

神经生物学显微成像解决方案

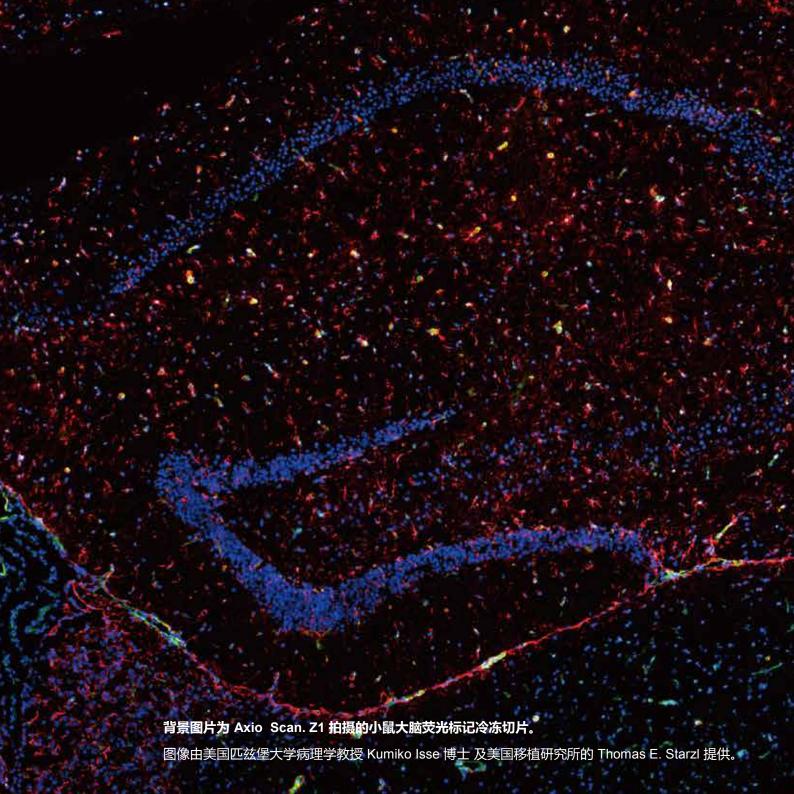
版本:2017年7月



脑的结构和功能是对人类认识世界、认识自我的最终挑战,探索大脑的奥秘是目前最具有吸引力,也是最具挑战的科学难题之一。其难点很大程度上源于大脑异常复杂的结构和功能,需要从分子、细胞、系统以及全脑等不同层次进行研究和整合,才能揭示其奥秘。1997年人类脑计划在美国正式开启,中国脑科学计划也已经正式启动。

如何全面、精准的了解脑神经网络的连接,在探索大脑工作原理中具有重要作用。显微观察技术是目前最有效的、能在微纳尺度上观察并操控生物活体样本的技术,并从多尺度获得脑神经网络的结构和功能数据,为脑科学研究打开新的窗口。

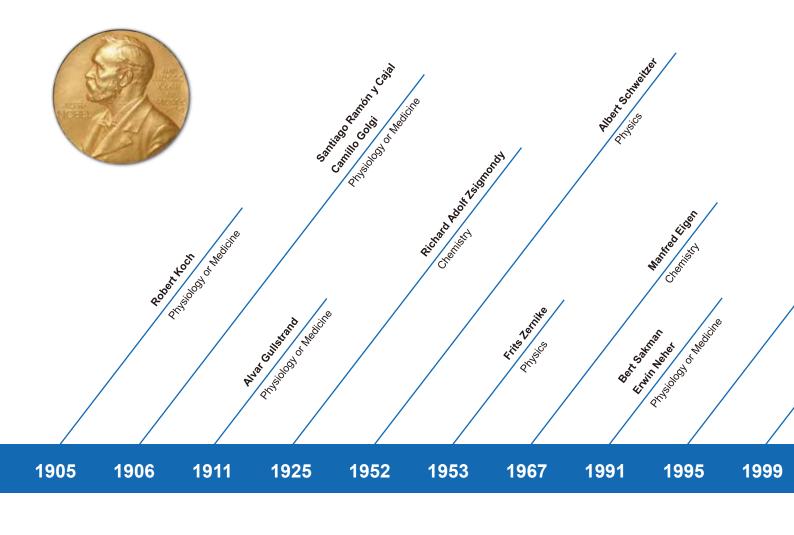
我们愿与您一起接受挑战,探索大脑奥秘。

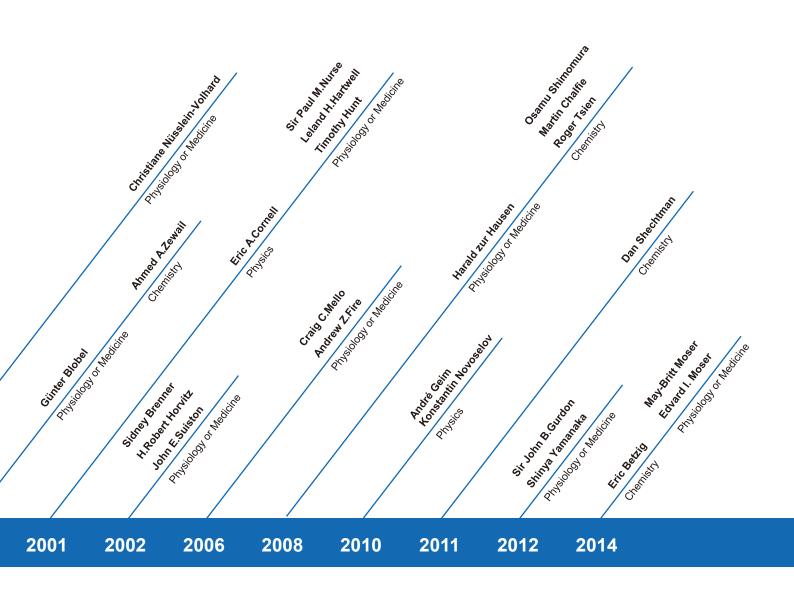


That is the moment we work for.

成就这一刻。

自1901年起,超过35位诺贝尔奖得主使用蔡司显微镜在科研领域开拓创新



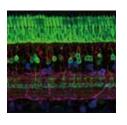


目录



细胞层面研究

成像深度更深	■ LSM 880 NLO (with Airyscan)
图像细节更清晰	 LSM 8 family with Airyscan ELYRA PS.1 Correlative Microscopy Multi-SEM
成像速度更快	■ Lightsheet Z.1
拍摄高通量样品	Celldiscoverer 7Axio Scan. Z1Multi-SEM
操作便捷、通用性强	LSM 8 family LSM 8 family with Airyscan





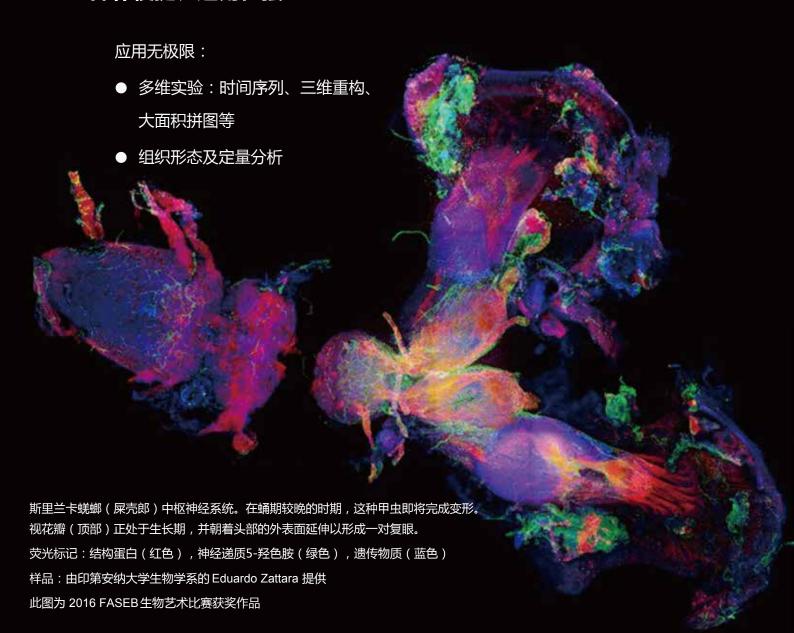


活体层面研究

Page 14
Page 18
 •
Page 12
Page 16
Page 24
Page 26
_
Page 18
Page 13
Page 22
Page 20
Page 26
 Dags 40
Page 10
Page 12

LSM 8 系列 共聚焦显微成像系统

✓ 操作便捷、通用性强 ⇒ 主要适用于细胞、组织层面研究









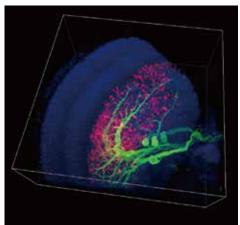


上图为最新共聚焦 LSM 8 系列外观图

通用性强,高信噪比图像

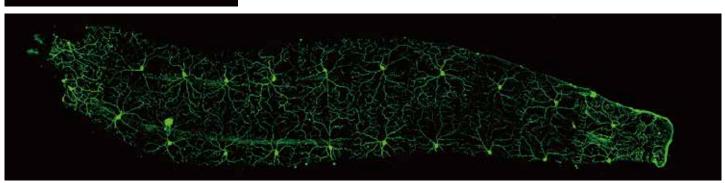
激光共聚焦显微镜通过针孔将焦平面之外的非焦面信息过滤,以获得高信噪比的图像。主要用于组织和细胞中荧光分子和结构检测,荧光强度信号的定量分析,深层组织和细胞成像,荧光漂白及恢复实验等生物学应用。共聚焦显微镜是目前通用性最强,操作较为便捷的显微成像系统,是实验室日常研究不可或缺的重要仪器。

右图为研究斑马鱼逃跑行为的相关神经元,使用 LSM 880 拍摄,由 Isacoff 实验室的博士后 Carlos Pantoja拍摄,此图为2015年Berkeley大学图像竞赛的第一名。



下图为表达pickpocket启动子的果蝇幼虫,活体成像38分钟,该启动子是调控IV类外周神经元中的膜蛋白mcd8-GFP的表达,使用 LSM 800 共聚焦显微镜拍摄。样品由美国宾夕法尼亚州立大学的 Alex Weiner 提供。

左图为果蝇脑片的三维重构图像, 荧光三色标记(Alexa 488, Alexa 568, Alexa 633),使用LSM 800 拍摄。样品来自德国弗赖堡阿尔伯特 - 路德维希大学生物学研究所的 D. Reiff。LSM 8系列共聚焦可以用于不同实验设计,包括观测固定细胞,活细胞,得到清晰锐利的多层Z平面结构(光学切片),以及时间序列图像,大视野拼图等,也可以进行荧光共定位,FRAP,FRET等定量分析,以及分子数目和亮度分析。



Airyscan 超高分辨率共聚焦成像系统

- ✔ 图像细节更清晰
- ◇ 主要适用于细胞、组织层面研究
- ✔ 操作便捷、通用性强

应用无极限:

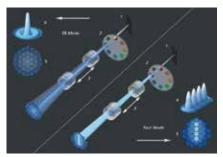
- 基于共聚焦成像的超高分辨率系统,操作便捷、通用性强
- 分辨率在各个方向上同时提高1.7倍,适 用于观察树突棘等微小结构
- 图像信噪比提高4~8倍,提供更优异的图像质量,尤其是弱荧光信号样品
- Airyscan, Fast 模式:保证高分辨率、高信噪比的前提下,扫描速度提升4倍,适用于活细胞观察或大组织样品

黑腹果蝇胚胎的中枢神经系统,最大强度投影彩色编码图(不同的颜色代表不同的拍摄深度)。中枢神经系统质地紧密, 荧光信号明亮;周围神经系统纤维细长,质地疏松。即使使用较低的激光功率,也能将两者都同时很好地呈现。

Plan-Apo 20x/ 0.8 物镜拍摄,212 μm(x轴) x 212 μm(y轴) x 27 μm(z轴),共94层 z-stack。

样品:由德国波恩LIMES学院的J.Sellin和AG Hoch提供。

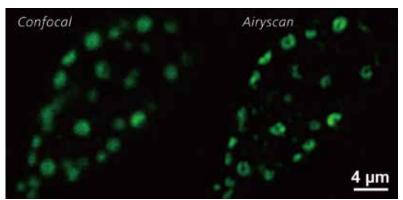








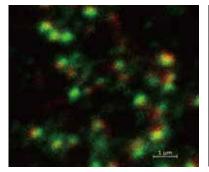
中间图为 Airyscan 及 Airyscan 快速模式的光路示意图

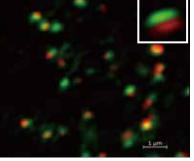


快速成像

大脑功能的实现依赖于神经细胞之间的快速信息传输。对活体动物神经细胞中信号的变化进行高分辨率、高信噪比的快速捕捉,对于揭示大脑基本工作原理起着至关重要的作用。

右图为表达GCaMP6的活体斑马鱼大脑,拍摄总厚度为100μm,深度颜色编码显示。在同等拍摄参数条件下,Airyscan Fast 模式的拍摄速度是传统共聚焦的4倍,并同时获得高分辨率、高信噪比的图像,尤其适合于快速拍摄活体样品或厚样品的三维信息。

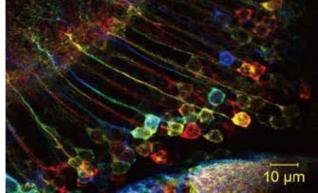




高分辨率

神经细胞构成了高等动物脑功能的物质基础,由于该细胞中的部分蛋白结构远小于光学分辨率,因此传统的神经生物学研究手段具有很大的局限性。而现在,超高分辨率荧光显微镜的出现为传统神经生物学研究带来了新生机。

左图为传统共聚焦和 Airyscan 的对比图,样品为黑腹果蝇神经肌肉接点,果蝇蛋白 Bruchpilot (BRP) 染色,数据由瑞士 Friedrich Miescher 生物医学研究所的J.Pielage提供。



高信噪比

荧光信号较弱往往是神经生物学研究中的超高分辨率成像的难点。因此,对于系统的灵敏度及图像的信噪比提出了极高的要求。左图为培养神经元的突触前、突触后的共聚焦(左图)及Airyscan(右图)成像效果的对比图。可以观察到神经突触间隙清晰可见(右放大图),样品由中国科技大学提供。

LSM NLO (with Airyscan) 双光子成像系统

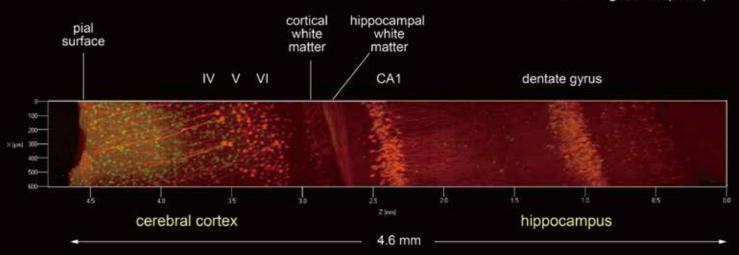
✔ 成像深度更深

✔ 图像细节更清晰

应用无极限:

- 活体成像
- 透明化组织样品

XZ-image, Z step: 5 μm



该图为表达GFP / YFP的小鼠大脑的光谱拆分图像,该小鼠是通过两个小鼠品系[GAD67-GFP敲入小鼠和thy1-YFP (H-line)转基因小鼠]的杂交产生的。取用成年小鼠的大脑,通过优化的Sclae透明化处理。LSM 880 NLO拍摄图示。

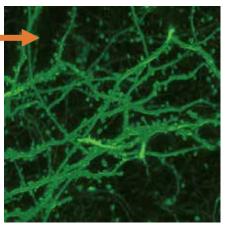
样品:由RIKEN脑科学研究所的Hiroshi Hama博士 提供







上图为最新共聚焦 LSM 880 NLO 系列外观图 及 透明化样品物镜

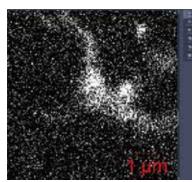


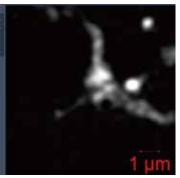
双光子深度成像

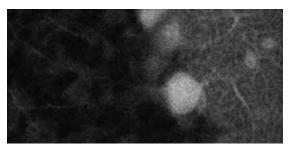
双光子成像样品穿透能力强、光毒性小、可观察厚标本和活体组织的优点。脑成像是神经科学领域重要的研究方法之一,它为脑组织的形态及功能研究提供重要依据。但脑组织的密度、复杂性及其对光线的散射作用,给高分辨率光学成像造成了障碍,而双光子显微镜与传统共聚焦显微镜成像方法比较,具有容易穿透标本、光毒性小、可观察厚标本和活体组织等优点。左图为小鼠大脑皮层,YFP表达,拍摄厚度超过600µm。大脑皮层是哺乳动物大脑最外侧的神经组织片。 它在记忆、注意、感知、思想、语言和意识活动中起着关键作用。

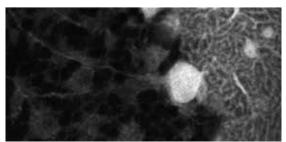
超高分辨率双光子深度成像

双光子可以和 Airyscan 技术相结合,以真正做到在厚样品成像时,获得高信噪比、高分辨率的图像。 右图及下图为2组对比图,样品都为小鼠大脑,左边为普通双光子检测器所拍摄,右边为 Airyscan 所拍摄的高信噪比、高分辨率图像。



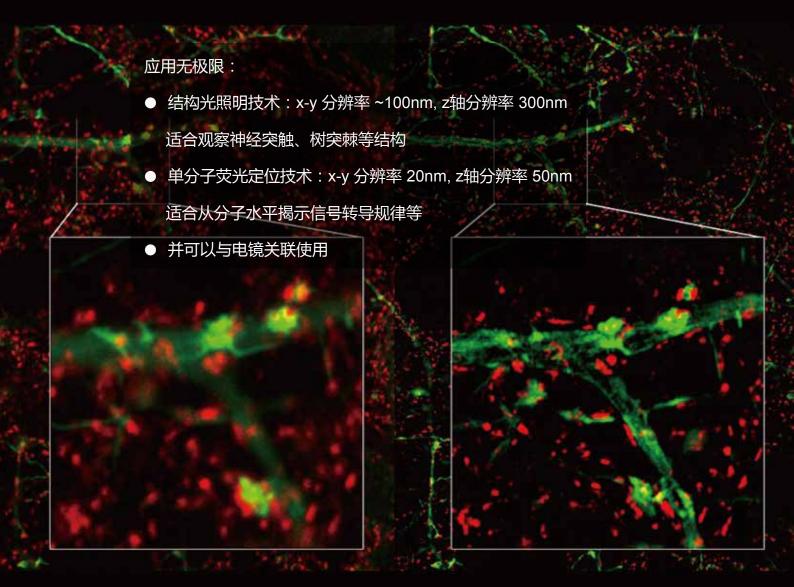




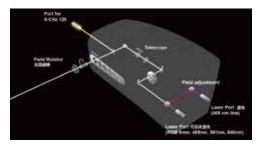


ELYRA PS.1超高分辨率成像系统

✔ 图像细节更清晰









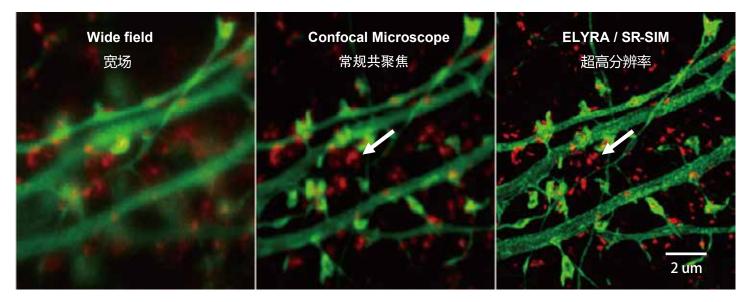
中间图为ELYRA系统光路示意图

超高分辨率,解析更多细节

神经细胞构成了高等动物脑功能的物质基础,是认知 、学习、记忆、思维以及智力的重要承载单元。由于这些蛋白结构及分布远小于光学分辨率,传统的神经生物学研究手段只能局限于电生理、分子生物学及蛋白质组学等。而现在超高分辨率技术为我们打开了一个新的窗口,并且一经问世就得到了广泛的响应。2014年诺贝尔化学奖也颁发授予了超高分辨率技术,其中获奖者Eric Betzig 及合作伙伴 Harald Hess 的工作促进了首款基于PALM技术的商用超高分辨率显微镜Zeiss Elyra的发展。 该技术系列也成为细胞及神经研究平台的重要组成部分,也是助推单细胞研究的核心技术之一。

超高分辨率技术现已被用于研究轴突及神经突触结构,包括神经递质的异相构成,囊泡功能性研究,信号传导等。超高分辨率成像有助于理解神经突触蛋白质复合物结构与功能的关系,从分子水平揭示信号转导规律。如神经细胞轴突、突触结合蛋白集群,原代培养海马神经元进行胞吐作用后的突触结合蛋白集群等,都可通过超高分辨率成像技术进行研究。

下图为培养原代海马神经元在不同显微技术拍摄的对比图,左图为普通宽场荧光显微镜,中间为传统共聚焦技术,右图为超高分辨率 SR-SIM 技术。F-actin 结合蛋白 ITPKA-N66(绿色,使用Alexa 488标记抗体);突触前标记Bassoon(红色,使用Alexa 561标记抗体);图片由美国 Bethesda 市 Uniformed Services University 大学的 M.J.Schell 提供。



Lightsheet Z.1 激光片层扫描显微系统

- ✔ 成像深度更深
- ✓ 成像速度更快

应用无极限:

- 活体大样品多视角长时间成像
- 样品体积最大可达 1cm x 1cm x 2cm
- 拍摄速度快、穿透深度大,可实现三维透明化脑组织重构,有效提高神经网络结构重构的速度及可靠性



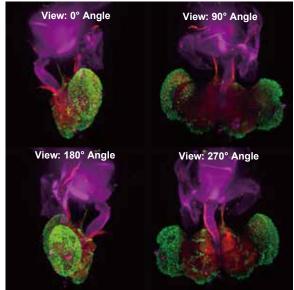
Thy1-EGFP M型小鼠海马区,在LUMOS试剂中进行透明化处理。

图示为连续数十幅上下左右拼接的 z 轴序列图像,整个小鼠大脑半球 4.12 (× 轴)× 0.466 (y 轴)× 2.11 (z 轴) mm 的区域 (14755 x 1636 pixel, 8882 层 z-stack)。借助 Lightsheet Z.1 20×/1.0 (透明化介质 n=1.45, 工作距离 5.6mm) 成像物镜采集。使用 arivis Vision4D™ 进行数据处理和三维渲染。

样品:由俄罗斯莫斯科国家研究中心 Kurchatov 研究所的 O. Efimova 提供。



Lightsheet Z.1 样品夹适配器及光路示意图





独特的光路设计,样品能多视角观察

Lightsheet Z.1 无盖玻片样品制备和不同的样品适配器能灵活地放置样品,帮助您自由选择最佳观察角度。多角度成像数据的融合能够提高空间分辨率,并使图像信息内容更加丰富。

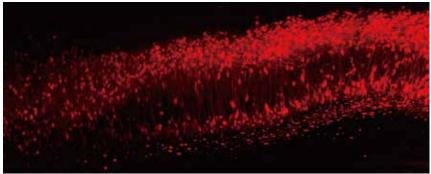
左图为果蝇成虫大脑。从4个角度分别拍摄,最大强度投影。紫红色:喙肌肉,Rhodamine phalloidin标记;绿色:OK371Gal4::UASmCD8GFP标记神经;红色:Alexa Fluor 647标记神经胶质蛋白。数据由印度国家生物研究中心(NCBS)的 Ali Asgar Bohra 和 K Vijay Raghavan 教授提供。

透明化技术

可适用于 LUMOS, CLARITY, SeeDB 等不同透明化技术,使您以更高的光效率,更快的速度和几乎无光毒性的对经透明化处理的大型样品进行成像。

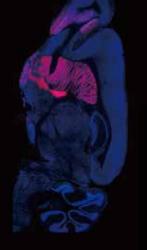
右下图为使用 CLARITY 透明化处理的小鼠大脑,样品由美国哈佛大学的 J.Bergan, C.Dulac 提供。

左下图为非洲爪蟾,使用 SeeDB 透明化方式处理样品。Alexa 488 标记骨骼 肌及神经。5x/0.16 物镜,5个角度拍摄后融合。数据由德国 Friedrich-Schiller -University 的 Jennifer Schmidt 和 Lennart Olsson 教授提供。



Axio Scan.Z1 全自动数字玻片扫描系统

- ✓ 拍摄高通量样品
- ◇ 主要适用于组织层面研究
- ✔ 操作便捷、通用性强



应用无极限:

- 适用于明场、多通道荧光、偏光等不同成像方式
- 大批量、全组织、高分辨率全玻片自动化扫描:一次拍摄通量可多达100张常规玻片,适用于脑神经环路等高通量研究需求
- 可配置 52mm x 76mm , 102mm x 76mm 超大规格样品 夹,适用于猴脑等非人灵长类动物神经图谱研究,探索理解最高等认知功能的神经环路基础

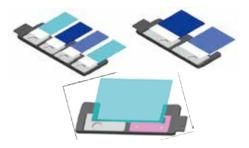
Axio Scan.Z1 能自动识别并拍摄玻片上的所有样品,满足高通量自动化拍摄的需求。

小鼠脑干矢状面切片,红色标记苍白球上的纹状体神经 tdTomato 蛋白,蓝色标记细胞核。

样品:由美国伯克利大学 Holly Aaron 提供

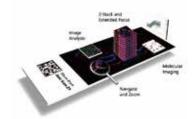








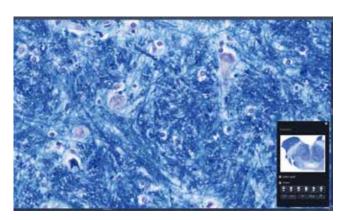
Axio Scan.Z1 全自动数字玻片扫描系统不同规格样品夹及"托盘式"样品架设计

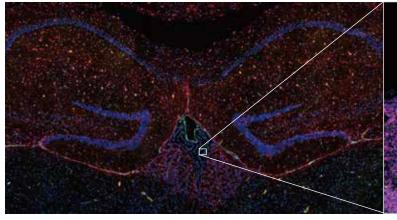


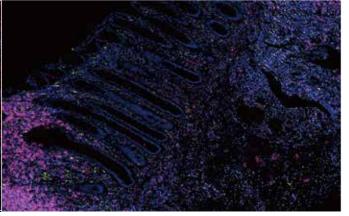
数码化您的样本,提供工作效率

利用数字玻片扫描系统进行高质量、 高分辨率的荧光成像,能最大程度的 保留样本信息,避免荧光漂白、样本 损伤等带来的问题,便于科学研究及

教学。Axio Scan.Z1 集切片自动进样、装载、扫描、图像处理、图像保存为一体,高通量、操作便捷的自动化系统,能有效地提高工作效率。 右图为脑切片明场拍摄截图。数字玻片使您可以在全视野扫描样品后连续放大观察,在宏观整体结构和微观的部分感兴趣区域之间无缝切换。







快速、高分辨率成像效果

自动扫描大脑连续切片,定位神经元兴奋区域,并可以借助第三方软件构建大脑完整三维结构。

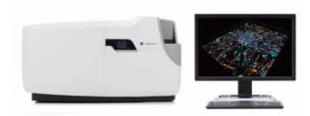
上图为老鼠大脑, 5 μm 冷冻切片, 量子点标记: DAPI, CD31 (内皮细胞); GFAP (星型胶质细胞)。图像数据由美国匹兹堡大学病理学教授 Kumiko Isse 博士 及美国移植研究所的 Thomas E. Starzl 提供。

Celldiscoverer 7 全自动活细胞成像系统

◆ 主要适用于细胞、组织层面研究 ✔ 拍摄高通量样品 ✔ 捕获速度更快 ✔ 操作便捷、通用性强 应用无极限: 适用于明场、多通道荧光等不同成像方式 ● 大批量、长时间、高分辨率全自动活细胞成像 ● 适用于长时间神经细胞培养观察,或脑组织活细胞观察

小鼠皮层神经元原代培养,反卷积z轴序列投影的3D重建。绿色为 Cy2 标记抗体染色 bll-微管蛋白,红色为Cy3 标记巢蛋白,紫色为 Cy5 标记 DCX,蓝色为DAPI标记细胞核。

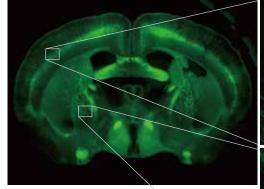
样品由德国 LSM Bioanalytik 公司的 H.Braun 提供。

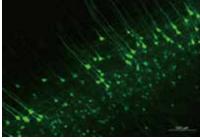


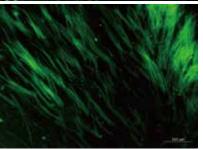




Celldiscoverer 7 专用物镜能提供大视野,长工作距离的高分辨率图像







大视野、高分辨率、长工作距离物镜

利用膨胀显微技术(Expansion Microscopy) 样品能被放大到4.5至5倍,令微小结构能够更 好显现。Celldiscoverer 7 的专用物镜可以实现 大视野、高分辨率以及自动化成像。

左图:整个大脑切片。

局部放大图上图:锥体细胞。下图:轴突束。

样品置于底部厚度为 1.2mm 塑料培养皿上,使用2.5x物镜拍摄z轴序列的景深扩展图像。YFP表达的神经细胞。

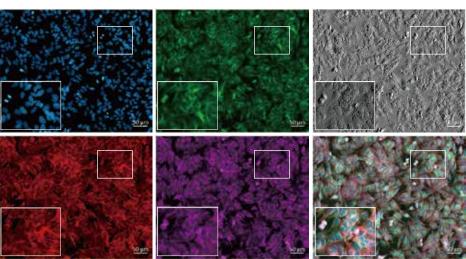
样本由美国剑桥麻省理工学院Boyden实验室 S.Asano提供。

稳定、可重复性高的活细胞成像

长时间活细胞观察对于成像系统的稳定性提出了极高的要求,Celldiscoverer 7 箱体式设计在保障活细胞长时间观察的同时,能够将复杂实验步骤简单化,轻松获得可重复的结果。

右图:用384微孔板进行SH-SY5Y细胞培养。使用Plan-Apo 20x/0.95 物镜在同一区域进行五通道成像;z轴序列的景深扩展;Hoechst染色质(蓝色),FITC标记抗α微管蛋白(绿色),鬼笔环肽肌动蛋白(红色),MitoTracker Deep Red 线粒体(紫色),PGC 浮雕透射光成像,荧光及明场叠加图像。左下角为方框内放大图。

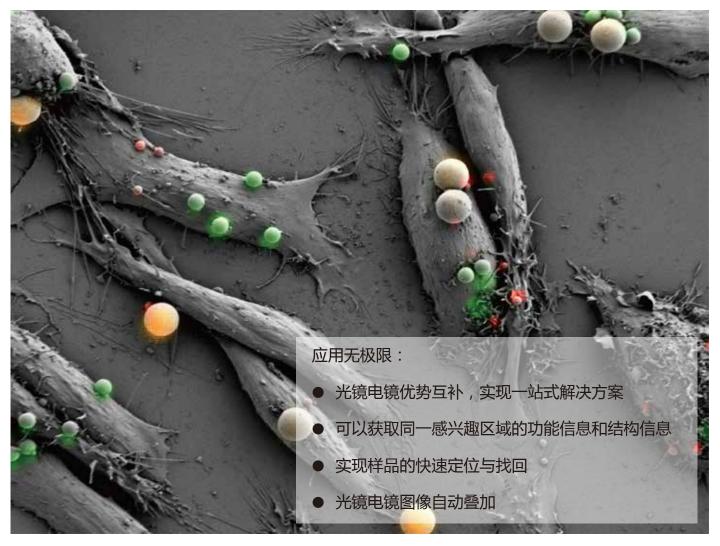
样品由德国波恩神经退行性疾病中心核心研究 实验室P.Denner提供。



CorrMik 光电联用解决方案

✔ 图像细节更清晰

◇ 主要适用于细胞、组织层面研究

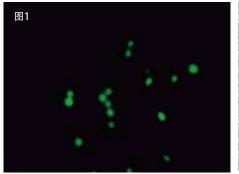


图像由共聚焦及扫描电镜AURIGA 60拍摄并关联叠加。 荧光信号为2,3,5um大小的小球,由共聚焦拍摄。可以观察到2um 的荧光小球(红色)完全内嵌。样品由Delaware 生物技术研究所的 Jeffrey L. Caplan 和 Kirk J. Czymmek 提供。





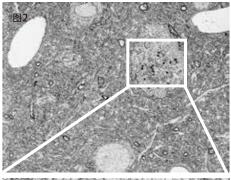
CorrMik 专用样品夹

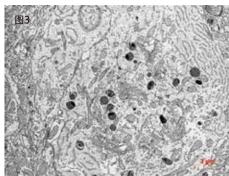


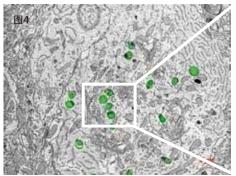
纳米级的分辨率和精准的重叠

由于电镜的分辨率远高于光镜,因此可以 在感兴趣区域内选取局部细节进放大(图 3),从而得到高分辨率的信息,实现纳米 级分辨率的荧光分析信号。

图4为光镜与电镜的图像叠加,把光镜中特殊的荧光信号图像与电镜中高分辨率的超微结构图像相关联,可以得到新的维度定量观察信息。在软件的自动校准下,光镜和电镜图像可以完美结合。图5为图4白色方框部分局部区域的放大图像,可以从这张扫描电子显微镜照片观察到诸多细节如红色A所代表的线粒体结构。该图通过光电联用将荧光信号的分辨率提升到数个纳米,远远超过现在光学显微镜的检测极限,在光镜的基础上揭示了更加清晰的细节。







简单快捷的校准与定位

在光学显微镜上,首先对样品台进行校准。然后选择想要在电镜下观察的感兴趣区域(图1),感兴趣区域的位置会随着样品图像一同保存下来。随后将样品转移到电镜上进行分析。

在电镜上做好样品台的校准,然后载入样品的图片和感兴趣区域,只需要简单点击想要观察的区域,样品台会在数秒之内自动移到对应的位置,连放大倍数也会自动调校的和光镜相同。图2就是电镜在光镜下定义的感兴趣区域,其定位精度可达到亚微米级别。在电镜的成像下,细微结构清晰可见。

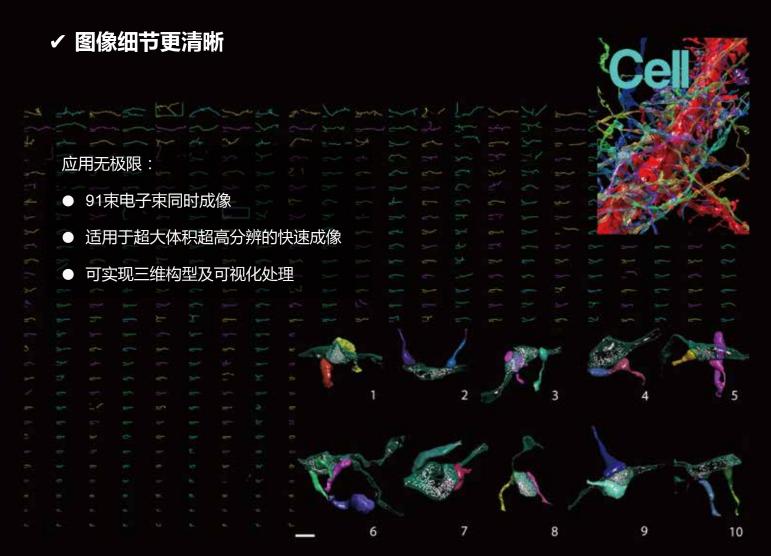
样品为黄莺脑组织的超薄切片,分别在光镜和电镜下成像。图像来自于苏黎世大学神经信息研究所 M. Kirschmann。



Multi-SEM 多束扫描电镜系统

✔ 拍摄高通量样品

◇ 主要适用于细胞、组织层面研究



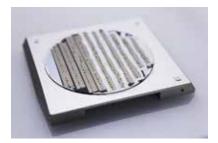


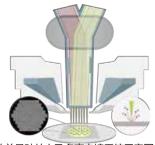
Volume 162, Issue 3, Pages 648-661 (July 2015)

DOI: 10.1016/j.cell.2015.06.054



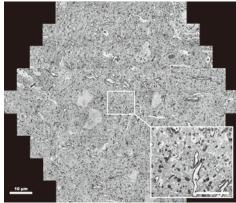


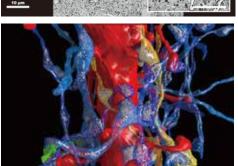




样品承载于4英寸的的单晶硅片上及多束电镜系统示意图

40 µm





超高的成像效率

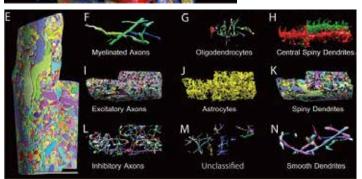
传统的扫描电镜只能用一根电子束成像,而MultiSEM 同时能用最多91根电子束成像,因此其成像速度比传统扫描电镜快上100倍。如左图所示是鼠脑组织在MultiSEM下成像,视野范围为108um,成像时间仅为1.3秒。样品由哈佛大学的 Jeff Lichtman 提供。

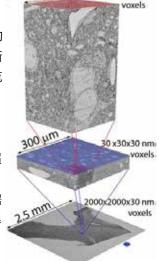
清晰的成像细节

即使是在如此之快的成像速度下,MultiSEM仍能保证优异的细节信息。将左图局部区域放大,可以看到其细节仍然清晰可见,髓鞘结构边界清晰,而线粒体及其内部结构也是一览无余。该细节图像的分辨率为3.8nm。

图像组合

将单张的图像按照一定算法拼接起来,可以获得如右图般超大视野的图像。该视野长宽均为2.5mm,图像分别率为4nm,整列数据的成像时间约为30分钟。在获得如此高通量的数据后,可以使用三维可视化软件对数据进行分割和重建,获得右图的可视化结果。





3x3x30 nm

Multi-scale

三维重建

由于电镜可以提供超高的分辨率信息,因此不光是神经元,诸如突触、囊泡以及神经元周围的细小结构都能做分割和可视化处理(左图)。配上蔡司特有的三维可视化软件,可以将电镜结果通过衬度信息将感兴趣的结构分割出来,并加上伪彩以区分不同的组织结构。样品为鼠脑组织,由哈佛大学的Jeff W.Lichtman 提供,并于2015年7月发表于Cell杂志。

We Make it Visible.

自1846年起,蔡司与您一路相伴



Plan-Apochromats and Plan with a flat image field for pl raphy based on calculation Boegehold (1876–1965).

平场复消色差物镜及平场消色



First compound microscope 第一台复式显微镜





1847 1857 1886 1893 1908 1938



First apochromatic microscope lens, a color-corrected objective lens for three wavelengths based on the calculations of Emst Abbe .

基于Abbe 光学设计的首个复消色差物 镜



The las 首个商



Simple microscope with doublet and triplet optics. Production of simple microscopes begins.

开始生产双合透镜及三合透镜的显微镜



Test setup for fluorescence microscopy by August Köhler and Henry Siedentopf.

首台荧光显微镜

-Achromats notomicrogs by Hans





Axio Scan.Z1
Fast and Reliable Slide Scanner 研究级全自动数字玻片扫描系统





Correlative Microscopy "Shuttle & Find" solution 光镜与电镜关联方案



LSM 8 Family with Airyscan:
New confocal microscopy standard
共聚焦成像新标准,超高分辨率共聚焦成像方案



Celldiscoverer 7:
Automated platform for live cell imaging
全自动活细胞成像系统

2010

2011

2013

2014

2016



ELYRA – Supper -resolution Platform

第一台基于PALM技术的商用超高分辨率显微成像系统

er scanning microscope

用激光共聚焦显微镜的诞生

近5年,蔡司在神经科学研究领域:

2013年, Lightsheet 技术获 R&D 100 设计大奖

2014年, ELYRA P.1 with 3D-PALM 获 R&D 100 设计大奖

2015年, Airyscan 被评为 R&D 最具市场影响力的创新产品

2015年, MultiSEM 获得显微技术创新奖 (Microscopy Today Innovation Award)

2015年,蔡司与美国 UC Berkeley 大学合作共建脑成像创新中心 (BrainMIC) ,推动"脑计划"研究

2014, 2015 & 2016年, LSM 880 with Airyscan 连续三年获美国神经科学学会年会"大众选择奖"

(" #MyNeuroVote people's choice award ")

我们将继续与您一起开拓进取、引领创新......

卡尔蔡司(上海)管理有限公司

上海市自由贸易试验区美约路60号

电话: 021-2082-1188

北京分公司

北京市海淀区学院路甲5号768创意 产业园B座北区1211,1221,1231号

电话:010-8517-4188

广州分公司

广州市天河区珠江东路16号

高德置地冬广场G座3804室

电话: 020-3719-7688

成都分公司

成都市人民南路三段1号

平安财富中心2201-2202室

电话: 028-6272-6777

更多信息请访问 www.zeiss.com.cn/microscopy

全国免费服务热线: 4006-800-720



