

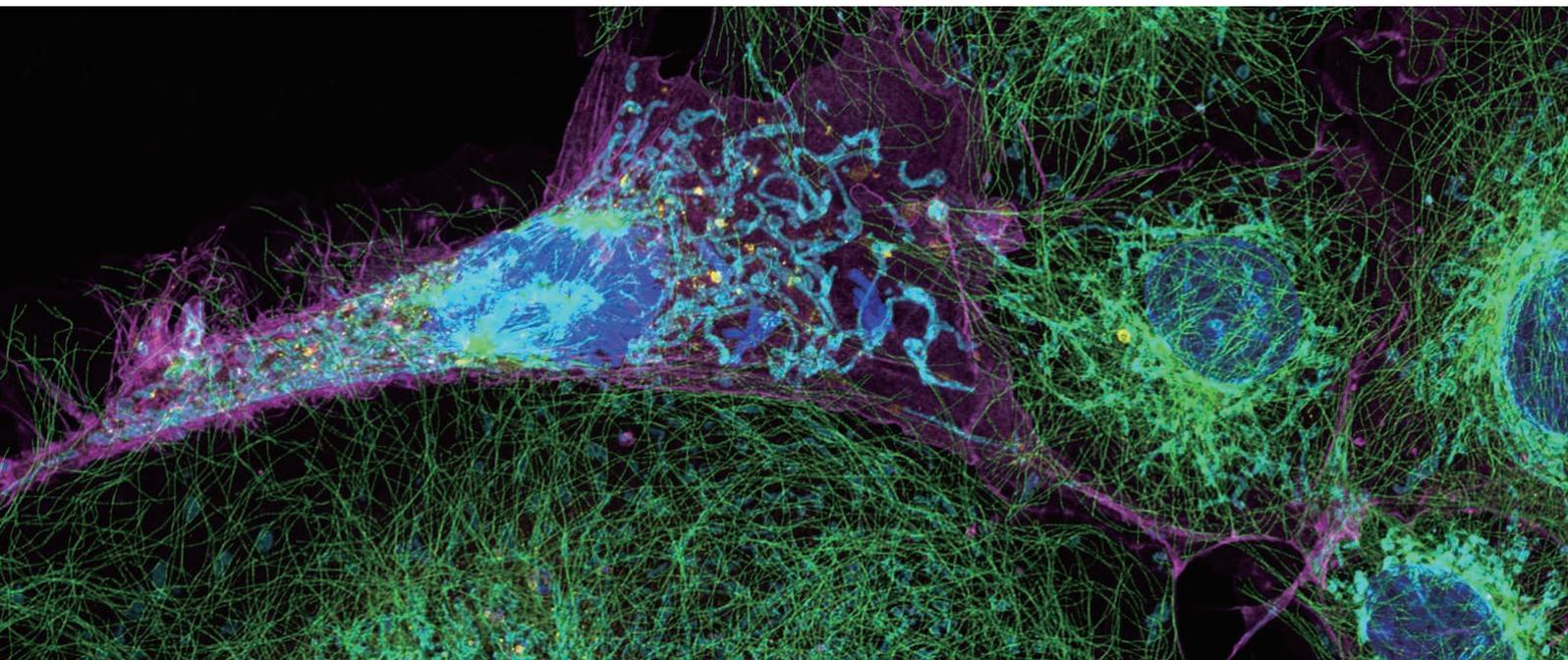
**EVIDENT**

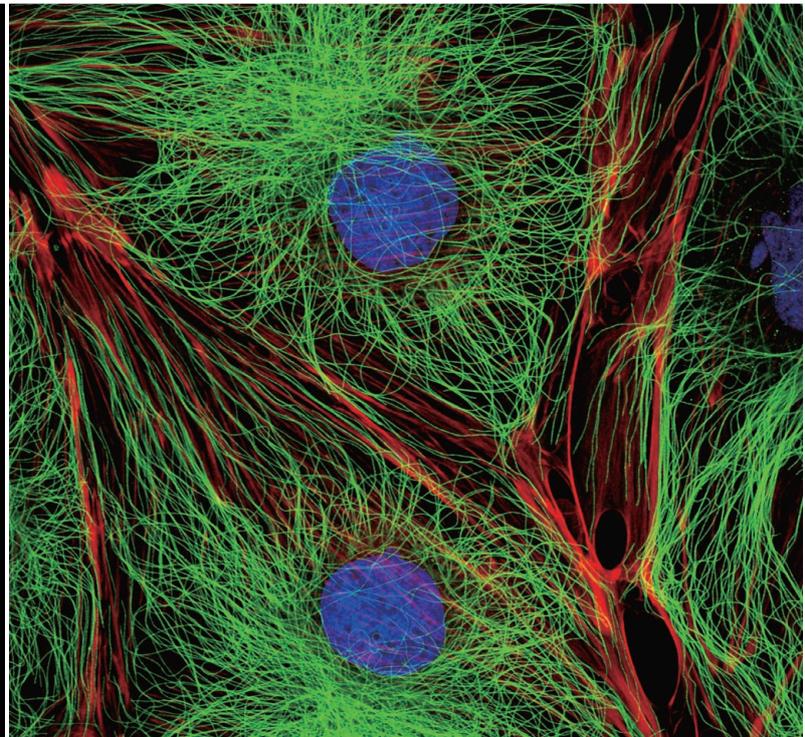
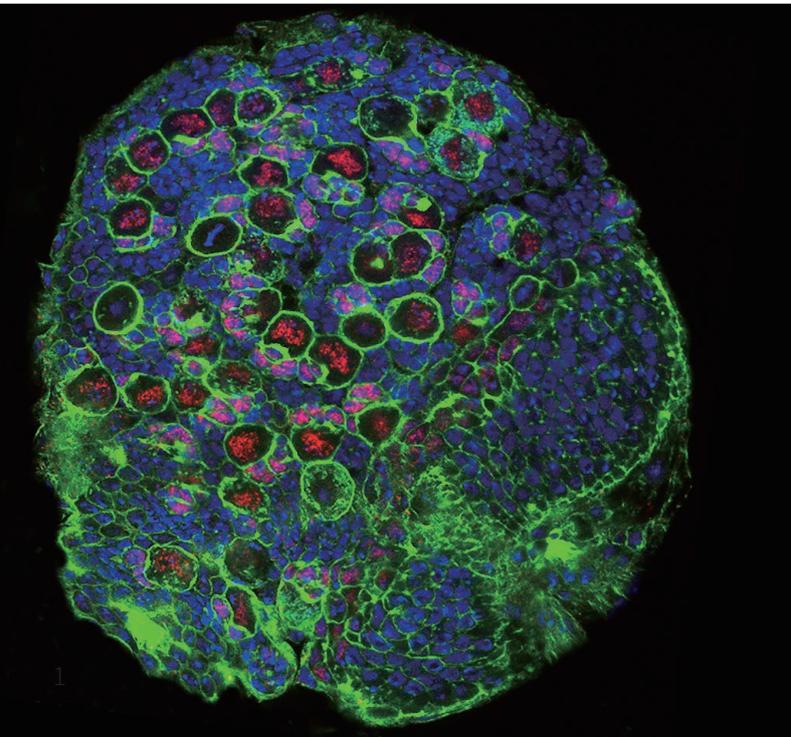
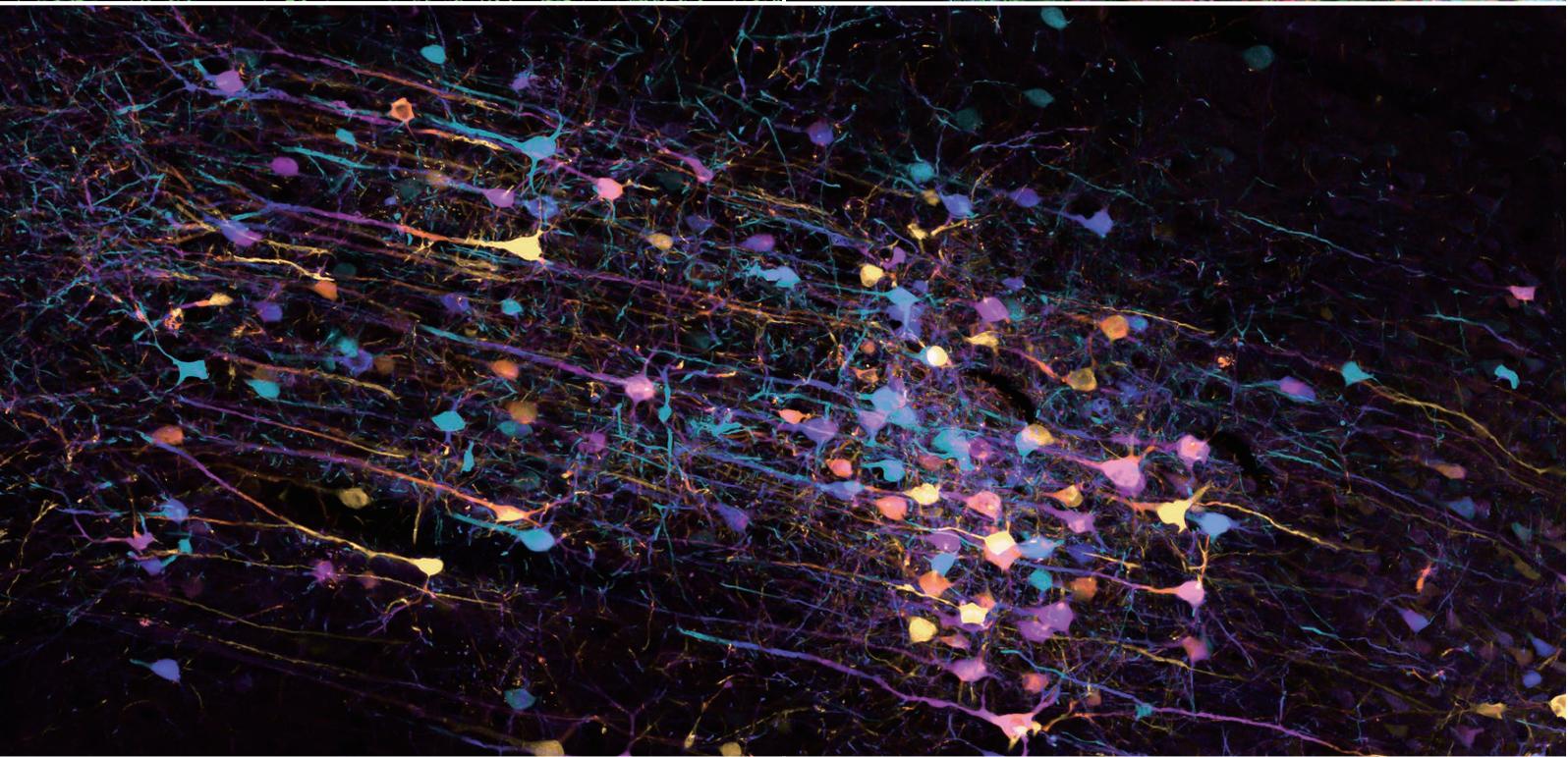
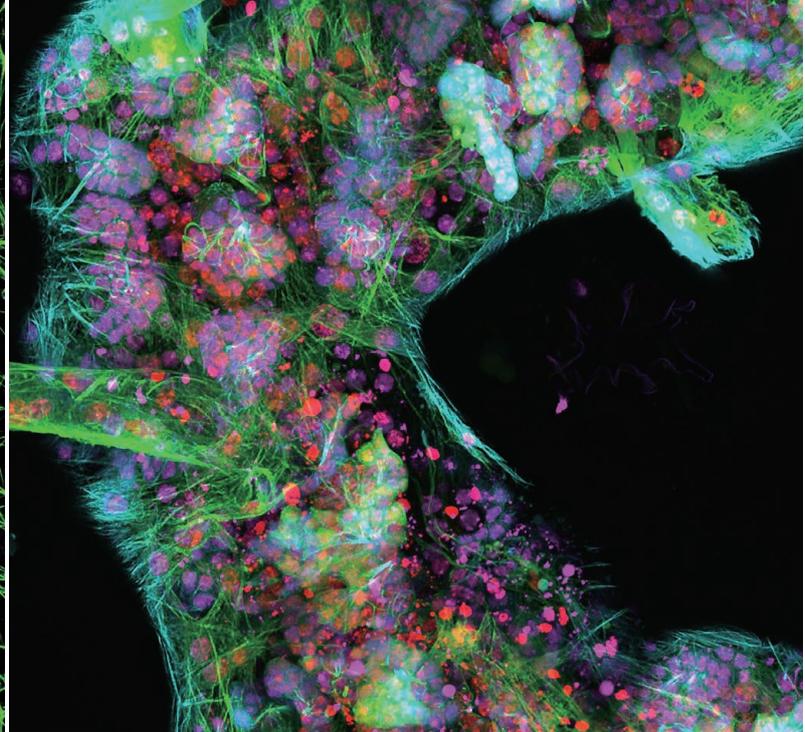
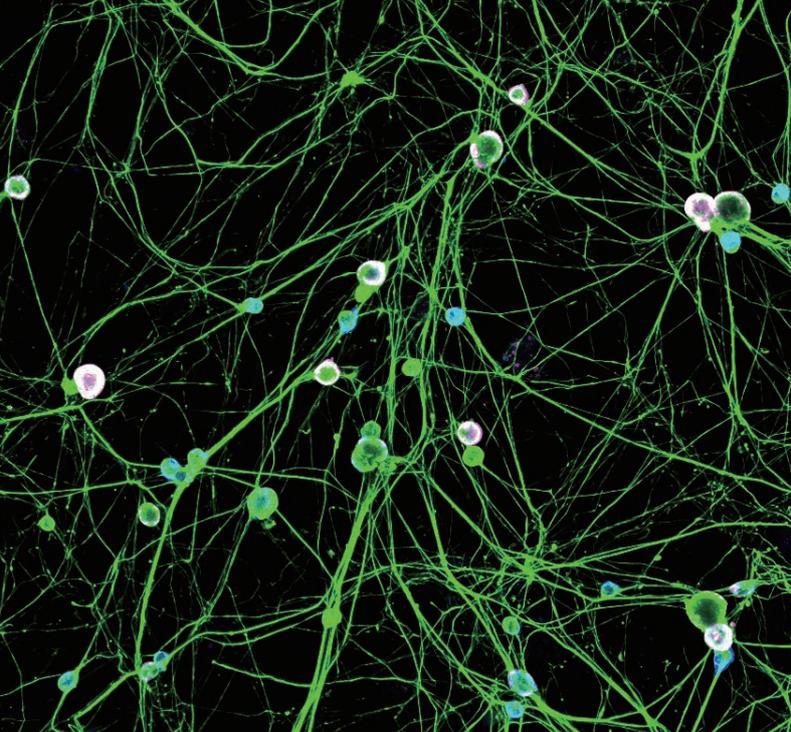
激光扫描共聚焦显微镜

**FV3000**

FLUOVIEW

助力新一轮科学领域革命的新一代 FLUOVIEW





# FLUOVIEW FV3000 激光扫描显微镜

FLUOVIEW FV3000 系列的设计目的是迎接现代科学中所提出的艰巨的挑战。FV3000 系列具有活细胞与组织成像所需的高灵敏度和速度，以及微孔板成像和复杂筛选方案所需的易用性和灵活性，支持从活细胞 2D-6D (x、y、λ、z、t、p) 成像到反卷积等图像处理和分析的完整工作流程。

FV3000 激光扫描显微镜的核心是奥林巴斯知名的光学元件，采用 TruSpectral 全真光谱检测技术，可在多个动态范围内高灵敏地实现多通道光谱成像，甚至可区分微弱的光谱信号。FV3000 Red 系统集成了近红外 (NIR) 专用高灵敏度检测器以及支持从紫光到近红外多通道成像的激光器，将多通道成像功能进一步扩展到近红外。FV3000RS 系统内置精准的常规扫描振镜和镀银共振扫描振镜，支持用户在试验中精准且高速地进行成像。其光路支持 1.25 至 150 倍下的从宏观到微观成像，让用户可轻松地在组织的整个背景内观察细节。此外，也可利用 TruSight 反卷积或奥林巴斯的超分辨率技术 (OSR) 实现更高分辨率成像。用于细胞计数和分割分析的一键 cellSens 宏观分析等可靠、直观的自动化流程，让复杂的试验变得简单。TruAI 深度学习技术可提供高效的分割和准确的结果。

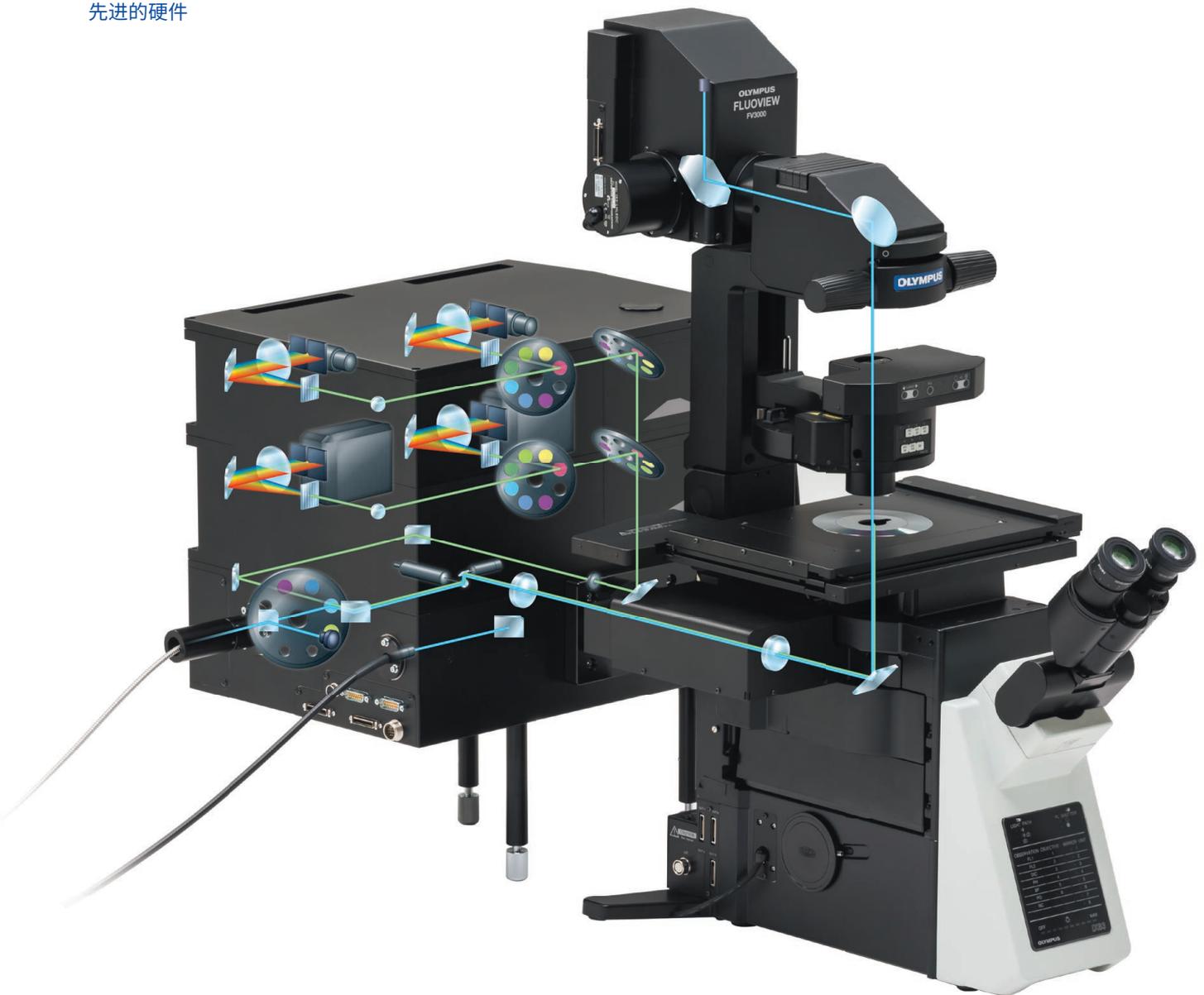
NoviSight 3D 细胞分析软件也内置了高级统计工具，为您的研究发现助一臂之力。

FV3000 提供可由用户保存和选择的软件工作流程，可根据个性化的需求进行调整。显微镜的软件使设施经理能够轻松跟踪每个用户的系统使用情况，从而提高多用户环境的效率。



# 应对您的应用挑战

先进的硬件

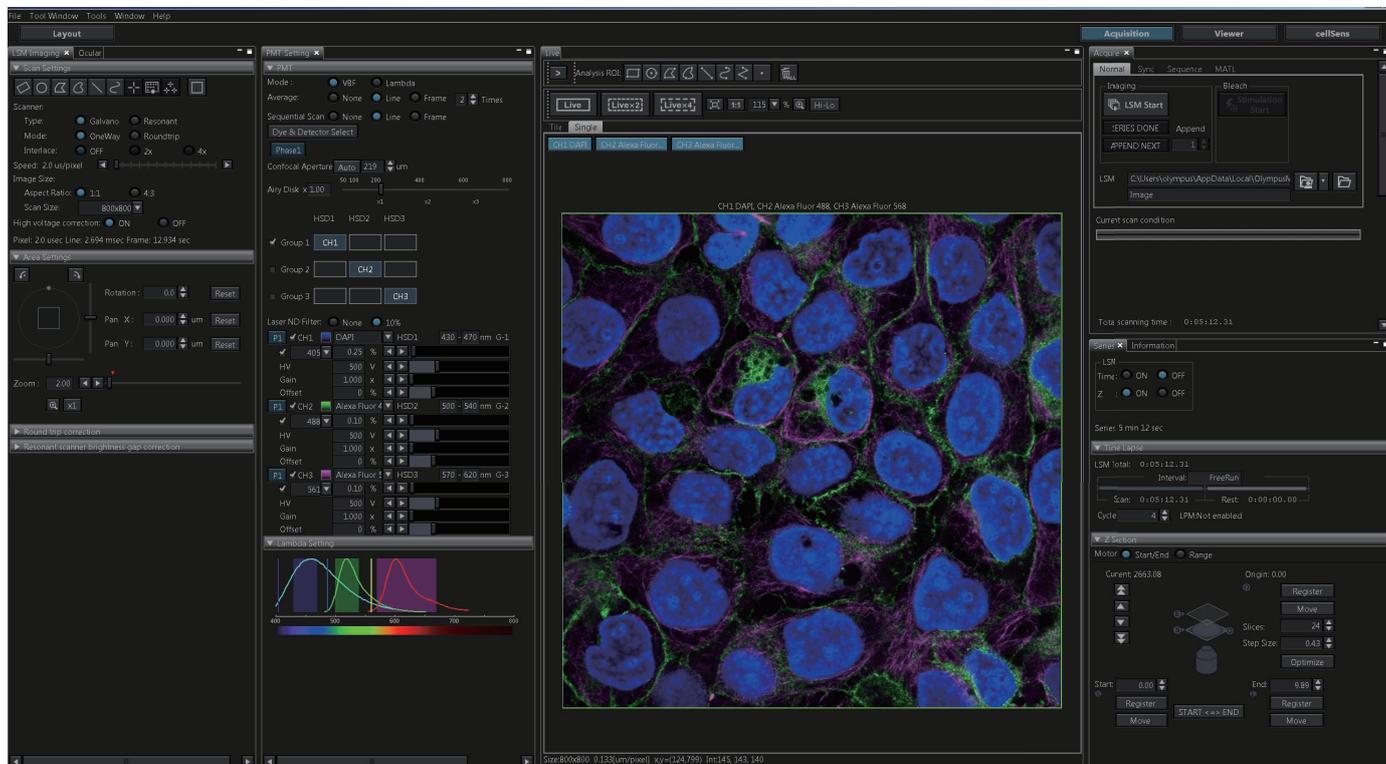


从紫光到近红外的高  
灵敏度多通道成像

从宏观到微观成像与  
超分辨率

精准的延时成像

为您的工作流程定制用户界面



1. 布局

- 选择适合试验的布局

2. 采集条件

- 由染料自动设置
- 加载之前试验中的设置

3. 采集

- 采集多维图像
- 采集多区域图像
- 使用复杂方案采集图像

4. 查看器

- 使用多种显示方法
- 在采集期间或之后查看图像

5. 分析

- 提供多种图像分析菜单
- 一键宏观分析

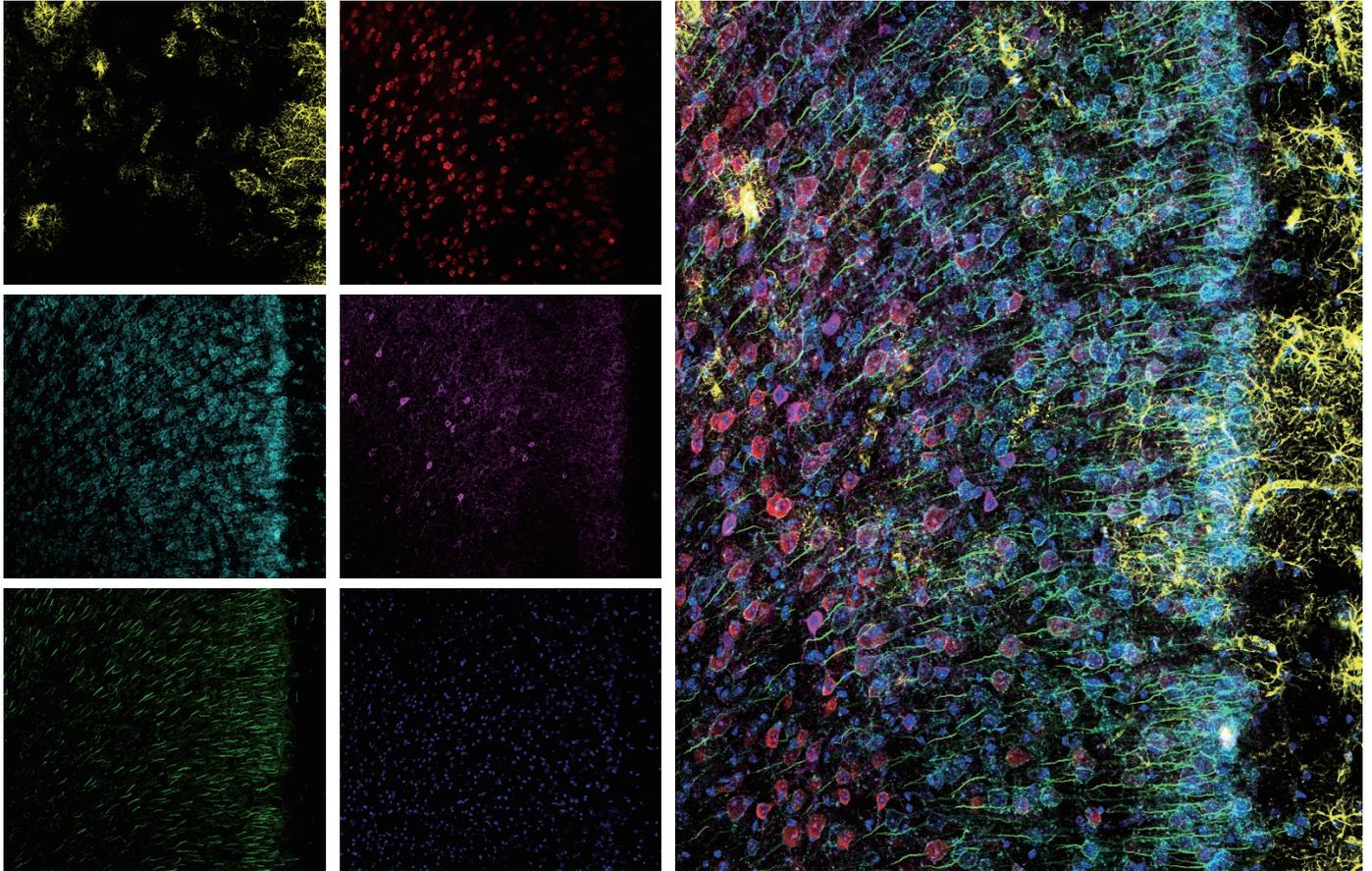
通过高速成像，提高了生产力

卓越的物镜  
· X Line  
· A Line

高级解决方案  
· TruAI 深度学习  
· 3D 细胞分析

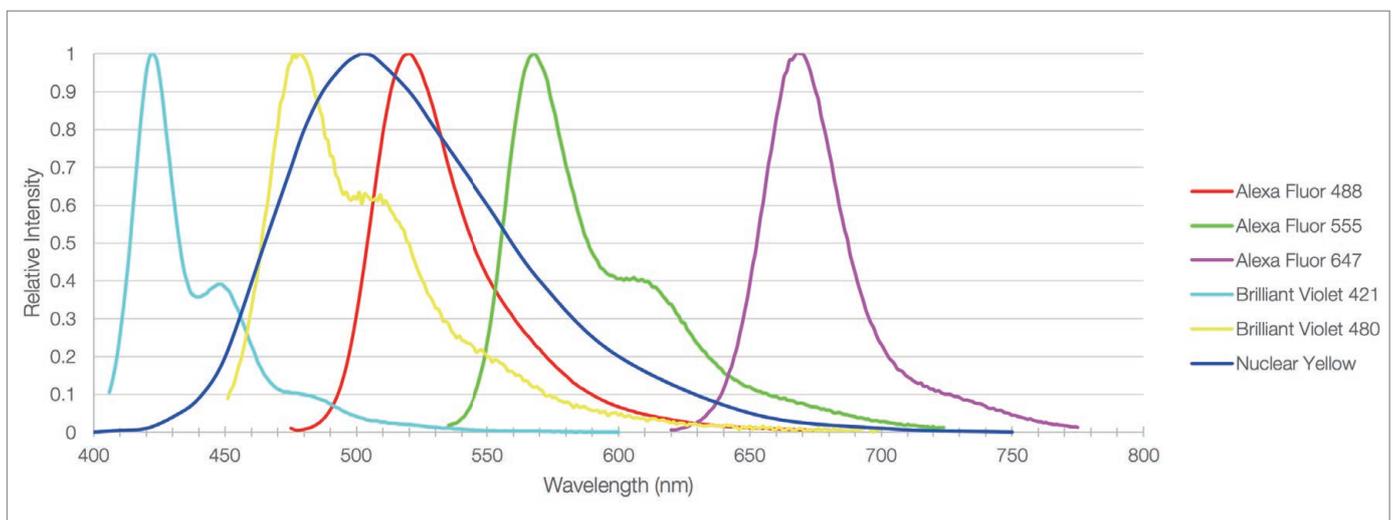
## » 应用：高灵敏度多通道荧光

多色荧光图像的采集是分析细胞和组织的细微内部结构以及确认蛋白表达的关键。FV3000 系统的 TruSpectral 全真光谱检测器支持用户为每一通道选择检测波长，从而优化了各荧光团的信号检测。可变屏障滤光片模式支持四通道图像的同时采集以及最多 16 个通道的顺序采集。系统的在线或离线扫描模式可定义每个荧光团的特有光谱发射特征，这有助于区分复杂的荧光信号，从而实现复杂重叠荧光信号的精确光谱拆分。



用胶质纤维酸性蛋白 (GFAP；星形胶质细胞标记物；黄色)、钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMKII；锥体神经元标记物；红色)、两性激素诱导的蛋白 1 前体 (AMIGO-1；神经元膜标记物；青色)、小白蛋白 (PV；抑制性神经元标记物；紫色)、锚蛋白 G 抗体 (AnkG；轴突起始段标记物；绿色) 和核黄 (细胞核标记物；蓝色) 标示的小鼠 mPFC。

图像数据承蒙德克萨斯大学达拉斯分校行为与脑科学学院神经生物学系高级疼痛研究中心博士生 Stephanie Shiers 和博士 Theodore J. Price (Price Lab) 以及主任、Eugene McDermott 教授提供。

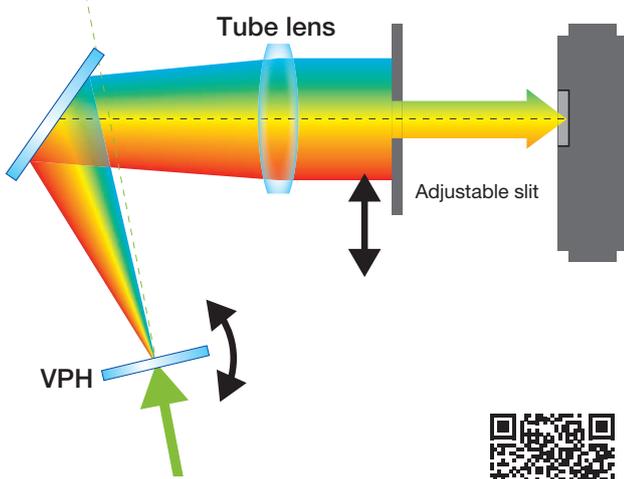


用于标记小鼠内前额叶皮质切片的六种荧光团的发射光谱。尽管各荧光团的光谱重叠，但经 TruSpectral 检测器优化检测波长后，串扰被降至最低。

# 高灵敏度多通道成像

## 具有高灵敏度和高精确定性的全光谱系统

FV3000 系列产品采用了奥林巴斯的 TruSpectral 全真光谱检测技术。光谱检测基于获得专利的体相位全息 (VPH) 透射光栅和可调狭缝发射光，效率非常高，允许用户在 1 nm 的光谱分辨率下为每个通道单独选择检测波长。



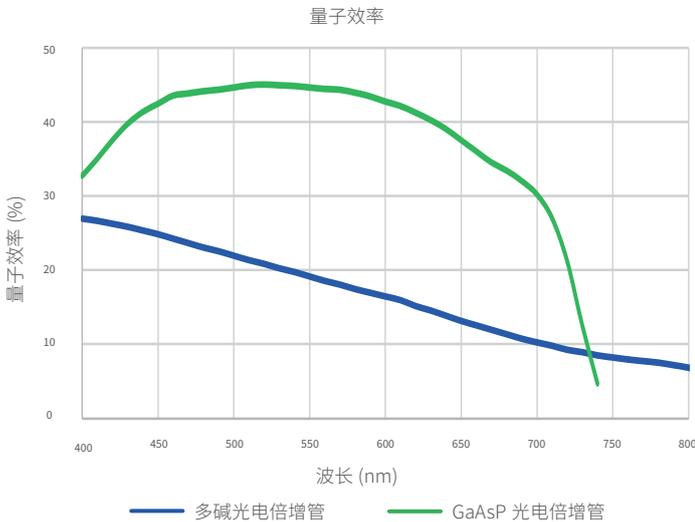
[www.olympus-lifescience.com/video/fv3000\\_truspectral](http://www.olympus-lifescience.com/video/fv3000_truspectral)



## 带有制冷型 GaAsP 光电倍增管的高灵敏度光谱检测器 (HSD) 提高了量子效率

FV3000 系统的高灵敏度光谱检测器中的 GaAsP 光电倍增管可以用于观察传统检测方法无法捕捉的极弱信号。GaAsP 光电倍增管有两个通道，其峰值量子效率为 45%，而且帕尔贴制冷技术可使背景噪声降低 20%，从而可在较弱的激发光照下获得高信噪比图像。

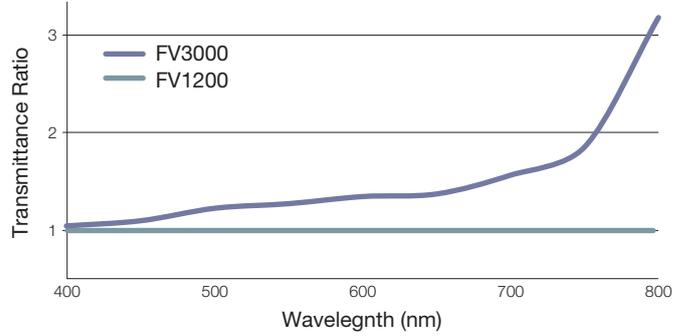
### 检测器技术的标准量子效率



## 高效的 TruSpectral 全真光谱检测系统

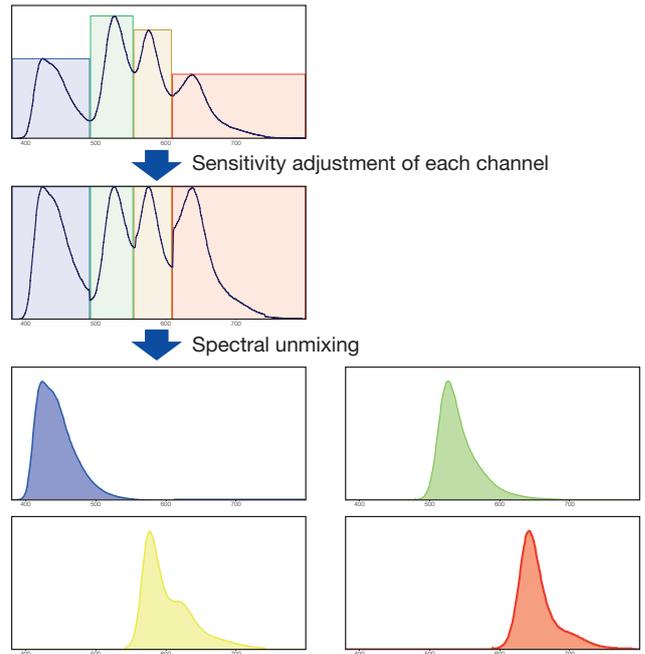
FV3000 系列中的所有检测器都具有光谱成像功能。TruSpectral 全真光谱检测提供高达三倍的整体传输和灵敏度及高信噪比，具有出色的多色共聚焦成像能力。

FV3000 与 FV1200 检测路径中的传输比



## 采用 16 通道拆分技术的多通道 TruSpectral 全真光谱检测技术

TruSpectral 全真光谱技术的应用和软件设计可使光谱检测器运行多通道模式，包括多通道拆分的实时和后续处理两种模式。多通道模式有助于在活细胞实验的过程中确保稳定一致的光谱拆分效果，而且可以在图像采集的过程中区分复杂的荧光。由于四个检测通道可以最多有四个动态范围，通过对每个检测器的灵敏度单独进行调整，可以区分明亮和微弱的光谱信号。

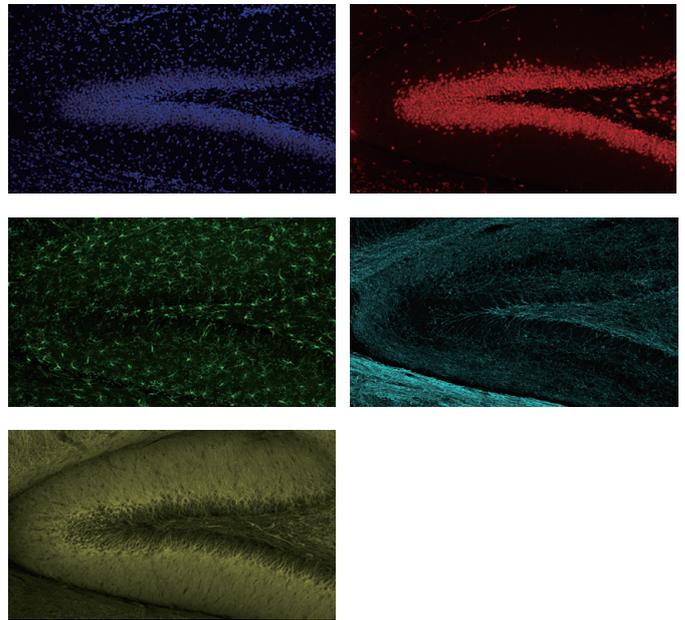
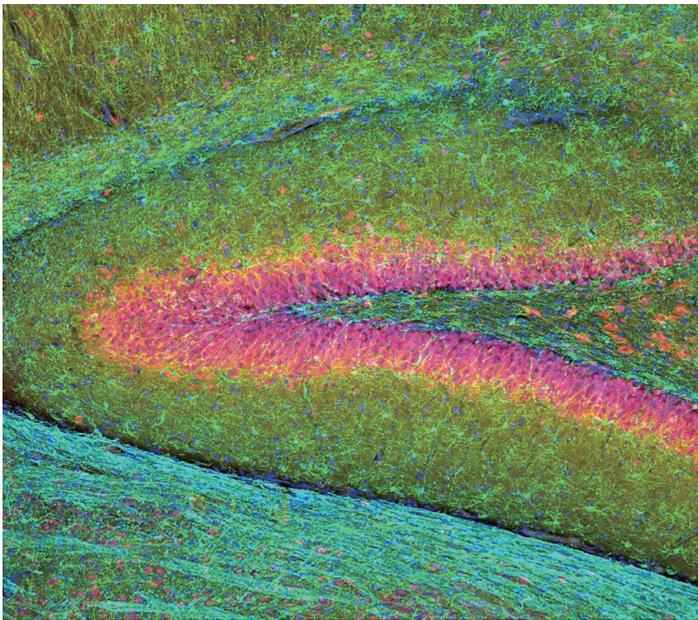


## 应用：用于近红外解决方案的 FV3000 Red 系统

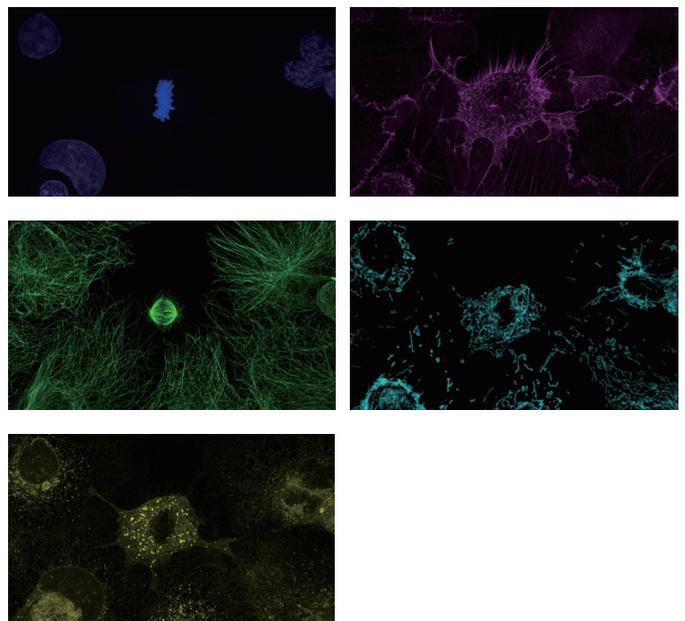
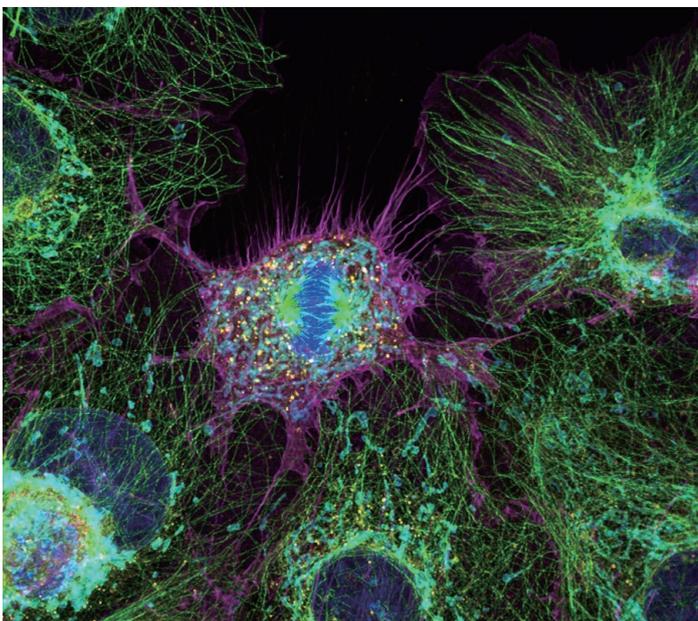
近红外(NIR)荧光提高了多通道、低损伤活细胞成像和更深层成像的可能性,同时减少了自体荧光。

FV3000 Red系统的检测光路极大地提高了近红外光的透射。此外,它还配备了730 nm或785 nm等波长的近红外激光器,以及1-2个通道的近红外专用GaAs检测器(~890 nm),可实现从400 nm到890 nm的6通道多通道成像。

通过引入波长较长的激光,如:808 nm和980 nm,现在可以同时成像纳米颗粒的上转换荧光和常规荧光。



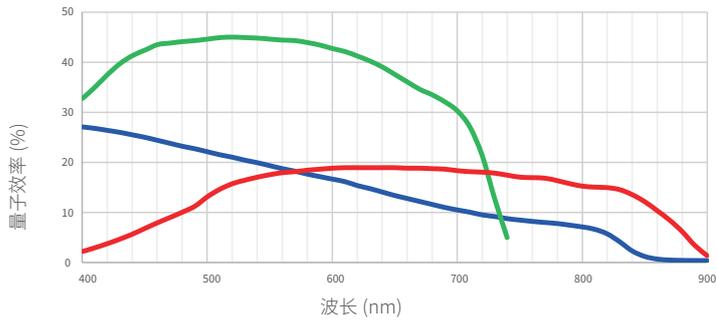
用 Hoechst (蓝色)、IBA1 抗体 (Alexa Fluor 488 ; 绿色)、MAP2 抗体 (Alexa Fluor 594, 黄色)、FOX3 抗体 /NeuN (Alexa Fluor 647 ; 红色) 和 MBP 抗体 (Alexa Fluor 750 ; 青色) 标示的大鼠脑切片。图像系使用 UPLXAPO10X 物镜, 在 GaAsP 和 GaAs 检测器上使用 405 nm、488 nm、561 nm 和 730 nm 激光激发。最大强度 Z 投影结合 TruSight 反卷积处理。样本承蒙 EnCor Biotechnology 提供。



DAPI 标记的 Cos-7 细胞 (蓝色)、微管蛋白抗体 (Alexa Fluor 488 ; 绿色)、刀豆蛋白 A (Alexa Fluor 594 ; 黄色)、SiR 肌动蛋白 (洋红) 和 TOMM20 抗体 (Alexa Fluor 750 ; 青色)。图像系使用 UPLAPO60XOHR 物镜, 在 GaAsP 和 GaAs 检测器上使用 405 nm、488 nm、561 nm、640 nm 和 730 nm 激光激发。最大强度 Z 投影结合 TruSight 反卷积处理。样本承蒙苏黎世大学的 Jana Döhner 博士、Urs Ziegler 博士提供。

# 用于近红外解决方案的 FV3000 Red 系统

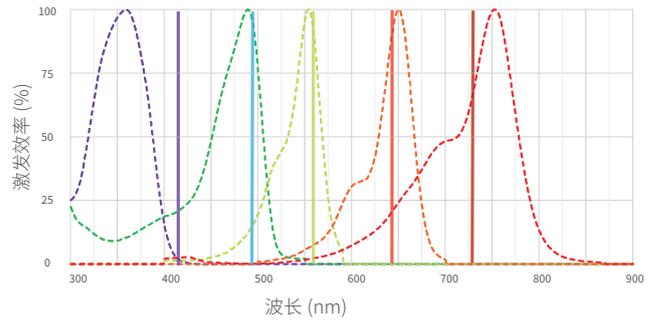
## 用于近红外成像的冷却GaAs光电倍增管探测器



— 多碱光电倍增管 — GaAsP 光电倍增管 — GaAs 光电倍增管

与传统的GaAsP光电倍增管(PMT)或多碱PMT相比, GaAs光电倍增管在700 nm–890 nm范围内的量子效率更高。

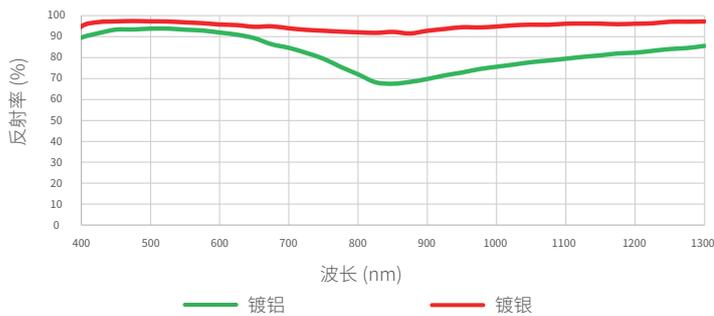
## 近红外激光器二极管



— DAPI — GFP — RFP — Alexa Fluor 647 — Alexa Fluor 750

近红外激光器二极管有助于减少染料选择带来的串扰。这些激光器二极管(LD730/785)设计为在连续波(CW)模式下驱动, 具有稳定、低维护和寿命长的优点。

## 用于近红外成像的高透射率光学器件



— 镀铝 — 镀银

高效的近红外成像要求高质量的光学器件。FV3000系统的所有光学元件都在400-1300 nm范围内具有高透射率, 包括镀银(非镀铝)的常规和共振扫描振镜。

## TruFocus Red Z漂移补偿器



TRU<sup>FOCUS</sup>

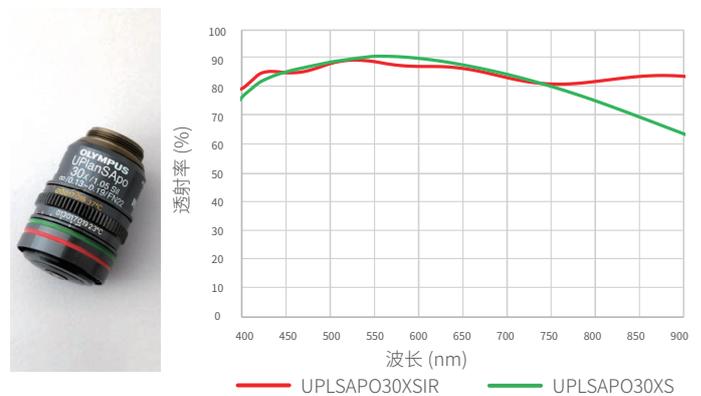
TruFocus Red使用强度非常低的830 nm二极管激光器来识别盖玻片表面, 并保持样本的聚焦位置。该设备可良好地应用于活细胞和多孔板成像, 覆盖从可见光到近红外光的所有波长, 包括iRFP等荧光蛋白。

## 使用X Line高性能物镜进行多通道成像



获奖的X Line物镜针对400-1000 nm范围内的色差进行了校正, 近红外成像效果良好。它们还具有更高的数值孔径、出色的平整度和从紫光到近红外光的极高透射率, 增强了多通道成像能力

## 使用近红外光与硅油浸入式物镜观察深层组织

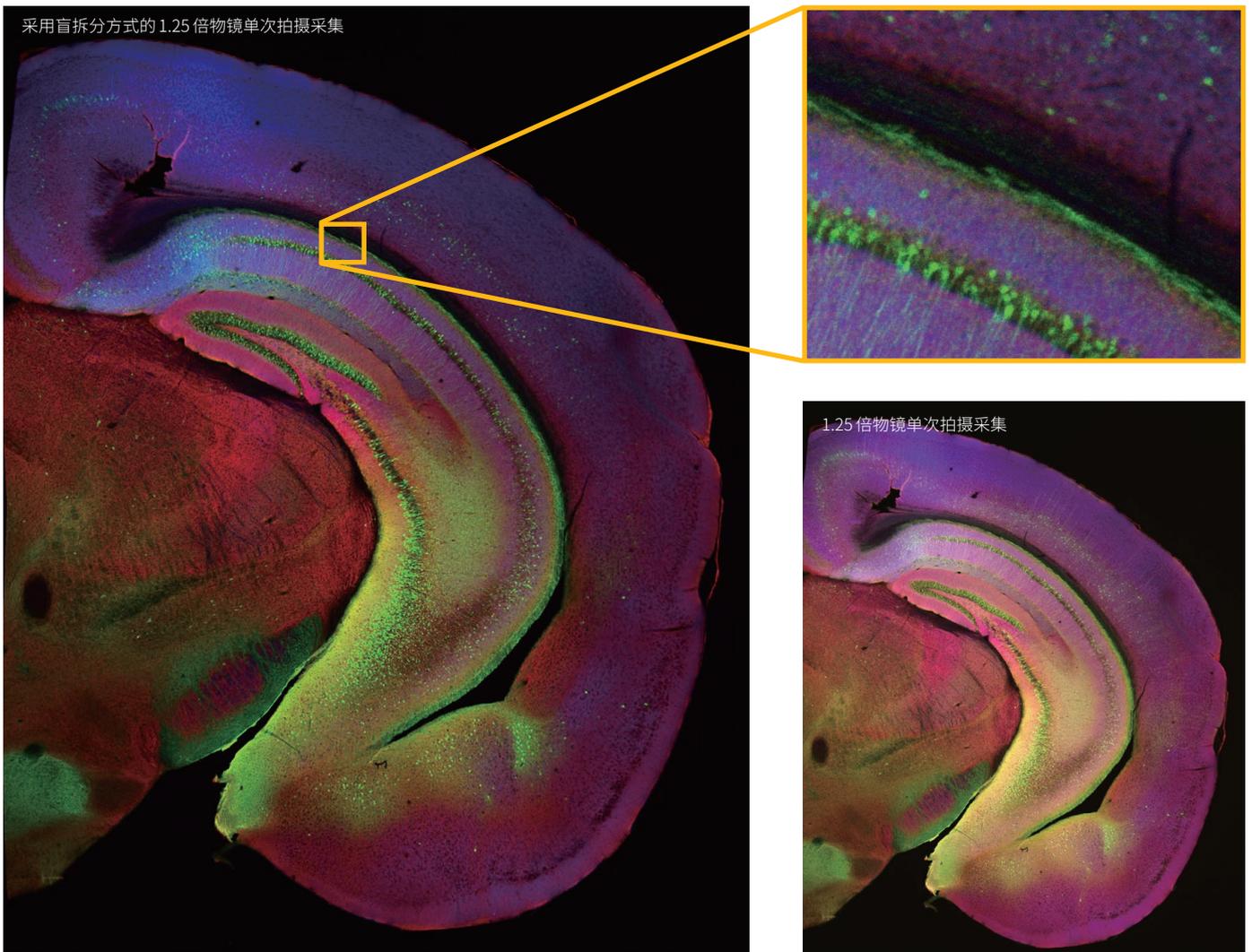


— UPLSAPO30XSIR — UPLSAPO30XS

在近红外范围内成像的优势之一是其能更加深入样本。这是因为波长较长的光不易被生物样本散射。与硅油浸入式物镜( $n \sim 1.40$ )结合使用时, 可显著降低球面像差, 获得信噪比更高的图像, 即使是在活组织深层位置。

## 应用：从宏观到微观成像及超分辨率

生命科学研究应用要求用户在更大的组织结构背景中观察感兴趣的区域。大视野是能够在整个组织样本背景中看到细胞组分的关键。FV3000显微镜的光路支持1.25-150倍的从宏观到微观观察。图像拼接则让用户能够在宏观图像上快速定位目标细胞，并随后以更高分辨率对细胞的精细结构进行成像，这进一步增强了这些应用。当需要使用更高一些的分辨率时，可以将奥林巴斯的超分辨率技术(FV-OSR)与此方法结合使用，从而提供卓越的从宏观到微观成像性能。



半个冠状小鼠脑片在显微镜下拍摄的图像。二抗标记的是 GFP (Alexa Fluor 488, 绿色)、SV2 (Alexa Fluor 565, 红色) 和 Homer (Alexa Fluor 647, 蓝色)。样本承蒙麻省理工学院的 Ed Boyden 博士和 Fei Chen 博士提供。

### 用于宏观观察的物镜

	数值孔径	视野
PLAPON1.25X	0.04	14.4 mm
PLAPON2X	0.08	9.0 mm
UPLXAPO4X	0.16	4.5 mm

### 用于微观观察的物镜

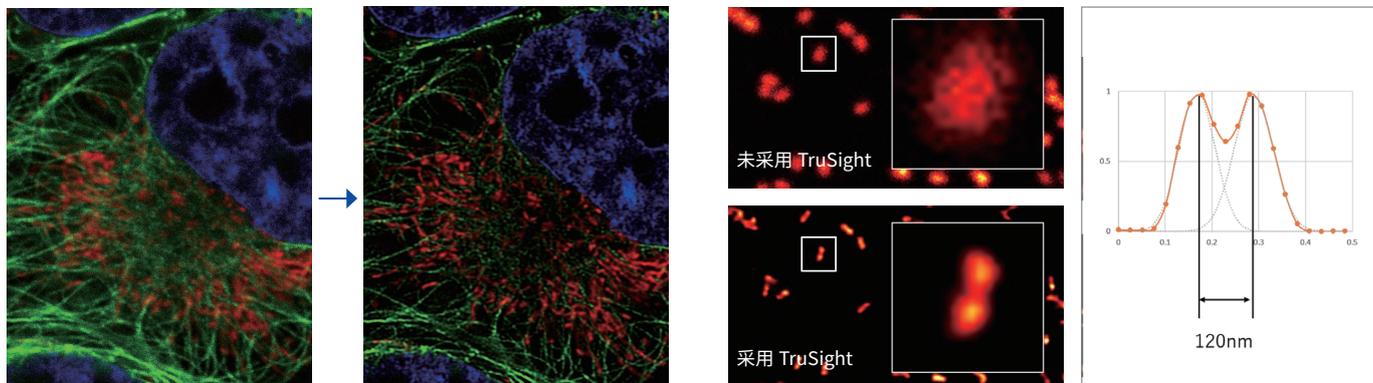
	数值孔径	理论分辨率 (XY)
UPLXAPO40XO	1.4	169 nm
UPLXAPO60XO	1.42	166 nm
UPLXAPO100XO	1.45	163 nm
UPLAPO60XOHR	1.5	157 nm
UPLAPO100XOHR	1.5	157 nm
APON100XHOTIRF	1.7	139 nm

\* 理论分辨率是以 488 nm 激发和 1 AU 共焦孔的条件计算的。

# 从宏观到微观成像与超分辨率

## TruSight反卷积

TruSight反卷积图像处理通过减少光学模糊和噪声来提高图像的锐度和清晰度。光学特性的优化图像处理模式支持复原使用FV3000显微镜采集的共聚焦图像。TruSight反卷积也可降低使用奥林巴斯超分辨率(FV-OSR)技术采集的图像中的噪声。TruSight反卷积使用GPU进行高速图像处理。



未采用 TruSight 的 cLSM 图像      采用 TruSight  
Hela 细胞。蓝色：细胞核 (DAPI)，绿色：微管 (Alexa Fluor 488)，红色：线粒体 (MitoTracker Red)

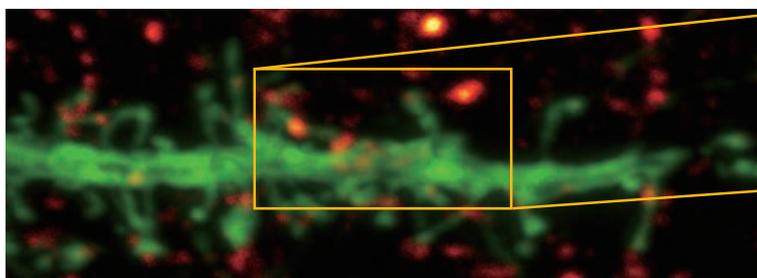
GATTA-SIM 纳米标尺 (SIM 120B, GATTA quant GmbH) 的图像，使用 UPLAPO60XOHR 物镜 (数值孔径 1.5) 采集，针孔尺寸 0.8 AU。纳米标尺两端的荧光标记可利用 TruSight 反卷积技术进行解析。

## 使用多达四个同步通道的奥林巴斯超分辨率(FV-OSR)技术

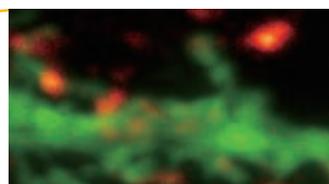
奥林巴斯应用广泛的超分辨率技术对荧光团没有特殊的要求，而且可用于各类的样本。奥林巴斯的超分辨率成像模块是完成共定位分析的理想工具，可以依次或同时采集4个荧光信号，分辨率大约 $120\text{ nm}^*$ ，这种分辨率几乎是常规共聚焦显微镜的2倍。这种成像模块使用起来非常方便，用户只需很少的培训就可以使用，而且可被添加到任何FV3000系统内，因此可以说是一种获得超分辨率的切实可行方法。

## 超越反卷积共焦:共焦和反卷积FV-OSR图像的对比

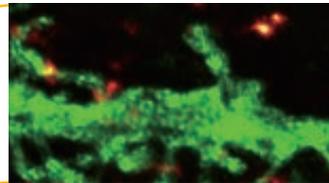
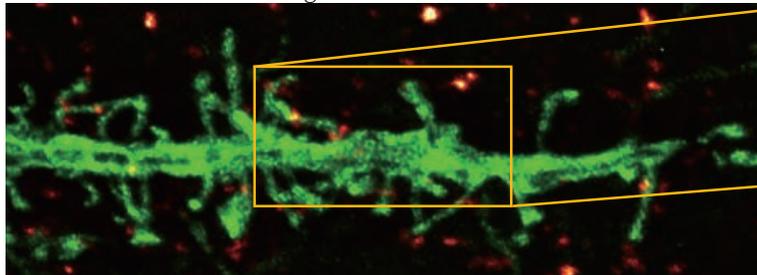
共聚焦图像



放大



奥林巴斯的超分辨率及TruSight



二抗标记的是 GFP (Alexa Fluor 488, 神经元) 和 SV2 (Alexa Fluor 565, 红色)。样本承蒙麻省理工学院的 Ed Boyden 博士和 Fei Chen 博士提供。

## 使用 $\Phi 40\text{ nm}$ 荧光珠的 FWHM 实际测量示例<sup>2</sup>

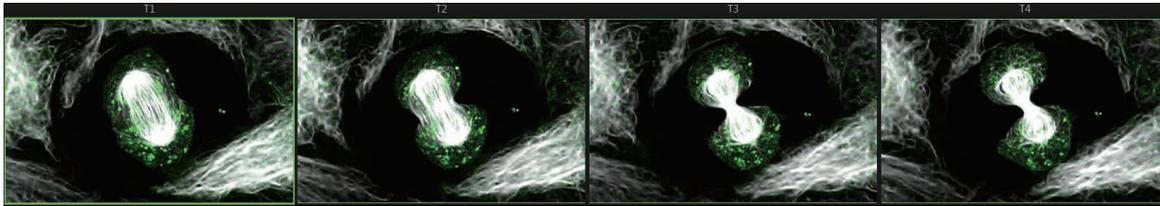
	共焦 (1 AU)	TruSight	FV-OSR
横向投影			
轴向投影			
横向 FWHM [nm]	202	120	120
轴向 FWHM [nm]	465	292	405

<sup>1</sup> 取决于物镜倍率、数值孔径、激发和发射波长、以及实验条件。

<sup>2</sup> 图像使用 UPLAPO60XOHR (NA1.5) / ex 488 nm /  $\Phi 40\text{ nm}$  珠采集

## 应用：延时成像

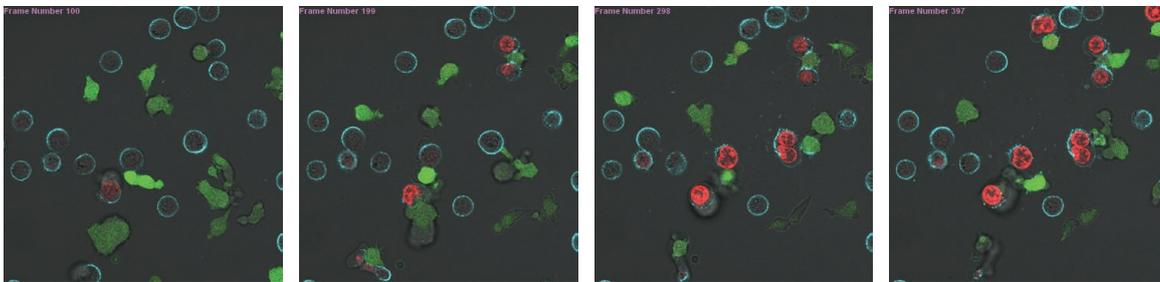
延时成像实验要求全程保持聚焦，且对样本的光毒性较小。奥林巴斯的TruFocus Z漂移补偿器可在实验过程中帮助每个位置保持聚焦，即使温度发生变化或添加了试剂。此外，FV3000系统的高灵敏度检测器要求的激光强度更低，且共振扫描振镜也缩短了激光照射时间，从而降低了光毒性，可获得生理上更准确的成像数据。



由硅罗丹明-多西紫杉醇（微管蛋白）标记的小鼠胚胎成纤维细胞的3D延时成像。成像中采用100倍硅油物镜和每秒30帧的共振扫描振镜，然后进行cellSens反卷积。图像数据承蒙哈佛大学的Markus Delling博士提供。



[www.olympus-lifescience.com/fv3000-cell-division-resonant/fv3000-cell-division-resonant](http://www.olympus-lifescience.com/fv3000-cell-division-resonant/fv3000-cell-division-resonant)



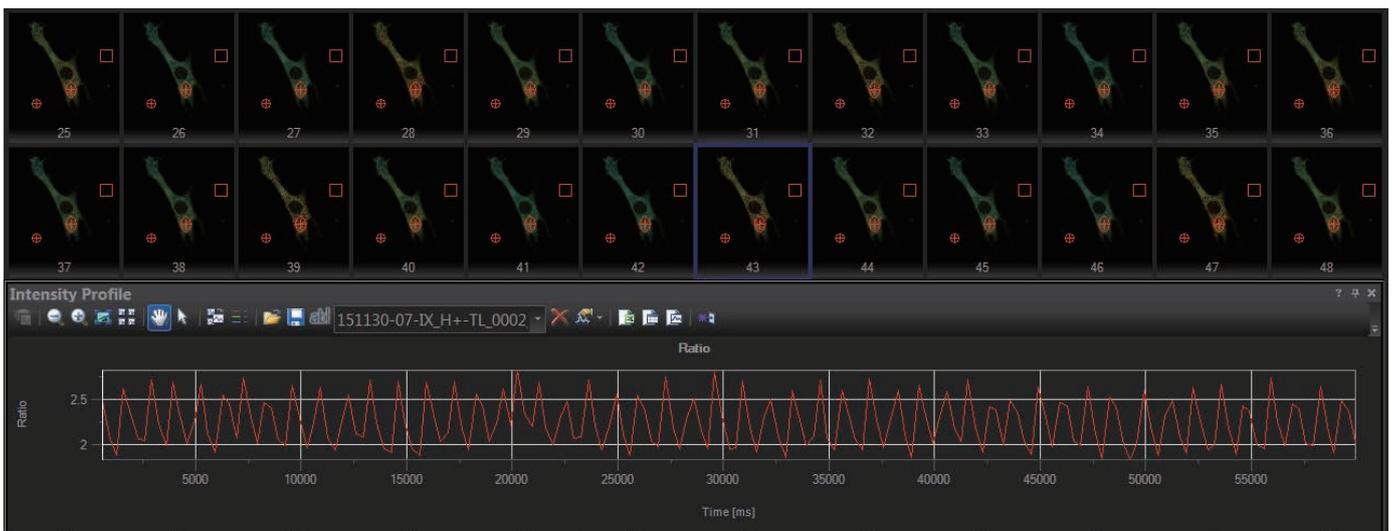
抗体治疗后由NK细胞诱导的细胞杀伤（蓝色）。GFP标记的NK细胞（绿色）。由DAPI吸收标记的死亡细胞（红色）。图像数据承蒙日本癌症研究基金会癌症化疗中心的Yuji Mishima博士提供。



[www.olympus-lifescience.com/fv3000-dudi-158v-xyt-0001\\_00000](http://www.olympus-lifescience.com/fv3000-dudi-158v-xyt-0001_00000)

## 应用：高速成像

心脏跳动、血液流动或细胞内的钙离子流等动态现象需要借助高速成像来观察。FV3000RS混合型扫描单元使用常规扫描振镜进行精密扫描，还包含一个非常适合对活体生理活动进行高速成像的共振扫描振镜。共振扫描振镜的扫描速度从FN18下的每秒30帧至剪裁扫描下的每秒438帧。用户只需点击一下即可在常规和共振扫描振镜间切换，并可使用时序管理器记录复杂实验的每个操作。



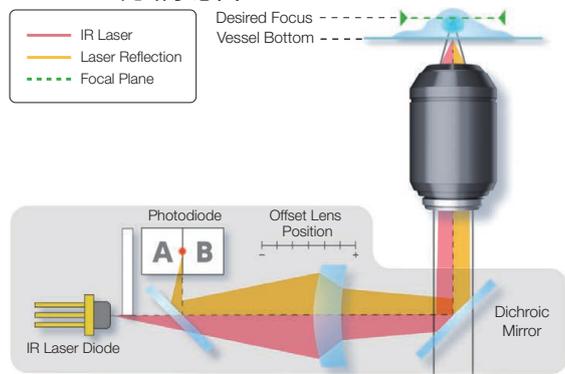
体外心肌细胞自发性收缩期间CFP/YFP比值的强度调节显示。图像数据承蒙日本理化研究所脑科学研究中心细胞功能动力学实验室的Yusuke Nino和Atsushi Miyawaki提供。

# 精准的延时成像

## 通过TruFocus Z漂移补偿技术保持对焦

TruFocus ZDC系统使用光毒性极小的红外光(1类激光器)识别样本平面的位置。一键自动聚焦(AF)模式可以根据需要为较厚的样本设置多个聚焦位置,从而获得有效的多位点Z轴序列图像。连续的自动聚焦模式保持了所需观察平面的精确聚焦状态,避免因引发的温度变化或添加试剂所导致的聚焦面漂移,因此非常适用于对聚焦精度要求更严格的定量实验。此外,连续自动聚焦模式可在更大范围内设置光学补偿值,非常适用于塑料底部容器或干燥系物镜。TruFocus ZDC系统也兼容硅油物镜,支持精准的延时成像。

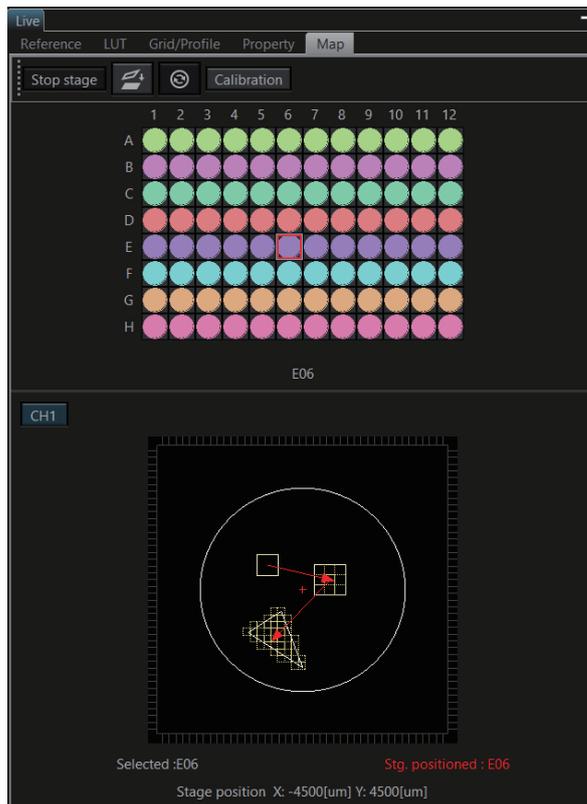
TruFocus 光路示意图



[www.olympus-lifescience.com/video/ix3\\_zdc2](http://www.olympus-lifescience.com/video/ix3_zdc2)

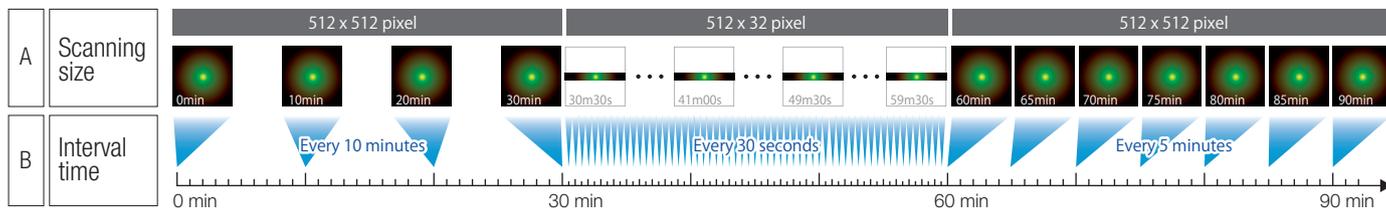
## 多区域延时、微孔板和拼接操作时对载物台的控制

多区域延时成像和大图拼接功能可以提供可靠、精确的延时数据,而且可为用户生成详细的总览图像,以使用户在背景下观察这些数据。微孔浏览功能可对多种商用微孔板以及设计定制的培养皿进行精密、直观的控制。



## 时序管理器降低了成像的复杂性

使用时序管理器软件模块,可以轻松、准时地处理复杂的流程。可以使用微秒级扫描精度和毫秒级序列执行精度,对数天长时间的延时实验进行控制。时序管理器支持多种实验方案,如:不同时间间隔的延时采集,高低倍率物镜的切换,常规和共振扫描振镜的切换,FRAP或FRET(受体光漂白)成像间光刺激的切换。

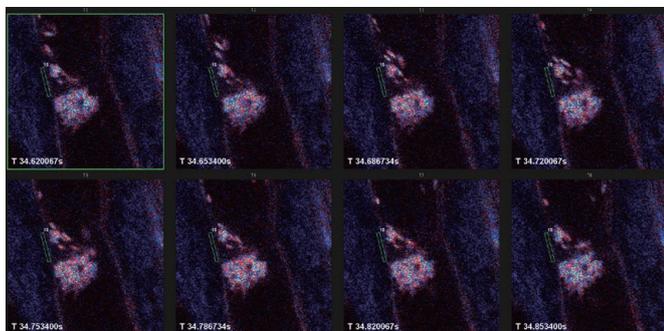


时序管理器支持微秒级扫描精度下的可变延时试验

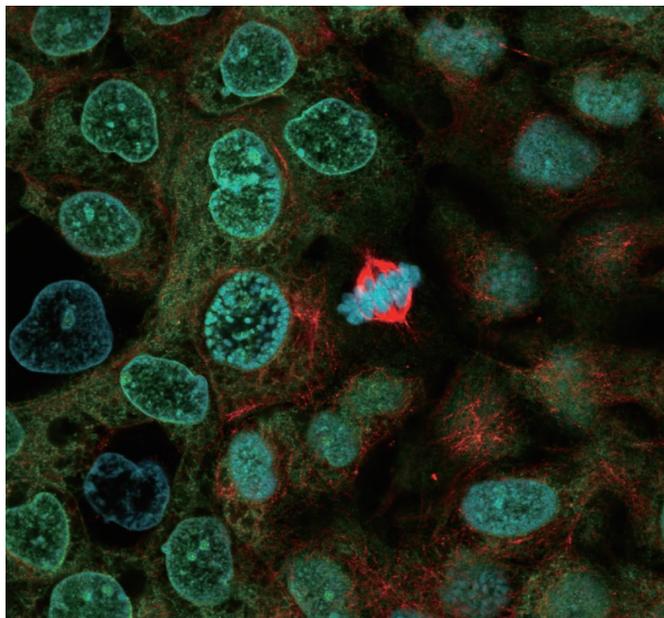
## 通过高速成像，提高了生产力

### 常规扫描振镜和振镜 / 共振混合型扫描单元

用户可以选择两种不同类型的扫描振镜：仅带常规扫描振镜的 FV3000 系统，或者带振镜 / 共振混合型扫描单元的 FV3000RS 系统。混合型扫描单元包含一个用于高精度扫描的常规扫描振镜，和一个非常适于高速成像的共振扫描振镜。常规扫描振镜与奥林巴斯的超分辨率技术 (FV-OSR) 的结合，让用户可以获得高达 120 nm 的分辨率和很高的信噪比。常规扫描振镜还可以提供一些灵活的扫描选项，其中包含：精确的龙卷风扫描和 100 ms 切换时间的多点刺激。常规扫描振镜每秒钟最多可以采集 16 帧图像。切换到共振扫描振镜后，用户可以在  $512 \times 512$  像素的全视野下每秒钟采集 30 帧图像。在  $512 \times 32$  像素下，共振扫描振镜每秒钟最多可以采集 438 帧图像，这样就可以捕获到实时发生的关键性的生理事件，如：钙离子流。



小鼠血管内的血小板凝集成血栓。通过装有 2 通道 GaAsP 光电倍增管的共振扫描振镜以全幅 30 fps 的扫描速度获得的图像。  
图像数据承蒙京都大学生物研究研究生院的 Takuya Hiratsuka 博士和 Michiyuki Matsuda 博士提供。



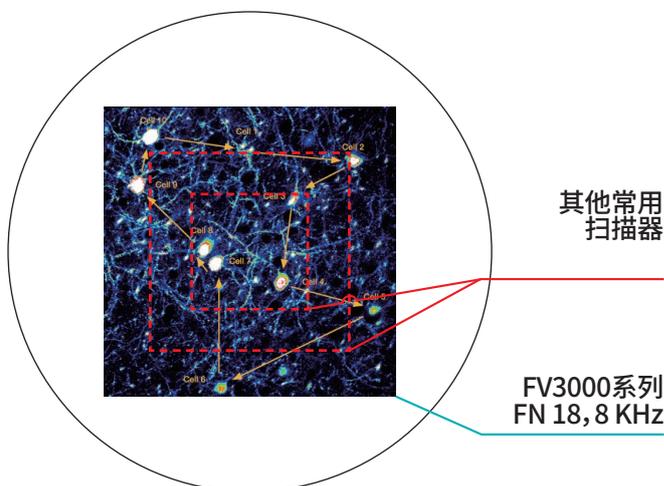
甲醇固定的 A431 细胞，使用 Abcam ERK1 抗体 + ERK2 抗体 (Alexa Fluor 488) ab208564、 $\alpha$ 微管蛋白抗体 (Alexa Fluor 594) ab195889 和 DAPI 标记。  
样本承蒙 Abcam 提供。

### 为活细胞成像而优化

与常规扫描振镜相比，共振扫描振镜极大地降低了光漂白和光毒性，因为共振扫描不会使荧光分子激发跃迁为会产生活性氧的三重态。这些特性使活细胞实验更加稳定可靠。FV3000 系列产品拥有完整的高、低功率范围内的激光强度控制，可对样本使用满足实验的微弱激光功率。可选配的激光功率监控器可以在连续多天进行的长时延时成像过程中使激光功率保持稳定一致。

### 兼顾速度与视野

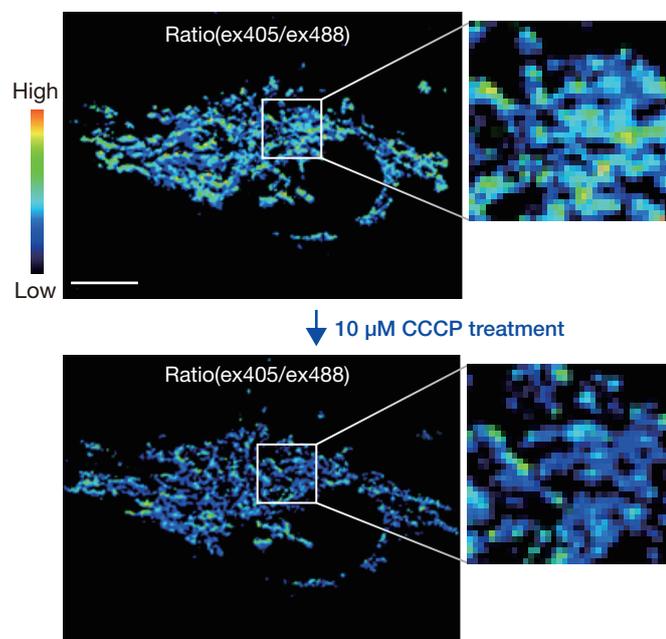
许多高速扫描方法会对视野有所限制，从而限制了它们在检测包含多个细胞的大区域应用中的实用性。FV3000 系列的共振扫描振镜甚至可以在每秒 30 帧的视频速度下保持 1X 的全视场。通过缩短 Y 轴的扫描距离，最高可以达到每秒钟 438 帧的采集速度。



大多数共振扫描振镜需要在速度与视野之间做出妥协。FLUOVIEW 系统经过优化，保持视野和均一的信号强度，因此可以观察各种活细胞和组织中的动态样本（如：钙成像）。上图显示在使用其它共振扫描系统时需要视野进行剪切的示例。

## 比例成像和强度调节显示(IMD)

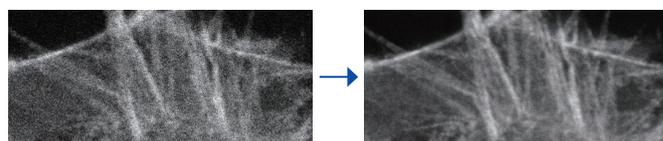
FV3000显微镜的比例成像分析功能软件中包含一个强度调节显示(IMD)功能,可以在标准和高速两种图像采集过程中以量化方式显示荧光比例的变化。这个功能对于钙成像和FRET成像特别有用,因为在这种成像过程中,单纯的比例显示会使背景区域表现出较差的对比度。



HeLa 细胞中 tsGFP1-mito 表达量的变化体现了线粒体产热过程的蛋白质变化。表达 tsGFP1-mito 的细胞在 37 °C 下经 CCCP 处理前后的比例图像 (ex 405 nm/ex 488 nm)。比例尺分别为 10 μm (全图) 和 3 μm (插图)。图像数据承蒙京都大学合成化学和生物化学系分子生物学专业的 Shigeki Kiyonaka 博士和 Yasuo Mori 博士提供。

## 循环平均处理

在快速扫描模式下,如果使用较低的激光强度避免光毒性,往往会降低图像的信噪比。使用循环平均功能进行图像处理,可以在保持时间分辨率和原始数据的情况下,灵活地对快速延时图像进行降噪。

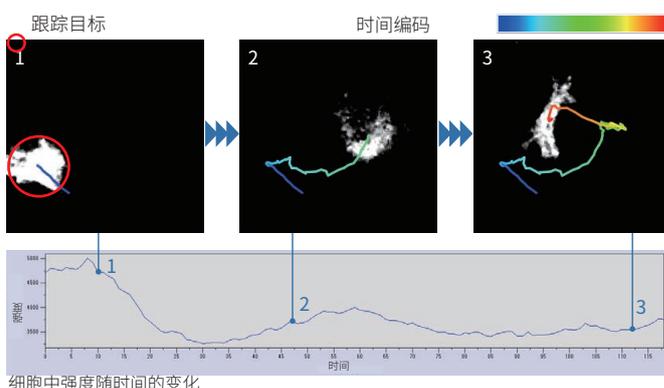


较低激光功率 (0.05%, 488 nm) 下采集每秒 30 帧原始图像数据。

对较低激光功率下采集的每秒 30 帧数据图像的循环平均处理结果 (10 帧)。

## 目标跟踪

在延时成像过程中,可以自动探测到移动的物体,并可对其进行跟踪和分析。cellSens 软件的跟踪功能是一个可以对动态过程 (如:细胞的移动和分裂) 进行定量分析的强大、直观的工具。

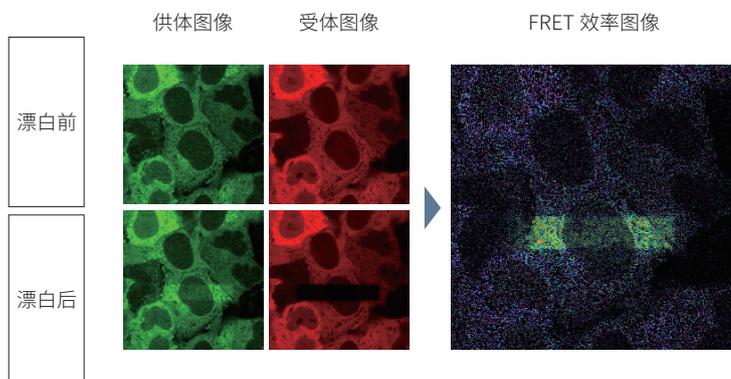


## 生命科学分析

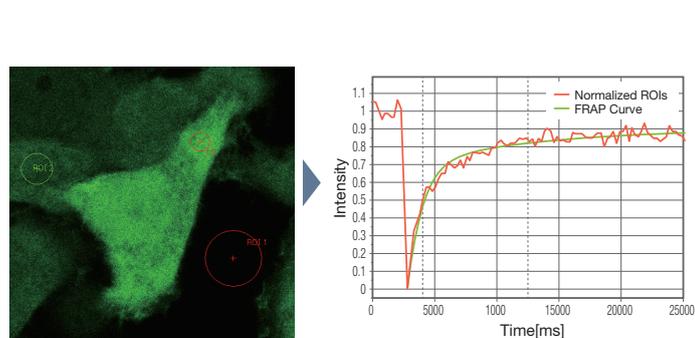
cellSens 生命科学分析模块可以对从 FRAP 或 FRET 实验中采集的图像进行分析。FRAP 模块包括单指数拟合和双指数拟合功能。这一模块可用于计算  $\tau/2$  和可移动/不可移动部分。

FRET 模块通过受体光漂白和敏化发射而支持比例成像处理和 FRET 效率测量。有几种计算方法可供您使用,包括 Gordon (1998)、Xia (2011) 和 Elangovan (2003)。

### FRET 分析 (受体光漂白) 示例



### FRAP 分析示例



## 应用：使用硅油浸入式物镜进行深层组织观察

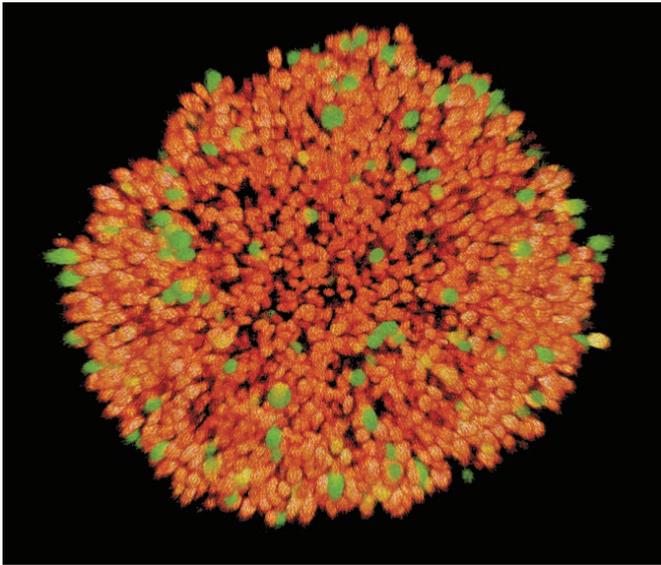
奥林巴斯的硅油浸入式物镜实现出色的活细胞成像性能。硅油的折射率与活组织的折射率接近，因此可以将球面像差降到最低，支持用户在高分辨率下观察活组织内部的深层部位。这一折射率的匹配可产生理想的聚焦体积，从而可实现完美的体积重建，并支持大型活生物体的高分辨率共聚焦成像。FV3000系统的3D重建软件支持同步图像采集和实时3D渲染，能够将整个样本可视化。



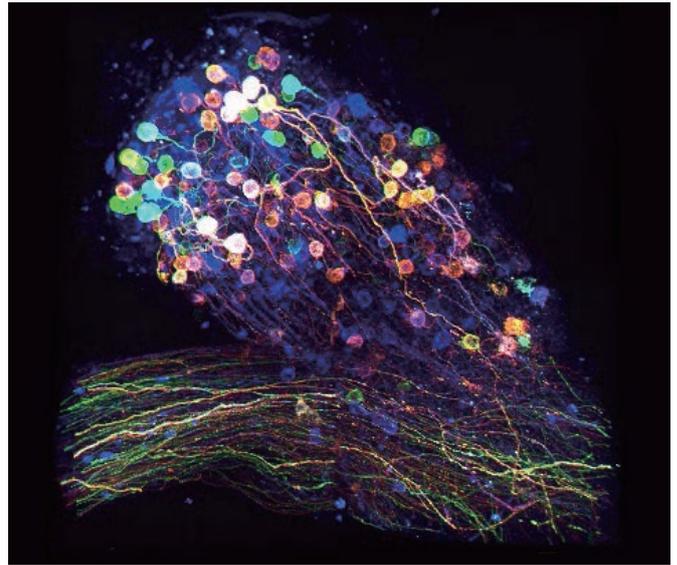
[www.olympus-lifescience.com/fv3000-spheroid-animation](http://www.olympus-lifescience.com/fv3000-spheroid-animation)



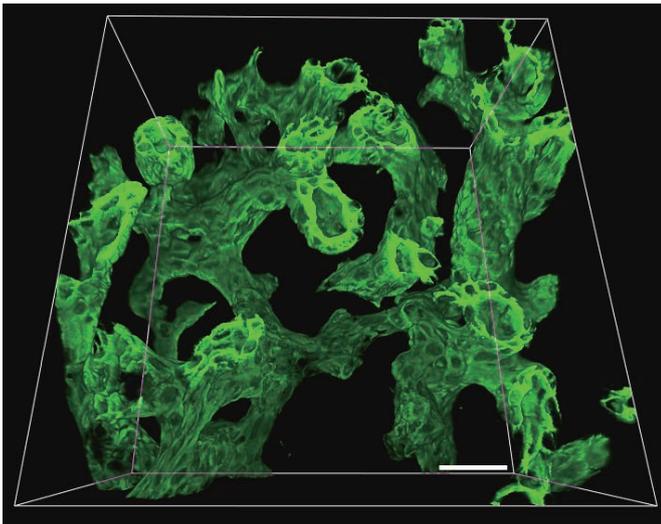
[https://static3.olympus-lifescience.com/data/Video/Library/3Dimageofchickciliaryganglionclearedbytissueclearingreagent\\_480.mp4?rev=64AE](https://static3.olympus-lifescience.com/data/Video/Library/3Dimageofchickciliaryganglionclearedbytissueclearingreagent_480.mp4?rev=64AE)



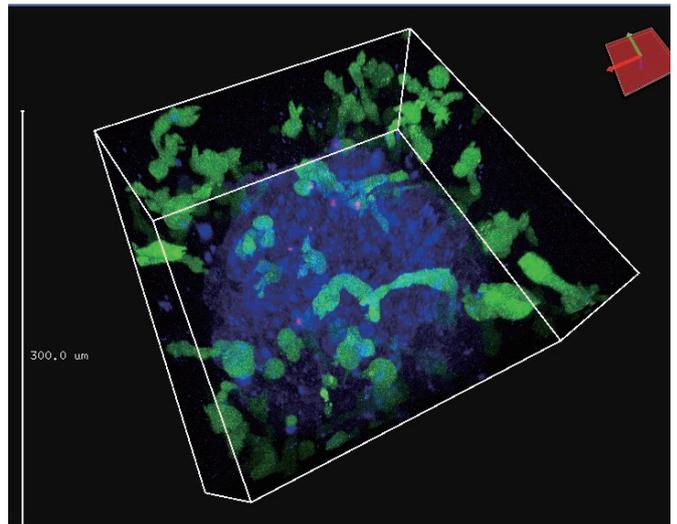
表达 Fucci2 的 NMuMG 细胞系的细胞球图像。  
图像数据承蒙日本理化学研究所脑科学研究中心细胞功能动力学实验室提供。



经透明化处理的鸡睫状神经节的 3D 图像。  
图像数据承蒙东北大学生命科学研究所的 Ryo Egawa 博士提供。



小鼠肝脏中胆管树结构的 3D 观察。  
图像数据承蒙国家遗传研究所遗传谱系研究中心哺乳动物发育部的 Hajime Okada 博士，以及东京大学定量生物科学研究所干细胞治疗实验室的 Tohru Itoh 博士提供。



NK 细胞系 KHYG-1 (绿色) 在攻击和杀死由西妥昔单抗标记的 HT-29 肿瘤细胞 (蓝色) 时改变形状。PI 摄取 (红色) 指示细胞死亡。  
图像数据承蒙日本癌研究会癌症化疗中心的 Yuji Mishima 博士提供。



<https://www.olympus-lifescience.com/applications/cleared-mouse-liver/>



[https://www.olympus-lifescience.com/applications/spheroid\\_3d\\_imaging/](https://www.olympus-lifescience.com/applications/spheroid_3d_imaging/)

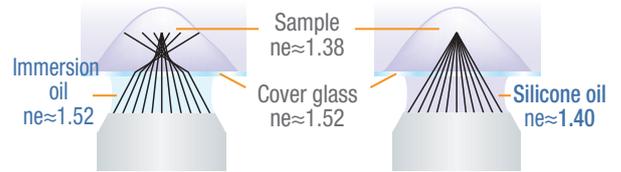
## A Line:用于活细胞成像的硅油浸入式物镜支持高分辨率下深层观察

奥林巴斯提供4款高数值孔径硅油浸入式物镜,让活细胞成像的性能更好。硅油的折射率( $n_e \approx 1.40$ )与活组织的折射率( $n_e \approx 1.38$ )接近,因此可以将由折射率不匹配而造成的球面像差降到最低,支持用户在高分辨率下观察活组织内部的深层部位。硅油不会干燥或硬化,因此无需重新加注,非常适合长期的延时观察。

物镜	工作距离 (WD) [mm]	数值孔径 (NA)
UPLSAPO30XS	0.8	1.05
UPLSAPO40XS	0.3	1.25
UPLSAPO60XS2	0.3	1.3
UPLSAPO100XS	0.2	1.35

### 折射率对于深层组织观察来说至关重要

观察深层组织时,图像的质量取决于样本的折射率是否与浸液的折射率尽可能保持一致。

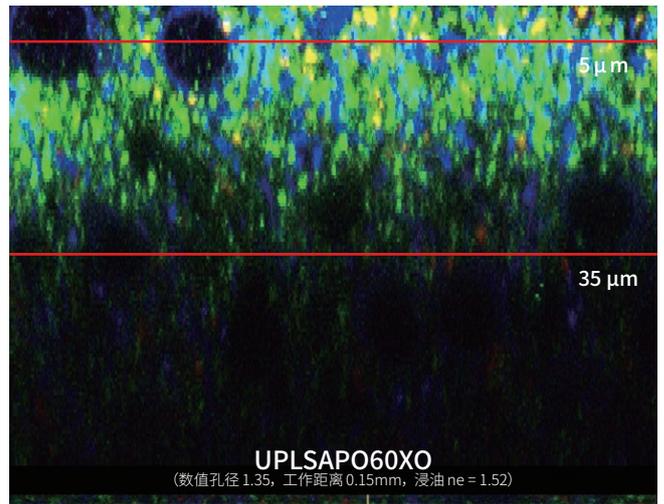
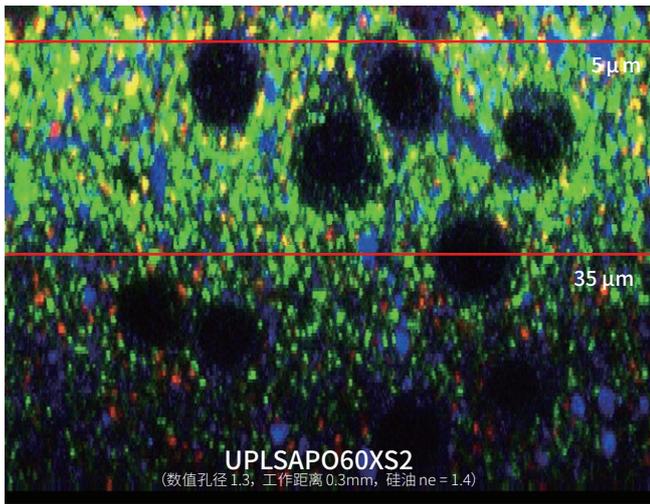


#### 油浸入式物镜

使用油浸入式物镜时,样本和油液的折射率的差异可引发深层组织中的球面像差,从而导致分辨率下降和荧光暗淡。

#### 硅油浸入式物镜

使用硅油浸入式物镜时,样本的折射率与硅油的折射率差别非常小,因此可以较高的分辨率获得深层组织的更为明亮的荧光图像。



使用 UPLSAPO60XS2 和 UPLSAPO60XO 物镜 (UPLXAPO60XO 前身) 采集的经 ScaleA2 处理的新皮质图像。

图像数据承蒙北海道大学医学研究生院解剖学系的 Motokazu Uchigashima 医学博士、博士和 Masahiko Watanabe 医学博士、博士提供。

## A Line PLAPON60XOSC2:通过超级修正复消色差物镜增强共定位分析的可靠性

这款硅油浸入式物镜可将405–650 nm光谱范围内的色差降至极低。它不仅可保证0.1 μm或更低的轴向色差,而且每个物镜都随附有自己的测量数据表。此外,即使在405 nm下也可补偿多种色差,从而获得高质量、均匀的405 nm图像。这款物镜可用于要求严格的共定位分析或超分辨率。



### 超级修正复消色差物镜

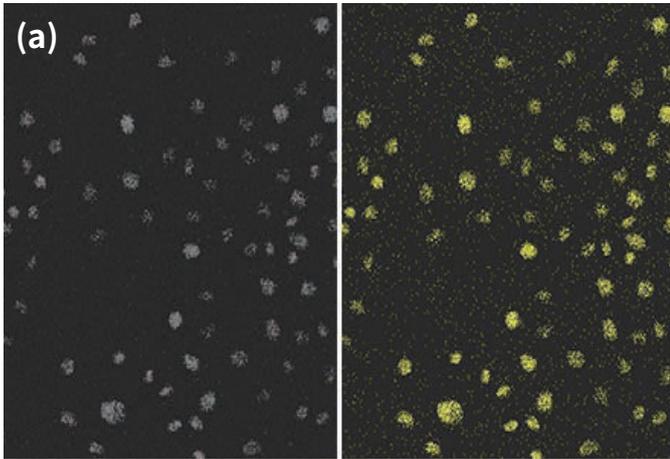
放大倍率:60倍  
数值孔径:1.4(油浸入式)  
工作距离:0.12 mm  
色差补偿范围:  
405–650 nm  
每个物镜均提供光学数据。

### PLAPON60XOSC2和UPLXAPO60XO的性能对比

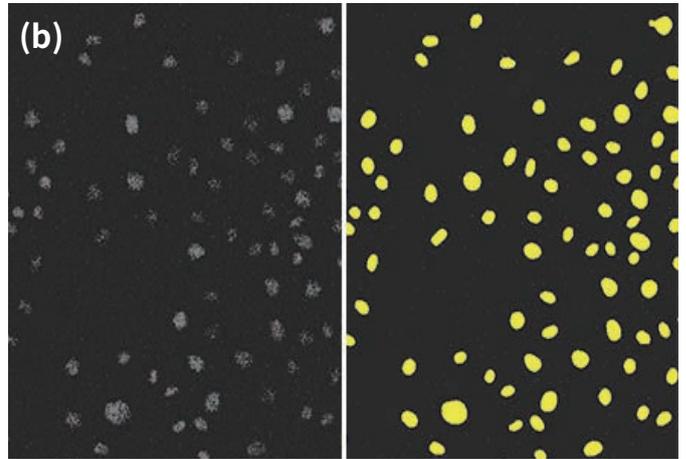
	PLAPON 60XOSC2	UPLXAPO 60XO
竖轴上色差 (Z方向)	约 0 μm	约 0.2 μm
横轴外色差 (X-Y方向)	约 0.05 μm	约 0.15 μm

使用 FLUOVIEW FV3000 显微镜与 TetraSpeck 微球测量的色差对比。  
青色:405 nm 激发,洋红色:640 nm 激发。

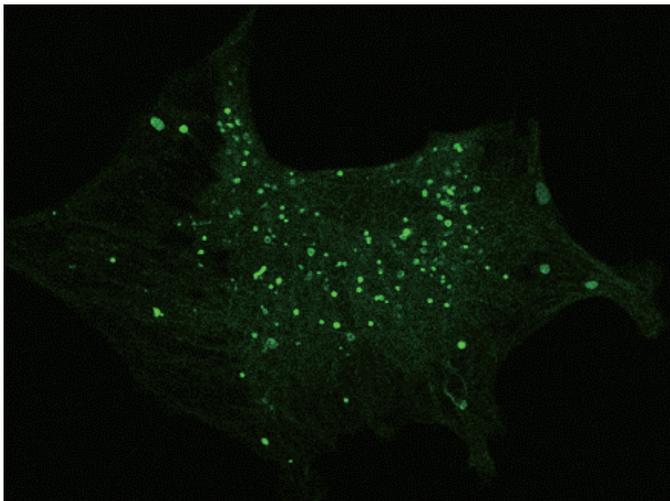
试验通常需要从显微镜图像中提取和分析数据。为了进行准确的图像分析，需要通过分割从图像中提取分析目标，特别是基于强度或颜色阈值来分割。但是，这一过程既耗时，也会影响样本的状况。TruAI技术的新一代图像分析采用深度学习来协助解决这些挑战。



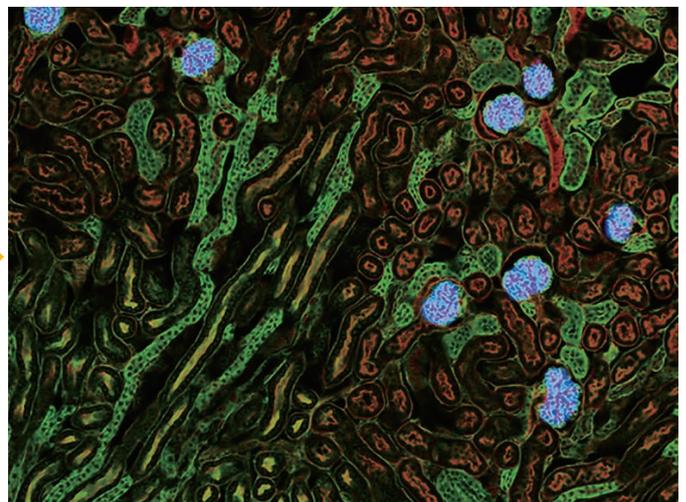
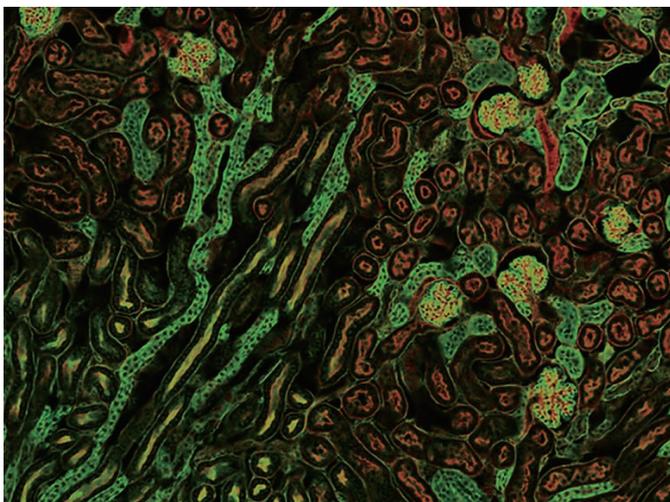
用常规方法从因弱激发光而信噪比极低的荧光图像(左)中检测细胞核(右)的结果。您可以发现,其检测精度较低。



用TruAI从因弱激发光而信噪比极低的荧光图像(左)中检测细胞核(右)的结果。您可以看到,检测精度远高于(a)



小鼠成纤维细胞自噬体(左)和由TruAI识别的自噬体(右)。



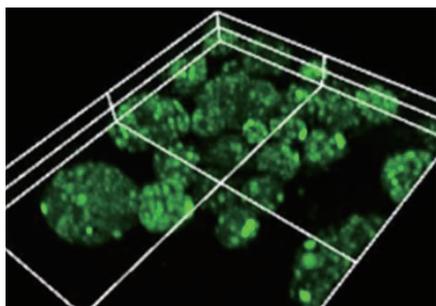
使用TruAI预测小鼠肾脏切片上的肾小球位置(蓝色)。TruAI捕捉并检测到肾小球的特征(右)。

# NoviSight 3D 细胞分析软件

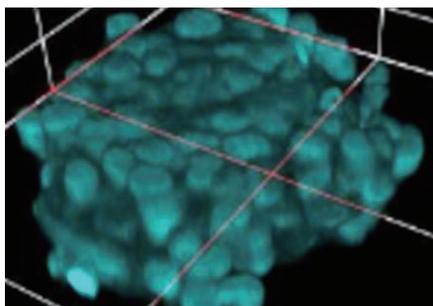
NoviSight 3D细胞分析软件简化了使用FV3000激光扫描显微镜采集的微孔板中细胞球和类器官3D图像的分析。该软件的真3D技术让您能够轻松地对细胞球和类器官中的3D对象进行测量与计数。NoviSight软件通过提高观察效率以及3D分析的准确度和速度而提高了发现速度。

## 快速、精准的对象检测

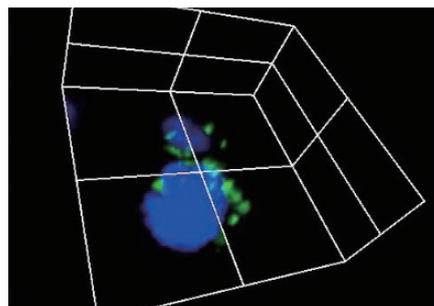
NoviSight软件为3D样本设计的多种检测算法可在三维尺度上量化细胞活动和相互作用。凭借精确的检测，该软件能够对您感兴趣的对象进行分析，提供3D空间中的形态学和时空参数。



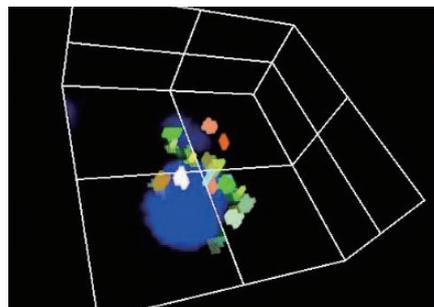
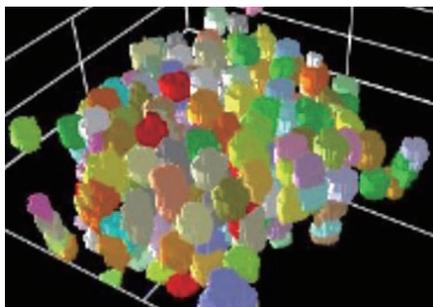
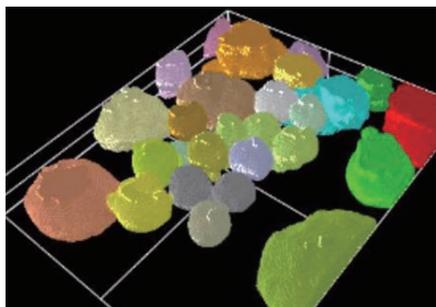
细胞球



细胞核

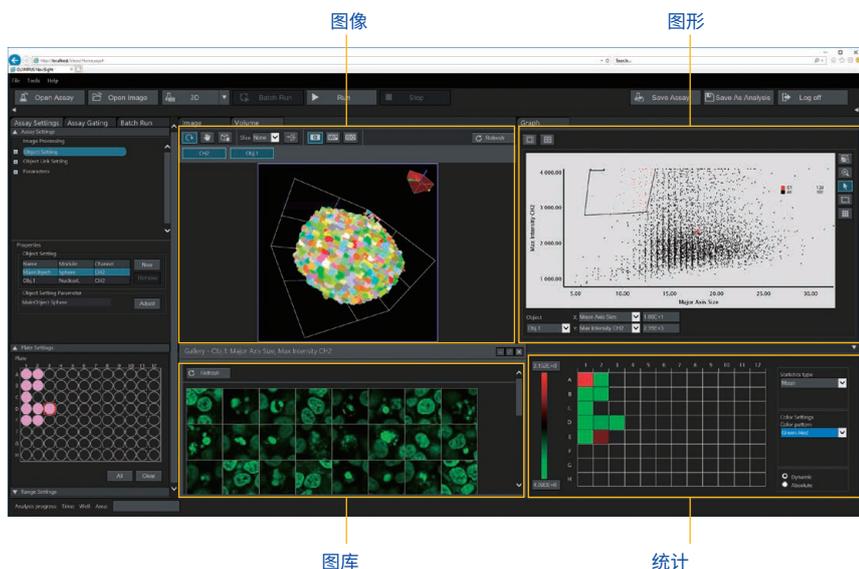


细胞器 (自噬体)



## 直观的用户界面缩短了分析时间

您所需要的识别、分析和统计结果等所有数据都储存在同一个便捷的位置。原始图像与定量数据配对，从而可轻松地进行验证和解读。数据可以轻松导出为CSV或FCS文件，以供进一步分析。



### 图像

获得样本的2D或3D视图。在图像平面内定位2D对象，或切换到3D以探索整个细胞球。

### 图形

散点图让您以更加轻松地分类对象。您可以单击和选择单个点，即可显示该对象的图像。

### 图库

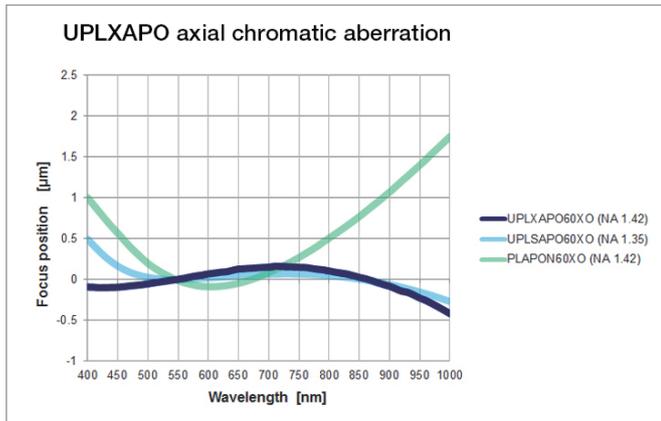
一目了然地观察一个对象各区域的细节。通过突出显示散点图中的两个区域(例如细胞核中的形态差异)，即可可视化分类方式，同时并排显示生成的图库。

### 统计

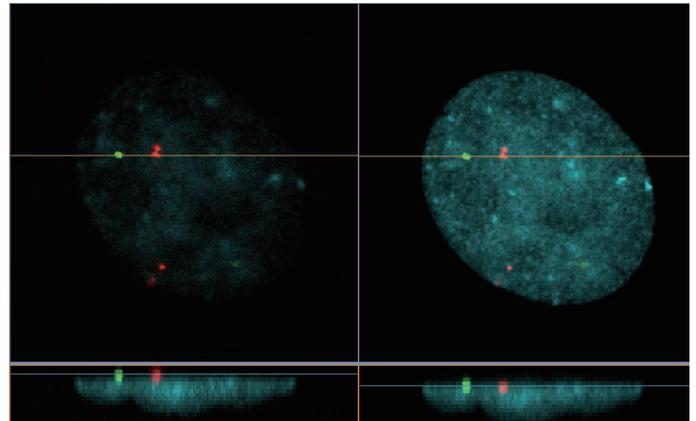
以数字形式查看或在热图上显示量化结果。

## X Line:打破障碍,提高共聚焦图像质量

奥林巴斯的X Line物镜在三个重要方面实现了改进:更高的数值孔径(NA)以采集更明亮和分辨率更高的图像,更高的图像平整度以实现更平滑的图像拼接和高效的图像分析,以及覆盖400-1000 nm波长的宽色差校正范围。X Line物镜可高度准确和精确地采集多色图像。

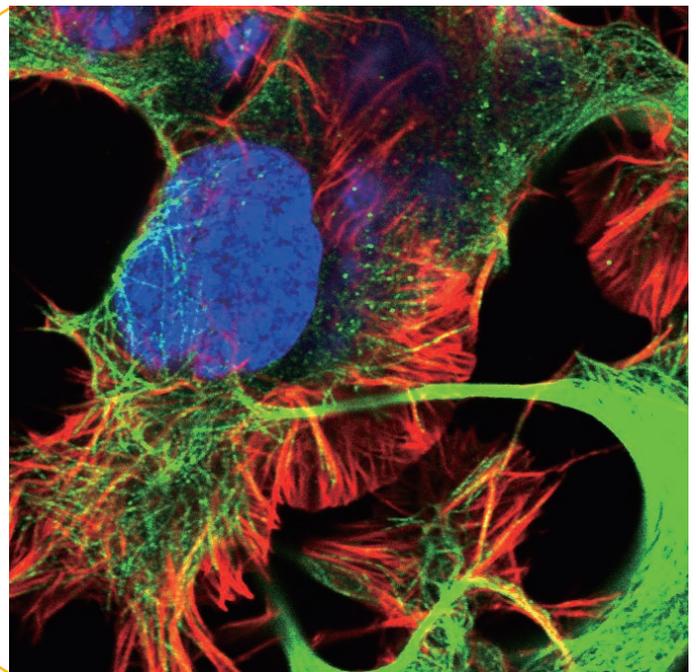
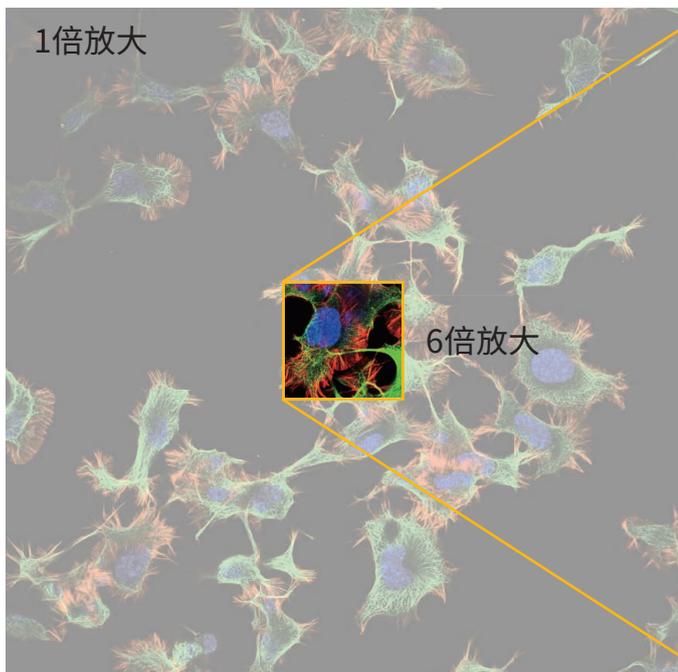


比较400-1000 nm 波长范围内的焦点位置



传统物镜

X Line



UPLXAP40XO X Line 物镜 (数值孔径 1.40)

## X Line物镜选择指南

物镜	工作距离 (WD) [mm]	数值孔径 (NA)
UPLXAPO4X	13	0.16
UPLXAPO10X	3.1	0.4
UPLXAPO20X	0.6	0.8
UPLXAPO40X	0.18	0.95
UPLXAPO40XO	0.13	1.4
UPLXAPO60XO	0.15	1.42
UPLXAPO100XO	0.13	1.45
UPLXAPO60XOPH	0.15	1.42
UPLXAPO100XOPH	0.13	1.45

# 选择适合于您的应用的显微镜机架

## 倒置显微镜

- 用于观察容器中培养的细胞。
- TruFocus Z 漂移补偿技术有助于确保在延时观察中保持对样本的对焦。
- 要维持培养细胞的环境条件，可以使用一个放在载物台上的培养装置或一个全封闭的培养装置。



## 正置显微镜(成像型配置)

- 专为观察固定的组织和载玻片上的样本而优化设计。
- 电动物镜转盘可以精确地保持焦点的位置。
- 可以安装7个物镜的电动物镜转盘和聚光镜可以自动从低倍率转换到高倍率。



## 正置显微镜(电生理型配置)

- 物镜周围有足够的空间安装膜片钳装置。
- 在进行需要更多空间处理样本的实验时，可以通过降低载物台的高度增加更多的空间。
- 可为用户提供摇摆和滑动式物镜转换器，这样就可以在无需影响膜片钳设置的情况下方便地更换物镜。
- 可使用 FV30-ANALOG 触发 I/O，从而与电生理设备同步。



# 为您的应用而设计的模块化单元

## 扫描器



**混合型扫描单元(共振/常规)** 混合型扫描单元将常规与共振扫描振镜相结合,能够在全视野下以每秒30帧速度以及在 $512 \times 32$ 像素下以最大每秒438帧的速度高速成像。时序管理器让同一实验内共振和常规振镜成像间的自动切换更加简单。

### 常规扫描振镜

仅配备振镜的扫描器可在 $512 \times 512$ 像素下进行每秒1帧的精准单向扫描以及最高每秒16帧的双向扫描。高速多点刺激或检测实验能够以超过100 Hz频率在多个细胞之间进行,并且以高达500 kHz的频率输出数据。

## 光谱检测器



### 采用TruSpectral全真光谱技术的高灵敏度光谱检测器(GaAsP光电倍增管)

该2通道高灵敏度光谱检测器(HSD)采用与光谱检测器(SD)相同的体相位全息光栅(VPH)技术,使用帕尔贴制冷的GaAsP光电倍增管,量子效率高达45%且可检测范围达到750 nm。该设备可结合2通道SD使用,以获得灵活动态范围,也可配合第二台2通道HSD使用,获得强大的4通道灵敏度。

### 采用TruSpectral全真光谱技术的光谱检测器(多碱光电倍增管)

该2通道SD采用高效率的VPH透射光栅和1-100 nm带宽的可调式狭缝,检测波长范围400-800 nm。该多碱光电倍增管支持最高800 nm的宽广动态范围。

## 激光耦合器



### 主激光耦合器

主激光耦合器是激光系统的核心部件。该耦合器集成了四个标准激光器,并可添加第五个激光器,或留出一个开放端口用于通过副激光耦合器添加额外三个二极管激光器。

### 副激光耦合器

该选配耦合器可随时添加最多3个二极管激光器,与主激光耦合器仪器最多提供7个激光器。

## 照明单元

传统型照明模块设计用于长持续时间的延时实验。由于光可通过光纤传输系统导入,因此热量不会传送到显微镜。



### 光源/U-HGLGPS

经过预对中的荧光照明光源无需调整,并且平均使用寿命可达2000小时。

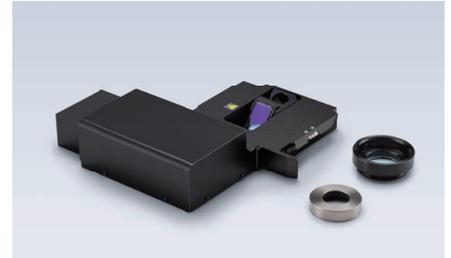


### 传输检测器

该设备采用外置透射光光电倍增管检测器和LED传统型照明,激光扫描和传统透射光Nomarski DIC观察均可使用。用户可进行同步多通道共聚焦荧光成像和透射光DIC获取。

## 其他设备

可选升级方案:可现场升级的激光自动对焦、快速精确的电动载物台控制、模拟输入/输出和TTL同步的、以及方便的防震平台。



### TruFocus/IX3-ZDC2 Z漂移补偿系统

TruFocus Z漂移补偿器使用光毒性极小的红外光识别样本平面的位置。IX3-ZDC2也兼容硅油物镜和塑料底容器。



### IX3/IX3-SSU的超声波载物台

超声波载物台具有改善精度的低热漂移特性,并能够使用软件和触摸屏进行控制,方便获得快速、可靠的多区域成像。



### Umbra设备/FV31-SPCOV

Umbra设备专为在明亮的室内条件下观察荧光而设计。它可以有效遮挡室内光线,无需暗室即可观察到清晰的荧光。



### 远程校正环设备/IX3-RCC

远程校正环设备让用户可以轻松手动调节校正环,从而提高图像质量。

# 规格

## FLUOVIEW FV3000激光共聚焦显微镜的技术规格

		FV3000	FV3000RS
激光	可见光激光器	405 nm:50 mW, 488 nm:20 mW, 561 nm:20 mW, 640 nm:40 mW 一个选配激光端口, 可用于副激光耦合器或选配的激光设备	
选配激光器	副激光耦合器	激光器的参数如下(最大3个激光器单元) 445 nm:75 mW, 514 nm:40 mW, 594 nm:20 mW, 与主激光耦合器连接	
	单个激光器设备	445 nm:75 mW, 514 nm:40 mW或594 nm:20 mW, 与主激光耦合器直接连接	
	单个近红外激光器设备	730 nm:30 mW, 785 nm:100 mW, 通过选配端口与扫描器连接	
扫描器	扫描方式	2个镀银常规扫描振镜	2个镀银常规扫描振镜 1个镀银共振扫描振镜和1个镀银常规扫描振镜
	常规扫描振镜 (常规成像)	扫描分辨率:64 × 64到4096 × 4096像素 扫描速度(单向):512 × 512, 1.1-264 s;像素时间:2-1000 μs 扫描速度(往返):512 × 512, 63-250 ms / 256 × 256, 16-125 ms 光学变倍:1倍至50倍, 步进为0.01倍 扫描旋转:自由旋转(360度), 步进为0.1度 扫描模式:PT、XT、XZ、XY、XZT、XYT、XYZ、XYλ、XYZT、XYλT、XYλZ、XYλZT ROI扫描, 矩形剪裁, 椭圆形, 多边形, 自由形状, 线, 自由线及点;龙卷风模式仅供刺激使用	
	共振扫描振镜 (高速成像)	-	扫描分辨率:512 × 32到512 × 512像素 扫描速度:512 × 512像素下每秒30帧, 512 × 32像素下每秒438帧 光学变倍:1倍至8倍, 增量为0.01倍 扫描模式:XT、XZ、XY、XZT、XYT、XYZ、XYλ、XYZT、XYλT、XYZ、XYλZT ROI扫描, 矩形剪裁, 线
	针孔	单一电动针孔, 针孔直径φ50 - 800 μm (步进为1 μm)	
	视野直径 (FN)	18	
	分光镜转盘	8孔位(高性能DM和10/90分光镜)	
光谱检测器	扫描器选配单元	激光功率监控系统, 选配激光端口	
	检测器模块	高灵敏制冷型GaAsP光电倍增管或多碱光电倍增管, 2通道	
	光谱分光方式	电动体相位全息透射衍射光栅, 可以电动方式调节的狭缝, 可选波长带宽:1至100 nm, 光谱检测精度:2 nm	
	分光镜转盘	8孔位(高性能DM和分光镜)	
近红外检测器	检测器模块	GaAs光电倍增管, 1通道或2通道, 带滤光块	
荧光照明装置	外置荧光照明光源, 通过光纤连接到扫描单元, LSM光路和荧光观察光路之间的电动切换		
透射光检测器	配有集成式外置透射光电倍增检测器和LED灯, 电动切换		

## 显微镜

	倒置机身	正置机身(成像型)	正置机身(电生理型)
显微镜机身	电动倒置显微镜 IX83P2ZF	电动固定载物台正置显微镜 BX63L	
物镜转换器	电动六孔转换器	电动六孔转换器	编码摇摆式物镜转换器 编码滑入式物镜转换器
聚光镜	电动长工作距离聚光镜	电动万能聚光镜	手动长工作距离聚光镜
调焦行程	内置电动物镜转换器聚焦 行程最小增幅:0.01 μm		

## 软件

基本特性	专为暗室环境设计的图形化用户界面(GUI)。用户可设置布局。 采集参数重载功能。硬盘记录功能, 在Z轴序列图像采集过程中调节激光的功率和HV。 Z轴序列图像的α混合、最大强度投影和等值面渲染等多种重构方法。
2D图像显示	每个图像的显示:单通道并列、合并、裁剪、实时平铺、系列(Z/T/λ), LUT:单色彩设置、伪彩色, 备注:图形及文本输入
3D显示和观察	交互式体绘制:体绘制显示、投影显示、动画显示。 3D动画(最大强度投影方式, α混合), 3D和2D序列操作功能
图像格式	OIR图像格式 8/16位灰度/索引颜色、24/32/48位色彩、JPEG/BMP/TIFF图像功能、奥林巴斯的多tif格式
光谱拆分	荧光光谱拆分模式(最多16个通道)
图像分析	区域和线的测量、基于时间/Z轴的强度图、共定位分析
统计处理	2D数据直方图显示
选配软件	电动载物台控制/绘图和多点刺激/时序管理器/虚拟通道采集/微孔板浏览/远程开发工具包/超分辨率成像(FV-OSR)/数码相机控制功能/TruSight反卷积/FRET和FRAP分析/自动目标测量和分类/目标跟踪/TruAI深度学习技术/NoviSight 3D细胞分析

**图像数据承蒙以下机构提供：**

DAPI 标记的 Cos-7 细胞（蓝色）、微管蛋白抗体（Alexa Fluor 488；绿色）、刀豆蛋白 A（Alexa Fluor 594；黄色）、SiR 肌动蛋白（洋红）和 TOMM20 抗体（Alexa Fluor 750；青色）。图像系使用 UPLXAPO60XO 物镜，在 GaAsP 和 GaAs 检测器上使用 405 nm、488 nm、561 nm、640 nm 和 730 nm 激光激发。最大强度 Z 投影结合 TruSight 反卷积处理。（封面）  
样本承蒙苏黎世大学的 Jana Döhner 博士、Urs Ziegler 博士提供。

培养小鼠背根神经节神经元的免疫细胞化学（外周蛋白；绿色；神经元胞体和轴突）与原位杂交（CALCA mRNA；红色；P2RX3 mRNA；蓝色）。（左上，第 1 页）  
图像数据承蒙德克萨斯大学达拉斯分校 Price 实验室的 Stephanie Shiers 提供。

活体培养的果蝇大脑。标记大脑中神经元的微管标志物和标记细胞核的组蛋白标志物。（右上，第 1 页）  
图像数据承蒙牛津大学的 Martin Hailstone 提供。

小鼠脑组织切片经跨突触病毒示踪剂标记后，可用于研究连接小鼠视觉系统的神经通路。不同的颜色反映了神经元突起不断变化的深度。（中间，第 1 页）  
图像数据承蒙麦考瑞大学的 Arthur Chien 提供。

果蝇 3 龄幼虫的脑叶。成神经细胞和神经节母细胞分别显示为红色和粉红色。肌动蛋白显示为绿色。DNA 显示为蓝色。细胞内的绿点是沃尔巴克氏菌。（左下，第 1 页）  
图像数据承蒙维也纳医科大学的 Anton Strunov 提供。

TSA 试剂染色后 E14.5 小鼠胚胎的 5 μm 矢状面低温切片。（第 2 页）  
图像数据承蒙军事医学科学院，北京生物技术研究所发育与疾病基因实验室的 Guan Yang 博士和 Xiao Yang 教授提供。



Evident (Shanghai) Co., Ltd  
NO.199-9 Rijing North Road Pilot F.T.Z.,  
Shanghai, 200131  
+86-21-5888-1300