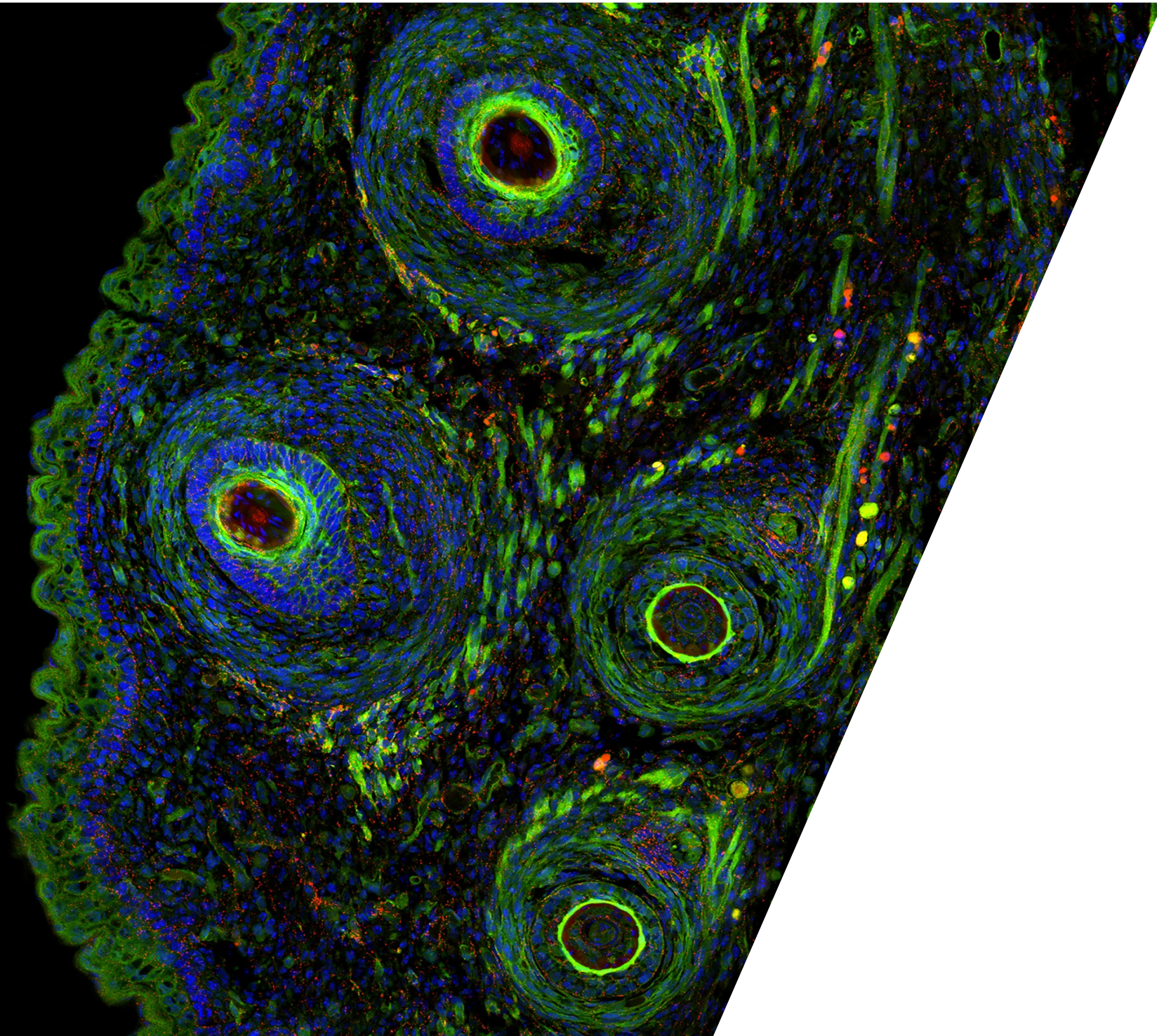




转盘共聚焦 成像及应用

Contents

01 转盘共聚焦成像原理

02 转盘共聚焦成像操作

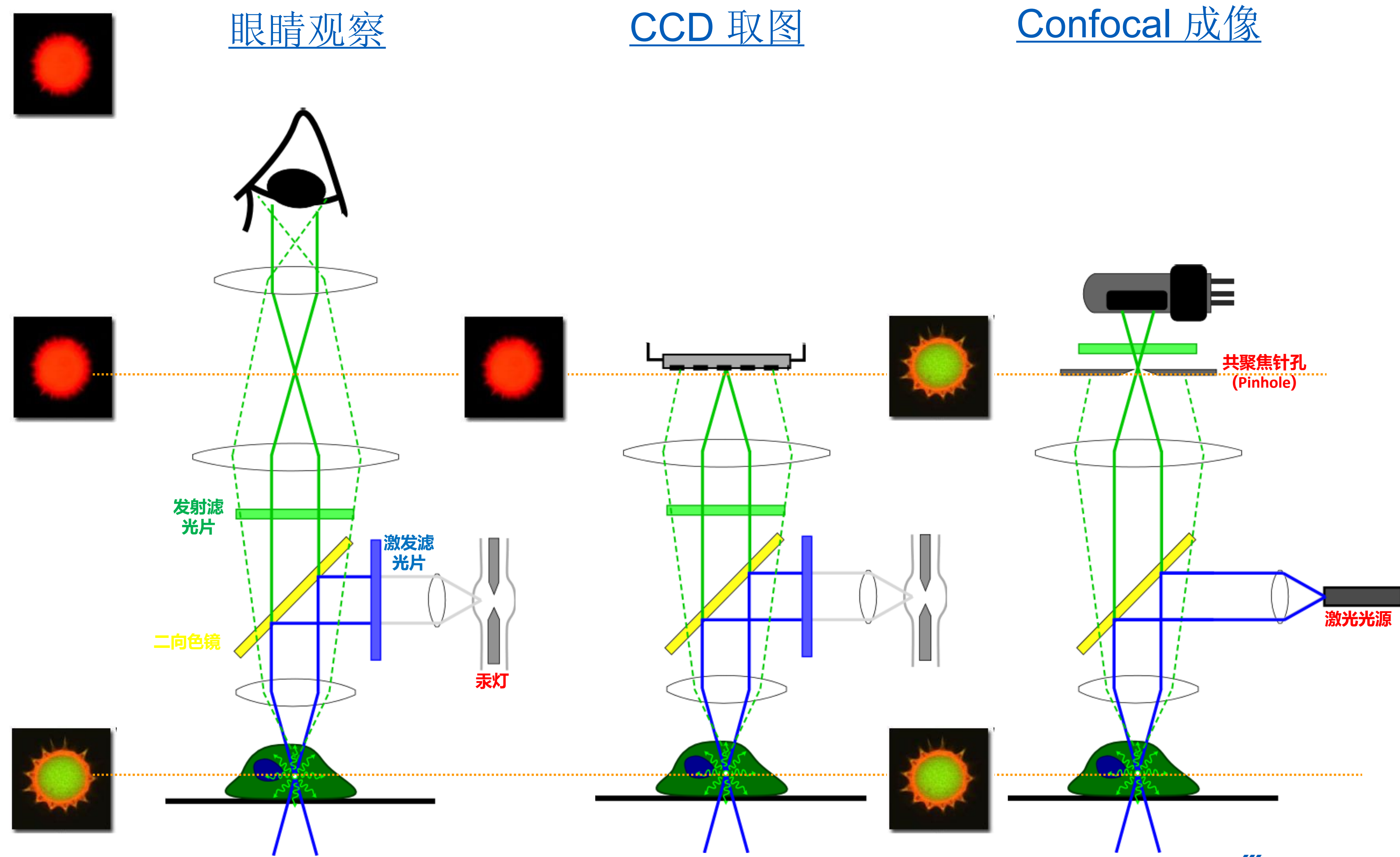
03 转盘共聚焦应用介绍



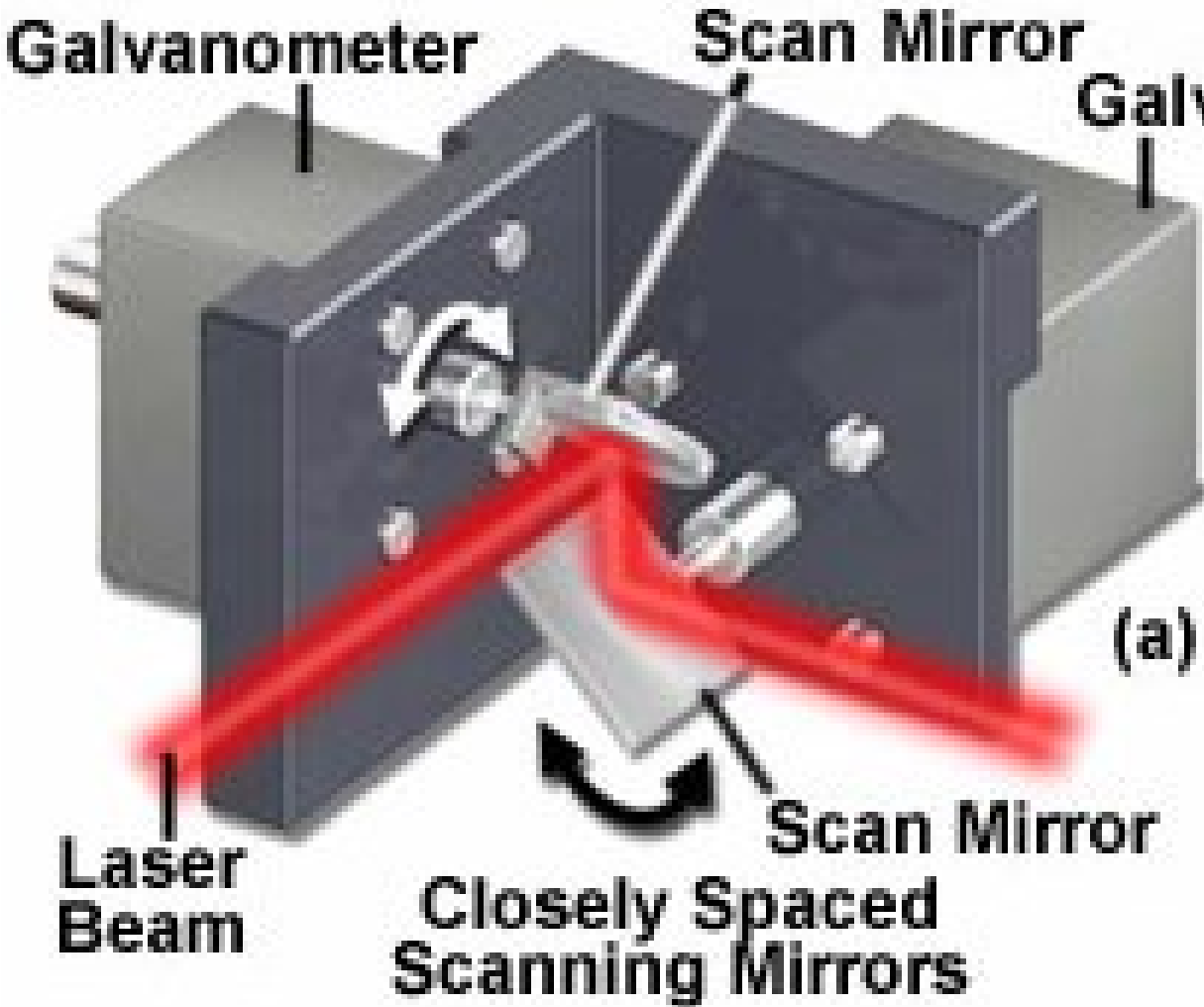
01

转盘共聚焦成像原理

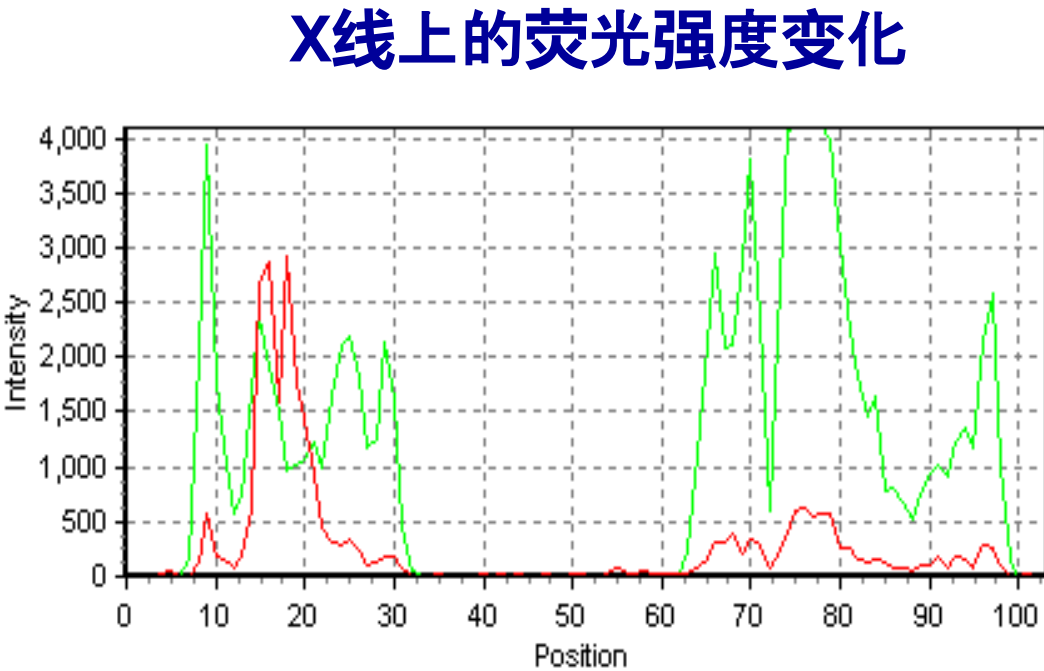
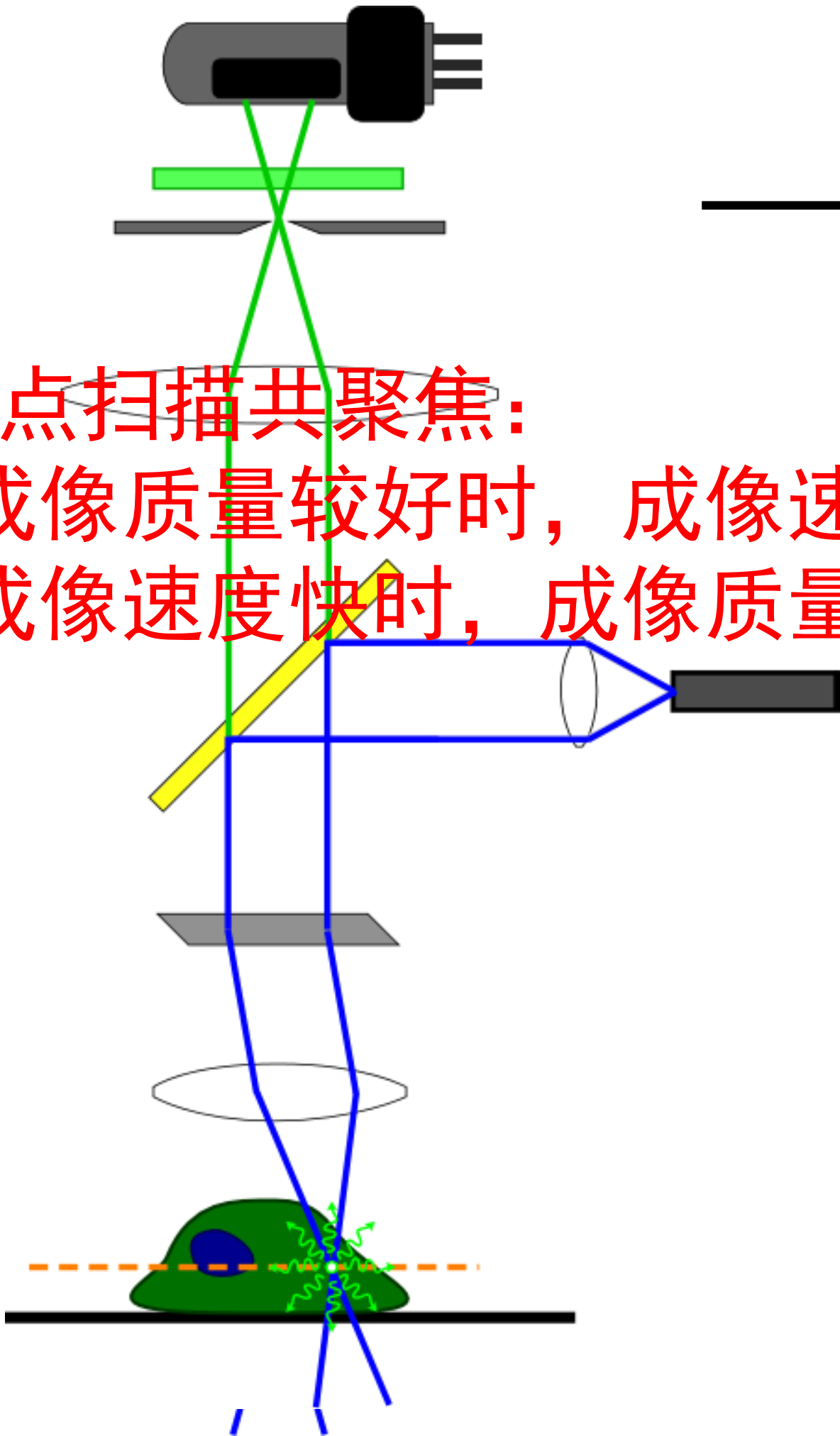
The Design Principle of Confocal System



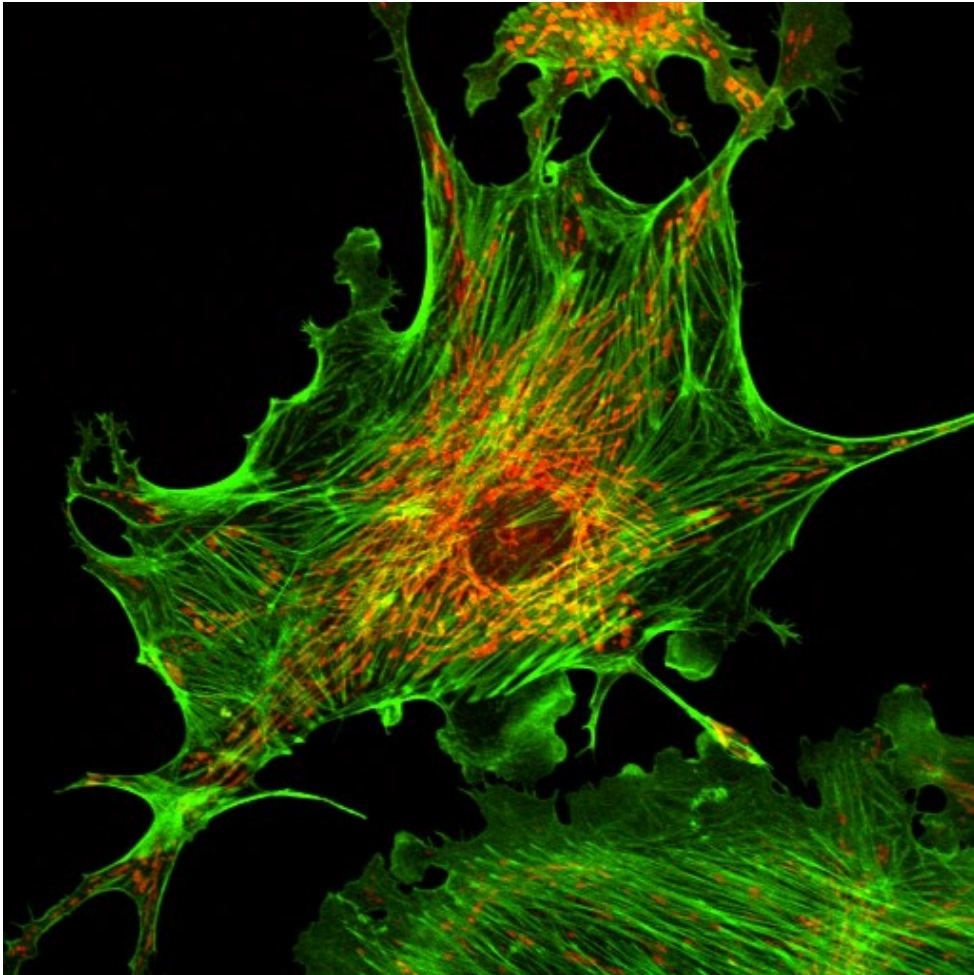
点扫描共聚焦组成部件——扫描振镜



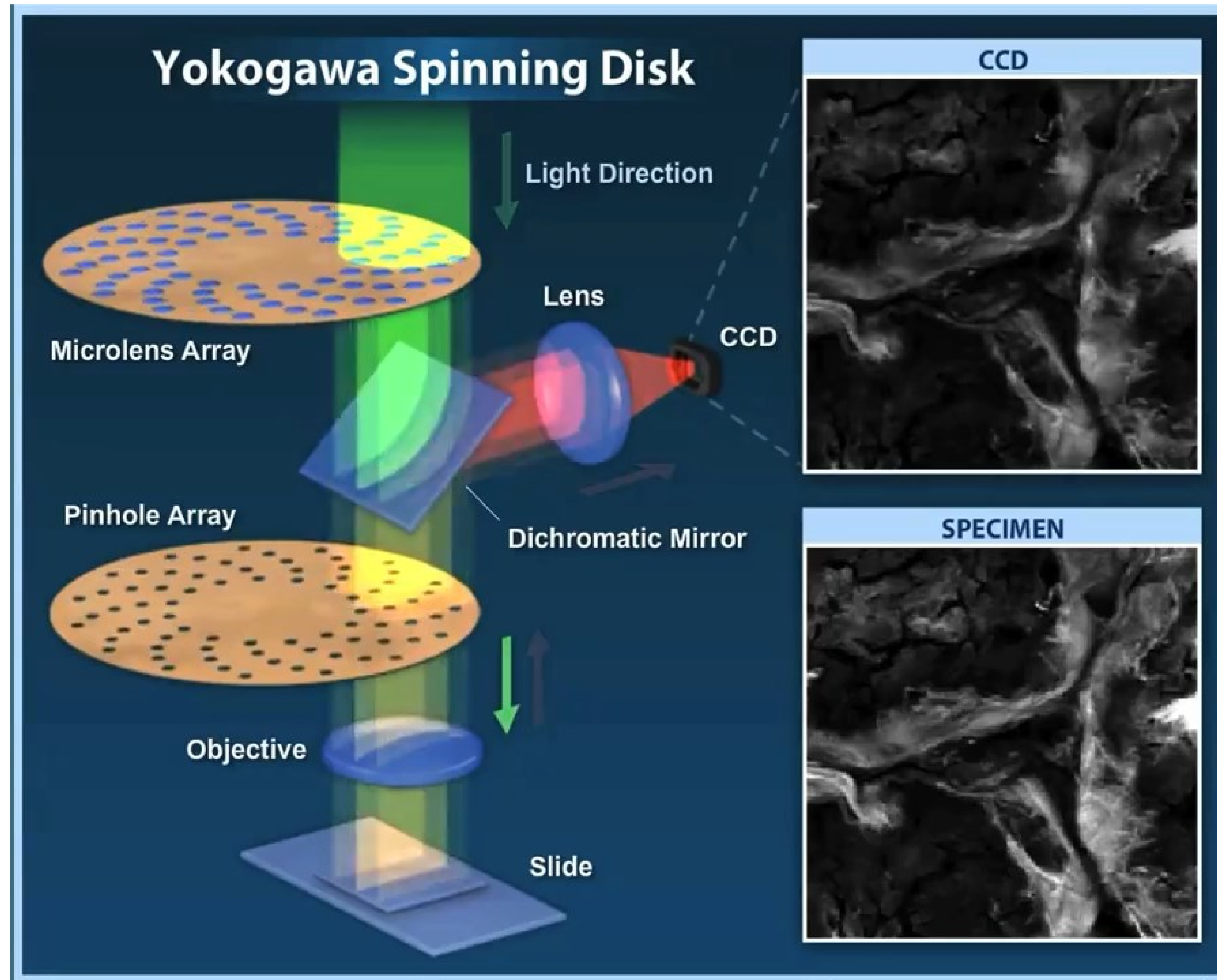
传统点扫描共聚焦：
1、成像质量较好时，成像速度慢
2、成像速度快时，成像质量不能保证



多条线构成2维图像



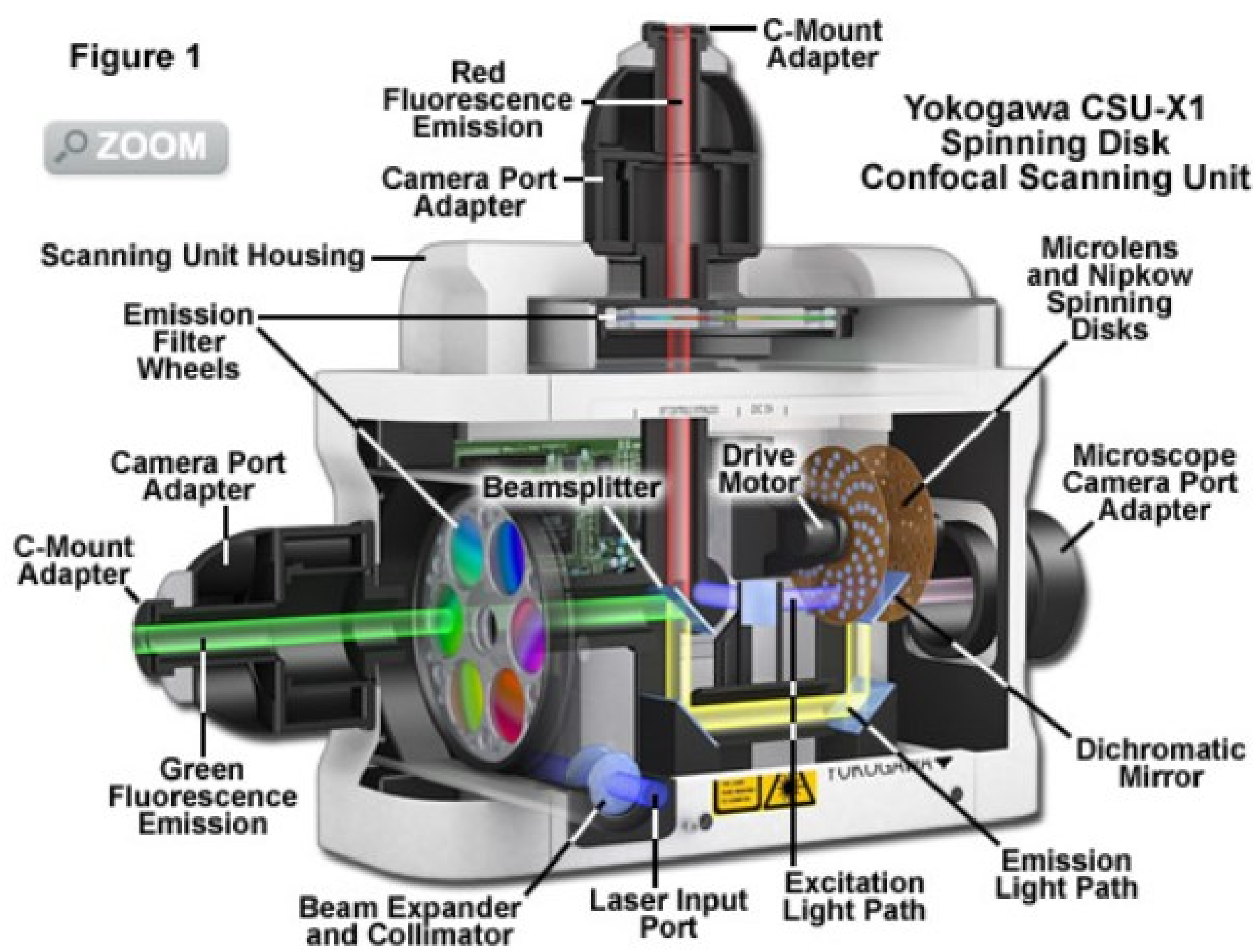
Spinning Disk 转盘式激光共聚焦



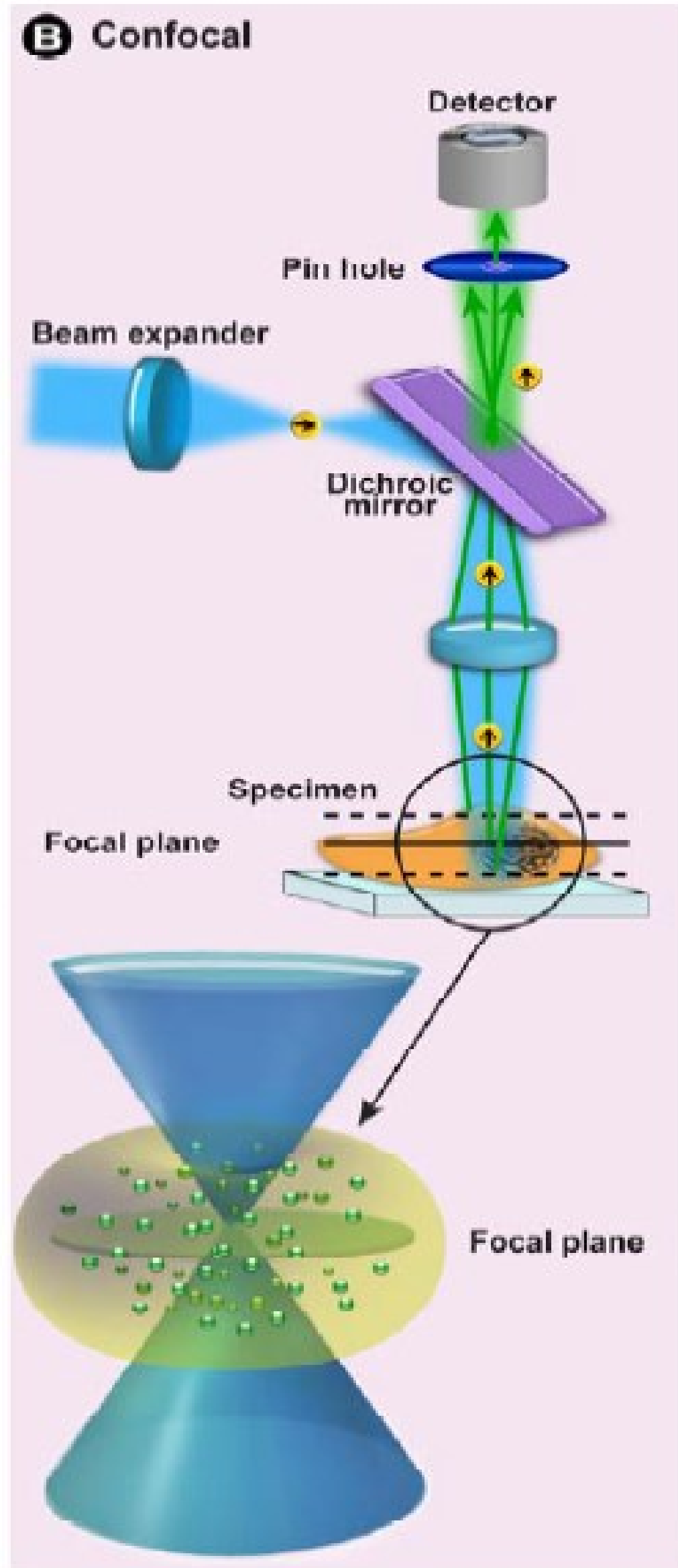
转盘旋转速度过小，出现条纹

转盘旋转速度增大，图像连贯

Spinning Disk 转盘式激光共聚焦

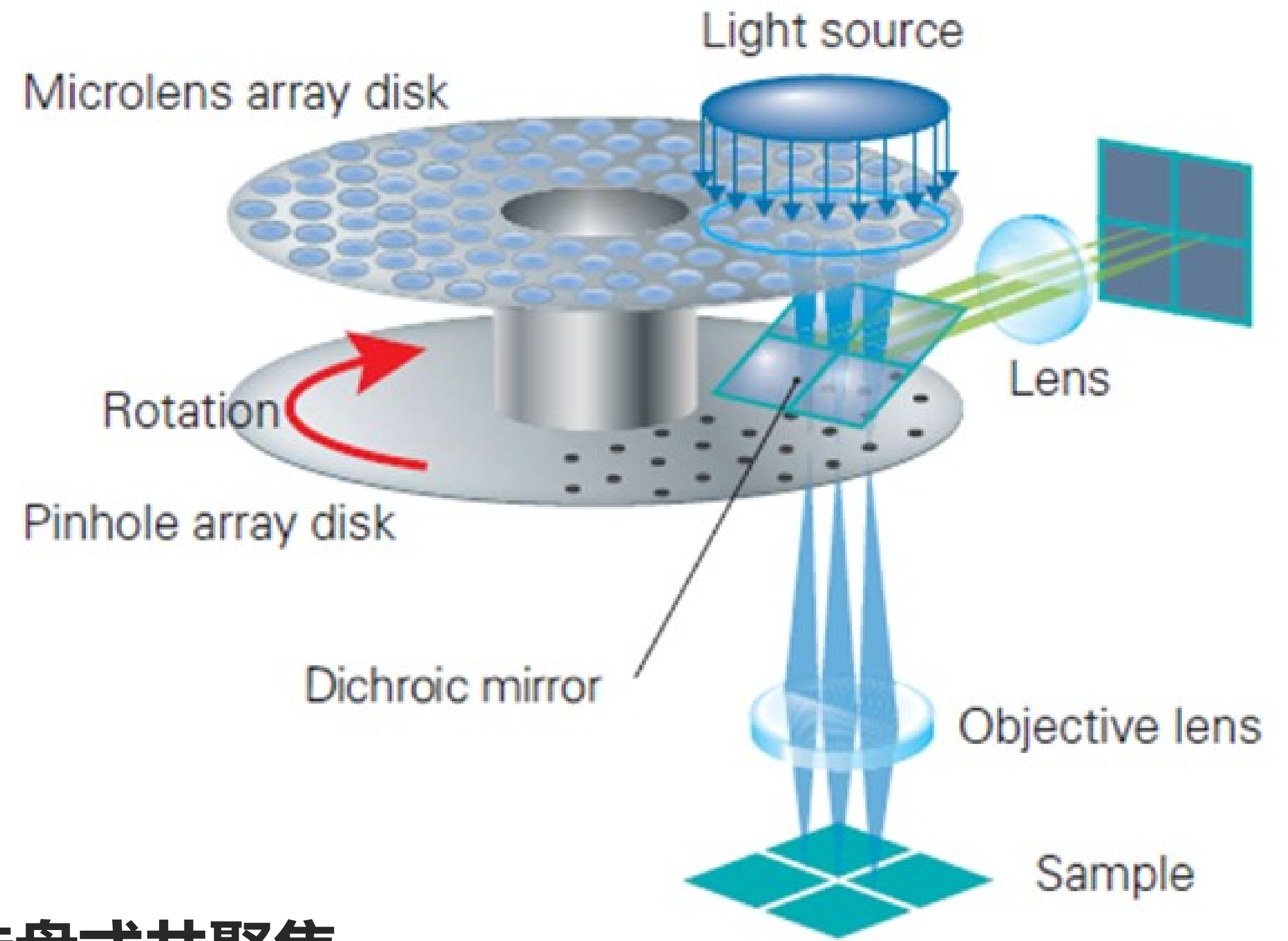


两种类型共聚焦的原理比较



传统点扫描共聚焦

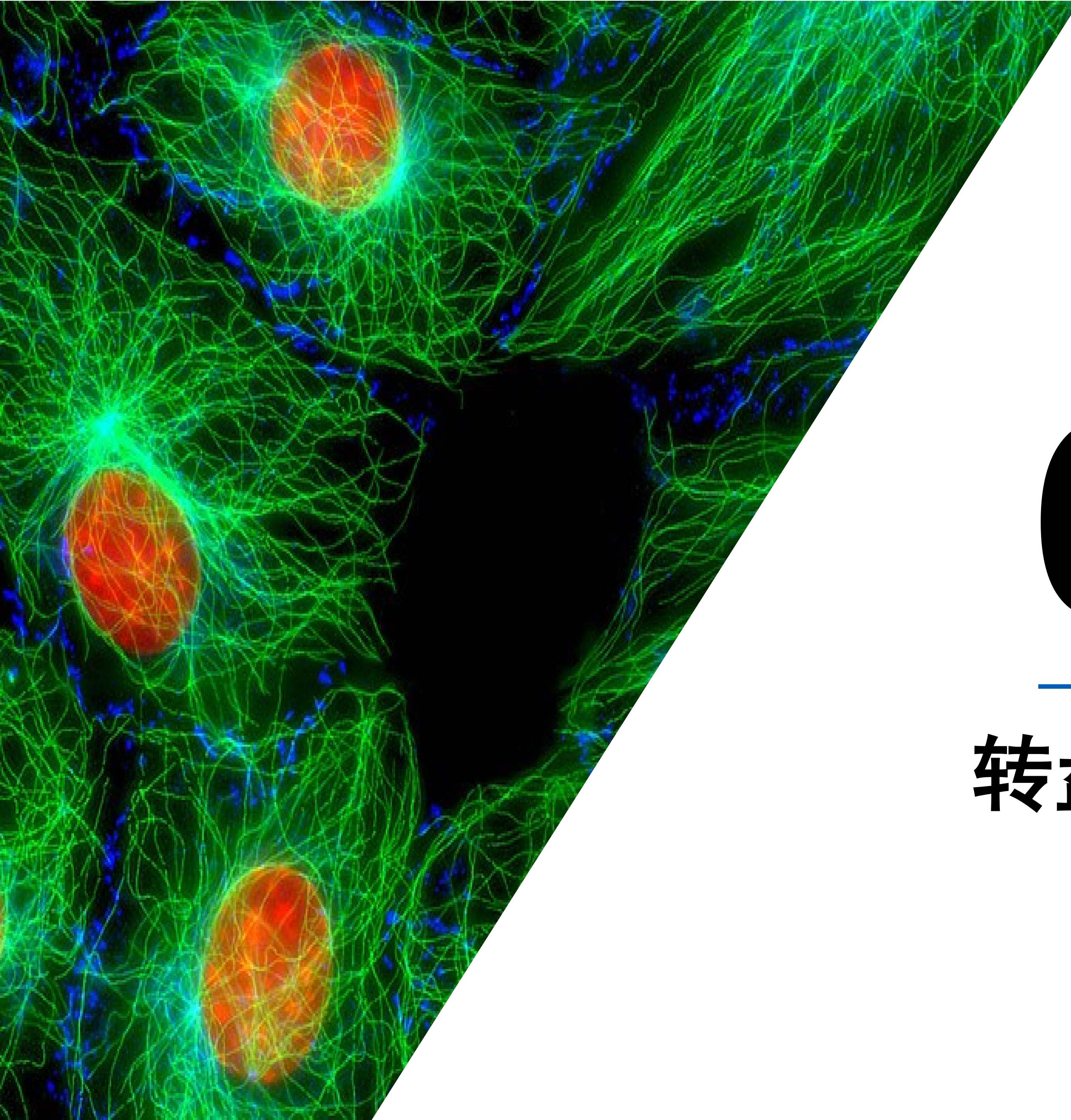
- 单一针孔
- 有常规PMT和GaAsP高灵敏检测器两种检测装置
- 通过扫描振镜的摆动进行成像
- 成像速度由扫描振镜决定从毫秒级(512X512)到数十秒级(2048X2048)
- 光毒性一般(相对于转盘)



转盘式共聚焦

- Nipkow双转盘，扫描转盘有**2万个**针孔（50um），转盘同步高速旋转，扫描速度为**4000转/分钟**
- 高灵敏高速相机成像
- 支持图像采集速度为**200幅/秒**(512X512)
- 光毒性小

EVIDENTTM



02

转盘共聚焦成像操作

SpinSR10——根据调节显示中的最大值来设定拍摄参数



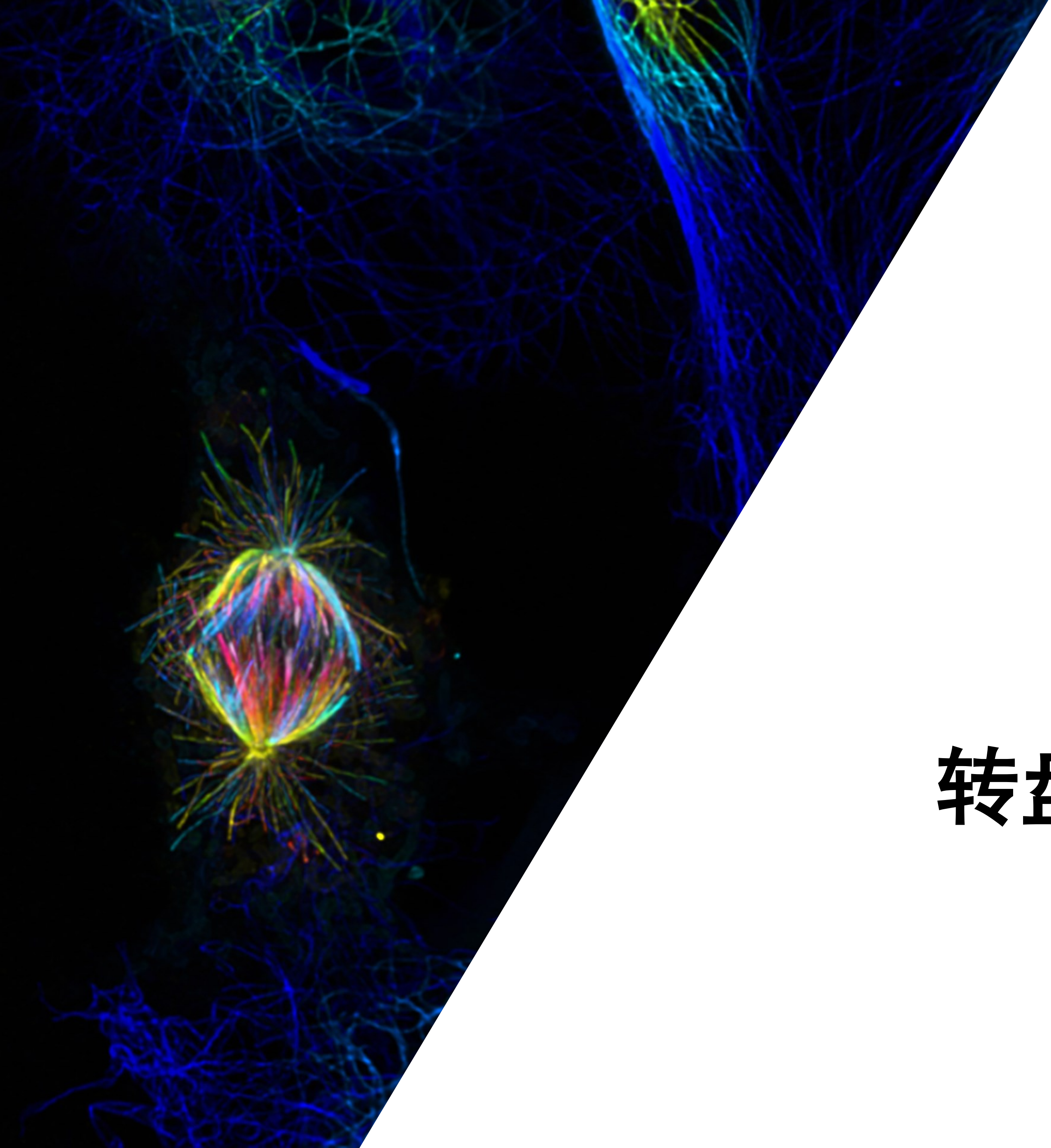
Observation Method



Process Manager



GEM



03

转盘转盘共聚焦应用介绍

产品特点：一机多用，满足生命科学研究领域用户的主要实验需求

1, 超高分辨率图像?

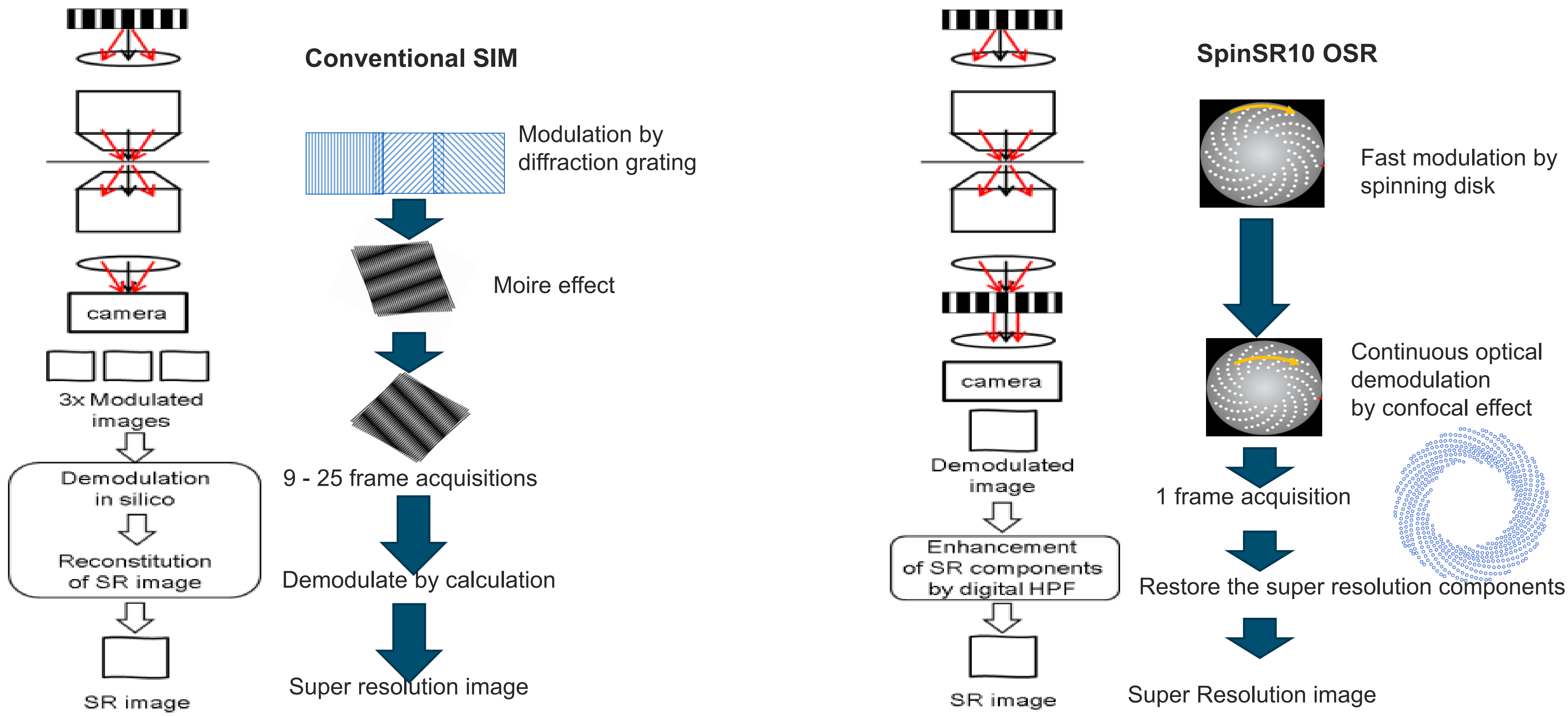


2, 高速大视野成像?

3, 活细胞低光毒性长时程成像?

EVIDENT™

OSR: Olympus Super Resolution technology



独有元件 SD-MGCA



超分辨率模式/共聚焦模式

共聚焦成像---优化光路，视场均匀

超高分辨成像---匹配60x和100x成像

专利超分辨 OSR

Ultrafast superresolution fluorescence imaging with spinning disk confocal microscope optics

Shinichi Hayashi^a and Yasushi Okada^b

^aProducts Development Department 6, R&D Division, Olympus Corporation, 2951 Ishikawa-cho, Hachioji, Tokyo 192-8507, Japan; ^bLaboratory for Cell Polarity Regulation, Quantitative Biology Center, RIKEN, Furuedai 6-2-3, Suita, Osaka 565-0874, Japan



This Olympus super resolution microscope is able to upgrade from the spinning confocal microscope easily. Also, the combination with silicone immersion objectives helps to reduce the spherical aberration and able to get the super resolution live imaging in deep plane of cells, I expect this technology will be the tool which able to use in the most of the application in biological field.

Yasushi Okada, PhD, Riken
Quantitative Biology Center

专利号: JP5412394
US8817088
EP2437095B

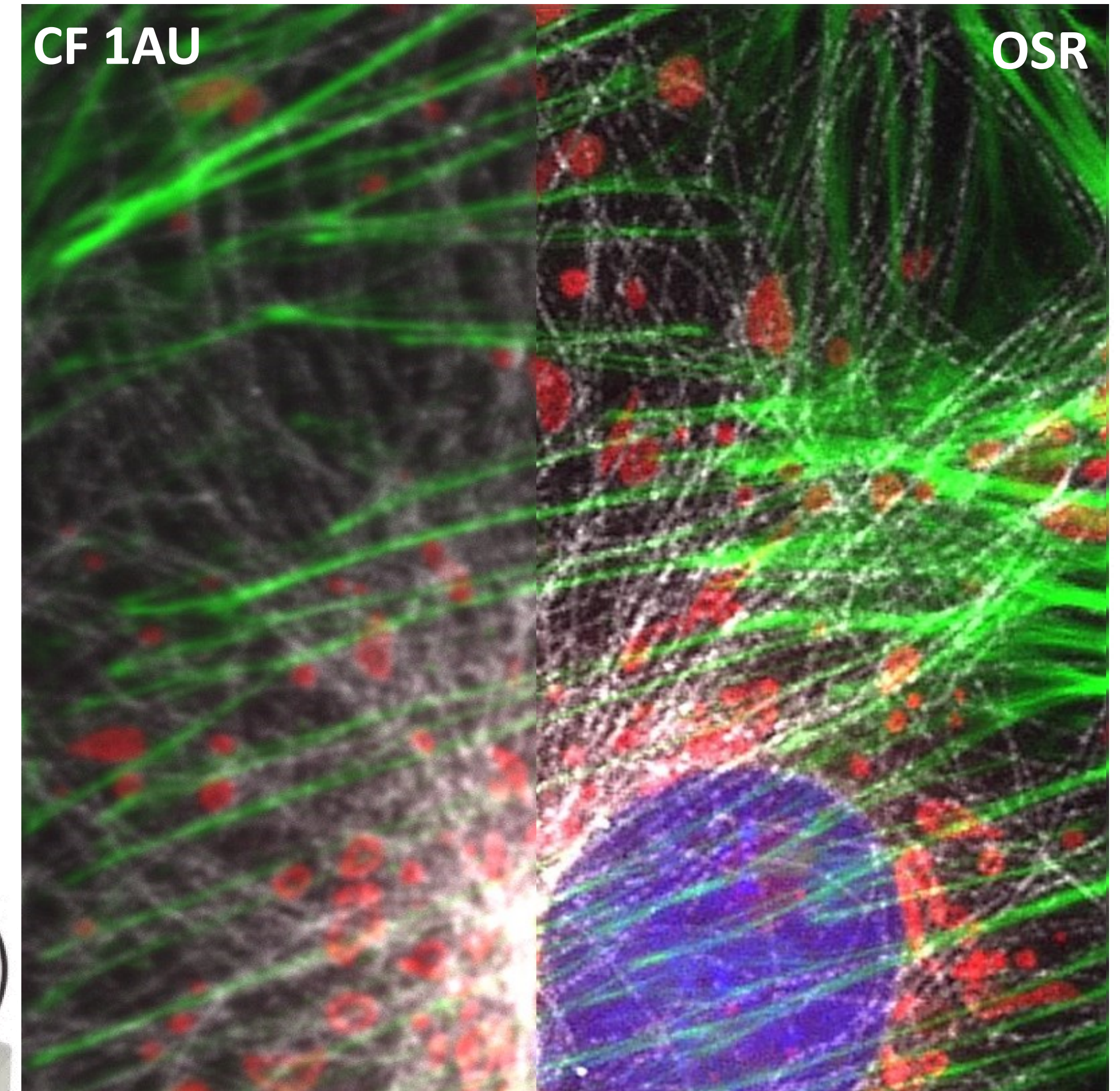


SpinSR超高分辨系统优势：最适合做活细胞高速超高分辨成像的系统

- 转盘共聚焦技术本身也是结构照明的一种，因此SpinSR10也称为“**共聚焦上的SIM**”。
- 通过光路中硬件**SD-MGCA**，实现优化针孔大小，结合特殊算法，获得超高分辨率图像。
- **无需使用特殊荧光染料。**
- XY分辨率可达**120nm**，速度**200f/s**，适合观察活细胞的亚细胞结构。

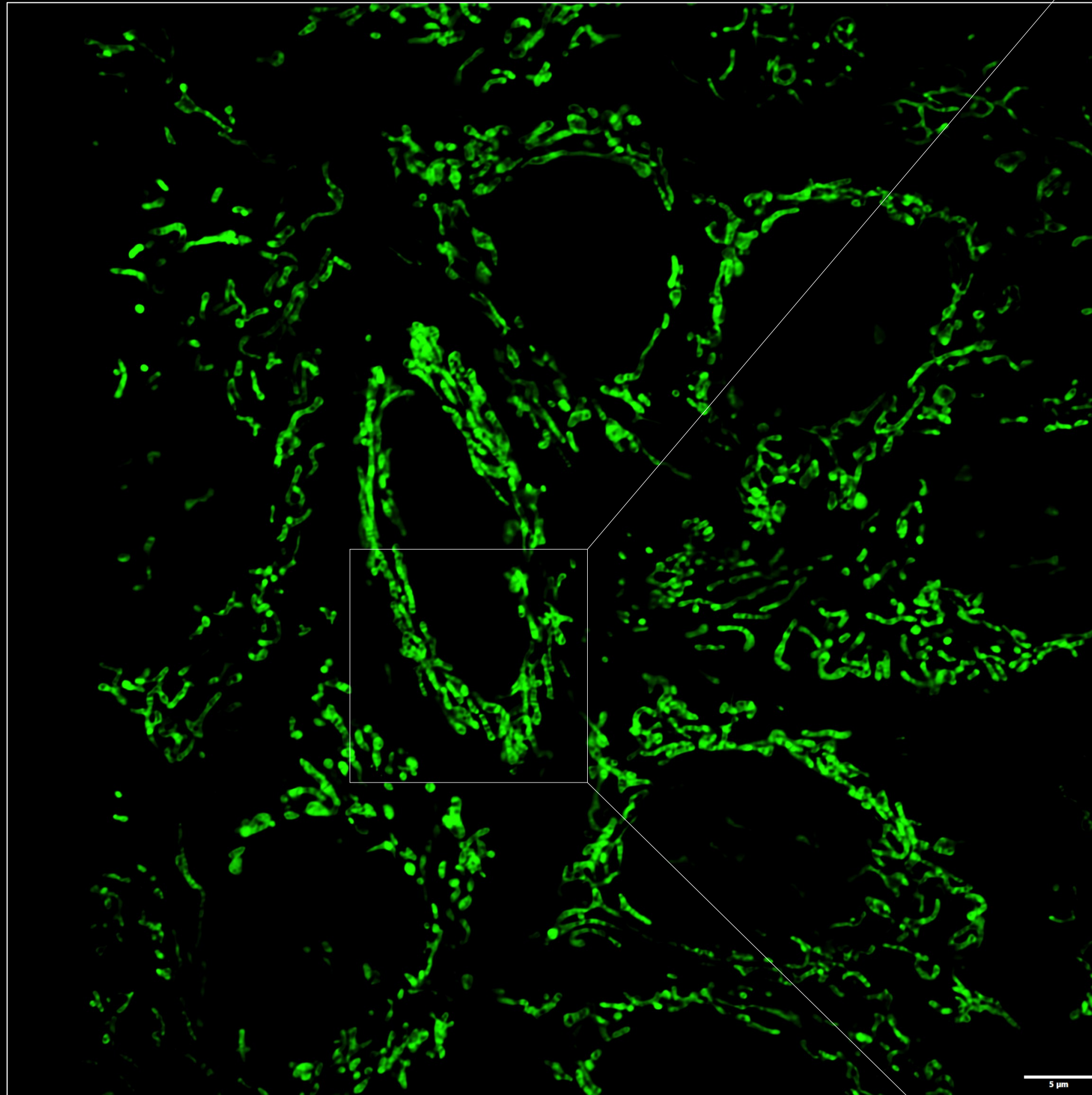
Motorized 2 positions:

- 1x for regular confocal
- 3.2x for super resolution



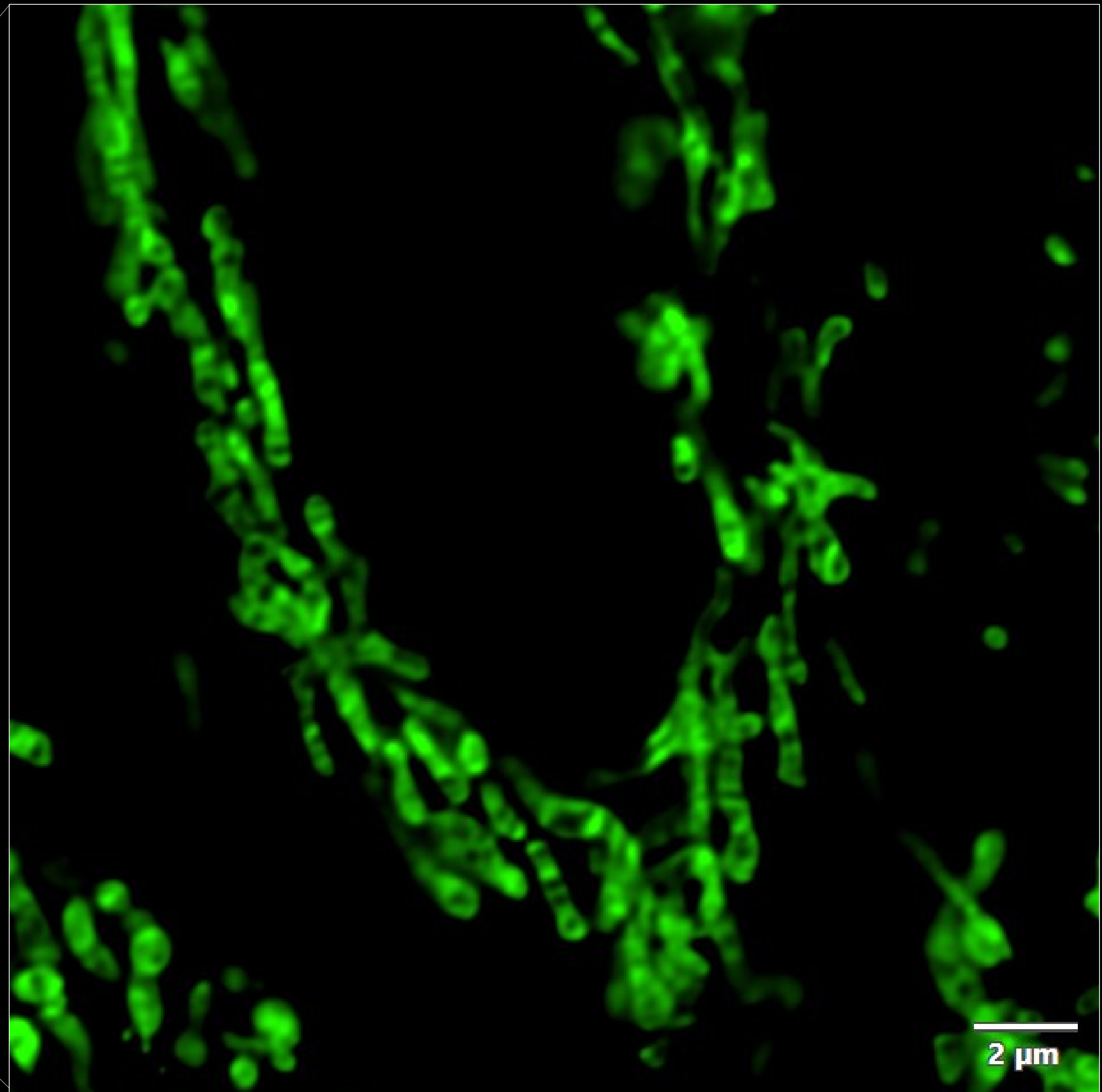
EVIDENT™

Mitochondrial cristae

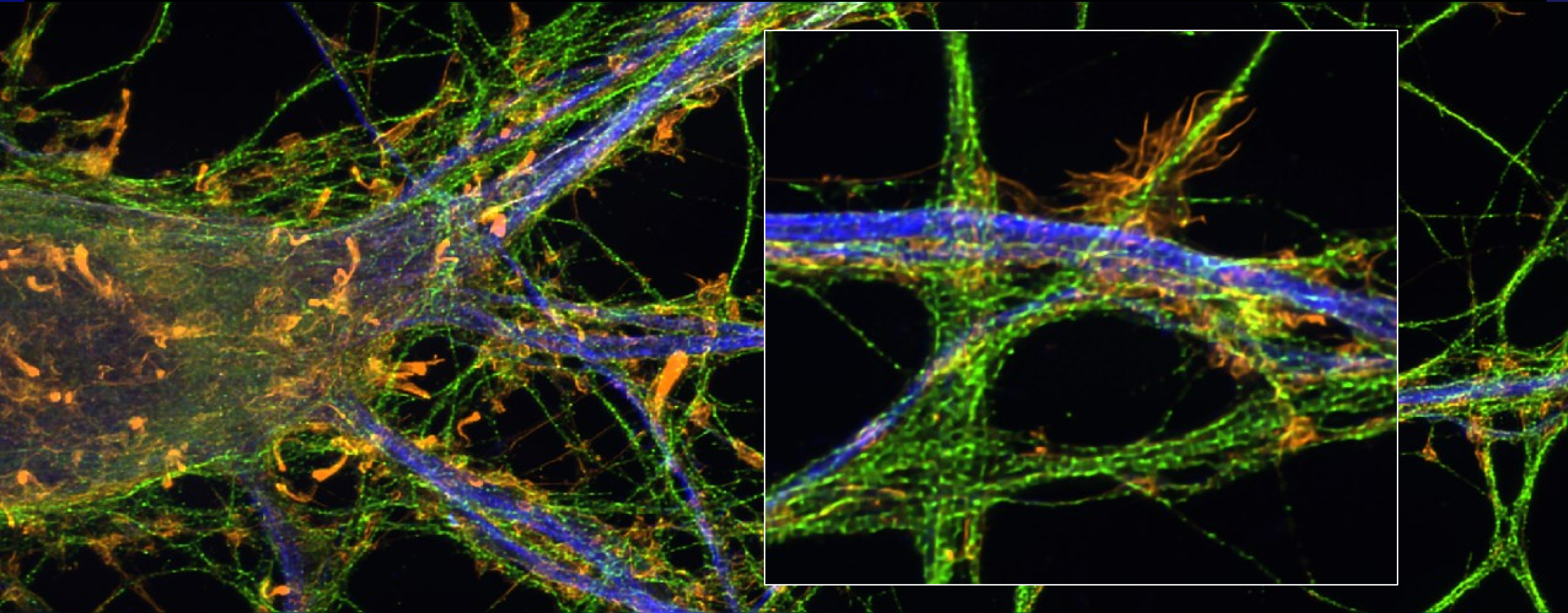


Super-resolution of mitochondria stained with PKMDR Dye.
IXplore SpinSR, UPLAPO60XO, TruSight processing.

Image courtesy: Dr. Huiwen Hao, Prof. Yujie Sun & Prof. Zhixing Chen.
Peking University. Standard Imaging Co., Ltd., NanJing GenVivo
Biotech Co., Ltd.



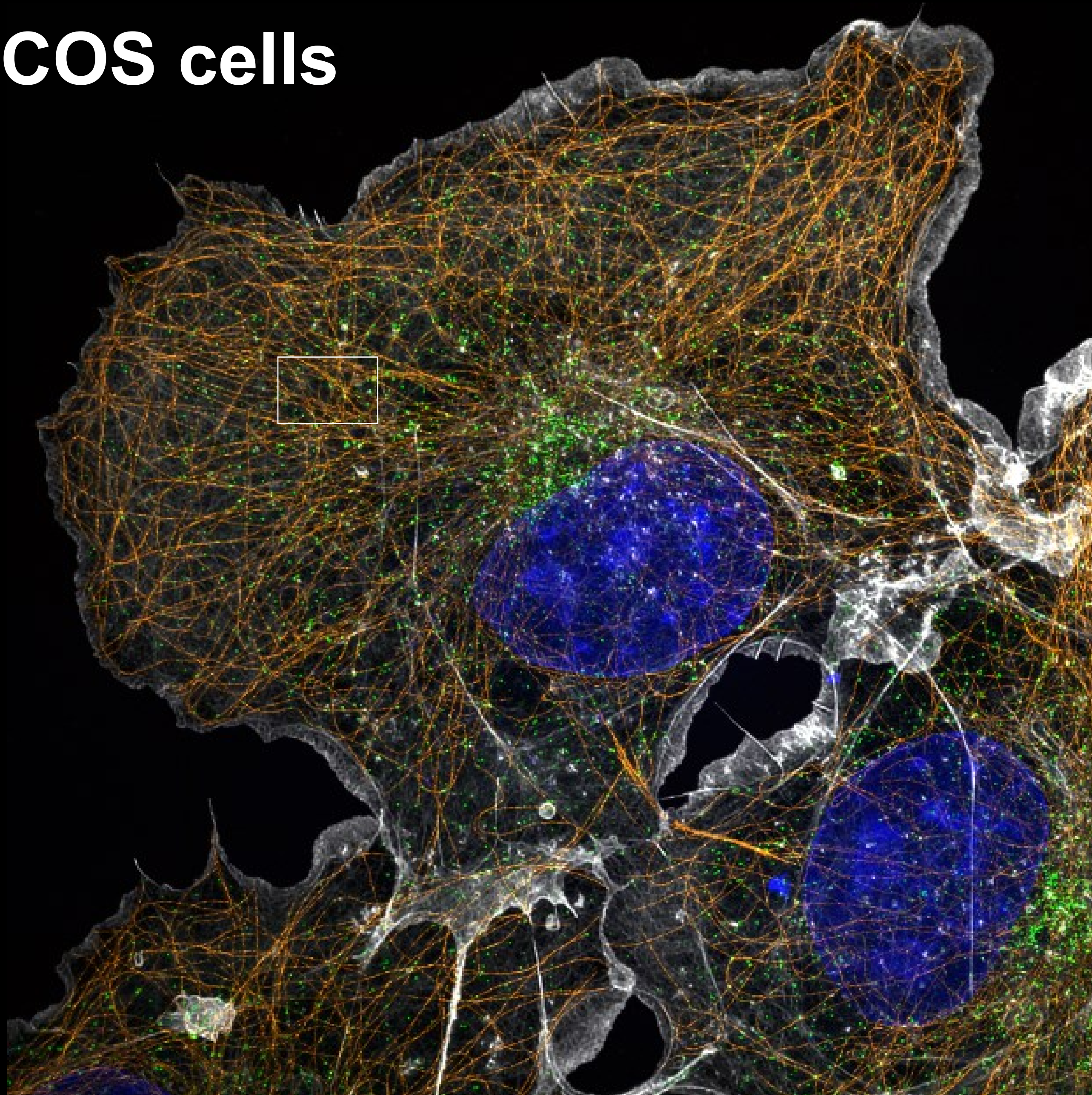
Neurons



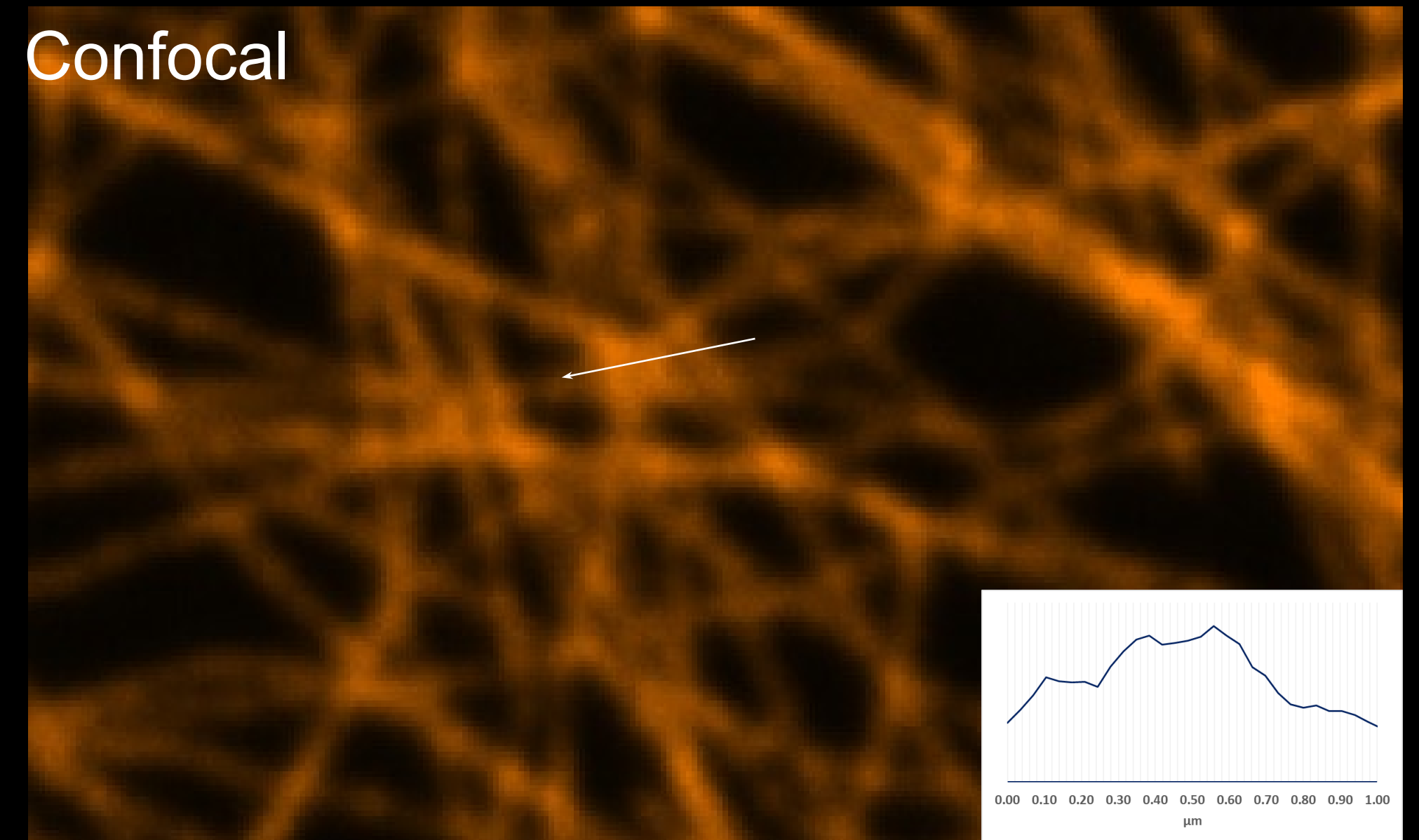
Nuerons: Actin (orange), Map2 (blue, cell body+dendrites), β 2-spectrine (green)(研究肌动蛋白和spectrine收缩蛋白如何沿着轴突形成周期性支架)

Christophe Leterrier, l'Institut de NeuroPhysiopathologie CNRS-AMU Faculté de Médecine, Marseille

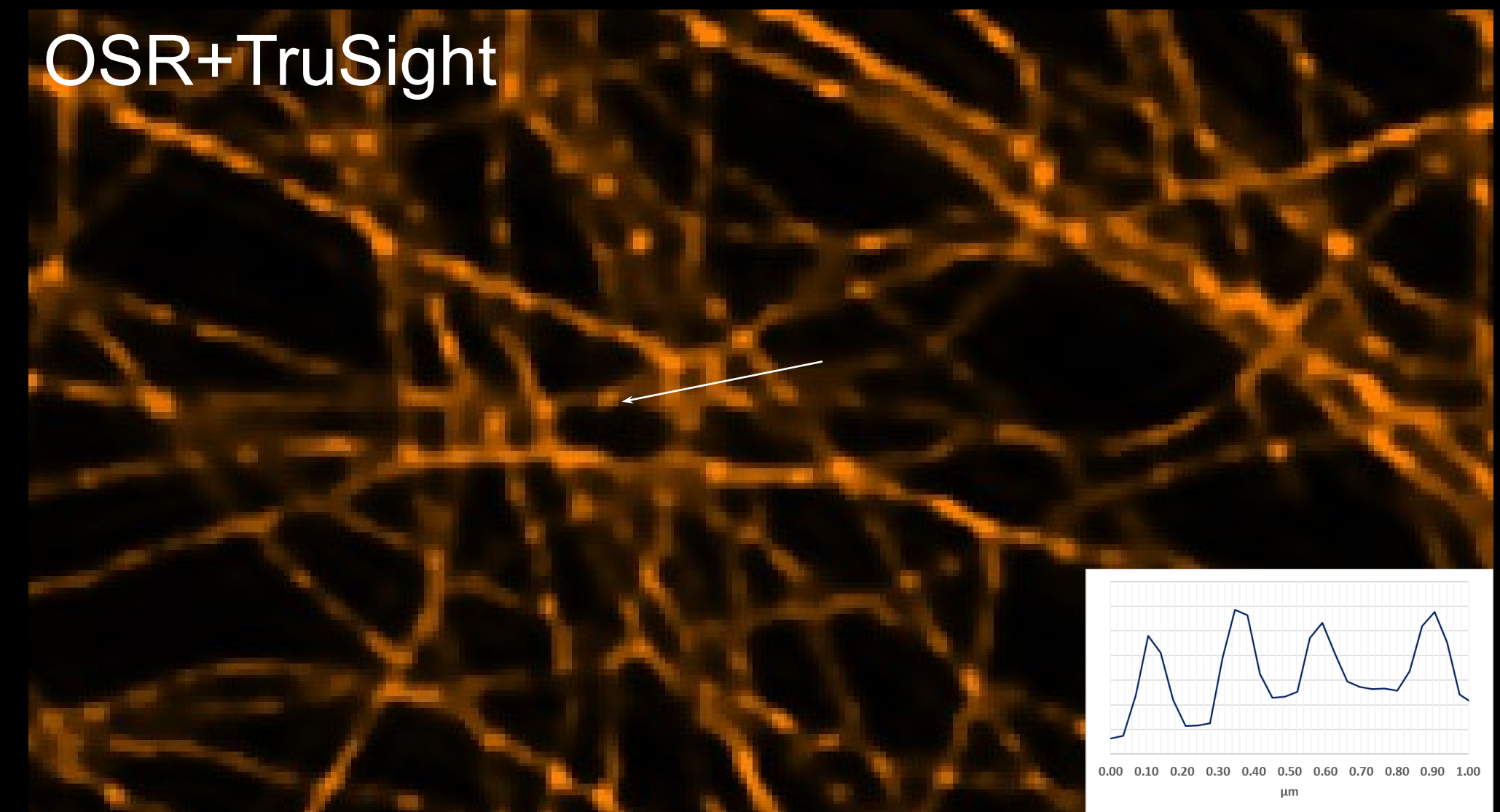
COS cells



Confocal

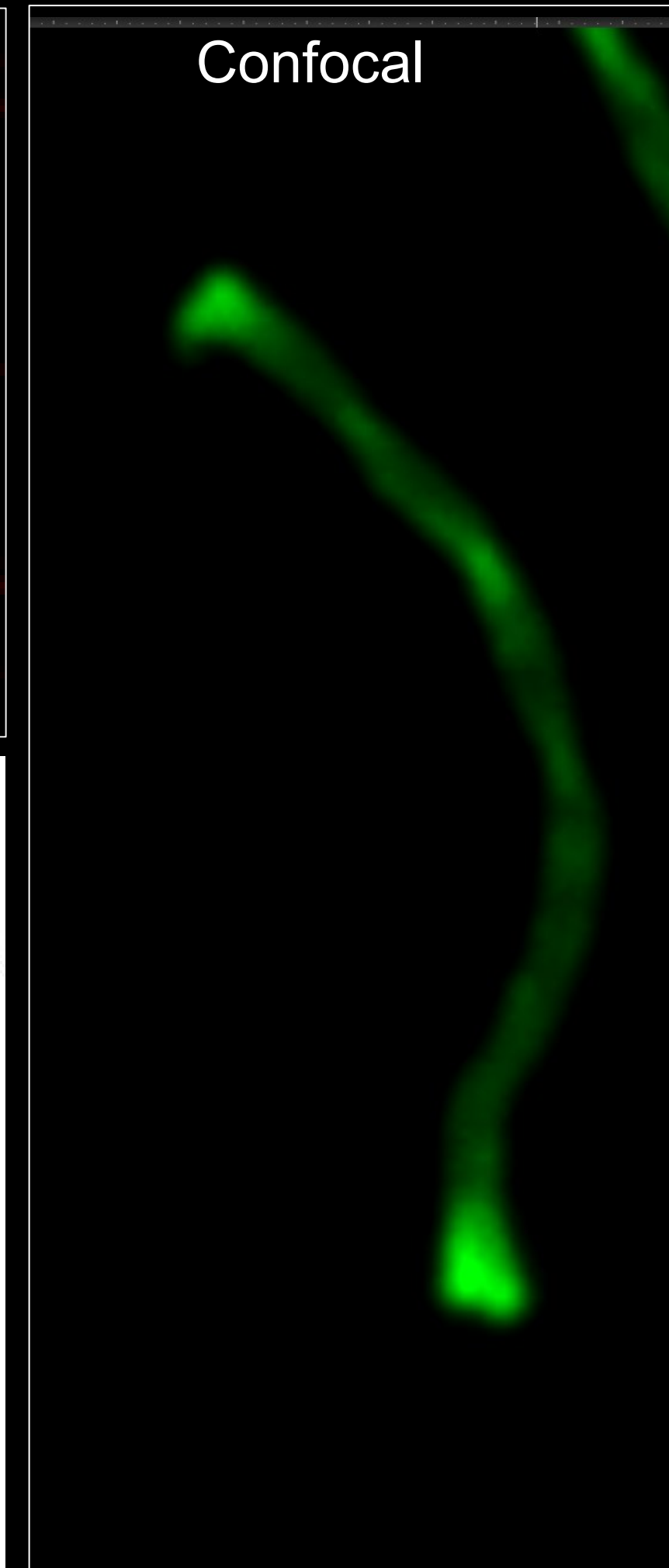
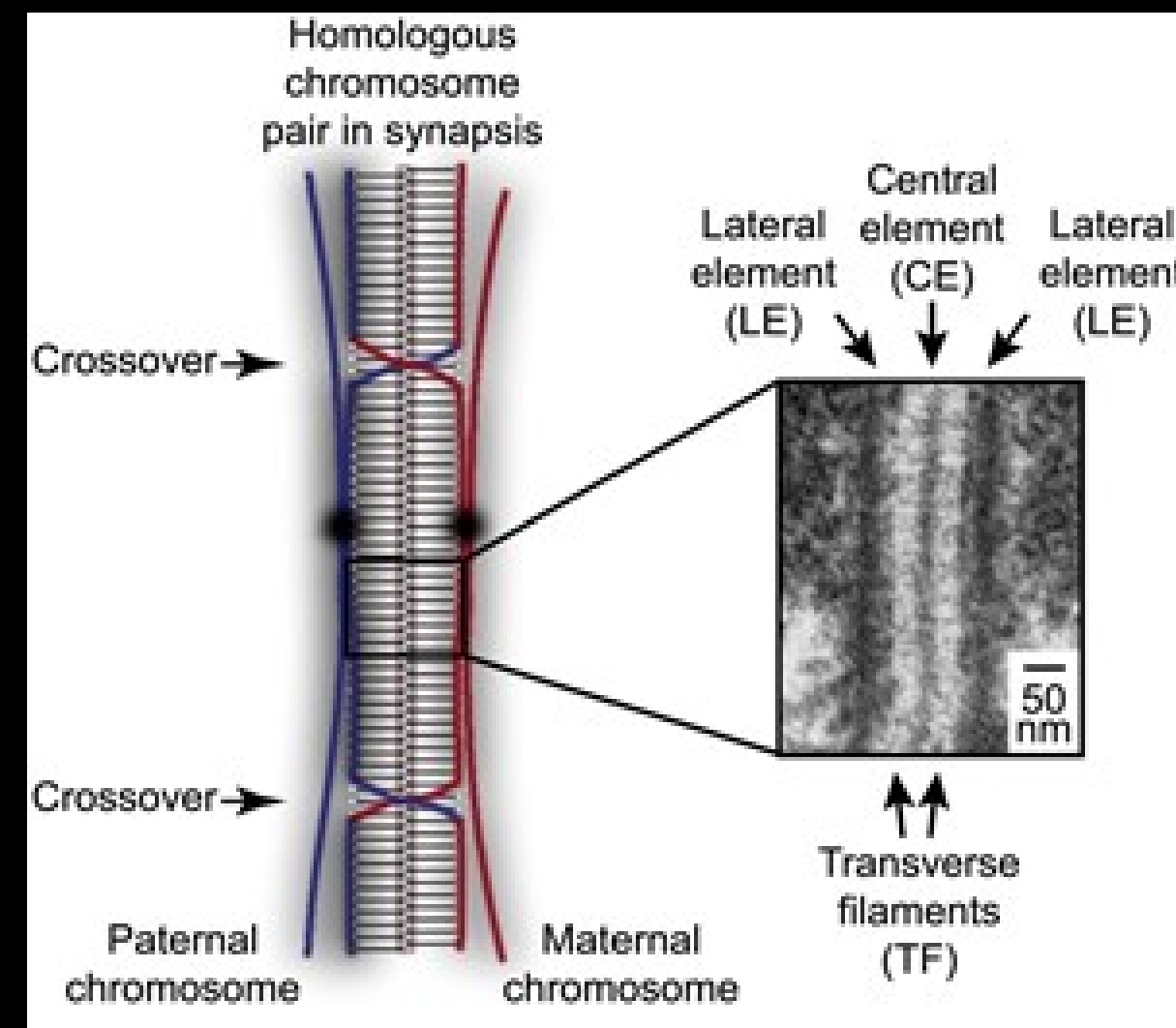
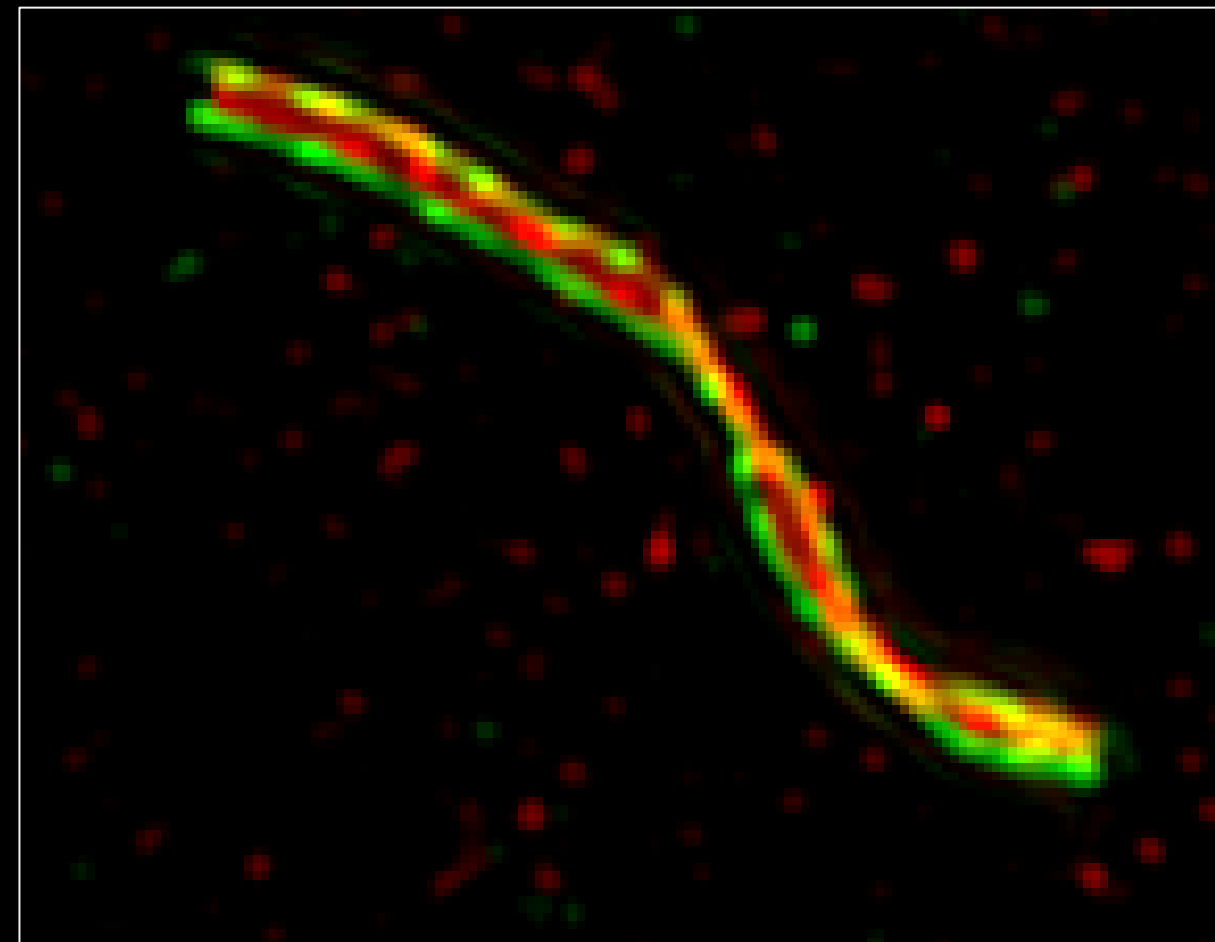
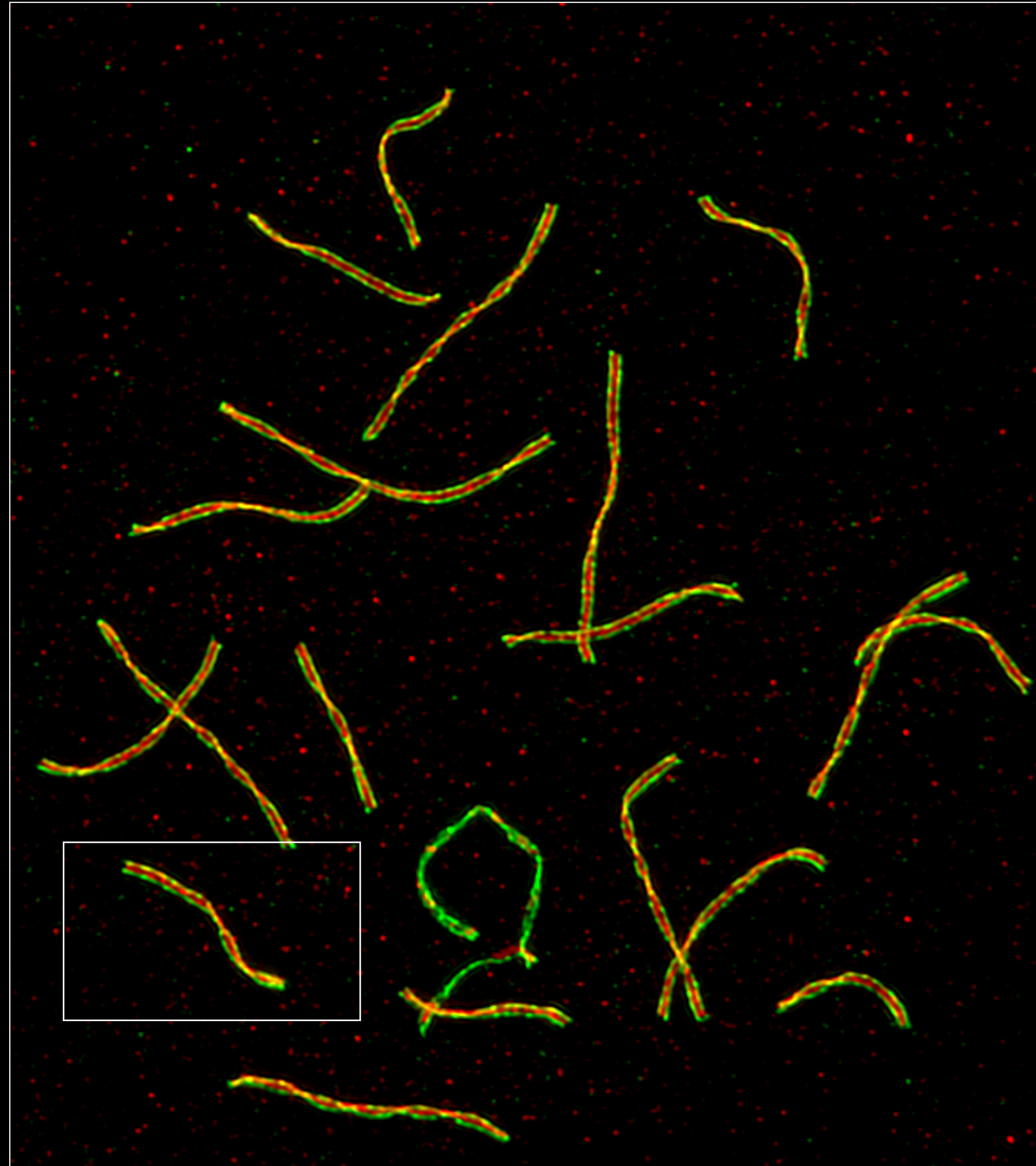


OSR+TruSight



COS cells: Microtubules (orange), actin (grey), Clathrin (green).
Christophe Leterrier, l'Institut de Neuro Physiopathologie CNRS-AMU Faculté de Médecine, Marseille

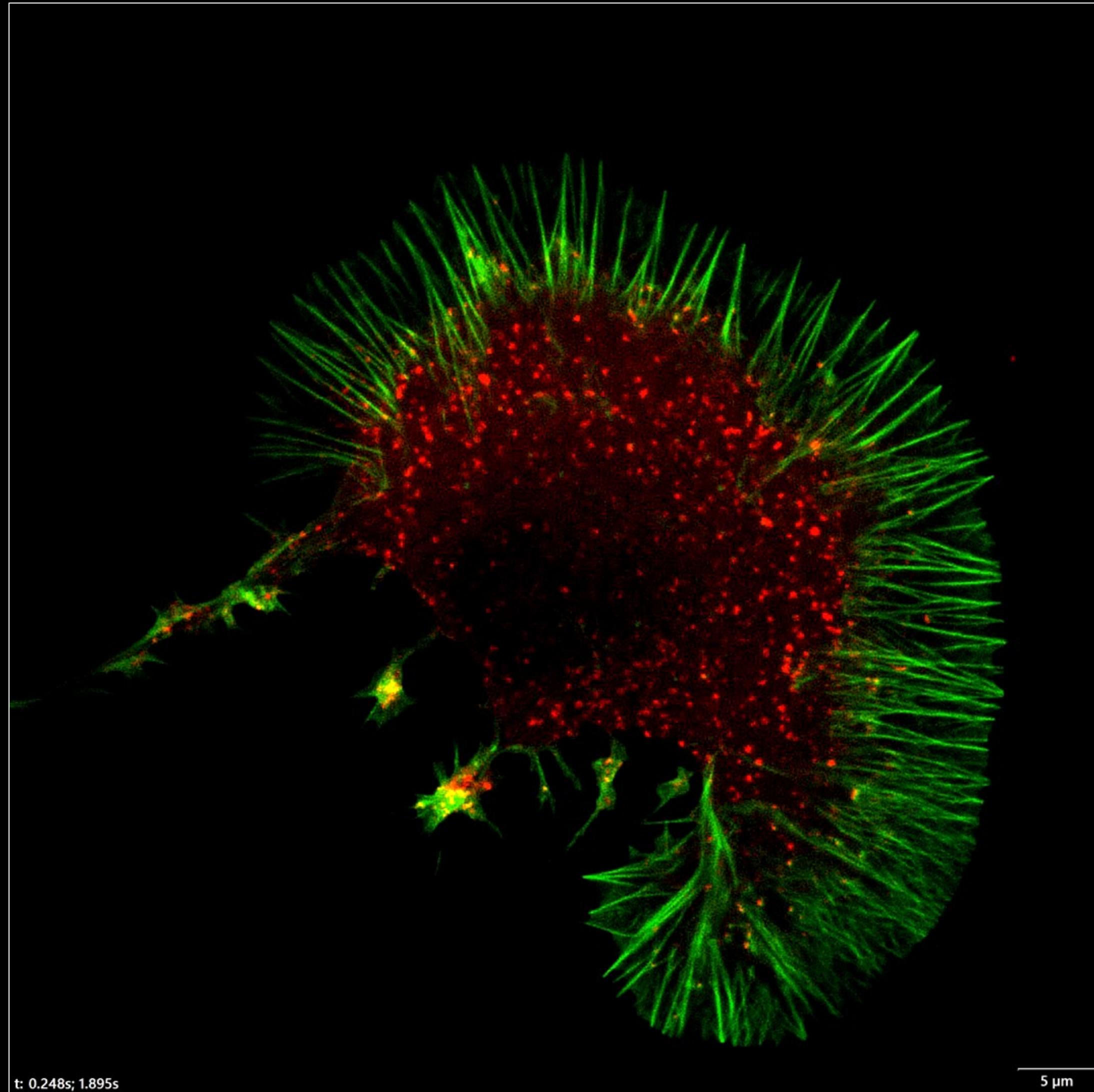
DNA 联合复合体 (110nm)



IXplore SpinSR, UPLAPO60XO, OSR, TruSight processing

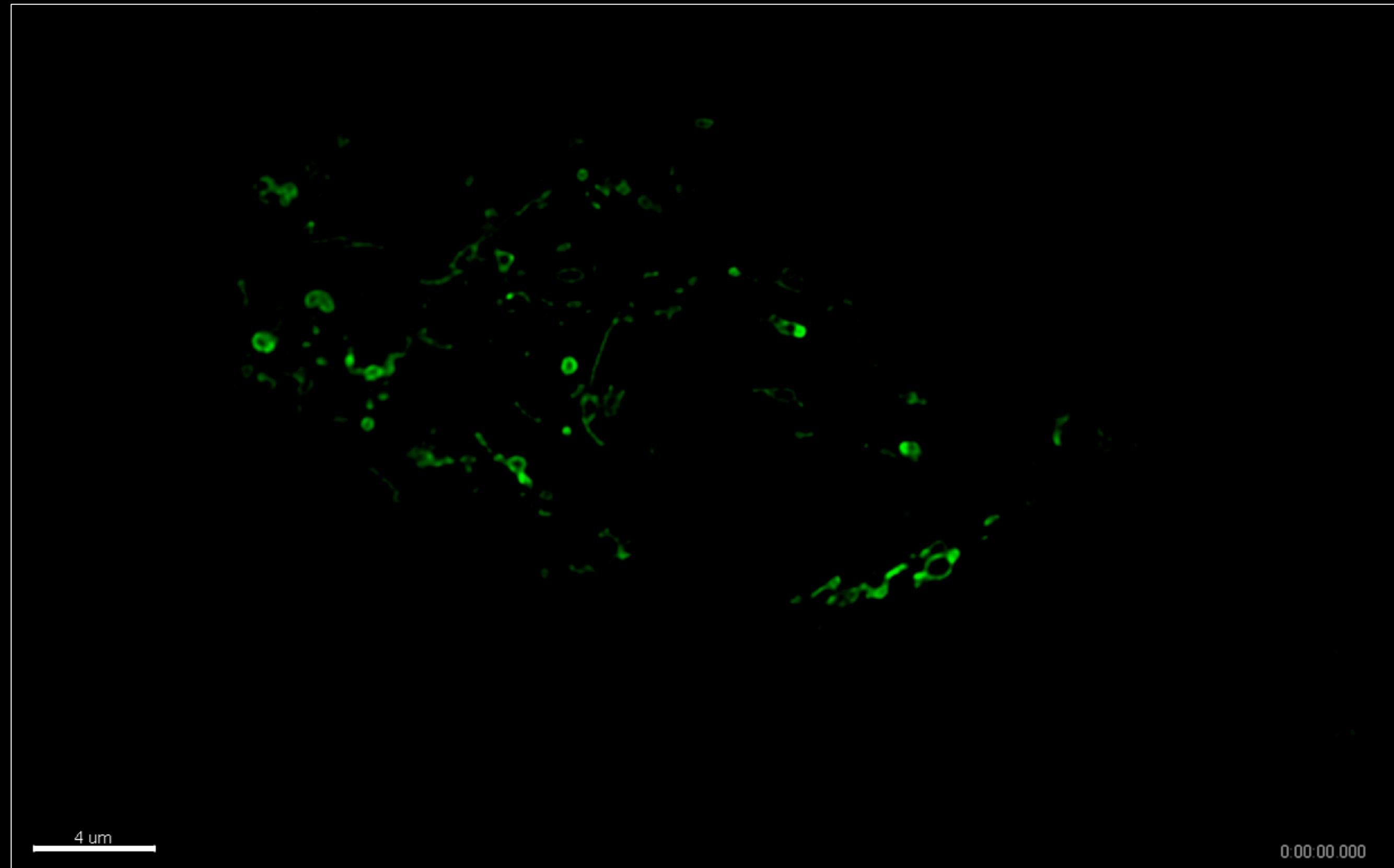
Dr. Lu Chen, Dr. Hengyu Fan, Zhejiang University

Live Cell imaging

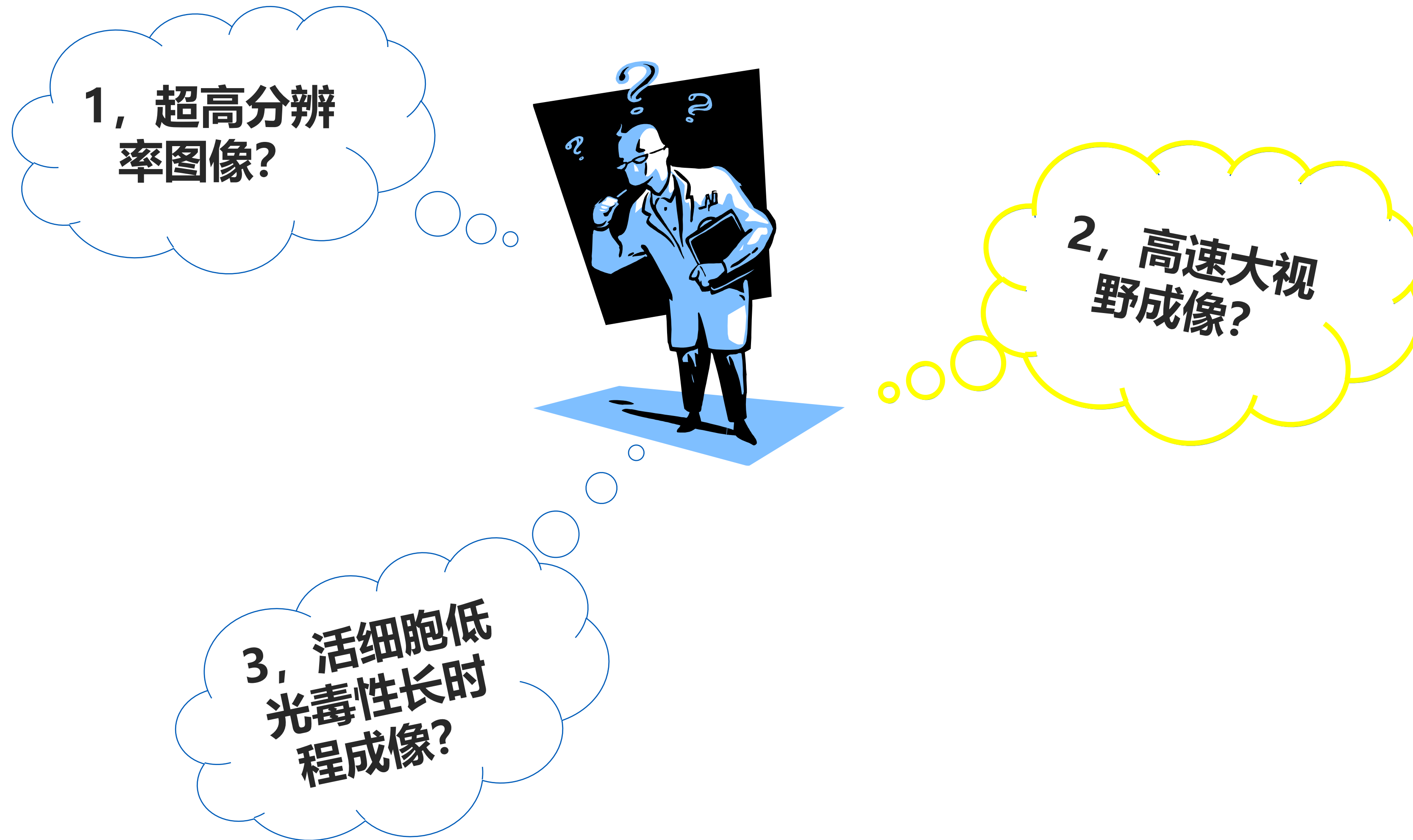


← 神经突尖端肌动蛋白和内吞相关蛋白的长时程超分辨率成像
(NG108-15 细胞, GFP-actin 绿色, Endophilin A3-mCherry 红色)

↓ Time lapse super resolution Imaging with antibody to reveal LAMP1 in Green
溶酶体在细胞内的运输



产品特点：一机多用，满足生命科学研究领域用户的主要实验需求

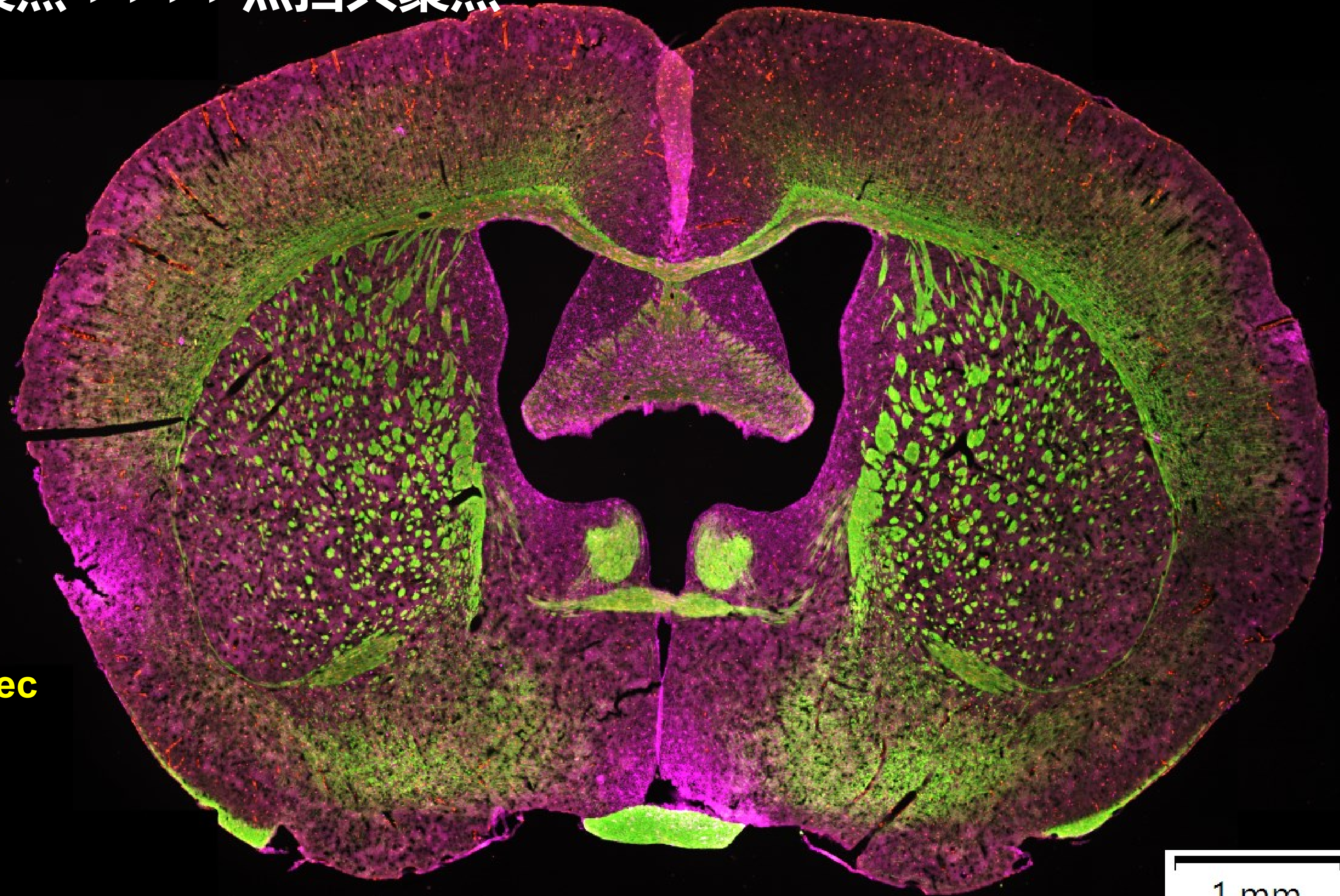


速度PK：转盘共聚焦 >>>> 点扫共聚焦

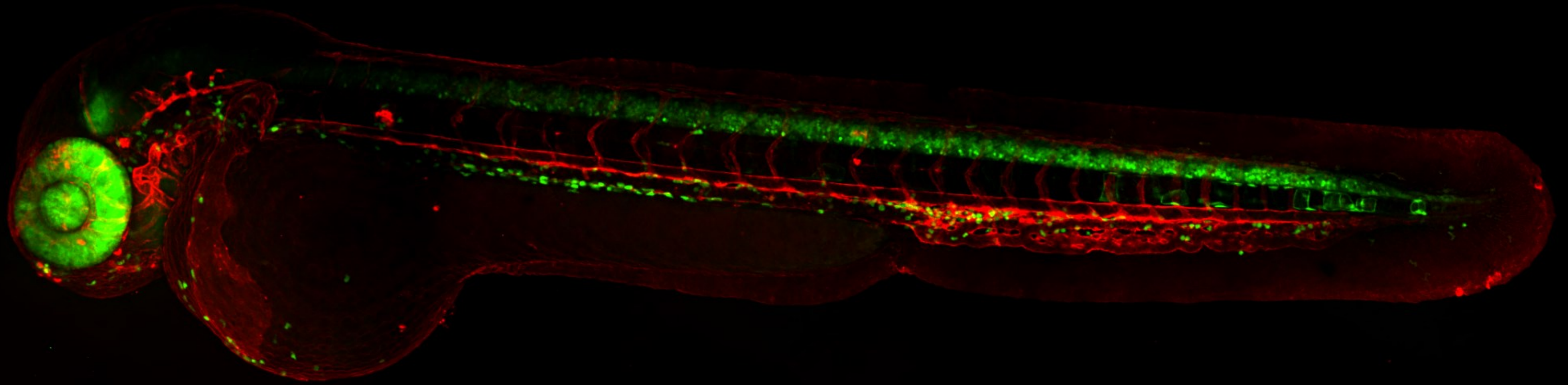
10X物镜拼图，共53个视野
三通道成像：ex488 561 640
Z-Stack：5 slices, 9 μ m
共拍摄**795**张图

Olympus SpinSR
总拍摄时间：**7min**

Other Confocal
总拍摄时间：**15h20min14sec**



斑马鱼双色拼图



双色斑马鱼拼图，红色标记血管内皮细胞，绿色标记细胞，5min采集拼接完毕

4个视野，每个视野拍摄71层，3um步径，拼接后最大亮度投影展示

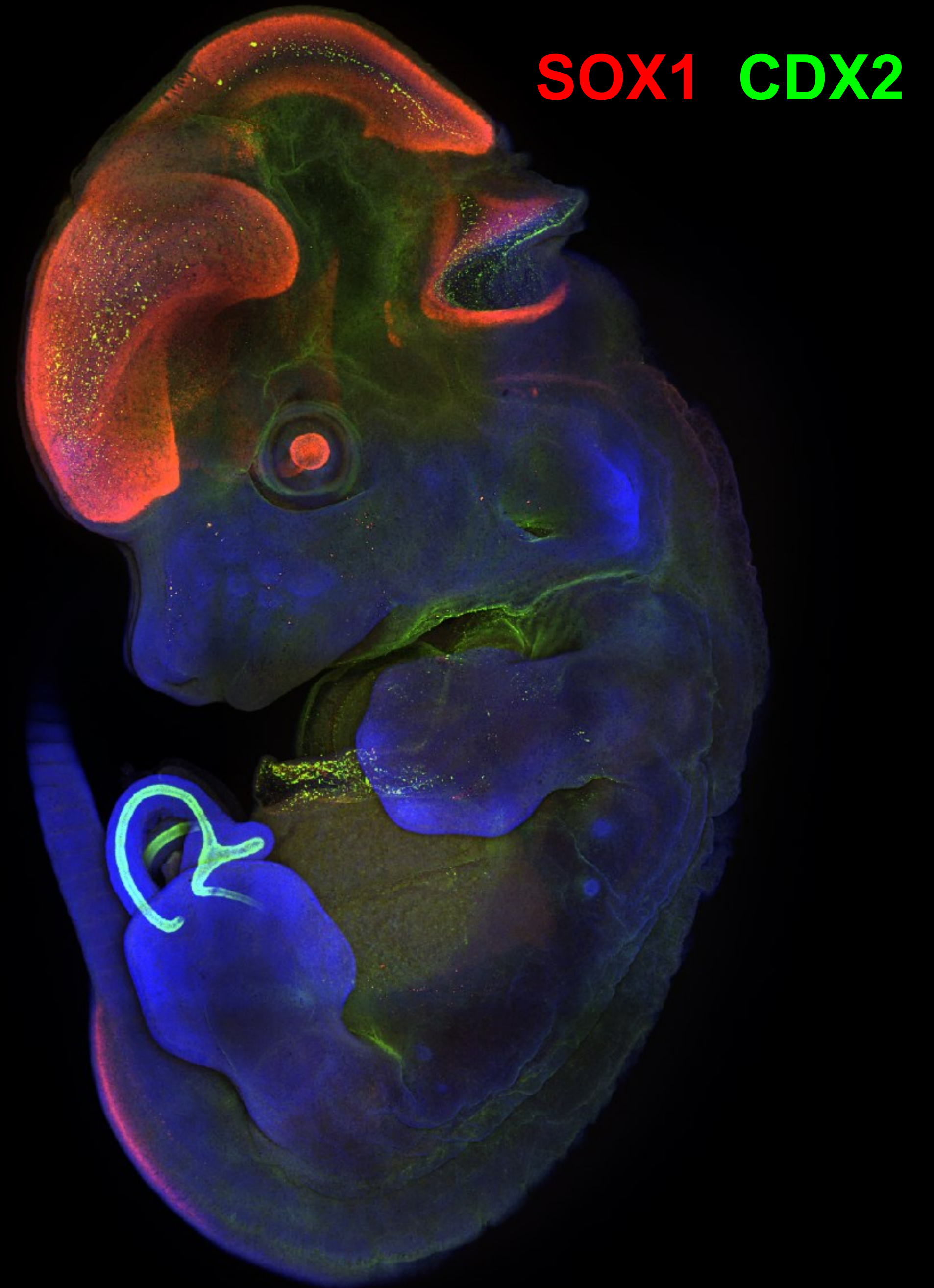
样品来源：浙江大学医学院斑马鱼平台

透明化小鼠胚胎

OLYMPUS 转盘共聚焦 IXplore SpinSR UPLXAPO10X

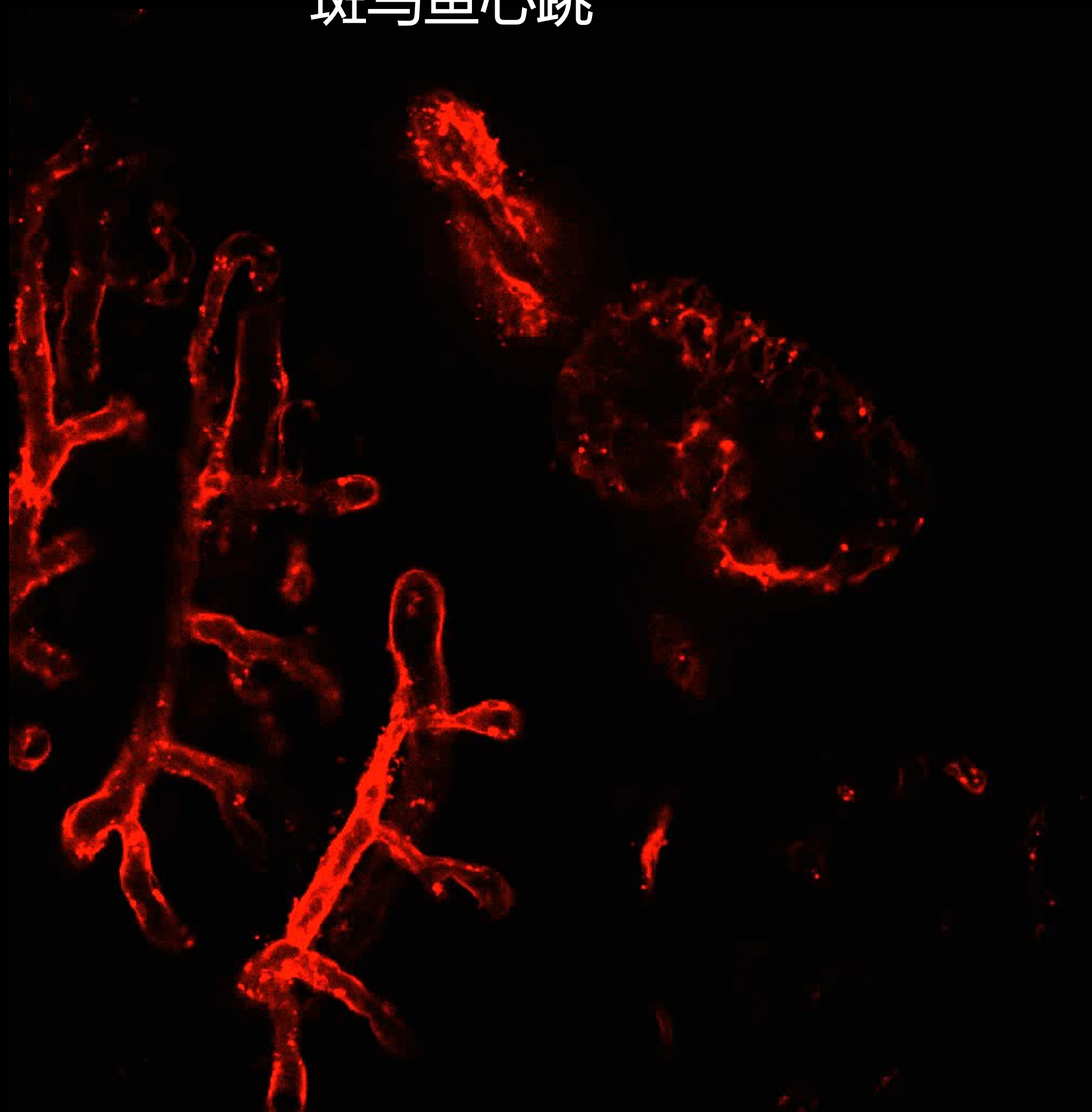
透明化小鼠胚胎 (C57) 12.5天
SOX1-CY3, CDX2-GFP, DAPI 三色标记
3X4视野拼图, 20 层Z, 25um步进

中科院生物化学与细胞生物学研究所 景乃禾实验室 陈莹莹 博士供图



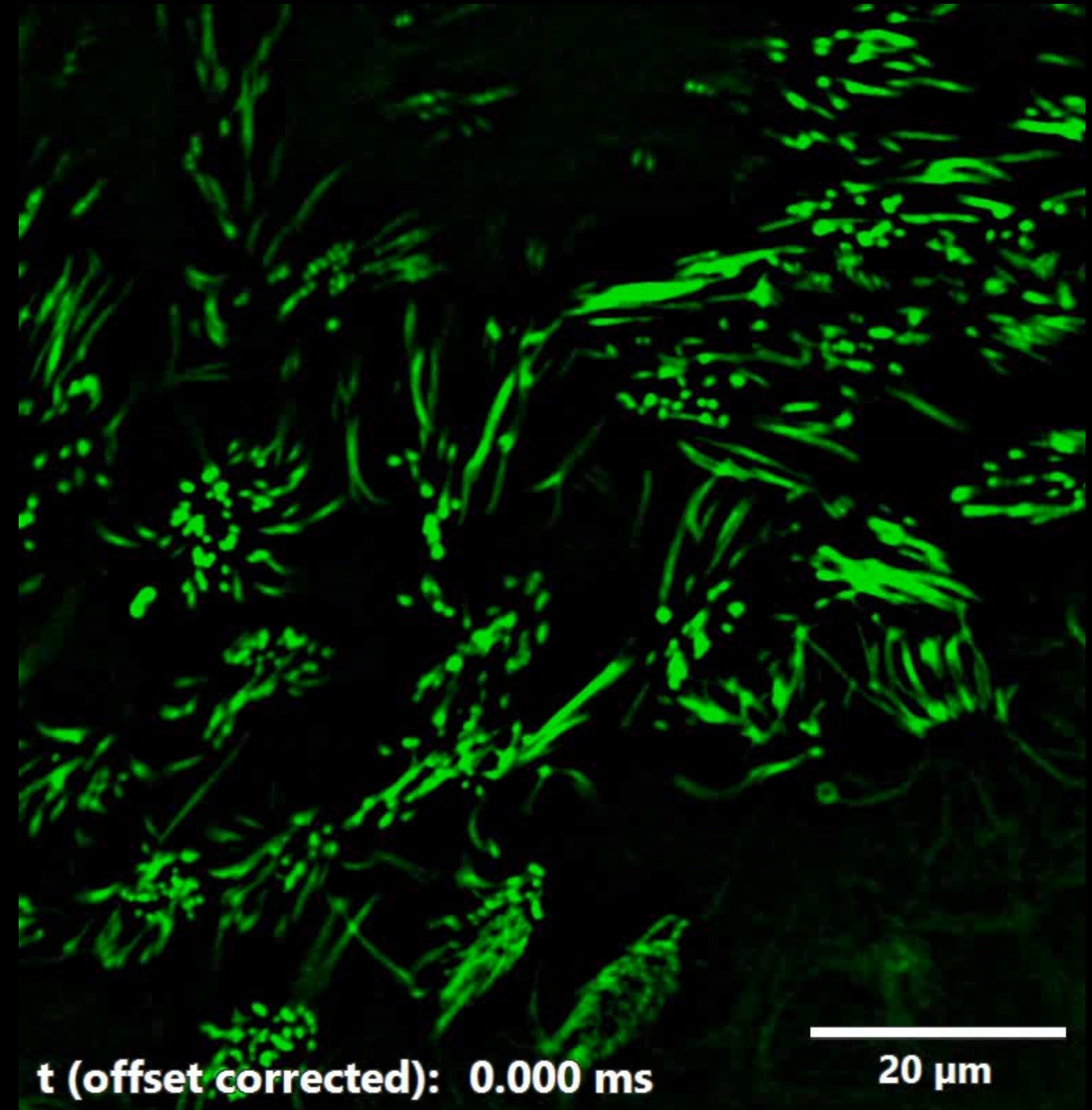
高速成像应用案例

斑马鱼心跳



• 曝光时间: 0.01 sec 100fps

纤毛的快速摆动



■ 曝光时间: 0.005sec 200fps

产品特点：一机多用，满足生命科学研究领域用户的主要实验需求



活细胞成像：超低光毒性

斑马鱼受精卵发育**19h**，MIP视图

成像条件

曝光时间： 100ms

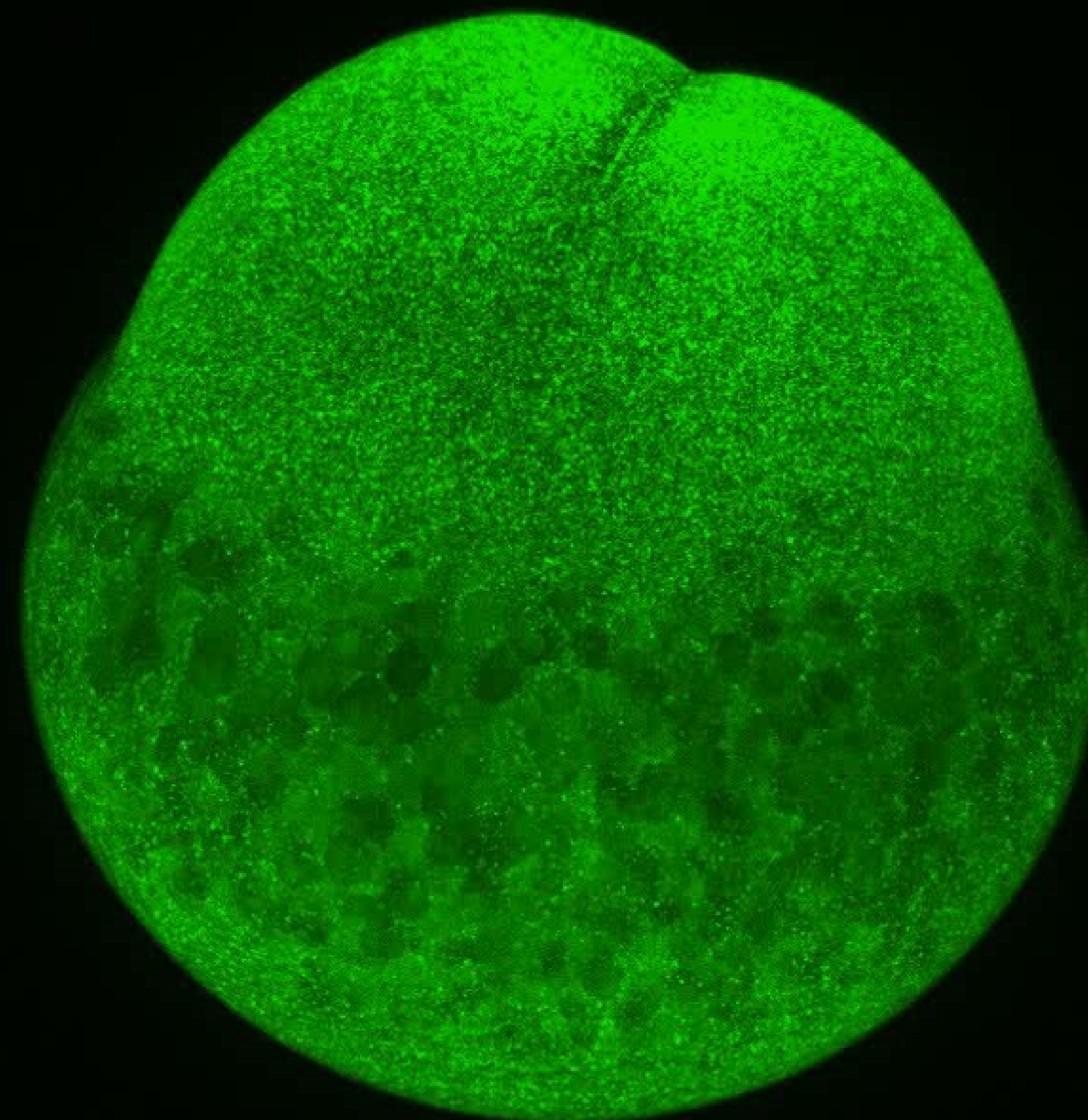
激光强度： 488 laser 10%

Z-stacks： 70 layers, 3um stepsize

时间间隔： 5min

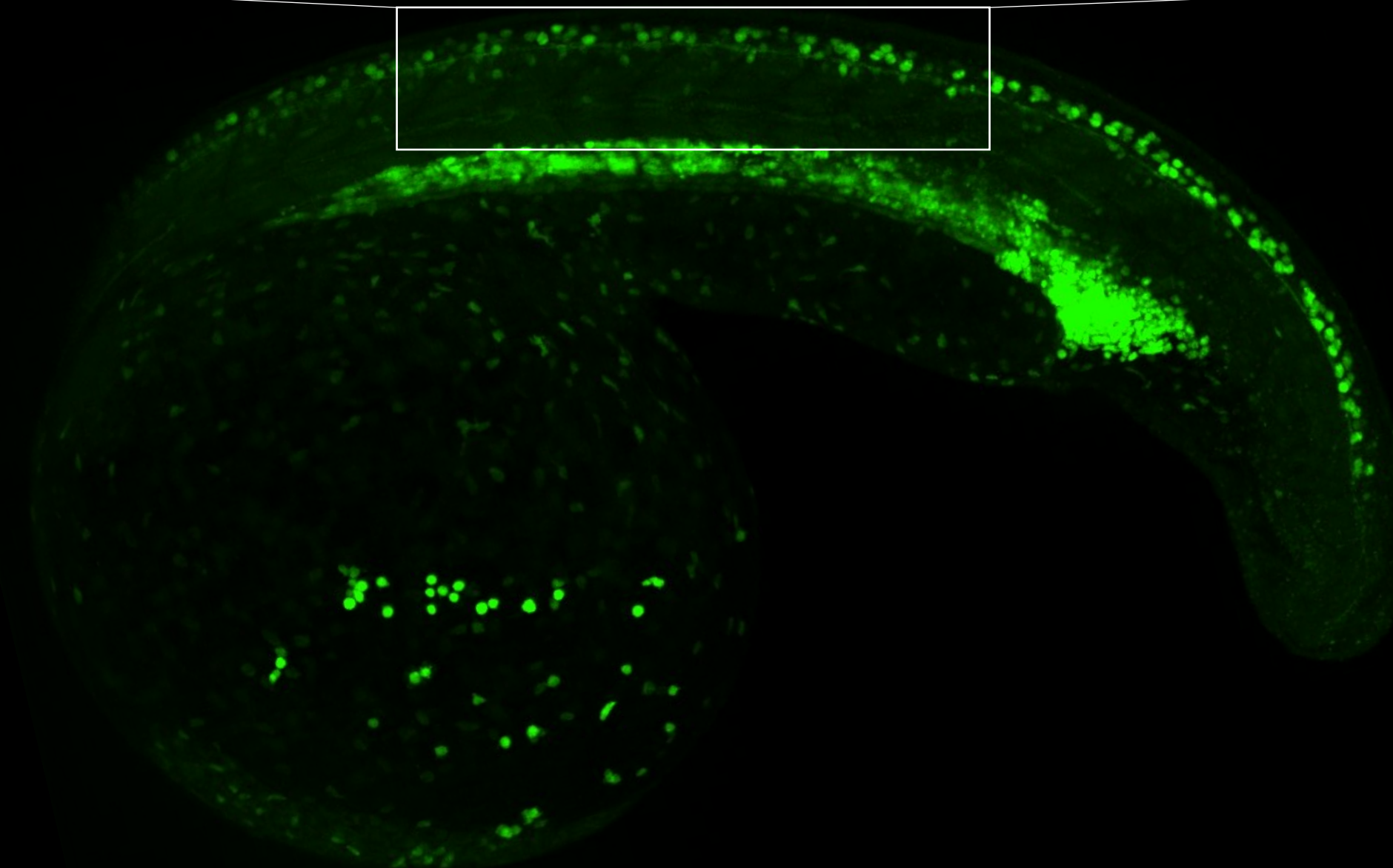
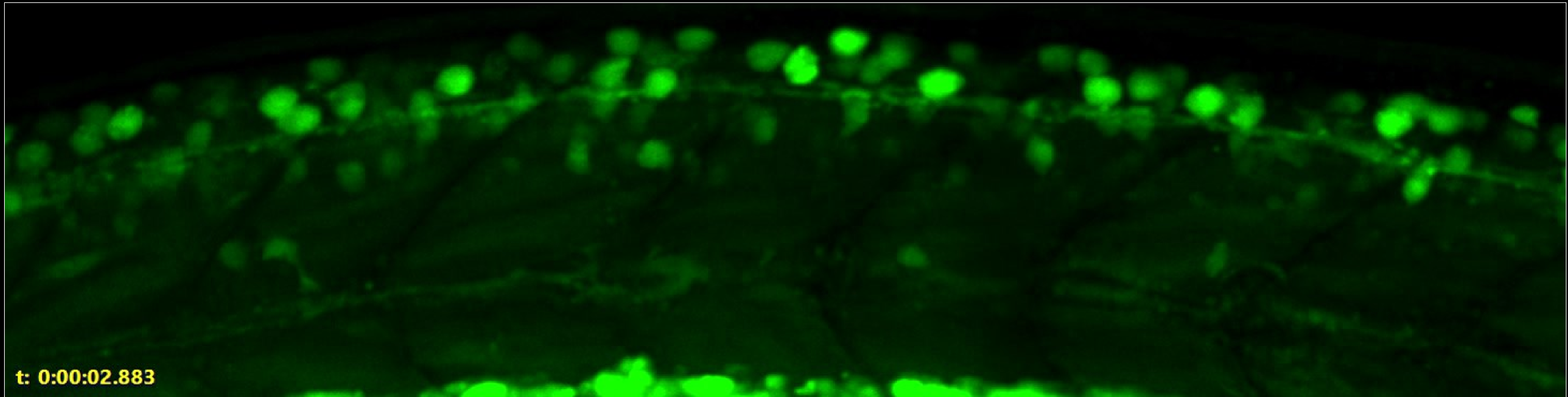
利用多点功能，一次拍摄多个受精卵，幸运地拍到不同角度的发育过程，完整展现斑马鱼受精卵腹背轴建立的过程。

图像来源：浙江大学基础医学院 徐鹏飞教授



t: 0:00:00

Zebrafish embryo over night



活细胞16h长时程成像

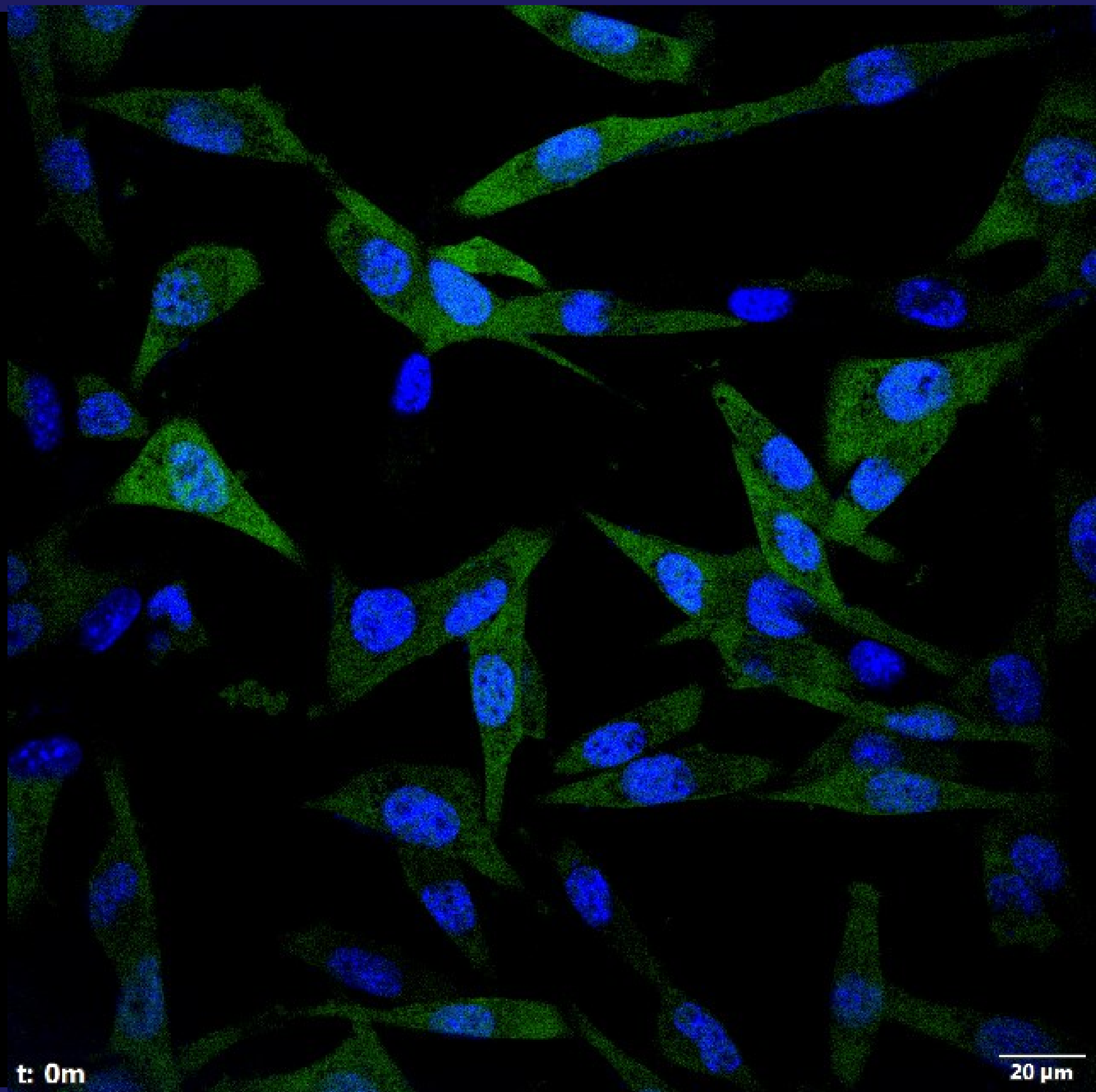
利用多点功能，一次拍摄8个视野，观察细胞分裂，测试系统光毒性和稳定性。

成像条件

曝光时间： GFP 200ms, DAPI 100ms
激光强度： 488 laser 5%, 405 laser 5%

时间间隔： 15 min
物镜： 60X

图像来源： 上海生化细胞所 成像平台

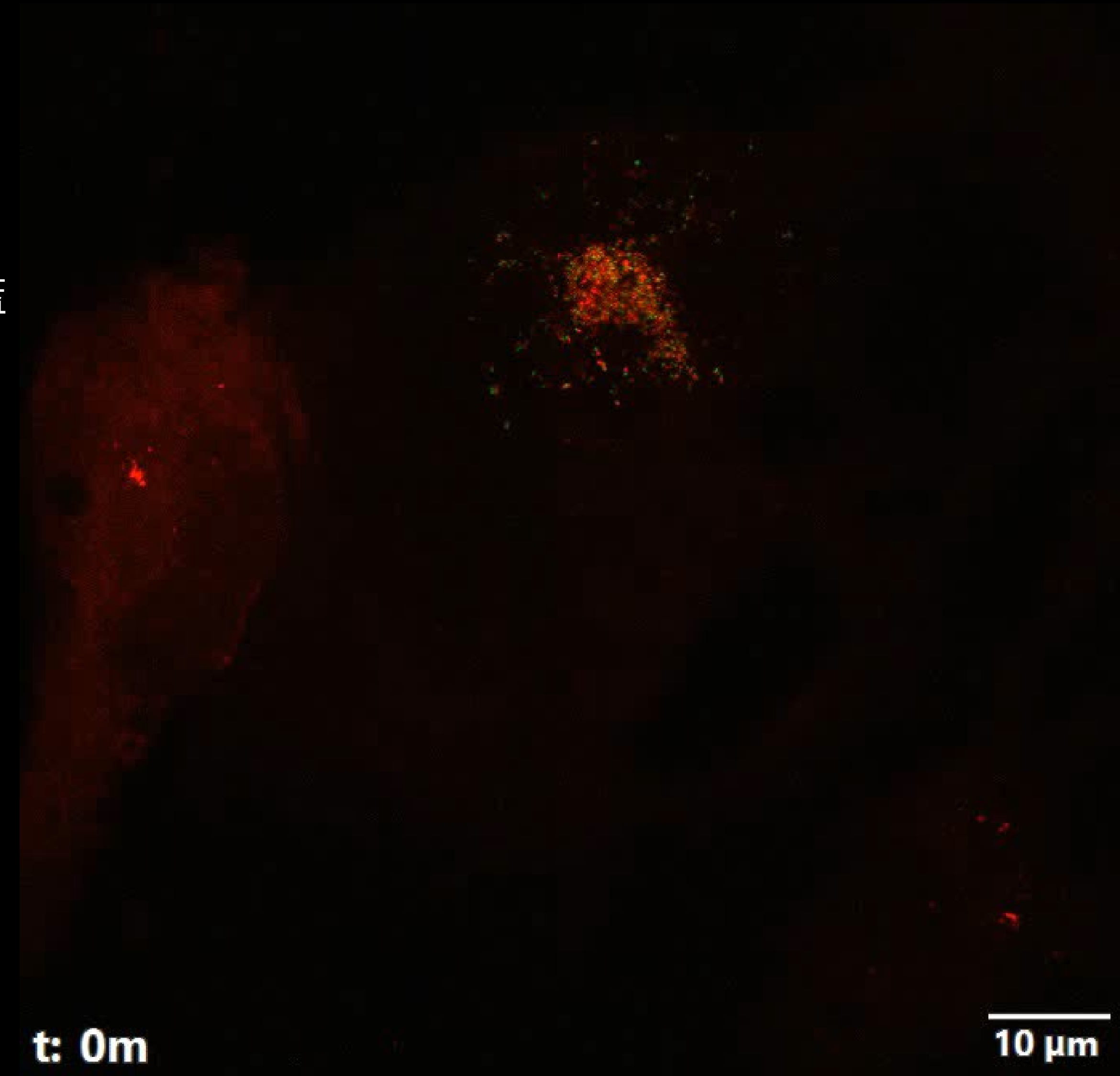


活细胞60h长时程成像

利用多点功能，一次拍摄23个视野，观察多纤毛细胞中心粒和摇篮体。

成像条件

曝光时间: GFP 200ms, RFP 200ms
激光强度: 488 laser 10%, 561 laser 20%
Z-stacks: 25 layers, 0.5um stepsize
时间间隔: 20min
物镜: 100X



图像来源: 上海生化细胞所 朱学良研究员组

- **优势1:快速成像**

转盘共聚焦技术为基础，最快可达**200fps**

- **优势2: OSR 超高分辨**

XY分辨率可达**110-120nm**，且对**染料没有限制**

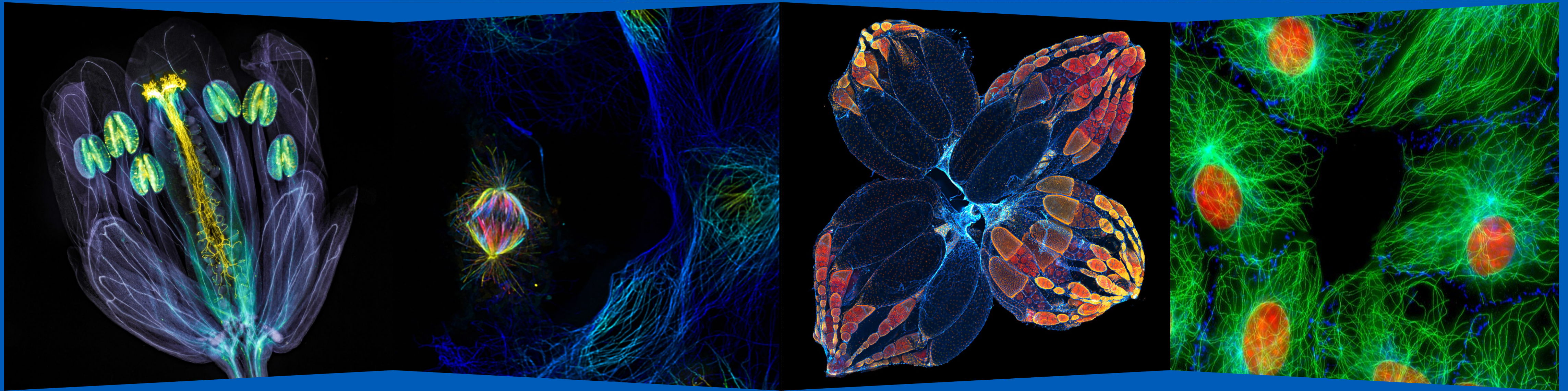
- **优势3: 光毒性小**

适用于**活细胞/活体成像**

- **优势4: 提供多种成像模式**

集**超高分辨/共聚焦/宽场显微**成像于一体





THANK YOU