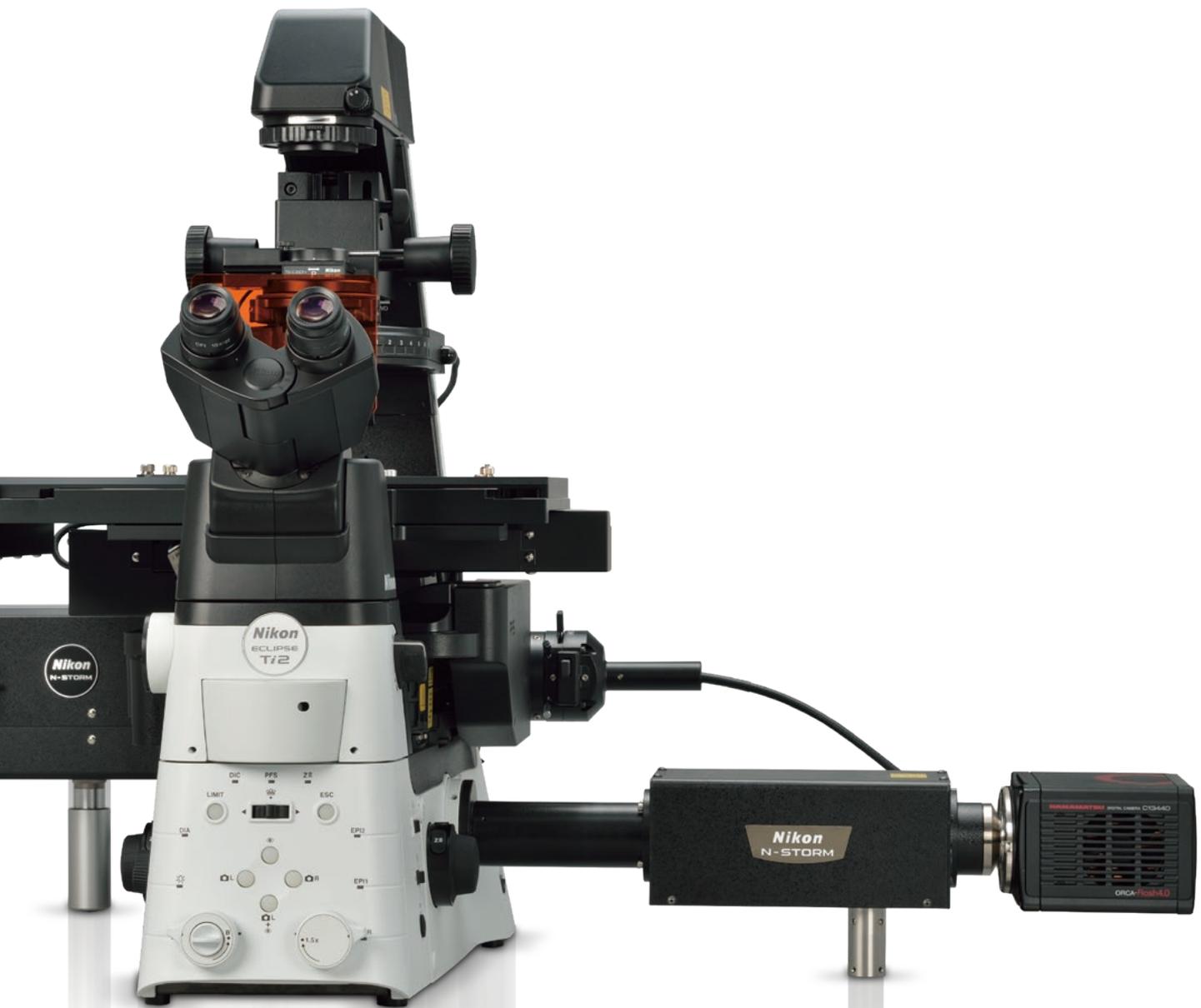




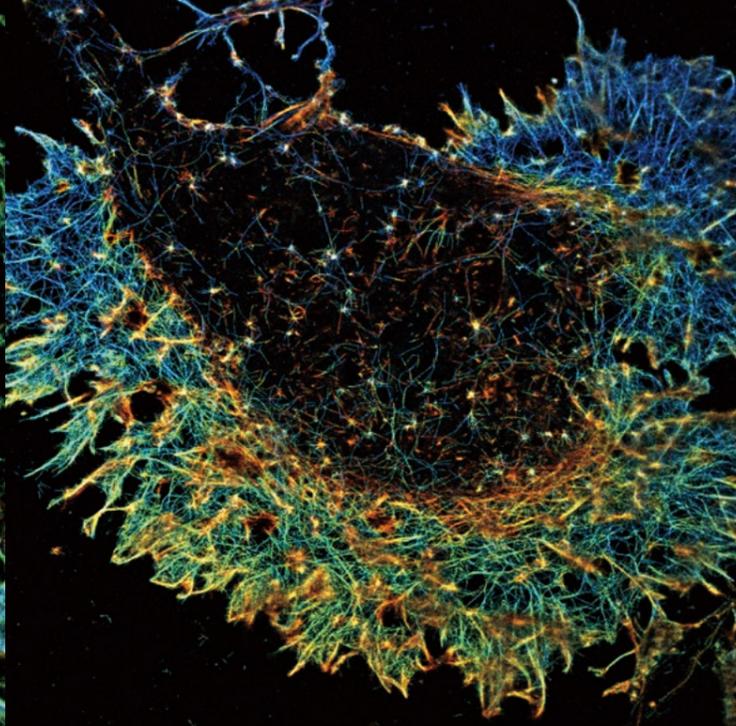
N-STORM

超解像顕微鏡

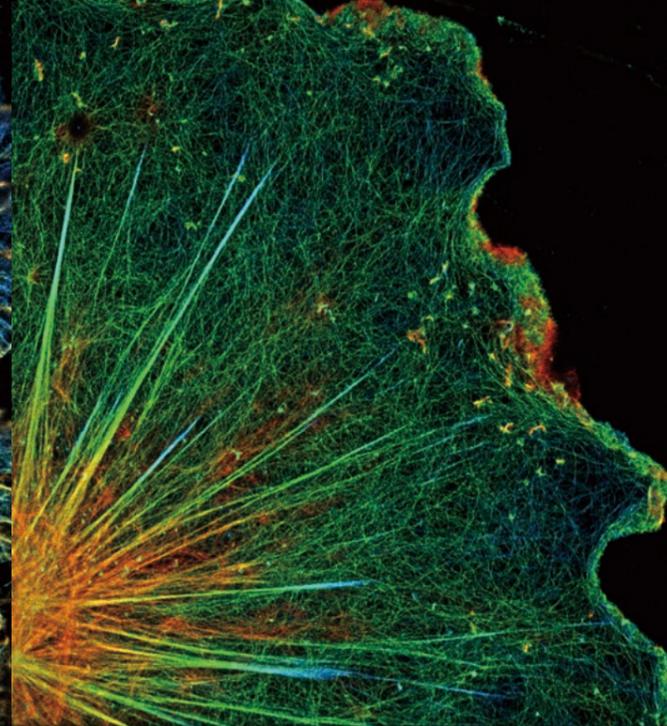




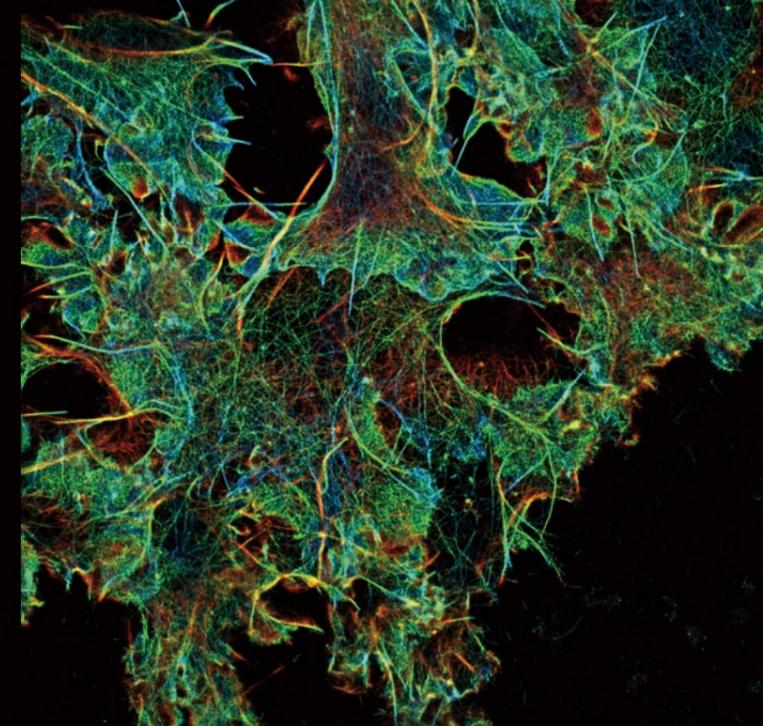
a: 海馬の培養神経細胞と培養グリア細胞



b: 培養神経細胞の成長円錐



c: 培養グリア細胞



d: COS細胞

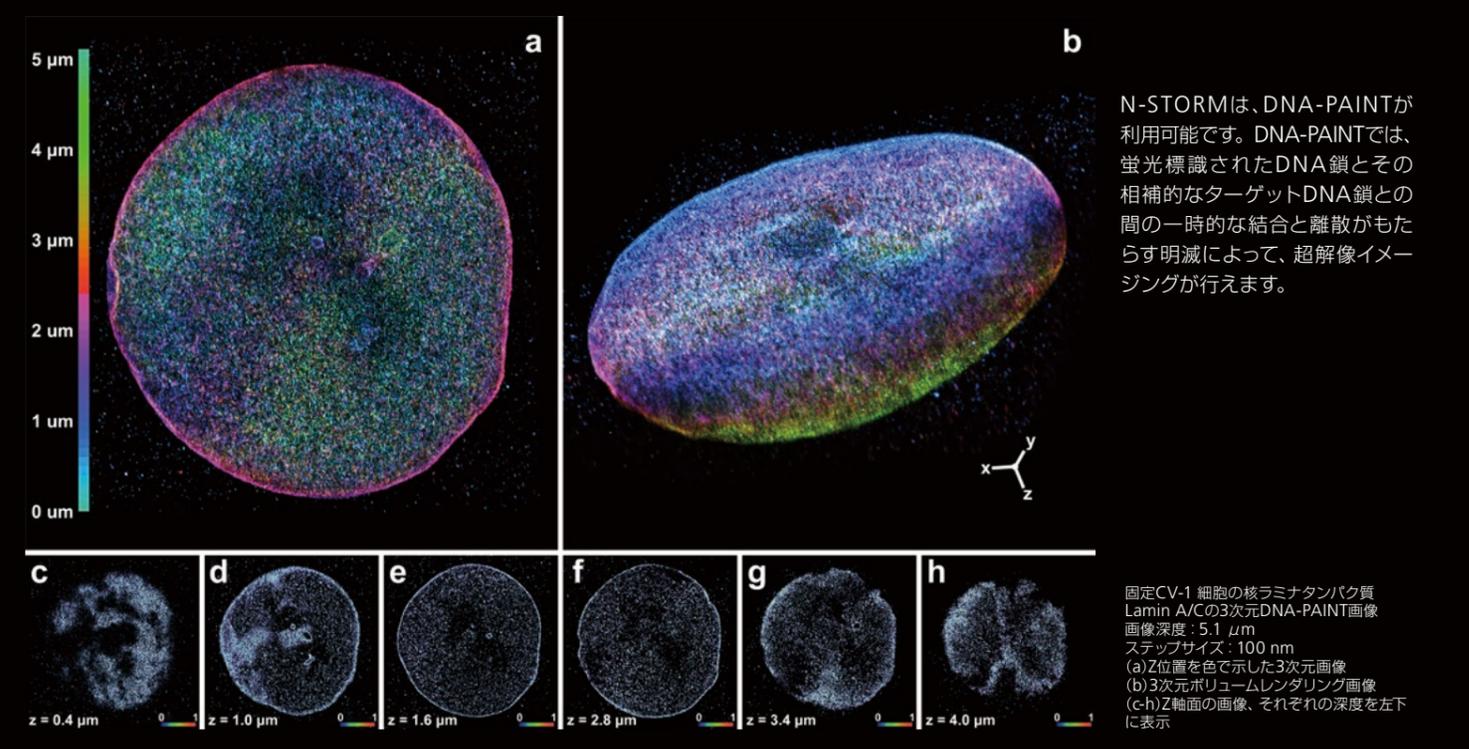
Alexa Fluor® 647 Phalloidinで標識したアクチンの3D-STORM画像。Z位置を色で表示。画像aは、4種類のアクチン組織を表す。左下より順に、神経細胞体、グリア細胞とストレスファイバー、ニューロンの樹状突起とスパイン、軸索。
撮影ご協力: Dr. Christophe Leterrier, NeuroCyto team, NICN CNRS-AMU UMR7259, Marseille, France

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。

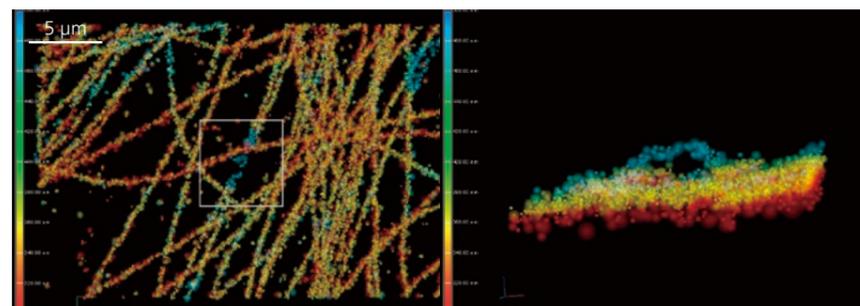
- ❖ 従来の光学顕微鏡の約10倍の超高分解能
- ❖ 画像取得の高速化により動態観察を実現
- ❖ 複数の蛍光試薬を用いた多色イメージング
- ❖ 超解像画質をさらに向上
- ❖ 広視野での超解像イメージング



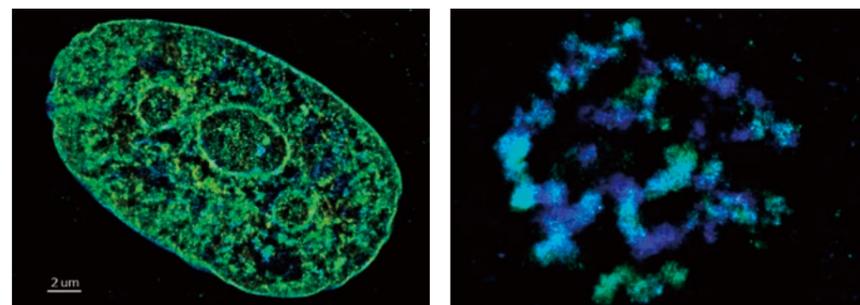
XYZ方向に分解能を10倍向上

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



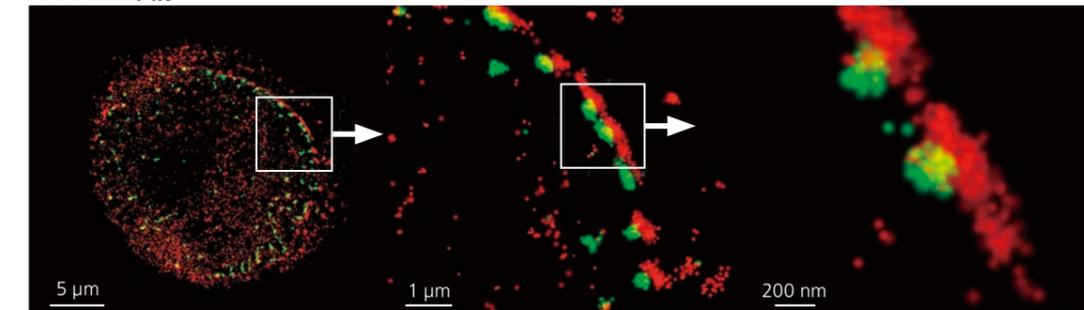
ヒト線維芽細胞を100 μMのEdUを含む培養液でインキュベートし、パラホルムアルデヒドで固定した後、EdUを銅触媒によって標識。Alexa Fluor® 647で標識されたDNAを3D-STORMを用いて可視化した。
 撮影ご協力: Jason Otterstrom, Ph.D., Melike Lakadamyali, Ph.D., The Institute of Photonic Sciences (ICFO), Castelldefels, Spain

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

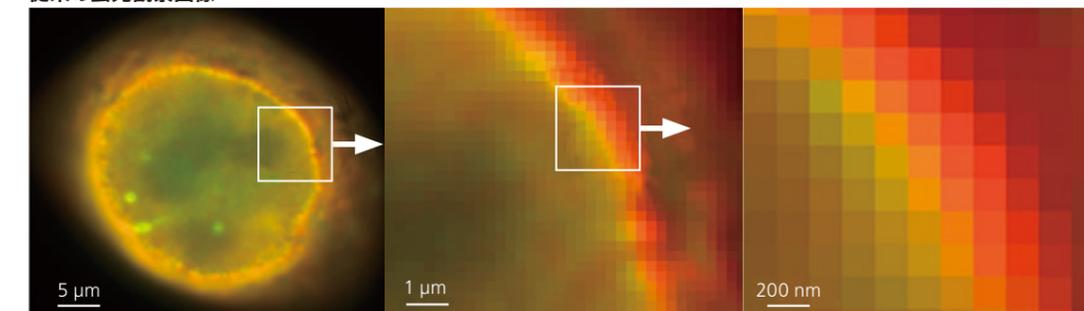
約20 nmの水平解像度

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

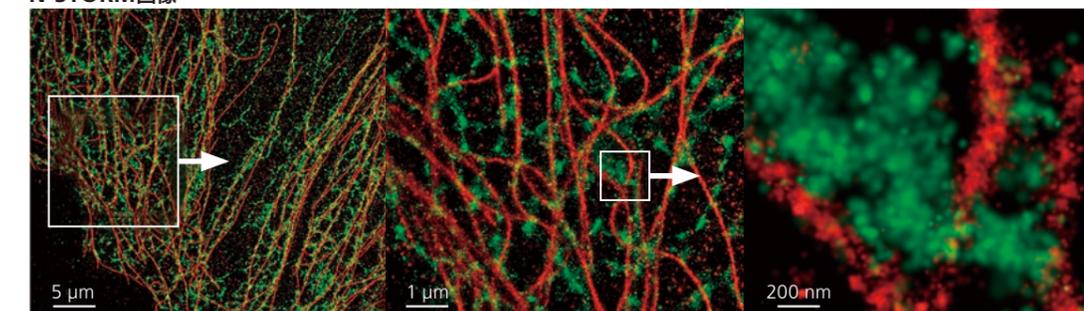


従来の蛍光観察画像

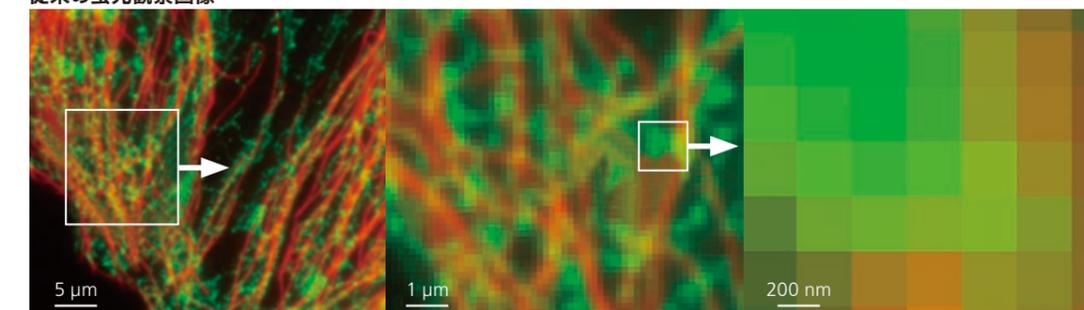


NUP153をAlexa Fluor® 647で、TPRをATTO 488で標識したヒト子宮頸がん細胞(HeLa S3)
 撮影ご協力: Dr. Michael W. Davidson, National High Magnetic Field Laboratory, Florida State University

N-STORM画像



従来の蛍光観察画像

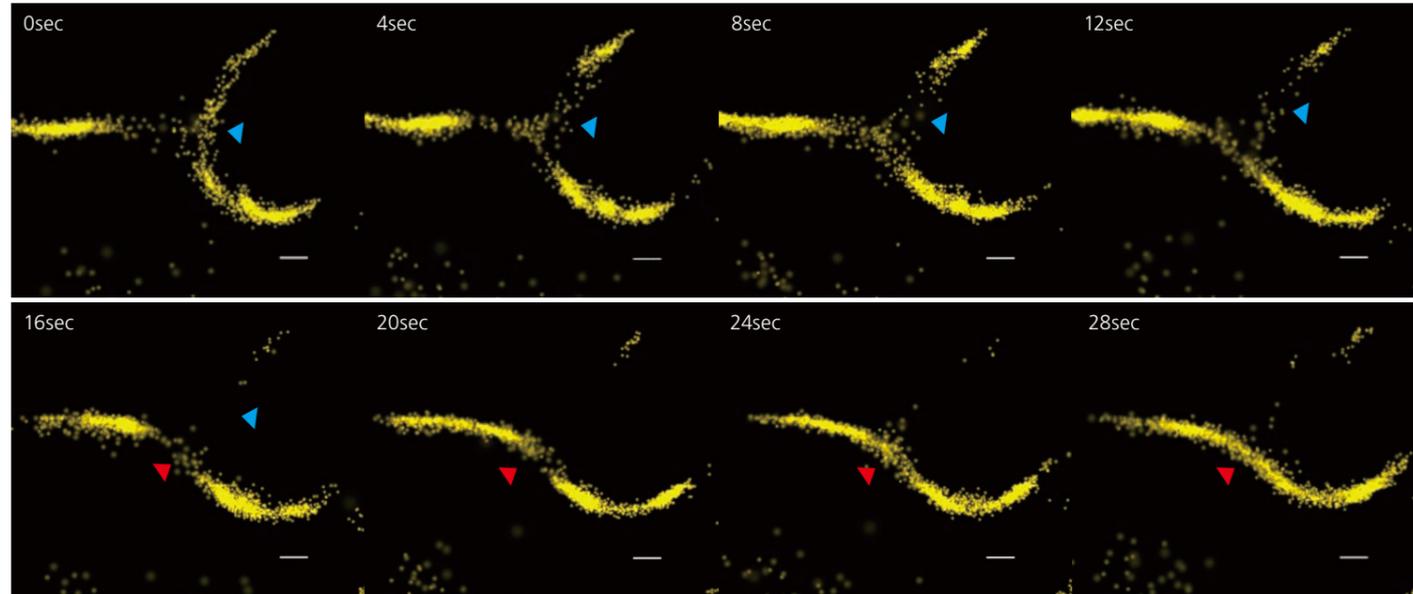


チューブリンをAlexa Fluor® 647で、カルレチキユリンをATTO 488で標識したアフリカミドリザル腎細胞(BSC-1)
 撮影ご協力: Dr. Michael W. Davidson, National High Magnetic Field Laboratory, Florida State University

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。

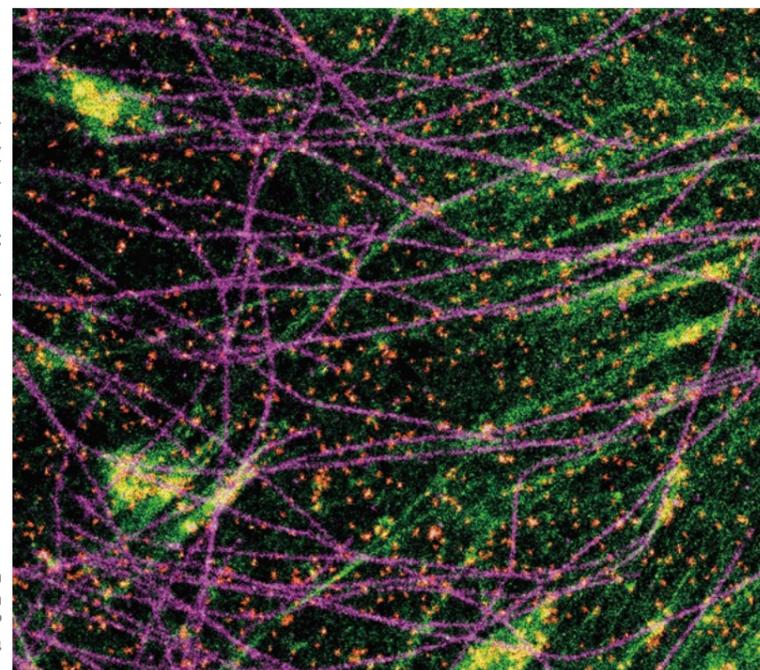


ミトコンドリアをMito-Tracker Redで標識したアフリカミドリザル腎細胞(BSC-1)のタイムラプスSTORM画像。
取得速度：500フレーム/秒
2秒間隔のタイムラプスで28秒間撮影
スケールバー：0.2 μm

多色イメージングに対応

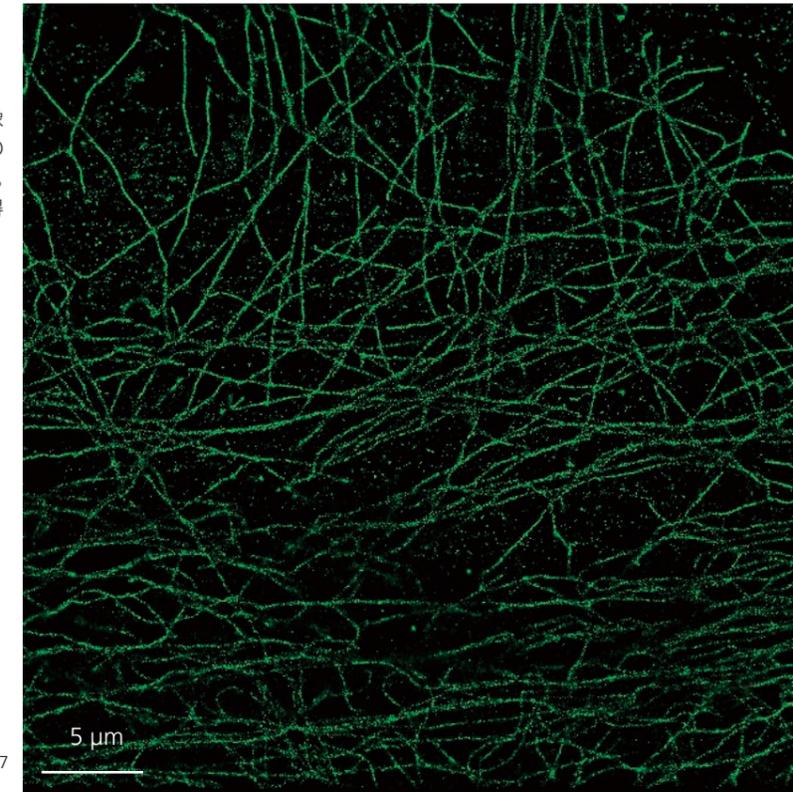
順次刺激イメージング用のアクチベーター・リポーター・ペアと、連続刺激イメージング用のアクチベーターフリー・ラベルを使用して、マルチカラー超解像イメージングを行うことができます。複数の構造体の位置関係、あるいは、異なる物質の局在が観察可能です。

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。

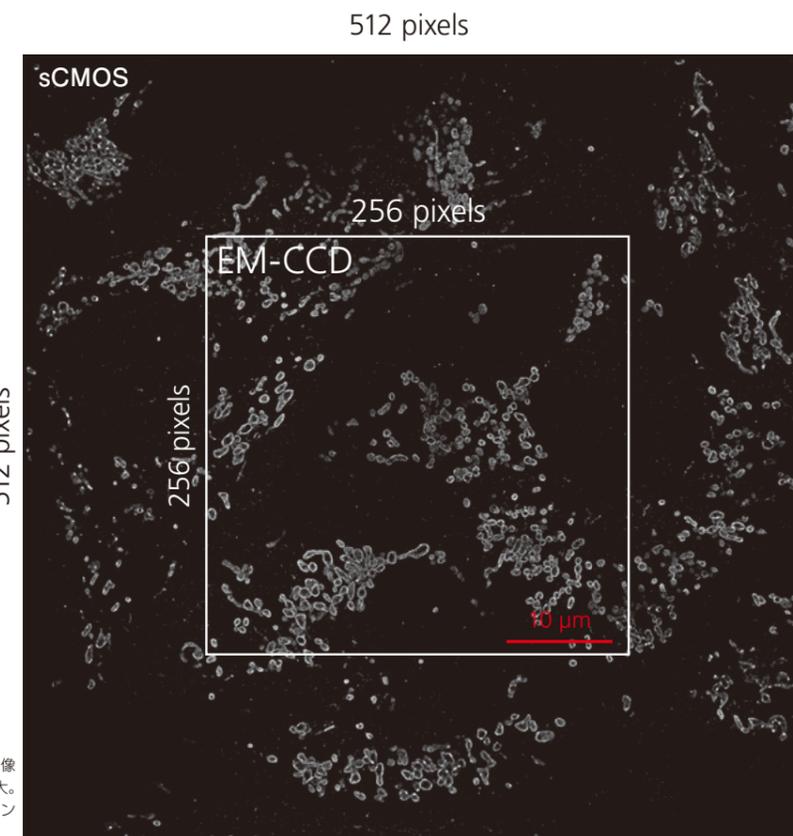


BSC-1細胞のチューブリンをAlexa Fluor® 647で染色、撮影時間：20秒

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

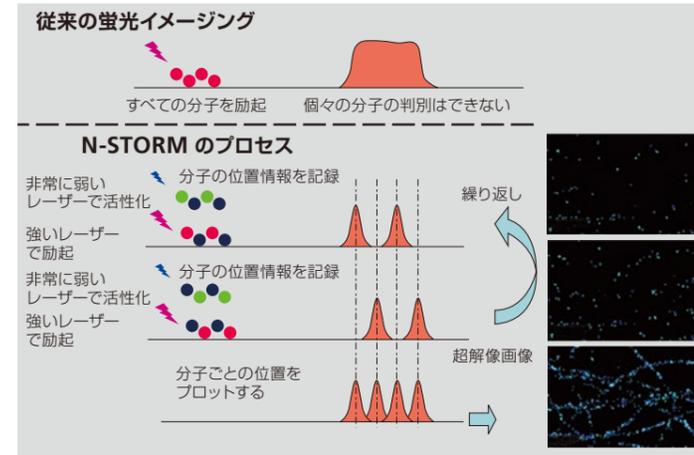


N-STORM (STochastic Optical Reconstruction Microscopy) 法の原理

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

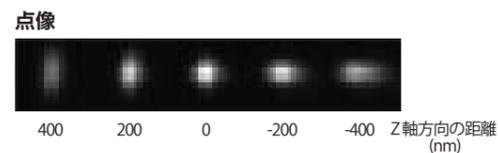
一度にすべての蛍光分子を励起するのではなく、専用の試薬を用いて非常に弱い光で、蛍光分子をばらばらに、重複しないように活性化します。これに強い励起光を照射して蛍光画像を撮像し、分子ごとの2D位置情報をナノスケールの高精度で取得します。また、独自の3D-STORM光学系によりZ軸方向の位置情報も高精度に取得します。取得した点の3D位置情報を重ね合わせて画像演算によって一枚の超解像蛍光画像を構築します。

高分解能を実現するN-STORM 技術



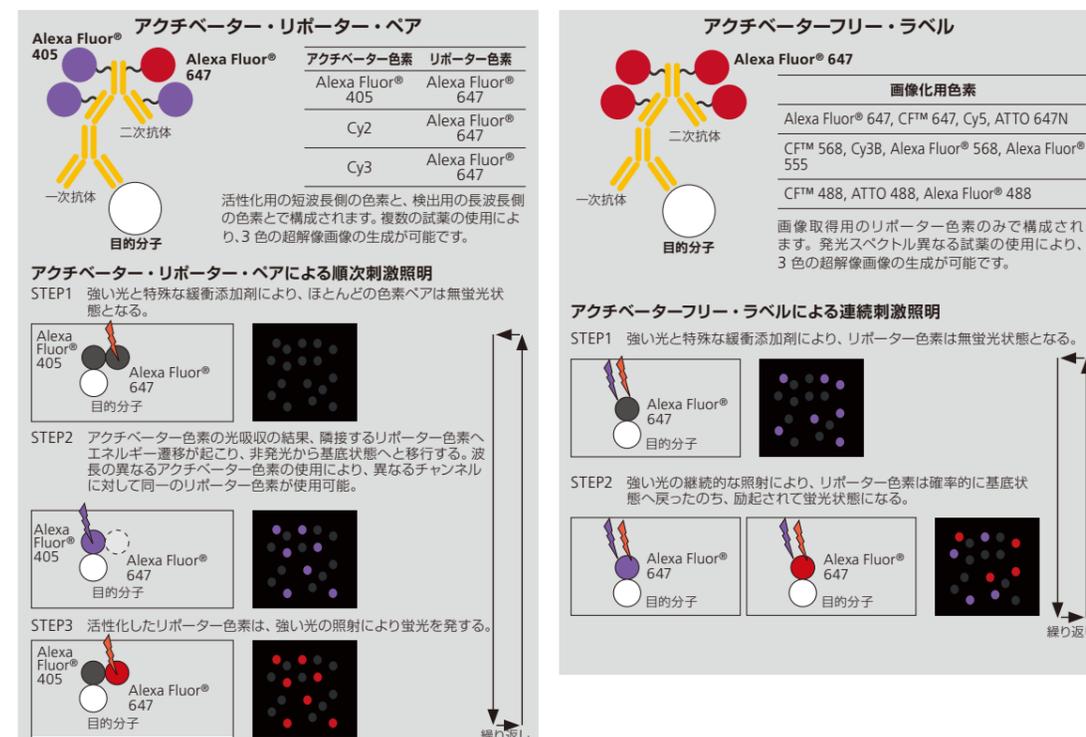
Z軸の位置情報を高精度に取得

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。

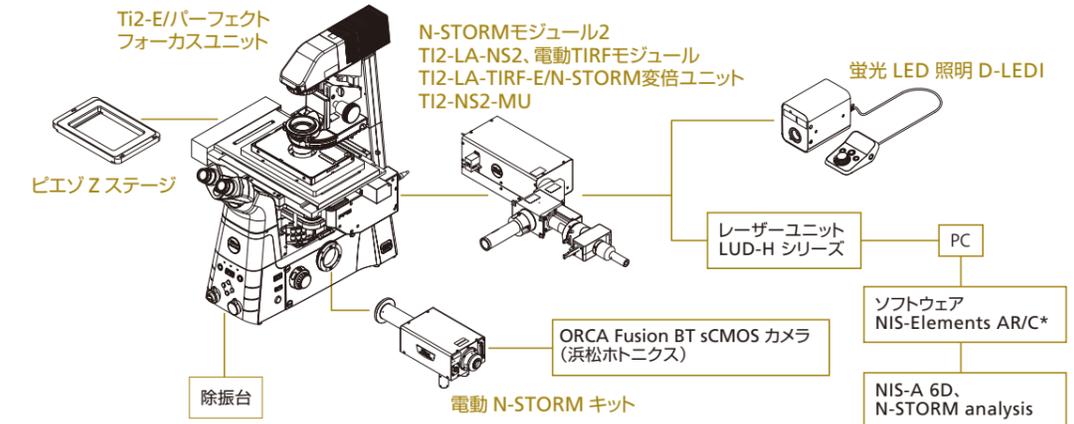


正確な位置情報検出を可能にする光変換試薬

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、コンティニユアモード) 3D-STORM(ノーマルモード、コンティニユアモード)、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)
使用カメラ	sCMOSカメラ：浜松ホトニクス社製 ORCA-Fusion BT、ORCA-Flash4.0 V3、ORCA-Flash4.0 V2 EMCCDカメラ：Andor社製 iXon3 897、iXon Ultra 897
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

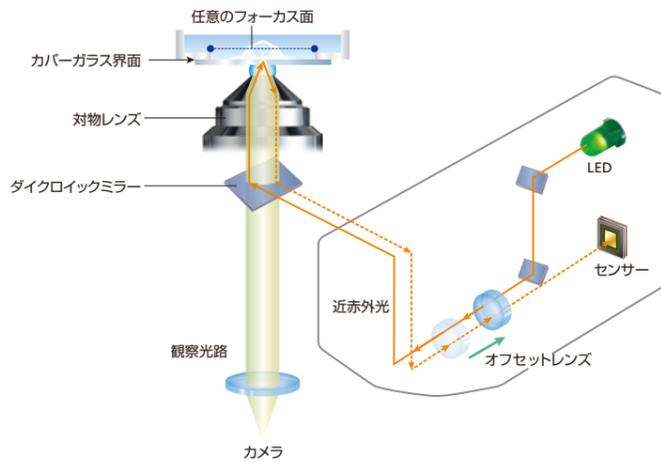
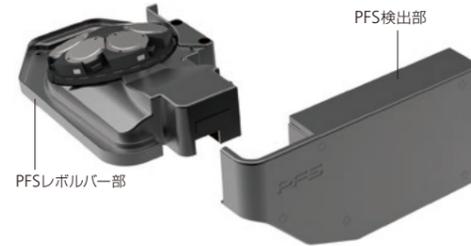


超解像性能を支える倒立顕微鏡エクリップス Ti2-E

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。ニコンの電動倒立顕微鏡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。

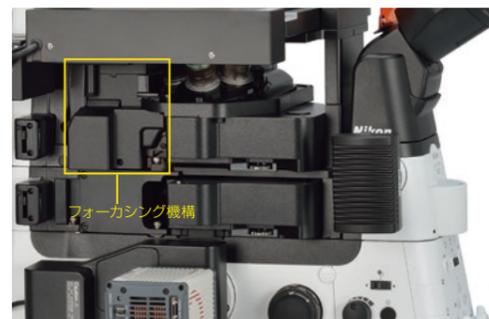
自動焦点維持装置 PFS

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。



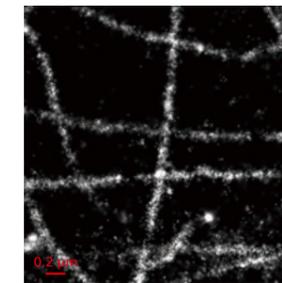
超解像イメージングに最適な高性能対物レンズ

SRシリーズは、レンズの偏心誤差を極限まで低減。HPシリーズは、色素の高速明滅に必要な高出力レーザーに対応。軸上色収差を低減し、より高精度な多色3D超解像観察を実現します。

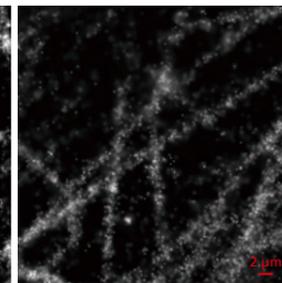
シリコン浸対物レンズ

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。

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

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

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。



CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XC Oil



CFI SR HP アポクロマート TIRF 100XC Oil

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 100XC Oil	油浸	1.49	0.16-0.10(0.12 [®]):23°C, 0.15-0.09(0.12 [®]):37°C	自動

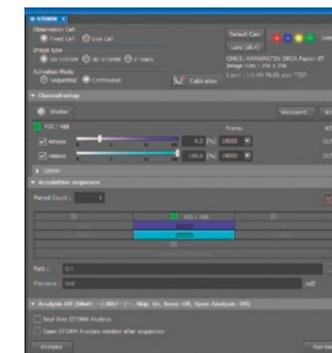
※カバーガラス厚さ0.17 mmの場合

画像取得・解析用ソフトウェア NIS-Elements

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を高度にカスタマイズ可能です。

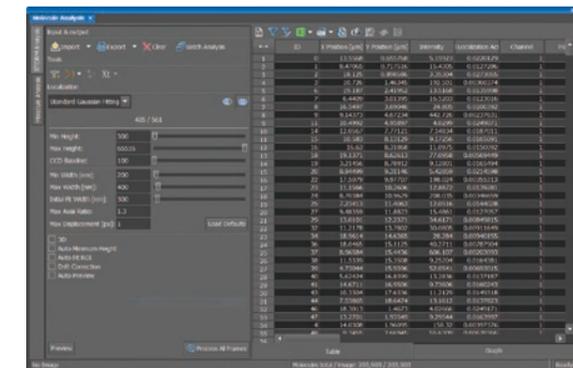
画像取得設定

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。

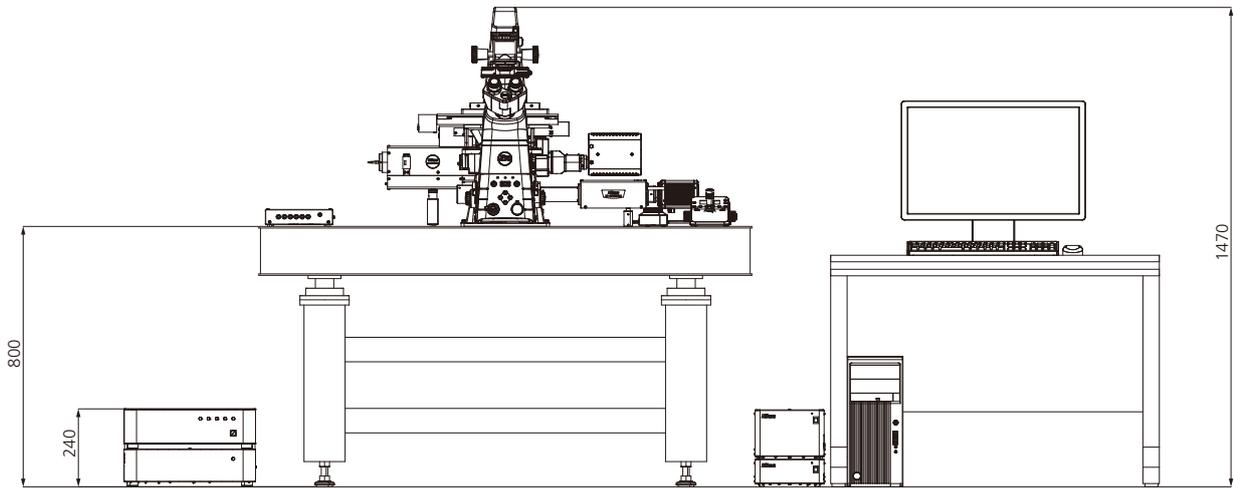
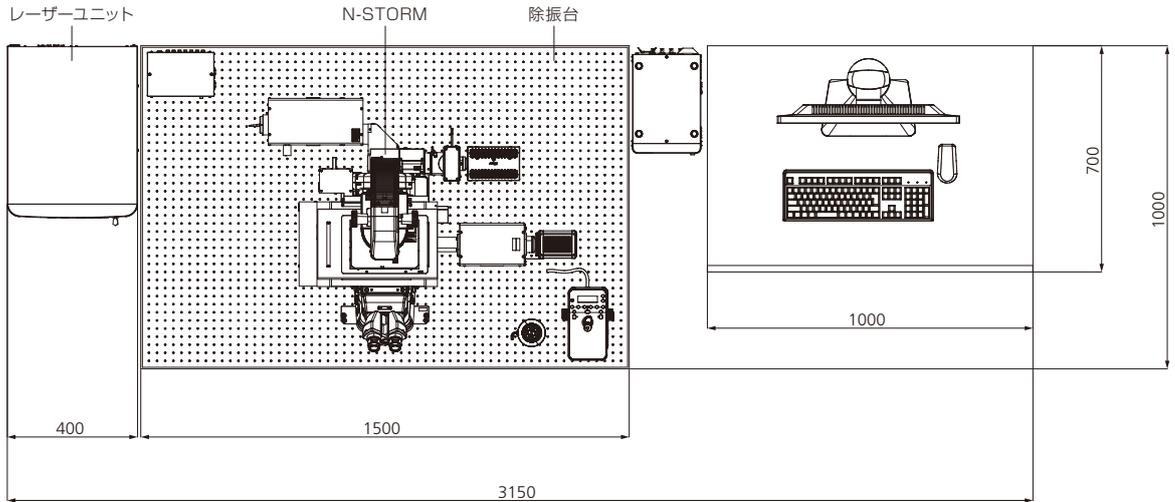


画像解析設定

複数のN-STORM画像を同時に解析できます。



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2024年11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。

©2024 NIKON CORPORATION



株式会社 **ニコン**
140-8601 東京都品川区西大井1-5-20
<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/contact



お問い合わせはこちら

Code No. 2CJ-SCJH-12 (2411)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。