

Anwendungsspezifische Objektive

Erweitern Sie Ihre Forschung



Objektive für innovative Forschung

Evident blickt auf eine lange Geschichte in der Konstruktion von Optiken zurück und entwickelt Qualitätsobjektive für fortschrittliche Life-Science-Anwendungen. In Zusammenarbeit mit unseren Kunden entwickeln wir innovative Produkte, die neuen und spezifischen Anforderungen in der Forschung gerecht werden.

Unsere Kompetenz bei innovativen optischen Technologien zeigt sich auch an unseren Objektiven für die Multiphotonen-Anregung für mikroskopische Untersuchungen tief liegender Gewebeschichten in der Life-Science-Forschung, die zunehmend an Bedeutung gewinnen. Als Antwort auf die Nachfrage nach einem optischen System für die *In-vivo*-Bildgebung von Lebendzellen in 3D haben wir Silikonimmersionsobjektive zur Darstellung heller hochauflösender Bilder in tieferen Schichten der Proben entwickelt.

Seit mehr als 100 Jahren sind wir Hersteller fortschrittlicher Mikroskopietechnik und hochwertiger Objektive und stolz auf unsere zahlreichen Innovationen und Partner. Wir werden auch in Zukunft eng mit der Forschung zusammenarbeiten, um neue Technologien zu entwickeln, die den sich ändernden Anforderungen in der Life-Science-Forschung gerecht werden.



Inhalt

Überlegungen für die Auswahl des Objektivs und die Verwendung eines Korrekturrings	2
Spezielle Objektive für die Multiphotonen-Anregung	3-4
Silikonimmersionsobjektive	5-6
Hochauflösende Objektive für Super Resolution und TIRF	7-8
Überkorrigiertes Objektiv	9
Zeitersparnis bei der Bildgebung mit Platten und Schalen mit Kunststoffboden	10

Auswahl eines Objektivs für Ihre Forschungsanwendung

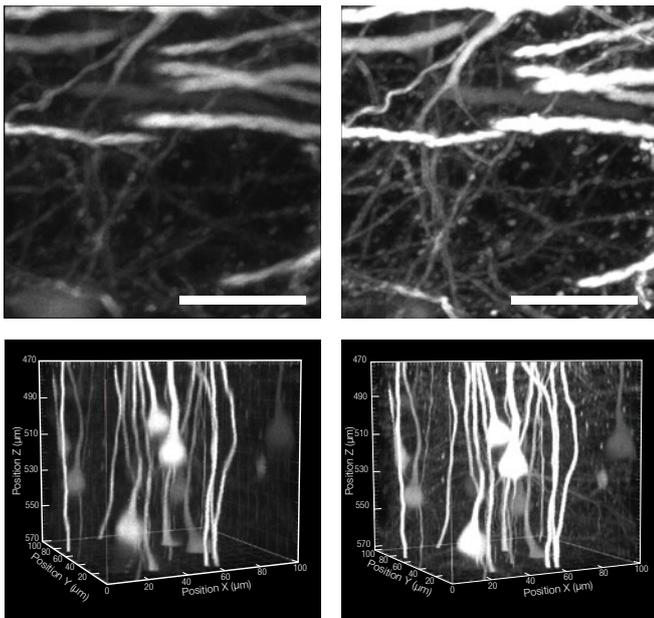
Die Auswahl des richtigen Objektivs für eine Forschungsanwendung ist wichtig, um hochauflösende Bilder zu erhalten. Wenn die Brechungsindizes von Probe und Immersionsmedium annähernd gleich sind, kann das Objektiv die sphärische Aberration kompensieren und tiefere, hellere Bilder mit höherer Auflösung erzeugen. Die meisten unserer A Line Objektive haben eine hohe numerische Apertur (NA) und einen Korrekturring zur Kompensation der sphärischen Aberration, um die Auflösung und den Kontrast der Bilder zu verbessern.

Die wichtige Funktion eines Korrekturrings

Die sphärische Aberration wird durch Unterschiede zwischen den Brechungsindizes im Strahlengang beeinflusst, die beispielsweise durch die unterschiedliche Dicke der Deckgläser, die Betrachtungstiefe der Probe, die Zusammensetzung der Zellen oder des Gewebes und Temperaturschwankungen entstehen. Objektive mit einer hohen NA reagieren besonders empfindlich auf diese Unterschiede. Durch die Einstellung des Korrekturrings am Objektiv kann die sphärische Aberration ausgeglichen und die Bildqualität verbessert werden. Dadurch entstehen höher aufgelöste, hellere und kontrastreichere Bilder.

Bei einem inversen Mikroskop ermöglicht die Fernbedienung (IX3-RCC) eine optimierte Verwendung des Korrekturrings. Für die Tiefenbildgebung mit einem aufrechten Multiphotonen-Laser-Scanning-Mikroskop sind die TruResolution Objektive (FV30-AC10SV und FV30-AC25W) mit einem leistungsstarken, automatisch einstellbaren Korrekturring ausgestattet.

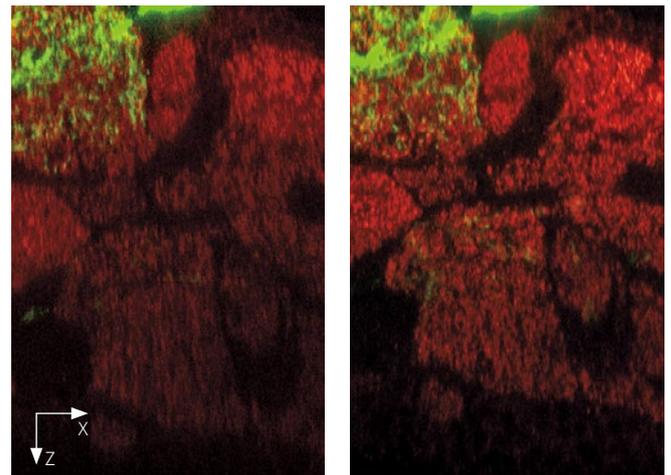
In-vivo-Darstellung des sensorischen Kortex des Mäusehirns vor (links) und nach (rechts) Einstellung des Korrekturrings des XLPLN25XWMP2 Objektivs.



Abbildungen oben: XZ-Bild in 500 µm Tiefe; Maßstabsbalken entspricht 20 µm.
Abbildungen unten: XYZ-Bild in 470–570 µm Tiefe.

Probe: Th1-YFP-H-Maus

Vergleich von Öl- und Silikonimmersionsobjektiven mit 60-facher Vergrößerung an einem Drosophila-Gehirn unter Verwendung von Glycerin als Eindeckmittel.



Ölimmersion

Silikonimmersion

mCD8 (GFP, grün)/a-Bruchpilot (Immunfärbung, rot)

Bildquelle:

Yasuhiro Imanishi Ph.D., Hiromu Tanimoto Ph.D.,
Tohoku University Graduate School of Life Sciences



IX3-RCC Korrekturring-Fernbedienung



FV30-AC25W (25X Objektiv zur Immersion in Wasser; NA: 1,05; A.A.: 2 mm)

Spezielle Objektive für die Multiphotonen-Anregung

Diese Objektive wurden speziell für die Multiphotonen-Anregung (MPE) von *In-vivo*- und transparenten Proben entwickelt und ermöglichen eine hochpräzise Bildgebung bis zu einer Tiefe von 8 mm.



Spezielle Objektive für die MPE

	A.A. (mm)	Vergr.	OFN*	NA	Immersion (Brechungsindex)	Probe	Zweck
XLPLN10XSVM	8	10X	18	0,60	Wasser – Öl (ne: 1,33 – 1,52)	<i>In-vivo</i> - und geklärte Proben	Mikroskopie mit breitem Sehfeld
XLSLPLN25XGMP	8	25X	18	1,00	Silikonöl – Öl (ne: 1,41 – 1,52)	Geklärte Proben	Betrachtung mit hoher Auflösung
XLSLPLN25XSVM2	8	25X	18	0,95	Wasser – Silikonöl (ne: 1,33 – 1,41)	<i>In-vivo</i> - und geklärte Proben	
XLPLN25XSVM2	4	25X	18	1,00	Wasser – Silikonöl (ne: 1,33 – 1,41)	<i>In-vivo</i> - und geklärte Proben	
XLPLN25XWMP2	2	25X	18	1,05	Wasser (ne: 1,33)	<i>In-vivo</i> -Proben	
FV30-AC10SV	8	10X	18	0,60	Wasser – Öl (ne: 1,33 – 1,52)	<i>In-vivo</i> - und geklärte Proben	Mikroskopie mit breitem Sehfeld
FV30-AC25W	2	25X	18	1,05	Wasser (ne: 1,33)	<i>In-vivo</i> -Proben	Betrachtung mit hoher Auflösung

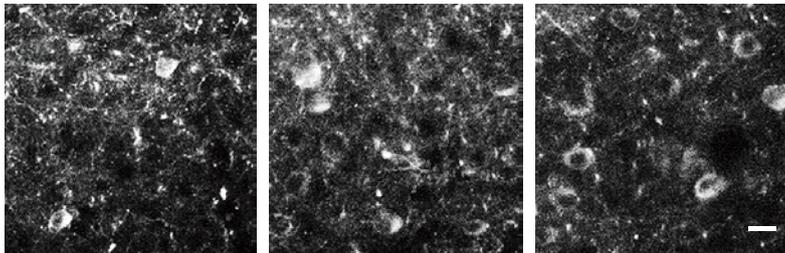
*Maximale durch das Okular erreichbare Sehfeldzahl.

In-vivo-Bildgebung tiefer Schichten mit dem XLPLN25XWMP2 Objektiv

Für die hochauflösende *In-vivo*-Tiefenbildgebung von Hirngewebe und die Optogenetik sind Objektive mit einer hohen Transmission für Infrarotlicht (IR), hoher numerischer Apertur (NA) und Korrekturfunktion in Abhängigkeit von Tiefe und Streuung des Gewebes erforderlich. Das XLPLN25XWMP2 Objektiv mit der neuen 1600er Beschichtung bietet eine breite IR-Transmission für eine optogenetische Stimulation mit sichtbarem Licht bis 400 nm und eine IR-Bildgebung oder -Stimulation über 1600 nm hinaus. Der Korrekturring reduziert das Erregungsvolumen und ermöglicht die Stimulation einzelner Zellen oder dendritischer Dornenfortsätze. In Kombination mit den leistungsstarken und präzisen Scanfunktionen des FV4000MPE Multiphotonen-Laser-Scanning-Mikroskops ist das XLPLN25XWMP2 Objektiv die perfekte Wahl für die hochgenaue Multiphotonen-Bildgebung.

In-Vivo-Bildgebung mit Zwei-Photonen-Anregung von gekreuzten kortikostriatalen und kortiko-spinalen Neuronen in L5a bei Lernprozessen

- Mithilfe der Calcium-Bildgebung neuronaler Verschaltungen in der Tiefe des Gehirns sind die schnellen Reaktionen der Aktivität einzelner Nervenzellen klar erkennbar.



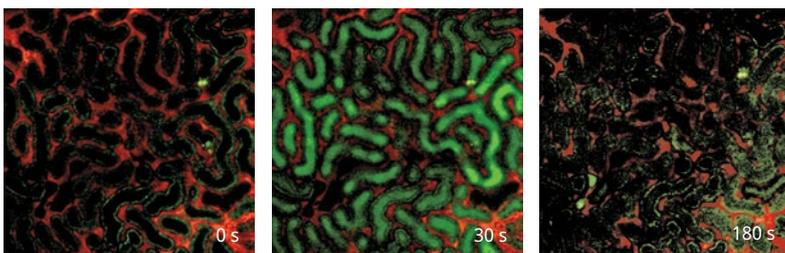
In einer Tiefe von 450 μm von der Hirnoberfläche In einer Tiefe von 500 μm von der Hirnoberfläche In einer Tiefe von 550 μm von der Hirnoberfläche

In-vivo-Bildgebung mit Zwei-Photonen-Anregung von gekreuzten kortikostriatalen Neuronen, die mit rAAV2/9-Syn-GCaMP3 im linken Vorderbein M1 während des Lernens einer motorischen Aufgabe transduziert wurden. In einer Tiefe von 450, 500 und 550 μm von der Hirnoberfläche. Maßstabsbalken: 20 μm.

Bildquelle: Yoshito Masamizu Ph.D., Yasuhiro R. Tanaka Ph.D., Masanori Matsuzaki Ph.D., Division of Brain Circuits, National Institute for Basic Biology
Literaturnachweis: *Nat Neurosci.* 2014 Jul; 17 (7): 987-94. doi: 10.1038/nn.3739. Epub 2014 Jun 1.

In-Vivo-Bildgebung eines Nephrons an der Nierenoberfläche

- Hochauflösende *In-vivo*-Bildgebung mit Zeitraffer und einer NA von 1,05.

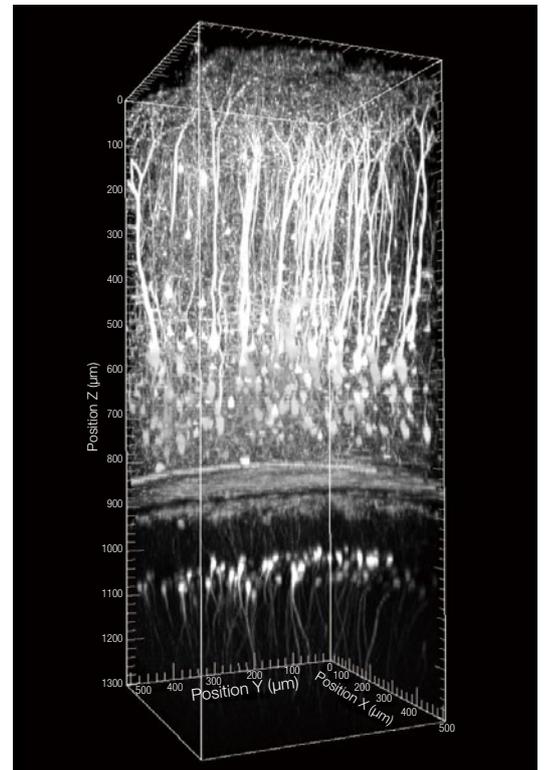


Zeitraffer-Bildgebung eines Fluoreszenzfarbstoffs (Lucifer Yellow, Green), der in ein Blutgefäß injiziert wurde, das frei durch den Glomerulus verläuft. Rot ist mit Rhodamin B markiertes 70 kD-Dextran zur Darstellung des Blutplasmastroms. Die Schatten im Blutplasma sind Blutzellen. Das grüne Signal zum Zeitpunkt 0 ist die Eigenfluoreszenz der proximalen Tubuluszelle.

Bildquelle: Daisuke Nakano Ph.D., Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Kagawa University
Literaturnachweis: *J Am Soc Nephrol.* 2015 Apr 8. pii: ASN.2014060577. [Digitale Vorabveröffentlichung vor Drucklegung]

Bildgebung tiefer Schichten des Mäusehirns

- Bildgebung eines Mäusehirns mit Objektiven mit hoher NA, 2-mm-Arbeitsabstand und optimaler Einstellung des Korrekturrings.



In-vivo-Z-Stapel-Bild von der Hirnoberfläche bis zum Stratum radiatum des Hippocampus (CA1) einer Maus unter Narkose.

Probe: Thy1-YFP-H-Linie, 8 Wochen alt, männlich, Anregungswellenlänge: 960 nm
Bildquelle: Katsuya Ozawa and Hajime Hirase, Neuron-Glia Circuitry, RIKEN Brain Science Institute, Japan

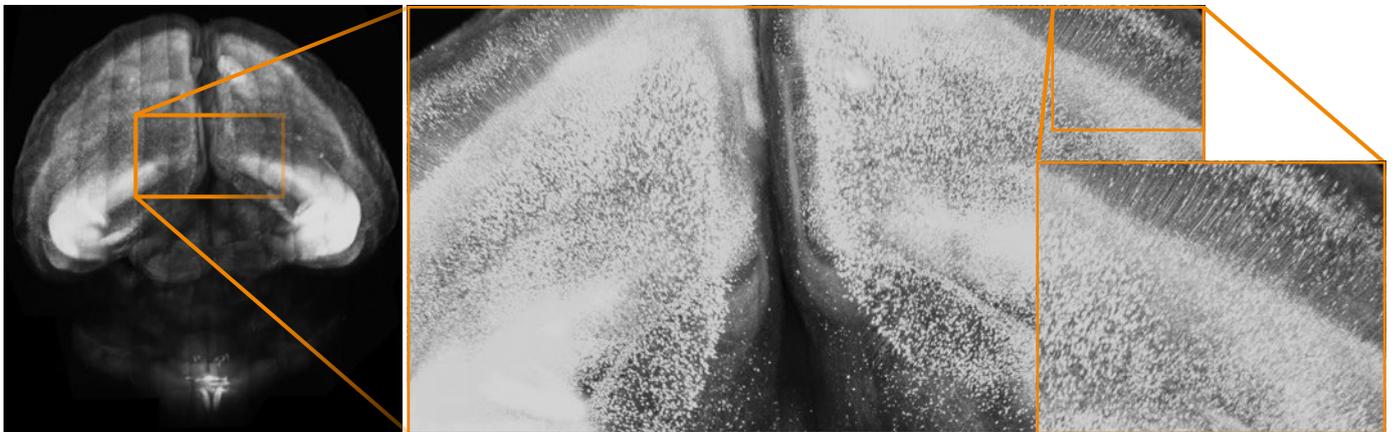
Betrachtung fixierter transparenter Proben bis zu einer Tiefe von 8 mm mit speziellen Objektiven für die Multiphotonen-Anregung

Unsere speziellen Objektive für die MPE unterstützen bahnbrechende Forschungsarbeiten zur Funktion des Gehirns und anderer lebenswichtiger Organe. Bis vor kurzem mussten Hirnforscher zur Verwendung von Lichtmikroskopen dünne Gewebeschnitte anfertigen. Dank spezieller Objektive für die MPE und Probenklärung sind nun Darstellungen bis in eine Tiefe von 8 mm möglich, ohne Schnitte anzufertigen. Die Objektive XLPLN25XSVP2 und XLSLPLN25XSVP2 sind für die Verwendung mit dem revolutionären Klärungsreagenz „Sca/eS“ konzipiert, das von Dr. Atsushi Miyawaki und seinem Team am RIKEN Brain Science Institute in Japan entwickelt wurde.* Die Objektive XLSLPLN25XGMP und XLPLN10XSVP unterstützen zahlreiche Reagenzien, darunter SeeDB, CLARITY und ScaleS, und ermöglichen es, so weit in die Tiefe zu blicken wie nie zuvor und Zusammenhänge im Gehirn und anderen Geweben zu erkennen.

*Online veröffentlicht in *Nature Neuroscience*: Hama et al. 30. Aug. 2011

Bildgebung eines kompletten Maushirns (XLPLN10XSVP)

- Großes Sehfeld mit 10-facher Vergrößerung, Einzelzellauflösung mit einer NA von 1,0 und Betrachtungen bis 8 mm.
- Die Objektive passen zu den Brechungsindizes eines breiten Spektrums an Klärungsreagenzien (ne: 1,33 – 1,52).



Gehirn einer 20 Wochen alten YFP-H-Maus, behandelt mit Sca/eS

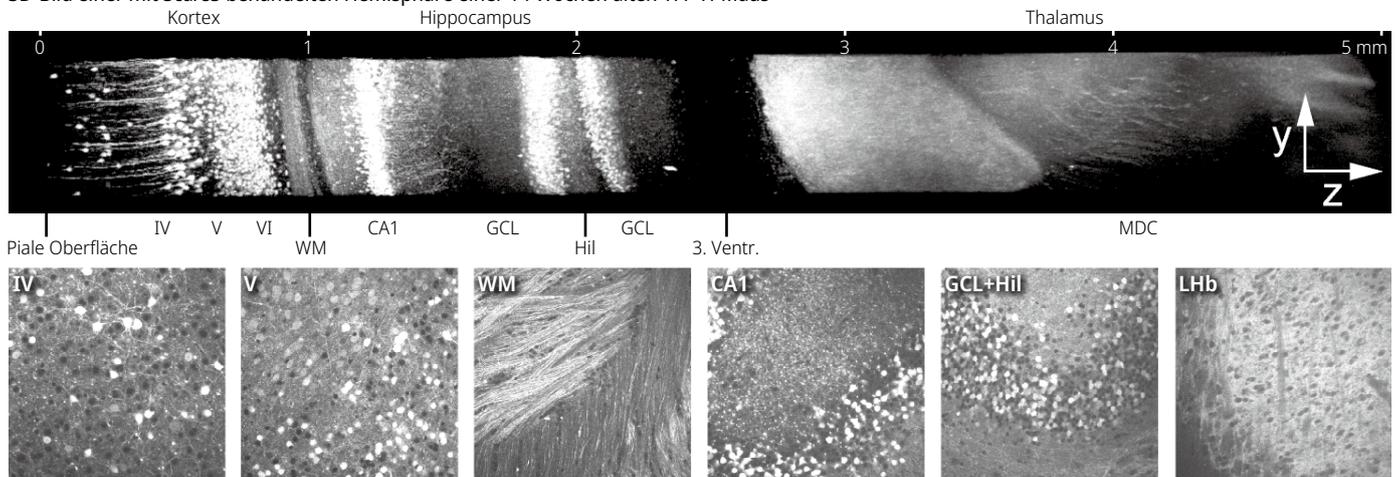
Bildquelle: Hiroshi Hama, Atsushi Miyawaki, Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Center for Brain Science

Einzelzellebene

Hochauflösende Tiefenbildgebung eines mit Sca/eS behandelten Mäusehirns (mit XLSLPLN25XGMP)

- Hochauflösende Tiefenbildgebung mit einer NA von 1,0 und 8-mm-Arbeitsabstand
- Objektive passend zum Brechungsindex der Klärungsreagenzien (ne: 1,41 – 1,52).

3D-Bild einer mit Sca/eS behandelten Hemisphäre einer 14 Wochen alten YFP-H-Maus



Ein Projektionsbild mit maximaler Leuchtdichte (oben). Sechs XY-Bilder an verschiedenen Z-Positionen (unten). WM: weiße Substanz; GCL: Körnerzellschicht, Hil: Hilus, LHb: Kern der lateralen Habenula, MDC: Kern des mediodorsalen Thalamus; Maßstabsbalken entspricht 0,1 mm.

Bildquelle: Hiroshi Hama, Atsushi Miyawaki, Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Center for Brain Science
Literaturnachweis: *Nat Neurosci*. 2015 Oct; 18 (10): 1518–29. doi: 10.1038/nn.4107. Epub 2015 Sep 14.

SilikonImmersionsojektive

Silikonimmersionsojektive sind für die Bildgebung von Lebzellen und Lebendgewebe optimiert. Durch die richtige Wahl des Brechungsindex werden die Bilder klarer und heller sowie Zeitraffer-Beobachtungen zuverlässiger und weniger komplex, da Silikonöl bei 37 °C nicht trocknet. Im Gegensatz zu Glycerin-Wasser-Gemischen bleibt der Brechungsindex von Silikonöl konstant, und die Auflösung ist höher als bei vergleichbaren Wasserobjektiven, was die Präzision von kritischen Zell- und Gewebemorphologie-Studien gewährleistet. Da der Brechungsindex von Silikonimmersionsöl ($n_e = 1,40$) dem des Klärungsreagenz SCALEVIEW-A2 ($n_e = 1,38$) nahe kommt, eignen sich Silikonimmersionsojektive auch für die Betrachtung von mit SCALEVIEW-A2 geklärten Proben.

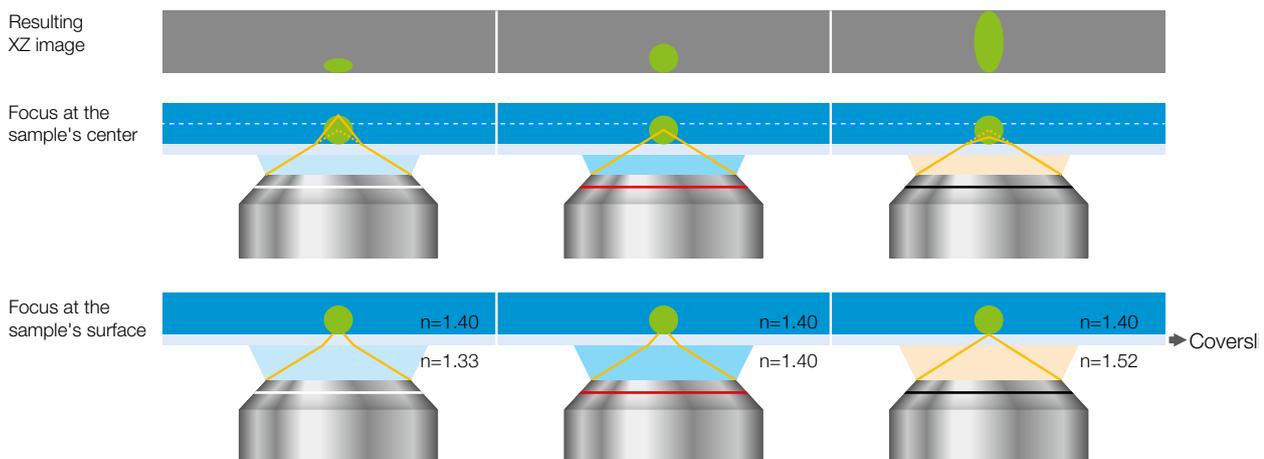


Silikonimmersionsojektive

	A.A. (mm)	Vergr.	OFN*	NA	Immersion	Anwendungen
UPLSAPO100XS	0,2	100X	22	1,35	Silikonöl	Hohe Auflösung für die subzelluläre Bildgebung
UPLSAPO60XS2	0,3	60X	22	1,30	Silikonöl	Hochauflösende Langzeit-Zeitraffer-Bildgebung von einzelnen Zellen
UPLSAPO40XS	0,3	40X	22	1,25	Silikonöl	Bildgebung mehrerer Zellen mit Auflösung im Submikrometerbereich
UPLSAPO30XS	0,8	30X	22	1,05	Silikonöl	Bildgebung tieferer Gewebeschichten mit einem breiten Sehfeld
UPLSAPO30XSIR	0,8	30X	22	1,05	Silikonöl	MPE-Bildgebung in tiefem Gewebe mit breiterem Sehfeld

*Maximale durch das Okular erreichbare Sehfeldzahl.

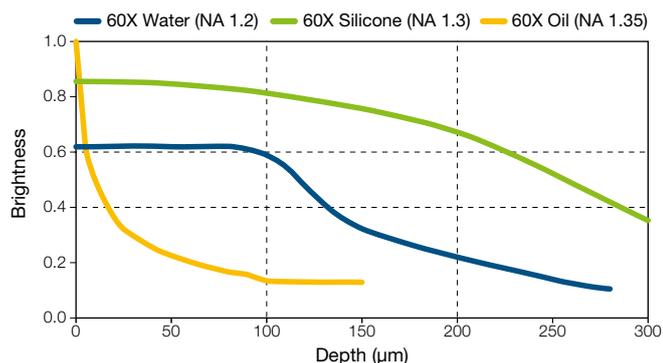
Auswirkungen unterschiedlicher Brechungsindizes auf die Probenform



Um genaue 3D-Bilder zu erhalten, ist es wichtig, dass die Brechungsindizes von Probe und Immersionsmedium annähernd gleich sind.

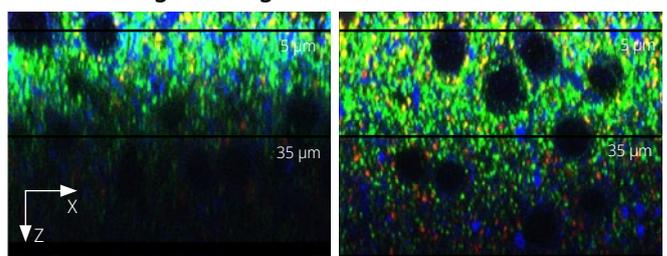
Vergleich der Helligkeit von 60X Objektiven

Normalisiert auf die Helligkeit des 60X Objektivs an der Oberfläche der Probe; Brechungsindex der Probe: 1,38.



bei einer bestimmten Vergrößerung in allen Fokustiefen heller als Wasserimmersionsojektive.

Vergleich von Silikon- und Ölimmersionsojektiven mit 60-facher Vergrößerung



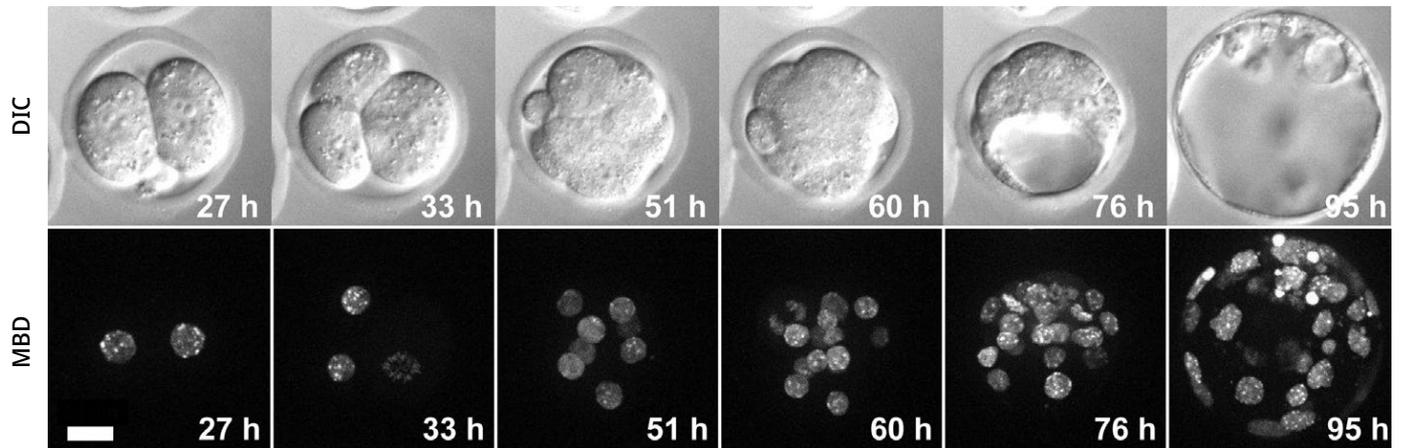
UPLSAPO 60XO (NA 1,3, A.A. 0,3 mm, Immersionsöl $n_e = 1,52$) UPLSAPO60XS2 (NA 1,3, A.A. 0,3 mm, Silikonöl $n_e = 1,4$)

Wenn die Brechungsindizes von Probe und Immersionsmedium annähernd gleich sind, ermöglicht das Silikonobjektiv (UPLSAPO60XS2) eine Bildgebung in tieferen Schichten. Probe: Mit Sca/e-A2 behandelter Neokortex, VGluT1/grün, VGluT2/rot, MAP2/blau

Bildquelle: Motokazu Uchigashima, M.D., Ph.D., Masahiko Watanabe, M.D., Ph.D., Department of Anatomy, Hokkaido University Graduate School of Medicine

Langzeit-Zeitraffer-Bildgebung eines lebenden Mausembryos (UPLSAPO60XS2)

- Hochauflösende Bildgebung mit einer NA von 1,30; 3D-Bildgebung mit 0,3-mm-Arbeitsabstand
- Langzeit-Zeitraffer-Bildgebung mit stabilem Silikonimmersionsöl.

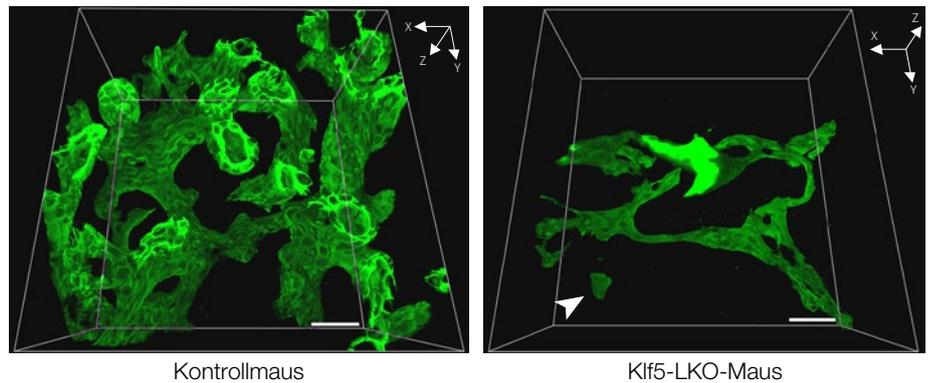


Langzeit-Zeitraffer-Aufnahmen eines lebenden Mausembryos. Die Bilder wurden stündlich vom Zygoten (0 h) bis zum Blastozystenstadium (119 h) aufgenommen. mCherry-fusionierte Methyl-CpG-Bindungsdomäne (MBD) des MBD1-Proteins. Aufnahme der Bilder mit dem UPLSAPO60XS Silikonimmersionsobjektiv. Maßstabsbalken: 20 μ m.

Bildquelle: Kazuo Yamagata Ph.D., Faculty of Biology-Oriented Science and Technology, Kinki University
Literaturnachweis: *Stem Cell Reports*. 2014 Jun 3; 2 (6): 910-924.

Dreidimensionale Beobachtung von Gallengangstrukturen in der Mäuseleber mit einem 30X Objektiv (UPLSAPO30XS)

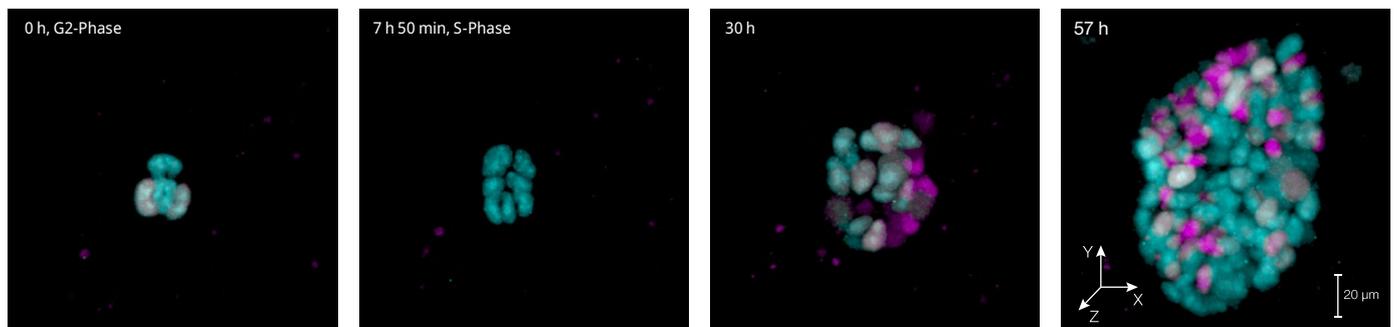
Zur Aufnahme dreidimensionaler Bilder mit höherer Auflösung wurde das FLUOVIEW Konfokalmikroskop mit einem 30X Silikonölimmersionsoobjektiv (UPLSAPO30XS: NA: 1,05, A.A.: 0,8 mm) verwendet, um tomografische Serienbilder (Z-Achsenabstand: 1 μ m) von Gallengewebe (grün, Gallenepithelzellmarker CK19) in 200 μ m dickem Lebergewebe aufzunehmen; die Klärung erfolgte mit SeeDB. Diese Kombination ermöglichte eine hochauflösende Betrachtung der Gallenwege von Kontroll- und Klf5-LKO-Mäusen unter Beibehaltung eines weiten Sehfeldes. In der Klf5-LKO-Maus waren CK19+-Zellcluster (weißer Pfeil) zu erkennen, die räumlich von den Gallenwegen getrennt waren.



Bildquelle: Asako Sakaue-Sawano, Atsushi Miyawaki, RIKEN Brain Science Institute Laboratory for Cell Function Dynamics
Literaturnachweis: *Development*. 2013 Nov; 140 (22): 4624-32. doi: 10.1242/dev.099226. Epub 2013 Oct 23.

Zeitraffer-Bildaufnahme von undifferenzierten ES-Zellen (UPLSAPO30XS)

- Zeitrafferbetrachtung von mit Fucci (CA) 2.1 markierten Maus-ES-Zellen



Undifferenzierte embryonale Stammzellen (ES) vermehren sich rasch und sind sehr empfindlich. Die Fototoxizität während der Zeitrafferbildaufnahmen kann ES-Zellen schädigen und ihre Proliferationsgeschwindigkeit verringern. Daher ist es schwierig, Zeitrafferbilder von ES-Zellen unter physiologisch genauen Bedingungen durchzuführen. Das FLUOVIEW Mikroskop ermöglicht aufgrund des hocheffizienten Lichtweges und der empfindlichen Detektionsgeräte den Einsatz einer extrem niedrigen Laserstärke mit geringer Fototoxizität für Zeitrafferaufnahmen. Dank dieser Eigenschaften konnte eine Forschungsgruppe einen Versuch mit Zeitrafferaufnahmen über 57 Stunden durchführen und so drei normale Zellzyklen sich schnell teilender, undifferenzierter ES-Zellen vollständig erfassen.

Bildquelle: Dr. Masahiro Yo, Dr. Asako Sakaue-Sawano und Dr. Atsushi Miyawaki (Teamleiter), Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Center for Brain Science

Hochauflösende Objektive für Super Resolution/TIRF

Eine hohe NA ist wichtig für die Super-Resolution- oder TIRF(Total Internal Reflection Fluorescence)-Mikroskopie. Evident ist führend auf dem Gebiet der TIRF-Mikroskopie und bietet zahlreiche Objektiven mit numerischen Aperturen von 1,45 bis zur weltweit höchsten NA von 1,7*¹ sowie Vergrößerungen von 60X bis 150X. Als Reaktion auf technologische Fortschritte wie die Super Resolution und großformatige Bildgebung mit sCMOS-Kameras haben wir eine innovative Linsenfertigungstechnologie zur Herstellung des weltweit ersten plan-korrigierten Apochromat-Objektivs mit einer NA von 1,5*² entwickelt. Diese Objektive liefern eine gleichmäßige Bildqualität bei einem großen Sehfeld und ermöglichen die Aufnahme qualitativ hochwertiger Rohbilder.

*1 Stand: 4. Oktober 2018. Daten aus der Evident Forschung.

*2 Stand: 4. Oktober 2018. Daten aus der Evident-Forschung; Objektivlinse mit normalem Immersionsöl (Brechungsindex $n_e = 1,518$).



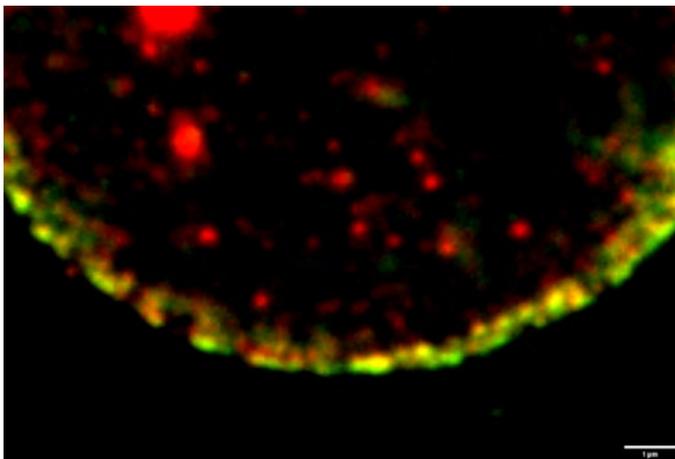
Hochauflösende Objektive für Super Resolution und TIRF

	A.A. (mm)	Vergr.	OFN* ³	NA	Immersion	Anwendungen
UPLAPO60XOHR	0,11	60X	22	1,50	Öl	Ganzzell-TIRF-Bildgebung, Super-Resolution-Bildgebung von Lebendzellen in Echtzeit, Super-Resolution-Bildgebung von winzigen Strukturen, z. B. Organellen
UPLAPO100XOHR	0,12	100X	22	1,50	Öl	Super-Resolution-Bildgebung von Lebendzellen in Echtzeit, Super-Resolution-Bildgebung von winzigen Strukturen, z. B. Organellen, Bildgebung mit hoher Auflösung von Zellmembranen oder subzellulären Organellen und Experimente auf Einzelmolekülebene
APON100XHOTIRF	0,08	100X	22	1,70	Spezialöl	Beobachtung der Bewegung von Proteinen oder Vesikeln auf Einzelmolekülebene
UAPON150XOTIRF	0,08	150X	22	1,45	Öl	Subzelluläre Bildgebung (z. B. Organelle, endoplasmatisches Retikulum und intrazellulärer Vesikeltransport)

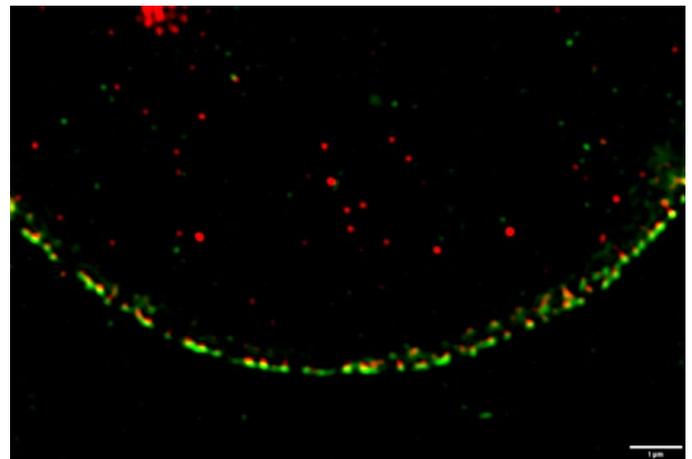
*³ Maximale durch das Okular erreichbare Sehfeldzahl.

Super-Resolution-Bildgebung in Echtzeit

- Kombination der Objektive UPLAPO60XOHR und UPLAPO100XOHR mit dem konfokalen SpinSR10 Super-Resolution-System mit konfokaler Spinning-Disk-Technologie.
- Das SpinSR10 System nimmt schnell hochauflösende Bilder auf und zeigt sie mit bis zu 120 nm XY-Auflösung an.



Konfokales Bild



Super-Resolution-Bild

Grün: Alexa488-markiertes Nup358, lokalisiert auf der Zytoplasma-Oberfläche des Kernporenkomplexes.
 Rot: Alexa555-markiertes Nup62, lokalisiert im Zentralkörper des Kernporenkomplexes.
 Die Lokalisierung von Nup358 und Nup62 kann durch die Super-Resolution-Technik unterschieden werden.
 *Kernporenkomplex einer HeLa-Zelle.

Bildquelle: Hidetaka Kosako, Fujii Memorial Institute of Medical Sciences, Tokushima University

Einzelmolekül-Fluoreszenz-Bildgebung zur Bestimmung der Untereinheiten eines Transmembran-Ionenkanal-Komplexes (APON100XHOTIRF)

- Einzelmolekül-TIRF-Bildgebung mit hochauflösenden, hellen Bildern und einer NA von 1,70.

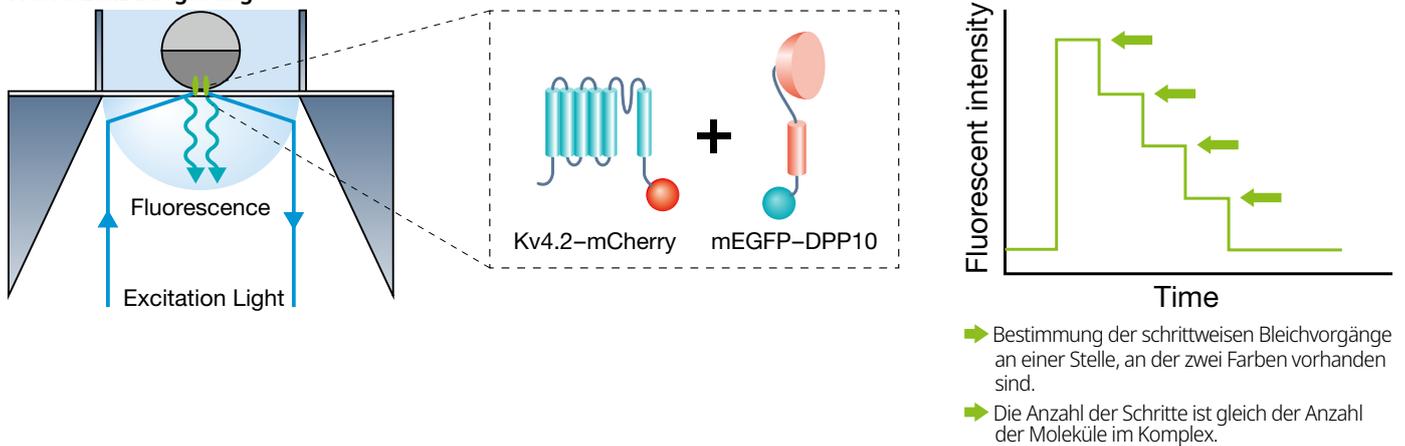
Die Bestimmung der Untereinheiten im Rahmen der Studie erforderte ein kontinuierliches Fluoreszenz-Photobleaching von Proteinen (Untereinheiten), die mit einem fluoreszierenden Protein markiert waren, z. B. Monomer-verstärktem grün fluoreszierendem Protein (mEGFP). Das Photobleaching erfolgte mit einem Anregungslaser für etwa 10 Sekunden. Der Prozess wurde mit Hilfe der Einzelmolekül-Fluoreszenz-Bildgebung in Echtzeit überwacht. Auf der Einzelmolekülebene erfolgt das Fluoreszenz-Photobleaching schrittweise in Abhängigkeit von der Anzahl der fluoreszierenden Moleküle. Daher kann die Anzahl der DPP10-Moleküle durch Zählen der schrittweisen Photobleaching-Ereignisse an den Stellen bestimmt werden, an denen sowohl Kv4.2-mCherry als auch mEGFP-DPP10 vorhanden sind. Mit der weltweit höchsten NA*² des APON100XHOTIRF Objektivs können Forscher die durch Einzelmolekül-Photobleaching verursachte Änderung der Fluoreszenzintensität messen. Diese Studie*³ ergab, dass maximal vier Moleküle der DPP10-Untereinheiten mit dem Ionenkanal Kv4.2 einen Komplex bilden.

*1 Ulbrich, MH und Isacoff EY. „Subunit counting in membrane-bound proteins.“ *Nature Methods*, 4 (2007): 319–321.

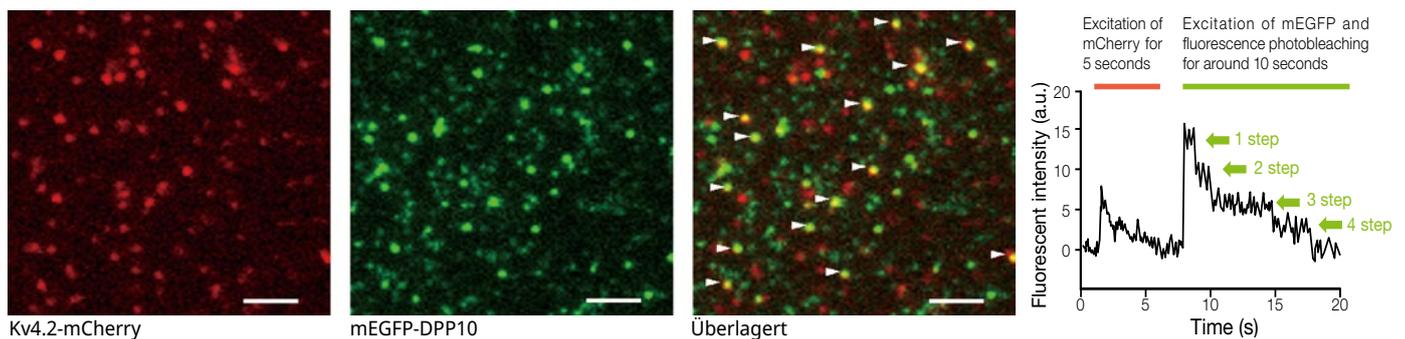
*2 Stand: 4. Oktober 2018. Daten aus der Evident Forschung.

*3 Kitazawa M, Kubo Y, Nakajo K. „Kv4.2 and accessory dipeptidyl peptidase-like protein 10 (DPP10) subunit preferentially form a 4:2 (Kv4.2:DPP10) channel complex.“ *J Biol Chem*, 290 (2015): 22724–22733.

Schematische Darstellung der Bestimmung der Untereinheiten eines Transmembran-Ionenkanal-Komplexes mit Einzelmolekül-Fluoreszenz-Bildgebung



Bestimmung der Untereinheiten-Stöchiometrie des Kv4.10-DPP2-Kanalkomplexes durch Bestimmung der Untereinheiten



Die Lokalisierung von Kv4.2-mCherry wird durch Anregung von mCherry in den ersten fünf Sekunden sichtbar gemacht, gefolgt von der Anregung von mEGFP in den nächsten 10 Sekunden, um dessen Lokalisierung und das kontinuierliche Fluoreszenz-Photobleaching zu visualisieren. Stellen, an denen das Photobleaching von mEGFP in maximal 4 Schritten erfolgte, wurden durch grafische Darstellung der Änderung der Fluoreszenzintensität genau dort, wo zwei Farben fluoreszierender Moleküle vorhanden waren (weiße Pfeilspitze), identifiziert. So wurde festgestellt, dass maximal vier Moleküle von mEGFP-DPP10 in den Kv4.2-Ionenkanalkomplexen gebunden waren. Maßstabsbalken: 20 μ m.

Bildquelle: Masahiro Kitazawa, Ph.D., Yoshihiro Kubo, M.D., Ph.D., Division of Biophysics and Neurobiology, Department of Molecular Physiology, National Institute for Physiological Sciences
Koichi Nakajo, Ph.D., Department of Physiology, Osaka Medical College

Überkorrigiertes Objektiv

Sind Ihre Fluoreszenzsignale wirklich kolokalisiert? Um diese Frage mittels Standard-Fluoreszenzmikroskopie zu beantworten, ist ein hervorragendes optisches Design erforderlich, das die Farbverschiebungen (Aberration), die beim Durchgang des Lichts durch ein Objektiv auftreten, korrigiert. Zwei oder drei Farben sind für solche Darstellungen immer häufiger nicht ausreichend. Das überkorrigierte 60X OSC Objektiv korrigiert ein breites Spektrum von Farbabweichungen und liefert Bilder, die Fluoreszenz an der richtigen Stelle erfassen. Sparen Sie Zeit und Ressourcen bei Markierungsexperimenten mit mehreren Farben, ohne dass nach der Verarbeitung Anpassungen erforderlich werden.



PLAPON60XOSC2

A.A. (mm)	0,12
Vergr.	60X
OFN*	22
NA	1,40
Immersion	Öl

*Maximale durch das Okular erreichbare Sehfeldzahl.

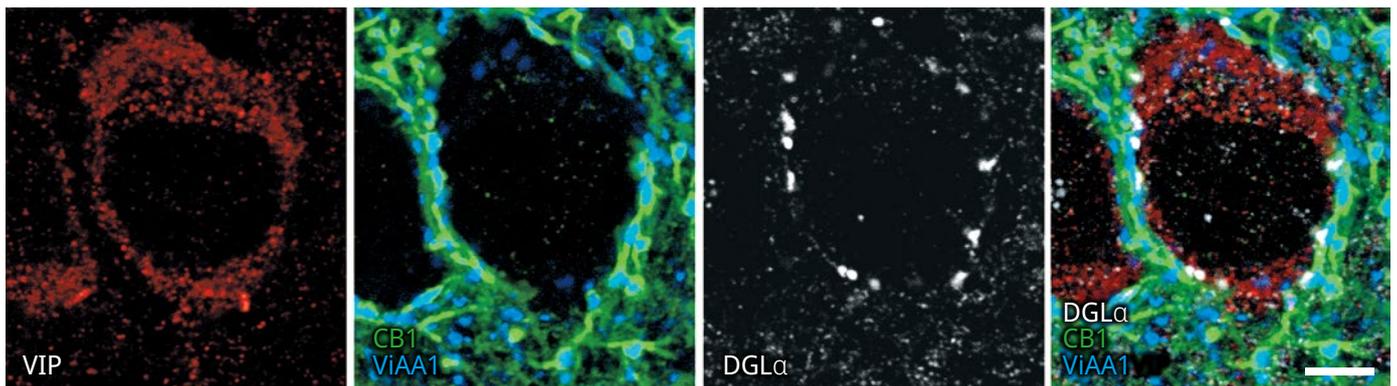
Das PLAPON60XOSC2 Ölimmersionsobjektiv mit hoher NA minimiert die chromatische Aberration im Bereich 405–650 nm für eine verbesserte Bildgebungsleistung und Bildauflösung bei 405 nm. Das Objektiv besitzt eine hohe Korrektur für axiale und laterale chromatische Aberration und kann daher 2D- und 3D-Bilder mit ausgezeichneter Zuverlässigkeit, Genauigkeit und verbesserter Kolokalisationsanalyse erfassen. Das Objektiv kompensiert auch die chromatische Aberration im nahen Infrarotbereich bis 850 nm.

Vergleich der Leistung von PLAPON60XOSC2 und UPLXAPO60XO		
	UPLXAPO60XO	PLAPON60XOSC2
Vertikale chromatische Aberration auf der Achse (Z-Richtung)	 ca. 0,2 µm	 ca. 0 µm
Außeraxiale laterale chromatische Aberration (X-Y-Richtung)	 ca. 0,15 µm	 ca. 0,05 µm

Vergleich der mit dem FLUOVIEW Mikroskop gemessenen chromatischen Aberration mit TetraSpeck Microsphere. Cyan: Anregung bei 405 nm, Magenta: Anregung bei 640 nm.

Vierfach-Immunfluoreszenz von Hirngewebe

- Verbesserte Erkennungsempfindlichkeit und Auflösung.
- Minimiert chromatische Aberrationen, ideal für Immunfluoreszenzanwendungen.



Vierfach-Immunfluoreszenz für mehrere funktionelle Moleküle und Zellmarker kann detaillierte Informationen über Zellexpression und subzelluläre Lokalisierung liefern, zum Beispiel über die wechselseitige oder unabhängige Beziehung zwischen verwandten funktionellen Zellen und über interzelluläre räumliche Abstände. ViAA1 (Alexa Fluor405, blau), CB1 (Alexa Fluor488, grün), VIP (Cy3, rot) und DGLα (Alexa Fluor 647, weiß). Maßstabsbalken: 5 µm.

Bildquelle: Masahiko Watanabe, M.D., Ph.D., Department of Anatomy, Hokkaido University Graduate School of Medicine
Literaturnachweis: *J Neurosci.* 2015 Mar 11; 35 (10): 4215–28. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4681-14.2015.

Zeitersparnis bei der Bildgebung mit Platten und Schalen mit Kunststoffboden

Experimente sind wichtig, aber jeder zusätzlich erforderliche Schritt kostet wertvolle Forschungszeit. Die Untersuchung von Gewebekulturen mit Phasenkontrast- und Fluoreszenzbildgebung und der Erhalt zuverlässiger Expressionsniveaus von Fluoreszenzproteinen bedeutete bisher oft, dass Gewebe zunächst in Schalen mit Kunststoffboden kultiviert werden musste, in denen eine Adhärenz gewährleistet ist, und die Kultur dann für die Bildgebung in Glaskammern überführt wurde. Mit dem UCPLFLN20XPH Objektiv können Sie den Schritt des erneuten Ausplattierens von Zellen in Glaskammern überspringen. Das UCPLFLN20XPH Objektiv wurde sowohl für die Fluoreszenz- als auch für die Phasenkontrast-Mikroskopie von Gewebe in Schalen mit Kunststoffboden entwickelt und verbessert somit den Arbeitsablauf. Dank der hohen NA sind die Bilder über das große Sehfeld des Objektivs hell und gleichmäßig, und mit dem Korrekturring und dem großen Arbeitsabstand lassen sich die Bilder für verschiedene Zellkulturgefäße optimieren.



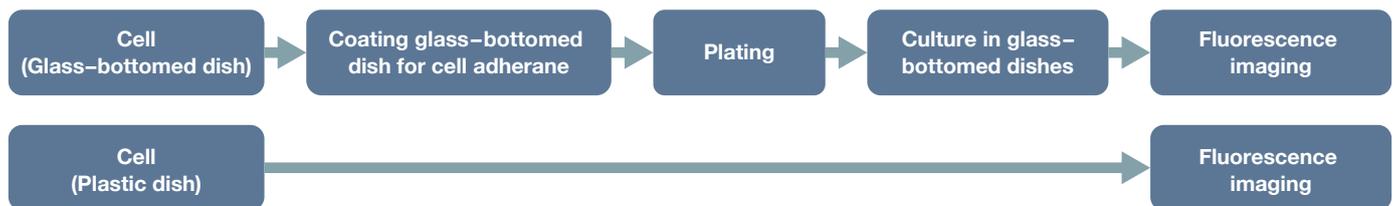
UCPLFLN20XPH

A.A. (mm)	0,8-1,8
Vergr.	20X
OFN*	22
NA	0,70
Immersion	Trocken

*Maximale durch das Okular erreichbare Sehfeldzahl.

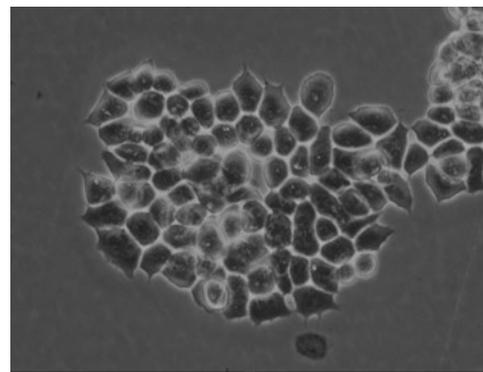
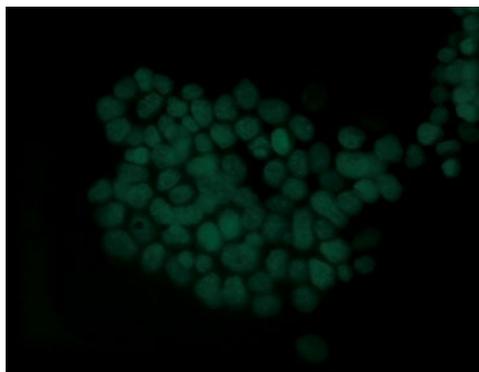
Verbesserung des Zellkultur-Ablaufs

- Vereinfachter Ablauf für die Fluoreszenz-Mikroskopie.
- Kein Subkultivieren mit einem zusätzlichen Beschichtungsschritt mehr erforderlich.

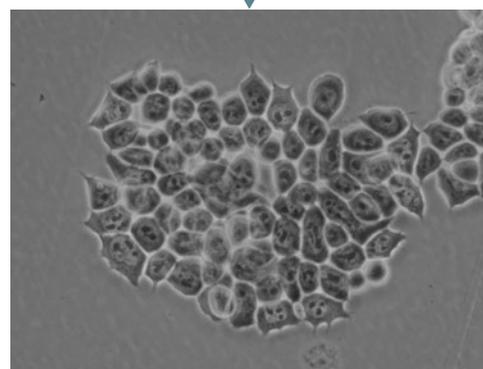
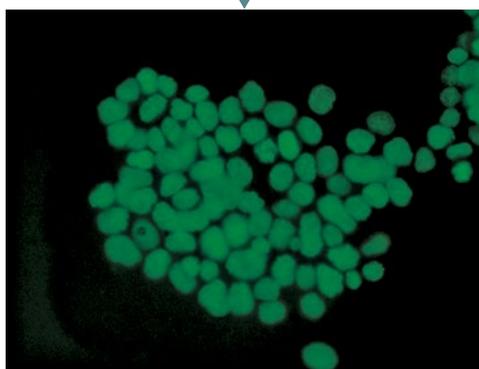


GFP-H2B exprimierende ES-Zellen in einer 35-mm-Zellkulturschale mit Kunststoffboden

LUCPLFLN20XPH
(NA 0,45)



UCPLFLN20XPH
(NA 0,7)



Fluoreszenzbild

Phasenkontrastbild

Die Darstellung von Histonen in den Kernen mit heller Fluoreszenz (GFP-H2B) und die Phasenkontrastdarstellung der Nukleoli sind mit hohem Detailgrad möglich.

Bildquelle: Tomonobu Watanabe, Ph.D., Laboratory for Comprehensive Bioimaging, RIKEN Quantitative Biology Center

Immersionsöle

Immersionsöl mit geringer Eigenfluoreszenz



IMMOIL-F30CC

- 1/10 der Eigenfluoreszenz im Vergleich zu Standardöl
- Geruchsarm – SDB verfügbar

Silikon-Immersionsöl



SIL300CS-30SC

- Brechungsindex: $n_e = 1,406$ bei 23 °C
- Netto: 30 ml
- Geringe Eigenfluoreszenz

Liste der Referenzartikel zu A Line Objektiven

Spezielle Objektiv für die MPE

Nat Immunol. 2019 Feb; 20(2): 141-151. doi: 10.1038/s41590-018-0293-x. Epub 2019 Jan 14. „A noncanonical role for the engulfment gene ELMO1 in neutrophils that promotes inflammatory arthritis.“ Arandjelovic S, Perry JSA, Lucas CD, Penberthy KK, Kim TH, Zhou M, Rosen DA, Chuang TY, Bettina AM, Shankman LS, Cohen AH, Gaultier A, Conrads TP, Kim M, Elliott MR, Ravichandran KS.

Nature. 2019 Jan; 565(7739): 366-371. doi: 10.1038/s41586-018-0812-9. Epub 2018 Dec 31. „Tissue-resident memory CD8+ T cells promote melanoma-immune equilibrium in skin.“ Park SL, Buzzai A, Rautela J, Hor JL, Hochheiser K, Effern M, McBain N, Wagner T, Edwards J, McConville R, Wilmott JS, Scolyer RA, Tüting T, Palendria U, Gyorki D, Mueller SN, Huntington ND, Bedoui S, Hölzel M, Mackay LK, Waithman J, Gebhardt T.

Immunity. 2018 Oct 16; 49(4): 654-665.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2018.07.014. Epub 2018 Sep 25. „A Metabolism-Resposed Quorum Sensing Mechanism Contributes to Termination of Inflammatory Responses.“ Postat J, Olekhnovitch R, Lemaître F, Bousso P.

Neuron. 2018 Oct 10; 100(1): 244-258.e12. doi: 10.1016/j.neuron.2018.08.016. Epub 2018 Aug 30. „Thalamocortical Axonal Activity in Motor Cortex Exhibits Layer-Specific Dynamics during Motor Learning.“ Tanaka YH, Tanaka YR, Kondo M, Terada SI, Kawaguchi Y, Matsuzaki M.

Cell Metab. 2018 Jul 3; 28(1): 69-86.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2018.06.006. „Targeting Breast Cancer Stem Cell State Equilibrium through Modulation of Redox Signaling.“ Luo M, Shang L, Brooks MD, Jiagge E, Zhu Y, Buschhaus JM, Conley S, Fath MA, Davis A, Gheorghesescu E, Wang Y, Harouaka R, Lozier A, Triner D, McDermott S, Merajver SD, Luker GD, Spitz DR, Wicha MS.

Cancer Cell. 2018 May 14; 33(5): 937-948.e8. doi: 10.1016/j.ccr.2018.03.021. Epub 2018 Apr 19. „Germline Genetic IKZF1 Variation and Predisposition to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia.“ Churchill ML, Qian M, Te Kronnie G, Zhang R, Yang W, Zhang H, Lana T, Tedrick P, Baskin R, Verbit K, Peters JL, Devidas M, Larsen E, Moore JM, Gu Z, Qu C, Yoshihara H, Porter SN, Pruett-Miller SM, Wu G, Raetz E, Martin PL, Bowman WP, Winick N, Mardis E, Fulton R, Stanulla M, Evans WE, Relling MV, Pui CH, Hunger SP, Loh ML, Handgretinger R, Nichols KE, Yang JJ, Mullighan CG.

Biochem Biophys Res Commun. 2018 Jun 2; 500(2): 236-241. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.049. Epub 2018 Apr 18. „A spherical aberration-free microscopy system for live brain imaging.“ Ue Y, Monai H, Higuchi K, Nishiwaki D, Tajima T, Okazaki K, Hama H, Hirase H, Miyawaki A.

Nat Neurosci. 2018 Apr; 21(4): 625-637. doi: 10.1038/s41593-018-0109-1. Epub 2018 Mar 5. „A three-dimensional single-cell-resolution whole-brain atlas using CUBIC-X expansion microscopy and tissue clearing.“ Murakami TC, Mano T, Saikawa S, Horiguchi SA, Shigetani D, Baba K, Sekiya H, Shimizu Y, Tanaka KF, Kiyonari H, Iino M, Mochizuki H, Tainaka K, Ueda HR.

Science. 2018 Mar 30; 359(6383): 1524-1527. doi: 10.1126/science.aao0702. Epub 2018 Feb 8. „Hippocampal ripples down-regulate synapses.“ Norimoto H, Makino K, Gao M, Shikano Y, Okamoto K, Ishikawa T, Sasaki T, Hioki H, Fujisawa S, Ikegaya Y.

Silikonimmersionsobjektive

PLoS Biol. 2018 Sep 26; 16(9): e2004874. doi: 10.1371/journal.pbio.2004874. eCollection 2018 Sep. „mDia1/3 generate cortical F-actin meshwork in Sertoli cells that is continuous with contractile F-actin bundles and indispensable for spermatogenesis and male fertility.“ Sakamoto S, Thumkeo D, Ohta H, Zhang Z, Huang S, Kanchanawong P, Fuu T, Watanabe S, Shimada K, Fujihara Y, Yoshida S, Ikawa M, Watanabe N, Saitou M, Narumiya S.

Cell. 2018 Jul 12; 174(2): 481-496.e19. doi: 10.1016/j.cell.2018.06.042. „A Genetically Encoded Fluorescent Sensor Enables Rapid and Specific Detection of Dopamine in Flies, Fish, and Mice.“ Sun F, Zeng J, Jing M, Zhou J, Feng J, Owen SF, Luo Y, Li F, Wang H, Yamaguchi T, Yong Z, Gao Y, Peng W, Wang L, Zhang S, Du J, Lin D, Xu M, Kreitzer AC, Cui G, Li Y.

J Neurosci. 2018 May 2; 38(18): 4329-4347. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3644-17.2018. Epub 2018 Apr 24. „GABAergic Local Interneurons Shape Female Fruit Fly Response to Mating Songs.“ Yamada D, Ishimoto H, Li X, Kohashi T, Ishikawa Y, Kamikouchi A.

Dev Cell. 2018 Mar 12; 44(5): 611-623.e7. doi: 10.1016/j.devcel.2018.01.020. Epub 2018 Feb 22. „Activation of the Notch Signaling Pathway In Vivo Elicits Changes in CSL Nuclear Dynamics.“ Gomez-Lamarca MJ, Faló-Sanjuán J, Stojnic R, Abdul Rehman S, Muresan L, Jones ML, Pillidge Z, Cerda-Moya G, Yuan Z, Balou S, Valenti P, Bystrycky K, Payne F, O'Holleran K, Kovall R, Bray SJ.

Development. 2018 Mar 1; 145(5): pii: dev154617. doi: 10.1242/dev.154617. „An evolutionarily conserved NIMA-related kinase directs rhizoid tip growth in the basal land plant *Marchantia polymorpha*.“ Otani K, Ishizaki K, Nishihama R, Takatani S, Kohchi T, Takahashi T, Motose H.

Hochauflösende Objektiv für Super Resolution und TIRF

Cell. 2018 Nov 15; 175(5): 1430-1442.e17. doi: 10.1016/j.cell.2018.09.057. Epub 2018 Oct 25. „Visualizing Intracellular Organelle and Cytoskeletal Interactions at Nanoscale Resolution on Millisecond Timescales.“ Guo Y, Li D, Zhang S, Yang Y, Liu JJ, Wang X, Liu C, Milkic DE, Moore RP, Tulu US, Kiehart DP, Hu J, Lippincott-Schwartz J, Betzig E, Li D.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Oct 9; 115(41): 10363-10368. doi: 10.1073/pnas.1806727115. Epub 2018 Sep 25. „The Atg2-Atg18 complex tethers pre-autophagosomal membranes to the endoplasmic reticulum for autophagosome formation.“ Kotani T, Kirisako H, Koizumi M, Ohsumi Y, Nakatogawa H.

Nat Cell Biol. 2018 Oct; 20(10): 1118-1125. doi: 10.1038/s41556-018-0192-2. Epub 2018 Sep 17. „Single particle trajectories reveal active endoplasmic reticulum luminal flow.“ Holcman D, Parutto P, Chambers JE, Fantham M, Young LJ, Marciniak SJ, Kaminski CF, Ron D, Avezov E.

Nature. 2018 Sep; 561(7721): 63-69. doi: 10.1038/s41586-018-0466-7. Epub 2018 Aug 29. „Role of glutamine synthetase in angiogenesis beyond glutamine synthesis.“ Eelen G, Dubois C, Cantelmo AR, Goveia J, Brünig U, DeRan M, Jarugumilli G, van Rijsel J, Saladino G, Comitani F, Zecchin A, Rocha S, Chen R, Huang H, Vandekerke S, Kalucka J, Lange C, Morales-Rodriguez F, Cruys B, Treps L, Ramer L, Vinckier S, Brepoels K, Wyns S, Souffreau J, Schoonjans L, Lamers WH, Wu Y, Haestraete J, Hofkens J, Liekens S, Cubbon R, Ghesquière B, Dewerchin M, Gervasio FL, Li X, van Buul JD, Wu X8, Carmeliet P.

Nat Methods. 2018 Jun; 15(6): 425-428. doi: 10.1038/s41592-018-0004-4. Epub 2018 May 7. „Single-shot super-resolution total internal reflection fluorescence microscopy.“ Guo M, Chandris P, Giannini J, Trexler AJ, Fischer R, Chen J, Vishwasrao HD, Rey-Suarez I, Wu Y, Wu X, Waterman CM, Patterson GH, Upadhyaya A, Taraska JW, Shroff H.

Cell Host Microbe. 2018 Jun 13; 23(6): 786-795.e5. doi: 10.1016/j.chom.2018.05.006. „The Listeriolysin O PEST-like Sequence Co-opts AP-2-Mediated Endocytosis to Prevent Plasma Membrane Damage during Listeria Infection.“ Chen C, Nguyen BN, Mitchell G, Margolis SR, Ma D, Portnoy DA.

Nat Biotechnol. 2018 Jun; 36(5): 451-459. doi: 10.1038/nbt.4115. Epub 2018 Apr 11. „Fast, long-term, super-resolution imaging with Hessian structured illumination microscopy.“ Huang X, Fan J, Li L, Liu H, Wu R, Wu Y, Wei L, Mao H, Lal A, Xi P, Tang L, Zhang Y, Liu Y, Tan S, Chen L.

Nat Chem Biol. 2018 May; 14(5): 497-506. doi: 10.1038/s41589-018-0032-5. Epub 2018 Apr 2. „Super-long single-molecule tracking reveals dynamic-anchorage-induced integrin function.“ Tsunoyama TA, Watanabe Y, Goto J, Naito K, Kasai RS, Suzuki KGN, Fujiwara TK, Kusumi A.

Überkorrigiertes 60X Objektiv

Mol Cell. 2018 Jul 5; 71(1): 25-41.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.018. Epub 2018 Jun 21. „Histone Methylation by SETD1A Protects Nascent DNA through the Nucleosome Chaperone Activity of FANCD2.“ Higgs MR, Sato K, Reynolds JJ, Begum S, Bayley R, Goula A, Vernet A, Paquin KL, Skalkin DG, Kobayashi W, Takata M, Howlett NG, Kurumizaka H, Kimura H, Stewart GS.

Nat Commun. 2018 Apr 11; 9(1): 1400. doi: 10.1038/s41467-018-03845-1. „Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration.“ Harada A, Maehara K, Ono Y, Taguchi H, Yoshioka K, Kitajima Y, Xie Y, Sato Y, Iwasaki T, Nogami J, Okada S, Komatsu T, Semba Y, Takemoto T, Kimura H, Kurumizaka H, Ohkawa Y.

Unser Online-Tool erleichtert die Wahl des richtigen Objektivs:

olympus-lifescience.com/objective-finder

- **EVIDENT CORPORATION ist nach ISO 14001 zertifiziert.**
Einzelheiten zur Registrierung der Zertifizierung finden Sie unter <https://www.olympus-lifescience.com/en/support/iso/>
- **EVIDENT CORPORATION ist nach ISO 9001 zertifiziert.**

• Alle Unternehmens- und Produktbezeichnungen sind eingetragene Marken bzw. Marken der jeweiligen Inhaber.
• Der Hersteller behält sich das Recht vor, technische Daten und Design ohne Vorankündigung oder Verpflichtung zu ändern.
• Beleuchtungseinrichtungen für Mikroskope haben eine empfohlene Lebensdauer. Darum sind regelmäßige Prüfungen erforderlich. Einzelheiten dazu finden Sie auf unserer Website.

EvidentScientific.com

EVIDENT

EVIDENT CORPORATION

Shinjuku Monolith, 2-3-1 Nishi-Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokio 163-0910, Japan

OLYMPUS

N8600506-102023