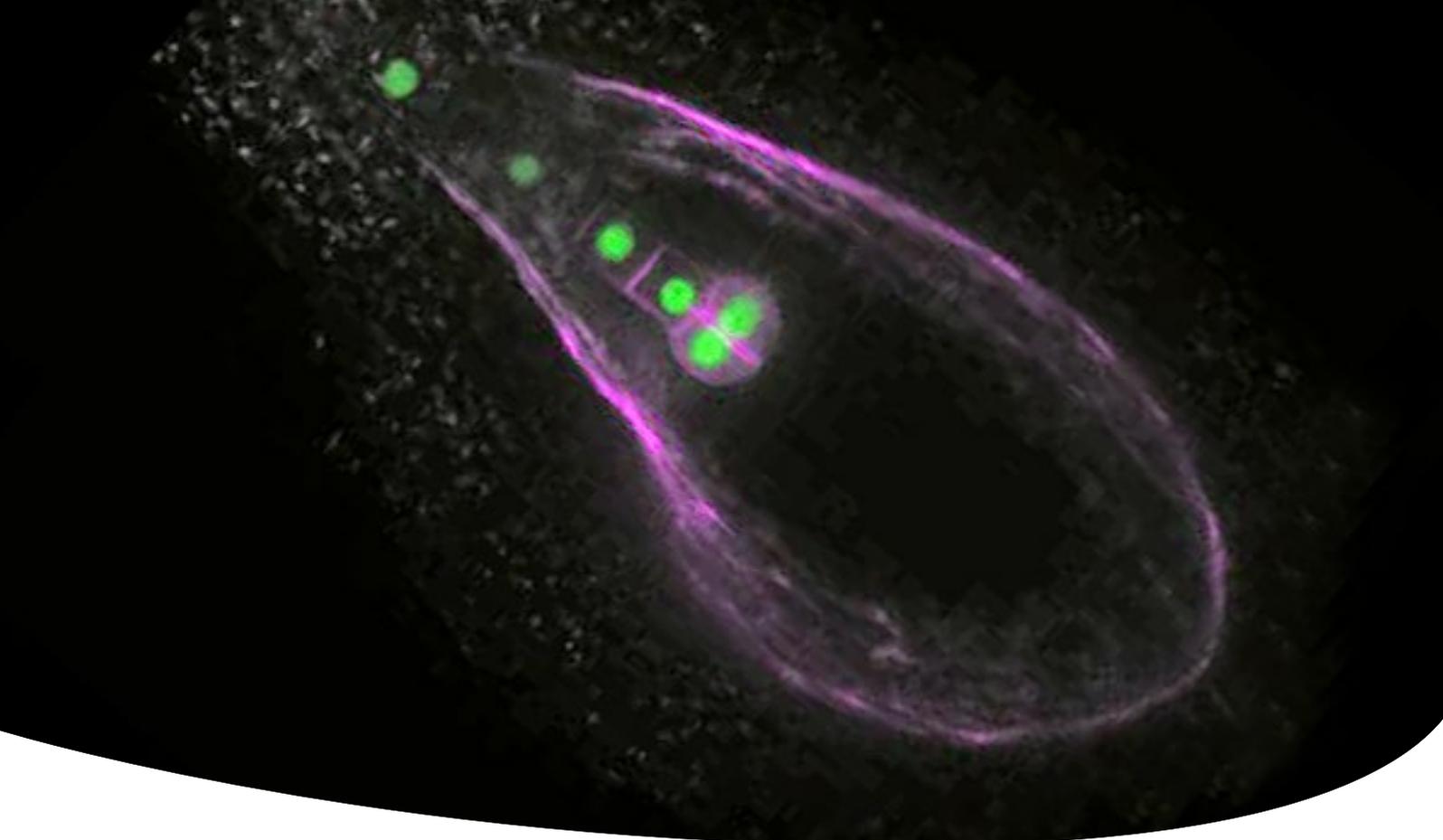


# Objectifs adaptés aux applications



Faites avancer vos recherches



# Objectifs pour la recherche innovante

Grâce à une riche histoire en matière de conception de composants optiques, Evident conçoit des objectifs de haute qualité destinés à vos applications avancées des sciences de la vie. Nous travaillons avec nos clients pour concevoir des produits innovants qui répondent aux besoins spécifiques et changeants des chercheurs en sciences de la vie.

Notre gamme d'objectifs pour la microscopie à excitation multiphotonique conçue pour répondre à la demande croissante en matière d'observation des tissus en profondeur dans les travaux de recherche en sciences de la vie illustre notre engagement à développer des technologies optiques innovantes. Lorsque nos clients ont eu besoin d'un système optique conçu pour l'imagerie 3D *in vivo* et de cellules vivantes, nous avons conçu des objectifs à immersion dans l'huile de silicone qui permettent aux chercheurs d'acquérir des images lumineuses à haute résolution plus profondément dans les échantillons.

Depuis plus de 100 ans, nous fabriquons des microscopes de pointe et des objectifs de haute qualité. Aussi, nous sommes fiers de toutes nos réalisations en matière d'innovation et de collaboration. Nous continuons de collaborer avec des chercheurs pour mettre au point de nouvelles technologies capables de répondre aux besoins en mutation de la recherche en sciences de la vie.



## Sommaire

---

Éléments à prendre en compte pour le choix d'un objectif et l'utilisation d'une bague de correction .....	2
Objectifs pour excitation multiphotonique (MPE) .....	3 - 4
Objectifs à immersion dans l'huile de silicone .....	5-6
Objectifs à haute résolution pour les microscopies à super-résolution et TIRF .....	7-8
Objectif supercorrigé .....	9
Gagnez du temps pour l'imagerie d'échantillons en plaques et en boîtes de Petri à fond en plastique .....	10

## Choisir un objectif approprié pour votre application de recherche

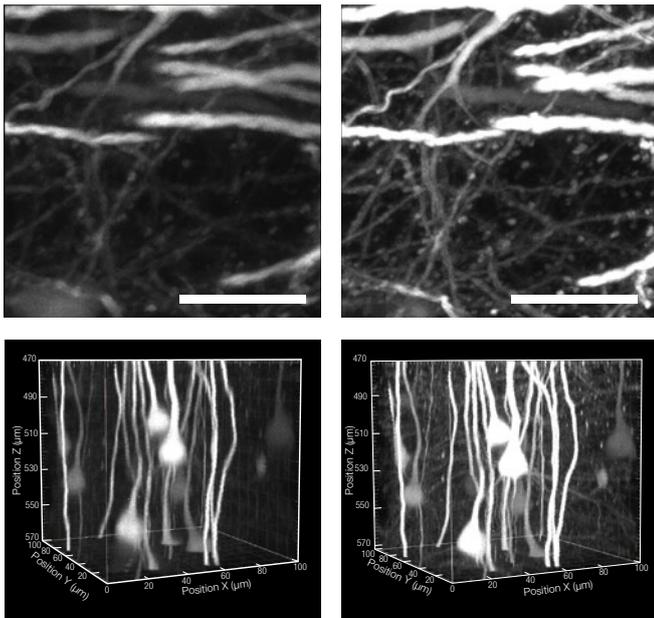
Choisir le bon objectif pour votre application de recherche est un facteur essentiel pour obtenir des images à haute résolution. Utilisé avec un milieu d'immersion dont l'indice de réfraction est proche de l'indice de réfraction de l'échantillon, l'objectif permet de compenser les aberrations sphériques et de produire des images plus lumineuses et avec une meilleure résolution des couches profondes de l'échantillon. La majorité de nos objectifs A Line™ possèdent de grandes ouvertures numériques (ON) et des bagues de correction qui permettent aux utilisateurs de compenser les aberrations sphériques et ainsi d'améliorer la résolution et le contraste des images.

## Une bague de correction essentielle

Les aberrations sphériques sont influencées par les écarts entre les indices de réfraction dans le trajet optique, lesquels dépendent de l'épaisseur de la lamelle couvre-objet, de la profondeur d'observation de l'échantillon, de la composition des cellules ou des tissus et des variations de température. Les objectifs à grande ouverture numérique sont particulièrement sensibles à ces paramètres. Il est essentiel d'ajuster la bague de correction de votre objectif pour compenser les aberrations sphériques et améliorer la qualité des images. Cela vous permet de produire des images plus lumineuses, plus contrastées et avec une meilleure résolution.

Si vous utilisez un microscope inversé, l'unité de commande à distance de bague de correction (IX3-RCC) facilite grandement l'utilisation des bagues de correction. Pour vos tâches d'imagerie en profondeur réalisées avec un microscope droit à balayage laser multiphotonique, les objectifs TruResolution™ (FV30-AC10SV et FV30-AC25W) sont dotés d'une bague de correction puissante à ajustement automatique.

### Image du cortex sensoriel d'un cerveau de souris *in vivo* avant (à gauche) et après (à droite) l'ajustement de la bague de correction de l'objectif XLPLN25XWMP2

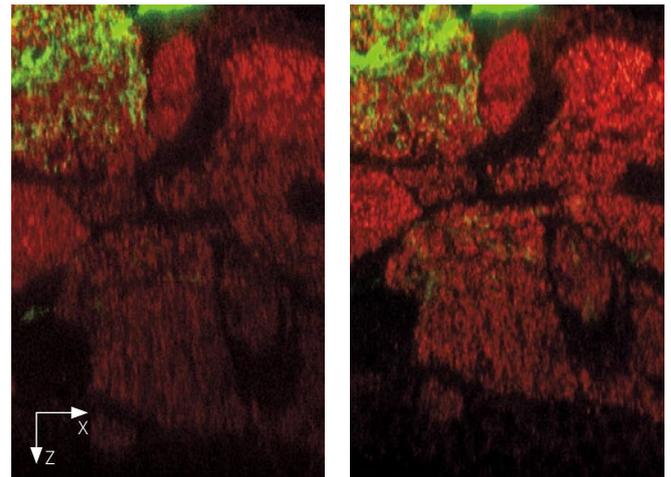


Illustrations du haut : image XZ à une profondeur de 500 μm ; échelle graphique : 20 μm

Illustrations du bas : image XYZ à une profondeur de 470 à 570 μm

Échantillon : souris Th1-YFP-H

### Comparaison entre les objectifs 60X à immersion dans l'huile et l'huile de silicone pour l'observation d'un cerveau de drosophile monté dans une solution de glycérol



Immersion dans l'huile

Immersion dans l'huile de silicone

mCD8 (GFP, vert)/a-Bruchpilot (immunomarquage, rouge)

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du D<sup>r</sup> Yasuhiro Imanishi et du D<sup>r</sup> Hiromu Tanimoto, Graduate School of Life Sciences, université de Tohoku



Unité de commande à distance de bague de correction IX3-RCC



FV30-AC25W (objectif 25X à immersion dans l'eau ; ON : 1,05; DF : 2 mm)

# Objectifs pour l'excitation multiphotonique

Conçus pour assurer des performances optimales pour l'imagerie à excitation multiphotonique (MPE) d'échantillons clarifiés et *in vivo*, ces objectifs permettent de prendre des images de haute précision à une profondeur de 8 mm.



## Objectifs pour l'imagerie MPE

	DF (mm)	GROSS.	IC*	ON	Milieu d'immersion (indice de réfraction)	Échantillon	Application
XLPLN10XSVMP	8	10X	18	0,60	Eau à huile (n : 1,33 à 1,52)	Échantillons <i>in vivo</i> et clarifiés	Observation à grand champ de vision
XLSLPLN25XGMP	8	25X	18	1,00	Huile de silicone à huile (n : 1,41 à 1,52)	Échantillon clarifié	
XLSLPLN25XSVMP2	8	25X	18	0,95	Eau à huile de silicone (n : 1,33 à 1,41)	Échantillons <i>in vivo</i> et clarifiés	Observation en haute résolution
XLPLN25XSVMP2	4	25X	18	1,00	Eau à huile de silicone (n : 1,33 à 1,41)	Échantillons <i>in vivo</i> et clarifiés	
XLPLN25XWMP2	2	25X	18	1,05	Eau (n : 1,33)	<i>in vivo</i>	
FV30-AC10SV	8	10X	18	0,60	Eau à huile (n : 1,33 à 1,52)	Échantillons <i>in vivo</i> et clarifiés	Observation à grand champ de vision
FV30-AC25W	2	25X	18	1,05	Eau (n : 1,33)	<i>in vivo</i>	Observation en haute résolution

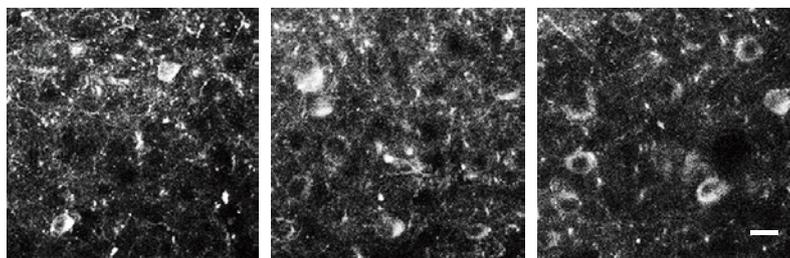
\* Indice de champ maximal observable à travers un oculaire

## Imagerie en profondeur *in vivo* avec l'objectif XLPLN25XWMP2

L'imagerie cérébrale multiphotonique en profondeur *in vivo* et l'optogénétique à haute résolution nécessitent l'utilisation d'objectifs avec un grand facteur de transmission de la lumière infrarouge (IR), une grande ouverture numérique (NA) et capables de corriger les aberrations dues à la profondeur des tissus et à la dispersion de la lumière. L'objectif XLPLN25XWMP2 assure une large transmission de la lumière IR grâce au nouveau revêtement 1600, ce qui permet de réaliser des stimulations optogénétiques avec de la lumière visible jusqu'à des longueurs d'onde aussi courtes que 400 nm et de l'imagerie ou des stimulations IR au-delà de 1600 nm. La bague de correction, qui réduit le volume d'excitation, permet la stimulation de cellules individuelles ou d'épines dendritiques. Associé aux capacités de balayage puissant et précis du microscope multiphotonique à balayage laser FV4000MPE, l'objectif XLPLN25XWMP2 est l'outil idéal pour l'imagerie multiphotonique de haute précision.

## Imagerie par excitation à deux photons de neurones cortico-spinaux et cortico-striataux *in vivo* croisés dans la couche L5a pendant l'apprentissage

- L'imagerie calcique d'un circuit de neurones cérébraux profonds permet aux chercheurs d'observer les réponses rapides lumineuses d'un seul neurone.



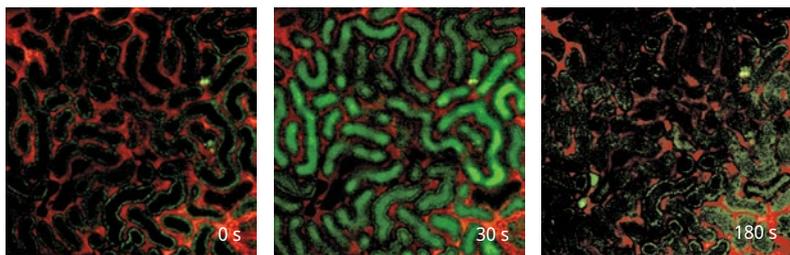
À 450 μm de profondeur de la surface du cerveau À 500 μm de profondeur de la surface du cerveau À 550 μm de profondeur de la surface du cerveau

Imagerie par excitation à deux photons de neurones cortico-striataux croisés *in vivo* transduits avec les vecteurs rAAV2/9-Syn-GCaMP3 au niveau du cortex moteur du membre antérieur gauche M1 lors de l'apprentissage d'une tâche motrice. Profondeur de 450, 500 et 550 μm à partir de la surface cérébrale. Échelle graphique : 20 μm.

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du D<sup>r</sup> Yoshito Masamizu, du D<sup>r</sup> Yasuhiro R Tanaka et du D<sup>r</sup> Masanori Matsuzaki, Division of Brain Circuits, National Institute for Basic Biology  
Référence : *Nat Neurosci.* 2014 Jul; 17 (7): 987-94. doi: 10.1038/nn.3739. Epub 2014 Jun 1.

## Imagerie de néphrons *in vivo* à la surface d'un rein

- Imagerie à intervalles *in vivo* à haute résolution avec une ON de 1,05.



Imagerie à intervalles d'un fluorophore (jaune lucifer, vert) administré en intraveineuse qui passe librement dans le glomérule. Du dextrane d'un poids moléculaire de 70 kD marqué à la rhodamine B (couleur rouge) permet d'observer la circulation sanguine. Les ombres visibles dans le plasma sanguin sont des cellules sanguines. Le signal vert au temps 0 correspond à l'auto-fluorescence des cellules tubulaires proximales.

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du D<sup>r</sup> Daisuke Nakano, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, université de Kagawa  
Référence : *J Am Soc Nephrol.* 2015 Apr 8. pii: ASN.2014060577. [Epub ahead of print]

## Imagerie en profondeur du cerveau d'une souris

- Imagerie en profondeur du cerveau d'une souris à l'aide d'objectifs avec grande ouverture numérique, une distance frontale de 2 mm et une bague de correction ajustable pour optimiser la correction

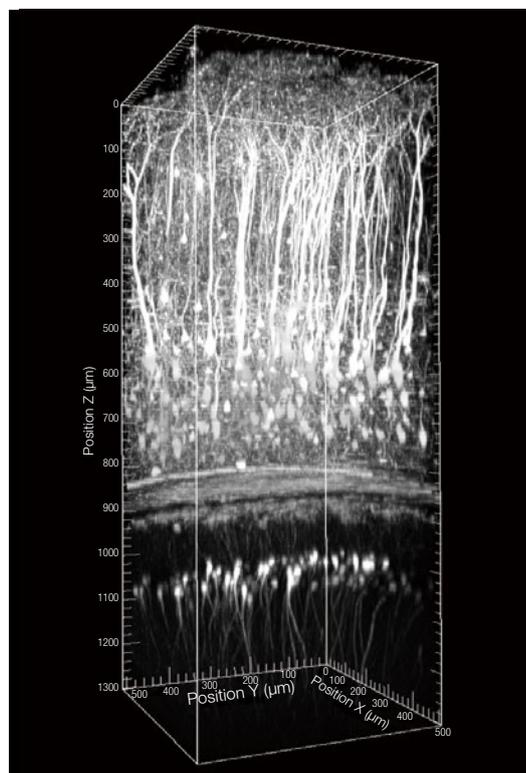


Image par empilement selon l'axe Z de la surface du cerveau à la couche radiée de l'hippocampe (CA1) d'une souris *in vivo* sous anesthésie

Échantillon : souris mâle Thy1-YFP H âgée de 8 semaines

Longueur d'onde d'excitation : 960 nm

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation de Katsuya Ozawa et Hajime Hirase, Neuron-Glia Circuitry, RIKEN Brain Science Institute, Japon

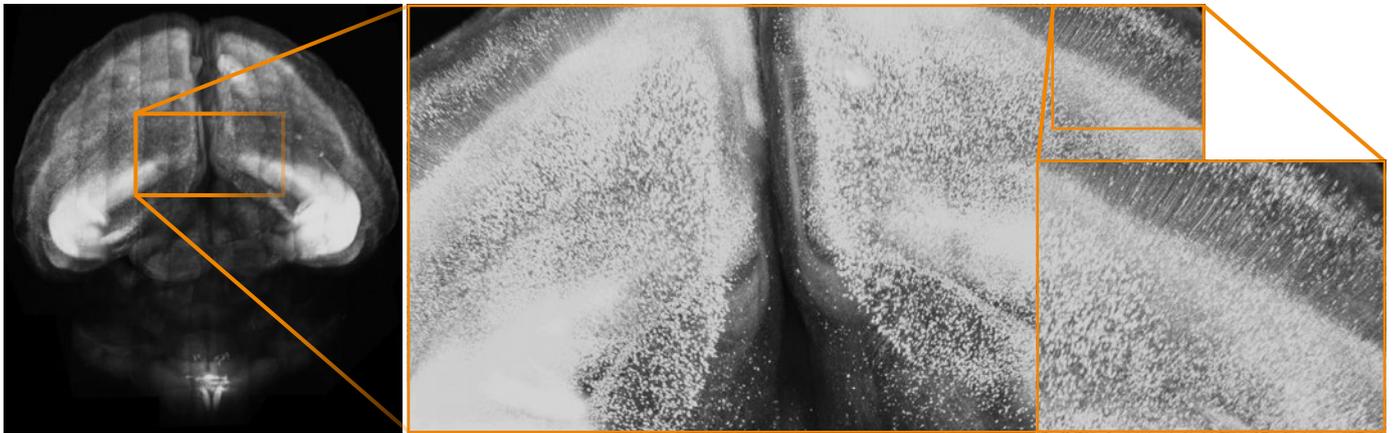
## Observation d'échantillons fixés et clarifiés à une profondeur de 8 mm à l'aide d'objectifs conçus pour l'imagerie multiphotonique

Nos objectifs pour l'imagerie à excitation multiphotonique (MPE) permettent de réaliser des travaux de recherche décisifs sur la fonction cérébrale et d'autres organes vitaux. Les chercheurs travaillant sur le cerveau qui utilisaient des microscopes optiques devaient, jusqu'à récemment, couper de fines sections de tissus. Grâce aux objectifs conçus pour l'imagerie MPE et à la technologie de clarification des tissus, les chercheurs peuvent maintenant observer leurs échantillons jusqu'à 8 mm de profondeur sans avoir à les couper en sections. Les objectifs XLPLN25XSVM2 et XLSLPLN25XSVM2 ont été conçus pour être utilisés avec le réactif de clarification révolutionnaire « Sca/e », formulé par le Dr Atsushi Miyawaki et son équipe au sein du RIKEN Brain Science Institute, au Japon.\* Les objectifs XLSLPLN25XGMP et XLPLN10XSVM peuvent être utilisés avec de nombreux réactifs de clarification, notamment les réactifs SeeDB, CLARITY et ScaleS, ce qui permet aux chercheurs d'observer leurs échantillons jusqu'à des profondeurs jamais atteintes et de voir, comme jamais auparavant, les interconnexions dans le cerveau et les autres tissus.

\* Publié en ligne dans *Nature Neuroscience*: Hama et al. 30 août 2011

### Imagerie du cerveau complet d'une souris (XLPLN10XSVM)

- Grand champ de vision avec grossissement 10X, résolution de l'ordre d'une cellule unique avec une ON de 1,0 et profondeur d'observation de jusqu'à 8 mm
- Les objectifs sont compatibles avec une large plage d'indices de réfraction de réactifs de clarification (n : 1,33 à 1,52).



Cerveau de souris YFP-H de 20 semaines clarifié avec l'agent Sca/eS

Résolution à l'échelle cellulaire

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation de Hiroshi Hama et Atsushi Miyawaki, Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Center for Brain Science

### Imagerie en profondeur à haute résolution d'un cerveau de souris clarifié avec l'agent Sca/eS (XLSLPLN25XGMP)

- Imagerie en profondeur à haute résolution avec une ON de 1,0 et une distance frontale de 8 mm
- L'indice de réfraction des objectifs est proche de celui des réactifs de clarification (n : 1,41 à 1,52).

Image 3D d'un hémisphère d'une souris YFP-H de 14 semaines clarifié avec le réactif Sca/eS

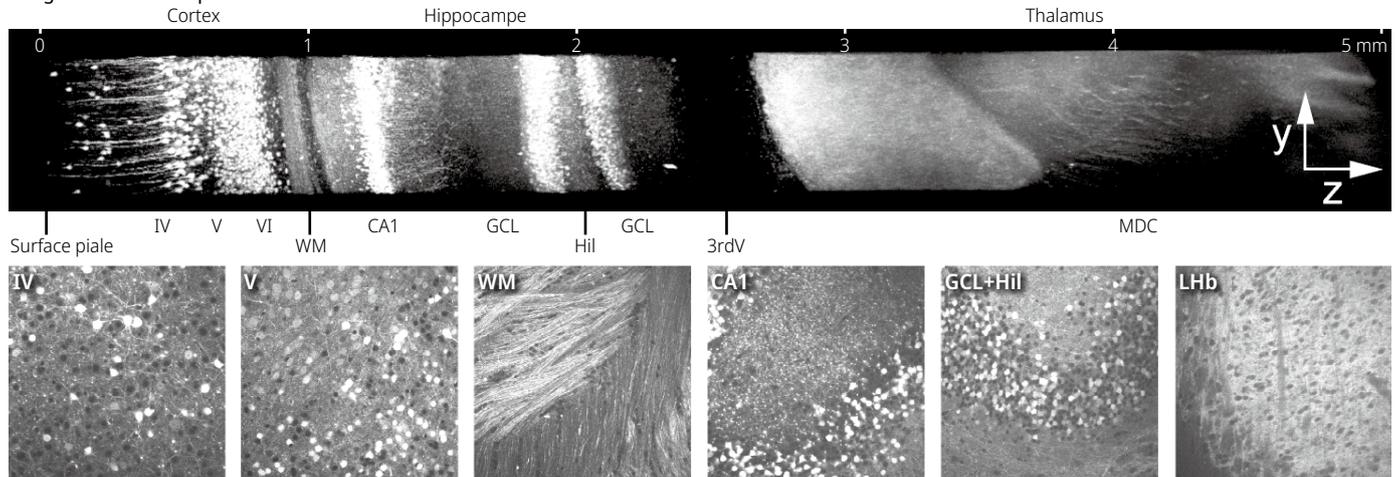


Image de projection d'intensité maximale (en haut). Six images XY à différentes positions Z (en bas). WM : substance blanche ; GCL : couche de cellules granulaires, Hil : hile, LHb : noyau habénulaire latéral, MDC : noyau thalamique médiodorsal ; échelles graphiques : 0,1 mm.

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation de Hiroshi Hama et Atsushi Miyawaki, Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Center for Brain Science  
Référence : *Nat Neurosci.* 2015 Oct; 18 (10): 1518-29. doi: 10.1038/nn.4107. Epub 2015 Sep 14.

# Objectifs à immersion dans l'huile de silicone

Les objectifs à immersion dans l'huile de silicone sont optimisés pour l'imagerie des cellules et tissus vivants. En utilisant un milieu d'immersion dont l'indice de réfraction est proche de celui de l'échantillon, les images sont plus claires et plus lumineuses, et les observations à intervalles deviennent plus fiables et moins complexes, car l'huile de silicone ne sèche pas à 37°C. Contrairement aux mélanges glycérol/eau, l'indice de réfraction de l'huile de silicone reste constant et la résolution obtenue avec un objectif à immersion dans l'huile de silicone est supérieure à celles obtenues avec des objectifs à immersion dans l'eau comparables, ce qui permet de garantir l'exactitude des études critiques d'analyses morphologiques des cellules et des tissus. Étant donné que l'indice de réfraction de l'huile d'immersion de silicone ( $n = 1,40$ ) est proche de celui du réactif de clarification SCALEVIEW-A2 ( $n = 1,38$ ), les objectifs à immersion dans l'huile de silicone conviennent également à l'observation des échantillons clarifiés avec le réactif SCALEVIEW-A2.

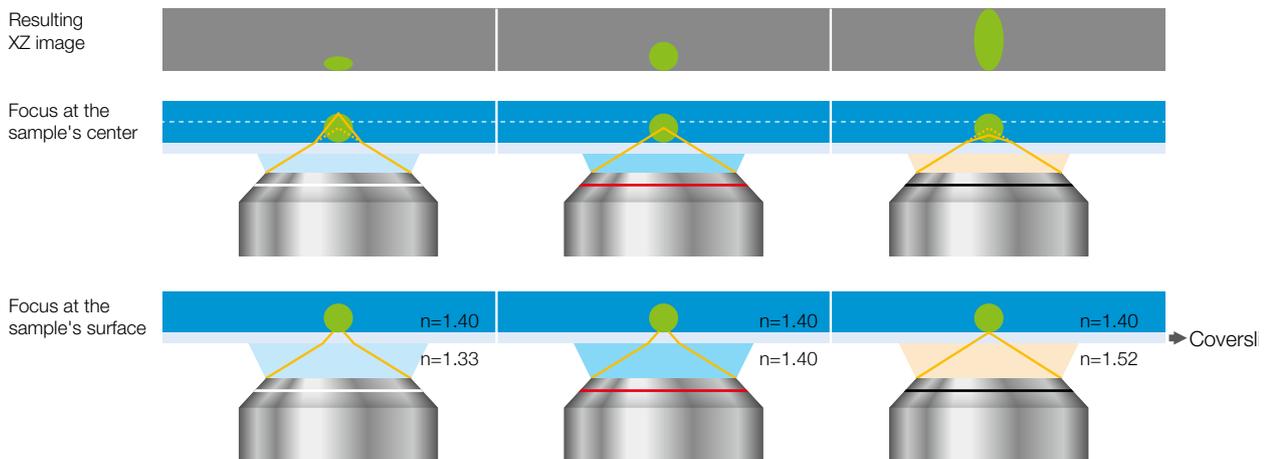


## Objectifs à immersion dans l'huile de silicone

	DF (mm)	GROSS.	IC*	ON	Milieu d'immersion	Applications
UPLSAPO100XS	0,2	100X	22	1,35	Huile de silicone	Haute résolution pour l'imagerie subcellulaire
UPLSAPO60XS2	0,3	60X	22	1,30	Huile de silicone	Imagerie à intervalles à haute résolution et longue durée de cellules individuelles
UPLSAPO40XS	0,3	40X	22	1,25	Huile de silicone	Imagerie multicellulaire avec résolution inférieure au micron
UPLSAPO30XS	0,8	30X	22	1,05	Huile de silicone	Imagerie de tissus plus profonds avec un plus grand champ de vision
UPLSAPO30XSIR	0,8	30X	22	1,05	Huile de silicone	Imagerie MPE dans des tissus profonds avec un plus grand champ de vision

\* Indice de champ maximal observable à travers un oculaire

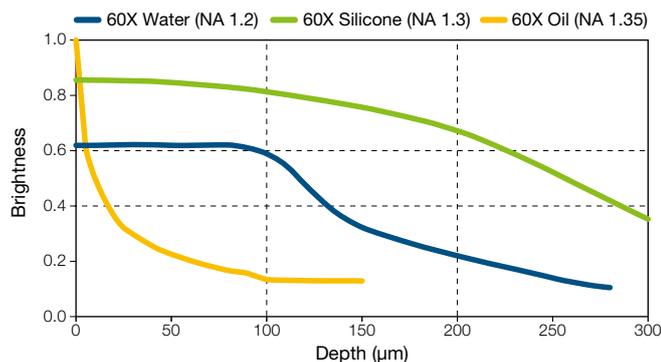
## Effets d'un écart entre les indices de réfraction sur la forme de l'échantillon



Il est important d'utiliser un milieu d'immersion dont l'indice de réfraction est proche de celui de l'échantillon pour pouvoir produire des images 3D précises.

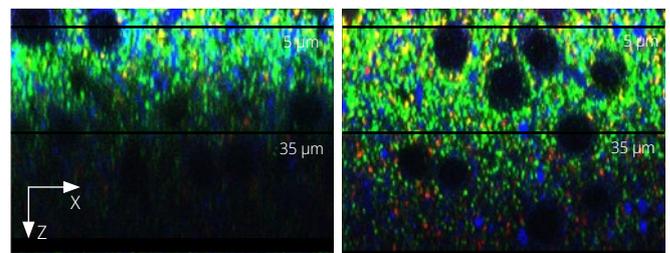
## Comparaison de la luminosité des objectifs 60X

Normalisée par la luminosité de l'objectif 60X à la surface de l'échantillon ; indice de réfraction de l'échantillon : 1,38



Les objectifs à immersion dans l'huile sont les objectifs qui produisent les images les plus lumineuses à des profondeurs superficielles. Les objectifs à immersion dans l'huile de silicone produisent des images plus lumineuses que les objectifs à immersion dans l'eau à toutes les profondeurs de mise au point pour un grossissement donné.

## Comparaison des objectifs 60X à immersion dans l'huile de silicone et à immersion dans l'huile



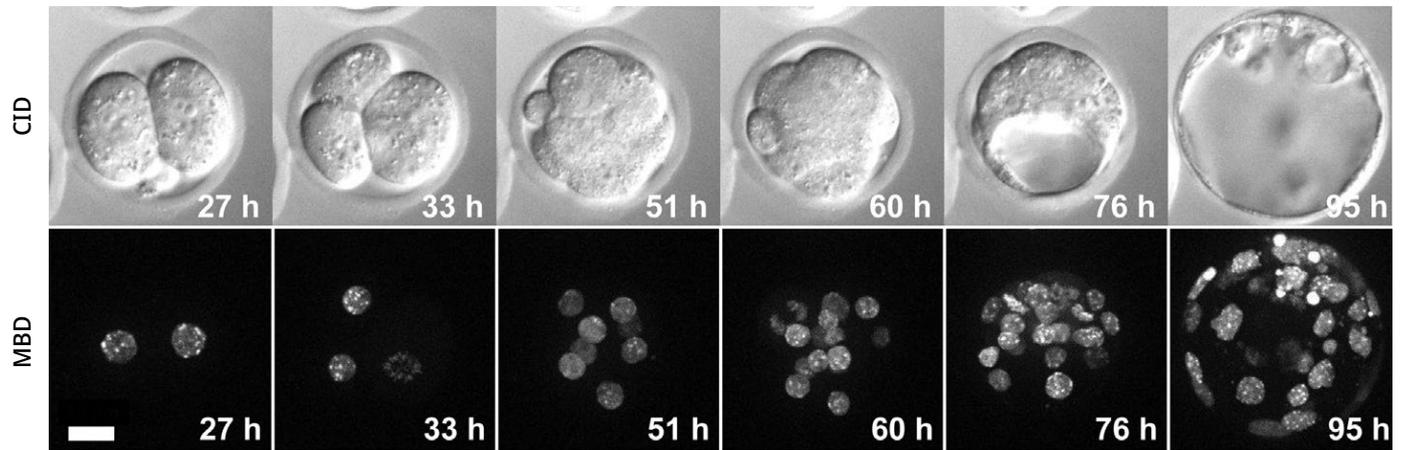
UPLSAPO 60XO (ON 1,3, DF 0,3 mm, immersion dans l'huile  $n = 1,52$ ) UPLSAPO60XS2 (ON 1,3, DF 0,3 mm, huile de silicone  $n = 1,4$ )

L'indice de réfraction de l'huile de silicone étant proche de celui de l'échantillon, l'objectif à immersion dans l'huile de silicone (UPLSAPO60XS2) permet de prendre des images de couches plus profondes. Échantillon : néocortex clarifié avec le réactif Sca/eA2, VGlut1/Vert, VGlut2/Rouge, MAP2/Bleu

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du Dr Motokazu Uchigashima et du Dr Masahiko Watanabe, Department of Anatomy, Hokkaido University Graduate School of Medicine

## Imagerie à intervalles longue durée d'un embryon de souris vivant (UPLSAPO60XS2)

- Imagerie à haute résolution avec une ON de 1,30 ; imagerie 3D avec une DF de 0,3 mm
- Imagerie à intervalles de longue durée avec huile d'immersion de silicone stable



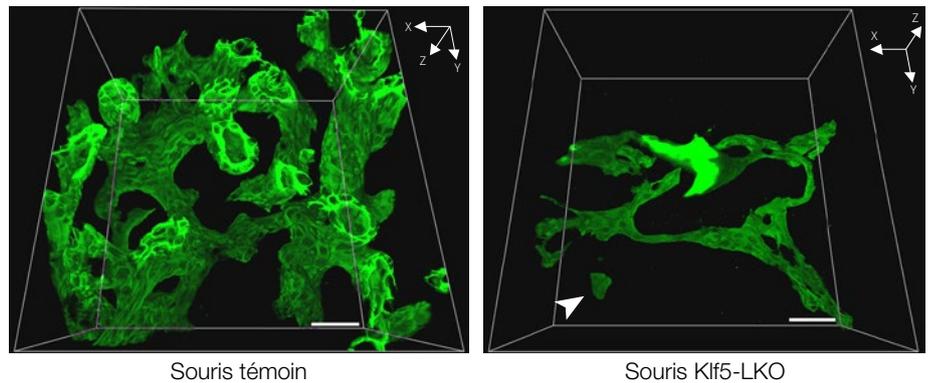
Images d'un embryon de souris vivant prises à intervalles sur une longue durée. Des images ont été prises toutes les heures du stade de zygote (0 h) au stade de blastocyste (119 h). Domaine de liaison méthyle-CpG (MBD) de la protéine MBD1 fusionné avec mCherry. Images acquises à l'aide de l'objectif à immersion dans l'huile de silicone UPLSAPO60XS. Échelle graphique : 20  $\mu$ m.

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du D' Kazuo Yamagata, Faculty of Biology-Oriented Science and Technology, université Kinki  
Référence : *Stem Cell Reports*. 2014 Jun 3; 2 (6): 910 – 924.

## Observation tridimensionnelle des structures de l'arbre biliaire dans un foie de souris avec un objectif 30X (UPLSAPO30XS)

Pour obtenir des images tridimensionnelles avec une meilleure résolution, le microscope confocal FLUOVIEW™ et un objectif à immersion dans l'huile de silicone (UPLSAPO30XS : ON 1,05, DF 0,8 mm) ont été utilisés pour produire des images tomographiques consécutives (espacées de 1  $\mu$ m sur l'axe Z) des tissus biliaires (vert, marqueur des cellules épithéliales de la vésicule biliaire CK19)

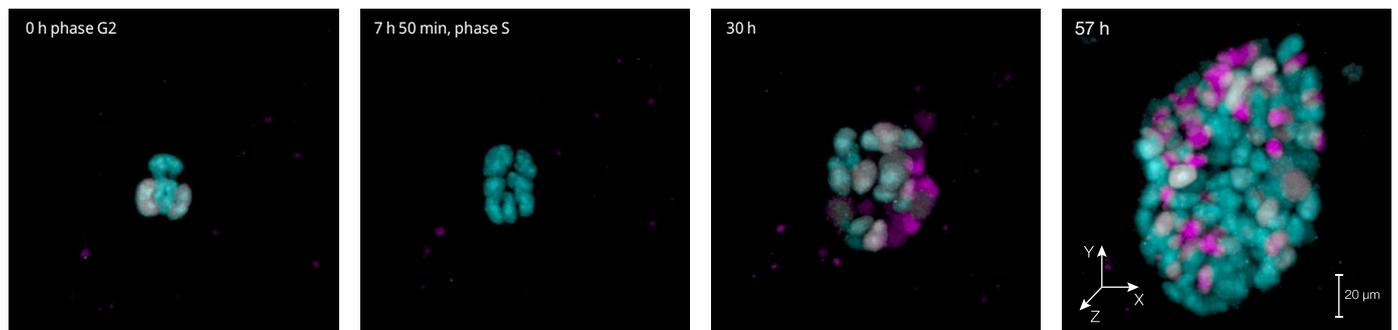
dans un échantillon de tissus de foie d'une épaisseur de 200  $\mu$ m clarifié avec le réactif SeeDB. Cette combinaison a permis une observation en haute résolution des arbres biliaires des souris témoin et Klf5-LKO tout en conservant un grand champ de vision. Chez la souris Klf5-LKO, les chercheurs ont observé des agrégats de cellules CK19+ (flèche blanche) séparés spatialement de l'arbre biliaire.



Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation d'Asako Sakaue-Sawano et Atsushi Miyawaki, RIKEN Brain Science Institute Laboratory for Cell Function Dynamics  
Référence : *Development*. 2013 Nov; 140 (22): 4624-32.  
doi: 10.1242/dev.099226. Epub 2013 Oct 23.

## Acquisition d'images à intervalles de cellules souches embryonnaires non différenciées (UPLSAPO30XS)

- Observation à intervalles de CSE de souris marquées avec le biocapteur FUCCI (CA) 2.1



Les cellules souches embryonnaires (CSE) non différenciées prolifèrent rapidement et sont très sensibles. La phototoxicité pendant l'imagerie par intervalles peut endommager les CSE et réduire leur vitesse de prolifération. Il devient alors difficile de procéder à une imagerie à intervalles des CSE dans des conditions précises d'un point de vue physiologique. Le microscope FLUOVIEW permet de réaliser de l'imagerie à intervalles faiblement phototoxique en utilisant une puissance de laser extrêmement faible, grâce à un trajet lumineux très efficace et à des dispositifs de détection extrêmement sensibles. Ces propriétés ont permis à un groupe de recherche de réaliser une expérience d'imagerie à intervalles se déroulant sur 57 heures, au cours de laquelle trois cycles cellulaires normaux de CSE non différenciées en division rapide ont été complètement couverts.

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du D' Masahiro Yo, du D' Asako Sakaue-Sawano et du D' Atsushi Miyawaki (chef d'équipe), Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Center for Brain Science

# Objectifs à haute résolution pour la microscopie à super-résolution/TIRF

Une grande ouverture numérique est essentielle pour la microscopie à super-résolution ou la microscopie de fluorescence par réflexion totale interne (TIRF). En tant qu'entreprise pionnière dans le domaine de la microscopie TIRF, Evident offre une large gamme d'objectifs avec une grande ouverture numérique entre 1,45 et 1,7 (la plus grande ON au monde\*1) et un grossissement compris entre 60 et 150X. En réponse aux avancées technologies, comme l'imagerie à super-résolution et à grand champ, qui utilisent des caméras sCMOS, nous avons développé une technologie avancée de fabrication des objectifs qui nous a permis de créer le premier objectif apochromatique corrigé en planéité au monde avec une ouverture numérique de 1,5\*2. Ces objectifs assurent une qualité d'images uniforme sur un grand champ de vision, ce qui permet aux chercheurs d'acquérir des images brutes de haute qualité.



\*1 En date du 4 oct. 2018. D'après la recherche menée par Evident.

\*2 En date du 4 oct. 2018. D'après la recherche menée par Evident sur les objectifs utilisant une huile d'immersion classique (indice de réfraction  $n = 1,518$ ).

## Objectifs à haute résolution pour les microscopies à super-résolution et TIRF

	DF (mm)	GROSS.	IC*3	ON	Milieu d'immersion	Applications
UPLAPO60XOHR	0,11	60X	22	1,50	Huile	Imagerie TIRF de cellules entières, imagerie à super-résolution en temps réel des cellules vivantes, imagerie à super-résolution des petites structures comme les organites
UPLAPO100XOHR	0,12	100X	22	1,50	Huile	Imagerie à super-résolution en temps réel des cellules vivantes, imagerie à super-résolution des petites structures comme les organites, imagerie à haute résolution des membranes cellulaires ou des organites subcellulaires et expériences menées à l'échelle monomoléculaire
APON100XHOTIRF	0,08	100X	22	1,70	Huile spéciale	Observation du mouvement des protéines ou des vésicules à l'échelle monomoléculaire
UAPON150XOTIRF	0,08	150X	22	1,45	Huile	Imagerie subcellulaire (p. ex., organite, réticulum endoplasmique, et trafic de vésicules intracellulaires)

\*3 Indice de champ maximal observable à travers l'oculaire

## Imagerie à super-résolution en temps réel

- Association des objectifs UPLAPO60XOHR et UPLAPO100XOHR avec le système à super-résolution confocale à disque rotatif SpinSR10
- Le système SpinSR10 acquiert rapidement des images à super-résolution et fournit un affichage en temps réel avec une résolution XY jusqu'à 120 nm.

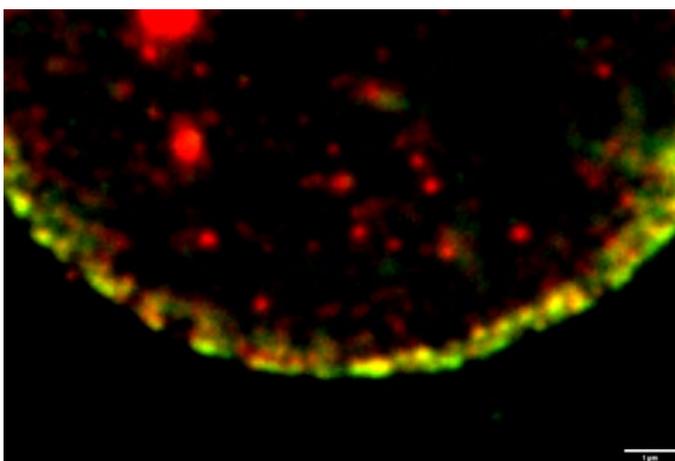


Image confocale

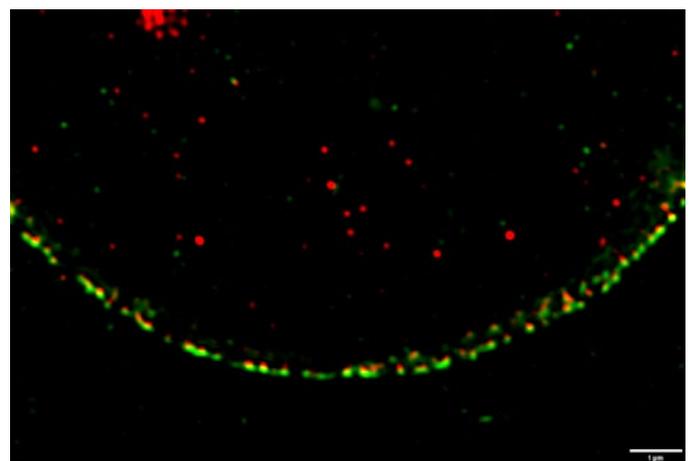


Image à super-résolution

Vert : nucléopore Nup358 marquée à l'Alexa488 et localisée à la surface cytoplasmique des pores nucléaires  
 Rouge : nucléopore Nup62 marquée à l'Alexa555 et localisée dans le transporteur des pores nucléaires  
 Les localisations des nucléopores Nup358 et Nup62 peuvent se distinguer par la technique à super-résolution.  
 \* Pores nucléaires d'une cellule HeLa

Images reproduites avec l'aimable autorisation de Hidetaka Kosako, Fujii Memorial Institute of Medical Sciences, université de Tokushima

## Imagerie de fluorescence eptomoléculaire pour compter les sous-unités d'un complexe de canal ionique transmembranaire (APON100XHOTIRF)

- Imagerie TIRF monomoléculaire avec des images lumineuses à haute résolution et une ON de 1,70

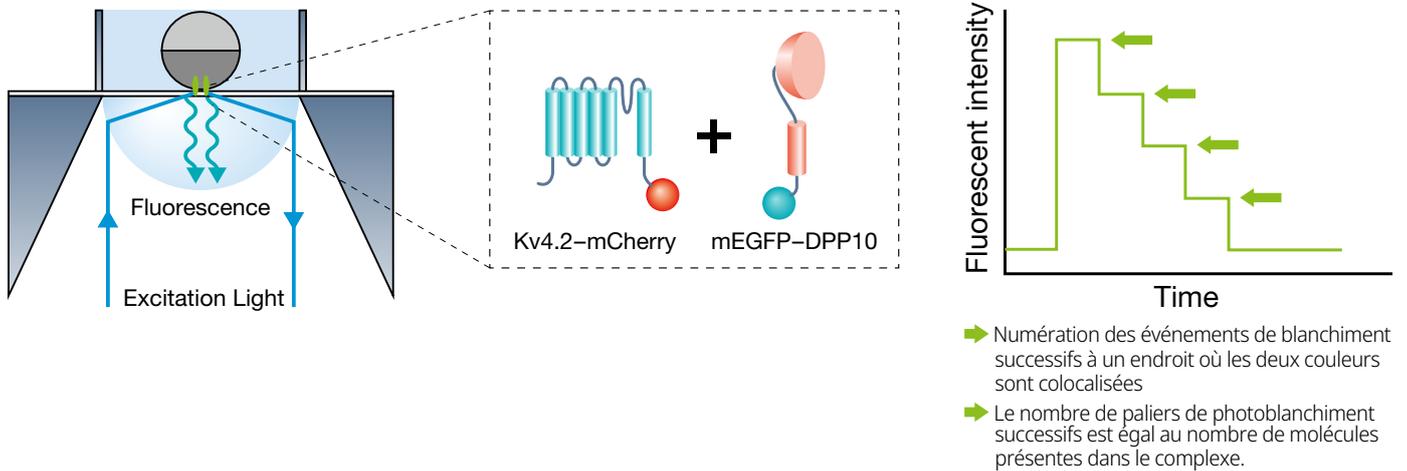
La numération des sous-unités de l'étude a requis un photoblanchiment continu de la fluorescence des protéines (sous-unités) fusionnées à une protéine fluorescente, telle que la forme monomère de la protéine à fluorescence verte améliorée (mEGFP). Un laser d'excitation a été utilisé pendant 10 secondes environ pour réaliser le photoblanchiment. Le processus a été suivi en temps réel grâce à l'utilisation de l'imagerie de fluorescence monomoléculaire. À l'échelle monomoléculaire, le photoblanchiment de la fluorescence a lieu par paliers successifs en fonction du nombre de molécules fluorescentes. Par conséquent, le nombre de molécules DPP10 peut être déterminé par comptage des événements de photoblanchiment successifs aux endroits où les protéines Kv4.2-mCherry et mEGFP-DPP10 sont colocalisées. Grâce à son ouverture numérique, la plus grande au monde<sup>\*2</sup>, l'objectif APON100XHOTIRF permet aux chercheurs de mesurer le changement d'intensité de fluorescence provoqué par le photoblanchiment d'une seule molécule. Cette étude<sup>\*3</sup> a révélé qu'un maximum de quatre molécules de sous-unités DPP10 forment un complexe avec le canal ionique Kv4.2.

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

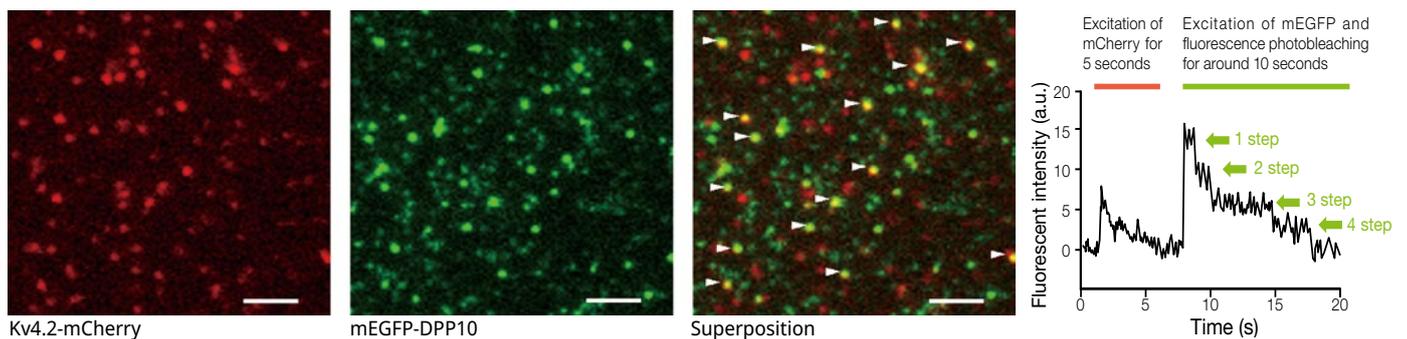
\*2 En date du 4 oct. 2018. D'après la recherche menée par Evident.

\*3 Kitazawa M, Kubo Y, and 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.

### Illustration schématique de la numération des sous-unités d'un complexe de canal ionique transmembranaire avec l'imagerie de fluorescence monomoléculaire



### Détermination de la stœchiométrie des sous-unités du complexe canalaire Kv4.2-DPP10 par numération des sous-unités



La localisation de Kv4.2-mCherry est visualisée par excitation de mCherry pendant les cinq premières secondes. La protéine mEGFP est ensuite excitée pendant les 10 secondes suivantes pour visualiser sa localisation et suivre le photoblanchiment continu de sa fluorescence. Les points présentant un photoblanchiment de la protéine mEGFP en un maximum de quatre paliers ont été identifiés en traçant le changement d'intensité de fluorescence à chaque point où deux couleurs de molécules fluorescentes sont colocalisées (points indiqués par la tête de flèche blanche). Ces résultats indiquent que quatre molécules mEGFP-DPP10 sont liées au complexe de canal ionique Kv4.2. Échelle graphique : 20  $\mu\text{m}$ .

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du Dr Masahiro Kitazawa et du Dr Yoshihiro Kubo, Division of Biophysics and Neurobiology, Department of Molecular Physiology, National Institute for Physiological Sciences, ainsi que du Dr Koichi Nakajo, Department of Physiology, Osaka Medical College

# Objectif supercorrigé

Vos signaux de fluorescence sont-ils vraiment colocalisés ? Répondre à cette question grâce à la microscopie de fluorescence standard nécessite un système optique supérieur capable de corriger les changements (aberrations) chromatiques survenant lorsque la lumière traverse un objectif. Effectuer ces corrections pour seulement deux ou trois couleurs ne suffit plus. L'objectif supercorrigé 60X OSC corrige un grand nombre d'aberrations chromatiques afin de générer des images où la fluorescence captée est positionnée au bon endroit. Économisez du temps et des ressources lors de vos expériences de marquage multicolore sans avoir à effectuer de réglages post-traitement.



## PLAPON60XOSC2

DF (mm)	0,12
Grossissement	60X
Indice de champ*	22
ON	1,40
Milieu d'immersion	Huile

\* Indice de champ maximal observable à travers un oculaire

L'objectif à immersion dans l'huile PLAPON60XOSC2 à grande ouverture numérique permet de réduire au maximum les aberrations chromatiques sur la plage de 405 à 650 nm pour des performances d'imagerie supérieures et une meilleure résolution des images à 405 nm. L'objectif assure un haut niveau de correction aussi bien pour les aberrations chromatiques axiales que les aberrations chromatiques latérales pour pouvoir acquérir des images 2D et 3D d'excellentes fiabilité et fidélité permettant une meilleure analyse de colocalisation. L'objectif compense également les aberrations chromatiques dans le proche infrarouge jusqu'à 850 nm.

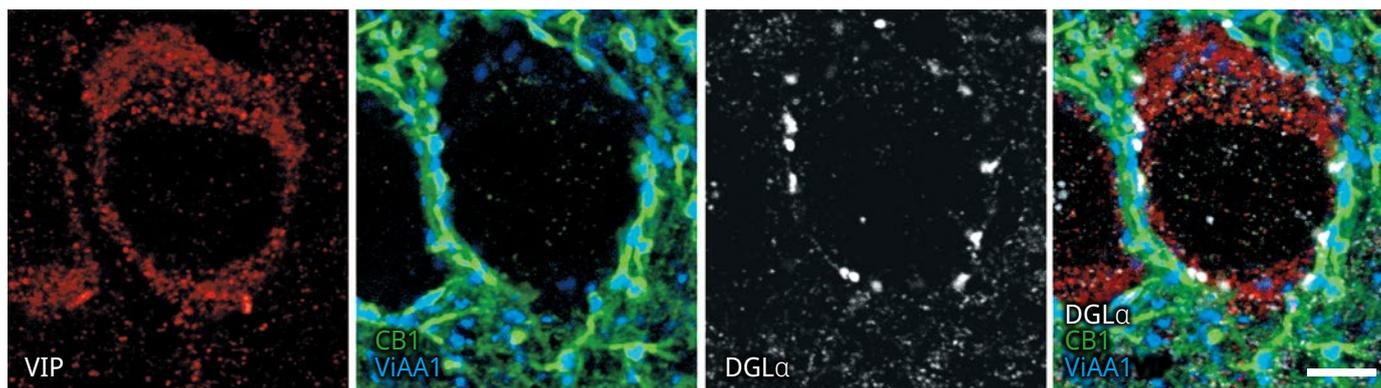
## Comparatif des performances des objectifs PLAPON60XOSC2 et UPLXAPO60XO

	UPLXAPO60XO	PLAPON60XOSC2
Aberration chromatique sur l'axe vertical (direction Z)	Environ 0,2 µm	Environ 0 µm
Aberration chromatique hors de l'axe latéral (direction X - Y)	Environ 0,15 µm	Environ 0,05 µm

Comparaison des aberrations chromatiques mesurées avec le microscope FLUOVIEW équipé d'une microsphère TetraSpeck. Cyan : excitation à 405 nm, magenta : excitation à 640 nm.

## Quadruple immunofluorescence de tissus cérébraux

- Amélioration de la sensibilité et de la résolution de détection
- Réduction au maximum des aberrations chromatiques, ce qui est idéal pour les applications d'immunofluorescence



La quadruple immunofluorescence de plusieurs molécules fonctionnelles et marqueurs cellulaires peut fournir des informations précises sur leur expression cellulaire et leur localisation subcellulaire. Cela inclut, notamment, des informations sur les relations d'indépendance et de codépendance entre les cellules fonctionnelles et les distances spatiales intercellulaires. ViAA1 (Alexa Fluor405, bleu), CB1 (Alexa Fluor488, vert), VIP (Cy3, rouge) et DGLα (Alexa Fluor 647, blanc). Échelle graphique : 5 µm.

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du Dr Masahiko Watanabe, Department of Anatomy, Hokkaido University Graduate School of Medicine  
Référence : *J Neurosci.* 2015 Mar 11; 35 (10): 4215-28. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4681-14.2015.

# Gagnez du temps pour l'imagerie d'échantillons en plaques et en boîtes de Petri à fond en plastique

Le temps consacré à vos expériences est précieux, et chaque manipulation supplémentaire requise pour leur réalisation repousse vos objectifs de recherche. Traditionnellement, l'inspection de cultures tissulaires en imagerie de fluorescence et à contraste de phase et la vérification des niveaux d'expression des protéines fluorescentes nécessitaient souvent le transfert des tissus cultivés dans des boîtes de Petri à fond en plastique dans des chambres de culture en verre pour l'imagerie afin d'avoir l'assurance d'obtenir des résultats fiables. Grâce à l'objectif UCPLFLN20XPH, vous pouvez sauter l'étape de transfert des cellules dans des chambres de culture en verre. Conçu pour l'imagerie de fluorescence et l'imagerie de phase des tissus dans des boîtes de Petri à fond en plastique, l'objectif UCPLFLN20XPH permet d'améliorer votre processus expérimental. Grâce à sa grande ouverture numérique (ON), les images sont lumineuses et uniformes sur l'ensemble du grand champ de vision de l'objectif, et la bague de correction et la longue distance frontale optimisent les images prises à travers différents récipients de culture cellulaire.



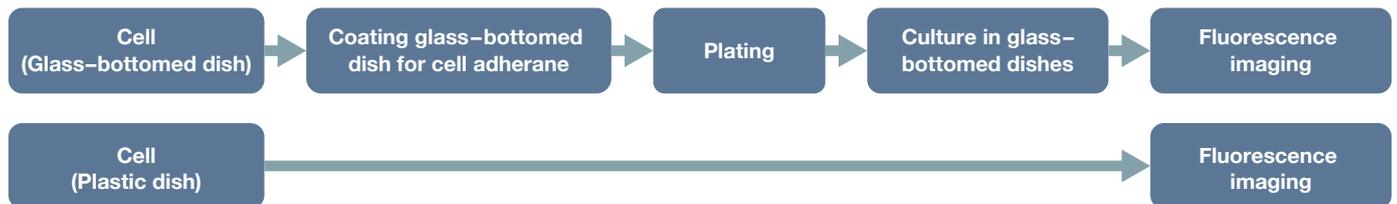
## UCPLFLN20XPH

DF (mm)	0,8 - 1,8
Grossissement	20X
Indice de champ*	22
ON	0,70
Milieu d'immersion	Sec

\* Indice de champ maximal observable à travers un oculaire.

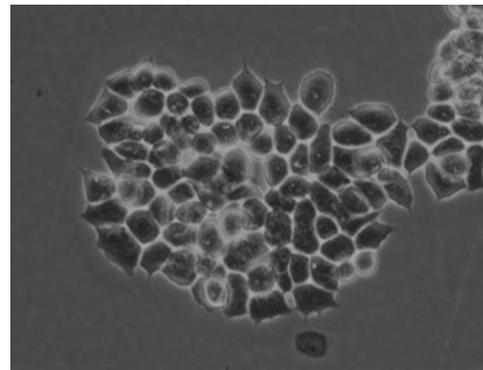
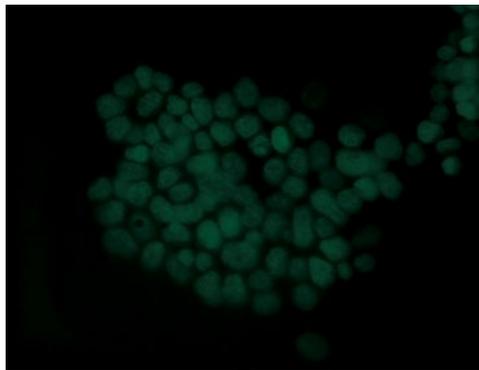
## Amélioration du processus de culture cellulaire

- Simplification du processus pour l'observation de fluorescence
- Les sous-cultures, qui nécessitent souvent une étape de traitement de surface supplémentaire, ne sont plus nécessaires.



## Cellules souches embryonnaires exprimant GFP-H2B dans une boîte de culture cellulaire à fond en plastique de 35 mm

LUCLFLN20XPH  
(ON 0,45)



UCPLFLN20XPH  
(ON 0,7)

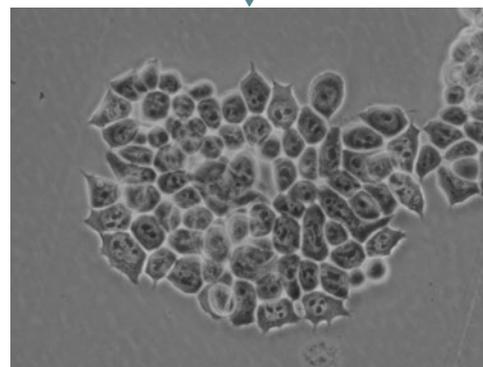
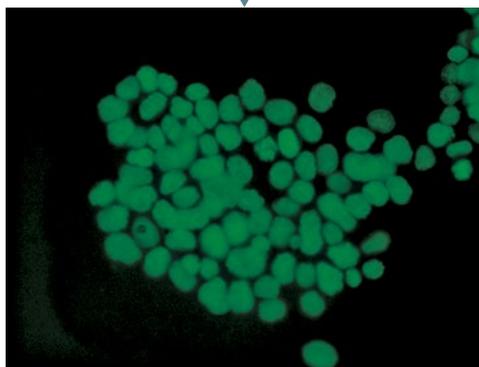


Image de fluorescence

Image en contraste de phase

L'observation de la fluorescence intense des histones dans le noyau (GFP-H2B) et l'observation des nucléoles en contraste de phase sont possibles avec un niveau élevé de détails.

Données d'images reproduites avec l'aimable autorisation du Dr Tomonobu Watanabe, Laboratory for Comprehensive Bioimaging, RIKEN Quantitative Biology Center

## Huiles d'immersion

### Huile d'immersion à faible autofluorescence



#### IMMOIL-F30CC

- 1/10<sup>e</sup> du niveau d'autofluorescence d'une huile normale
- Odeur faible – FDS disponible

### Huile d'immersion de silicone



#### SIL300CS-30SC

- Indice de réfraction :  $n = 1,406$  à 23 °C
- 30 ml net
- Faible autofluorescence

## Liste des articles de référence sur des travaux réalisés à l'aide de nos objectifs A Line

### Objectifs pour l'imagerie 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-Based Quorum Sensing Mechanism Contributes to Termination of Inflammatory Responses. Postat J, Olekhovitch 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, Jaggee E, Zhu Y, Buschhaus JM, Conley S, Fath MA, Davis A, Gheorghiuta 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. 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.** 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, Shigetada 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.

### Objectifs à immersion dans l'huile de silicone

**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, Baloul S, Valentini P, Bystrycky K, Payre 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, Nishinaka R, Takatani S, Kohchi T, Takahashi T, Motose H.

### Objectifs à haute résolution pour les microscopies à super-résolution et 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, Milklic 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, Brünung U, DeRan M, Jarugumilli G, van Rijssel J, Saladino G, Comitani F, Zecchin A, Rocha S, Chen R, Huang H, Vandekerckhove S, Kalucka J, Lange C, Morales-Rodriguez F, Cruys B, Treps L, Ramer L, Vinckier S, Brepols K, Wyns S, Souffreau J, Schoonjans L, Lamers WH, Wu Y, Hastraete J, Hofkens J, Liekens S, Cubbon R, Ghesquière B, Dewercin 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 JP, 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.

### Objectif 60X supercorrigé

**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, Skalik 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.

Pour choisir l'objectif le mieux adapté à votre application, utilisez notre outil de recherche d'objectifs : [olympus-lifescience.com/fr/objective-finder](https://www.olympus-lifescience.com/fr/objective-finder)

• EVIDENT CORPORATION est certifiée ISO14001.

• EVIDENT CORPORATION est certifiée ISO 9001.

Pour obtenir plus de détails sur l'enregistrement des certifications, rendez-vous sur la page <https://www.olympus-lifescience.com/fr/support/iso/>

• Tous les noms de société et de produit sont des marques déposées ou des marques de commerce de leurs propriétaires respectifs.  
• Les caractéristiques techniques et l'aspect des produits peuvent faire l'objet de modifications sans que le fabricant ait à émettre un préavis ou à respecter une quelconque obligation à cet égard.  
• Les dispositifs de déclaiage pour microscope ont une durée de vie conseillée. Des inspections périodiques sont requises. Veuillez consulter notre site Web pour en savoir plus.

EvidentScientific.com

EVIDENT

EVIDENT CORPORATION

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

OLYMPUS

N8600506-102023