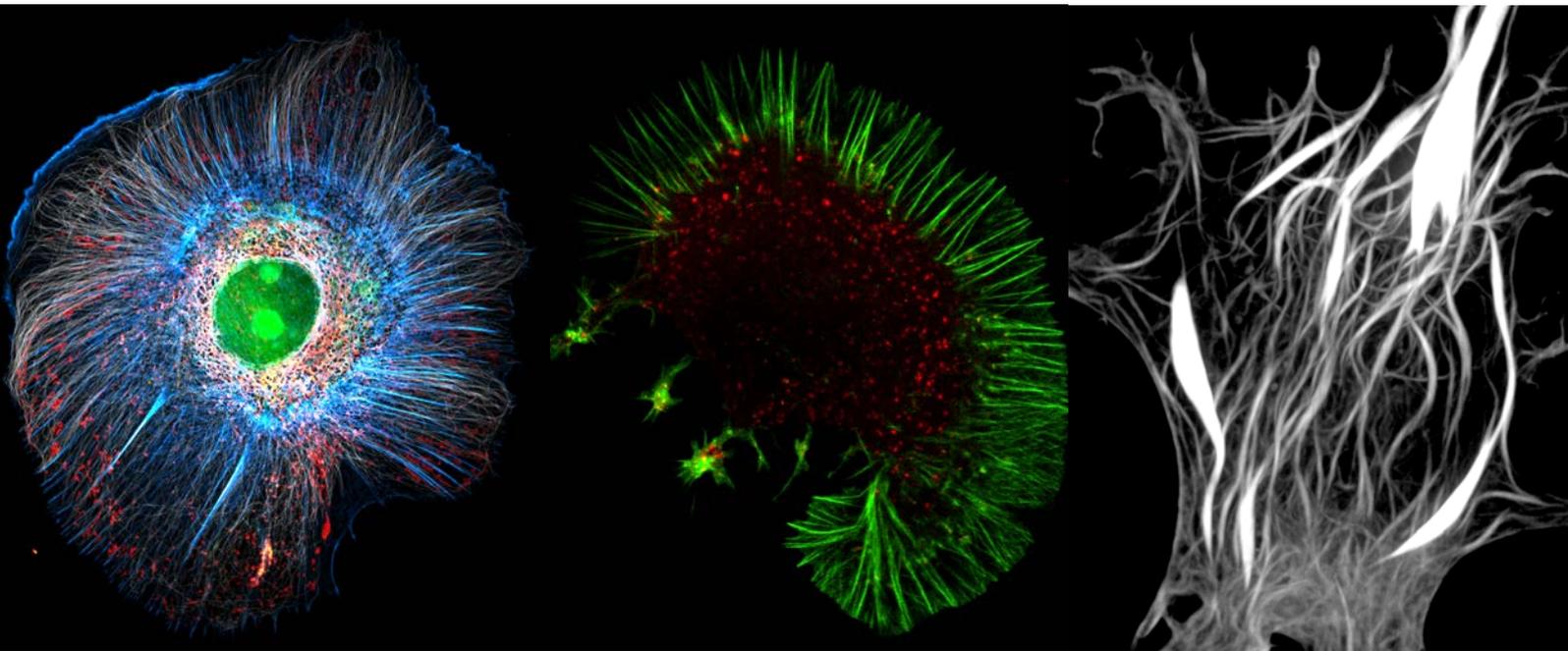


Super Resolution for All Types of Live Cell Imaging



オリンパス独自の超解像イメージング

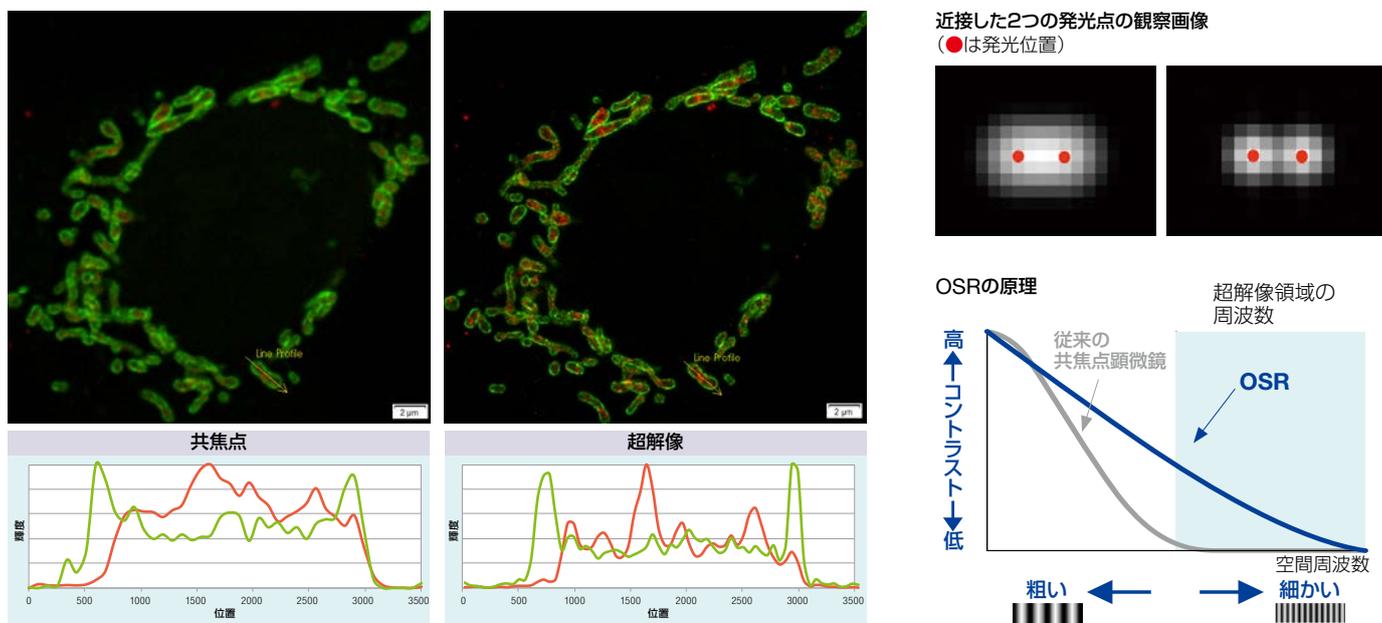
超解像顕微鏡はこれまでの光学顕微鏡の回折限界を超えた高分解能を実現することで、細胞内の構造、現象をさらに細かく見ることを可能にします。SpinSR10は、スピニングディスク型共焦点レーザー顕微鏡と専用に最適化した光学系、及びオリンパス独自の超解像アルゴリズムにより水平分解能120nmを実現した超解像イメージングシステムで、これまでの超解像顕微鏡では困難であった、「速い」、「深い」超解像観察を、「簡単」に実現し、ライブセルイメージングに適した汎用性の高い超解像イメージングを提供します。

Olympus Super Resolution (OSR)

画像とは様々な空間周波数の集まりにより構成され、分解能が高い画像とは高い周波数成分を有していることを意味しています。共焦点光学系はボケ像を取り除き焦点面のみの情報を取り出すだけでなく、従来の分解能を超える超解像領域の周波数を検出できますが、この超解像領域のコントラストは低く、可視化することが困難でした。Olympus Super Resolution (OSR) 技術は、超解像領域をできるだけ画像の中に取り込むために光学系を最適化すると同時に、コントラストの低い超解像領域を本来のコントラストに高速に回復させるオリンパス独自のオプトエレクトロニクス技術により、水平分解能120nmを実現します。

また、1枚の共焦点画像に対する処理で、高速かつ最小限のデータ量で超解像画像を得ることができます。特別な蛍光色素を必要とせず、従来の蛍光色素が使用できるため、マルチカラーの超解像イメージングも手軽に実現できます。

関連論文：S. Hayashi, "Resolution Doubling Using Confocal Microscopy Via Analogy With Structured Illumination Microscopy". Jpn J Appl Phys. (2016)



視野周辺まで均一な画像性能

中間変倍ユニットによって、共焦点モードと超解像モードを切り替えることができます。

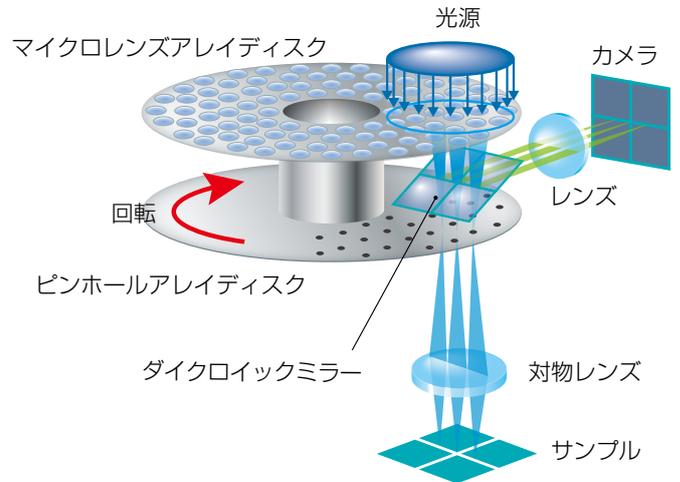
オリンパス専用の中間変倍ユニットは、超解像用対物レンズの性能を最大限発揮させる基本光学設計、倒立型顕微鏡IX83P2ZFに最適なテレセントリック光学系を搭載しています。これにより、視野周辺まで均一な画像性能を得ることができます。



電動変倍ユニット

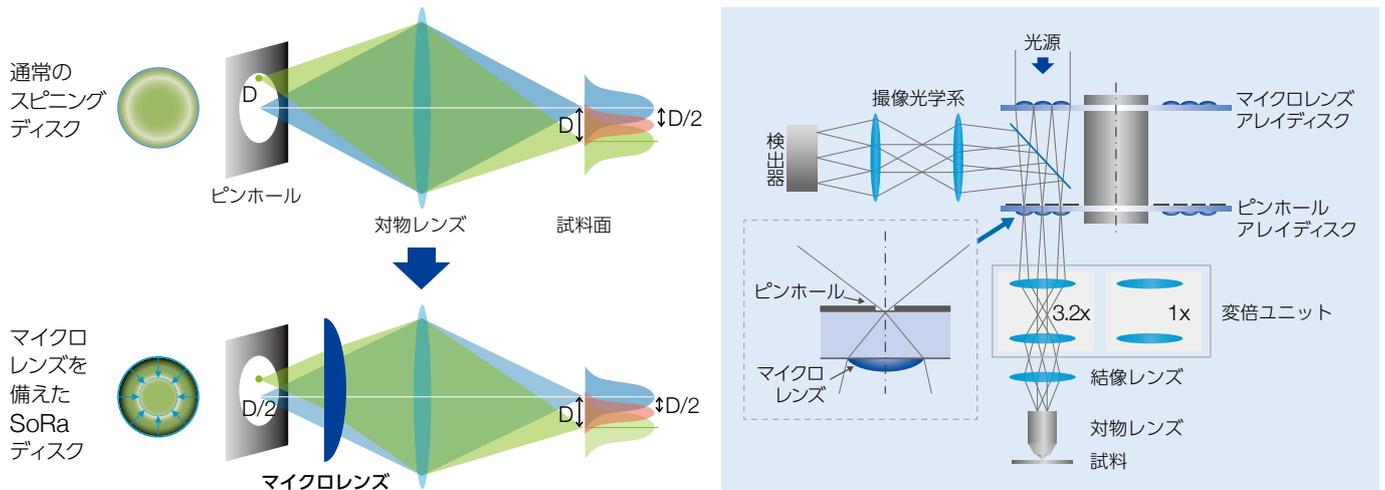
スピニングディスク共焦点光学系

共焦点ピンホールを多数有すディスクを高速に回転させ、一枚の共焦点画像をカメラで高速に取得します。これにより最速5ms/fでの画像取得が可能であり、高速に起こる生物現象を捉えることができます。多数あるピンホールは十分な間隔を持ち、クリアな画像取得ができると共に、視野数18（共焦点モード）を確保する光学系によって、広い視野を一度に取り込むことを可能にしています。



ライブセル超解像に適した明るいスピニングディスク

共焦点ピンホールにマイクロレンズを備えたスピニングディスクにより、従来よりも明るい超解像画像取得を実現します。弱いレーザーパワーでのイメージングが可能になるため、サンプルに対する光毒性を抑えることができ、ライブセルイメージングに適しています。



SoRaディスクを搭載したCSU-W1の原理と構成

通常の共焦点顕微鏡の結像関係は、照明系のPSF（点像分布関数）と検出系のPSFとの積で表されます。ピンホールの光軸中心からDの位置の結像を確認すると、図のように照明系のPSFと検出系のPSFの積となり、光軸中心からD/2の位置情報を中心として伝達されていることが分かります。これは、D/2の位置の情報がピンホール上ではDに拡大されていることと同等になりますが、これを補正するために、マイクロレンズを用いてピンホールに投影される個々の焦点を1/2に光学的に縮小することにより、理想的な結像関係になります。この場合の分解能は、ピンホールを無限小に小さくした場合の理想的な共焦点顕微鏡とほぼ等しくなり、高速で、細胞にやさしいスピニングディスクの特徴もそのまま維持されます。

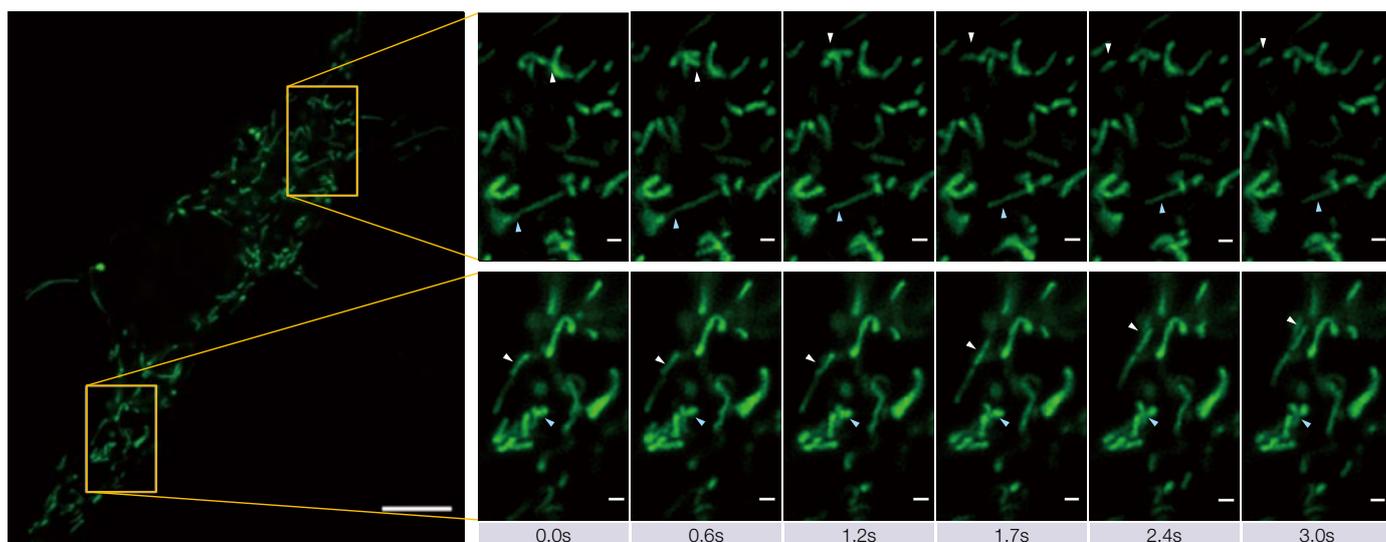
関連論文：T. Azuma and T. Kei, "Super-resolution spinning-disk confocal microscopy using optical photon reassignment", Opt. Express 23, 15003-15011 (2015)

ライブセル超解像イメージング

細胞内構造や現象の変化を捉えることのできるタイムラプス観察は、生物学研究では一般的なツールですが、その変化を捉えるための観察条件にあわせて設定をする必要があります。SpinSR10はライブセル超解像イメージングを実現し、高速な変化を捉えるだけでなく、できるかぎり光毒性を抑えることで正しい現象を捉えることが可能です。

高速超解像イメージング

SpinSR10では、スピニングディスク共焦点光学系を有し、ビデオレート以上の画像取得が可能です。また、高速処理により、超解像画像をライブで見ることが可能です。



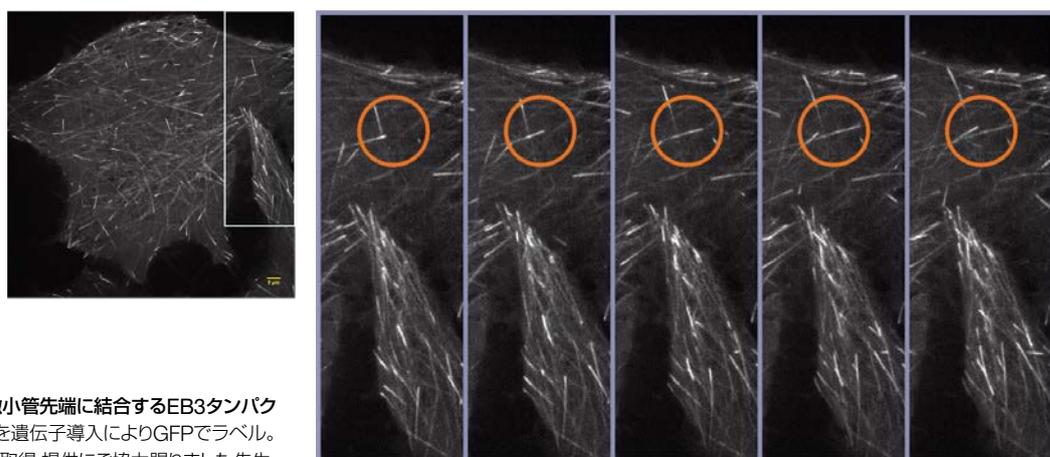
GFPでラベルしたミトコンドリアのビデオレート(30fps)での高速観察

個々の細かいミトコンドリアの動態観察ができています。(Scale bar: 全体: 5 μ m, 拡大: 500nm)

標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生: 東北大学大学院 工学研究科 林 久美子 先生

リアルタイム超解像

ハードウェア性能に加え、オリンパス独自の高速超解像処理によって超解像のライブディスプレイを実現します。



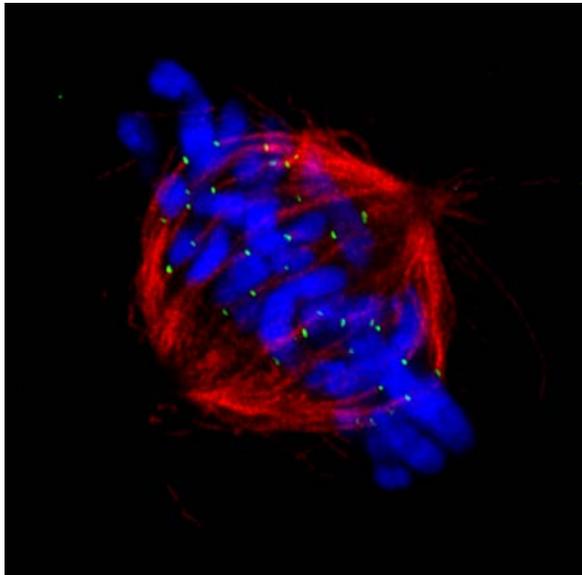
HeLa生細胞の伸長する微小管先端に結合するEB3タンパク
EB3を遺伝子導入によりGFPでラベル。
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:
産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 加藤 薫 先生

500 ms/frame

マルチカラーイメージング

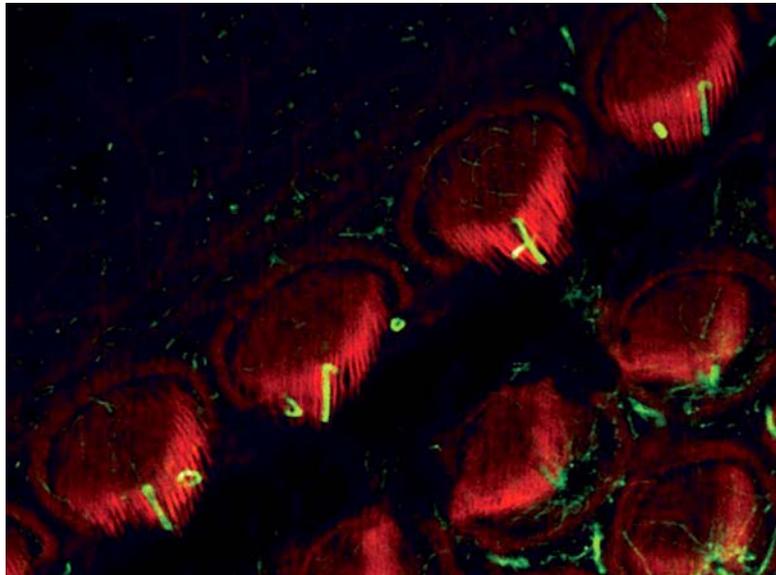
SpinSR10では、多次元の超解像画像を取得することが可能です。他の超解像手法に比べ、設定パラメータ等が少なく簡単にマルチカラー超解像イメージングが可能です。特別な蛍光色素を必要とせず、従来使用しているサンプルを使用することができます。

また、オプションで2つのカメラを同時に接続するシステムを構築でき、ライブセルでの2色同時の超解像イメージングが可能です。



体細胞分裂期中期の紡錘体の様子

ヒト子宮頸癌由来細胞株HeLa細胞を抗Hec1抗体(キネトコアを可視化: 緑)と、抗tubulin抗体(微小管を可視化: 赤)で免疫染色し、DAPIで染色体(青)を可視化した。染色体がキネトコアを介して微小管と結合している様子を観察。
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:
東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野
池田 真教 先生、田中 耕三 先生



内耳コルチ器外有毛細胞ステレオシリアとキノシリア(アクチン:赤、微小管:緑)

標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:

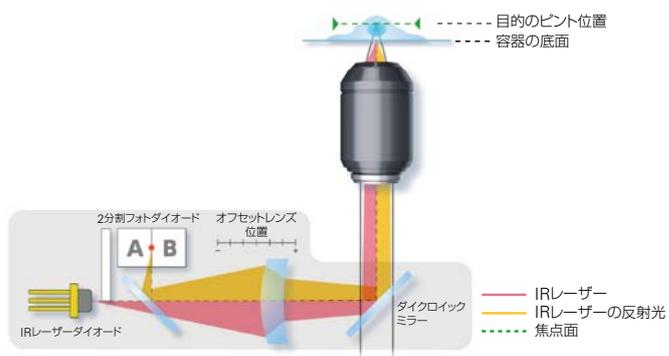
¹大阪大学大学院生命機能研究科・医学系研究科、

²京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

加納 初穂 先生¹、神谷 透 先生^{1,2}、坂口 博史 先生²、月田 早智子 先生¹

フォーカスを維持するIX3-ZDC2

IX3-ZDC2は、光毒性の少ないレーザークラス1のIRレーザーを用いて容器底面を検出し、ピントを合わせます。ワンショットAFは、厚みのあるサンプルに対して任意にフォーカス位置を設定でき、Zスタックを効率よく取得できます。また、コンティニユアスAFでは常に同じZポジションを保持できるため、高速なタイムラプスイメージングでもピントを維持します。



深部観察を可能にする光学設計

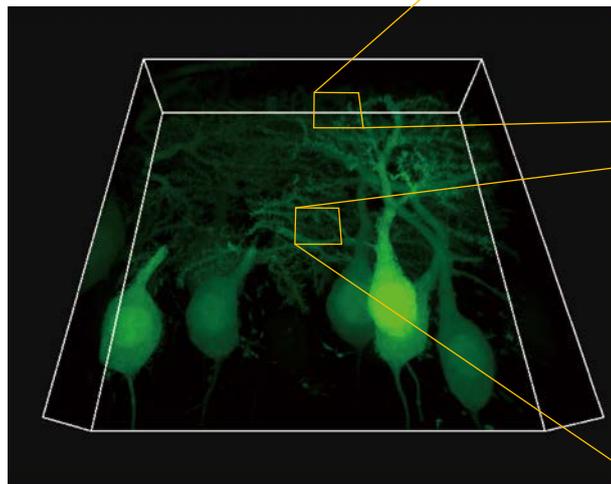
細胞内構造を観察するには、焦点以外からの蛍光が入り込んでしまうと鮮明な画像を取得することができません。SpinSR10では、共焦点光学系を採用しさまざまな対物レンズを利用することで、ボケの少ない鮮明な超解像画像を深部でも可能にしました。サンプル表面だけでなく、表面から離れた場所においても分解能の高い超解像画像が取得でき、細かい個々の構造が確認できます。

GFPでラベルした脳スライスのプルキンエ細胞

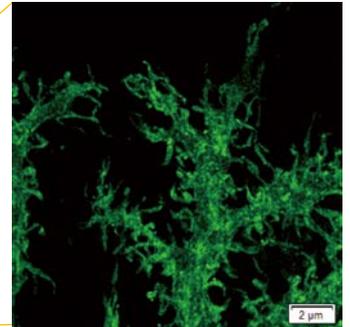
共焦点観察によりサンプルのXYZを観察し、高さの異なる場所を超解像で観察した。超解像画像はそれぞれZ10枚のプロジェクション画像。

3次元構築画像はFV31S-DTで表示。

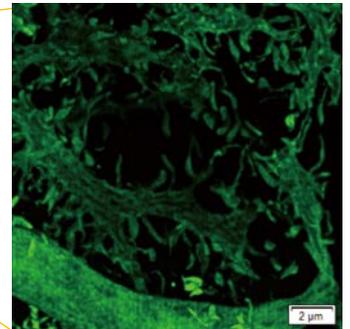
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生：
慶應義塾大学医学部神経生理学研究室
竹尾 ゆかり 先生、 柚崎 通介 先生



3D/Z スタック



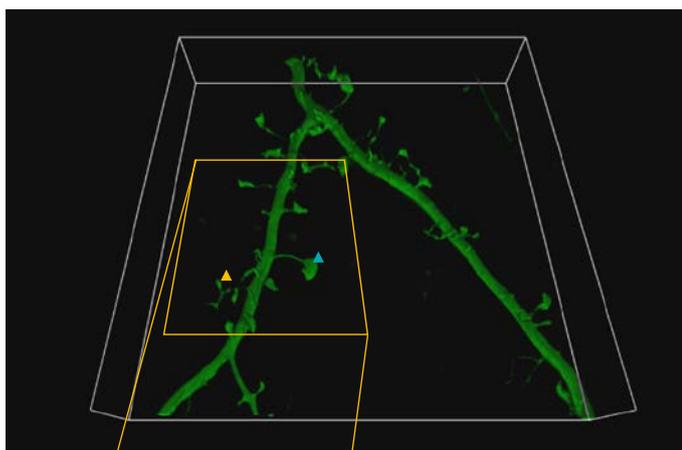
レイヤー 1



レイヤー 2

3次元タイムラプスイメージング

SpinSR10では、3次元超解像でタイムラプス観察することも可能です。

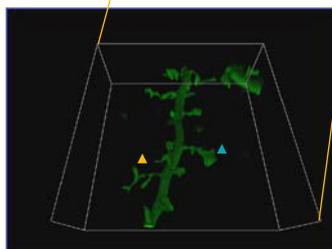


神経細胞の3次元タイムラプス

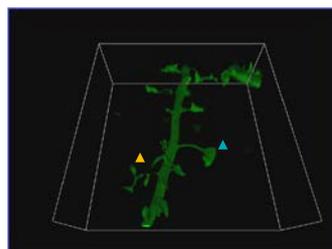
EGFPで標識したマウス初代培養神経細胞を、アストロサイトと2週間共培養後に観察。未熟なスパイン（黄矢印）と成熟したスパイン（青矢印）の違いを鮮明に観察することができ、その形状変化を経時的に捉えた。露光時間500ms/frame、Z間隔0.15μmで41スライス取得したXYZ画像を3次元構築。2分間隔で1時間観察を実施。

3次元構築画像はFV31S-DTで表示。

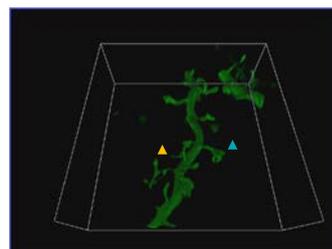
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生：
東京大学 大学院薬学系研究科 薬品作用学教室 池谷 裕二 先生



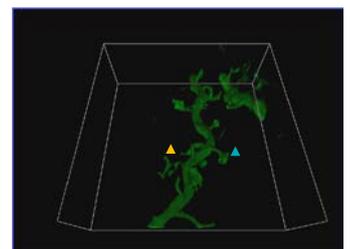
0min



20min



40min



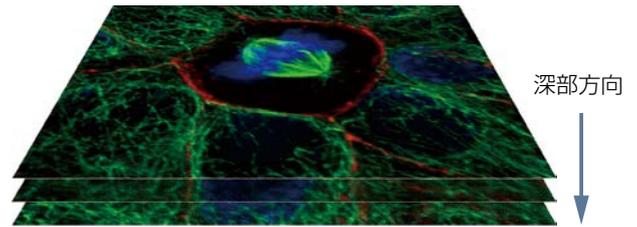
60min

光学セクションング

共焦点光学系をベースにした超解像技術であり、光学セクションングにより背景光（ボケ像）のない鮮明な超解像画像を取得できます。

培養上皮細胞の分裂装置（微細管、Z01）

標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生：
大阪大学大学院 生命機能研究科・医学系研究科 加納 初穂 先生、矢野 智樹先生、月田 早智子 先生

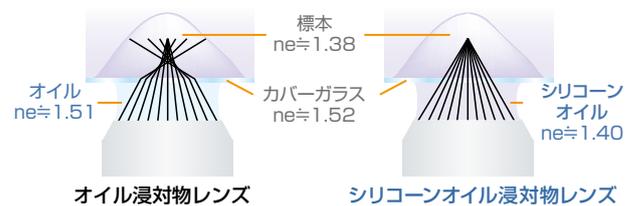


対物レンズの選択性

深部観察では、球面収差は大きく影響します。球面収差とは、光路中の屈折率ミスマッチ（対物レンズの浸液とサンプルの屈折率など）によって発生し、分解能やコントラストの低下を招きます。特に開口数の大きい対物レンズでの影響度が高く、超解像イメージングの深部観察するために考慮しなければならないことのひとつです。屈折率はサンプルに依存しますが、一般的な生細胞やカルチャー組織スライスでは、おおよそ $n_e \approx 1.38$ であり、それに近い屈折率の浸液を利用したシリコン油浸対物レンズは超解像イメージングの深部観察に最適な対物レンズであり、球面収差を抑えることで数十マイクロメートル深部の細胞内構造を観察することを可能にします。

屈折率ミスマッチによる深部観察への影響

深部観察には標本と浸液の屈折率は近い方が良い



オイル浸対物レンズ
標本とオイルの屈折率の差により、深部で球面収差が発生し、解像が悪くなり、蛍光の明るさも暗くなる。

シリコンオイル浸対物レンズ
標本とシリコンオイルの屈折率の差が小さいため、深部でも球面収差は殆ど発生せず、解像のよい明るい蛍光が撮れる。

遠隔補正環ユニット

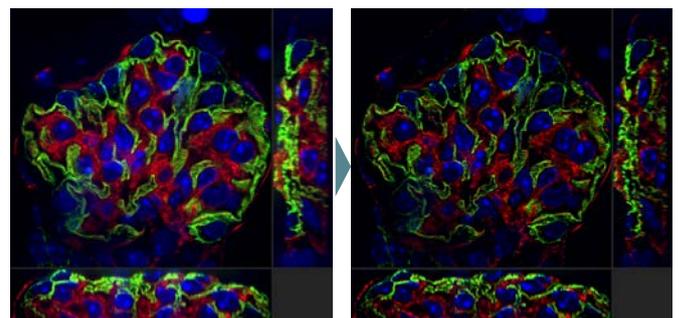
補正環は対物レンズの中のレンズ位置を調整することで、光路中の屈折率ミスマッチによって発生する球面収差を補正し、分解能、明るさ、コントラストなどの画質を向上させることができます。特に超解像画像で使用される開口数の高い対物レンズでは球面収差の影響が大きいため、補正環を調整することは重要です。遠隔補正環ユニットは、すべての補正環付きUIS2対物レンズで使用することができ、より簡単に補正環調整を可能にします。



OSR専用デコンボリューション

取得した画像をより鮮明にする画像処理、デコンボリューションはOlympus Super Resolution (OSR) で得られた画像にもオプションライセンスとの組み合わせで適用可能です。専用のアルゴリズムを用意し、より鮮明な3次元画像の構築が可能になります。

腎臓スライド標本のZスタックをSpinSR10で取得し、専用デコンボリューションにて処理前後の比較



SpinSR10画像

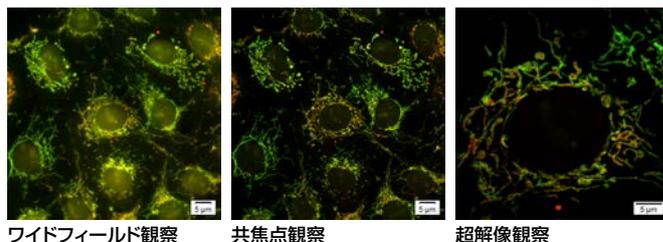
SpinSR10画像に
デコンボリューション処理後の画像

高い汎用性

SpinSR10は共焦点機能も制限なく使用できるマルチモーダルなシステムであり、ナノメートルオーダーの分子解析から厚みのある組織観察まで、多目的な利用が可能です。また、SpinSR10を制御するイメージングソフトウェアcellSensは観察、画像処理、画像解析を直感的な操作でシームレスに行えます。さらに、ワークフローにあわせたGUIカスタマイズにより快適な作業環境を実現します。

マルチモーダルなシステム

SpinSR10はカメラでのワイドフィールド観察・共焦点観察・超解像観察がひとつのシステムできるため、幅広い目的で使用できます。また、各観察手法をワンクリックで切り替え可能なため、同じサンプルに対して、各観察法で画像取得し比較することも可能です。



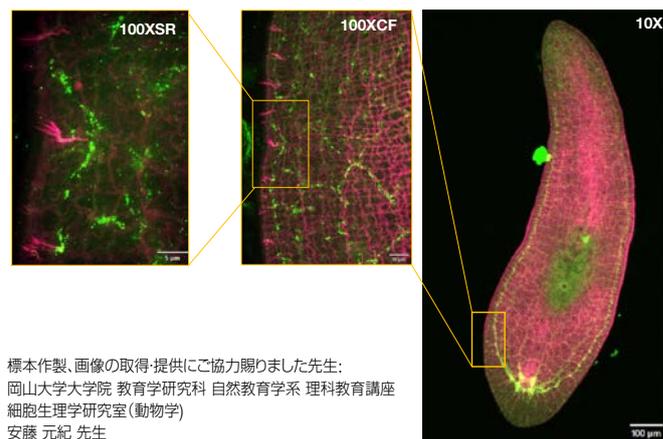
観察手法切り替え

全ての光学系が電動化されているため、ソフトウェア上で観察手法を選択するだけで顕微鏡の設定を簡単に再現できます。マルチカラーの変更だけでなく、ワイドフィールド観察から共焦点観察、さらに超解像観察までワンクリックで切り替え可能です。



マクロ～ミクロ観察

ソフトウェア上で観察手法の切替、対物レンズの切替が簡単に行えることで、標本全体像をとらえたマクロ画像から目的箇所を詳細に観察するミクロ画像の取得を可能にします。



手軽に多次元画像が取得可能

プロセスマネージャーでは、マルチカラー、Zスタックやタイムラプスといった多次元画像を簡単に取得できます。また、エクスペリメントマネージャー（GEM）では、ひとつの実験内で撮影条件を変更したり、3次元の共焦点画像取得からあるZポジションの超解像画像取得など、自由度の高い実験系をグラフィカルなアイコンを設置するだけで設計可能です。

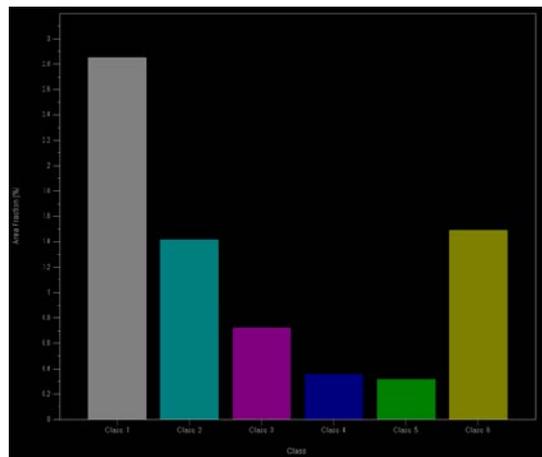
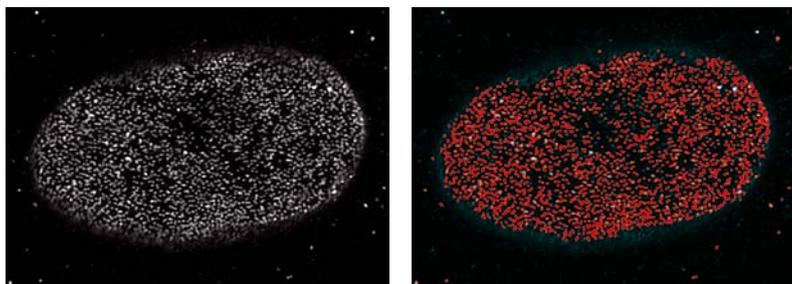


高性能で多彩な解析性能

イメージングソフトウェアcellSensは様々な画像解析機能を利用することができ、取得した画像から様々な数値データの抽出が可能です。直線距離や多角形の周囲長、面積などの計測から、粒子解析、コロライゼーション、オブジェクトトラッキングといった高度な計測・解析を可能にします。

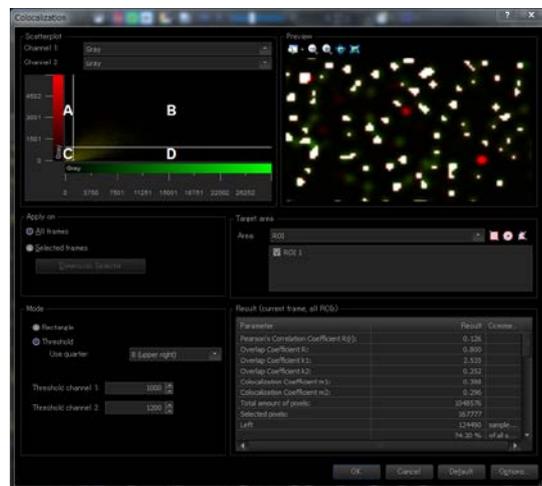
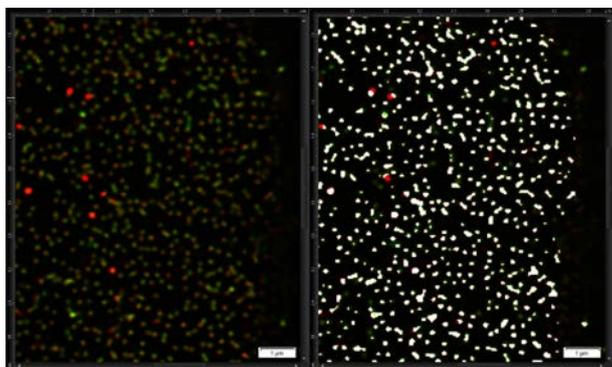
粒子解析

しきい値を設定し、画像内にあるオブジェクトの個数、面積、輝度、形態といった情報を解析することが可能になります。



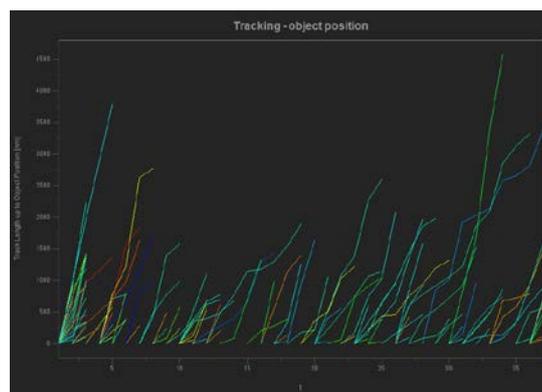
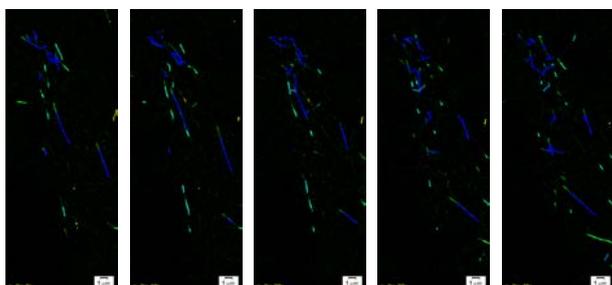
コロライゼーション

局在解析をするために利用されるマルチカラー画像における2つの異なる蛍光でラベルされた部位の重なり具合を解析することが可能になります。



オブジェクトトラッキング

オプションライセンスとの組み合わせで、タイムラプスイメージングで取得された画像データにおける、移動や分裂をする個々の粒子や構造の輝度、移動速度を時系列で簡単に計測・解析可能にします。



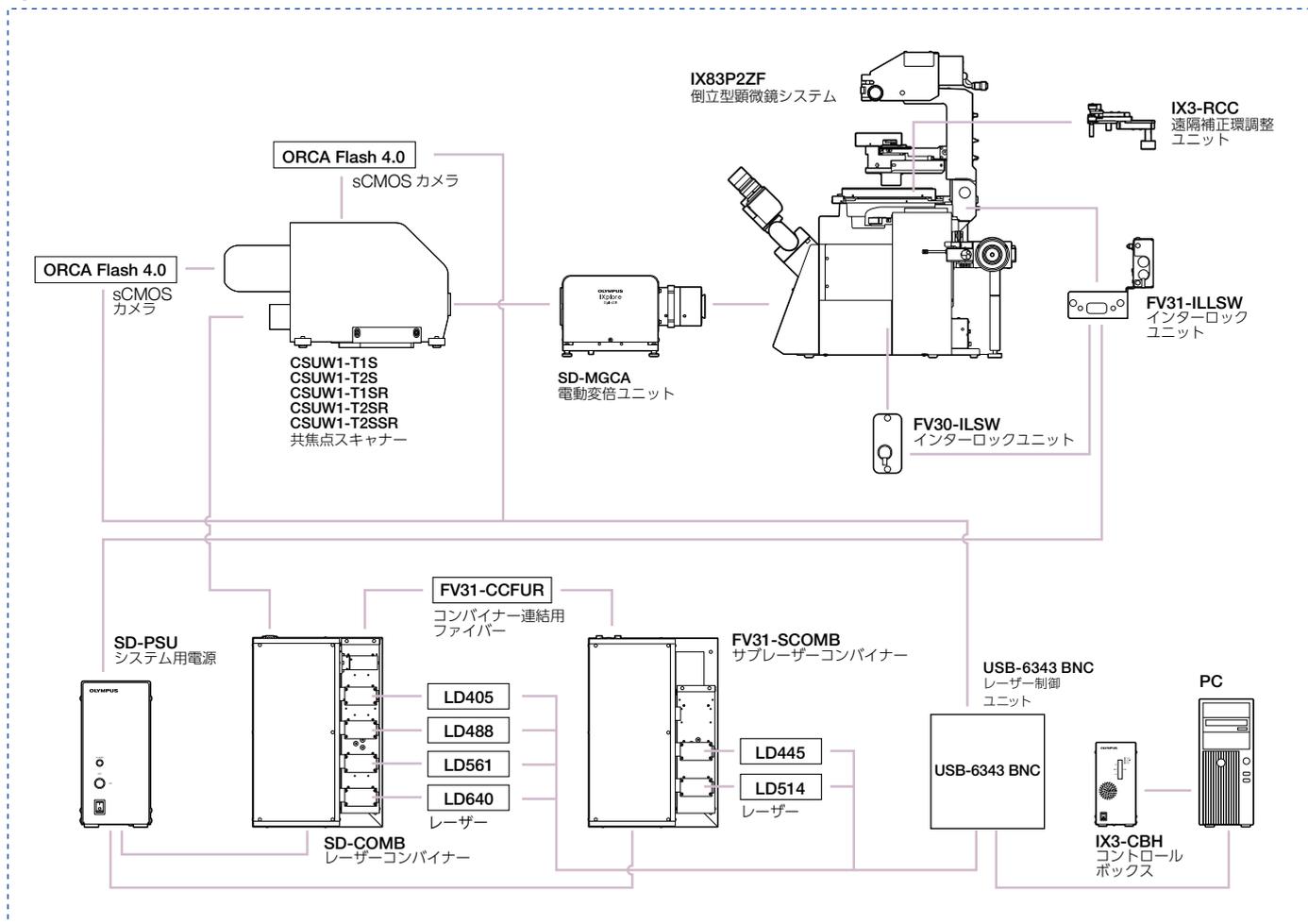
システム紹介

SpinSR10

ワイドフィールド観察、共焦点観察、さらに超解像観察が可能です。



SpinSR10 システム図



SpinSR10 主な仕様

		超解像・共焦点組み合わせ	共焦点組み合わせ*	
搭載可能レーザー		405nm: 50mW, 445nm: 75mW, 488nm: 100mW, 514nm: 40mW, 561nm: 100mW, 640nm: 100mW		
レーザーコンバイナー		メインレーザーコンバイナー: 405nm, 488nm, 561nm, 640nm + 1ライン (445nm または 514nm) サブレーザーコンバイナー: 445nm, 514nm インターロックシャッター: レーザーコンバイナー内に2基内蔵		
レーザーコントロール		直接変調、ON/OFF制御、レーザーラインごとの強度変調連続可変 (0%–100%、1%ステップ)		
スキャンユニット	横河電機社製 CSU-W1	ディスクユニット	SoRaディスク、50umピンホールディスクから 最高2枚選択可能	50umピンホールディスク
		カメラポート	1 または 2カメラモデル*2	1 または 2カメラモデル
	超解像モード	取得スピード(最速)	5ms/f	-
		光学ズーム	3.2X	-
		水平分解能*3	SoRaディスク組合せ: 110nm 50umピンホールディスク組合せ: 120nm	-
	共焦点モード	相当視野数	5.9	-
		取得スピード(最速)	5ms/f	
		光学ズーム	1X	
	ダイクロイックミラー		3ポジション電動切換	
	エミッションフィルター		10ポジション電動切換	
sCMOS カメラ		浜松ホトニクス社製 ORCA Flash4.0 V3 (CameraLink)		
顕微鏡		倒立型リサーチ顕微鏡IX83P2ZF		
顕微鏡	超解像対応対物レンズ	UPLSAPO60XS2, UPLSAPO100XS, UPLAPO60XOHR, UPLAPO100XOHR, UPLXAPO60XO, UPLXAPO100XO, PLAPON60XOSC2	-	
	電動変倍ユニット	共焦点/超解像 2ポジション電動切換方式		
ソフトウェア	cellSens Dimension	多次元取得および画像解析ソフトウェア		
		超解像モジュール	-	

* 共焦点組み合わせは、共焦点モードのみの組み合わせです。超解像モードでの使用が可能な超解像・共焦点組み合わせへのアップグレードが可能です。

*2 ディスクユニットの組合せにより一部制限あり。

*3 UPLSAPO100XS 対物レンズで 488nm 励起した際の FWHM 参考値。

SoRa ディスク組合せは 40nm 蛍光ビーズ、50um ピンホールディスク組合せは 100nm 蛍光ビーズにて計測。

*4 弊社より提供する顕微鏡コントローラー(PC)はWindow10 のOSライセンスが認証済みとなりますので、

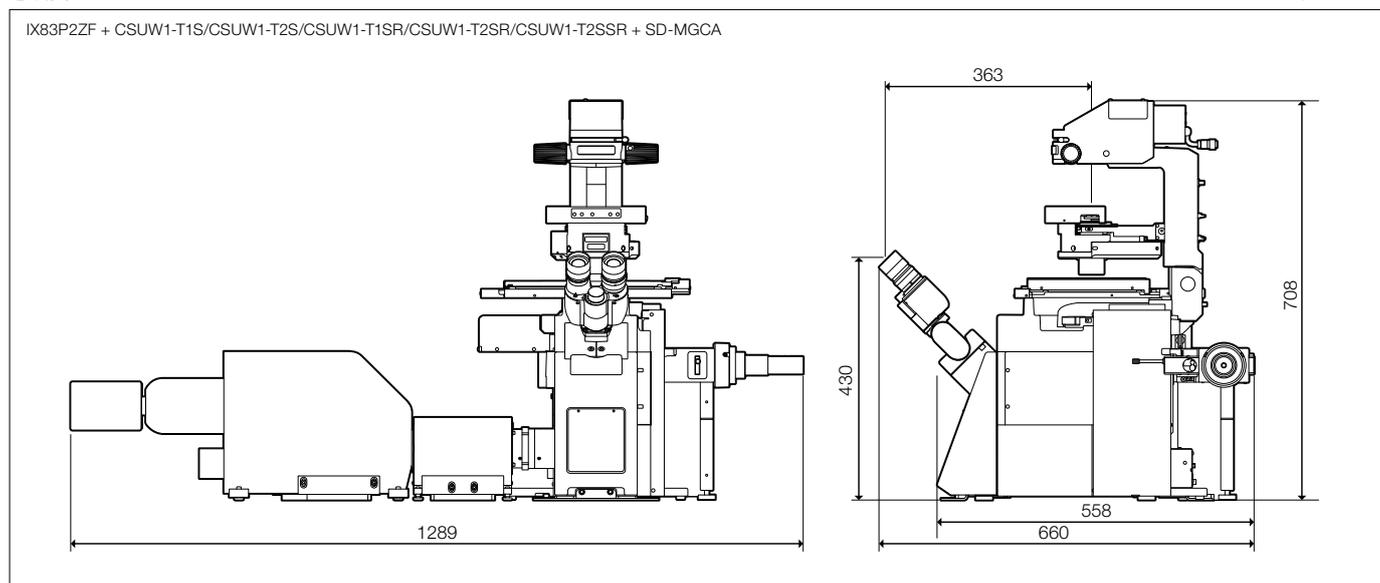
Microsoft 社のライセンス条項が適用され、当該条項に同意頂くこととなります。

Microsoft 社のライセンス条項は以下をご参照ください。:

https://www.microsoft.com/en-us/UseTerms/Retail/Windows/10/UseTerms_Retail_Windows_10_japanese.htm

寸法図

(単位:mm)





(表紙左) 培養上皮細胞
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:
Dr. Huiwen Hao, et al. Standard Imaging Co.,Ltd.& Sun Lab, College of
Future Technology, PKU.

(表紙中央) 神経突起の先端におけるアクチン細胞骨格(緑色)とエンドサイ
トースシス関連分子(赤色)。GFP-actin, Endophilin A3-mCherryを発現させた
NG108-15細胞。
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:
新潟大学 医学部 医学科 神経生化学
野住 素広 先生、五十嵐 道弘 先生

(表紙右) ニワトリ胚腸由来細胞。細胞骨格をmcherryで可視化。
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:
京都大学大学院 理学研究科 生物科学専攻 動物学教室 動物発生学学科
高橋 淑子 先生、矢ヶ崎 怜 先生

www.olympus-lifescience.com

株式会社エビデント

〒163-0910 東京都新宿区西新宿2-3-1 新宿モノリス

- 当社は環境マネジメントシステムISO14001の認証取得企業です。登録範囲は <https://www.olympus-lifescience.com/ja/support/iso/>をご覧ください。
- 当社は品質マネジメントシステムISO9001の認証取得企業です。
- 安全にお使いいただくために、顕微鏡用照明装置には耐用年限がありますので、定期点検をお願い致します。詳細は当社HPをご覧ください。

- このカタログに記載の社名、商品名などは各社の商標または登録商標です。
- モニター画像ははめ込み合成です。
- 仕様・外観については、予告なしに変更する場合があります。あらかじめご了承ください。



お問い合わせ : www.olympus-lifescience.com/ja/contact-us

取扱販売店名

EVIDENT

OLYMPUS

V86015892407