

2025.4.1 | 株式会社エビデント | LSテクニカルセールス 元島ゆき

FV4000 特徴と納入仕様

岡山大学 資源植物科学研究所



Agenda

01 納入仕様

02 アプリケーション事例

03 FV4000 特徴

01

納入仕様

FV4000 正立型

励起レーザー

405/488/561/594/594nm

波長	代表的な試薬
405nm	DAPI、Hoechst、BFP
488nm	Alexa488、FITC、GFP
561nm	Alexa568、CY3、RFP
640nm	Alexa633、CY5
594nm	Alexa594、mCherry

スキャナー

ハイブリッドタイプ

(高精細ガルバノ+高速レゾナント)



検出器

SilVIR 4ch (BSDx2, RSDx2)

※自動的に適切な検出器が割り当てられます

正立型顕微鏡 本体

電動レボ - 7本レンズ装着可

電動コンデンサ (DIC対応)

電動ステージ

対物レンズ

ドライ - 10X、20X

油浸 - 40X、60X、100X

シリコン浸 - 30X

FV4000 正立型

励起レーザー

405/488/561/594/640

スキャナー

ガルバノスキャナー
レゾナントスキャナー

正立型顕微鏡 本体

電動レボ - 7本レンズ装着可
電動コンデンサ (DIC対応)
電動ステージ

対物レンズ

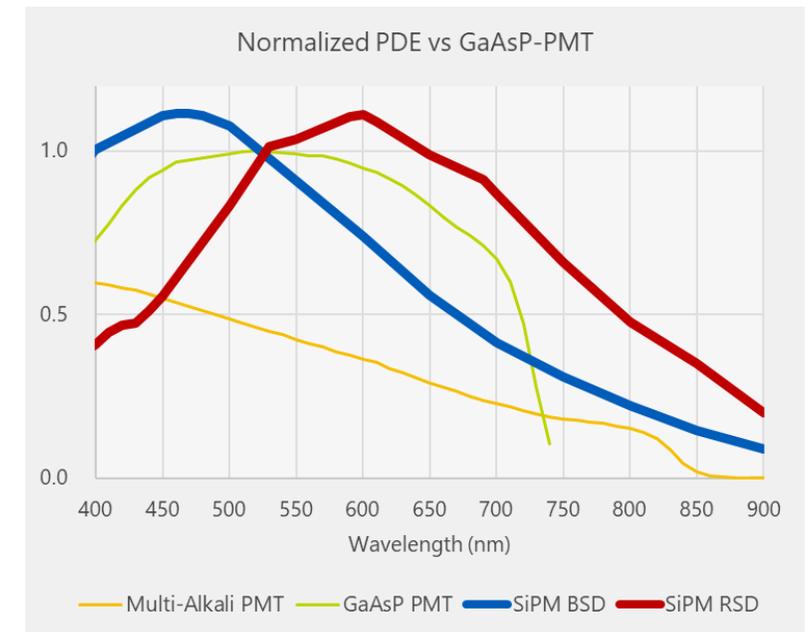
ドライ - 10X、20X
油浸 - 40X、60X、100X
シリコン浸 - 30X



検出器

SiVIR 4ch (BSDx2, RSDx2)

※自動的に適切な検出器が割り当てられます



対物レンズ 一覧

型式	NA	WD (mm)	イマージョン
UPLXAPO10X	0.4	3.1	—
UPLXAPO20X	0.8	0.6	—
UPLXAPO40XO	1.4	0.13	Oil
UPLXAPO60XO	1.42	0.15	Oil
UPLSAPO30XS	1.3	0.8	Silicon
UPLAPO100XOHR	1.5	0.12	Oil

XAPO (X Line) シリーズ

- ✓ 400-1000nmの範囲で色収差を補正
- ✓ フラットネスを改善
- ✓ 従来よりも高いNA



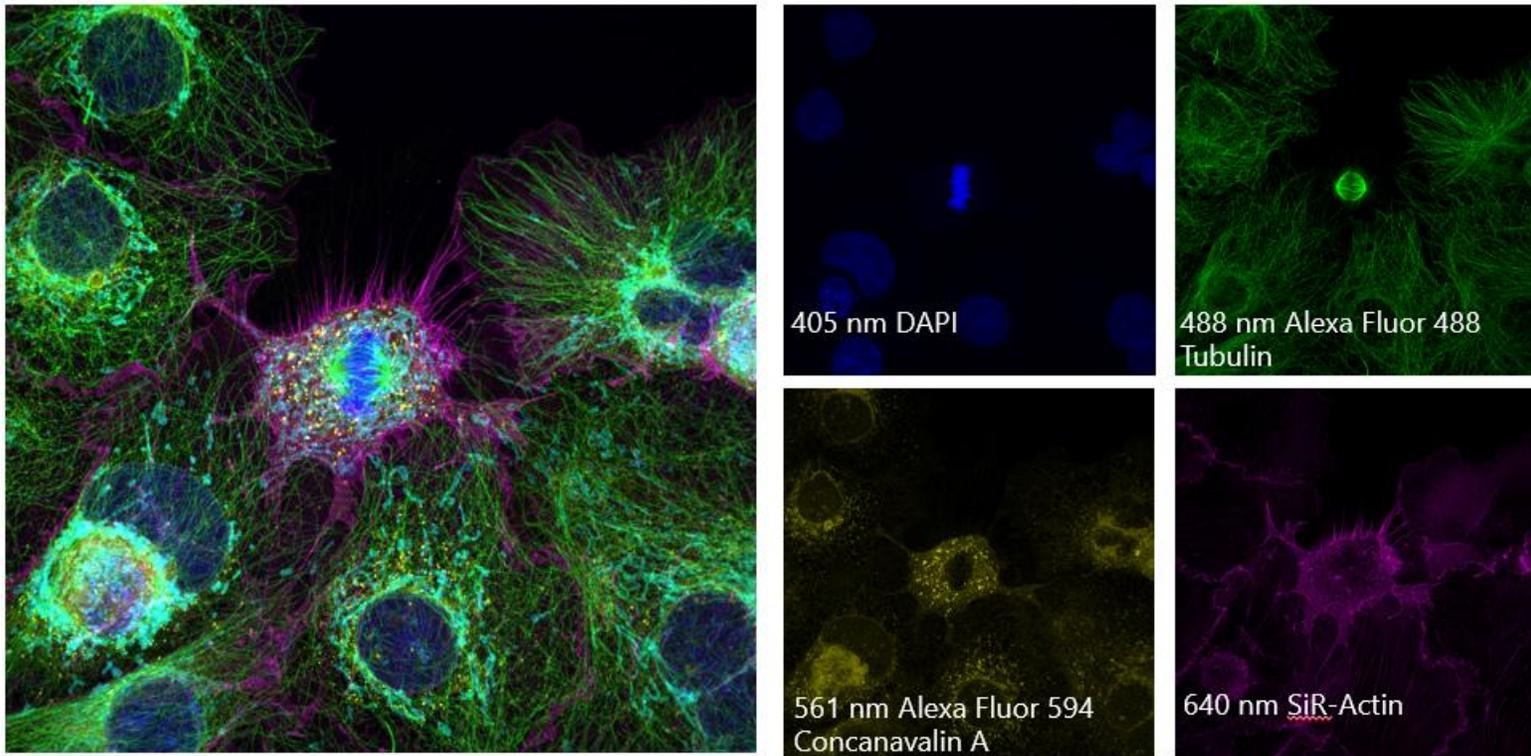
イマージョン使用後は、
必ずクリーニングをお願いします。

02

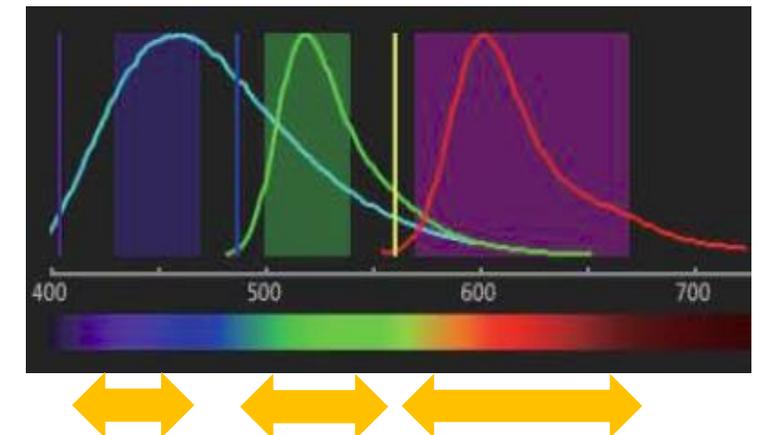
アプリケーション事例

マルチカラーイメージング

- 4色同時観察可能 シーケンシャルスキャン
- 検出波長域は自由に変更可能 (400-900nm)

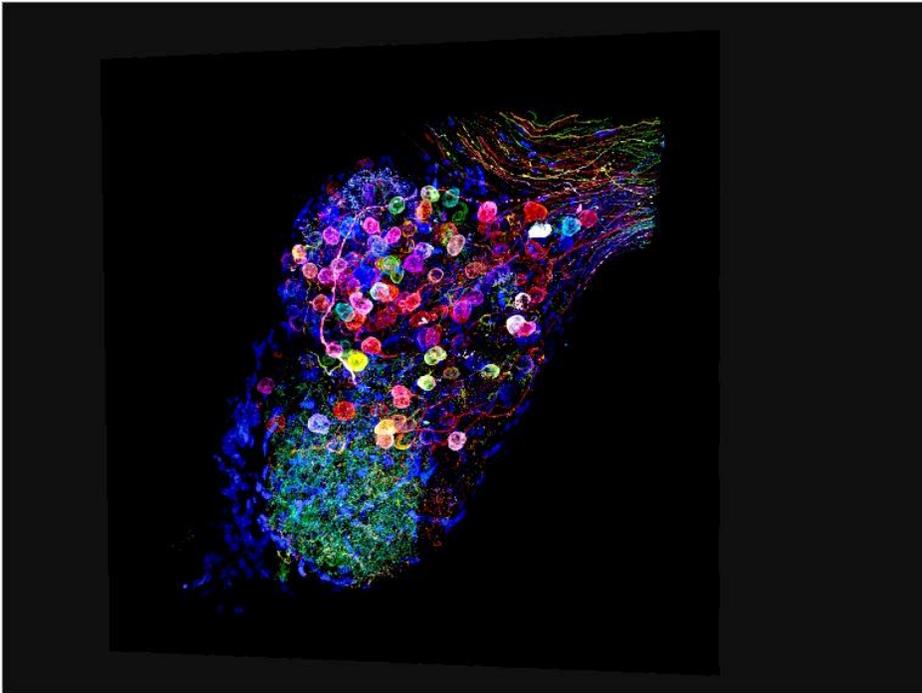


レーザー波長	代表的な試薬
405nm	DAPI、Hoechst、BFP
488nm	Alexa488、FITC、GFP
561nm	Alexa568、tdTomato
640nm	Alexa633、CY5
594nm	Alexa594、mCherry



Zスタック (XYZ)

- Start/End、RangeによるZ範囲設定
- BrightZ機能により、Zポジションに応じてレーザー/HV設定を変更可能
- 厚みのあるサンプルは、スペーサーを使うことで潰さずに観察可能



透明化試薬で透明化したニワトリ毛様体神経節の3Dイメージ

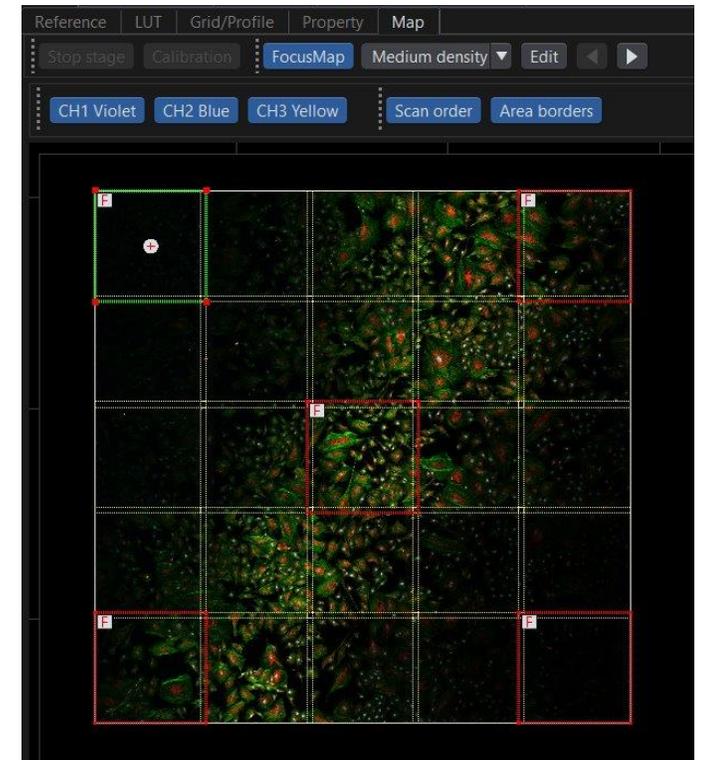
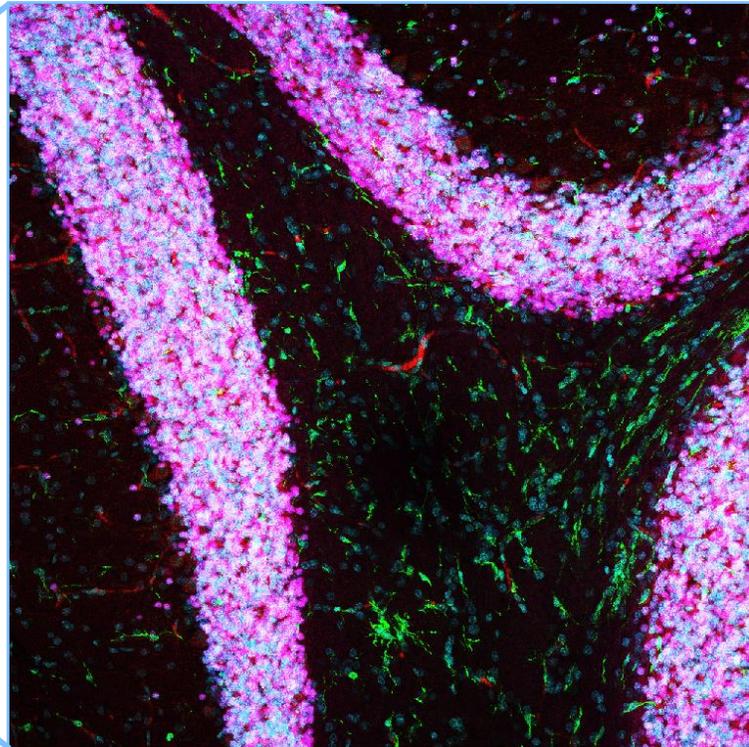
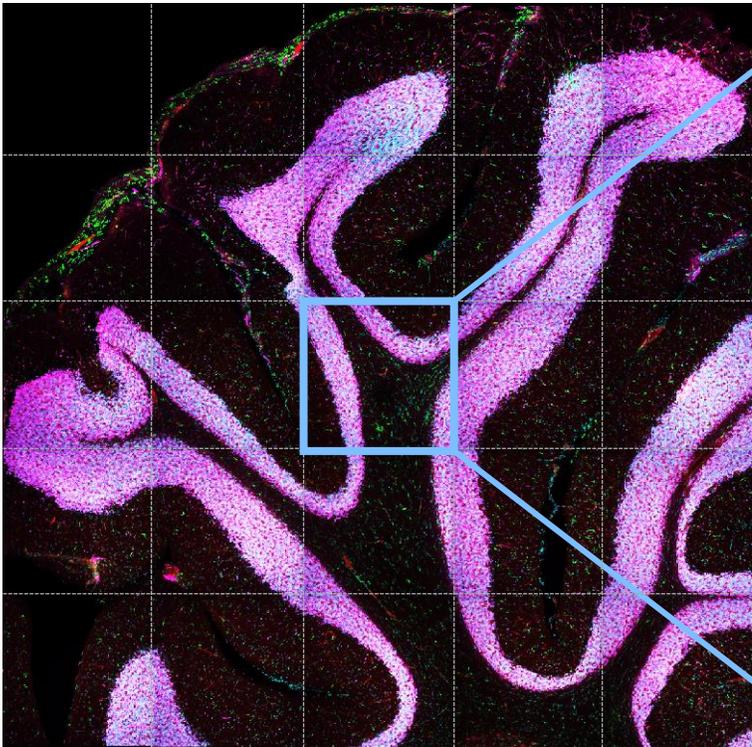
画像データご提供：東北大学大学院 生命科学研究科 脳機能解析分野 金谷 哲平 様、江川 遼 先生



体組織を良好な形状に保つ試料ホルダー（組織透明化試薬RapiClear用）
[iSpacer](#) | [フナコシ](#)

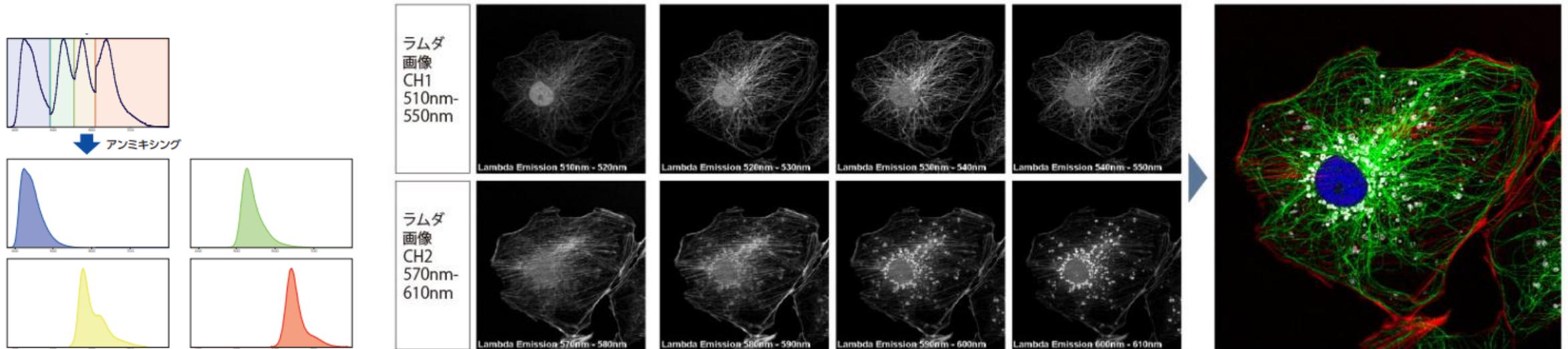
タイリング撮影

- タイリング、マルチエリア観察が可能
- “Intelligent shading correction”により、貼り合わせ精度アップ
- 自由度向上した Focus Map機能



スペクトルイメージング (XYλ)

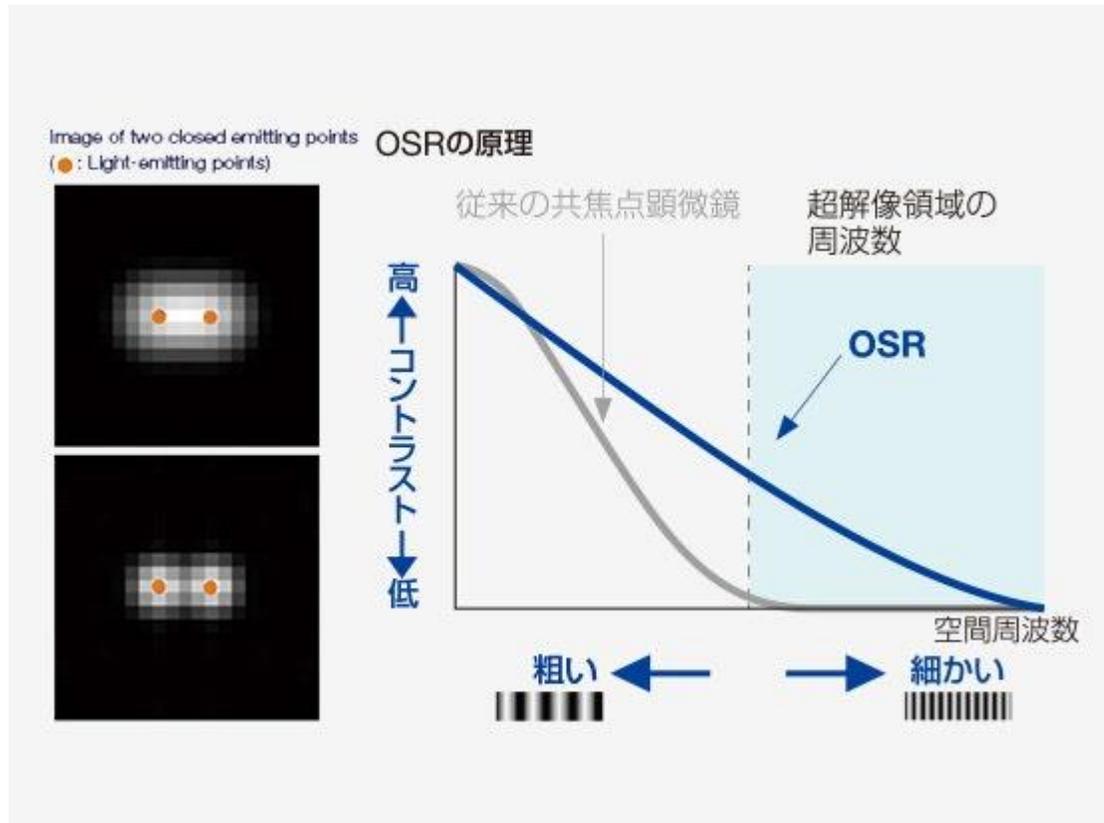
- ラムダスキャンにより、各ピクセルのスペクトル情報を取得できます。
- スペクトル情報をもとに、アンミキシング (=チャンネル分け) をすることが可能です。



YOYO-1, Alexa Fluor 488, Rhodamine-phalloidin とMitoTraker Red で4重染色されたPtK2細胞の多チャンネルラムダ画像を使用したスペクトラムアンミキシング

超解像 FV-OSR

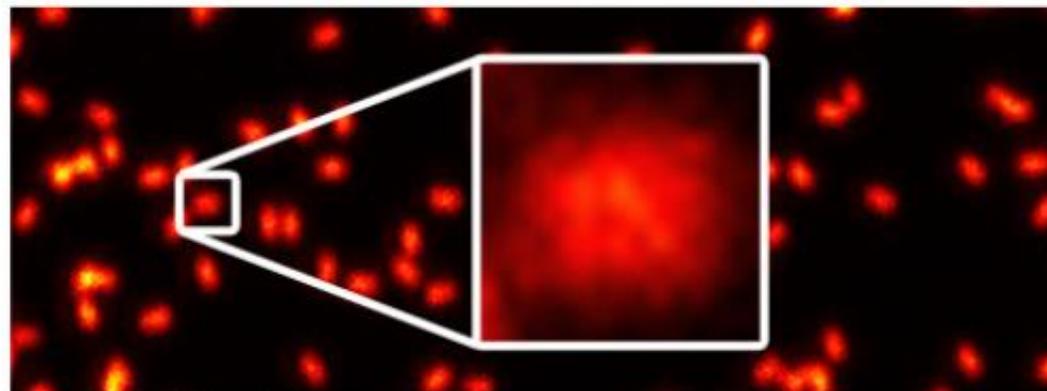
- ✓ 共焦点ピンホールを絞る + 超解像成分のコントラスト回復処理により、120nmの分解能を実現
- ✓ 特別な蛍光標識は不要



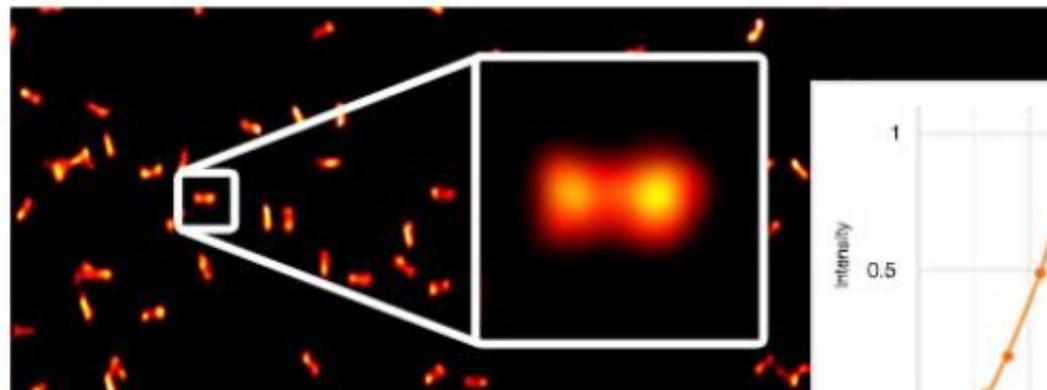
TruSight デコンボリューション

TruSightモード搭載

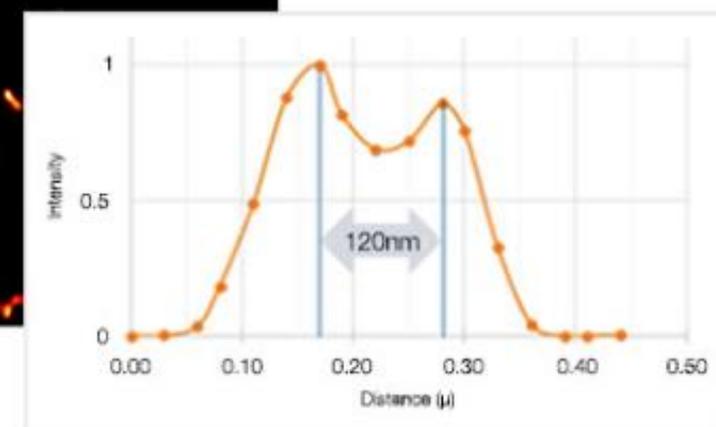
- 光学的なボケ、ノイズの除去によりコントラスト向上
- GPUによる高速処理をサポート



TruSight 不使用時



TruSight 使用時



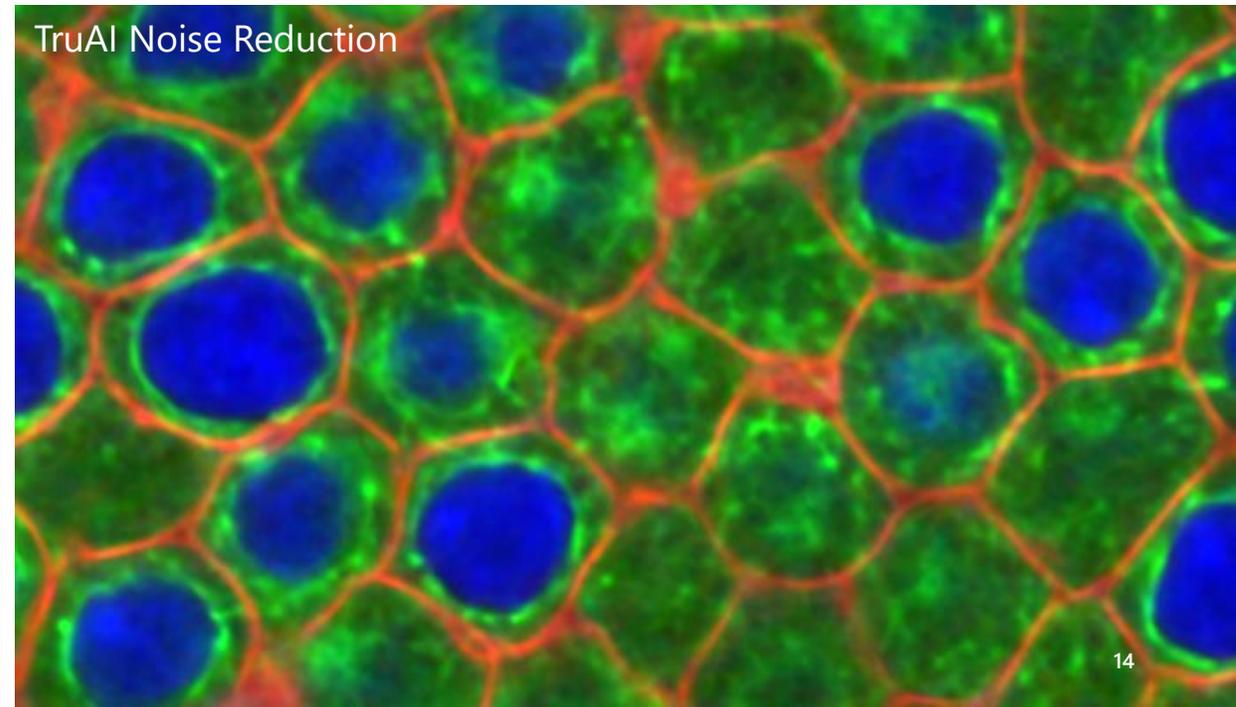
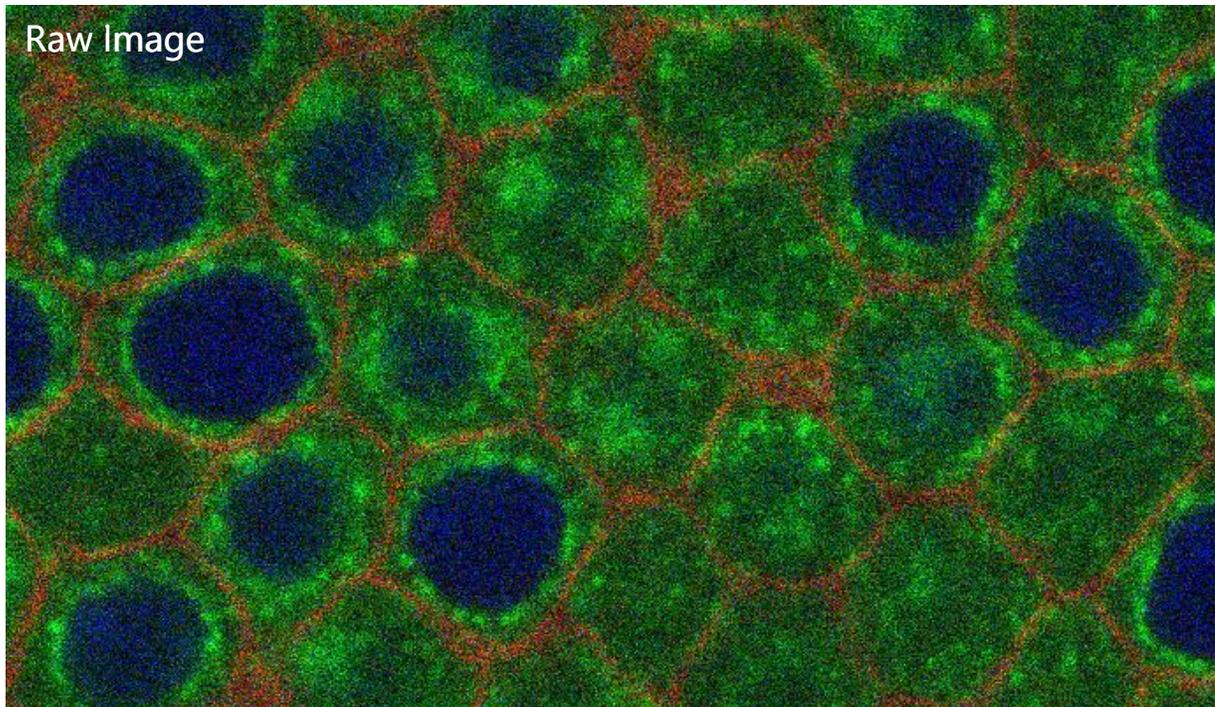
AIを使用したノイズ除去 (TruAI Noise Reduction)

- ▶ 時間分解能を犠牲にせずに画質改善
- ▶ 学習済みのアルゴリズムを適用するのみ
- ▶ オンラインプロセッシングも可能

Live imaging of epithelial cells in the early Drosophila embryo (green: microtubule labeled with GFP; red: cell membrane labeled with mScarlet; blue: nucleus labeled with emiRFP670)

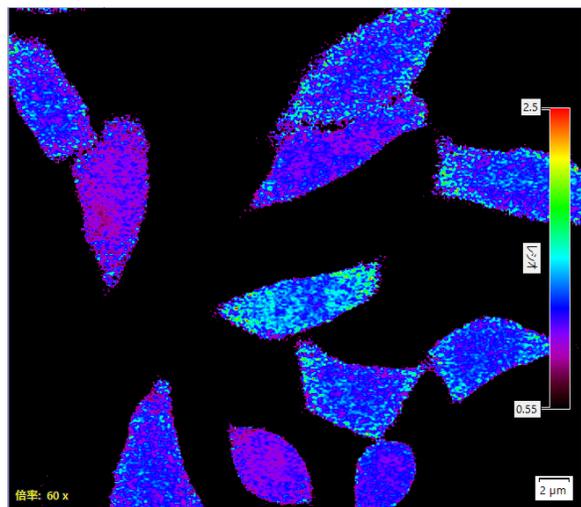
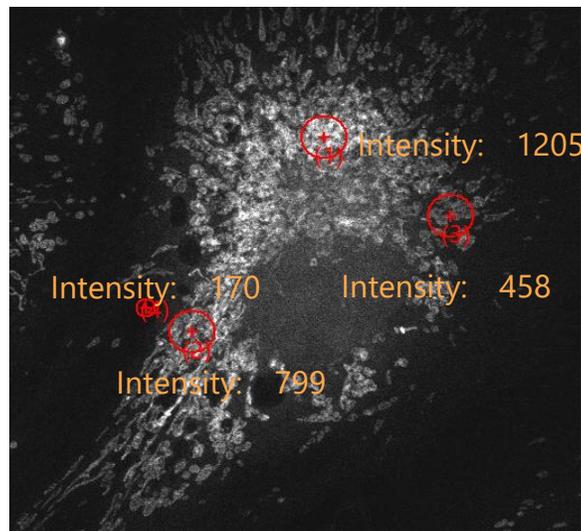
Sample courtesy of: WANG Yu-Chiun, Ph.D., M.Takeda
Laboratory for Epithelial Morphogenesis,
RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research, Japan

学習済みAIによりノイズ除去が可能



解析機能 – cellSens Dimension Desktop

- 輝度解析 (Intensity/photon)
- コロライゼーション解析
- Ratio表示
- 平滑化フィルタ
- シリーズ画像の結合/抽出
- MIP処理



コロライゼーション

散布図
チャンネル1: U-FUNA
チャンネル2: U-FBW

14224
10669
7113
3556
0
U-FUNA
U-FBW
0 1420 2839 4259 5677

プレビュー

対象
範囲: フレーム全体

対象
 すべてのフレーム(A)
 選択されたフレーム(S)
次元セクタ(D)

モード
 四角形
 しきい値
四分の一を使用: A (左上)

最小チャンネル1: 4217
最大チャンネル1: 10889
最小チャンネル2: 2386
最大チャンネル2: 4580

結果 (現在のフレーム、すべての ROI)

パラメータ	結果
ピアソンの相関係数 R(r):	-0.230
オーバーラップ係数 R:	0.964
オーバーラップ係数 k1:	0.295
オーバーラップ係数 k2:	3.152
コロライゼーション係数 m1:	0.069
コロライゼーション係数 m2:	0.027
ピクセルの合計:	1392640
選択されたピクセル:	1392640

OK キャンセル デフォルト(F) オプション(P)...

03

FV4000の特徴

FV4000 正立型

励起レーザー

405/488/561/594/640

スキャナー

ガルバノスキャナー

レゾナントスキャナー

正立型顕微鏡 本体

電動レボ - 7本レンズ装着可

電動コンデンサ (DIC対応)

電動ステージ

対物レンズ

ドライ - 10X、20X

油浸 - 40X、60X、100X

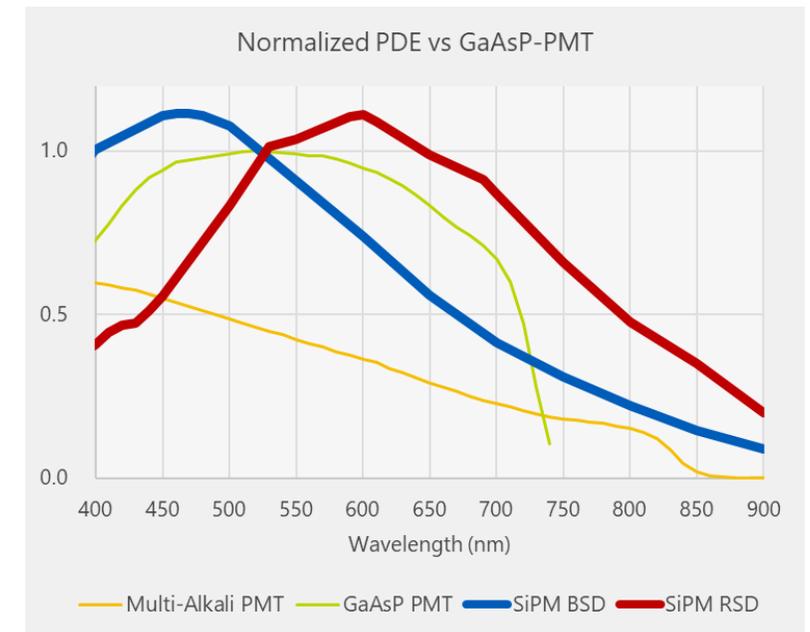
シリコン浸 - 30X



検出器

SiVIR 4ch (BSDx2, RSDx2)

※自動的に適切な検出器が割り当てられます



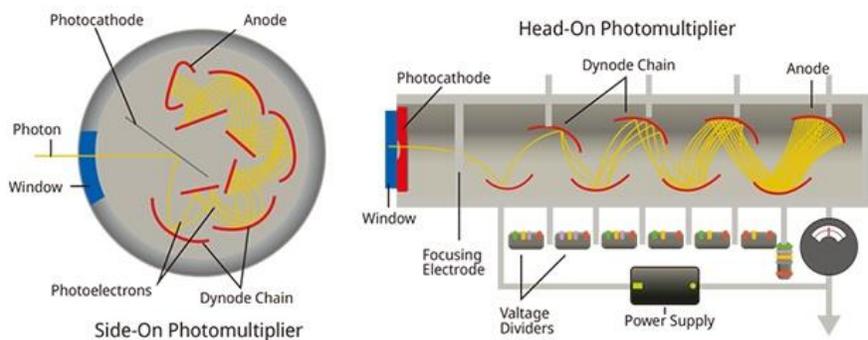
検出器は次世代へ

LSMの誕生とともに

Multi-alkali PMT

2010年頃～

GaAsP PMT



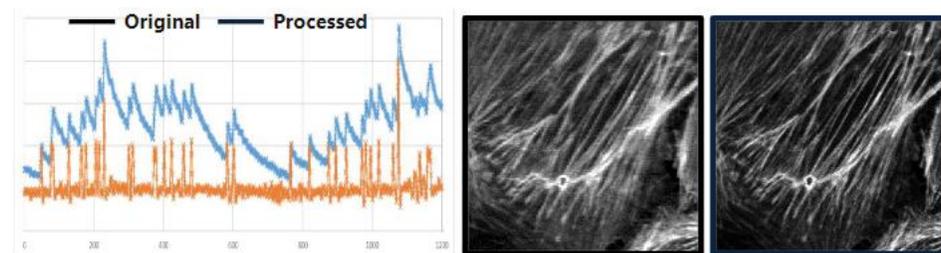
SiVIR

(**S**ilicon based detector from **V**isible to **NIR**)

半導体センサー-SiPM

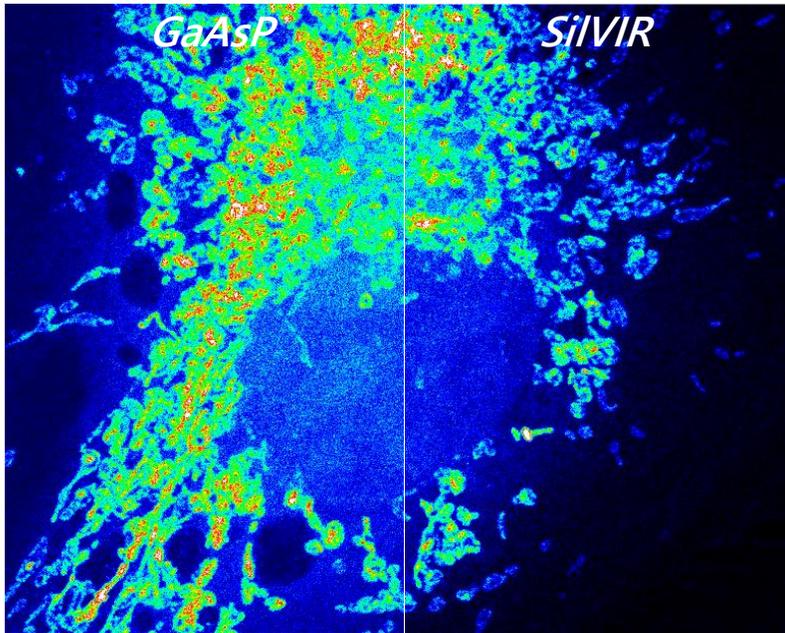


検出回路
弊社独自の高速プロセッシング

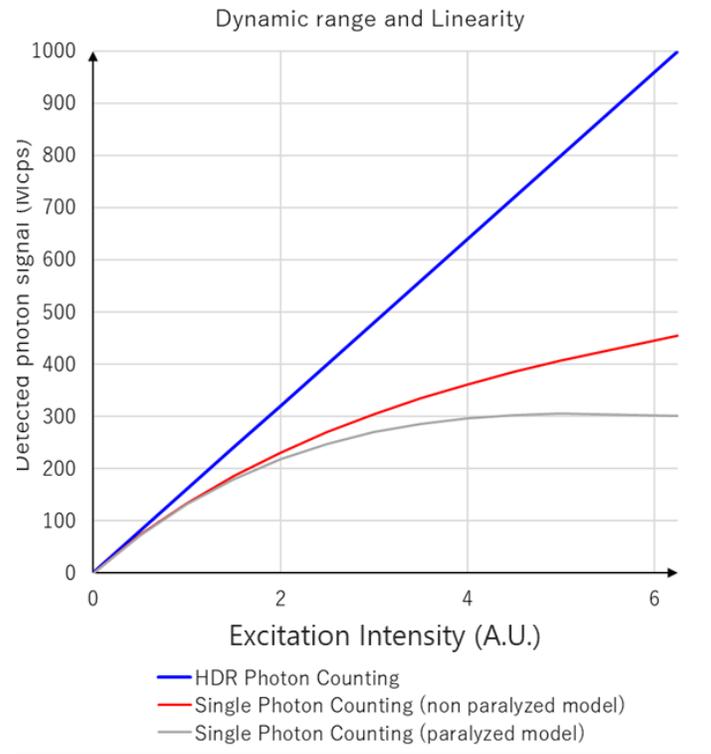


SiVIR検出器

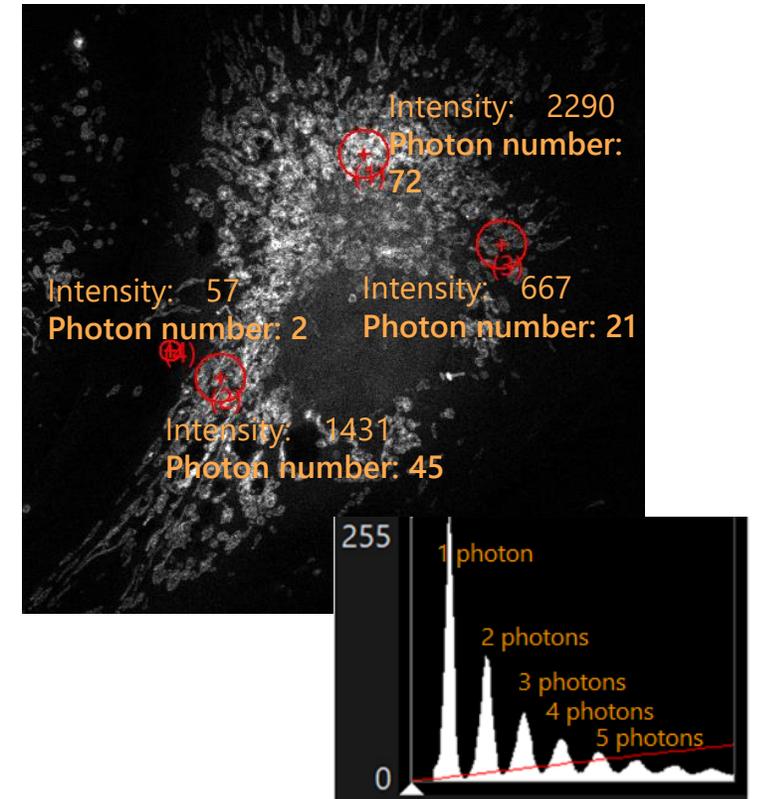
➤ 超低ノイズ



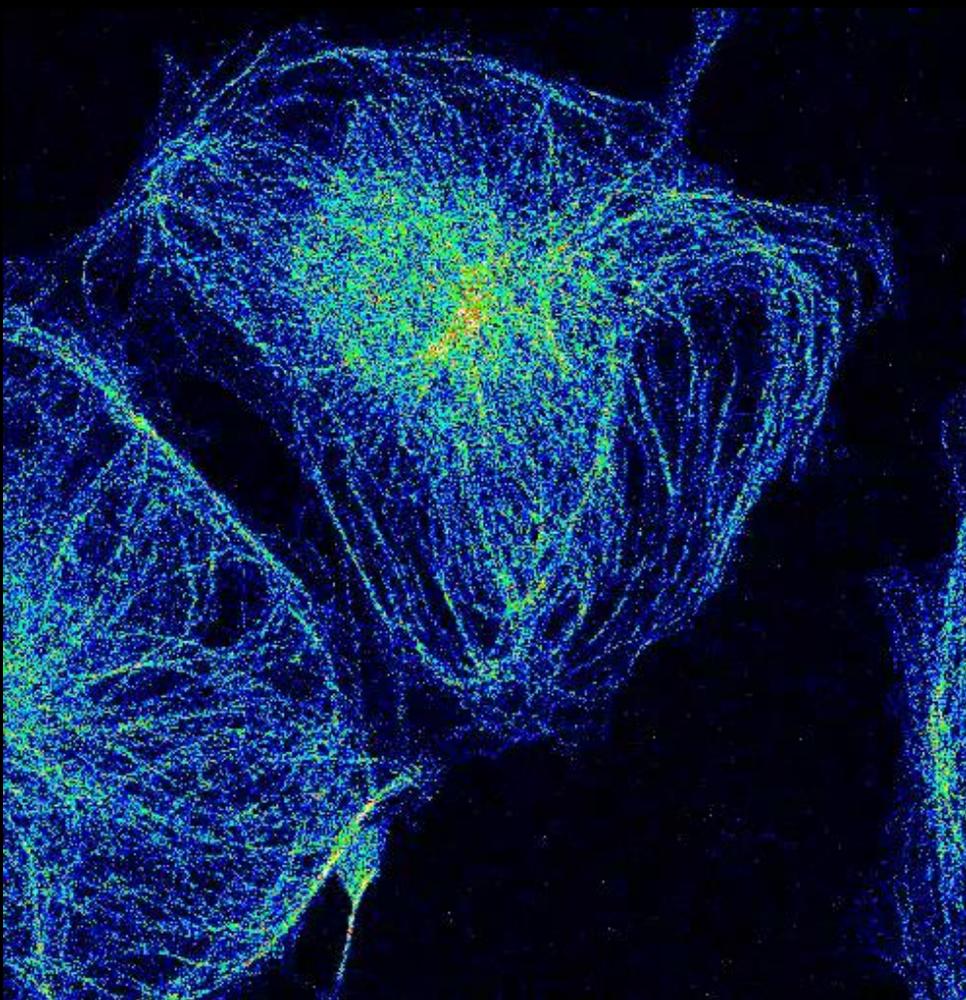
➤ 広いダイナミックレンジ



➤ 定量性



ソリューション① 超低ノイズ



[SiVIR] レゾナントスキャナ Averageなし 30fps



シグナルは検出できたが。

- ・ノイズが多くて細部が確認しづらい
- ・画像全体の印象が悪い

これまでの対処法

- ・Average回数を増やす
- ・スキャンスピード改善のため視野をクリップ...

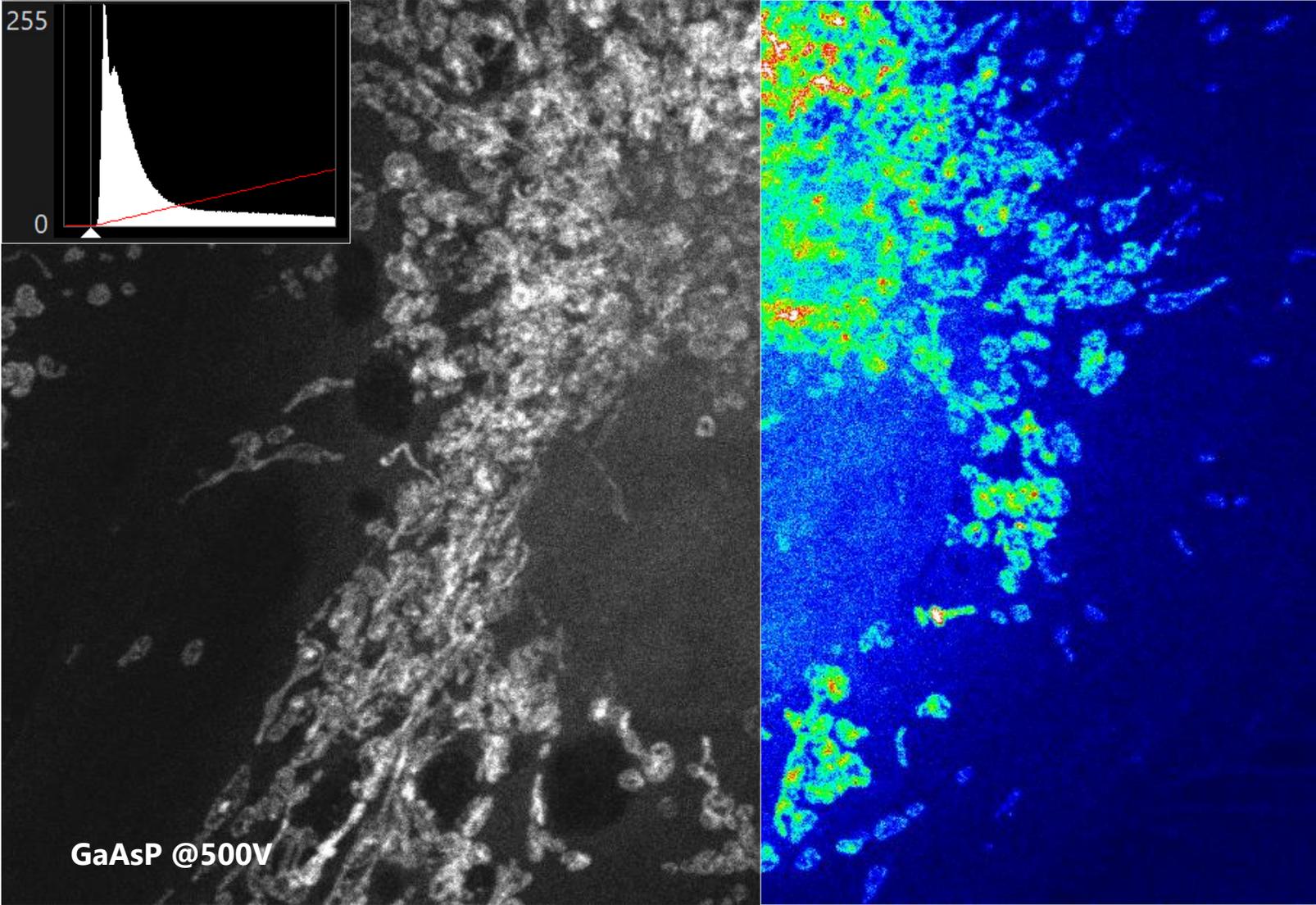
スキャンスピード△
視野サイズ△



SiVIRなら！

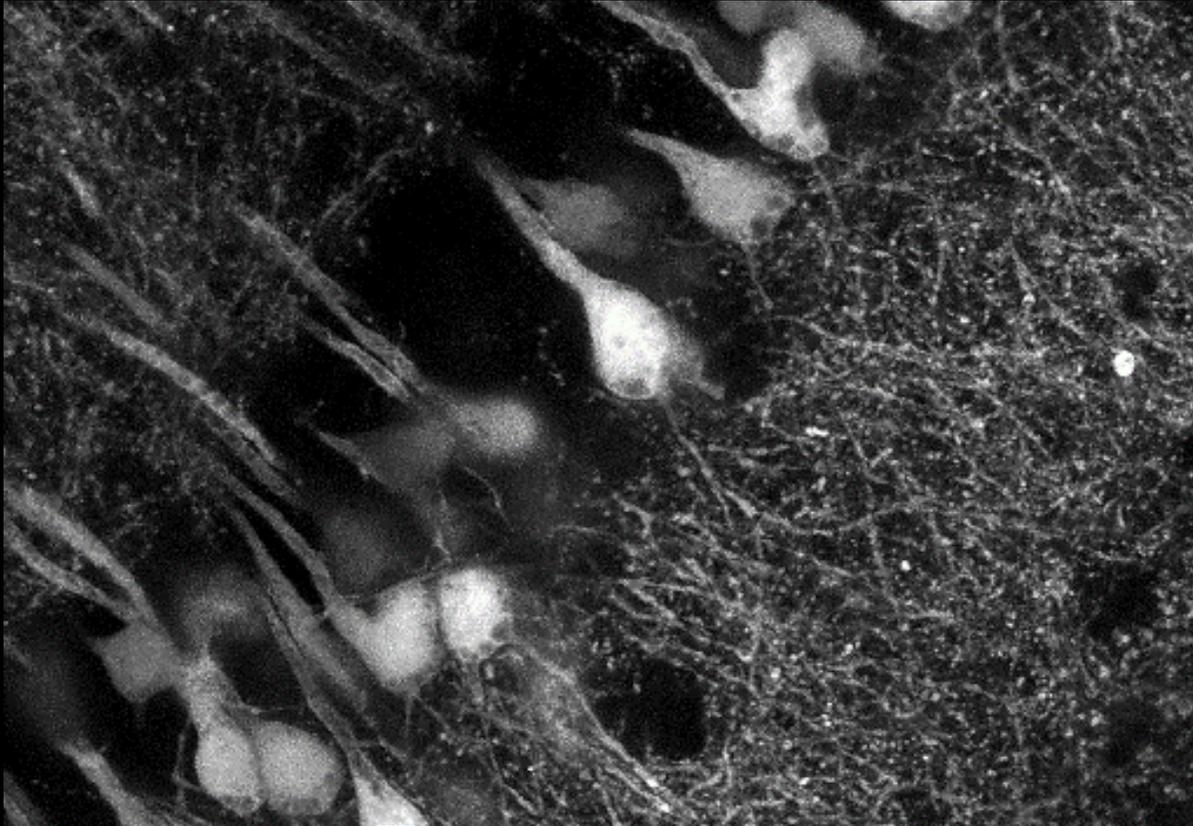
New

圧倒的低ノイズを実現



- 微弱蛍光を捉えられる
- 励起光を弱くできる

ソリューション② ハイダイナミックレンジ



視野全体をちょうどいい明るさにできない。

- ・細胞体のシグナルが強すぎてサチュレーションする
- ・サチュレーションしないよう感度を下げると肝心のファイバーが見えなくなってしまう。。

これまでの対処法

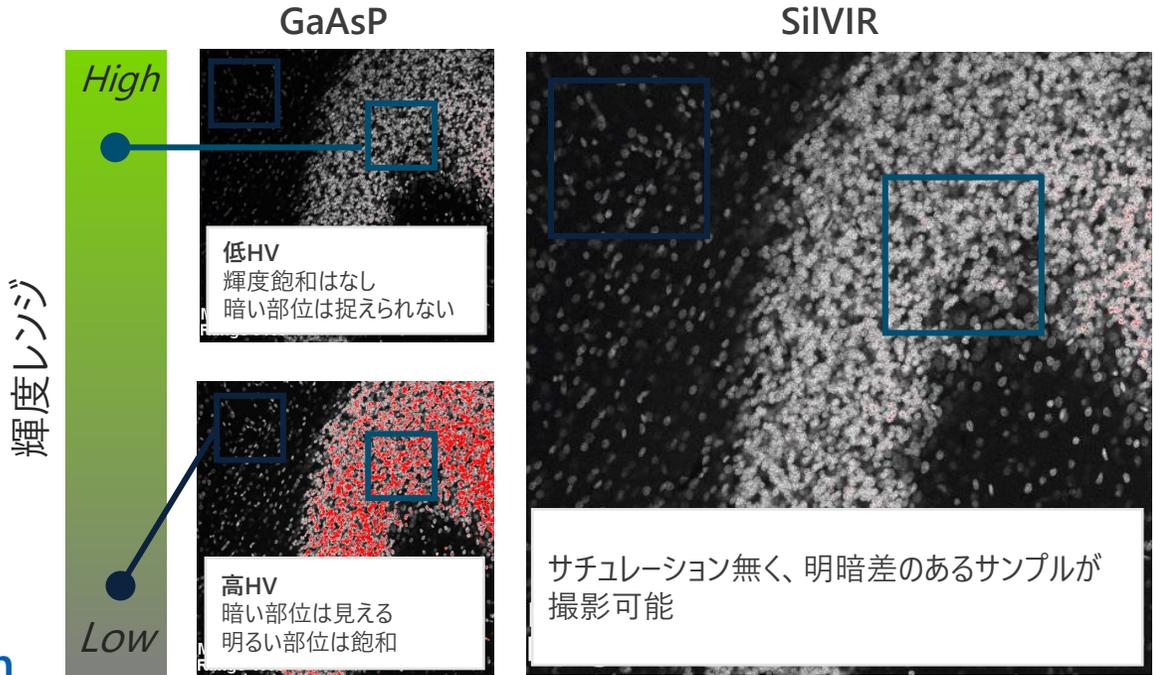
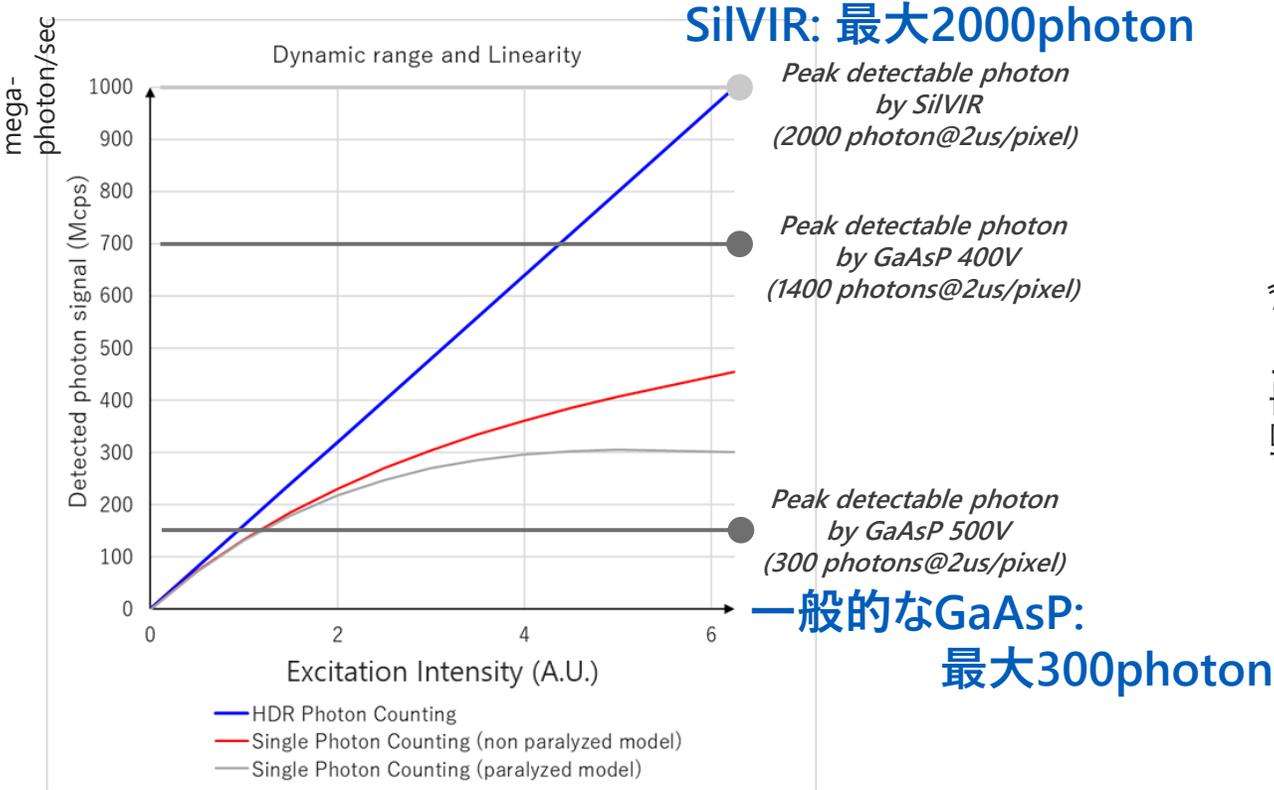
- ・高/低 感度設定で、2回撮る..



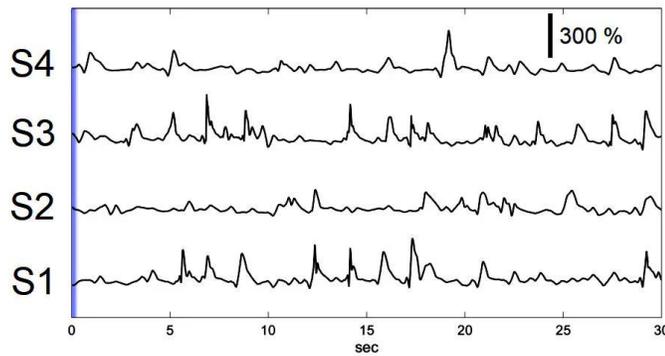
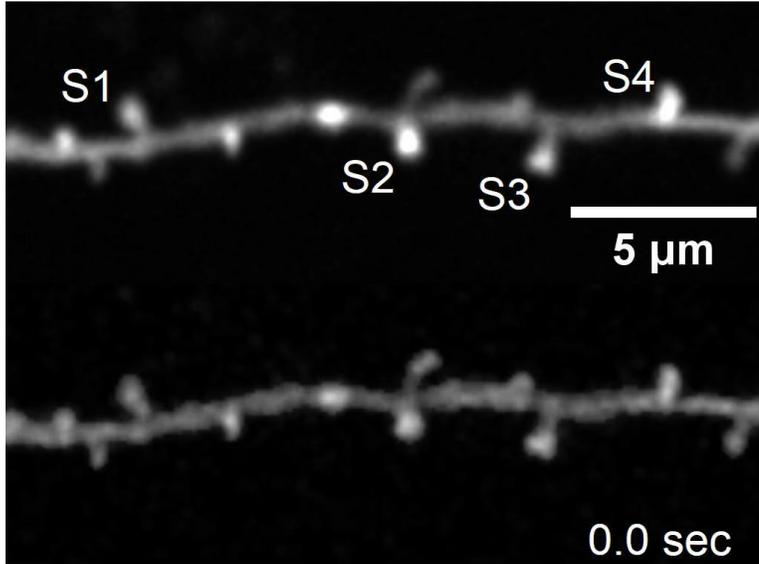
SiVIRなら！

ハイダイナミックレンジ

- SiIVIRのダイナミックレンジはGaAsP (HV500V)の**約7倍**
明るい部位も暗い部位も撮りこぼさない
- 検出感度 (HV, Gain) の調整は不要



イメージングの成功率を向上



輝度値の変動が大きいタイムラプス

従来：

輝度値の上昇が大きい場合、サチュレーションしてしまう。

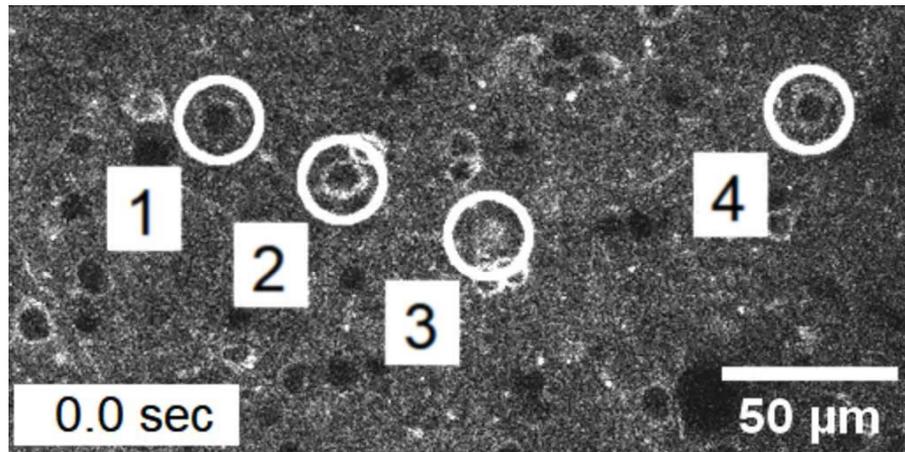
思ったよりも輝度値の変動が小さい場合、
全体的に輝度が低いまま終わってしまう。



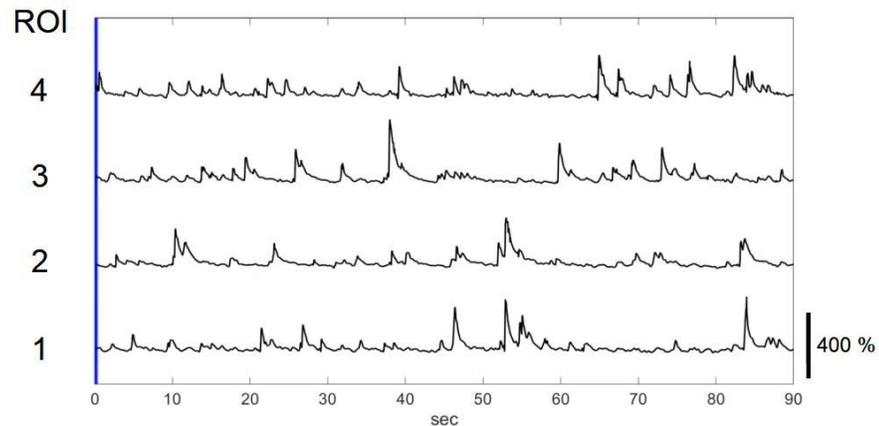
SiVIRなら！
サチュレーションの心配なし

iGluSnFRを使用したマウス大脳皮質前頭連合野におけるグルタミン酸作動性シナプス入力のある *in vivo* イメージング
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 多階層精神疾患研究チーム 小澤 克也様、林（高木） 朗子先生

カルシウムイメージングに最適



- ✓ ハイダイナミックレンジにより、輝度変動が大きい場合にもサチュレーションの心配なし
- ✓ 16bit画像のため、微細な輝度変動も定量化可能
- ✓ 高速レゾナントスキャナとの組合せで30fps (最速438fps)



jRGECO1aを使用したマウス大脳皮質神経細胞の*in vivo* Ca²⁺イメージング

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 多階層精神疾患研究チーム 小澤 克也様、林（高木） 朗子先生

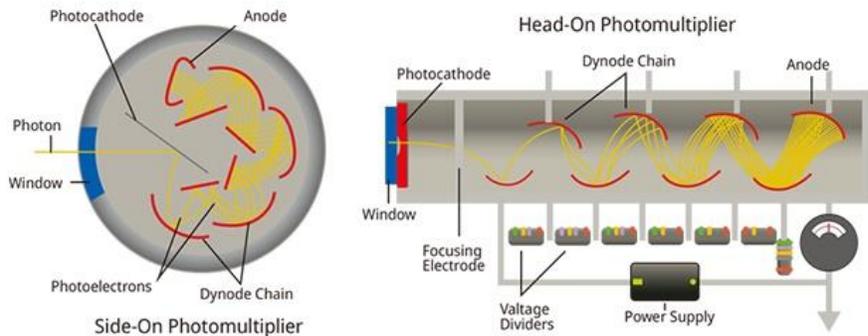
SiVIR検出器の安定性

LSMの誕生

Mul

2010年頃～

GaAsP PMT



感度の劣化は不可避

- ✓ 使用することにより感度低下
- ✓ 強い光を受光すると劣化は早まる

SiVIR

(Silicon based detector from Visible to NIR)

半導体センサー-SiPM



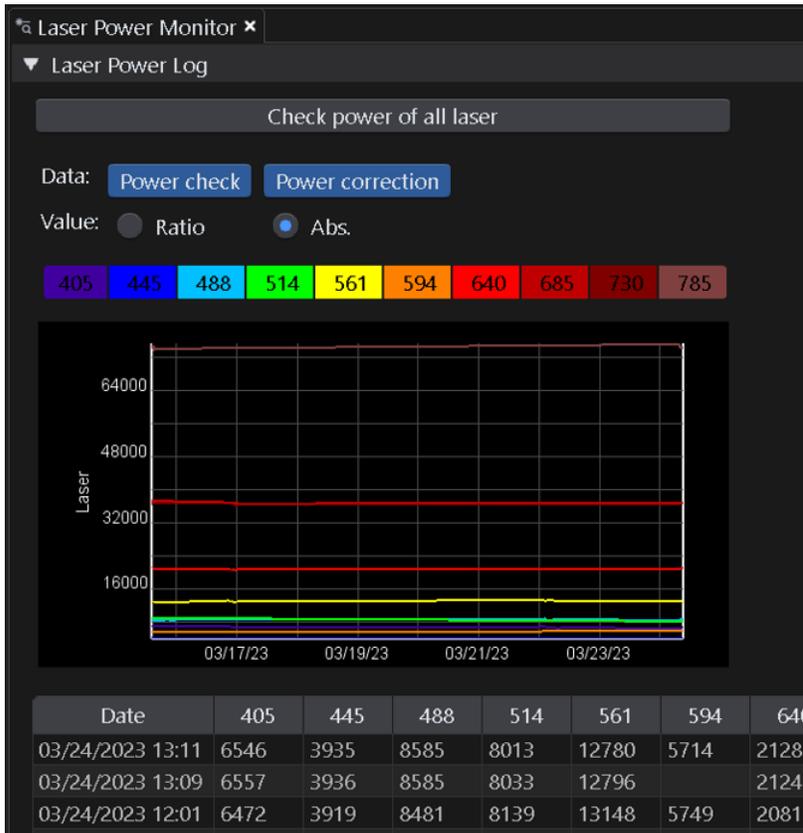
感度の劣化は起こらない

- ✓ 常に感度が低下せず一定
- ✓ 強い光を受光しても劣化しない
(かつ、個体差が非常に少ない)

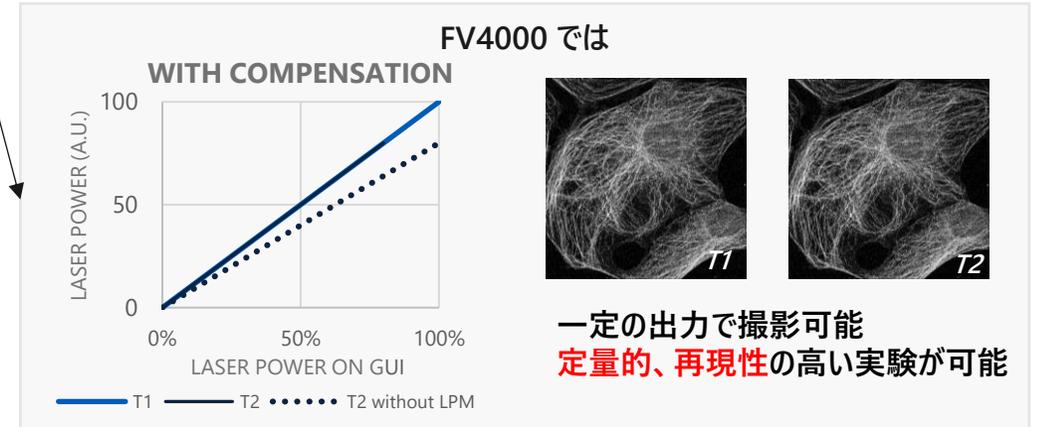
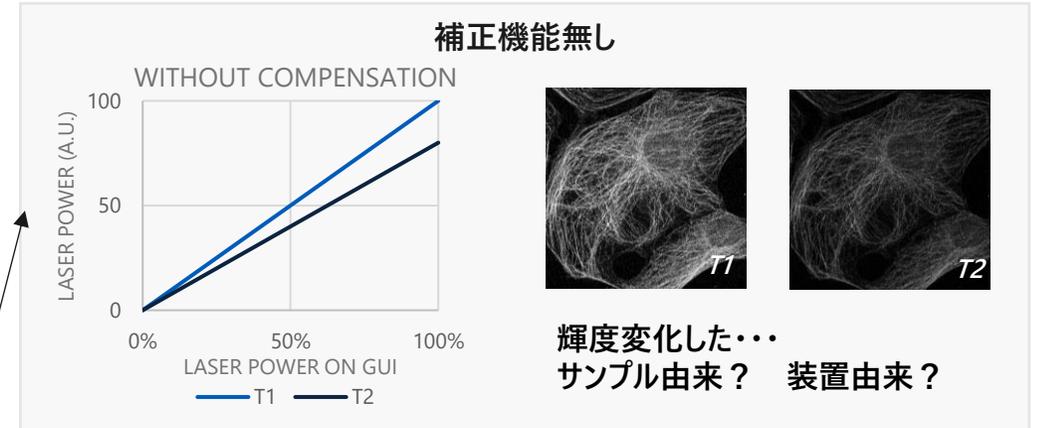
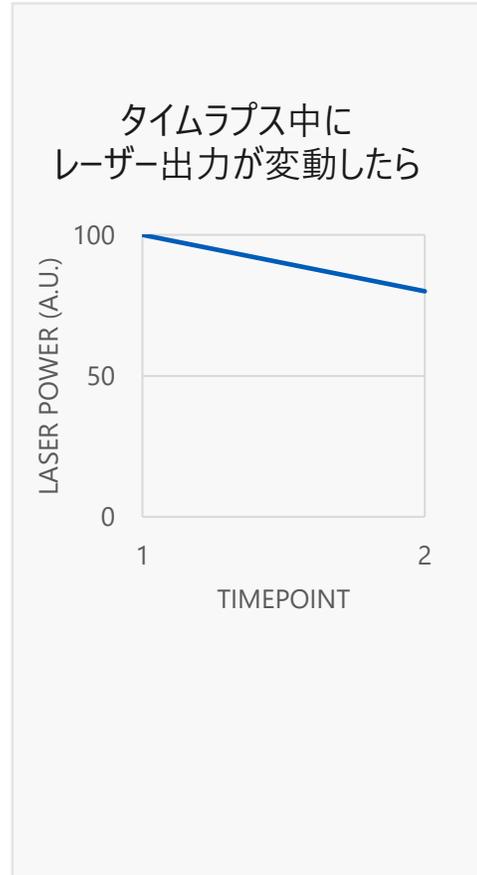


励起光強度も一定に

➤ 励起光強度を補正する事で、常に一定の条件で撮影が可能



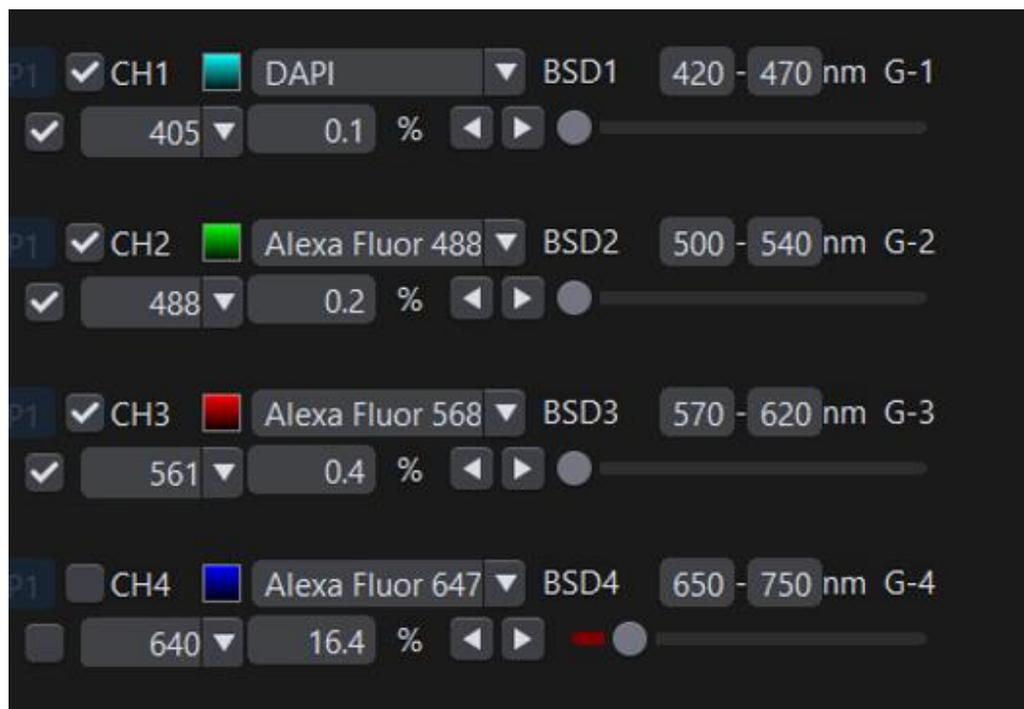
レーザーパワーの変動を補正



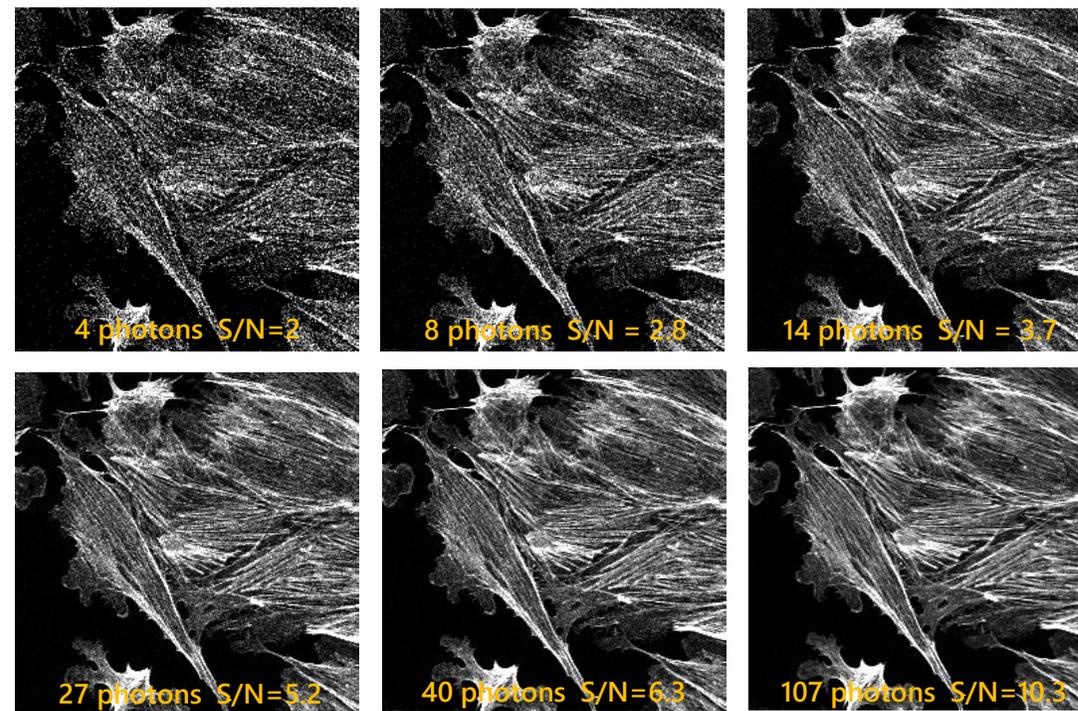
New

撮影条件がシンプルに

- HV、Gain、Offsetは固定値となり、パラメーター調整が不要に！
- サチュレーションを気にせずに設定できる
- フォトン数を目安に条件設定が可能に

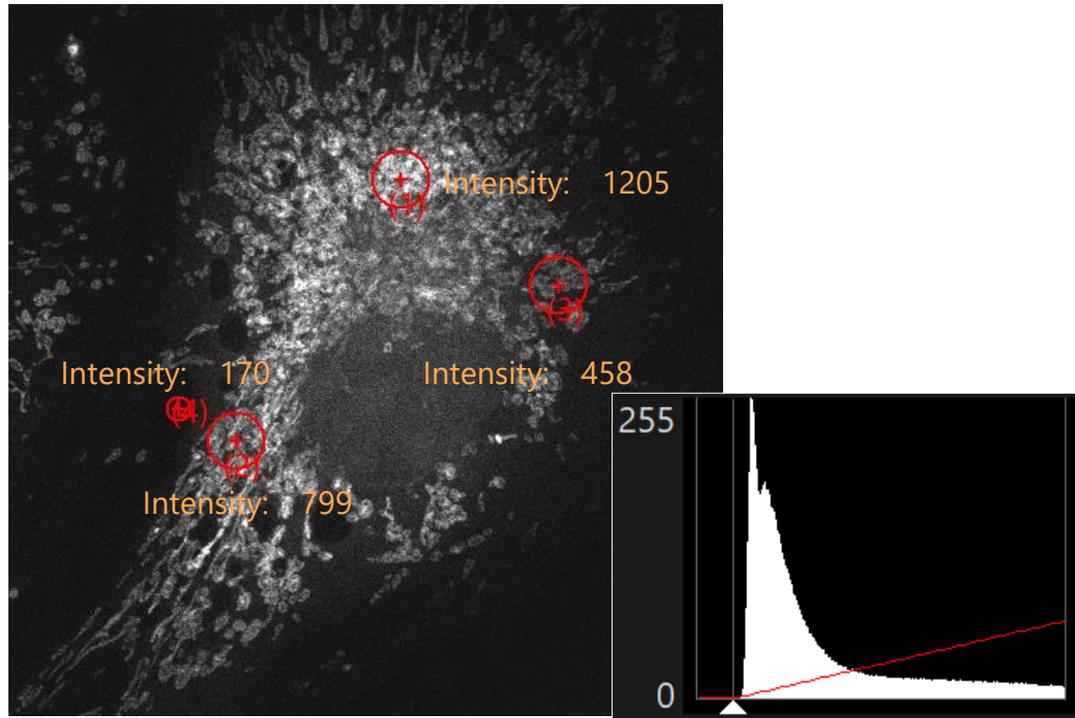


明るさ調整はレーザーパワーのみ



画質=S/Nはフォトン数に比例
定量的な画質評価が可能

ソリューション③ 定量性の向上

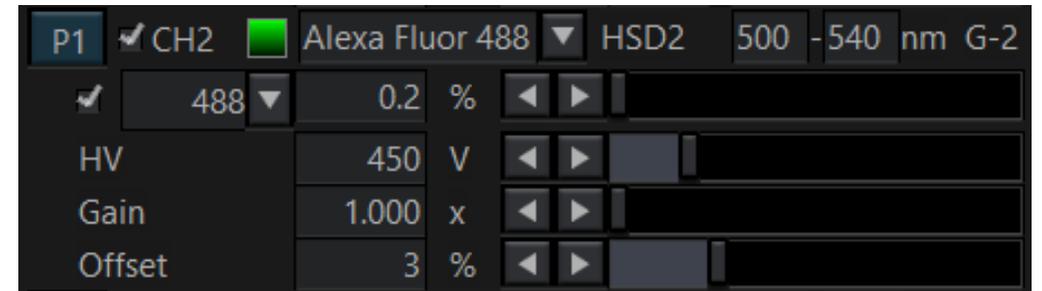


GaAsP PMT

ノイズに埋もれ、光子数換算できない

➤ 例：輝度値が1000だった

励起光強度？ 検出器感度？ サンプル由来？



➤ 例：閾値を決めて二値化する

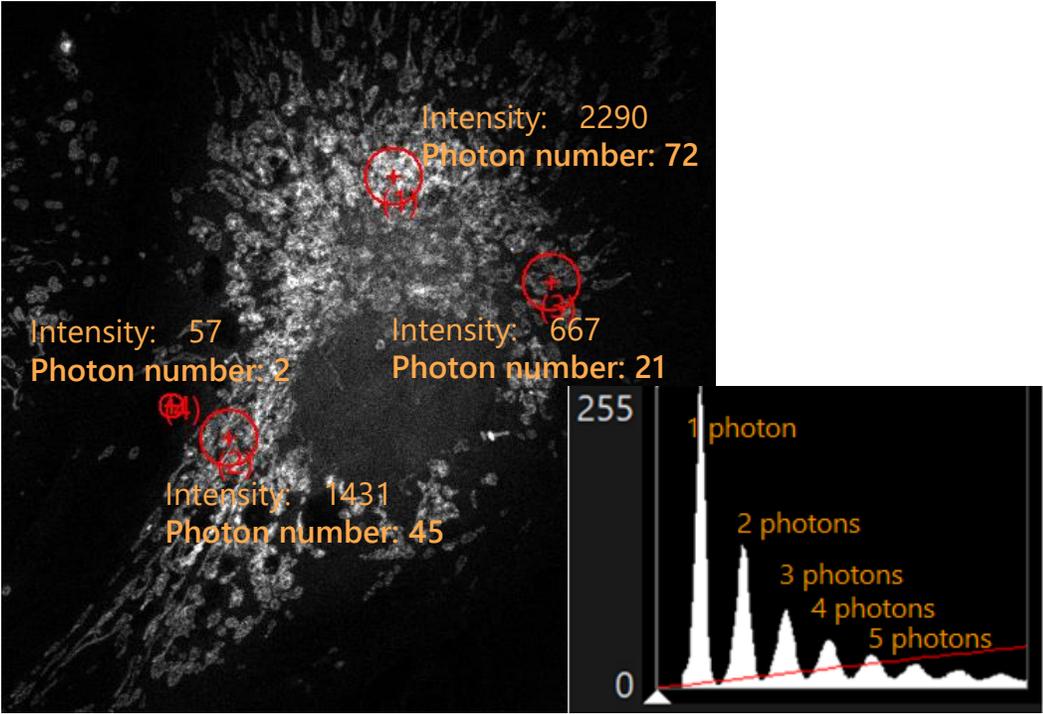
輝度値の閾値は人に依らない？





SiVIR検出器では

フォトンカウンティングが可能



SiVIR
各ピークがフォトン数に相当する

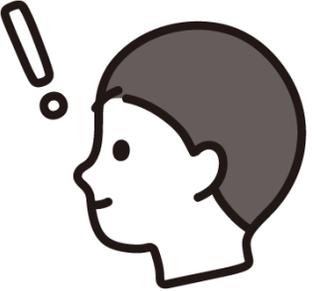
➤ 例：フォトン数が100だった

調整項目はレーザーパワーのみ
検出器の感度個体差少ない
⇒ 異なるFV4000間でもフォトン数を元に議論可能



➤ 例：閾値を決めて二値化する

ヒストグラムは等間隔のピーク
ノイズ領域だけを避けて閾値設定が可能



【補足】パラメータ調整



HVが調整できなくなったら困るのでは？

パラメーターについて

蛍光 Photon
レーザーパワーで増減
(スキャンスピードやピンホールも関与)

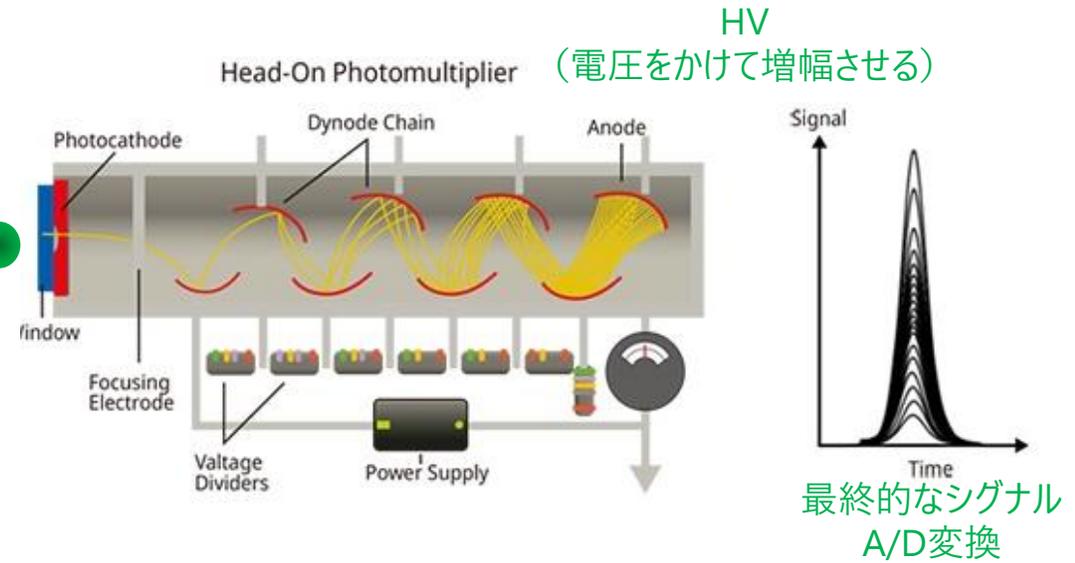
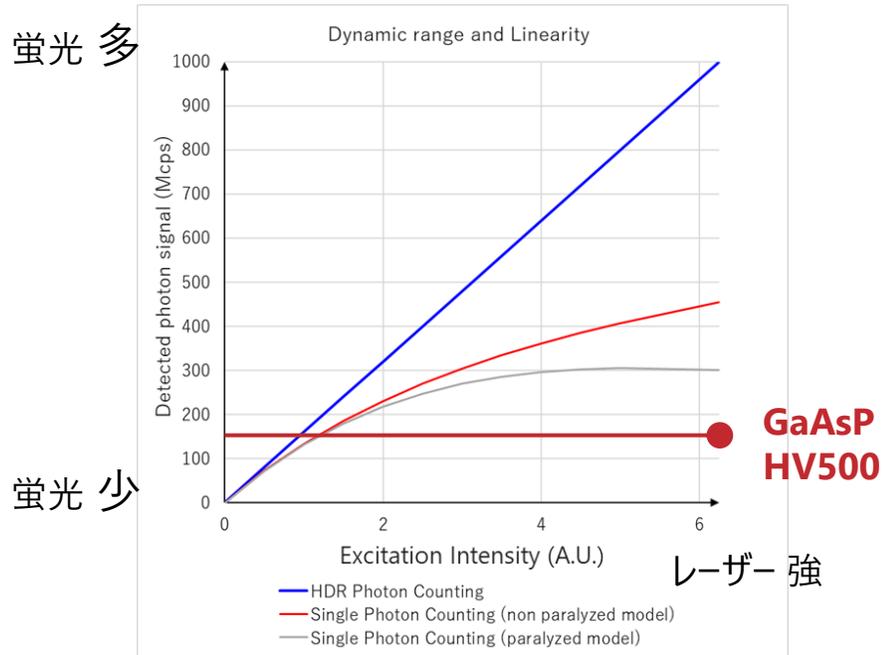


従来 (PMT) の明るさ調整方法

レーザー：蛍光量を増減させる

HV (検出器感度)：シグナルを増幅させる

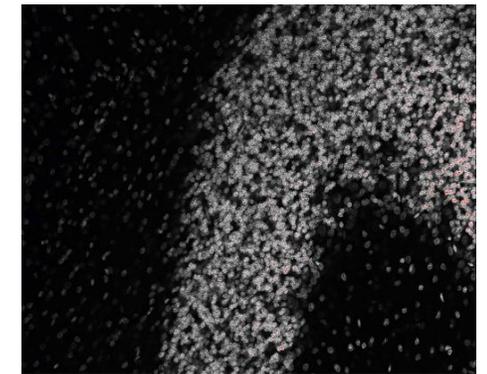
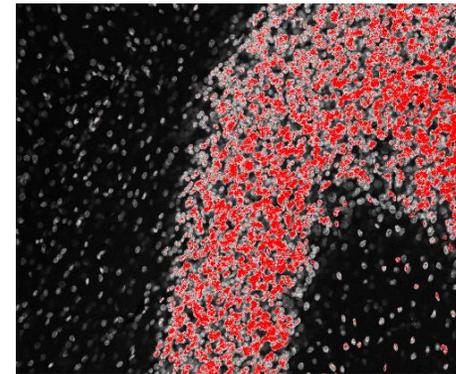
Hi-Loモードでサチュレーションしないギリギリに調整



Hi-Loを指標にしてダイナミックレンジをフルに使う

- もともとダイナミックレンジが狭い
- HVを上げるとさらに狭くなる

➡ HV/レーザー下げる



パラメーターについて

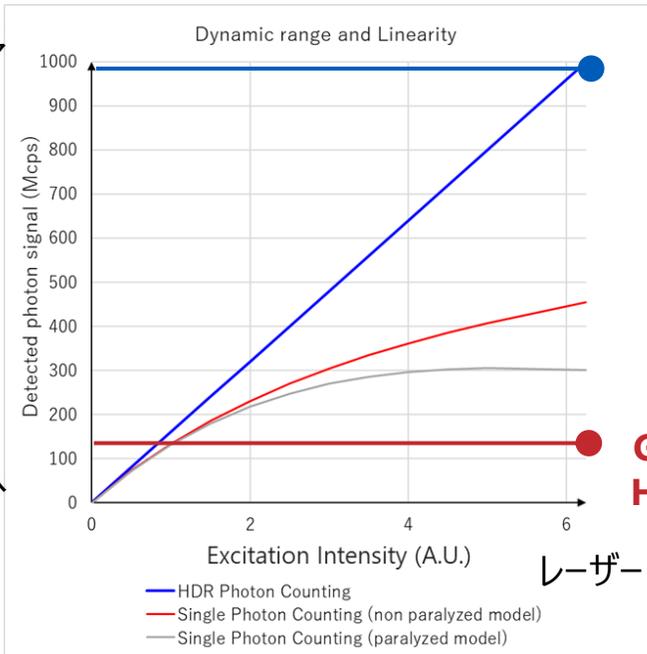
SiVIR検出器の明るさ調整

レーザー：蛍光量を増減させる

ダイナミックレンジが非常に広い（7倍）

蛍光 多

蛍光 少

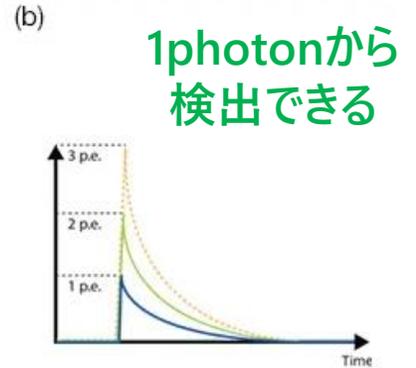
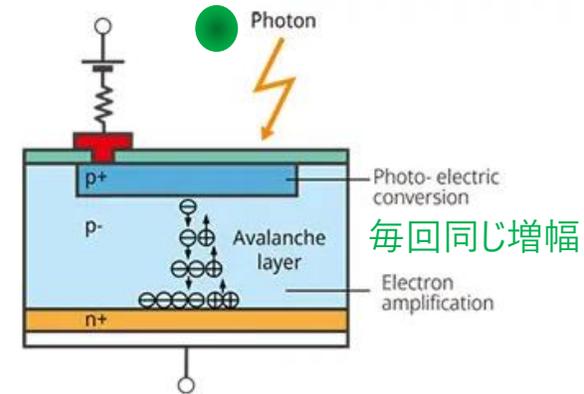
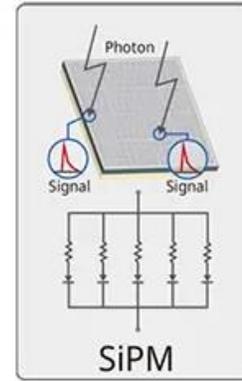


SiVIR

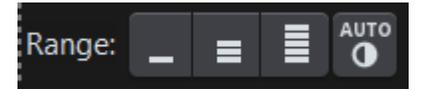
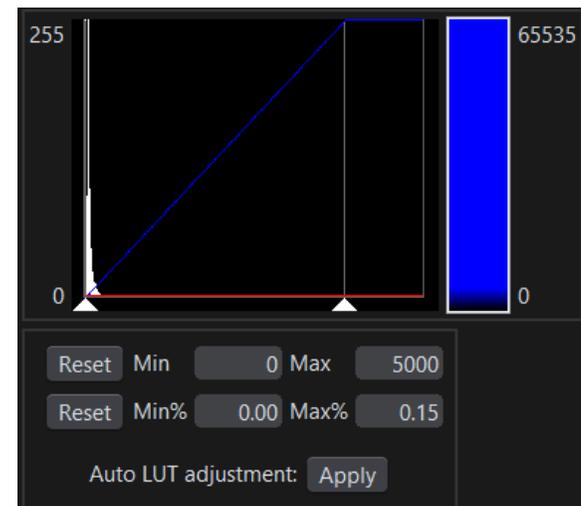
GaAsP HV500

レーザー 強

蛍光 Photon
レーザーパワーで増減
(スキャンスピードやピンホールも関与)



- ダイナミックレンジをフルに使い切る必要なし
- ディスプレイの表示レンジは今まで通りなので、見た目上の明るさ調整を行う必要 → LUT調整



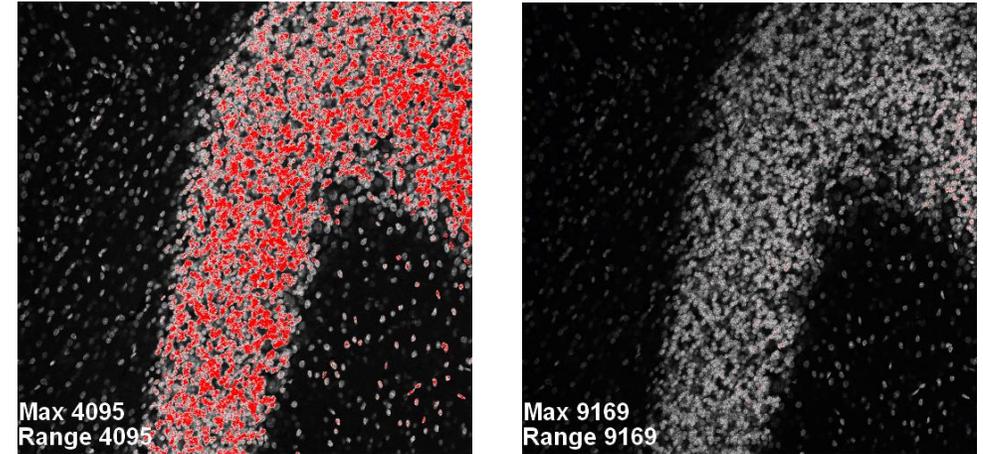
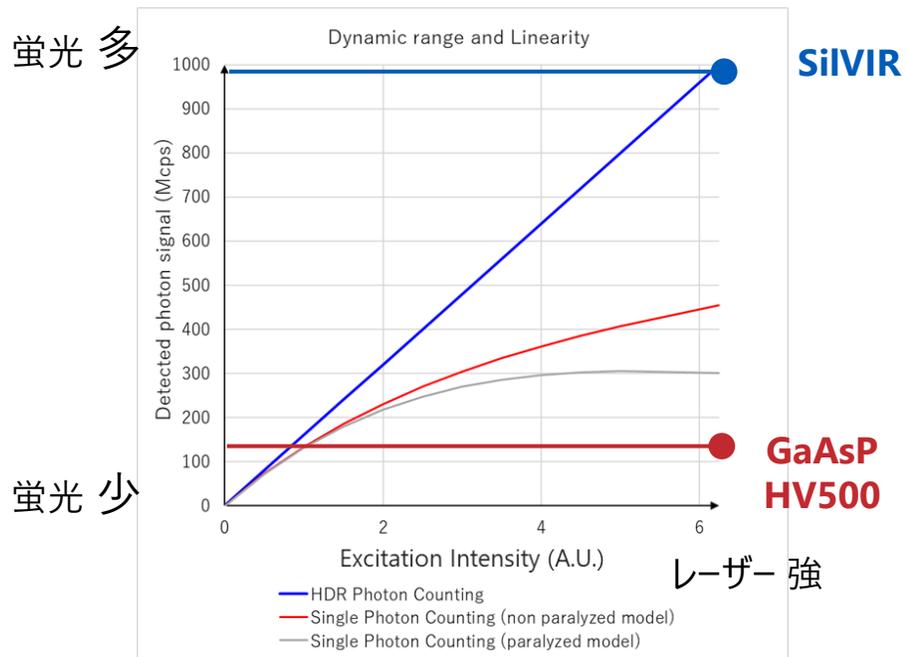
LUTのプリセットボタンも
従来HVを上げていた
暗いシグナルは代わりにLUT

パラメーターについて

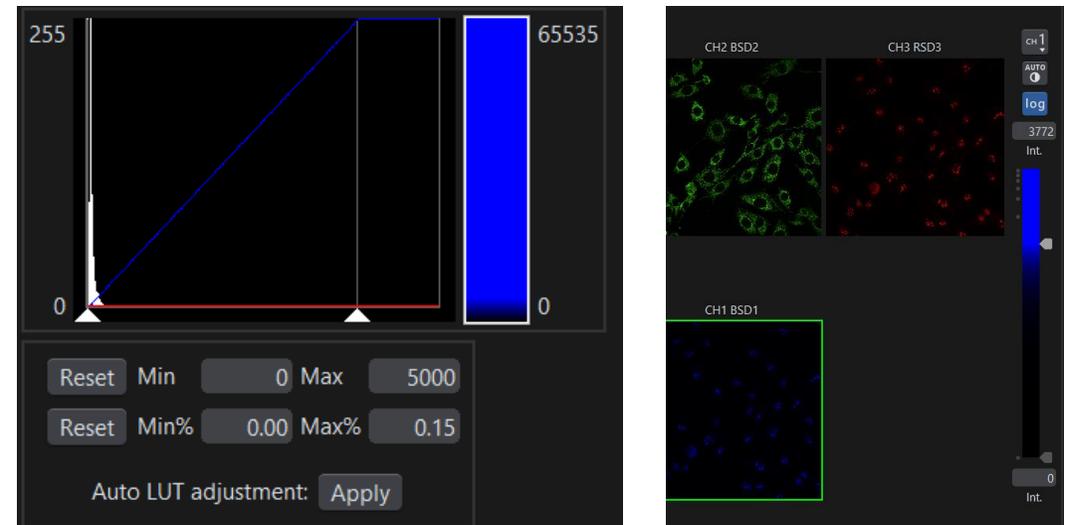
SiVIR検出器の明るさ調整

レーザー：蛍光量を増減させる

ダイナミックレンジが非常に広い（7倍）

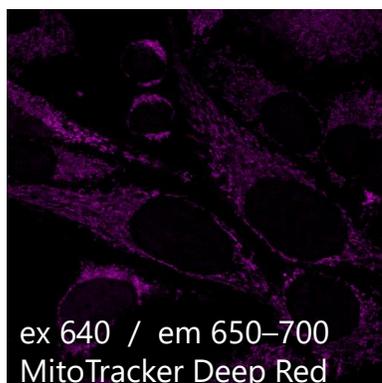
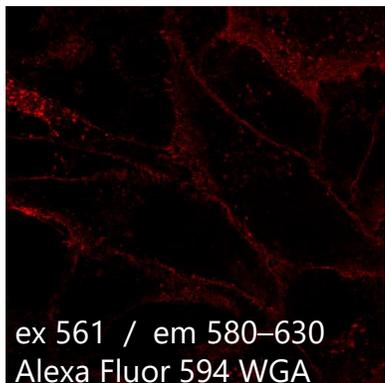
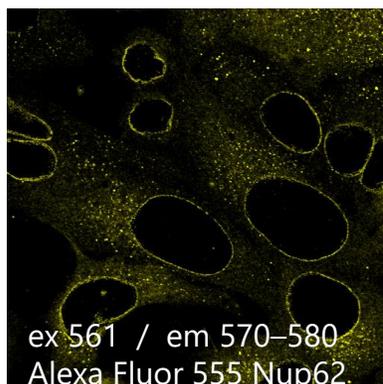
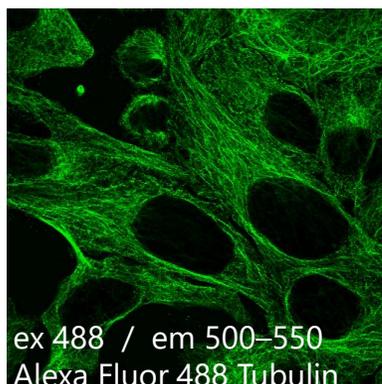
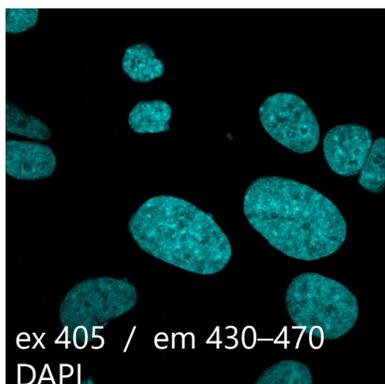


LUT調整（撮影中でも、撮影した後でも）
見た目だけ変える、輝度値は変化なし

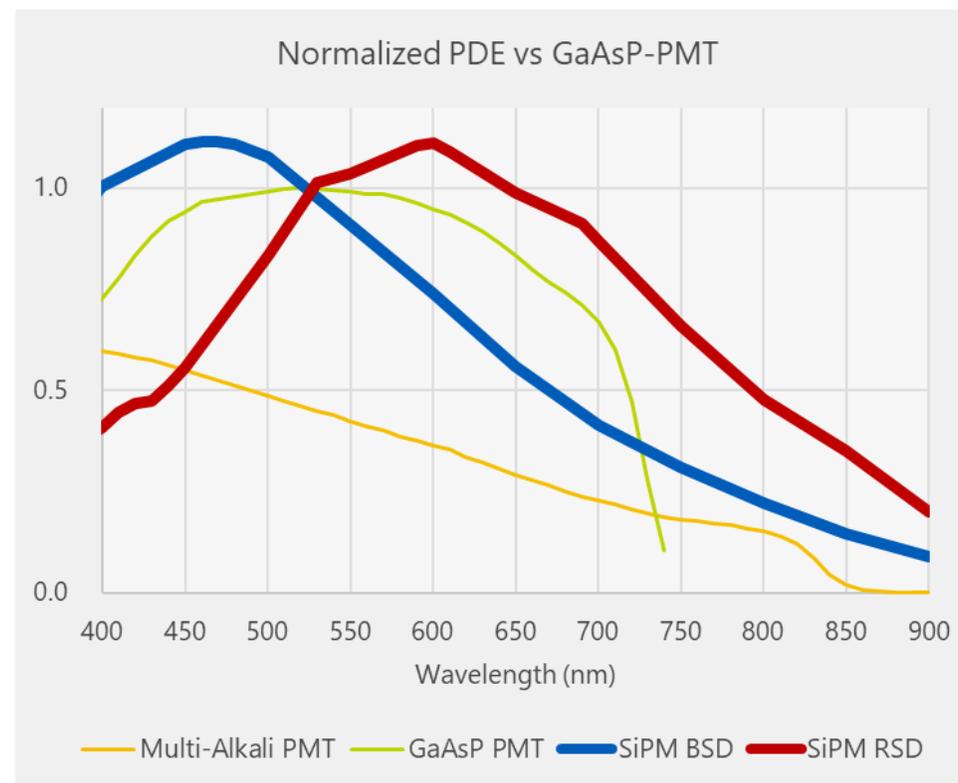


【参考】 NIR 近赤外蛍光イメージング

- ✓ 685/730/785nmレーザーの増設により観察可能
- ✓ 自家蛍光の回避・深部観察性能の向上



近赤外レーザーは今回の納入仕様には含まれておりませんが、
検出器・対物レンズは近赤外蛍光まで観察ができる仕様です。



FV4000 正立型

励起レーザー

405/488/561/594/640

スキャナー

ハイブリッドスキャナ

(ガルバノ+レゾナント)

正立型顕微鏡 本体

電動レボ - 7本レンズ装着可

電動コンデンサ (DIC対応)

電動ステージ

対物レンズ

ドライ - 10X、20X

油浸 - 40X、60X、100X

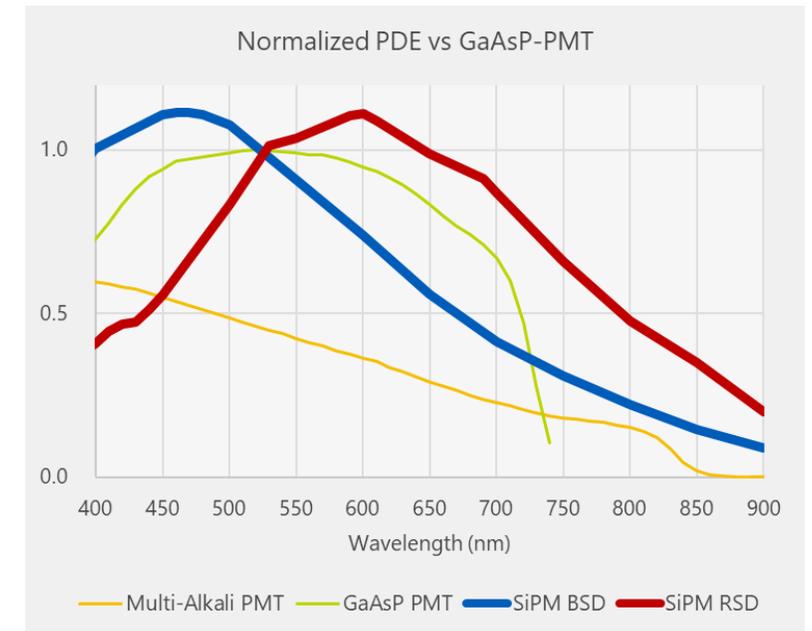
シリコン浸 - 30X



検出器

SiVIR 4ch (BSDx2, RSDx2)

※自動的に適切な検出器が割り当てられます

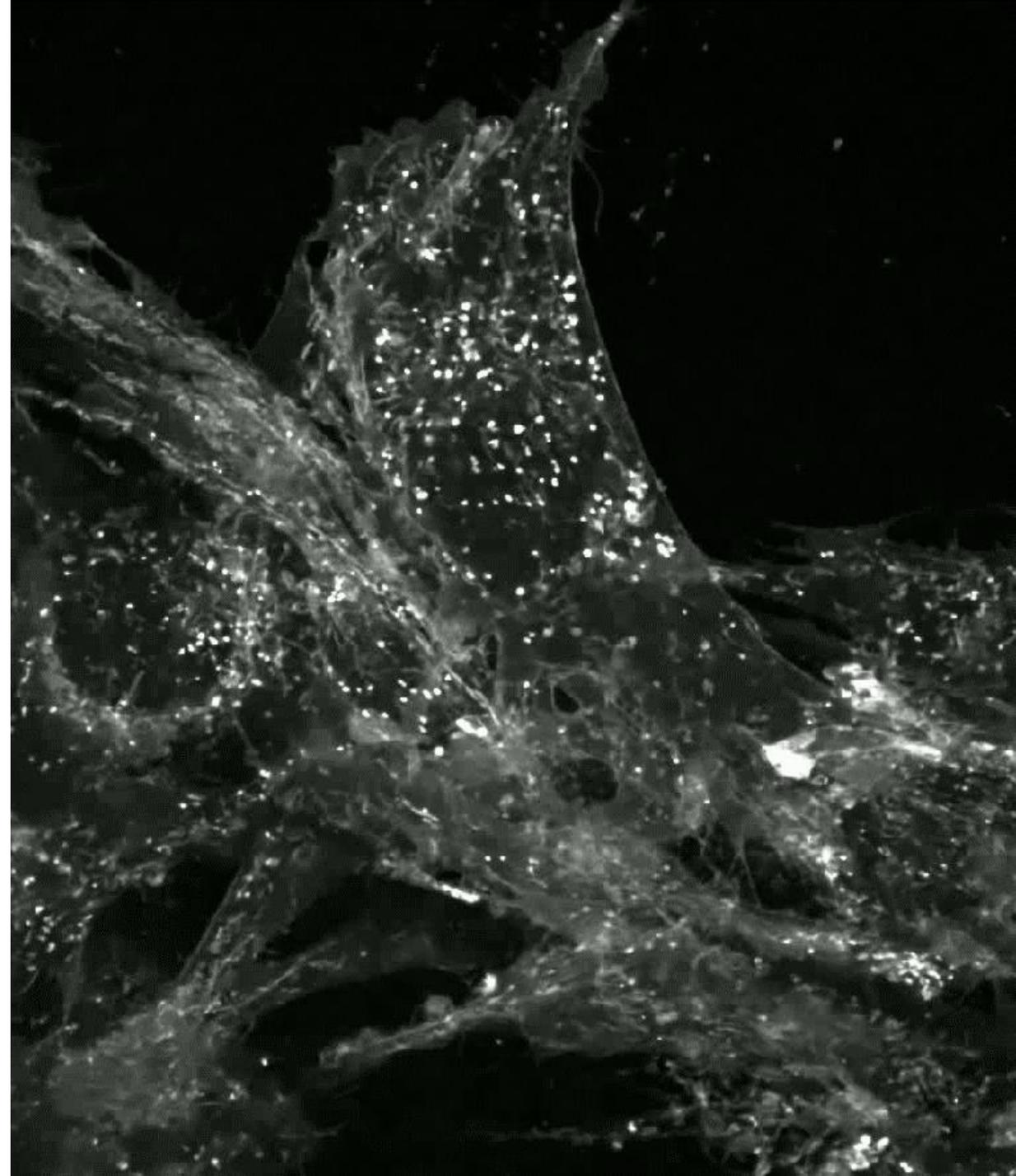


高画質高速タイムラプスイメージング

レゾナントスキャナ

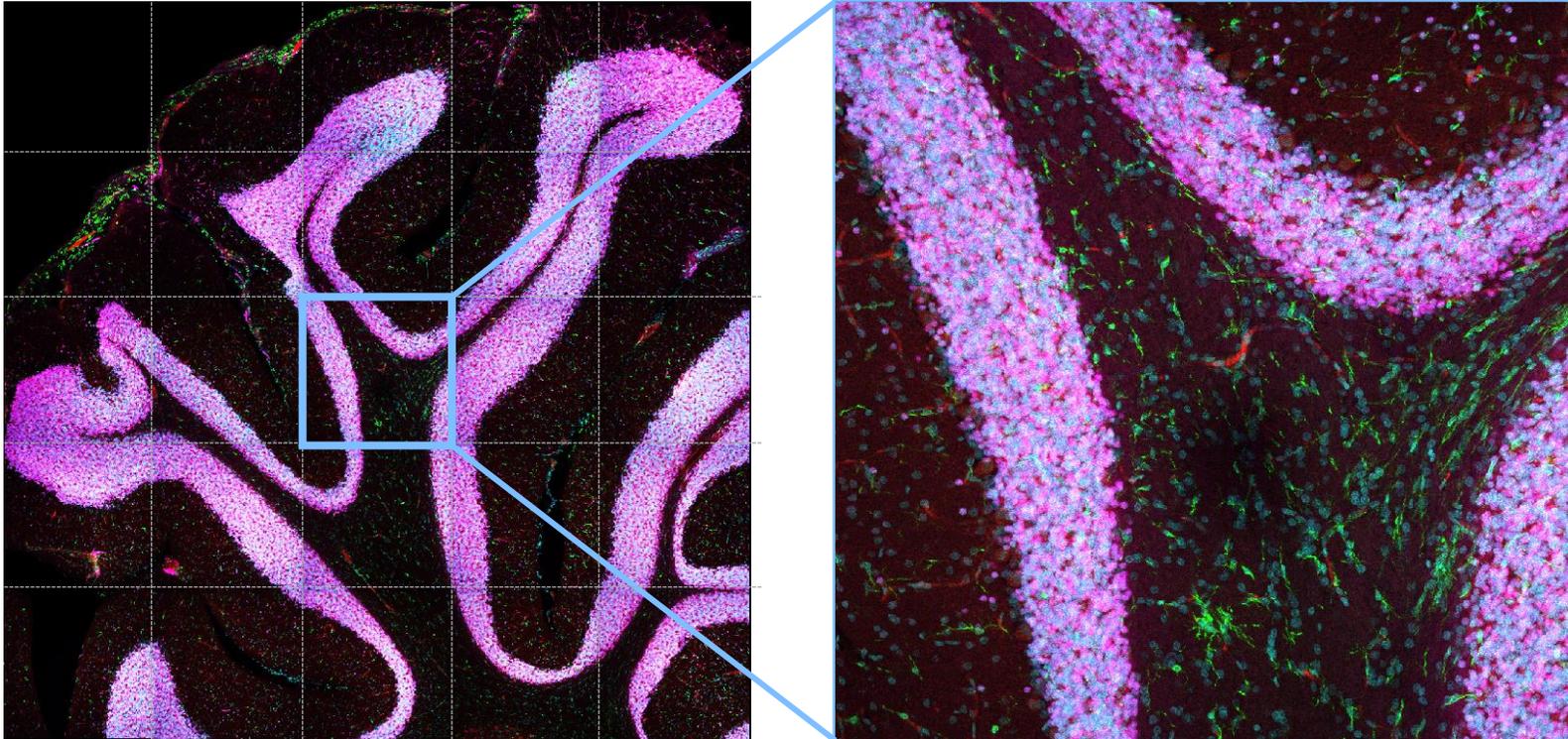
- ▶ 438fps (1K x 32)、1K x 1K (15fps) を実現
- ▶ レゾナント使用時もFOV20をキープ
- ▶ 低光毒性
- ▶ SiVIR検出器との相性◎

FM 1-43 bath applied. The image was acquired with a 1K x 1K resonant scanner
Sample Courtesy of: Daniel Bittel and Jyoti Jaiswal
Center for Genetic Medicine Research, Children's National Research Institute



高いスループット

従来よりも**5倍速い**画像取得時間で貼り合わせ画像を取得
低ノイズSiVIRディテクターとFN20の1Kレゾナントスキャナで、
ガルバノスキャナと同等の画質で効率よく貼り合わせ画像を取得できます。

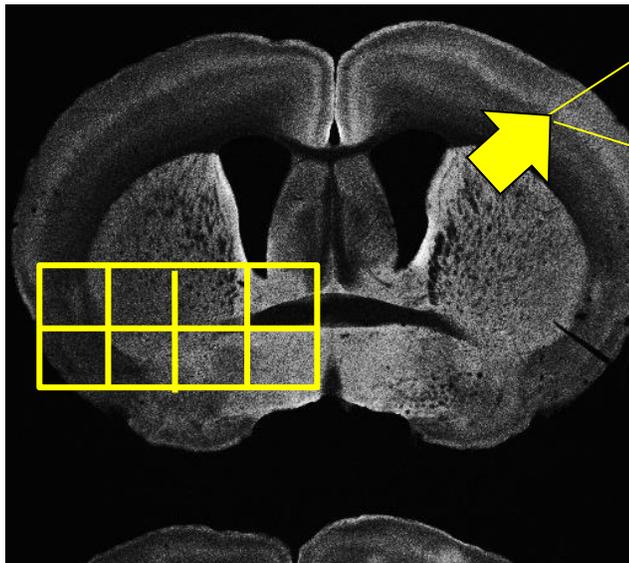


例
1024 x 1024 pixel, 4CH
Z 8 slices, 25 positions (5 x 5)

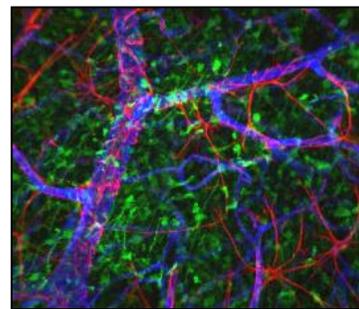
ガルバノスキャナ: 30 分以上
レゾナントスキャナ: 6 分以内

低倍対物レンズで、切片全体をワンショット撮影

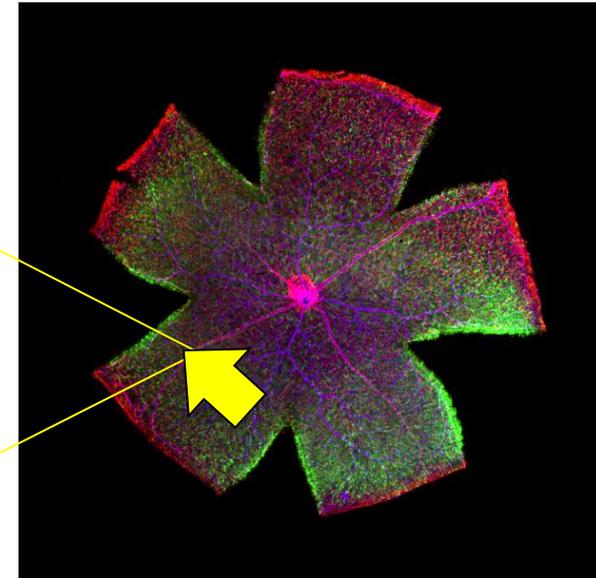
※現在の仕様では、最低倍率レンズは10Xです。



(例) マウス脳 (対物レンズ 1.25X)



高倍対物による観察へ

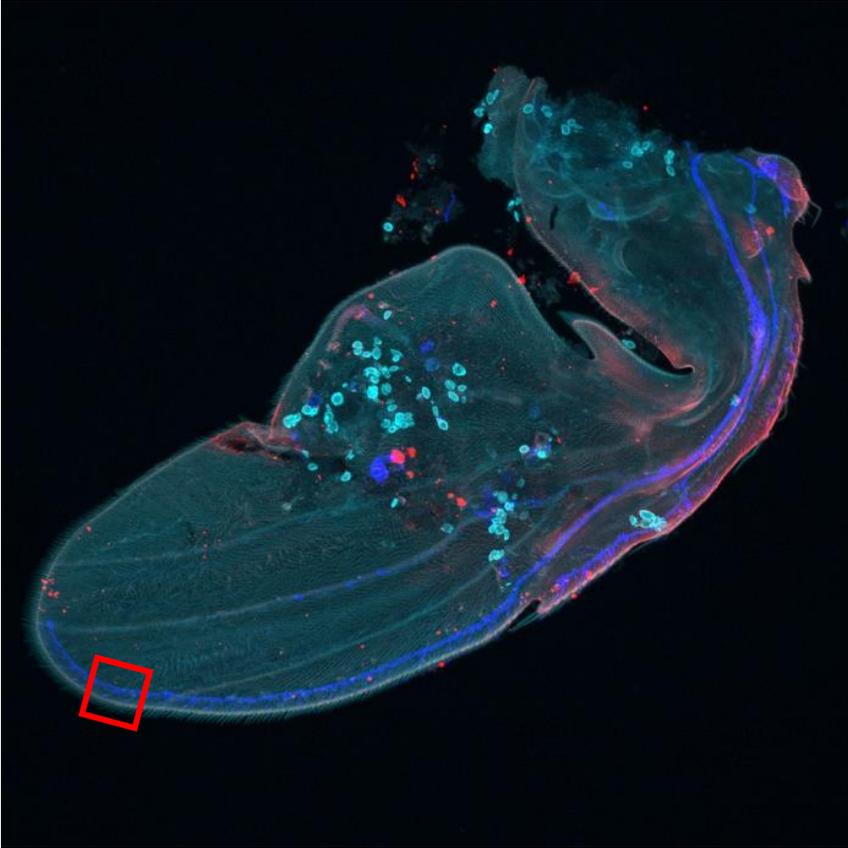


(例) マウス網膜 (対物レンズ 2X)

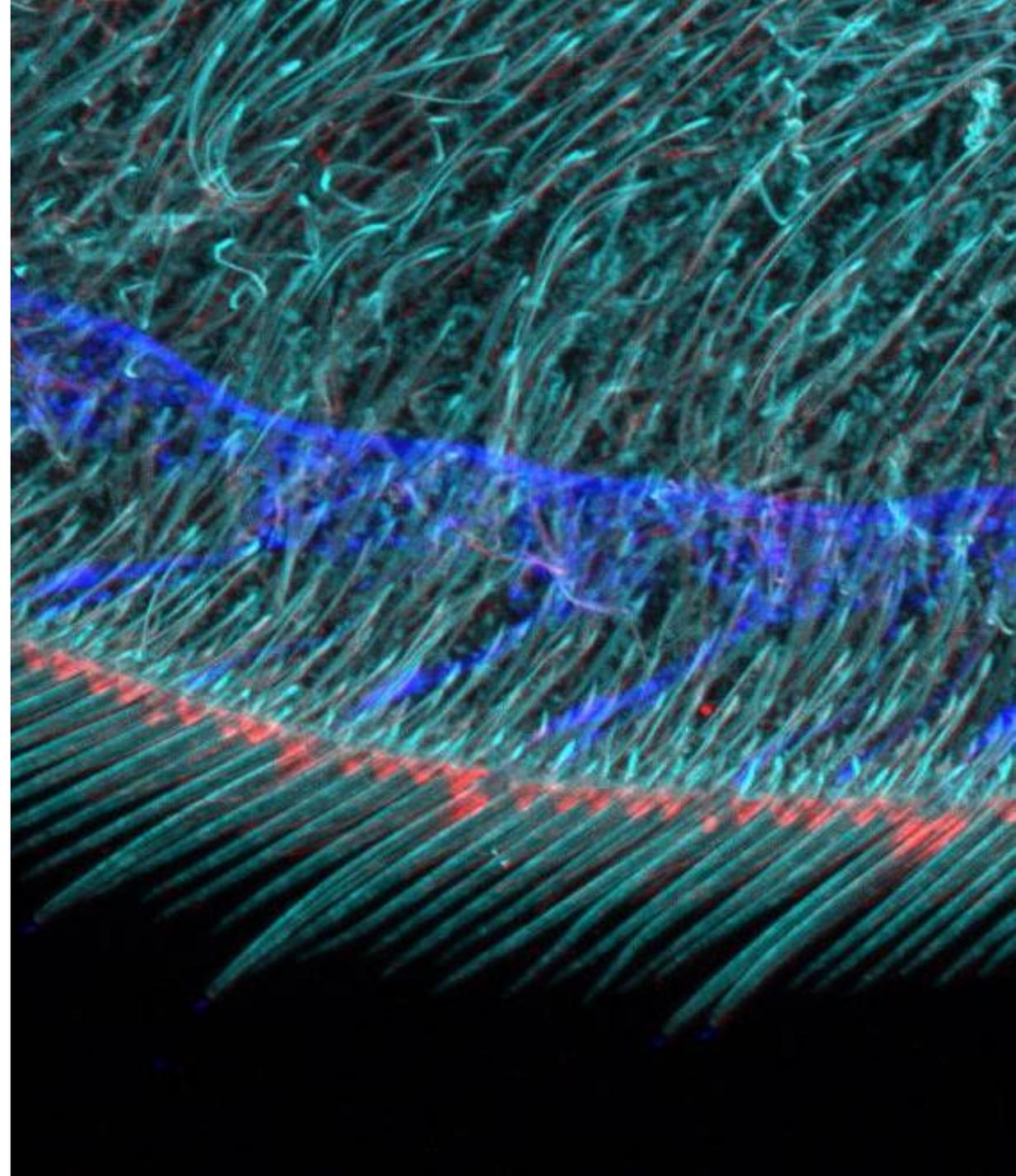
利点

低倍画像上にて、ダブルクリックで任意の視野へ一発アクセス、ドラッグで微調整！また、貼り合わせ範囲も簡単に設定！

Macro to Micro Imaging



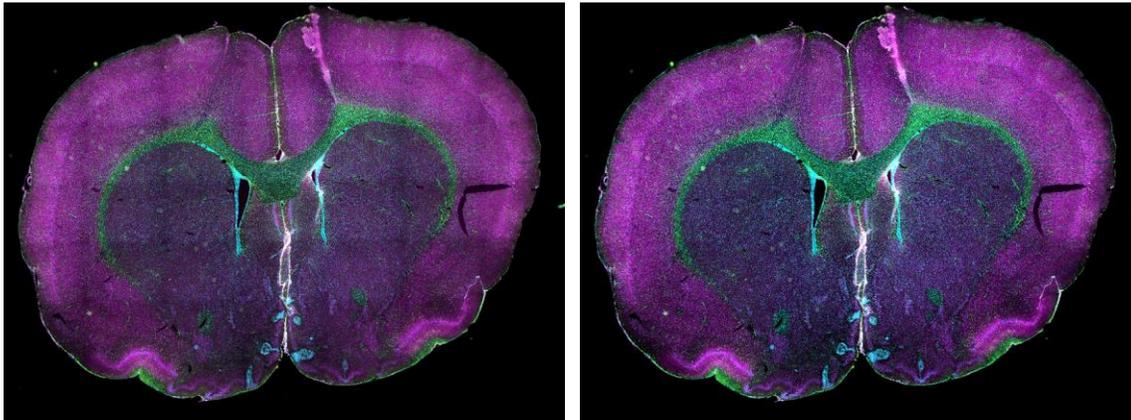
Drosophila wing (42hours pupation)
Stained with Phalloidin (AlexaFluor 405, F-actin, Cyan), Anti-phosphotyrosine antibody (AlexaFluor 555, cell surface, red) anti-HRP antibody (AlexaFluor 647, axon, blue)
Sample Courtesy of: Zhengkuan Sun, Shigeo Hayashi,
Laboratory for Morphogenetic Signaling, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research,
Japan



業界初 観察方法に依存しないムラのない貼り合わせ

インテリジェントシェーディング補正は、事前のキャリブレーションを必要とせず、観測方法に依存しないムラのないシェーディング補正を実現します

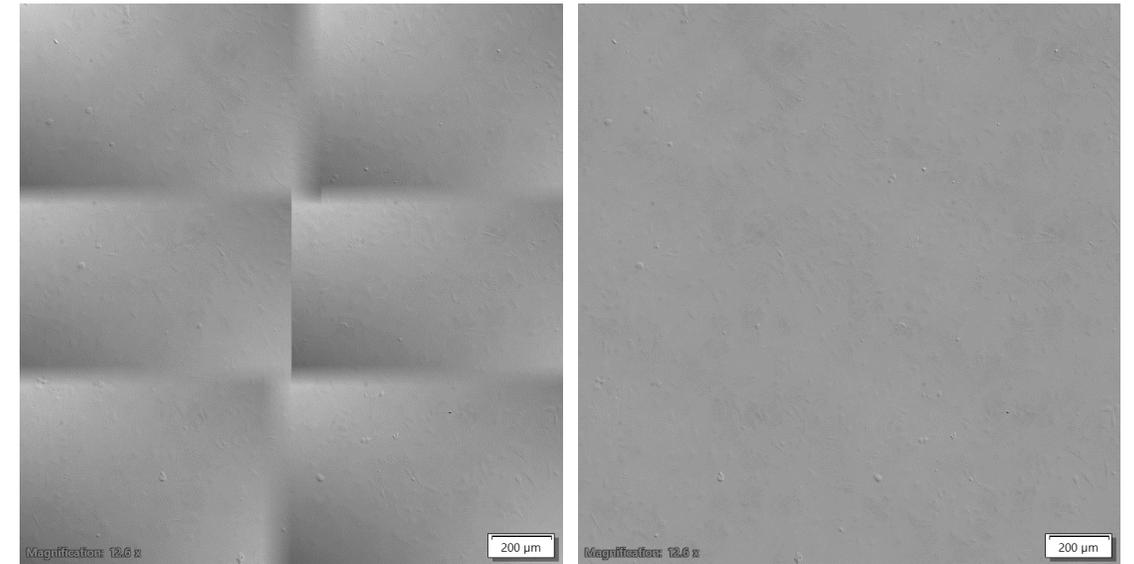
蛍光画像



Intelligent Shading OFF

Intelligent Shading ON

DIC画像



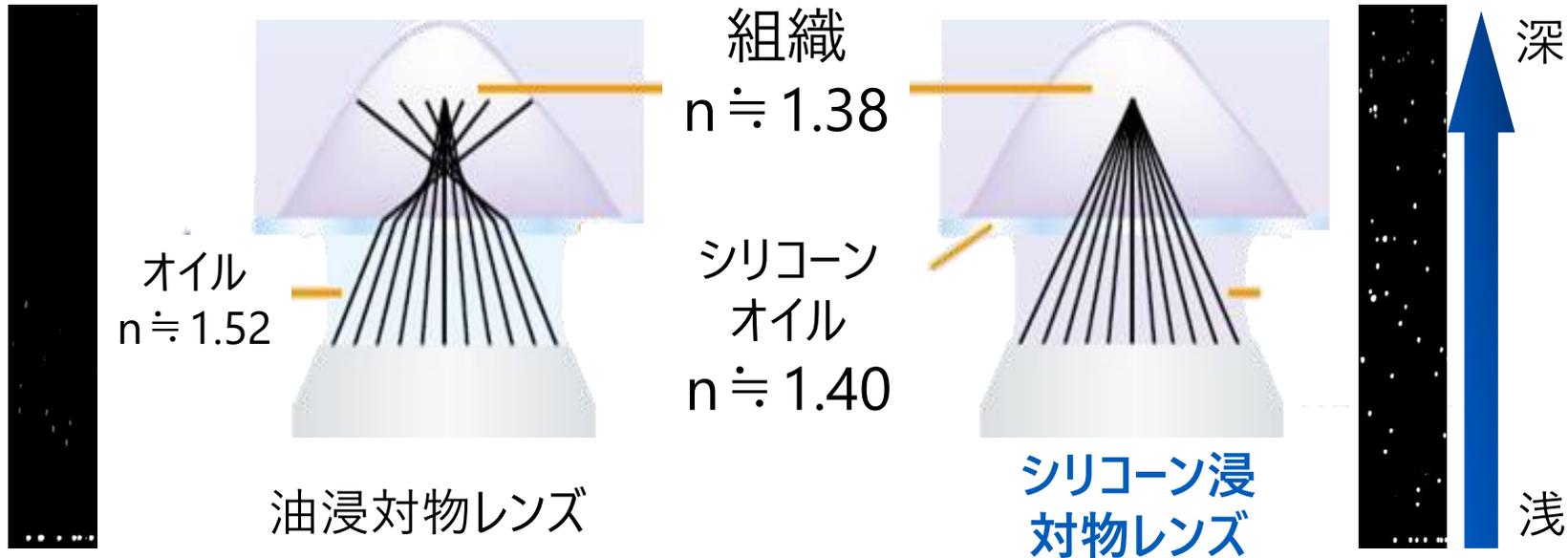
Intelligent Shading OFF

Intelligent Shading ON

シリコン浸対物レンズ

- 組織の屈折率 ($n \doteq 1.38$) に近いシリコンオイル ($n \doteq 1.4$) が浸液
- 高開口数 (NA)、長作動 (WD)
- 植物 (根・莖) の深部観察で特におすすめ

型式	NA	WD (mm)	イマージョン
UPLXAPO10X	0.4	3.1	—
UPLXAPO20X	0.8	0.6	—
UPLXAPO40XO	1.4	0.13	Oil
UPLXAPO60XO	1.42	0.15	Oil
UPLSAPO30XS	1.3	0.8	Silicon
UPLAPO100XOHR	1.5	0.12	Oil



透明化標本の観察 – ClearSee™、TOMEI

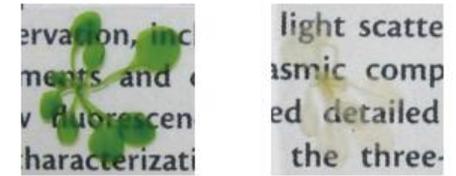


図2. iTOMEI処理前後のシロイヌナズナ比較画像
(左)処理前、(右)iTOMEI処理により透明化されたシロイヌナズナ



図3. ClearSeeにより透明化しためしべを丸ごと蛍光観察

花粉管を4色の蛍光タンパク質(青色、緑色、黄色、赤色)で目印をつけている(左:処理なし、右:ClearSeeによる透明化処理)

[ClearSee™](#) | [【ライフサイエンス】製品情報](#) | [試薬-富士フイルム和光純薬](#)

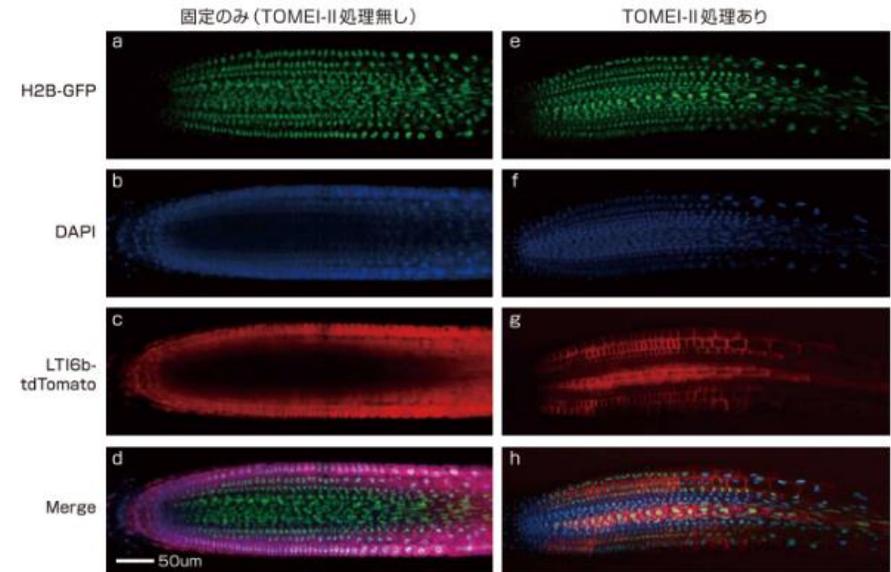


図3. 共焦点顕微鏡により得られたシロイヌナズナの根の光学切片画像
(透明化手法TOMEI-II)

DAPI (青)とH2B-GFP (緑)で細胞核が、LTI6b-tdTOMATO (赤)で細胞膜が検出されています。

a ~ h はいずれも根の中央部の観察像です。

H2B-GFP (a, e) の蛍光は固定のみ (a) のみ、TOMEI-II処理あり (e) いずれにおいても強く検出できています。DAPI (b) およびLTI6b-tdTOMATO (c) において、固定のみでは根の中央部の蛍光を観察することが難しいです。一方、TOMEI-II処理後の根では中央部の細胞でも DAPI (f) およびLTI6b-tdTomato (g) の蛍光が検出できています。

[蛍光タンパク質観察に最適な植物透明化試薬 iTOMEI](#) | [東京化成工業株式会社](#)

E  **IDENT**

SEEING IS SOLVING