

ДИА•М

современная лаборатория

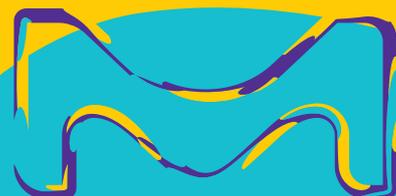
MERCK

ПРОТОЧНЫЕ ЦИТОМЕТРЫ С ВИЗУАЛИЗАЦИЕЙ AMNIS®

Микроскопия в потоке



The life science business of Merck operates as
MilliporeSigma in the U.S. and Canada.



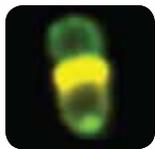
ОХВАТЫВАЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

науки о жизни

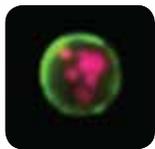
Микроскопия предлагает исследовать детальные клеточные изображения и морфологическую информацию, которая является полезным научным инструментом для изучения клеточных функций. Однако, интерпретация микроскопических изображений может быть субъективной и трудоёмкой.

Проточная цитометрия - это великолепный метод для количественного фенотипирования и обеспечивает статистически надёжные результаты используя быстрый анализ большого количества клеток. Однако, метод проточной цитометрии не позволяет анализировать изображения, таким образом, исследования субклеточной локализации и функциональные исследования в лучшем случае будут затруднительны.

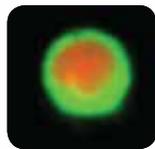
Комбинирование скорости, чувствительности и фенотипических возможностей проточной цитометрии с одной стороны и детализации изображений и функциональных возможностей микроскопии с другой стороны, позволяют визуализирующим проточным цитометрам Image Stream® и FlowSight® обойти ограничения обоих методов и открывают двери для широкого спектра новых приложений.



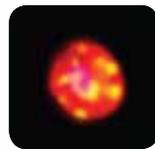
Иммунология



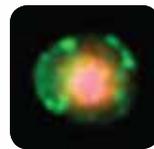
Онкология



Биохимия



**Создание
новых лекарств**



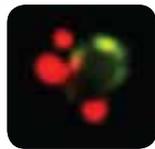
**Биология
стволовых клеток**



Гематология



Микробиология



Вирусология



Нанотехнологии



Токсикология



Паразитология



Океанография



Альгология



Анализ микрочастиц



Визуализирующий проточный цитометр FlowSight®

Возможности: Применим в любой научно-исследовательской дисциплине

Чувствительный: детекция, основанная на использовании высокочувствительной камеры Hamamatsu® позволяет драматически улучшить разрешение по отношению к традиционным проточным цитометрам.

Доступный: Занимает меньшую площадь по сравнению с ImageStream®. Может быть сконфигурирован для задач лабораторий любого фокуса и бюджета.

Мощный: Характеризует популяции практически по любому визуальному или флуоресцентному атрибуту.

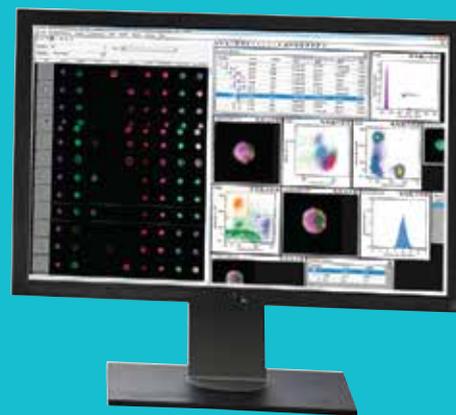
Визуализирующий проточный цитометр ImageStream^{®X} Mark II

Высокопроизводительный: Анализирует тысячи клеток в секунду при 60X увеличении

Интуитивный: Простой пользовательский интерфейс с графиками и гейтированием в режиме реального времени

Адаптивный: Система может быть сконфигурирована с любым числом лазеров - от одного до семи

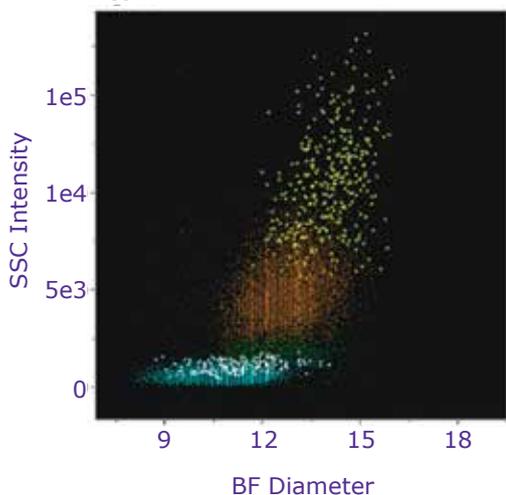
Гибкий: Изменение увеличения микроскопа позволяет осуществлять анализ изображений как мелких частиц так и очень больших клеток или даже их конгломератов.



Мощная проточная цитометрия

Системы ImageStream[®] MKII и FlowSight[®] обеспечивают анализ большого количества изображений каждой клетки в потоке, включая светлопольный и темнопольный каналы (SSC) и до 10 флуоресцентных каналов на высокой скорости. Камера ImageStream[®] оперирует размерами пикселя 0.1/0.25/1 мкм² с увеличением 60X/40X/20X, соответственно, что позволяет визуализировать флуоресценцию мембраны, цитоплазмы, субклеточных органелл или ядра с высоким разрешением. Система FlowSight работает только с 20X увеличением с площадью пикселя 1 мкм². Инновационная технология цитометров Amnis[®] увеличивает сигнал и уменьшает шум обеспечивая беспрецедентную фотонную чувствительность. Детали конфигурации, такие как специальный боковой скаттер-лазер, регулируемая интенсивность лазерного излучения, и анализ светлопольных изображений для прямого анализа клеток позволяют системе более эффективно разделять клеточные популяции, чем при использовании более дорогих проточных цитометров. Простота в использовании, выдающаяся производительность и анализ изображений каждой клетки отвечают потребностям как новичков, так и экспертов в области проточной цитометрии.

Единичные клетки

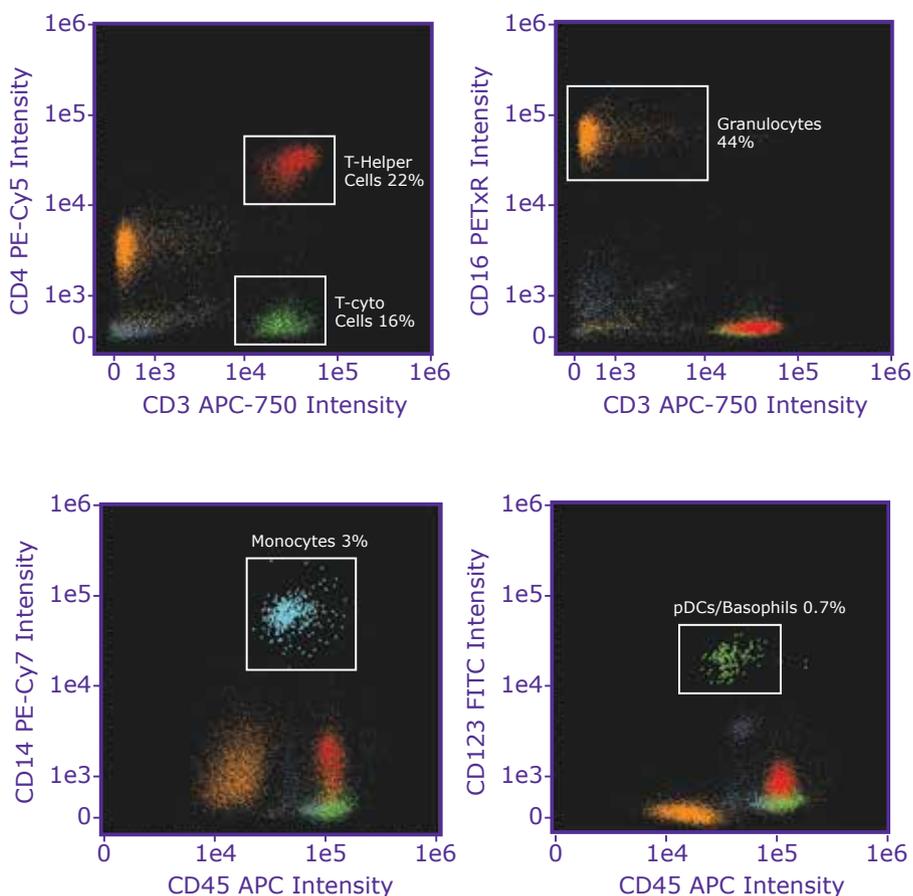


Больше, чем прямое и боковое светорассеяние

Традиционные проточные цитометры отлично подходят для рутинных операций с использованием характеристик светорассеяния низкого разрешения для аппроксимации размера и внутриклеточной гранулярности. Проточные имаджинг-цитометры Amnis® генерирует такие же 'размер vs сложность' скаттерплоты, но с мощностью 20-кратного увеличения (или даже больше), что позволяет дать абсолютно иную информацию, чем просто относительный размер клетки. Это достигается путём измерения актуального диаметра объектов в светлопольных изображениях.

Мультиканальное иммунофенотипирование

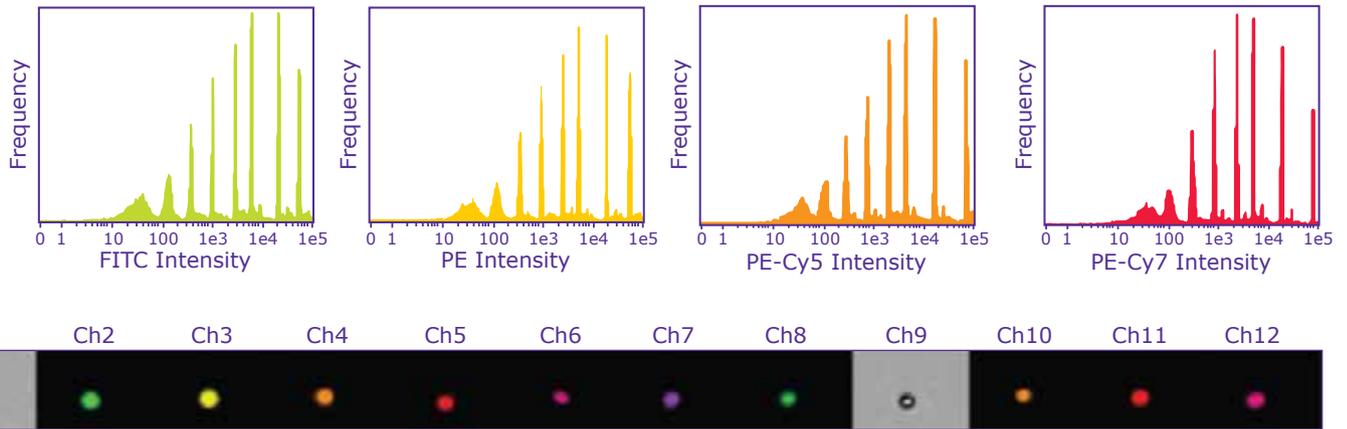
Имунофенотипирование требует множества флуоресцентных каналов в добавление к двум параметрам светорассеяния. На изображении справа представлено шестицветное иммунофенотипирование мононуклеаров периферической крови человека с использованием антител к CD3, CD4, CD14, CD16, CD45, и CD123 плюс DAPI. Функционирование каналов детекции, доступные опции лазеров и мастер автоматической компенсации позволяют осуществить простое разделение сложных комплексных популяций клеток.



Чувствительный и гибкий для любых исследований

Непревзойдённая флуоресцентная чувствительность

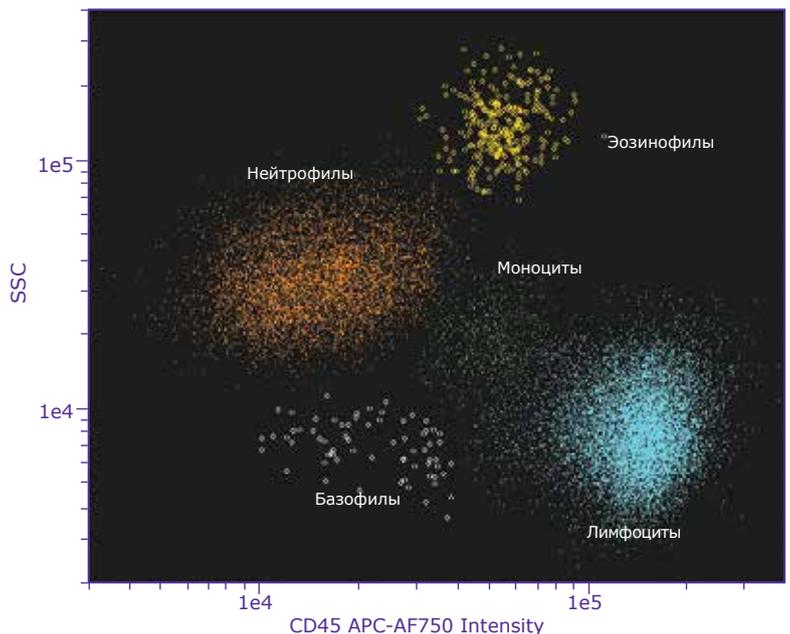
Запатентованная архитектура проточных имаджинг-цитометров Amnis® обеспечивает экстраординарную флуоресцентную чувствительность по всему видимому спектру, превосходя другие имаджинговые устройства. Четыре плота ниже демонстрируют возможность цитометра FlowSight® разделить все интенсивности на 8-пиковых калибровочных наборах Spherotech, по всему спектру - от FITC до PE-Cy7. Необходимо отметить отличное разделение пиков, низкие коэффициенты вариации (CV) и высокую чувствительность по всем каналам - от FITC до PE-Cy7.



FlowSight® 12 каналов изображений 8-пиковых микросфер Spherotech Rainbow.

Разделение лейкоцитов по 5 параметрам

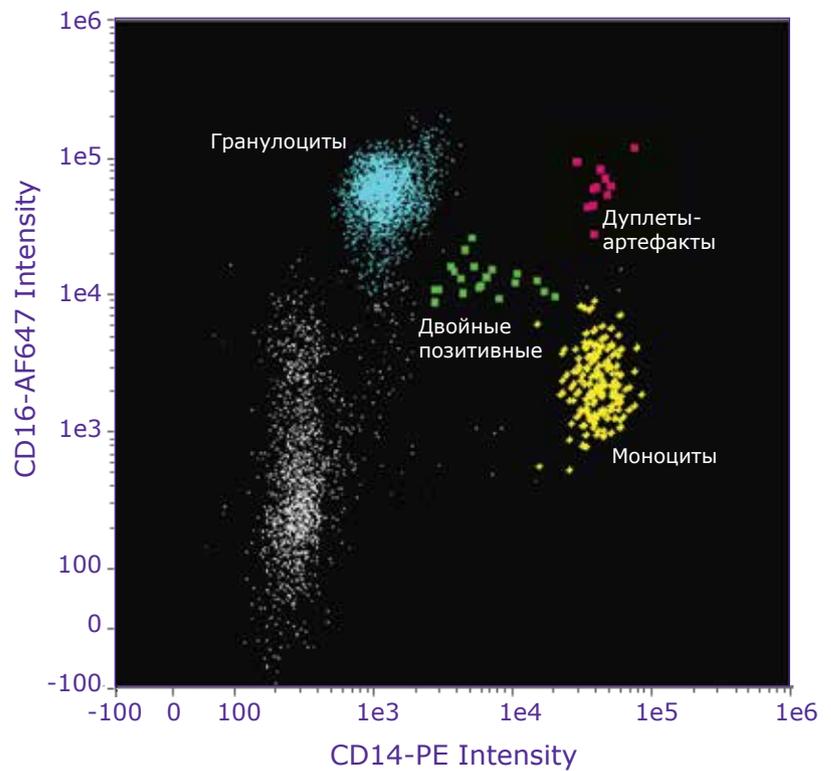
Благодаря своей непревзойдённой чувствительности, система FlowSight® позволяет эффективно разделить смешанные субпопуляции в гетерогенных образцах. Мононуклеарные клетки периферической крови были разделены на 5 различных популяций с использованием оценки экспрессии CD45 и интенсивности бокового светорассеяния. Высокая флуоресцентная чувствительность и низкие коэффициенты вариации (CV) отделяют популяцию моноцитов (зелёные) от лимфоцитов (голубые) и облегчают летекцию редких базофилов (белые). Специальный боковой скаттер-лазер позволяет ясно отличить эозинофилы (жёлтые) от нейтрофилов (оранжевые).



Изображения каждой клетки

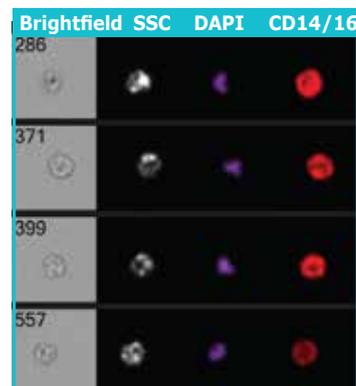
Цитометры FlowSight® и ImageStream® функционируют как обычные проточные цитометры, но также обеспечивают анализ изображений каждой клетки. Мощное и интуитивно понятное программное обеспечение позволяет беспрепятственно связывать количественные данные с изображениями:

- **Нажмите на точку в любом плоте** данных чтобы увидеть соответствующее изображение
- **Кликните на интервал на любой гистограмме**, чтобы увидеть каждую клетку в этом интервале
- **Нарисуйте гейты на дот-плотах** и вы увидите результирующие популяции клеток для валидации результатов

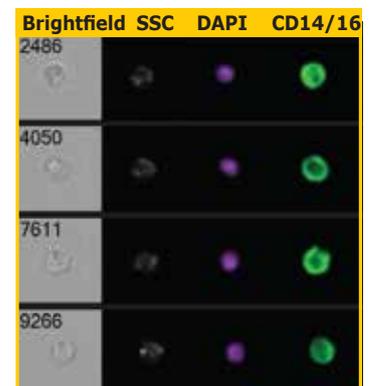


С возможностью анализа изображений, вы никогда не будете беспокоиться о статистических выбросах или о том, правильно ли вы осуществили гейтирование. Как только вы обозначите гейт на графике данных, вы можете кликнуть внутри и вне него, чтобы определить, находится ли он в правильном месте, как показано на примере справа. Благодаря визуальному инспектированию, вы можете оптимизировать размер, форму и расположение гейта для более точного и качественного анализа данных.

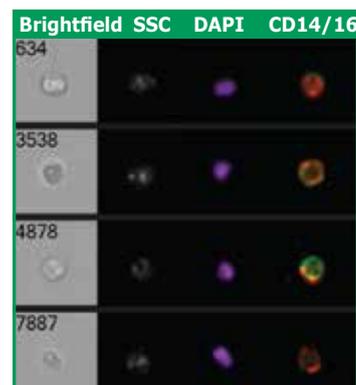
Гранулоциты



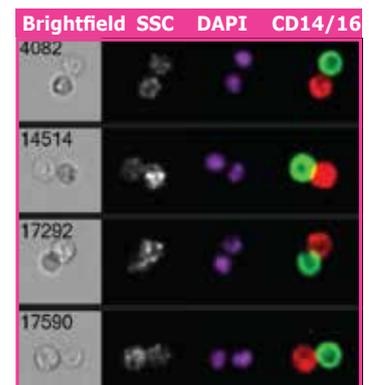
Моноциты



Двойные позитивные



Дуплеты-артефакты



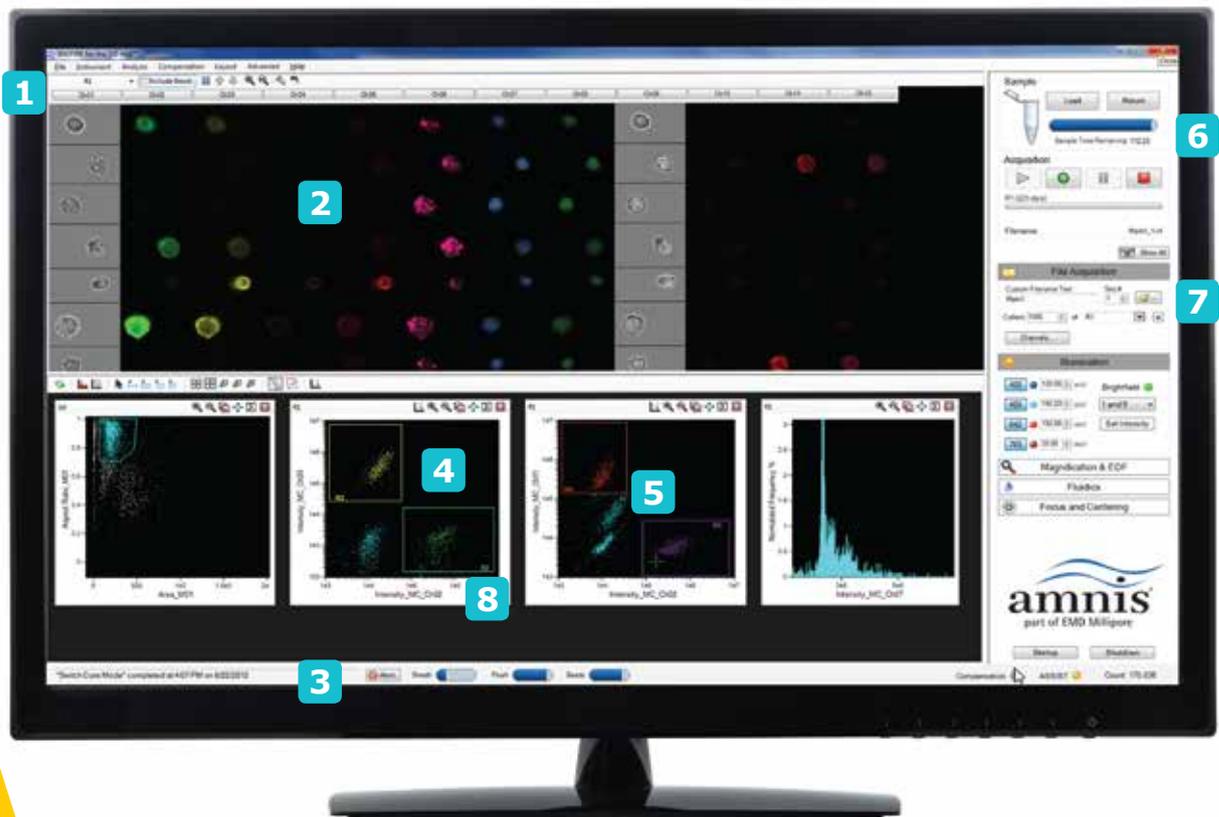
БЫСТРЫЙ И ПРОСТОЙ

Программное обеспечение для сбора и анализа данных

Программный пакет INSPIRE® предлагает мощные инструменты визуального гейтирования и компенсации в режиме реального времени.

- 1 Мгновенный просмотр популяций**
Каждая популяция добавляется в раскрывающемся списке как только вы выберете гейт. Просто выберите популяцию, которая вам нужна из списка для просмотра соответствующих клеток во время забора данных.
- 2 Галерея изображений**
Изображения интересующих клеток появляются в галерее по мере забора, позволяя вам инспектировать морфологию, оценивать паттерны окрашивания и оптимизировать установки мощности лазеров.
- 3 Статус прибора в цифрах**
Удобные датчики, индикаторы и текстовые сообщения обеспечивают постоянно обновляемый статус инструмента
- 4 Компенсация интенсивности в режиме реального времени**
Простой в использовании мастер компенсации быстро проведет вас через процедуру многоцветной компенсации
- 5 Гейтирование без догадок**
Гейты легко рисуются с использованием графических инструментов и верифицируются с помощью визуального инспектирования гейтов
- 6 Эффективный анализ образцов**
Используется до 95% образца, облегчая анализ редких событий. Неиспользованные объемы образца могут быть восстановлены для анализа.
- 7 Простой забор образца**
Простой и интуитивно понятный интерфейс обеспечивает полный контроль установок забора образца и критерии сохранения данных
- 8 Знакомые точечные графики и гистограммы**
Графики данных обновляются в режиме реального времени точно также как на традиционных проточных цитометрах. В отличие от традиционных цитометров, вы можете также получить графики морфологических данных, таких как площадь, высота клетки, ширина клетки, соотношение сторон и других

программное обеспечение INSPIRE®

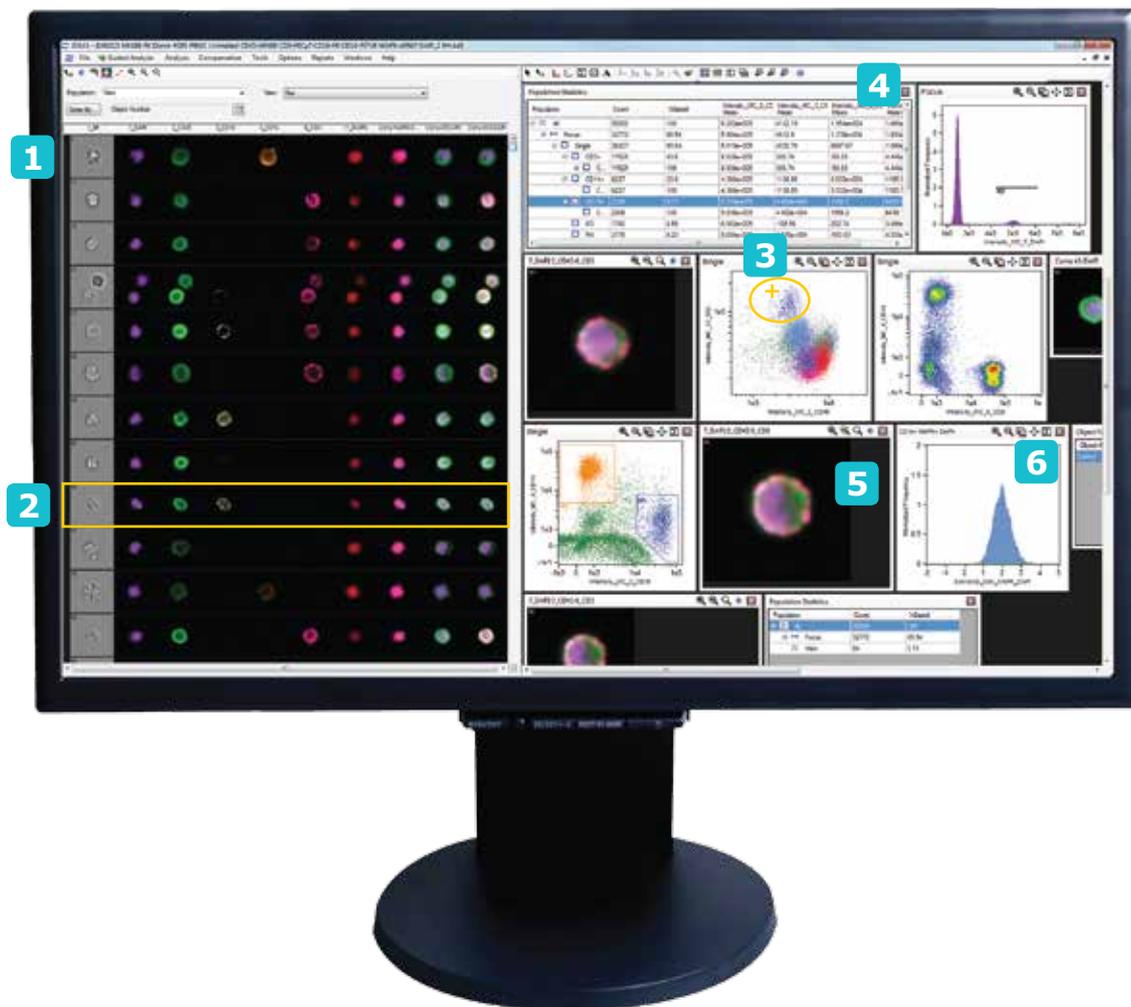


Интерфейс, который переводит данные в понимание

Легкий в использовании пакет программного обеспечения IDEAS® комбинирует анализ изображений, статистический анализ данных и визуальное подтверждение

- 1 Инспектируйте ваши популяции**
Галерея изображений позволяет вам увидеть изображение каждой клетки или даже осуществить «виртуальную сортировку клеток» в пределах специфической популяции
- 2 Изображения каждой точки**
Каждая точка на каждом графике связана с изображением клеток. Просто кликните на точке, чтобы увидеть ассоциированную клетку или наоборот.
- 3 Графическое определение популяций**
Вы можете определить популяции с использованием знакомых графических инструментов и комбинировать их с использованием логических функций
- 4 Современная популяционная статистика**
Вы можете охарактеризовать ваши клеточные популяции с помощью широкого спектра статистических методов, чтобы раскрыть различия в клеточной морфологии, фенотипах, и функции
- 5 Гибкие инструменты демонстрации изображений**
Вы можете открыть многоцветные изображения, псевдоцветные представления и множество других трансформаций изображений для публикаций
- 6 Получите график того, что вы видите**
Практически все, что вы видите в виде изображений может быть изображено в виде гистограмм или точечных графиков. Сотни параметров рассчитываются для каждой клетки, в том числе интенсивность флуоресценции, локализацию флуоресценции, форму клеток, текстуру клеток, а также множество других морфологических и фотометрических характеристик

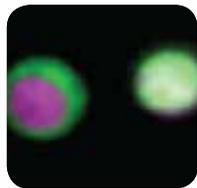
ИНТЕРФЕЙС IDEAS[®]



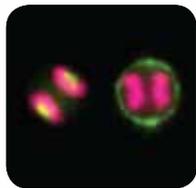
СЕМЕЙСТВО ПРИЛОЖЕНИЙ

Любое приложение, которое Вы только можете себе представить

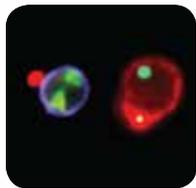




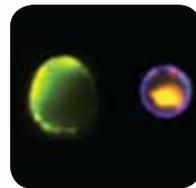
Клеточная сигнализация



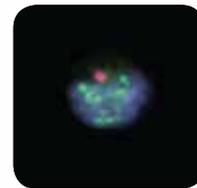
Клеточный цикл и митоз



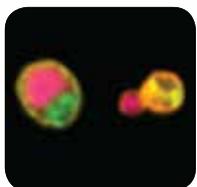
Интернализация и со-локализация



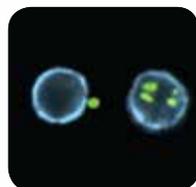
Поверхностная и внутриклеточная со-локализация



Повреждение и восстановление ДНК



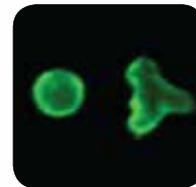
Биология стволовых клеток



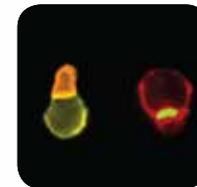
Микробиология



Межклеточные взаимодействия



Изменения формы и хемотаксис



Иммунологические синапсы



Подсчёт микроядер



Океанография



Паразитология

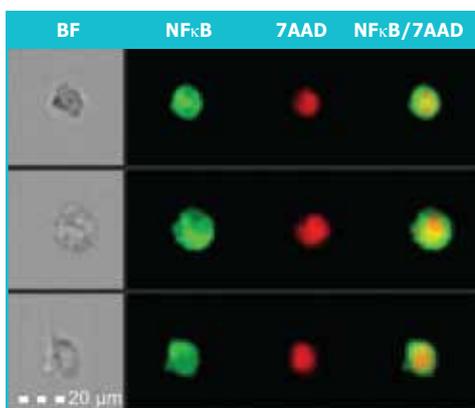
Известные приложения

Приложения, детализированные на последующих страницах демонстрируют типы исследований, которые могут быть осуществлены с использованием ImageStream[®]X Mark II и FlowSight[®] и их мощного компаньона - интерфейса IDEAS[®]

Любое приложение, которое вы можете себе представить

Системы ImageStream[®]X и FlowSight[®] разработаны, чтобы быть платформами общего назначения для клеточных исследований и не ограничены исследованиями, которые проиллюстрированы в данной брошюре

Анализ ядерной транслокации...



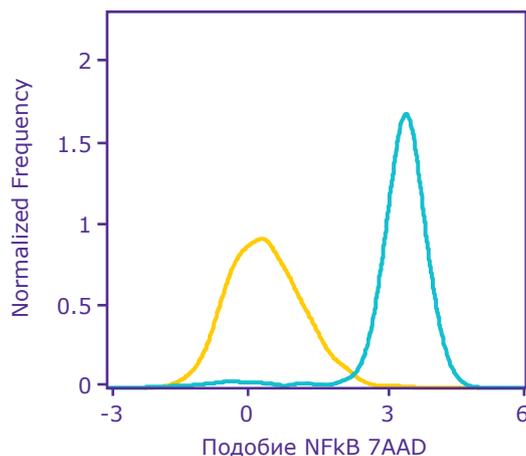
Контроль THP-1 (без LPS)
Средний индекс подобия = 0.4

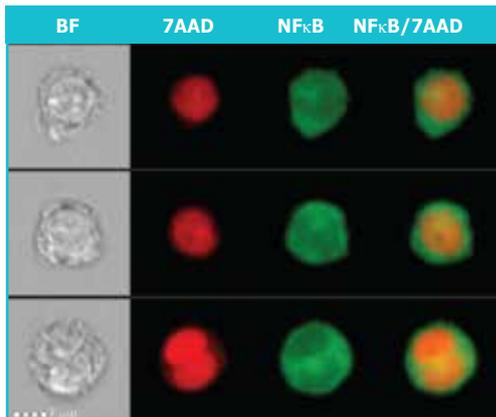


THP-1 + 1 мкг/мл LPS
Средний индекс подобия = 3.2

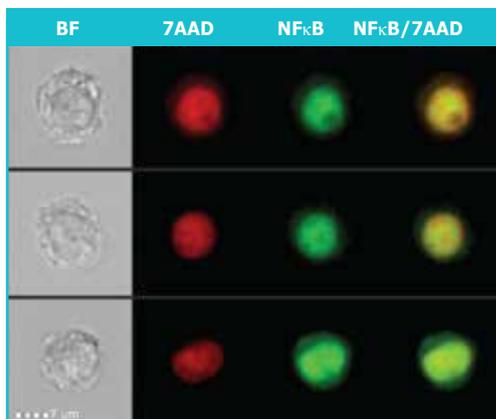
20-кратное разрешение расскажет историю

Транслокация NFκB от цитоплазмы к ядру клетки является ключевым событием в ответ на присутствие клеточных стрессоров. Только имаджинг проточные цитометры могут анализировать транслокацию количественно, на тысячах клеток. Для получения этих данных, 20-кратный объектив системы FlowSight® используется для локализации NFκB в отношении с флуоресценцией 7-AAD из ядра необработанных клеток THP-1 и клеток стимулированных липополисахаридом (LPS). Функция анализа по подобию интерфейса IDEAS® производит оценку для каждой клетки количественного определения колокализации NFκB и 7-AAD.





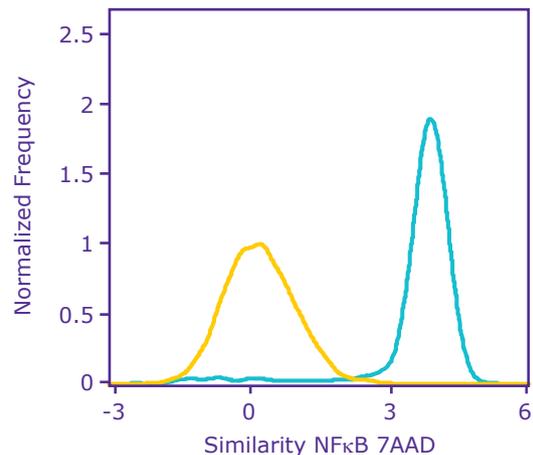
Контроль THP-1 (без LPS)
Средний индекс подобия = 0.2



Контроль THP-1 (без LPS)
Средний индекс подобия = 3.8

Более подробный взгляд на сигнализацию NFκB с 60-кратным увеличением

Здесь клетки THP-1 стимулировались с LPS и окрашивались анти-NFκB и 7-AAD для подсчёта окрашенных ядер, которые были проанализированы на системе ImageStream[®] с использованием 60X объектива. Функция анализа по подобию интерфейса IDEAS[®] демонстрирует биннинг образцов сопоставимый с гистограммами FlowSight[®] и устанавливает качество деталей, которое система tImageStream[®] может обеспечить для исследований, когда большая детализация является преимуществом.



...с подобием
флюоресцентных
изображений.

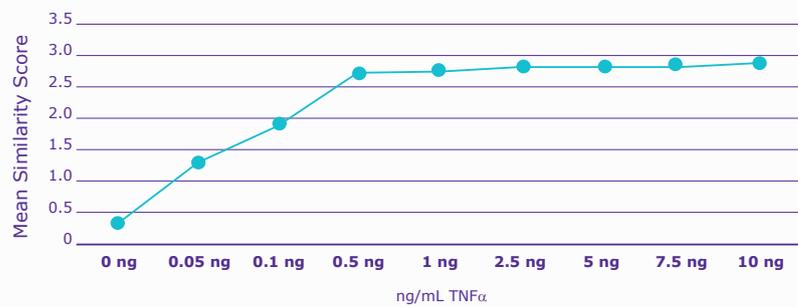
Спектральные каналы обработки изображений Amnis® и соответствующие им флюорофоры

| Лазер | Флюорофор | Ex | Em | ☼ | Флюорофор | Ex | Em | ☼ | Флюорофор | Ex | Em | ☼ | |
|---------------------------|------------------|---------|------------------|-----------|-------------------|----------|-----|-----------------|------------------|----------|---------|---|--|
| 375 (с установленным 405) | CH 1 | | | | CH 2 | | | | CH 3 | | | | |
| | Ch1/Ch9 BF *or* | | | | QD525 | 350-450 | 525 | 5 | eFluor565 NC | UV - 405 | 565 | 2 | |
| | AlexaFluo® 350 | 346 | 442 | 1 | | | | | QD565 | 350-450 | 565 | 5 | |
| | BV421™ | 405 | 421 | 5 | | | | | QD585 | 350-450 | 585 | 5 | |
| | Cascade Blue | 377 | 420 | 1 | | | | | | | | | |
| | DAPI | 345 | 461 | 1 | | | | | | | | | |
| | Hoechst | 352 | 455 | 1 | | | | | | | | | |
| | Pacific Blue | 410 | 455 | 1 | | | | | | | | | |
| 488 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | AlexaFluo® 488 | 496 | 514 | 3 | Cy3 | 514 | 566 | 1 | |
| | | | | | BODIPY FI | 503 | 512 | 3 | DSRed | 557 | 592 | 1 | |
| | | | | | DiO | 484 | 501 | | PE | 496,565 | 578 | 5 | |
| | | | | | DyLight™ 488 | 493 | 518 | 3 | RFP | 555 | 584 | 2 | |
| | | | | | FITC | 494 | 520 | 3 | | | | | |
| | | | | | GFP/EGFP | 475/488 | 509 | | | | | | |
| | | | | | LysoTracker Green | 504 | 511 | | | | | | |
| | | | | | MitoTracker Green | 490 | 516 | | | | | | |
| | | | | | PKH2 & PKH67 | 490 | 504 | | | | | | |
| | | | | | Rhodamine 110 | 496 | 520 | | | | | | |
| | | | | | SYBR® Green | 494 | 521 | | | | | | |
| | | | Syto13 (DNA/RNA) | 488D/491R | 509D/514R | | | | | | | | |
| | | | YFP | 514 | 527 | | | | | | | | |
| 561 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | | | | | AlexaFluo®546 | 556 | 573 | 5 | |
| | | | | | | | | | CellMask/Tracker | 522 | 535 | | |
| | | | | | | | | | DiI | 549 | 565 | | |
| | | | | | | | | | DSRed | 557 | 592 | 3 | |
| | | | | | | | | | DyLight™550 | 562 | 576 | 3 | |
| | | | | | | | | | Nile Red | 515-530 | 525-605 | | |
| | | | | | | | | | PE | 496,565 | 578 | 5 | |
| | | | | | | | | | PKH26 | 551 | 567 | | |
| 785 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | | | | Spectrum Orange | 559 | 588 | | | |
| | | | | | | | | Sytox Orange | 547 | 570 | | | |
| Ширина канала | 435-480 | | | | 480-560 | | | | 560-595 | | | | |
| Bandpass* | (457/45) | | | | (528/65) | | | | (577/35) | | | | |
| 375 (с установленным 405) | CH 7 | | | | CH 8 | | | | CH 9 | | | | |
| | AlexaFluo®350 | 346 | 442 | 1 | eFluor525 NC | UV - 405 | 525 | 1 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | |
| | BV421™ | 405 | 421 | 5 | QD525 | 350-450 | 525 | 5 | | | | | |
| | Cascade Blue | 377 | 420 | 1 | | | | | | | | | |
| | DAPI | 345 | 461 | 1 | | | | | | | | | |
| | Hoechst | 352 | 455 | 1 | | | | | | | | | |
| Pacific Blue | 410 | 455 | 1 | | | | | | | | | | |
| 405 | AlexaFluo®405 | 402 | 421 | 1 | AlexaFluo®430 | 434 | 541 | 1 | | | | | |
| | BV421® | 405 | 421 | 5 | BV510™ | 405 | 510 | 3 | | | | | |
| | Cascade Blue | 377 | 420 | 1 | Cascade Yellow | 402 | 545 | 1 | | | | | |
| | CFP | 435 | 485 | 2 | Pacific Orange | 410 | 551 | 1 | | | | | |
| | DAPI | 345 | 461 | 1 | Pacific Orange | 410 | 551 | 1 | | | | | |
| | DyLight™405 | 400 | 420 | 1 | QD525 | 350-450 | 525 | 5 | | | | | |
| | Hoescht | 352 | 455 | 1 | | | | | | | | | |
| | LIVE/DEAD Violet | 416 | 451 | | | | | | | | | | |
| Pac Blue | 410 | 455 | 1 | | | | | | | | | | |
| 592 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| 642 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| 730 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| 785 | СВЕТЛОПОЛЬНЫЙ | | | | | | | | | | | | |
| Ширина канала | | 435-505 | | | | 505-570 | | | | 570-595 | | | |
| Bandpass* | (457/45) | | | | (537/65) | | | | (582/25) | | | | |

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ИМАДЖИНГ И НАДЕЖНАЯ ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТАТИСТИКА

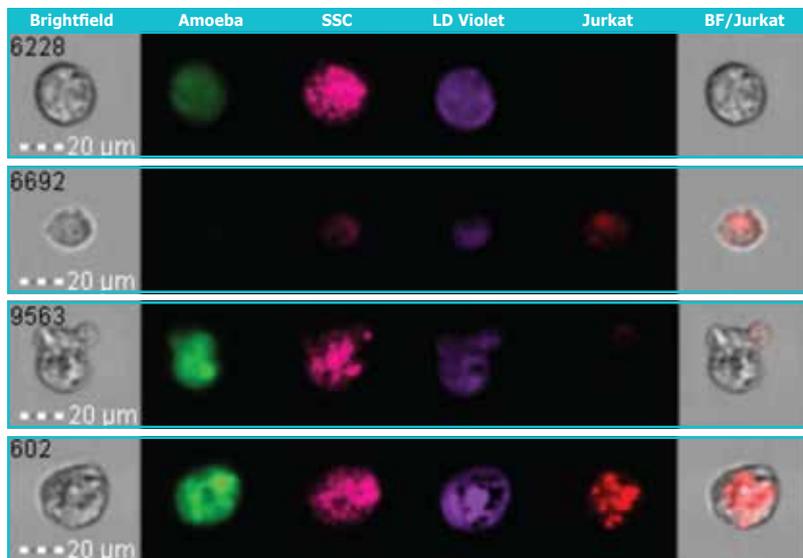


Количественный анализ изображений означает мощный и интуитивно-понятный процессинг-пакет с использованием тысяч параметров и оптимизированными мастерами анализа для многих общих приложений на основе изображений, включая ядерную транслокацию, изменение формы клеток, интернализацию и апоптоз. Объективный количественный анализ изображений на большом количестве клеток поддерживается большим набором статистических параметров для получения правильных результатов.



| File | Count All | Count Focus | Count Singles | Count Positive | Mean Similarity | Std Dev Similarity |
|------------------------|-----------|-------------|---------------|----------------|-----------------|--------------------|
| TNFa_0ng_2_2016.daf | 10000 | 4903 | 4265 | 3740 | 0.34 | 0.71 |
| TNFa_0-05ng_3_2016.daf | 10000 | 4621 | 4060 | 3635 | 1.28 | 0.81 |
| TNFa_0-1ng_4_2016.daf | 10000 | 4280 | 3739 | 3365 | 1.90 | 0.82 |
| TNFa_0-5ng_5_2016.daf | 10000 | 4861 | 4167 | 3516 | 2.68 | 0.66 |
| TNFa_1ng_6_2016.daf | 10000 | 3811 | 3311 | 2910 | 2.72 | 0.63 |
| TNFa_2-5ng_7_2016.daf | 10000 | 3893 | 3425 | 3070 | 2.72 | 0.58 |
| TNFa_5ng_8_2016.daf | 10000 | 4162 | 3685 | 3180 | 2.72 | 0.52 |
| TNFa_7-5ng_9_2016.daf | 10000 | 4361 | 3782 | 3387 | 2.81 | 0.58 |
| TNFa_10ng_10_2016.daf | 10000 | 4005 | 3456 | 2988 | 2.81 | 0.55 |

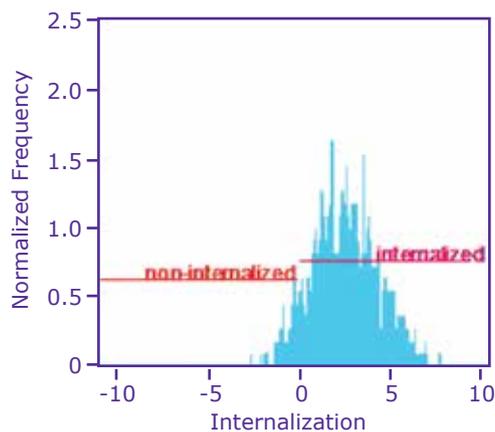
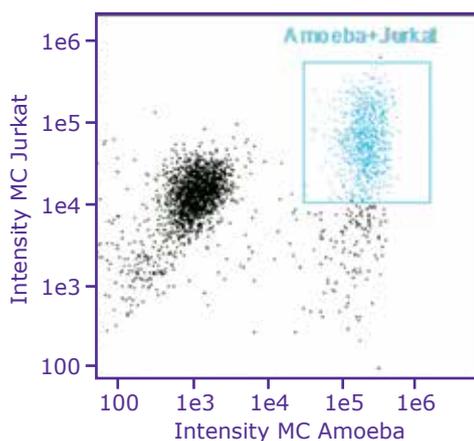
Интернализация идентифицирует трофоцитоз



20-кратный объектив для более широкого поля зрения

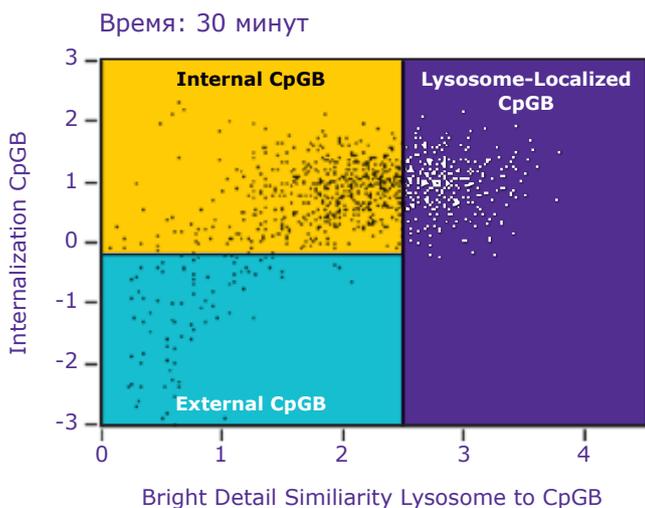
Система FlowSight® оптимизирована для анализа больших объектов, таких как эпителиальные клетки, макрофаги, нейтрофилы, фибробласты и даже большие эукариотические паразиты. В данном случае, *Entamoeba histolytica* демонстрирует амёбный трофоцитоз иммунных клеток. После прикрепления к клеткам Jurkat, система FlowSight® измеряет каждую *E. histolytica* экспрессирующую интернализированные или поверхностные маркеры Jurkat.

Данные получены Dr. Katherine Ralston, UC Davis.



Со-локализация и траффикинг

Система ImageStream[®] Mark II великолепно расширяет исследования со-локализации путём комбинирования быстрого сбора большого количества изображений клеток с объективным измерением подобия ярких деталей изображений.



Пример:
Интернализация и траффикинг CpGB в первичных плазматических дендритных клетках (pDC)



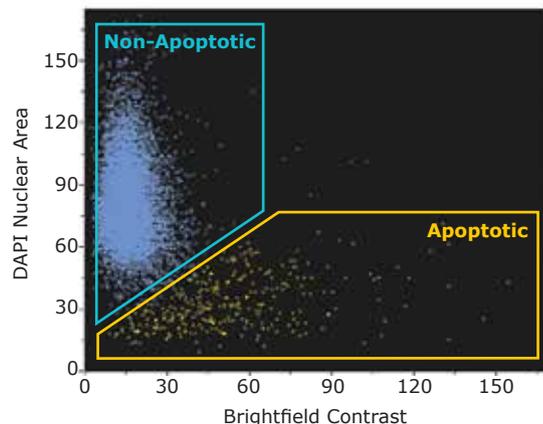
Лизосомальный траффикинг CpGB в пределах pDC подсчитан с использованием индексов интернализации (ось Y) и подобия ярких деталей (ось X). Представлены слившиеся изображения pDC (оранжевые), CpGB (красные) и лизосом (зеленые) при 40-кратном увеличении. Клетки в пределах нижнего левого региона точечного графика имеют связанные с поверхностью CpGB. В тоже время молекулы CpGB проникшие внутрь pDC, повышают индекс интернализации (верхний левый регион). После перемещения CpGB к лизосомам, подобие между изображениями CpGB и лизосом увеличивается (верхний правый регион).

Данные получены Dr. Patricia Fitzgerald-Bocarsly, University of Medicine and Dentistry, New Jersey.

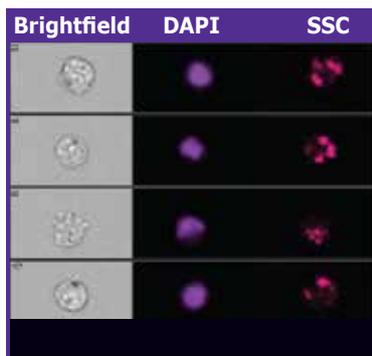
Апоптоз и некроз

Детекция апоптоза и некроза с помощью анализа изображений

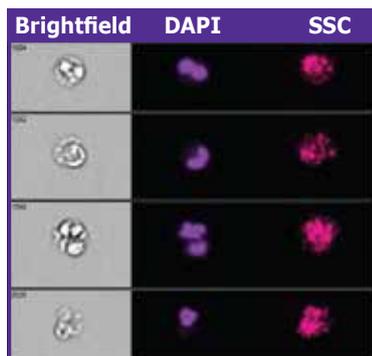
Мастер анализа апоптоза позволяет анализировать ядерную морфологию и светлопольные контрастные изображения каждой клетки для детекции апоптоза в каждом образце, содержащем ядерный краситель. Дифференцирование некротических и апоптотических клеток друг от друга осуществляется с помощью PI изображений



жизнеспособные



апоптотические

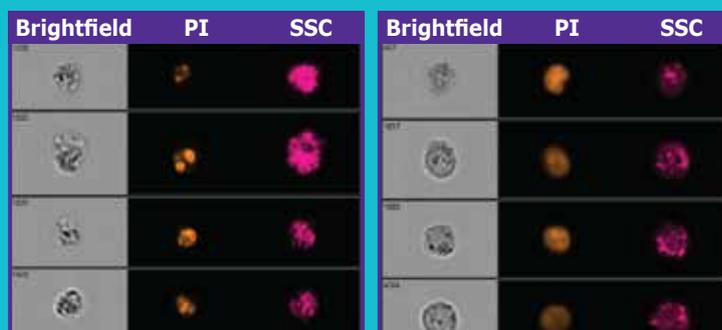


Некроз против апоптоза

Традиционные проточные цитометры могут использовать непроницаемые для мембран красители, которые помогают идентифицировать мёртвые или умирающие клетки на основе потери ими целостности мембран. Однако, бывает трудно определить, погибла ли клетка в результате апоптоза или некроза. Система FlowSight® упрощает такое определение путём раскрытия ядерной морфологии каждой клетки. Как показано в этом примере, клетки THP-1, помеченные йодистым пропидием, ядра некротических клеток имеют нормальную морфологию, в то же время ядра апоптотических клеток - сморщены и фрагментированы.

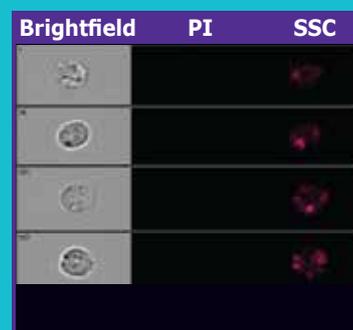
PI позитивные

апоптотические клетки некротические клетки



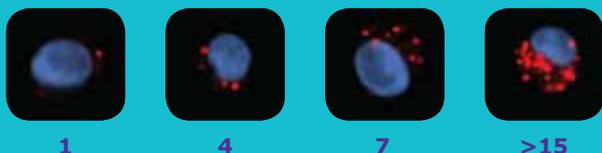
PI негативные

живые клетки



Аутофагия

Во время аутофагии, цитоплазматические LC3 обрабатываются и рекрутируются к внешней мембране аутофагосом. Клетки, подвергшиеся аутофагии могут быть идентифицированы путём визуализации точек LC3 и подсчёта спотов в пределах каждой клетки с использованием функции подсчёта спотов в интерфейсе программного пакета IDEAS®:

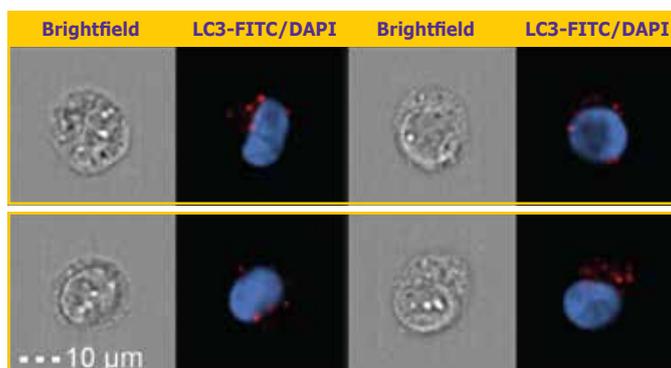
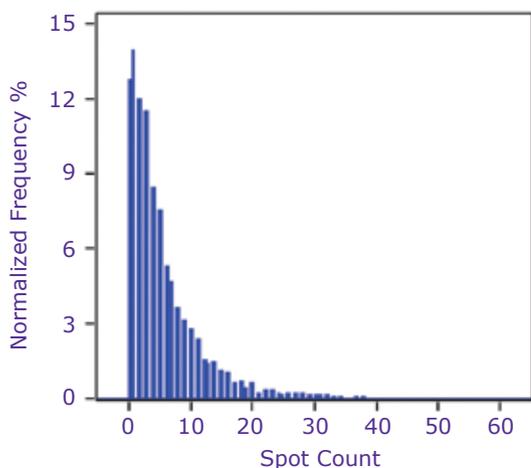


Оценка числа спотов

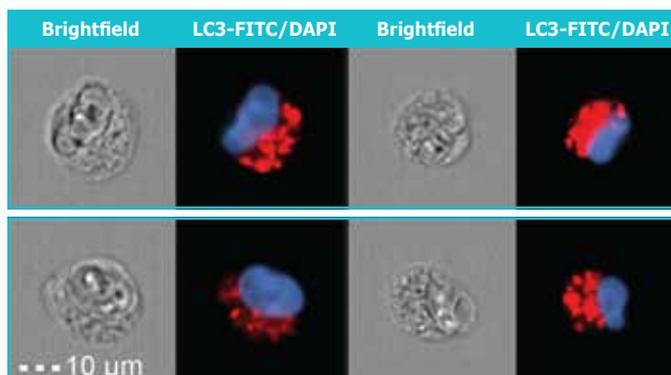
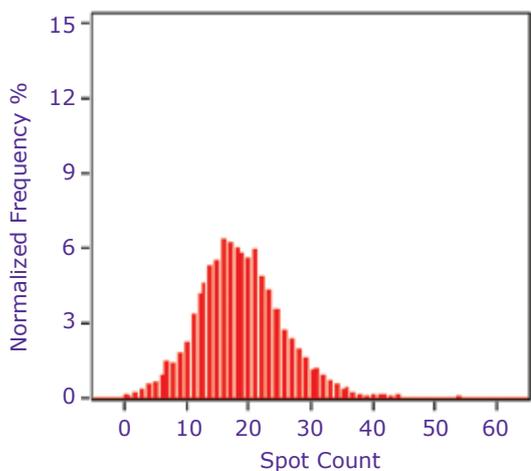
Интерфейс процессинга изображений IDEAS®, включенный в систему ImageStream® Mark II, детерминирует подсчёт спотов в каждой клетке. В этом примере, клетки с варьирующим количеством LC3-RFP (красный) спотов показаны с их соответствующим числом спотов

Пример: Аутофагия в клетках СМЛ человека, клеточная линия K562

Необработанный контроль



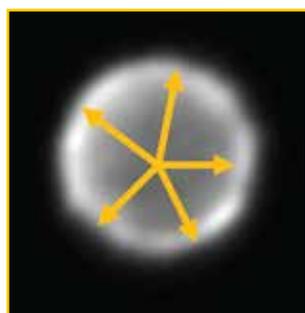
Стимулированные голодом



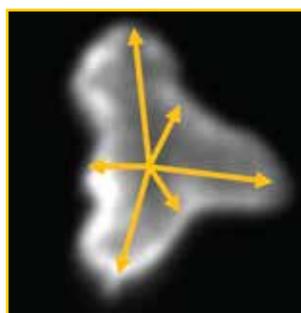
U2OS RFP-LC3 клетки репортерной клеточной линии остеосаркомы человека стимулировали голоданием 4 часа при 37°C. И к контролю, и голодавшим клеткам были добавлены деградирующие ингибиторы. Merck FlowCollect® RFP-LC3 Reporter Autophagy kit (Кат. No. FCCH100183).

Морфология

Изменение формы клеток коррелирует с изменением функции, в частности в случае макрофагальной активации, дифференцировки стволовых клеток и клеточного ответа на действие лекарств. Система ImageStream[®]X Mark II измеряет изменение формы с использованием мощного инструмента в интерфейсе программного обеспечения IDEAS[®]. Одной из таких функций является оценка циркулярности.



23.8

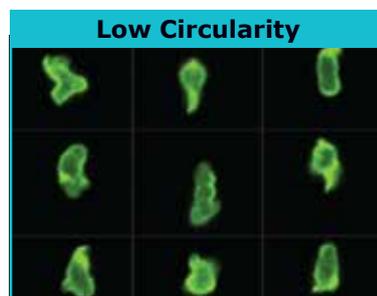
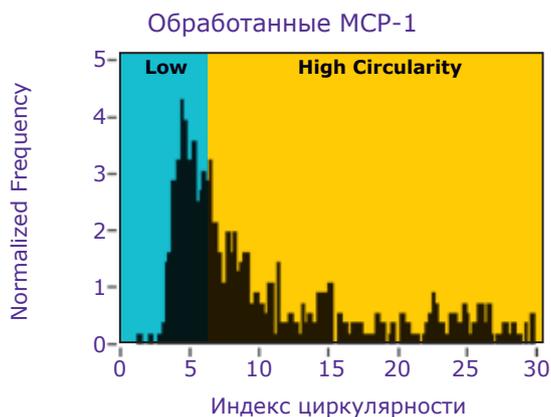
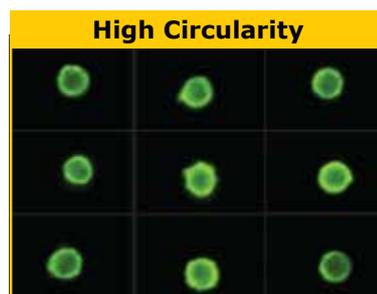
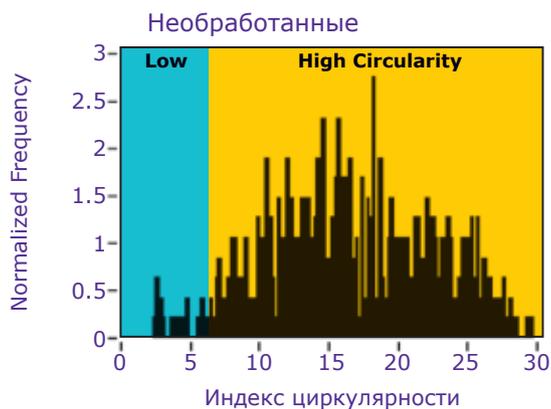


4.6

Индекс циркулярности

Индекс циркулярности измеряет как сильно варьирует радиус клетки. Круглые клетки (слева) имеют высокий индекс циркулярности, в то же время, клетки нерегулярной формы (справа) имеют низкий индекс циркулярности.

Пример: изменение формы первичных моноцитов

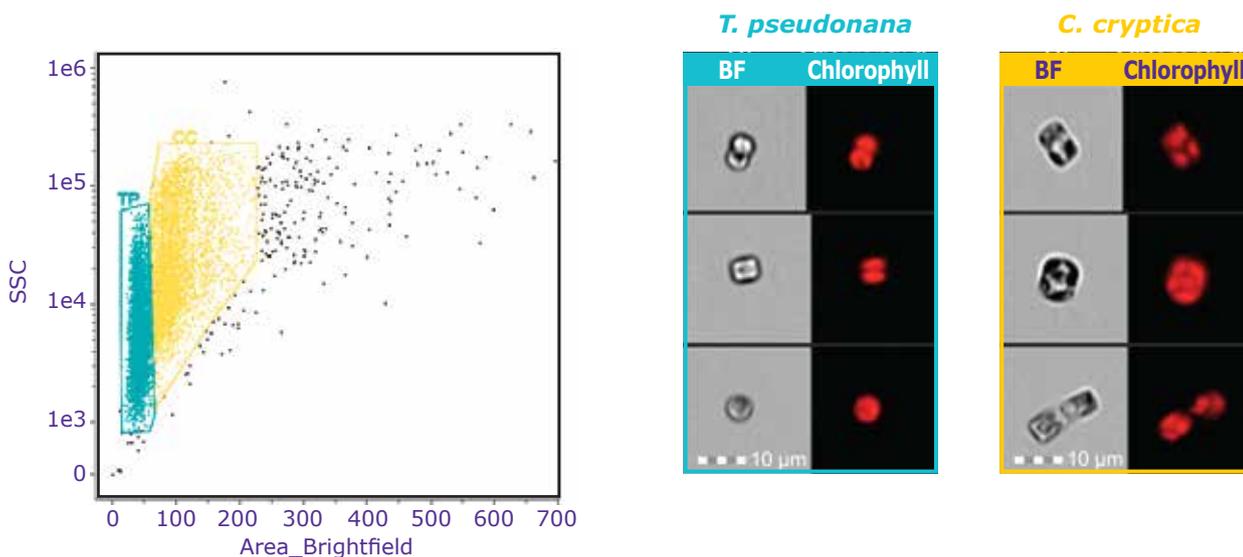


Хемоаттрактант MCP-1 индуцирует изменение формы моноцитов и миграцию к месту воспаления, которое, совершенно очевидно, значительно уменьшает индекс циркулярности обработанных MCP-1 образцов относительно необработанных контролей. В противоположность этому, компаунды, которые уменьшают воспалительный ответ, такие как лекарства для лечения аутоиммунных нарушений - приводят к увеличению индекса циркулярности.

Микроводоросли

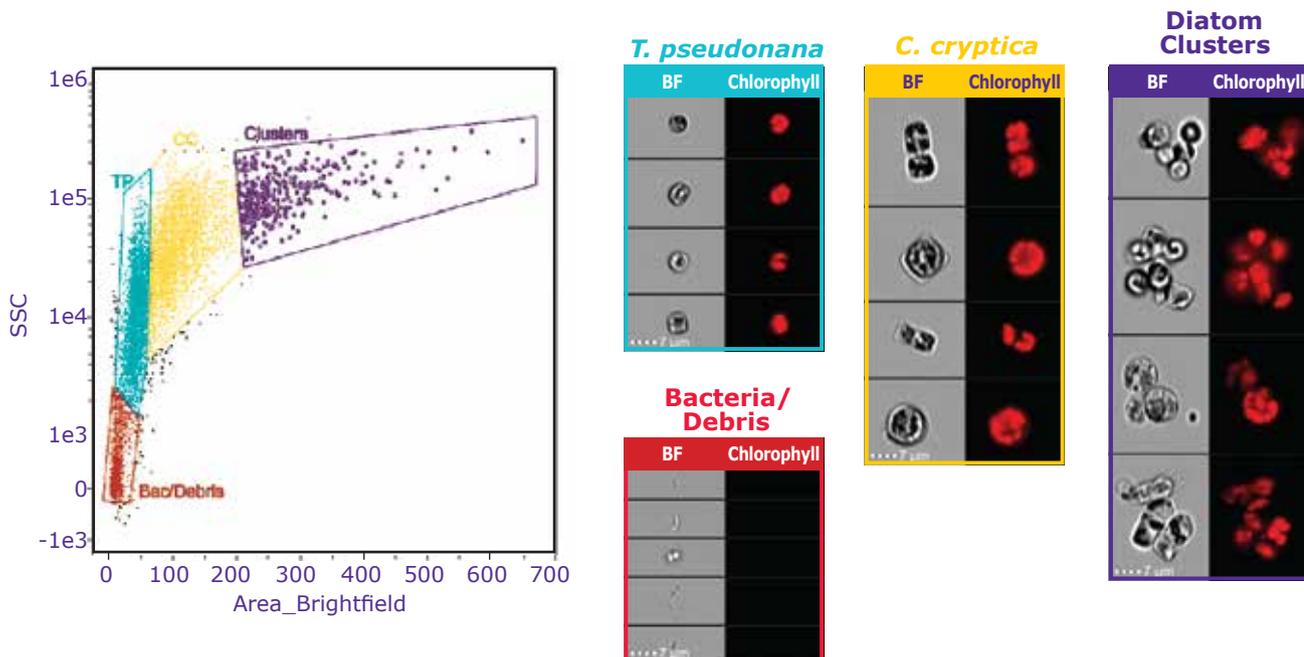
Смешанная культура микроводорослей

Идентификация микроводорослей в смешанной культуре с использованием морфологических параметров и системы ImageStream[®] MK II при 40-кратном увеличении

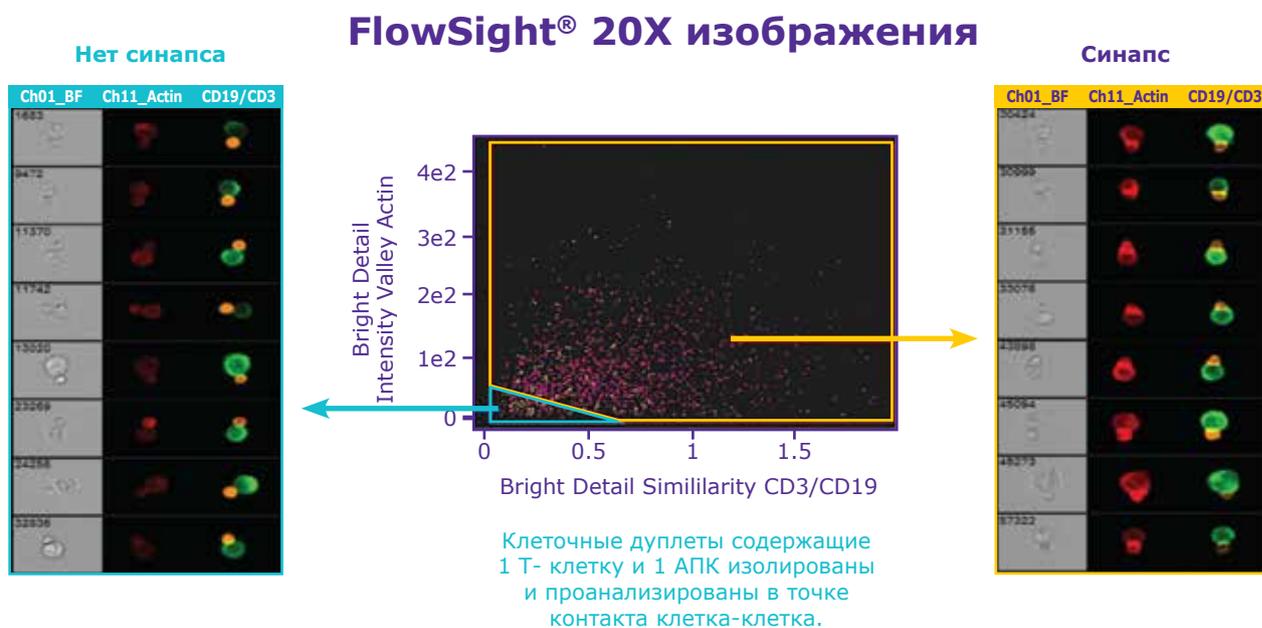


Контроль качества микроводорослей

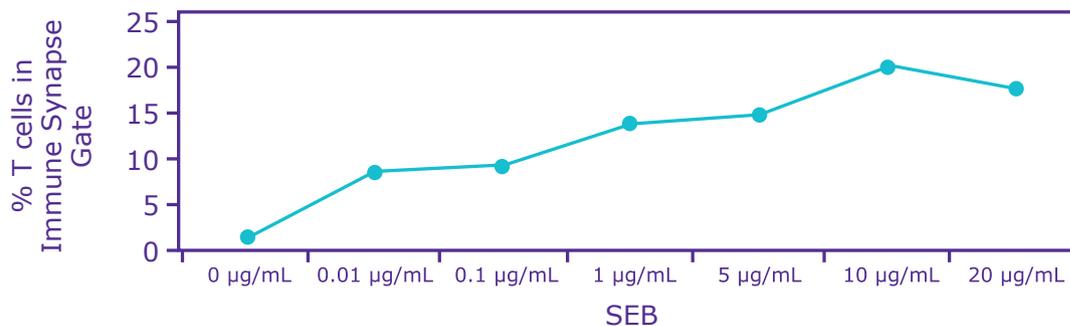
Детекция бактериальной контаминации, клеточного дебриса и кластеров в смешанной культуре микроводорослей. Смешанная культура *T. pseudonana* и *C. cryptica* контаминированных бактериями была проанализирована на ImageStream[®] Mark II при 60-кратном увеличении



Наиболее существенные клеточные взаимодействия в иммунологическом синапсе



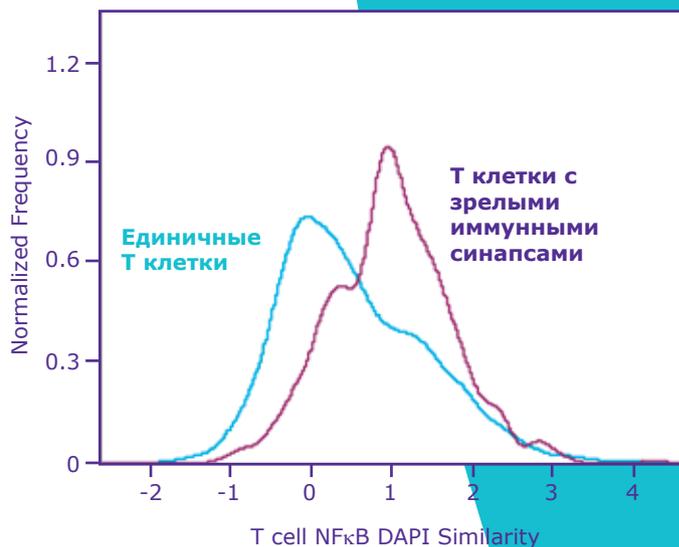
Кривая дозозависимого ответа к SEB



Клетки лимфомы Беркита человека Raji были подвержены воздействию SEB (0-20 мкг/мл) и инкубированы с первичными Т- клетками человека

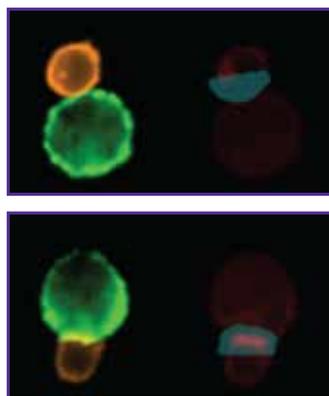
Анализируйте дальше с более высоким разрешением

- Т:АПС конъюгаты легко идентифицируются с использованием морфологических характеристик
- Точка межклеточного контакта идентифицируется с помощью маски (бирюзовое наложение)
- Аккумуляция актина в пределах маски подтверждает формирование иммунологического синапса
- Все Т-клетки затем идентифицируются, либо в конъюгате, либо нет.
- Транслокация NFκB измеряется в клетках специфично.

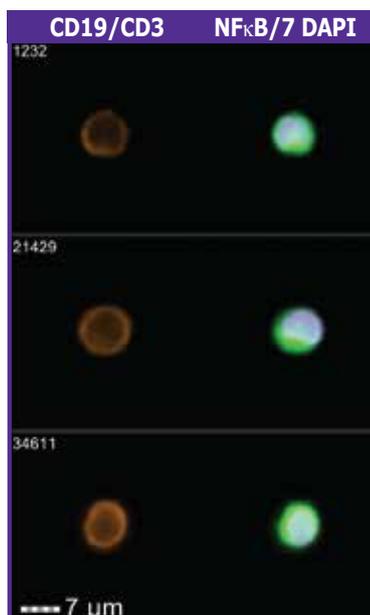


ImageStream[®]X 60X изображения

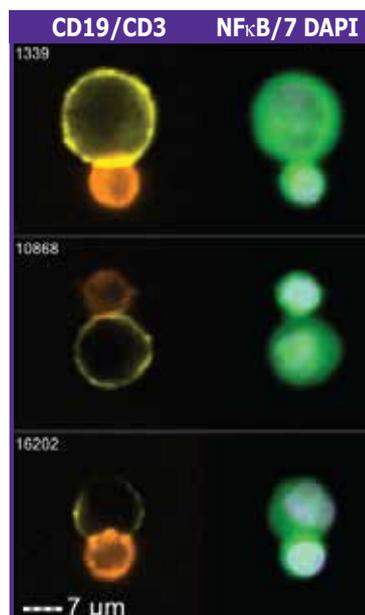
Маска наложения (бирюзовая) показывает идентификацию синапса



Единичные Т клетки



Т клетки: АРС



Модульные опции для FlowSight® ImageStream®X MKII



Дополнительные возбуждающие лазеры

Синий 488 нм лазер является базовым и для FlowSight® и для ImageStream®X MKII. Добавление возбуждающих лазеров повышает экспериментальную гибкость, расширяя палитру флуоресцентных маркеров. Для всех лазеров параметр интенсивности регулируется для облегчения развития протоколов.



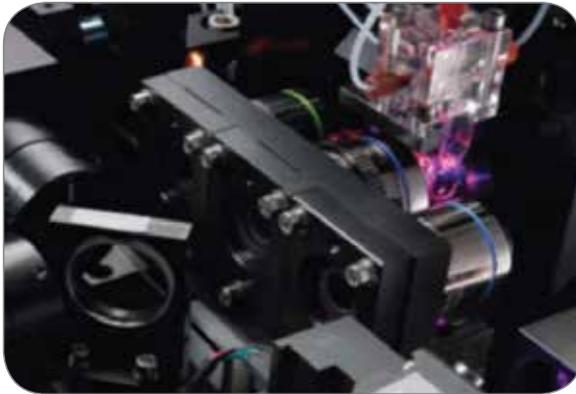
12 каналов детекции

До 12 каналов изображений доступны с добавлением опциональной камеры и ассоциированной оптикой для системы ImageStream®X. Для системы FlowSight® 12 каналов находятся в базовой конфигурации



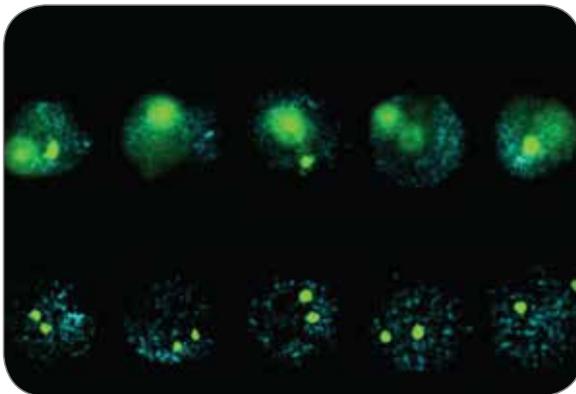
Автосэмплер для многолуночных планшетов

Опция автосэмплера повышает производительность системы с возможностью загрузки образца из 96-луночных планшетов. Полностью интегрированная опция автосэмплера облегчает дозо- и время зависимые исследования.



Опция MultiMag

Опция MultiMag для системы ImageStream[®]x MKII обеспечивает 60- и 20-кратные объективы на моторизованной основе, в дополнение к стандартному 40-кратному объективу. 60-кратный объектив предлагает более высокое разрешение для морфологического анализа клеток, а также малых объектов, дрожжей, бактерий, в то же время, 20-кратный объектив предлагает поле зрения в 120 микрон для очень больших клеток



EDF: опция расширенной глубины поля

Опция EDF™ инкорпорирует технологию WavefrontCoding™ от CDM Optics, которая является комбинацией специализированной оптики и уникальных алгоритмов обработки изображений, чтобы проецировать все структуры в пределах клетки в одну чёткую плоскость фокуса. Идеально для автоматического подсчета FISH спотов

| Опция | FlowSight [®] | ImageStream [®] x MKII |
|-------------------------------------|-------------------------------------|---|
| Дополнительные лазеры | СТАНДАРТ 488 ОПЦИЯ 405, 561, 642 | СТАНДАРТ 488 ОПЦИЯ ВЫСОКОМОЩНЫЕ 488, 375, 405, 561, 592, 642, 730 |
| 12 каналов детекции | СТАНДАРТ | 6 СТАНДАРТНЫХ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ 12 КАНАЛОВ - ОПЦИЯ |
| Автосэмплер | 96 ЛУНОЧНЫЙ ПЛАНШЕТ | 96 ЛУНОЧНЫЙ ПЛАНШЕТ |
| MultiMag | НЕ ДОСТУПНА | 40X СТАНДАРТ, 20X + 60X ОПЦИЯ |
| EDF: Extended Depth of Field | НЕ ДОСТУПНА | ДОСТУПНА |

Прогрессивный инжиниринг...

Спецификации FlowSight®

| Характеристик и производительности | Увеличение |
|------------------------------------|------------------|
| | 20x |
| Числовая апертура | 0.6 |
| Размер пикселя | 1.0 x 1.0 мкм |
| Поле зрения | 60 x 256 мкм |
| Скорость имаджинга | 4,000 клеток/сек |

Характеристики образца

Объём: 20-200 мкл

Эффективность использования: до 95% образца

Автоматические процедуры

- Старт и выключение
- Загрузка образца и аквизиция
- Выравнивание лазера, выравнивание фокуса, калибровка и самодиагностика

Операционные требования

400 Вт, 100-240 В переменного тока, 50/60 Гц
Нет необходимости во внешнем газе или воде

Физические характеристики

- 457 мм x 465 мм x 635 мм
- 161 кг

Лазеры:

Возбуждающий – базовый: 488 нм;

Опциональные: 405 нм, 561 нм и 642 нм

Боковое светорассеяние – 785 нм базовый

Светлопольный – мультисканальный



...расширяет производительность



ImageStream^{®X} Mark II спецификации:

| Характеристики производительности | Увеличение | | |
|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 40x | 60x | 20x |
| Числовая апертура | 0.75 | 0.9 | 0.5 |
| Размер пикселя | 0.5 x 0.5 мкм | 0.3 x 0.3 мкм | 1.0 x 1.0 мкм |
| Поле зрения | 60 x 128 мкм | 40 x 170 мкм | 120 x 256 мкм |
| Скорость имаджинга | 2,000 клеток/сек | 1,200 клеток/сек | 4,000 клеток/сек |

Характеристики образца

Объём: 20-200 мкл

Эффективность использования: до 95% образца

Физические характеристики

- 889 мм x 660 мм x 635 мм
- 182 кг

Автоматические процедуры

- Старт и выключение
- Загрузка образца и аквизиция
- Выравнивание лазера, выравнивание фокуса, калибровка и самодиагностика

Лазеры:

Возбуждение – базовый: 488 нм;
Опциональные: высокомощный 488, 375 нм, 405 нм, 561 нм, 592 нм, 642 нм и 730 нм
Боковое светорассеяние – 785 нм базовый
Светлопольный – мультисканальный

Операционные требования

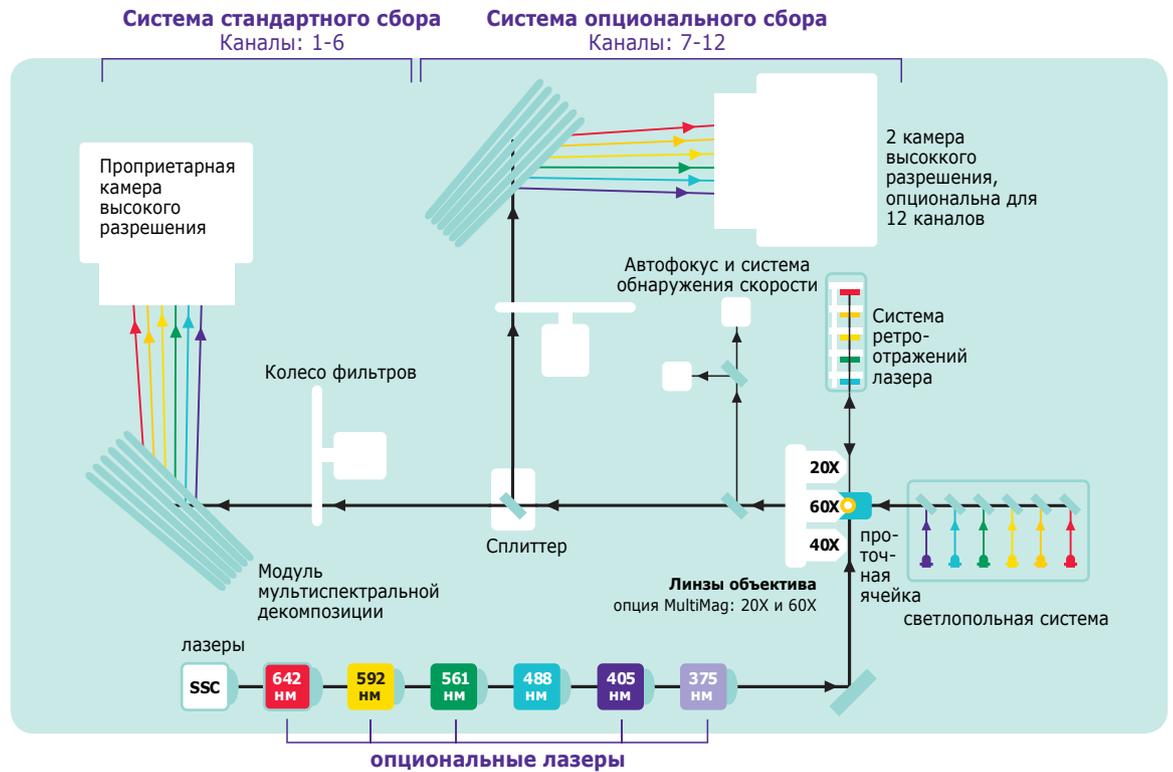
- 450 Вт, 100-240 В переменного тока, 50/60 Гц Нет необходимости во внешнем газе или воде

Путь к научному просвещению

проходит через элемент спектральной декомпозиции Amnis®, который позволяет осуществлять одновременный сбор данных от светопольных каналов, бокового скаттер-лазера и множественных флуоресцентных изображений на клетку.

ImageStream®X

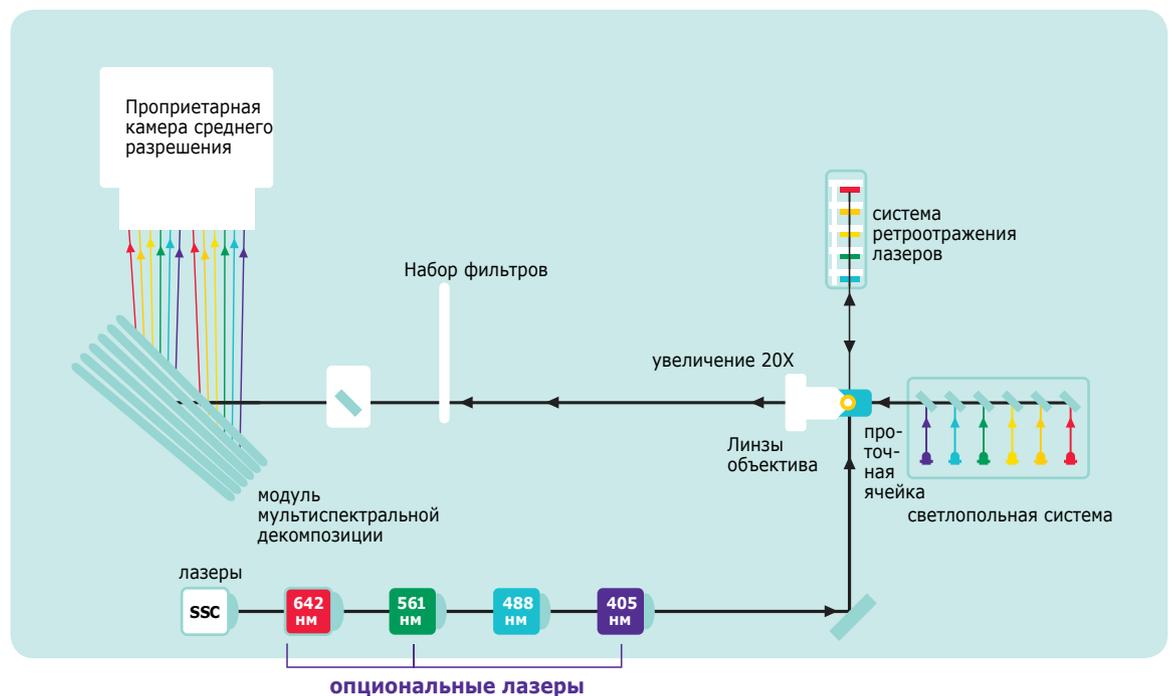
Оптическая схема



**SSC: лазер бокового светорассеяния, 785 нм

FlowSight®

Оптическая схема



Информация для заказа

| Описание | Каталожный No. |
|---|----------------|
| Приборы | |
| FlowSight® Flow Cytometer | 100370 |
| ImageStream®X Mark II Flow Cytometer | 100220 |
| Реагенты | |
| SpeedBeads | 400041 |
| FlowSight® Calibration Beads | 400300 |
| Наборы | |
| Amnis® NFκB Translocation Kit | ACS10000 |
| Amnis® Protein Aggregate and Silicone Oil Detection Kit | APH10001 |
| Amnis® Intracellular Staining Kit | ACS10002 |



ООО «Диаэм»

www.dia-m.ru

Москва
ул. Магаданская, 7/3
тел./факс:
(495) 747-0508
sales@dia-m.ru

Новосибирск
пр. Акад.
Лаврентьева, 6/1
тел./факс:
(383) 328-0048
nsk@dia-m.ru

Казань
ул. Парижской
Коммуны, д. 6
тел./факс:
(843) 210-2080
kazan@dia-m.ru

Санкт-Петербург
ул. Профессора
Попова, 23
тел./факс:
(812) 372-6040
spb@dia-m.ru

Ростов-на-Дону
пер. Семашко, 114
тел./факс:
(863) 250-0006
rmd@dia-m.ru

Пермь
Представитель
в УФО
тел./факс:
(342) 202-2239
perm@dia-m.ru

Воронеж
тел./факс:
(473) 232-4412
voronezh@dia-m.ru