

LIFE SCIENCE

FLUOVIEW FV4000

共焦点レーザー走査型顕微鏡

Transforming Precision Imaging



EVIDENT

共焦点イメージングを次の次元へ

共焦点レーザー走査型顕微鏡FLUOVIEW™ FV4000がイメージングを変革します。

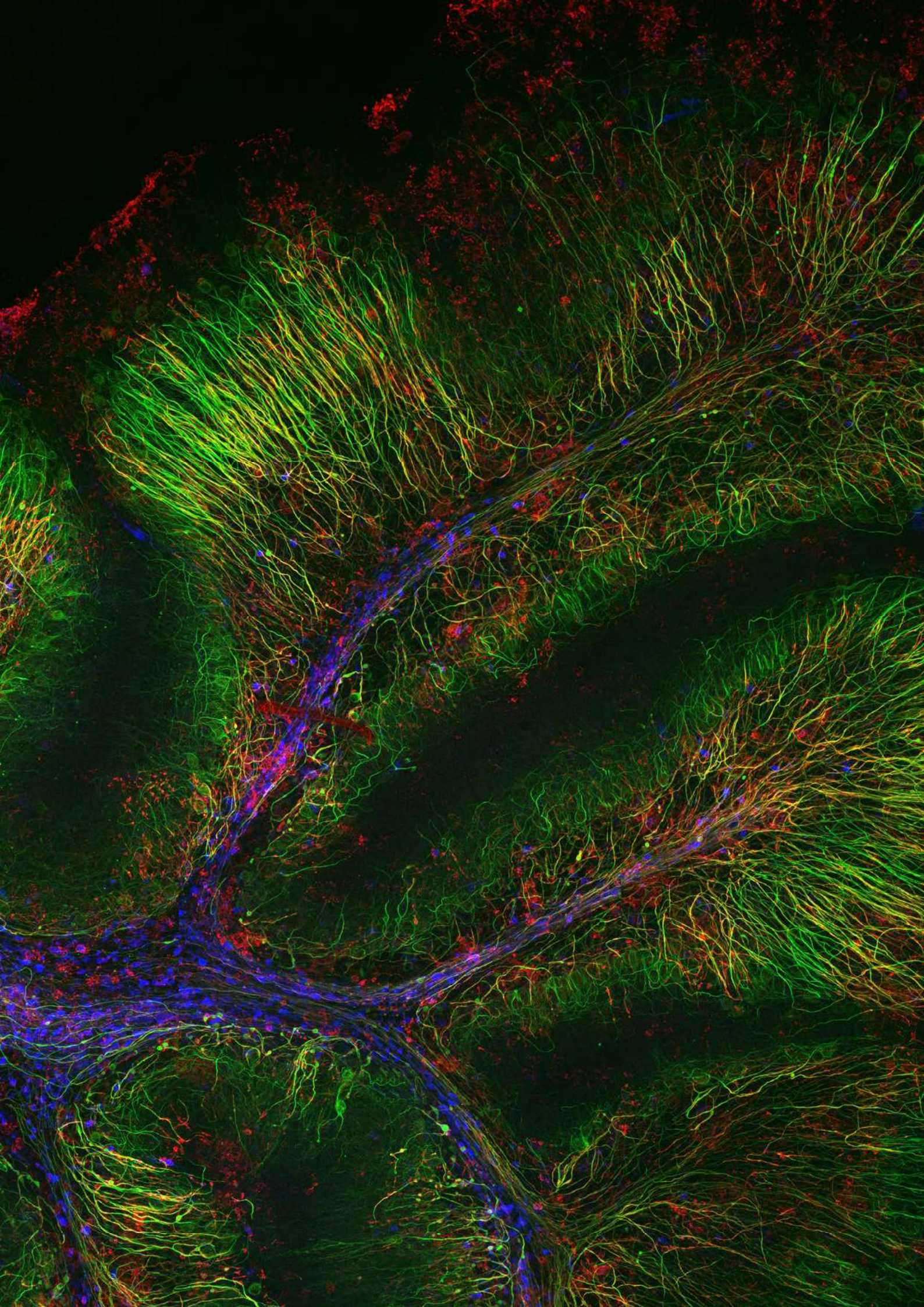
先進的イメージング技術が、より高精度な画像取得を可能にし、研究者にさらに信頼性の高いデータを提供します。エビデントが開発した革新的なSiVIR™ディテクターは、非常に低ノイズ・高感度なため、フォトン数で画像を定量化できます。共焦点レーザー走査型顕微鏡FLUOVIEW FV4000は、簡単に効率よく、高品質で定量的な画像データを可能にします。

FV4000は多くのイノベーションを提供します。

- 革新的なダイナミックレンジで個体/組織レベルから細胞内微小構造のレベルまでマルチスケールのイメージング
- TruSpectral分光検出器による、最大6CHのマルチプレックスイメージング
- 固定細胞/生細胞のイメージングのために改良された高速・高解像度スキャナー
- より深部まで、高感度でイメージングが可能な先駆的NIR蛍光イメージング
- SiVIRディテクター™により信頼性が高く、再現性が高い画像データを安心して取得
- 405nmから785nmにわたり業界最大*の最大10本のレーザーを搭載可能

*2023年10月時点、当社調べによる。

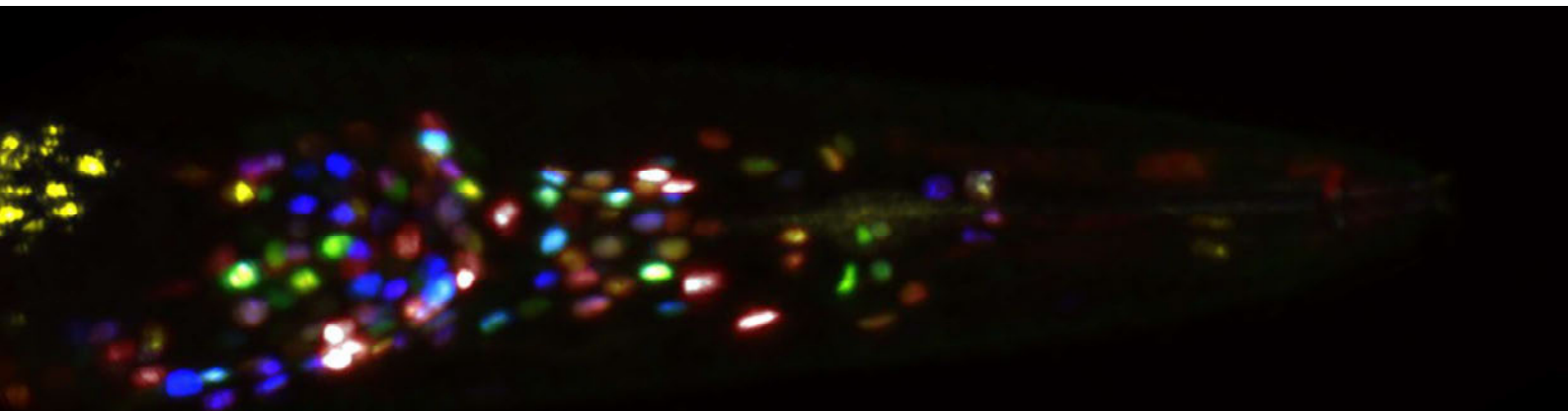
Neurofilament-heavy chain (NFH) in green, myelin basic protein (MBP) in red, glutathione S-transferase pi 1 (GSTpi) in blue. Mouse cerebellum captured with a UPLXAPO40X objective. Sample courtesy of Katherine Given, Ph.D. Principal Investigator, Neurobiology University of Colorado Anschutz Medical Campus, Aurora, Colorado.



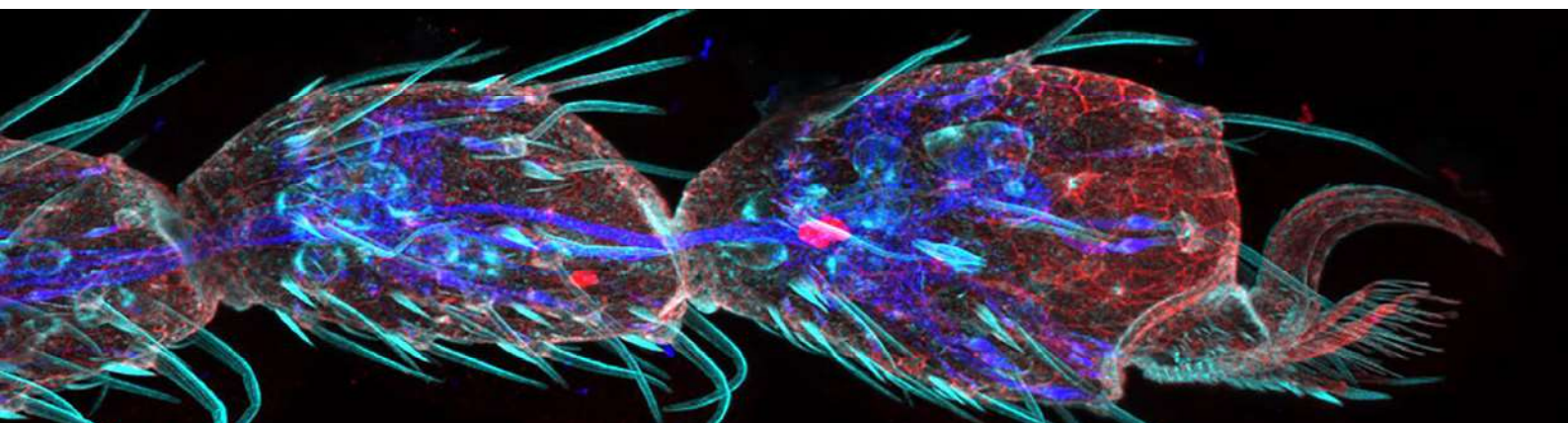
低ノイズで定量的な画像を取得



革新的なSiVIRディテクターを新たに搭載し、低ノイズで定量性の高い画像の取得が可能です。



NeuroPAL (OH15495) 株とGCaMP株を掛け合わせた線虫のマルチカラー画像。NeuroPAL (OH15495) は、Eviatar Yemini と Oliver Hobertによって作られた。標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生: 名古屋市立大学大学院理学研究科 木村 幸太郎先生、理研白眉研究チーム 多感覚統合神経回路 武石 明佳先生



キイロショウジョウバエ(蛹化42時間)の脚先端部のファロイジン(Alexa405、Fアクチン、シアン)、抗リン酸化チロシン抗体(Alexa555、細胞表面、赤)抗HRP抗体(Alexa647、神経軸索、青)による蛍光染色像。

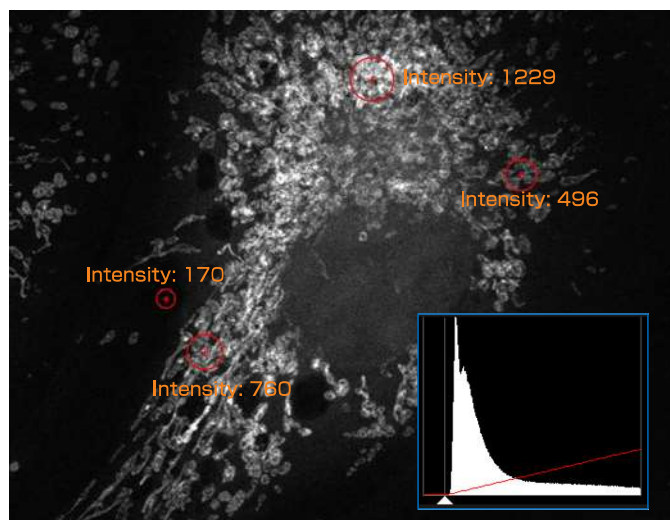
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生: 理化学研究所生命機能科学研究センター 形態形成シグナル研究チーム 孫 正寛様、林 茂生先生

革新的な画像定量化

SiVIRディテクターにより、信頼性の高いデータ取得を実現します。従来は、蛍光強度を表す単位が存在しなかったのですが、取得された画像の蛍光強度の絶対値を光子数として算出することができます。また、ダイナミックレンジが広いため、高輝度領域であっても蛍光輝度を光子数として定量化することが可能です。

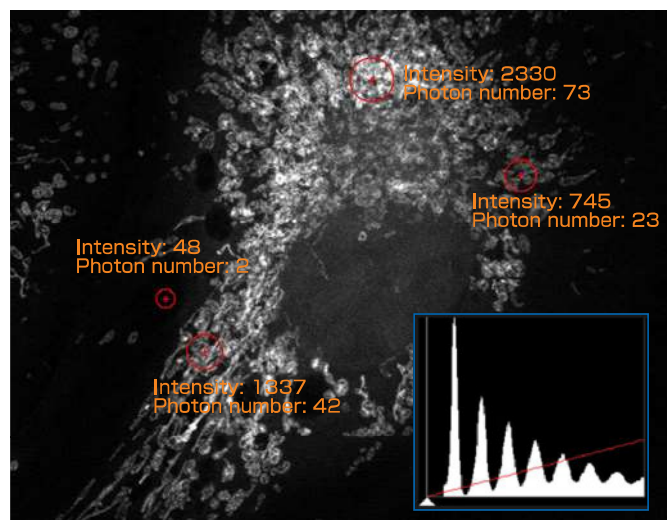
Cos-7 cells: anti-Tubulin (Alexa Fluor 488: green). Sample Courtesy of: Dr. Jana Döhner, Dr. Urs Ziegler, University of Zürich.

GaAsP 500 V



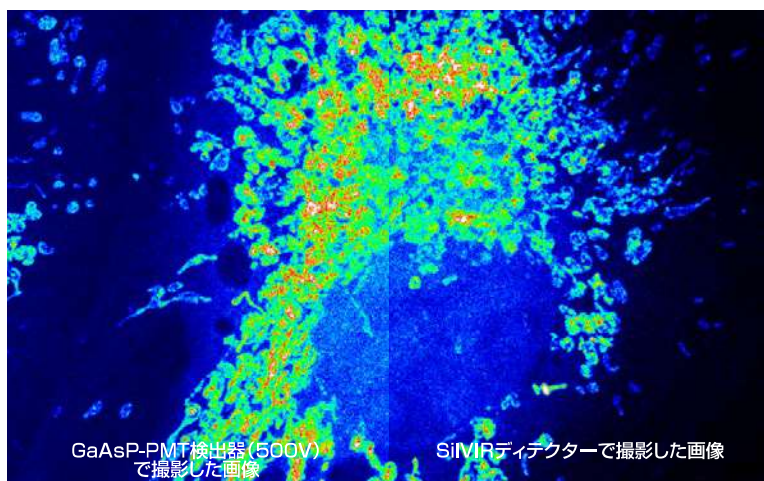
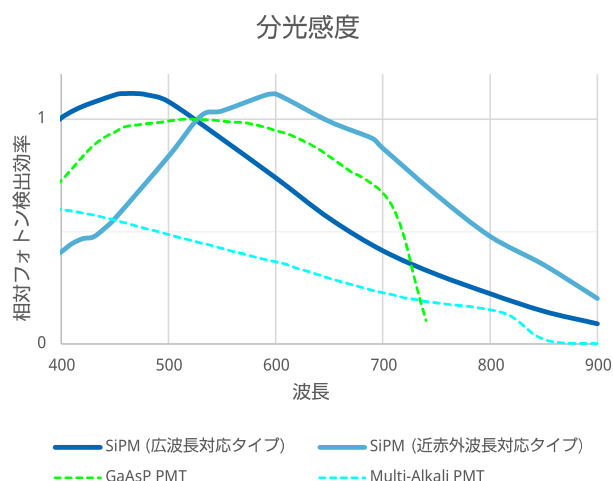
SiVIRディテクターで撮影された画像のヒストグラムは光子数に対応した櫛状のパターンを示し、これをもとに画像の輝度を光子数に変換できる。また、画像のバックグラウンドノイズも非常に小さい。

SiVIR



微弱蛍光でも高画質画像取得

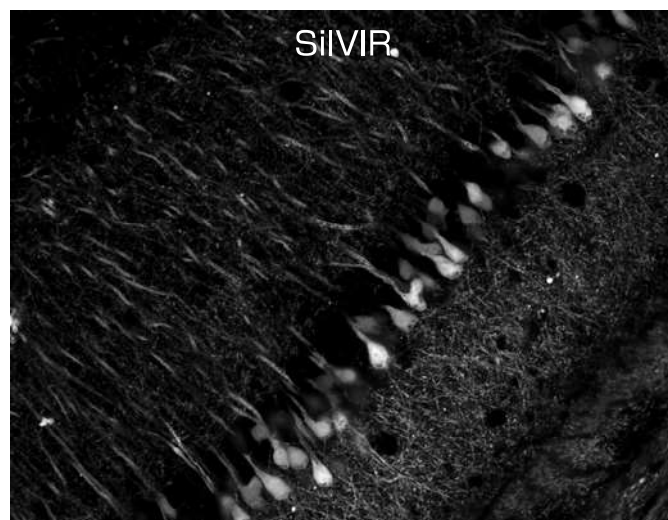
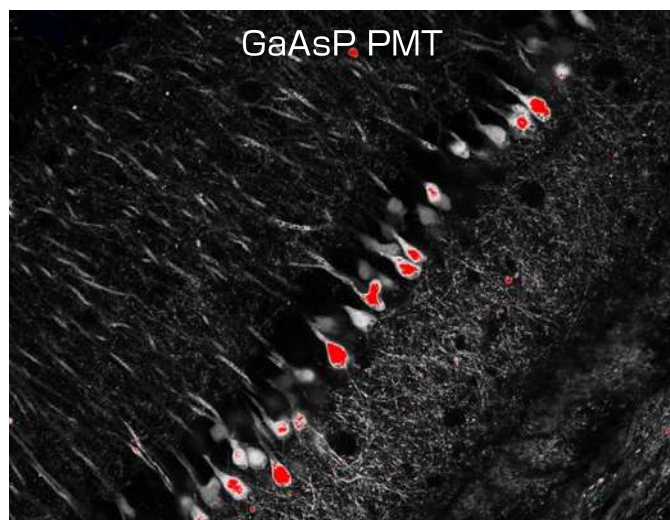
FV4000は、微弱蛍光であってもより高画質で画像を取得することができます。SiVIRディテクターは、非常に低ノイズで400nmから900nmの全波長範囲でGaAsP-PMT検出器よりも高い感度とS/N比を実現し、背景ノイズがほとんどない高画質な画像の取得を可能にします。また、高感度検出ができるため、よりレーザー出力を抑えて、サンプルが受ける光ダメージを減らすことが可能です。さらに、レゾナントスキャナーによる高速画像撮影でも高画質で撮影することが可能です。



従来のGaAsP-PMT検出器よりも、非常に低いバックグラウンドノイズの画像をSiVIRディテクターで撮影することができる。

明暗差の大きいサンプルでも、サチュレーションを起こさず鮮明に観察

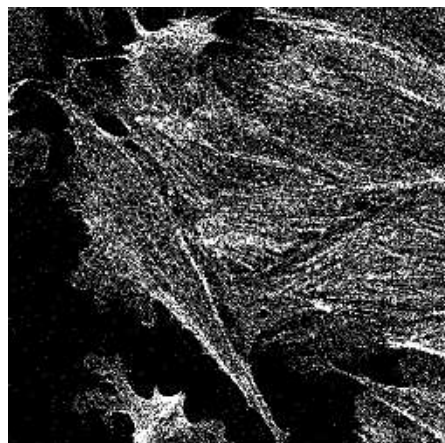
SiIVIRディテクターの幅広いダイナミックレンジにより、暗い部分が明るい部分のどちらかだけに焦点を当てるのではなく、両方を同時にレンジに収めることでサチュレーションや情報の損失なく1つの画像内で鮮明に撮影することが可能です。これにより、今まで以上に正確な画像解析や、画像処理も簡単になります。



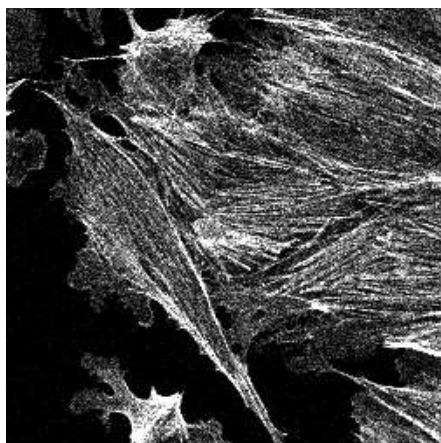
簡単な操作による画像取得

これまで一般的に共焦点レーザー走査型顕微鏡の検出器として使用されてきた光電子増倍管(PMT)は、サンプルからの蛍光の明るさのレベルに応じた印加電圧の調整を必要としますが、これを適切に調節して高画質な画像を取得するには、知識と経験が必要でした。SiIVIRディテクターは、感度とノイズレベルが最適化されており、調整が必要なのはレーザーパワーだけです。画像のS/N比は、光子数に比例するので、ある一定の光子数になるようにレーザーパワーを調節すれば、常に一定の画質の画像を簡単に取得することができます。

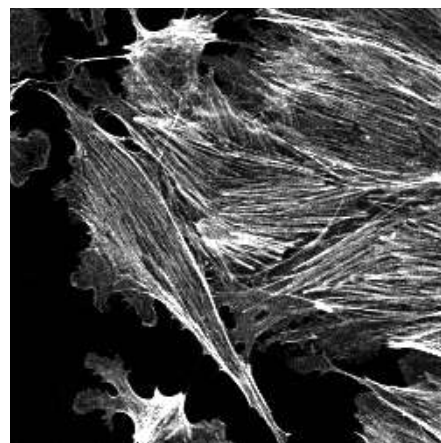
定量的な画像品質のコントロールを実現



4光子、S/N=2



27光子、S/N=5.2

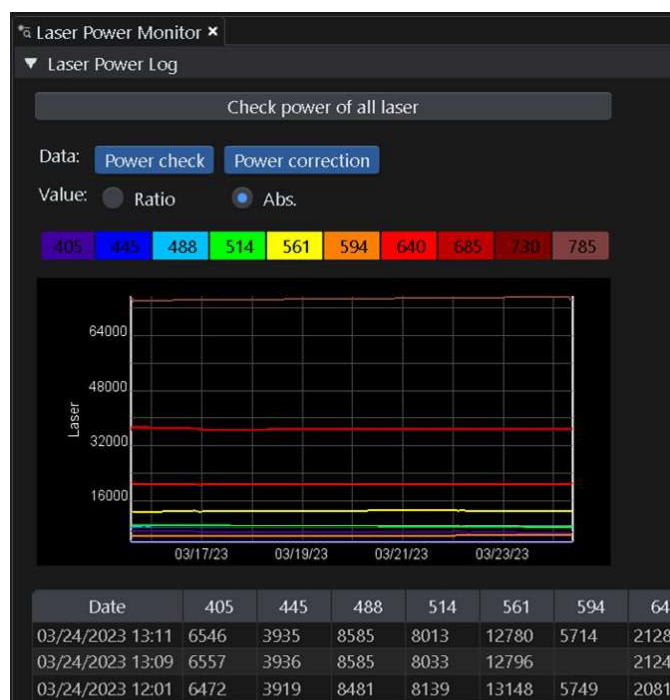


107光子、S/N=10.3

再現性のある画像取得

SiVIRディテクターは、経年劣化や過大光入射による感度の低下がありません。また、周辺環境の変化等によるレーザー強度変動を補正する新レーザーパワーモニター (LPM) と組み合わせることで、常に一定の条件下で画像を取得でき、画像の再現性を高めることができます。

別々のユーザーが、別の日に同じ条件下で同じ画像を取得することができ、実験の再現性向上に貢献します。また、フォトン数という共通の尺度での画像が取得できるため、別のFV4000で撮影された画像であっても、比較検討を行うことが可能です。

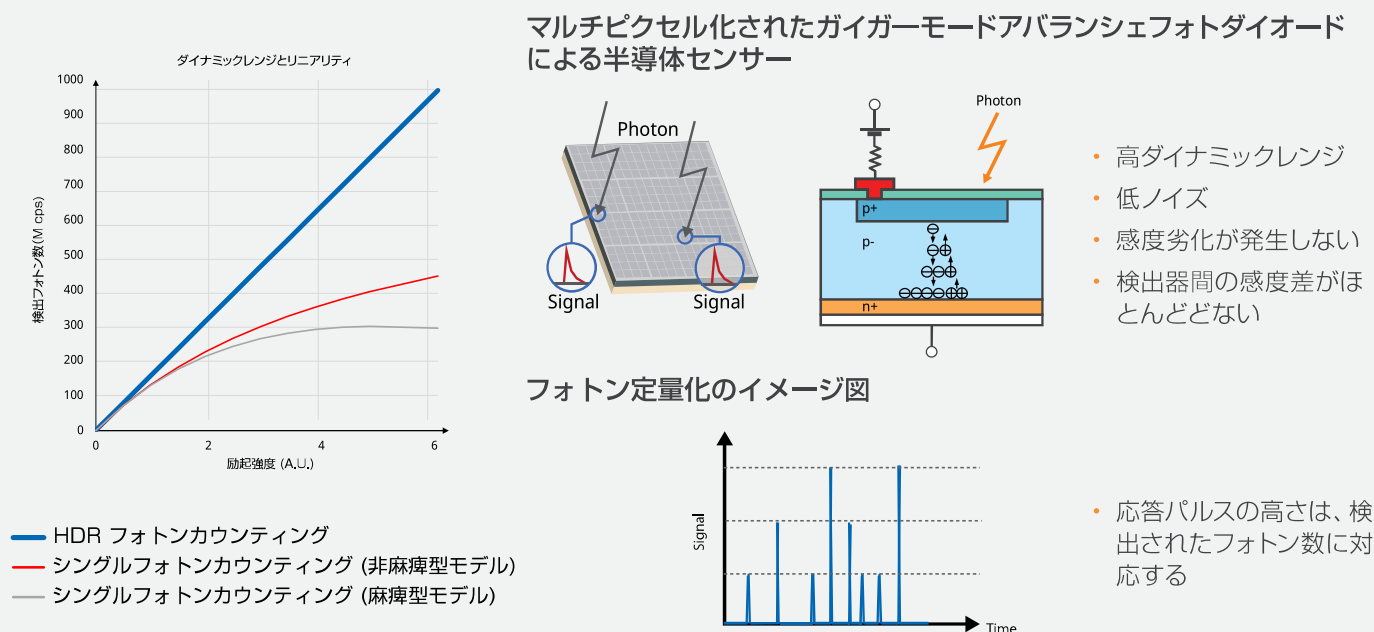


SiVIRディテクターを実現する技術

SiVIRディテクターは、SiPM (Silicon Photomultiplier、シリコン光増倍器) と、エビデント独自の高速信号プロセッシング技術; SiVIRプロセッシングによって実現しました。

半導体センサーであるSiPMは、ランダムに入射するフォトンと同時に検出することができ、その出力信号から検出フォトン数を読み取ることができます。エビデント独自開発のデジタルプロセッシング技術と組み合わせることで、検出されたフォトン数を正確に計数することが可能です。非常に微弱な蛍光から、2000photon/2 μ sといった明るい蛍光まで高いリニアリティで、高ダイナミックレンジのイメージングが可能になりました。

さらに、SiVIRディテクターは半導体センサーであるため、感度の劣化が発生せず、検出器間の感度差もほとんどありません。



一つの画像からより多くの情報を

進化した多波長同時イメージング

SiVIRディテクターを搭載した新しいTruSpectral分光検出器は、効率の高い透過型グレーティングとスリットで構成され、400～900nmの波長領域で最小1nmステップの蛍光検出が可能です。

広波長対応タイプと近赤外波長対応タイプのディテクターユニットを組み合わせることにより、紫から近赤外(400～900nm)の波長範囲で最大6チャンネルの同時画像取得が可能です。ライブセルイメージングで細胞へのダメージを減らし、自家蛍光とのかぶりが少ない近赤外蛍光色素の使用も可能になります。また、モジュラー式のレーザーコンバイナーにはイメージング用途に応じて405～785nmのレーザーを最大10本まで搭載可能です。近赤外波長領域まで使用できるため、蛍光波長の重なりが少ない蛍光色素を組み合わせることでより多波長での同時イメージングが可能になります。

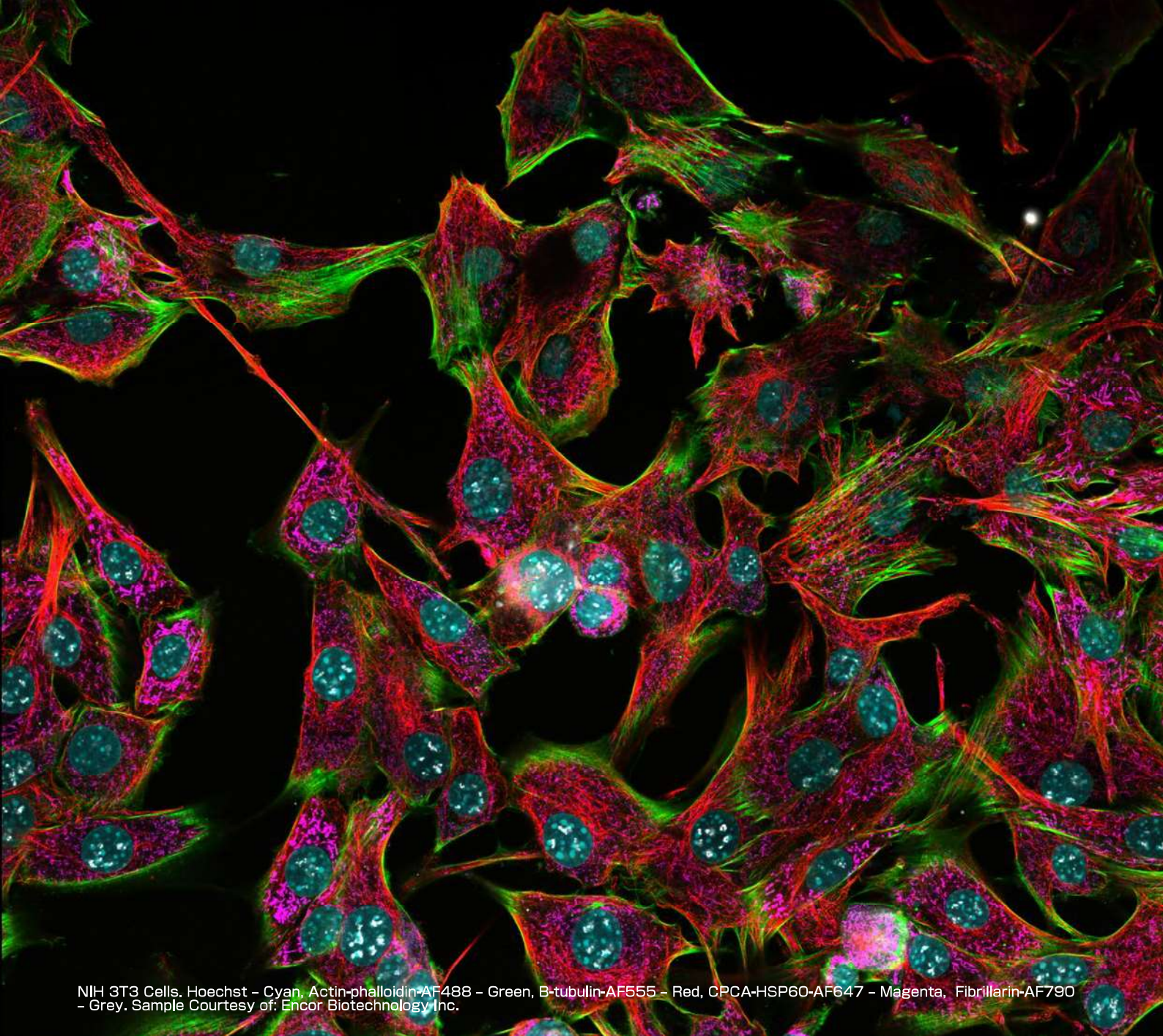
レーザー	蛍光色素	λ_{Ex} (nm)	λ_{Em} (nm)
LD685	Alexa Fluor 680	679	702
	DyLight 680	692	712
	Alexa Fluor 700	696	719
	iRFP720	702	720
LD730	ATTO 740	743	763
	DiR	750	782
	Alexa Fluor 750	752	779
	Cy7	753	775
	DyLight 755	754	776
LD785	DyLight 800	777	794
	IR Dye 800CW	778	794
	Alexa Fluor 790	782	805
	Cy7.5	790	810

高品質な近赤外蛍光イメージングを実現する高性能光学系

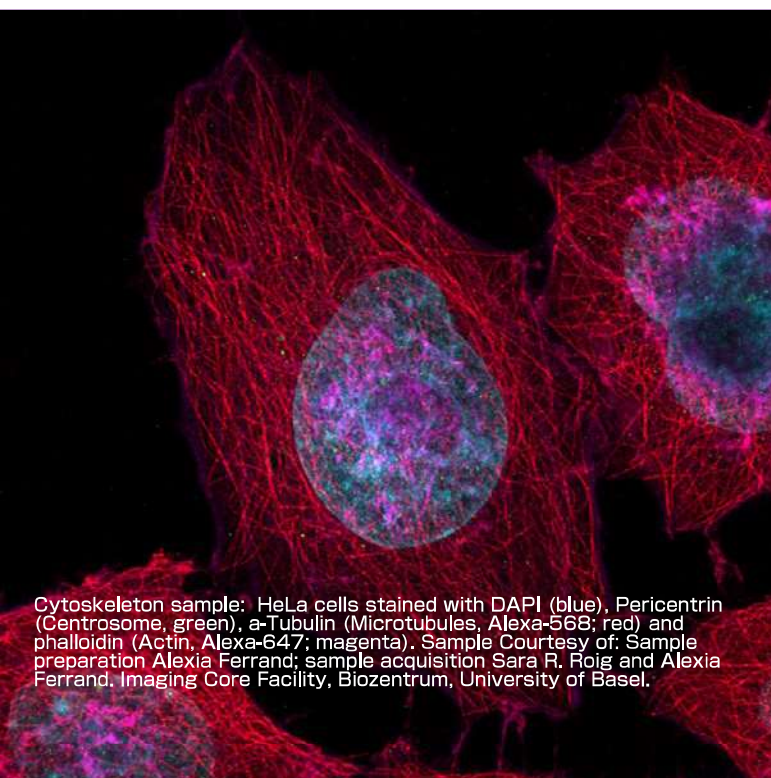
FV4000のスキャナーの光学系は、銀コーティングを施したスキャンミラーやエビデント独自の1600コーティングを施したスキャンレンズにより、可視域から近赤外域まで高い透過率を有し、近赤外の蛍光であっても高効率に検出可能です。

エビデントのX Line高性能対物レンズは、400～1000nmで色収差補正がされているため、カラーカリゼーション解析で問題とされる色収差を低減します。さらに、より高いNA、優れた画像のフラットネス、UVからNIRまでの高い透過率を備え、多重蛍光イメージングで性能を発揮します。

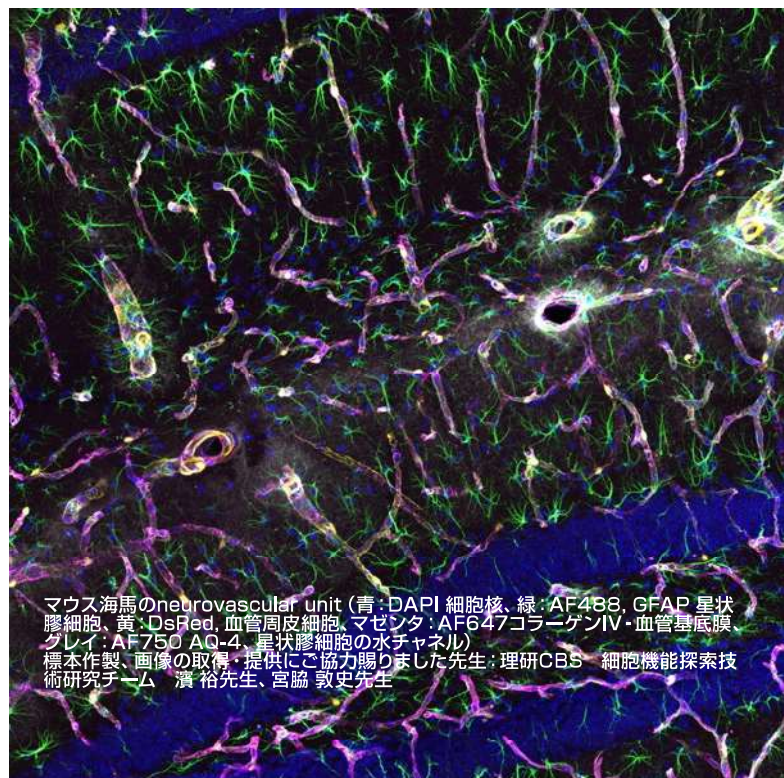




NIH 3T3 Cells. Hoechst - Cyan, Actin-phalloidin-AF488 - Green, B-tubulin-AF555 - Red, CPCA-HSP60-AF647 - Magenta, Fibrillarin-AF790 - Grey. Sample Courtesy of: Encor Biotechnology Inc.



Cytoskeleton sample: HeLa cells stained with DAPI (blue), Pericentrin (Centrosome, green), α-Tubulin (Microtubules, Alexa-568; red) and phalloidin (Actin, Alexa-647; magenta). Sample Courtesy of: Sample preparation Alexia Ferrand; sample acquisition Sara R. Roig and Alexia Ferrand. Imaging Core Facility, Biozentrum, University of Basel.



マウス海馬のneurovascular unit (青: DAPI 細胞核, 緑: AF488, GFAP 星状細胞, 黄: DsRed, 血管周皮細胞, マゼンタ: AF647 コラーゲンIV - 血管基底膜, グレイ: AF750 AQ-4, 星状細胞の水チャネル)
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生: 理研CBS 細胞機能探索技術研究チーム 濱 裕先生、宮脇 敦史先生

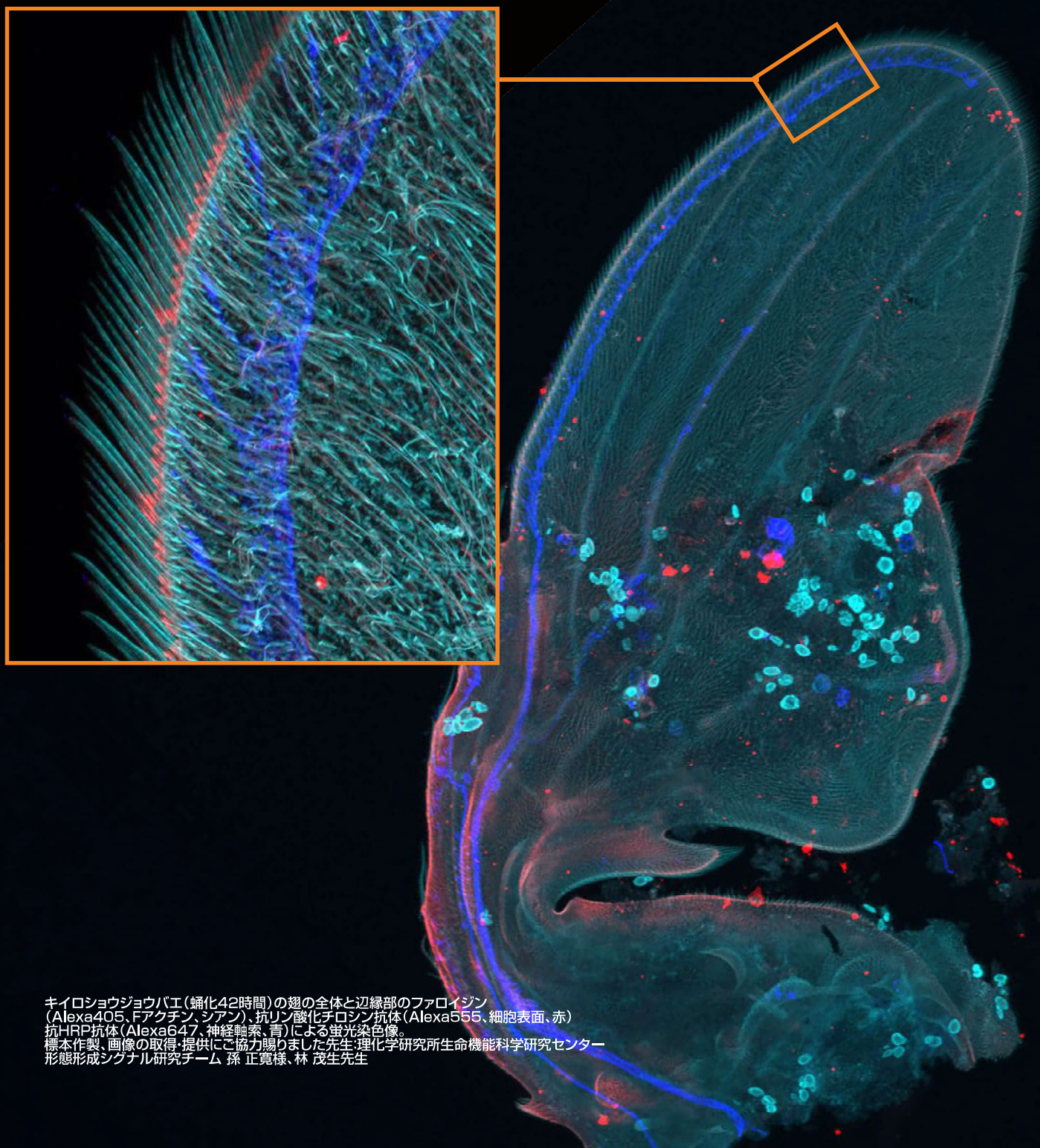
フレキシブルなマクロからミクロのイメージング

効率的なマルチスケールイメージング

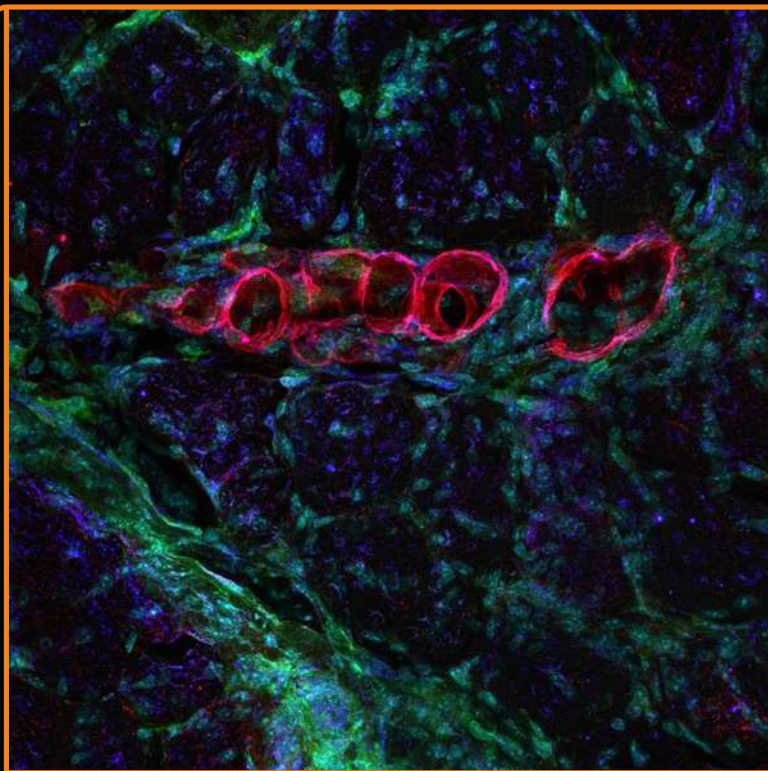
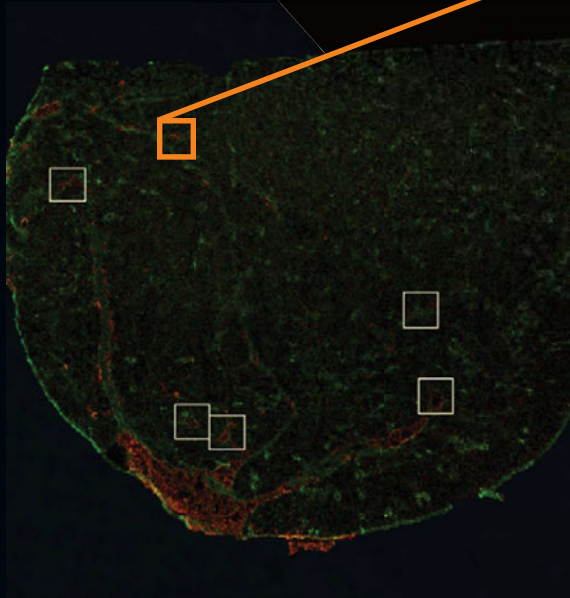
マクロ～ミクロのワークフローにより、マクロレベル(個体や組織レベル)から細胞または細胞微細構造レベルまで、効率的なイメージングが可能です。

1K×1Kレゾナントスキャナーで高画質画像を高速に取得

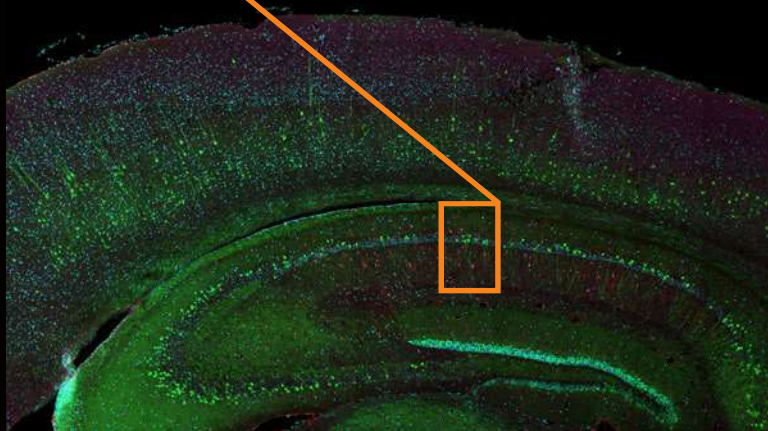
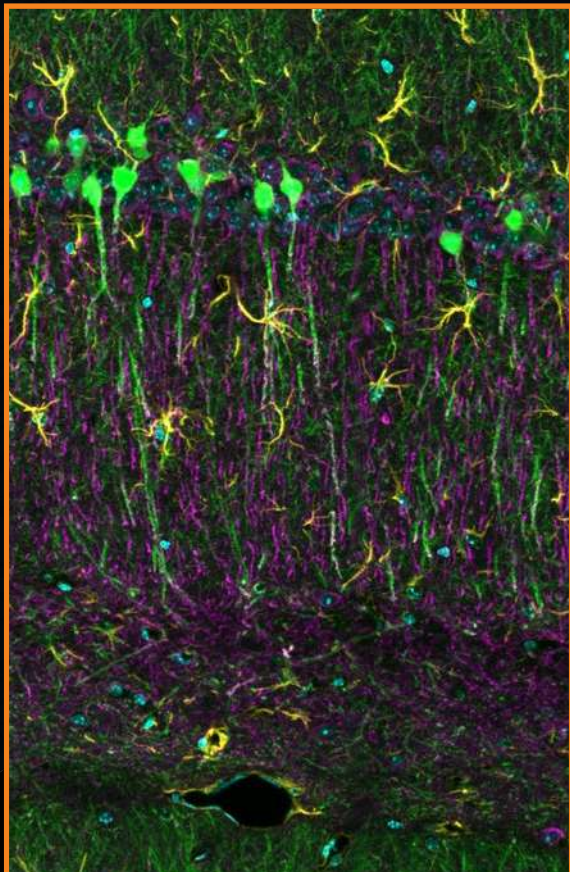
従来の共焦点レーザー顕微鏡よりも、高速で高画質画像を取得することが可能です。SiVIRディテクターと、1K×1Kピクセル(FN20、ピクセル時間0.033 μ s)のレゾナントスキャナーの組み合わせにより、ノイズの少ない高解像度画像を高速で取得することが可能です。そして、高画質の貼り合わせマクロ画像を短時間に取得することを可能にし、研究の効率と可能性を高めます。



キイロショウジョウバエ(蛹化42時間)の翅の全体と辺縁部のファロイジン (Alexa405、Fアクチン、シアン)、抗リン酸化チロシン抗体 (Alexa555、細胞表面、赤) 抗HRP抗体 (Alexa647、神経軸索、青) による蛍光染色像。
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生: 理化学研究所生命機能科学研究センター 形態形成シグナル研究チーム 孫 正寛様、林 茂生先生



Muscle tissue, blue; DAPI, green; FDGFR, red; F4/80. Sample courtesy of: Marshall Hogarth and Jyoti Jaiswal, Center for Genetic Medicine Research, Children's National Research Institute.

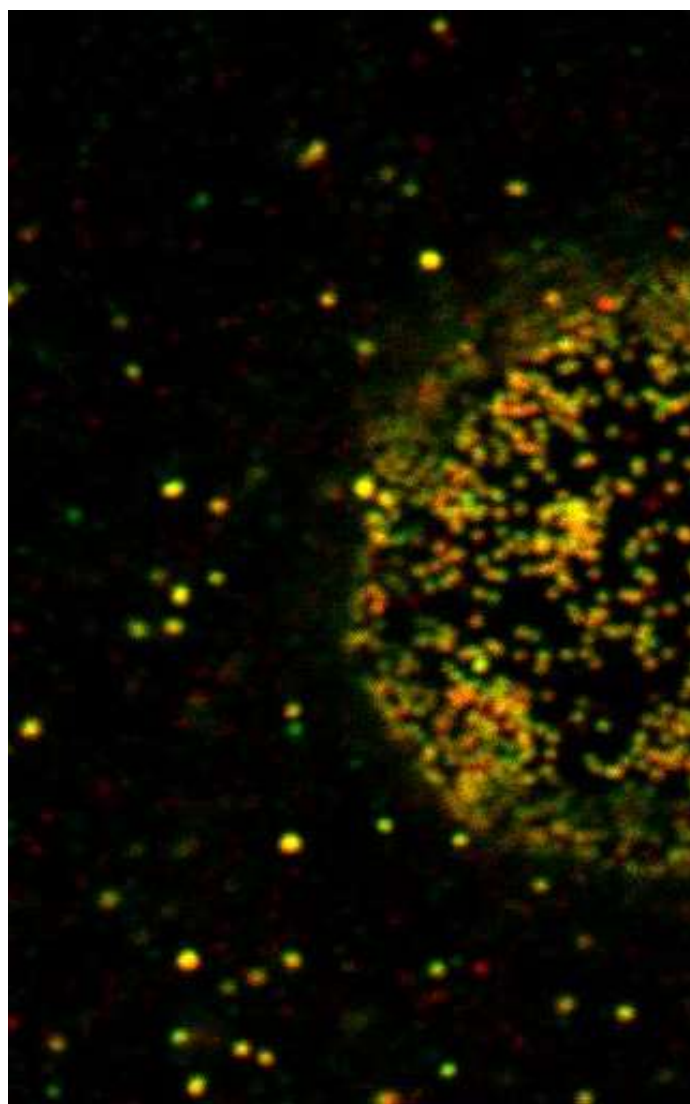


4CH XYZ画像を11×7の合計77か所で1Kレゾナンスキャナーで撮影し貼り合わせを行った画像。従来ガルバノスキャナーを使用すると2時間必要だったものが、16分以内で撮影を行うことができた。
H-lineマウスの冠状断切片(シアン:DAPI 細胞核、緑:YFP 神経細胞、黄:Cy3 星状膠細胞、マゼンタ:AF750 微小管)
標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:理研CBS 細胞機能探索技術研究チーム 小暮 貴子様、宮脇 敦史先生

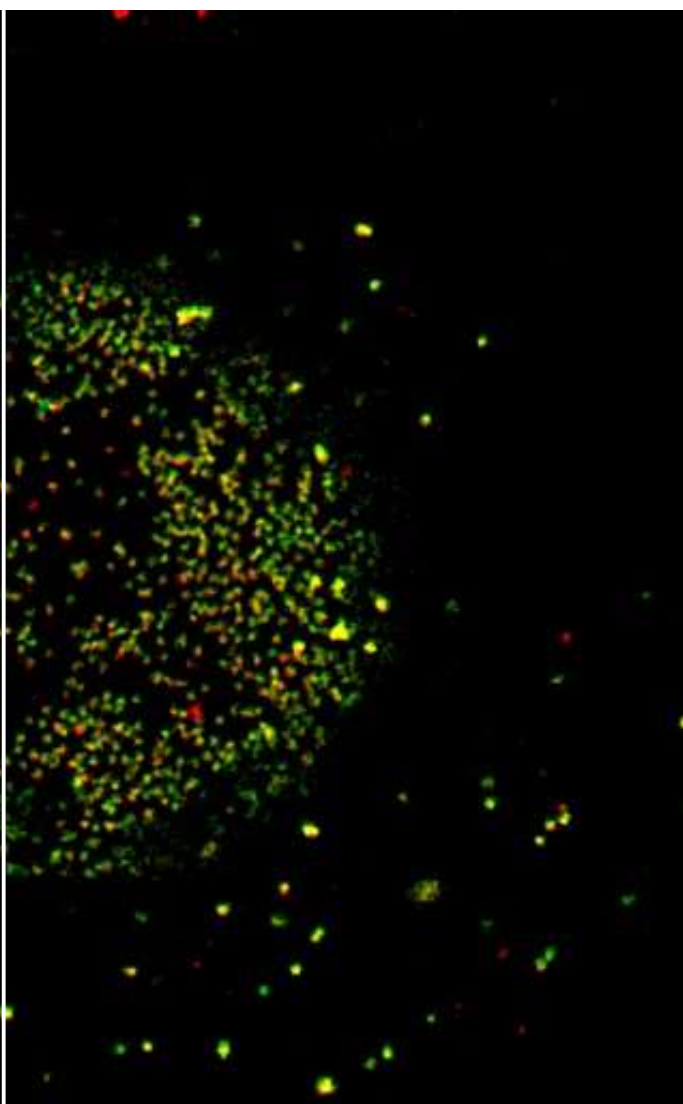
細胞内微細構造を捉える超解像イメージング

特別なハードウェアを追加しなくても超解像画像を取得することが可能です。X LineシリーズやA Lineシリーズの高NA対物レンズと専用の超解像ソフトウェア(FV-OSR)を使用すれば、超解像画像を簡単に取得して細胞内微細構造を観察することが可能です。FV-OSRソフトウェアは高周波成分を検出するために自動的に共焦点ピンホールのサイズを最適化して画像を取得し、さらにその高周波成分のコントラストを強調することで、120nmのXY分解能を実現します。SiVIRディテクターのS/N比が向上したため、これまでよりも速く超解像画像を取得できます。

共焦点(1AU)で撮影した画像



超解像ソフトウェアを使用して撮影した画像



HeLa細胞の核膜孔(緑:AF488 ant-Ran BP2、赤:AF555 ant-Nup62)

厚みのあるサンプルでも高解像3次元画像が取得可能

FV4000を使用すると、厚みのあるサンプルでも高解像3次元画像取得が可能です。近赤外光は散乱が少なく組織サンプルの深部まで到達しやすいという特性があります。SiIVIRディテクターは近赤外領域でも高感度画像取得ができるため、近赤外蛍光を利用してより効率的に厚みのある組織サンプルのイメージングをすることが可能になります。また、シリコンオイル浸対物レンズは、浸液の屈折率が生体組織に近いので、収差が少なく、深部イメージングを向上させることができます。画像全体の画質とZ解像度を向上させたい場合は、TruSightがデコンボリューションのアルゴリズムに基づいた画像処理により光学的なボケや画像のノイズを除去し、よりシャープな画質を提供します。

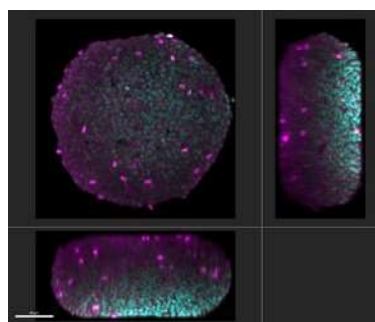
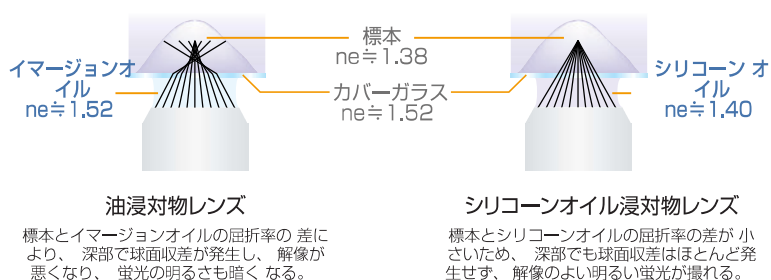
深部でも鮮明な画像

シリコンオイルの屈折率($n \approx 1.40$)が生組織の屈折率($n \approx 1.38$)とほぼ同じであることから、シリコンオイル浸対物レンズを使用することで、屈折率の差によって生じる球面収差の影響を受けにくく高解像度で生組織の深部を観察することが可能です。また、シリコンオイルは37℃環境下で使用しても乾燥することがなく、長時間タイムラプスにとって最適な浸液です。

	W.D. (mm)	NA
UPLSAPO30XS	0.8	1.05
UPLSAPO40XS	0.3	1.25
UPLSAPO60XS2	0.3	1.3
UPLSAPO100XS	0.2	1.35

屈折率ミスマッチによる深部観察への影響

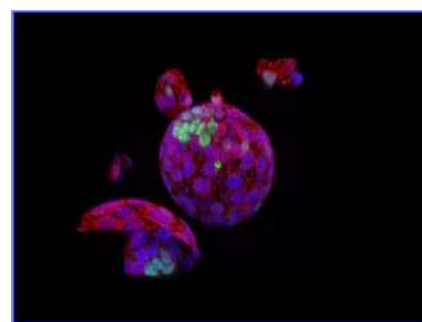
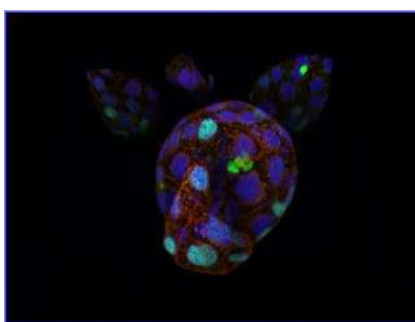
深部観察には標本と浸液の屈折率が近い方がよい



動画はこちら



DAPI(シアン、細胞核)とAF790 (マゼンタ、Ki-67)で染色されたHeLa細胞のスフェロイド。405nmによる細胞核は、表面付近でしか撮像することができなかったが、NIR 785nmでは、スフェロイド全体の3次元画像を明るく撮像することができた。



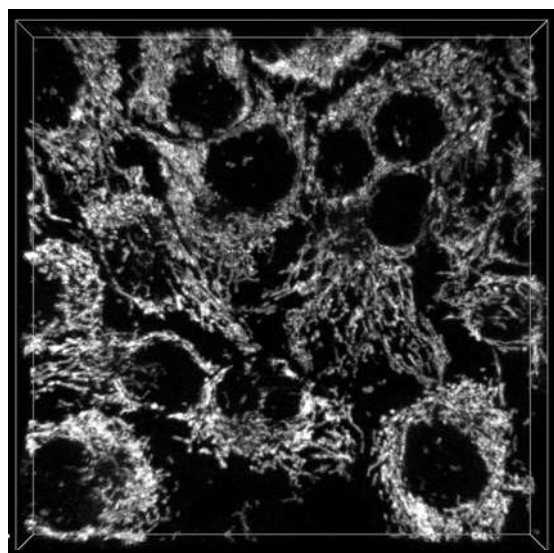
Wide-type mouse embryo. Green; Nanog-Alexa Fluor 488 (Epiblast cells), red; gata6-Alexa Fluor 568 (PrE cells), blue; DNA-Alexa Fluor 647. Sample courtesy of: Dr. Shoma Nakagawa, Cosma Lab and Dr. Nadia Halidi, Advanced Light Microscopy Unit, Centre for Genomic Regulation, Barcelona, Spain.

より細胞に優しいタイムラプスイメージング

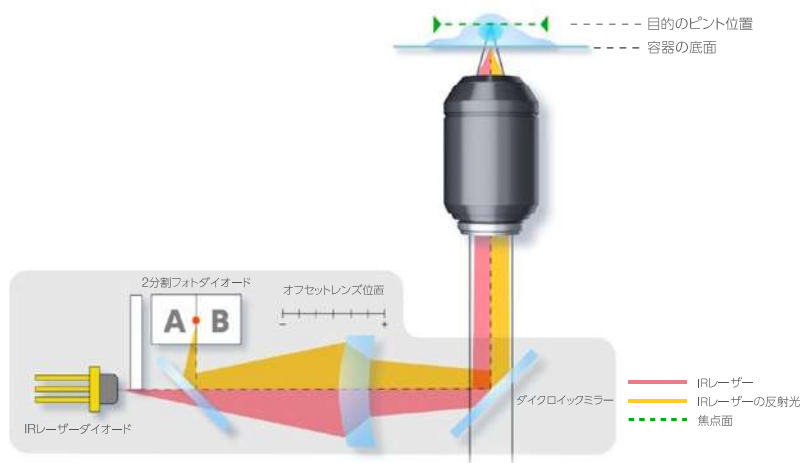
ダメージを抑えて生細胞の動態を観察

波長が長いほど光のエネルギーが低くなるため、近赤外蛍光イメージングでは、光毒性が軽減され、安定した長時間のタイムラプスイメージングに貢献します。また、FV4000には専用のTruFocus Red Zドリフトコンペンセーターを組み合わせることができます。TruFocus Red Zドリフトコンペンセーターは、周辺の温度変化や試薬の滴下を行っても、タイムラプスイメージング中のサンプルのフォーカスを保ちます。TruFocusRedのレーザーはFV4000でサポートされている近赤外レーザーや、高性能対物レンズシリーズX LineやA Line対物レンズとも併用できるため、近赤外蛍光プローブを使用したタイムラプスイメージングでもフォーカス維持が可能です。

生細胞の動態を正確に観察するには、高速かつ高解像のタイムラプスイメージングが不可欠です。新しいレゾナントスキャナーは、より広い視野範囲を高解像で高速画像取得することが可能です。また、ピクセル滞留時間が短いので、光毒性を最小限に抑えることができます。さらに、SiVIRディテクターは、従来の検出器よりもS/N比が改善できるため、高速でもノイズをはるかに抑えた、高品質のタイムラプスイメージングが可能となります。さらに、ノイズを低減させたい場合は、定量性と時間分解能が維持できるローリングアベレージ処理を併用することが可能です。



MitoView720でラベルしたHeLa細胞のミトコンドリアの1KレゾナントスキャナーによるXYZタイムラプス画像。



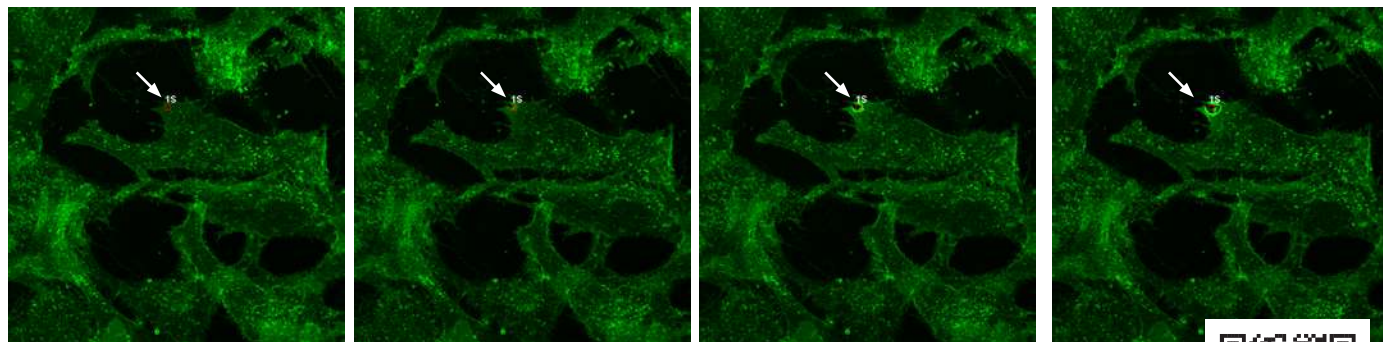
動画はこちら

TruFocus
の解説動画はこちら



細胞の動態を定量化

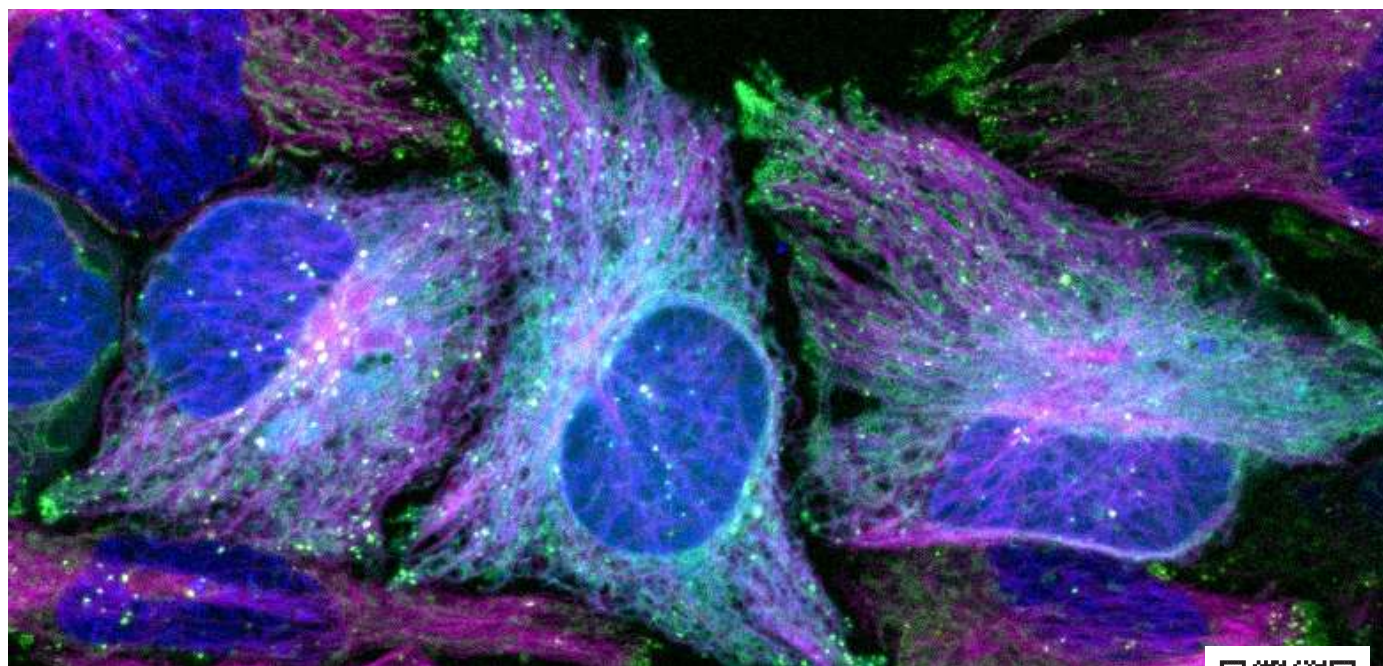
SiVIRディテクターは画像輝度を光子数で定量することができるため、蛍光強度の小さな変化でも正確に測定できます。例えば、生細胞内のカルシウムイオンやその他の代謝プロセスをより正確に測定できるようになります。



Time-lapse photo stimulation: the laser injury was performed on C2C12 cells. The green pseudocolor represents the application of an FM 1-43 bath. The image was acquired with a $2\ \mu\text{s}$ galvo scanner and a UPLSAPO60XOHR objective. A 405 nm laser was used for photodamage and a 488 was used to image. Sample courtesy of: Daniel Bittel and Jyoti Jaiswal, Center for Genetic Medicine Research, Children's National Research Institute.



動画はこちら

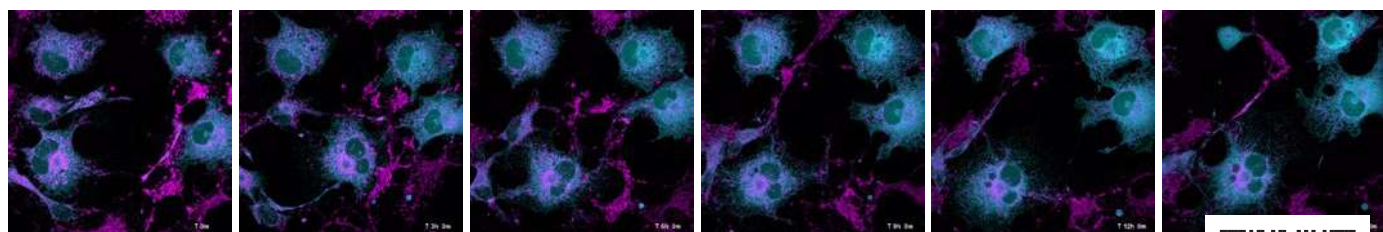


Hoechst33342(青、細胞核)、MitoTracker Green(緑、ミトコンドリア)、LysoTracker Red (黄、リソソーム)、Sir-Tubulin(マゼンタ、微小管)および、POR-SA-Halo (シアン、小胞体)でラベルされたHeLa細胞のタイムラプス画像。

標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 多喜 正泰先生、名古屋大学大学院理学研究科 浅田 雄一様、有賀 隆世様



動画はこちら



MitoTracker Red(マゼンタ、ミトコンドリア)と、POR-SA-Halo (シアン、小胞体)でラベルされたHeLa細胞のオーバーナイトXYZタイムラプス画像。

標本作製、画像の取得・提供にご協力賜りました先生:名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 多喜 正泰先生、名古屋大学大学院理学研究科 浅田 雄一様、有賀 隆世様



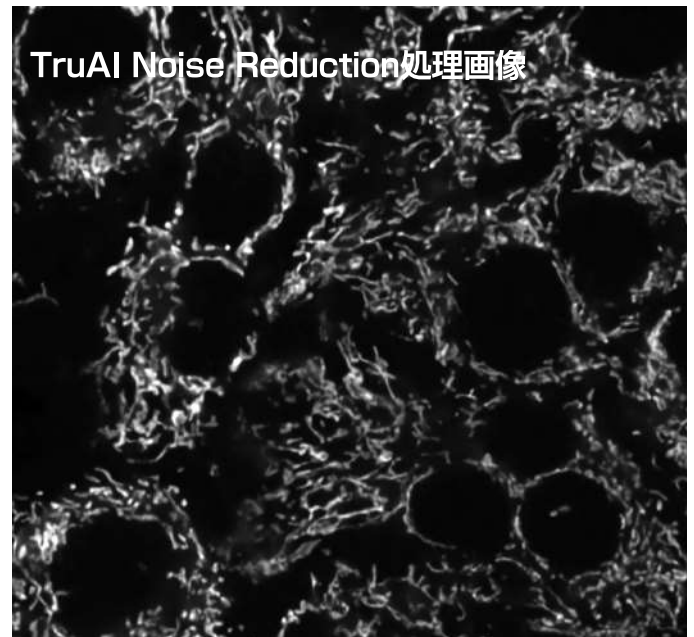
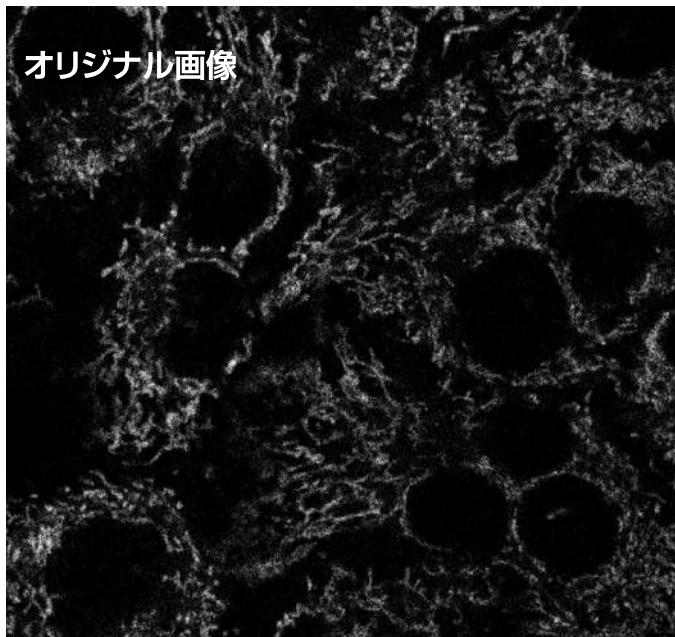
動画はこちら

共焦点レーザー顕微鏡にAIの応用

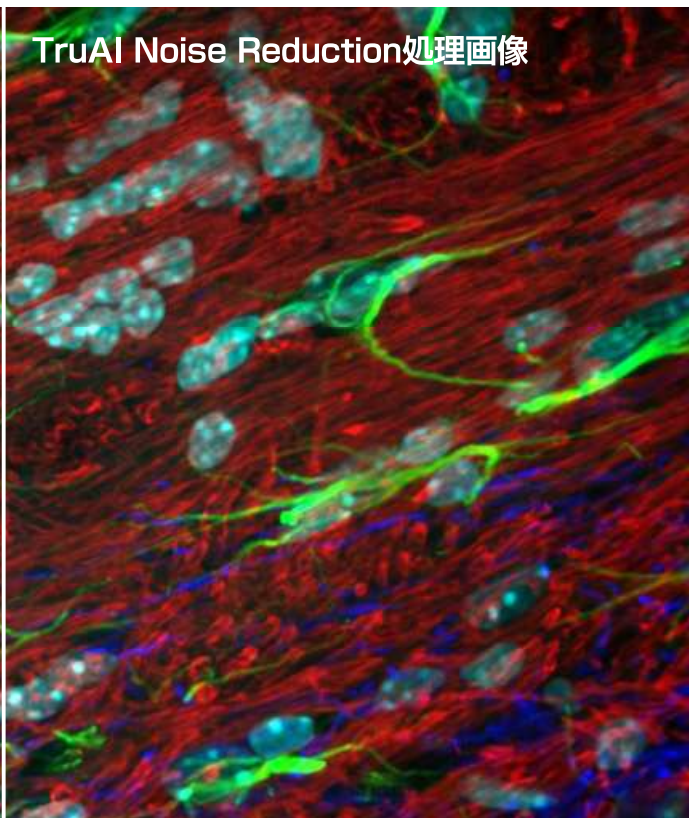
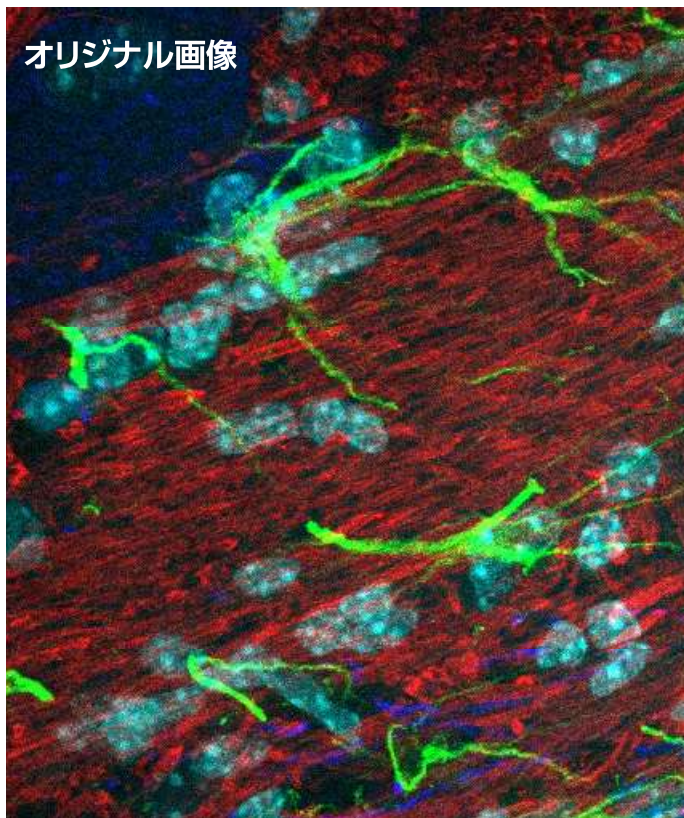
TRU^{AI}

TruAI Noise Reduction

TruAI Noise Reductionを使用すると、レゾナントスキャナーの画質を向上させることができます。レゾナントスキャナーは細胞の動態を高速に少ないダメージで撮影するのに適していますが、S/N比が低くなる場合があります。TruAI Noise ReductionはSiVIRディテクターのノイズパターンに基づいて学習済みのニューラルネットワークを用いて、時間分解能を犠牲にすることなく画質を向上させることができます。この学習済みニューラルネットワークは、ポストプロセッシングだけでなく画像取得同時プロセッシングにも使用できます。



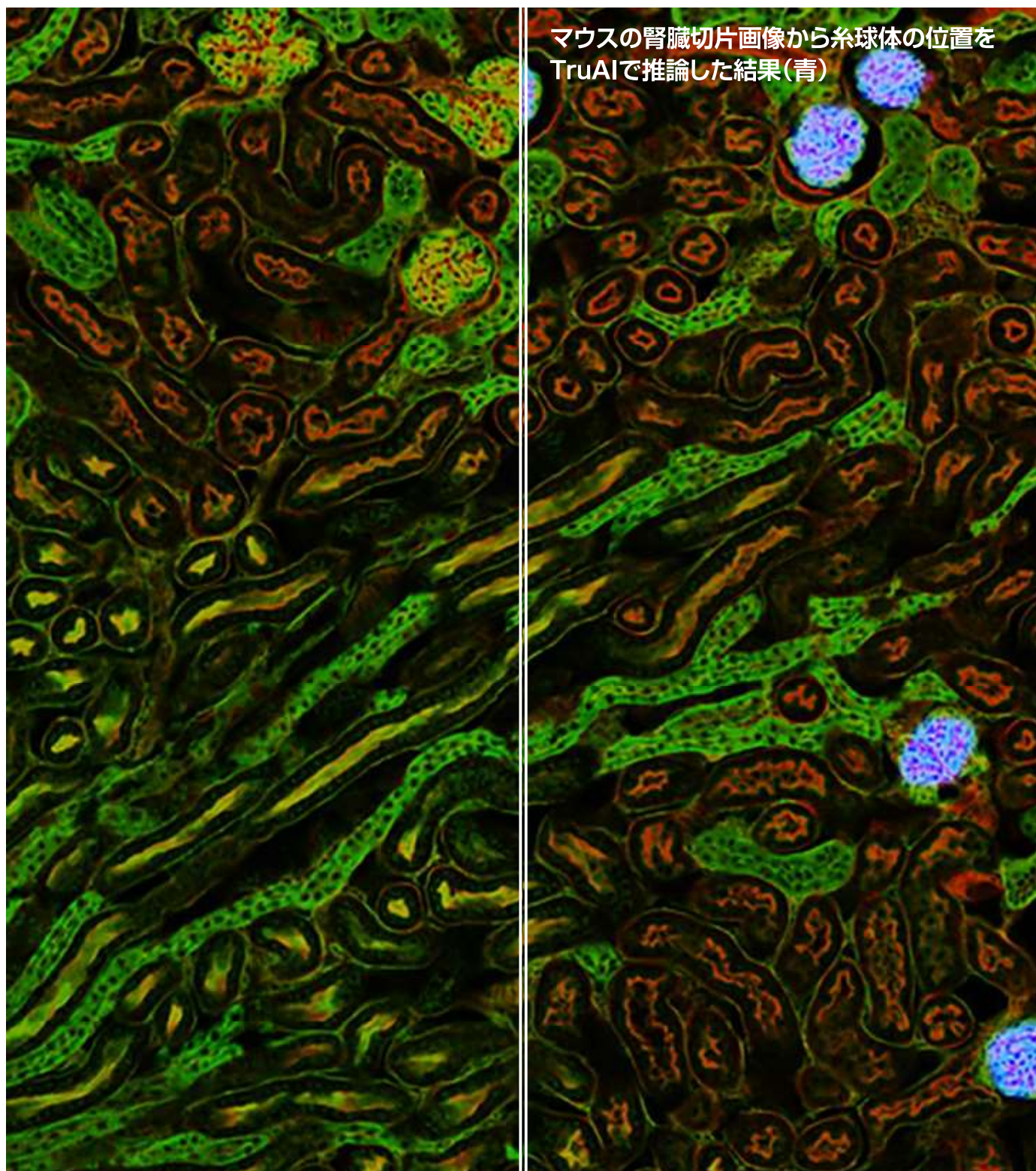
MitoView720でラベルしたHeLa細胞のミトコンドリアの1Kレゾナントスキャナーによる画像。最大3フォトンの輝度レベルの画像。



Brain sample: coronal section (50 μ m) of a mouse brain stained with DAPI (nuclei, cyan), GFAP (astrocytes, green/488), MAP2 (microtubule-associated protein 2, neurons, and dendritic processes, cyan/647) and MBP (myelin basic protein, red/568). Sample courtesy of: Sample preparation Alexia Ferrand; sample acquisition Sara R. Roig and Alexia Ferrand. Imaging Core Facility, Biozentrum, University of Basel.

TruAI Image Segmentation

画像解析を行うにはセグメンテーションが必要ですが、従来は、輝度閾値法が使われることが一般的でした。また、画像によっては、非常に面倒な作業になることもあります。TruAI Image Segmentationは、ディープラーニングによって、閾値法では難しかった非常に微弱な蛍光像のセグメンテーションも可能にし、画像に左右されず、効率的により正確な画像処理が行えるようになります。



汎用性の高いモジュール設計

FV4000はモジュール方式を採用しており、お客様の用途やご予算に応じたシステムの構築が可能です。また、1つのシステムで共焦点と多光子イメージングを両立でき、用途に最適なシステムを提供することが可能です。共焦点専用のFV4000からスタートし、研究の状況に応じて多光子システムにアップグレードすることができます。



倒立顕微鏡



正立顕微鏡
(固定標本用)



門型顕微鏡



正立顕微鏡
(電気生理用)

迅速かつ高レベルなサポートとサービス

SiIVIRディテクターは、半導体センサーであるため、安定性と耐久性が高いことが特徴です。レーザーパワーモニターは、常にレーザーパワーの状態をモニターすることで、常に一定のレーザーパワーで使用できるようにフィードバックをかけます。

エビデントは、迅速なサービスをお客様に提供し、システムの安定稼働をお手伝いします。また、システムを最適な状態で維持するためのサポートプランもご用意しております。

リモートサポート*にも対応しておりますので、万が一問題が発生してもエンジニアやスペシャリストの到着をお待ちいただく必要はありません。

*リモートサポートには、インターネット接続が必要です。



FV4000 主な仕様

スキャナー	ガルバノメータースキャナー	64×64-4096×4096ピクセル、 ピクセルタイム: 1μs~1000μs
	レゾナントスキャナー	512×512-1024×1024ピクセル
	視野数 (FN)	20
分光検出器	検出器	SiIVIRディテクター (冷却シリコンフォトマルチプライヤー、 広波長対応タイプまたは近赤外波長対応タイプ)
	最大搭載可能ユニット数	最大3ユニット (6CH) 搭載可能
	分光器	電動透過型回折格子 (VPH) 、対応波長域: 400nm-900nm
レーザー	可視レーザー	405nm、445nm、488nm、514nm、561nm、 594 nm、640nm
	NIRレーザー	685nm、730nm、785nm
	レーザーパワーモニター	あり
画像ビット深度	16bit、HDRフォトンカウンティングも可能 (1G cps)	



警告 —
可視および不可視のレーザー放射
ビームの域を避けること
クラス 3 B レーザ製品

500mW MAX CW 400-800nm
JIS C6802:2018

Cover image: *Caenorhabditis elegans*, nuclear structures marked with EGFP (cyan LUT) and cytoplasmic structures marked with mRuby (purple LUT). Sample Courtesy of: Dr. Jeremy Vicencio, Stroustrup Lab and Dr. Nadia Halidi, Advanced Light Microscopy Unit, Centre for Genomic Regulation, Barcelona, Spain.

EvidentScientific.com

株式会社エビデント

〒163-0910 東京都新宿区西新宿2-3-1 新宿モリス

EVIDENT Customer Information Center

お客様相談センター 受付時間 平日9:00~17:00

0120-58-0414 ※フリーダイヤルがご利用できない場合 03-6901-4200

お問い合わせ : www.olympus-lifescience.com/ja/contact-us/

EVIDENT

- 当社は環境マネジメントシステムISO14001の認証取得企業です。登録範囲は <https://www.olympus-lifescience.com/ja/support/iso/> をご覧ください。
- 当社は品質マネジメントシステムISO9001の認証取得企業です。
- 安全にお使いいただくために：顕微鏡用照明装置には耐用年限がありますので、定期点検をお願い致します。詳細は当社HPをご覧ください。

- このカタログに記載の社名、商品名などは各社の商標または登録商標です。
- モニター画像ははめ込み合成です。
- 仕様・外観については、予告なしに変更する場合があります。あらかじめご了承ください。
- この機器は、EMC性能において工業環境使用を意図して設計されています。住宅環境でお使いになりますと他の装置に影響を与える可能性があります。

取扱販売店名

OLYMPUS

N8603112-102023