



# C2+

Конфокальный микроскоп

# Простой и надежный

## Незаменимый лабораторный инструмент микроскопии...

Конфокальный микроскоп C2+ является конфокальным микроскопом нового поколения являющимся незаменимым инструментом для лабораторной микроскопии. Благодаря своей потрясающей стабильности и простоте использования в сочетании с лидирующими оптическими технологиями и высокой скоростью получения изображения, достигающей 100 кадров в секунду\*, C2+ может использоваться в качестве идеального инструмента для новых микроскопов, а также в качестве дополнения к существующей системе обработки изображений Nikon.

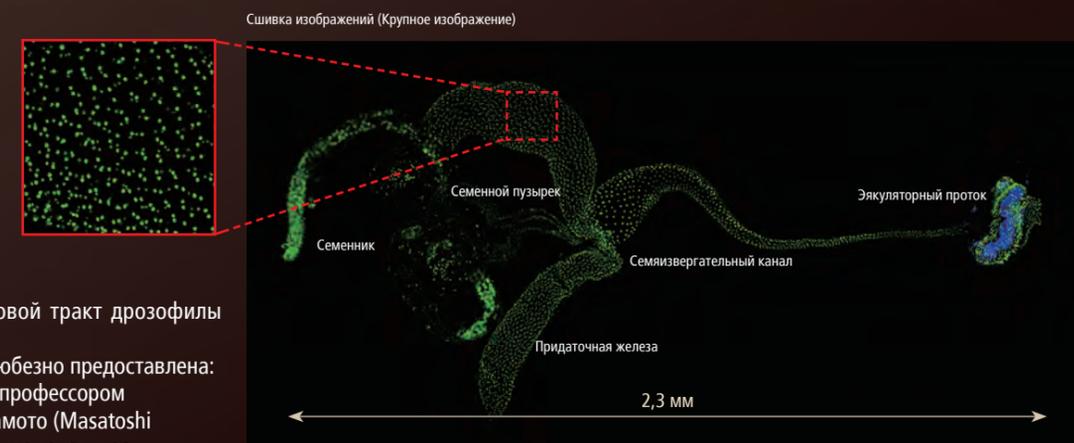
\* 8-кратное увеличение или более

Конфокальный микроскоп

# C2+

### Широкое поле обзора и трехмерная реконструкция

Получение конфокального изображения с использованием объективов с высокой числовой апертурой и высоким коэффициентом увеличения совместно с функциями перемещения предметного столика по осям XY и улучшенной сшивкой изображений при помощи программного обеспечения Nikon NIS-Elements обеспечивает высокое разрешение больших областей препарата. В дополнение, высокоточное управление перемещением предметного столика по оси Z позволяет получить ряд изображений по оси Z для трехмерной реконструкции.

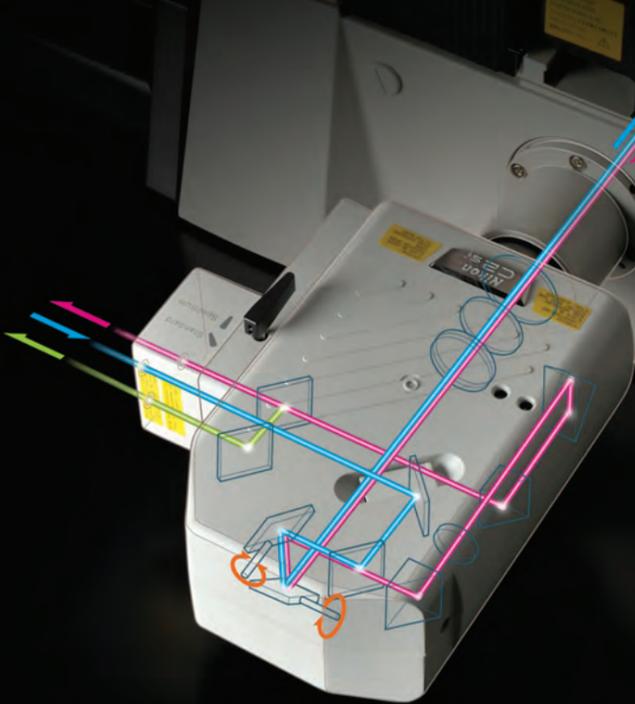


Образец: Половой тракт дрозофилы обыкновенной  
Фотография любезно предоставлена: Директором и профессором Масатоши Ямамото (Masatoshi Yamamoto), Центр генетических ресурсов дрозофил, Институт технологий в Киото



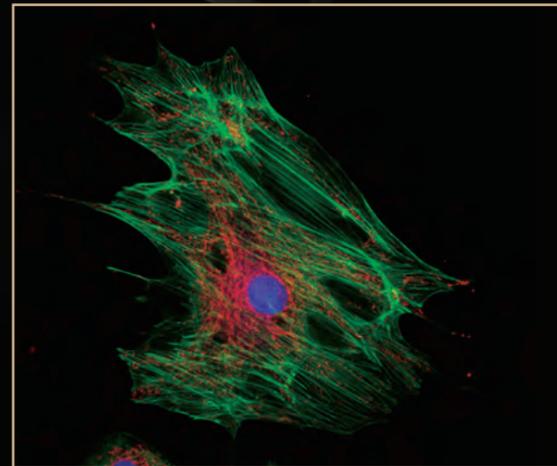
# Качество изображения

Беспрецедентная оптика и высокоэффективное конструктивное решение от компании Nikon позволяют получать самые яркие и четкие изображения при самых больших рабочих расстояниях.



## Высококачественные диакопические изображения в ДИК (дифференциально-интерференционный контраст)

C2+ может выполнять одновременную регистрацию флуоресценции тремя каналами или одновременную регистрацию флуоресценции тремя каналами и в проходящем свете в ДИК. Для проведения морфологического анализа возможно наложение высококачественных изображений в ДИК и флуоресцентных изображений.



**Высокоэффективные сканирующие головки и детекторы**  
 Благодаря удобной, небольшой по размеру сканирующей головке, C2+ может использоваться с различными типами микроскопов компании Nikon. В C2+ используются зеркала высокой точности и круглые диафрагмы, предусмотрено разделение детекторов для изоляции источников тепла и шума, что обеспечивает формирование высококонтрастного и высококачественного конфокального изображения с низким уровнем шума. Благодаря недавно разработанной системе привода сканнера и технологии коррекции изображений компании Nikon, можно получать изображения со скоростью 8 кадров в секунду (512x512 пикселей) и 100 кадров в секунду (512x32 пикселя).

## Высококачественная оптика

### CFI Апохромат серии λS

Объективы с высокой числовой апертурой (NA) идеально подходят для формирования конфокального изображения с коррекцией хроматической аберрации по всему диапазону длин волн с УФ области спектра. В частности, объектив LWD 40xWI осуществляет коррекцию до инфракрасной области излучения. Светопропускание повышается благодаря использованию эксклюзивной технологии покрытия Nikon - Nano Crystal Coat.

### CFI Апохромат серии TIRF

Это единственные в своем роде объективы с числовой апертурой равной 1,49 (с использованием стандартных покровных стекол и иммерсионного масла), они обеспечивают самое высокое разрешение среди объективов Nikon. С помощью специального кольца можно корректировать качество изображений в зависимости от условий окружающей среды в диапазоне от 23°C до 37°C.



CFI апохромат 40xWI λS, NA1.25 (слева)  
 CFI апохромат LWD 40xWI λS, NA1.15 (посередине)  
 CFI апохромат 60x Oil λS, NA1.4 (справа)



CFI апохромат TIRF 60x oil/1.49 (слева)  
 CFI апохромат TIRF 100x oil/1.49 (справа)



Изображение в ДИК



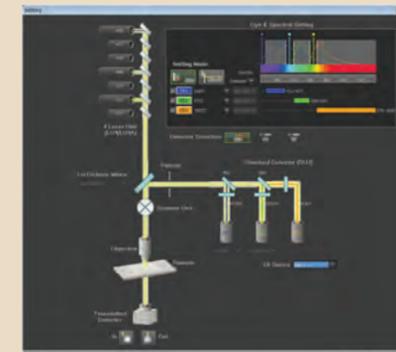
Наложение изображений в ДИК и флуоресцентных изображений

# Высокая функциональность

Программное обеспечение NIS-Elements предназначено для обработки и анализа изображений в микроскопии. Оно также обеспечивает извлечение данных из полученных изображений. Кроме того, в NIS-Elements предусмотрено все для интуитивного управления микроскопами Nikon и другими внешними устройствами, например, EMCCD-камерами и сменными светофильтрами с целью расширения диапазона исследований.

## Возможность работы в разных режимах

В пакете программного обеспечения предусмотрены различные методы получения изображений, например, конфокальный метод, метод широкого поля, метод флуоресценции полного внутреннего отражения (TIRF), метод фотоактивации, а также функции обработки, анализа и отображения полученных изображений. Пользователи могут легко научиться контролировать различные системы формирования изображения при помощи обычного интерфейса и набора инструментов



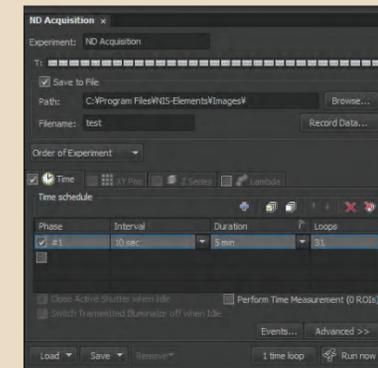
Настройка: Удобный дисплей для настройки лазеров, детекторов и т.д.



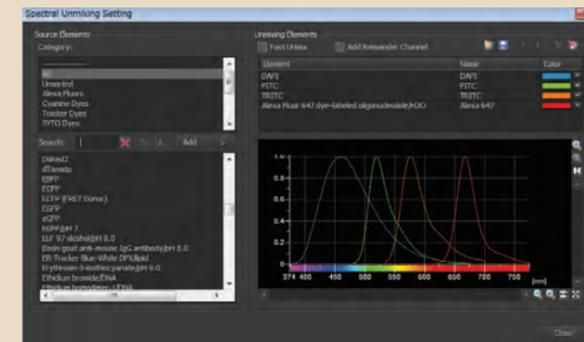
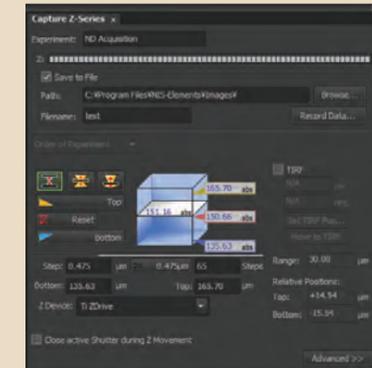
Простой в использовании графический пользовательский интерфейс: Простой в использовании дисплей для настройки режимов получения изображений



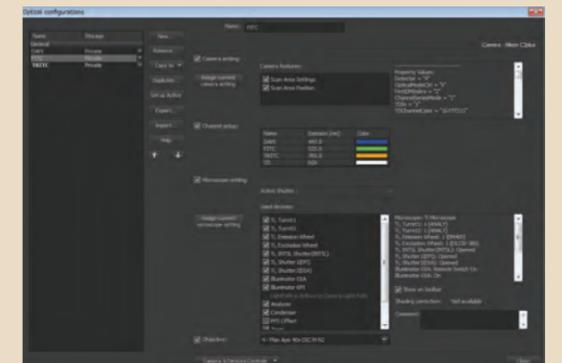
Настройки параметров сканирования



nDtime, nDXYZ: интуитивно понятные настройки параметров временных измерений и параметров Z-серий, и т.д.



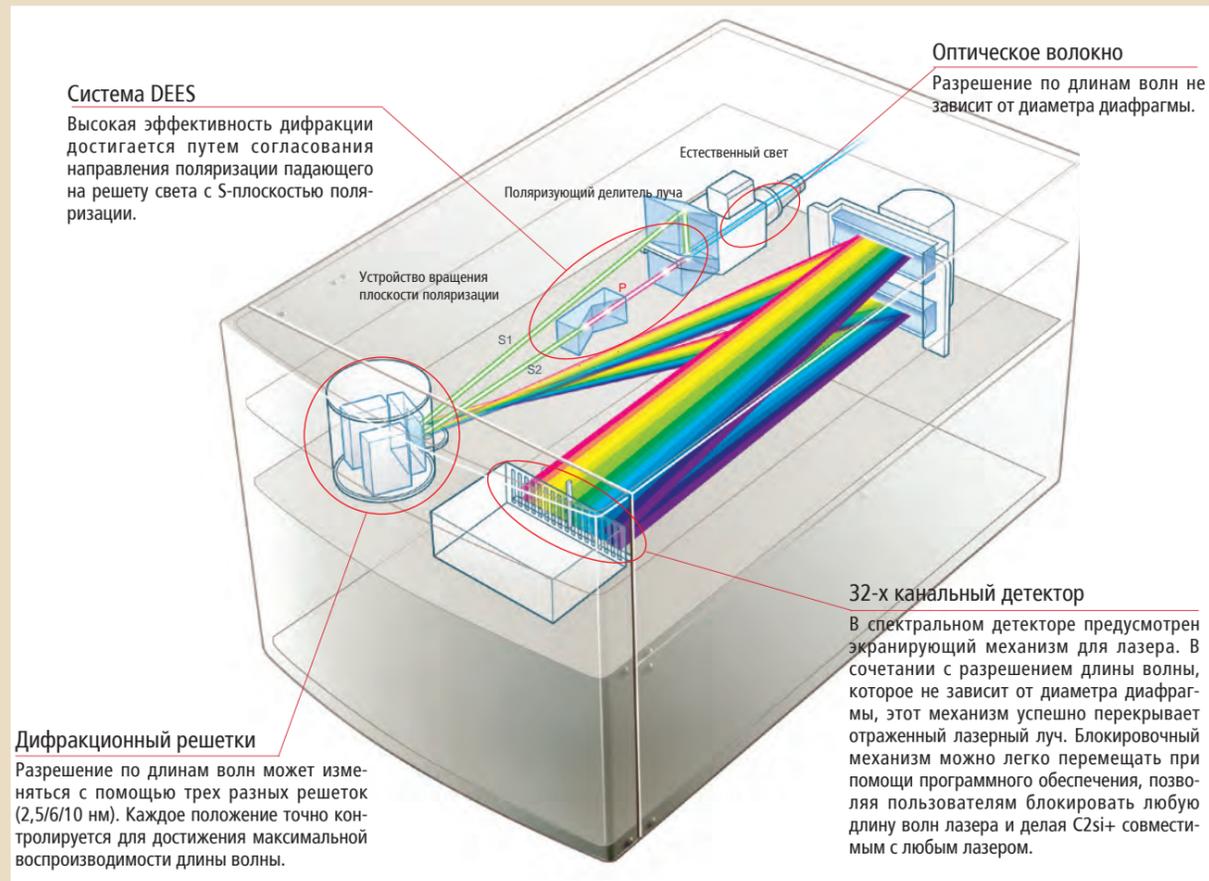
Спектральный анализ: многочисленные функции для анализа и разделения полученных спектров, при этом запрограммированы спектральные профили обычных красителей и флуоресцентных белков



Оптические настройки: настройки различных параметров (например, настройки камеры и установка канала) могут быть сохранены для повторного использования.

# Формирование спектральных изображений

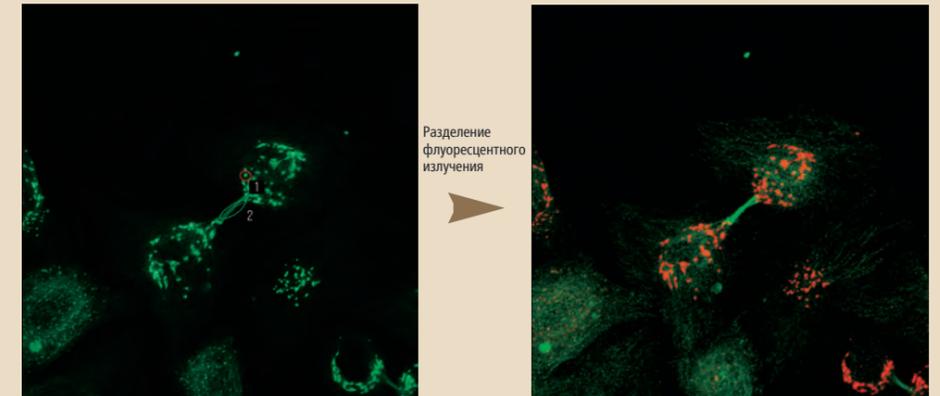
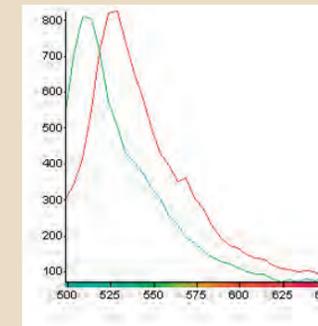
В дополнение к обычному трехканальному флуоресцентному детектору, конфокальный лазерный сканирующий микроскоп C2si+ оборудован специальным спектральным детектором для формирования спектральных изображений. Переключая детекторы, можно получить точные спектральные данные флуоресцентных сигналов. C2si+ фиксирует малые изменения длины волны в спектре, а также разделяет наложенные спектры. Более того, существует возможность за одно сканирование получить спектр в диапазоне более 320 нм, минимизируя при этом наносимый живым клеткам вред.



## Легкое разделение перекрывающихся спектров

Флуоресцентные метки с перекрывающимися спектрами можно разделить без взаимных помех. Даже без эталонного спектра можно разделить флуоресцентные спектры, для этого необходимо выделить изучаемую область и нажать кнопку Simple Unmixing (Простое разделение). В C2si+ имеется встро-

енная база спектральных данных, предоставленная производителями флуоресцентных красителей, которые могут быть определены как эталонный спектр для флуоресцентного разделения. Пользователи могут также добавить в базу данных спектральную информацию для новых меток.



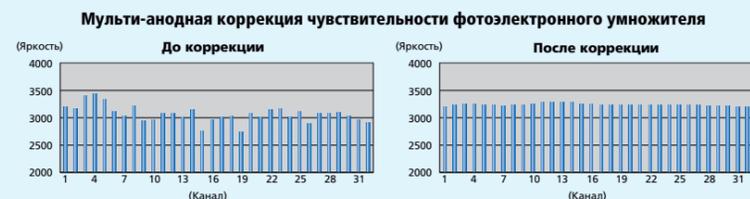
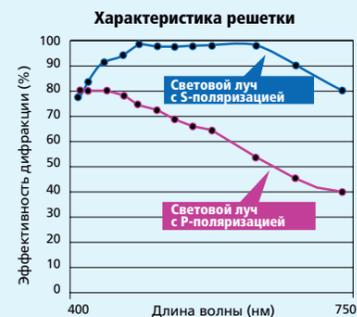
Образец: клетка HeLa, которая содержит зеленый флуоресцентный белок (GFP) (Тубулин) и желтый флуоресцентный белок (YFP) (Гольджи). Спектральное изображение получено при помощи лазера с длиной волны 488 нм (слева). После флуоресцентного разделения GFP отображается зеленым, а YFP - красным (справа). График (слева) показывает спектры в изучаемой области. Образец любезно предоставлен доктором Шенг-Чунг Ли, доктором Хан-Йи И. Чоу, Медицинский колледж Национального тайваньского университета, Институт молекулярной медицины.

## Получение высококачественных спектральных данных

**Система улучшения дифракционной эффективности (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 P-поляризации преобразуется с помощью устройства поворота плоскости поляризации в S-поляризованный луч, так как S луч обладает большей эффективностью дифракции чем P, достигается значительное увеличение общей дифракции.

**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 и надежная спектральная информация: 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 микроскопах.

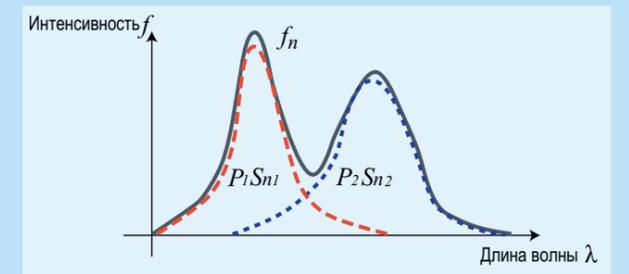


## Что такое спектральное разделение?

Спектр, полученный путем фактического измерения – это смесь нескольких спектров в определенной пропорции. Алгоритм формирования изображений используется для сравнения спектра каждого пикселя с эталонными кривыми для каждого спектрального элемента. Каждый флуоресцентный зонд в образце отражается особым цветом на итоговом изображении.

$$f_n = S_n * P$$

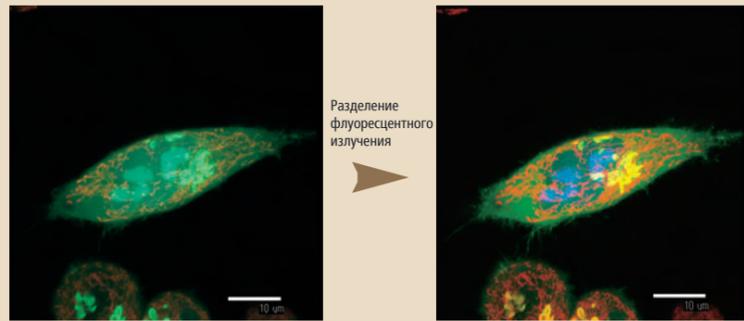
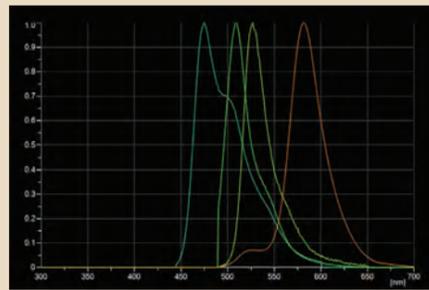
$f_n$  = Измеренный спектр  
 $S_n$  = Эталонный спектр  
 $P$  = Соотношение для каждого спектра



- Существует три эталонных типа волны (S) (в зависимости от эксперимента).
- 1 Измеренный спектр в области с наименьшим взаимным наложением
  - 2 Измеренные данные при использовании одного зонда
  - 3 Спектральные данные, предоставленные производителем зондов

## Разделение нескольких флуоресцентных сигналов

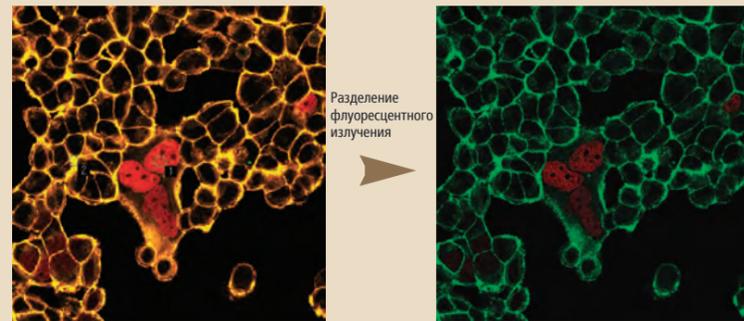
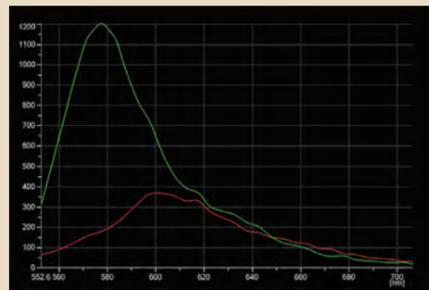
Благодаря возможности выбора разрешения и диапазона, за один раз можно просканировать такой флуоресцентный белок как CFP/GFP/YFP/Ds Red в широком диапазоне длин волны от синей до красной области спектра. Справочные данные позволяют разделять и отображать белок любого цвета.



Образец: клетка HeLa, в которой ядра отмечены при помощи CFP, актин-связывающий белок (фаскин) — GFP, тельце Гольджи — YFP, а митохондрия — DsRed. Спектральное изображение было получено при помощи лазера с длиной волны 408 нм и 488 нм (слева). Флуоресцентные спектры на полученном изображении были разделены при помощи эталонных спектров (справа).  
Образец любезно предоставлен доктором Каору Като и доктором Масамицу Канада, Исследовательский институт нейробиологии, Национальный институт передовых прикладных наук и технологий (AIST)

## Разделение красных флуорохромов

Красные флуорохромы, работа с которыми ранее являлась сложной задачей, сейчас легко разделить.

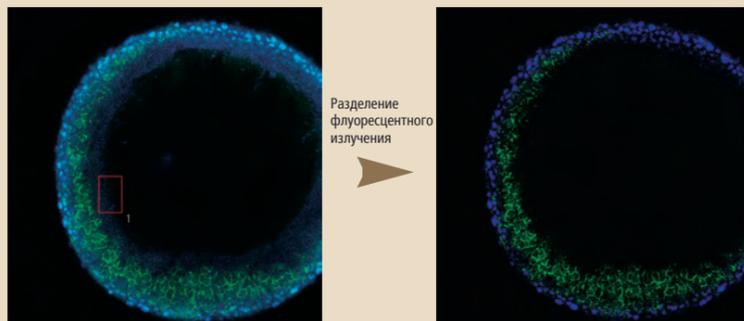
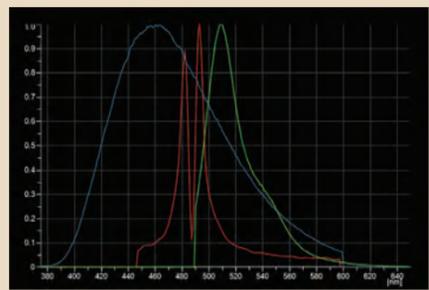


**Спектры для изучаемых областей 1 и 2 в соответствии с изображениями справа**  
Пик спектра флуоресценции родамина находится приблизительно в области 579 нм, в то время как такой пик для RFP — приблизительно в области 600 нм. Флуоресцентное излучение RFP слабее, чем излучение родамина, но их спектры можно четко разделить.

Образец: актин клетки HeLa, в которой ядра реализуются через RFP, окрашен родамином. Спектральное изображение в диапазоне длины волны 550-630 нм было получено при разрешении длины волны 2,5 нм и воздействии лазера с длиной волны 543 нм (слева). После разделения флуоресцентного излучения RFP обозначается красным, родамином — зеленым (справа).  
Образец любезно предоставлен доктором Йошихиро Йонеда и доктором Такуя Сайваки, Медицинский факультет, Осацкий университет.

## Разделение автофлуоресценции образцов с множественной окраской

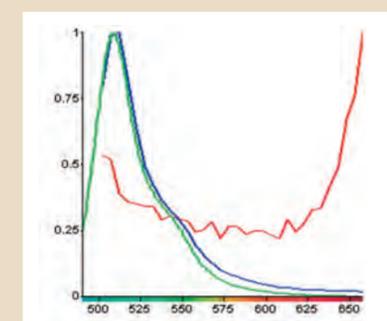
Разделение флуоресцентного излучения позволяет не только разделять перекрывающиеся флуоресцентные спектры, например CFP и YFP, но также удалять автофлуоресценцию клеток, что ранее было сложно выполнить.



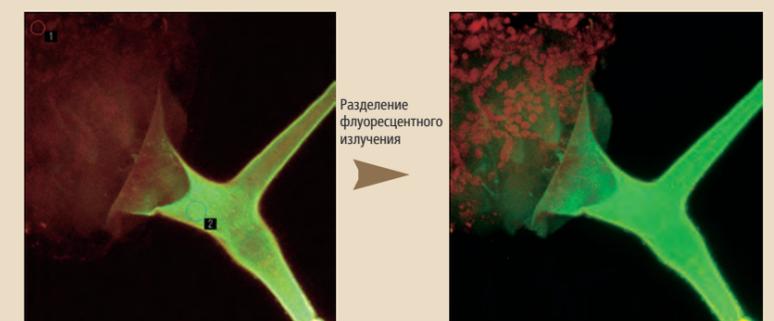
Образец: яйца Zebrafish окрашены при помощи кадгерин-GFP и DAPI. Спектральное изображение получено при помощи лазера с длиной волны 408 нм и 488 нм (слева). После разделения с использованием эталонного спектра для автофлуоресценции (изучаемая область 1) GFP и DAPI, автофлуоресценция была удалена (справа).  
Образец любезно предоставлен доктором Тохру Мураками, Нейромышечная анатомия и анатомия развития, Медицинская аспирантура Университета Гунма

## Подтверждение экспрессии GFP

Во время конфокального наблюдения флуоресцентное излучение визуализируется как интенсивность флуоресцентного излучения в определенном диапазоне длин волны. Спектральный детектор позволяет подтвердить подробные спектральные характеристики флуоресцентного излучения.



Соответствие спектральной кривой (синий) изучаемой области 2 эталонной кривой (зеленый) eGFP доказывает, что GFP представлено в заданной области 2



Образец: Протеогликан арабидопсиса и белок GFP. Спектральное изображение было получено при помощи лазера с длиной волны 488 нм (слева). После разделения с использованием эталонного спектра для автофлуоресценции (изучаемая область 1) и GFP, GFP обозначается зеленым, а автофлуоресценция — красным (справа).  
Образец любезно предоставлен доцентом Тошихиса Котакэ, Лаборатория биологии развития, Отделение биологических наук, Аспирантура науки и техники, университет Сайтама

## Спектральный анализ FRET

**Анализ резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET)** с использованием спектрального изображения позволяет проводить трехмерный анализ с высоким отношением сигнал/шум и высокой разрешающей способностью, а также как легко определить FRET путем определения спектральных измерений, полученных в результате FRET в режиме реального времени. При наложении спектров донора и акцептора подобно CFP и YFP, разделение с использованием справочных данных позволяет обнаружить детальные

изменения интенсивности и проанализировать соотношение флуоресцентных сигналов (YFP/CFP).  
При наложении спектров донора и акцептора подобно CFP и YFP, разделение с использованием справочных данных позволяет обнаружить детальные изменения интенсивности и проанализировать соотношение флуоресцентных сигналов (YFP/CFP).

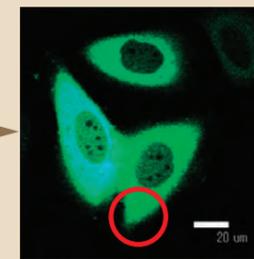
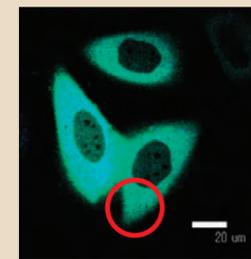
### Получение спектрального изображения (XYT λ)

Спектральное изображение в диапазоне 460-620 нм, полученное при разрешении 5 нм с использованием спектрального детектора, позволяет наблюдать за изменениями длины волны флуоресцентного излучения.

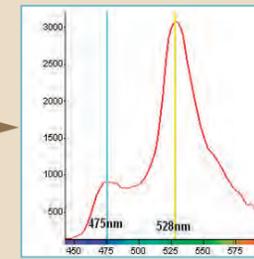
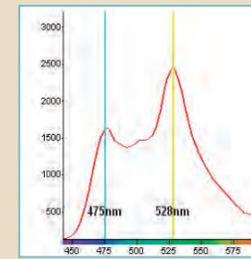
Перед АТФ стимуляцией

8 секунд после АТФ стимуляции

Изображение в естественных цветах



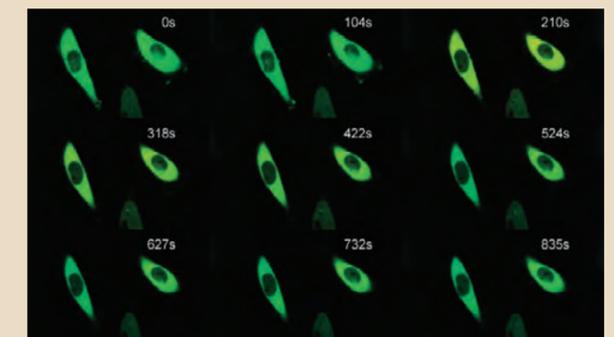
Спектральный анализ



Изображение в естественных цветах и спектральный анализ CFP и YFP. Спектральная кривая в изучаемой области. Левый пик указывает на CFP, а правый на YFP соответственно. После АТФ стимуляции наблюдается снижение пика CFP и увеличение пика YFP из-за FRET.

### Разделение флуоресцентного излучения

Спектральный анализ FRET возможен путем разделения с использованием справочных данных CFP и YFP. Двухмерное изменение (FRET) внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> легко определить по спектральным данным (без обесцвечивания акцептора).



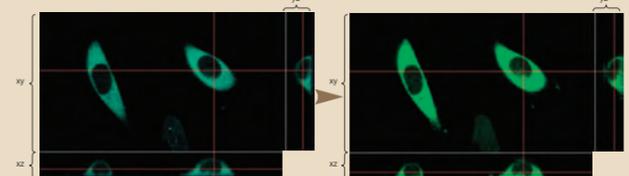
Изображение FRET после спектрального разделения. CFP обозначается синим, а YFP — зеленым.

### Пятимерный анализ (XYZT λ)

Изменения за промежутки времени (T) и спектры (λ) можно анализировать в трехмерном пространстве (XYZ).

Перед АТФ стимуляцией

8 секунд после АТФ стимуляции



# Гибкость

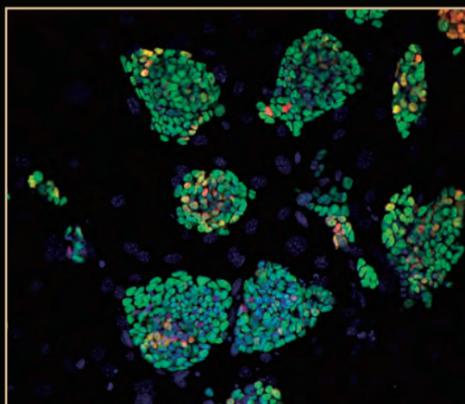
C2+ можно использовать с прямым и инвертированным микроскопом, микроскопом для физиологии и микроскопом для макро-изображений, также есть возможность для комбинирования с различными высококачественными исследовательскими экспериментальными системами. Контроль выполняется посредством программного обеспечения NIS-Elements.

## TIRF/Фотоактивация - Многорежимная система формирования изображений C2+

Дополнительно можно установить лазерный модуль для TIRF и модуль фотоактивации для формирования изображений одиночных молекул с исключительно высоким отношением сигнал/шум и для формирования изображений характерных изменений фотоактивированного и фотоконвертируемого флуоресцентного белка.

## Макроконфокальная система AZ-C2+

Благодаря широкому углу обзора можно получить изображение образцов размером более чем 1 см с исключительно высоким отношением сигнал/шум. AZ-C2+ обеспечивает формирование изображений всех установленных образцов, например, эмбрионов, за одно сканирование (при разрешении до 4000x4000 пикселей). При помощи C2si+ возможно получение спектральных данных по 32 каналам. Устройство предлагает комбинацию объективов низкого и высокого увеличения, функции оптического зуммирования и зуммирование конфокального сканирования, обеспечивающие непрерывное формирование изображений от макро- до микроизображений.

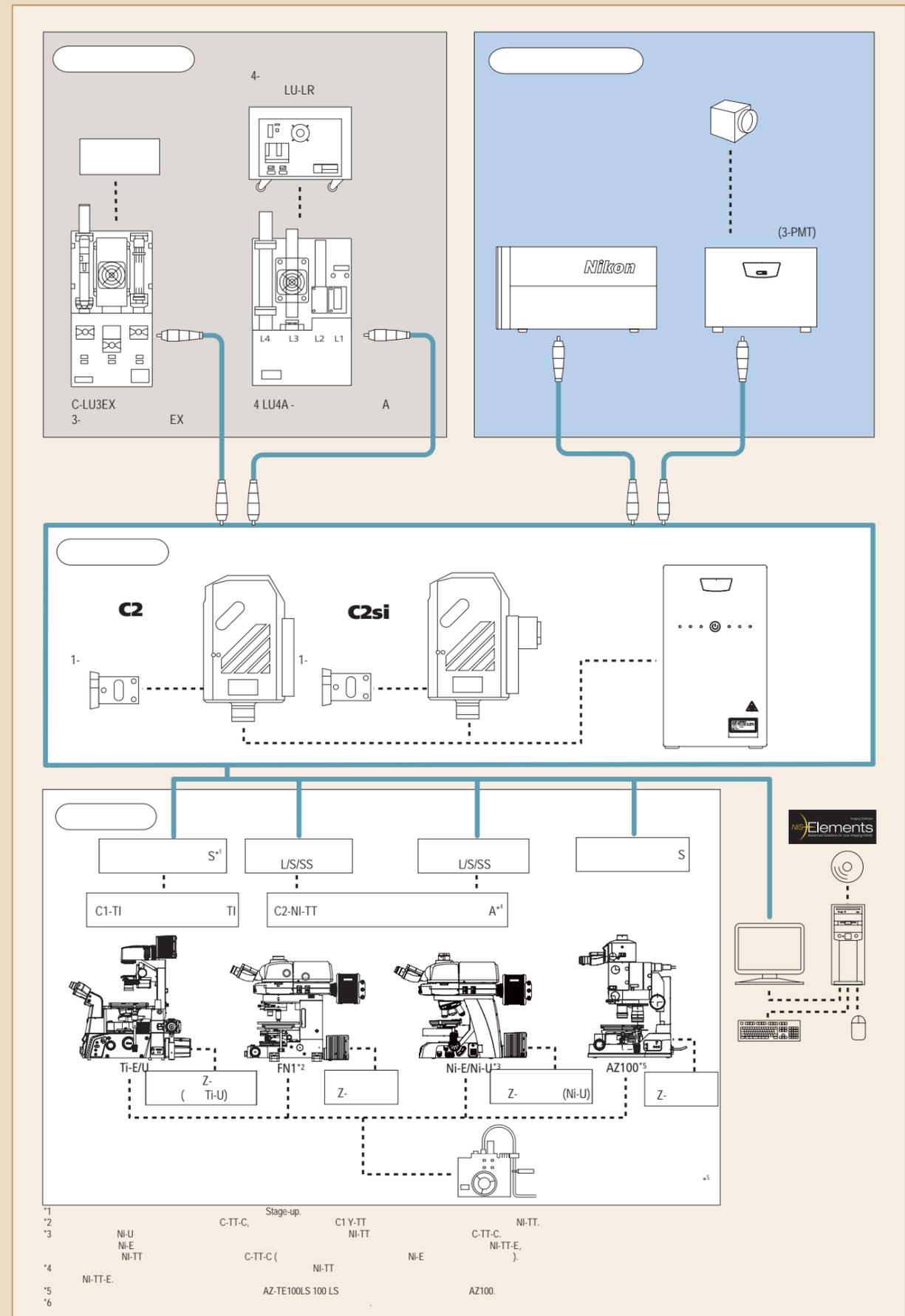


Клетки TT2 ES  
Антитела анти-Nanog (Cy3), антитела анти-Oct3/4 (Alexa488) и DAPI, локализованные в ядре клеток. Фотографии выполнены при поддержке Хироши Кийонари, Лаборатория животных ресурсов и геномной инженерии, Центр биологии развития RIKEN

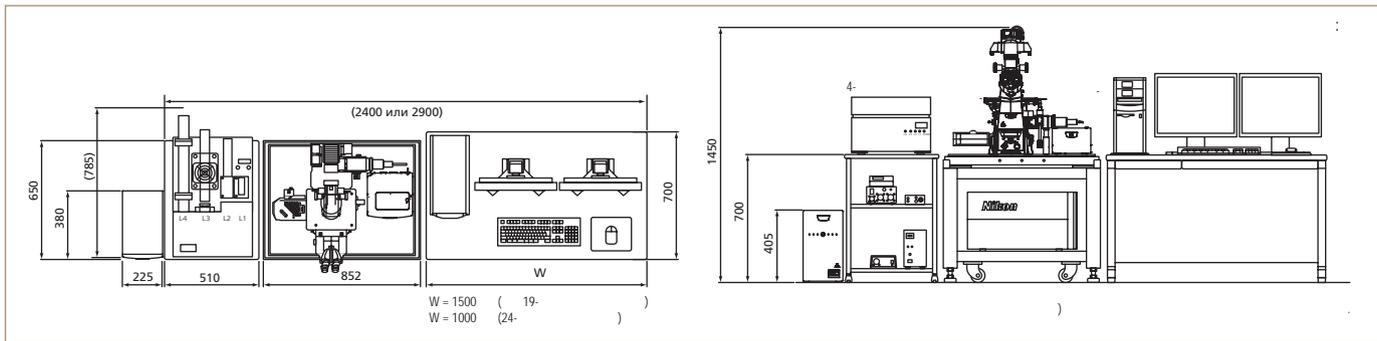


Фотография любезно предоставлена директором и профессором Масатоши Ямамото, Центр генетических ресурсов дрозофил, Киотский институт технологий

# Схема системы



Рекомендуемое расположение



Технические характеристики

C2+	
Совместимый лазер*1	405 нм/440 нм, 488 нм/Ar (457 нм, 477 нм, 488 нм, 514 нм), 543 нм/561 нм/594 нм, 633 нм/638 нм/640 нм
Лазерный блок	C-LU3EX 3-лазерный модуль EX (AOTF или ручной модулятор), LU4A 4-лазерный модуль A (AOTF модуляция)
Стандартный детектор	Длина волны: 400-750 нм, Детектор: 3 МРТ, Фильтры: 2 блока
Диаскопический детектор (дополнительно)	Длина волны: 400-700 нм, Детектор: 1 МРТ
Сканирующая головка (гальваническая)	Со стандартным детектором: 2048 x 2048 пикселей Скорость сканирования: стандартный режим: 2 кадра/сек (512 x 512 пикселей, в 2 направлениях), 17 кадров/сек (512 x 32 пикселей, в 2 направлениях), зуммирование: 1-1000x; Быстрый режим: 8 кадров/сек (512 x 512 пикселей, в 2 направлениях), 100 кадров/сек (512 x 32 пикселей, в 2 направлениях)*2, зуммирование: 8-1000x Со спектральным детектором макс. 1024 x 1024 пикселей Скорость сканирования: 0.5 кадров/сек (512 x 512 пикселей, в одном направлении), макс. 6 кадров/сек (64 x 64 пикселей, в одном направлении)
Сканирующий режим	X-Y, XY вращение, зуммирование, изучаемая область, XYZ, серийная съёмка с временным интервалом, X-Z, стимуляция, многоточечный режим, сшивка изображений (большое изображение)
Точечная диафрагма	Круглая форма, 6 размеров
Спектральный детектор (с гальваносканером) (дополнительно)	Количество каналов: 32 канала, спектральный диапазон: 400-750 нм, Разрешение: 2,5 нм, 5 нм, 10 нм, диапазон длин волны изменяется с шагом 0,25 нм, Разделение спектров: быстрое разделение, точное разделение
Поле зрения	Квадрат, вписанный в круг диаметром 18 мм
Битовая глубина изображения	12 бит
Совместимость с микроскопами	Инвертированный микроскоп ECLIPSE Ti-E/Ti-U, прямой микроскоп ECLIPSE Ni-E (с фокусировкой револьвера/с фокусировкой предметного столика)/Ni-U, микроскоп с неподвижным предметным столиком ECLIPSE FN1, многофункциональный микроскоп с большим увеличением AZ100
Шаг Z	Ti-E: 0,025 мкм, FN1 шаговый двигатель: 0,05 мкм, Ni-E: 0,025 мкм
Программное обеспечение NIS-Elements C	Отображение/обработка изображения/анализ 2D/3D/4D анализ, анализ серийной съёмки с временным интервалом, объёмная 3D визуализация/ ортогональное отображение, пространственный фильтр, сшивка изображений, многопозиционная серийная съёмка с временным интервалом, спектральное разделение, разделение в режиме реального времени, виртуальные фильтры, деконволюция, вывод графических файлов формате AVI Применение: FRAP, FLIP, FRET, фотоактивация, колокализация, трехмерная серийная съёмка с временным интервалом, многопозиционная съёмка с временным интервалом
Управляющий компьютер	Операционная система: Microsoft Windows 7 Professional, 64 bit SP1(Японский/английский), CPU: Intel Xeon X3565 (3,20 ГГц/8 Мб/1066 МГц/Quad Core) или выше, Память: 4 Гб, Жесткий диск: 146 Гб интерфейс SATA 3 Гб/с (7200 об./мин.), Передача данных: локальная сеть, Сетевой интерфейс: Gigabit Ethernet, Монитор: разрешение 1600 x 1200 или выше, рекомендуется настройка двойного монитора

\*1 Совместимые лазеры и используемые длины волн различаются в зависимости от используемого лазерного блока.

\*2 Указанная частота кадров НЕ доступна в режиме вращения, обрезания, экспонирования в заданной области, формирования спектральных изображений и стимуляции.

Технические характеристики и оборудование могут быть изменены без предварительного уведомления или каких-либо обязательств со стороны производителя. Декабрь 2011 ©2010-11 NIKON CORPORATION

**⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** Что бы 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 S1. 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).



Сертифицировано по ISO 9001  
NIKON CORPORATION  
Instruments Company



Сертифицировано по ISO 14001  
NIKON CORPORATION



NIKON CORPORATION  
Shin-Yurakucho Bldg., 12-1, Yurakucho 1-chome, Chiyoda-ku, Токио 100-8331, Япония  
Телефон: +81-3-3216-375 факс: +81-3-3216-2385  
<http://www.nikon.com/instruments/>



ООО «БиоГен-Аналитика»

115093, Москва, Партийный пер., д.1, корп. 58, стр.1  
тел./факс: +7 499 704 62 44  
e-mail: 84997046244@bga.su  
www.bga.su