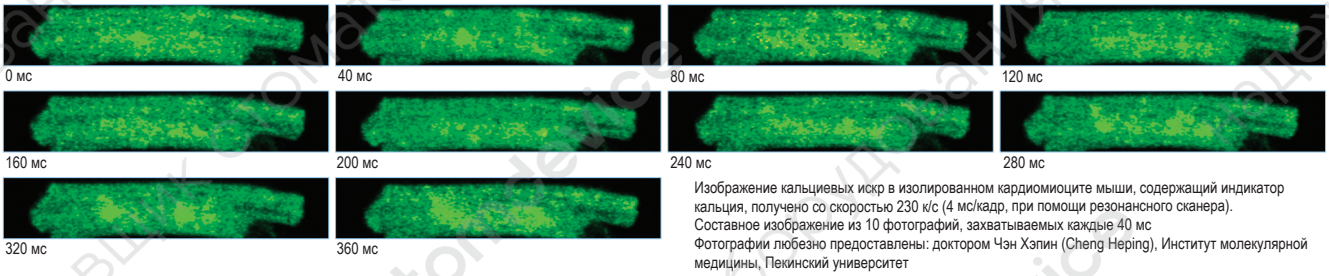
Изображение клетки почки человеческого эмбриона (HEK), содержащей кальций и Fluo-4, фиксируется при помощи лазера с длиной волны 488 нм и со скоростью 120 к/с, красная область изучения высвобождается при помощи лазера с длиной волны 408 нм.
График показывает изменение интенсивности красной и зеленой излучаемых областей, которые были высвобождены в заранее намеченной точке.

Фотографии любезно предоставлены: д-ром Чен-Ян Пан (Chien-Yuan Pan), Департамент бионауки, Национальный университет Тайваня.



Кальциевые искры

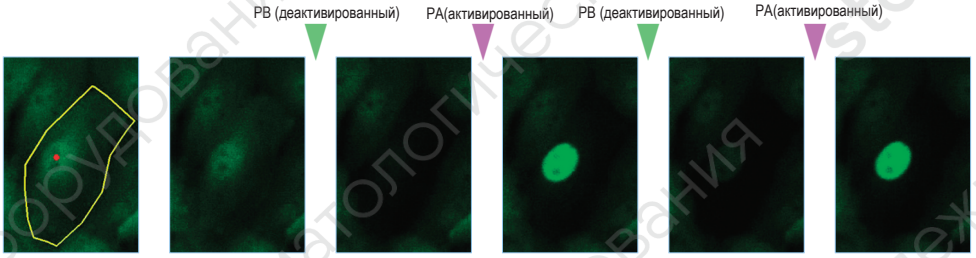
Временное повышение концентрации межклеточного кальция (Ca2+), вызванного рецептором рианодина (RyRs), называется кальциевой искрой. Ca2+ высвобождается из саркоплазматического ретикулума (SR) в клетку благодаря механизму кальцийиндуцированного высвобождения кальция (CICR). Кальциевые искры наблюдаются в локальных микроскопических регионах в течение крайне небольшого промежутка времени.



Изображение кальциевых искр в изолированном кардиомиоците мыши, содержащий индикатор кальция, получено со скоростью 230 к/с (4 мс/кадр, при помощи резонансного сканера).
Составное изображение из 10 фотографий, захватываемых каждые 40 мс
Фотографии любезно предоставлены: доктором Чэн Хэпин (Cheng Heping), Институт молекулярной медицины, Пекинский университет

Dronpa

Dronpa-green – это фотохромный флуоресцентный белок, который теряет флуоресценцию после воздействия на него сине-зеленого излучения (488 нм), а его абсорбционный спектр сдвигается в область 405 нм. Когда его снова облучают фиолетовым светом (405 нм), он восстанавливает флуоресцирующие свойства.



В точке фотообесцвечивания (PB), желтая область изучения – вся LLC-PK1 клетка, стабильно экспрессирующая Dronpa-green – была экспонирована излучением 488 нм, для деактивации ее флуоресцентных свойств, а в точке фотоактивации (PA) красная область изучения – часть ядра – была экспонирована излучением 408 нм для активации флуоресценции. Возбуждение слабым светом с длиной волны 488 нм позволяет наблюдать за динамикой молекул, излучающих зеленую флуоресценцию. PB и PA могут быть повторены (при помощи гальванического сканера).
Фотографии любезно предоставлены: доктором Кейджу Камиджо (Keiju Kamijo), Отделение стволовых клеток и гистологии, медицинская аспирантура, Университет Тохоку

stomdevice

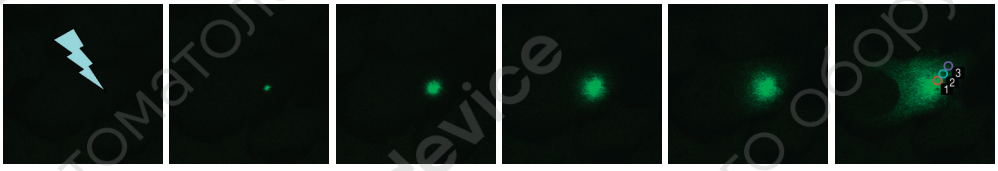


Одновременные процессы фото-активации и получения изображений

Одновременные процессы фотоактивации и получения флуоресцентного изображения производятся при помощи резонансного и гальванического сканеров. Получение изображений быстрых биологических процессов после фотоактивации возможно благодаря тому, что резонансный сканер способен получать изображения со скоростью 30 к/с.

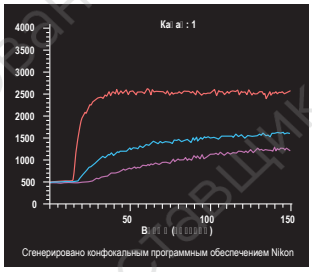
Высокоскоростное получение изображений процесса фотоактивации

Время



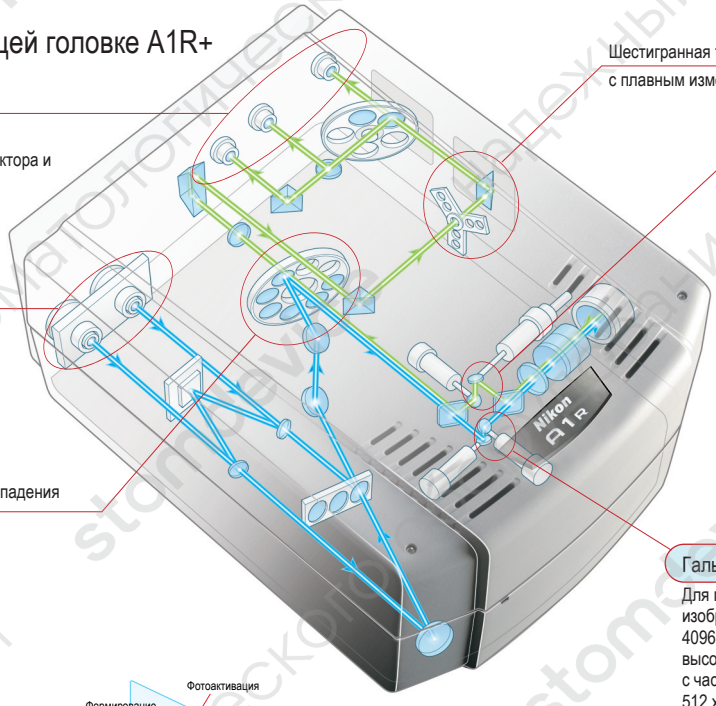
Изображения получены с частотой кадров, аналогичной видеоформату (30 к/с) во время фотоактивации лазером 405 нм

33 мс



Изменение интенсивности флуоресценции (в месте, близком к точке активации: красный, синий, фиолетовый)

Оптический путь в сканирующей головке A1R+



Оптические выходные порты

Порт для 4-х канального PMT детектора, спектрального детектора и дополнительный порт.

Входной порт возбуждения

Может быть введено излучение одновременно от 7 лазеров (максимум 9 длин волн)

Дихроичное зеркало с малым углом падения

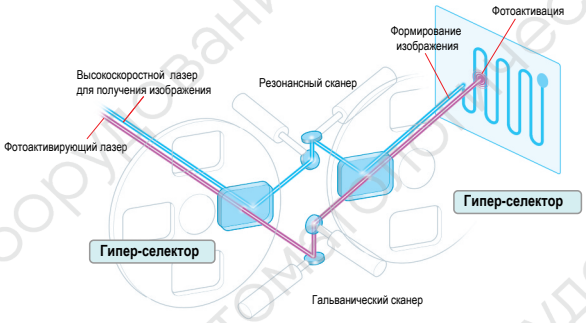
Шестигранная точечная диафрагма с плавным изменением размера

Резонансный сканер

Используется для получения изображений с высокой скоростью до 420 к/с (с разрешением 512 x 512 пикселей). Во время одновременной фотоактивации и получения изображений резонансный сканер используется для захвата изображения.

Гальванический сканер

Для получения высококачественных изображений с высоким разрешением до 4096 x 4096 пикселей. Также возможно высокоскоростное получение изображений с частотой кадров до 10 к/с (с разрешением 512 x 512 пикселей). Во время одновременной фотоактивации и получения изображений гальванический сканер используется для фотостимуляции



Что такое гибридный сканер?

Этот механизм позволяет гибко переключаться между двумя сканерами (резонансный и гальванический), либо использовать их одновременно с помощью высокоскоростного гипер-селектора.

Улучшенный спектральный детектор

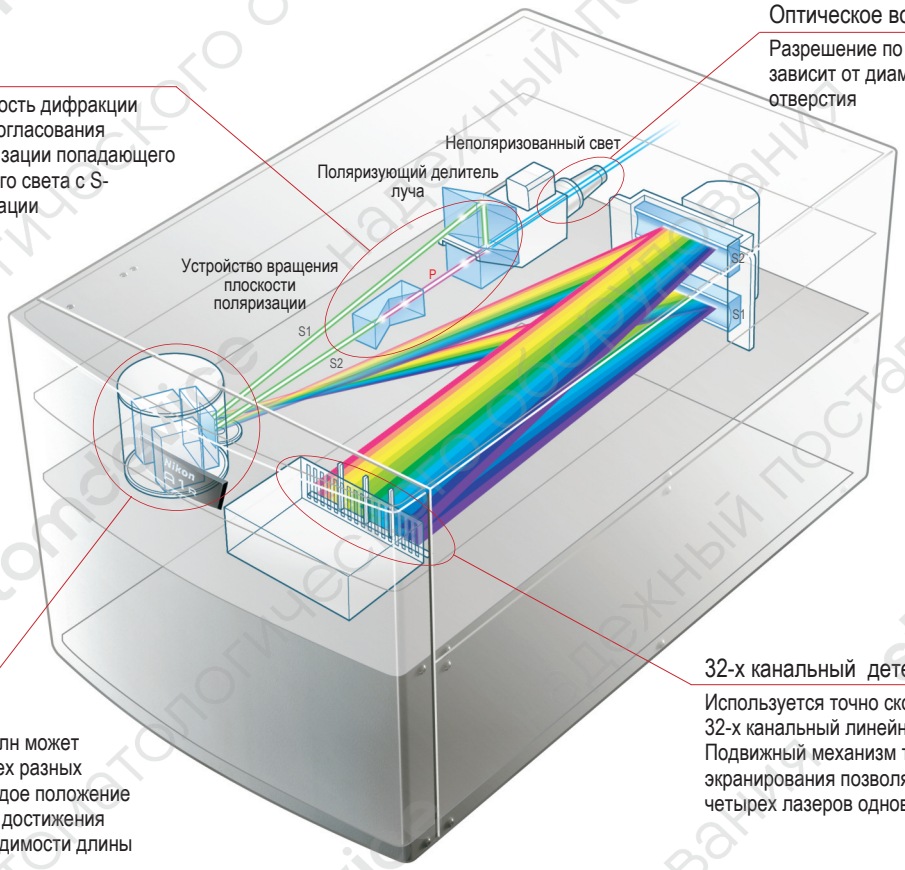
Уникальные спектральные характеристики микроскопов Nikon еще больше улучшены в конфокальных микроскопах серии A1+ и позволяют в высокоскоростном режиме получать спектральные изображения в процессе одного сканирования. Помимо этого, используются новые функции, в том числе V-фильтрация.

Система DEES

Высокая эффективность дифракции достигается путем согласования направления поляризации попадающего на решетку входящего света с S-плоскостью поляризации

Оптическое волокно

Разрешение по длинам волн не зависит от диаметра точечного отверстия



Дифракционные решетки

Разрешение по длинам волн может изменяться с помощью трех разных решеток (2,5/6/10 нм). Каждое положение точно контролируется для достижения максимальной воспроизводимости длины волны

32-х канальный детектор

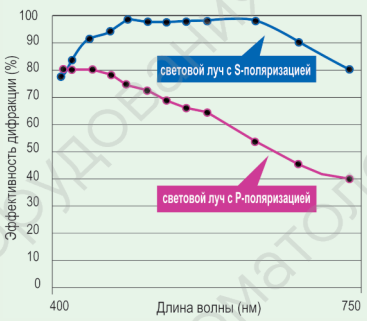
Используется точно скорректированный 32-х канальный линейный детектор. Подвижный механизм тройного экранирования позволяет использовать до четырех лазеров одновременно

Получение высококачественной спектральной информации

Система увеличения эффективности дифракции (DEES)

При помощи системы DEES, неполяризованный флуоресцентный свет, излучаемый образцом, разделяется при помощи делителя поляризованных лучей на два поляризованных световых луча P и S. Затем, луч с P-поляризацией преобразуется при помощи устройства поворота плоскости поляризации в S-поляризованный луч, так как S луч обладает большей эффективностью дифракции, чем P и достигается значительное увеличение общей эффективности.

Характеристики решетки



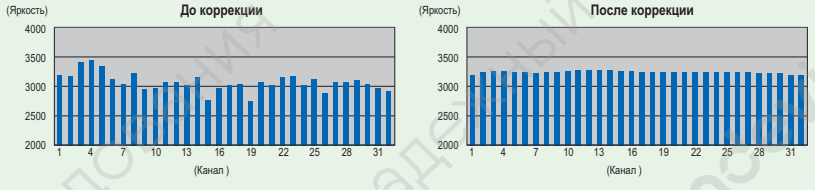
Технология высокоэффективного пропускания флуоресценции

Концы флуоресцентных световодов и поверхности детектора покрыты специальным противоотражающим покрытием, чтобы свести все потери сигнала к минимуму, чем достигается высокая степень оптического пропускания.

Точная, надежная спектральная информация: три метода коррекции.

Три метода коррекции позволяют получить точный спектр: межканальная коррекция чувствительности, которая регулирует смещение и чувствительность каждого канала; коррекция спектральной чувствительности, которая регулирует спектральную эффективность дифракционной решетки и эффективность спектрального детектора; коррекция спектрального пропускания в оптических элементах сканирующих головок и микроскопов.

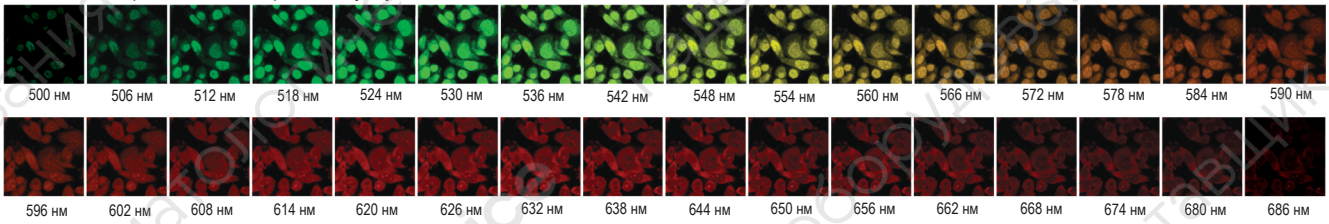
Мультианодная коррекция чувствительности фотоэлектронного умножителя





Быстрая 32-канальная визуализация на скорости 24 к/с

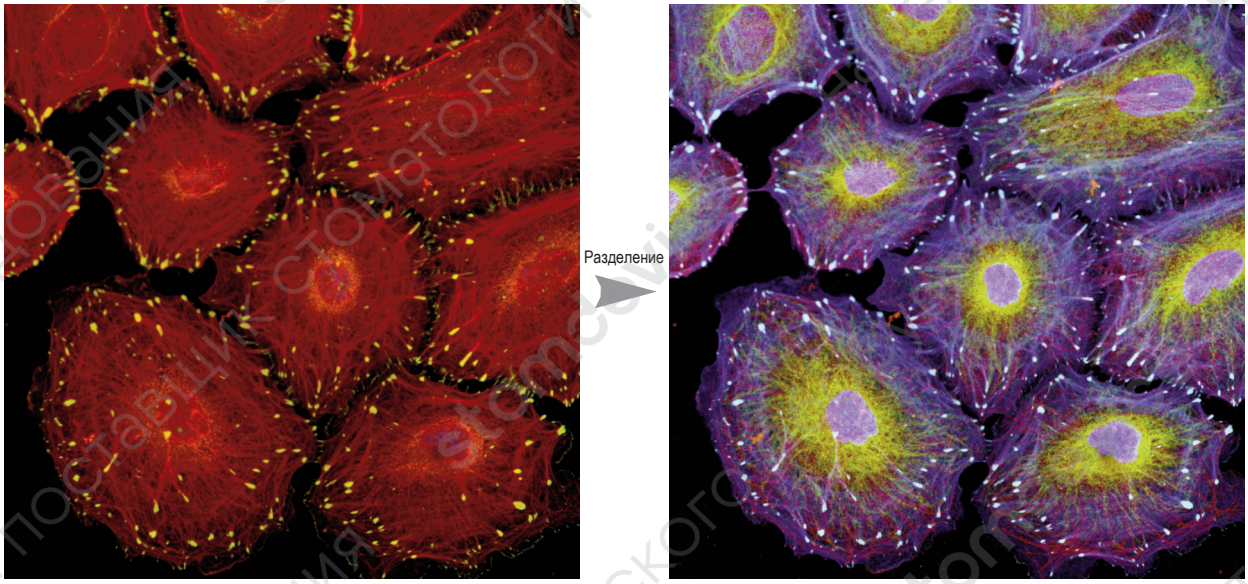
Уникальная технология обработки сигнала и высокоскоростная система перевода аналогового сигнала в цифровой позволяют получать 32-х канальные спектральные изображения (512 x 512 пикселей) за 0,6 сек. Кроме того, достигается скорость получения изображений с разрешением 512 x 32 пикселей, равная 24-м кадрам в секунду.



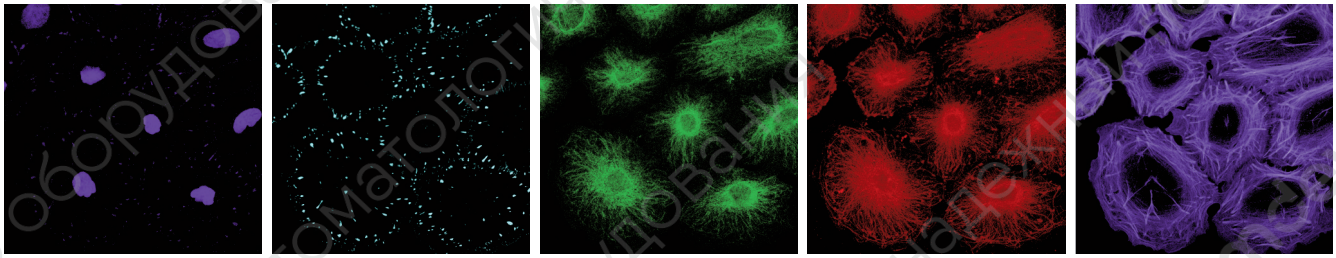
Клетки HeLa с ДНК и РНК, окрашенные при помощи Acridine Orange.
Спектральные изображения в диапазоне длин волн 500-692 нм при возбуждении лазером 488 нм получены с разрешением 6 нм.

Точное спектральное разделение

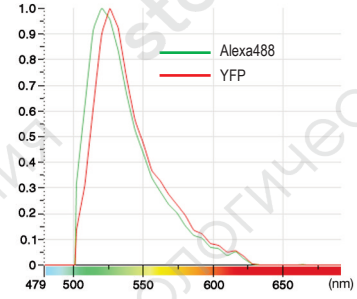
Точное спектральное разделение обеспечивает максимальную производительность в разделении взаимоперекрывающихся спектров флуоресценции и устранение автофлуоресценции.

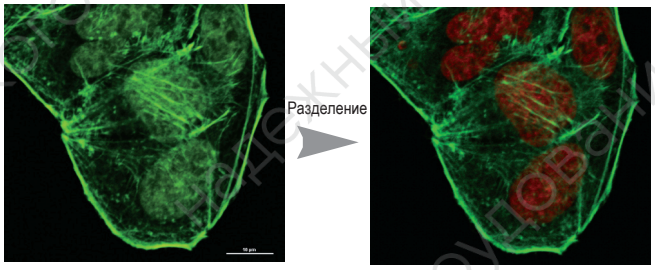


Спектральные и разделенные изображения клеток HeLa с флуоресцентными метками пяти цветов.
Образец любезно предоставлен: доктором Тадаши Карашима (Tadashi Karashima), кафедра дерматологии, Университет Куруме, медицинский факультет



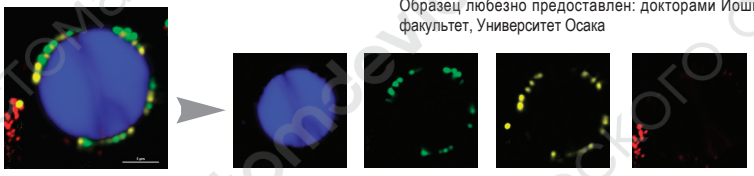
Ядро (DAPI) | Виникулин (Alexa488) | Виментин (Alexa568) | Тубулин (Alexa594) | Актин (Phalloidin-Alexa633)





Актин клетки HeLa, экспрессирующий H2B-YFP, был окрашен красителем Phalloidin-Alexa488.
Спектральное изображение было получено в диапазоне длин волн 500-692 нм при возбуждении лазером 488 нм.
Слева: спектральное изображение, справа: разделенные изображения (зеленый: Alexa488, красный: YFP)
Образец любезно предоставлен: докторами Йошихиро Йонеда (Yoshihiro Yoneda) и Такуя Саиваки (Takuya Saiwaki), медицинский факультет, Университет Осака

Разделенное изображение



Спектральное изображение микросфер Constellation корпорации Invitrogen, полученное в диапазоне 420-740 нм с использованием лазерного излучения с длинами волн 408 нм, 488 нм, 561 нм, 638 нм, и разделенное изображение.

Разделение в режиме реального времени

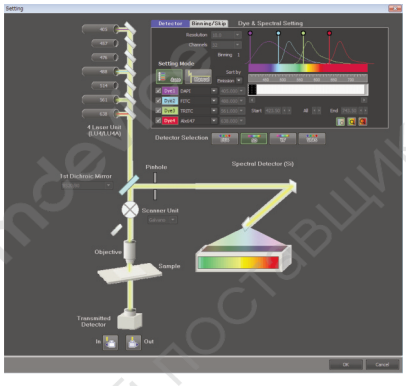
Новейшие алгоритмы, а также высокоскоростная обработка данных позволяют разделять спектральные изображения в режиме реального времени, во время захвата изображения, в то время как раньше это осуществлялось после окончания процесса формирования спектрального изображения. Это особенно эффективно для FRET анализа, с тех пор как зонды с близкими спектрами, такие как CFP и YFP, GFP и YFP, которые раньше было трудно разделить, можно разделять в режиме реального времени.

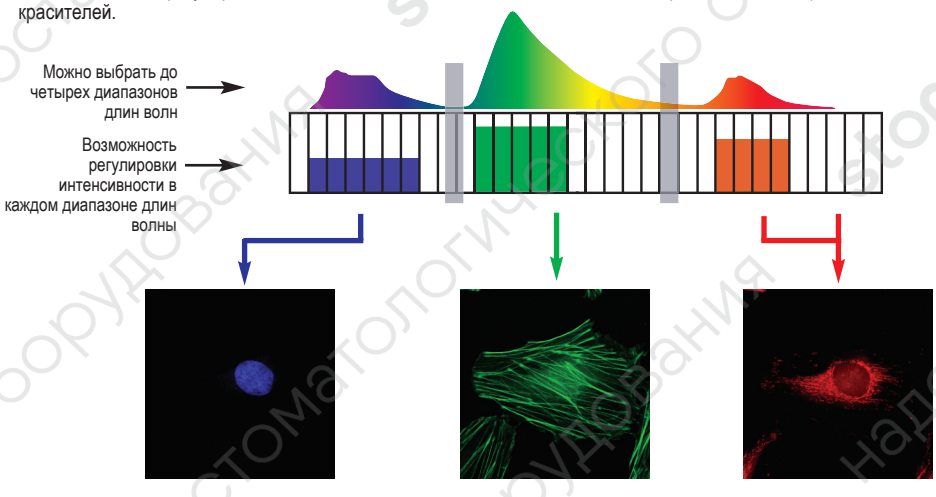
Одновременное возбуждение четырьмя лазерами

Три определяемых пользователем экрана для защиты детекторов от прямого лазерного излучения позволяют одновременно использовать четыре лазера, выбранных из максимального количества длин волн (9), что, в свою очередь, позволяет расширить границы спектрального анализа.

С функцией V-фильтрации возможно безфильтровое регулирование интенсивности

Желаемые спектральные диапазоны, совпадающие со спектром используемого флуоресцентного красителя, могут быть выбраны из 32 каналов и скомбинированы для выполнения функций фильтрации. При определении наиболее подходящего диапазона длин волн, становится возможным получение изображения с оптимальным уровнем интенсивности излучения каждого красителя при реакции FRET и колокализации. Одновременно может быть выбрано до четырех диапазонов длин волн. Чувствительность в каждом диапазоне можно регулировать отдельно, что дает возможность использовать разные комбинации красителей.





Простота эксплуатации

Универсальность и простота эксплуатации

Программное обеспечение NIS-Elements C обеспечивает простоту эксплуатации и различные функции анализа данных. Объединенное с дистанционным управлением и другими аппаратными средствами это программное обеспечение обеспечивает совершенные условия эксплуатации.

NIS-Elements C

В ходе детальной разработки эксплуатационных качеств была проанализирована каждая модель конфокального микроскопа, что в результате позволило создать интуитивно-понятный интерфейс и позволило добиться простоты эксплуатации как для новичков, так и для продвинутых пользователей конфокальных приборов. При сохранении преимуществ гибридного сканера, с помощью программного обеспечения можно осуществлять сложную последовательность экспериментов, таких как проведение фото-активации с использованием простых настроек.

Простой процесс получения изображений

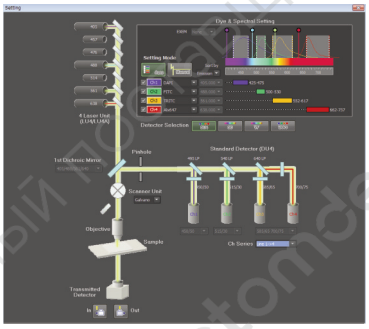
• Основные операции

Параметры получения основных изображений объединены в одно окно, что упрощает процесс формирования изображений.



• Оптическая настройка

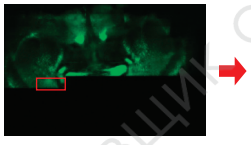
После выбора флуоресцентного зонда соответствующий фильтр и длина волны лазера будут установлены автоматически. Установки микроскопа также проводится автоматически.

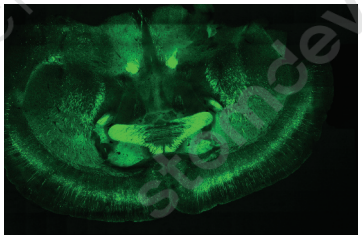


Различные области применения

• Получение большого изображения (разбивка изображения на участки)

Изображения смежных областей, захваченные с помощью моторизованного предметного стола, автоматически объединяются в одно изображение образца тканей с высоким разрешением.

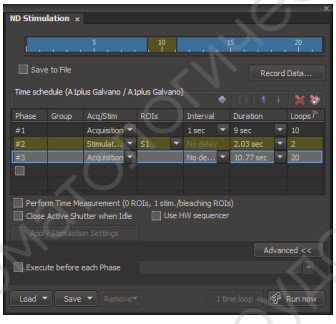






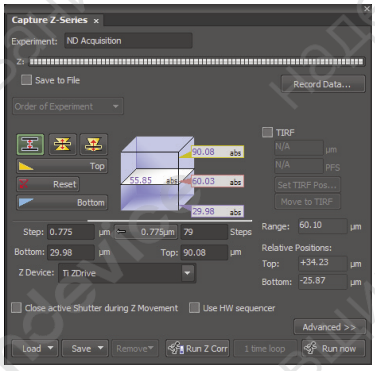
• Установка параметров для фотоактивации

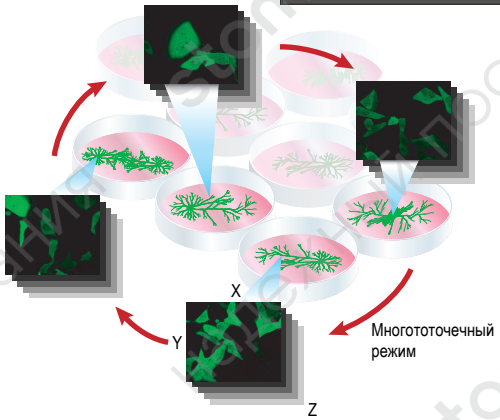
Установка таймера и параметров изображений для фотоактивации выполняется интуитивно.



• Формирование многомерного изображения

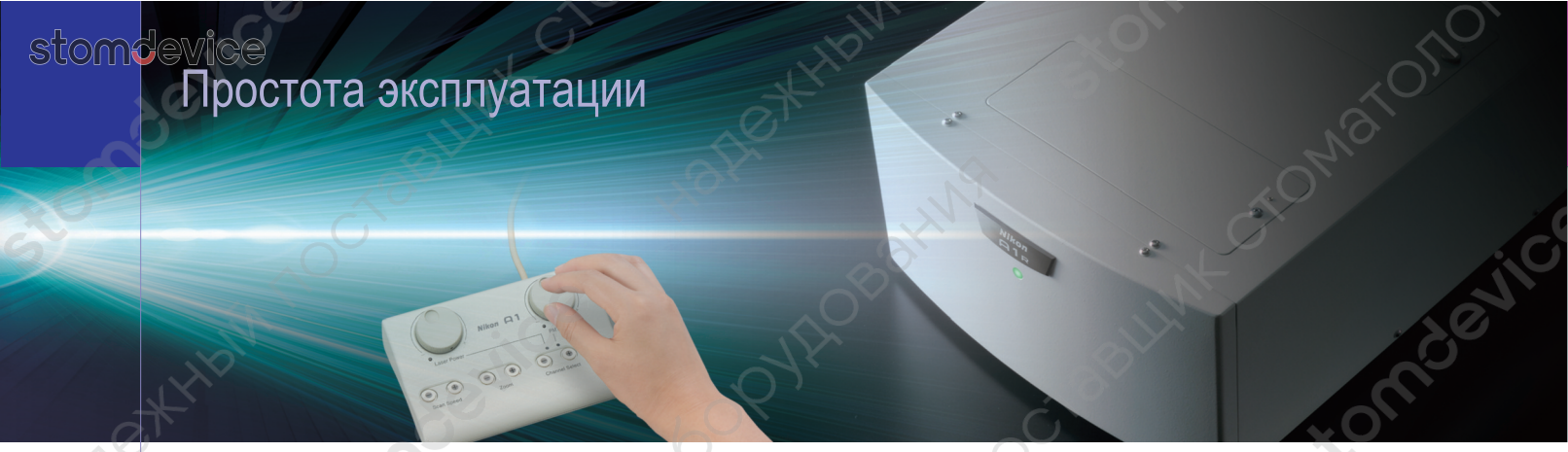
Возможно формирование изображений с произвольным сочетанием параметров, включая X, Y, Z, T, λ (длина волны) и многоточечный режим.





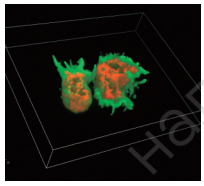
stomdevice

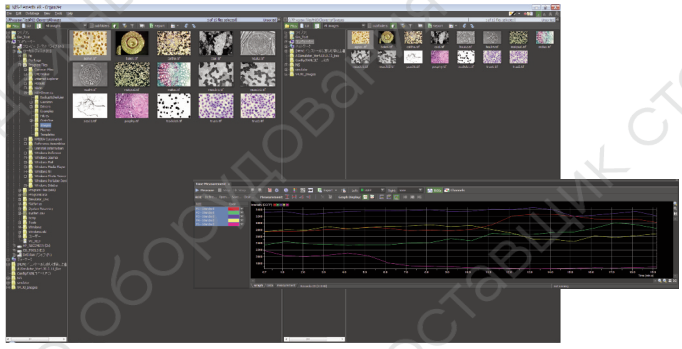
Простота эксплуатации



Надежные аналитические функции

- Возможность изменять размер изображения в реальном времени
- Деконволюция
- Высокая скорость визуализации 3D-изображения
- Отображение многомерных изображений (nD Viewer)
- Синхронное отображение многомерных изображений (View synchronizer)
- Обработка различной измерительной и статистической информации
- Формирование обширной базы данных изображений
- Колокализация и FRET

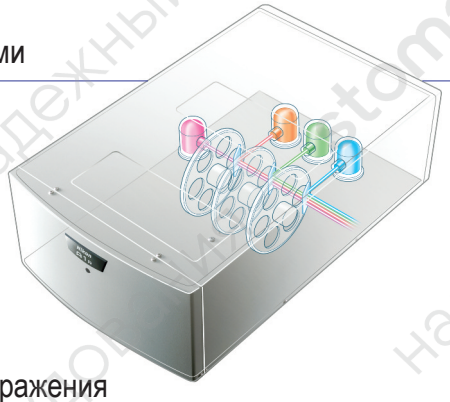




Удобное аппаратное обеспечение

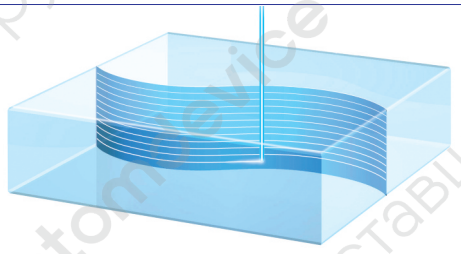
Блок четырехканального детектора со сменными фильтрами

В стандартной конфигурации предусмотрена возможность одновременного наблюдения четырех флуоресцентных маркеров при использовании четырех лазеров. В каждый из трех держателей с фильтрами можно установить шесть блоков светофильтров, которые обычно используются для микроскопа. Благодаря комбинации модульной конструкции, гибкости и удобства для пользователя, их можно легко заменить.



Сшивка изображений в Z направлении для фиксации изображения поперечного сечения в реальном времени

Возможна высокая скорость получения изображений в направлении Z, а также в плоскости XY. С помощью пьезомоторизованного Z-стола, можно получить произвольное изображение вертикального поперечного сечения. Это сечение может быть получено в реальном времени без необходимости строить трехмерное изображение.



Легкое дистанционное управление

Дистанционный пульт позволяет управлять основными настройками лазера, детектора и сканера при помощи простых нажатий на клавиши и поворота ручек управления.



Уникальная технология увеличения четкости при сохранении яркости

Получение одновременно ярких и четких и изображений стало возможным благодаря технологическому усовершенствованию блока точечной диафрагмы.

Блок точечной диафрагмы VAAS изменяет существующую концепцию конфокального микроскопа.

Общепринятым фактом считается то, что уменьшение размера точечной диафрагмы для устранения света от нефокальной плоскости является причиной более темных изображений. VAAS (система виртуальной адаптируемой диафрагмы) представляет собой новейшую разработку в области конфокальной микроскопии, которая ликвидирует блики с сохранением яркости изображений.

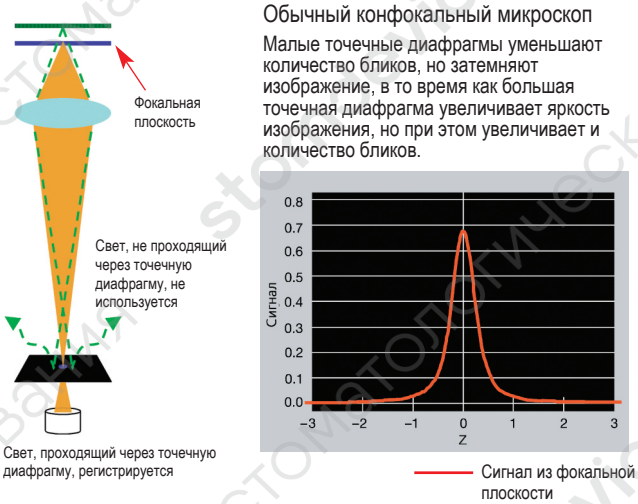
Преимущества:

1 Возможно получение более ярких изображений без бликов.
2 За счет деконволюции возможно моделирование различных срезов (разной толщины) после получения изображения.
3 Изображения как в фокальной плоскости, так и лежащее вне этой плоскости, могут быть получены за одно сканирование, что увеличивает скорость работы и уменьшает повреждение живых клеток.

Принцип работы и особенности

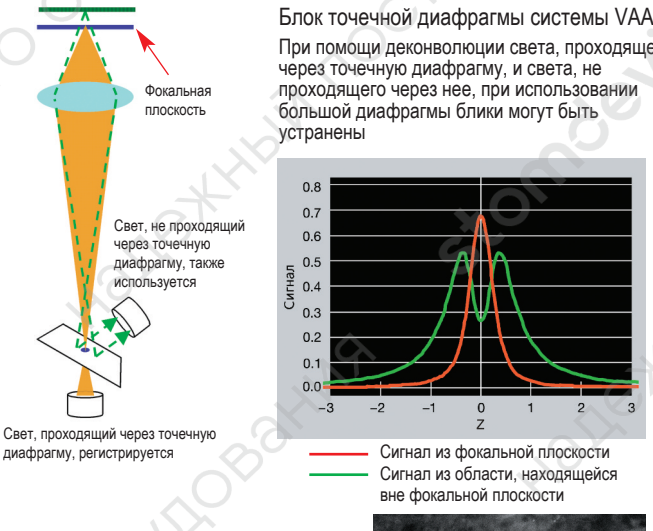
Обычный конфокальный микроскоп

Малые точечные диафрагмы уменьшают количество бликов, но затемняют изображение, в то время как большая точечная диафрагма увеличивает яркость изображения, но при этом увеличивает и количество бликов.

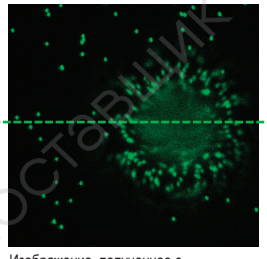


Блок точечной диафрагмы системы VAAS

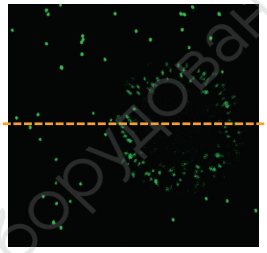
При помощи деконволюции света, проходящего через точечную диафрагму, и света, не проходящего через нее, при использовании большой диафрагмы блики могут быть устранены



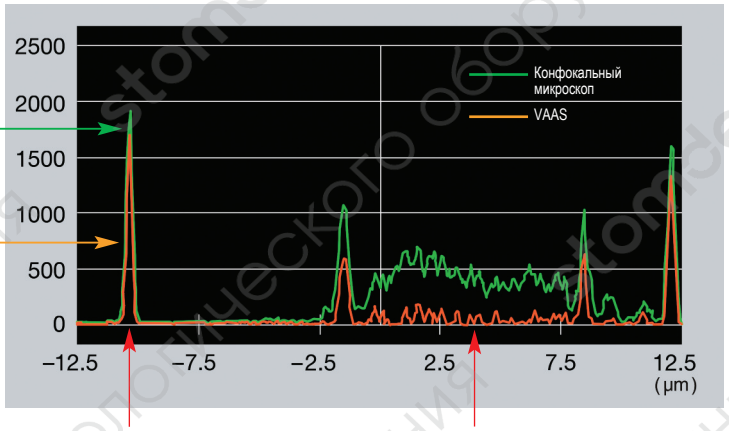
Обычное конфокальное изображение (1 AU)



Изображение, полученное с помощью системы VAAS

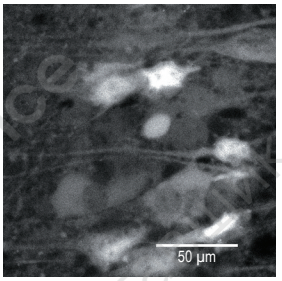


Линейный профиль

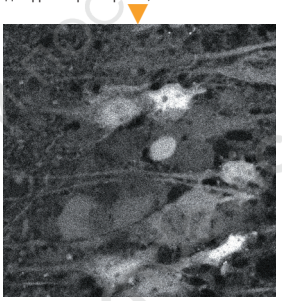


Интенсивность обоих изображений почти идентична

Изображения VAAS содержат меньше фонового шума



Конфокальное изображение, полученное при диафрагме размером 1,5 AU



Дифференцированное изображение VAAS

Смесь из 10-мкм и 0,1 мкм флуоресцирующих шариков.
Флуоресценция 10-мкм шариков, зафиксированная при помощи света из области, находящейся вне фокальной плоскости, которая теряется при использовании больших точечных отверстий у обычного конфокального микроскопа. Блок системы VAAS создает изображение без потерь в области, находящейся вне фокуса.

Выделенный срез мозга из pThy1-EYFP трансгенной мыши.
Фотографии любезно предоставлены: доктором Ясуси Окада, (Yasushi Okada) лаборатория по изучению полярности клеток, Центр количественной биологии, RIKEN

Высокопроизводительные объективы для конфокального микроскопа

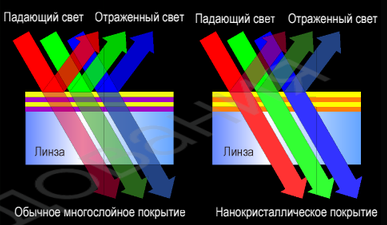
Новые объективы с высоким значением числовой апертуры (NA) обеспечивают интенсивную коррекцию хроматических аббераций в широком диапазоне длин волн, от ультрафиолета до инфракрасных лучей. Благодаря использованию эксклюзивной технологии нанокристаллического покрытия компании Nikon увеличилось и светопропускание. Объективы серии CFI Apochromat λS обеспечивают коррекцию хроматических аббераций в широком диапазоне длин волн от 405 нм, что позволяет применять эти объективы для получения многоцветных изображений. В частности, объектив LWD 40xWI λS обладает чрезвычайно широким диапазоном коррекции хроматических аббераций, от 405 нм и практически до инфракрасной части спектра. Объектив CFI Plan Apochromat IR 60xWI обеспечивает коррекцию хроматических аббераций до 1064 нм.



CFI 75 Apochromat 25x W MP
CFI Apochromat 40x WI λS
CFI Apochromat LWD 40x WI λS
CFI Apochromat 60x oil λS
CFI Plan Apochromat IR 60x WI

Технология нанокристаллического покрытия

Основанная на технологии компании Nikon по производству полупроводников, нанокристаллическое покрытие представляет собой противоотражающее покрытие, состоящее из сверхмелких кристаллических частиц размером в нанометр. Благодаря расположению частиц в виде губчатой структуры на одинаковом расстоянии друг от друга, это зернистое покрытие снижает коэффициент отражения, облегчая прохождение светового луча сквозь линзу. Эти кристаллические частицы устраняют отражения в линзах во всем видимом спектральном диапазоне таким образом, что это значительно превышает эффективность обычных видов противоотражающего покрытия.



Обычное многослойное покрытие — Нанокристаллическое покрытие

Рекомендуемые объективы

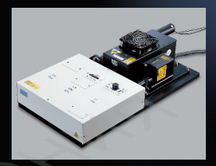
CFI Plan Apochromat 10x	NA 0.45, W.D. 4.00 мм	N
CFI Plan Apochromat VC 20x	NA 0.75, W.D. 1.00 мм	
CFI75 Apochromat 25xW MP	NA 1.10, WD 2.00 мм	N
CFI Plan Apochromat 40x	NA 0.95, W.D. 0.21 мм	N
CFI Apochromat 40xWI S	NA 1.25, W.D. 0.18 мм	N
CFI Apochromat LWD 40xWI S	NA 1.15, W.D. 0.60 мм	N
CFI Apochromat 60x oil S	NA 1.40, W.D. 0.14 мм	N
CFI Plan Apochromat VC 60x WI	NA 1.20, W.D. 0.29 мм	
CFI Apochromat TIRF 60x oil	NA 1.49, W.D. 0.12 мм	
CFI Plan Apochromat IR 60xWI	NA 1.27, W.D. 0.17 мм	N
CFI Apochromat TIRF 100x oil	NA 1.49, W.D. 0.12 мм	

N : с нанокристаллическим покрытием

Компоненты системы


4-лазерный блок A

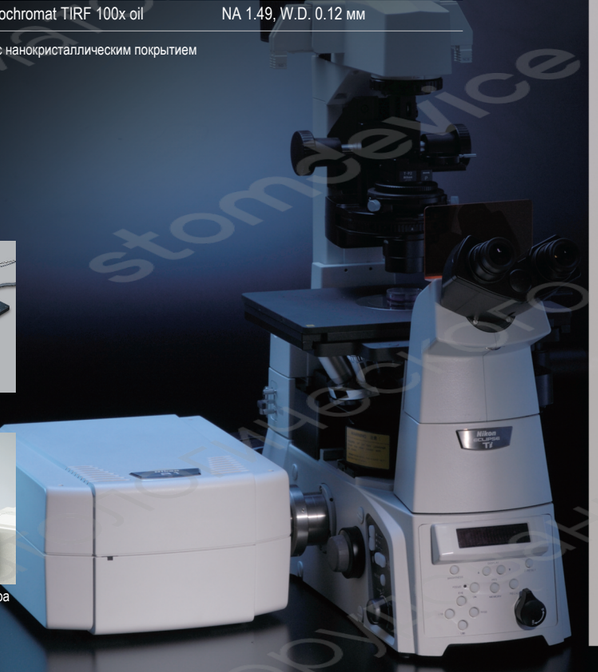

Блок спектрального детектора


3-лазерный блок EX

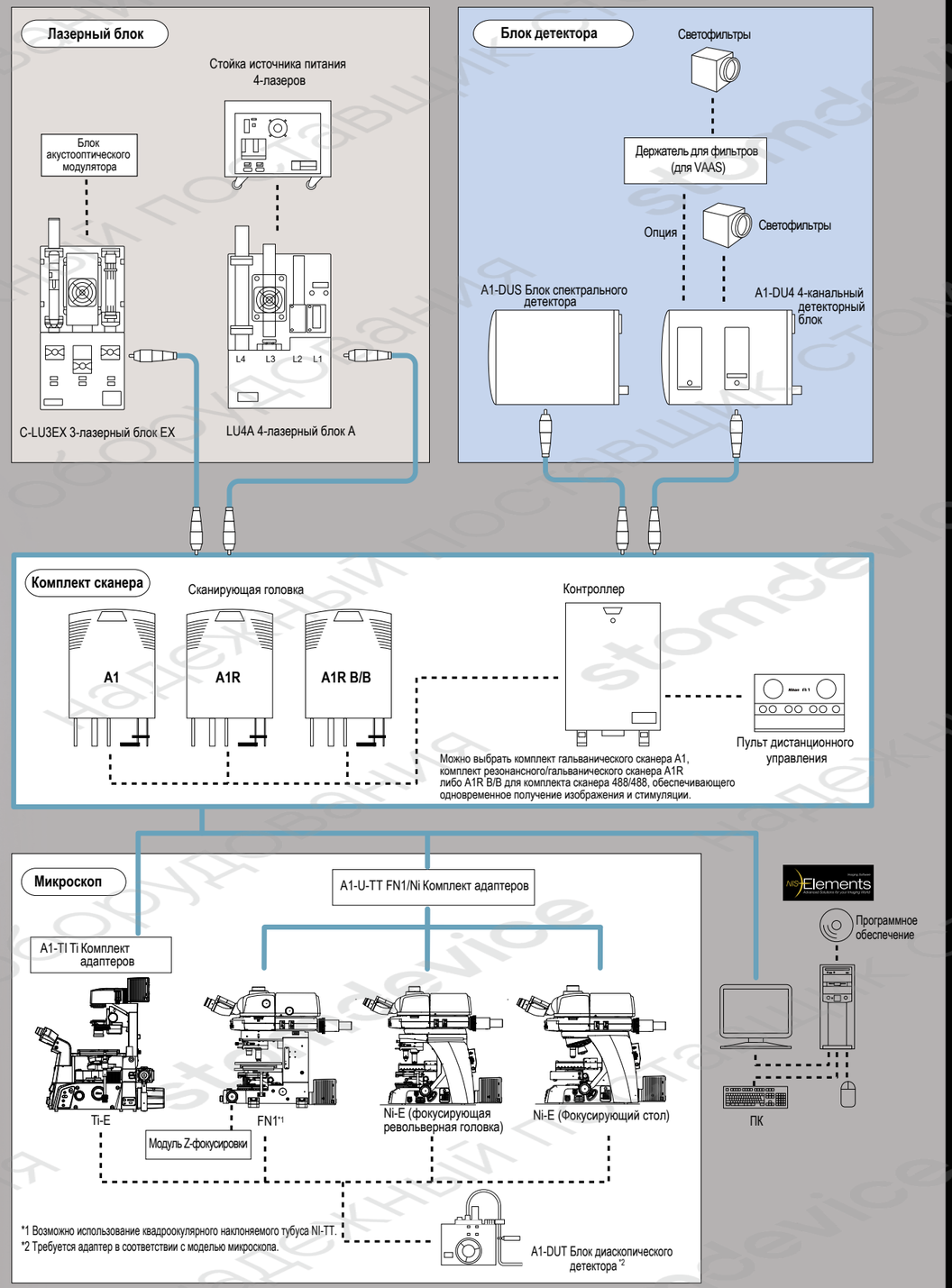

4-канальный детекторный блок


Стойка питания 4 лазеров


Блок диаскопического детектора



Системная диаграмма



stomdevice

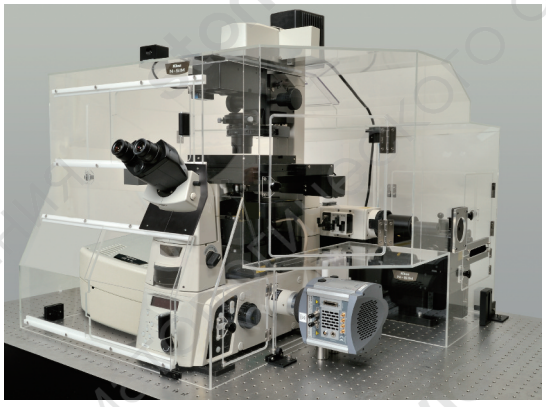
Различные периферийные устройства и системы для прижизненного наблюдения клеток

Модели A1+ с N-SIM, A1+ с N-STORM и A1+ с TIRF

Модели A1+/A1R+ могут оснащаться системой TIRF (полного внутреннего отражения) и системами свервысокого разрешения N-SIM, N-STORM, которые устанавливаются на один инвертированный микроскоп. Управление всеми этими системами осуществляется при помощи встроенного программного обеспечения Nikon. Такой подход обеспечивает возможность проведения расширенного анализа клеток. Система N-SIM дает сверхвысокое разрешение, которое приблизительно в два раза превышает разрешение обычных микроскопов. Система TIRF обеспечивает визуализацию сверхтонких оптических срезов образцов толщиной приблизительно в 100 нм, позволяя наблюдать за единичными молекулами.



A1+ с N-STORM



A1+ с N-SIM

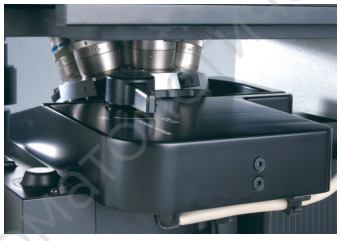


A1+ с TIRF

Конфокальный микроскоп с совершенной системой фокусировки (Perfect Focus).

Инвертированные микроскопы Ti-E позволяют использовать механизм автоматического сохранения фокуса — совершенную систему фокусировки (PFS).Она непрерывно корректирует смещение фокуса во время продолжительных циклов наблюдения и при добавлении реагентов

* рекомендуется использовать чашку Петри со стеклянным дном



Моторизированный револьвер PFS (инвертированный микроскоп Ti-E)

Концепция совершенной системы фокусировки

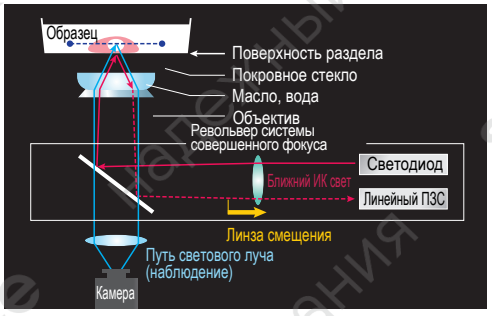
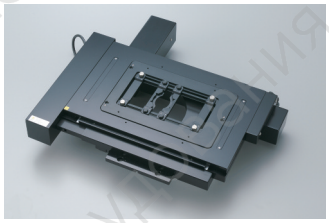


Диаграмма показывает случай применения объектива иммерсионного типа. Также можно использовать сухие объективы.

Моторизированные столы

Моторизированный стол облегчает многоточечное наблюдение, что позволяет работать в режимах XYt (4D), XYZ (4D), XYZt (5D) и XYZt (6D, включая информацию о спектре)
Высокоскоростное сканирование в Z - направлении возможно при использовании стандартных моторизированных столов XY, оснащенных линейным кодировщиком сигнала с улучшенной воспроизводимостью позиционирования в комбинации с опционной моторизированной пьезосистемой со способностью высокоскоростного сканирования в Z–направлении.



Стандартный моторизированный XY - стол



Моторизированный пьезо Z - стол

Мини-инкубатор серии INU

При помощи контроля температуры предметного стола, водяной бани, покровного стекла и объектива обеспечивается возможность сохранять клетки живыми в течение довольно продолжительного времени. Прозрачный стеклянный нагреватель предотвращает образование конденсата, а система предотвращения нарушения фокусировки из-за теплового расширения делают данную систему идеальной для применения при проведении длительных наблюдений.
Производитель: Tokai Hit Ltd



Спецификации

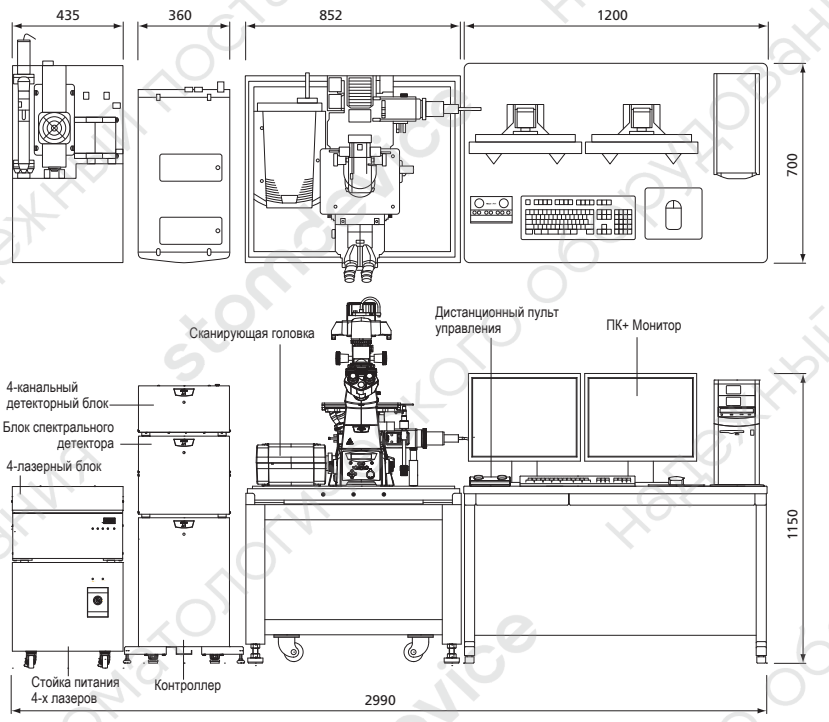
		A1+	A1R+
Порт ввода-вывода		2 лазерных порта ввода 4 сигнальных порта вывода для 4-х канального PMT-детектора, спектрального детектора, системы VAAS (дополнительной) и детектора стороннего производителя (FCS/FCCS/FLIM)	
Лазер	Совместимый лазер	405 нм, 440/445 нм, 488 нм, 561/594 нм, 638/640 нм, аргоновый лазер (457 нм, 488 нм, 514 нм), гелий-неоновый лазер (543 нм)	
	Модуляция	метод: AOTF (акустооптический настраиваемый фильтр) или AOM (акустооптический модулятор) контроль: контроль мощности каждой длины волны, возвратная маска, контроль экспозиции изучаемой области	
	Лазерный блок	стандартный: LU4A 4-лазерный блок A или C-LU3EX 3-лазерный блок EX опциональный: C-LU3EX 3-лазерный блок EX (когда в качестве стандартного лазерного блока выбран 4-лазерный блок A)	
Стандартный детектор флуоресценции	Длина волны	400-750 нм	
	Детектор	4 PMT	
	Светофильтр	6 наборов светофильтров, обычно используемых для микроскопов, крепятся в каждое из трех держателей для светофильтров рекомендованные длины волн: 450/50, 482/35, 515/30, 525/50, 540/30, 550/49, 585/65, 595/50, 700/75	
Диаскопический детектор	Длина волны	450-650 нм	
	Детектор	PMT	
Поле зрения Квадрат вписанный в окружность диаметром 18 мм Глубина цвета		4096 уровней интенсивности серого (12 бит)	
Сканирующая головка	Стандартный процесс получения изображения	Сканер: гальванический сканер x2 Размер в пикселях: максимально 4096 x 4096 пикселей Скорость сканирования: Стандартный режим: 2 к/с (512 x 512 пикселей, в оба направления), 24 к/с (512 x 32 пикселя, в оба направления) Быстрый режим: 10 к/с (512 x 512 пикселей, в оба направления), 130 к/с (512 x 32 пикселя, в оба направления)*1 Трансфокатор: 1-1000x бесступенчатый режим сканирования: X-Y, X-T, X-Z, XY вращение, в произвольном направлении	
	Высокоскоростное получение изображений	-	Сканер: резонансный сканер (X-ось, резонансная частота 7,8 кГц), гальванический сканер (Y-ось) Размер в пикселях: максимально 512 x 512 пикселей Скорость сканирования: от 30 к/с (512 x 512 пикселей) до 420 к/с (512 x 32 пикселей), 15600 линий в секунду (линейная скорость) Трансфокатор: 7-ступенчатый (1x, 1.5x, 2x, 3x, 4x, 6x, 8x) Режим сканирования: X-Y, X-T, X-Z Метод получения изображений: стандартное получение изображений, высокоскоростное получение изображений, параллельные фотоактивация и получение изображений
	Дихроичное зеркало	Метод малого угла падения лучей, позиций: 8 Стандартный фильтр: 405/488, 405/488/561, 405/488/561/638, 405/488/543/638, 457/514, BS20/80 Дополнительный фильтр: 457, 405/488/543, 457/514/561, 440/514/594	
	Точечная диафрагма	изменение в пределах 12-256 мкм (плоскость 1 изображения)	
Спектральный детектор (с гальваническим сканером) (опция)	Количество каналов	32 канала	
	Диапазон улавливания волн	400-750 нм	
	Скорость получения спектрального изображения	4 к/с (256 x 256 пикселей), 1000 линий в секунду Размер в пикселях: максимально 2048 x 2048 пикселей	
	Разрешение по длинам волн	80 нм (2,5 нм), 192 нм (6 нм), 320 нм (10 нм) диапазон длин волн меняется с шагом 0,25 нм	
	Разделение	высокоскоростное разделение, точное разделение	
Z-шаг		Ti-E: 0,025 мкм, с шаговым двигателем FN1: 0,05 мкм Ni-E: 0,025 мкм	
Совместимые микроскопы		Инвертированный микроскоп ECLIPSE Ti-E, микроскоп с неподвижным предметным столом ECLIPSE FN1, прямой микроскоп ECLIPSE Ni-E (тип с фокусирующей револьверной головкой и тип со столом для фокусировки)	
Дополнительная комплектация		Моторизированный предметный стол XY (для Ti-E/Ni-E), высокоскоростной Z-стол (для Ti-E), высокоскоростная пьезосистема для позиционирования объектива (для N1/Ni-E), VAAS	
Программное обеспечение	Воспроизведение/ Формирование изображения	2D-анализ, объемное 3D-изображение, 4D-анализ, спектральное разделение	
	Формат изображения	JP2, JPG, TIFF, BMP, GIF, PNG, ND2, JFF, JTF, AVI, ICS/IDS	
	Области применения	FRAP, FLIP, FRET (дополнительно), фотоактивация, получение трехмерных изображений во времени, получение многоточечных изображений во времени, колокализация	
Контролирующий компьютер	Операционная система	Microsoft Windows® 7 Professional 64 бит SP1 (японская версия / английская версия)	
	ЦПУ	Intel Xeon X5672 (3,20 ГГц/8 Мб/1333 МГц/Quad Core) или выше	
	Оперативная память	12 Гб (2 Гб x 3 + дополнительные 2 Гб x 3)	
	Жесткий диск	300 Гб SAS (15000 об/мин) x2, configuration RAID 0	
	Передача данных	передача данных I/F	
	Сетевой интерфейс	Ethernet 10/100/1000 Гбит	
	Монитор	разрешение 1600 x 1200 или выше, рекомендовано оснащение двумя мониторами	
Рекомендуемые условия установки		Температура 23 ± 5 ºC, относительная влажность воздуха 60% или меньше (не провоцирующая образование конденсата)	

*1 Быстрый режим совместим с трансфокатором 8-1000x и режимами сканирования X-Y и X-T. Он не совместим с режимами вращения, произвольного направления, CROP, ROI, получения спектрального изображения, стимуляции, CLEM и FLIM.

stomdevice

Компоновка

Единицы измерения: мм



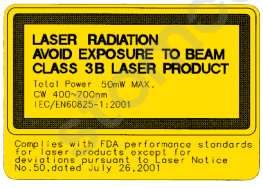
Источники электропитания

Система A1⁺/A1R⁺	Конфокальная система (комплект сканера, лазерный блок)	100 VAC	7 A
	Компьютерный блок	100 VAC	14.6 A
Лазер	Аргоновый лазер (457 нм, 488 нм, 514 нм)	100 VAC	15 A
	Кроме аргонового лазера (457 нм, 488 нм, 514 нм)	100 VAC	3 A
Микроскоп	Инвертированный микроскоп Ti-E с HUB-A с эпифлуоресцентным осветителем	100 VAC	5.3 A

Замечание: при использовании воздушного компрессора с антивибрационным столом необходим дополнительный источник питания 15А/100 В.

Размеры и вес

LU4A 4–лазерный блок	438(ш) x 301(в) x 690(г) мм	около 43 кг (без лазера)
LU–LR Стойка питания 4–х лазеров	438(ш) x 400(в) x 800(г) мм	около 20 кг (без блока питания лазера)
Сканирующая головка	276(ш) x 163(в) x 364(г) мм	около 13 кг
Контроллер	360(ш) x 580(в) x 600(г) мм	около 40 кг
A1–DU4 4–канальный детекторный блок	360(ш) x 199(в) x 593.5(г) мм	около 16 (ок. 22 кг с VAAS)



AOTF, встроенный в 4-лазерный блок, и AOM, дополнительно встроенный в 3-лазерный блок, классифицируются как контролируемая продукция (включая положения, применимые к контролируемым технологиям) согласно законодательству в области контроля и торговому законодательству. Вам необходимо получить разрешение правительства и выполнить все необходимые требования перед экспортом данной системы.

Спецификации и оборудование могут быть изменены без предварительного уведомления или обязательств со стороны производителя. Февраль 2012 г. ©2008-12 КОРПОРАЦИЯ NIKON

⚠ **Внимание!**	Для обеспечения надлежащей работы прибора, перед включением внимательно ознакомьтесь с прилагающимися инструкциями по эксплуатации.

* Изображения монитора смоделированы.

Названия компаний и продуктов, указанных в данной брошюре, являются зарегистрированными торговыми марками или торговыми знаками.

ISO 9001 BUREAU VERITAS Certification
Сертифицировано в соответствии с требованиями ISO 9001

ISO 14001 BUREAU VERITAS Certification
Сертифицировано в соответствии с требованиями ISO 14001

NIKON CORPORATION
Shin-Yurakucho Bldg., 12-1, Yurakucho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8331, Japan (Токио, Япония)
Телефон: +81-3-3216-2375 Факс: +81-3-3216-2385
http://www.nikon.com/instruments/

NIKON INSTRUMENTS INC.
Nikon Instruments INC
1300 Уолт Уитмен-роуд, Мелвилл, штат Нью-Йорк 11747-3064, США
Телефон: +1-631-547-8500; +1-800-52- NIKON (только в пределах США)
факс: +1-631-547-0306

NIKON INSTRUMENTS EUROPE B.V.
Лан Ван Кроненбург 2, 1183 С. Amstelveen, Голландия
Телефон: +31-20-44-96-222 факс: +31-20-44-96-298
http://www.nikoninstruments.eu/

Nikon Instruments (Shanghai) Co, LTD. Китай.
Телефон: +86-21-5836-0050 Факс: +86-21-5836-0030
(филиал в Пекине) Телефон: +86-10-5869-2255 Факс: +86-10-5869-2277
(филиал в Гуанчжоу) Телефон: +86-20-3882-0552 Факс: +86-20-3882-0580

NIKON SINGAPORE PTE LTD
SINGAPORE Телефон: +65-6559-3618 факс: +65-6559-3668
NIKON MALAYSIA SDN. BHD.
МАЛАЙЗИЯ Телефон: +60-3-7809-3688 Факс: +60-3-7809-3633
NIKON INSTRUMENTS KOREA CO.
КОРЕЯ Телефон: +82-2-2186-8410 Факс: +82-2-555-4415
NIKON CANADA INC.
КАНАДА Телефон: +1-905-602-9676 Факс: +1-905-602-9953
NIKON FRANCE S.A.S.
Франция Телефон: +33-1-4516-45-16 факс: +33-1-4516-45-55
NIKON GMBH
Германия Телефон: +49-211-941-42-20 Факс: +49-211-941-43-22
NIKON INSTRUMENTS S.P.A.
Италия Телефон: +39-055-300-96-01 Факс: +39-055-30-09-93
NIKON AG
Швейцария Телефон: +41-43-277-28-67 факс: +41-43-277-28-61

NIKON UK LTD.
Великобритания Телефон: +44-208-247-1717 Факс: +44-208-541-4584
NIKON GmbH Austria
Австрия Телефон: +43-1-972-6111-0 факс: +43-1-972-6111-40
NIKON Belux
БЕЛЬГИЯ Телефон: +32-2-705-56-65 факс: +32-2-726-66-45

Код №2CE-SBTH-7

Данная брошюра напечатана на утилизируемой бумаге, с использованием 40% вторсырья.

En