

Investigar más proteínas en paralelo



ZEISS LSM 990 Spectral Multiplex

Captura de imágenes espectrales de vanguardia para comprender en profundidad la biología espacial

zeiss.com/spectral-multiplex

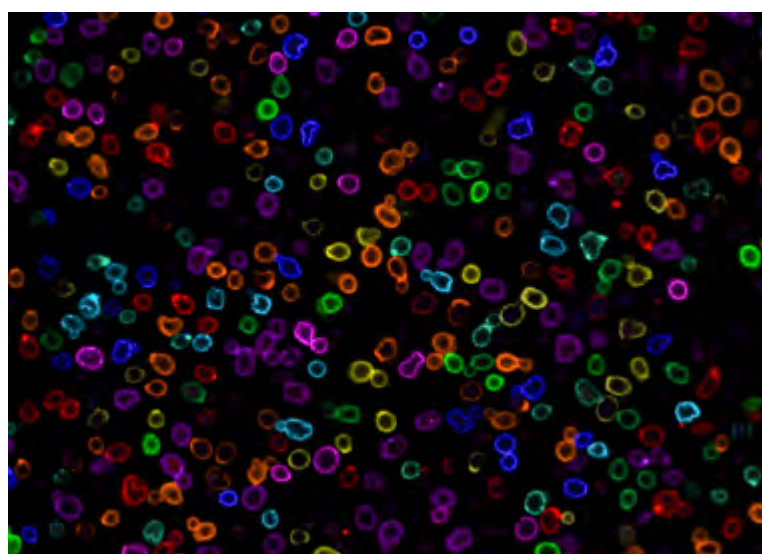


Seeing beyond

ZEISS LSM 990 Spectral Multiplex

Captura de imágenes de multifluorescencia en todo el rango de longitudes de onda





LSM 990 Spectral Multiplex destaca en la separación espectral de marcadores fluorescentes. Optimice sus experimentos avanzados de multiplexación espectral con un gran número de marcadores de proteínas y una clara separación de las señales de fluorescencia, al tiempo que elimina de forma fiable la autofluorescencia. Aumente su productividad con un sistema que proporciona unas condiciones óptimas para la captura de imágenes, la identificación inmediata del colorante y unos flujos de trabajo optimizados desde la adquisición hasta el análisis.



Multiplexación espectral avanzada de las paredes celulares de células de levadura en ciernes (Saccharomyces cerevisiae): 13 marcadores más autofluorescencia adquiridos en una vía con 5 láseres y 36 detectores; imagen segregada de los 13 marcadores sin fluorescencia. Muestra cortesía de Michal Skruzny, ZEISS Microscopy GmbH

Una de las ventajas de la captura de imágenes confocal es la capacidad de capturar varios canales al mismo tiempo. La captura de imágenes espectrales tiene una gran relevancia en diversas aplicaciones, especialmente en la investigación del cáncer mediante ensayos de multiplexación espectral de biomarcadores del cáncer y fenotipado espacial general.

El LSM 990 Spectral Multiplex resulta la mejor opción si sus experimentos requieren la separación espectral de marcadores fluorescentes, desde la simple captura de imágenes de múltiples marcadores hasta las configuraciones avanzadas de multiplexación espectral. La flexibilidad de longitudes de onda, el tratamiento delicado de las muestras y los flujos de trabajo eficientes se combinan en un solo sistema. Optimice sus experimentos de LSM con más marcadores de proteínas y una clara separación de las señales de fluorescencia, al tiempo que elimina de forma fiable la autofluorescencia.

-  **Multiplexación espectral eficiente**
Obtenga toda la información espectral en un solo escaneo de imagen.
-  **Diseño para experimentos fácil de usar**
Personalice sus experimentos espectrales con facilidad.
-  **Segregación espectral en tiempo real**
Separe sus marcadores fluorescentes de forma rápida y fiable.
-  **Automatización del flujo de trabajo más allá de la captura de imágenes**
Aumente su productividad optimizando los experimentos polifacéticos.

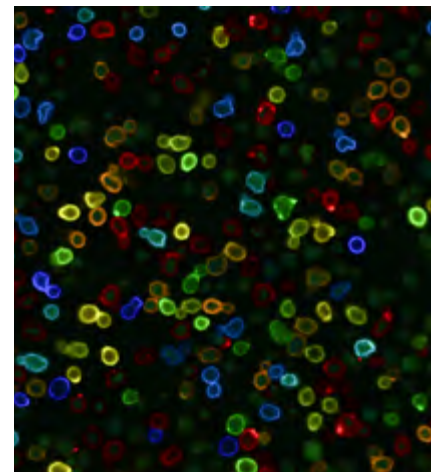
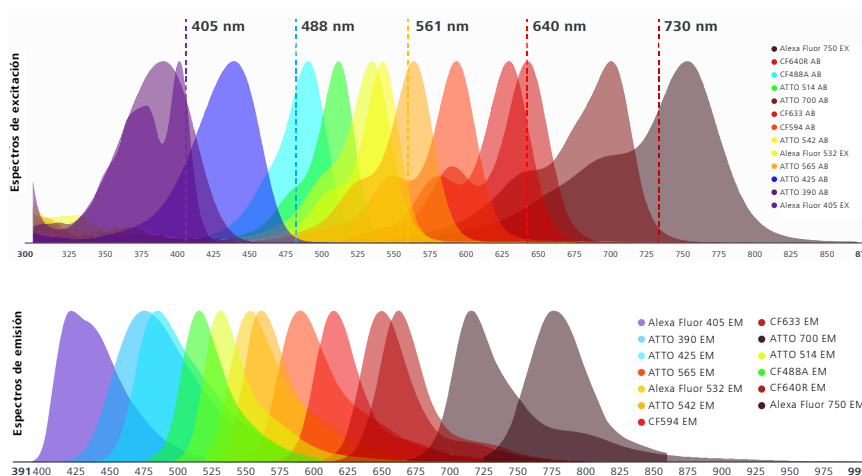
Para utilizar una amplia gama de colorantes en un solo experimento, seleccione libremente los marcadores fluorescentes desde 380 nm hasta el rango del infrarrojo cercano a 900 nm. Emplee 36 detectores para analizar más de diez marcadores en un solo escaneo. Deje que el sistema le ayude a determinar los ajustes de excitación óptimos y a seleccionar los detectores con la mejor eficiencia cuántica para el rango espectral que desee. Realizar la separación sobre la marcha de todos los colorantes para su identificación inmediata ahorra tiempo y tamaño de los datos, lo que resulta especialmente beneficioso para las aplicaciones rutinarias y los procesos de cribado.

Multiplexación espectral eficiente

Información espectral de 380 a 900 nm
tomada en un solo escaneo

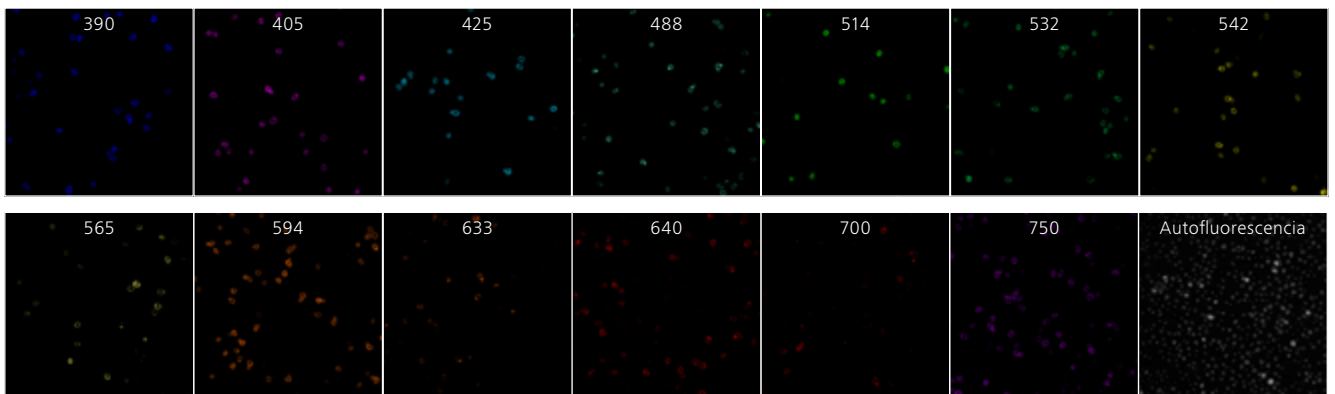
LSM 990 Spectral Multiplex ofrece una productividad incomparable para sus complicados experimentos de captura de imágenes espectrales, ya que cubre un rango de longitudes de onda de 380 a 900 nm. Las opciones de diseño inteligente de la trayectoria del haz eliminan las concesiones relacionadas con la separación espectral, la sensibilidad, la velocidad, la relación señal-ruido y la resolución. Con la adquisición directa por la vía lambda, puede separar simultáneamente diez o más marcadores individuales. La captura de todos los espectros en un solo escaneo permite separar al instante y visualizar en tiempo real los canales resultantes. De este modo podrá identificar un gran número de marcadores en muy poco tiempo, lo cual resulta útil cuando se necesita una mayor resolución espacial o para capturar imágenes de grandes volúmenes o muestras vivas. Las señales no deseadas, como la autofluorescencia, pueden eliminarse fácilmente sin suprimir de forma inadvertida la verdadera señal de las proteínas diana. Toda la información lambda se conserva y los espectros se muestran en gráficos fáciles de leer que le ayudarán a determinar si está capturando los marcadores fluorescentes esperados.

Multiplexación espectral avanzada de células de levadura: 13 colores más autofluorescencia adquiridos a la vez



Los 13 espectros y el espectro de autofluorescencia se definieron en muestras marcadas con 4 colorantes para permitir la separación espectral y obtener espectros limpios. 5 líneas láser y espectros de excitación (panel superior), espectros de emisión (panel inferior)

Imagen espectral (lambda stack) de 13 marcadores adquiridos simultáneamente, representación en color real



Marcadores únicos segregados y autofluorescencia

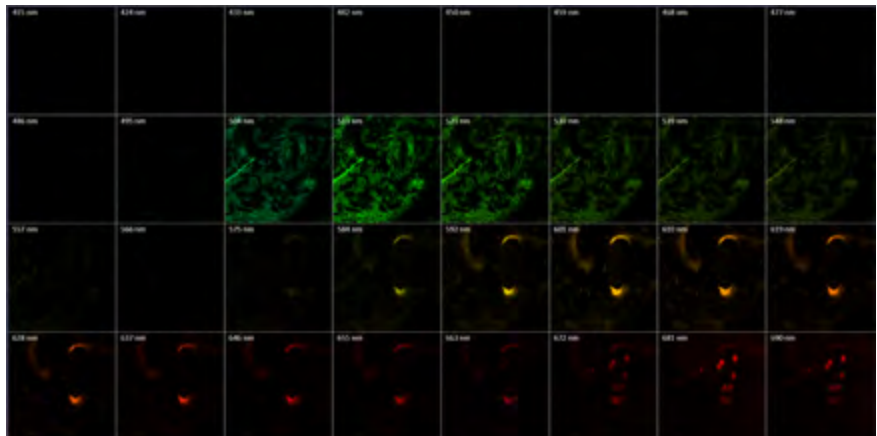
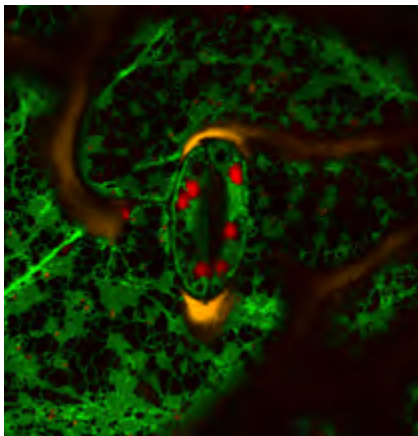
Muestra cortesía de Michal Skruzny, ZEISS Microscopy GmbH

Diseño para experimentos fácil de usar

Domine fácilmente la captura de imágenes espectrales personalizada

Al iniciar un experimento multicolor, Smart Setup ofrece datos de excitación y emisión para una gran variedad de fluoróforos. Adapte todo el sistema a sus necesidades con un solo clic eligiendo entre las opciones de configuración para lograr una separación espectral óptima, la máxima velocidad o el oportuno equilibrio. También puede seleccionar sin complicaciones el modo Lambda Scan para capturar todas las señales relevantes del rango espectral deseado en un solo barrido. Podrá guardar todos los ajustes experimentales y acceder a ellos fácilmente desde ZEN, lo que facilitará una utilización más rápida de las configuraciones personales de los experimentos. Integre la función LSM Plus para garantizar una relación señal-ruido óptima y una resolución espacial mejorada sin ralentizar su experimento.

Separación directa de GFP y RFP de la autofluorescencia en *Arabidopsis*

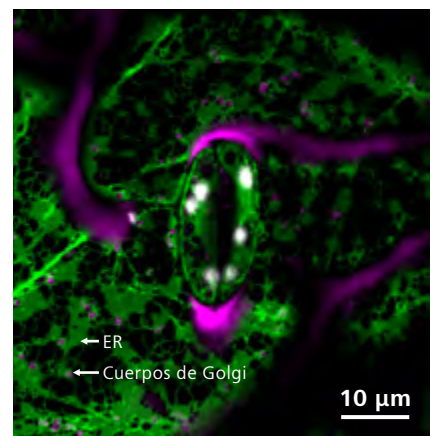
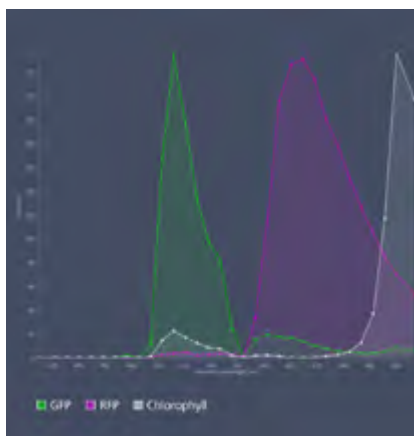


Hoja de *Arabidopsis* con expresión de GFP-HDEL (que marca el retículo endoplásmico) y ST-mRFP (que marca los cuerpos de Golgi).

Arriba a la izquierda: El lambda stack de 32 canales espectrales adquirido simultáneamente muestra claramente el rango de color espectral de cada píxel.

Arriba a la derecha: Canales individuales del lambda stack de 411 a 740 nm.

Abajo a la izquierda: Los espectros de GFP (verde), mRFP (rosa) y autofluorescencia de clorofila (blanco) definidos a partir del lambda stack permiten distinguir inmediatamente los diferentes marcadores y la autofluorescencia en la imagen, incluso durante la captura de imágenes, y separarlos.



Abajo a la derecha: Imagen segregada y procesada con LSM plus (verde: GFP/ER, rosa: mRFP/cuerpos de Golgi, blanco: clorofila).

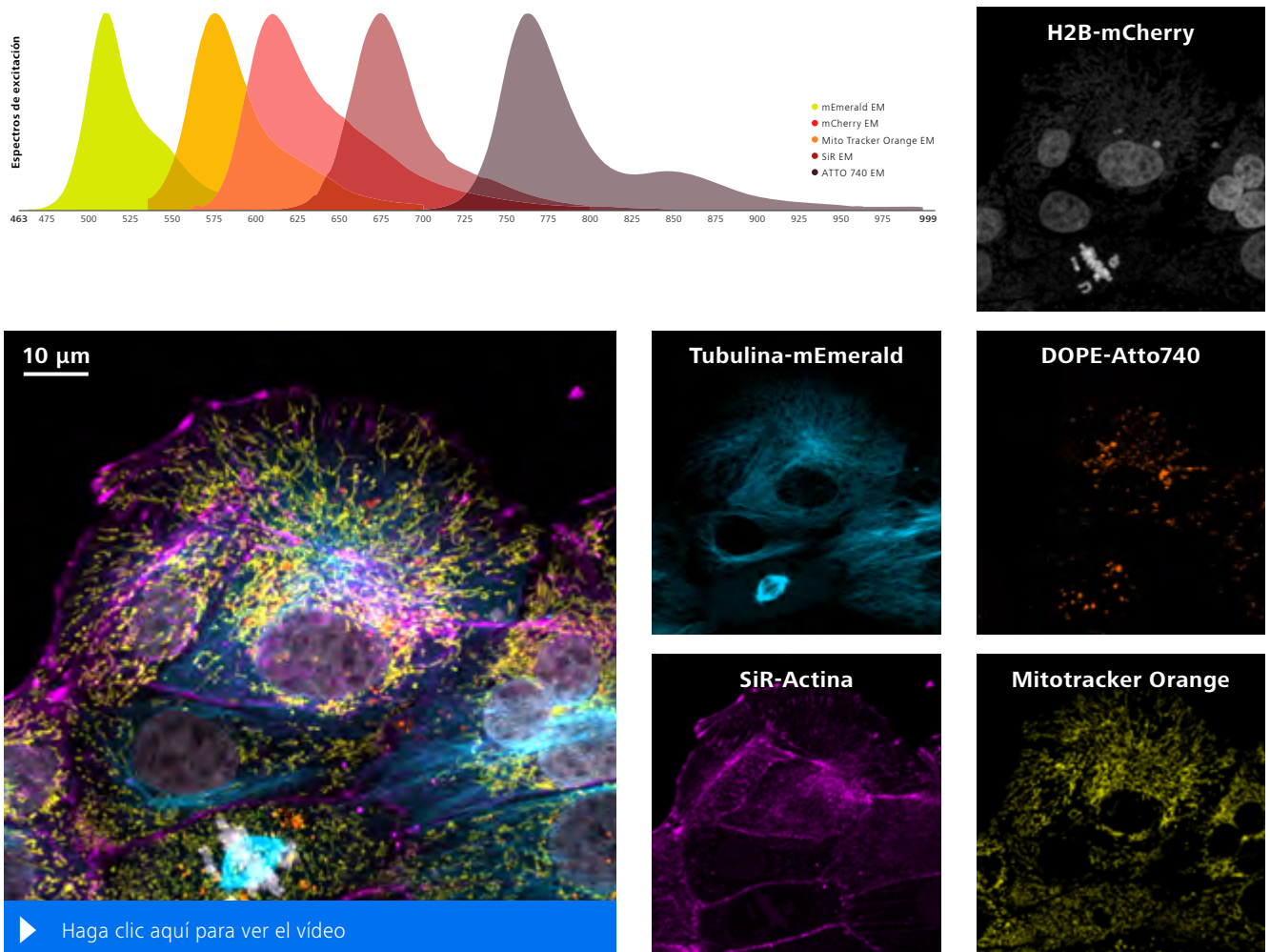
Muestra cortesía de Verna Kriechbaumer, Oxford Brookes University, Reino Unido

Segregación espectral en tiempo real

Separación fiable de señales fluorescentes

La opción de segregación espectral está siempre disponible cuando se capturan imágenes de varios canales o se utiliza el modo lambda. Los espectros guardados previamente pueden recuperarse de una base de datos local y, junto a esta información, se almacenan y muestran todos los ajustes importantes de la captura de imágenes. Es posible seleccionar a mano los píxeles con información espectral de la imagen recién adquirida, o utilizar la función integrada de extracción automática de componentes para identificar dichos píxeles. Estas fuentes de información pueden combinarse en un proceso de segregación lineal. Las imágenes multicanal resultantes pueden someterse a validación y control de calidad, y es posible guardar un canal «residual» opcional junto a los datos originales para llevar un registro perfecto del experimento. Realice la segregación lineal sobre la marcha a la vez que captura la información espectral en escaneos únicos a través del Online Fingerprinting (identificación dactilar en línea), y obtenga inmediatamente señales separadas, lo que resulta ideal para grandes volúmenes y para el cribado de combinaciones específicas de marcadores fluorescentes.

Huella digital en línea de células vivas de 5 colores de células epiteliales de riñón de cerdo



Células LLC-PK1 (línea celular epitelial de riñón de cerdo) que expresan Tubulina-mEmerald (tubulina, cian) y H2B-mCherry (ADN unido a histonas, blanco), marcadas adicionalmente con Mitotracker Orange (mitocondrias, amarillo), SiR-Actina (actina, rosa) y DOPE-ATTO 740 (vesículas, naranja).

Arriba: Espectros de excitación de los 5 marcadores

Izquierda: Captura de imágenes de células vivas (cámara rápida) con 5 colores capturadas simultáneamente y segregadas en tiempo real utilizando huella digital en línea, procesada con LSM Plus

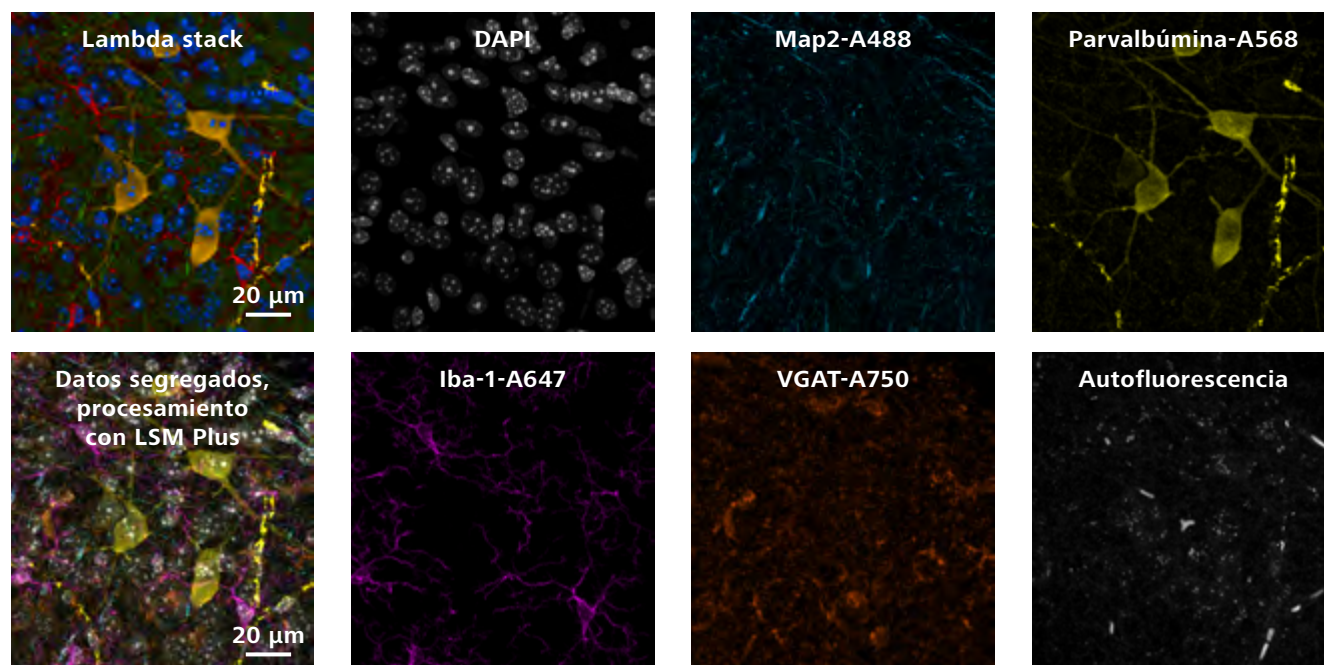
Derecha: Marcadores únicos segregados

Automatización del flujo de trabajo más allá de la captura de imágenes

Mayor productividad con experimentos polifacéticos optimizados

Combine todos los métodos de obtención de datos espectrales disponibles, incluidos los escaneos lambda, la segregación lineal y LSM Plus para mejorar la relación señal-ruido (SNR), en un único pipeline de procesamiento que ejecute todos los pasos de los experimentos multidimensionales. Los flujos de trabajo automatizados para la multiplexación espectral que implican múltiples rondas de tinción y captura de imágenes pueden simplificarse con sistemas automatizados de suministro de líquidos. Las rondas individuales de tinción, captura de imágenes, blanqueamiento y stripping pueden organizarse dentro de ZEN*. Transfiera los datos resultantes a ZEISS arivis pro para el registro en 3D de los datos de multiplexación espectral, la segmentación de objetos AI o los análisis estadísticos, como los análisis de vecindad de células y de reducción de dimensionalidad.

Sección de cerebro de ratón: flujo de trabajo de multiplexación espectral desde la detección de muestras hasta el procesamiento de datos de imágenes



Cerebro de ratón fijado, secciones de 40 µm de grosor. DAPI (núcleos), MAP2-A488 (dendritas y cuerpos neuronales), Parvalbumin-A568 (subtipo de interneurona inhibitoria/GABAérgica), Iba1-A647 (microglía, las células inmunitarias residentes en el cerebro), VGAT-750 (terminales presinápticas de interneuronas inhibitorias/GABAérgicas)

La vista general se capturó con ZEISS AI Sample Finder, y luego se añadieron vistas generales de las secciones utilizando un objetivo de 10x, una Axiocam 705 e iluminación LED. Los escaneos detallados se obtuvieron utilizando el objetivo Plan-Apochromat 63x/1.4 aceite. Se configuró un Lambda scan utilizando los 405, 488, 561, 639 y 730 nm, con 35 detectores que cubren el espectro de 411 a 900 nm. Para segregar las imágenes se utilizaron los espectros de los 5 marcadores, más un espectro de autofluorescencia del tejido obtenido a partir de tinciones individuales. Las imágenes se procesaron con LSM Plus.

Muestra por cortesía de Luisa Cortes, Centro de Microscopia de Imagem de Coimbra, CNC, Universidad de Coimbra, Portugal

* Disponible bajo petición

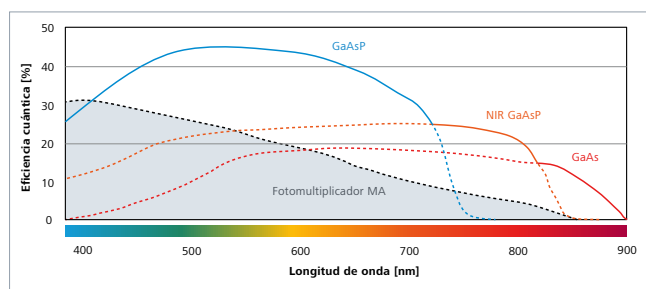
Sistema optimizado para la eficiencia lumínica

Descubra la tecnología que hay detrás

Para conseguir una captura de imágenes delicada y óptima con múltiples marcadores, es fundamental que todos los componentes del sistema de captura de imágenes funcionen conjuntamente para maximizar la transmisión de la luz de emisión. LSM 990 Spectral Multiplex incluye una configuración del detector y un diseño de la trayectoria del haz que le permiten conservar la valiosa señal e ir más allá de la captura de imágenes multicolor convencional.

Trayectoria del haz

Si necesita disponer de la flexibilidad necesaria para registrar dos marcadores simultáneamente o realizar un sofisticado experimento de multiplexación espectral, el proceso comienza con los divisores de haces principales (MBS) de ángulo bajo que garantizan una separación limpia de la luz de excitación láser de las señales de emisión, lo que permite aprovechar al máximo la luz de emisión sin pérdida de señal. El acoplamiento láser de ZEISS LSM 990 está diseñado para adaptarse a un amplio rango de longitudes de onda de excitación de 405 nm a 730 nm, e incluye además la opción de excitación multifotónica a través de dos vías independientes ajustadas a la longitud de onda y ópticas de colimación adicionales. Todos los elementos ópticos de la trayectoria del haz de emisión están diseñados para lograr una transmisión óptima del rango espectral de emisión de 380 nm a 900 nm, guiando la luz a través de un pinhole apocromático, controlado por bisagras de estado sólido sin desgaste. Una rejilla holográfica garantiza la separación espectral lineal de toda la señal de emisión. Esto es fundamental, ya que garantiza que los 32 canales del detector capten la misma anchura espectral, proporcionando una resolución espectral constante de 10 nm para una segregación espectral eficaz y una definición precisa del rango de detección.



Eficiencia cuántica (QE) espectral habitual de los detectores ZEISS LSM 990



Trayectoria del haz de LSM 990

Detectores

LSM 990 Spectral Multiplex puede equiparse con un detector GaAsP de 32 canales, que se complementa con dos detectores laterales y dos detectores NIR GaAs y GaAsP opcionales. Esta configuración única proporciona el mayor número de detectores disponible en los sistemas LSM. Los detectores están situados estratégicamente dentro del diseño del cabezal de escaneo para maximizar la eficiencia cuántica y garantizar una conversión óptima de la luz en señales electrónicas para las longitudes de onda de emisión pertinentes. Todos los detectores están linealizados para garantizar datos cuantificables. Todos los detectores están calibrados entre sí, lo que permite que las señales espectrales se visualicen de forma coherente con las bases de datos espectrales. Esta función simplifica la identificación de los espectros de fluoróforos y la validación de los datos.

ZEISS LSM 990

Explore opciones adicionales para su captura de imágenes multimodal



ZEISS LSM 990

Libertad para explorar

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

→ zeiss.com/lsm-990



Carl Zeiss Microscopy GmbH

07745 Jena, Alemania

microscopy@zeiss.com

www.zeiss.com/spectral-multiplex

Síguenos en redes sociales:

