Objetivas orientadas para aplicações

Avance sua pesquisa







Objetivas que permitem pesquisa inovadora

Com um rico histórico em design óptico, a Evident desenvolve objetivas de alta qualidade para aplicações avançadas em ciências da vida. Trabalhamos com nossos clientes para desenvolver produtos inovadores que atendam às necessidades específicas e em evolução dos pesquisadores da área.

Nosso compromisso com tecnologias ópticas inovadoras é exemplificado por nossas objetivas dedicadas à excitação multifotônica, que desenvolvemos em resposta à crescente necessidade de observação de tecidos profundos na pesquisa em ciências da vida. Quando nossos clientes precisaram de um sistema óptico projetado para formação de imagem 3D de células vivas e *in vivo*, desenvolvemos objetivas de imersão em silicone que permitem aos pesquisadores capturar imagens claras e de alta resolução mais profundamente nas amostras.

Há mais de 100 anos, fabricamos equipamentos de microscópio avançados e objetivas de alta qualidade e temos orgulho do nosso histórico de inovação e colaboração. Continuamos a trabalhar com pesquisadores para desenvolver novas tecnologias que atendam às novas necessidades da pesquisa em ciências da vida.



Índice

| Considerações para escolher uma objetiva e usar um colar de correção | 2 |
|--|-----|
| Objetivas dedicadas de excitação multifotônica (MPE) | 3–4 |
| Objetivas de imersão em silicone | 5–6 |
| Objetivas de alta resolução para superresolução e TIRF | 7-8 |
| Objetivas super corrigidas | 9 |
| Economize tempo formando imagens de placas com fundo de plástico | |

Escolhendo uma objetiva para sua aplicação de pesquisa

Selecionar a objetiva correta para sua aplicação de pesquisa é essencial para obter imagens de alta resolução. Ao combinar o índice de refração da amostra e do meio de imersão, a objetiva pode compensar a aberração esférica e produzir imagens mais profundas, mais claras e de maior resolução. A maioria das nossas objetivas A Line[™] tem aberturas numéricas (ANs) altas e colares de correção que permitem aos usuários compensar a aberração esférica, melhorando a resolução e o contraste da imagem.

A importância de um colar de correção

A aberração esférica é influenciada por incompatibilidades de índice de refração na trajetória óptica, como espessura da lamínula variável, profundidade de observação de uma amostra, a composição de células ou tecidos e mudanças na temperatura. Objetivas de NA alta são particularmente susceptíveis a estes efeitos. Ajustar o colar de correção da sua objetiva é essencial para compensar a aberração esférica e melhorar a qualidade da imagem. O resultado são imagens de maior resolução, mais claras e com maior contraste.

Se estiver usando um microscópio invertido, a unidade de controle remoto do colar (IX3-RCC) melhora muito a usabilidade dos colares de correção. Para formação de imagens profundas com um microscópio de escaneamento a laser multifotônica vertical, as objetivas TruResolution[™] (FV30-AC10SV e FV30-AC25W) oferecem um poderoso colar de correção com ajuste automático.

Uma imagem de um córtex sensorial do cérebro de um rato *in vivo* antes (à esquerda) e depois (à direita) de ajustar o colar de correção da objetiva XLPLN25XWMP2.



Imagens de cima: imagem XZ em uma profundidade de 500 μm; a escala gráfica representa 20 μm.

Imagens de baixo: imagem XYZ em uma profundidade de 470–570 μm. Amostra: rato Th1-YFP-H Comparação de objetivas 60X de imersão em óleo e silicone em um cérebro de Drosophila preparado em glicerol.





 Imersão em óleo
 Imersão em silicone

 mCD8 (GFP, verde)/a-Bruchpilot (imunocoloração, vermelho)
 Dados da imagem cortesia de:

 Yasuhito Imanishi Ph.D., Hiromu Tanimoto Ph.D.
 Escola de Pós-graduação de Ciências da Vida, Universidade de Tohoku



Unidade de controle de colar remoto IX3-RCC



FV30-AC25W (objetiva de imersão em água 25X; AN: 1,05; D.T.: 2 mm)

Objetivas dedicadas de excitação multifotônica

Projetadas para ter desempenho ideal durante formação de imagens de excitação multifotônica (MPE) de amostras in vivo e transparentes, essas objetivas permitem formação de imagens de alta precisão a uma profundidade de 8 mm.



Objetivas dedicadas MPE

| | D.T. (mm) | MAG. | OFN* | AN | Imersão (índice de refração) | Amostra | Finalidade | |
|-----------------|--------------|------|------|------|--|--------------------------------|--|--|
| XLPLN10XSVMP | 8 | 10X | 18 | 0,60 | Água para óleo (ne: 1.33 a 1.52) | Amostra clara e <i>in vivo</i> | Observação de campo de visão amplo | |
| XLSLPLN25XGMP | 8 | 25X | 18 | 1,00 | Óleo de silicone para óleo (ne: 1.41 a 1.52) | Amostra clara | | |
| XLSLPLN25XSVMP2 | 8 | 25X | 18 | 0,95 | Água para óleo de silicone (ne: 1.33 a 1.41) | Amostra clara e <i>in vivo</i> | Obconvação om altarocolução | |
| XLPLN25XSVMP2 | 4 | 25X | 18 | 1,00 | Água para óleo de silicone (ne: 1.33 a 1.41) | Amostra clara e <i>in vivo</i> | Observação em altaresolução | |
| XLPLN25XWMP2 | 2 | 25X | 18 | 1,05 | Água (ne: 1.33) | in vivo | | |
| FV30-AC10SV | 8 | 10X | 18 | 0,60 | Água para óleo (ne: 1.33 a 1.52) | Amostra clara e <i>in vivo</i> | Observação de campo de visão amplo | |
| FV30-AC25W | 2 | 25X | 18 | 1,05 | Água (ne: 1.33) | in vivo | Observação em altaresolução | |
| | | | | | ^ | *Núme | ro de campo máximo observável pelas oculares | |

Formação de imagem profunda in vivo com a objetiva XLPLN25XWMP2

Formação de imagem profunda de cérebro multifotônica in vivo e optogenética de alta resolução exigem objetivas com alta transmissão de luz infravermelha (IR), uma abertura numérica (AN) alta e a capacidade de corrigir a profundidade e dispersão do tecido. A objetiva XLPLN25XWMP2 oferece ampla transmissão IR com o novo revestimento 1600, permitindo estimulação optogenética com luz visível até 400 nm e formação de imagem IR ou estimulação além de 1600 nm. O colar de correção reduz o volume de excitação, possibilitando a estimulação de células isoladas ou espinhas dendríticas. Combinada com as capacidades de escaneamento poderosa e precisa do microscópio de escaneamento a laser multifotônica FV4000MPE, a objetiva XLPLN25XWMP2 é a ferramenta certa para formação de imagem multifotônica de alta precisão.

Formação de imagem in vivo de dois fótons de neurônios corticostriatais e corticospinais cruzados em L5a durante o aprendizado

• A formação de imagem de cálcio de um circuito de neurônios cerebrais profundos permite aos pesquisadores observar respostas rápidas e claras da atividade de um único neurônio.







450 µm de profundidade da superfície do cérebro

500 µm de profundidade da superfície do cérebro

550 µm de profundidade da superfície do cérebro

Formação de imagem in vivo de dois fótons de neurônios corticostriatais cruzados transduzidos com rAAV2/9-Syn-GCaMP3 no membro anterior esquerdo M1 durante o aprendizado de uma tarefa motora. Profundidade de 450, 500 e 550 μm da superfície do cérebro. Escala gráfica de 20 μm.

Dados da imagem cortesia de Yoshito Masamizu Ph.D., Yasuhiro R Tanaka Ph.D., Masanori Matsuzaki Ph.D., Divisão de Circuitos Cerebrais, Instituto Nacional de Biologia Básica Referência: *Nat Neurosci.* 2014 Jul; 17 (7): 987–94. doi: 10.1038/nn.3739. Epub 2014 Jun 1.

Formação de imagem de néfron in vivo na superfície renal

Formação de imagem de lapso de tempo in vivo de alta resolução com AN de 1,05.



Formação de imagem de lapso de tempo de corante de fluorescência (Lúcifer Amarelo, Verde) injetado em uma veia que passa livremente pelo glomérulo. Vermelho é rodamina B marcada com dextrano de 70 kD para observar o fluxo do plasma sanguíneo. As sombras no plasma sanguíneo são células sanguíneas. O sinal verde no tempo 0 é a autofluorescência da célula tubular proximal.

Dados da imagem cortesia de Daisuke Nakano Ph.D., Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Kagawa Referência: J Am Soc Nephrol. 2015 Apr 8. pii: ASN.2014060577. [Epub ahead of print]

Formação de imagem de cérebro de rato

• Imagem profunda do cérebro de um rato graças às objetivas de AN alta com uma distância de trabalho de 2 mm e ajustes otimizados do colar de correção.



Imagem de pilha Z de um rato in vivo sob anestesia da superfície cerebral à camada de irradiação do hipocampo (CA1).

Amostra: macho de 8 semanas linha H Thy1–YFP Comprimento de onda de excitação: 960 nm Dados da imagem cortesia de Katsuya Ozawa e Hajime Hirase, Circuito Neurônio-Glia, Instituto de Ciências Cerebrais RIKEN, Japão

Observação de amostras transparentes fixas a uma profundidade de 8 mm usando objetivas multifotônicas dedicadas

Nossas objetivas dedicadas de MPE ajudam nas pesquisas inovadoras sobre a função cerebral e outros órgãos vitais. Até recentemente, os pesquisadores da ciência do cérebro que usavam microscópios de luz tinham que cortar finas seções de tecido. Usando objetivas dedicadas de MPE e tecnologia de clareamento de tecidos, os pesquisadores podem ver até 8 mm de profundidade sem cortar. As objetivas XLPLN25XSVMP2 e XLSLPLN25XSVMP2 foram projetadas para uso com o revolucionário reagente de clareamento "Sca/e" desenvolvido pelo Dr. Atsushi Miyawaki e sua equipe no Instituto de Ciências do Cérebro RIKEN no Japão.* As objetivas XLSLPLN25XGMP e XLPLN10XSVMP são compatíveis com muitos reagentes, incluindo SeeDB, CLARITY e ScaleS, permitindo aos pesquisadores observar profundidades sem precedentes e ver as interconexões no cérebro e em outros tecidos como nunca antes. *Publicado on-line em Nature Neuroscience: Hama et al. Aug 30, 2011

Formação de imagem de cérebro de rato completo (XLPLN10XSVMP)

- · Amplo campo de visão com ampliação de 10X, resolução unicelular com AN de 1,0 e observações de até 8 mm.
- As objetivas correspondem a uma ampla gama de índices de refração de reagentes de clareamento (ne: 1.33 a 1.52).



Cérebro de rato YFP-H com 20 semanas de idade tratado com Sca/eS Dados da imagem cortesia de Hiroshi Hama, Atsushi Miyawaki, Laboratório de Dinâmica da Função Celular, Centro RIKEN para Ciências do Cérebro

Resolução unicelular

Formação de imagem cerebral profunda de alta resolução de um cérebro de rato tratado com Sca/eS (XLSLPLN25XGMP)

- Formação de imagem profunda de alta resolução com AN de 1,0 e um D.T. de 8 mm.
- · As objetivas correspondem ao índice de refração dos reagentes de clareamento (ne: 1.41 a 1.52).

Imagem 3D de um hemisfério tratado com Sca/eS de um rato YFP-H com 14 semanas de idade



Uma imagem de projeção de intensidade máxima (parte superior). Seis imagens XY em diferentes posições Z (parte inferior). WM: substância branca; GCL: camada de célula granular, Hil: hilo, LHb: núcleo habenular lateral, MDC: núcleo talâmico mediodorsal; escalas gráficas representam 0,1 mm. Dados da imagem cortesia de Hiroshi Hama, Atsushi Miyawaki, Laboratório de Dinâmica da Função Celular, Centro RIKEN para Ciências do Cérebro

Referência: Nat Neurosci. 2015 Oct; 18 (10): 1518–29. doi: 10.1038/nn.4107. Epub 2015 Sep 14

Objetivas de Imersão em silicone

As objetivas de imersão em silicone são otimizadas para formação de imagem de tecidos vivos e células vivas. Ao combinar adequadamente o índice de refração, as imagens ficam mais claras e brilhantes e as observações com intervalo de tempo tornam-se mais confiáveis e menos complexas pois o óleo de silicone não seca a 37 °C (98,6 °F). Ao contrário das misturas de glicerol/água, o índice de refração do óleo de silicone permanece constante e a resolução é superior às objetivas de água comparáveis, ajudando a garantir a precisão de estudos críticos de morfologia de células e tecidos. Como o índice de refração do óleo de imersão em silicone (ne=1.40) é próximo ao do reagente de clareamento SCALEVIEW-A2 (ne=1.38), as objetivas de imersão em silicone são também adequadas para observação de amostras claras de SCALEVIEW-A2.



Objetivas de imersão em silicone

| | D.T. (mm) | MAG. | OFN* | AN | Imersão | Aplicações |
|---------------|--------------|------|------|------|------------------|---|
| UPLSAPO100XS | 0,2 | 100X | 22 | 1,35 | Óleo de silicone | Alta resolução para formação de imagem subcelular |
| UPLSAPO60XS2 | 0,3 | 60X | 22 | 1,30 | Óleo de silicone | Formação de imagem de lapso de tempo de alta resolução e longo prazo de células únicas |
| UPLSAPO40XS | 0,3 | 40X | 22 | 1,25 | Óleo de silicone | Formação de imagem de múltiplas células com resolução submícron |
| UPLSAPO30XS | 0,8 | 30X | 22 | 1,05 | Óleo de silicone | Formação de imagem de tecidos mais profundos com um campo de visão mais amplo |
| UPLSAPO30XSIR | 0,8 | 30X | 22 | 1,05 | Óleo de silicone | Formação de imagem MPE em tecido profundo com um campo de visão mais amplo |

*Número de campo máximo observável pelas oculares.

Efeito de discrepância de índice de refração em formato de amostra



Coincidir o índice de refração de uma amostra e os meios de imersão é muito importante para obter imagens precisas em 3D

Comparação de brilho das objetivas 60X

Normalizado pelo brilho da objetiva 60X na superfície da amostra; índice de refração da amostra: 1,38.



As objetivas de imersão em óleo são mais claras em profundidades superficiais. As objetivas de imersão em silicone são mais claras que as objetivas de imersão em água em todas as profundidades de foco para uma determinada ampliação.

Comparação de objetivas 60X de imersão em silicone e óleo



(AN 1.3, D.T. 0,3 mm, óleo de imersão ne = 1.52) (AN 1.3, D.T. 0,3 mm, óleo de silicone ne = 1.4)

Ao combinar o índice de refração da amostra e o meio de imersão, a objetiva de silicone (UPLSAPO60XS2) permite uma formação de imagem mais profunda. Amostra: neocórtex tratado Sca/eA2, VGluT1/Verde, VGluT2/Vermelho, MAP2/Azul

Dados da imagem cortesia de Motokazu Uchigashima, M.D., Ph.D., Masahiko Watanabe, M.D., Ph.D., Departamento de Anatomia, Curso de Pós-graduação em Medicina da Universidade de Hokkaido

Formação de imagem com intervalo de tempo a longo prazo de um embrião de rato vivo (UPLSAPO60XS2)

- Formação de imagem de alta resolução com AN de 1,30; formação de imagem de 3D com D.T. de 0,3 mm.
- Formação de imagem de lapso de tempo de longo prazo com óleo de imersão de silicone estável.



Imagens de lapso de tempo de longo prazo de um embrião de rato vivo. As imagens foram tiradas a cada hora desde o estágio de zigoto (0 h) até blastocisto (119 h). Domínio de ligação a metil-CpG fundido com mCherry (MBD) da proteína MBD1. Imagens adquiridas usando objetiva de imersão em silicone UPLSAPO60XS. Escala gráfica de 20 µm. Dados da imagem cortesia de Kazuo Yamagata, Ph.D., Faculdade de Biologia Orientada à Ciências e Tecnologia, Universidade Kinki Tronco de referência: *Cell Reports.* 2014 Jun 3; 2 (6): 910–924.

Observação tridimensional de estruturas de árvores biliares em fígado de rato com uma objetiva de 30X (UPLSAPO30XS)

Para obter imagens tridimensionais de maior resolução foi utilizado o microscópio confocal FLUOVIEW[™] e uma objetiva de imersão em óleo de silicone 30X (UPLSAPO30XS: AN de 1,05, D.T. de 0,8 mm) foram usados para obter imagens tomográficas consecutivas (intervalo

axial Z de 1 µm) de tecido biliar (verde, marcador de células epiteliais biliares CK19) em tecido hepático com 200 µm de espessura clareado usando SeeDB. Essa combinação permitiu a observação em alta resolução das árvores biliares do rato de controle e do rato Klf5-LKO, mantendo um campo de visão amplo. No rato Klf5-LKO, os pesquisadores observaram aglomerados celulares CK19+ (seta branca) espacialmente separados da árvore biliar.

Dados da imagem cortesia de Asako Sakaue-Sawano, Atsushi Miyawaki, Laboratório do Instituto de Ciência do Cérebro RIKEN para Dinâmica da Função Celular Referência: *Development*. 2013 Nov; 140 (22): 4624–32. doi: 10.1242/ dev.099226. Epub 2013 Oct 23.



Rato de controle



Rato Klf₅-LKO

Aquisição de imagem com lapso de tempo de células-tronco embrionárias indiferenciadas (UPLSAPO30XS)

Observação com lapso de tempo de células-tronco embrionárias de rato rotuladas com Fucci (CA) 2.1



As células-tronco embrionárias indiferenciadas (ES) proliferam rapidamente e são muito delicadas. A fototoxicidade durante a aquisição de imagens com lapso de tempo pode danificar as células-tronco embrionárias e reduzir sua velocidade de proliferação, dificultando a execução da aquisição de imagens com lapso de tempo das referidas células em condições fisiológicas exatas. O microscópio FLUOVIEW permite uma aquisição de imagens com lapso de tempo pode danificar as ditamente eficiente e a dispositivos de detecção sensíveis. Essas propriedades permitiram que um grupo de pesquisa efetuasse um experimento de aquisição de imagens com lapso de tempo, com uma duração de 57 horas, no qual foram abrangidos três ciclos celulares normais de células-tronco embrionárias indiferenciadas de divisão rápida.

Dados da imagem cortesia do Dr. Masahiro Yo, Dr. Asako Sakaue-Sawano e Dr. Atsushi Miyawaki (líder da equipe), Laboratório de Dinâmica da Função Celular, Centro RIKEN para Ciências do Cérebro

Objetivas de alta resolução para superresolução/TIRF

Uma AN alta é importante para microscopia de superresolução ou fluorescência de reflexão interna total (TIRF). A Evident é pioneira em microscopia TIRF e oferecemos uma ampla linha de objetivas com aberturas numéricas que variam de 1,45 ao AN mais alto do mundo de 1,7^{*1} e ampliações que variam de 60X a 150X. Em resposta aos avanços tecnológicos, como superresolução e formação de imagem de área ampla usando câmeras sCMOS, desenvolvemos tecnologia avançada de fabricação de lentes que nos permitiu criar a primeira objetiva apocromática com correção de plano do mundo com uma AN de 1,5^{*2}. Essas objetivas proporcionam qualidade de imagem uniforme em um amplo campo de visão, permitindo aos pesquisadores adquirir imagens RAW de alta qualidade.



*1 Em 4 de outubro de 2018. De acordo com a pesquisa da Evident. *2 Em 4 de outubro de 2018. De acordo com a pesquisa da Evident de lentes objetivas usando óleo de imersão comum (índice de refração ne = 1.518).

Objetivas de alta resolução para superresolução e TIRF

| | D.T. (mm) | MAG. | OFN* ³ | AN | Imersão | Aplicações |
|----------------|--------------|------|-------------------|------|---------------|--|
| UPLAPO60XOHR | 0,11 | 60X | 22 | 1,50 | Óleo | Formação de imagem TIRF de células completas, formação de imagem de superresolução em tempo real para células vivas, formação de imagem de superresolução de estruturas minúsculas, como organelas |
| UPLAPO100XOHR | 0,12 | 100X | 22 | 1,50 | Óleo | Formação de imagem de superresolução em tempo real para células vivas, formação de imagem de superresolução de estruturas minúsculas, como organelas, formação de imagem de alta resolução de membranas celulares ou organelas subcelulares e experimentos de nível de molécula isolada |
| APON100XHOTIRF | 0,08 | 100X | 22 | 1,70 | Óleo especial | Observação do movimento de proteínas ou vesículas no nível molecular único |
| UAPON150XOTIRF | 0,08 | 150X | 22 | 1,45 | Óleo | Formação de imagem subcelular (por exemplo, organela, retículo endoplasmático e tráfego de vesículas intracelulares) |

*3 Número de campo máximo observável pelas oculares.

Formação de imagem de superresolução em tempo real

- Combine as objetivas UPLAPO60XOHR e UPLAPO100XOHR com o sistema de superresolução confocal de disco giratório SpinSR10.
- O sistema SpinSR10 adquire rapidamente imagens de superresolução e oferece exibição em tempo real com resolução XY de até 120 nm.



Imagem confocal

Imagem de superresolução

Verde: Nup358 marcado com Alexa488, que se localiza na superfície citoplasmática do complexo de poros do núcleo. Vermelho: Nup62 marcado com Alexa555, que se localiza no tampão central do complexo de poros do núcleo. A localização do Nup358 e Nup62 pode ser diferenciada pela técnica de superresolução. *Complexo de poros nucleares de células Hela.

Imagem cortesia de: Hidetaka Kosako, Instituto Memorial de Ciências Médicas Fujii, Universidade Tokushima

Formação de imagem de fluorescência de molécula isolada para contar as subunidades de um complexo de canais iônicos transmembranares (APON100XHOTIRF)

· Formação de imagem TIRF de molécula isolada com imagens claras e de alta resolução e com AN de 1,70.

A contagem de subunidades do estudo exigiu fotobrangueamento de fluorescência contínua de proteínas (subunidades) que foram marcadas com uma proteína fluorescente - como uma proteína fluorescente verde aprimorada com monomérico (mEGFP). Um laser de excitação foi usado por cerca de 10 segundos para causar fotobranqueamento. O processo foi monitorado em tempo real usando formação de imagem de fluorescência de molécula isolada. No nível de molécula isolada, o fotobranqueamento por fluorescência é gradual com base no número de moléculas fluorescentes. Portanto, o número de moléculas DPP10 pode ser determinado contando os eventos de fotobranqueamento gradual nos pontos onde Kv4.2-mCherry e mEGFP-DPP10 se colocalizam. A maior AN*2 do mundo da objetiva APON100XHOTIRF permite aos pesquisadores medir a mudança na intensidade da fluorescência causada pelo fotobrangueamento de molécula isolada. Este estudo^{*3} revelou que no máximo quatro moléculas de subunidades de DPP10 formam um complexo com o canal iônico Kv4.2.

*1 Ulbrich, MH, and Isacoff EY. "Subunit counting in membrane-bound proteins." *Nature Methods*, 4 (2007): 319–321. *2 Em 4 de outubro de 2018. De acordo com a pesquisa da 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.

Ilustração esquemática de contagem de subunidades de um complexo de canais iônicos transmembranares usando formação de imagem de fluorescência de molécula isolada





Contagem de eventos de branqueamento passo a passo em um local onde duas cores se colocalizam.

O número de etapas é igual ao número de moléculas no complexo.

Determinar a estequiometria de subunidades do complexo do canal Kv4.2-DPP10 por contagem de subunidades



A localização do Kv4.2-mCherry é visualizada pela excitação do mCherry nos primeiros cinco segundos, seguida pela excitação do mEGFP nos próximos 10 segundos para visualizar sua localização e fotobranqueamento contínuo por fluorescência. Pontos com fotobranqueamento de mEGFP em um máximo 4 etapas foram encontradas por meio do gráfico da alteração na intensidade de fluorescência em cada ponto onde duas cores de moléculas fluorescentes colocalizadas (indicadas pela seta branca). Portanto, descobriu-se que um máximo de quatro moléculas de mEGFP-DPP10 estavam ligadas aos complexos do canal iônico Kv4.2. Escala gráfica de 20 µm.

Dados da imagem cortesia de; Masahiro Kitazawa, Ph.D., Yoshihiro Kubo, M.D., Ph.D., Divisão de Biofísica e Neurobiologia, Departamento de Fisiologia Molecular, Instituto Nacional de Ciências Fisiológicas Koichi Nakajo, Ph.D., Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Os

Objetiva supercorrigida

Seus sinais de fluorescência estão realmente colocalizados? Responder a esta pergunta com microscopia de fluorescência padrão requer um design óptico superior que corrija as mudanças de cores (aberração) que ocorrem quando a luz passa através de uma objetiva. Fazer isso com apenas duas ou três cores está se tornando cada vez mais insuficiente. A objetiva 60X OSC supercorrigida corrige uma grande quantidade de aberrações de cores para fornecer imagens que capturam a fluorescência no local adequado. Economize tempo e recursos em experimentos de identificação multicoloridos sem precisar de ajustes pós-processamentos.

A objetiva de imersão em óleo PLAPON60XOSC2 com AN alta minimiza a aberração cromática na região de 405–650 nm para melhor desempenho da formação de imagem e resolução de imagem em 405 nm. A objetiva oferece um alto grau de correção para aberração cromática tanto axial quanto lateral para aquisição de imagens 2D e 3D com excelente confiabilidade, precisão e melhor análise de colocalização. A objetiva também compensa a aberração cromática no infravermelho próximo de até 850 nm.

| Plan A Do N Blan A | |
|--|--|
| - | |

PLAPON60XOSC2

| D.T. (mm) | 0,12 | | | | |
|---|------|--|--|--|--|
| MAG. | 60X | | | | |
| OFN* | 22 | | | | |
| AN | 1,40 | | | | |
| Imersão | Óleo | | | | |
| Número de campo máximo observável pelas | | | | | |

*Número de campo máximo observável pelas oculares.



Comparação de aberração cromática medida pelo microscópio FLUOVIEW usando TetraSpeck Microsphere. ciano: excitação de 405 nm, magenta: excitação de 640 nm.

Imunofluorescência quádrupla de tecido cerebral

- · Sensibilidade e resolução de detecção aprimoradas.
- · Minimiza as aberrações cromáticas, ideal para aplicações de imunofluorescência.



A imunofluorescência quádrupla para múltiplas moléculas funcionais e marcadores celulares pode fornecer informações detalhadas sobre a expressão celular e a localização subcelular, que inclui a relação co-dependente ou independente entre células funcionais relacionadas e distâncias espaciais intercelulares. ViAA1 (Alexa Fluor405, azul), CB1 (Alexa Fluor488, verde), VIP (Cy3, vermelho) e DGLα (Alexa Fluor647, branco). Escala gráfica de 5 µm.

Dados da imagem cortesia de Masahiko Watanabe, M.D., Ph.D., Departamento de Anatomia, Curso de Pós-graduação em Medicina da Universidade de Hokkaido Referência: / Neurosci. 2015 Mar 11; 35 (10): 4215–28. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4681–14.2015.

Economize tempo formando imagens de placas com fundo de plástico

Seu tempo de trabalho é valioso e cada etapa adicional exigida no processo toma tempo dos objetivos da sua pesquisa. Inspecionar a cultura de tecidos com contraste de fase e formação de imagem de fluorescência e ter confiança nos níveis de expressão de proteínas fluorescentes muitas vezes significou primeiro cultivar o tecido em placas com fundo de plástico para aderência e depois transferir a cultura para câmaras de vidro para formação de imagens. Com a objetiva UCPLFLN20XPH, você pode pular a etapa de replaqueamento de células em câmaras de vidro. Projetada para formação de imagem de fluorescência e de fase de tecidos em placas com fundo de plástico, a objetiva UCPLFLN20XPH ajuda a melhorar seu processo de trabalho. Com sua AN alta, as imagens são claras e uniformes em todo o amplo campo de visão da objetiva e o colar de correção e a distância de trabalho mais extensa otimizam as imagens por meio de diferentes frascos de culturas de células.



| UCPLFLN20XPH | | | | | | |
|---|-----------|--|--|--|--|--|
| D.T. (mm) | 0,8 - 1,8 | | | | | |
| MAG. | 20X | | | | | |
| OFN* | 22 | | | | | |
| AN | 0,70 | | | | | |
| Imersão Seco | | | | | | |
| *Número de campo máximo observável pelas oculares | | | | | | |

Melhore o processo de trabalho de cultura de células

- · Simplifique o processo de trabalho para observação de fluorescência.
- · Não é mais necessário subcultivar, o que muitas vezes requer uma etapa extra de revestimento.



Células-tronco embrionárias que expressam GFP-H2B em uma placa de cultura celular de fundo de plástico de 35 mm



Imagem de fluorescência

Imagem em contraste de fase

Observação de fluorescência clara de histonas nos núcleos (GFP-H2B) e observação de contraste de fase de nucléolos são possíveis com um alto grau de detalhe. Dados da imagem cortesia de: Tomonobu Watanabe, Ph.D., Laboratório para Formação de Imagem Biológica Global, Centro de Biologia Quantitativa RIKEN

Óleos de imersão

Óleo de imersão de baixa autofluorescência

IMMOIL-F30CC



- 1/10 do nível de autofluorescência em comparação com o óleo padrão
- Pouco odor MSDS disponível

Óleo de imersão de silicone



SIL300CS-30SC

- Índice de refração: ne=1.406
- a 23 °C (73 °F)
- Líquido 30 ml
- Baixa autofluorescência

Lista de artigos de referência que usam objetivas A Line

Objetivas dedicadas 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 neutrophilis 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, Buzzia I, Atautela J, Hor JL, Hochheiser K, Effern M, McBain N, Wagner T, Edwards J, McCornille 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, 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, Gheordunescu 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.ccell.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 threedimensional single-cell-resolution whole-brain atlas using CUBIC-X expansion microscopy and tissue clearing: Murakami TC, Mano T, Saikawa S, Horiguchi SA, Shigeta D, Baba K, Sekiya H, Shimizu Y, Tanaka KF, Kiyonari H, Jino 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.

Objetivas de imersão em 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, Kanchanwong 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, Falo-Sanjuan J, Stojnic R, Abdul Rehman S, Muresan L, Jones ML, Pillidge Z, Cerda-Moya G, Yuan Z, Baloul S, Valenti P, Bystricky 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, Nishihama R, Takatani S, Kohchi T, Takahashi T, Motose H.

Objetivas de alta resolução para superresolução e 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, Milkie 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, Gorveia J, Brüning U, DeRan M, Jarugumilli G, van Rijssel J, Saladino G, Comitani F, Zecchin A, Rocha S, Chen R, Huang H, Vandekeere 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, Haustraete J, Hofkens J, Liekens S, Cubbon R, Ghesquière B, Dewerchin M, Gervasio FL, Li X, van Buul JD, Wu X8, Carreliet 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 PESTlike 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, superresolution 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.

Objetiva 60X supercorrigida

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, Baalyey R, Goula A, Vernet A, Paquin KL, Skalnik 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.

Para selecionar a objetiva correta para sua aplicação, use nossa ferramenta de Localizador de objetivas: olympus-lifescience.com/objective-finder

- A EVIDENT CORPORATION possui certificação ISO 14001. Para obter detalhes sobre o registro da certificação, acesse
 - https://www.olympus-lifescience.com/en/support/iso/
- A EVIDENT CORPORATION possui certificação ISO 9001.

Todos os nomes de empresas e produtos são marcas registradas e/ou marcas comerciais dos respectivos proprietários.
 As especificações e a aparência estão sujeitas a alterações sem aviso prévio ou qualquer obrigação por parte do fabricante.
 Dispositivos de liuminação para microscópios têm uma vida útil sugerida. São necessárias inspeções periódicas.
 Acesse nosso site para obter mais informações.

EvidentScientific.com



