

# Al ritmo del pulso de la vida



## **ZEISS LSM Lightfield 4D**

Captura de imágenes instantánea, volumétrica y de alta velocidad de organismos vivos

[zeiss.com/lightfield-4d](https://zeiss.com/lightfield-4d)

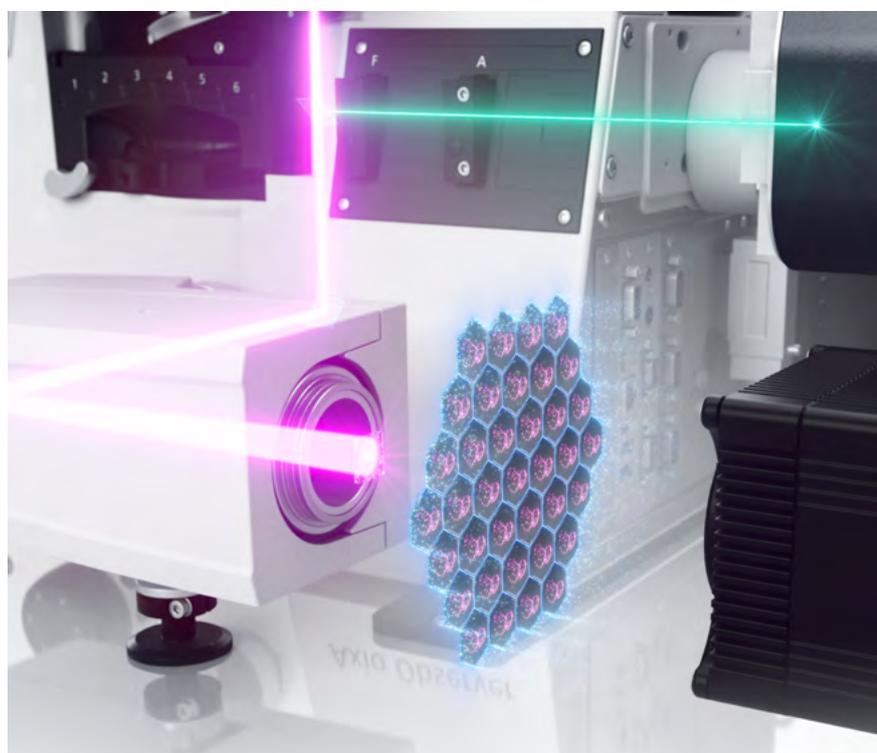


Seeing beyond

# ZEISS LSM Lightfield 4D

No se pierda el momento en que la vida revela sus secretos.

Lightfield 4D es la captura de imágenes instantánea volumétrica a alta velocidad. Obtenga información completa en 3D con una sola instantánea y diga adiós a cualquier retraso temporal dentro de un volumen capturado. Por primera vez, podrá capturar los movimientos más rápidos dentro de organismos enteros a una velocidad de hasta 80 volúmenes por segundo, con toda la información espaciotemporal intacta. Es posible estudiar en 3D larvas arrastrándose, corazones latiendo, sangre fluyendo y neuronas disparándose a una velocidad sin precedentes para desvelar los secretos de la vida.



▶ [Haga clic aquí para ver el vídeo](#)

✓ **Una toma. Un volumen.**  
Capture señales espaciales y dinámicas rápidas sin concesiones.

✓ **Mínima exposición a la luz. Máxima adquisición de información.**  
Observe organismos enteros durante el tiempo que desee sin alterar los procesos de la vida.

✓ **Adquisición rápida de imágenes. Mayor rendimiento.**  
Examine múltiples posiciones o numerosas muestras con la captura de imágenes volumétrica instantánea.

✓ **Una plataforma de captura de imágenes. Infinitas posibilidades.**  
Innove en sus experimentos y combine la captura de imágenes volumétrica de alta velocidad con todas las posibilidades de un LSM.

La exclusiva adquisición de una sola toma por volumen minimiza la exposición a la luz y le permite adquirir eficientemente miles de volúmenes durante largos periodos de tiempo sin dañar la muestra. Alcance nuevas cotas de productividad con la capacidad de capturar imágenes multicolor en múltiples posiciones dentro de organismos enteros, organoides o esferoides, o entre ellos, en una sola serie de adquisición.

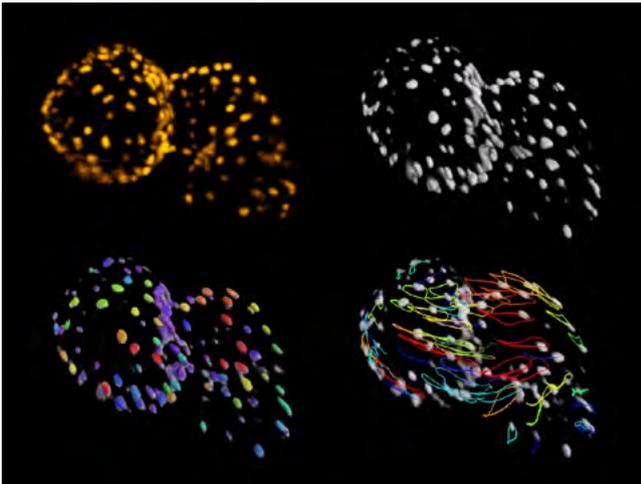
Como parte integrada de los sistemas ZEISS LSM, Lightfield 4D le permite combinar eficazmente su rápida captura de imágenes volumétrica con cualquier otra metodología de adquisición LSM: en cada sesión de captura de imágenes de células vivas pueden añadirse datos de fotomanipulación, superresolución, espectrales e incluso de dinámica molecular.

# Una toma. Un volumen.

## Procesos fisiológicos y neuronales de alta velocidad capturados en 3D

La vida se mueve. Muchos procesos neuronales y fisiológicos suceden a gran velocidad, lo que dificulta la captura precisa de su dinámica espaciotemporal. Pese a que las tecnologías consolidadas son ahora más rápidas, el tiempo de adquisición necesario sigue aumentando con el volumen de la muestra, por lo que los procesos rápidos, como la actividad neuronal o los latidos del corazón, requieren un término medio entre la información volumétrica y la frecuencia de fotogramas de la imagen. Con Lightfield 4D, ya no tendrá que hacer concesiones, ya que podrá capturar 80 volúmenes por segundo sin retardo de tiempo en 3D. Esto hace posible seguir la actividad neuronal en cerebros de pez cebra, rastrear el movimiento de los tejidos en embriones de *Drosophila* en desarrollo y realizar un seguimiento de las estructuras en movimiento en larvas de *C. elegans* que se arrastran. La exclusiva captura de imágenes de una sola toma por volumen evita que se pierdan o distorsionen acontecimientos cruciales. Por fin es posible realizar un seguimiento de partículas con alta resolución temporal en volúmenes completos. Empiece a trabajar en sus experimentos de inmediato, con su confocal y sin necesidad de ajustar la preparación de las muestras.

### Investigación de la morfología y el movimiento de la pared cardíaca del pez cebra en desarrollo

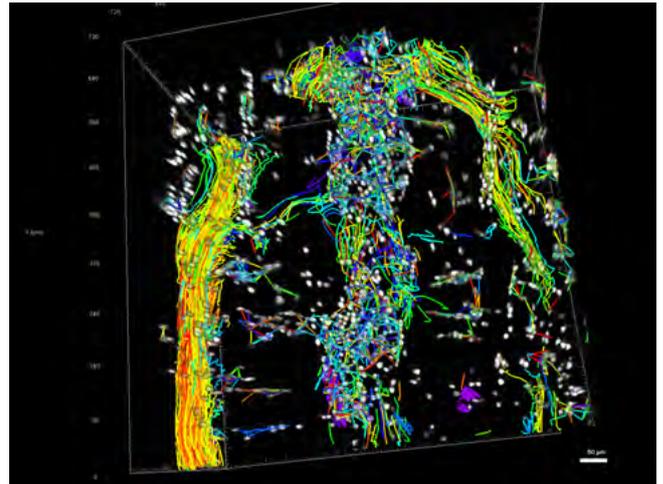


▶ Haga clic aquí para ver el vídeo

Expresión de mCherry en cardiomiocitos adquirida con ZEISS LSM 990 Lightfield 4D y Plan-Apochromat 20x/0.8 aire. Tamaño de volumen:  $723 \times 723 \times 430 \mu\text{m}^3$ , tiempo de exposición de 12 ms durante 1,2 segundos en total. Muestra cortesía de Stone Elworthy y Emily Noël, Facultad de Biociencias, Universidad de Sheffield, Reino Unido. Datos adquiridos en Wolfson Light Microscopy Facility en la facultad de Biociencias de la Universidad de Sheffield.

Analizar la morfología y el movimiento del corazón embrionario en 3D es un reto, ya que el corazón late continuamente. Los datos se obtuvieron de larvas de pez cebra a los 3 días tras la fertilización y embebidas en agarosa. ZEISS Lightfield 4D permitió capturar imágenes del latido del corazón con 80 volúmenes por segundo. La película muestra 3 latidos cardíacos completos en 1,2 segundos, durante los cuales se resuelven temporal y espacialmente los cardiomiocitos. Permite la segmentación celular y el seguimiento mediante el uso de ZEISS arivis Pro. Se puede ver claramente que los cardiomiocitos siguen exactamente la misma trayectoria en cada latido.

### Investigación del flujo de células sanguíneas de insectos (hemocitos) en la hemolinfa de *Drosophila*



▶ Haga clic aquí para ver el vídeo

Hemocitos con expresión de GFP adquiridos con ZEISS LSM 990 Lightfield 4D y Plan-Apochromat 20x/0.8 aire. Tamaño de volumen:  $723 \times 723 \times 430 \mu\text{m}^3$ , tiempo de exposición de 12 ms durante 2,5 segundos en total. Muestra cortesía de Iwan Robert Evans, Universidad de Sheffield, Reino Unido. Datos adquiridos en Wolfson Light Microscopy Facility en la facultad de Biociencias de la Universidad de Sheffield.

La investigación del flujo de hemocitos, las células sanguíneas de los insectos, a través de la hemolinfa *in vivo* resultó casi imposible para los investigadores debido al rápido movimiento tridimensional. ZEISS Lightfield 4D ofrece la oportunidad única de capturar imágenes de un gran volumen con la rapidez suficiente para seguir este proceso en condiciones fisiológicas *in vivo*. Gracias a la extraordinaria velocidad de captura de imágenes de 80 volúmenes por segundo, las células se resuelven de forma fiable espacial y temporalmente. Los datos adquiridos permiten la segmentación posterior y el seguimiento automatizado mediante el uso de ZEISS arivis Pro.

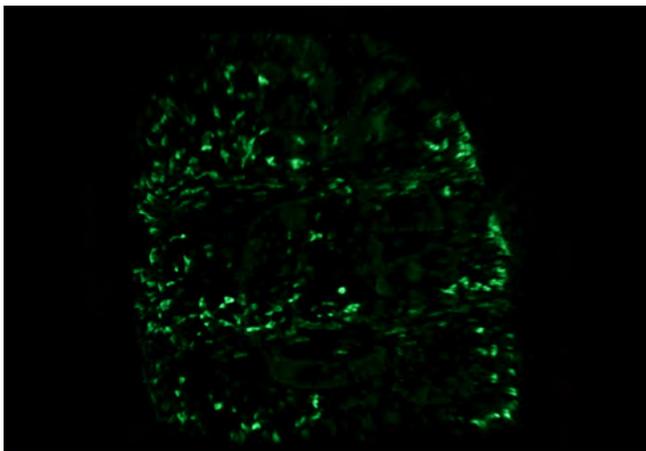
## Mínima exposición a la luz.

## Máxima adquisición de información.

### Observación delicada de organismos enteros durante largos periodos de tiempo

Recoger información en 3D de muestras vivas siempre ha supuesto todo un reto, especialmente cuando se trata de grandes volúmenes de muestras. El seccionamiento óptico requiere la adquisición secuencial de imágenes individuales para crear un z-stack. Cada sección requiere de una exposición a la luz, que no está totalmente limitada al plano de iluminación y puede sumar fácilmente cantidades perjudiciales en todo el volumen. Lightfield 4D funciona de forma diferente: se adquiere un Z-stack completo con un único episodio de iluminación, lo que reduce al mínimo la exposición a la luz y los efectos fototóxicos. Las muestras vivas pueden visualizarse durante largos periodos de tiempo con una alta densidad temporal. Esta combinación de extraordinaria velocidad de captura de imágenes 3D y extrema delicadeza le permite seguir la muestra en multicolor a lo largo del tiempo sin influir en la actividad viva registrada. Podrá observar procesos de desarrollo, migración celular, movimiento de vesículas u otros cambios en tejidos y organismos que tardan horas o incluso días en completarse, y aun así lograr la resolución temporal necesaria para comprender la dinámica.

#### Observación de la formación de tejido adiposo en una pupa en desarrollo de *Drosophila melanogaster*

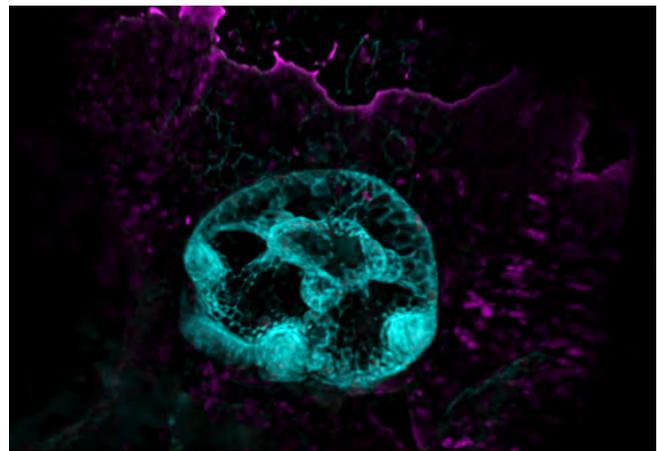


▶ Haga clic aquí para ver el vídeo

*Pupa de Drosophila melanogaster de 52 horas de edad con expresión de CD8::eGFP en las células progenitoras del cuerpo adiposo adulto utilizando el conductor OK6-Gal4;Elav-Gal80, captura de imágenes de 15 horas durante la noche incluyendo 12 posiciones y 10 animales, tiempos de exposición de 500 ms por volumen con intervalos de 2 minutos. Cortesía de Ignacio Manuel Fernández Guerrero, Centro de Análisis Celular, MVLS-Shared Research Facilities, Universidad de Glasgow. Datos adquiridos en el Centro de Análisis Celular, Universidad de Glasgow*

Visualizar el desarrollo de tejidos y órganos en animales intactos permite comprender mejor los factores relacionados con su regulación y disfunción. Un ejemplo es el cuerpo adiposo en desarrollo que se forma durante la fase de pupa de la *Drosophila*. ZEISS Lightfield 4D permite seguir el ritmo del movimiento celular, gracias a lo que se obtienen datos sólidos para el seguimiento en 4D. Las velocidades de adquisición son lo suficientemente rápidas como para capturar imágenes de varios animales en cada momento, lo que facilita la obtención de mayores volúmenes de datos y permite aumentar el rendimiento al tiempo que se conserva la calidad de los datos de las imágenes. Finalmente, la iluminación es lo suficientemente delicada como para capturar imágenes durante la noche sin sacrificar la viabilidad del organismo o la intensidad del fluoróforo.

#### Captura de imágenes a largo plazo de procesos sensibles: oído de pez cebra en proceso de morfogénesis



▶ Haga clic aquí para ver el vídeo

*Embrión de pez cebra, película a cámara rápida de vesícula ótica en desarrollo, 2 o 3 días después de la fecundación, epitelio ótico marcado con GFP-CAAX, núcleos con RFP. Cada 2 minutos, se capturaron imágenes de volúmenes de 4 oídos de embriones de pez cebra diferentes a lo largo de 16 horas. Cortesía de Tanya Whitfield y Sarah Baxendale, Facultad de Biociencias, Universidad de Sheffield, Reino Unido. Datos adquiridos en Wolfson Light Microscopy Facility, Universidad de Sheffield.*

La morfogénesis de los órganos en desarrollo requiere una compleja coordinación de diversos reguladores y elementos genómicos. El mejor modo de comprender el impacto de estos componentes es mediante el cribado de animales con diferentes perturbaciones genéticas y la observación de la formación dinámica de los órganos en tiempo real. Lightfield 4D permite la adquisición de procesos sensibles a la luz con suficiente resolución para hacer un seguimiento del patrón morfológico de las células epiteliales. Su captura de imágenes de una sola toma por volumen no solo garantiza que no se pierdan procesos de desarrollo en medio de las z-stacks, sino que incluso permite capturar imágenes de varios animales en modo agrupado para capturar todos los eventos y aumentar el rendimiento experimental.

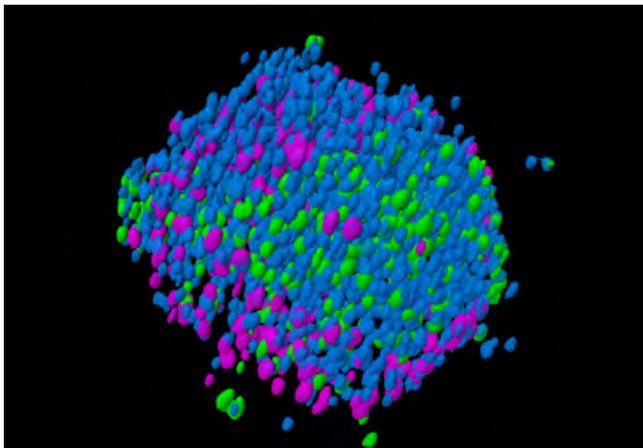
## Adquisición rápida de imágenes.

### Mayor rendimiento.

Recogida de información más rápida en muestras grandes con múltiples marcadores

Por lo general, el tiempo de adquisición de grandes volúmenes es el factor crítico que limita el rendimiento de la captura de imágenes. Adquirir un gran volumen con una sola instantánea de imagen acelera sus experimentos en gran medida. La velocidad inigualable con la que Lightfield 4D captura volúmenes multicolor puede utilizarse para aumentar la productividad de los experimentos de diversas maneras: capture y analice más muestras que nunca en cada sesión, lo que mejorará inmediatamente las estadísticas de los experimentos. Compare múltiples cohortes de muestras diferentes de fenotipos de tipo salvaje y modificados genéticamente, o muestras con diferentes tratamientos farmacológicos. En lugar de horas, apenas dedicará unos minutos a recopilar los datos que necesita, lo que le dejará más tiempo para el análisis avanzado y la investigación de sus conjuntos de datos.

#### Captura eficiente de imágenes de volúmenes de esferoides clarificados con posterior recuento celular

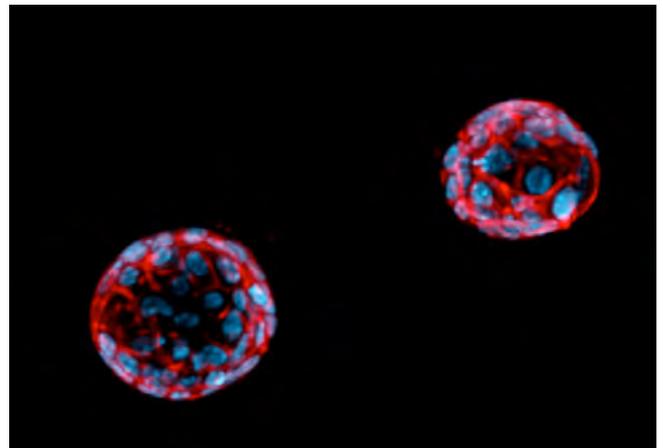


[▶ Haga clic aquí para ver el vídeo](#)

*Esferoide clarificado de un cocultivo de células HCT-116-GFP (cáncer de colon) / NIH-3T3-RFP (fibroblastos) teñidas con Hoechst para los núcleos. Imagen captada en una placa Akura de InSphero. El conjunto de datos se segmentó mediante arivis Pro. Muestra cortesía de InSphero AG. Schlieren, Suiza*

Los organoides y los esferoides pueden proporcionar datos de mayor relevancia que los derivados de los modelos clásicos de cultivo celular en 2D. Sin embargo, los métodos de adquisición tradicionales, como el barrido confocal de puntos o el uso de sistemas de disco giratorio, requieren un tiempo considerable para la adquisición de z-stacks. La velocidad de captura de imágenes de Lightfield 4D ofrece aplicaciones de cribado avanzadas en las que se requiere un mayor rendimiento y facilita un cribado más rápido de múltiples esferoides en condiciones similares y diferentes, como en cribados compuestos y tratamientos farmacológicos.

#### Captura de imágenes de organoides de cáncer a alta velocidad para permitir la evaluación de perturbaciones



[▶ Haga clic aquí para ver el vídeo](#)

*Organoides de cáncer colorrectal, citoesqueleto de actina marcado con faloidina (magenta), núcleos marcados con DAPI (azul). Capturado con un objetivo de 40x usando un tiempo de exposición de 100 ms para cada fluoróforo. Cortesía de Nikki R. Paul, Cancer Research UK Scotland Institute, Glasgow. Datos adquiridos en el Centro de Análisis Celular, Universidad de Glasgow.*

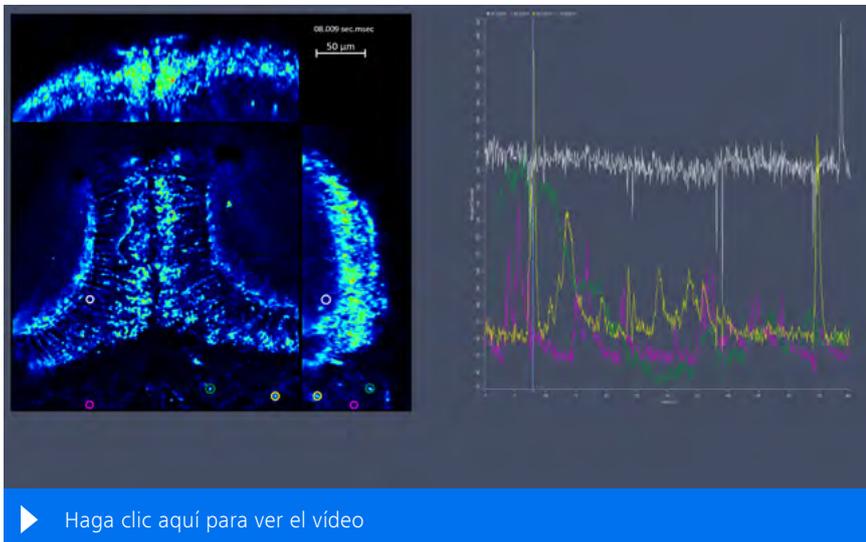
Los organoides son modelos biológicos populares con los que se analizan propiedades de los sistemas del cáncer, como las respuestas a los tratamientos farmacológicos, los entornos extracelulares y las interacciones de las células inmunitarias. La adquisición de imágenes de estructuras 3D tan grandes y el cribado a través de grandes conjuntos de muestras requieren mucho tiempo. Lightfield 4D permite la adquisición de imágenes en 3D de organoides a una velocidad de varios por segundo, lo que aumenta considerablemente el rendimiento del cribado a través de grandes cantidades en comparación con los métodos de microscopía tradicionales.

# Una plataforma de captura de imágenes. Infinitas posibilidades.

Diseño experimental innovador gracias a la captura de imágenes volumétrica de alta velocidad combinada con todas las posibilidades de un LSM

Los microscopios de barrido láser (LSM) han demostrado ser los sistemas de microscopía más versátiles. Combinan la super-resolución y la captura de imágenes espectrales con el seccionamiento óptico de alta calidad de muestras grandes, junto con la capacidad de incorporar información fluorescente adicional y mediciones de dinámica molecular. Lleve sus experimentos al siguiente nivel aunando esta extraordinaria flexibilidad con la captura de imágenes delicada e instantánea de volúmenes del Lightfield 4D: supervise la actividad neuronal en 3D a alta velocidad y compléméntela con detalles estructurales de superresolución capturados con Airyscan. Siga el movimiento de los macrófagos durante un ensayo de cicatrización de heridas y añada detalles de alta resolución del lugar de la herida a su investigación. Aproveche las capacidades de fotomanipulación de su LSM para experimentos de blanqueamiento, fotoactivación, fotoconversión o ablación, y luego realice una captura de imágenes delicada de volúmenes. Todo ello en el mismo microscopio y como parte del mismo experimento, sin mover nunca su muestra.

## El pez cebra pensante: análisis de la actividad neuronal en organismos en desarrollo



*El vídeo muestra la señalización del calcio, un indicador de la actividad neuronal, en el cerebro del pez cebra. Los cambios en la intensidad de los indicadores ocurren en una escala temporal rápida. Gracias al gran volumen y a la velocidad de Lightfield 4D, se pueden registrar al mismo tiempo neuronas separadas entre sí más de 50  $\mu\text{m}$ .*

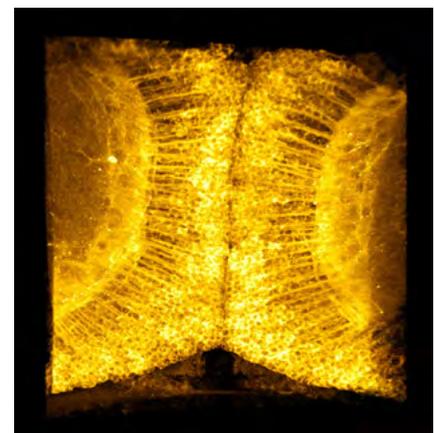
*Datos registrados de una larva de pez cebra a los 4 días de la fecundación con expresión del indicador de calcio GCaMP6; imagen capturada con ZEISS LSM 990 Lightfield 4D y LD C-Apochromat 40x/1.1 Inmersión en agua; volumen de imagen: 361 x 361 x 109  $\mu\text{m}^3$ ; 10 volúmenes por segundo durante 1 minuto (661 puntos temporales); tiempo de exposición 91 ms; codificación de intensidad LUT (azul de baja intensidad, rojo de alta intensidad a blanco).*

*Se adquirieron datos adicionales de alta resolución utilizando el modo Airyscan CO-8Y.*

*Muestra cortesía de Anton Nikolaev, Universidad de Sheffield, Reino Unido. Datos adquiridos en Wolfson Light Microscopy Facility en la facultad de Biociencias de la Universidad de Sheffield.*

La captura de imágenes de la señalización del calcio como indicador de la actividad neuronal es una técnica muy utilizada en muchos sistemas modelo. Estas señales suceden rápidamente, en milisegundos, por lo que se requiere una alta resolución temporal. Además, el cerebro está compuesto por neuronas y células gliales muy compactas, lo que dificulta conseguir una alta resolución espacial. Muchas técnicas de captura de imágenes tienen dificultades para lograr una alta resolución espacial y temporal de manera simultánea. A menudo, la señalización de calcio se registra en un solo plano o en un volumen muy pequeño. Sin embargo, para comprender el funcionamiento de los circuitos neuronales, es esencial hacer un seguimiento simultáneo de la actividad neuronal en el mayor número posible de neuronas. ZEISS Lightfield 4D permite registrar volúmenes significativamente mayores con una velocidad más que suficiente para seguir la activación neuronal. Es posible capturar la activación simultánea de neuronas situadas a 100  $\mu\text{m}$  o más de distancia, lo que proporciona información completamente nueva de los circuitos neuronales.

Si desea examinar más de cerca la morfología neuronal específica, puede adquirir imágenes de alta resolución de las regiones de interés con el mismo ZEISS LSM, empleando sus capacidades de superresolución confocal o Airyscan.



# Microscopía de campo claro de ZEISS

## Descubra la tecnología que hay detrás

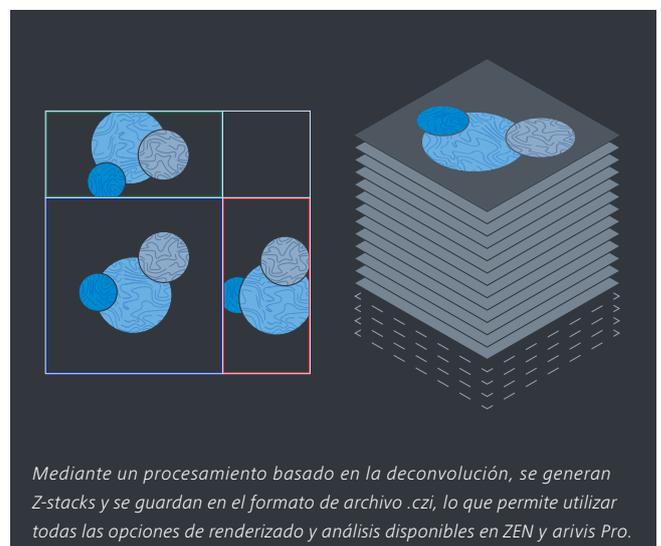
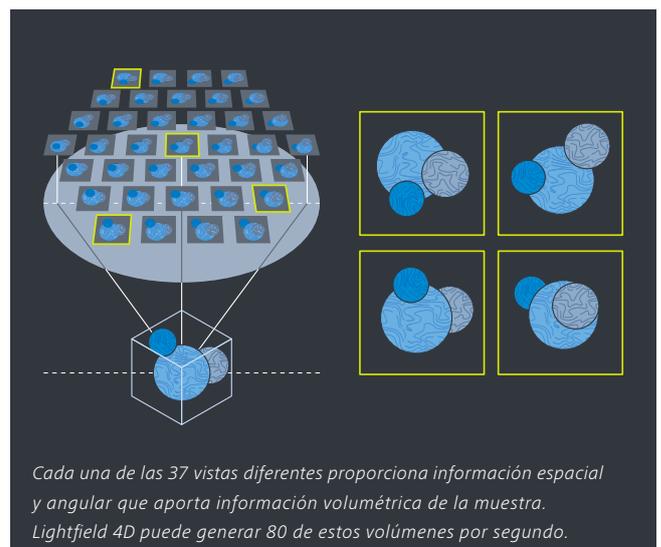
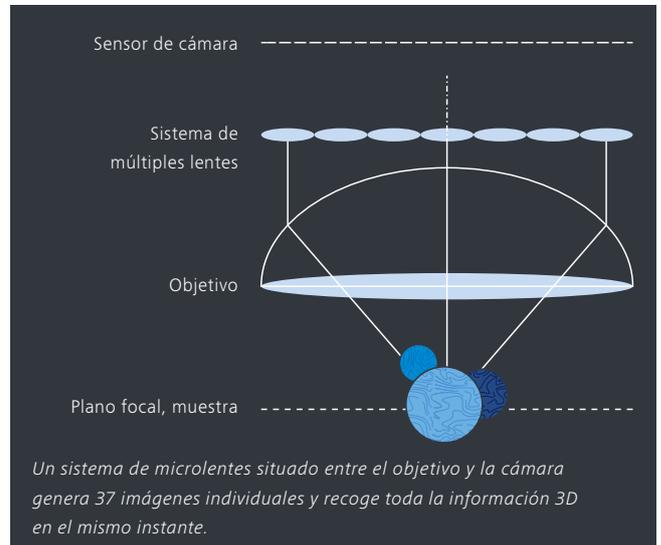
Para captar realmente la esencia de los procesos biológicos, la captura de imágenes debe hacerse en 4D, ya que tanto el volumen como el tiempo son esenciales para investigar los sistemas vivos. Este concepto no es nuevo. En las últimas décadas se han desarrollado muchas técnicas de seccionamiento óptico para intentar cumplir este requisito. Sin embargo, estos métodos suelen basarse en la adquisición secuencial de imágenes para crear imágenes Z-stack de volúmenes, lo cual genera diferencias temporales dentro del volumen de la muestra y limita en gran medida la velocidad de captura de imágenes y la precisión espaciotemporal de los datos adquiridos.

Lightfield 4D ofrece una solución única al capturar imágenes de todo un volumen en un punto exacto en el tiempo, sin ningún retraso temporal. En lugar de capturar imágenes 2D únicas en diferentes momentos, un sistema de microlentes situado entre el objetivo y la cámara genera 37 imágenes individuales y recoge toda la información 3D en el mismo instante. Cada una de estas vistas diferentes proporciona información espacial y angular que sirve de base para crear un Z-stack mediante un procesamiento basado en la deconvolución. De este modo, Lightfield 4D puede generar Z-stacks de 80 volúmenes por segundo.

Además de la velocidad de adquisición de volúmenes excepcionalmente alta, este método destaca por su delicadeza con las muestras vivas. Al utilizar un único episodio de iluminación para cada volumen generado, elimina la necesidad de iluminación repetida para capturar píxeles individuales o imágenes 2D con el fin de adquirir un volumen de muestra, con lo que la exposición a la luz es breve y se mantiene al mínimo. Esta combinación convierte al Lightfield 4D en el método perfecto para capturar procesos rápidos, así como datos de imagen de múltiples muestras vivas, durante largos periodos de tiempo.

El tamaño del volumen resultante depende del objetivo seleccionado. Su aumento y apertura numérica (NA) determinan el área representada y el rango Z reconstruido. Existe una gran variedad de objetivos que permiten obtener las mediciones ideales para el volumen de muestra y la resolución deseados para Lightfield 4D.

Los z-stacks generados se guardan en el formato de archivo estándar .czi utilizado por ZEN, lo que admite las mismas opciones de renderizado y análisis que para cualquier otro z-stack creado en ZEN. Para que la investigación sea reproducible, fiable y de confianza, las 37 imágenes individuales se guardan como datos en bruto para que pueda acceder a ellas al instante y en el futuro.



# Elija su plataforma

Combine la microscopía de campo claro con la flexibilidad de LSM



## ZEISS LSM 910

### Comprender los fundamentos de la vida

Microscopio confocal compacto para una captura de imágenes innovadora y un análisis inteligente

→ [zeiss.com/lsm-910](https://zeiss.com/lsm-910)



## ZEISS LSM 990

### Libertad para explorar

Captura de imágenes multimodal de primera categoría combinada en un solo sistema confocal

→ [zeiss.com/lsm-990](https://zeiss.com/lsm-990)

#### Lightfield 4D (disponible con ZEISS LSM 910 y ZEISS LSM 990 en ZEISS Axio Observer)

Aumento	40x	25x	20x	10x	
Inmersión RI	1,333	1,333	1	1	
Campo de visión	20,4 mm				
Tamaño de campo de objeto	361 × 361 μm <sup>2</sup>	585 × 585 μm <sup>2</sup>	720 × 720 μm <sup>2</sup>	1444 × 1444 μm <sup>2</sup>	Desviación de hasta un 2 % entre sistemas
Rango z-stack	109 μm	278 μm	430 μm	1712 μm	Calculado
Velocidad de adquisición	Hasta 80 volúmenes por segundo				
Rango de longitud de onda de excitación	405 – 740 nm				
Resolución X/Y *	2,2 μm	3,5 μm	4,4 μm	8,8 μm	Medida, sometida a deconvolución
Resolución Z *	2,8 μm	8,4 μm	13,6 μm	57 μm	Medida, sometida a deconvolución con un número óptimo de iteraciones
Tamaño de vóxel XYZ	0,7 × 0,7 × 0,9 μm <sup>3</sup>	1,12 × 1,12 × 2,7 μm <sup>3</sup>	1,4 × 1,4 × 4,4 μm <sup>3</sup>	2,8 × 2,8 × 18 μm <sup>3</sup>	
Tamaño de stack XYZ *	512 × 512 × 121 píxeles <sup>3</sup>	512 × 512 × 103 píxeles <sup>3</sup>	512 × 512 × 99 píxeles <sup>3</sup>	512 × 512 × 95 píxeles <sup>3</sup>	

#### Objetivos recomendados para Lightfield 4D

C-Apochromat 40x / 1,2 W Corr M27

Plan-Apochromat 40x / 1,3 aceite DIC M27

LD LCI Plan-Apochromat 40x / 1,2 DIC M27

LD C-Apochromat 40x / 1,1 W Corr

LD LCI Plan-Apochromat 25x / 0,8 Imm Corr DIC M27

Plan-Apochromat 20x / 0,8 M27

EC Plan-Neofluar 20x / 0,50 M27

Plan-Apochromat 10x / 0,45 M27

Plan-Apochromat 10x / 0,3 M27

EC Plan-Neofluar 10x / 0,3 M27



\* Medición realizada con perlas en agarosa (RI = 1,378) con inmersión en aire o agua respectivamente y longitud de onda de excitación/detección (marcador) 488 nm/525 nm (eGFP)

Carl Zeiss Microscopy GmbH  
07745 Jena, Alemania  
microscopy@zeiss.com  
[www.zeiss.com/lightfield-4d](https://www.zeiss.com/lightfield-4d)

Síguenos en redes sociales:

