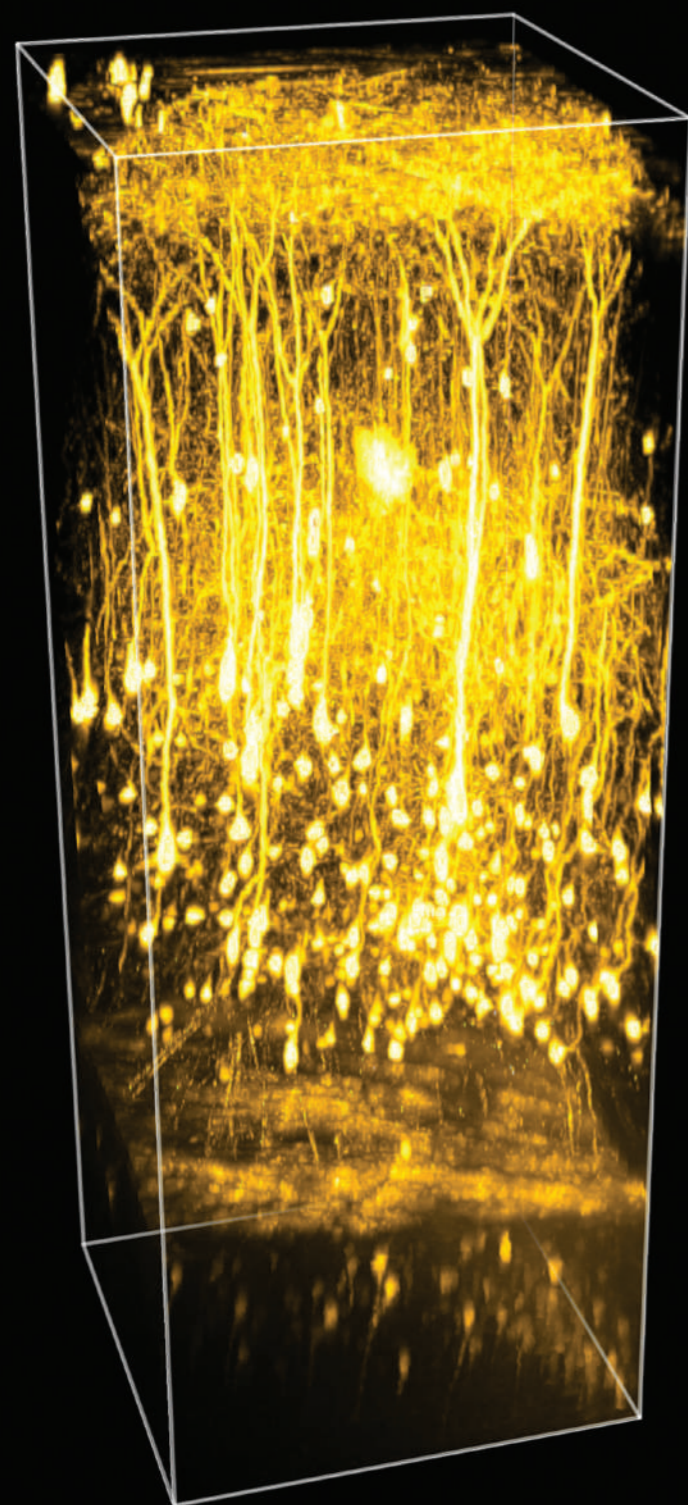




Мультифотонный конфокальный микроскоп A1 MP+/A1R MP+

# A1MP<sup>+</sup>

Мультифотонный конфокальный микроскоп



В сочетании с NI-E

- Мультифотонные конфокальные микроскопы A1MP+/A1R MP+ обеспечивают быстрое и четкое получение изображений глубоких слоев ткани живых организмов, расширяя тем самым границы традиционных исследовательских методов применяемых в биологии.
- Сверхвысокая скорость получения изображений, достигающая 420 кадров/сек (512x32 пикселей), вместе с мультифотонным формированием изображений с использованием высокоэффективной оптики и резонансного сканера A1R MP+.
- Получение изображений глубоких слоев ткани образца при помощи детекторов NDD размещенных рядом с задней апертурой объектива. Недавно созданные сверхчувствительные арсенид-фосфид галлиевые (GaAsP) NDD-детекторы позволяют получить изображений мозга мыши *in vivo* на глубине свыше 1,2 мм.
- Функция автоматической юстировки лазера предусматривает быструю корректировку смещения инфракрасного лазерного луча после изменения длины волны многофотонного возбуждения.
- Инфракрасный лазер подключается к микроскопу при помощи компактного оптического блока содержащего акустооптический модулятор и выполняющего функции автоматической юстировки лазера.
- Совместим как с прямым, так и с инвертированным микроскопом. Обеспечивает получение оптимальных мультифотонных изображений при исследованиях мозга, других нейробиологических применений и получение *in vivo* изображений живых организмов

**Удивительно глубокое исследование – A1 MP+ / A1R MP+ отчетливо визуализирует сверхглубокую динамику в живых организмах.**



В сочетании с TI-E



В сочетании с FN1



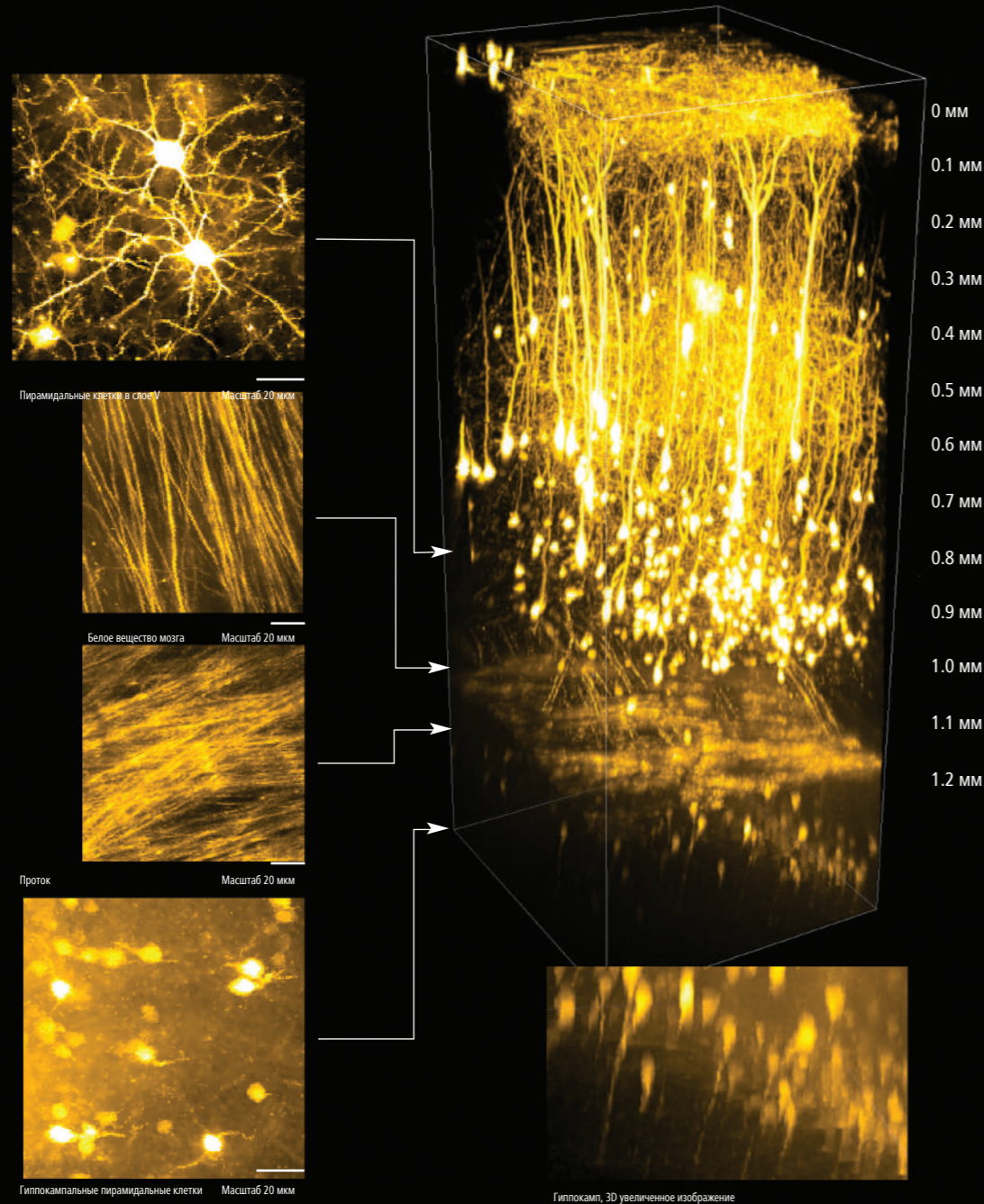
## Получение сверхглубоких изображений при помощи нового GaAsP NDD детектора

Новый сверхчувствительный GaAsP NDD детектор позволяет получать *in vivo* четкие изображения более глубоких слоев ткани образцов чем прежде и представляет собой достаточно мощное устройство для анализа, например, нейронов мозга живых организмов.

GaAsP

### Получение изображений глубинных структур мозга живой мыши.

Получение изображений мозга живой мыши (в возрасте 4 недели) под анестезией с использованием YFP-H методом открытого черепа. Визуализация всех пирамидальных нейронов слоя V и более глубоких гиппокампальных нейронов. Глубокое изображение достигается для 3-х мерного изображения гиппокампальных дендритов расположенных на глубине более 1,1 мм.



Изображение сделано при помощи GaAsP NDD детектора и объектива CF175 Апохромат 25xW MP (числовая апертура - 1,10 мм, рабочее расстояние - 2,0 мм).

Фотография сделана при поддержке:

Доктора Рьосуке Каваками (Ryosuke Kawakami), доктора Терумаса Хиби (Terumasa Hibi), доктора Томоми Немото (Tomomi Nemoto), Исследовательский институт электронных наук, Университет Хоккайдо.

## Быстрое получение мультифотонных изображений *in vivo*.

Резонансный сканер Nikon способен получать изображения на достаточно высокой скорости (420 кадров/сек) и является самым быстрым мультифотонным микроскопом в мире, использующим технологию точечного сканирования. Уникальным элементом в этом устройстве является зеркало резонансного сканера, способное регистрировать изображения на значительно более высокой скорости по сравнению с традиционными гальванометрическими сканерами. Оптическая система контролирует положение резонансного зеркала в режиме реального времени регулирует частоту пикселизации и позволяет получать более стабильные, геометрически правильные и равномерно освещенные изображения даже на высоких скоростях. Это обеспечивает успешную визуализацию быстрых изменений в живых организмах, например, реакции живых организмов, динамику и взаимодействия клеток.

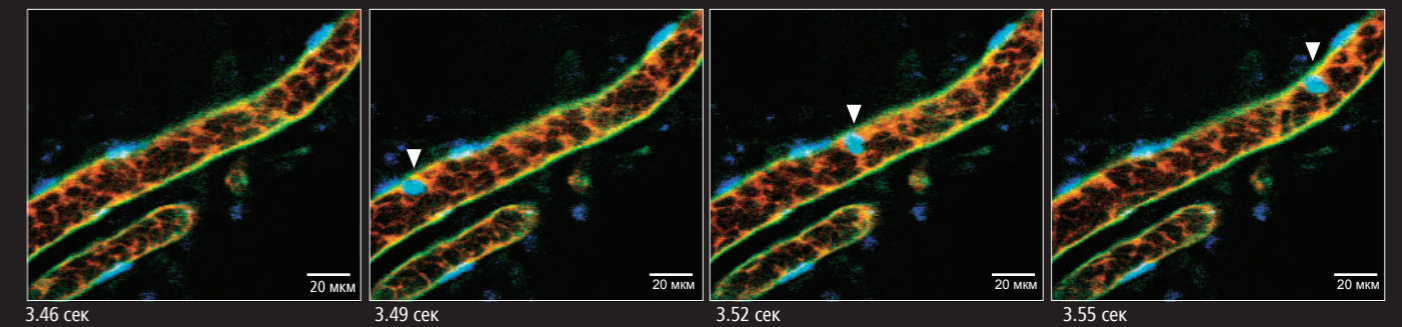
### Визуализация процессов микроциркуляции в живых образцах

Клетки крови в кровеносных сосудах живого организма были возбуждены фемтосекундным импульсным ИК лазером со сверхскоростным резонансным сканером A1R MP+. Их перемещения были зарегистрированы в форме трех последовательных флуоресцентных изображений на скорости 30 кадров/сек (30 мсек) в трех отдельных цветовых каналах.

Стрелка указывает на перемещение ядер белых кровяных клеток.

Были возбуждены и зарегистрированы три флуоресцентных зонда – ядро (синий), эндотелий (зеленый) и плазма (красный).

Длинноволновый сверхбыстрый лазер в сочетании со сверхскоростным резонансным сканером эффективно снижает фотоповреждение и предоставляет возможность получения мультифотонных изображений биомолекул с временным разрешением.



Разрешение: 512x512 пикселей, изображение получено на скорости: 30 кадров/сек, объектив: объектив с водной иммерсией 60x.

Фотография сделана при поддержке доктора Сатоши Нишимура (Satoshi Nishimura),

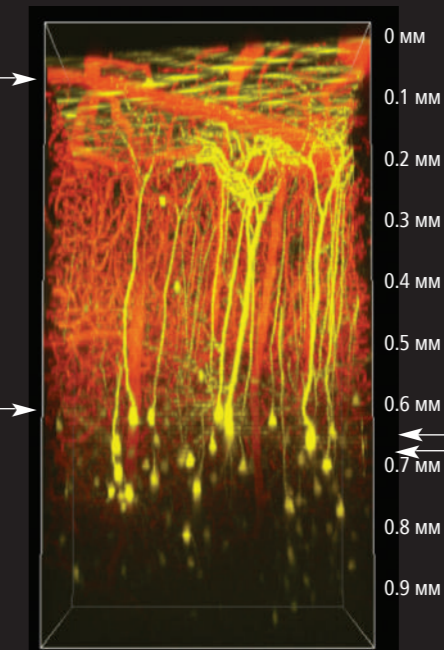
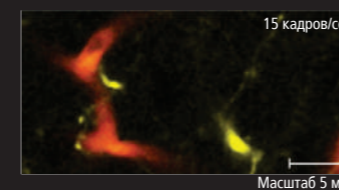
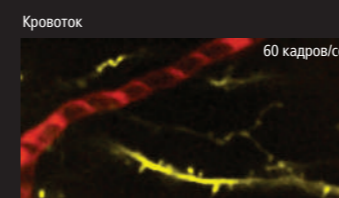
Отделение кардиоваскулярной медицины, Токийский университет, TSBMI, Токийский университет, PRESTO, Японское агентство науки и технологии.

### Скоростное получение изображений мозга живой мыши

Кора головного мозга мыши (возраст 4 недели) была изучена методом открытого черепа под анестезией с использованием YFP-H. В хвостовую вену был введен SRB (сульфородамин-B). Используя резонансное сканирование при помощи эпископического детектора GaAsP NDD можно получить изображения тока крови в различных положениях Z.

GaAsP

Желтый: пирамидальные клетки YFP в слое V коры головного мозга



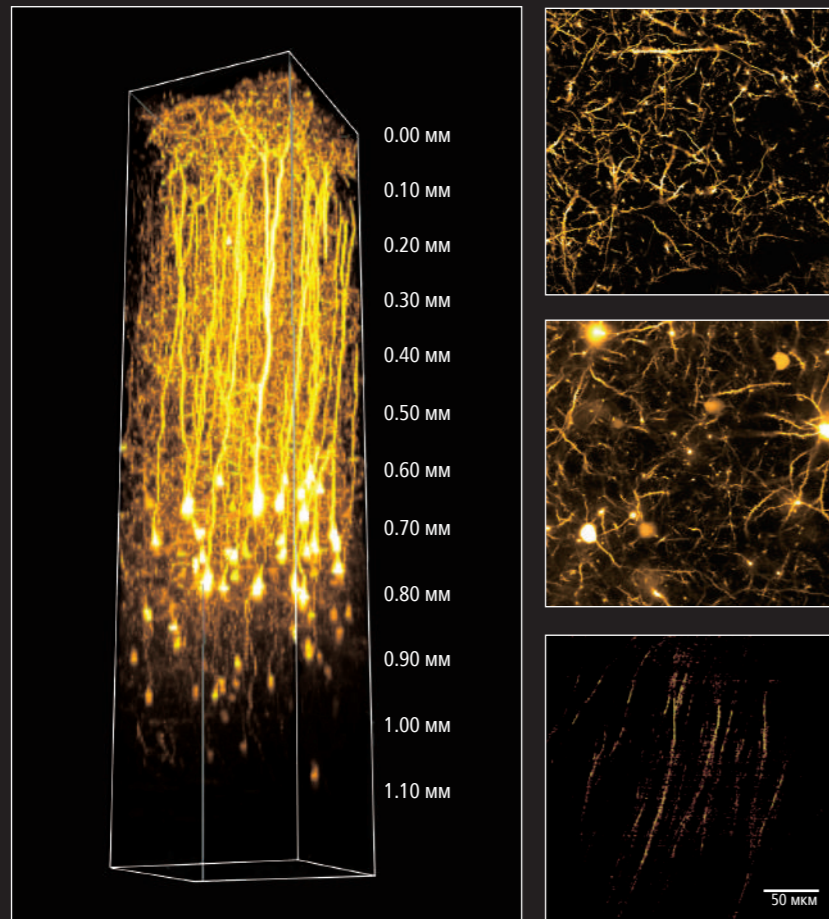
Фотография сделана при поддержке:

Доктора Рьосуке Каваками (Ryosuke Kawakami), доктора Терумаса Хиби (Terumasa Hibi), доктора Томоми Немото (Tomomi Nemoto), Исследовательский институт электронных наук, Университет Хоккайдо.



## Получение изображений глубоких слоев тканей живых образцов при помощи высокоэффективного стандартного детектора NDD

### Изображения глубоких зон коры головного мозга живых мышей



Кора головного мозга линии Н мыши в возрасте 5 недель была изучена методом открытого черепа. Вся форма дендрита пирамидальной клетки в слое V экспрессирующая EYFP была визуализирована от нижнего до поверхностного слоя. Кроме того, был также изучен флуоресцентный сигнал от белого вещества в более глубоких зонах.

Слева) 3D реконструкция изображения  
Справа) Изображения Z срезов

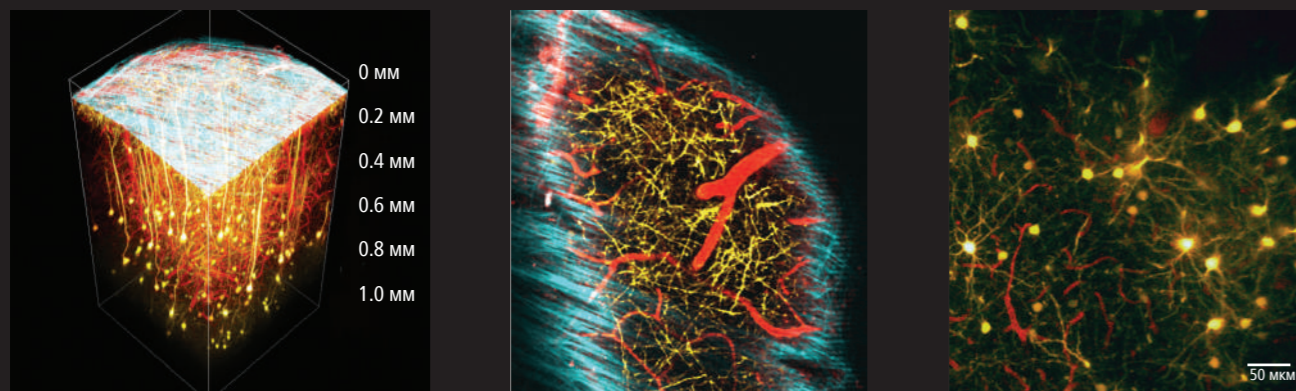
Сверху: дендриты, расположенные в поверхностных слоях пирамидальных клеток слоя V на глубине 25 мкм  
Посередине: базальные дендриты в пирамидальных клетках слоя V на глубине 625 мкм  
Снизу: флуоресцентное излучение от белого вещества

Длина волны возбуждения: 930 нм  
Объектив: CF175 Апохромат 25xW MP (числовая апертура - 1,10, рабочее расстояние - 2,0)

Фотография сделана при поддержке:  
Доктора Томоми Немото (Tomomi Nemoto), Исследовательский институт электронных наук, Университет Хоккайдо  
Доктора Шигенори Нонака (Shigenori Nonaka), Национальный институт фундаментальной биологии  
Доктора Такэши Имамура (Takesha Imamura), Медицинская аспирантура, Университет Эхимэ

### Получение многоцветных изображений коры головного мозга мыши

Одновременное получение по трем каналам изображений коры головного мозга мыши при анестезии с использованием YFP-N при ИК излучении с длиной волны 950 нм и получение изображений генерации второй гармоники (SHG) и двух флуоресцентных излучений.



Голубой: SHG сигнал от твердой оболочки мозга  
Желтый: EYFP пирамидальные нейроны в слое V коры головного мозга  
Красный: Кровеносные сосуды меченные SRB

Фотография сделана при поддержке:  
Доктора Рьосюке Каваками (Ryosuke Kawakami), доктора Терумаса Хиби (Terumasa Hibi), доктора Томоми Немото (Tomomi Nemoto), Исследовательский институт электронных наук, Университет Хоккайдо.

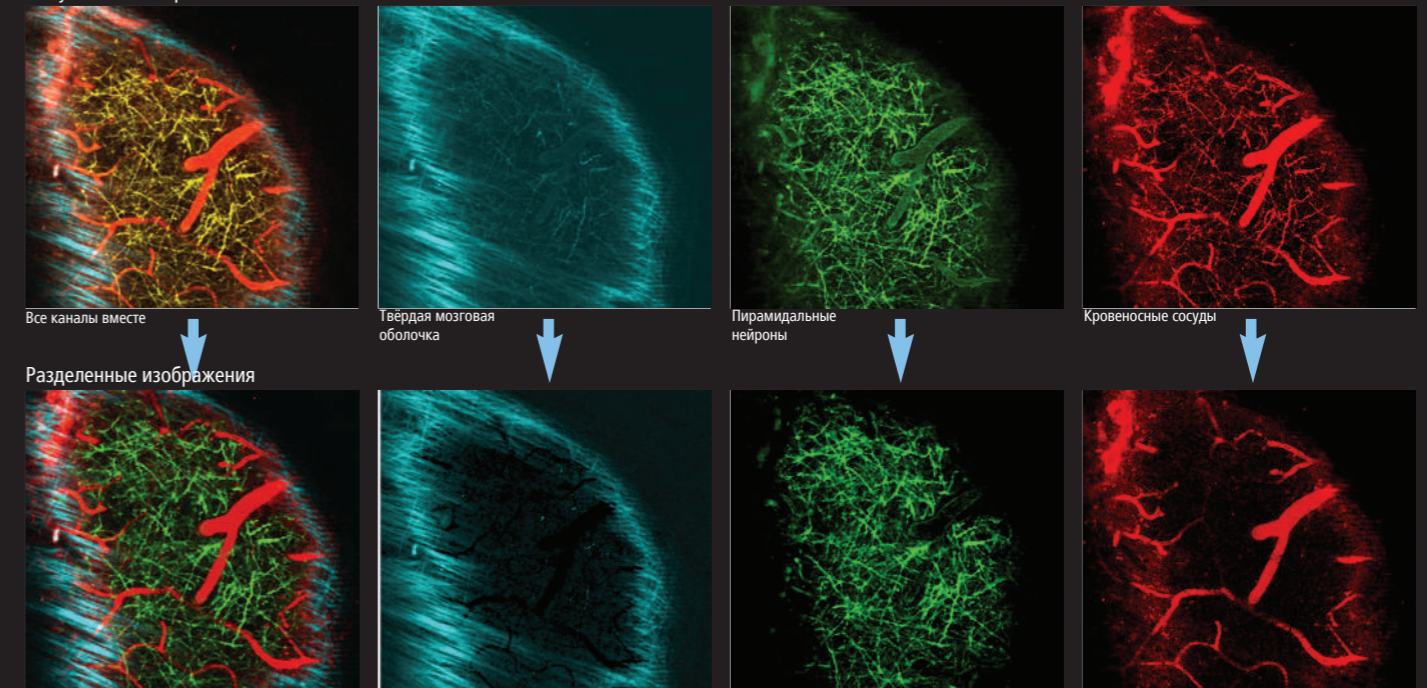
## Разделение каналов

При мультифотонном возбуждении флуорофоры имеют значительно более широкий профиль спектра поглощения по сравнению с однофотонным возбуждением. Поэтому возможно одновременное возбуждение нескольких флуорофоров при помощи одной длины волны возбуждения. Кроме того, можно изменять длину волны импульсного лазера для мультифотонного возбуждения и пользователь может выбрать подходящую длину волны для возбуждения нескольких флуорофоров. Детектор A1 MP+/A1R MP+ NDD и технология разделения каналов позволяют пользователю четко разграничивать флуорофоры и получать информацию о структуре глубоких слоев живого образца.

### Разделение при одновременном возбуждении трех флуорофоров

Одновременное получение трехцветных изображений мыши под анестезией при помощи YFP-N при возбуждении ИК излучением с длиной волны 950 нм. Верхние четыре изображения - оригинальные данные, нижние четыре изображения получены при помощи функции разделения. Кровеносные сосуды и нейроны четко разделены.

Полученные изображения

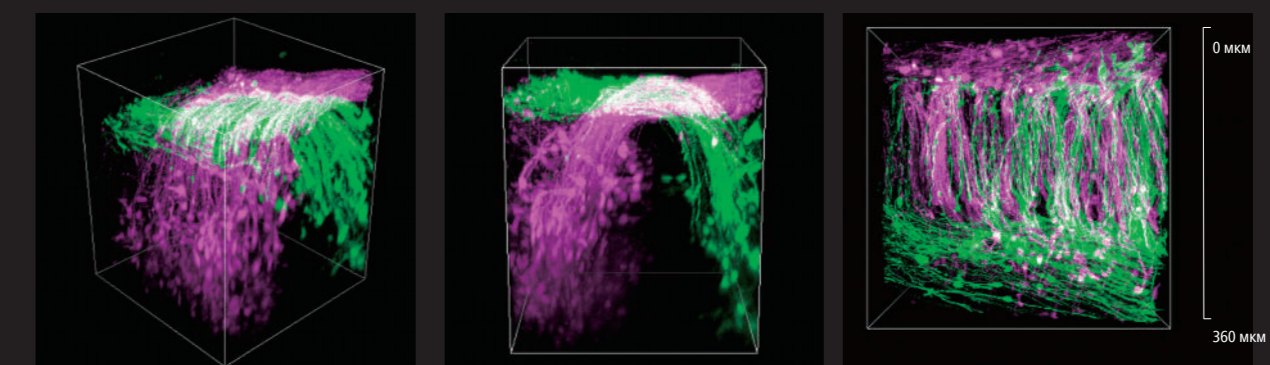


Голубой: SHG сигнал от твердой оболочки мозга  
Желтый: EYFP пирамидальные нейроны в слое V коры головного мозга  
Красный: Кровеносные сосуды меченные SRB

Фотография сделана при поддержке:  
Доктора Рьосюке Каваками (Ryosuke Kawakami), доктора Терумаса Хиби (Terumasa Hibi), доктора Томоми Немото (Tomomi Nemoto), Исследовательский институт электронных наук, Университет Хоккайдо.

### Разделение при одновременном возбуждении двух флуорофоров

Зачаток спинного мозга (нервная трубка) эмбриона крысы в возрасте 12,5 дней. Эмбрион выращивали приблизительно 44 часа после трансфекции левых и правых нервных клеток eGFP и YFP путем электропорации. Поперечный срез спинного мозга был помещен в гель и одновременное возбуждение eGFP и YFP при помощи импульсного ИК лазера (930 нм). Изображение получено при помощи NDD детектора и была применена функция разделения. Было получено четкое изображение промежуточного нейрона и комиссурального аксона.



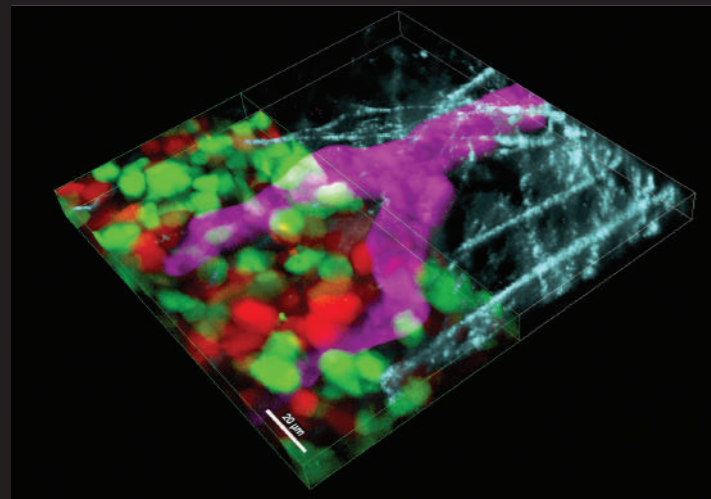
Фотография сделана при поддержке:  
Доктора Норико Осуми (Noriko Osumi), доктора Масанори Такахаши (Masanori Takahashi), Отделение неврологии развития, Объединенный центр перспективных исследований и трансляционной медицины, медицинская аспирантура университета Тохоку



## Галерея мультифотонных изображений

### Четырехцветные изображения раковых клеток в толстой кишке человека

Трехмерная визуализация вживленных опухолевых клеток HCT116 экспрессирующих Fucci. Визуализируется клеточный цикл опухолевых клеток и окружение (коллагеновое волокно и сосуды). Сверху справа представлены только коллагеновое волокно и сосуды.



Ширина изображения: 156,61 мкм, высота: 156,61 мкм, глубина: 22,50 мкм

Красный: Fucci mk02/раковая клетка  
Зеленый: Fucci mAG/ раковая клетка  
Голубой: SHG/ коллагеновое волокно  
Фиолетовый: Qtracker655/ неоваскулярные сосуды

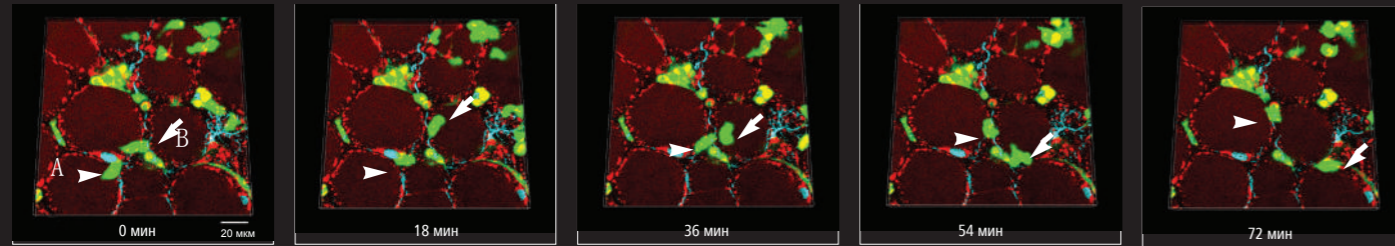
Объектив: CFI Plan Fluor 20x A MI  
Длина волны возбуждения: 940 нм

Фотография сделана при поддержке:  
Доктора Масару Ишии (Masaru Ishii), Передовой исследовательский центр иммунологии, Осацкий университет

### Получение динамических изображений гранулоцитов в жировых тканях живых организмов

Наблюдение за эпидидимальными жировыми тканями мыши (при помощи LysM-EGFP) производилось с использованием прижизненной мультифотонной микроскопии.

Были визуализированы гранулоциты вокруг жировых клеток. Изображения с временным интервалом показывают перемещения гранулоцитов. (стрелка-указатель: гранулоцит А, стрелка: гранулоцит В)



Ширина изображения: 159,10 мкм, высота: 159,10 мкм, глубина: 8,00 мкм

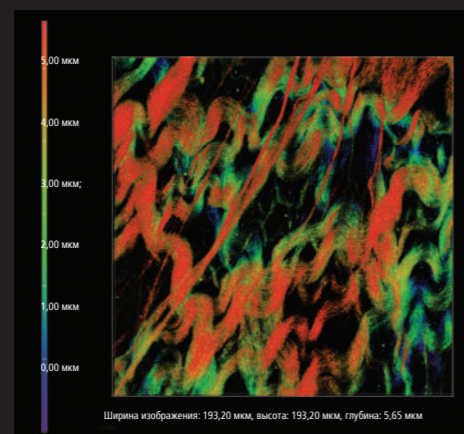
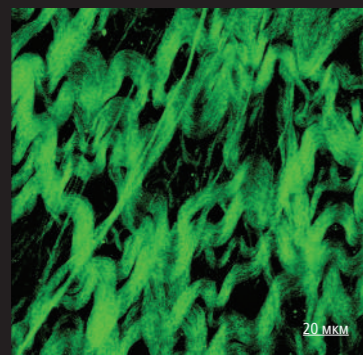
Красный: WODIPY/жировые капли  
Зеленый: EGFP/ гранулоцит  
Голубой: Hoechst/ ядро и SHG/ коллагеновое волокно

Фотография сделана при поддержке Юичи Кикута (Junichi Kikuta), Шоко Яасуда (Soko Yasuda) и доктора Масару Ишии (Masaru Ishii), Лаборатория клеточной динамики, Передовой исследовательский центр иммунологии, Осацкий университет

Объектив: CFI Апохромат LWD 40x WI λS  
Длина волны возбуждения: 920 нм

### Получение изображений структуры шва мышцы стенки толстой кишки при помощи генерации второй гармоники (SHG)

Стенка толстой кишки мыши исследовалась в направлении от серозной к слизистой оболочке. Структура шва мышечных волокон стенки толстой кишки четко визуализирована при помощи генерации второй гармоники. Слева - проекция максимальной интенсивности, рассчитанная по Z срезам. Справа - трехмерное отображение с использованием псевдоцвета.



Ширина изображения: 193,20 мкм, высота: 193,20 мкм, глубина: 5,65 мкм

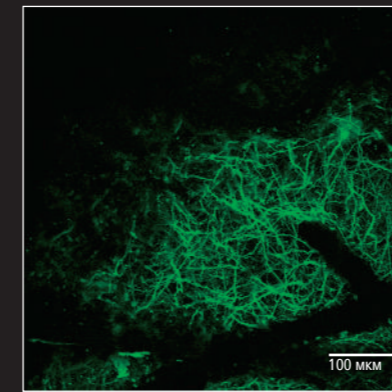
Генерация второй гармоники коллагенового волокна

Объектив: CFI Plan Fluor 20x A MI  
Длина волны возбуждения: 840 нм

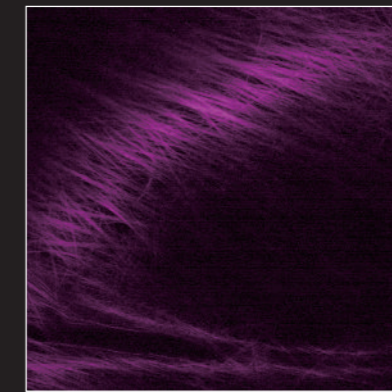
Фотография сделана при поддержке доктора Йошинори Кагава и доктора Масару Ишии (Masaru Ishii), Передовой исследовательский центр иммунологии, Осацкий университет

### SHG изображение поверхности мозга мыши

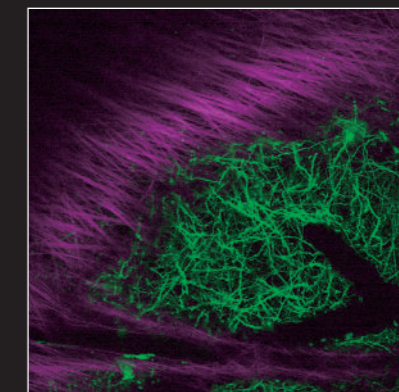
Кора головного мозга мыши в возрасте 5 недель исследовалась на линии N методом открытого черепа. Сигналы SHG твердой мозговой оболочки и флуоресцентные сигналы EYFP были получены одновременно при помощи NDD детектора.



Флуоресцентное изображение EYFP



SHG изображение твердой мозговой оболочки



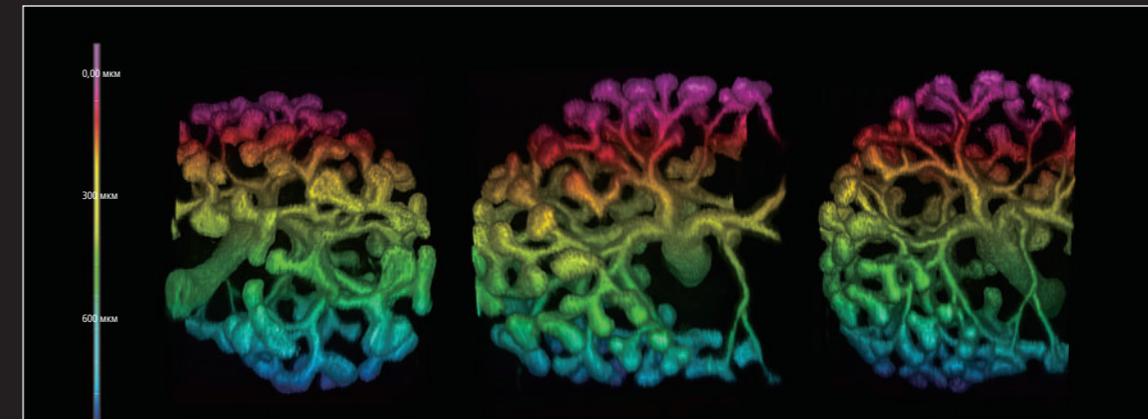
Наложение изображений

Длина волны возбуждения: 950 нм  
Объектив CFI75 Апохромат 25xW MP (числовая апертура - 1,10, рабочее расстояние - 2,0)

Фотография сделана при поддержке:  
Доктора Такеши Имамура (Takeshi Imamura), Медицинская аспирантура, Университет Эхимэ  
Доктора Юсуке Ошима (Yusuke Oshima), доктора Шигенори Нонака (Shigenori Nonaka), Национальный институт фундаментальной биологии  
Доктора Терумаса Хиби (Terumasa Hibi), доктора Рьосюке Каваками (Ryosuke Kawakami), доктора Томоми Немото (Tomomi Nemoto), Исследовательский институт электронных наук, Университет Хоккайдо

### Передача 3D изображений

Передача объемного изображения почки, отмеченной маркером Hoxb7/myrVenus (Chi et al, 2009 Genesis), используя псевдоцвета для различных глубин Z (предоцвет в зависимости от глубины - шаг 1 мкм, полная глубина 550 мкм).



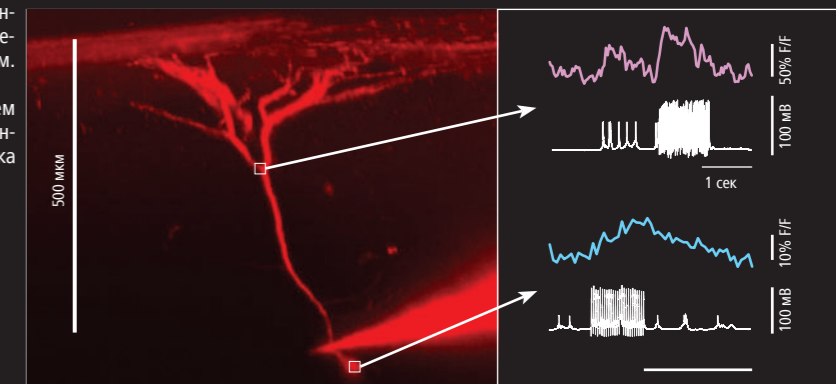
Объектив: CFI Апохромат 25xW MP, Увеличение сканера: 1x, Z-шаг: 1 мкм, длина волны возбуждения: 930 нм  
Разрешение: 1024x1024 пикселей, размер изображения: 460 мкм (длина) x 460 мкм (ширина) x 600 мкм (высота).

Фотография сделана при поддержке доктора Франка Костантини (Frank Costantini) и доктора Лизы Пон (Liza Pon), Медицинский центр Колумбийского университета, Нью-Йорк.

### Ca<sup>2+</sup> сигналы от пирамидальных нейронов слоя V

Слева, флуоресцентное изображение Alex 594 при двухфотонном возбуждении. Горизонтально-медиальная (ось x) и задне-вентральная (ось y) проекции были рассчитаны по 3D срезам. Сомы располагались на глубине более 500 мкм. Справа, изменение флуоресценции было вызвано действием потенциала. Oregon Green 488 BAPTA-1 был введен в сому и дендриты при помощи пэтч-пипетки. Длительность импульсов тока составила 500 мс или 1 сек.

Фотография сделана при поддержке доктора Сатоши Манита (Satoshi Manita) и доктора Масанори Мурайама (Masanori Murayama), Институт наук о мозге, Институт физико-химических исследований.





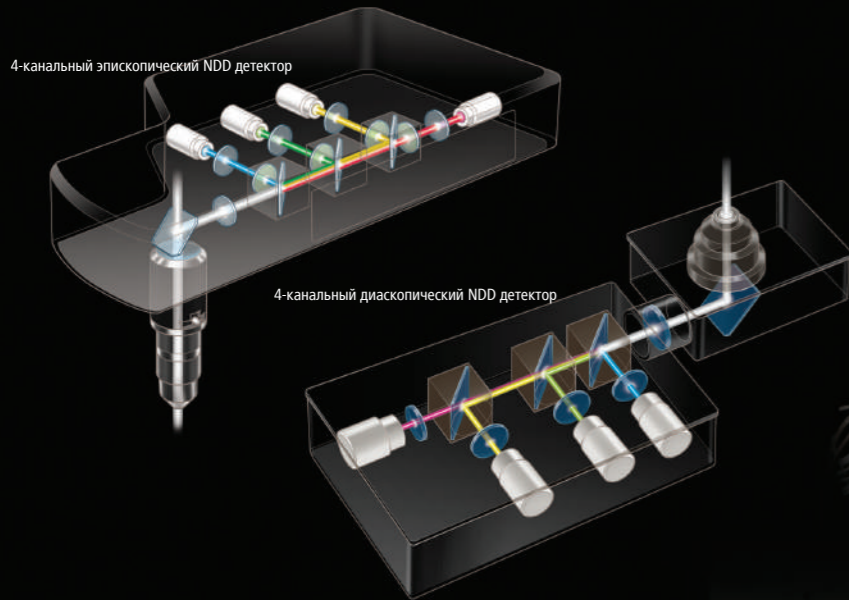
## A1 MP+/A1R MP+ обеспечивают получение самых прогрессивных мультифотонных изображений

### Стандартный NDD детектор

В случае мультифотонного возбуждения флуоресцентные излучения из глубоких тканей образца сильно рассеиваются, поэтому традиционный детектор использующий точечную диафрагму не может обеспечить получение ярких флуоресцентных изображений. Эпилюминесцентный NDD детектор в A1 MP+/A1R MP+ расположен близко к задней апертуре объектива, что обеспечивает более эффективную регистрацию рассеянного сигнала от глубоких слоев тканей живых организмов. Использование этого четырехканального детектора в сочетании со специальными спектральными зеркалами и алгоритмом спектрального разделения компании Nikon исключает наложение спектров флуоресцентных зондов. При этом исключается фоновая автофлуоресценция, что обеспечивает получение высококонтрастного изображения глубоких слоев образца.

При использовании диаскопического NDD детектора\* вместе с эпилюминесцентным NDD детектором можно получить более яркие изображения, благодаря регистрации как отраженных, так и прямых флуоресцентных сигналов.

\* Совместим с микроскопом Ni-E с фокусирующим револьвером



### Объективы Nikon с высокой числовой апертурой идеально подходят для получения мультифотонных изображений

Объективы с высокой числовой апертурой были разработаны для коррекции хроматической аберрации во всем диапазоне длин волн от ультрафиолетового до инфракрасного. Светопропускание повышается благодаря использованию эксклюзивной технологии Nikon Nano Crystal Coat.

В частности, линзы объектива CFI Апохромат 25xW MP обеспечивают самую высокую числовую апертуру равную 1,10, при этом сохраняя рабочее расстояние, равное 2,0 мм. Также предусмотрено кольцо, которое корректирует хроматическую аберрацию в зависимости от глубины образца. Конструкция объектива обеспечивает угол подвода пипетки манипулятора, равный 33°, делая его идеальным для получения мультифотонных изображений глубоких тканей и для применения в физиологических исследованиях.

Nano Crystal Coat – это эксклюзивная технология покрытия линз компании Nikon, в которой применяется несколько слоев наночастиц со сверхнизким показателем преломления, созданная при разработке промышленного оборудования производящего полупроводники. Структура покрытия Nano Crystal Coat значительно снижает отражение от внешней поверхности линзы и увеличивает пропускание во всем диапазоне длин волн, создавая изображения с более высоким отношением сигнал/шум.



### Объективы

CFI75 Апохромат 25xW MP	Числовая апертура 1,10	Рабочее расстояние 2,0	Nano Crystal Coat
CFI Апохромат LWD 40xWI 1.15	Числовая апертура 1,15	Рабочее расстояние 0,6	Nano Crystal Coat
CFI Апохромат 40xWI 1.25	Числовая апертура 1,25	Рабочее расстояние 0,18	Nano Crystal Coat
CFI Plan Апохромат IR 60xWI	Числовая апертура 1,27	Рабочее расстояние 0,17	Nano Crystal Coat

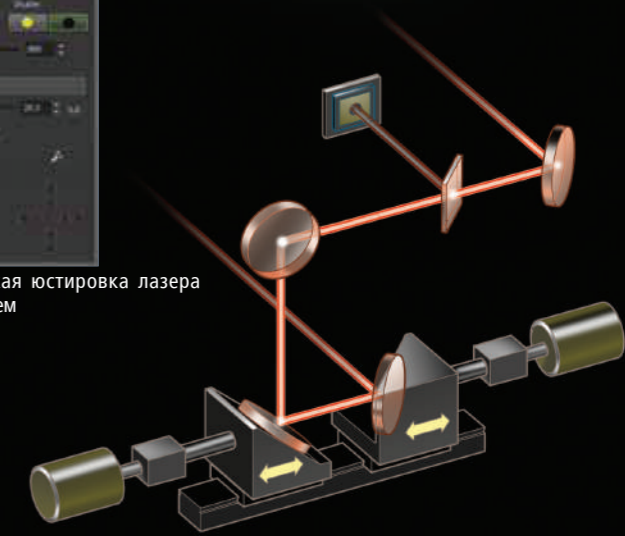
### Автоматическая юстировка лазера при изменении длины волны при мультифотонном возбуждении

При изменении длины волны лазера или предварительной компенсации дисперсии групповой скорости положение лазерного луча на задней апертуре объектива может также изменяться, что приводит к неравномерной яркости изображений или к небольшому несовпадению путей инфракрасного и видимого лазерного излучения.

Юстировка лазерного луча обычно является сложной задачей. Благодаря функции автоматической юстировки лазера в A1 MP+ компании Nikon предусмотренной в оптическом блоке для мультифотонного возбуждения, юстировка ИК лазера выполняется автоматически одним нажатием кнопки в NIS-Elements S.



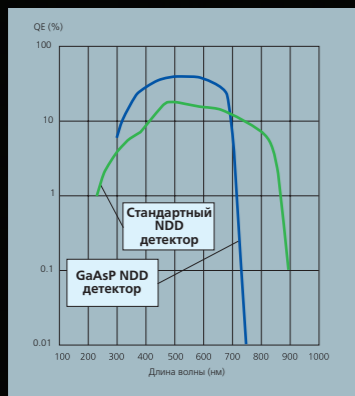
Автоматическая юстировка лазера одним нажатием



### Сверхчувствительный NDD детектор на основе арсенида-фосфида галлия (GaAsP)

Чувствительность недавно разработанного GaAsP NDD детектора\* почти в 2 раза превосходит чувствительность стандартного NDD детектора и позволяет получать четкие изображения более глубоких тканей живых образцов. Это обеспечивает более быстрое формирование изображений и формирование более качественных изображений из Z-стэков. Высокая чувствительность детектора обеспечивает получение флуоресцентных сигналов при меньшей мощности лазера, что позволяет уменьшить наносимый живым клеткам вред.

\* Совместим с микроскопом с неподвижным предметным столиком FN1





## Два типа сканирующих головок обеспечивают высокоскоростное получение изображений высокого качества

A1 MP+ оборудован гальвано- (не резонансным) сканером для получения изображений высокого разрешения.

A1R MP+ оснащен комбинированной сканирующей головкой, в которую встроены как гальвано-, так и сверхскоростной резонансный сканеры. A1R MP+ обеспечивает получение изображений и фотоактивацию на высоких скоростях необходимых для выявления клеточной динамики и взаимодействия.

### Получение изображений с высоким разрешением

A1 MP+ A1R MP+

Гальвано-сканер A1 MP+/A1R MP+ обеспечивает получение изображений с высоким разрешением до 4096 x 4096 пикселей. Кроме того, благодаря недавно разработанной системе привода сканера в сочетании с уникальной технологией корректировки изображений компании Nikon стало возможным получать изображения со скоростью 10 кадров/сек (512x512 пикселей).

1D сканирование	5 200 строк в секунду
2D сканирование	130 кадров/сек (512 x 32 пикселей)
Сканирование полного кадра	10 кадров/сек (512 x 512 пикселей)



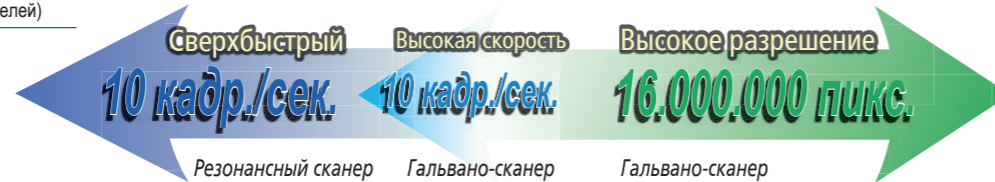
### Сверхбыстрое получение изображений

A1R MP+

Комбинированная сканирующая головка A1R MP+ снабжена и гальвано-сканером и резонансным сканером со сверхвысокой резонансной частотой равной 7,8 кГц.

Она обеспечивает получение изображений и фотоактивацию со скоростью 420 кадров/сек (512 x 32 пикселей), которая является самой высокой скоростью в мире.

1D сканирование	16 600 строк в секунду
2D сканирование	420 кадров/сек (512 x 32 пикселей)
Сканирование полного кадра	30 кадров/сек (512 x 512 пикселей)



### Стабильное сверхбыстрое получение изображений

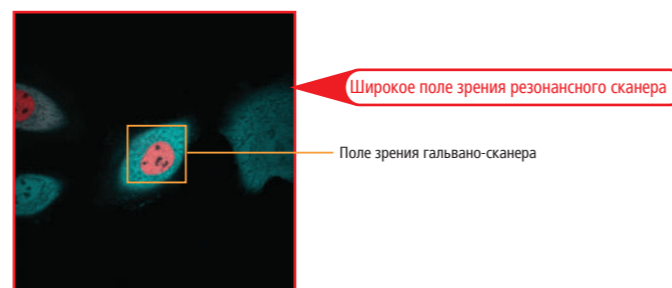
Оригинальный метод генерации тактовых импульсов компании Nikon используется для получения изображений на высокой скорости при помощи резонансного сканера. Стабильные тактовые импульсы генерируются оптически, что обеспечивает получение четких и высококонтрастных изображений даже на высоких скоростях.

### Высокоскоростная передача данных при помощи волоконно-оптической связи

Высокоскоростная передача данных при помощи волоконно-оптической связи. Система передачи данных при помощи волоконно-оптической связи может передавать данные со скоростью максимум 4 Гб/сек. Это позволяет осуществлять передачу данных изображения (512 x 512 пикселей, 16 бит) по пяти каналам на скорости 30 кадров/сек.

### Широкое поле зрения

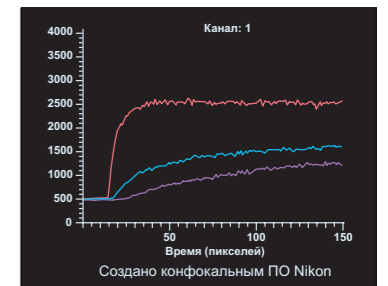
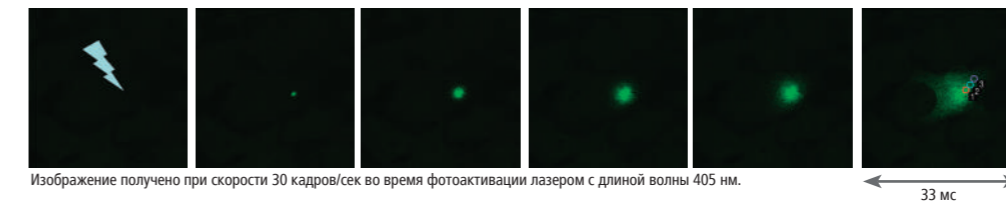
Резонансные сканеры не подвержены перегреву при получении изображений на высоких скоростях, поэтому нет необходимости уменьшать поле зрения сканируемого изображения для предотвращения перегрева.



### Одновременная фотоактивация и получение изображений

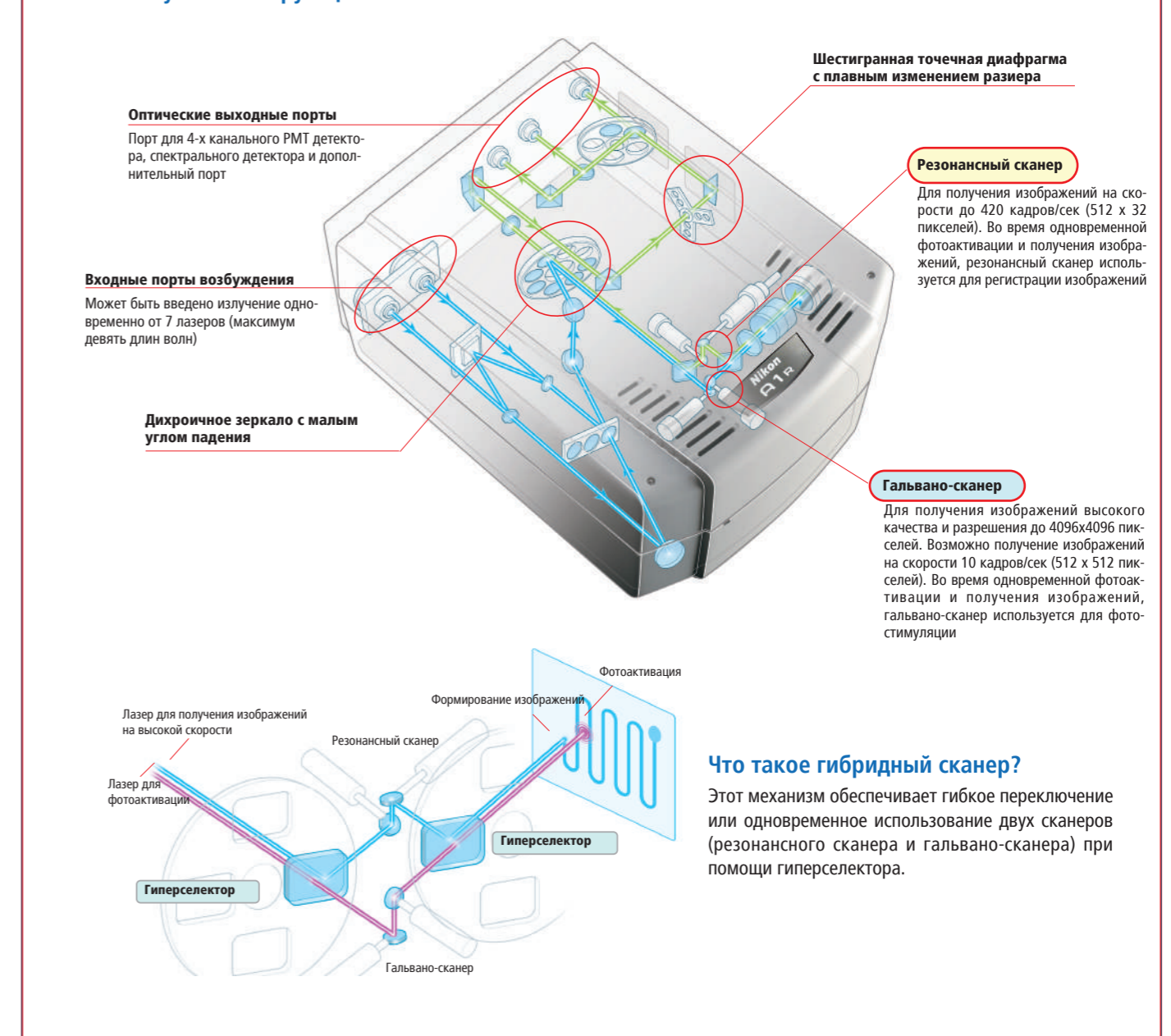
Одновременные процессы фотоактивации и получения флуоресцентных изображений проводятся при помощи гальвано-сканера и резонансного сканера. Получение изображений быстрых биологических процессов после фотоактивации возможно благодаря тому, что резонансный сканер способен получать изображения со скоростью 30 кадров/сек.

Высокоскоростное получение изображений процесса фотоактивации



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

### Оптический путь в сканирующей головке A1R MP+



### Что такое гибридный сканер?

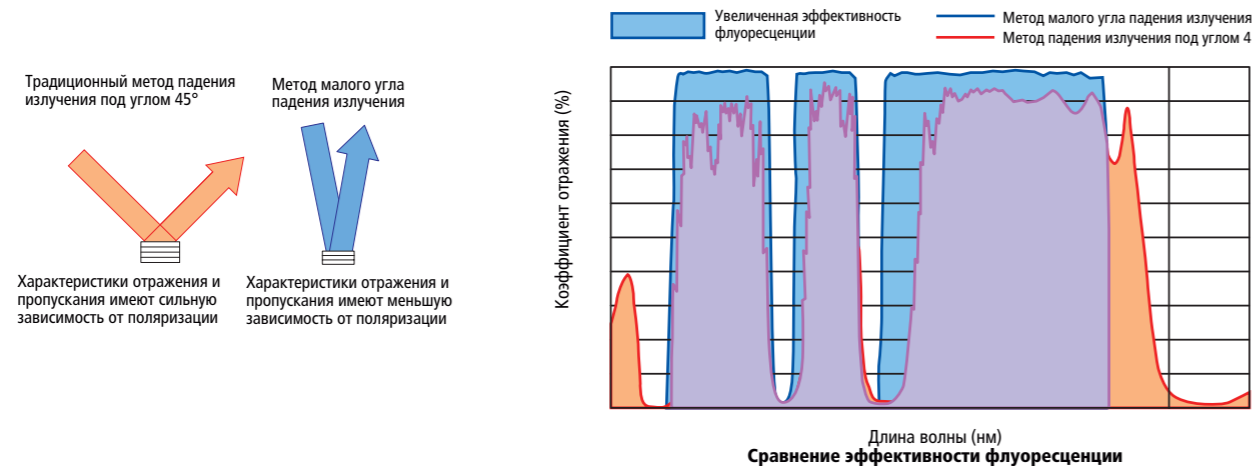
Этот механизм обеспечивает гибкое переключение или одновременное использование двух сканеров (резонансного сканера и гальвано-сканера) при помощи гиперселектора.

## Ключевые инновации компании Nikon для улучшения качества изображений

Наилучшее качество изображений достигается благодаря увеличенной светочувствительности, достигаемой в результате комплексных технологических инноваций в электронике, оптике и программном обеспечении.

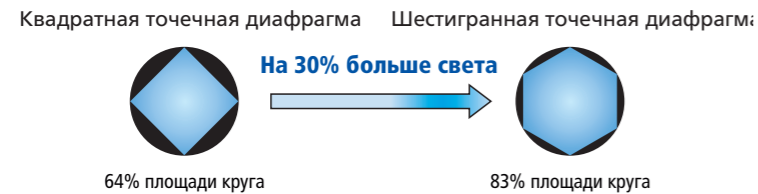
### Дихроичное зеркало с малым углом падения излучения обеспечивает увеличение эффективности флуоресценции на 30%

В микроскопах серии A1 MP+ впервые применен инновационный метод малого угла падения излучения на дихроичные зеркала, что обеспечивает увеличение эффективности флуоресценции на 30%.



### Более яркие изображения при использовании шестигранной точечной диафрагмы с плавным изменением размера

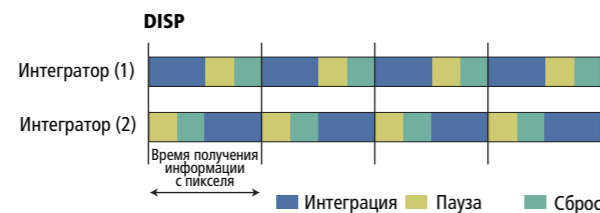
Вместо квадратного отверстия с плавным изменением размера, здесь впервые используется шестигранная диафрагма, благодаря этому достигается более высокая яркость, эквивалентная яркости идеально круглого точечного отверстия.



Изображение Zebrafish, помеченной четырьмя зондами (полученное при помощи гальвано-сканера)  
Ядро (синее): Hoechst33342, Зрачок (зеленый): GFP, Нерв (желтый): Alexa555, Мышцы (красный): Alexa647 Фотография сделана при поддержке доктора Казуки Хорикава (Kazuki Horikawa) и профессора Такехару Нагаи (Takeharu Nagai), Исследовательский институт электронных наук, Университет Хоккайдо

### DISP улучшает эффективность обработки сигнала

Оригинальная технология двойной интегрированной обработки сигнала (DISP) компании Nikon была внедрена в цикл обработки изображений для улучшения эффективности и предотвращения потерь сигнала, в то время как цифровой преобразователь обрабатывает пиксельные данные и обеспечивает возврат в исходное состояние. Сигнал отслеживается в течение всего времени приема информации с пикселя, что приводит к исключительно высокому отношению сигнал/шум.



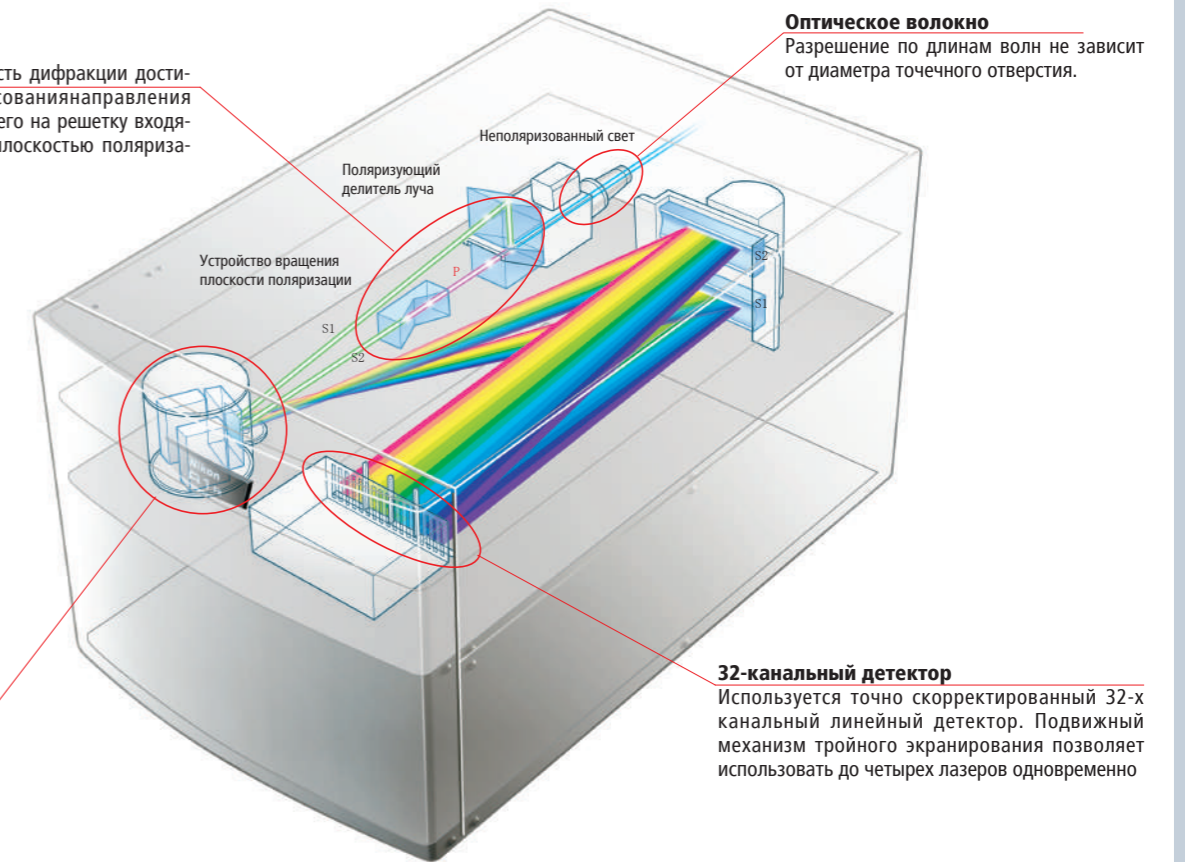
Два интегратора работают параллельно во время считывания информации, что позволяет избежать пропусков

## Улучшенный спектральный детектор

Конфокальный микроскоп A1 MP+ компании Nikon позволяет получать спектральные изображения на высоких скоростях за одно сканирование. Кроме того, предусмотрены расширенные функции, включая спектральное разделение в режиме реального времени.

### Система DEES

Высокая эффективность дифракции достигается путем согласования направления поляризации падающего на решетку входящего излучения с S-плоскостью поляризации



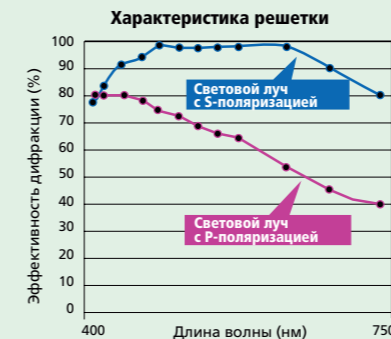
### Дифракционные решетки

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.

### Получение высококачественных спектральных данных

#### 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



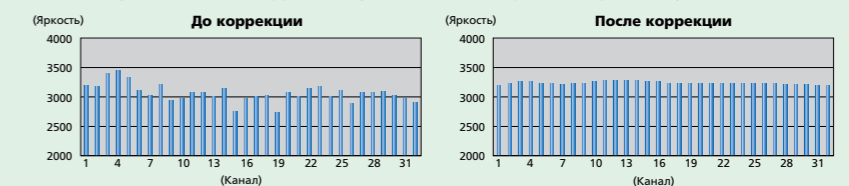
#### Технология высокоэффективного пропускания флуоресценции

Концы флуоресцентных световодов и поверхности детектора покрыты специальным противотражающим 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.

#### Мульти-анодная коррекция чувствительности фотозлектронного умножителя





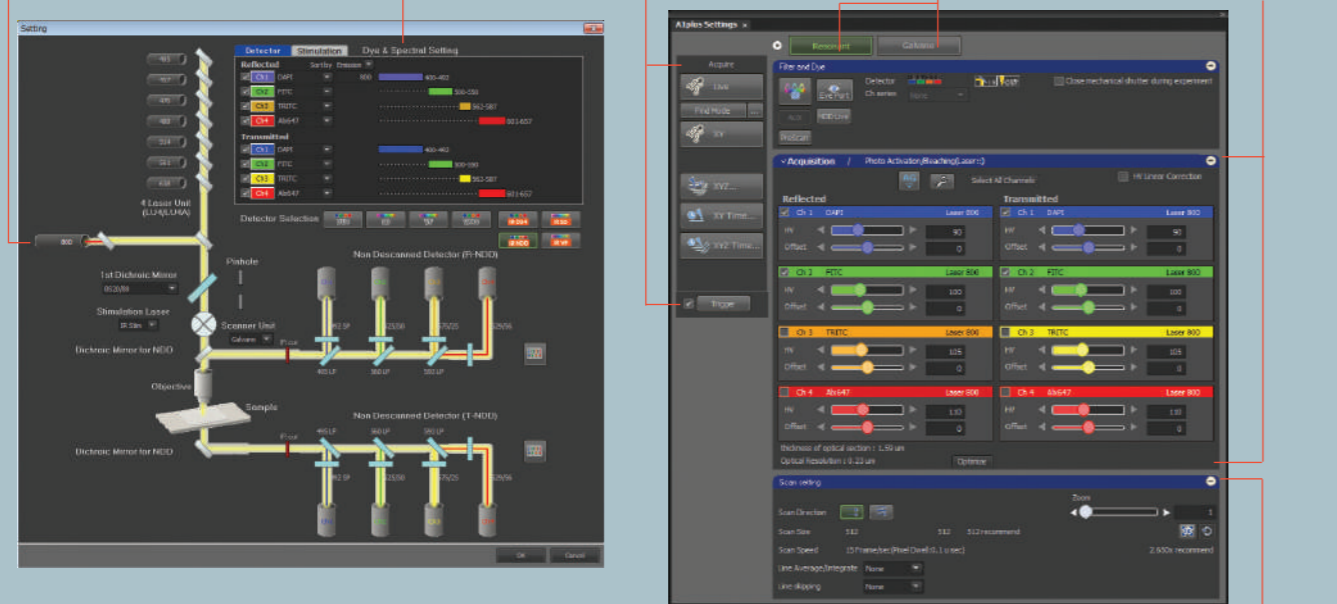
# Интуитивно понятное, легкое в использовании программное обеспечение для получения мультифотонных изображений

## Программное обеспечение NIS-Elements C предназначено для обработки и анализа изображений

### Обычные операции, выполняемые конфокальными микроскопами Nikon

- Все необходимые операции по регистрации изображений отображаются в одном окне.
- Лазеры и детекторы, регистрирующие флуоресценцию от возбуждения лазером видимого диапазона, легко переключаются путем выбора флуоресцентного зонда.
- Переключение между высокоскоростным резонансным сканером и гальвано-сканером (не резонансным) для высокого разрешения осуществляется одним нажатием кнопки.
- Предусмотрена одновременная фотоактивация и высокоскоростное получение изображений при помощи возбуждения лазером видимого диапазона.

Мультифотонный лазер Детектор, регистрирующий мультифотонное излучение Переключатель режима регистрации изображений Переключатель резонансного сканера/гальвано-сканера Контроллер чувствительности

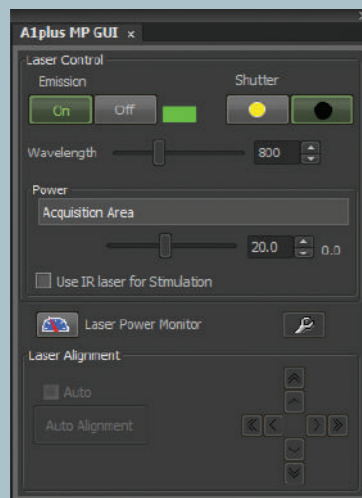


Контроллер режима сканирования

### Функции для получения мультифотонных изображений высокого качества

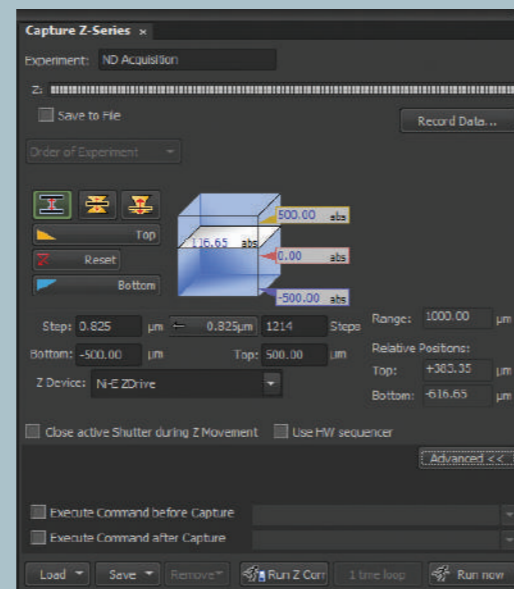
#### Функция автоматической юстировки лазера

В случае изменения длины волны возбуждения юстировка ИК лазера осуществляется одним нажатием кнопки.



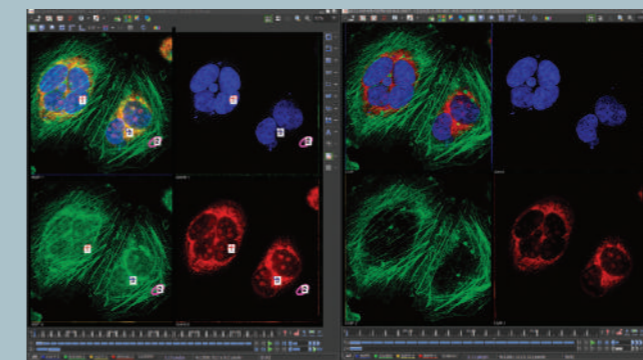
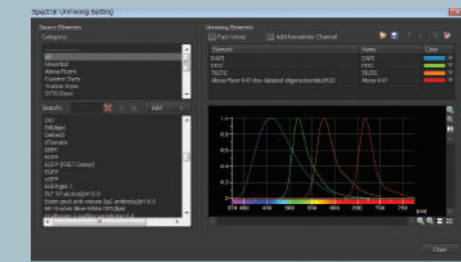
#### Функция контроля интенсивности Z

Пользователи могут выбрать мощность лазера и коэффициент усиления ФЭУ при получении Z-стэков при помощи функции контроля интенсивности Z. Таким образом, даже при формировании изображений плотных и толстых образцов, интенсивность излучения будет оставаться постоянной.

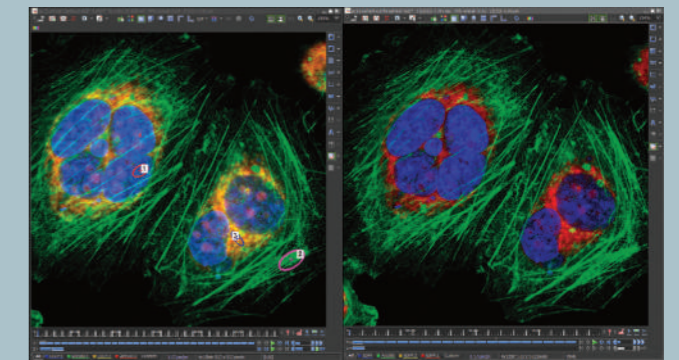


### Функция разделения каналов

Функция разделения каналов компании Nikon позволяет регистрировать/получать излучения одновременно от нескольких фотомножителей NDD детекторов, используя одну длину волны возбуждения ИК лазера NDD и разделять перекрывающиеся спектры/предотвращать наложение спектров.



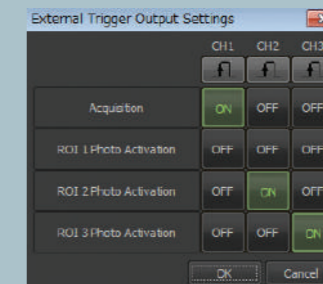
Одновременное получение трехцветного флуоресцентного изображения при помощи импульсного ИК возбуждения, 850 нм, (слева: до разделения, справа: после разделения)



Разделение каналов снижает перекрестные помехи (слева: до разделения, справа: после разделения)

### Функция запуска

Микроскоп A1 MP+/A1R MP+ и программное обеспечение NIS Elements C поддерживают запуск приложений предназначенных для синхронизации интервала и времени сканирования с регистрацией электрофизиологических данных, а также для внешнего запуска сканирования.

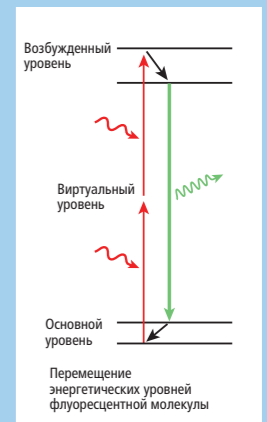
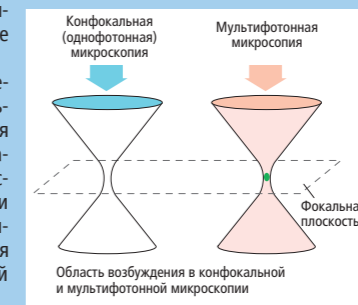


### Принцип мультифотонного возбуждения

Когда одна флуоресцентная молекула поглощает одновременно два фотона (двухфотонное возбуждение), эффективность возбуждения пропорциональна квадрату интенсивности возбуждающего излучения. Чтобы добиться мультифотонного возбуждения, используется импульсное излучение с высокой плотностью фотонов или интенсивности. Так как лазерное излучение представляет собой очень короткие (фемтосекунды) импульсы и достигает фокальной точки после прохождения через объектив, вероятность одновременного поглощения двух фотонов становится достаточно высокой.

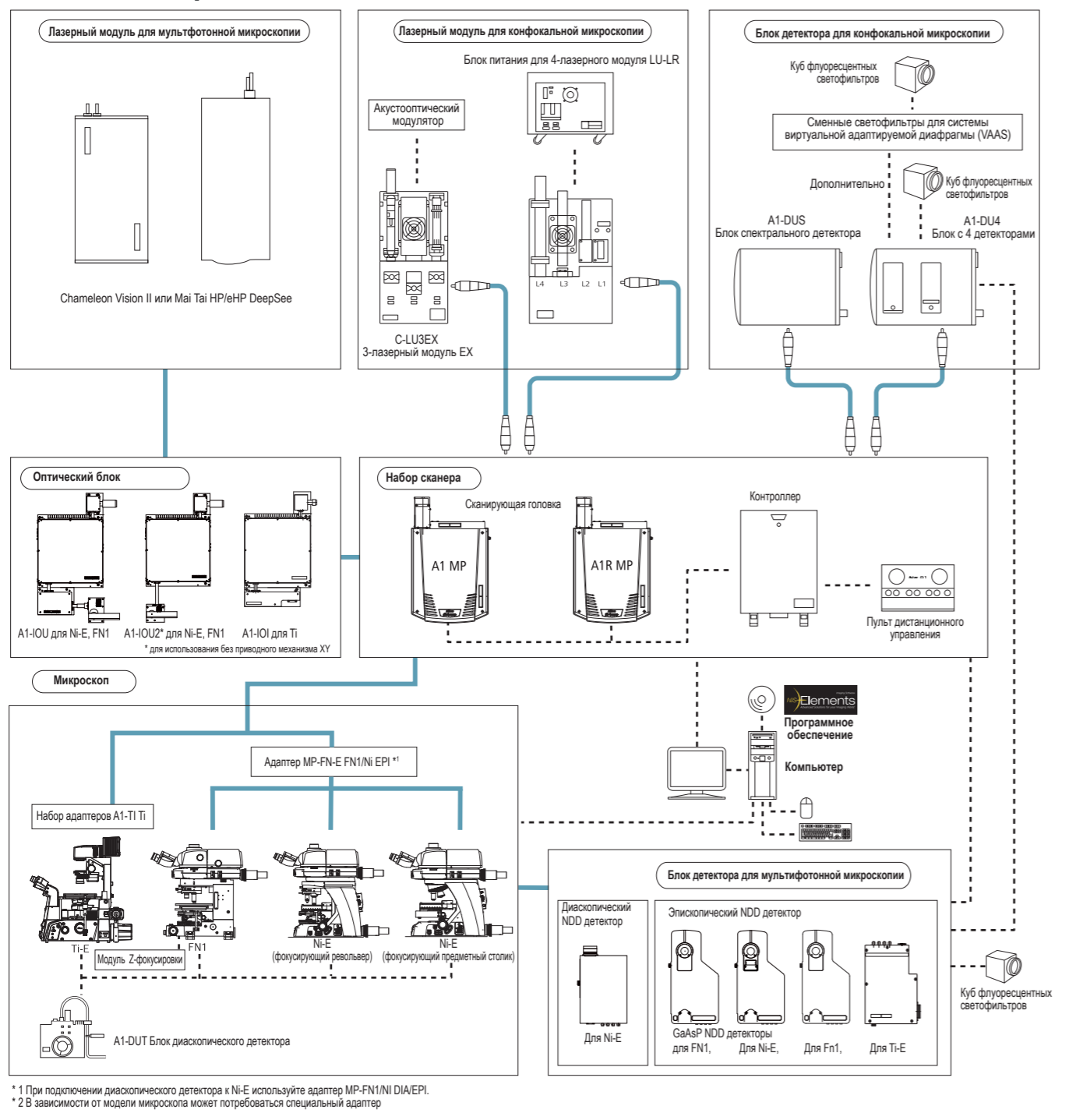
В случае двухфотонного возбуждения эффективность возбуждения снижается обратно пропорционально четвертой степени расстояния от фокальной плоскости. В результате только флуоресцентные молекулы расположенные в пределах объема ограниченного дифракционным пределом объектива возбуждаются и могут флуоресцировать. Этот принцип позволяет использовать NDD детекторы где для достижения конфокальных результатов не требуется точная диафрагма. При прохождении через образец инфракрасное излучение поглощается и рассеивается меньше, чем видимые длины волн, поэтому возбуждающее излучение может легче проникать в глубокие слои ткани.

Так как двухфотонное возбуждение сильно ограничено дифракционным пределом фокального объема, исключается необходимость использования конфокальной точечной диафрагмы для устранения попадания флуоресцентного излучения из плоскостей вне фокуса на детектор. Таким образом, обеспечивается минимизация фотоповреждений образцов и создаются условия для регистрации флуоресцентного излучения от живых образцов. При использовании NDD детектора и системы предварительной компенсации дисперсии групповых скоростей, встроенной в мультифотонный лазер, можно получать флуоресцентные изображения более глубоких слоев ткани образцов, используя стандартный конфокальный метод.





## Системная диаграмма



## Фемтосекундные импульсные лазеры

Когда импульсное излучение, длительностью около 100 фемтосекунд, проходит через оптику микроскопа (например, объектив), длительность импульса увеличивается из-за дисперсии групповых скоростей (изменение скорости при прохождении через стеклянную подложку), вызывая снижение пиковой мощности. Чтобы предотвратить снижение пиковой мощности импульса, в фемтосекундных импульсных лазерах для мультифотонной микроскопии компании Nikon предусмотрены механизмы предварительной компенсации дисперсии групповых скоростей, которые восстанавливают исходную длительность импульса в образце. Механизмы предварительной компенсации были оптимизированы для оптической системы Nikon. Это позволяет получать яркие флуоресцентные изображения глубоких слоев ткани образцов при минимальной мощности лазера.



Mai Tai HP/eHP DeepSee, Newport Corp., Отдел по спектрально-физическим лазерам (Технические характеристики Nikon)



Chameleon Vision II, Coherent Inc. (Технические характеристики Nikon)

## Технические характеристики

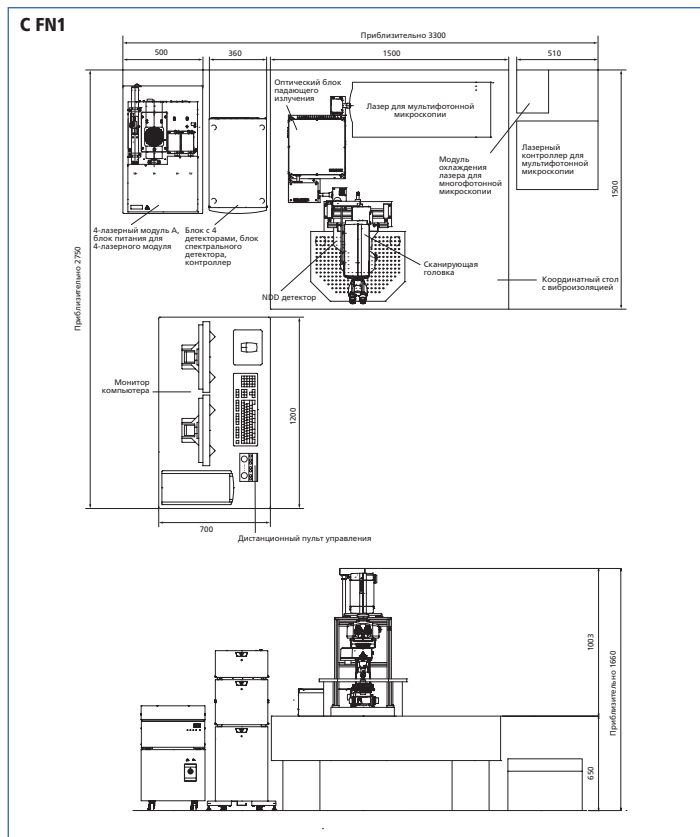
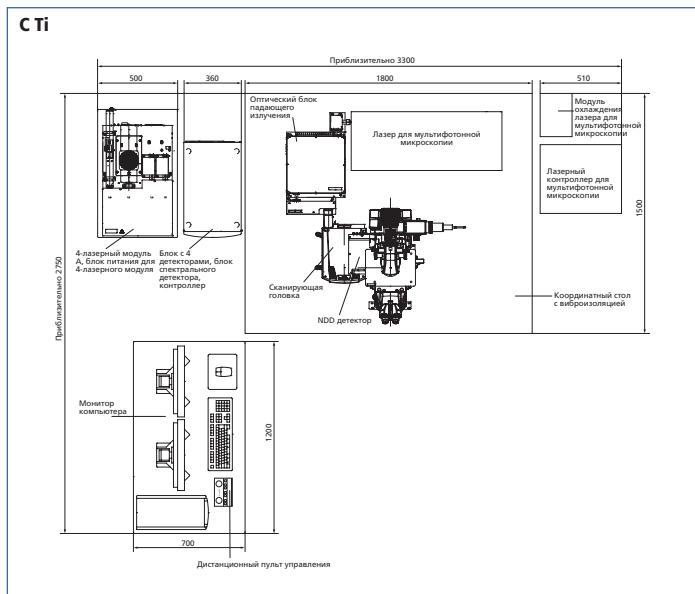
	A1 MP*	A1R MP*
Порт ввода/вывода	3 порта ввода лазерного излучения 4 порта вывода сигнала для 4-х канального детектора, спектрального детектора, системы VAAS (дополнительно) и дополнительного детектора (FCS/FCSS/FLIM)	
Лазер для мультифотонной микроскопии	Совместимый лазер Модуляция Управление: регулирование мощности, обратная маска, установка экспозиции в изучаемой области	Mai Tai HP/eHP DeepSee (Newport Corp.) Chameleon Vision II (Coherent Inc.) Метод: Акустооптический модулятор 700-1000 нм, автоматическая юстировка
Лазер для конфокальной микроскопии (дополнительно)	Совместимый лазер Модуляция Лазерный блок	405 нм, 440/445 нм, 488 нм, 561/594 нм, 638/640 нм, Ar лазер (457 нм, 488 нм, 514 нм), HeNe лазер (543 нм) Метод: акусто-оптический настраиваемый фильтр или акустооптический модулятор Управление: регулирование мощности для каждой длины волны, обратная маска, установка экспозиции в изучаемой области Стандартный: LU4A 4-лазерный модуль A или C-LU3EX 3-лазерный модуль EX Дополнительно: C-LU3EX 3-лазерный модуль EX (если в качестве стандартного лазерного модуля выбран 4-лазерный модуль)
Детектор, не требующий десканирования, (NDD) для мультифотонной микроскопии	Длина волны Детектор Куб флуоресцентных фильтров Тип детектора	400-650 нм 4 ФЭУ Куб флуоресцентных фильтров, используемый для микроскопа Рекомендуемые наборы фильтров для мультифотонной микроскопии: 492SP, 525/50, 575/25, 629/53, DM458, DM495, DM511, DM560, DM593 Эпископический NDD детектор (для Ni-E/FN1/Ti-E) Диакопический NDD детектор (для Ni-E) Эпископический GaAsP NDD детектор (для FN1)
Стандартный флуоресцентный детектор (дополнительно)	Длина волны Детектор Фильтрующий блок	400-750 нм (400-650 нм для мультифотонного наблюдения) 4 ФЭУ 6 кубов флуоресцентных фильтров, используемых для микроскопов, устанавливаемых на каждом из трех колес Рекомендуемые длины волн для мультифотонного/конфокального наблюдения: 450/50, 482/35, 515/30, 525/50, 540/30, 550/49, 585/65, 595/50, 700/75
Диакопический детектор (дополнительно)	Длина волны Детектор	440-645 нм 4 ФЭУ
Поле зрения	Квадрат, вписанный в круг диаметром 18 мм	
Битовая глубина изображения	4096 уровней серого цвета (12 бит)	
Сканирующая головка	Стандартное получение изображений	Сканер: гальвано-сканер x2 Размер: макс. 4096 x 4096 пикселей Скорость сканирования: Стандартный режим: 2 кадра/сек. (512 x 512 пикселей, в 2 направлениях), 24 кадров/сек. (512 x 32 пикселей, в 2 направлениях) Быстрый режим: 10 кадров/сек. (512 x 512 пикселей, в 2 направлениях), 130 кадров/сек. (512 x 32 пикселей в 2 направлениях)*1 Увеличение: 1-1000x плавно регулируемое Режим сканирования: вращение X-Y, X-T, X-Z, XY, линейный
Получение изображений на высокой скорости	Сканер: резонансный сканер (X-ось, резонансная частота 7,8 кГц), гальвано-сканер (Y-ось) Размер: макс. 512 x 512 пикселей Скорость сканирования: 30 кадров/сек. (512 x 512 пикселей) до 420 кадров/сек. (512 x 32 пикселей), 15,600 строк/сек Увеличение: 7 шагов (1x, 1.5x, 2x, 3x, 4x, 6x, 8x) Режим сканирования: X-Y, X-T, X-Z Метод получения изображений: стандартный метод получения изображений, получение изображений на высокой скорости, одновременная фотоактивация и получение изображений	
Дихроичное зеркало	Метод падения под малым углом Положение: 8 Стандартный фильтр: 405/488, 405/488/561, 405/488/561/638, 400-457/514/IR, 405/488/543/638, BS20/80, IR, 405/488/561/IR	
Точечная диафрагма	12-256 мкм, изменяемая	
Спектральный детектор (с гальваносканером) (дополнительно)	Диапазон регистрируемых длин волн Количество каналов Скорость получения спектрального изображения	400 нм-750 нм (400 нм-650 нм в случае мультифотонной микроскопии) 32 канала 4 кадров/сек (256 x 256 пикселей), 1000 строк в секунду
Разрешение длины волны	80 нм (2,5 нм), 192 нм (6 нм), 320 нм (10 нм) Диапазон длины волны изменяется с шагом 0,25 нм	
Разделение	Быстрое разделение, точное разделение	
Совместимость с микроскопами	Инвертированный микроскоп ECLIPSE Ti-E, микроскоп с неподвижным предметным столиком ECLIPSE FN1, прямой микроскоп (с фокусирующей револьвер/с фокусирующей предметного столика) ECLIPSE Ni-E	
Шаг Z	Ti-E: 0,025 мкм, FN1 шаговый двигатель: 0,05 Ni-E: 0,025 мкм	
Дополнительно	Механический предметный столик XY (для Ti-E/Ni-E), Высокоскоростной столик Z (for Ti-E), высокоскоростная система позиционирования пьезоактивна (для FN1/Ni-E), система VAAS	
Программное обеспечение	Отображение /формирование изображения Формат изображения Применение	2D анализ, объемная 3D визуализация / ортогональное отображение, 4D анализ, спектральное разделение JP2, JPG, TIFF, BMP, GIF, PNG, ND2, JFF, JTF, AVI, ICS/IDS Восстановление флуоресценции после фотообесцвечивания, затухание флуоресценции в обесцвеченных изображениях, резонансный перенос энергии флуоресценции, фотоактивация, трехмерная серийная съемка с временным интервалом, многопозиционная съемка с временным интервалом, колокализация
Управляющий компьютер	ОС ЦП Память Жесткий диск Передача данных Сетевой интерфейс Монитор	Microsoft Windows®7 Professional 64 бита, однопроцессорный (японский/ английский) Intel Xeon X5672 (3,20 ГГц/8 МБ/1333 МГц/ Четырехядерный) или выше 12 Гб (2 Гб x 3 + дополнительные 2 Гб x3) 300 Гб интерфейс SAS (15 000 об/мин.) x2, RAID (диск массив) 0 настройка Специальная передача данных I/F (интерфейс) 10/100/1000 Gigabit Ethernet 1600 x 1200 или более высокое разрешение, рекомендуется настройка двойного монитора
Координатный стол с виброизоляцияй	Рекомендуется 1800 (ш) x 1500 (г) мм или 1500 (ш) x 1500 (г) мм	

\*1 Быстрый режим совместим с режимами 8-1000x. увеличения и сканирования X-Y и X-T. Он не совместим с режимами вращения, свободной линии, обрезания, экспонирования в заданной области, формирования спектральных изображений, стимуляции, микроскопии с контролируемой экспозицией и визуализацией времени жизни флуоресценции



# Рекомендуемое расположение

Единицы измерений: мм



## Условия работы

- Температура: от 20°C до 25°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ), круглосуточное кондиционирование воздуха
- Влажность: 75% (относительная влажность) или менее, без образования конденсата
- Темное помещение или защита микроскопа от света

## Источник питания

Многофотонная система	Многофотонная система (набор сканеров, лазерный блок)	120 В АС (переменный ток)	6,7 А
	Компьютерный блок	120 В АС	12,2 А
Лазер	Аргонный лазер (457 нм, 488 нм, 514 нм)	120 В АС	12,5 А
	Кроме аргонного лазера (456 нм, 488 нм, 514 нм)	120 В АС	6,8 А
		120 В АС	2,5 А
Микроскоп	Лазер для многофотонного микроскопа (лазер, водяной охладитель, прочее)	120 В АС	10,5 А
		220 В АС	6,7 А
		220 В АС	4,4 А
	Инвертированный микроскоп Ti-E с HUB-A и эпифлуоресцентным осветителем	120 В АС	4,4 А
		220 В АС	2,4 А

## Размеры и вес

Сканирующая головка	276 (Ш) x 163 (В) x 364 (Г) мм	Приблизительно 10 кг
Оптический блок при падении луча (A1-I0U)	363 (Ш) x 186 (В) x 676(Г) мм	Приблизительно 16 кг
Контроллер	360 (Ш) x 580 (В) x 600 (Г) мм	Приблизительно 40 кг
Блок с 4 детекторами	360 (Ш) x 199 (В) x 593.5 (Г) мм	Приблизительно 16 кг (Приблизительно 22 кг с системой VAAS)
Блок спектрального детектора	360 (Ш) x 323 (В) x 595 (Г) мм	Приблизительно 26 кг
Эпископический детектор, не требующий десканирования, NDD (для Ti-E)	206 (Ш) x 60 (В) x 262 (Г) мм	Приблизительно 5 кг
Эпископический детектор, не требующий десканирования, NDD (для FN1, Ni-E)	216 (Ш) x 112 (В) x 425 (Г) мм	Приблизительно 10 кг
Диаскопический детектор, не требующий десканирования, NDD (для Ni-E)	301 (Ш) x 66 (В) x 185 (Г) мм	Приблизительно 10 кг
Модуль с 4 лазерами	438 (Ш) x 301 (В) x 690 (Г) x мм	Приблизительно 43 кг (без лазера)
Блок питания для 4-лазерного модуля	438 (Ш) x 400 (В) x 800 (Г) x мм	Приблизительно 20 кг (без блока питания)
Модуль с 3 лазерами EX	365 (Ш) x 133 (В) x 702 (Г) x мм	Приблизительно 22 кг (без лазера)

В размеры не включены выступы

Технические характеристики и оборудование могут быть изменены без предварительного уведомления или каких-либо обязательств со стороны производителя.

Декабрь 2011 ©2010-11 NIKON CORPORATION

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** Чтобы обеспечить надлежащее использование оборудования, внимательно прочтите соответствующее руководство по эксплуатации

Изображения на мониторе были смоделированы. Некоторые примеры изображений в данной брошюре были созданы с использованием системы конфокальной микроскопии C1. Названия компаний или продуктов, упоминаемые в данной брошюре, являются зарегистрированными торговыми марками или товарными знаками их соответствующих правообладателей. NB Экспорт продуктов\*, описанных в этой брошюре, регулируется Японским законом о контроле за иностранной валютой и внешней торговле. В случае экспорта из Японии потребуются соблюдение соответствующих процедур. \* Продукты: аппаратное обеспечение и технические сведения о нем (включая программное обеспечение).



По закону о контроле за иностранной валютой и внешней торговле акустико-оптический настраиваемый фильтр, встроенный в блок с 4 лазерами, и акустооптический модулятор, встроенный в блок с 3 лазерами, относятся к контролируемым продуктам (включая, положения, применимые к контролируемым технологиям). Перед экспортом этой системы необходимо получить разрешение правительства и выполнить все необходимые процедуры.



## NIKON CORPORATION

Shin-Yurakucho Bldg., 12-1, Yurakucho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8331, Япония  
Телефон: +81-3-547-8500; +1-800-52-NIKON (только в пределах США)  
факс: +1-631-547-0306  
<http://www.nikon.com/instruments/>

## NIKON INSTRUMENTS INC.

1300 Walt Whitman Road, Melville, Нью-Йорк 11747-3064, США  
телефон: +1-631-547-8500; +1-800-52-NIKON (только в пределах США)  
факс: +1-631-547-0306  
<http://www.nikoninstruments.com/>

## NIKON INSTRUMENTS EUROPE B.V.

Laan van Kropenburg 2, 1183 Амстелвен, Нидерланды  
телефон: +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  
(Отделение в Пекине) телефон: +86-10-5831-2028 факс: +86-10-5831-2026  
(Отделение в Гуанчжоу) 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



Сертифицировано по ISO 9001  
NIKON CORPORATION Instruments Company  
(Компания по производству приборов)



Сертифицировано по ISO 14001  
NIKON CORPORATION

## NIKON UK LTD.

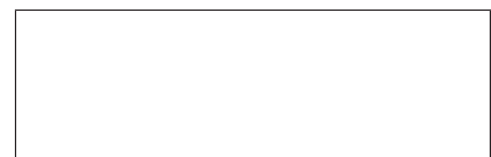
Телефон в ВЕЛИКОБРИТАНИИ: +44-208-247-1717 факс: +44-208-541-4584

## 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



Эта брошюра напечатана на вторично переработанной бумаге (содержание использованных материалов - 40%).