

# Microscopia de fluorescência por folha de luz para aquisição de imagens Multiview de amostras vivas e clareadas.



**ZEISS Lightsheet 7**

[zeiss.com/lightsheet](https://zeiss.com/lightsheet)



Seeing beyond

# ZEISS Lightsheet 7: Aquisição de imagens Multiview de amostras vivas e clareadas

## › Resumo

› As vantagens

› As aplicações

› O sistema

› Tecnologia e detalhes

› Assistência

## Flexível. Robusto. Fácil de usar.

Pesquisas de ciências da vida podem demandar muito da sua capacidade de aquisição de imagens, sendo às vezes necessário adquirir imagens de organismos-modelo vivos inteiros, tecidos e células durante seu desenvolvimento. A microscopia de fluorescência por folha de luz (Light sheet fluorescence microscopy, LSFM), com seus princípios exclusivos de iluminação, é ideal para a aquisição rápida e delicada de imagens dessas amostras. A estabilidade excepcional do Lightsheet 7 permite observar amostras vivas durante extensos períodos de tempo – até mesmo por dias – com menos fototoxicidade do que nunca.

E mais, essa técnica pode ser usada para aquisição de imagens de amostras muito grandes e opticamente clareadas em sua totalidade e com resolução subcelular. Aprimore o Lightsheet 7 com ópticas dedicadas, câmaras e suportes de amostra para ajuste preciso do índice de refração do método de clareamento escolhido, para, em seguida, adquirir imagens de amostras grandes, até mesmo de cérebros inteiros de ratos. Além de toda essa flexibilidade, o comprovado e estável design de folha de luz em caixa da ZEISS.



▶ [Clique aqui para assistir ao vídeo](#)

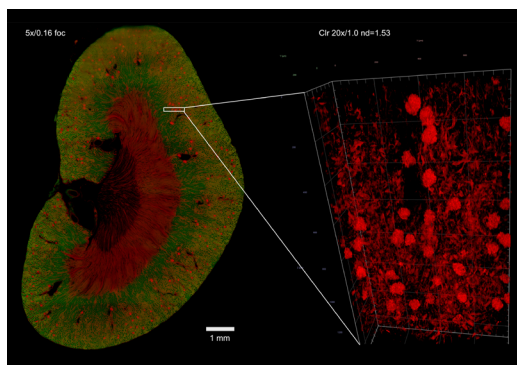
*Cérebro de rato clareado com uso do protocolo CLARITY e com aquisição de imagens realizada no EasyIndex. Marcador: PV-tdtomato expresso em interneurônios em todo o cérebro e em células de Purkinje no cerebelo. Volume de dados da imagem: 11 × 20 × 8,9 mm. Amostra cortesia de E. Diel e D. Richardson, Universidade de Harvard, Cambridge, EUA.*

# ZEISS Lightsheet 7: Mais simples. Mais inteligente. Mais integrado.

- › Resumo
- › **As vantagens**
- › As aplicações
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Adquira imagens de amostras opticamente clareadas

O método de clareamento óptico escolhido depende do tipo de tecido da aquisição de imagens, dos marcadores fluorescentes e do tamanho da própria amostra: o Lightsheet 7 foi projetado para atender a todas essas diferentes condições. Agora você pode adquirir imagens de amostras de até 2 cm com qualquer índice de refração entre 1,33 e 1,58, e praticamente todas as soluções de clareamento. Apenas um sistema estável e pronto para adquirir imagens e dados de visão geral com resolução subcelular. Independentemente de você trabalhar com organoides, esferoides, órgãos, cérebros ou outras amostras opticamente clareadas, o Lightsheet 7 é a melhor opção de microscópio para aquisição de imagens LSFM rápidas e delicadas.



Rim de rato clareado com iDISCO, imagem adquirida em cinamato de etila com óptica de detecção 5x/0,16 foc e Clr 20x/1,0 nd=1,53 (inserção). Vermelho: DyLight 594 para vasculatura e glomérulos. Verde: autofluorescência para anatomia do tecido. Amostra cortesia de U. Roostalu, Gubra, Dinamarca.

## Sempre a melhor qualidade e estabilidade de imagem

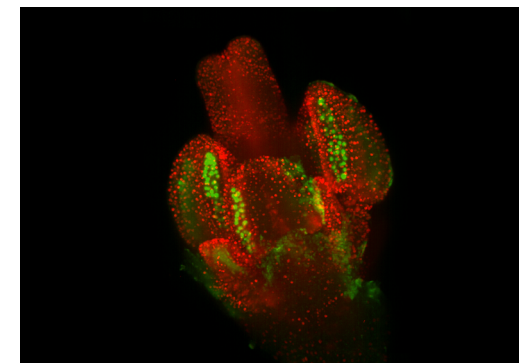
Vá além na aquisição de imagens LSFM para uma ampla gama de aplicações e sempre a melhor qualidade de imagem com o Lightsheet 7 de fácil utilização. A óptica e as câmaras de amostra recém-projetadas permitem o ajuste perfeito do índice de refração. O novo suporte de amostra simplifica a montagem de espécimes maiores. Ferramentas inteligentes de software auxiliam no ajuste dos parâmetros de aquisição de imagens, como as posições da folha de luz e da amostra, as configurações corretas de zoom, os mosaicos e as posições, bem como os parâmetros de processamento de dados. Todas essas novas características aliam-se à combinação confiável de lentes ópticas cilíndricas e digitalização a laser da ZEISS para gerar a folha de luz de iluminação. Adicione a tecnologia Pivot Scan patenteada e obtenha seções ópticas livres de artefatos com a melhor qualidade de imagem.



A óptica dedicada do ZEISS Lightsheet 7 permite atender a uma ampla gama de aplicações com a melhor qualidade de imagem.

## Observe a vida real – rápida e delicadamente

Agora o Lightsheet 7 apresenta a alta eficiência quântica dos detectores pco.edge sCMOS para possibilitar observações dos processos mais rápidos nos mais baixos níveis de luz de iluminação. Você terá uma visão real de suas amostras sem os efeitos adversos da luz de excitação em sua biologia. Para amostras verticais e taxas de quadros mais altas, opte pelo detector CMOS AxioCam 702: uma câmara de amostra especial fornece aquecimento, resfriamento e CO<sub>2</sub> para manter o ambiente perfeito para seus experimentos. Adicione opções de Multiview e acionamento para controlar dispositivos externos – o Lightsheet 7 é o sistema ideal para observar processos em tempo real de uma variedade quase ilimitada de organismos.



Desenvolvimento de Arabidopsis. Vermelho: H2B, mRuby para núcleos somáticos. Verde: ASY1, eYFP para miócitos. Cortesia de S. Valuchova, P. Mikulkova e K. Riha, Central European Institute of Technology (CEITEC), Universidade de Masaryk, Brno, República Tcheca.

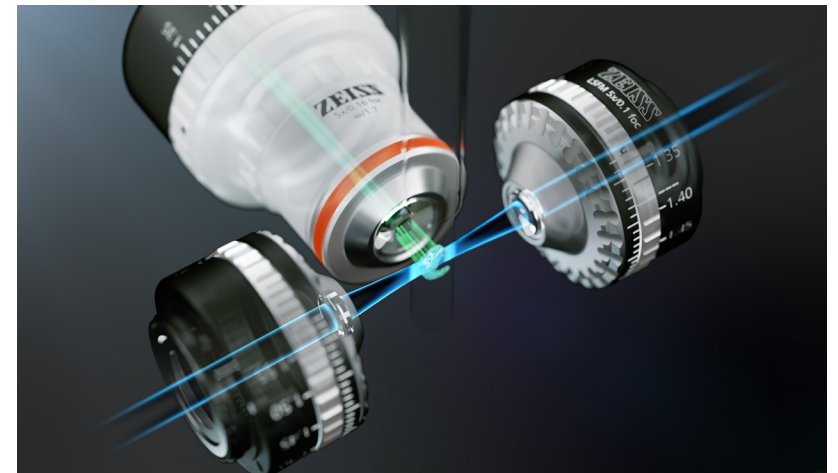
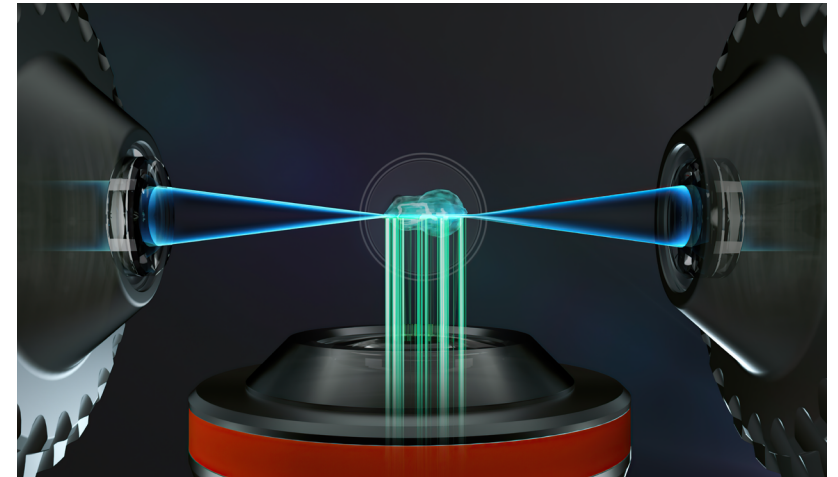
# A tecnologia por trás do equipamento

- › Resumo
- › **As vantagens**
- › As aplicações
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## **Eficiência máxima de fótons. Velocidade máxima. Tamanho máximo de amostras.**

A microscopia de fluorescência por folha de luz (LSFM) divide a excitação e a detecção de fluorescência em dois caminhos de luz distintos, sendo o eixo de iluminação perpendicular ao eixo de detecção. Assim, você pode iluminar uma única seção fina da amostra de uma vez, gerando uma seção óptica inerente ao excitar somente a fluorescência do plano em foco. Não é necessário qualquer processamento de imagem ou pinhole. A luz do plano em foco é coletada nos pixels da câmera, ao invés de pixel por pixel, como por exemplo, em microscópios confocais ou outros microscópios de varredura a laser. A paralelização da captura de imagens em um detector baseado em câmera permite coletar imagens mais rapidamente e com menos luz de excitação do que seria possível com muitas outras técnicas microscópicas. Resumindo, a LSFM combina o efeito de seção óptica com a aquisição de imagem paralela de todo o plano focal. Isso torna a aquisição de imagens 3D extremamente rápida e muito eficiente em termos de luz.

O desacoplamento da óptica de detecção da óptica de iluminação permite a excitação de fluorescência com lentes dedicadas de baixa abertura numérica sem sacrificar a resolução e a sensibilidade da detecção. Isso torna a LSFM ideal para a aquisição de imagens de amostras na escala milimétrica, como organismos em desenvolvimento ou grandes amostras de tecidos clareados.



# A tecnologia por trás do equipamento

- › Resumo
- › **As vantagens**
- › As aplicações
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## O Pivot Scanner patentado oferece iluminação homogênea

Quando a folha de luz passa pela amostra, algumas estruturas da amostra, por ex., os núcleos, absorvem ou dispersam a luz de excitação. Isso projeta sombras ao longo do eixo de iluminação, como é possível observar na Figura 1. Esse efeito ocorre em todos os microscópios de fluorescência, mas o eixo de iluminação na microscopia de fluorescência por folha de luz é perpendicular ao eixo de observação, de modo que esse efeito é mais evidente.

No Lightsheet 7, um Pivot Scanner patentado altera o ângulo da folha de luz para cima e para baixo durante a aquisição da imagem. Ao alterar o ângulo de iluminação, as sombras são lançadas em direções diferentes e a luz de excitação também atinge regiões atrás de estruturas opacas, como é possível observar na Figura 2. Esse Pivot Scanner patentado é a maneira perfeita de adquirir imagens livres de artefatos e melhorar as etapas de processamento e análise posteriores. Sempre é melhor lidar com os artefatos diretamente em sua origem.

Figura 1: Sem o Pivot Scanner

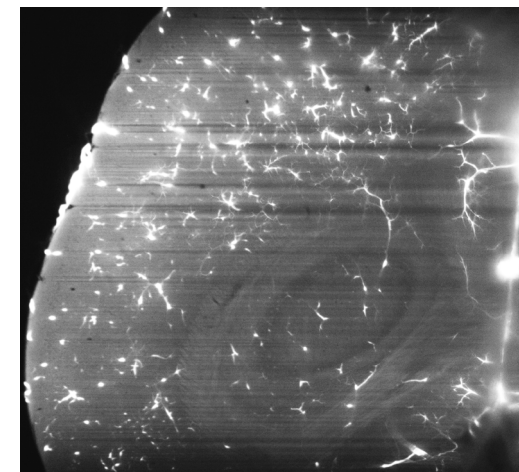
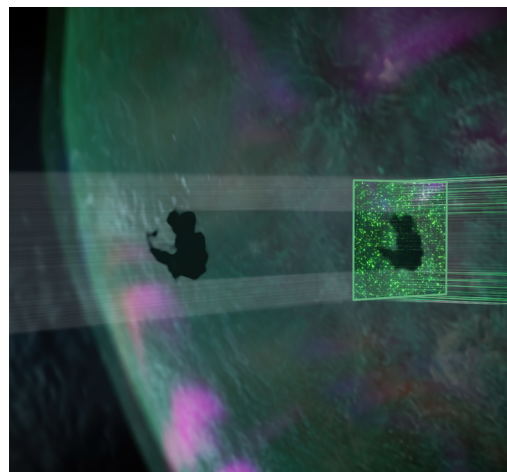
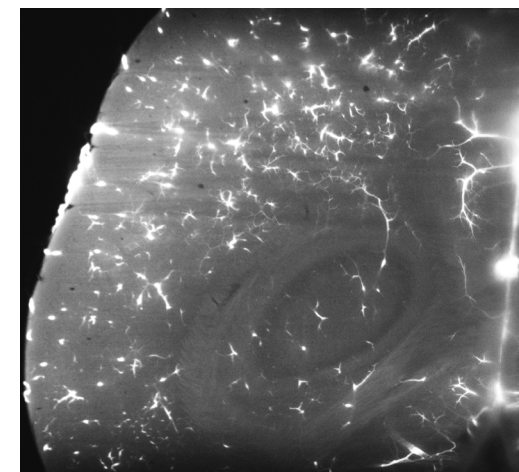
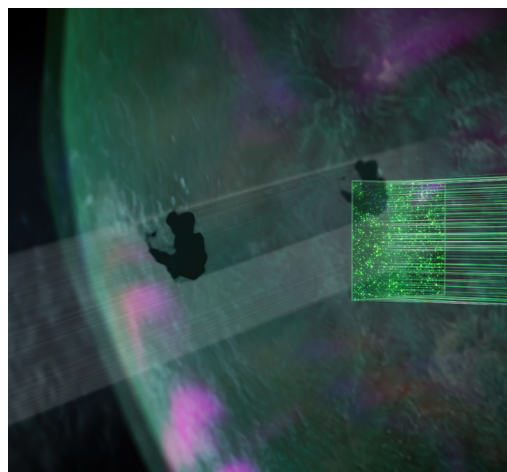


Figura 2: Com o Pivot Scanner



# Amplie suas possibilidades

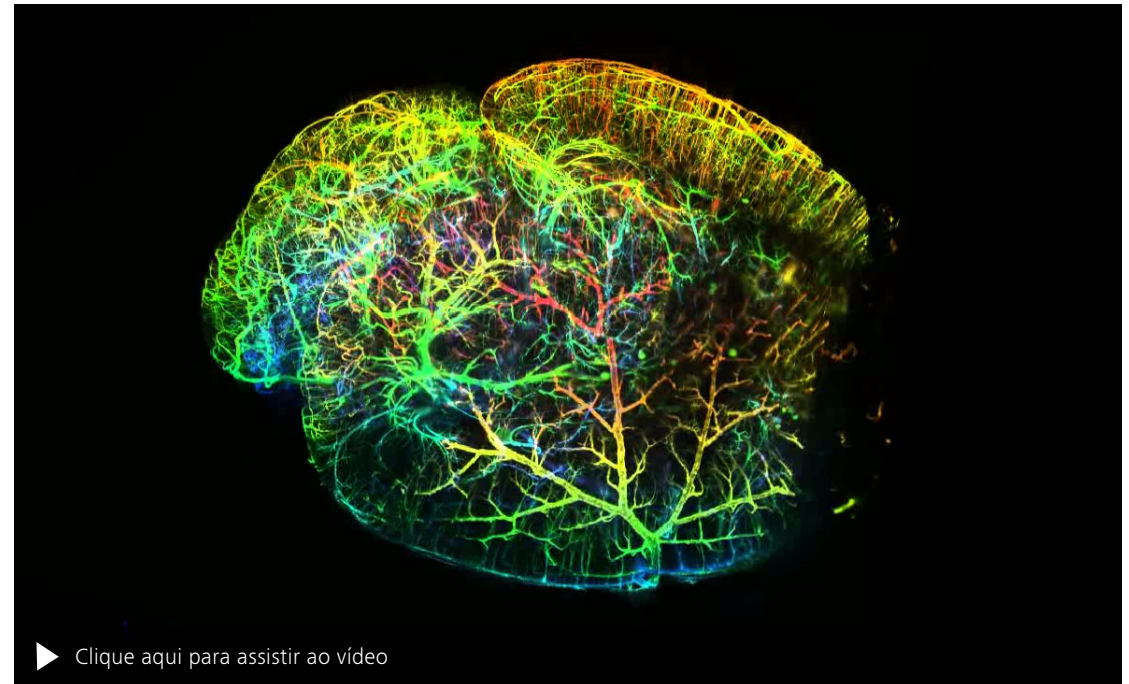
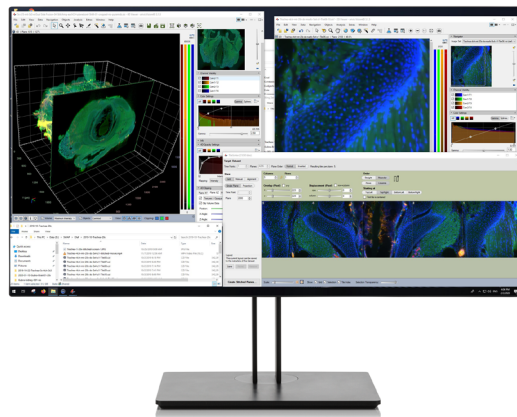
- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Processamento de dados e análise de imagens

O Lightsheet 7 usa o software de aquisição de imagens ZEN (blue edition) para processamento de dados, oferecendo a vantagem do vasto portfólio de funcionalidades de processamento de imagens da plataforma. Isso inclui os algoritmos de reconstrução Multiview, deconvolução, fusão de aquisições de iluminação lateral dupla e muitos outros benefícios da ZEISS. Com o ZEN (blue edition), também é possível emendar conjuntos de dados de imagens em mosaico com facilidade.

Para o tratamento eficiente de conjuntos de dados extremamente grandes e fluxos de trabalho complexos, você pode usar o arivis Vision4D®, que oferece a vantagem adicional de funções de processamento como emenda avançada, mudança de canal, renderização de volume de alta resolução e muito mais, para que você possa visualizar e quantificar seus dados de maneira rápida e profissional.

O arivis Vision4D® é uma solução de software modular para trabalhar com imagens 2D, 3D e 4D multicanal de tamanho quase ilimitado, independentemente da RAM disponível. O Lightsheet 7 gera conjuntos de dados multicanal imensos que podem ser tratados sem restrições pelo arivis Vision4D®, que é executável no Storage & Analysis PC e no ACQUIFER HIVE da ZEISS.



▶ [Clique aqui para assistir ao vídeo](#)

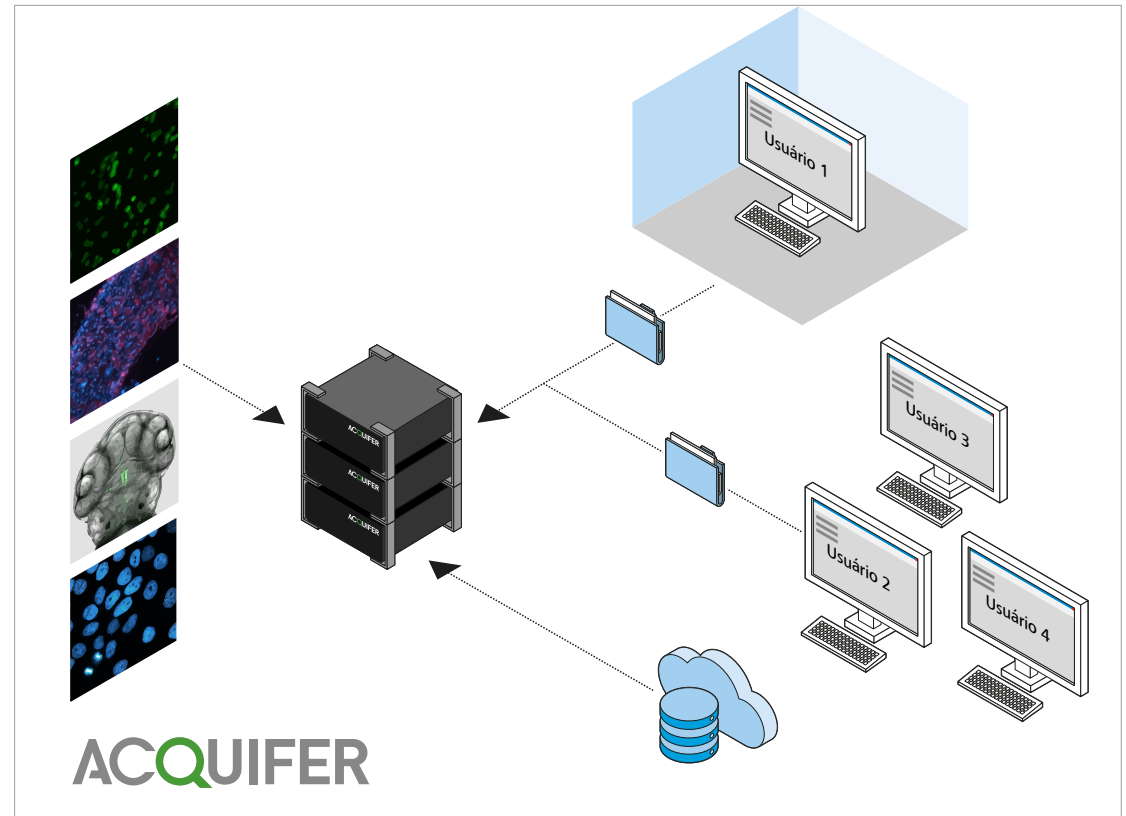
# Amplie suas possibilidades

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Armazenamento e processamento de dados grandes

Como a microscopia de fluorescência por folha de luz (LSFM) pode adquirir imagens de grandes amostras tridimensionais e/ou de séries temporais muito longas, ela também pode gerar grandes conjuntos de dados em um curto período de tempo. Conseqüentemente, você será aconselhado com frequência a revisar o seu armazenamento de dados, bem como os pipelines de tratamento e processamento de dados ao estabelecer essa técnica em seu laboratório. O armazenamento e o hardware de computação funcionam melhor quando são configurados e ajustados ao microscópio que atendem. É importante armazenar as imagens adquiridas diretamente em um volume seguro e rápido, no qual elas possam ser gerenciadas sem outros processos de cópia demorados ou dispendiosos. Em especial, os serviços em nuvem não conseguem lidar com as taxas de dados típicas de folhas de luz e outras técnicas de microscopia, tornando indispensáveis as soluções no local. O Lightsheet 7 inclui o próprio Storage & Analysis PC da ZEISS, completo com 36 TB de armazenamento e hardware de computação de tamanho razoável para laboratórios menores.

Para laboratórios maiores, incluindo instalações centrais e ambientes com vários usuários, você pode complementar o Lightsheet 7 com a plataforma de dados ACQUIFER HIVE. Essa solução multifuncional baseada em Windows é fácil de usar e inclui rede e baterias.



Essa é uma combinação comprovadamente muito boa para as soluções de LSFM da ZEISS. A unidade básica é um bloco de armazenamento de 50 terabytes com uma unidade de processamento

diretamente conectada e uma infraestrutura de rede autônoma de 10 Gbit que se conecta aos sistemas de microscopia. Ela pode ser facilmente expandida ou atualizada, caso seja necessário.

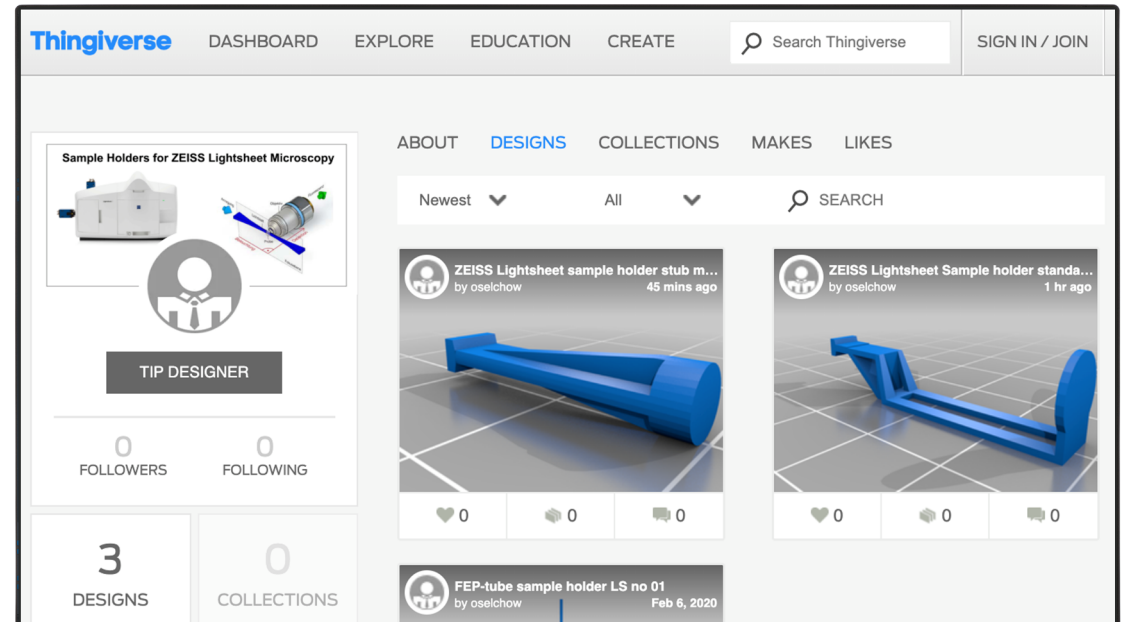
# Amplie suas possibilidades

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Design de suporte de amostra flexível

Os suportes de amostra com design personalizado podem ser um grande benefício para a aquisição de imagens de LSM. O Lightsheet 7 é praticamente concebido em função da sua amostra, com o suporte projetado para melhor atender ao objetivo do seu experimento. O novo design inteligente do suporte de amostra do Lightsheet 7 permite trocar rapidamente a parte frontal de cada suporte, dependendo da amostra atual. Essa interface está disponível para o design e a usinagem personalizados e impressão em 3D do seu próprio suporte de amostra.

Acesse [www.zeiss.com/sampleholder](http://www.zeiss.com/sampleholder) para obter dicas e truques e para discutir e baixar suportes de amostra personalizados para os experimentos mais exigentes.





## Amplie suas possibilidades

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

### Aquisição de imagens mesoscópicas

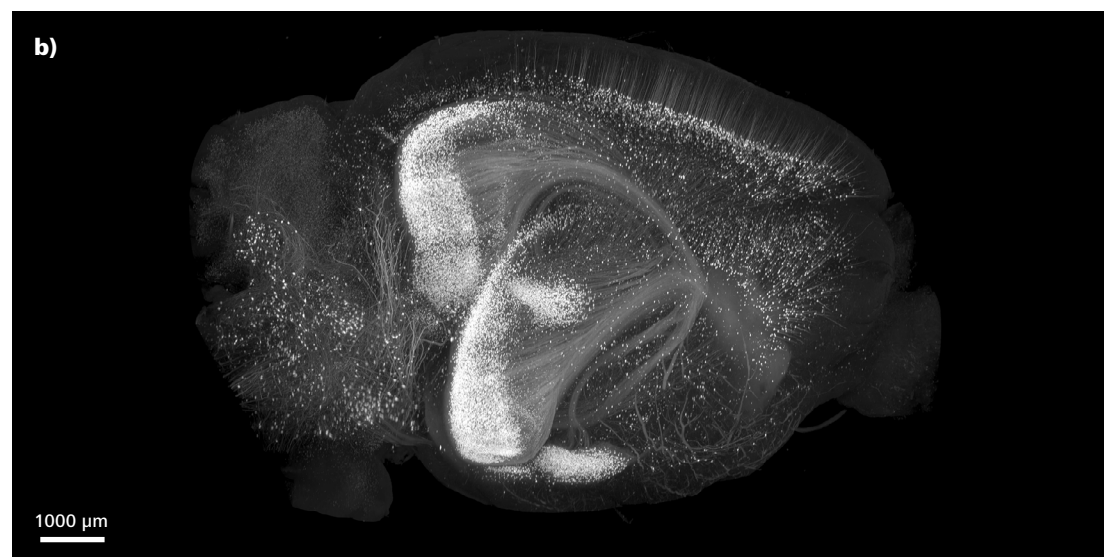
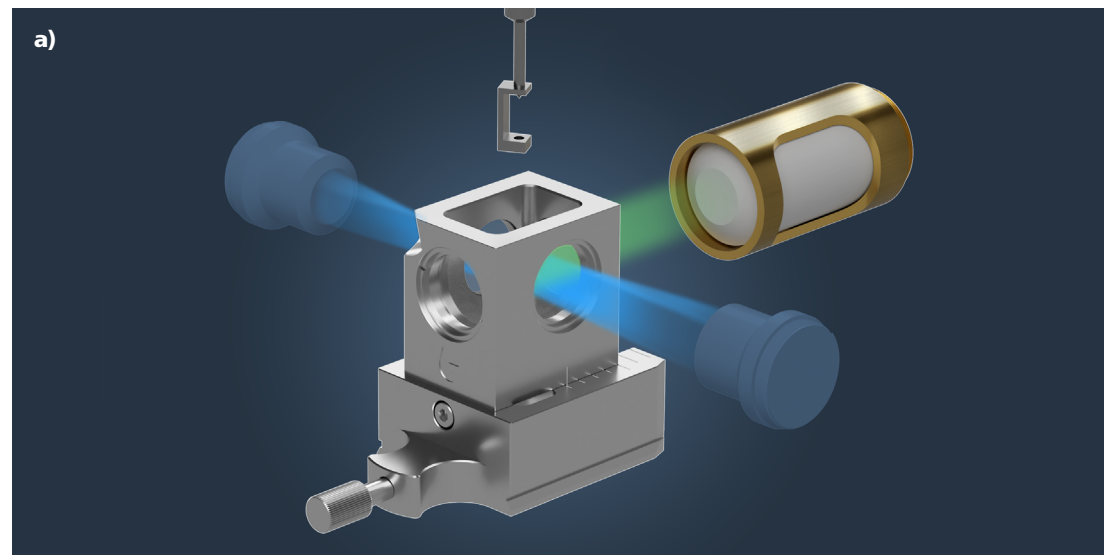
Para tornar o Lightsheet 7 compatível com amostras ainda maiores e aquisições de imagens de baixa ampliação, você pode expandir o sistema com o Mesoscale Imaging System da Translucence Biosystems. Ele consiste em três componentes: câmara de aquisição de imagens, suporte de amostra e colar de segurança/adaptador de objetiva. Agora você pode usar a excelente óptica do Lightsheet 7 para tamanhos de volume de amostra na faixa de  $3,5 \text{ cm}^3$  para realizar aquisições de imagens mesoscópicas de tecidos. O princípio da iluminação por folha de luz permite utilizar objetivas de campo amplo e baixa ampliação para obter imagens de alta qualidade em uma fração do tempo que seria necessário com outras abordagens. Por exemplo, usando uma objetiva Fluor 2,5x/0,12, é possível adquirir imagens de um cérebro inteiro de rato com um tamanho de voxel de  $1,8 \times 1,8 \times 12 \mu\text{m}$  em menos de 40 minutos.



**TRANSLUCENCE**  
BIOSYSTEMS

a) mostra um esboço do Translucence Mesoscale Imaging System montado no Lightsheet 7.

b) mostra um cérebro de rato Thy1-EGFP clareado e corado com uma versão modificada do iDISCO, com imagens em uma solução de alto índice de refração ( $n = 1,56$ ) com óptica de detecção Fluor 2,5x/0,12. Cortesia de S. Gandhi, UC Irvine, EUA e Translucence Biosystems.



# Feito sob medida para as suas aplicações

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

Agora você pode realizar experimentos que nunca teria tentado antes. O Lightsheet 7 proporciona velocidade na aquisição de imagens de volumes. É a forma mais delicada de observar o completo desenvolvimento de embriões do seu organismo modelo e de monitorar os mais rápidos processos fisiológicos dentro da amostra. Além disso, o Lightsheet 7 é o microscópio mais universal e fácil de usar para atender a uma vasta gama de aquisição de imagens de volume de amostras opticamente clareadas.

Aplicações Típicas/Amostras Típicas	Tarefa
<b>Morfogênese e embriogênese na biologia do desenvolvimento e na biologia de sistemas</b>	Aquisição de imagens de fluorescência de padrões espaço-temporais de expressão genética, origem e migração celular, e organogênese durante embriogênese. Ideal para utilização com vários organismos em biologia do desenvolvimento, proporcionando a aquisição de imagens completa das amostras, como <i>Drosophila melanogaster</i> , peixe-zebra, <i>C. elegans</i> e outros.
<b>Organogênese e dinâmica celular</b>	Aquisição de imagens rápidas da dinâmica celular em embriões e pequenos organismos (aquisição de imagens de migração celular, desenvolvimento cardíaco, fluxo sanguíneo, desenvolvimento vascular, neurodesenvolvimento, cálcio)
<b>Cultura celular 3D</b>	Aquisição de imagens ao vivo de cultura celular 3D, esferoides e quistos, cultura de tecidos, culturas organotípicas. Análise de, por ex., migração celular, padrões de expressão, proliferação celular.
<b>Plantas</b>	Processos de desenvolvimento, medições fisiológicas
<b>Aquisição de imagens de organismos marinhos</b>	Aquisição de imagens em fluorescência de organismos marinhos (por ex., ciona, lula, plâncton, platelmintos)
<b>Aquisição de imagens estruturais de amostras fixadas e grandes (dimensões em mm)</b>	Aquisição de imagens de volume de fluorescência de amostras fixadas (por ex., tecido de embriões precoces de rato, peixe-zebra e <i>oryzias latipes</i> )
<b>Aquisição de imagens de amostras opticamente clareadas</b>	Aquisição de imagens de amostras fixadas e marcadas por fluorescência (seções de tecido, cérebro de rato, embriões, órgãos, esferoides e biópsias) clareadas opticamente com praticamente qualquer um dos meios comuns de clareamentos com índices de refração de $n = 1,33$ (água) a $n = 1,58$ . As propriedades ópticas para objetivas de 20x de alta ampliação são otimizadas para Scale A2, ( $nd = 1,38$ , Hama et al, Nat Neurosci. 2011), FocusClear™ (por CelExplorer Labs, <a href="http://www.celexplorer.com">http://www.celexplorer.com</a> ) $nd = 1,45$ , o meio de incorporação para CLARITY (Chung et al, Nature 2013) e U.Clear ( $nd = 1,53$ , Zhuohao Wu, Icahn School of Medicine, Monte Sinai)

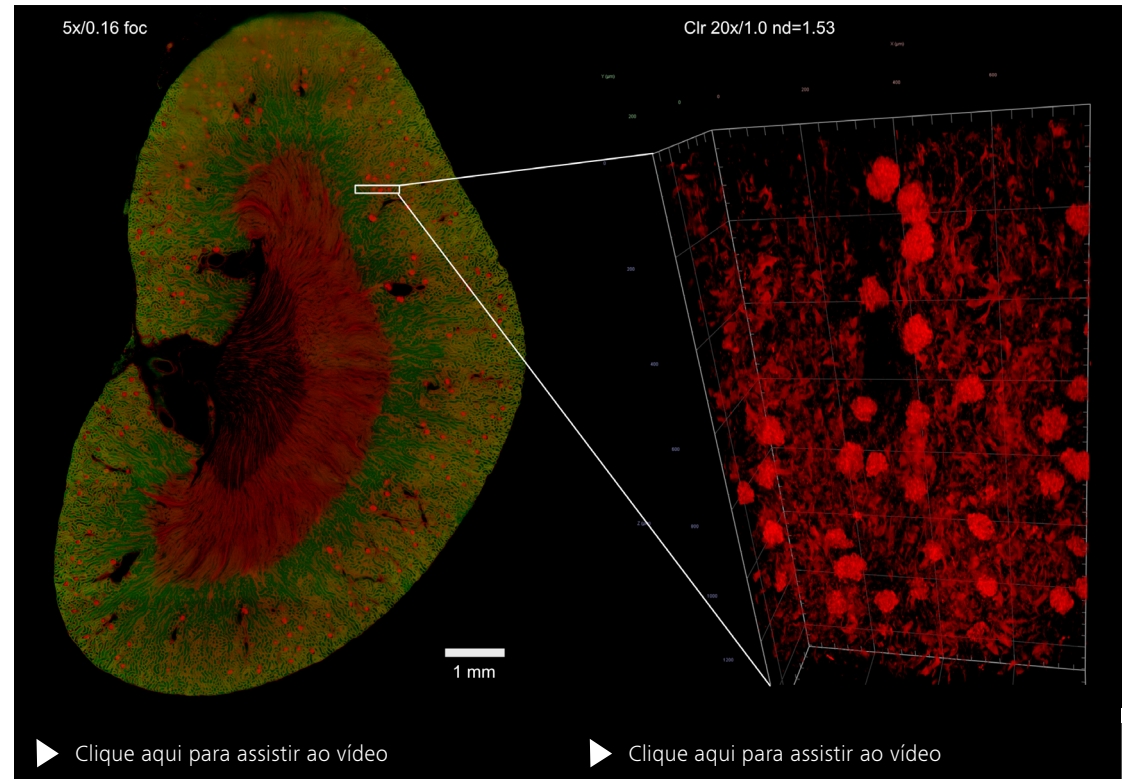
# ZEISS Lightsheet 7 em ação

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Nefrologia

Rim de rato clareado com o protocolo iDISCO e adquirido em cinamato de etila com óptica de detecção ZEISS Lightsheet 7 5x/0,16 foc e Clr 20x/1,0 nd = 1,53 (inserção). O rato foi perfundido com lectina de tomate conjugada com DyLight 594 para visualizar a vasculatura e os glomérulos (vermelho).

Em verde: autofluorescência para visualizar a anatomia do tecido. A aquisição de imagens de órgãos inteiros em 3D e a análise de imagens computacionais do tamanho e do número de glomérulos ajudam a compreender melhor os mecanismos de diversas doenças renais, por exemplo, a nefropatia diabética. Processado com o arivis Vision4D® no ACQUIFER HIVE.



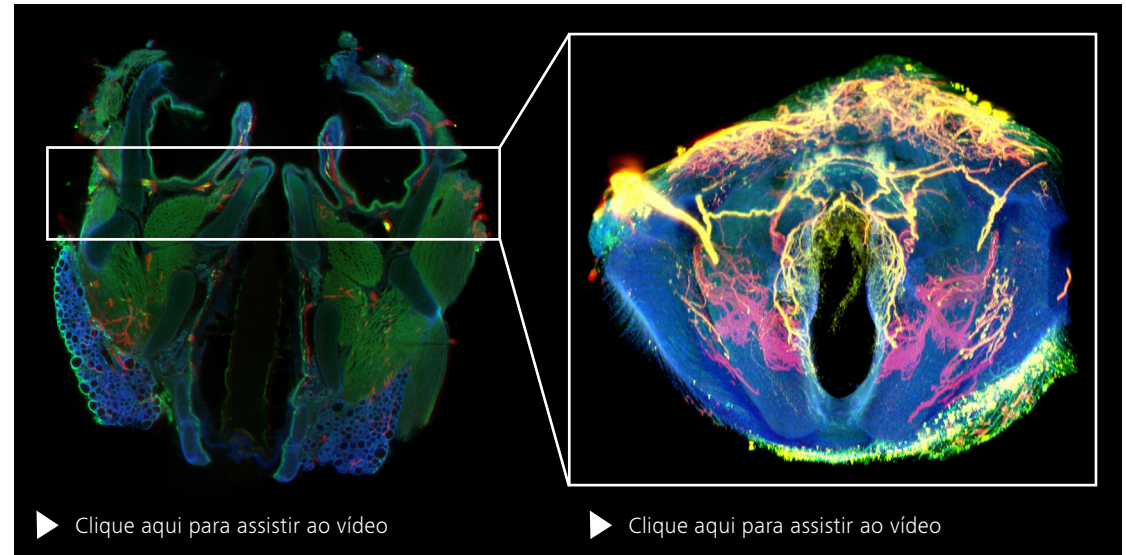
Amostra cortesia de U. Roostalu, Gubra, Dinamarca.

# ZEISS Lightsheet 7 em ação

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Biologia de desenvolvimento

Conjunto de dados 3D de uma traqueia de rato P10 exibindo a organização anatômica das fibras nervosas mecanossensoriais. Coloração: DAPI, colágeno IV (anticorpo Alexa 488), fibras sensoriais (cepa repórter que expressa tdTomato, anticorpo Alexa 555), proteína de neurofilamento NF200 (fibras nervosas mielinizadas, anticorpo Alexa 647). A amostra foi clareada no PEGASOS (Jing et al., 2018, Cell Research) com imagens no BB-PEG com IR de 1,54 com óptica de detecção 5x/0,16 foc e Clr 20x/1,0 nd = 1,53, respectivamente. Conjunto de dados com ampliação de 5x: escala de pixels 0,61 × 0,61 × 1,63 micron, 3x3 blocos, zoom de 1.5x, 1230 seções z, volume 2,57 × 2,58 × 2 mm, conjunto de dados com ampliação de 20x: escala de pixels 0,23 μm × 0,23 × 0,58 micron, 1x5 blocos, zoom de 1.0x, 4206 seções z, volume 2,0 × 0,45 × 1,82 mm.



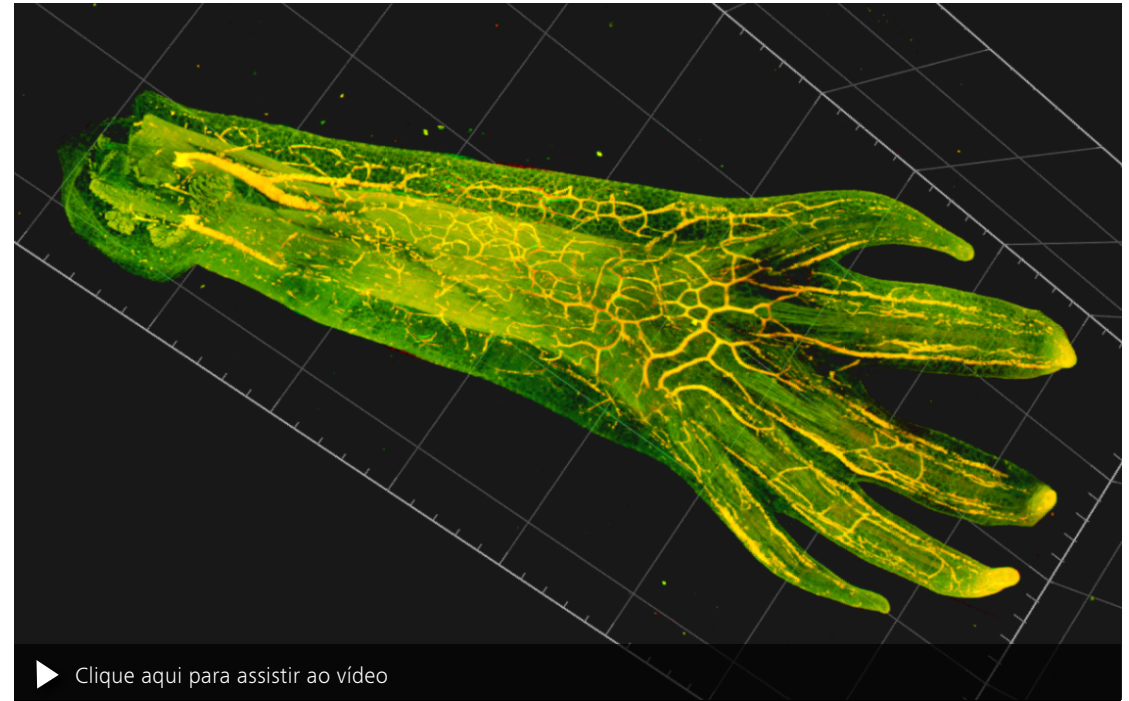
Amostra cortesia de P.-L. Ruffault, C. Birchmeier, Laboratory of Developmental Biology/Signal Transduction; A. Sporbert, M. Richter Advanced Light Microscopy; M. Delbrück, Center for Molecular Medicine, Berlim, Alemanha.

## ZEISS Lightsheet 7 em ação

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

### **Membros de vertebrados, regeneração da medula espinhal**

As salamandras têm a notável capacidade de regenerar seus membros e medulas espinhais. As ferramentas de genética molecular permitem identificar as células-tronco responsáveis por essa complexa regeneração e os sinais responsivos a lesões que iniciam sua proliferação. Esse antebraço de axolote foi clareado em cinamato de etila (Masselink, W. et al. Development 146, [2019]) e adquirido com óptica de detecção 5x/0,16 foc com índice de refração de 1,57. O conjunto de dados de vários níveis foi alinhado, fundido e renderizado com o software de aquisição de imagens ZEN e o software arivis Vision4D® em uma plataforma de dados ACQUIFER HIVE.



▶ [Clique aqui para assistir ao vídeo](#)

*Amostra cortesia de W. Masselink, Tanaka lab, Research Institute of Molecular Pathology, IMP.*

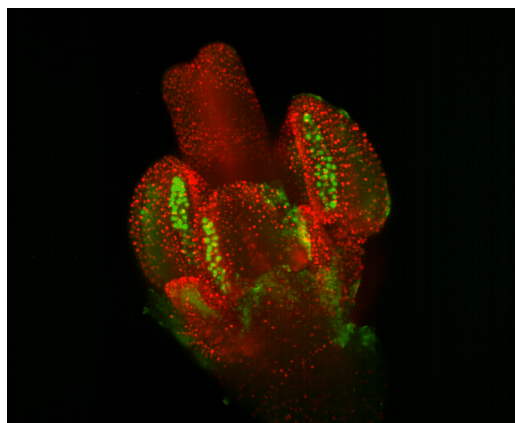
*Imagem cortesia de P. Pasierbek, K. Aumayr, IMP BioOptics, Viena, Áustria.*

# ZEISS Lightsheet 7 em ação

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Desenvolvimento de flores de Arabidopsis

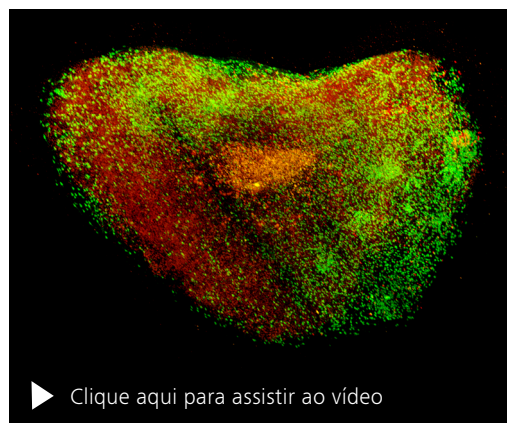
O Lightsheet 7 permitiu visualizar e estudar o desenvolvimento estrutural de flores inteiras de *Arabidopsis* em resolução subcelular durante 5 dias. Esse é um excelente exemplo de aquisição de imagens delicada, ao vivo e de longo prazo com a microscopia de fluorescência por folha de luz (LSFM). Marcadores: H2B:mRuby2 para visualização de núcleos somáticos. ASY1:eYFP expresso especificamente em miócitos. Adquiridos com W Plan Apo 10x/0,5 e câmara de incubação e montagem de amostras personalizadas. Volume da imagem: 587 × 587 × 80 µm.



Amostra cortesia de S. Valuchova, P. Mikulkova e K. Riha, Central European Institute of Technology (CEITEC), Universidade de Masaryk, Brno, República Tcheca.

## Morfologia neuronal

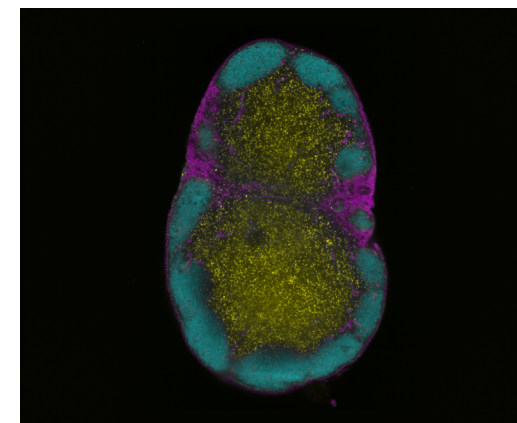
A aquisição de imagens de células inteiras no cérebro humano é uma tarefa quase impossível devido à morfologia extremamente sofisticada dos neurônios e a sua distribuição por todo o órgão. Os organoides permitem a recapitulação do cérebro humano até certo ponto, incluindo a produção de neurônios a partir de culturas de células-tronco neuronais. Com o clareamento do ECI, a morfologia neuronal pode ser estudada do nível local ao global, o que cria possibilidades fascinantes para o estudo da morfologia neuronal em 3D. Organoides neuronais de 35 dias de idade esparsamente marcados com GFP/tdtomato (3% de GFP e 3% de tdtomato) adquiridos com a objetiva Clr 20x/1,0 nd = 1,53. Escala de pixels: 222 × 222 × 567 nm. Volume da imagem: 1,66 × 0,66 × 1,6 mm.



Amostra cortesia de D. Reumann e J. Knoblich, IMBA, Viena, Áustria.

## Imunologia

A aquisição de imagens de órgãos linfoides intactos em 3D permite analisar e quantificar a resposta imunológica a infecções virais. As células T foram transferidas para ratos hospedeiros do tipo selvagem antes da coleta. O nódulo foi limpo, fixado e clareado usando Ce3D (Li et al. PNAS 163, 2017) antes da aquisição de imagens com IR = 1,49 (ph 7) com uma óptica de detecção 5x/0,16 (volume 2,5 × 2,5 × 1,6 mm). A imagem mostra as células T CD8+ nativas marcadas com GFP (amarelo), os folículos de células B estão corados com B220 (ciano) e a rede de vasculatura CD31 (magenta).



Amostra cortesia de J. Groom, B. Duckworth, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Parkville, Austrália.

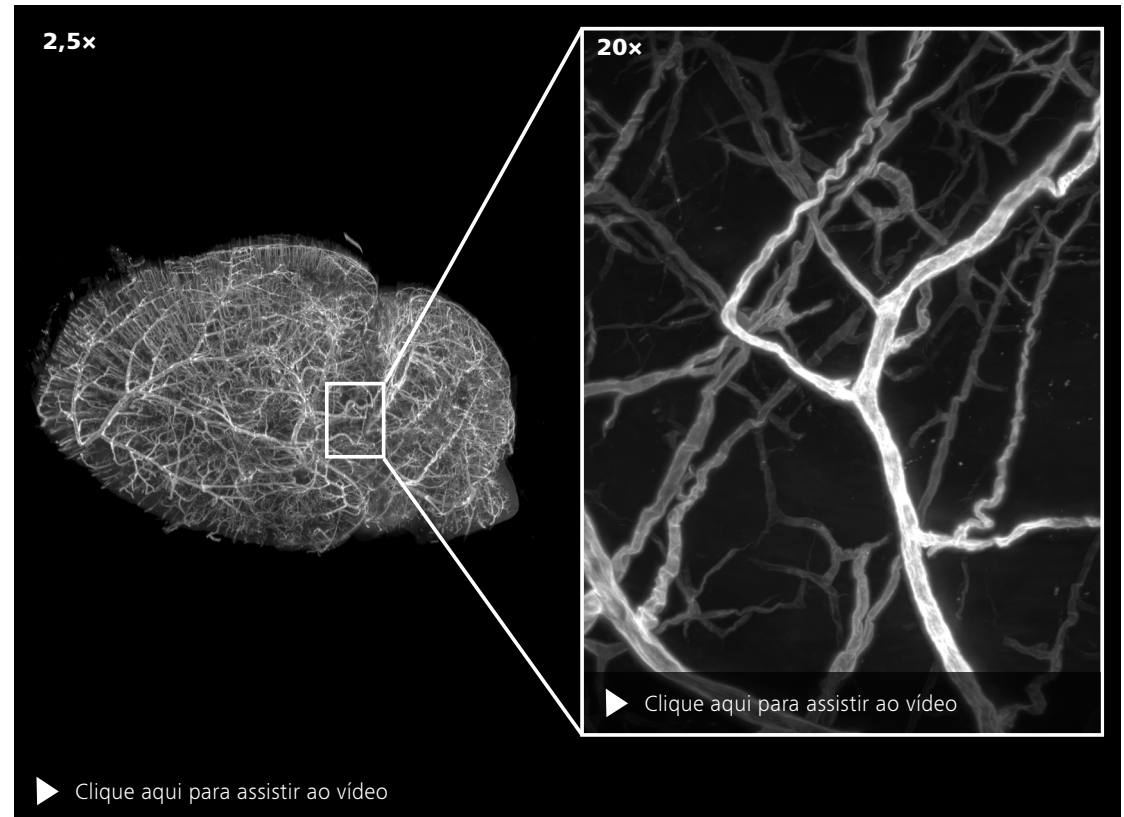
# ZEISS Lightsheet 7 em ação

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

## Mapeamento da vasculatura de um cérebro inteiro de rato

Um rato C57 BL6J foi perfundido com PBS e 4% de PFA. O cérebro foi corado com a perfusão do CellTracker™ CM-Dil Dye, um corante lipídico para marcar as membranas da vasculatura. A amostra foi clareada usando o protocolo iDISCO+, equilibrada em cinamato de etila como solução de ajuste de índice de refração final. Em seguida, a imagem foi adquirida em cinamato de etila com IR = 1,565 com a óptica de detecção Fluar 2,5x/0,12 em uma câmara de aquisição de imagens de mesoescala de translucidez. A imagem de inserção de alta resolução à direita foi adquirida com Clr Plan-Neofluar 20x/1,0 Corr nd = 1,53.

O volume da imagem é de 13,1 × 13,1 × 6 mm em uma resolução de pixel de 1,83 × 1,83 × 6,77 μm. Ela foi adquirida em cerca de 40 minutos em blocos 4x4, 866 seções z. O volume de dados é de 93 GB. Dados processados com o software de aquisição de imagens ZEN e arivis Vision4D® em uma plataforma de dados ACQUIFER HIVE.



Amostra cortesia de E. Diel, D. Richardson, Universidade de Harvard, Cambridge, EUA.

## ZEISS Lightsheet 7 em ação

- › Resumo
- › As vantagens
- › **As aplicações**
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência

### **Mapeamento de interneurônios e células de Purkinje de um cérebro inteiro de rato**

Cérebro de rato PV-tdtomato clareado com uso do protocolo CLARITY e com aquisição de imagens realizada no EasyIndex com um índice de refração de  $IR = 1,46$ . Parvalbumina-Cre produzindo expressão de tdtomato. A parvalbumina é expressa em uma população de interneurônios em todo o cérebro e em células de Purkinje no cerebelo. O conjunto de dados do cérebro inteiro foi adquirido no ZEISS Lightsheet 7 com óptica de detecção  $5\times/0,16$  foc. O volume da imagem é de  $11 \times 20 \times 8,8$  mm em uma resolução de pixels de  $0,91 \times 0,91 \times 5,35$   $\mu\text{m}$  ( $12028 \times 22149 \times 1621$  voxels). Foi adquirida em blocos de  $6 \times 10$ , 1621 seções z. O volume de dados é de 1,2 TB (805 GB após a emenda). Dados processados com o software de aquisição de imagens ZEN e arivis Vision4D® em uma plataforma de dados ACQUIFER HIVE.



Amostra cortesia de E. Diel, D. Richardson. Universidade de Harvard, Cambridge, EUA.



# A sua escolha flexível de componentes

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › **O sistema**
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência



## 1 Microscópio

- Sistema de caixa selada independente: proteção de laser, sem oculares, câmara de amostra, suporte de amostra
- Opções de controle de temperatura e incubação (resfriamento e aquecimento)
- Módulo CO<sub>2</sub>

## 2 Objetivas

- Óptica de detecção Lightsheet 7 5×/0,16 foc (água, clareamento  $n = 1,33-1,58$ )
- Óptica de detecção Lightsheet 7 10×/0,5 (imersão em água)
- Óptica de detecção Lightsheet 7 20×/1,0 (imersão em água)

- Clr Plan-Apochromat 20×/1,0 Corr nd=1,38
- Clr Plan-Neofluar 20×/1,0 Corr nd=1,45
- Clr Plan-Neofluar 20×/1,0 Corr nd=1,53
- Óptica de detecção Lightsheet 7 40×/1,0 (imersão em água)

## 3 Iluminação

- Óptica de iluminação Lightsheet 7 5×/0,1 foc
- Óptica de iluminação Lightsheet 7 10×/0,2 foc
- Escolha flexível de linhas laser: 405 nm, 445 nm, 488 nm, 515 nm, 561 nm, 638 nm
- LED de transmissão para posicionamento e visão geral da amostra

## 4 Câmeras

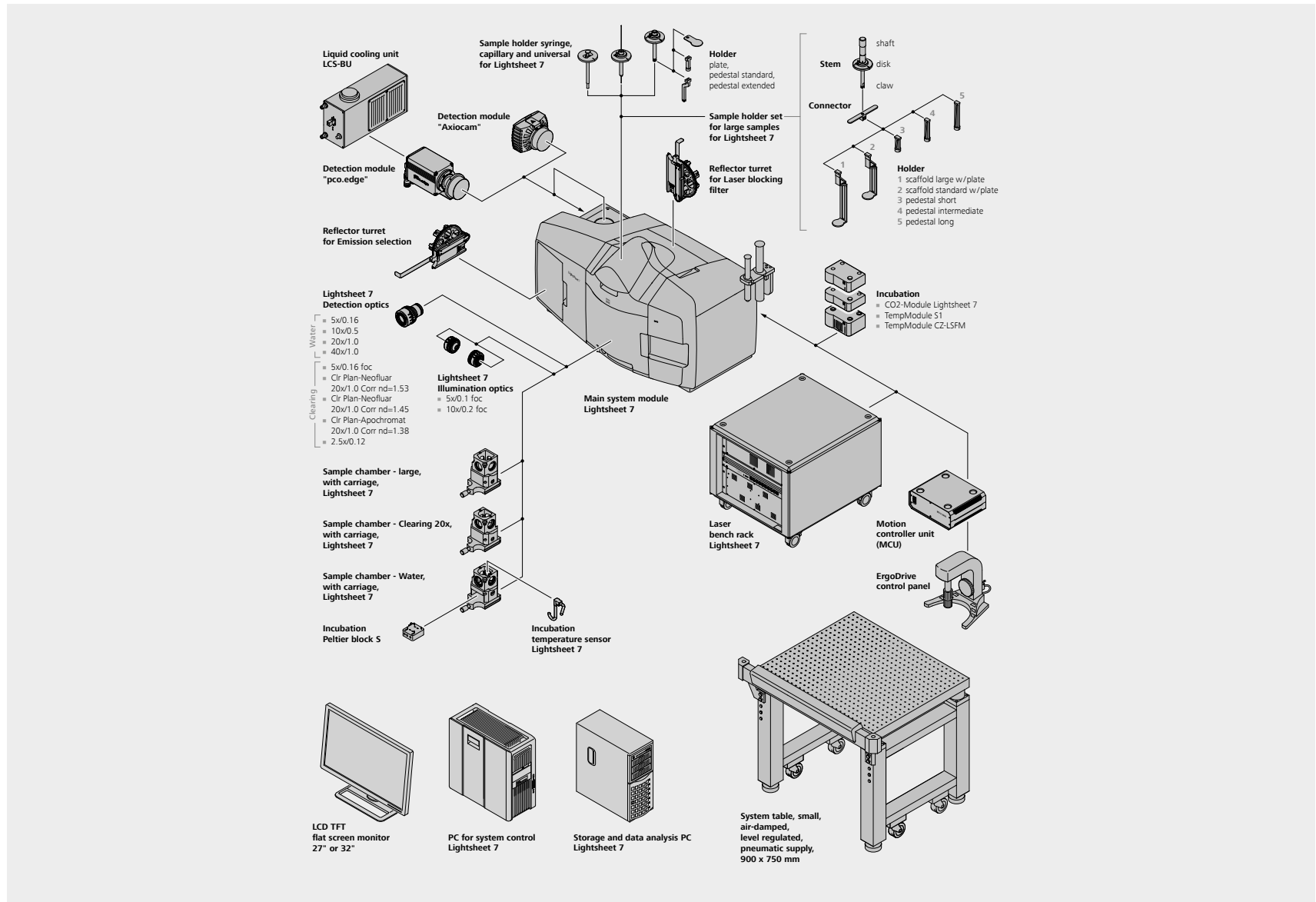
- Módulo de detecção "AxioCam" Lightsheet 7
- Módulo de detecção "pco.edge" Lightsheet 7
- Filtros de emissão e divisores de feixe selecionados

## 5 Software

- ZEN 3.1 LS (black edition) para aquisição de imagens
- ZEN 3.1 (blue edition) para processamento e análise de imagens
- Processamento Multiview Lightsheet 7
- 3DXL
- Deconvolução
- arivis Vision4D®

# ZEISS Lightsheet 7: Visão geral do sistema

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › **O sistema**
- › Tecnologia e detalhes
- › Assistência



# Especificações técnicas

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › O sistema
- › **Tecnologia e detalhes**
- › Assistência

Componente	Descrição
Óptica de iluminação	Óptica de iluminação Lightsheet 7 5x/0,1 foc Óptica de iluminação Lightsheet 7 10x/0,2 foc
Iluminação	LED de transmissão para posicionamento e visão geral da amostra Escolha flexível de linhas laser: 405 nm, 445 nm, 488 nm, 515 nm, 561 nm, 638 nm em vários níveis de potência de saída
Módulos de detecção	Módulo de detecção "Axiocam", Axiocam 702 sCMOS com QE até 78%, 1216 × 1920 pixels, tamanho do pixel 5,86 µm × 5,86 µm Módulo de detecção "pco.edge", pco.edge 4,2 sCMOS com QE até 83%, 1920 × 1920 pixels, tamanho do pixel 6,5 µm × 6,5 µm (refrigeração líquida necessária)
Óptica de detecção	Óptica de detecção Lightsheet 7 5x/0,16 foc (imersão em água, WD = 5,1 mm) Óptica de detecção Lightsheet 7 5x/0,16 foc (meio de clareamento nd= 1,33–1,58, WD = 10,5 mm) Óptica de detecção Lightsheet 7 10x/0,5 (imersão em água, WD = 3,7 mm) Óptica de detecção Lightsheet 7 20x/1,0 (imersão em água, WD = 2,4 mm) Clr Plan-Apochromat 20x/1,0 Corr nd= 1,38 (meio de clareamento, WD = 5,6 mm) Clr Plan-Neofluar 20x/1,0 Corr nd= 1,45 (meio de clareamento, WD = 5,6 mm) Clr Plan-Neofluar 20x/1,0 Corr nd= 1,53 (meio de clareamento, WD = 6,4 mm) Óptica de detecção Lightsheet 7 40x/1,0 (imersão em água, WD = 2,5 mm)
Câmara de amostra, suporte de amostra, consumíveis	Kits de iniciação e todos os acessórios necessários para seus experimentos As seguintes câmaras estão disponíveis: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Câmara de água (n = 1,33) para ser usada com lentes de imersão em água de 5x, 10x, 20x e 40x</li> <li>■ Câmara de compensação 20x (n = 1,35–1,58) para ser usada com lentes de imersão Clr 20x</li> <li>■ Câmara de amostra grande (n = 1,33–1,58) para ser usada com a objetiva 5x foc</li> <li>■ Câmara de translucidez para ser usada com óptica de detecção de 2,5x e 5x*</li> </ul>
Processamento de software	Processamento Multiview Lightsheet 7, fusão de dois lados, emenda 3DXL, arivis Vision4D® Deconvolução
Aquisição de software	Aquisição de imagens multidimensional (tempo, posições, blocos, multivisão) Combinação de multidimensões possível (com exceção de Multiview e Tiling) Compensação semiautomática de z-offset Fusão média e máxima para iluminação lateral dupla e multivisão Compensação de IR para seção óptica e tamanho da imagem

# Especificações técnicas

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › O sistema
- › **Tecnologia e detalhes**
- › Assistência

Componente	Descrição
PC do sistema	Estação de trabalho HP Z6 G4 Chipset: Intel C622 Memória: máx. 192 GB de RAM SSD: 1 x 512 GB M.2 NVMe Discos rígidos: 2x4 TB SATA 7200 rpm (configurado como disco rígido RAID 1 de 4 TB); capacidade aumentada de 4 TB (RAID 1) para 8 TB (RAID 10) Processador: Intel® Xeon® Gold 6134 (3,2 GHz, cache de 24,75 MB, 8 núcleos) Placa gráfica: NVIDIA Quadro P4000 8GB DP Adaptador de rede: 2x10 GbE RJ45 (hp Z6); adaptador de rede adicional 2x10 GbE RJ45 (hp Z6), por exemplo, para conexão de sistemas de armazenamento Sistema operacional: Windows 10 IoT Enterprise 2016 LTSC Embarcado x64
PC de armazenamento e análise de dados	CPU: Intel P XEON E5-2620V3 2,4 GHz LGA2011 L3 15MB Box Placa de vídeo: NVIDIA Quadro P4000 8GB DP ou NVIDIA Quadro P6000 24GB DP Memória: 64 GB (4x16 GB) incluídos, máx. 256 GB de RAM; Slots de memória: 16x slots DIMM Discos rígidos: 6x HDD de 8 TB, RAID 5 configurado para 36 TB de volume de armazenamento de dados; 2x SSD de 240 GB para arquivo de página e sistema operacional Ethernet de 10 Gbit na placa-mãe e cabo de 10 GbE para conexão com o PC para controle do sistema (transferência de dados em alta velocidade) Adaptador de rede: LAN: 2x 10 GbE 5 portas USB 3.0, 4 portas USB 2.0 Sistema operacional: Windows 10
Incubação	Sistema Peltier para Câmara de amostra com sensor de temperatura com controlador TempModule S1 e TempModule CZ-LSFM Módulo CO <sub>2</sub> Controlador de umidade
Trigger	Sinal Trigger-out via conector BNC. Alto nível de 3,3 V (valor nominal do nível alto: >3,2 V <4,0 V, e valor nominal do nível baixo: 0 V ±0,4 V). A resistência mínima de trabalho é de 5 kΩ.

# Especificações técnicas

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › O sistema
- › **Tecnologia e detalhes**
- › Assistência

<b>Microscópio</b>	Sistema de caixa independente, selada, pronto para funcionar, proteção contra laser, sem oculares	
<b>Dimensões físicas</b>	<b>Largura × profundidade × altura aprox.</b>	<b>Peso aprox.</b>
Módulo principal do sistema Lightsheet 7	800 mm × 450 mm × 500 mm	75 kg
Laser rack "LB Rack Lightsheet"	600 mm × 700 mm × 550 mm	80 kg
Mesa para módulo principal Lightsheet 7, nível regulado	900 mm × 750 mm × 770 mm	90 kg
<b>Contraste de transmissão para visão geral</b>	Iluminação LED IR, sem iluminação Köhler, sem especificação para aquisição de imagens de alta qualidade	
<b>Faixa espectral de detecção</b>	400–740 nm	
<b>Porta de câmera dupla para detecção simultânea de 2 canais</b>		
<b>Zoom de detecção</b>	0,36x–2,5x, contínuo	Para aquisição de imagens, recomenda-se a faixa de zoom de 0.7x–2,5x, 0,36x–0,7x apenas para posicionamento de amostras
<b>Campo de visão</b>	123 µm a 3,5 mm	2,8 mm imagem diagonal, 5x lentes de detecção, zoom de 0.7x, para posicionamento de amostras (zoom de 0.36x) >5 mm
<b>Tamanho da amostra incorporada</b>	De <1 µm a 10×10×20 mm	
<b>Montagem da amostra</b>	Câmaras de amostra dedicadas para amostras vivas ou clareadas de até 10 × 10 × 20 mm <sup>3</sup> de tamanho (aproximação: formato elipsoide). Suporte de amostra universal para amostras incorporadas; Suporte de amostra com garra e adaptadores flexíveis para amostras grandes ou clareadas.	
<b>Meios de incubação e imersão</b>	Câmaras de amostra e óptica projetadas para meios aquosos (nd = 1,33) ou meios de clareamento nd = 1,35–1,58 para câmara de amostra Clr 20x; 1,33–1,58 para câmara de amostra grande.	
<b>Espessura da folha de luz</b>	2 µm a aprox. 14 µm	Dependendo da amostra, a 488 nm

# Especificações técnicas

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › O sistema
- › **Tecnologia e detalhes**
- › Assistência

<b>Módulos de detecção</b>	Até dois módulos de detecção do mesmo tipo podem ser conectados à porta de câmera dupla		
<b>Módulo de detecção "Axiocam"</b>	Axiocam 702 mono, sensor Sony MX 174, alinhado em uma montagem em C para otimizar o alinhamento da imagem na porta de câmera dupla		
	Tamanho do pixel	5,86 µm	
	Formato máx. do pixel	1216 x 1920 pixels, (2,3 megapixels)	
	Profundidade de bits	14 bits	
	Taxa de quadros máxima QE de até 78%	100 fps a 1024 x 1024 pixels, no modo z-drive contínuo	
<b>Módulo de detecção "pco.edge"</b>	pco.edge 4.2 CLHS, sensor sCMOS, requer resfriamento líquido, alinhado em uma montagem C especial para alinhamento otimizado da imagem na porta de câmera dupla		
	Tamanho do pixel	6,5 µm	
	Formato máx. do pixel	1920 x 1920 (3,7 megapixels)	
	Profundidade de bits	15 bits	
	Taxa de quadros máxima QE de até 82%	57 fps a 1024 x 1024 pixels, no modo z-drive contínuo	
<b>Taxa de aquisição de dados</b>	Com módulo de armazenamento Lightsheet 7 dedicado	Até 200 Mbyte/s	
<b>Incubação</b>			
<b>Bloco Peltier</b>	Aquecimento e resfriamento da câmara de amostra	10 °C a 42 °C	Aquecimento até 1,5 °C/min, Resfriamento até 1,0 °C/min
<b>Estabilidade da temperatura</b>	±0,1 °C		
<b>Módulo CO<sub>2</sub></b>	Requer abastecimento de CO <sub>2</sub> , concentração ajustável	0% a 10%	

# Especificações técnicas

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › O sistema
- › **Tecnologia e detalhes**
- › Assistência

<b>Posicionamento de amostras</b>	Estágio de coordenadas múltiplas de quatro eixos com motores de passo	Especificações: x/y/z/a
<b>Alcance de deslocamento</b>		10 mm/50 mm/10 mm/360°
<b>Reprodutibilidade (±)</b>		200 nm/650 nm/200 nm/0,1°
<b>Menor incremento</b>		50 nm/1 µm/50 nm/0,05°
<b>Velocidade do motor de rotação</b>		90°/seg
<b>Taxa de deslocamento z máx.</b>		2 mm/seg
<b>Módulo de laser</b>		
<b>Classe de laser</b>	Todos os lasers são de classe 3B	
	O sistema instalado como um todo é de classe de laser 1	
<b>Comprimentos de onda e potência de laser (Potência: pre-Fiber)</b>	405 nm	20 mW ou 50 mW
	445 nm	25 mW
	488 nm	30 mW ou 50 mW
	515 nm	20 mW
	561 nm	20 mW ou 50 mW
	638 nm	75 mW



# Especificações técnicas

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › O sistema
- › **Tecnologia e detalhes**
- › Assistência

Condições ambientais			
<b>Funcionamento</b>	Temperatura ambiente admissível (desempenho especificado)	22 °C ±3 °C	(Constante, se em flutuação, tempo de aquecimento se aplica)
	Temperatura ambiente admissível (desempenho reduzido)	15 °C a 30 °C	
	Umidade do ar relativa admissível (sem condensação)	<65% a 30 °C	
	Altitude máx. do local de instalação	Máx. de 2000 m	
<b>Tempo de aquecimento</b>	60 min	Para alta precisão e/ou medições a longo prazo ≥3 h	
<b>Vibrações</b>	Para funcionamento em conformidade com a Classe de Vibração C. VC-C, amplitude RMS de 12,5 µm/s da faixa de frequência de 8 a 80 Hz (RMS = raiz quadrada média), de acordo com a norma ISO 10811.		
Sistema elétrico e potência			
<b>Tensão de alimentação</b>		220 V CA a 240 V CA (±10%)	100 V CA a 125 V CA (±10%)
<b>Frequência de alimentação</b>		50 a 60 Hz	50 a 60 Hz
<b>Sistema Lightsheet 7</b>	Corrente máxima	Fase 3,5 A única	Fase 8 A única
	Consumo de energia	Máx. de 800 VA	Máx. de 750 VA
<b>PC de análise de dados</b>	Consumo de energia	Máx. de 400 VA	Máx. de 400 VA
<b>Classe de proteção/Tipo de proteção</b>		I/IP 20	
<b>Categoria de sobretensão</b>		II	
<b>Inspeção de compatibilidade eletromagnética</b>		De acordo com DIN EN 61326-1 (10/2006)	
<b>Interferência emitida</b>		De acordo com CISPR 11/DIN EN 55011 (05/2010)	
Perda térmica			
<b>Sistema Lightsheet 7 (incl. lasers e acessórios)</b>		700 W	
<b>PC de análise de dados</b>		350 W	
<b>Patentes que se aplicam ao Lightsheet 7</b>		US6037583, US6392796, US7554725, US7787179, US8214561, EP1576404	



## Conte com uma assistência no verdadeiro sentido da palavra

- › Resumo
- › As vantagens
- › As aplicações
- › O sistema
- › Tecnologia e detalhes
- › **Assistência**

Como o sistema de microscopia da ZEISS é uma das suas ferramentas mais importantes, nós asseguramos que ele esteja sempre pronto para o trabalho. Além disso, garantiremos que você esteja utilizando todas as opções para se beneficiar ao máximo do seu microscópio. Oferecemos uma grande variedade de serviços de assistência técnica, todos realizados por especialistas ZEISS altamente qualificados, que fornecerão um suporte muito além da aquisição do sistema. A nossa meta é proporcionar momentos especiais que inspirem o seu trabalho.

### **Repare. Mantenha. Otimize.**

Obtenha o tempo máximo de atividade com o seu microscópio. O contrato de assistência ZEISS Protect permite prever um orçamento para os custos operacionais, reduzindo dispendiosos períodos de inatividade e garantindo a obtenção dos melhores resultados por meio da melhoria do desempenho do sistema. Escolha entre os acordos de serviço concebidos para proporcionar uma gama de opções e níveis de controle. Trabalharemos com você para selecionar o programa de assistência que atenda às necessidades e requisitos de utilização do seu sistema, de acordo com as práticas padrão da sua organização.

O serviço sob demanda também oferece claras vantagens. A equipe de assistência da ZEISS analisará e resolverá qualquer problema que surja via software de manutenção remota ou no local.

### **Melhore o seu sistema de microscopia.**

O sistema de microscopia da ZEISS foi concebido para suportar diversas atualizações: interfaces abertas permitem manter sempre um elevado nível tecnológico. Como resultado, agora será possível trabalhar com mais eficiência, ampliando o tempo de vida útil produtiva do microscópio, conforme surjam novas possibilidades de atualização.



*Tire proveito do desempenho otimizado do seu sistema de microscopia com a assistência da ZEISS – agora e por muitos anos.*

[www.zeiss.com/microservice](http://www.zeiss.com/microservice)



**Carl Zeiss Microscopy GmbH**  
07745 Jena, Alemanha  
microscopy@zeiss.com  
www.zeiss.com/lightsheet