

**OLYMPUS®**

Your Vision, Our Future

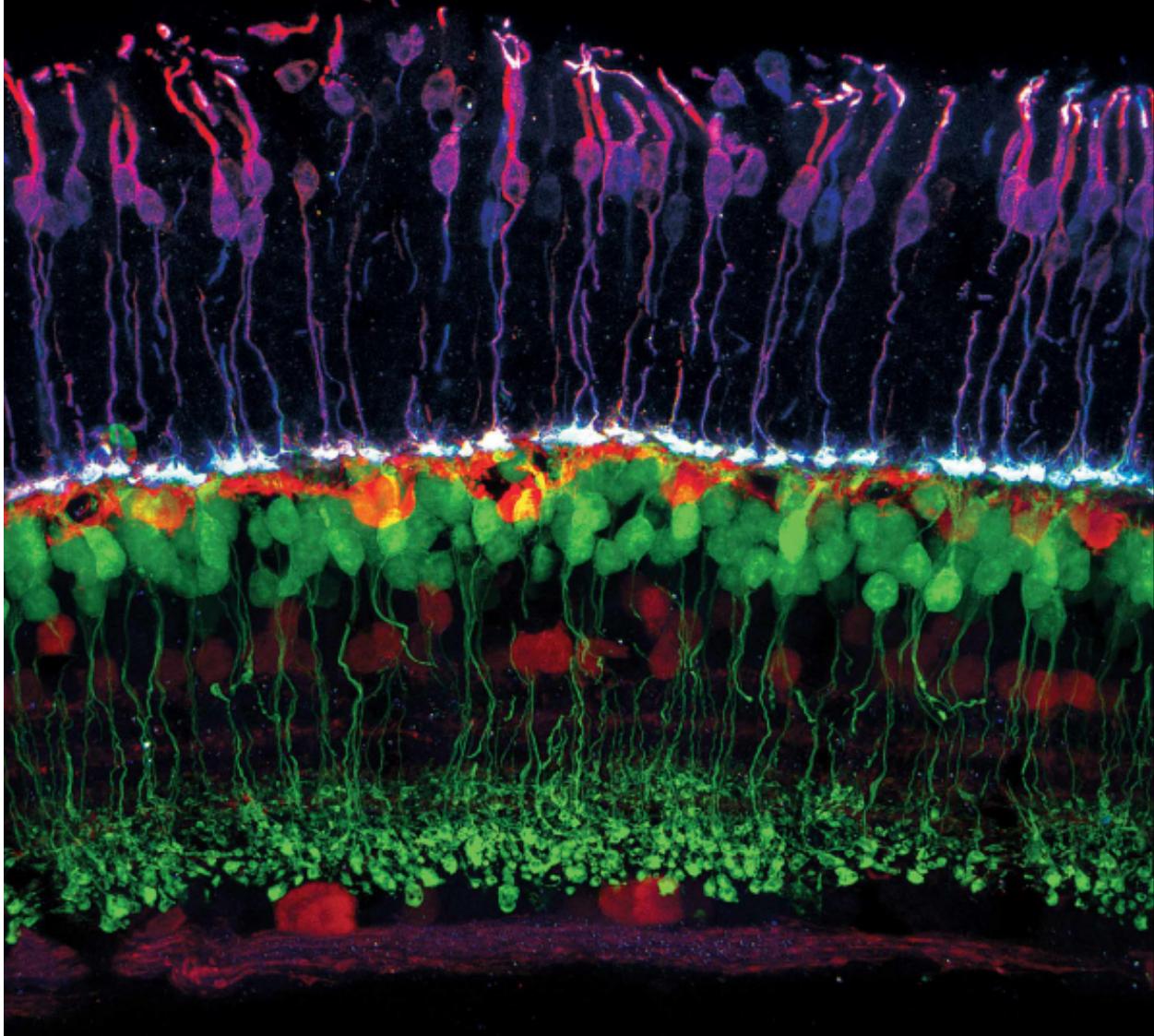
共焦点レーザ走査型顕微鏡

**FV1000-D**

FLUOVIEW

**UIS2**  
World-leading optics

新次元  
Live Cell Imaging  
System



# 進化したFV1000-D

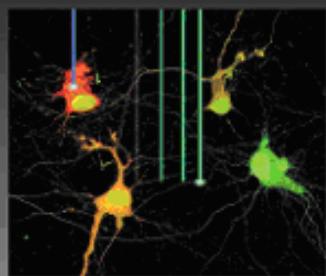
進化した安定性

Diode Laser



進化した光刺激

Double Beam

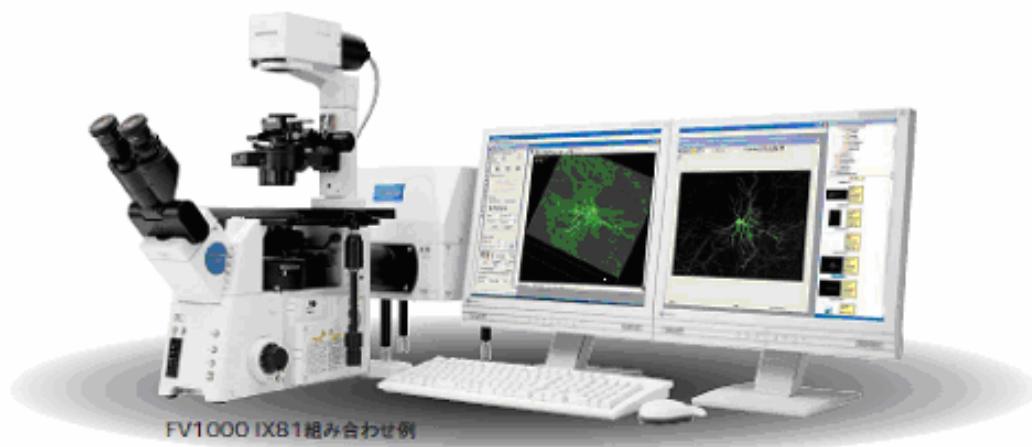


安定性

- ダイオードレーザの採用により、安定化・長寿命、低ランニングコストを実現
- 発熱量の低減、低騒音化により、オペレータのストレスを軽減
- ハイパワー化により、イメージングと光刺激とを、一本のレーザで両立

光刺激

- 刺激とイメージングの同期化。刺激直後の反応を見逃さないツインスキナシステム
- 2本の独立したビームで刺激とイメージングの位置、レーザ波長を、それぞれ設定可能
- イメージング中に光刺激位置の変更が可能

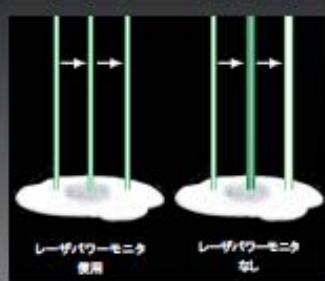
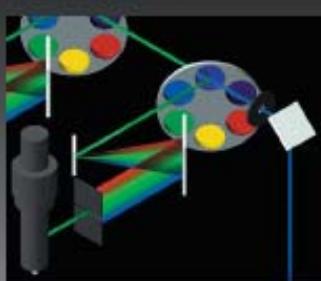


FV1000 IX81組み合わせ例

レーザ顕微鏡に求められる基本性能を極限まで追求。  
サンプルへのダメージを最小限に、生体内の情報をより正確に捉えます。

### 進化した基本性能

## Dependable Performance



### 高精度VBF

- グレーティング機能を最大限に  
生かすVariable Barrier Filter:VBF
- 2nm分解能の可変VBF。蛍光試薬に  
あわせ取得波長を自由に設定可能
- ラムダスキャンとUnMixing機能により  
簡単に蛍光のクロストークを分離

### 定量化

- LPM (Laser Power Monitor)搭載。  
レーザフィードバック方式の採用。  
長時間観察で安定した励起光を実現
- ライブプロットにより、  
観察中の蛍光強度を測定

### 高感度

- 新設計のアナログ積算回路搭載
- 特殊コーティングされたフィルタ、  
ダイクロイックミラーの採用
- FV1000用にセレクトされた  
高感度フォトマルチプライアを採用
- 折り返しの少ない理想的な光学系



FV1000 BX61組み合わせ例

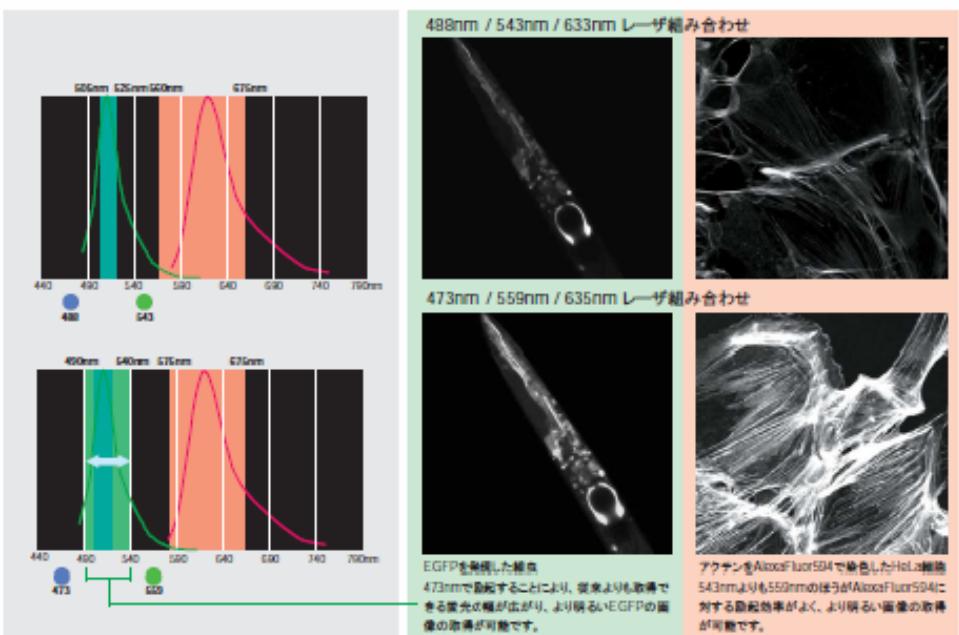
## MULTI-COMBINER

FV1000-D HARDWARE

### 光源を極めるマルチコンバイナ。

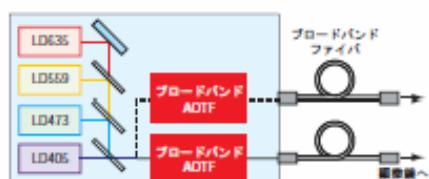
幅広い波長域でダイオードレーザが使用可能。

オリンパスのマルチコンバイナシステムは、405nmから635nmの波長域に対応したダイオードレーザを搭載可能であり、多色化する蛍光タンパクを効率よく観察できます。473nm/559nmレーザの組み合わせは、EGFPと500nm台後半に励起波長のピークを持つ色素との組み合わせにおいて威力を発揮します。ダイオードレーザは、安定性の向上、熱と騒動音の低減、省電力化によるランニングコストの削減など数々のメリットを生み出します。



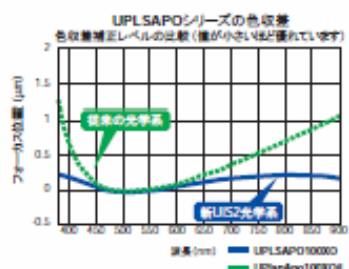
イメージング用レーザを光刺激にも使える  
ダブルファイバ方式を採用。

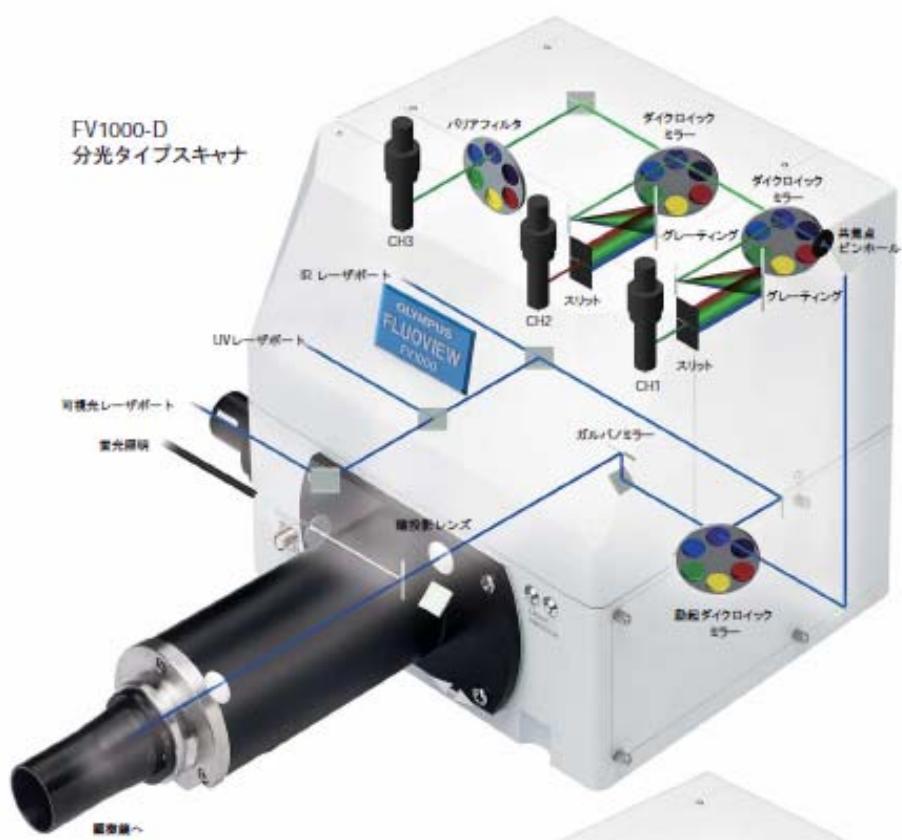
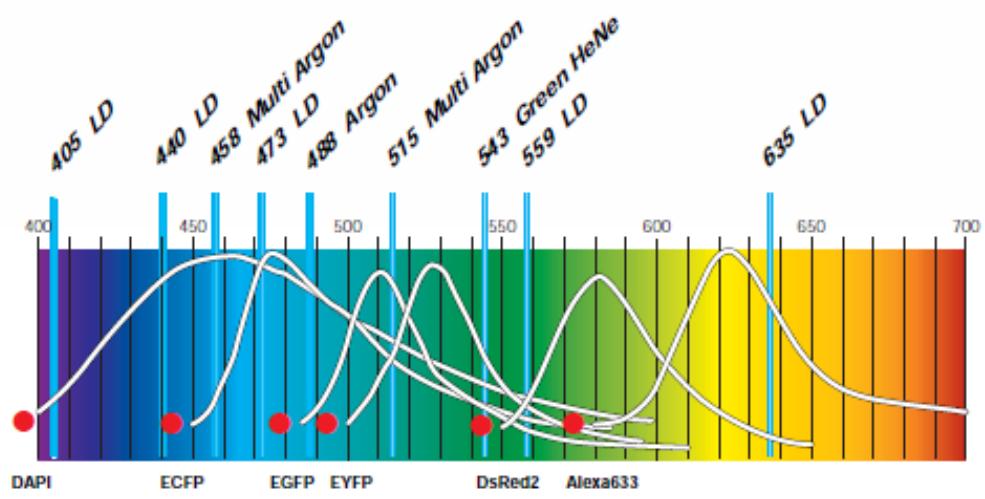
観察に使用しているレーザを、光刺激にも利用できます。対応するアプリケーションの幅が広がったツインスキャナシステムとの組み合わせは、新しい可能性を秘めています。



ブロードバンドファイバとUIS2光学系で、  
軸上色収差を低減。

レーザ導入光学系のブロードバンド化により、可視光レーザと405nmレーザとをファイバ1本で顕微鏡に導入することが可能になりました。さらに、UIS2対物レンズにより、軸方向へのずれが最小限に抑えられ優れた性能を発揮することができます。画像間の色ズレ、位置ズレが少ないので、コローカリゼーションで高い信頼性が得られます。





## SOFTWARE

### FV1000-D SOFTWARE

使いやすさを追求。

#### マルチユーザ対応

マルチユーザーのために、ユーザごとのLog Inを可能にしました。ユーザごとに情報(ウインドウツールバーの表示)が保存できます。ユーザを切替えるには、ソフトウェア起動時に、ユーザごとにLog Inします。



#### On-Lineヘルプ

各コマンドの説明や操作の流れは、On-Line Helpを開くことにより使用方法やコマンドの意味を知ることができます。



#### 共焦点観察と蛍光観察を

##### ワンタッチ切換え

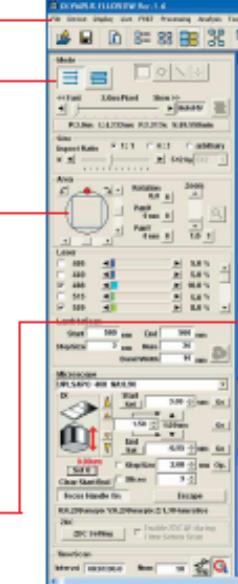
全自动なので、顕微鏡観察と共焦点観察はワンタッチで切換。さらに、顕微鏡設定の変更が必要な場合には顕微鏡設定画面で容易に変更することができます。

顕微鏡設定画面



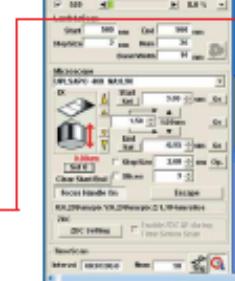
#### 多様なスキャンモードを用意

ROIスキャン、ラインスキャン、ポイント、往復高速スキャンなど、各種スキャン設定ができます。XYZ、XYT、XYZT、XYス、XY入T等自由に組み合わせることができます。



#### 容易なエリア指定

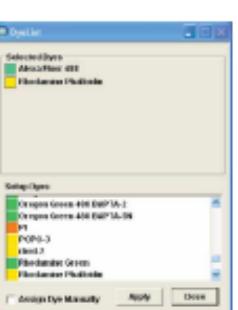
観察視野と走査エリアをグラフィカル表示。スクローラズーム倍率を確認しながら設定できます。Panボタンで画像を取り込む領域を思いどおりに移動できます。また画像のローテーションスキャンもできます。



#### シーケンシャルモードで

##### クロストークを排除

フレームシーケンシャル、ラインシーケンシャルが選択できます。また、画像取得する順番や、組み合わせを自由に変更することもできます。



#### 自由な波長選択

ソフトウェア上で色素名を選択すると、色素の蛍光特性が表示され理想的な波長が自動で選択されます。もちろん、分光検出器の波長幅は、取得する蛍光波長のピークに合わせて、マニュアルで1nmステップの自由な調整ができます。

#### リアルタイム輝度グラフ表示

取得中のライブ画像は、リアルタイムで

輝度グラフを表示することができます。

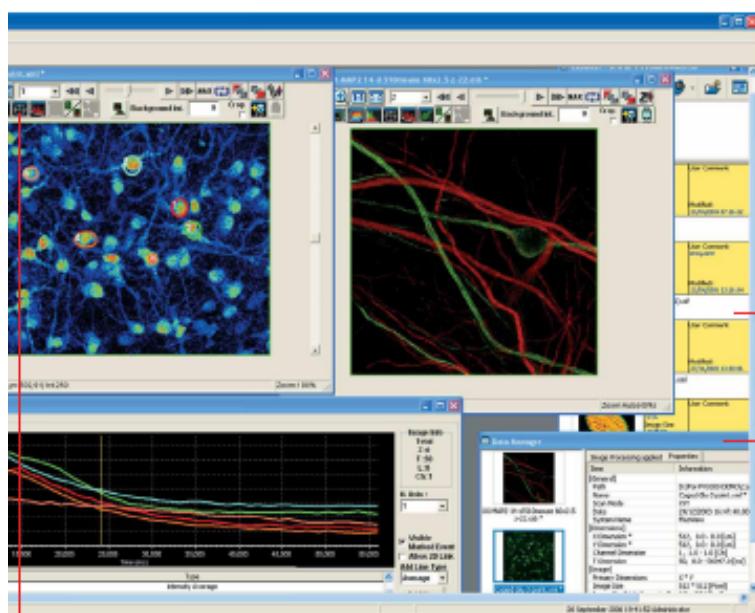
12bitフルに活用して画像を取得する時の感度設定に便利です。

リアルタイム輝度グラフ表示



3D,4D,5Dシリーズの画像取得が  
簡単に可能  
入シリーズやZシリーズ、タイムラプスなど  
多次元を組み合わせた取得が簡単  
にできます。

**オートコントラスト**  
オートコントラストは、自動でPMT電圧の設定ができ、簡単に画像を出すことができます。



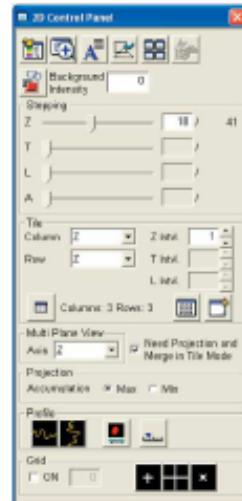
#### 2D View 解析ツール

- Background subtraction: バックグラウンドを減算。
- Region Measurement: ROI指定された領域の大きさや輝度を計測。
- Intensity Profile: ROIまたはLineで指定された領域の輝度プロファイルを表示。
- Histogram: ROI指定された領域の輝度値をヒストグラム表示。

- Series Analysis: ROI指定された領域の輝度のZ軸時間軸に  
沿った変化を解析。
- Line Series Analysis: 指定されたLine上の輝度のZ軸時間軸に  
沿った変化を解析。
- Colocalization: 2Ch間のある一定の明るさ以上のピクセルの  
重な密度合いを解析。
- Ratio: 2Ch間の輝度比を求めた画像を作成。

#### 自由な画像表示

2D Control Panelは、表示したい画像を自由に操作できます。タイル表示や  
多次元の画像を自由に選択し表示する  
ことができます。



#### 容易な画像検索

エクスプローラーは、同時にサムネイル表示ができるため、簡単に過去のデータ  
を探すことができます。

#### データマネージャ

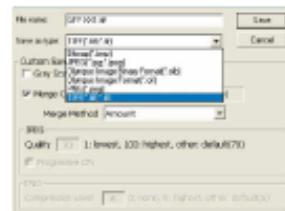
サムネイル表示及び各種ファイル情報  
を表示します。

#### リユース機能

過去に使用したスキャン設定条件を  
呼び出せるので、同じ条件で実験が  
行えます。

#### ファイルI/O

各走査条件、顕微鏡の条件を画像  
と同時にセーブするために、OIB  
(Olympus Image Binary format)を採  
用しています。また、互換性の高い  
TIFFやBMP、JPEG等各種フォーマット  
に対応しています。



## TIME COURSE

### Live Tileモード、見返し機能。

タイムラプス画像撮影中に、これまでに撮影した画像を確認できます。レスト時間中にフォーカスや画像の明るさ調整を行うことも可能です。

### 高速画像撮影モード(4kHz/Line)。

256×256画素の共焦点画像を1秒間に16フレーム取得できる高速スキャンモードを搭載しました。クリップスキャント併用することでビデオレート以上の画像取得にも対応します。

### 多様なラインスキャンモード。

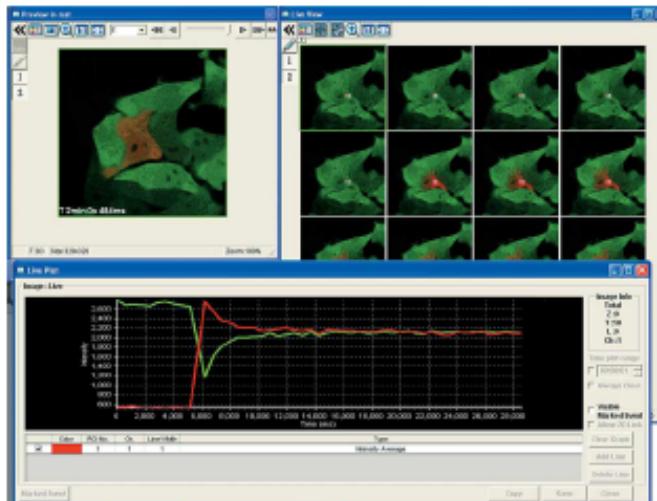
直線、斜線、自由曲線のラインスキャンにより、msecオーダーでの経時変化の解析が容易に行えます。またZや入を入れた複雑な時間経過観察もできます。

### トリガ機能。

外部機器とスキャンを同期させるためのトリガ機能も充実。トリガ信号によって、スキャンを開始/終了させたり、外部トリガごとのフレーム収集も可能です。

### レーザモニタリング機能。

常に一定の励起光がサンプルに照射されるようにレーザ出力にフィードバックをかけます。レーザの出力変動に留意する必要がなく正確にサンプルの蛍光量の測定が可能です。



### Live Plot機能。

画像撮影中にROI指定した領域の蛍光輝度変化をリアルタイムでプロットされます。

## TIME CONTROLLER

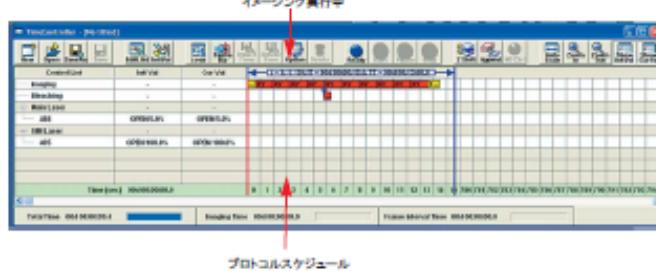
### さまざまな実験のフロー、実験プロトコルのスケジュールを可能にするタイムコントローラ\*。

●タイムコントローラは、観察中に画像取得条件を容易に変更することができます。FRAP、FLIPの様な実験系はじめ以下のようなプロトコルをサポートします。

#### <例>

1. ハードディスクに保存しながら画像を取得する。
2. 時間経過観察のインターバルを途中で変更する。
3. 励起レーザを途中で変更しながら画像を取得する。
4. あるタイミングから外部トリガを出力する。
5. リファレンス画像を取得後、レーザパワーと励起領域を変更する。

●プロトコルスケジューリングエリアにタスクバーを描いて、実験プロトコルをスケジューリングします。プロトコルスケジューリングエリアの中の、コントロールしたい項目の欄上でマウスをクリック、ドラッグすることで設定が自由にできます。

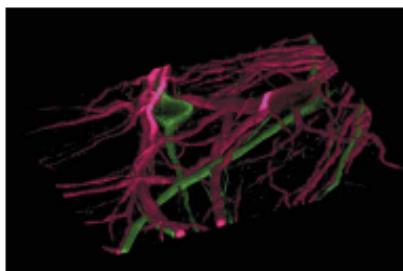


プロトコルスケジュール  
エリア

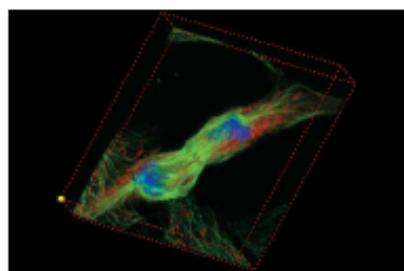
**3D**

選べるレンダリングモード。

3D表示機能のレンダリングモードとして、Alpha Blend法とMaximum Intensity Projection法が選択可能です。標本に応じて最適なレンダリング法を選択してください。



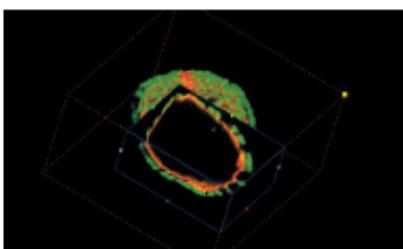
Alpha Blend法（マウス海馬由来の培養神経細胞）  
三菱化学生命科学研究所 分子細胞医学  
池上浩司先生、高麗光利先生



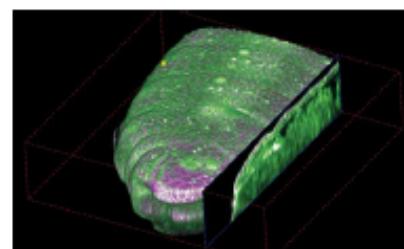
Maximum Intensity Projection法（PK2細胞）

インタラクティブボリュームレンダリング。

3D表示機能ではインタラクティブボリュームレンダリング法により、3D構築画像をマウスの操作により、見たい方向に自由に角度をかえられます。また任意の場所での断面を表示可能、エクステンドフォーカス画像などの多彩な表示機能を保有しています。



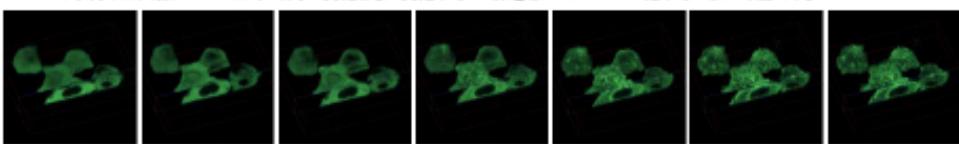
ユリの花粉



ショウジョウバエステージ17の野生型の胚  
東京大学大学院新領域創成科学研究科  
先端生命科学専攻遺伝子システム革新学分野  
小嶋泰也先生

4Dアニメーション作成機能。

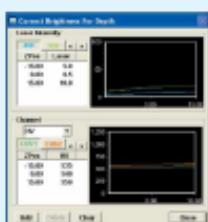
XYZTで取得した画像については、時間の変化とともに変化する3D構造をアニメーション化することができます。



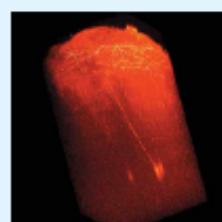
HeLa細胞(PKC-GFP) PMA刺激により、PKCが膜へ移動している様子

深さ方向の明るさ補正機能。

3D画像を取得する場合、深部になるにつれて画像が暗くなってしまいます。一定の明るさを保ったまま深部の画像を撮影できるように、深部に行くに従ってレーザ強度ないしは、PMTの感度を高める機能が搭載されています。



補正なし



補正あり

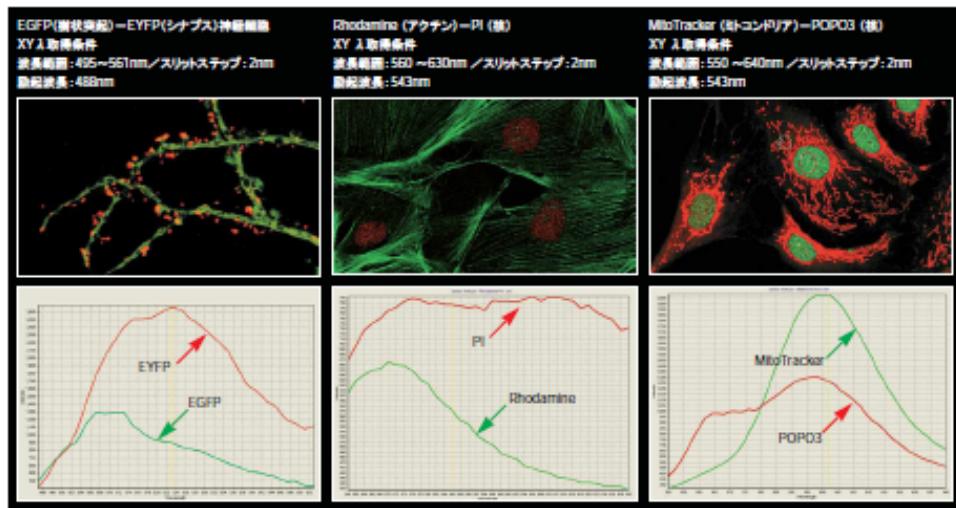
## UNMIXING

FV1000-D SOFTWARE

### 容易な蛍光分離。

ノーマルモードとブラインドモードの2つのモードにより、簡単に蛍光分離ができます。ノーマルモードは、既知の蛍光色素波長データや取得した画像より指定ROI部分のスペクトルをもとに蛍光を分離します。ブラインドモードは、蛍光スペクトルが何種類あるという手がかりをもとに、全てのスペクトルから、一番誤差が少なくなるようにそれぞれのスペクトルへ収束していき、それぞれのスペクトルを作りだします。

- 2nmの波長分解能の実現により、波長のピークの近似した2つの蛍光色素によるクロストークも確実に分離することができます。
- 各蛍光色素に輝度差があっても分離できます。
- ピークが重なって見えるようなスペクトルもグレーティングを細かく振ることにより、さらに高精度なスペクトルが得られ、分離できます。



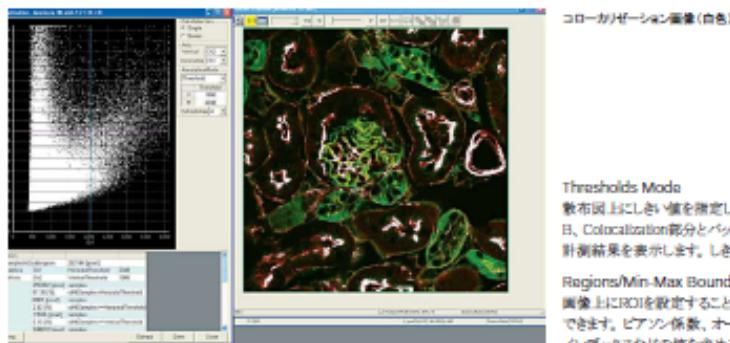
東京医科歯科大学医学部研究科 細胞生物学　田村要男先生

## COLOCALIZATION

FV1000-D SOFTWARE

### チャンネル間の輝度の重なり度合いを解析。

多重染色の解析として、ラベルした物質が同じ所に局在するかを簡単に知ることができます。また、その量(コローカリゼーションの量)はピアソン係数、オーバーラップ係数、コローカリゼーションインデックスなどの定量化が可能なため、異なるサンプル間で比較することができます。シリーズ画像解析への応用にも対応しています。



### Thresholds Mode

散布図上にしきい値を指定し、4つのカテゴリ(シグナルA、シグナルB、Colocalization区分とバックグラウンド)に分け、そのしきい値による計測結果を表示します。しきい線は、ドラッグして移動できます。

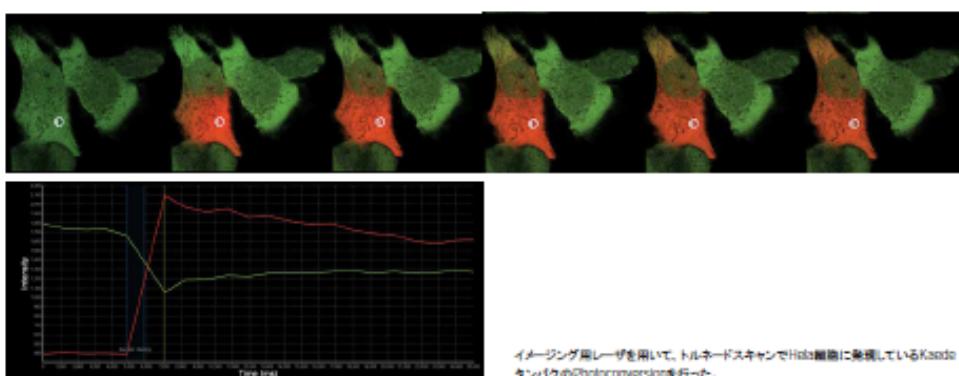
### Regions/Min-Max Bound Mode

画像上にROIを設定するごとに、コローカリゼーション画像を作成できます。ピアソン係数、オーバーラップ係数、コローカリゼーションインデックスなどの値を求めることができます。

## PHOTO STIMULATION

FV1000-D SOFTWARE

- 光刺激設定機能(Stimulus Setting)によりメインスキャナ(イメージングスキャナ)又はツインスキャナどちらでも光刺激実験が可能です。メインスキャナのみでも、タイムコース中に、レーザのスキャンモード(レーザ波長、レーザ照射領域)を瞬時に切り換えて光刺激を行うことが可能です。(ただし、光刺激中の画像は取得できません。)
- 光刺激にトルネードスキャンも使用可能です。FRAPや、Kaecheタンパク等のPhotoconversionの実験に適します。
- 輝度解析は蛍光輝度の変化と同時に光刺激のタイミングが表示されます。



イメージング用レーザを用いて、トルネードスキャンでHela細胞に発現しているKaecheタンパクのPhotoconversionを行った。

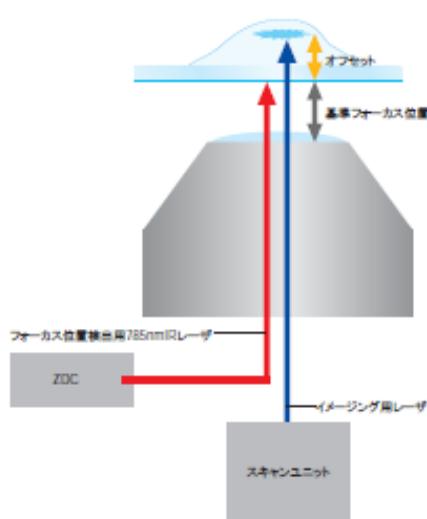
## FV1000-ZDC

FV1000-D OPTION

### 共焦点タイムラプス観察時のフォーカスズレを解消。

長時間のタイムラプス観察では、顕微鏡周辺の温度環境変化や実験途中の投薬などがドリフトの要因になり、フォーカスズレを起こします。Z方向に高い分解能をもつ共焦点レーザ走査型顕微鏡では、僅かなドリフトでも研究者の全く意図しない画像になってしまいます。オリノバスは世界に先駆けて共焦点レーザ走査型顕微鏡にフォーカスズレ補正機能を搭載し、共焦点タイムラプス観察時のフォーカスズレの問題を解消しました。

- タイムラプスの撮像直前にピントを自動的に合わせ直します。
- ボトムディッシュ底面をピント合わせの基準にするので、サンプルの状態に影響されずに狙ったZスライス像が得られます。
- フォーカスズレを想定して複数枚Zスライス画像を撮像する必要がないため、サンプルへの励起光照射を最小限にとどめます。



## FLUORESCENCE DYES

