

# Suivre le rythme des processus biologiques en temps réel



## **ZEISS LSM Lightfield 4D**

Imagerie volumique instantanée  
à grande vitesse d'organismes vivants

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

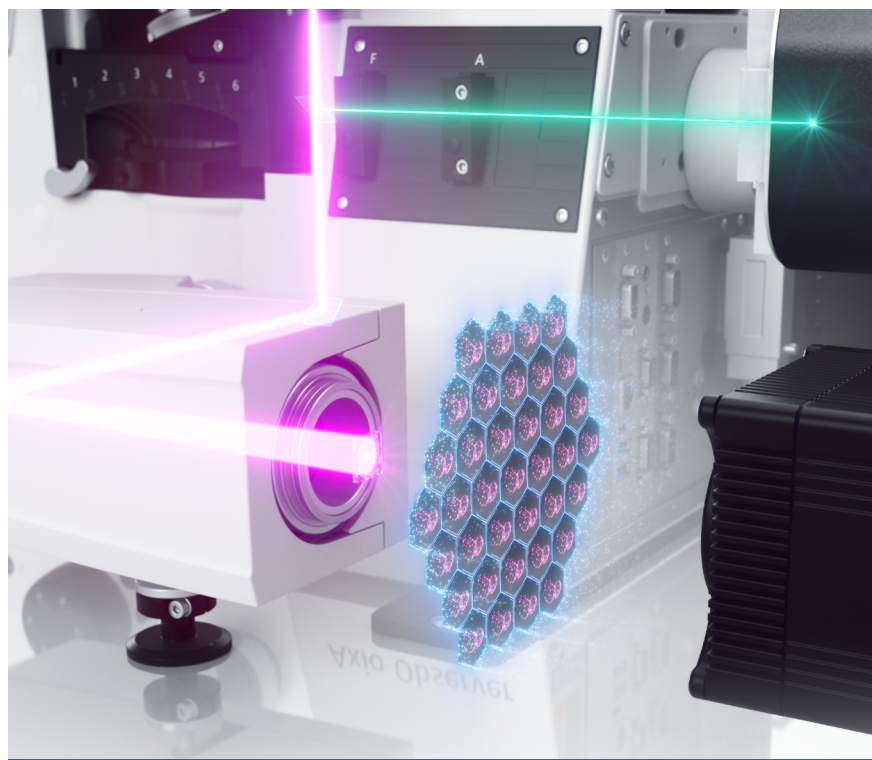


Seeing beyond

# ZEISS LSM Lightfield 4D

Ne manquez pas l'instant où la vie révèle ses secrets.

Lightfield 4D représente une avancée majeure en imagerie volumétrique instantanée à grande vitesse. Il permet d'acquérir des informations 3D complètes en une seule acquisition, éliminant ainsi tout délai temporel au sein d'un volume imagé. Pour la première fois, il est possible de capturer les mouvements les plus rapides au sein d'organismes entiers à des vitesses allant jusqu'à 80 volumes par seconde, tout en préservant l'intégrité de toutes les informations spatio-temporelles. Des phénomènes tels que la locomotion des larves, les battements cardiaques, l'écoulement du sang et l'activité neuronale peuvent être étudiés en 3D à une vitesse sans précédent, permettant ainsi d'élucider les secrets de la vie.



▶ [Cliquez ici pour visionner cette vidéo](#)

- ✓ **Une seule prise de vue.  
Un volume entier.**  
Enregistrez des signaux spatiaux et des dynamiques rapides sans compromis.
- ✓ **Une exposition minimale à la lumière.  
Un maximum d'informations.**  
Observez des organismes entiers aussi longtemps que vous voulez sans altérer les processus vivants.
- ✓ **Acquisition rapide.  
Rendement accru.**  
Examinez différentes positions ou échantillons grâce à l'imagerie volumétrique instantanée.
- ✓ **Une plateforme d'imagerie unique.  
Une infinité de possibilités.**  
Explorez de nouvelles approches expérimentales en intégrant l'imagerie volumétrique à haute vitesse aux diverses fonctionnalités d'un système LSM.

L'acquisition unique « un cliché, un volume » minimise l'exposition à la lumière et permet d'acquérir efficacement des milliers de volumes sur de longues périodes sans endommager l'échantillon. Cette technologie offre de nouvelles perspectives de productivité en permettant la capture d'images multicolores à plusieurs positions, que ce soit au sein d'organismes entiers, d'organoïdes ou de sphéroïdes, lors d'une seule session d'acquisition.

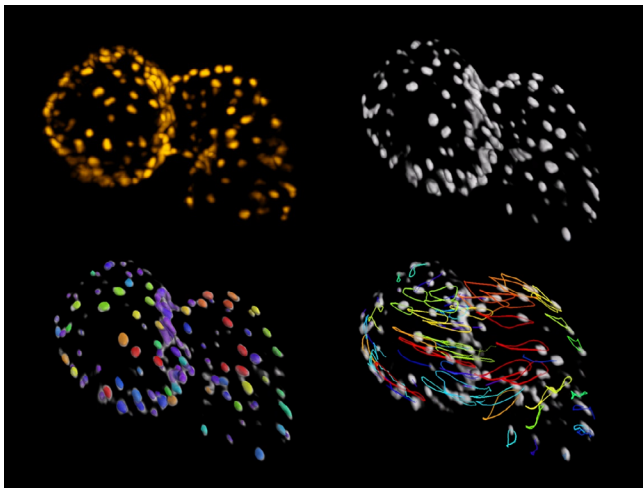
En tant que composante intégrée des systèmes ZEISS LSM, Lightfield 4D permet de combiner efficacement son imagerie volumétrique rapide avec toute autre méthodologie d'acquisition LSM, incluant la photomanipulation, la super-résolution, l'imagerie spectrale et même les données sur la dynamique moléculaire, enrichissant ainsi chaque session d'imagerie en direct.

# Une seule prise de vue. Un volume entier.

## Imagerie 3D de processus physiologiques et neuronaux extrêmement rapides

La vie est mouvement. De nombreux processus neuronaux et physiologiques se déroulent à des vitesses très élevées, rendant difficile la capture précise de leurs dynamiques spatio-temporelles. Bien que les technologies établies soient devenues plus rapides, le temps d'acquisition nécessaire augmente toujours avec le volume de l'échantillon, ce qui impose un compromis entre l'information volumétrique et la fréquence d'imagerie pour des processus rapides comme l'activité neuronale ou les battements cardiaques. Avec Lightfield 4D, ce compromis n'est plus nécessaire, car vous pouvez capturer 80 volumes par seconde sans délai temporel en 3D. Cela permet de suivre l'activité neuronale dans les cerveaux de poissons-zèbres, de suivre le mouvement des tissus dans les embryons de *Drosophila* en développement, et de garder une trace des structures en mouvement dans les larves de *C. elegans* en déplacement. L'imagerie unique « un cliché, un volume » garantit que les événements cruciaux ne sont ni manqués ni déformés. Le suivi de particules avec une résolution temporelle élevée dans des volumes complets est enfin possible. Commencez vos expériences immédiatement sur votre confocal, sans avoir besoin d'ajuster la préparation de l'échantillon.

### Étude de la morphologie et des mouvements de la paroi cardiaque du cœur en développement du poisson zèbre

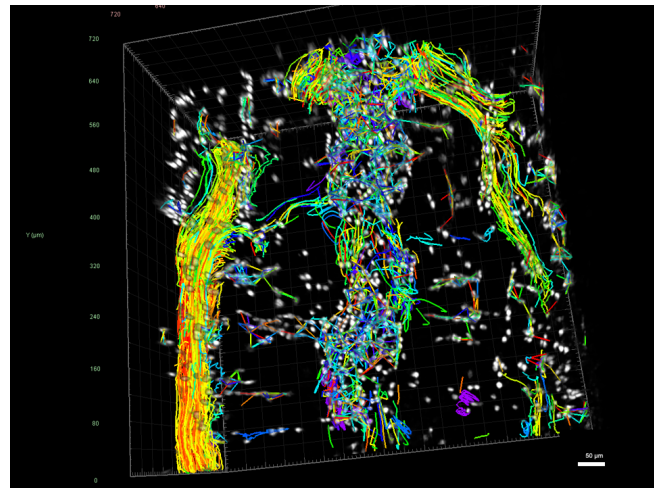


▶ Cliquez ici pour visionner cette vidéo

Expression mCherry dans des cardiomyocytes acquis avec ZEISS LSM 990 Lightfield 4D et Plan-Apochromat 20x/10,8 air. Taille du volume :  $723 \times 723 \times 430 \mu\text{m}^3$ , temps d'exposition 12 ms pour 1,2 seconde au total. Échantillon aimablement fourni par Stone Elworthy et Emily Noël, School of Biosciences, University of Sheffield, Royaume-Uni. Données acquises au Wolfson Light Microscopy Facility à la School of Biosciences de l'University of Sheffield.

L'analyse en 3D de la morphologie et des mouvements du cœur embryonnaire constitue un véritable défi, car le cœur bat continuellement. Les données ont été enregistrées sur une larve de poisson zèbre incorporée dans de l'agarose 3 jours après la fécondation. ZEISS Lightfield 4D a permis d'imager les battements du cœur à 80 volumes par seconde. Le film montre 3 battements de cœur complets en 1,2 seconde, au cours de laquelle les cardiomyocytes sont imagés dans le temps et dans l'espace. Cela permet la segmentation et le suivi cellulaire à l'aide de ZEISS arivis Pro. Il apparaît clairement que les cardiomyocytes suivent la même trajectoire à chaque battement de cœur.

### Étude du flux de cellules sanguines d'insectes (hémocytes) dans l'hémolymphe de *Drosophila*



▶ Cliquez ici pour visionner cette vidéo

Hémocytes exprimant GFP acquis avec ZEISS LSM 990 Lightfield 4D et Plan-Apochromat 20x/10,8 air. Taille du volume :  $723 \times 723 \times 430 \mu\text{m}^3$ , temps d'exposition 12 ms pour 2,5 secondes au total. Échantillon aimablement fourni par Iwan Robert Evans, University of Sheffield, Royaume-Uni. Données acquises au Wolfson Light Microscopy Facility à la School of Biosciences de l'University of Sheffield.

Compte tenu de la rapidité des mouvements tridimensionnels, il était jusqu'alors presque impossible pour les chercheurs d'étudier *in vivo* dans l'hémolymphe l'écoulement des hémocytes, les cellules sanguines des insectes. ZEISS Lightfield 4D est le seul outil capable d'imager un grand volume suffisamment rapidement pour suivre ce processus *in vivo*. Inégalée, cette vitesse d'imagerie de 80 volumes par seconde permet d'imager les cellules de manière fiable aussi bien sur le plan spatial que temporel. Les données acquises permettent la segmentation sous-jacente et le suivi automatisé à l'aide de ZEISS arivis Pro.



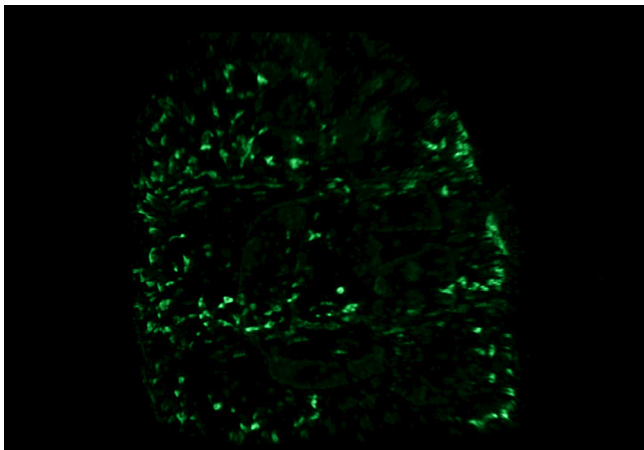
## Une exposition minimale à la lumière.

## Un maximum d'informations.

Observation non invasive d'organismes entiers sur des longues périodes

Collecter des informations en 3D d'échantillons vivants a toujours été une tâche ardue, notamment dans les échantillons de grand volume. Le sectionnement optique requiert l'acquisition séquentielle d'images individuelles pour créer une pile en Z. Chaque tranche nécessite une exposition à la lumière, qui n'est pas entièrement limitée au plan d'éclairage et peut souvent atteindre des quantités nocives sur l'ensemble du volume. Lightfield 4D agit différemment : une pile en Z complète est acquise en un seul éclairage, réduisant de fait l'exposition à la lumière et les effets phototoxiques à un minimum. Les échantillons vivants peuvent être imagés sur de longues périodes à une densité temporelle élevée. La combinaison d'une vitesse d'imagerie 3D exceptionnelle et d'une approche non invasive permet de suivre l'échantillon en multicolore au fil du temps sans influencer l'activité vivante enregistrée. Observez les processus de développement, la migration cellulaire, le mouvement des vésicules ou tout autre changement des tissus et des organismes qui demande des heures, voire des jours, tout en obtenant la résolution temporelle nécessaire à la compréhension de la dynamique.

### Observation de la formation de tissus adipeux dans une chrysalide en développement de *Drosophila melanogaster*

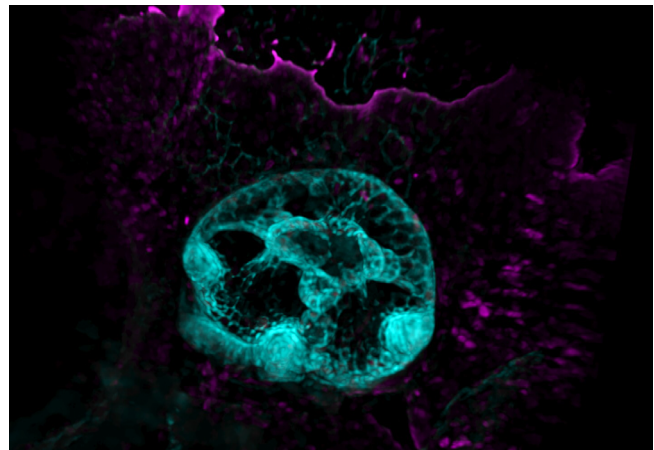


▶ Cliquez ici pour visionner cette vidéo

Chrysalide de *Drosophila melanogaster* de 52 heures exprimant cD8::eGFP dans les cellules progénitrices du corps adipeux adulte à l'aide du lecteur OK6-Gal4;Elav-Gal80, imagerie de 15 heures durant la nuit incluant 12 positions et 10 animaux, temps d'exposition 500 ms par volume avec 2 minutes d'intervalle. Avec l'aimable autorisation de Manuel Fernández Guerrero, Cellular Analysis Facility, MVLS-Shared Research Facilities, University of Glasgow. Données acquises au Cellular Analysis Facility, University of Glasgow.

Visualiser le développement tissulaire et organique chez des animaux intacts permet de mieux comprendre les facteurs impliqués dans leur régulation et leur dysfonctionnement. Un exemple est le développement du corps adipeux pendant le stade nymphal de *Drosophila*. Grâce à ZEISS Lightfield 4D, il est possible de suivre le mouvement des cellules, afin de fournir des données solides pour le suivi 4D. Les vitesses d'acquisition sont suffisantes pour imager différents animaux à chaque point temporel, ce qui facilite l'acquisition des données en plus grands volumes et améliore le rendement tout en préservant la qualité des données de l'image. L'éclairage est suffisamment non invasif pour imager de nuit sans sacrifier la viabilité de l'organisme ou la force du fluorophore.

### Imagerie sur le long terme de processus sensibles : l'oreille du poisson zèbre en cours de morphogénèse développementale



▶ Cliquez ici pour visionner cette vidéo

Embryon de poisson zèbre, film en time-lapse de la vésicule otique en développement, 2 à 3 jours après fécondation, épithélial otique marqué avec GFP-CAAX, les noyaux avec RFP. Les volumes de 4 oreilles d'embryons de poisson zèbre différents ont été imagés toutes les 2 minutes pendant 16 heures. Avec l'aimable autorisation de Tanya Whitfield, Sarah Baxendale, School of Biosciences, University of Sheffield, Royaume-Uni. Données acquises au Wolfson Light Microscopy Facility, University of Sheffield.

La morphogénèse des organes en développement nécessite la coordination complexe de divers régulateurs et éléments génomiques. La meilleure façon de comprendre l'impact de ces composants est de scanner des animaux présentant différentes perturbations génétiques et d'observer en temps réel la structuration dynamique des organes. Lightfield 4D rend possible l'acquisition de processus sensibles à la lumière à une résolution suffisante pour suivre l'évolution morphologique des cellules épithéliales. Son imagerie « un cliché, un volume » permet non seulement de s'assurer qu'aucun processus de développement n'est manqué ou perdu au milieu des piles z, mais aussi d'imager plusieurs animaux par lot afin d'enregistrer tous les événements et d'augmenter le rendement expérimental.

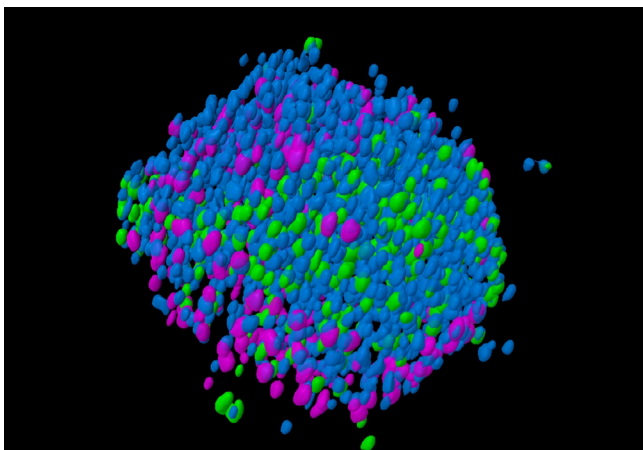


## Acquisition rapide. Rendement accru.

Collecte accélérée d'informations sur des échantillons larges avec plusieurs marqueurs

Généralement, le temps d'acquisition des grands volumes est le facteur critique qui limite le débit de l'imagerie. L'acquisition d'un grand volume en une seule prise de vue accélère considérablement vos expériences. La vitesse inégalée à laquelle Lightfield 4D capture des volumes multicolores peut être utilisée pour augmenter la productivité des expériences de diverses manières : imagez et analysez à chaque session plus d'échantillons que jamais auparavant et améliorez immédiatement vos statistiques expérimentales. Comparer plusieurs cohortes d'échantillons différents de phénotypes sauvage et génétiquement modifiés, ou des échantillons avec différents traitements médicamenteux. Au lieu de demander des heures, la collecte des données nécessaires ne requiert que quelques minutes, ce qui vous laisse plus de temps pour effectuer des analyses et des investigations poussées de vos ensembles de données.

### Imagerie volumétrique efficace de sphéroïdes transparisés avec comptage ultérieur des cellules

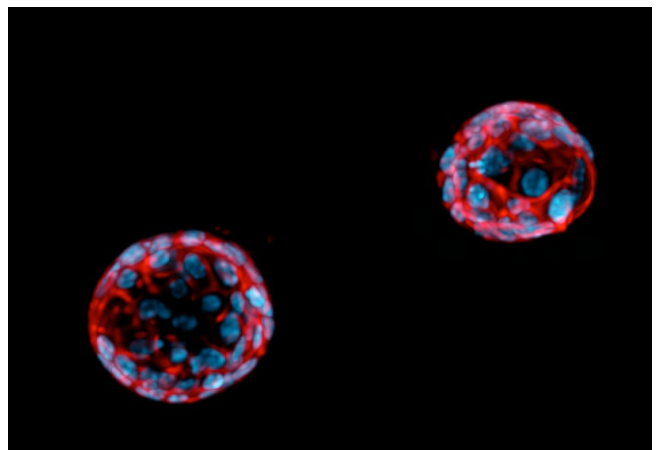


▶ Cliquez ici pour visionner cette vidéo

*Sphéroïde transparisé d'une coculture de cellules HCT-116-GFP (cancer du colon) / NIH-3T3-RFP (fibroblastes) coloré au Hoechst pour noyaux. Image capturée dans une plaque InSphero Akura. Ensemble de données segmenté à l'aide d'arivis Pro. Échantillon aimablement fourni par InSphero AG. Schlieren, Suisse*

Les organoïdes et les sphéroïdes peuvent fournir des données plus probantes que celles dérivées des modèles de culture cellulaire classique en 2D. Cependant, les méthodes d'acquisition conventionnelles telles que le balayage par point confocal ou l'utilisation de systèmes à disques rotatif demande un temps considérable pour acquérir des piles z. La vitesse d'imagerie de Lightfield 4D rend possibles des applications de balayage avancées où un rendement plus élevé est nécessaire et facilite le balayage plus rapide de nombreux sphéroïdes dans des conditions similaires et différentes, comme dans les criblages de composés et les traitements médicamenteux.

### Imagerie à haute vitesse des organoïdes cancéreux pour permettre l'évaluation des perturbations



▶ Cliquez ici pour visionner cette vidéo

*Organoïdes de cancer colorectal, cytosquelette d'actine marqué à la phalloïdine (magenta), noyaux marqués au DAPI (bleu). Imagés avec un objectif 40x à un temps d'exposition de 100 ms pour chaque fluorophore. Avec l'aimable autorisation de Nikki R. Paul, Cancer Research UK Scotland Institute, Glasgow. Données acquises auprès du Cellular Analysis Facility, University of Glasgow.*

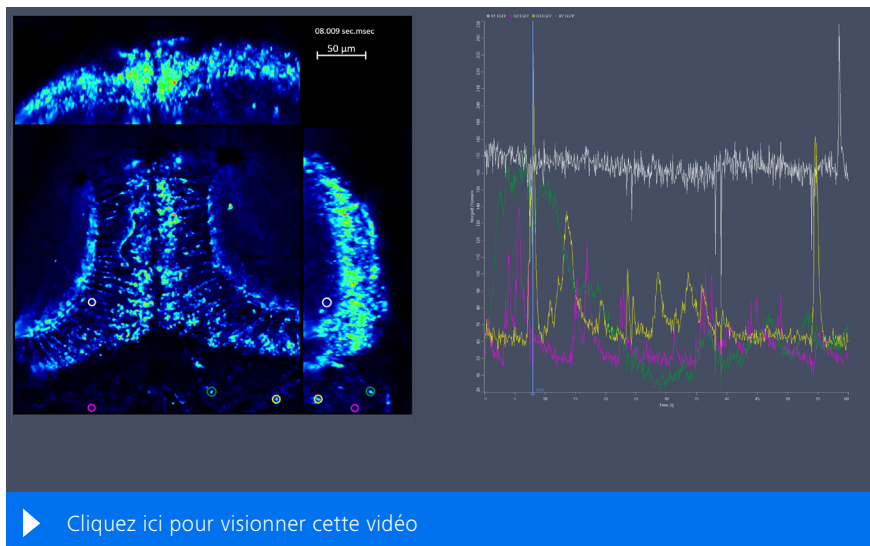
Les organoïdes sont des modèles biologiques appréciés pour l'analyse des propriétés au sein des systèmes cancéreux telles que les réponses aux traitements médicamenteux, aux environnements extracellulaires et les interactions entre les cellules immunitaires. L'acquisition d'image de ces grandes structures 3D et le balayage de grands ensembles d'échantillons sont extrêmement chronophages. Lightfield 4D permet d'imager des organoïdes en 3D à un débit de plusieurs images par seconde, ce qui augmente considérablement le rendement par rapport aux méthodes de microscopie traditionnelles et favorise le traitement en large quantité.

# Une plateforme d'imagerie unique. Une infinité de possibilités.

Conception expérimentale innovante grâce à l'imagerie volumique à grande vitesse combinée à toutes les possibilités d'un microscope à balayage laser

Les microscopes à balayage laser (LSM) sont sans aucun doute les systèmes de microscopie les plus polyvalents. Ils allient la super-résolution et l'imagerie spectrale au sectionnement optique haute qualité de large échantillons ainsi que la possibilité d'incorporer des informations fluorescentes supplémentaires et des mesures de dynamique moléculaire. Faites passer vos expériences au niveau supérieur en couplant cette remarquable flexibilité à l'imagerie volumique non invasive et instantanée de Lightfield 4D : surveillez l'activité neuronale en 3D à grande vitesse et complétez cette activité par des détails structurels à super-résolution recueillis avec Airyscan. Suivez les mouvements macrophages lors d'un essai de cicatrisation et ajoutez à votre enquête des détails en haute résolution sur le site de la plaie. Exploitez les capacités de photomanipulation de votre LSM pour des expériences de blanchiment, de photoactivation, de photoconversion ou d'ablation, suivies d'une imagerie volumique non invasive. Effectuez toutes ces opérations sur le même microscope dans le cadre d'une même expérience sans déplacer votre échantillon.

## Le poisson zèbre penseur : analyse de l'activité neuronale dans les organismes en développement



La vidéo montre une signalisation calcique, un indicateur de l'activité neuronale dans le cerveau du poisson zèbre. Les changements dans l'intensité des rapports se produisent à une échelle temporelle rapide. Le grand volume et la rapidité de Lightfield 4D permettent d'enregistrer simultanément des neurones distants de plus de 50  $\mu\text{m}$  les uns des autres.

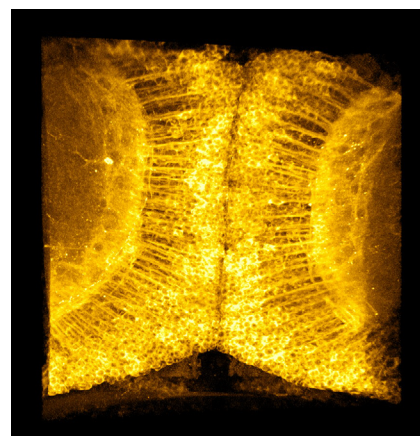
Données enregistrées sur une larve de poisson zèbre 4 jours après fécondation exprimant le rapporteur calcique GCaMP6 ; image capturée avec ZEISS LSM 990 Lightfield 4D et LD C-Apochromat 40x/1,1 par immersion dans l'eau ; volume d'image :  $361 \times 361 \times 109 \mu\text{m}^3$  ; 10 volumes par seconde pendant 1 minute (661 points temporels) ; temps d'exposition 91 ms ; table des couleurs de codage de l'intensité (faible intensité bleu, grande intensité de rouge à blanc).

Les données complémentaires en haute résolution ont été acquises avec Airyscan en mode CO-8Y.

Échantillon aimablement fourni par Anton Nikolaev, University of Sheffield, Royaume-Uni. Données acquises au Wolfson Light Microscopy Facility à la School of Biosciences de l'University of Sheffield.

L'imagerie de la signalisation calcique comme indicateur de l'activité des neurones est une technique largement utilisée dans de nombreux systèmes modèles. Comme ces signaux sont rapides et ne durent que quelques millisecondes, une résolution temporelle élevée est nécessaire. Par ailleurs, le cerveau se compose de neurones et de cellules gliales très denses, ce qui rend la résolution spatiale élevée ardue. De nombreuses techniques d'imagerie ont du mal à obtenir une haute résolution à la fois spatiale et temporelle. Il n'est pas rare que la signalisation calcique soit enregistrée dans un seul plan ou à des volumes minimaux. Or, comprendre le fonctionnement du circuit neuronal implique de suivre l'activité neuronale en simultané dans autant de neurones que possible. ZEISS Lightfield 4D permet d'enregistrer des volumes bien plus importants à vitesse suffisante pour suivre l'activité neuronale. Il peut enregistrer l'activité neuronale simultanée de neurones situés à 100  $\mu\text{m}$  ou plus l'un de l'autre, livrant ainsi des informations totalement nouvelles sur les circuits neuronaux.

Pour examiner de plus près la morphologie neuronale spécifique, des images à haute résolution des régions d'intérêt peuvent être acquises avec le même LSM ZEISS, en utilisant ses capacités confocales ou de super-résolution Airyscan.



# Microscopie à champ lumineux made by ZEISS

## Découvrez la technologie qui se cache derrière cet instrument

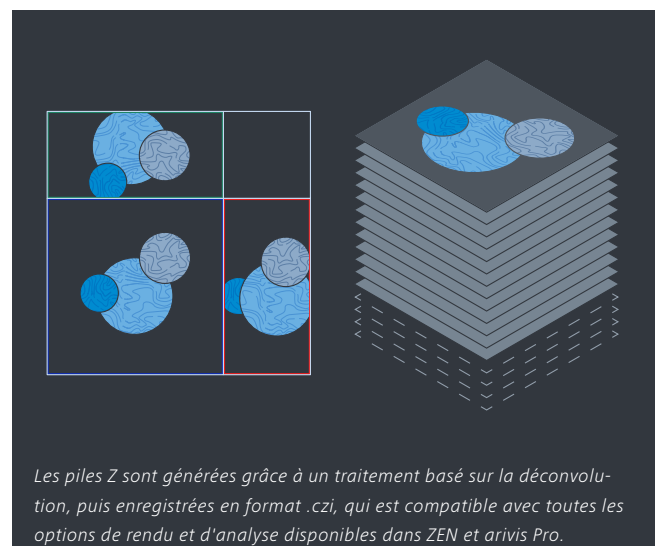
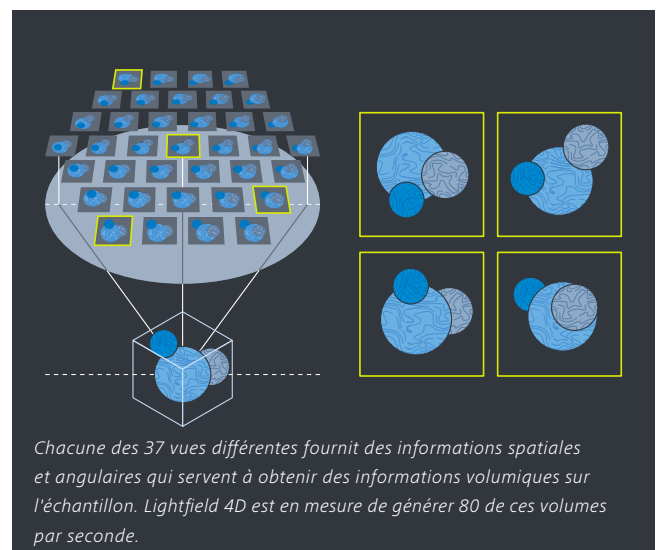
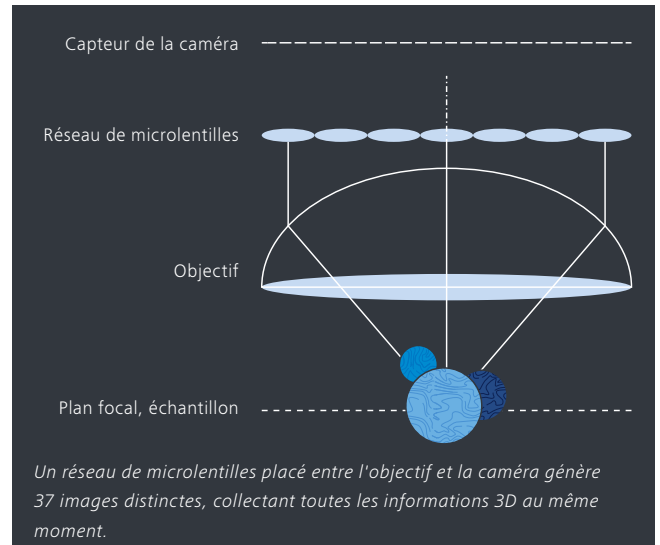
Afin de véritablement capturer l'essence des processus biologiques, l'imagerie doit être effectuée en 4D, le volume et le temps étant tous deux des facteurs primordiaux pour étudier les systèmes vivants. Ce concept n'a rien de nouveau. En effet, de nombreuses techniques de sectionnement optique ont été élaborées au fil des décennies passées afin de satisfaire aux exigences requises. Et pourtant, ces méthodes reposent généralement sur l'acquisition séquentielle d'images pour créer des piles en Z des volumes, ce qui introduit des différences temporelles dans un même échantillon, limitant considérablement la vitesse d'imagerie et la précision spatio-temporelle des données acquises.

Lightfield 4D apporte une solution unique en imageant un volume entier à un moment précis et sans temporisation. Au lieu d'enregistrer des images 2D individuelles à différents instants, un réseau de microlentilles placé entre l'objectif et la caméra génère 37 images distinctes, collectant toutes les informations 3D au même moment. Chacune de ces différentes vues fournit des informations spatiales et angulaires qui servent de base à la création d'une pile en Z par le biais d'un traitement basé sur la déconvolution. De cette manière, Lightfield 4D est en mesure de générer 80 piles en Z volumiques par seconde.

Outre la vitesse unique d'acquisition volumique, cette méthode est particulièrement douce pour les échantillons vivants. Étant donné qu'il suffit d'activer l'éclairage une seule fois par volume généré et qu'il n'est pas nécessaire de répéter cette opération pour acquérir des pixels d'image individuels ou des images 2D supplémentaires dans le but de reconstituer le volume entier, l'exposition à la lumière s'en trouve réduite au minimum. Cette combinaison fait de Lightfield 4D la méthode idéale pour enregistrer des processus rapides ainsi que des données issues de différents échantillons vivants sur des périodes prolongées.

La taille du volume généré dépend de l'objectif sélectionné. Son grossissement et son ouverture numérique (NA) définissent la zone représentée et la plage Z reconstruite. Divers objectifs sont compatibles à l'obtention des mesures idéales pour le volume d'échantillon et la résolution souhaités pour Lightfield 4D.

Les piles en Z générées sont stockées dans le format de fichier standard .czi utilisé par ZEN, permettant les mêmes options de rendu et d'analyse que pour n'importe quelle autre pile en Z créée dans ZEN. Pour des recherches reproductibles et fiables, les 37 images individuelles sont sauvegardées en tant que données brutes pour un accès immédiat et ultérieur.





# Choisissez votre plateforme

Alliez la microscopie à champ lumineux à la souplesse du LSM



## ZEISS LSM 910

### Comprendre les fondamentaux de la vie

Microscope confocal compact pour l'imagerie novatrice et l'analyse intelligente

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



## ZEISS LSM 990

### Explorer en toute liberté

Le meilleur de l'imagerie multimodale dans un seul système confocal

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

Lightfield 4D (disponible avec ZEISS LSM 910 et ZEISS LSM 990 sur ZEISS Axio Observer)

Grossissement	40x	25x	20x	10x	
Immersion RI	1,333	1,333	1	1	
Champ d'observation	20,4 mm				
Taille de champ de l'objet	361 × 361 μm <sup>2</sup>	585 × 585 μm <sup>2</sup>	720 × 720 μm <sup>2</sup>	1444 × 1444 μm <sup>2</sup>	Variation jusqu'à 2 % d'un système à l'autre
Plage de pile Z	109 μm	278 μm	430 μm	1712 μm	Valeur calculée
Vitesse d'acquisition	jusqu'à 80 volumes par seconde				
Plage de longueurs d'onde d'excitation	405–740 nm				
Résolution X/Y *	2,2 μm	3,5 μm	4,4 μm	8,8 μm	Valeur mesurée, déconvoluée
Résolution Z *	2,8 μm	8,4 μm	13,6 μm	57 μm	Valeur mesurée, déconvoluée avec un nombre optimal d'itérations
Taille de voxel 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>	
Taille de pile XYZ *	512 × 512 × 121 pixels <sup>3</sup>	512 × 512 × 103 pixels <sup>3</sup>	512 × 512 × 99 pixels <sup>3</sup>	512 × 512 × 95 pixels <sup>3</sup>	

### Objectifs recommandés pour Lightfield 4D

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

Plan-Apochromat 40x/1,3 huile 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



\* Valeur mesurée avec des billes dans de l'agarose (RI = 1,378) avec une immersion dans l'air ou dans l'eau respectivement et une longueur d'onde d'excitation / de détection (marquage) de 488 nm / 525 nm (eGFP)

### Carl Zeiss SAS - Division Microscopie

15 avenue Edouard Belin, 92500 Rueil

Malmaison, France

marketing.microscopy.fr@zeiss.com

[www.zeiss.com/spectral-multiplex](https://www.zeiss.com/spectral-multiplex)

### Suivez-nous sur les réseaux sociaux :

