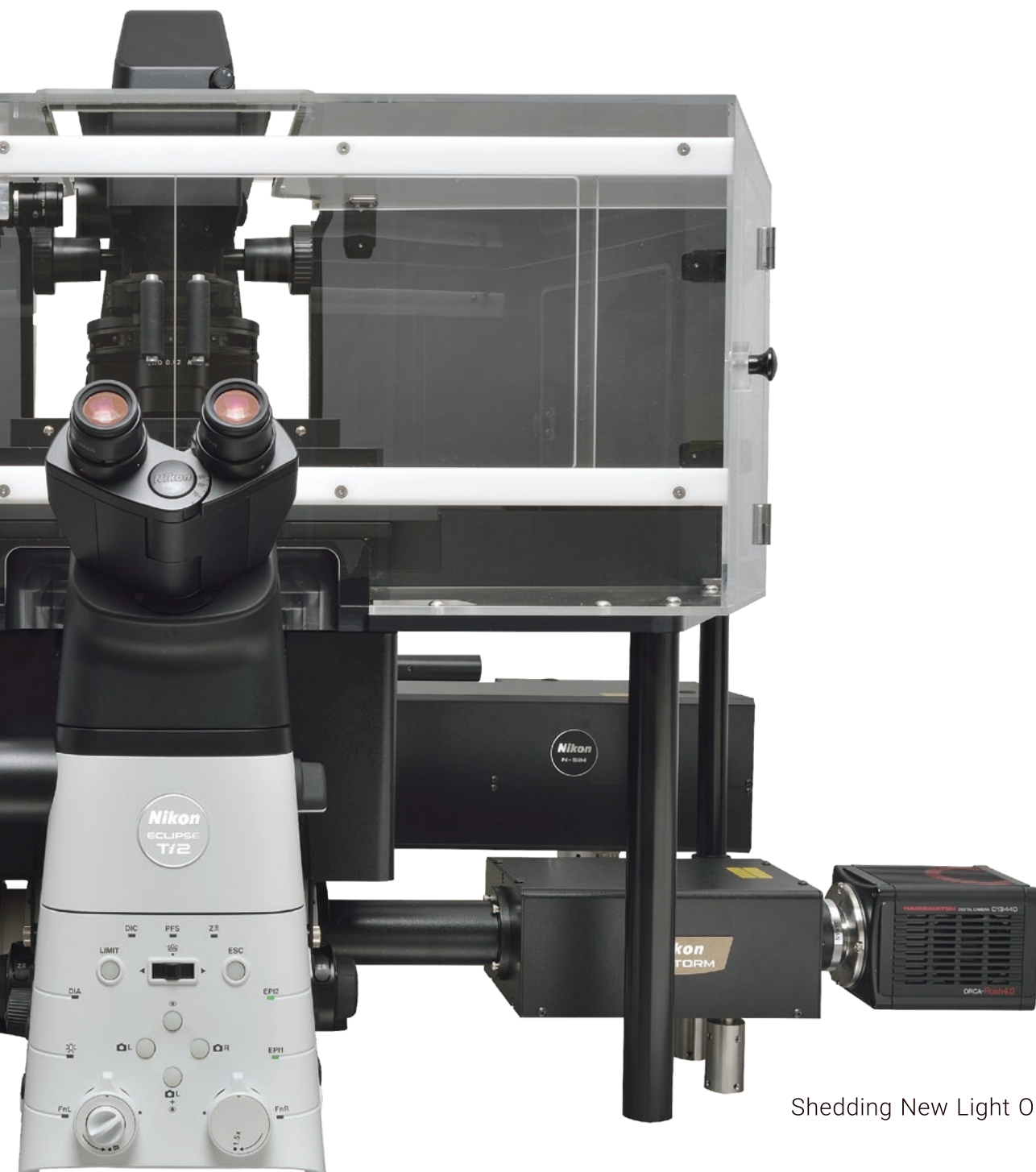




Super Resolution Microscopes

超解像顯微鏡



Shedding New Light On **MICROSCOPY**

超解像の新時代を切り拓く。

N-SIM Sは、ニコンが独自に開発した画期的な高速構造化照明システムを搭載。ライブセル内の動的挙動が毎秒15フレーム^{※1}の高速で取得可能です。従来の光学顕微鏡の2倍の解像度(水平解像度115 nm^{※2})を達成し、速い動きの生命現象を超解像で生き生きと捉えることができます。

N-STORMは、従来の光学顕微鏡の約10倍もの高分解能(水平解像度20 nm)を実現。タンパク質の相互作用を1分子レベルの解像度で観察できます。

N-SIM SとN-STORMを一台の超解像観察システムに統合することで、ナノスケールのイメージングモジュールを柔軟に切り替えることができます。さらにAXをはじめとする共焦点レーザー顕微鏡システムを追加することで、ナノスケールからマイクロスケールまでの幅広い撮影が可能な多機能プラットフォームが構築できます。

そのシステムの中核となる研究用倒立顕微鏡エクリプスTi2は、剛性を高めた基本設計や高精度なフォーカス駆動、自動焦点維持装置PFSを搭載。超解像イメージングの可能性を無限に拡げます。

※1 512×512画素を2D-SIMモードで2 msec露光時。

※2 直径100 nmのビーズを3D-SIMモードで488 nmレーザー励起した場合の半値幅。TIRF-SIMモードでは直径40 nmのビーズを用いた488 nmレーザー励起で86 nmを達成。



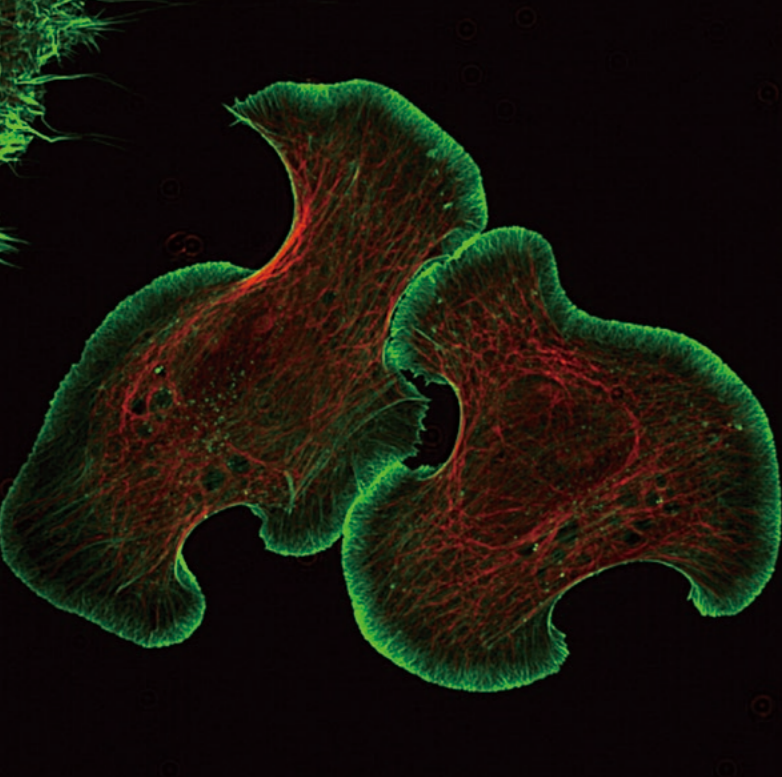
N-SIM S

構造化照明顕微鏡法を採用
毎秒15フレームの高速取得
115 nmの水平解像度
269 nmのZ軸方向解像度

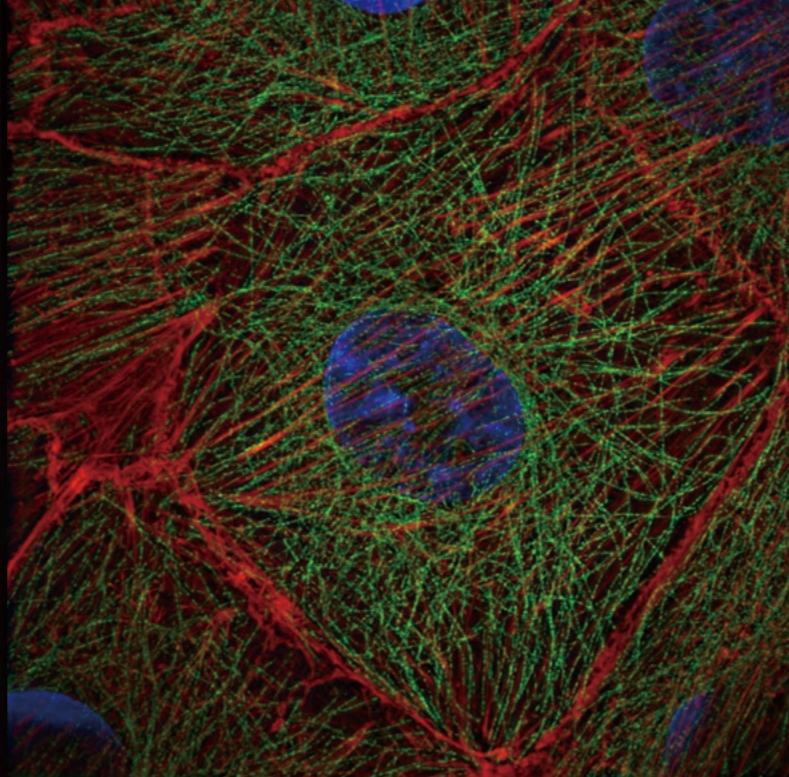


N-STORM

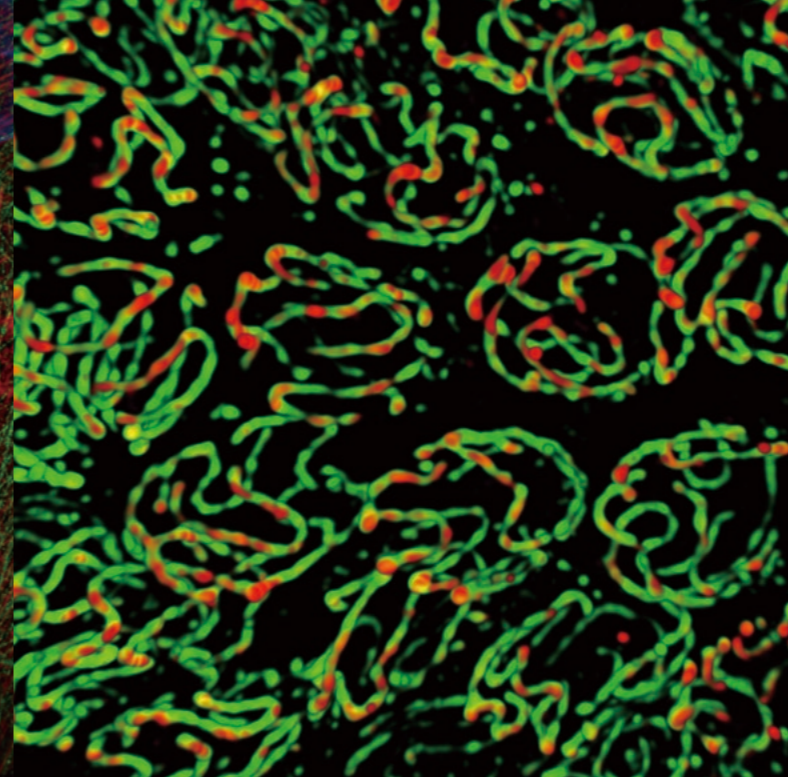
STORM (STochastic Optical Reconstruction Microscopy) 法を採用
20 nmの水平解像度
50 nmのZ軸方向解像度



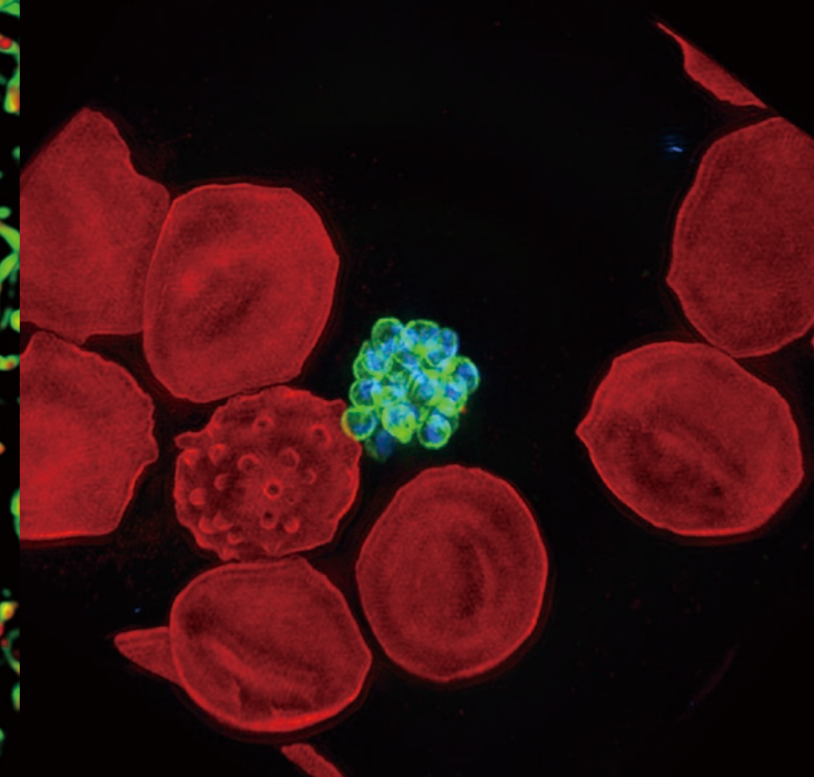
NG108細胞の葉状仮足のアクチンをAlexa Fluor® 488(緑)で、微小管をTRITC-Phalloidin(赤)で染色。
撮影ご協力：産業技術総合研究所(AIST) バイオメディカル研究部門 石山静葉先生、加藤薫先生



ブタ腎上皮由来の培養細胞の細胞核をDAPI(青)で、微小管をAlexa Fluor® 488(緑)で、アクチンをTRITC-Phalloidin(赤)で染色。
撮影ご協力：産業技術総合研究所(AIST) バイオメディカル研究部門 加藤薫先生



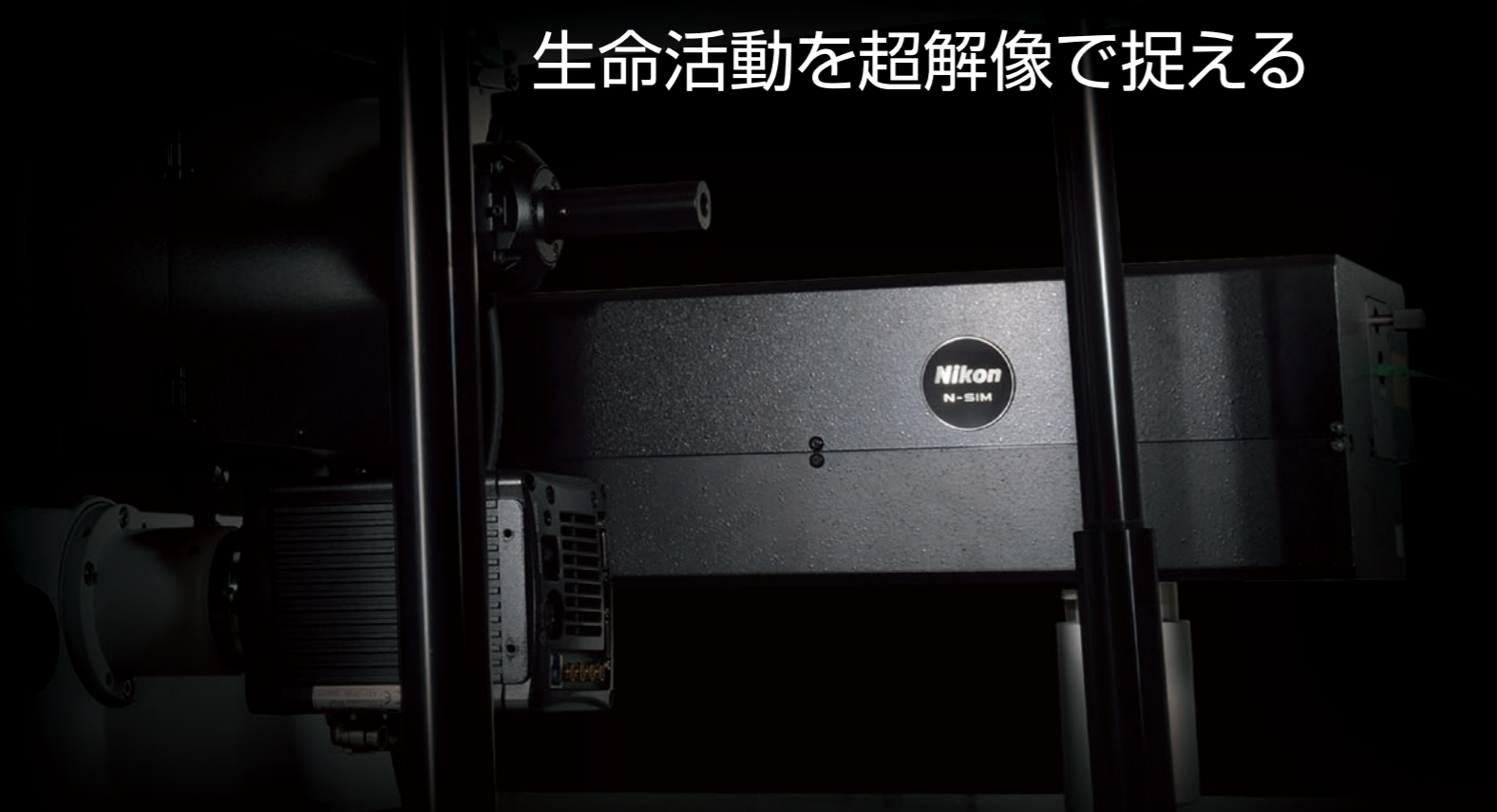
抗SYP-1抗体で標識した線虫のバキテン期胚細胞のシナプトネマ複合体
撮影ご協力：Tyler Machovina and Dr. Judith Yanowitz, Magee-Womens Research Institute.



マラリア原虫膜タンパク質(MTIP)をAlexa Fluor® 488(緑)、赤血球膜タンパク質(Band3)をAlexa Fluor® 568(赤)、DNAをDAPI(青)で標識。
Scientific Reports DOI:10.1038/s41598-018-22026-0
撮影ご協力：愛媛大学プロテオサイエンスセンター 森田将之先生、高島英造先生、飯村忠浩先生、坪井敬文先生

N-SIMS

生命活動を超解像で捉える



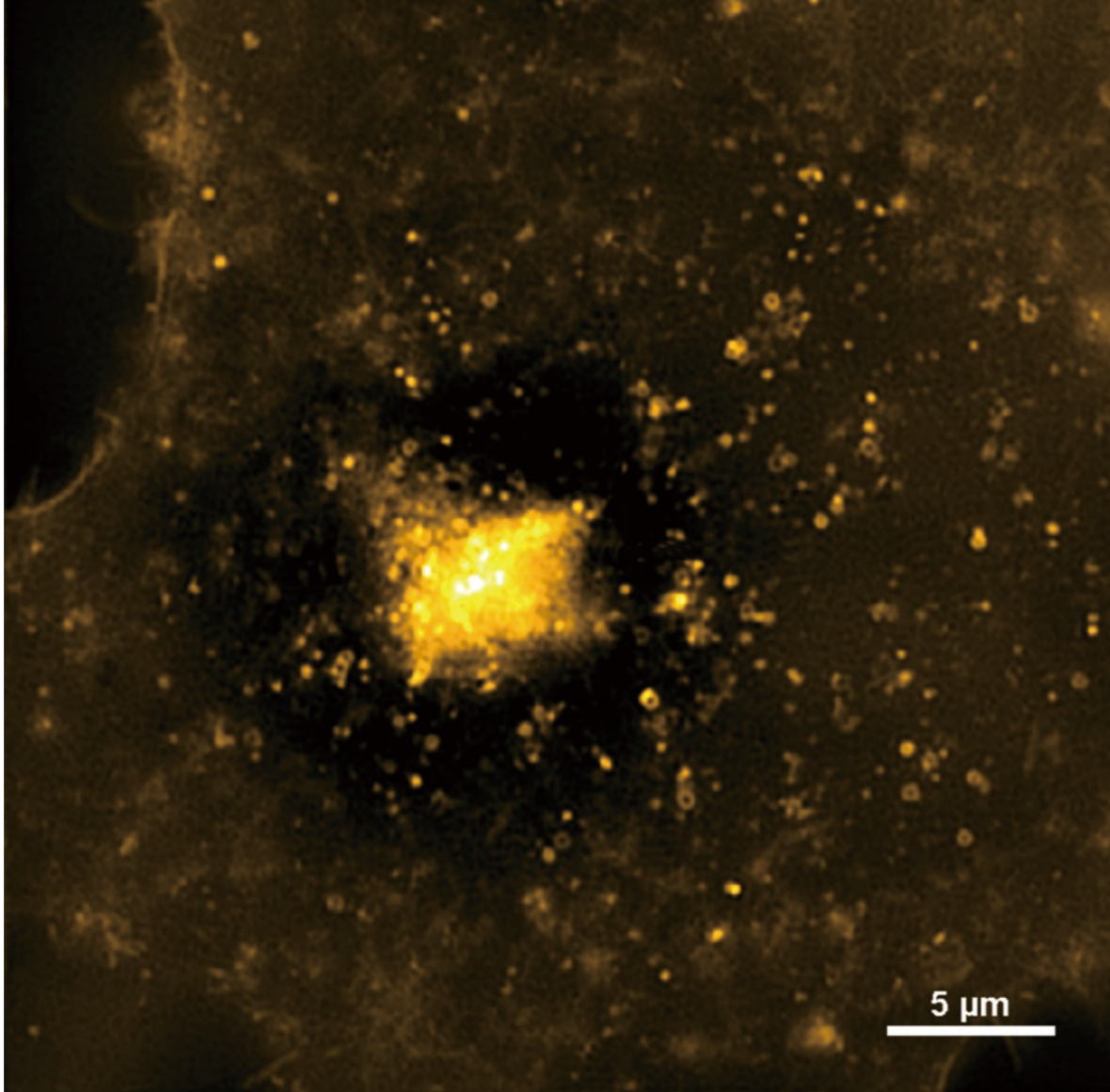
N-SIMSは、画期的なイメージング法である構造化照明顕微鏡法(Structured Illumination Microscopy)とニコンの高度な光学技術を組み合わせることで、従来の光学顕微鏡の2倍の空間分解能(水平解像度115nm^{※1})を実現した超解像顕微鏡です。毎秒15フレーム^{※2}の取得速度を達成し、生細胞中の動態について、高速超解像イメージングを可能にします。

- ❖ SIM照明モードを自動切換え
- ❖ 2色TIRF-SIM画像取得が可能
- ❖ 66 μm×66 μm^{※3}の広視野画像を取得
- ❖ GPUを用いたインタラクティブな復元パラメータ設定が可能
- ❖ 液浸・シリコーン浸・ドライなど多彩な対物レンズを試料に合わせて使用可能
- ❖ 同時2色イメージング(オプション)が可能

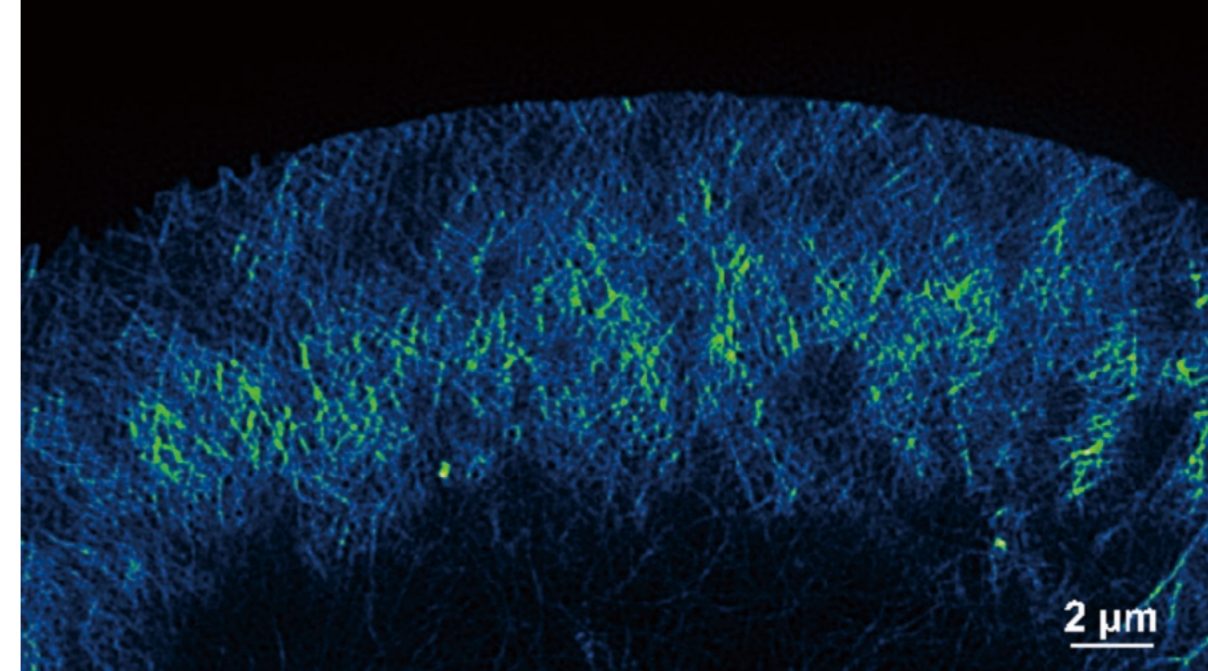
※1 直径100 nmのビーズを3D-SIMモードで488 nmレーザー励起した場合の半値幅。TIRF-SIMモードでは、直径40 nmのビーズを用いた488 nmレーザー励起で86 nmを達成。

※2 512×512画素を2D-SIMモードで2 msec露光時。

※3 100X対物レンズ使用時。

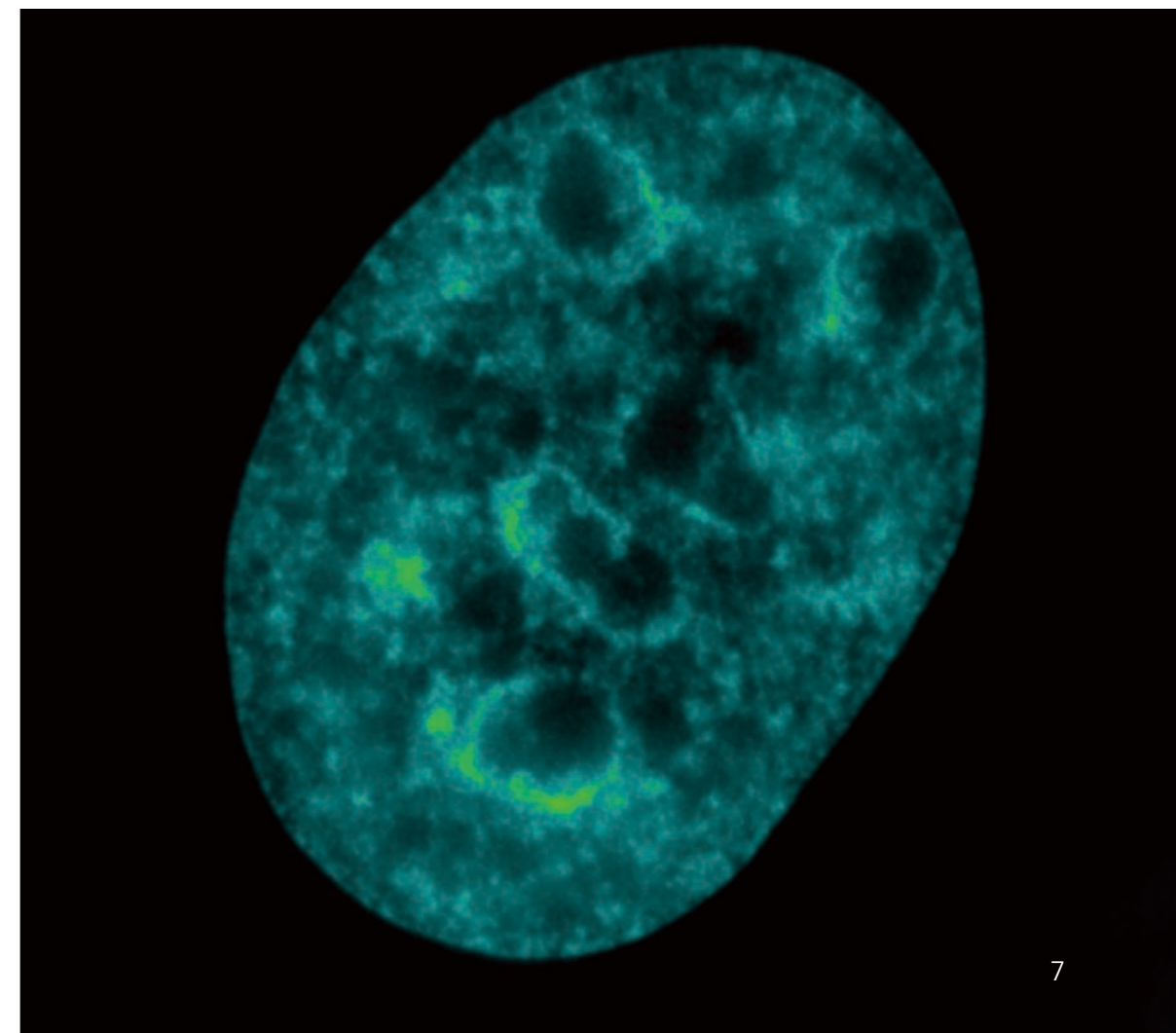


COS7細胞のエンドソームをYFPで標識。エンドソームの速い動きを高解像度で取得。
 画像取得速度：6 fps
 画像取得モード：3D-SIM
 撮影ご協力：東京大学大学院 理学系研究科物理学専攻 岡田康志先生



NG108細胞の成長円錐。アクチン繊維をGFP-Lifeactで標識。アクチン繊維の形成を高速で取得。
 画像取得速度：10 fps
 画像取得モード：TIRF-SIM
 撮影ご協力：産業技術総合研究所(AIST) バイオメディカル研究部門 田中みなみ先生、加藤薫先生

ヒストンH2B-GFPを発現したHeLa細胞。異なる場所でのクロマチンドメインの微細な動きを観察。
 画像取得速度：3.9 fps
 画像取得モード：3D-SIM
 撮影ご協力：東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター 木村宏先生、佐藤優子先生



ライブセルの速い変化を逃さず取得

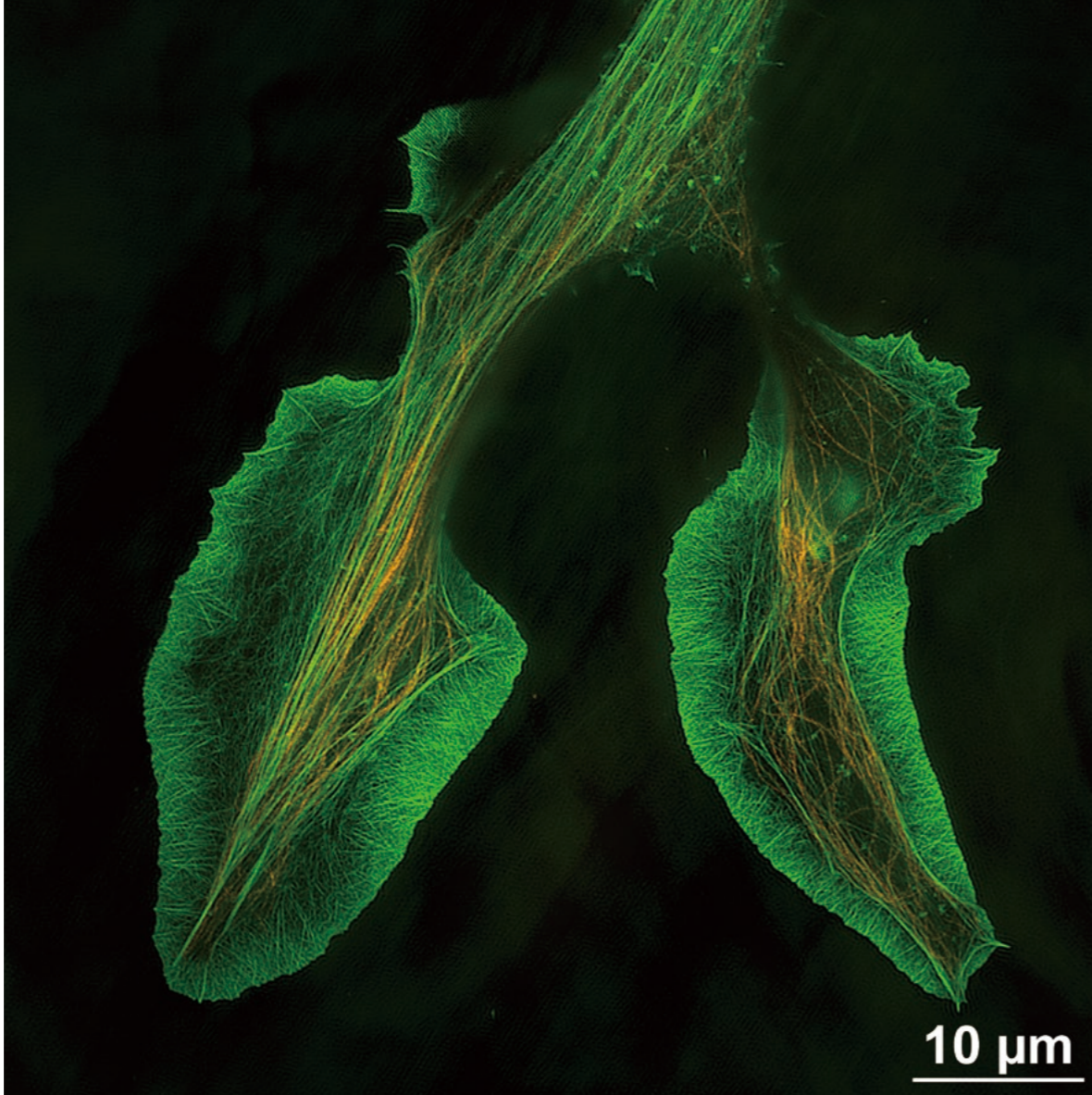
毎秒15フレームの高速超解像イメージング

ニコンは、画期的なパターンモジュレーション技術を採用した高速構造化照明システムを新たに開発。圧倒的な速さと高い精度で、照明パターンの切り換えを可能にしました。この新システムにより、超解像顕微鏡N-SIM Sは毎秒15フレーム*の高速画像取得を実現し、ライブセルの細胞内オルガネラの動態を超解像でタイムラプス取得できます。これまでの常識を覆す、かつてない高速の超解像イメージングを体験してください。

*512×512画素を2D-SIMモードで2 msec露光時。



N-SIM S
 製品ページ



Alexa Fluor® 488でF-アクチン(緑)を、Alexa Fluor® 555で微小管(オレンジ)を標識したNG108細胞の成長円錐を2色TIRF-SIMイメージング再構築画像サイズ:2048×2048画素(66 μm×66 μm:100X対物レンズ使用時)
撮影ご協力:産業技術総合研究所(AIST) バイオメディカル研究部門 石山静葉先生、加藤薫先生

サンプルに応じた最適な超解像イメージング

照明モードや波長の切換えを自動化

新開発の高速構造化照明システムは、サンプルの速い変化が取得できるだけでなく、多彩な照明モードの切換え、波長・倍率に応じた最適な構造化照明パターンの調整も自動的に行えます。これにより、高速での2色TIRF-SIMイメージング、SIMモードを切り換えるイメージングなどが可能になりました。N-SIM Sはシングルモードファイバーとマルチモードファイバーの切換えを自動化。さらに波長切換え時の光軸ズレも自動で補正でき、あらゆる実験系において、かつてない使いやすさをお約束します。

広視野の超解像画像を取得

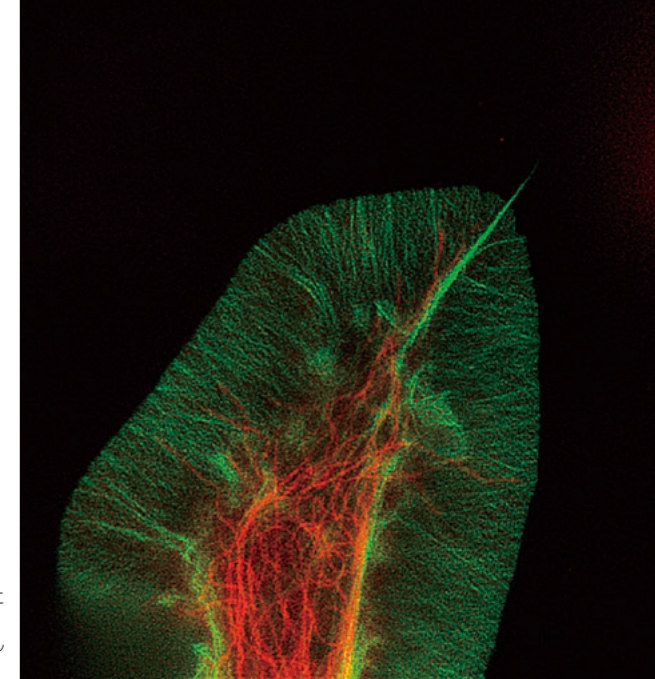
66 μm×66 μmの広視野で超解像画像が取得できるため、これまで一部しか捉えることのできなかった細胞の全体像が一度に撮影可能となりました。神経細胞をはじめとする、広い領域での画像取得が必要なサンプルやアプリケーションにおいて、非常に高いスループットで一度により多くの情報を捉えることができます。

同時2色イメージングにも対応

オプションのTwo Camera Imaging Adapter*を介して顕微鏡に2台のsCMOSカメラを搭載することで、同時2色イメージングが可能です。

*製造元: アンドール・テクノロジーLtd

アクチン線維(緑)にGFP-LifeActを、微小管(赤)にmCherry-tubulinを発現した、NG108細胞の成長円錐。
撮影ご協力: 産業技術総合研究所(AIST) バイオメディカル研究部門 加藤薫先生



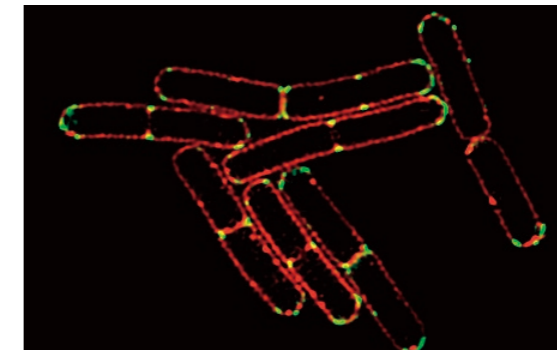
2D-SIMモード/TIRF-SIMモード

高コントラストな超解像2次元画像を高速取得します。TIRF-SIMモードは従来のTIRF顕微鏡の2倍の分解能で全反射照明蛍光観察が行えるため、細胞膜近傍におけるタンパク質の相互作用などがより詳細に観察できます。

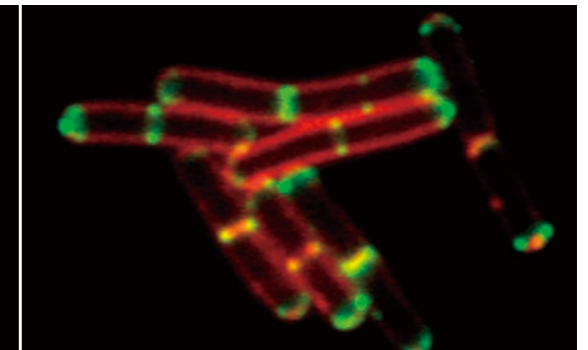
3D-SIMモード

3D-SIMモードは、3次元の構造化照明パターンにより、水平解像度・Z軸方向解像度をともに従来の顕微鏡の2倍に向上しました。サンプルの厚さや取得速度などに応じて、スライス画像構築・スタック画像構築の2つの画像再構築方法から選択できます。ニコン独自の復元アルゴリズムにより、1レイヤーでの3D-SIM復元計算ができ、焦点面前後のボケ光を排除できます。

3D-SIM画像



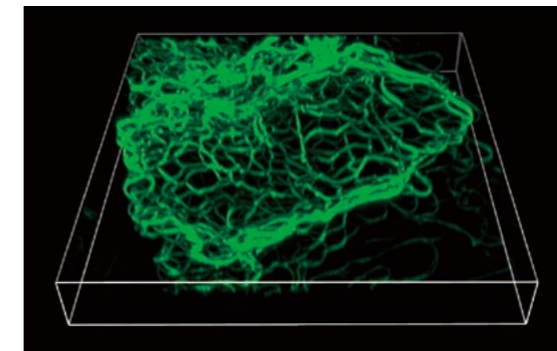
従来の蛍光観察画像



膜色素Nile Red(赤)で染色後、GFP(緑)を融合した細胞分裂タンパク質DivIVAを発現した枯草菌バクテリア。超解像顕微鏡は、細胞分裂中のタンパク質の局在が正確に可視化できます。

画像再構築方法: スライス

撮影ご協力: Drs. Henrik Strahl and Leendert Hamoen, Centre for Bacterial Cell Biology, Newcastle University

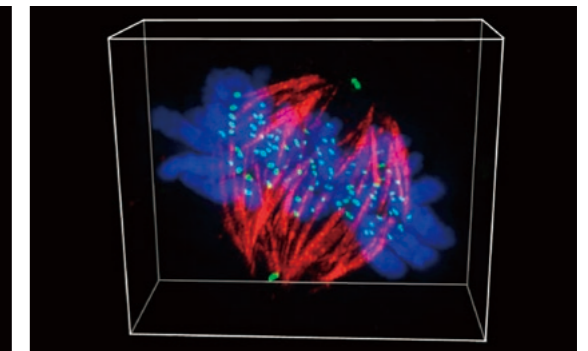


Width: 26.19 μm, Height: 27.11 μm, Depth: 3.36 μm

ケラチン中間径フィラメントを間接免疫染色し、Alexa Fluor® 488標識二次抗体で可視化したマウスのケラチン生成細胞。

画像再構築方法: スタック

撮影ご協力: Dr. Reinhard Windoffer, RWTH Aachen University

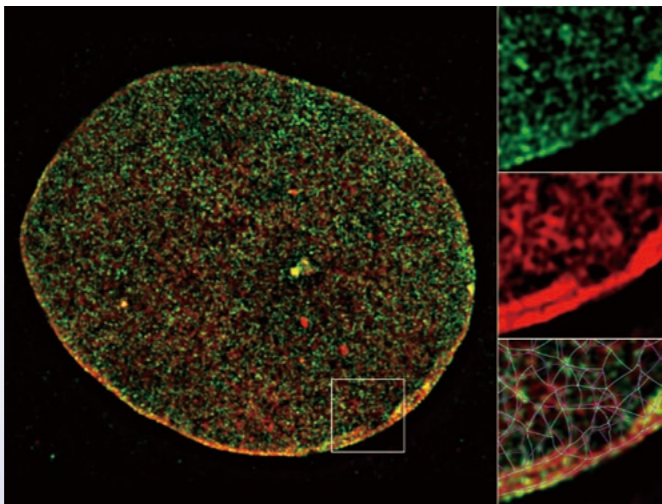


Width: 16.00 μm, Height: 13.36 μm, Depth: 6.00 μm

有糸分裂中期のヒトU2OS細胞。細胞を緑(動原体タンパク質CENP-B)、赤(α-チューブリン)、青(DNA)で標識。

画像再構築方法: スタック

撮影ご協力: Dr. Alexey Khodjakov, Wadsworth Center, Albany NY



「N-SIMを使用すると、核ラミナの組織構造の特定や評価を実現する^{※1}※2の必要とされる高い分解能が得られます。非常に使いやすく、性能が安定しているので、研究室に不可欠なツールです。」



Dr. Robert D. Goldman
 Ellison Foundation Senior Scholar, Stephen Walter Ranson Professor, Chair, Dept. of Cell & Mol. Biol., Feinberg School of Medicine, Northwestern University

※1 *Mol Biol Cell*. 2015 Nov 5; 26(22):4075-86.
 ※2 *Nature*. 2017 Mar 9; 543(7644):261-264.

ラミンB1(赤)とラミンC(緑)は、マウス胚性繊維芽細胞の核ラミナにおいて、互いに相互作用する分離した網目状構造を形成している。間接免疫蛍光法で二重染色し、3D-SIMで撮影した。網目状構造は、ラミンB1(シアン)とラミンC(マゼンタ)の3D-SIM蛍光データからコンピューター計算により生成^{※1}。画像ご提供: Drs. Takeshi Shimi and Mark Kittisopikul

■ 構造化照明顕微鏡法(Structured Illumination Microscopy)の原理

ストライプ状照明から生まれるモアレ縞を読み取り、画像処理で構造を復元

ある特定の濃淡パターンで照明することを「構造化照明」といい、標本の微細構造の上にストライプ状の照明パターンを重ねると、モアレと呼ばれる粗い縞が現れます。モアレには回折限界を超える細かい標本の情報も変調されて含まれているため、モアレを撮像して、画像演算によって元の構造を復元することで、顕微鏡の分解能を超えた細かい構造もイメージング可能になります。これが、構造化照明顕微鏡法です。



複数画像からの超解像画像構築

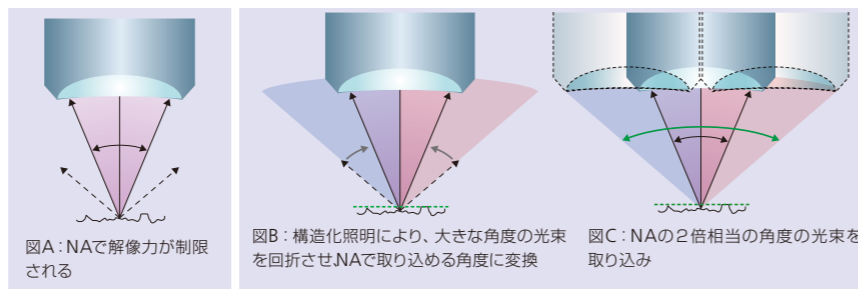
構造化照明された1枚の取得画像では情報が不足するため、位相と方向を変えて複数枚の画像を取得したのち、画像演算により微細構造を抽出して超解像画像を構築します。



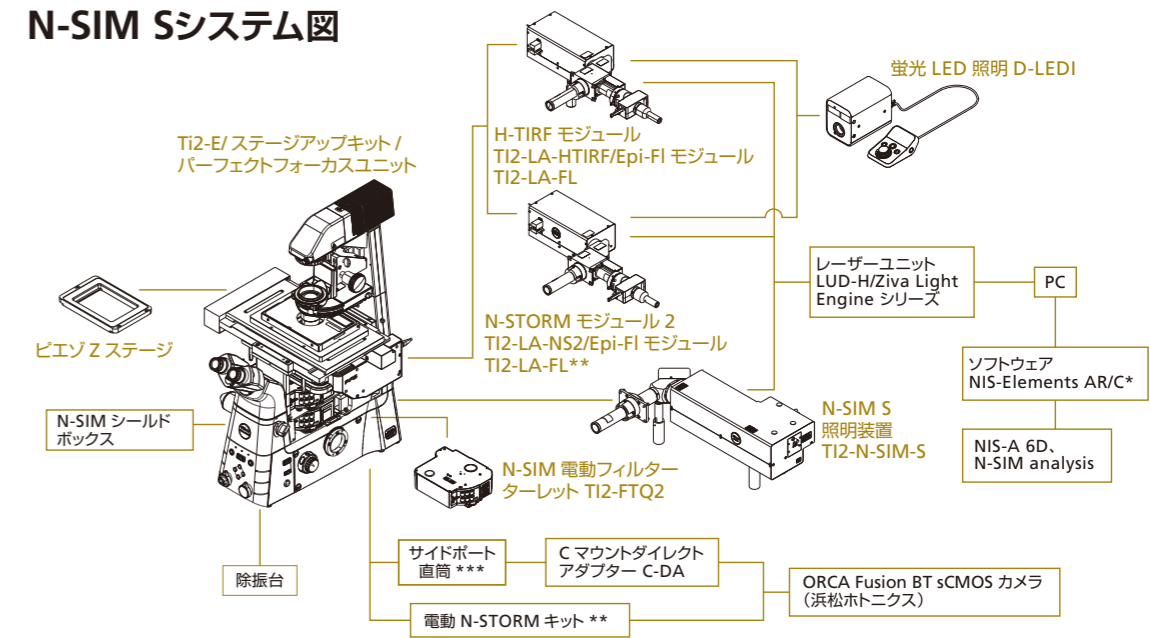
モアレパターンを利用して、2倍に解像力を向上

顕微鏡の解像力を上げるには、広がり角の大きな回折光を顕微鏡に取り込む必要がありますが、実際に取り込める角度は対物レンズのNAで制限されるため、対物レンズのNAよりも大きな広がり角を持つ、標本の微細構造からの回折光を取り込むことは不可能でした。(図A)

ところが、標本に構造化照明を施すと、対物レンズのNAよりも大きな広がり角をもつ標本からの回折光を対物レンズで取り込める角度に変換することができます。(図B) そのときに生じるモアレパターンを利用することにより、あたかもNAが2倍になったかのような解像力が得られます。(図C)



N-SIM Sシステム図



*共焦点顕微鏡との組み合わせ時に必要
 **N-STORMとの組み合わせ時に必要
 ***顕微鏡本体に付属

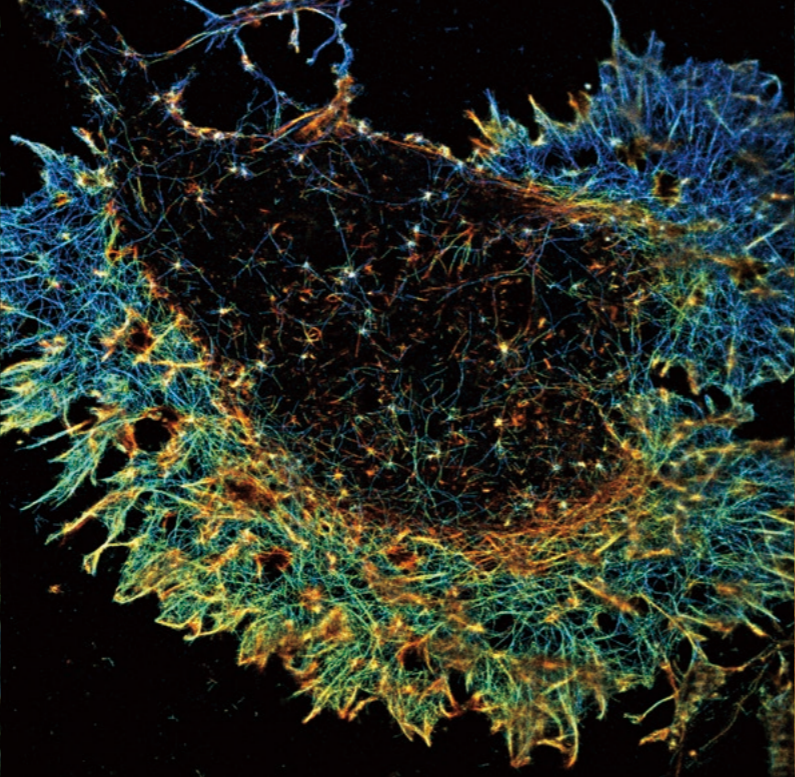
N-SIM Sの主な仕様

水平解像度	115 nm ^{※1} (3D-SIMモード)、86 nm ^{※2} (TIRF-SIMモード)	
Z軸方向解像度	269 nm ^{※1} (3D-SIMモード)	
画像データ取得時間	最速毎秒15フレーム(TIRF-SIM/2D-SIM、露光時間2 msec)	
再構築画像サイズ	1024×1024画素、2048×2048画素	
画像取得モード	TIRF-SIM、2D-SIM、3D-SIM(画像構築方式:スライス、スタック)	
多色画像対応	最大6色	
多色同時イメージング	2色	
使用レーザー	レーザーユニットLUD-Hシリーズ(TIRF-SIM) Standard: 405 nm, 488 nm, 561 nm, 640 nm Option: 445 nm, 515 nm	レーザーユニットZiva Light Engineシリーズ(2D/3D-SIM) 405 nm, 446 nm, 476 nm, 518 nm, 545 nm, 637 nm
対応顕微鏡	電動倒立顕微鏡エクシプスTi2-E ・パーフェクトフォーカスシステム ・エンコーダー内蔵電動XYステージ ・ピエゾZステージ	
対物レンズ	CFI SR HP ブランアポクロマート Lambda S 100XC Sil (NA1.35) CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XC Oil (NA 1.49) CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XC Oil (NA 1.49) CFI SR ブランアポクロマート IR 60XC WI (NA 1.27) CFI SR ブランアポクロマート IR 60XC WI (NA 1.27) CFI ブランアポクロマート Lambda 60XC (NA 0.95) ^{※3} CFI ブランアポクロマート Lambda D 40XC (NA 0.95) ^{※3}	
使用カメラ	浜松ホトニクス社製 ORCA Fusion BT sCMOSカメラ	
ソフトウェア	NIS-Elements ARまたはC(共焦点レーザー顕微鏡AX/AX R併設時)いずれも別売のNIS-A 6D、N-SIM Analysisモジュールが必要	
設置条件	20~28℃、温度変動±1.5℃以内	

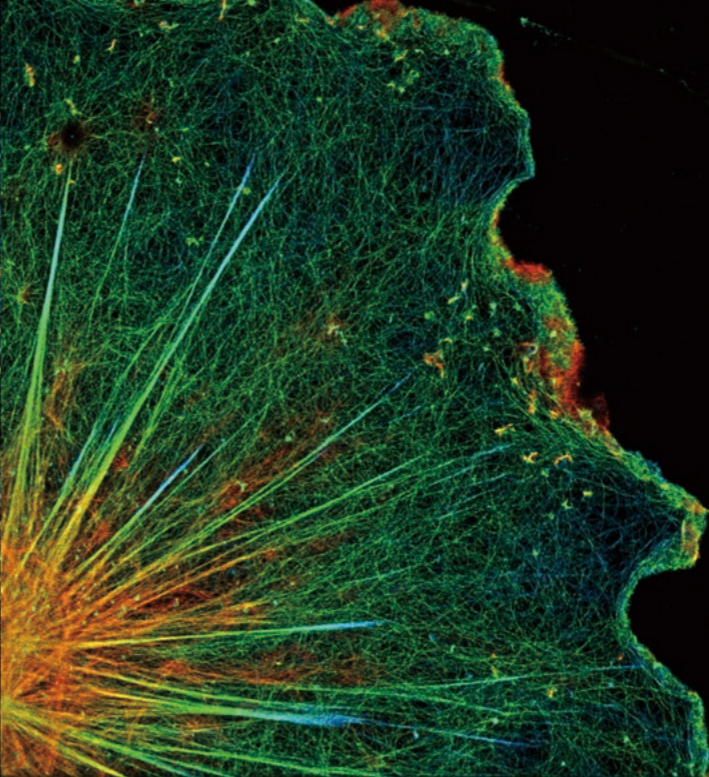
※1 488 nmの励起で、直径100 nmのビーズを用いて測定した解像度。実際の分解能はレーザー波長や顕微鏡の構成により異なります。
 ※2 488 nmの励起で、直径40 nmのビーズを用いて測定した解像度。実際の分解能はレーザー波長や顕微鏡の構成により異なります。
 ※3 2D-SIMと3D-SIM(スライス画像構築)に対応。



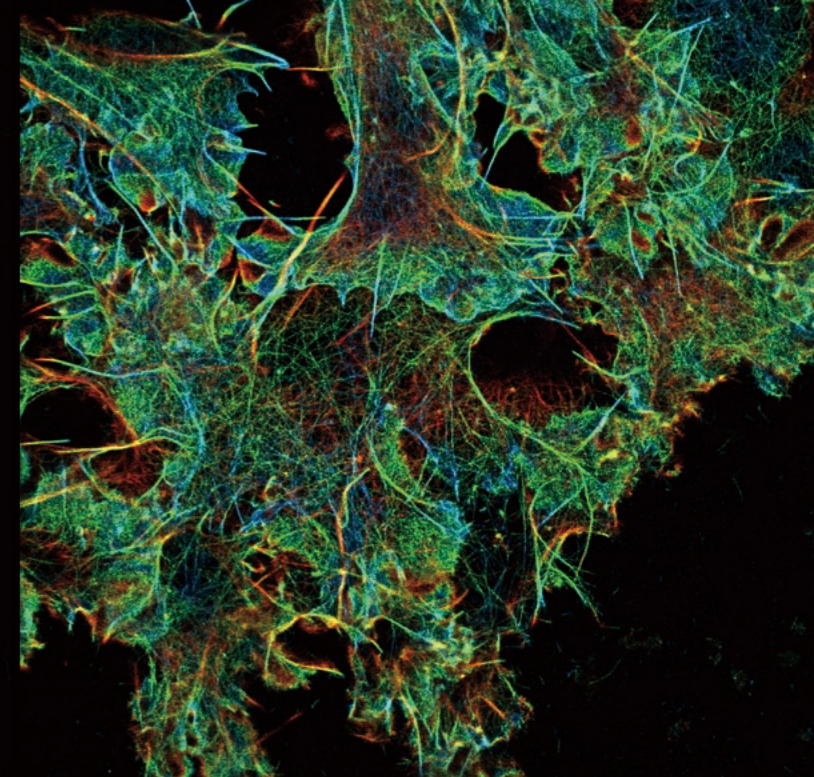
a: 海馬の培養神経細胞と培養グリア細胞



b: 培養神経細胞の成長円錐



c: 培養グリア細胞



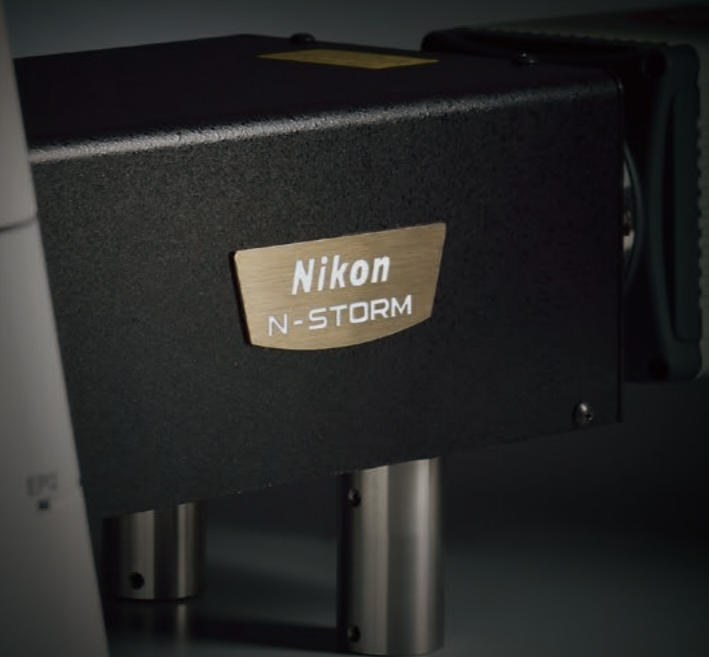
d: COS細胞

Alexa Fluor® 647 Phalloidinで標識したアクチンの3D-STORM画像。Z位置を色で表示。画像aは、4種類のアクチン組織を表す。左下より順に、神経細胞体、グリア細胞とストレスファイバー、ニューロンの樹状突起とスパイン、軸索。

撮影ご協力: Dr. Christophe Leterrier, NeuroCyto team, NICN CNRS-AMU UMR7259, Marseille, France

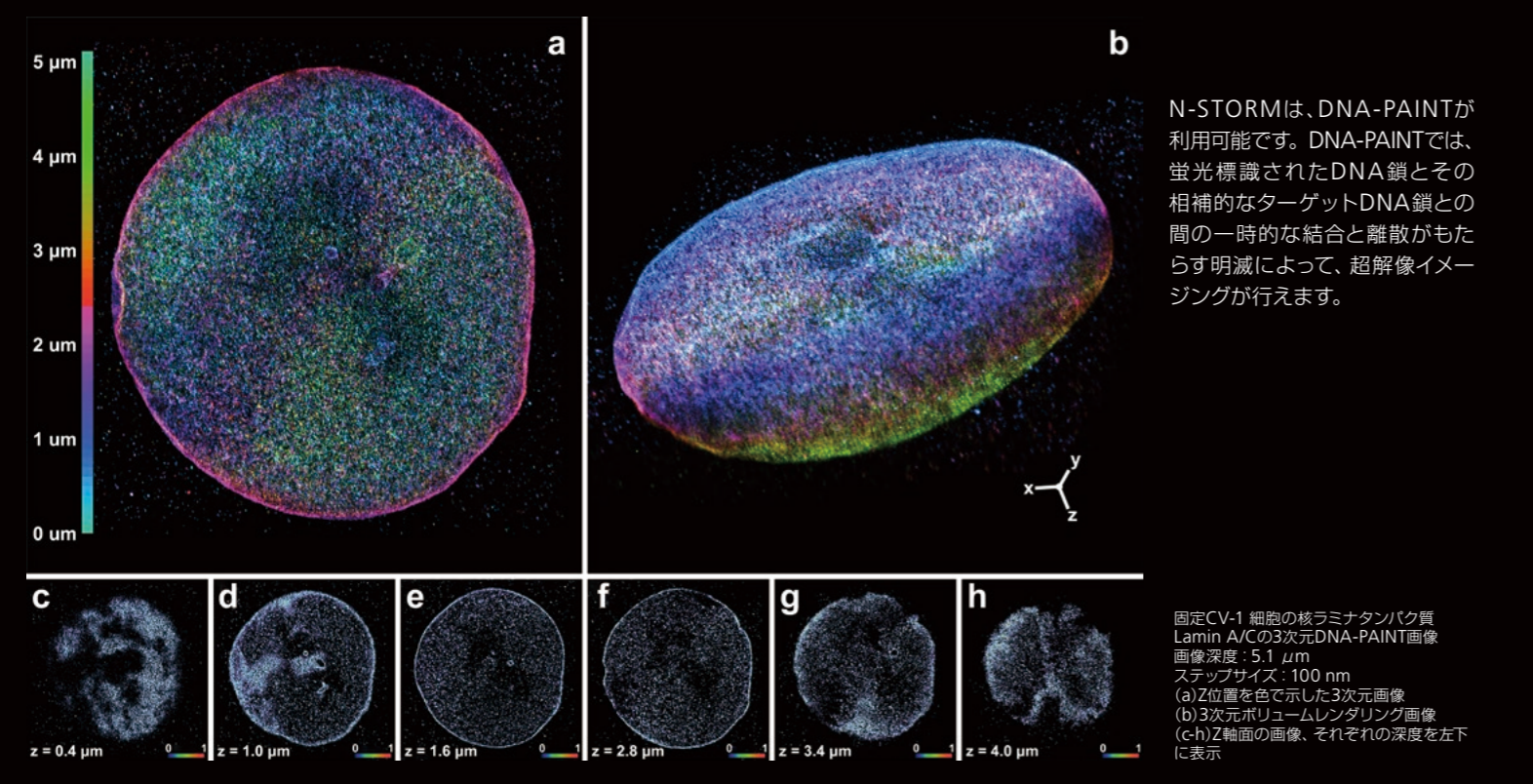
N-STORM

ナノスケールの世界を体感する



ローカリゼーション法の一つであるSTORM (STochastic Optical Reconstruction Microscopy) 法を採用したN-STORM。複数の蛍光画像から高精度に検出した蛍光色素1分子ごとの位置情報を重ね合わせ、一枚の高分解能蛍光画像を再構築します。ニコンの研究用倒立顕微鏡エクリプスTi2-Eとの組み合わせで、従来の光学顕微鏡の約10倍の超解像度(2Dの場合は約20 nm)を実現。1分子レベルの検出を可能としたことで、「構造レベルの理解」から「分子レベルの理解」に踏み込む情報が得られます。

- ❖ 従来の光学顕微鏡の約10倍の超高分解能
- ❖ 画像取得の高速化により動態観察を実現
- ❖ 複数の蛍光試薬を用いた多色イメージング
- ❖ 超解像画質をさらに向上
- ❖ 広視野での超解像イメージング

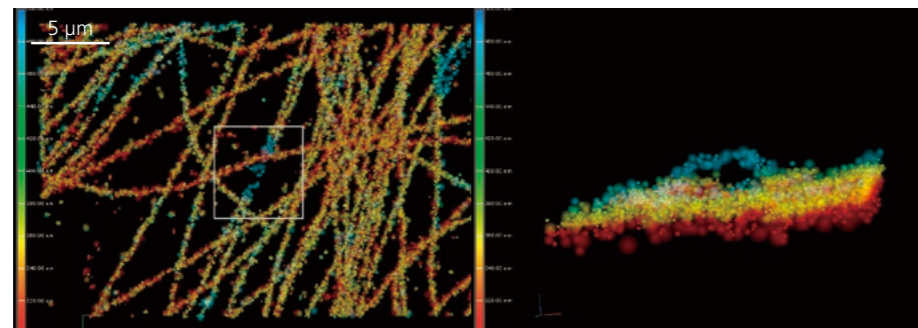


N-STORMは、DNA-PAINTが利用可能です。DNA-PAINTでは、蛍光標識されたDNA鎖とその相補的なターゲットDNA鎖との間の一時的な結合と離散がもたらす明滅によって、超解像イメージングが行えます。

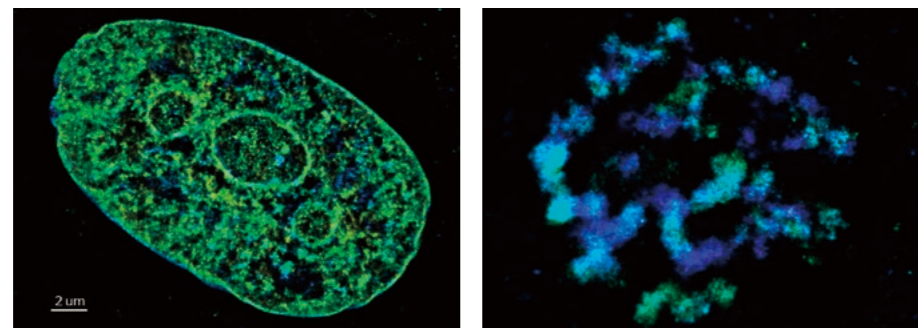
XYZ方向に分解能を10倍向上

約50 nmのZ軸方向解像度

Z軸方向にも従来の約10倍(約50 nm)の超解像力を実現。2次元の高分解能蛍光画像に加え、同一標本の3次元高分解能蛍光画像が取得可能です。3Dスタック機能により、異なるフォーカス位置で複数の3D-STORM画像を取得し、それらを重ねて表示することも可能なため、より厚みのある範囲が観察できます。



Alexa Fluor® 647で標識したBSC-1細胞のチューブリン



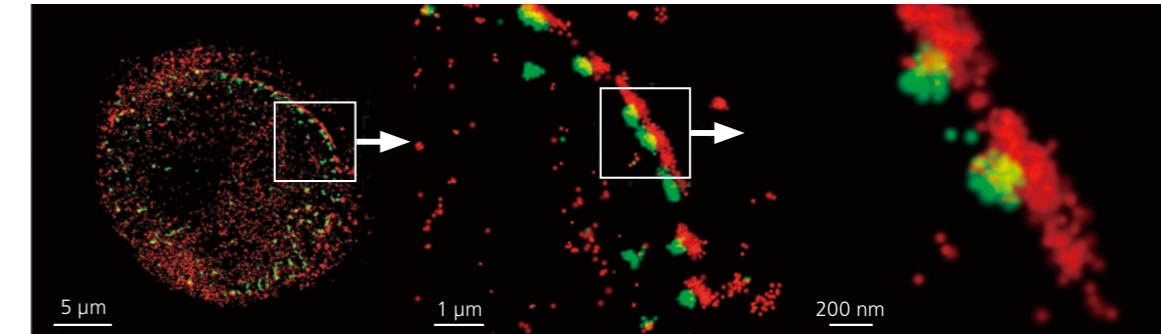
ヒト線維芽細胞を100 μMのEdUを含む培養液でインキュベートし、パラホルムアルデヒドで固定した後、EdUを銅触媒によって標識。Alexa Fluor® 647で標識されたDNAを3D-STORMを用いて可視化した。
撮影ご協力: Jason Otterstrom, Ph.D., Melike Lakadamyali, Ph.D., The Institute of Photonic Sciences (ICFO), Castelldefels, Spain

ショウジョウバエ脳の初代培養細胞。キロショウジョウバエ神経芽細胞のDNAをEdUで標識し、3D-STORM画像を取得。
撮影ご協力: Anna Oddone, Ph.D., Melike Lakadamyali, Ph.D. group, The Institute of Photonic Sciences (ICFO), Castelldefels, Spain

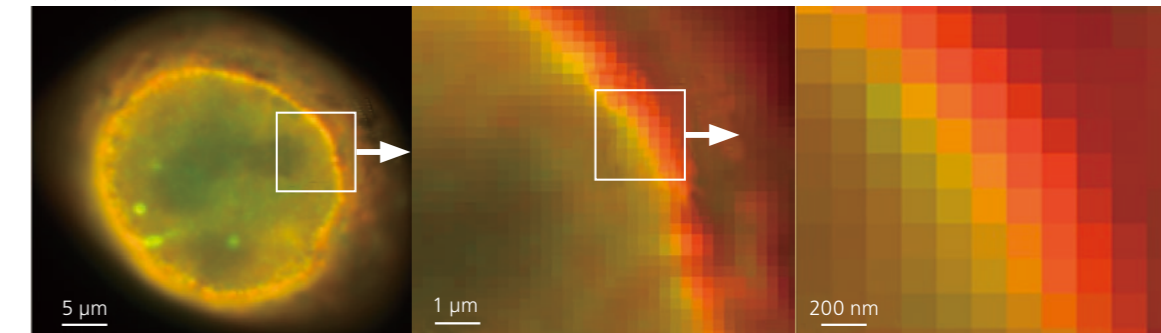
約20 nmの水平解像度

N-STORMは、1,000回以上もの励起を繰り返して撮影した蛍光画像から、蛍光色素1分子ごとの位置情報を高精度に検出し重ね合わせて、一枚の超高分解能蛍光画像(2Dまたは3D)を再構築します。空間分解能が、従来の光学顕微鏡の約10倍(2Dの場合は約20 nm)に飛躍的に向上しました。

N-STORM画像

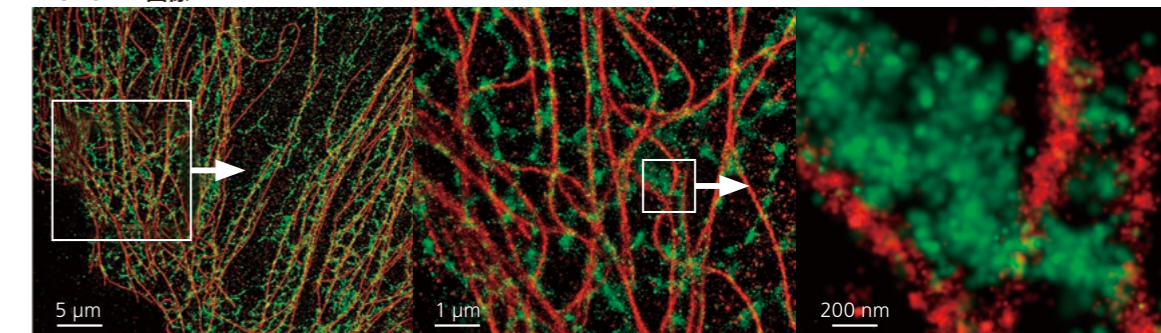


従来の蛍光観察画像

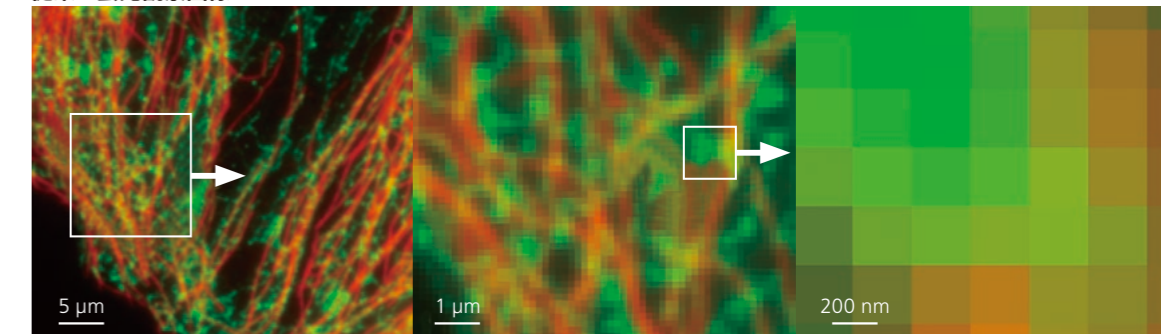


NUP153をAlexa Fluor® 647で、TPRをATTO 488で標識したヒト子宮頸がん細胞(HeLa S3)
撮影ご協力: Dr. Michael W. Davidson, National High Magnetic Field Laboratory, Florida State University

N-STORM画像



従来の蛍光観察画像

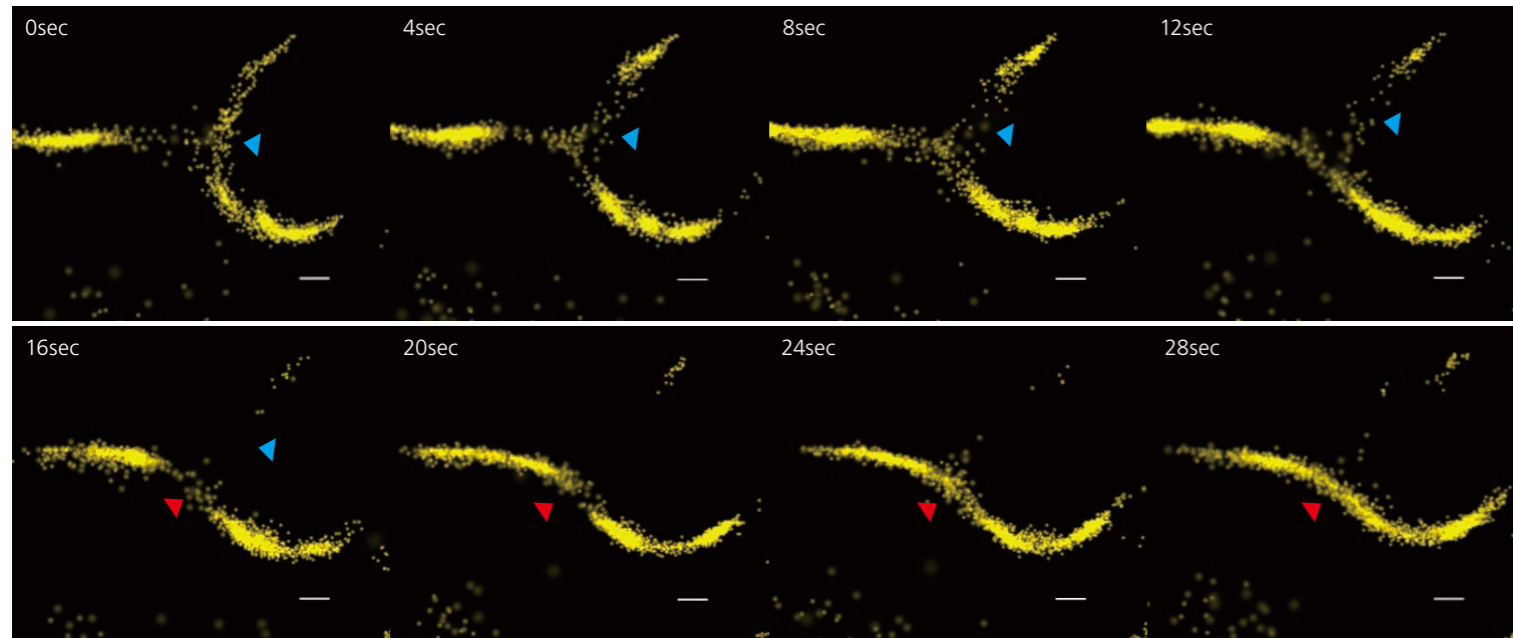


チューブリンをAlexa Fluor® 647で、カルレチキュリンをATTO 488で標識したアフリカミドリザル腎細胞(BSC-1)
撮影ご協力: Dr. Michael W. Davidson, National High Magnetic Field Laboratory, Florida State University

画像取得の高速化により動態観察を実現

sCMOSカメラに最適化した光学系・照明系の新規開発により、撮像速度を約10倍に向上させました。これにより、これまで「分単位」だった一枚当たりの撮像時間を「秒単位※」にまで短縮。観察対象の動態が1分子レベルの解像度で撮像できるようになりました。

※撮影モード「High-speed」(撮影エリア20 μm×20 μm) 使用時。

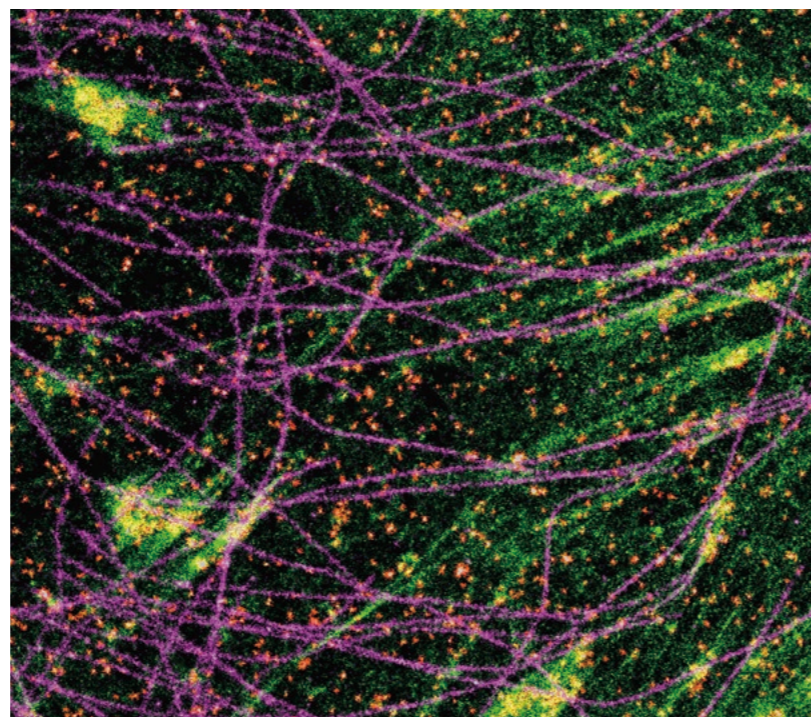


ミトコンドリアをMito-Tracker Redで標識したアフリカミドリザル腎細胞(BSC-1)のタイムラプスSTORM画像。
取得速度：500フレーム/秒
2秒間隔のタイムラプスで28秒間撮影
スケールバー：0.2 μm

多色イメージングに対応

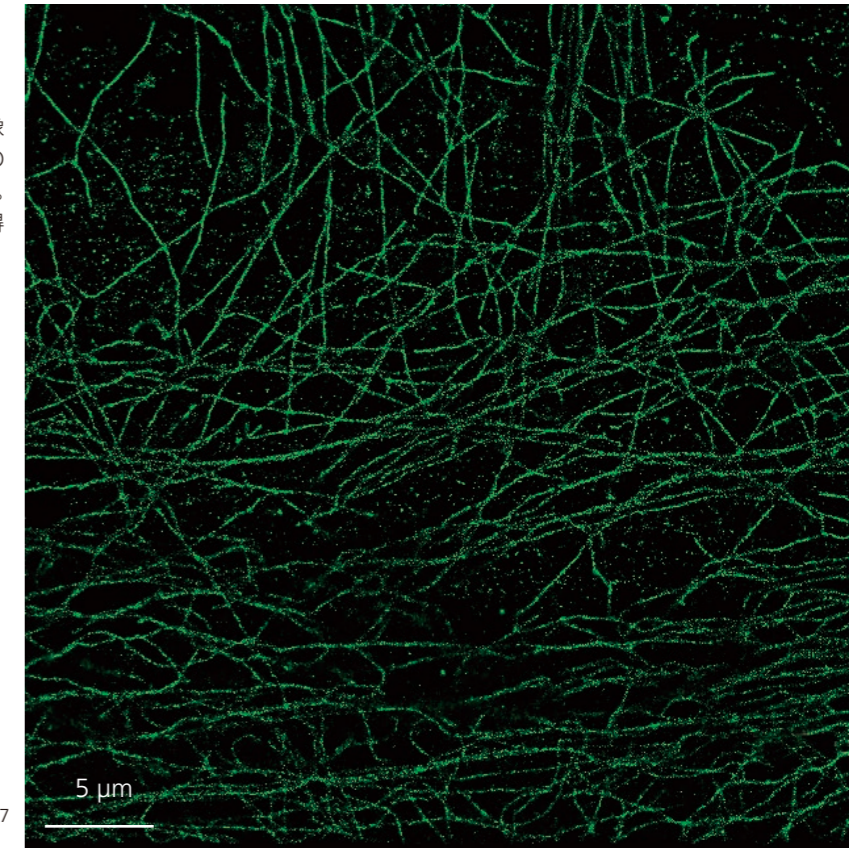
順次刺激イメージング用のアクチベーター・リポーター・ペアと、連続刺激イメージング用のアクチベーターフリー・ラベルを使用して、マルチカラー超解像イメージングを行うことができます。複数の構造体の位置関係、あるいは、異なる物質の局在が観察可能です。

チューブリンを抗αチューブリン抗体(Alexa Fluor® 647:マゼンタ)で、カベオリンをAlexa Fluor® 555(赤)で、F-アクチンをAlexa Fluor® 488-phalloidin(緑)で標識したCV-1細胞の3色蛍光STORM画像



超解像画質をさらに向上

励起光学系を新たに開発し、撮像フレーム数を増やすことで、分子の位置密度をさらに高めることに成功。より鮮明に微細分子構造が画像取得できます。

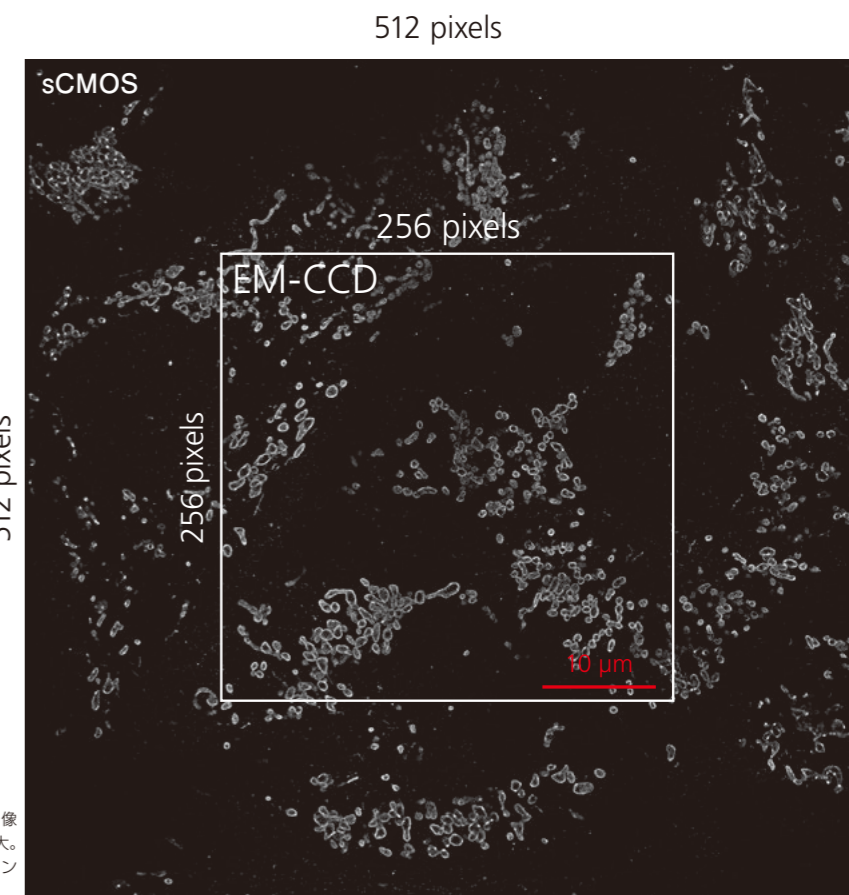


BSC-1細胞のチューブリンをAlexa Fluor® 647で染色、撮影時間：20秒

広視野での超解像イメージング

結像系の中間変倍レンズを一新し最適化しました。撮影モード「Wide-view」では、撮影エリアがこれまでの4倍(80 μm×80 μm)に拡大。広範囲な視野における超解像観察が可能となりました。

Wide-viewモード(80 μm×80 μm)。撮像エリアが従来機(40 μm×40 μm)の4倍に拡大。サンプル：Alexa Fluor® 647を結合したミトコンドリアTom20

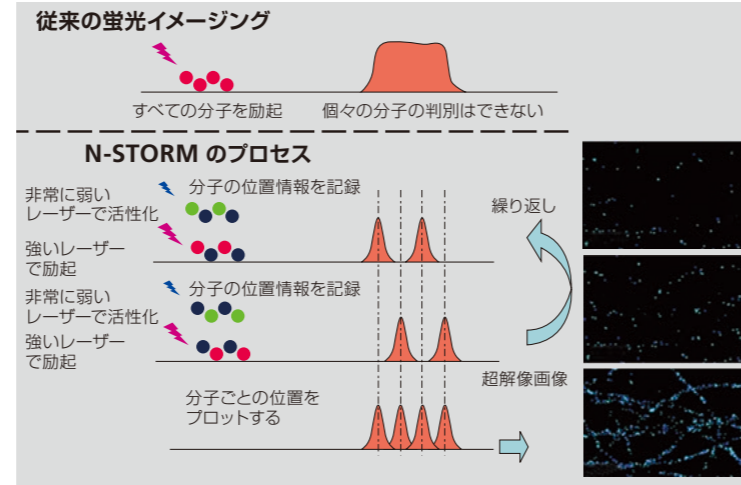


N-STORM (STochastic Optical Reconstruction Microscopy) 法の原理

蛍光色素1分子ごとの位置情報を重ね合わせて、高分解能画像を再構築

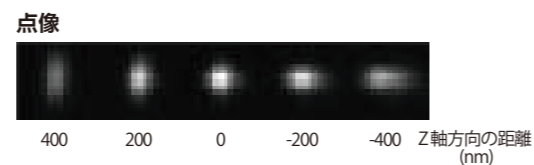
一度にすべての蛍光分子を励起するのではなく、専用の試薬を用いて非常に弱い光で、蛍光分子をばらばらに、重複しないように活性化します。これに強い励起光を照射して蛍光画像を撮像し、分子ごとの2D位置情報をナノスケールの高精度で取得します。また、独自の3D-STORM光学系によりZ軸方向の位置情報も高精度に取得します。取得した点の3D位置情報を重ね合わせて画像演算によって一枚の超解像蛍光画像を構築します。

高分解能を実現するN-STORM 技術



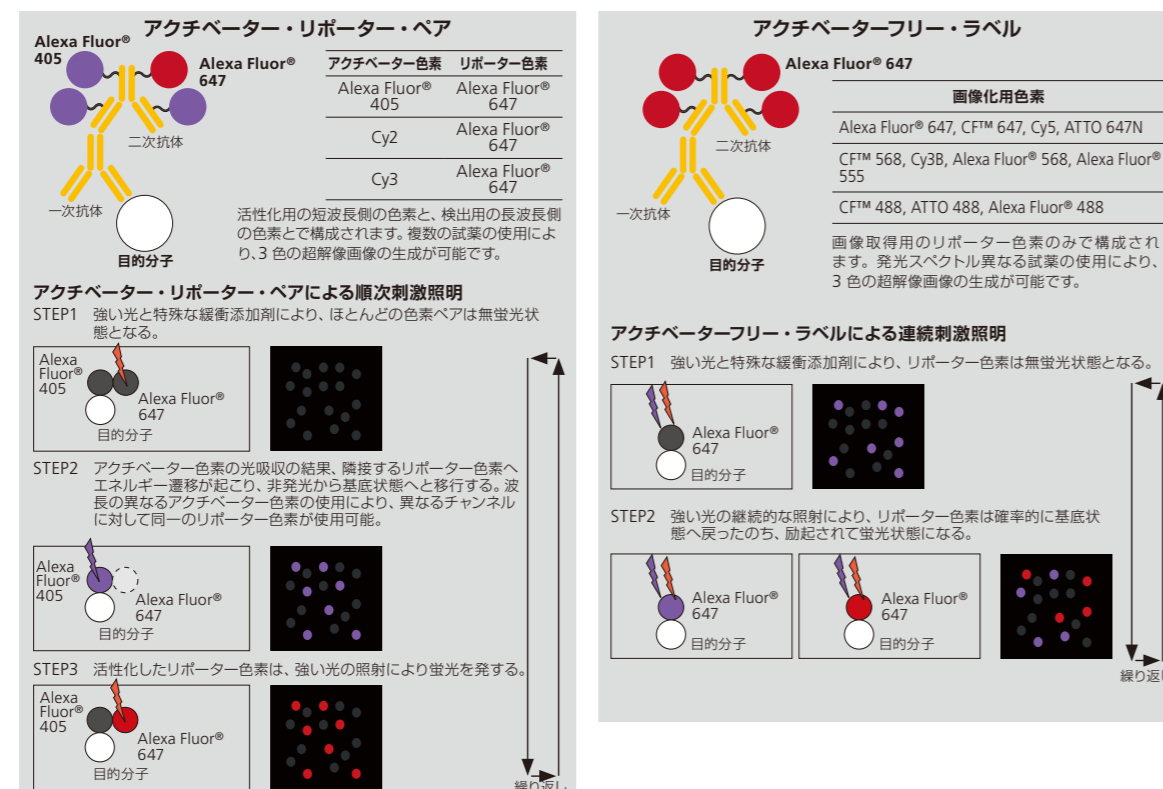
Z軸の位置情報を高精度に取得

1方向のみに光が集光するシリンドリカルレンズ(半円筒状のレンズ)を用いて取得した画像の、ピント面からずれた点光源のボケ像の方向と大きさから、分子の光軸(Z軸)方向の位置を約50nmの精度で抽出。平面の位置情報と組み合わせることで、3D蛍光画像を再構築します。

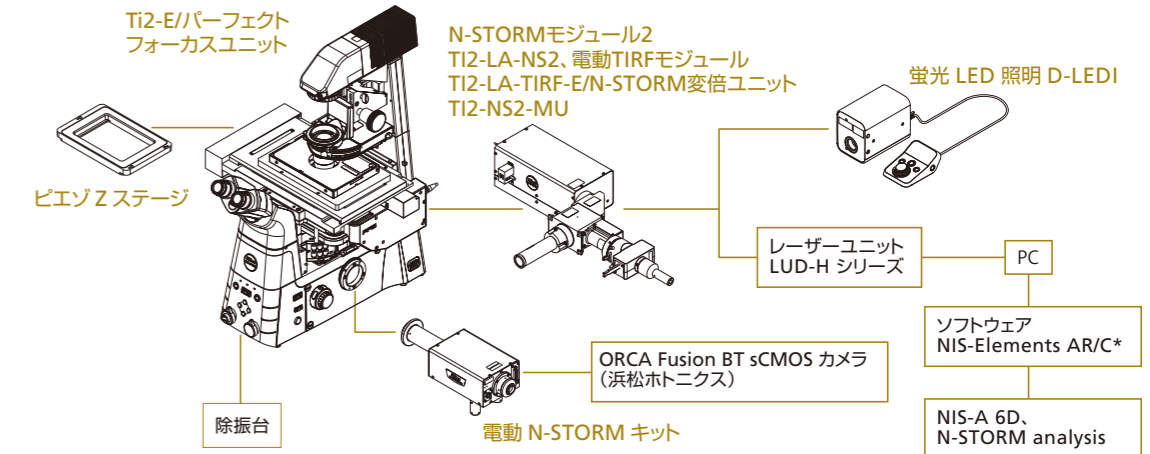


正確な位置情報検出を可能にする光変換試薬

さまざまなアクチベーター・リポーター・ペアとアクチベーターフリー・ラベルをご用意。アクチベーター・リポーター・ペアは、アクチベーター色素とリポーター色素で構成され、アクチベーター色素がリポーター色素の活性化状態を制御します。また、同一のリポーター色素を異なるチャンネルに使用することにより、チャンネルごとの高い位置精度を実現します。アクチベーターフリー・ラベルは、画像化色素のみで構成され、容易なラベリングや、市販の蛍光標識抗体を使用した間接蛍光免疫染色などが可能です。



N-STORMシステム図



* 共焦点顕微鏡との組み合わせ時に必要

N-STORMの主な仕様

水平解像度	約20 nm
Z 軸方向解像度	約50 nm
画像取得モード	2D-STORM(ノーマルモード、コンティニュアスモード) 3D-STORM(ノーマルモード、コンティニュアスモード)、3Dスタック機能
画像取得範囲	最大80 μm×80 μm
画像取得速度	最大500 Hz
多色画像対応	最大3色
使用レーザー	レーザーユニットLUD-H シリーズ 405 nm, 488 nm, 561 nm, 640 nm
対応顕微鏡	電動倒立顕微鏡エクプリスTi2-E ・パーフェクトフォーカスシステム ・エンコーダー内蔵電動XYステージ ・ピエゾZステージ
対物レンズ	CFI SR HP プランアポクロマート Lambda S 100XC Sil (NA1.35) CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XC Oil (NA 1.49) CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XAC Oil (NA 1.49) CFI HP プランアポクロマート VC 100X Oil (NA 1.40)
使用カメラ	浜松ホトニクス社製ORCA Fusion BT sCMOSカメラ
ソフトウェア	NIS-Elements ARまたはC(共焦点レーザー顕微鏡AX/AX R併設時) いずれも別売のNIS-A 6D, N-STORM Analysisモジュールが必要
設置条件	20~25℃ 温度変動±0.5℃以内

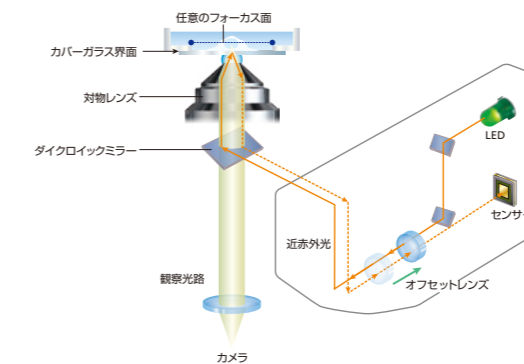
超解像性能を支える 高剛性プラットフォーム

きわめてわずかな温度変化や振動さえも、顕微鏡のフォーカス位置に影響を与えることがあり、超解像画像の精度を低下させる要因となります。ニコンの研究用倒立顕微鏡エクリップスTi2-Eはフォーカスの安定性を劇的に改善し、フォーカスずれを解決する自動焦点維持装置PFSを搭載。ナノスケールの世界を忠実に捉えます。



自動焦点維持装置 PFS

観察中のわずかな温度変化や振動に対しても、PFS(パーフェクトフォーカスシステム)が任意のZ軸面を自動的に追跡。フォーカスずれをリアルタイムに高い精度で補正してフォーカスを維持します。常に焦点の合った信頼性の高い超解像画像を取得することが可能です。また、PFS検出部とPFSレボルバー部を機械的に分離した新機構により、レボルバー部への荷重と熱伝達を大幅に低減。3次元方向への微小ドリフトを抑制しました。



堅牢性・安定性に優れたフォーカス機構

フォーカスの安定性を向上するには、対物レンズ近傍の物理的変化を最小限に抑えることが重要です。倒立顕微鏡エクリップスTi2-Eは、Z駆動機構を小型化してレボルバーの近くに配置することで、耐振動性能を大幅に向上しました。対物レンズの位置が高くなるステージアップ時にも、厳しい精度が要求される超解像観察において優れたパフォーマンスを発揮します。

電動補正環

高品質な超解像画像を取得するには、球面収差を確実に補正する補正環の調整が重要です。倒立顕微鏡エクリップスTi2-Eに搭載可能な電動補正環は、精密な補正環調整がワンクリックで達成できます。





超解像イメージングに最適な 高性能対物レンズ

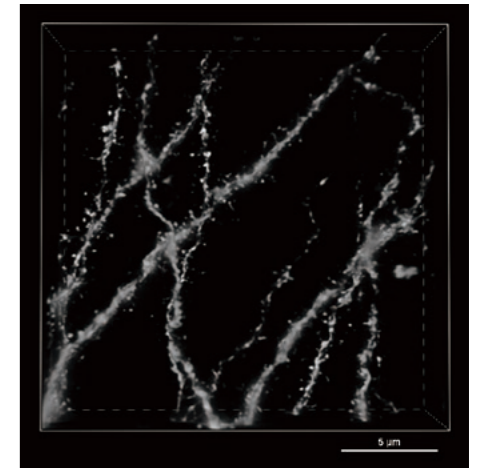
明るく正確なナノスケール画像を実現するため、ニコンは超解像顕微鏡に最適化した対物レンズを取り揃えています。SR対物レンズは、厳格な検査と調整を経て、レンズの偏心誤差を極限まで低減。超解像顕微鏡に理想的な光学性能を実現しています。

シリコン浸対物レンズ

屈折率が生細胞に近く、粘性の高いシリコンオイルを浸液に使用。屈折率の差による球面収差を低減し、標本の表面から深部に至るまで、高解像度の超解像画像が取得可能です。また、幅広い波長領域における優れた色収差補正と高い透過率を実現しています。

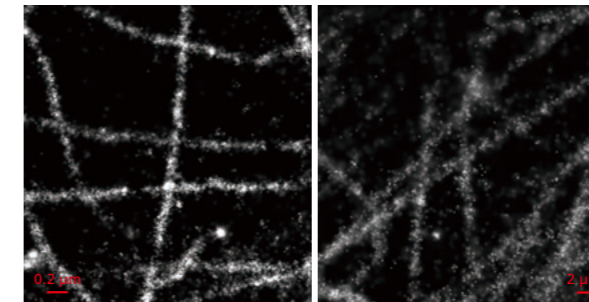


CFI SR HP プラン
アポクロマート
Lambda S 100XC Sil



N-SIM画像
サンプル：ニューロンを発現したtdTomato標識マウスの脳切片

シリコン浸対物レンズ 油浸対物レンズ



N-STORM画像(深さ約6.5 μm)
左：CFI SR HP プランアポクロマート Lambda S 100XC Sil、右：CFI SR HP
アポクロマート TIRF 100XC Oil

油浸対物レンズ

N-STORM画像取得に必要な高いNAを誇る対物レンズです。HP対物レンズは、色素を高速に明滅させるために必要な高出力レーザーに対応。軸上色収差を低減したことで、3次元の多色超解像観察がより高い精度で行えます。



CFI SR HP
アポクロマート TIRF
100XC Oil



CFI HP プラン
アポクロマート VC
100X Oil



CFI SR HP
アポクロマート TIRF
100XAC Oil



CFI SR
プランアポクロマート
IR 60XC WI



CFI SR
プランアポクロマート
IR 60XAC WI

水浸対物レンズ

近赤外までの広い波長帯域において色収差を補正。生細胞の深部まで観察可能な対物レンズです。ACタイプの対物レンズは、倒立顕微鏡Ti2-Eの電動補正環を使用することで、補正環の高精度な調節が簡単に行えます。

ドライ対物レンズにも対応

N-SIM Sは、共焦点顕微鏡と同様にドライ対物レンズが使用できるため、対物レンズを変更することなく簡単に共焦点観察と超解像観察が切り替えられます。低倍率・広視野のドライ対物レンズにより、組織サンプルの周辺部においても高解像度の画像取得が可能です。

※ドライ対物レンズは、2D-SIMと3D-SIM(スライス画像構築)に対応。



CFI
プランアポクロマート
Lambda 60XC



CFI
プランアポクロマート
Lambda D 40XC

品名	液浸	NA	作動距離 (mm)	補正環
CFI SR HP プランアポクロマート Lambda S 100XC Sil	シリコン浸	1.35	0.31-0.29(0.30*):23°C、0.30-0.28(0.29*):37°C	手動
CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XC Oil	油浸	1.49	0.16-0.10(0.12*):23°C、0.15-0.09(0.12*):37°C	手動
CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XAC Oil	油浸	1.49	0.16-0.10(0.12*):23°C、0.15-0.09(0.12*):37°C	自動
CFI HP プランアポクロマート VC 100X Oil	油浸	1.40	0.13	
CFI SR プランアポクロマート IR 60XC WI	水浸	1.27	0.18-0.16(0.17*)	手動
CFI SR プランアポクロマート IR 60XAC WI	水浸	1.27	0.18-0.16(0.17*)	自動
CFI プランアポクロマート Lambda 60XC		0.95	0.21-0.11(0.15*)	手動
CFI プランアポクロマート Lambda D 40XC		0.95	0.25-0.16(0.21*)	手動

※カバーガラス厚さ0.17 mmの場合

超解像画像取得・解析用 統合ソフトウェア

ニコンの画像統合ソフトウェアNIS-Elementsは、直感的な手順で超解像イメージングが行えます。JOBSや照明シーケンスなどを生成するグラフィカルプログラミングツールや、便利な解析・表示ツールにより、画像取得からデータ管理までの一連の操作を、多様な研究ニーズに応じて高度にカスタマイズすることが可能です。

画像取得

N-SIM S

画像取得の設定

2D-SIM/3D-SIM/TIRF-SIMモードが簡単に切り替えられます。オプションのJOBS画像取得シーケンスにより、N-SIM S/N-STORM/共焦点顕微鏡を柔軟に切り替えながらのシームレスな画像取得が可能です。



N-STORM

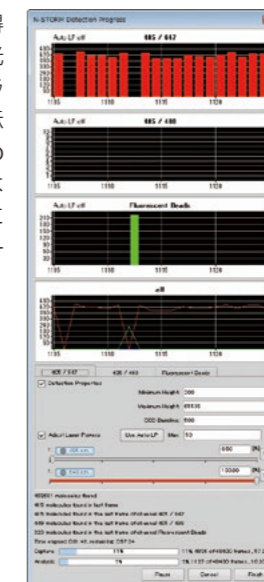
画像取得の設定

2次元取得や3次元取得、単色取得や多色取得など、画像取得に関する設定が行えます。



取得中の輝点の位置をリアルタイム表示

N-STORM 画像の取得時に、明滅している蛍光分子の数を画像とグラフでリアルタイムに表示します。Auto LP (Auto Laser Power) ボタンにより、検出した輝点の数に応じて自動的にレーザーの強度を調節可能です。



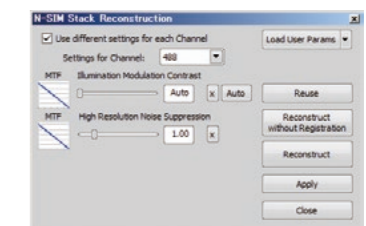
N-SIMS / N-STORM

画像表示・解析

N-SIM S

画像構築設定

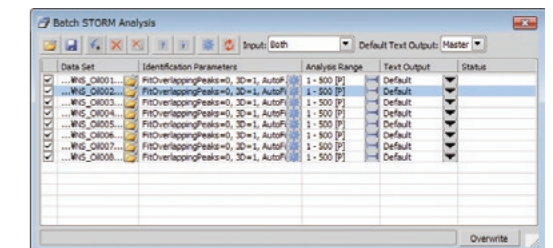
取得画像ごとの最適な画像構築パラメーターを自動的に選択して超解像画像を構築します。手動調節によって画像構築をさらに最適化することも可能です。画像構築ビューで、画像構築パラメーターの選択結果をプレビューすることにより、パラメーターを効率的に決定することができます。



N-STORM

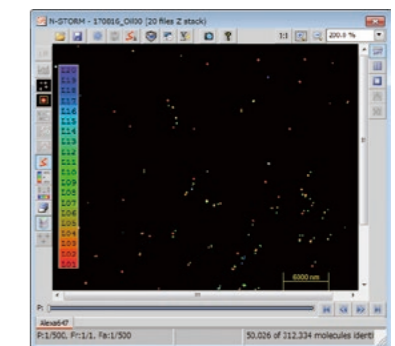
バッチ処理解析

複数のN-STORM画像を同時に解析できます。



3D 表示機能

N-STORMの最大の特長は、3Dでの画像取得・画像解析が行えることです。解析後には画像を自由に動かして任意の向きで表示可能です。

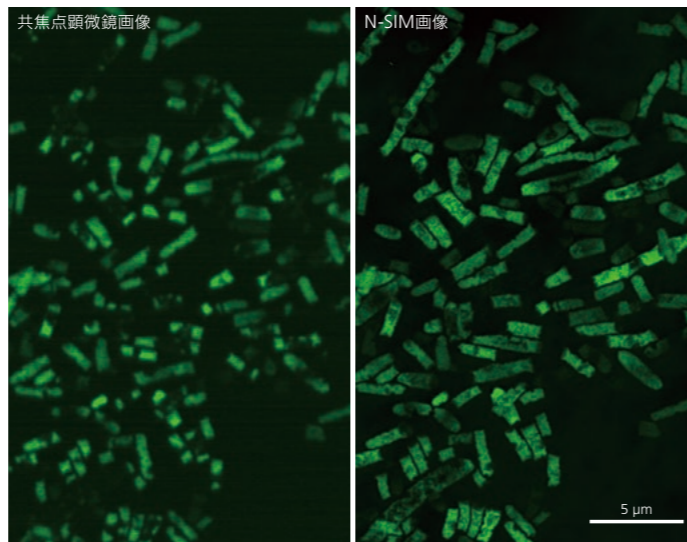


スケールの異なる ナノワールドを自由に探索

多彩なイメージングモジュールをシームレスに切り替え

一台の倒立顕微鏡エクリプスTi2-Eiに、超解像顕微鏡N-SIMSとN-STORMを同時搭載することで、それぞれの超解像システムの特長が最大限に生かされます。N-SIMSではより厚みのある画像が取得でき、N-STORMで取得した1分子レベルの情報と統合して理解することで、分子をより包括的に捉えることができます。さらに、N-SIMSとN-STORMを、AXなどの共焦点顕微鏡と組み合わせて使用することも可能です。サンプル中の任意の場所を低倍率・広視野の共焦点画像で指定し、イメージング法をN-SIMS/N-STORMに切り替えるだけで、同一サンプルの超解像画像を取得。共焦点顕微鏡を超解像システムと組み合わせることで、取得データの信頼性が大きく向上します。

SGFP2を発現する大腸菌XL1-Blue
撮影ご協力：福島県立医科大学医学部
鈴木貴久先生、和田郁夫先生

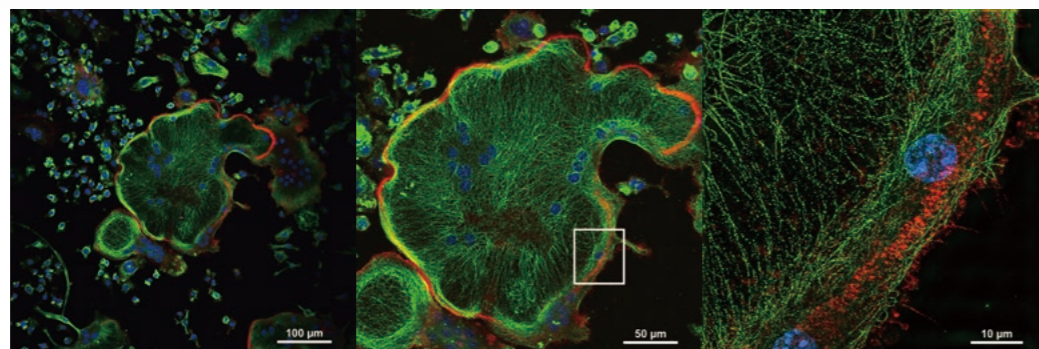


「培養皿の上で成熟させた破骨細胞は、直径が数百マイクロンにもなります。共焦点顕微鏡A1+とN-SIMSを同時搭載することで、細胞をA1+で広視野撮影し、観察ポイントを絞り込んでさらにN-SIMSで微細に観察するという、マルチモードの解析ができるのが大きなメリットです。破骨細胞の「アクチンリング」と呼ばれる環状構造は、細胞接着と移動に関わる微細なポドソーム(仮定)の集まりです。ポドソームは主に電子顕微鏡で観察されていました。N-SIMSは個々のポドソームを分解できるので、破骨細胞の機能をポドソームの時空間動態から定量評価できるようになりました。」

飯村忠浩先生
愛媛大学プロテオサイエンスセンター (PROS) バイオイメージング部門、学術支援センター (ADRES) 病態機能解析部門

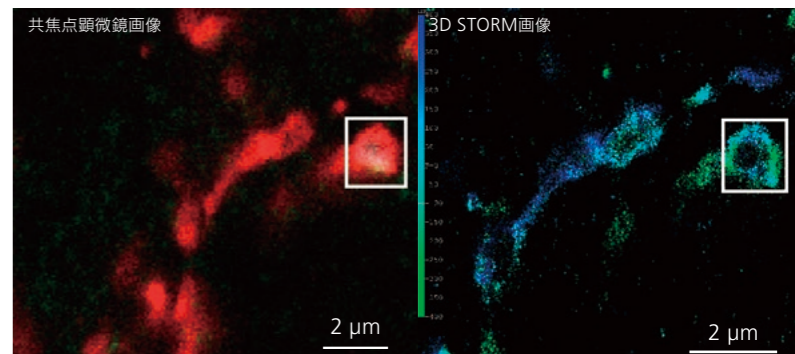
「HIV感染治療薬の標的分子であるCCR5が骨を吸収する破骨細胞にも存在すること、さらにCCR5の機能抑制が破骨細胞の骨吸収能を抑制して、骨粗鬆症を抑えることも発見しました。抗CCR5治療薬がHIV感染症のみならず、骨粗鬆症をはじめとする骨吸収性疾患に対してもメリットをもたらす可能性を明らかにしました。」

*Nature Communications DOI: 10.1038/s41467-017-02368-5

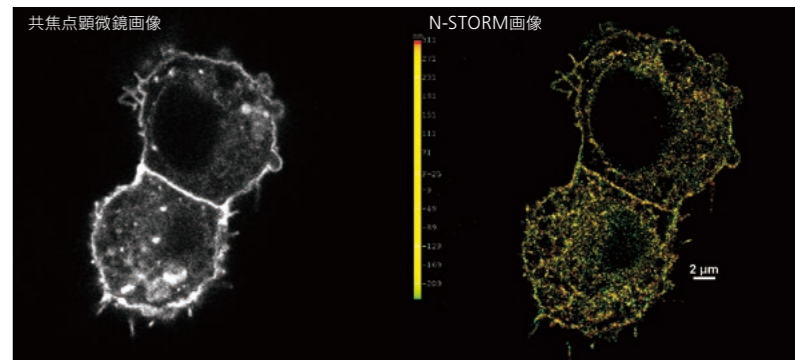


ポドソーム(アクチン)をAlexa Fluor® 568(赤)で、チューブリンをAlexa Fluor® 488(緑)で、核をDAPI(青)で標識。
左：A1+で取得した広視野共焦点画像、中：共焦点画像のZスタックプロジェクション、右：N-SIMSで取得した超解像画像
撮影ご協力：愛媛大学プロテオサイエンスセンター (PROS) バイオイメージング部門 Dr. Ji-Won Lee、飯村忠浩先生

カンナビノイド受容体CB1をAlexa Fluor® 647で免疫染色したマウス脳切片(海馬CA1領域)。STORMイメージングにより、空洞のある軸索末端の細胞膜がより鮮明に観察できている。
撮影ご協力：Barna Dudok Ph.D., Laszlo Barna Ph.D., Istvan Katona Ph.D., Laboratory of Molecular Neurobiology, Institute of Experimental Medicine of the Hungarian Academy of Sciences

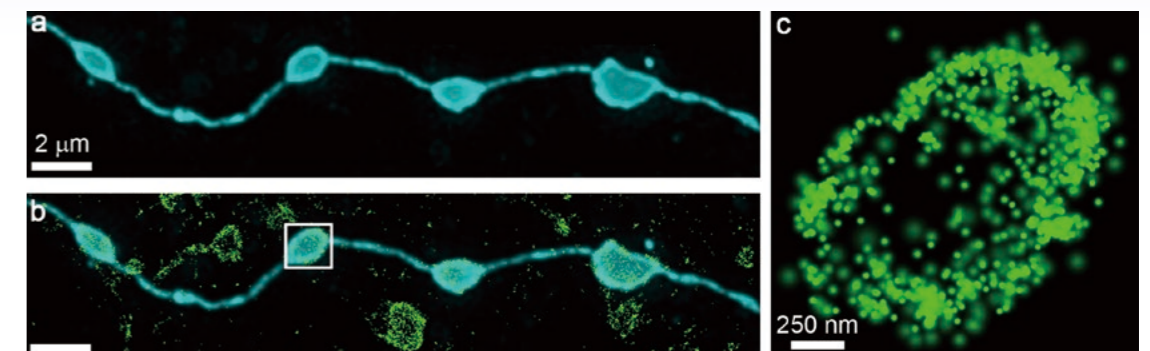


eGFP-CB1融合タンパク質を発現したHEK細胞。Cy3-Alexa Fluor® 647の色素ペアによるSTORM用色素で標識された二次抗体でCB1を対比染色し、3D-STORMで撮影。同じ顕微鏡に搭載した共焦点顕微鏡でGFP蛍光を撮影した。STORM画像は、より鮮明に解像できるだけでなく、共焦点顕微鏡ではダイナミックレンジや解像力の限界によって観察できない細胞内膜構造も解像できている。
撮影ご協力：Barna Dudok Ph.D., Laszlo Barna Ph.D., Istvan Katona Ph.D., Laboratory of Molecular Neurobiology, Institute of Experimental Medicine of the Hungarian Academy of Sciences



「STORMイメージングは、化学シナプスにおける重要なシグナル分子の位置や分布をナノスケールで高精度に測定できる唯一無二の技術です。我々の研究にとって、最も重要なツールのひとつと言えるでしょう。しかし、STORM画像だけでは、例えるならば、広大な夜空に輝く星々の中から、一部の星だけを拡大して観察するようなものです。分子の局在を正確に把握するには、分子の変化が細胞内のどのような位置関係で起こっているのか、共焦点顕微鏡を使用して明らかにする必要があります。そこで我々は、生理学的実験の後、まず共焦点顕微鏡で細胞型やシナプスの形態学的特性の評価を行ってから、STORMモードに切り替え、生理学的シグナルに関連するシグナル分子の画像を取得しました。これにより、同一のシナプスにおける分子データ、解剖学的データ、生理学的データの関連を比較することが可能になるのです。本当にわくわくしますね。」

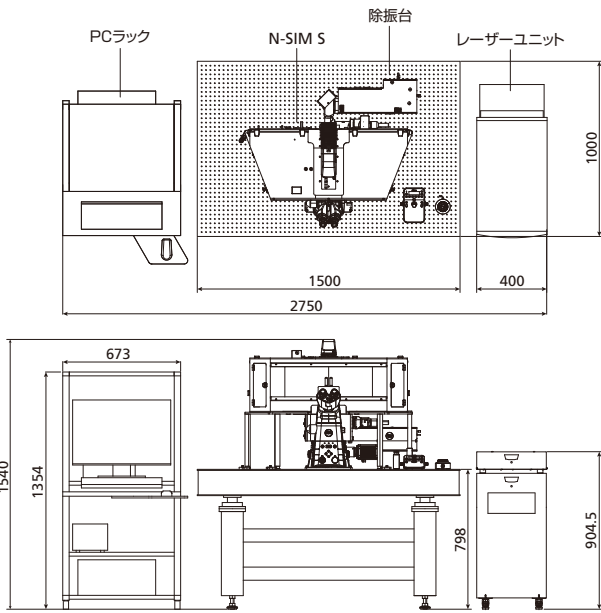
Dr. Istvan Katona
Laboratory of Molecular Neurobiology, Institute of Experimental Medicine of the Hungarian Academy of Sciences



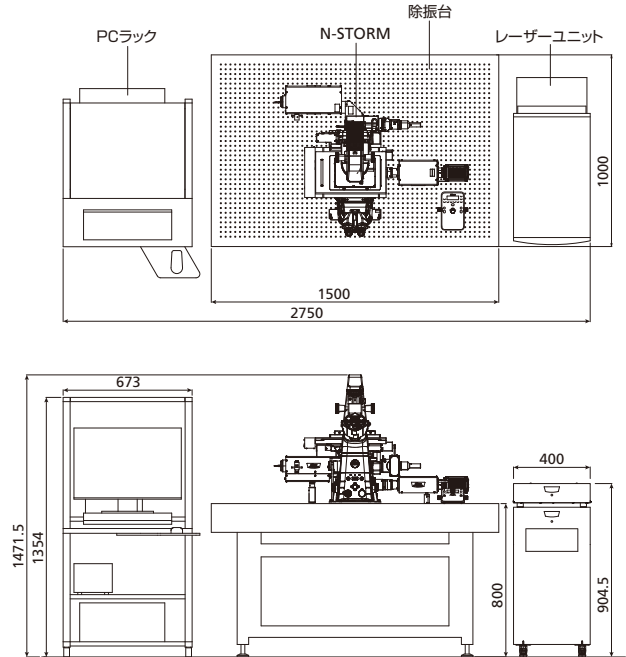
海馬GABA性介在ニューロンの軸索終末(水色)におけるカンナビノイド受容体の局在(緑)を示す共焦点/STORMの相関画像。画像は超解像顕微鏡N-STORMと共焦点顕微鏡C2を組み合わせたシステムにより取得。

撮影ご協力：Dr. Barna Dudok, Laboratory of Molecular Neurobiology, Institute of Experimental Medicine of the Hungarian Academy of Sciences

N-SIM S推奨配置図



N-STORM推奨配置図



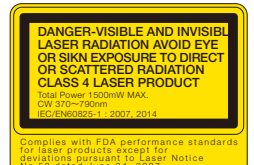
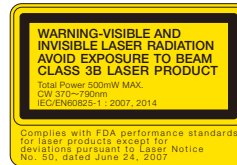
単位: mm

安全に関するご注意 ■ご使用前に「使用説明書」をよくお読みの上、正しくお使いください。

ご注意:本カタログに掲載した製品及び製品の技術(ソフトウェアを含む)は、「外国為替及び外国貿易法」等に定める規制貨物等(技術を含む)に該当します。輸出する場合には政府許可取得等適正な手続きをお取り下さい。

- ・Alexa Fluor® と Cy は Thermo Fisher Scientific, Inc. の登録商標です。
- ・本カタログ記載の会社名及び商品名は各社の商標または登録商標です。
- ・本カタログは2023年5月現在のものです。仕様と製品は、製造者/販売者側がなんら債務を負うことなく予告なしに変更されます。

©2014-2023 NIKON CORPORATION



株式会社 **ニコン**
108-6290 東京都港区港南2-15-3 (品川インターシティ C棟)
<https://www.healthcare.nikon.com/ja/>

株式会社 **ニコン ソリューションズ**

https://www.microscope.healthcare.nikon.com/ja_JP/

本社 140-0015 東京都品川区西大井1-6-3 (株)ニコン 大井ウエストビル3階



お問い合わせはこちら

2CJ-SCJH-10 (2305)T

(株)ニコンは、環境マネジメントシステムISO14001の認証取得企業です。