

# 接近自然状态的样品成像



## 蔡司冷冻光电关联解决方案

冷冻透射薄片样品制备和冷冻体积成像解决方案

[zeiss.com/cryo](http://zeiss.com/cryo)



Seeing beyond

# 冷冻透射薄片样品制备和冷冻体积成像解决方案

- 简介

- 优势

- 应用

- 系统

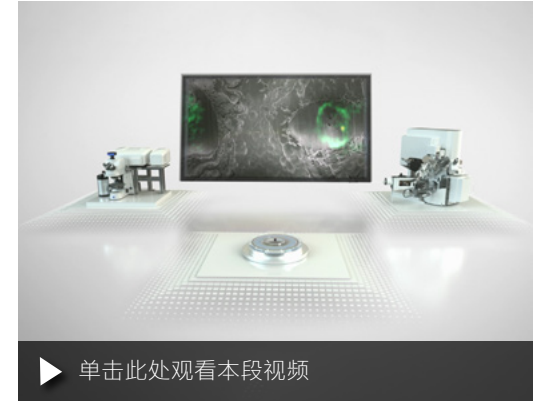
- 技术参数

- 售后服务

冷冻电镜是一项新兴技术，用于对细胞环境中的大分子进行结构分析。由于可以无伪影地保存细胞和组织的超微结构，且细胞过程是瞬间静止的，所以冷冻电镜技术可以检查接近原生状态的细胞结构。使用光学和电子显微技术对玻璃化样品进行成像，每一项技术都能呈现不同的信息。冷冻电镜同时带来了挑战，例如耗时的准备和成像程序、脱玻璃化作用、冰污染或样品损耗——如果用户希望关联多个成像模式中的数据，则面临更大的挑战。

蔡司冷冻关联工作流程通过简单易用的步骤，将宽场、激光共聚焦和聚焦离子束扫描电镜连接起来，借此来克服这些挑战。这一解决方案对冷冻关联工作流程中的软硬件优化，从荧光定位到高衬度三维结构成像以及低温电子断层扫描的 TEM 薄片样品制备。

与其它解决方案不同的是，构成这一工作流程的仪器既可以用于低温又可以用于室温应用。这让蔡司冷冻关联解决方案提高仪器使用率，是核心成像设备的理想之选。



蔡司冷冻关联工作流程



# 更简单、更智能、更高度集成

- › 简介
- › **优势**
- › 应用
- › 系统
- › 技术参数
- › 售后服务

## 简化的工作流程，帮助您专注于研究

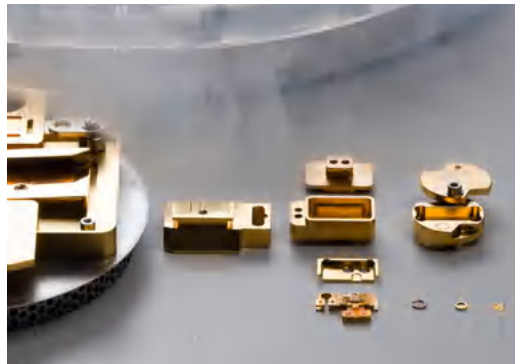
为了研究生物样品的完整超微结构，需要在整个实验过程中保持其玻璃化状态。蔡司冷冻关联工作流程让您掌握低温条件下具有挑战性的不同成像模式组合。这一解决方案将光学和电子显微镜连接了起来，实现了冷冻三维结构成像和冷冻 TEM 薄片的高效生产。专用配件简化了工作流程，方便冷冻样品在显微镜之间的安全转移。数据管理由蔡司关联显微软件 ZEN Connect 来保障，该软件可以让您对整个工作流程的数据都了如指掌。一系列处理工具帮助您增强成像结果

## 出色的光学部件为您提供高质量的数据

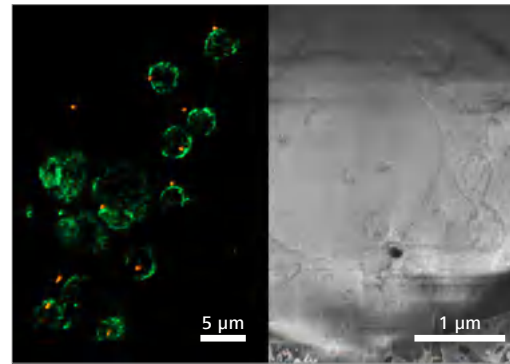
对玻璃化样品进行成像是具有挑战性的，因此，具有极高可靠度的成像模式十分重要。借助于兼容低温物镜和 Airyscan 探测器的高灵敏度，蔡司 LSM 系统让您能够以高分辨率检测蛋白质和细胞结构，同时温和的激光和恒定低温防止您的样品产生脱玻璃化作用。蔡司 Crossbeam 可以让您享受高衬度的体积成像——即使不对您的样品进行重金属染色。这两种模式都提供了宝贵的功能和结构信息，无论您是否跟进后续的 TEM 研究，都可以让您对超微结构有全面的了解。

## 多功能解决方案，保持您成像设备的效率

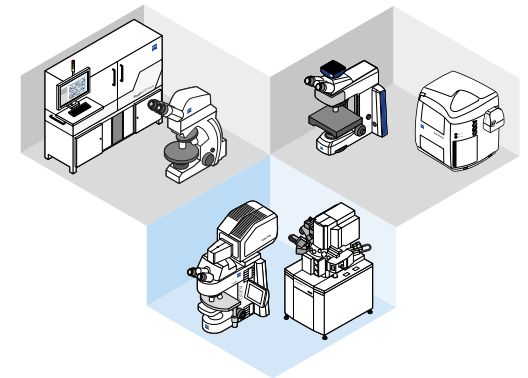
与其它解决方案不同的是，工作流程中所涉及的蔡司显微镜不仅可以用于低温，还可以用于室温应用，这在显微镜并非完全只用于低温实验时尤为有利。这展现了蔡司显微镜适用于其它广泛应用的高质量成像优势。用户很快便能将仪器从低温切换到室温使用，也不需要专业技术知识。这种灵活性让用户有更多的时间进行实验。成像设备可以让您获得更高的利用率和更快的投资回报。节省下来的资金可以投资到其它技术上。



蔡司冷冻配件工具包的组件。



双重标记酵母细胞 (CNM67-tdTomato 和 NUP-GFP)。LSM 图像 (左) 和 Crossbeam 图像 (右)。样品由瑞士苏黎世联邦理工学院的 M. Pilhofer 提供。



# 洞察产品背后的科技

简介

优势

应用

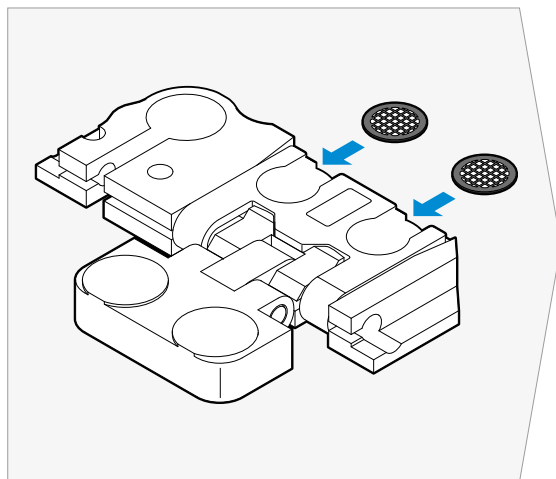
系统

技术参数

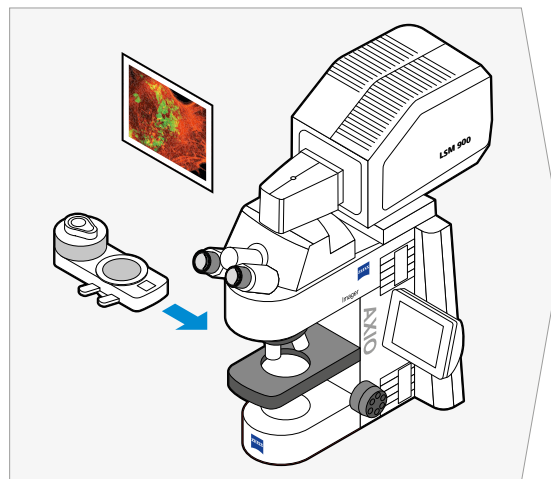
售后服务

## 蔡司冷冻关联工作流程概览

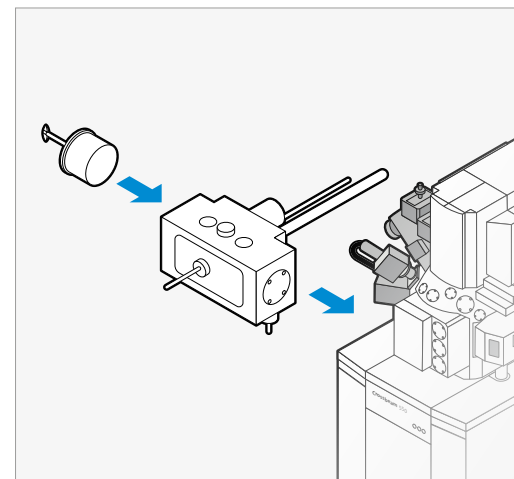
### 1. 样品装载 (冷冻关联夹)



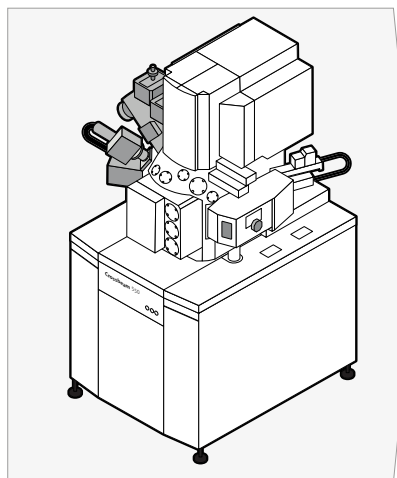
### 2. Cryo-LM (Axio Imager, 带 Airyscan 的 LSM)



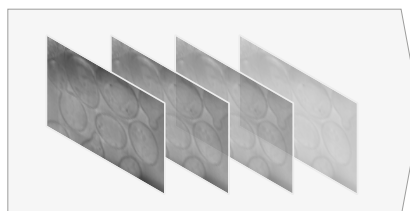
### 3. 样品转移至 FIB-SEM



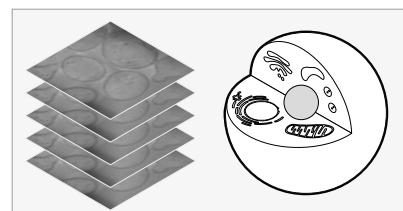
### 4. Cryo-FIB-SEM (Crossbeam)



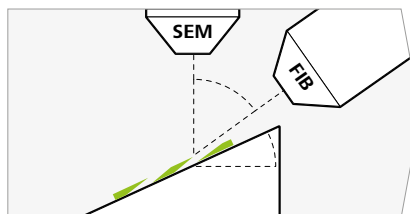
#### 4a. 三维体积成像



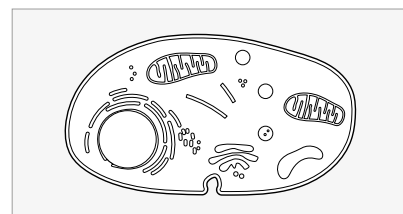
#### 5a. 图像处理



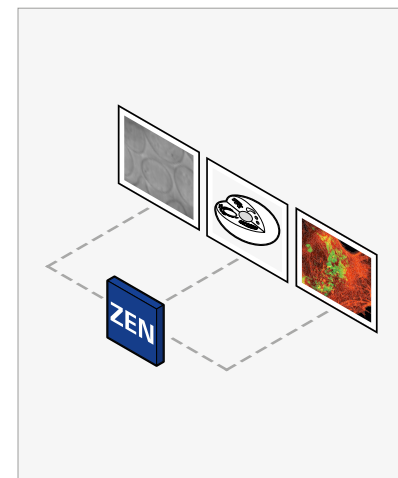
#### 4b. TEM 薄片制备



#### 5b. Cryo-TEM



### 6. 可视化





## 洞察产品背后的科技

› 简介

› **优势**

› 应用

› 系统

› 技术参数

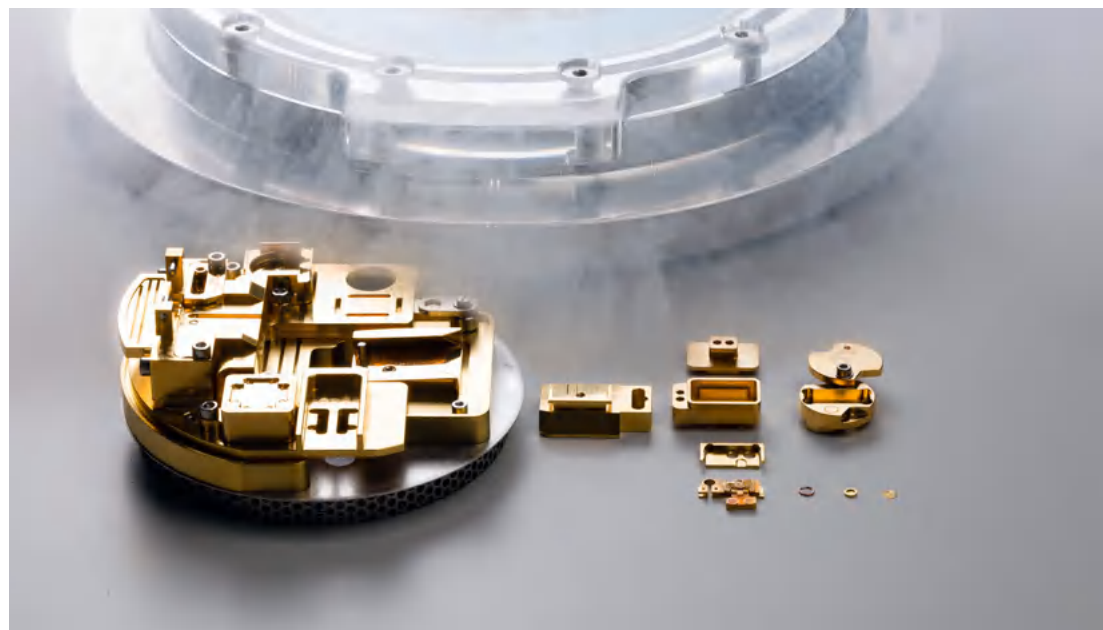
› 售后服务

### 蔡司冷冻配件工具包

蔡司冷冻关联解决方案可以使用各种样品夹。无论您是使用 TEM 铜网、AutoGrid、蓝宝石盘还是 HPF 板，您都可以依靠冷冻配件工具包来实现样品的轻松装载、转移和存储。一系列的配件和工具可以保证在整个工作流程中能够安全处理样品。

玻璃化的样品被安全地安装在专门设计的冷冻关联样品夹中。它保证了样品的存储和在显微镜间转移的方便性，同时保护样品免受冰污染和物理损坏。

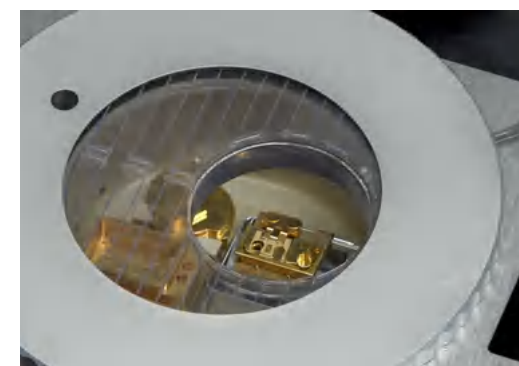
冷冻配件工具包的组件与冷冻关联显微镜载物台 Linkam CMS196V<sup>3</sup> 和冷冻传输系统 Quorum PP3010Z 兼容。



Quorum Prepdek<sup>®</sup> 工作站的 TEM prep slusher，带蔡司有机玻璃盖；蔡司冷冻配件工具包的组件



蔡司冷冻配件工具包



Linkam CMS196V<sup>3</sup> 冷冻关联显微镜载物台内的蔡司冷冻关联样品夹

# 洞察产品背后的科技

› 简介

› **优势**

› 应用

› 系统

› 技术参数

› 售后服务

## 低温宽场和共聚焦显微镜：蔡司

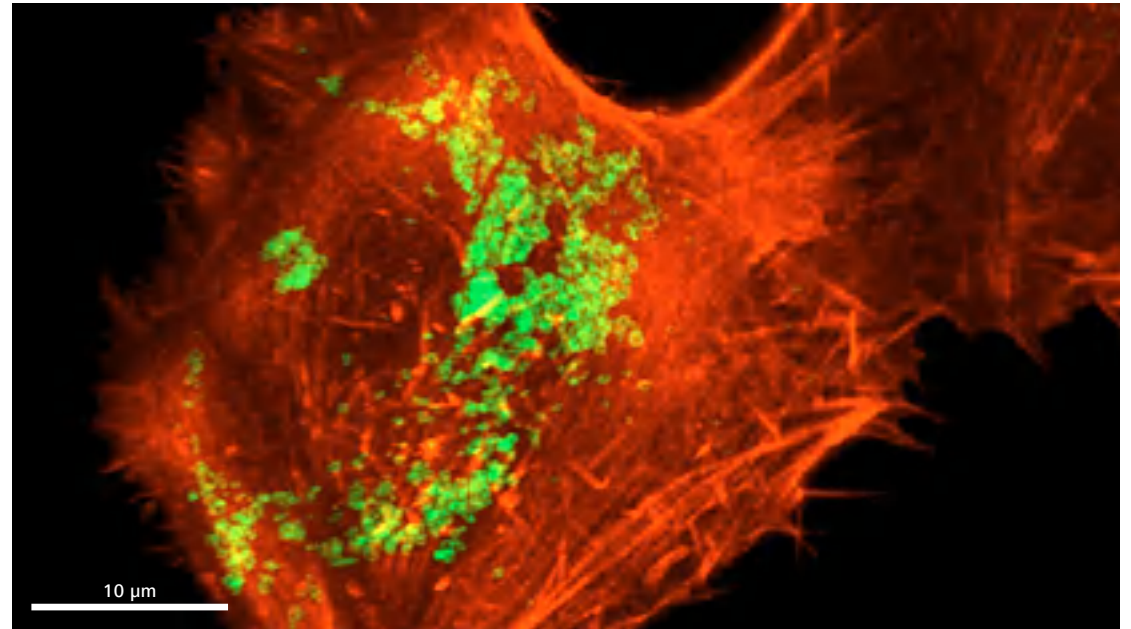
### Axio Imager、蔡司 LSM 900/980

#### 配置 Airyscan 2

蔡司 Axio Imager——这款光学显微镜是蔡司冷冻关联工作流程的理想选择，可以配备低温显微镜载物台 Linkam CMS196V<sup>3</sup>。根据要求，您可以将 Axio Imager 设置为：

- 宽场系统（配有 Apotome 3 用来采集 3D 数据集）
- 配有 Airyscan 2 的 LSM 900 / 980，用于高分辨率共聚焦成像

硬件的设计旨在防止成像期间的脱玻璃化作用和冰污染。可用物镜的范围从 5 倍到 100 倍不等，可支持从低倍率概览到高分辨率的成像。不同的照明方法（例如反射光或透射光模式），可以从不同的角度对您的样品进行研究，以提供关于冰厚度和样品质量等重要信息。借助于可进行极低光毒性照明的灵敏 Airyscan 探测器，它可以进行高分辨率的低温成像。



腺癌细胞（用 mCherry 染色的肌动蛋白：红色，用 Mitotracker 染色的线粒体：绿色）。使用 LSM Airyscan 进行成像。

LSM 和宽场显微镜都是多功能工具，可以在不影响图像质量的情况下，快速从低温实验转换到室温实验，反之亦然。



蔡司 LSM 900

## 洞察产品背后的科技

› 简介

› **优势**

› 应用

› 系统

› 技术参数

› 售后服务

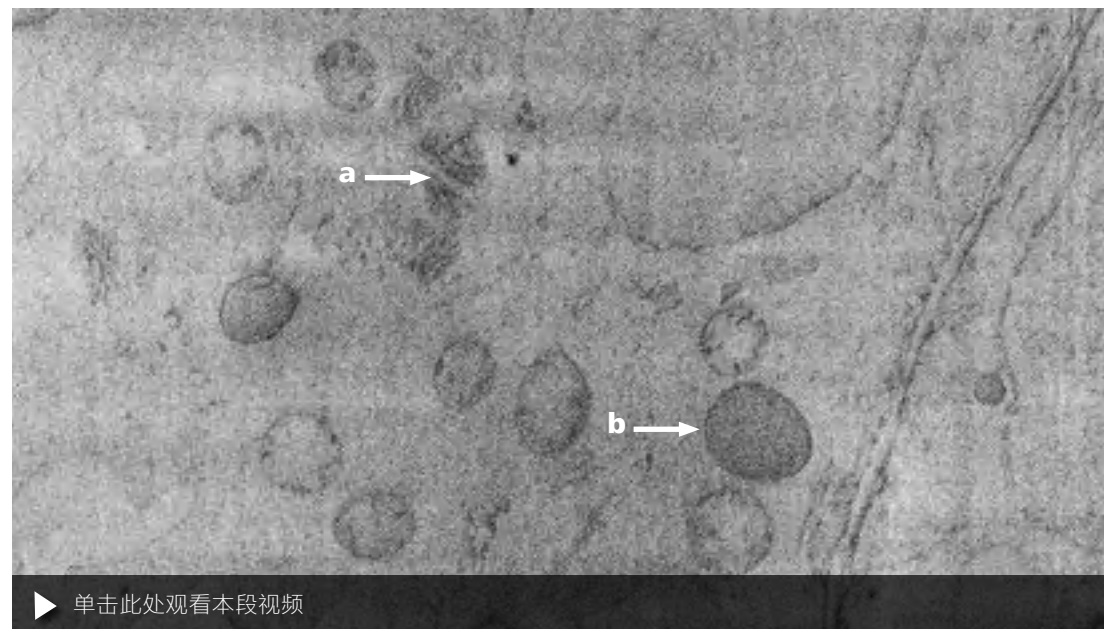
### 冷冻扫描电子显微技术和 TEM 薄片制备： 蔡司 Crossbeam

FIB-SEM 技术在各个学科中都已经很成熟了，它也已经进入了生命科学领域。在生命科学领域，不仅可以高精度加工样品，还有展示超微结构的成像能力。

蔡司 Crossbeam 的设计旨在为您提供高易用性和出色的图像对比度。即使是未染色的玻璃化样品，该 FIB-SEM 也能在低温下生成高衬度图像，可以对细胞和组织的超微结构进行研究，并使细胞腔隙清晰可见。

一般来说，冷冻 SEM 成像所需的低加速电压会伴有低衬度的代价。但蔡司 Crossbeam 即使在低加速电压下也能产生高衬度，这是 Gemini 电子光学系统和探测器之间独特的相互作用的结果。使用这种配置，也可以实时观察成像和加工流程——您可以精准控制加工过程，并确保有针对性地对超薄 TEM 薄片进行减薄。

同光学显微镜，蔡司 Crossbeam 可以作为多功能工具使用，而不会影响性能。



拟南芥根（高压冷冻）。超微结构细节清晰可见，例如高尔基体（a）和色素体（b）。



蔡司 Crossbeam

# 洞察产品背后的科技

简介

优势

应用

系统

技术参数

售后服务

蔡司 **Crossbeam** 安全易操作的样品转移和处理：

## Quorum PP3010Z

蔡司冷冻关联工作流程配有 Quorum PP3010Z，这是一个高度自动化、简单易用的气冷式冷冻制备系统。

- **冷冻制备室**使用了涡轮分子泵，包括可控自动升华和溅射镀膜的工具。无需额外设备——这样节省了时间，简化了工作流程，也降低了冰污染的风险。
- 玻璃化样品从冷冻制备室直接连接到蔡司 **Crossbeam** 样品室，在一个**高度稳定的冷载物台**上进行成像和加工。**蔡司冷冻漂移矫正模块**确保了高稳定性，可以支持长时间稳定的三维结构成像和强大的 TEM 薄片制备。
- 冷冻制备室和 **Crossbeam** 样品室中的**冷阱**可以保护样品免受冰污染。
- CHE3010 柱外冷却系统确保了**至少 24 小时的连续冷却**。
- 所有 Quorum 冷冻组件均由 **Prepdek® 工作站**控制，该工作站还包含了用于冷冻转移设备的真空存储管以及用于蔡司装载站的 TEM prep slusher。



Quorum Prepdek® 工作站



安装在蔡司 **Crossbeam** 上的冷冻制备室



可旋转冷冻样品台



# 洞察产品背后的科技

简介

优势

应用

系统

技术参数

售后服务

## 一站式应用：配置完备的软件包

为了确保冷冻关联工作流程的简化以及各种组件的无缝配合，我们扩展了相关软件平台，添加了冷冻特定功能。为了应对冷冻关联显微镜所带来的挑战，我们还开发了额外的软件模块。

## 蔡司 ZEN

ZEN 成像软件可以控制光学显微镜和 Linkam CMS196V<sup>3</sup> 冷冻载物台。

## 蔡司 ZEN Connect

在整个工作流程中，所有光学显微镜和 FIB-SEM 数据的关联和导航都由 ZEN Connect 完成。

## SmartSEM 和 SmartFIB

标准 Crossbeam 操作软件可以在低温条件下进行三维结构成像和 TEM 薄片制备。

## 冷冻漂移矫正

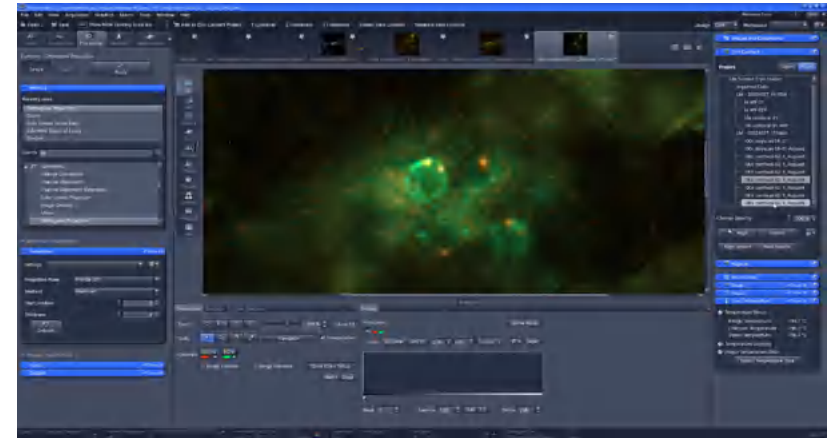
这一蔡司专利解决方案减少了漂移，确保长时间的高水平成像和加工精度。

## ZEN EM 处理工具箱

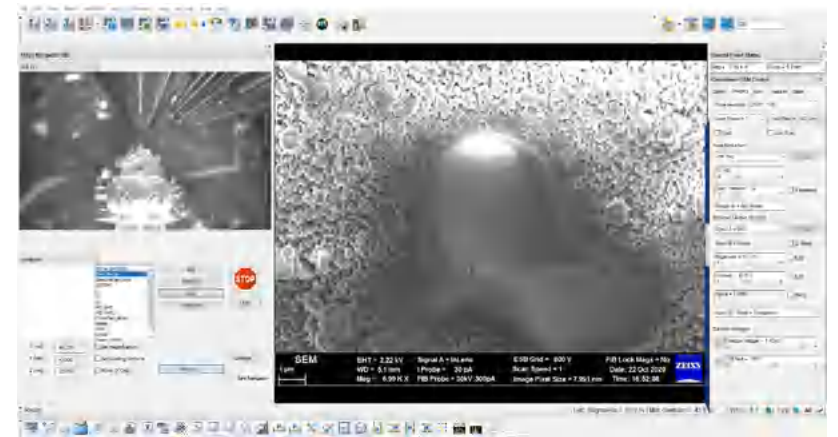
这款新的 ZEN 模块提供了一整套图像处理工具，例如 3D 数据集记录、降噪和减少加工伪影。

## 3Dxi/3Dxi+

3Dxi 用于对关联的 LSM 和 FIB 体积成像的可视化。新功能使用密集和特征丰富的电镜数据，改善了光学显微镜图像的可视化水平。可以将序列成像可视化 3D 动画。



蔡司 ZEN



蔡司 SmartSEM / SmartFIB

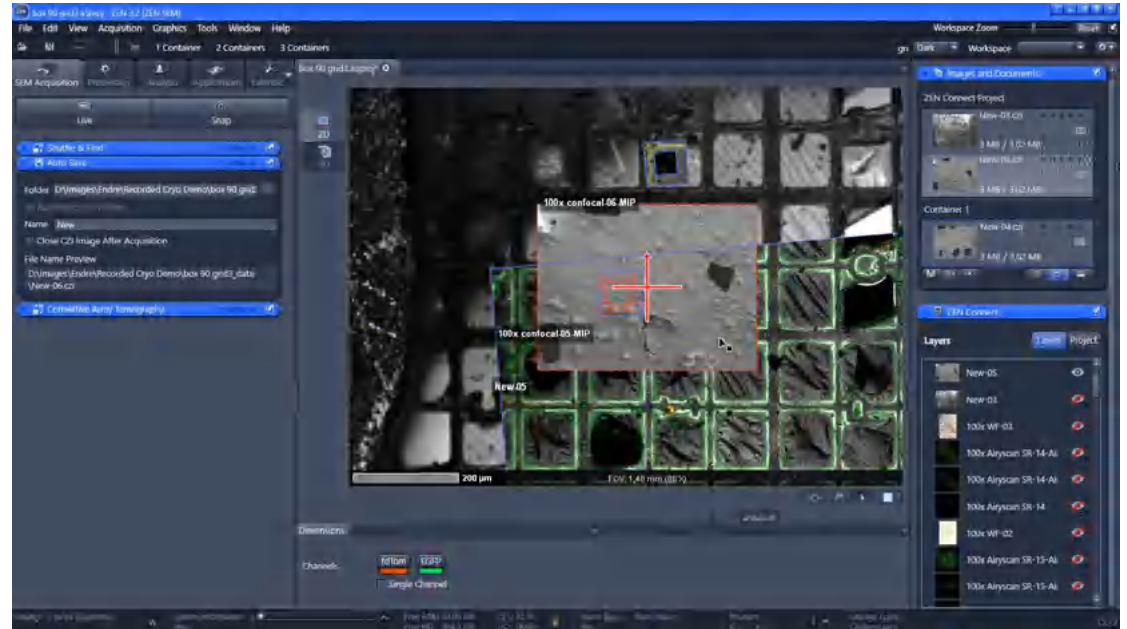
# 洞察产品背后的科技

- 简介
- 优势**
- 应用
- 系统
- 技术参数
- 售后服务

## 导航、关联和数据管理：ZEN Connect

ZEN Connect 是 ZEN 中的一个软件模块，它将所有成像技术整合在一起，让您能够跨尺度、多模态成像，结合多个视角观察您的样品。您的多模态数据保存在受到良好管理的项目架构中，且带有直观的图像标签。ZEN Connect 总是在全景中展示您的数据，这非常适合冷冻关联工作流程。

一旦对齐完成，便可以轻松在 FIB-SEM 中对之前用光学显微镜识别出的感兴趣区域重新定位。无论是在成像期间还是在后期分享整个实验的过程时，ZEN Connect 总是可以保证数据关联。



蔡司 ZEN Connect 中的冷冻关联数据集

支持蔡司冷冻关联工作流程的功能：

- **载物台模式：**根据当前显微镜的坐标系，旋转数据视图。
- **冷冻关联样品夹：**ZEN Connect 提供了样品夹的轮廓，易于对齐。

- **Z 轴对齐：**来自不同系统的图像可以在 z 轴上相互对齐。
- **FIB 图像导入：**可以导入来自 SmartFIB 的 TIFF 图像并在 ZEN Connect 中使用。
- **3D 旋转：**对于非正交的图像，可以自由旋转图像。

- **3D 关联查看器：**可以同时查看光学显微镜和 FIB-SEM 的体积成像。
- **导出 SerialEM：**可以将 ZEN Connect 概览图像导出为 SerialEM 格式，用于在 TEM 上导航。

# 洞察产品背后的科技

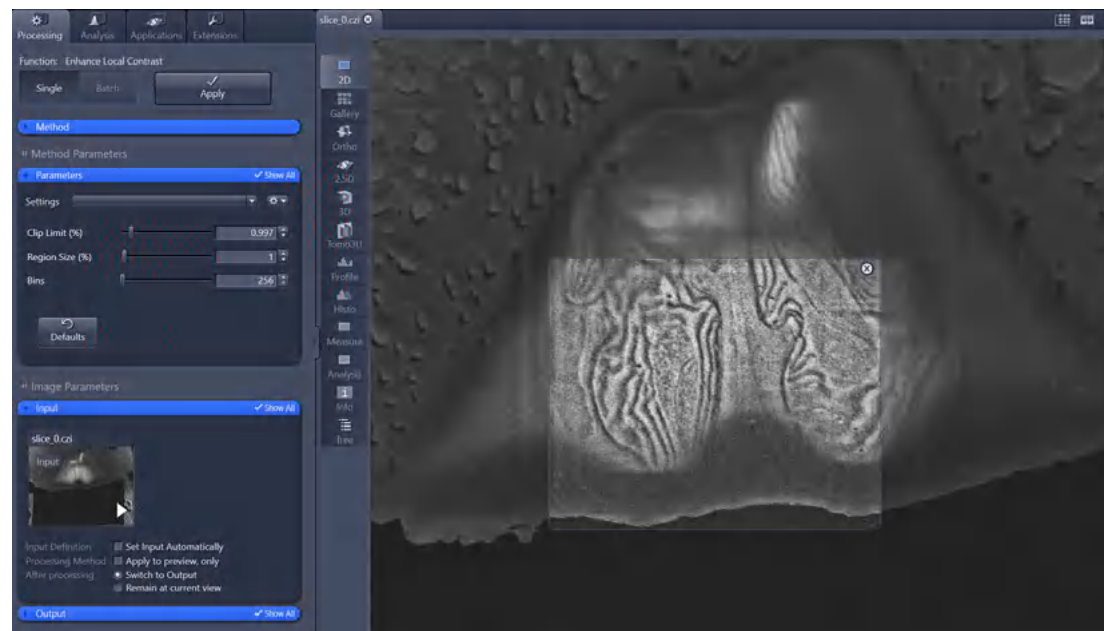
- 简介
- 优势**
- 应用
- 系统
- 技术参数
- 售后服务

## 根据您的需求优化 EM 图像: ZEN EM 处理工具箱

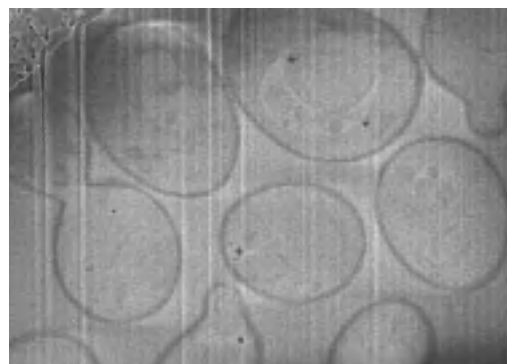
EM 处理工具箱提供了一系列可以提高 EM 图像质量的工具。SmartSEM 采集的 2D 序列图像可以导入 ZEN 并转换为 3D 数据集。工具箱还提供了进一步处理 EM 数据的功能,用来增强细胞结构和细胞腔隙的可视化,从而实现更好的识别。

从各种过滤器和处理工具中选择:

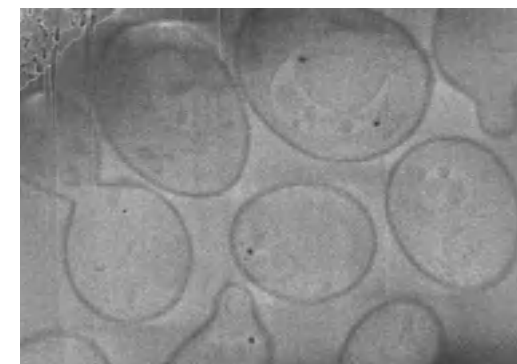
- 以 TIFF 格式**导入** SmartSEM 或其它图像采集软件所采集到的 **EM 图像**。
- **减少伪影**, 例如由加工过程导致的噪音和条纹。
- **记录后续的 2D 图像并创建 3D 数据集**。让 z 轴对齐工具自动对齐您的数据集。
- **替换 z 轴序列图像中质量差的单个切片**。
- **选择并裁剪任意 3D 区域**, 从而从 EM 序列图像中移除不想要的区域, 以获得自定义的 3D 可视化。



ZEN EM 处理工具箱: 增强局部对比度



原始图像



处理后的图像: 已去除条纹

# 洞察产品背后的科技

› 简介

› **优势**

› 应用

› 系统

› 技术参数

› 售后服务

## 蔡司冷冻关联工作流程：解决冷冻电镜所面临的挑战

工作流程相关的挑战	蔡司解决方案
由于样品载体的尺寸和硬度而造成的样品损耗	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 使用专门设计的装载站，可以很容易地将各种类型的样品载体装载到冷冻关联夹中。</li> <li>■ 冷冻关联夹确保了样品载体在显微镜之间的安全转移。</li> <li>■ 贮存样品台可以安全地存储冷冻关联夹。</li> </ul>
冰污染	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 冷冻关联夹配有盖子，可减少与大气的接触。</li> <li>■ 冷冻光镜载物台和 Quorum 冷冻载物台的技术设计确保了稳定的环境条件。</li> <li>■ 转移步骤的减少极大地降低了冰污染的可能性（例如，无需额外设备便可在 Quorum 冷冻制备室中进行升华和溅射镀膜）。</li> <li>■ Crossbeam 中的防污染器温度始终保持比冷载物台低 30°C。</li> </ul>
在冷冻关联工作流程中，由于玻璃化样品意外升温而导致的脱玻璃化作用	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 将样品载体安全地安装在样品台内，并盖上盖子。</li> <li>■ 运输和存储设施极大地降低了样品意外升温的风险。</li> <li>■ Crossbeam 冷载物台可提供 &lt; -150°C 的低温。</li> </ul>
与 Cryo-TEM 兼容	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 准备好的 TEM 薄片可转移至任意制造商的 Cryo-TEM。</li> </ul>
成像平台相关的挑战	蔡司解决方案
回温和冷却时间	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 无论是低温还是室温实验，仪器都可以迅速投入使用。</li> <li>■ Linkam CMS196V<sup>3</sup> 冷却时间：5 分钟</li> <li>■ 光镜系统回温时间：只需将 Linkam 载物台更换为非低温载物台。</li> <li>■ Quorum PP3010Z 冷却和回温时间：90 分钟至平衡状态</li> </ul>
显微镜利用率	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 工作流程中涉及的蔡司显微镜既可用于冷冻显微技术又可用于室温应用。</li> <li>■ 蔡司 LSM 和 FIB SEM 系统都具有广泛的应用并提供出色的图像质量。</li> </ul>
光学显微镜相关的挑战	蔡司解决方案
激发功率所引发的脱玻璃化作用	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Airyscan 探测器的高灵敏度让您能够进行低损伤成像，以防止样品产生脱玻璃化作用。</li> <li>■ 宽场可提供低损伤 LED 照明。</li> </ul>
样品导航：既采集概览图像又采集高分辨率图像	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 使用放大倍率从 5 倍到 100 倍的物镜进行图像采集，这让用户可以进行高度灵活的样品导航和图像采集。</li> <li>■ ZEN Connect 收集并展示图像，以实现无缝导航。</li> </ul>
在 < -140°C 的情况下采集高分辨率图像	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 100× NA 0.9 物镜与 Airyscan 探测器的结合，可以显著提升对感兴趣结构的识别和定位，从而提高了比较 LSM 和 FIB-SEM 数据的能力。</li> </ul>
重定位样品区域	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 对齐一次后，ZEN Connect 会将坐标传送至所有相关图像。</li> </ul>
由于显微镜的温度管理不足而导致脱玻璃化作用。无法达到所需低温	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Linkam 冷冻载物台提供液氮冷却，让温度保持为 -196°C。</li> </ul>



# 洞察产品背后的科技

› 简介

› **优势**

› 应用

› 系统

› 技术参数

› 售后服务

## 蔡司冷冻关联工作流程：解决冷冻电镜所面临的挑战

FIB-SEM 相关的挑战	蔡司解决方案
重定位样品区域	■ 一旦对齐，ZEN Connect 会将坐标传送到所有相关图像。
由于显微镜的温度管理不足而导致脱玻璃化作用。无法达到所需低温	■ Quorum PP3010Z 可提供可控的、有针对性的冷却至 $-150^{\circ}\text{C}$ 或更低，并通过冷冻载物台和冷阱实现快速热反应。
低衬度电镜图像不允许重定位感兴趣区域	■ ZEN Connect 可以轻松重定位感兴趣区域。 ■ 蔡司 Crossbeam 可以同步成像和加工。这一配置为实时监测成像和加工过程提供了可能。
低衬度的电镜图像不会显示任何结构信息	■ 蔡司 Crossbeam 能够高衬度显示超微结构，这是 Gemini 电子光学系统和探测器之间独特的相互作用的结果。
薄片制备的方向	■ Quorum PP3010Z 配有一个无限旋转的冷冻辅台。
成像过程中玻璃化样品的电荷	■ 可以通过以下方式最大程度减少电荷： ■ 在直接连接到 FIB-SEM 的冷冻制备室中对冰晶进行自动升华 ■ 在冷冻制备室中进行自动溅射，使样品导电；无需外部升华和溅射镀膜设备 ■ 探测器的高灵敏度允许温和成像，以减少电荷效应
温度变化引起的载物台漂移	■ 冷冻漂移矫正模块既可以保证图像稳定采集，也可以确保精准可靠的薄片制备。
软件相关的挑战	蔡司解决方案
管理不同成像方式的图像	■ 在 ZEN Connect 项目中组织并管理图像，以便有效地搜索和调用。
带有窗帘效应的图像	■ 各种过滤算法可以处理那些质量受窗帘效应影响的图像。
图像记录	■ 可以记录 FIB-SEM 采集到的 2D TIFF 图像并将其转换为三维图像序列。
光镜和电镜数据集的关联	■ ZEN Connect 可以让光镜和电镜数据轻松关联。
由于不同供货方提供的多种软件平台而导致的复杂用户体验	■ 所有的 ZEN 软件包和模块都提供相似的用户体验，并且很好地协调一致，以避免兼容性问题。
不同成像方式的数据集可视化	■ 3Dxl viewer 集成在 ZEN 中；无需额外软件平台。

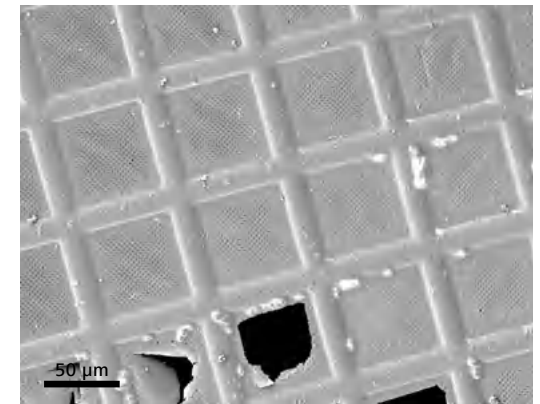
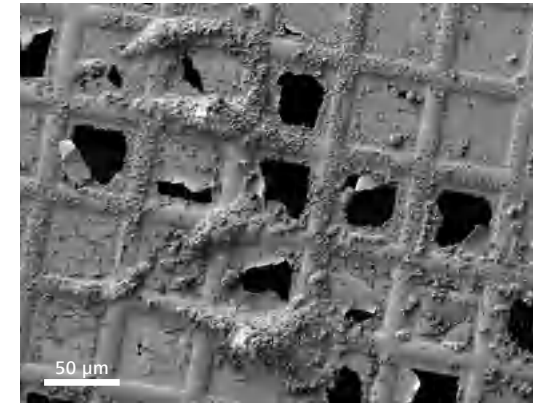
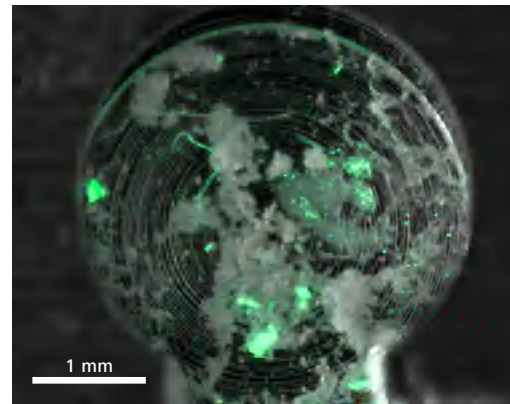
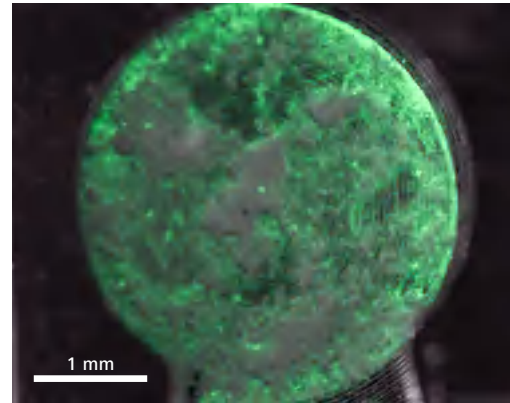
# 洞察产品背后的科技

- › 简介
- › **优势**
- › 应用
- › 系统
- › 技术参数
- › 售后服务

## 评估样品质量，防止样品损坏

冷冻电镜的常见问题有样品损耗、冰污染和脱玻璃化作用。蔡司冷冻关联工作流程的设计旨在保护您珍贵的玻璃化样品，避免在这宏伟的工作流程中可能出现的许多隐患。蔡司冷冻配件包与蔡司 LSM/Airyscan 和蔡司 Crossbeam 的成像功能的搭配，可减轻在冷冻条件下工作时丢失或破坏您样品的风险。

在工作流程管理您的样品之前，玻璃化冷冻本身就是一个挑战。尽管最近玻璃化冷冻技术有所发展，但样品仍然经常被覆盖在厚厚的冰层之下，或者只是部分玻璃化，并显示出无定形的冰的区域。玻璃化不佳会破坏细胞和组织的超微结构。除非您的光学显微镜或 FIB-SEM 早在工作流程初期便提供了样品评价的方法，不然只能在 TEM 中识别这些区域。蔡司 LSM 使用不同的观察方式来提供这样的评价能力。蔡司 Crossbeam 出色的对比度性能还可以对样品质量进行可靠评估。这将为节省时间，并提高实验效率。



带玻璃化样品的 HPF 样品载体。在光学显微镜下使用不同的观察方法（荧光、反射光）来检查样品的冰损伤。第一个样品显示了冰污染和脱玻璃化作用，并取消对其进行进一步的电镜成像。下图示例显示了冰污染的区域，但也显示了玻化度高的区域（半透明区域）。图像由荷兰拉德堡德大学医学中心的 A. Akiva 和 N. Sommerdijk 提供

带玻璃化样品的 TEM 铜网。上图显示铜网上的冰晶。下图的 TEM 铜网上看不到冰污染。

图像显示了 HPF 板（左）和 TEM 铜网（右）上，有冰污染和没有冰污染的玻璃化样品。

## 洞察产品背后的科技

简介

优势

应用

系统

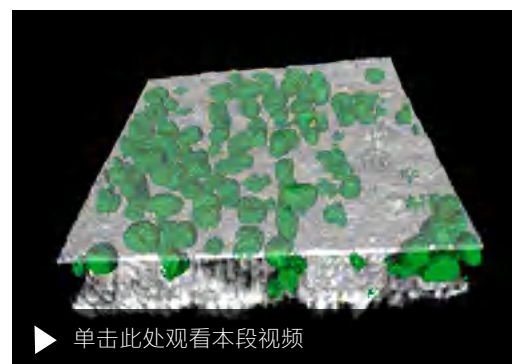
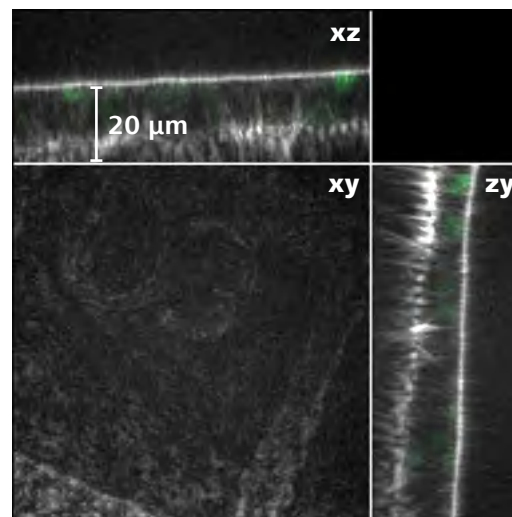
技术参数

售后服务

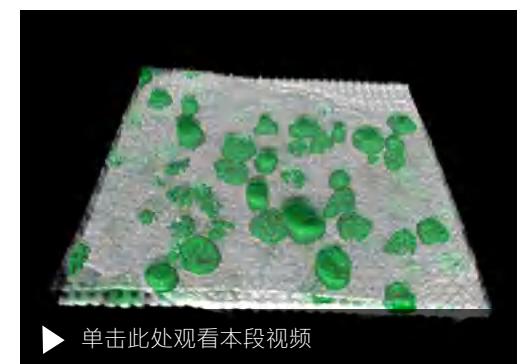
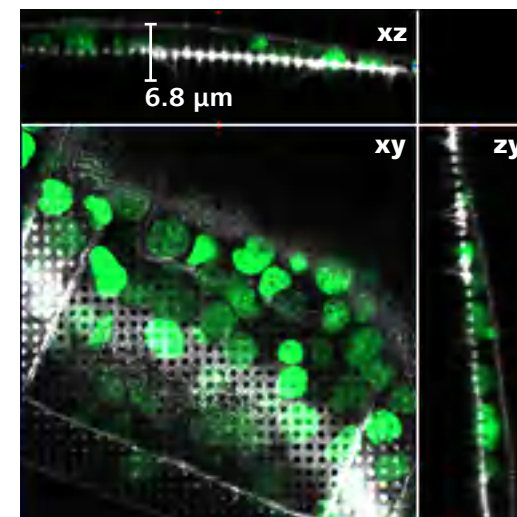
### 冰厚度测量和有效的感兴趣区域定位

冰厚度测量对于判断样品质量和定位玻璃化样品中感兴趣的细胞至关重要。使用光学显微镜，可以轻松验证您的样品。反射光和共聚焦荧光成像为您提供关于质量的一手信息，让您清晰定位有希望成功的细胞。

荧光信号呈模糊蛛网状图形，则常常表明冷冻效果差。此外，快速冷冻样品会在一个样品中展现出不同的冷冻质量和保存状态。在进入下一个冷冻关联工作流程阶段之前，关于冰厚度和质量的信息可以节省预选细胞的时间。



图像显示了一个很厚的冰层中快速冷冻的 HeLa 细胞 (Histone 2-GFP 标记)。应该排除这样厚的区域，不对其进行进一步的 FIB-SEM 处理，因为冷冻损伤的风险很高。冰厚度确定为 20  $\mu\text{m}$ 。



图像显示了快速冷冻的 HeLa 细胞 (Histone 2-GFP 标记)，阐明了进一步成像的理想条件。冰层约 6.8  $\mu\text{m}$  厚，覆盖了玻璃化细胞。这些细胞非常适合进一步的 FIB-SEM 分析。

## 蔡司冷冻关联工作流程的应用案例

› 简介

› 优势

› **应用**

› 系统

› 技术参数

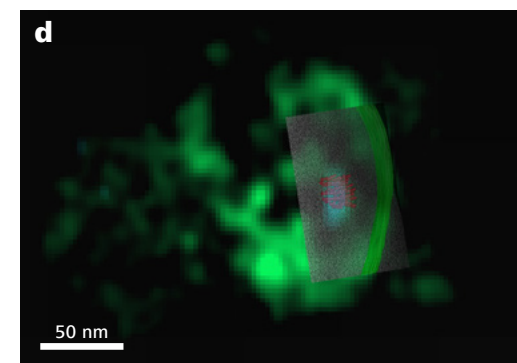
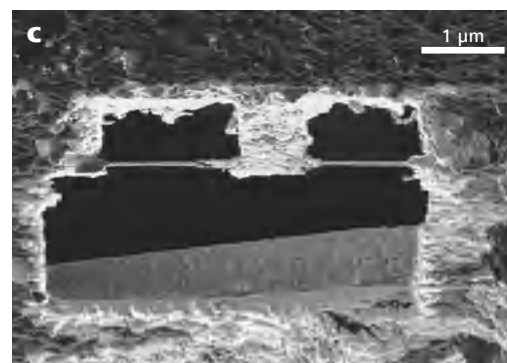
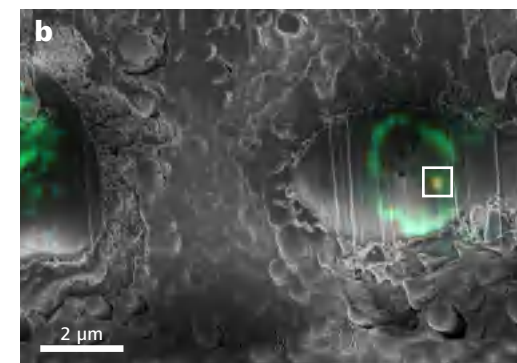
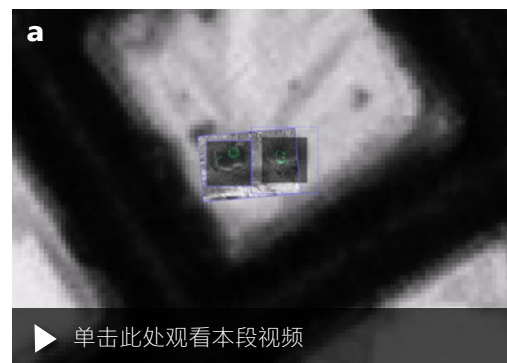
› 售后服务

### 细胞生物学：辨识罕见事件

在酵母细胞内定位纺锤极体是很难的。它们是又小又罕见的结构。蔡司冷冻关联工作流程可以让您在接近原生状态的情况下对这种细胞结构进行准确的识别和成像。

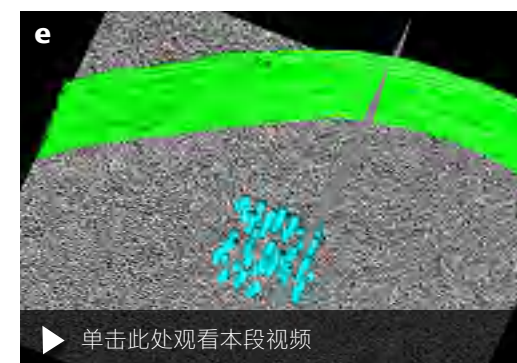
配备有 Airyscan 探测器的 LSM 使得这些结构更容易辨识，因此可以对更多细节进行成像。所有图像——从整个细胞的大范围概览到这些微小结构的高分辨率图像——都组织在一个 ZEN Connect 项目中，为在 FIB-SEM 中重新定位提供这些细胞结构所需的所有数据。

使用 Crossbeam，可以为 Cryo-ET 制备已识别区域的 TEM 薄片，也可以进行冷冻三维体积成像。此外，蔡司冷冻关联工作流程解决方案让您可以在图像采集后重新连接所有数据。Crossbeam 的图像或 TEM 的断层扫描成像可以与 LSM 数据相结合，并可以三维渲染。



NUP（核孔复合物）-GFP 和 CNM67-tdTomato 标记的酵母细胞。样品和断层扫描图像由瑞士苏黎世联邦理工学院的 M. Pilhofer 提供

- ZEN Connect 视频显示了光镜和电镜数据集的叠加——从铜网预览到用于进一步 TEM 断层扫描识别的感兴趣区域。
- 加工过程的初期状态：在 LSM 识别到的标记区域周围制备薄片。
- 加工好薄片的 FIB 图像；薄片厚度：230 nm
- 采用 LSM 数据集对重构和分割的断层扫描图像进行 3D 叠加（纺锤极体为青色伪彩）；使用 IMOD 分割核膜和微管。
- 分割和重构的断层扫描图像





## 蔡司冷冻关联工作流程的应用案例

› 简介

› 优势

› **应用**

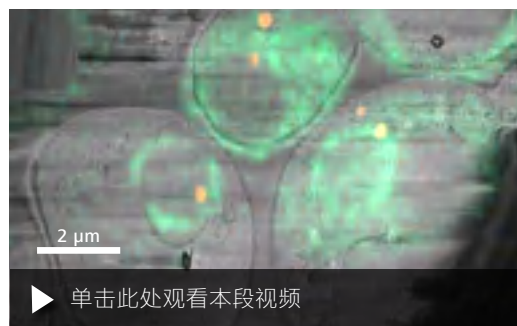
› 系统

› 技术参数

› 售后服务

### 细胞生物学：关联三维成像

一旦在 LSM 系统中识别出细胞结构（如纺锤极体），蔡司 Crossbeam 出色的成像质量可以让您使用冷冻体积成像对超微结构进行定位和分析。即使是使用低加速电压，Crossbeam 也能够在保护样品不受损伤的同时，对未染色的玻璃化样品进行高衬度成像。LSM 采集到的高分辨率图像和 Crossbeam 的高衬度图像方便您进行精准的图像叠加。使用 ZEN Connect 在 Crossbeam 中重新定位感兴趣区域，便能采集到已识别细胞的 3D 数据集。在关联三维结构中定位了两个纺锤极体。根据 FIB 的切割方向，单个微管的取向在高衬度图像中变得清晰可见。可以在三维结构中识别更多细胞腔室。



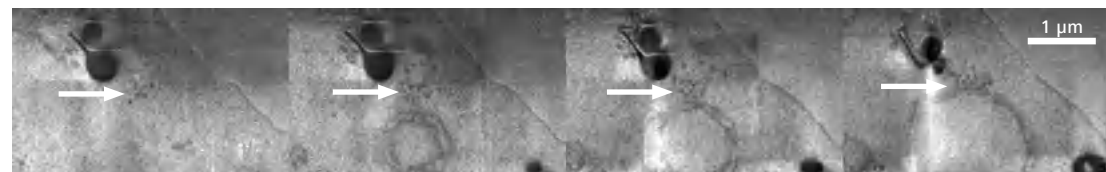
高分辨率 LSM/Airyscan 图像与低温环境下采集到的高衬度 Crossbeam 图像的叠加。叠加是通过 ZEN Connect 完成的。



酵母细胞的三维重构以及对细胞核（深蓝色）和几个线粒体的分割。



纵向切开的核膜内的纺锤极体。图像步进大小：50 nm



横向切开的核膜外的微管。图像步进大小：50 nm

## 蔡司冷冻关联工作流程的应用案例

› 简介

› 优势

› **应用**

› 系统

› 技术参数

› 售后服务

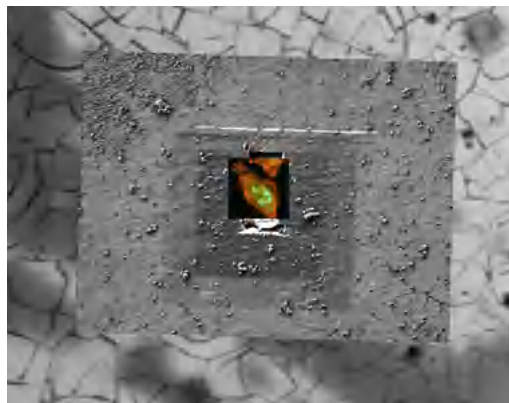
### 癌症研究

癌细胞呈现强烈的线粒体裂变表型，这可能是它们产生抗药性的原因。

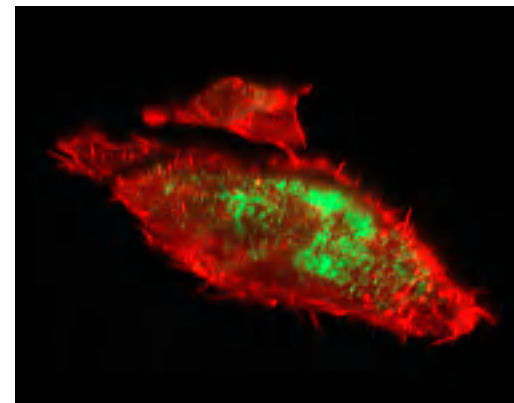
化学固定方法经常会造成线粒体堆积等伪影，这些伪影可能被误认为裂变事件。冷冻固定则可以避免这些伪影，并将样品保持在接近原生的状态。

示例显示了蓝宝石盘上快速冷冻的腺癌细胞。LSM 数据突出显示了一个裂变增加的密集型线粒体网络，该裂变随后由 Crossbeam 数据证实。LSM 和 Airyscan 成像后，转移玻璃化样品到 Crossbeam 中。ZEN Connect 用于重新定位感兴趣区域，用来在采集后叠加各自的数据集，并管理所有采集到的图像。

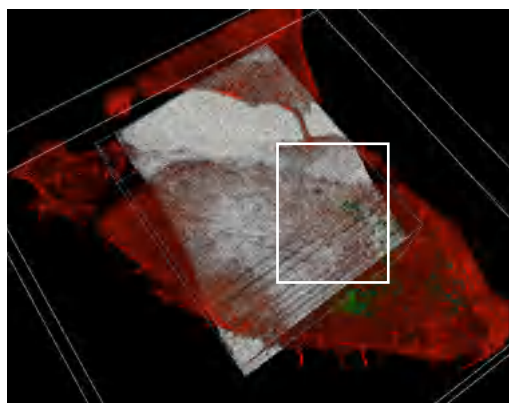
使用 EM 处理工具箱记录并处理 SmartFIB 连续切片图像。



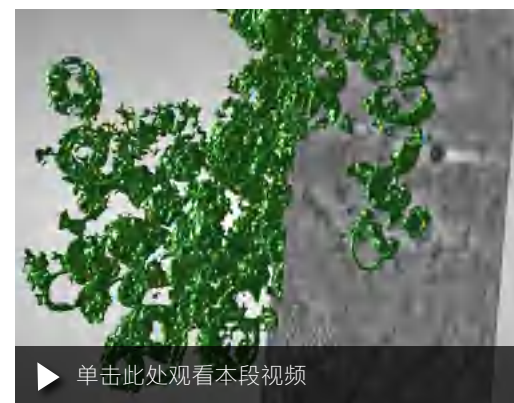
蓝宝石盘上生长的快速冷冻腺癌细胞。所有感兴趣区域都在 ZEN Connect 中显示。



显示出强烈线粒体裂变图样的腺癌细胞 3D 数据集。



LSM 结构与 Crossbeam 结构的三维叠加。



▶ 单击此处观看本段视频

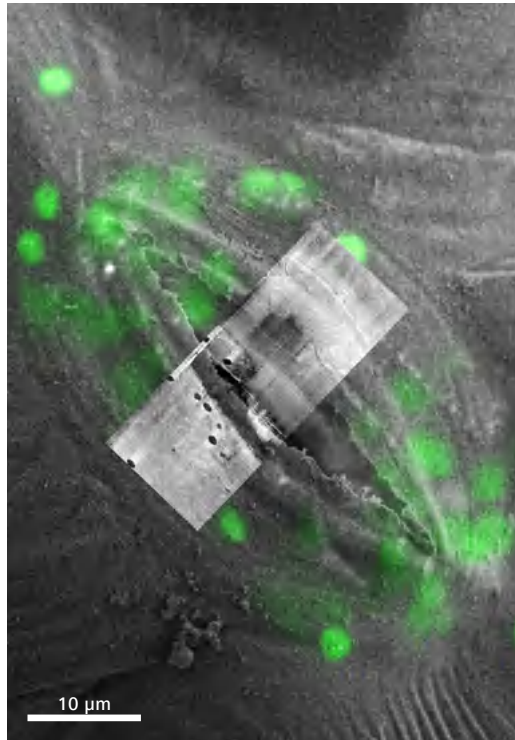
在 Crossbeam 数据集一个子集中，自动分割的线粒体网络。

# 蔡司冷冻关联工作流程的应用案例

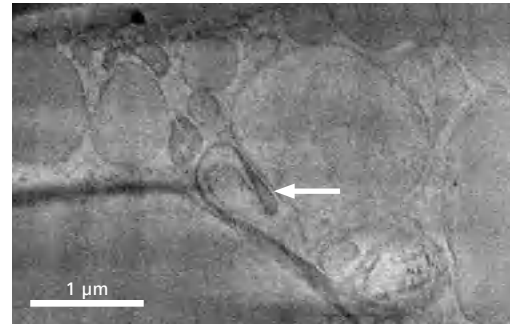
- › 简介
- › 优势
- › **应用**
- › 系统
- › 技术参数
- › 售后服务

## 植物学

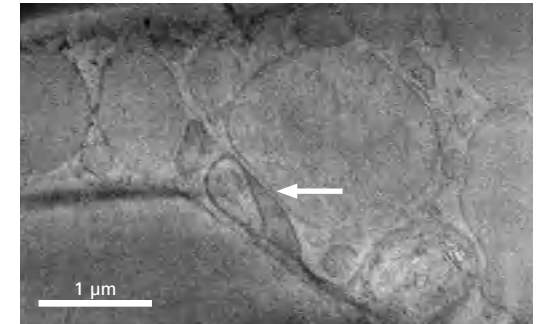
植物对变化的环境条件（如盐度增加）作何反应是植物科学中一个重要的研究课题。在应对这些变化条件时，植物通常会表现出应激反应。在超微结构层面能够观察到的一个效应是基质（Stromule）的形成，基质是色素体中的长管状延伸。ZEN Connect 展示了不同成像模式的图像：LSM 使用样品的自发荧光来定位气孔和内化色素体。成功重定位感兴趣区域后，LSM 图像与所选气孔的 SEM 概览图像相叠加。采集到气孔的 FIB 序列图像。EM 数据集显示了色素体中基质形成的增长。



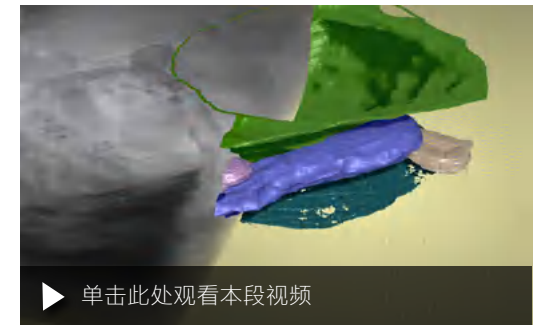
LSM 用样品的自发荧光来识别气孔和内化色素体。用 Crossbeam 对选定的气孔重定位并成像。样品由德国 Hohenheim 大学的 B. Franzisky 提供。



在使用 Crossbeam 采集到的剖面中，基质清晰可见。



对齐和处理好的气孔 FIB 序列图像。正交投影视图中显示了成像气孔的不同视角。



FIB 序列图像的三维重建和分割显示了色素体的形态。重建展示了基质与线粒体的密切互动（细胞核：浅绿色；色素体：蓝色；线粒体：粉红色；液泡：深绿色）。



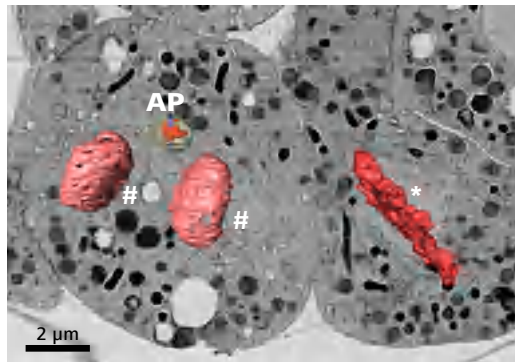
# 蔡司冷冻关联工作流程的应用案例

- 简介
- 优势
- 应用**
- 系统
- 技术参数
- 售后服务

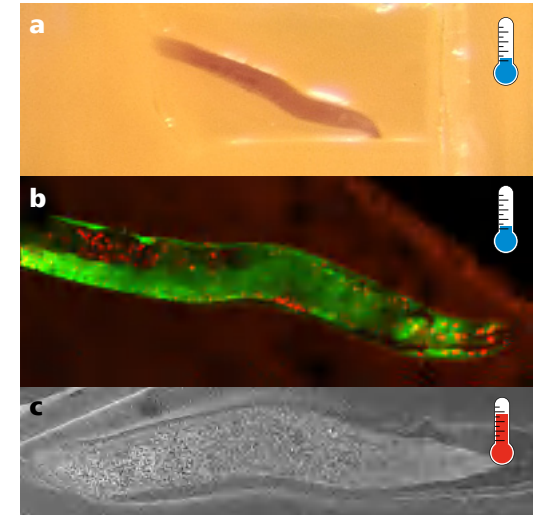
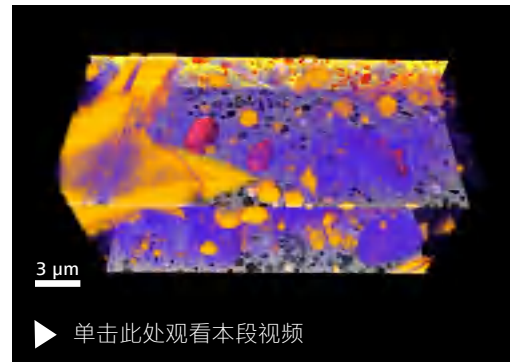
## 发育生物学：秀丽隐杆线虫中有丝分裂细胞的研究

秀丽隐杆线虫是一种在发育生物学中广泛使用的模式生物。线虫胚胎发育很快——在这样一个生物样品中使用电子显微镜对罕见或瞬时的特征进行成像，是具有挑战性的。为了采集细胞复制和细胞分裂过程的特定阶段，必须捕捉并记录这些瞬时结构，然后使用电镜来定位，随后在适当的生物环境下对相应的三维结构进行成像。至关重要的一点是，围绕胚胎的角质层延缓了醛的渗透，必须通过高压冷冻（HPF）固定，这意味着不可能进行活细胞或传统固定细胞的光镜筛选。整个秀丽隐杆线虫由 HPF 固定，处于中期的胚胎细胞通过冷冻荧光显微镜进行原位成像。然后通过冷冻替代对筛选出的线虫进行重金属染色、树脂包埋和切片，因此可以使用 Crossbeam 对相同的三维结构进行高分辨率、高衬度的定位和成像。使用这一工作流程，可以成功重建线虫处于中期的胚胎细胞。此外，该方法偶然发现：一个相邻有趣的点状荧光信号关联到一个假定的自噬体。

因此，可以使用高压冷冻厚样品的冷冻荧光显微镜来对接近原生状态的瞬时细胞结构进行捕捉和成像；通过合适的处理并关联三维电镜成像，可以对这些目标结构进行高分辨率的三维重建。



细胞结构的重建，如自噬体（AP）或不同有丝分裂阶段的基因组（\* 细胞在中期，# 细胞在末期）。



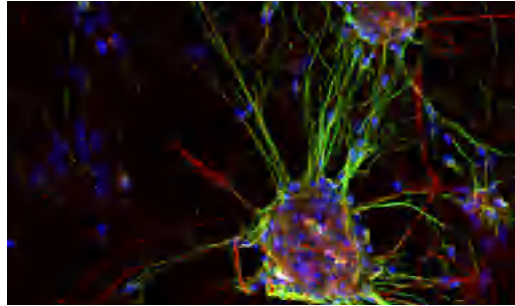
对秀丽隐杆线虫中早期胚胎的浓缩型中期基因组进行了成像。  
a) 整个秀丽隐杆线虫的概览图像  
b) 在冷冻替代前，使用 LSM/Airyscan 系统在冷冻温度下对线虫进行了成像。  
c) 使用 Crossbeam 对包埋和染色的线虫进行了成像。  
由美国 National Laboratory for Cancer Research, National Cancer Institute/NIH and Frederick 的 K. Narayan 提供。



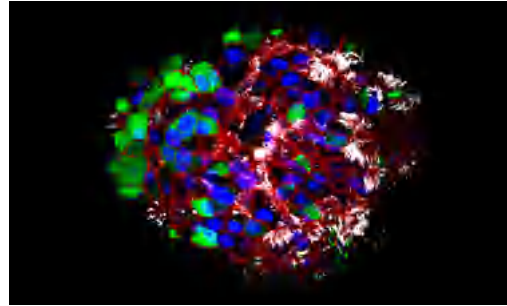
# 蔡司显微镜——为回答各种科学问题而设计

- › 简介
- › 优势
- › **应用**
- › 系统
- › 技术参数
- › 售后服务

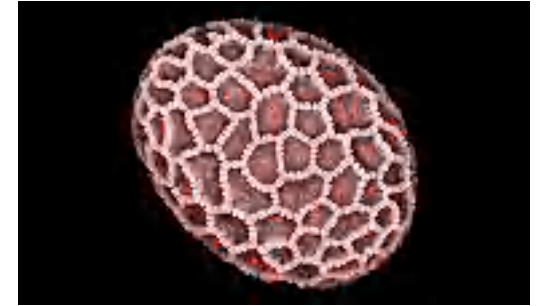
**蔡司 LSM 900/980 配置 Airyscan 2** 可实现快速、低光毒性、多元成像方式的共聚焦成像显微镜——同样适用于室温。LSM 可以快速地从低温功能切换为室温系统，对活体或固定样品进行成像，然后再切换回来。体验显微镜完整的灵活性和可用性，而无需做任何妥协。更多信息请参见蔡司 LSM 900 和蔡司 LSM 980 的相关产品信息。



神经球，DAPI（蓝色），微管蛋白 -Cy2（绿色），DCX-Cy5（红色）多色标签。样品由德国马格德堡 LSM Bioanalytik GmbH 的 H. Braun 提供。

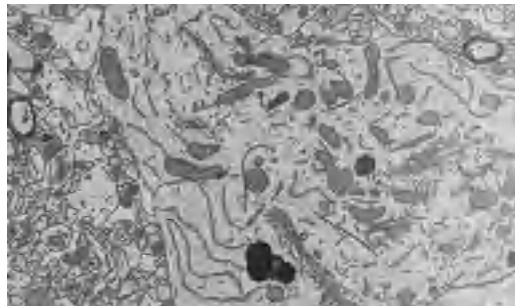


人体远端肺脏类器官显示棒状细胞和纤毛细胞，暴露在外 10 天。由美国斯坦福大学 Department of Medicine, Hematology Division 的 C. Kuo 教授提供。

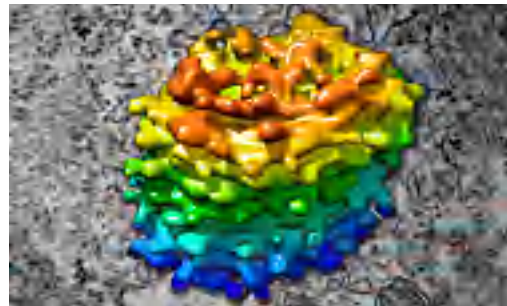


显微照片显示了利用 Airyscan 2 在 Multiplex 模式下采集的天香百合花粉粒。图像由德国基尔大学动物研究所的 J. Michels 提供。

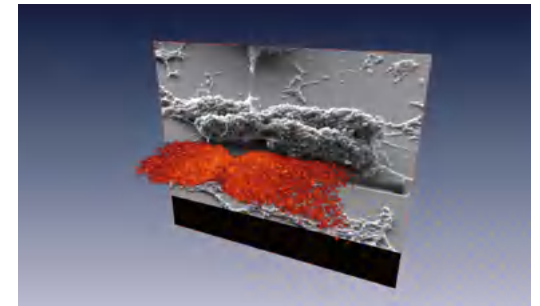
无论是加工还是采集分析数据，**蔡司 Crossbeam** 都能极大地提升您的 3D 应用体验。Gemini 电子光学系统可呈现任意样品的优质图像。该技术除拥有高信噪比优势外，还具备高分辨率和高衬度，在低加速电压时亦能保持高水准——是敏感生物样品的理想选择。更多信息请参见蔡司 Crossbeam 的产品信息。



小鼠大脑，OTO 染色，使用 Crossbeam 540 成像，样品由瑞士巴塞尔 FMI 研究所的 C. Genoud 提供。



基于 FIB 原始数据，对藻类高尔基体进行 3D 重建。（蓝色 / 绿色：高尔基体顺面，黄色 / 橙色：高尔基体反面）图像由英国牛津布鲁克斯大学的 L. Hughes 博士提供。



基于实时成像的染色体三维重建。在 2 kV 下，使用 in-lens 二次电子探测器采集各个帧。样品由德国慕尼黑 LMU 的 G. Wanner 教授提供。

# 灵活多样的组件选择

- › 简介
- › 优势
- › 应用
- › **系统**
- › 技术参数
- › 售后服务



## 光学显微镜

- 宽场系统:  
Axio Imager.M2, Axio Imager.Z2
- 配备有 Axio Imager.Z2 的 LSM 900 / LSM 980

## 光学显微镜附加硬件

- 低温显微镜载物台 CMS196 套件包括
  - 3L 自动真空杜瓦瓶
  - 杜瓦瓶固定架
  - Axio Imager 的适配载物台
  - 透射光 / 反射光载物台样品夹
  - 聚光镜支架
  - 物镜 6× bellows
  - 载物台控制器
  - 试验样品
- 用于宽场系统: Apotome 3
- 用于 LSM: Airyscan 2



## 电子显微镜

- Crossbeam 350
- Crossbeam 550
- Crossbeam 550 L

## 电子显微镜附加硬件

- Quorum PP3010Z 包括:
  - Prepedek® 工作站
  - 低温真空运输设备
  - 冷冻制备室
  - TEM prep slusher
  - 可旋转冷冻样品台
- Quorum 薄膜监控器 (可选配)
- Quorum 增压真空杜瓦瓶 (可选配)

## 冷冻配件工具包

- TEM 铜网 / 蓝宝石盘的冷冻关联夹
- HPF 板的冷冻关联夹
- AutoGrid 的冷冻关联夹
- 冷冻关联夹储存箱
- 转移舱
- 精准镊子
- 装载台
- 冷冻关联夹的各种适配器
- Quorum 系统的传输台
- Quorum 有机玻璃盖
- 双目镜筒望远放大镜

## 软件

- ZEN 成像软件 (blue edition)
- ZEN SEM

## 必须使用的模块:

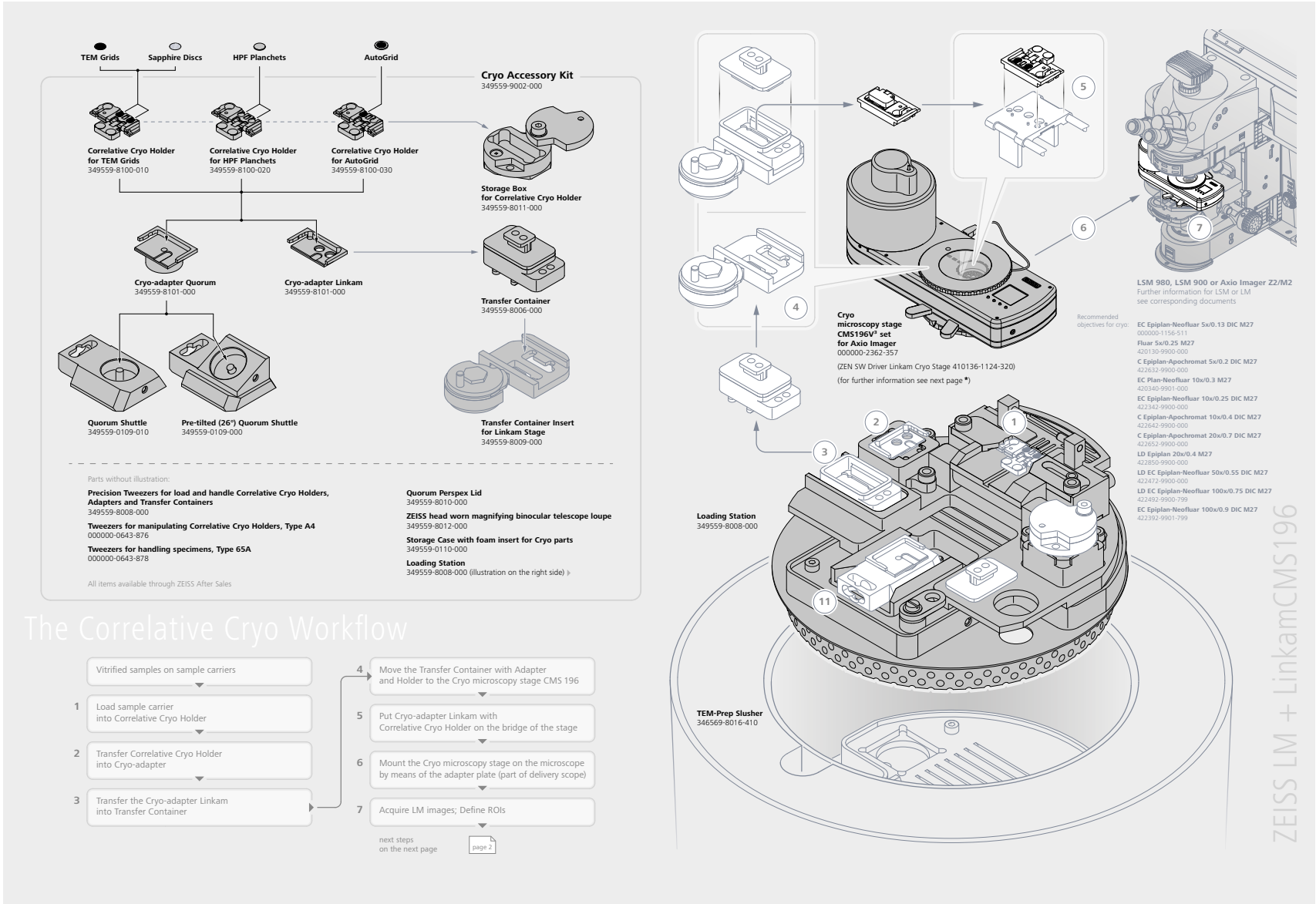
- ZEN Connect
- ZEN 3Dxl/3Dxl+
- 包括 Smart FIB 的 SmartSEM

## 推荐模块:

- ZEN EM 处理工具箱
- 冷冻漂移矫正模块

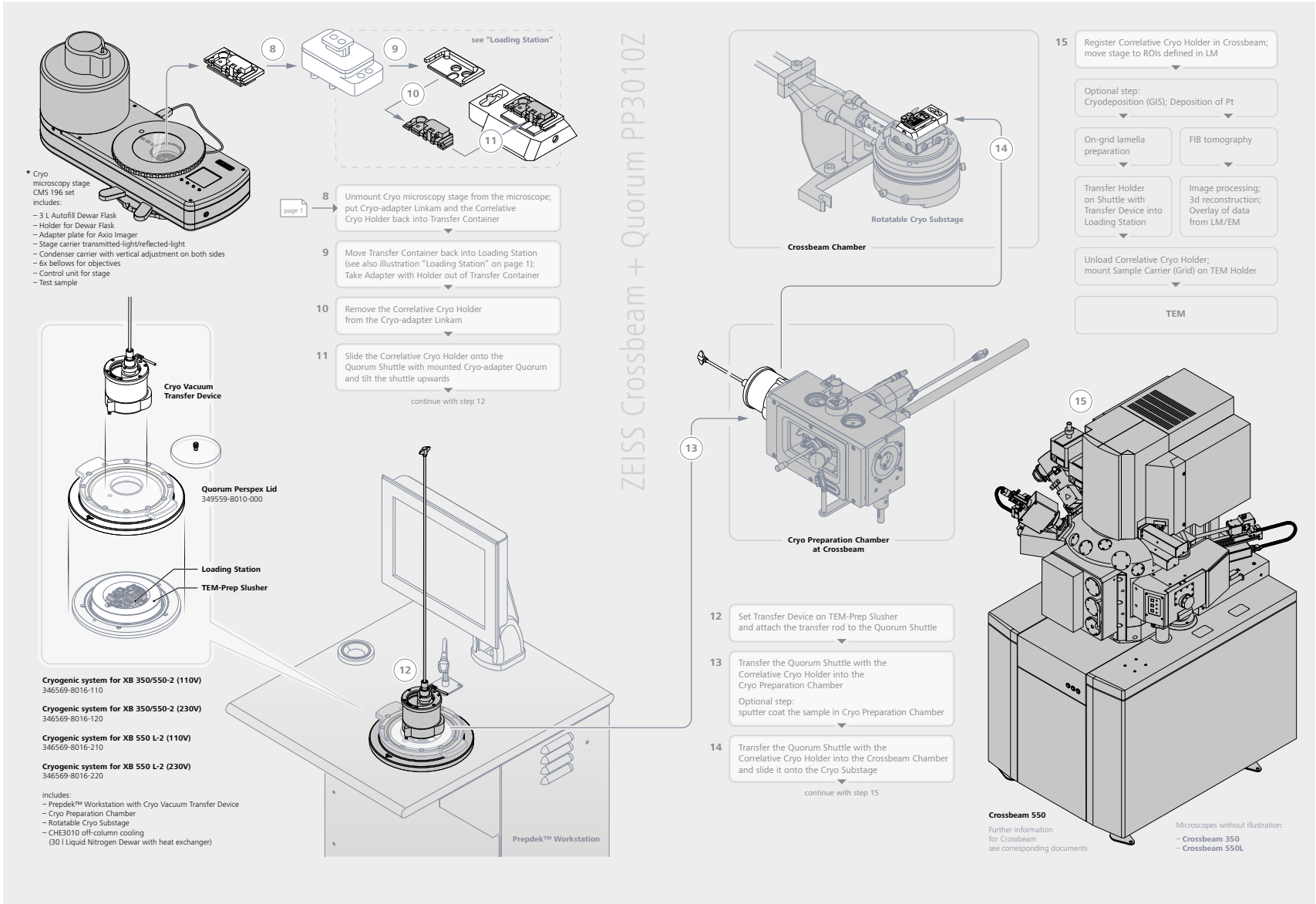
# 蔡司冷冻关联工作流程：系统概览

- › 简介
- › 优势
- › 应用
- › **系统**
- › 技术参数
- › 售后服务



# 蔡司冷冻关联工作流程：系统概览

- › 简介
- › 优势
- › 应用
- › **系统**
- › 技术参数
- › 售后服务





# 技术参数

› 简介

› 优势

› 应用

› 系统

› **技术参数**

› 售后服务

## 显微镜

宽场显微镜 Axio Imager M.2 / Z.2 (可选配 Apotome 3)

激光共聚焦显微镜 LSM 900 / LSM 980 / 配备 Airyscan 2

聚焦离子束电子显微镜 Crossbeam 350、550、550L

## 冷冻关联工作流程最佳效果的建议条件

### 完全符合光镜 / LSM 和 Crossbeam 的安装要求

湿度 理想情况为 40% 或更少

用于电镜的实验室空间 理想情况为 4m × 6m

用于光镜的实验室空间 理想情况为 2m × 3m

理想情况是光镜和电镜系统相互靠近，并有足够的空气流通，以便在液氮下工作

## 冷冻配件工具包

冷冻关联夹 对于 TEM 铜网和蓝宝石盘 2 个铜网或蓝宝石盘 / 样品夹  
直径 3.05 mm，最大厚度 180 μm

对于 HPF 板 2 块板 / 样品夹

直径 3.05 mm，高度 500 μm

对于 AutoGrid 1 个 AutoGrid / 样品夹

头戴式显微镜 在 400 mm 焦距下，4.3 倍放大倍率

# 技术参数

› 简介

› 优势

› 应用

› 系统

› **技术参数**

› 售后服务

用于光学显微镜的冷冻关联硬件				
为 Axio Imager 设置的冷冻显微镜载物台 CMS196V <sup>3</sup>	行程范围 X, 行程范围 Y	10.8 mm, 2.8 mm		
	分辨率 XY, 可重复性 XY, 精度 XY	1 μm, 3 μm, 5 μm		
	最小速度、最大速度	1 μm/s, 2000 μm/s		
	测量系统	自动测量		
	连接处稳定温度	-195°C		
	冷却时间	5 分钟		
	集成式 LN <sub>2</sub> 真空杜瓦瓶的保温时间	28 分钟		
外置 LN <sub>2</sub> (3L) 自动填充真空杜瓦瓶的保温时间	240–360 分钟			
用于 LSM 900/980 的 Airyscan 2	FWHM XY/Z 轴分辨率	工作距离 (mm)	Airyscan SR (nm)	MPLX SR 4Y (nm)
	LD EC Epiplan-Neofluar 100×/0.75 DIC M27	4	290/1150	290/1300
	EC Epiplan-Neofluar 100×/0.9 DIC M27	1	250/750	250/850
适用于冷冻显微镜的物镜	EC Epiplan-Neofluar 5×/0.13 DIC M27 Fluor 5×/0.25 M27 (宽场成像) C Epiplan-Apochromat 5×/0.2 DIC M27 EC Plan-Neofluar 10×/0.3 M27 EC Epiplan-Neofluar 10×/0.25 DIC M27 C Epiplan-Apochromat 10×/0.4 DIC M27 C Epiplan-Apochromat 20×/0.7 DIC M27 LD Epiplan 20×/0.4 M27 (宽场成像) LD EC Epiplan-Neofluar 50×/0.55 DIC M27 LD EC Epiplan-Neofluar 100×/0.75 DIC M27 EC Epiplan-Neofluar 100×/0.9 DIC M27			

# 技术参数

› 简介

› 优势

› 应用

› 系统

› **技术参数**

› 售后服务

## 用于电镜的冷冻关联硬件

Quorum PP3010Z

### 低温系统端口的使用

低温加载装置的可变真空接口

Crossbeam 350 和 550 上冷冻制备室的 MultiGIS 接口

Crossbeam 550L 上冷冻制备室的低温接口 (52 mm MP 接口 2)

### 氮气冷却线的数量

3 (冷冻制备室、SEM 低温样品台、SEM 防污染器)

### 氮气供应纯度, 至少用于系统冷却 24 小时

5.5 (99.9995%)

### 推荐温度设置

制备样品台 /SEM 样品台

< -150°C

制备样品台防污染器 /SEM 防污染器

< -180°C

### 气体流量 / 气体消耗量 (低温样品台、防污染器和制备室)

1–5 升 / 分钟 (手动) 或自动调节 / 最大为 15 升 / 分钟

### 漂移

室温下

< 7 nm/分钟

使用漂移校正选项来冷却平台 (-160°C) 后 90 分钟

< 20 nm/分钟

不使用漂移校正选项来冷却平台 (-160°C) 后 120 分钟

< 50 nm/分钟

### 最低温度

气冷式旋转台 (SEM)

低至 -175°C

防污染器 (SEM)

低至 -190°C

样品台 (制备室)

低至 -190°C

防污染器 (制备室)

低至 -190°C

温度稳定性

< 0.5°C

### 热交换真空杜瓦瓶的容量

30 升 LN<sub>2</sub> (用于冷却系统 20 小时——载物台冷却至 -150°C 以及防污染器冷却至 -180°C), 可在运行期间填充

### 制备室中的样品操作

样品断裂

内置刀具

样品升华

使用内置加热器控制温度

在氦气环境中使用铂金进行溅射镀膜

氦气供应: 0.7 bar, 纯度 6.0 (99.9999%)

## EM 增压真空绝热瓶 (可选配)

### 用于供应 EM 低温系统的干氮气

60 升 LN<sub>2</sub> 容量

2–3 bar 气压

24 小时气体供应, 用于 EM 低温系统的冷却操作, 最高 15 升氮气 / 分钟

# 技术参数

› 简介

› 优势

› 应用

› 系统

› **技术参数**

› 售后服务

## 操作软件

Crossbeam	SmartSEM 6.08 或更高	简单易用的 Crossbeam 用户界面 可以通过集成的 SmartFIB 接口，采集图像并实现复杂的 FIB-SEM 工作流程
	ZEN 3.3 SEM	在 SEM 上使用 ZEN Connect 模块的基础软件 可以在 SEM 上采集图像 出于 SEM 上 ZEN Connect 模块的需求 包含 ZEN Connect 基本功能
宽场系统	ZEN pro 3.3 或更高	除激光 3D 系统外，光学显微镜的图像采集和处理软件
LSM	ZEN system 3.3 或更高	光学显微镜的图像采集和处理软件，配有激光 3D 成像系统
离线工作站	ZEN desk 3.3 或更高	支持离线分析、处理和可视化的软件

## 操作软件（第三方组件）

Quorum PP3010Z	aQuilo 1.0.32 或更高	控制 Quorum PP3010Z 低温系统的软件 可以将温度读出到 SmartSEM 中，从而 <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 可以安全转移样品</li> <li>■ 抑制冷台在样品舱的通风</li> <li>■ 减少漂移</li> <li>■ 使用已保存图像记录温度值</li> </ul>
Linkam CMS196V <sup>3</sup>	ZEN 操控 Linkam 低温载物台	控制低温显微镜载物台 CMS196V <sup>3</sup> 同步和异步的温度记录；对样品的 x、y 定位 同轴矫正



# 技术参数

› 简介

› 优势

› 应用

› 系统

› **技术参数**

› 售后服务

## 适用于关联显微镜的软件模块

ZEN Connect	关联操作界面	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 在综合性的、以样品为中心的关联环境下，处理多模式、跨尺度的图像。</li> <li>■ 在 ZEN 中导入并结合来自任意图像源的数据。</li> <li>■ 在样品宏观尺度信息与纳米细节之间架起了一座桥梁。</li> <li>■ 用可调节透明度查看多个图层，包括显示当前载物台位置和观察视野。</li> <li>■ 手动对齐图像，以允许 xy 轴位移、旋转、缩放、剪切和镜像修正。</li> <li>■ 对图像进行点对齐，以计算 xy 轴位移、旋转、缩放、剪切和镜像。</li> <li>■ 高效进行载物台导航并关联图像</li> </ul>
	数据管理	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 导入任意显微镜图像，包括生物格式支持的元数据（支持格式列表见：<a href="https://www.openmicroscopy.org/bio-formats/">https://www.openmicroscopy.org/bio-formats/</a>）</li> <li>■ 自动标记文件</li> <li>■ 基于项目的文件管理架构</li> <li>■ 使用元数据的筛选搜索功能</li> </ul>
ZEN Connect 2D Add-on		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 用于关联显微镜的样品夹半自动化校准</li> <li>■ 关联操作界面中感兴趣区域的定义</li> <li>■ 轻松检索标记区域</li> <li>■ 仅在图像采集工作站上需要</li> </ul>
ZEN Connect 3D Add-on		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 在 ZEN Connect 中控制单个图像和全局项目中 Z 位置显示</li> <li>■ 在 Z 轴和 3D 旋转中对齐图像</li> <li>■ 查看所需的两个 3D 序列图像 3Dxl 模块</li> <li>■ 导入 FIB 序列图像</li> </ul>
3Dxl/3Dxl+		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 用于 3D/4D 序列图像可视化的 ZEN 模块</li> </ul>

## 用于冷冻关联工作流程的推荐模块

Crossbeam 的低温漂移矫正模块	矫正载物台漂移的软件（在 SmartSEM 6.08 可选） < 20 nm/分钟（冷却样品台（-160°C）后 90 分钟）
电镜处理工具箱	用于处理电镜图像的 ZEN 模块： <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 在 ZEN 中导入用 SmartFIB 采集到的 TIFF 序列图像</li> <li>■ 处理功能可提高图像质量，减少噪音和条纹等成像伪影</li> <li>■ 对 Z 轴序列图像进行手动和自动对齐</li> <li>■ 使用前一片或后一片来代替个别质量差的切片</li> <li>■ 剪裁任意感兴趣区域，以实现更好的可视化</li> </ul>

# 服务实至名归

› 简介

› 优势

› 应用

› 系统

› 技术参数

› **售后服务**

深知蔡司显微镜系统是您重要的工具之一，保证它每时每刻正常工作是我们的责任。我们将协助您将显微镜的功能发挥到极致。一系列由蔡司高水平专家为您量身打造的服务产品可供选择，我们在您购买系统后提供长期的技术支持，旨在让您体验到激发工作激情的美好瞬间！

## 维修、维护及优化

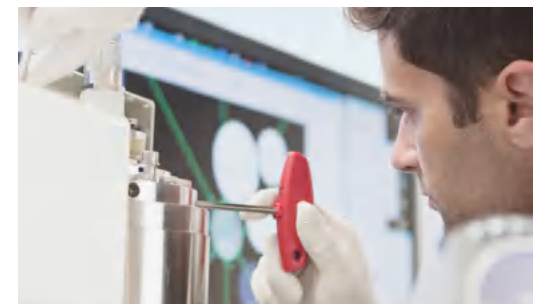
确保显微镜的正常工作时间。蔡司的维保服务协议可让您的运行成本更经济，避免因停机而造成的损失，并通过提升系统性能达到理想的工作状态。维保服务协议可为您提供一系列的可选服务种类以及不同级别的服务。在选择维保服务方案上我们会给予全力支持，以求满足您的系统需求与使用要求，同时遵守您单位的规定。

服务随需而动，为您的工作带来便利。无论是通过远程维护软件还是在现场进行检查，蔡司服务团队会对各类问题进行具体分析并加以解决。

## 强化显微镜系统

蔡司显微镜系统可采用多种方式升级：开放式的升级界面让您一直保持较高的技术水准。当新升级的装备付诸应用时，不仅能延长显微镜的使用寿命，还能提高工作效率。

请注意，我们会随时按照市场的需求对服务产品进行调整，并不时予以修订。



无论现在或是将来，您均能通过蔡司的服务合约，在显微镜系统的优化性能中受益。

>> [www.zeiss.com/microservice](http://www.zeiss.com/microservice)