

Objetivos dedicados a la aplicación



Avance su investigación



Objetivos para una investigación innovadora

Secundada por su rica historia en diseño óptico, Evident desarrolla objetivos de alta calidad para aplicaciones avanzadas de ciencias de la vida. Trabajamos arduamente con nuestros clientes para crear productos innovadores que satisfagan las necesidades específicas y evolutivas de los investigadores en el terreno.

Nuestro compromiso con las tecnologías ópticas innovadoras se demuestra en nuestros objetivos dedicados a la excitación multifotónica, cuyo desarrollo sobrevino para cubrir la necesidad creciente de observación profunda de tejidos en la investigación de ciencias de la vida. En el momento que nuestros clientes requirieron un sistema óptico diseñado para el procesamiento de imágenes 3D de células vivas e *in vivo*, nosotros desarrollamos objetivos de inmersión en aceite de silicona que permitieron a los investigadores capturar imágenes claras y de alta resolución con mayor profundidad en sus muestras.

Llevamos más de 100 años fabricando equipamiento microscópico avanzado y objetivos de alta calidad; no cabe duda de que estamos orgullosos de nuestra trayectoria exitosa en innovación y colaboración. Seguiremos trabajando arduamente con investigadores para desarrollar nuevas tecnologías que cumplan con los requisitos o satisfagan las necesidades de las investigaciones en ciencias de la vida.



Tabla de contenido

Aspectos que deben considerarse al seleccionar un objetivo y usar un collar de corrección	2
Objetivos dedicados a la excitación multifotónica (MPE)	3-4
Objetivos de inmersión en silicona	5-6
Objetivos de alta resolución para la superresolución y TIRF	7-8
Objetivos supercorregidos	9
Ahorro de tiempo en el procesamiento de imágenes de recipientes y placas con fondo de plástico	10

Seleccionar el objetivo para su aplicación de investigación

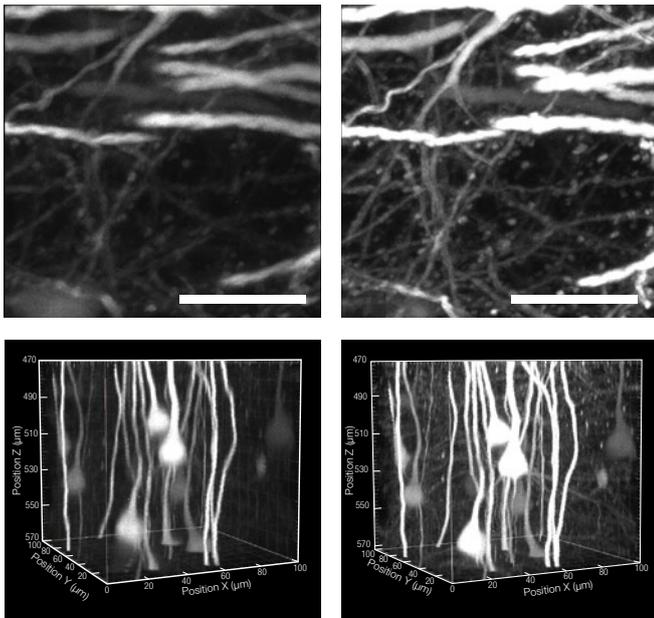
Seleccionar el objetivo adecuado para su aplicación de investigación es fundamental para obtener imágenes de alta resolución. Al comparar el índice de refracción de la muestra con el medio de inmersión, el objetivo compensa la aberración esférica y produce imágenes de mayor profundidad, claridad y resolución elevada. La mayoría de los objetivos A Line™ presentan altas aperturas numéricas (A. N.) y collares de corrección que ofrecen al usuario una compensación de la aberración esférica, lo que optimiza la resolución y el contraste de la imagen.

La importancia del collar de corrección

La aberración esférica actúa en función del desequilibrio que experimenta el índice de refracción en la trayectoria óptica, como con los diferentes espesores de los cubreobjetos, la profundidad de observación de la muestra, la composición de células o tejidos y los cambios de temperatura. Los objetivos de alta A. N. son particularmente susceptibles a estos efectos. Ajustar el collar de corrección de su objetivo es vital para compensar la aberración esférica y obtener una imagen de calidad mejorada. El resultado son imágenes de mayor resolución, claridad y contraste.

Si usa un microscopio invertido, la unidad de control remoto de collares (IX3-RCC) potencia mucho más el uso de los collares de corrección. Para un procesamiento profundo de imágenes a través de un microscopio de escaneo láser multifotónico invertido, los objetivos TruResolution™ (FV30-AC10SV y FV30-AC25W) ofrecen un potente collar de corrección autoajutable.

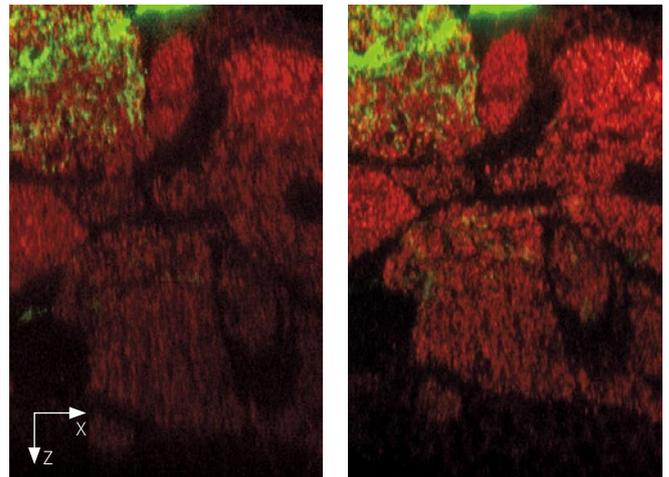
Imagen de la corteza sensorial del cerebro de un ratón *in vivo* antes (izq.) y después (dcha.) de ajustar el collar de corrección del objetivo XLPLN25XWMP2.



Imágenes superiores: Imagen XZ en 500 μm de profundidad; la barra escalera representa 20 μm.
Imágenes inferiores: Imagen XYZ en 470-570 μm de profundidad.

Muestra: Ratón Th1-YFP-H.

Comparación de objetivos de inmersión en aceite y en aceite de silicona a partir de un cerebro de *Drosophila* montado en glicerina.



Inmersión en aceite

Inmersión en silicona

mCD8 (GFP, verde)/α-Bruchpilot (inmunotinción, rojo)

Imagen por cortesía de:
Dr. Yasuhiro Imanishi, Dr. Hiromu Tanimoto,
Facultad de Posgrados en Ciencias de la Vida, Universidad de Tohoku.



Unidad de control remoto de collares



FV30-AC25W (objetivo de inmersión en agua de 25X; A. N. de 1.05; D. T. de 2 mm).

Excitación multifotónica dedicada a objetivos

Diseñados para alcanzar un excelente rendimiento durante el procesamiento de imágenes de excitación multifotónica (MPE) de muestras transparentes e *in vivo*, estos objetivos permiten un procesamiento de imágenes de alta precisión hasta una profundidad de 8 mm.



Objetivos dedicados a la excitación multifotónica (MPE)

	D. T. (mm)	MAGNIF.	OFN*	A. N.	Medio de inmersión (índice de refracción)	Muestra	Finalidad
XLPLN10XSVM	8	10X	18	0,60	De agua a aceite (n: de 1,33 a 1,52)	<i>In vivo</i> y aclarada	Observación de amplio campo visual
XLSLPLN25XGMP	8	25X	18	1.00	De aceite de silicona a aceite (n: 1,41 a 1,52)	Aclarada	Observación de alta resolución
XLSLPLN25XSVM2	8	25X	18	0.95	De agua a aceite de silicona (n: 1,33 a 1,41)	<i>In vivo</i> y aclarada	
XLPLN25XSVM2	4	25X	18	1.00	De agua a aceite de silicona (n: 1,33 a 1,41)	<i>In vivo</i> y aclarada	
XLPLN25XWMP2	2	25X	18	1.05	Agua (n: 1.33)	<i>Muestra in vivo</i>	
FV30-AC10SV	8	10X	18	0,60	De agua a aceite (n: de 1,33 a 1,52)	<i>In vivo</i> y aclarada	Observación de amplio campo visual
FV30-AC25W	2	25X	18	1.05	Agua (n: 1.33)	<i>In vivo</i>	Observación de alta resolución

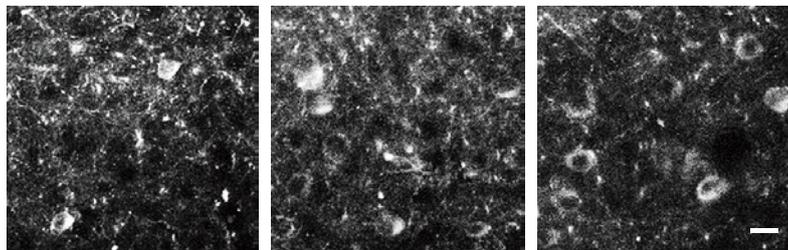
* Número de campo máximo observable a través del ocular.

Imágenes profundas *in vivo* con el objetivo XLPLN25XWMP2

Para un procesamiento profundo multifotónico de imágenes de cerebro *in vivo* y una optogenética a alta resolución se requieren objetivos con alta transmisión de luz infrarroja (IR), una alta apertura numérica (A. N.) y la posibilidad de corregir la profundidad y la dispersión del tejido. El objetivo XLPLN25XWMP2 proporciona una amplia transmisión infrarroja gracias al nuevo revestimiento 1600 que activa una estimulación optogenética con luz visible de hasta 400 nm y un procesamiento de imágenes o estimulación IR por encima de 1600 nm. El collar de corrección reduce el volumen de excitación, lo que permite estimular las células individuales o las espinas dendríticas. El objetivo XLPLN25XWMP2, acompañado de las potentes y precisas capacidades del microscopio de escaneo láser multifotónico FV4000MPE, se convierte en la herramienta idónea para un procesamiento multifotónico de imágenes de alta precisión.

Procesamiento de imágenes bifotónico de neuronas corticoestriales y corticoespinales cruzadas *in vivo* en la capa L5 de la corteza cerebral durante un aprendizaje

- Imágenes de calcio a partir del circuito neuronal profundo de un cerebro que permite a los investigadores observar las respuestas rápidas y claras de la actividad de cada neurona.



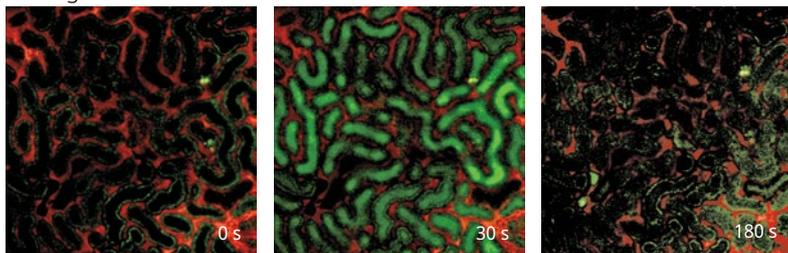
450 μm de profundidad a partir de la superficie cerebral 500 μm de profundidad a partir de la superficie cerebral 550 μm de profundidad a partir de la superficie cerebral

Procesamiento de imágenes bifotónico *in vivo* de neuronas corticoestriales transducidas con los vectores rAAV2/ indicador genético 9-Syn-GCaMP3 en la corteza motora primaria de la parte delantera izquierda durante el aprendizaje de una tarea motriz. Profundidad de 450, 500 y 550 μm a partir de la superficie del cerebro. Barra de escala: 20 μm.

Datos de imagen por cortesía del Dr. Yoshito Masamizu, Dr. Yasuhiro R Tanaka, Dr. Masanori Matsuzaki, Division of Brain Circuits, Instituto Nacional de Biología Básica Referencia: *Nat Neurosci.* Jul. de 2014; 17 (7): 987-94. doi: 10.1038/nn.3739. ePub, 1 de junio de 2014.

Procesamiento de imágenes de un nefrón en la superficie renal *in vivo*.

- Imágenes en intervalos *in vivo* con una A. N. de 1.05.



Procesamiento de imágenes en intervalos del colorante fluorescente (amarillo Lucifer, verde) inyectado en una vena que pasa libremente a través del glomérulo. El color rojo es el colorante rodamina B con marcado dextrán de 70 kD que sirve para observar el flujo del plasma sanguíneo. Las sombras en el plasma sanguíneo son glóbulos. La señal verde en tiempo 0 es la autofluorescencia de la célula del túbulo proximal. Imagen por cortesía del Dr. Daisuke Kurihara, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Kagawa. Referencia *J Am Soc Nephrol.* 8 de abril de 2015. pii: ASN.2014060577. [ePub en encabezado de impresión]

Procesamiento de imágenes profundo del cerebro de un ratón

- Imágenes profundas del cerebro de un ratón gracias a los objetivos de alta apertura numérica (A. N.), con una distancia de trabajo (D. T.) de 2 mm y ajustes optimizados del collar de corrección.

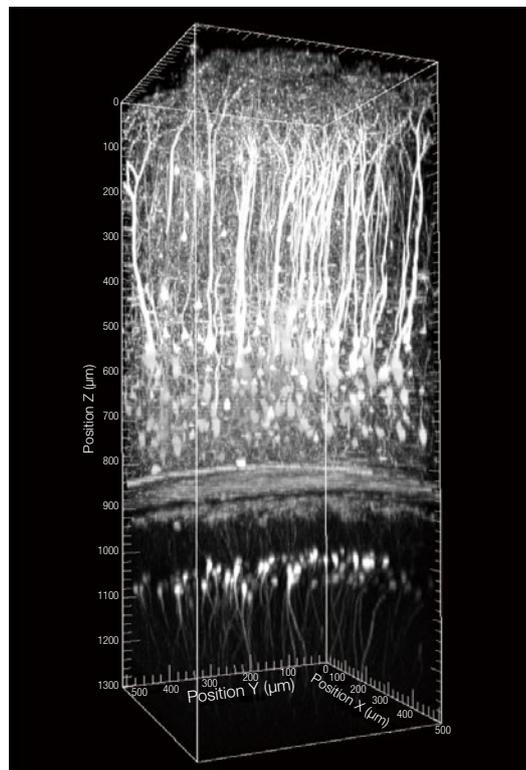


Imagen con apilamiento en Z de ratón *in vivo* bajo anestesia desde la superficie del cerebro hasta la capa irradiada del hipocampo (CA1).

Muestra: Ratón macho de ocho semanas de vida, línea H Thy1-YFP Longitud de onda de excitación: 960 nm Imagen por cortesía de Katsuya Ozawa y Hajime Hirase, Neuron-Glia Circuitry, Instituto de Ciencias del Cerebro de RIKEN, Japón.

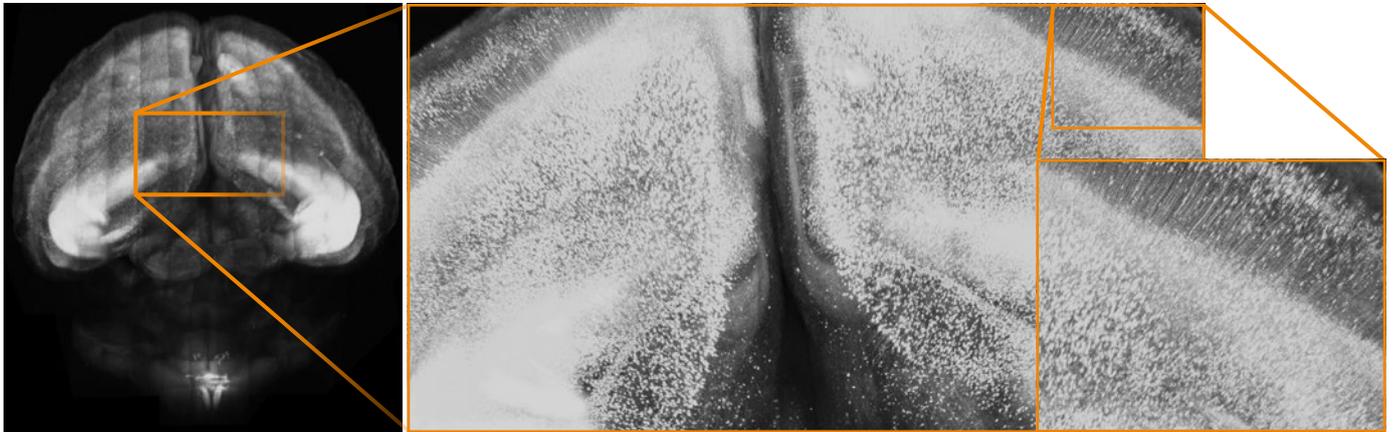
Observar muestras transparentes fijas a una profundidad de 8 mm con los objetivos multifotónicos específicos

Nuestros objetivos MPE específicos facilitan una investigación avanzada de las funciones del cerebro y de otros órganos vitales. Hasta hace poco, los investigadores en ciencia del cerebro, que usaban los microscopios ópticos, tenían que cortar finas secciones de tejido. Con los objetivos MPE específicos y la tecnología de aclaramiento tisular, los investigadores pueden observar hasta una profundidad de 8 mm sin cortes. Los objetivos XLPLN25XSVM2 y XLSLPLN25XSVM2 están diseñados para ser usados con el reactivo revolucionario de aclaramiento «Sca/e» desarrollado por el Dr. Atsushi Miyawaki y su equipo del Instituto de Ciencias del Cerebro RIKEN (Japón).* Los objetivos XLSLPLN25XGMP y XLPLN10XSVM soportan varios reactivos, como el SeeDB, CLARITY y ScaleS, que permiten a los investigadores observar profundidades sin precedentes y examinar las interconexiones en el cerebro y otros tejidos como nunca antes.

*Publicación disponible en línea de la revista *Nature Neuroscience*: Hama et al. 30 de agosto de 2011.

Procesamiento de imágenes de cerebro de ratón entero (XLPLN10XSVM)

- Amplio campo visual con una magnificación de 10X, resolución de célula individual con una A. N. de 1.0 y observaciones profundas de hasta 8 mm.
- Objetivos compatibles con una amplia gama de índices de refracción de reactivos de aclaramiento (n: de 1,33 a 1,52).



Cerebro de ratón de la línea H-YFP de 20 semanas de vida, tratado con el reactivo Sca/eS.

Imagen por cortesía de Hiroshi Hama, Atsushi Miyawaki, Laboratorio de Dinámica de Funciones Celulares, Instituto de Ciencias del Cerebro RIKEN.

Resolución a nivel de célula individual

Procesamiento de imágenes profundo del cerebro en alta resolución de un cerebro de ratón tratado con Sca/eS (XLSLPLN25XGMP).

- Imágenes profundas de alta resolución con una A. N. de 1.0 y D. T. de 8 mm.
- Objetivos que cumplen con el índice de refracción de los reactivos de aclaramiento (n: de 1,41 a 1,52).

Imagen 3D del hemisferio cerebral de un ratón YFP-H de 14 semanas de vida, tratado con Sca/eS.

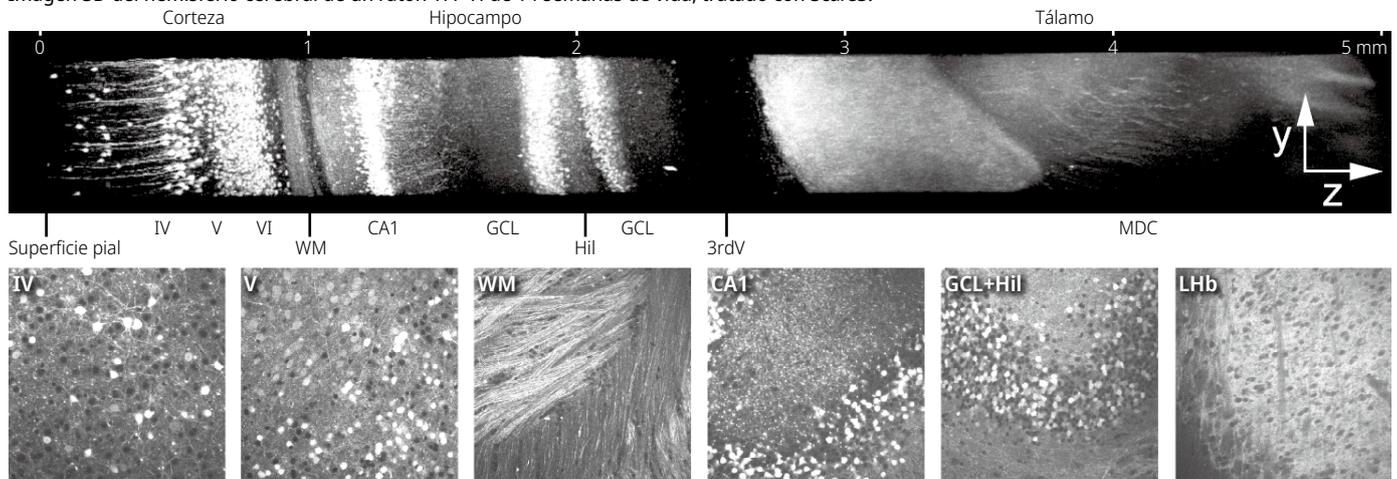


Imagen de proyección de intensidad máxima (superior). Seis imágenes XY en distintas posiciones Z (inferior). MB: materia blanca; CCG: capa de célula granular; Hil: hilio; LHb: núcleo lateral habenuar, TMD: núcleo talámico mediodorsal. Barra escalar: representa 0,1 mm.

Imagen por cortesía de Hiroshi Hama, Atsushi Miyawaki, Laboratorio de Dinámica de Funciones Celulares, Instituto de Ciencias del Cerebro RIKEN. Referencia bibliográfica: *Nat Neurosci*. 2015 de oct.; 18 (10): 1518–29. doi: 10.1038/nn.4107. ePub, 14 de septiembre de 2015.

Objetivos de inmersión en aceite de silicona

Los objetivos de inmersión en aceite de silicona han sido optimizados para adquirir imágenes de tejidos y células vivos. Al establecer una correspondencia adecuada con el índice de refracción, permiten adquirir imágenes más nítidas y claras, mientras que las observaciones en intervalos pasan a ser más fiables y menos complejas gracias a que el aceite de silicona no se seca a 37 °C (98.6 °F). A diferencia de las mezclas de glicerina y agua, el índice de refracción del aceite de silicona se mantiene constante; y, la resolución es más alta en comparación de los objetivos de agua, lo que ayuda a asegurar la precisión en estudios morfológicos de células y tejidos cruciales. Gracias a que el índice de refracción del aceite de inmersión de silicona ($n = 1,40$) es cercano al del reactivo de aclarado SCALEVIEW-A2 ($n = 1,38$), los objetivos de inmersión en aceite de silicona también están indicados para observar muestras aclaradas SCALEVIEW-A2.

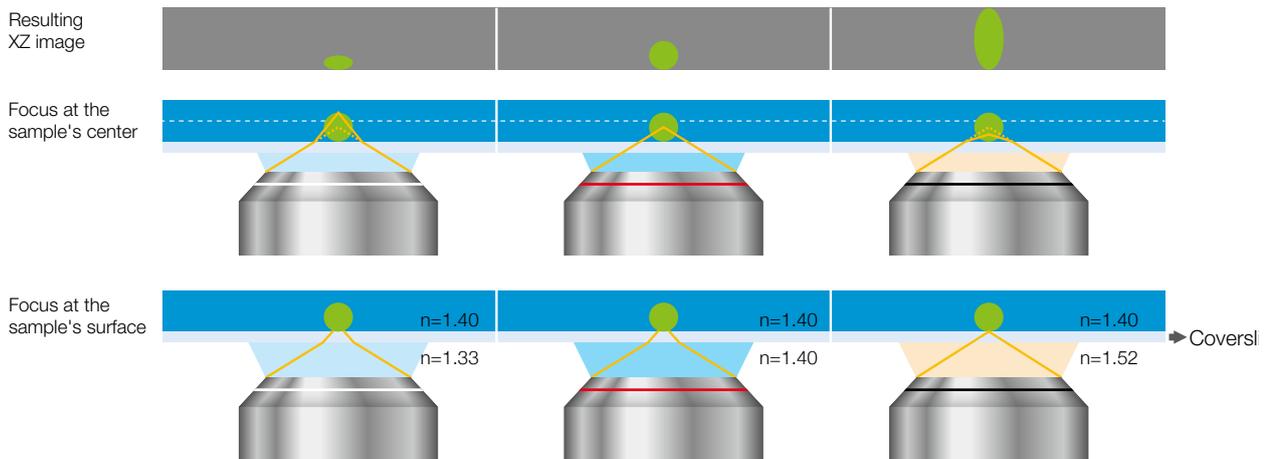


Objetivos de inmersión en aceite de silicona

	D. T. (mm)	MAGNIF.	OFN*	A. N.	Medio de inmersión	Aplicaciones
UPLSAPO100XS	0,2	100X	22	1.35	Aceite de silicona	Alta resolución para imágenes subcelulares
UPLSAPO60XS2	0,3	60X	22	1.30	Aceite de silicona	Imágenes en intervalos a largo plazo y de alta resolución de células individuales.
UPLSAPO40XS	0,3	40X	22	1.25	Aceite de silicona	Imágenes de múltiples células con resolución submicrométrica.
UPLSAPO30XS	0,8	30X	22	1.05	Aceite de silicona	Imágenes de tejidos más profundos con un campo visual más amplio
UPLSAPO30XSIR	0,8	30X	22	1.05	Aceite de silicona	Imágenes MPE en tejidos profundos con un campo de visión más amplio

* Número de campo máximo observable a través del ocular.

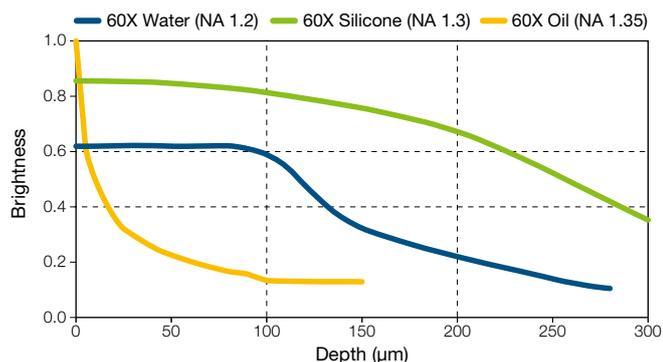
Efectos de la discrepancia del índice de refracción en la forma de la muestra



Establecer una correspondencia del índice de refracción de una muestra con el medio de inmersión es muy importante para obtener imágenes 3D precisas.

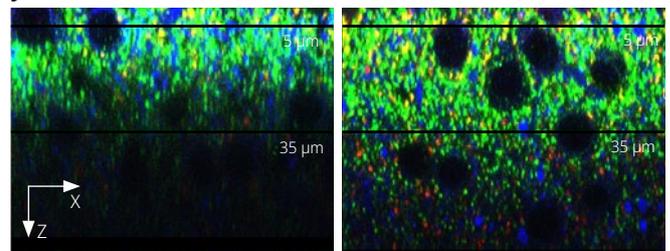
Comparación de claridad de los objetivos de 60X

Normalizada por la claridad del objetivo de 60X en la superficie de la muestra. Índice de refracción de la muestra: 1,38.



Los objetivos de inmersión en aceite proporcionan una mayor iluminación en las profundidades superficiales. Los objetivos de inmersión en aceite de silicona brindan más claridad que los objetivos de inmersión en todas las profundidades de enfoque según una magnificación específica.

Comparación entre los objetivos de inmersión en aceite y aceite de silicona de 60X



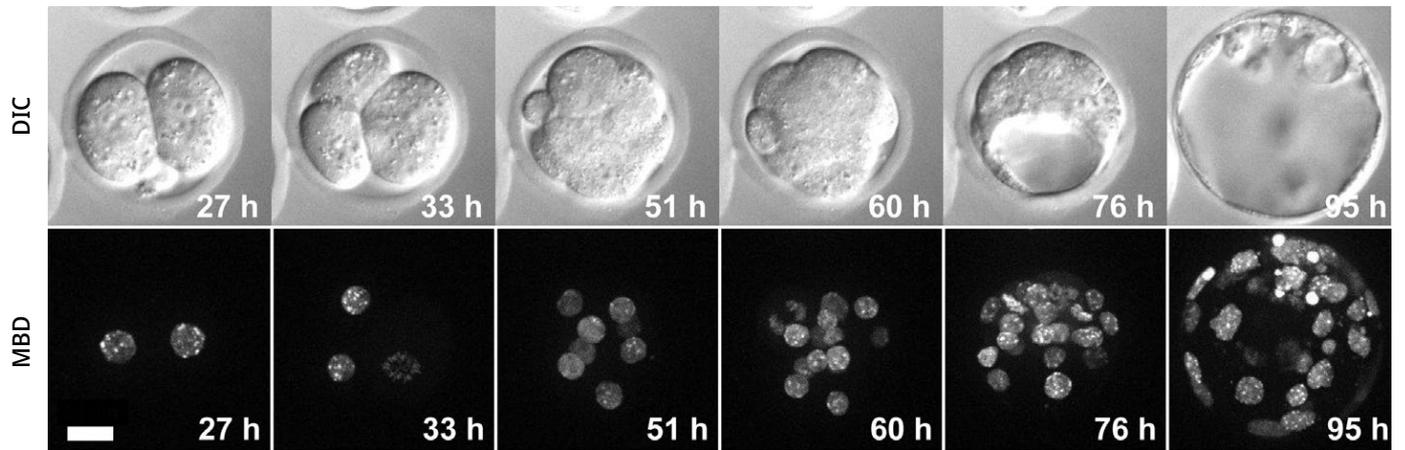
UPLSAPO 60XO
(A. N. de 1.3; D. T. de 0,3 mm,
aceite de inmersión [n = 1,52])

UPLSAPO60XS2
(A. N. de 1.3; D. T. de 0,3 mm;
aceite de silicona [n = 1,4])

El objetivo de aceite de silicona (UPLSAPO60XS2) permite obtener imágenes más profundas al lograr la correspondencia con el índice de refracción de la muestra y el medio de inmersión. Muestra: Neocórtex tratado con ScaleA2, VGLuT1/verde, VGLuT2/rojo, MAP2/azul
Datos de imagen por cortesía del Dr. Motokazu Uchigashima, M.D., Dr. Masahiko Watanabe, M.D., Departamento de anatomía, Facultad de Posgrados en Medicina de la Universidad de Hokkaido

Procesamiento de imágenes en intervalos a largo plazo de un embrión de ratón vivo (UPLSAPO60XS2)

- Imágenes de alta resolución con A. N. de 1.30; imágenes 3D con D. T. de 0,3 mm.
- Imágenes en intervalos a largo plazo por medio del aceite de inmersión estable de silicona.



Imágenes en intervalos a largo plazo de un embrión de ratón vivo. Las imágenes fueron capturadas a cada hora desde la etapa de cigoto (0 h) hasta la de blastocito (119 h). Se usó la proteína de unión de metil-CpG (MBD) en fusión con mCherry de la proteína MBD1. Imágenes adquiridas con un objetivo de inmersión en aceite de silicona. Barra de escala: 20 μ m.

Imagen por cortesía del Dr. Kazuo Yamagata, Facultad de Ciencias y Tecnología en Biología, Universidad de Kinki.
Referencia bibliográfica sobre células madre: *Cell Reports*. 3 de junio de 2014; 2 (6): 910-924.

Observación tridimensional de estructuras del árbol biliar en hígado dañado de ratón con un objetivo 30X (UPLSAPO30XS)

Con el fin de obtener imágenes tridimensionales de resolución superior, se usó el microscopio confocal FLUOVIEW™ y un objetivo de inmersión en aceite de silicona de 30X (UPLSAPO30XS: A. N. de 1,05; D. T. de 0,8 mm) para obtener imágenes tomográficas consecutivas (intervalo axial en Z de 1,05 μ m) de tejido biliar (marcador celular epitelial biliar CK19, verde) a partir de un tejido hepático de 200 μ m de espesor, aclarado con SeeDB. Esta combinación permitió una observación en alta resolución de los árboles biliares del ratón de control y el ratón Klf5-LKO manteniendo un amplio campo visual. En el ratón Klf5-LKO, los investigadores observaron agrupaciones de células CK19+ (flecha blanca) que fueron separadas espacialmente a partir del árbol biliar.

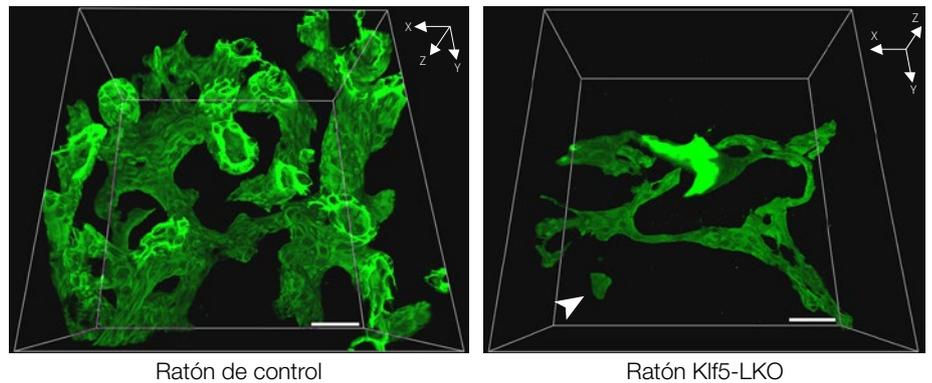
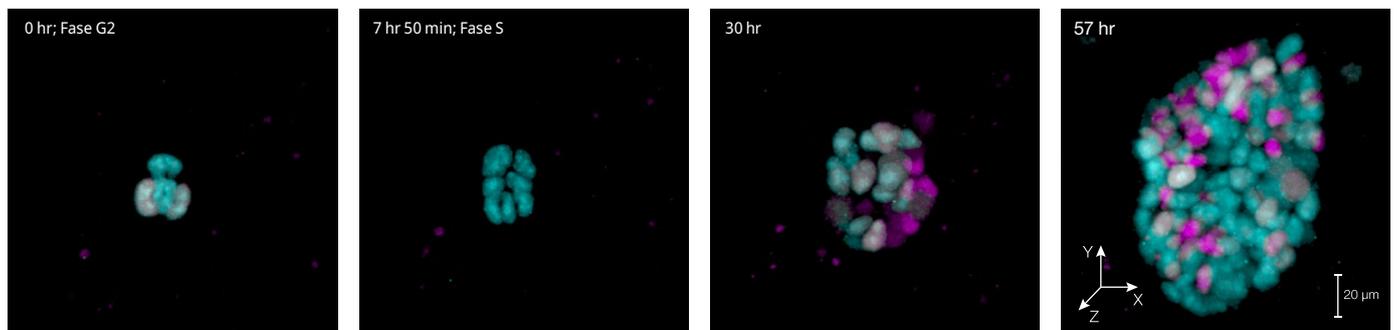


Imagen por cortesía de Asako Sakaue-Sawano, Atsushi Miyawaki, Laboratorio de Dinámica de Funciones Celulares, Instituto de Ciencias del Cerebro RIKEN.
Referencia bibliográfica: *Development*. Nov. 2013; 140 (22): 4624-32.
doi: 10.1242/dev.099226. ePub, 23 de octubre de 2013.

Adquisición de imágenes en intervalos de células madre embrionarias (ES) no diferenciadas (UPLSAPO30XS)

- Observación en intervalos de células ES de ratón marcadas con Fucci (CA) 2.1



Las células madre embrionarias (ES) no diferenciadas proliferan rápidamente y son muy delicadas. La fototoxicidad durante el procesamiento de imágenes en intervalos puede dañar las células ES y reducir su velocidad de proliferación; esto complica el procesamiento de imágenes en intervalos de las células ES bajo condiciones precisas a nivel fisiológico. El microscopio FLUOVIEW permite procesar imágenes en intervalos de baja toxicidad usando una potencia de láser extremadamente baja gracias a una trayectoria de luz súper eficiente y los dispositivos de detección sensibles. Estas propiedades permitieron a un grupo de investigación llevar a cabo un experimento en intervalos con una duración de 57 horas, en el cual se cubrieron tres ciclos celulares normales de células ES no diferenciadas con una rápida división en su totalidad.

Datos de imagen por cortesía del Dr. Masahiro Yo, Dr. Asako Sakaue-Sawano y el Dr. Atsushi Miyawaki (Supervisor de equipo), Laboratorio de Dinámica de Funciones Celulares, Instituto de Ciencias del Cerebro RIKEN.

Objetivos de alta resolución para TIRF y superresolución

Una alta apertura numérica es importante para una microscopía de fluorescencia de reflexión interna total y de superresolución. Evident es pionero en microscopía TIRF y ofrece una amplia gama de objetivos con aperturas numéricas (A. N.) que van de 1.45 hasta la más alta del mundo de 1.7*¹, junto con magnificaciones de 60X a 150X. En respuesta a los avances tecnológicos, como el procesamiento de imágenes de superresolución y de amplia área con las cámaras sCMOS, hemos desarrollado una tecnología avanzada para la fabricación de lentes que nos ha permitido crear el primer objetivo apocromático corregido del mundo con una apertura numérica de 1.5*². Estos objetivos otorgan una calidad de imagen uniforme con un gran campo visual que favorece la adquisición de imágenes en bruto de alta calidad por parte de los investigadores.

*1 Según los estudios llevados a cabo hasta el 4 de octubre de 2018. En conformidad con la investigación de Evident.

*2 Según los estudios llevados a cabo hasta el 4 de octubre de 2018. En conformidad con la investigación de Evident sobre las lentes de objetivo usando el aceite de inmersión común (índice de refracción n = 1.518).



Objetivos de alta resolución para la superresolución y TIRF

	D. T. (mm)	MAGNIF.	OFN* ³	A. N.	Medio de inmersión	Aplicaciones
UPLAPO60XOHR	0,11	60X	22	1.50	Aceite	Procesamiento TIRF de la completa célula. Procesamiento de imágenes de superresolución en tiempo real para células vivas. Procesamiento de imágenes de superresolución de estructuras diminutas, como los orgánulos.
UPLAPO100XOHR	0,12	100X	22	1.50	Aceite	Procesamiento de imágenes de superresolución en tiempo real para células vivas. Procesamiento de imágenes de superresolución para estructuras diminutas, como los orgánulos. Procesamiento de imágenes de superresolución de membranas celulares u orgánulos subcelulares y experimentos a nivel de molécula individual.
APON100XHOTIRF	0,08	100X	22	1.70	Aceite especial	Observación del movimiento de las proteínas o las vesículas a nivel de molécula individual.
UAPON150XOTIRF	0,08	150X	22	1.45	Aceite	Procesamiento de imágenes subcelular (p. ej., como orgánulos, retículo endoplasmático y tráfico vesicular intracelular).

*3 Número de campo máximo observable a través del ocular.

Procesamiento de imágenes de superresolución en tiempo real

- Combine los objetivos UPLAPO60XOHR y UPLAPO100XOHR con el sistema de superresolución confocal de disco giratorio SpinSR10.
- El sistema SpinSR10 adquiere rápidamente imágenes de superresolución y ofrece una proyección en directo dotada de una resolución de hasta 120 nm en XY.

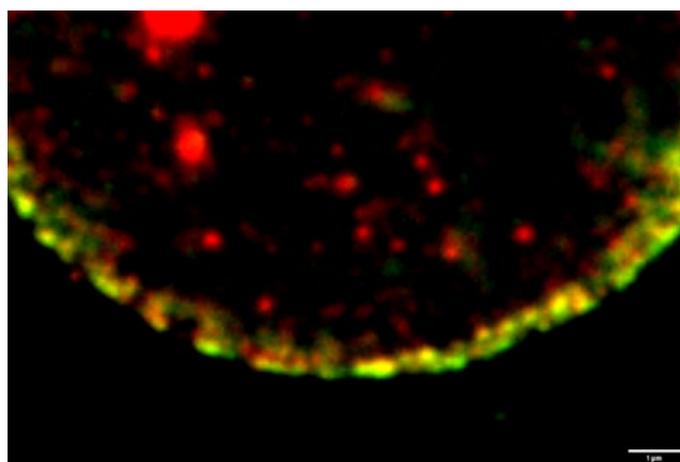


Imagen confocal

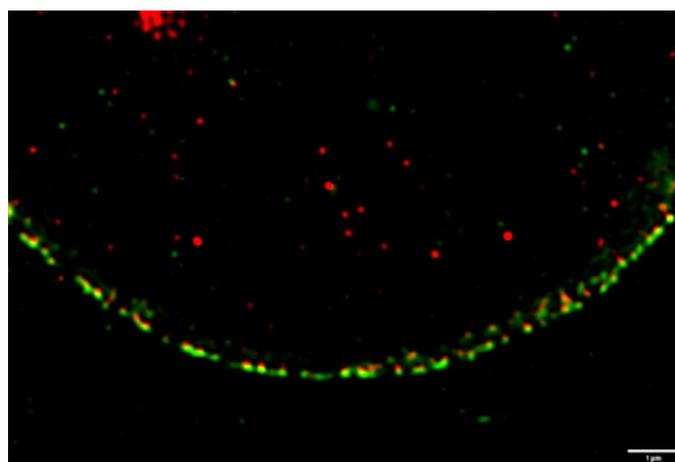


Imagen de superresolución

Verde: Proteína Nup358 marcada con Alexa488; se sitúa en la superficie citoplásmica del complejo de poro nuclear.

Rojo: Proteína Nup62 marcada con Alexa555; se sitúa en el tapón central del complejo de poro nuclear.

La localización de las proteínas Nup358 y Nup62 puede identificarse mediante la técnica de superresolución.

*Complejo de poro nuclear de célula HeLa.

Imagen por cortesía de Hidetaka Kosako, Instituto Fujii Memorial de Ciencias Médicas, Universidad de Tokushima

Procesamiento de imágenes de fluorescencia de molécula individual para contar las subunidades de un complejo de canal de iones de transmembranales (APON100XHOTIRF).

- Imágenes con TIRF de molécula individual dotadas de alta resolución. Imágenes claras y apertura numérica de 1.70.

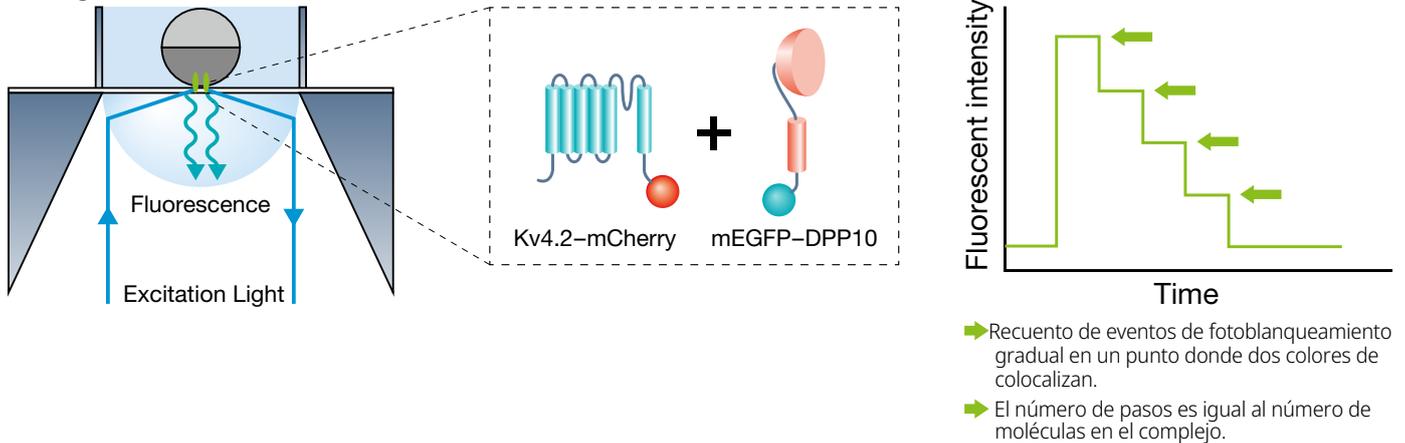
El recuento de subunidades del estudio requirió un fotoblanqueamiento de fluorescencia continuo de las proteínas (subunidades) marcadas con una proteína fluorescente, como una variante mejorada de la proteína verde fluorescente monomérica. Se usó un láser de excitación por aproximadamente diez segundos para provocar el fotoblanqueamiento. El proceso fue monitorizado en tiempo real por medio de un procesamiento de fluorescencia de molécula individual. A nivel de la molécula individual, el fotoblanqueamiento se aplica gradualmente en función del número de moléculas fluorescentes. Por tanto, el número de moléculas DPP10 puede determinarse por el recuento de los eventos graduales de fotoblanqueamiento en los puntos en los que las proteínas Kv4.2-mCherry y mEGFP-DPP10 se colocalizan. La apertura numérica*2 más alta del objetivo APON100XHOTIRF permite a los investigadores medir el cambio de la intensidad de fluorescencia que es causado por el fotoblanqueamiento a nivel de la molécula individual. Este estudio*3 reveló que un máximo de cuatro moléculas de las subunidades DPP10 forman un complejo con un canal iónico Kv4.2.

*1 Ulbrich, MH y Isacoff EY., «Subunit counting in membrane-bound proteins»; *Nature Methods*, 4 (2007): 319–321.

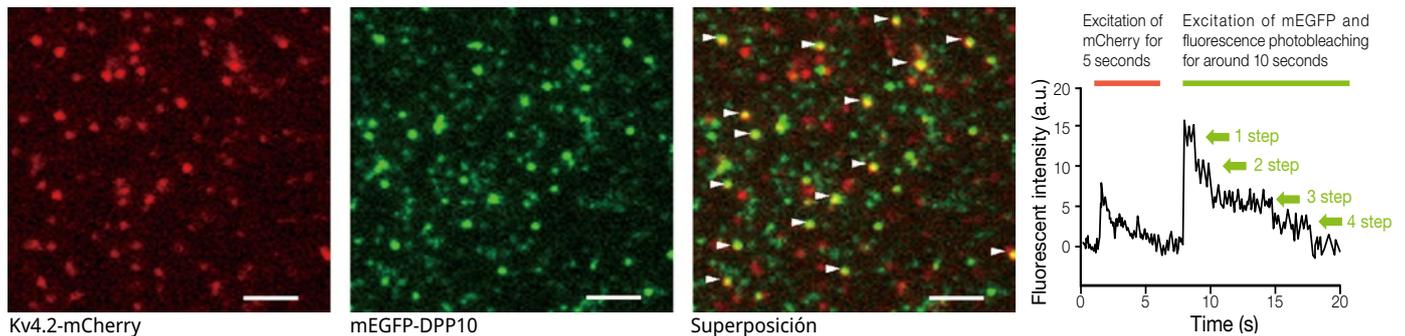
*2 Según los estudios llevados a cabo hasta el 4 de octubre de 2018. En conformidad con la investigación de Evident.

*3 Kitazawa M, Kubo Y 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.

Ilustración esquemática del recuento de subunidades de un complejo de canal de iones transmembranales por medio del procesamiento de imágenes de fluorescencia monomolecular



Determinación de la estequiometría de subunidades del complejo de canal Kv4.2-DPP10 por el recuento de subunidades



La localización de Kv4.2-mCherry se visualiza por excitación de la proteína mCherry en los primeros cinco segundos; tras ello, se da excita la proteína mEGFP en los diez segundos posteriores, a fin de visualizar su localización y fotoblanqueamiento continuo de fluorescencia. Los puntos con fotoblanqueamiento de la proteína mEGFP en un máximo de cuatro pasos se hallaron al trazar el cambio en la intensidad de la fluorescencia a partir de cada punto en donde dos colores de moléculas fluorescentes colocalizan (se indican con la punta de la flecha blanca). Por tanto, se halló que un máximo de cuatro moléculas mEGFP-DPP10 se relacionaron con el complejo de canal iónico Kv4.2. Barra de escala: 20 μm .

Imagen por cortesía del Dr. Masahiro Kitazawa, Dr. Yoshihiro Kubo, M. D., División de Biofísica y Neurobiología, Departamento de Fisiología Molecular, Instituto Nacional de Ciencias Fisiológicas. Dr. Koichi Nakajo, Departamento de Fisiología, Osaka Medical College

Objetivos supercorregidos

¿Sus señales fluorescentes están realmente colocalizadas? Responder a esta pregunta con la microscopía de fluorescencia estándar requiere un diseño óptico superior que corrija las variaciones cromáticas (aberración) generadas cuando la luz pasa a través de un objetivo. La corrección para sólo dos o tres colores resulta cada vez más ineficiente. El objetivo apocromático supercorregido PLAPON60XOSC2 aplica una corrección a través de una amplia banda de aberraciones cromáticas con el fin de proporcionar imágenes que captan la fluorescencia en su ubicación adecuada. Ahorre tiempo y recursos en los experimentos de marcado multicromático sin tener que hacer ajustes posprocesamiento.



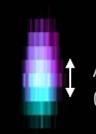
PLAPON60XOSC2

D. T. (mm)	0,12
MAGNIF.	60X
OFN*	22
A. N.	1.40
Medio de inmersión	Aceite

* Número de campo máximo observable a través del ocular.

El objetivo de inmersión de aceite PLAPON60XOSC2 de alta apertura cromática minimiza la aberración cromática en un campo de 405 a 650 nm a fin de intensificar el rendimiento del procesamiento de imágenes y la resolución en 405 nm. Este objetivo proporciona un alto grado de corrección para la aberración cromática axial y lateral con el fin de adquirir imágenes 2D y 3D de excelente fiabilidad, precisión y análisis de colocalización mejorado. El objetivo también compensa la aberración cromática en la región del infrarrojo cercano de hasta 850 nm.

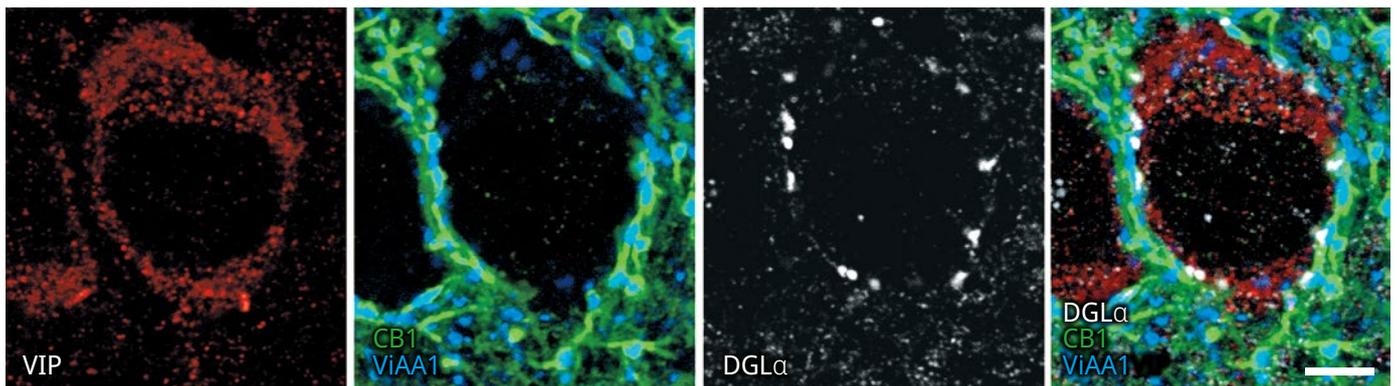
Comparación de rendimiento entre los objetivos PLAPON60XOSC2 y UPLXAPO60XO

	UPLXAPO60XO	PLAPON60XOSC2
Aberración cromática vertical en el eje (dirección Z)	 Aprox. 0,2µm	 Aprox. 0 µm
Aberración cromática lateral fuera de eje (dirección X-Y)	 Aprox. 0,15 µm	 Aprox. 0,05 µm

Comparación de aberración cromática medida por el microscopio FLUOVIEW con una microesfera TetraSpeck. Cian: excitación de 405 nm. Magenta: excitación de 640 nm.

Inmunofluorescencia cuádruple de tejido cerebral

- Optimización de la sensibilidad y resolución de detección.
- Reducción de las aberraciones cromáticas mitigadas: idónea para las aplicaciones de inmunofluorescencia.



La inmunofluorescencia cuádruple destinada a múltiples marcadores celulares y moleculares funcionales proporciona información detallada sobre la expresión celular y localización subcelular; esto comprende la relación codependiente o independiente entre las células funcionales asociadas y las distancias espaciales intracelulares. ViAA1 (Alexa Fluor405, azul), CB1 (Alexa Fluor488, verde), VIP (Cy3, rojo) y DGLα (Alexa Fluor 647, blanco). Barra de escala: 5 µm.

Imagen por cortesía del Dr. Tomonobu Watanabe, M. D., Departamento de Anatomía, Facultad de Posgrados en Medicina de la Universidad de Hokkaido
Referencia bibliográfica: *J Neurosci.* 11 de marzo de 2015; 35 (10): 4215-28. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4681-14.2015.

Ahorro de tiempo en el procesamiento de imágenes de recipientes y placas con fondo de plástico

El tiempo usado para sus experimentos es muy valioso y cada paso adicional requerido para el proceso puede desviarlo de sus objetivos de investigación. Inspeccionar cultivos celulares usando el procesamiento de imágenes de fluorescencia y contraste de fase, además de tener confianza en los niveles de la expresión proteica fluorescente, siempre ha dado lugar a un primer cultivo de tejidos en recipientes con base de plástico para activar su adherencia y a su transferencia subsecuente a una cámara de vidrio para ejecutar su procesamiento en imágenes. Mediante el objetivo UCPLFLN20XPH ya puede omitir este paso de reubicación celular en cámaras de vidrio. El objetivo UCPLFLN20XPH, que ha sido diseñado para observar imágenes de tejidos mediante un procesamiento de imágenes con contraste de fase y con fluorescencia a partir de placas con base de plástico, mejora drásticamente su flujo de trabajo. Gracias a su alta apertura numérica (A. N.), las imágenes son claras y uniformes a través de todo el campo de visual del objetivo, mientras que el collar de corrección y la larga distancia de trabajo optimizan las imágenes a través de diversos recipientes de cultivo celular.



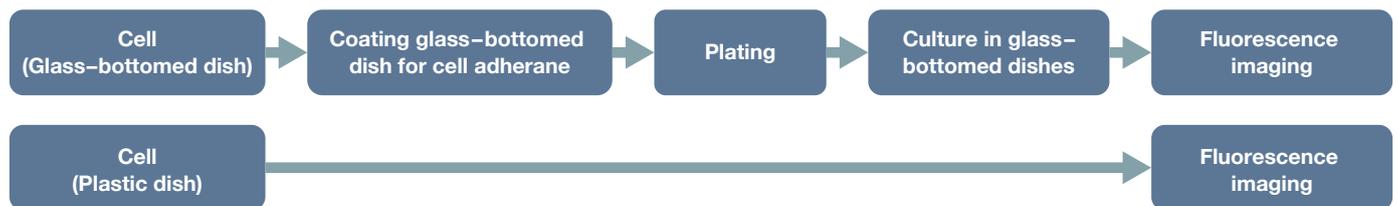
UCPLFLN20XPH

D. T. (mm)	0,8 - 1,8
MAGNIF.	20X
OFN*	22
A. N.	0.70
Medio de inmersión	Seco

* Número de campo máximo observable a través del ocular.

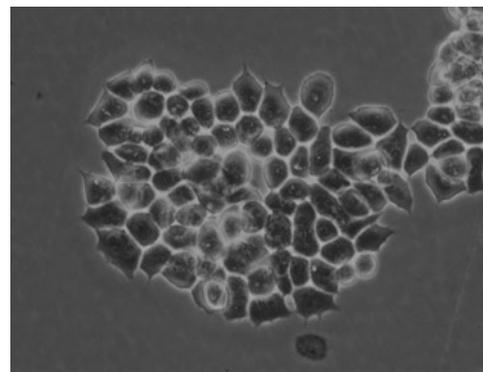
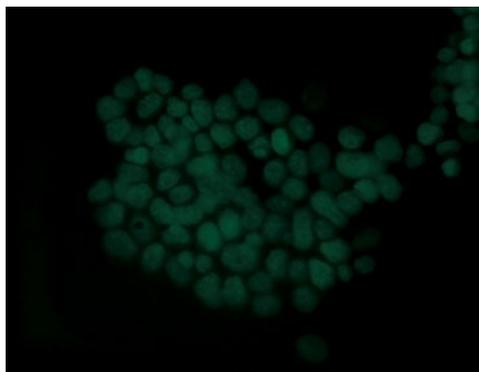
Optimización del flujo de trabajo para cultivos celulares

- Agilización del flujo de trabajo para la observación de fluorescencia.
- Ninguna necesidad de crear subcultivos, que siempre añaden un paso más para el tratamiento de las bases.



Células madre embrionarias (ES) expresando la proteína GFP-H2B en un recipiente de cultivo celular de 35 mm con base de plástico.

LUCLFLN20XPH
(A. N)



UCPLFLN20XPH
(A. N)

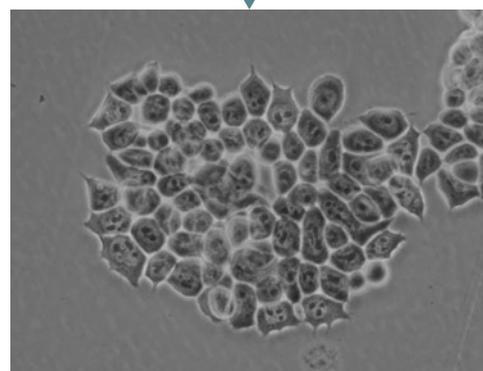
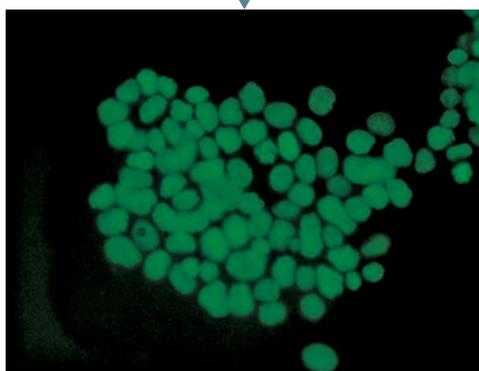


Imagen de fluorescencia

Imagen de contraste de fase

Es posible lograr una observación de fluorescencia de histonas en núcleos (GFP-H2B) y una observación de contraste de fase de nucléolos con un alto grado de detalle. Imagen por cortesía del Dr. Tomonobu Watanabe, Laboratorio de Bioimagen Integral, Centro de Biología Cuantitativa de RIKEN

Aceites de inmersión

Aceite de inmersión de baja autofluorescencia



IMMOIL-F30CC

- 1/10 es el nivel de autofluorescencia en comparación con el aceite estándar.
- Bajo olor: ficha de datos de seguridad (MSDS) disponible

Aceite de inmersión en silicona



SIL300CS-30SC

- Índice de refracción: $n = 1,406$ en 23 °C (73 °F)
- 30 mL neto
- Baja autofluorescencia

Lista de artículos bibliográficos en los que se han usado objetivos A Line

Objetivos dedicados a la excitación multifotónica (MPE)

Nat Immunol. Febrero de 2019; 20(2): 141-151. doi: 10.1038/s41590-018-0293-x. ePub, 14 de enero de 2019. «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. Enero de 2019. 565(7739): 366-371. doi: 10.1038/s41586-018-0812-9. ePub, 31 de diciembre de 2018. «Tissue-resident memory CD8+ T cells promote melanoma-immune equilibrium in skin»; Park SL, Buzzi 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. 16 de octubre de 2018. 49(4): 654-665.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2018.07.014. ePub, 25 de septiembre de 2018. «A Metabolism-Based Quorum Sensing Mechanism Contributes to Termination of Inflammatory Responses»; Postat J, Olekhnovitch R, Lemaître F, Bouso P.

Neuron. 10 de octubre de 2018; 100(1): 244-258.e12. doi: 10.1016/j.neuron.2018.08.016. ePub, 30 de agosto de 2018. «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. 3 de julio de 2018; 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, Gheordunescu E, Wang Y, Harouaka R, Lozier A, Triner D, McDermott S, Merajver SD, Luker GD, Spitz DR, Wicha MS.

Cancer Cell. 14 de mayo de 2018; 33(5): 937-948.e8. doi: 10.1016/j.ccr.2018.03.021. ePub, 19 de abril de 2018. «Germline Genetic IKZF1 Variation and Predisposition to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia»; Churchman ML, Qian M, Te Kronnie G, Zhang R, Yang W, Zhang H, Lana T, Tedrick P, Baskin R, Verbist K, Peters JL, Devidas M, Larsen E, Moore IM, 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. 2 de junio de 2018; 500(2): 236-241. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.049. ePub, 18 de abril de 2018. «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. Abril de 2018; 21(4): 625-637. doi: 10.1038/s41593-018-0109-1. ePub, 5 de marzo de 2018. «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, Shigetada D, Baba K, Sekiya H, Shimizu Y, Tanaka KF, Kiyonari H, Iino M, Mochizuki H, Tainaka K, Ueda HR.

Science. 30 de marzo de 2018; 359(6383): 1524-1527. doi: 10.1126/science.aao0702. ePub, 8 de febrero de 2018. «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.

Objetivos de inmersión en aceite de silicona

PLoS Biol. 26 de septiembre 2018; 16(9): e2004874. doi: 10.1371/journal.pbio.2004874. eCollection, sept. de 2018. «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. 12 de julio de 2018; 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. 2 de mayo de 2018; 38(18): 4329-4347. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3644-17.2018. ePub, 24 de abril de 2018. «GABAergic Local Interneurons Shape Female Fruit Fly Response to Mating Songs»; Yamada D, Ishimoto H, Li X, Kohashi T, Ishikawa Y, Kamikouchi A.

Developmental Cell. 12 de marzo de 2018; 44(5): 611-623.e7. doi: 10.1016/j.devcel.2018.01.020. ePub, 22 de febrero de 2018. «Activation of the Notch Signaling Pathway In Vivo Elicits Changes in CSL Nuclear Dynamics»; Gomez-Lamarca MJ, Falo-Sanjuan J, Stojnic R, Abdul Rehman S, Muresan L, Jones ML, Pillidge Z, Cerda-Moya G, Yuan Z, Baloul S, Valenti P, Bystrycky K, Payne F, O'Holleran K, Kovall R, Bray SJ.

Development. 1 de marzo de 2018; 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.

Objetivos de alta resolución para la superresolución y TIRF

Cell. 15 de noviembre de 2018; 175(5): 1430-1442.e17. doi: 10.1016/j.cell.2018.09.057. ePub, 25 de octubre de 2018. «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, Milkie DE, Moore RP, Tulu US, Kiehart DP, Hu J, Lippincott-Schwartz J, Betzig E, Li D.

Proc Natl Acad Sci USA. 9 de octubre de 2018; 115(41): 10363-10368. doi: 10.1073/pnas.1806727115. ePub, 25 de septiembre de 2018. «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. Octubre de 2018; 20(10): 1118-1125. doi: 10.1038/s41556-018-0192-2. ePub, 17 de septiembre de 2018. «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. Septiembre de 2018; 561(7721): 63-69. doi: 10.1038/s41586-018-0466-7. ePub, 29 de agosto de 2018. «Role of glutamine synthetase in angiogenesis beyond glutamine synthesis»; Eelen G, Dubois C, Cantelmo AR, Goveia J, Brüning U, DeRan M, Jarugumilli G, van Rijssel 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, Vinckler S, Brepoels K, Wyns S, Souffreau J, Schoonjans L, Lamers WH, Wu Y, Hausstraete J, Hofkens J, Liekens S, Cubbon R, Ghesquière B, Dewerchin M, Gervasio FL, Li X, van Buul JD, Wu XB, Carmeliet P.

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

Cell Host Microbe. 13 de junio de 2018; 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. Junio de 2018; 36(5): 451-459. doi: 10.1038/nbt.4115. ePub, 11 de abril de 2018. «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. Mayo de 2018; 14(5): 497-506. doi: 10.1038/s41589-018-0032-5. ePub, 2 de abril de 2018. «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.

Objetivo supercorregido de 60X

Mol Cell. 5 de julio de 2018; 71(1): 25-41.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.018. ePub, 21 de junio de 2018. «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, Skalknik DG, Kobayashi W, Takata M, Howlett NG, Kurumizaka H, Kimura H, Stewart GS.

Nat Commun. 11 de abril de 2018; 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.

Para seleccionar el objetivo adecuado según su aplicación, use nuestra herramienta Buscador de objetivos: [olympus-lifescience.com/objective-finder](https://www.olympus-lifescience.com/objective-finder)

- **EVIDENT CORPORATION es una empresa certificada ISO14001.**
Para más información sobre el registro de la certificación, visite <https://www.olympus-lifescience.com/en/support/iso/>
- **EVIDENT CORPORATION es una empresa certificada ISO9001.**

• Todas las marcas y los nombres de productos citados son marcas registradas o marcas de comercio de sus respectivos propietarios.
• Las especificaciones y los aspectos están sujetos a cambios sin previo aviso ni obligación por parte del fabricante.
• Los dispositivos de iluminación para microscopios tienen vidas útiles sugeridas. Se requieren inspecciones periódicas. Visite nuestro ciber sitio para obtener más detalles.

EvidentScientific.com

EVIDENT

EVIDENT CORPORATION
Shinjuku Monolith, 2-3-1 Nishi-Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokio 163-0910, Japón

OLYMPUS

N8600506-102023