

# DECONVOLUCIÓN

- Podéis encontrar información completa sobre el programa de deconvolución “Huygens” (S.V.I.) en la página Web:

<http://www.cbm.uam.es/joomla-rl/index.php/es/component/content/article?id=1358>

<https://svi.nl/HuygensDeconvolution>

- En caso de querer realizar cálculos para otras configuraciones distintas a la de las siguientes tablas, acudir a la página Web:

<http://support.svi.nl/wiki/OnLineTools>

<http://www.svi.nl/NyquistCalculator>

-Para más detalles sobre las posibilidades de este programa: <http://support.svi.nl/wiki/>

## ***“Exceptions in practice***

*While sampling at the Nyquist rate is a very good idea, it is in many practical situations hard to attain. In these cases larger sampling distances may be used and a good job can still be done when [deconvolving](#) these images. For [Confocal Microscope](#) images, sampling distances may be up to 1.7 times the Nyquist ones. When large [pinholes](#) are used, up to 2 times larger even. [Widefield microscopy](#) data is more sensitive to undersampling, so it is better to stay below a factor of 1.5. In case of low [Numerical Apertures](#), like 0.4, we recommend not to undersample in the axial direction.*

*Hint: If you have a data stack that is dramatically undersampled in Z (not fulfilling the [Nyquist Criterion](#) by a large factor) you can better interpret the different planes as independent images (i.e. as 2D images) and do 2D deconvolution in the Huygens Software planewise. See [Convert the Data Set](#).*

*You can use the PSF calculator option in the form to see the expected size of the PSF of your imaging setup and accordingly, of a distilled [Experimental PSF](#) from [bead images](#).”*

<https://svi.nl/NyquistCalculator>

## Confocal Nikon

- ✓ Guardad las imágenes en **formato .nd2** y el **archivo** con la **información** de adquisición de la imagen.
- ✓ Posteriormente en *Huygens* tendréis que introducir a mano los valores del “*back projected pinhole*” que se calcula a partir de la apertura física (en micras) del pinhole, en la siguiente dirección: [https://svi.nl/Nikon\\_TiE\\_AIR](https://svi.nl/Nikon_TiE_AIR)

## Confocales Zeiss LSM510 & LSM710

- ✓ Guardad las imágenes en **formato .lsm**.

## Confocal Zeiss LSM800

- ✓ Guardad las imágenes en **formato .dzi**
- ✓ Posteriormente en *Huygens* tendréis que introducir el valor de excitación y emisión de cada canal.

## Microscopios “ WideField ” Zeiss

- ✓ Guardad las imágenes en **formato .stk**

## Confocal LSM510 META (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>25X (0,8)</b> <b>(Oil)</b>	CFP	458	480	0,8	71	501
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	76	534
	YFP	514	535	0,8	80	562
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	84	594
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	84	594
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	637	660	0,8	99	697
<b>40X (1,3)</b> <b>(Oil)</b>	CFP	458	480	0,8	44	155
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	46	165
	YFP	514	535	0,8	49	174
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	52	184
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	52	216
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	637	660	0,8	61	122
<b>63X (1,4)</b> <b>(Oil)</b>	CFP	458	480	0,8	40	130
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	43	137
	YFP	514	535	0,8	45	145
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	48	145
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	48	149
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	637	660	0,8	56	170

## Confocal LSM510 INVERTIDO O VERTICAL (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>25X (0,8)</b> <b>(Oil)</b>	CFP	458	480	0,8	71	501
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	76	534
	YFP	514	535	0,8	80	562
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	84	594
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	84	594
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	98	692
<b>40X (1,3)</b> <b>(Oil)</b>	CFP	458	480	0,8	44	155
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	46	165
	YFP	514	535	0,8	49	174
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	52	184
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	52	184
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	60	214

## Confocal LSM510 INVERTIDO O VERTICAL (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>63X (1,4)</b> <b>(Oil)</b>	CFP	458	480	0,8	40	122
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	43	130
	YFP	514	535	0,8	45	137
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	48	145
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	48	145
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	56	169
<b>100X (1,3)</b> <b>(Oil)</b>	CFP	458	480	0,8	44	155
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	46	165
	YFP	514	535	0,8	49	174
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	52	184
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	52	184
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	60	214

## Confocal LSM710 VERTICAL (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>25X (0,8)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	61	443
	CFP	458	480	0,8	71	501
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	76	534
	YFP	514	535	0,8	80	562
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	84	594
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	84	594
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	98	692
<b>40X (1,3)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	38	137
	CFP	458	480	0,8	44	155
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	46	165
	YFP	514	535	0,8	49	174
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	52	184
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	52	184
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	61	214

## Confocal LSM710 VERTICAL (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>63X (1,4)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	36	108
	CFP	458	480	0,8	40	122
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	43	130
	YFP	514	535	0,8	45	137
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	48	145
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	48	145
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	56	169
<b>100X (1,4)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	36	108
	CFP	458	480	0,8	40	122
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	43	130
	YFP	514	535	0,8	45	137
	Alexa 546/ Alexa 555	543	580	0,8	48	145
	Texas-Red/ Alexa594	543	620	0,8	48	149
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	637	660	0,8	56	169

## Confocal LSM800 INVERTIDO (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>20X (0,8)</b> (Air)	Dapi	405	461	0,8	63	253
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	76	305
	Alexa 555/ Alexa594	561	620	0,8	87	350
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	640	660	0,8	100	400
<b>25X (0,8)</b> (Oil)	Dapi	405	461	0,8	63	443
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	76	534
	Alexa 555/ Alexa594	561	620	0,8	87	613
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	640	660	0,8	100	700
<b>40X (1,3)</b> (Oil)	Dapi	405	461	0,8	38	137
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	46	165
	Texas-Red/ Alexa594	561	620	0,8	53	190
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	640	660	0,8	61	217
<b>63X (1,4)</b> (Oil)	Dapi	405	461	0,8	36	108
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	43	130
	Texas-Red/ Alexa594	561	620	0,8	50	149
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	640	660	0,8	57	170



# MULTIFOTÓN (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>25X (0,8)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	61	443
	CFP	458	480	0,8	71	501
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	76	534
	YFP	514	535	0,8	80	562
	Alexa 546/ Alexa 555	561	580	0,8	87	613
	Texas-Red/ Alexa594	561	620	0,8	87	613
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	98	692
<b>40X (1,3)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	38	137
	CFP	458	480	0,8	44	155
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	46	165
	YFP	514	535	0,8	49	174
	Alexa 546/ Alexa 555	561	580	0,8	53	190
	Texas-Red/ Alexa594	561	620	0,8	53	190
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	60	214

# MULTIFOTÓN (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>63X (1,4)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	36	108
	CFP	458	480	0,8	40	122
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	43	130
	YFP	514	535	0,8	45	137
	Alexa 546/ Alexa 555	561	580	0,8	50	149
	Texas-Red/ Alexa594	561	620	0,8	50	149
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	0,8	56	169
<b>100X (1,4)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	405	461	0,8	36	108
	CFP	458	480	0,8	40	122
	GFP/ Alexa 488	488	525	0,8	43	130
	YFP	514	535	0,8	45	137
	Alexa 546/ Alexa 555	561	580	0,8	50	149
	Texas-Red/ Alexa594	561	620	0,8	50	149
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	637	660	0,8	56	169

## Confocal Nikon A1R+ in vivo (NIKON)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>20X (0,75)</b> <b>(Air)</b>	Dapi	402	450	1	67	296
	CFP	442	482	1	73	326
	GFP/ Alexa 488	488	525	1	81	330
	YFP	514	540	1	85	379
	Alexa 546/555/594	561	595	1	93	414
	Cy5	640	700	1	106	472
<b>20X (0,75)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	402	450	1	67	505
	CFP	442	482	1	73	556
	GFP/ Alexa 488	488	525	1	81	614
	YFP	514	540	1	85	646
	Alexa 546/555/594	561	595	1	93	705
	Cy5	640	700	1	106	805
<b>40X (1,3)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	402	450	1	38	136
	CFP	442	482	1	42	149
	GFP/ Alexa 488	488	525	1	46	135
	YFP	514	540	1	49	174
	Alexa 546/555/594	561	595	1	53	190
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	640	700	1	61	217

## Confocal Nikon A1R+ in vivo (NIKON)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Pinhole (Airy Units)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>60X (1,4)</b> <b>(Oil)</b>	Dapi	402	450	1	35	107
	CFP	442	482	1	39	118
	GFP/ Alexa 488	488	525	1	43	130
	YFP	514	540	1	45	137
	Alexa 546/555/594	561	595	1	50	149
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	640	700	1	57	170
<b>60X (1,2)</b> <b>(Water)</b>	Dapi	402	450	1	41	134
	CFP	442	482	1	46	148
	GFP/ Alexa 488	488	525	1	52	163
	YFP	514	540	1	53	172
	Alexa 546/555/594	561	595	1	58	187
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	640	700	1	66	214

# F.R.E.T. (ZEISS)

Objetivo (Numerical Aperture)	Fluoróforo	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Tamaño Píxel XY (nm)	Secciones Step (nm)
<b>40X (1,3)</b>	Dapi	359	461	88	312
	CFP	436	480	92	325
	GFP/ Alexa 488	490	525	100	356
	YFP	500	535	102	362
	Rodamina/ DsRed/ Alexa 546/555/594	540	580	111	393
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	126	447
<b>63X (1,4)</b>	Dapi	359	461	82	246
	CFP	436	480	85	256
	GFP/ Alexa 488	490	525	92	277
	YFP	500	535	95	285
	Rodamina/ DsRed/ Alexa 546/555/594	540	580	103	309
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	117	352
<b>100X (1,4)</b>	Dapi	359	461	79	214
	CFP	436	480	82	223
	GFP/ Alexa 488	490	525	90	243
	YFP	500	535	92	248
	Rodamina/ DsRed/ Alexa 546/555/594	540	580	100	269
	To-Pro3/ Cy5/ Alexa647	633	660	113	306