

MicroTime 200时间分辨共聚焦荧光显微系统



在许多尖端科学领域，单分子研究具有重要意义。例如分子运动的量化研究和分子交互性的研究。这些研究领域对设备仪器的灵活性和多样性提出了更高的要求。德国PicoQuant公司的Micro Time 200系统的多功能性恰好可以胜任这些工作。作为当前世界顶尖的时间分辨共聚焦荧光显微成像系统，Micro Time 200具备了针对单分子级别相关实验和分析的能力。Micro Time 200可选配多种波长的皮秒二极管激光光源，还拥有皮秒级别的时间分辨率，支持最多4个完全独立的探测通道，可以全面支持当今生物和物理方面的单分子研究课题，如FLIM，FRET，FCS（包含自相关和互相关）以及各向异性的研究，以及同时进行AFM/FLIM或者深紫外探测。同时配备了稳定，精确的扫描系统，完美满足单分子应用需求。MicroTime200家族又新增了空间分辨率高达50nm的MicroTime 200受激发射减损超分辨时间分辨共聚焦荧光显微系统（STED）。

该系统配套的SymPhoTime 64能够提供强大、全面的数据采集和处理功能，而且针对以上提到的实验，提供了一键式运行模块，最大程度降低了操作的复杂程度，进一步提高了实验效率，是荧光相关领域研究的绝佳选择。

特点：

- 集成激发光源，倒置显微镜和多通道探测模块的一体化系统
- 375nm~900nm多波段钎控二极管激光器
- 可集成SPAD，PMT或Hybrid-PMT组成相互独立的4通道探测单元
- 针对FCS及荧光寿命成像的两种数据采集处理模式
- 适用于2D和3D寿命成像和精确点定位的压电陶瓷位移平台
- 两个额外的光路输出口可拓展更多应用
- 可视化的软件SymPhoTime64分析软件
- 单光子级别分辨

功能：

- 荧光寿命成像（FLIM）及深层组织FLIM
- 荧光共振能量转换（FRET）及脉冲交错激发FRET（PIE-FRET）
- 荧光强度相关光谱（FCS）及互相关光谱（FCCS）
- 荧光寿命相关光谱（FLCS）及互相关光谱（FLCCS）
- 双聚焦FCS
- 各向异性检测
- 深紫外探测
- 串序脉冲荧光分析（Burst Analysis）

主要部件：

灵活的激发光子系统

MicroTime200的激发光子系统包含PDL系列的激光器驱动源和多种波长的皮秒脉冲激光器（可选连续模式）。波长范围从375nm至900nm。激光器的出光功率和重复频率可由PDL系列的激光驱动器灵活调整。多通道激光驱动器PDL828“Sepia II”甚至支持几个激光器同时激发和脉冲交替激发（PIE）的技术。所有的激光头都集成在一个激光耦合单元（LCU）中，通过光纤耦合，大大提高了激光器操作的灵活性，以及能量衰减和耦合的便利性。MicroTime200系统还提供一个额外的耦合输入口，可以适配其它的激发光源，如用于多光子激发的钛蓝宝石激光器。采用我们独有的双光子激发单元，外部激光器的输出可以轻松地耦合至MicroTime200的主光路中。



高灵敏度的单光子探测子系统

MicroTime200系统专门为单分子研究而设计，所有的光学器件都最大程度减小对无效信号的吸收。在共聚焦显微镜系统中，通过压电平台轻松实现扫描，也可以通过升级高精度的PiFoc配件完成高精度的3D成像。压电平台的扫描方式，保证了较高的重复定位精度和稳定性，而这些正是单分子研究至关重要的特性。

MicroTime200系统最多可以配置多达四路独立的探测通道。每个探测通道可以根据不同的要求从各种单分子级别探测器中进行选择。根据荧光波长、信号亮度和被激发态的寿命选择不同的探测器，从而获得理想的探测方案。检测器包含PMA Hybrid系列，高效率的SPAD系列以及用于深紫外的专用探测器。



皮秒分辨率的计数模块

时间分辨显微镜不仅需要记录光子本身，还需要在时间上的位置信息，对于成像应用，还需要空间信息。而PicoQuant公司研发的时间标记时间分辨Time-Tagged Time-Resolved（TTTR）数据的采集可以完美的实现这些要求。该方法基于经典的时间相关单光子计数（TCSPC）方法。TTTR数据采集模式的优点在于，基于一种数据格式的情况下，它允许执行各种不同的测量分析程序，如FLIM，FCS和符合相关（“反聚束”）。PicoQuant所有的TCSPC电子设备都支持该TTTR数据格式。使用这些尖端的集成器件，低至几个皮秒的荧光寿命或者高达毫秒的磷光寿命测量，以及其它发光研究都可以轻松解决。



直观的数据处理和分析软件

基于复杂的数据采集和处理，系统软件SymPhoTime 64支持多种分析方法，如强度随时间轨迹分析，突发分析，寿命柱状图，荧光相关光谱（FCS），荧光寿命相关光谱（FLCS），荧光寿命成像（FLIM），荧光共振能量转移（FRET）和各向异性等。SymPhoTime 64数据处理采用一个透明的数据结构，所有派生数据都存放在一个工作区中，包括跟踪的一个日志文件和分析步骤。在SymPhoTime 64软件中所有测量数据提供一个分析平台，与此同时，SymPhoTime64提供了强大的灵活性，新颖的整合能力，以及面向用户的顶层算法。专用脚本语言接口允许修改和扩展分析程序。除了SymPhoTime64软件内的数据分析外，数据还可以以标准格式导出，用于外部分析。我们的互动用户论坛以及定期举办的SymPhoTime培训日，可以给新老用户提供出色的支持。



参数

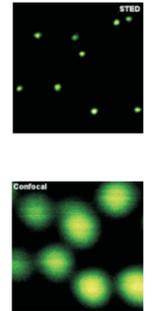
激发系统	<ul style="list-style-type: none"> • 光纤整合型皮秒脉冲半导体激光器 (功率/重复频率可调, 最大80MHz) • 375~900nm波长范围 • 支持单通道或者多通道驱动 	<ul style="list-style-type: none"> • 支持外部激光器 (如钛蓝宝石激光器) • 支持Solea超连续白光光源 • 支持266nm紫光激发
显微镜	<ul style="list-style-type: none"> • OlympusIX73或IX83倒置显微镜 • 预留左侧和背面接口, 可做拓展应用 (如TIRF) • 包含透射照明部件 • 独特的25x25mm手动样品固定台 	<ul style="list-style-type: none"> • 标准样品架 (用于20x20mm载玻片) • 可选落射荧光照明 • 可选低温恒温器用于低温型实验 • 可选与原子力显微镜整合
物镜规格	<ul style="list-style-type: none"> • 标准20x和40x物镜 • 可选多种高端特殊物镜 (水/油镜, 红外/紫外强化, 超长工作距离型等) 	
扫描台	<ul style="list-style-type: none"> • 80 μm x 80 μm规格2D压电扫描台 (1nm定位精度) • PIFOC 3D立体成像 (行程80 μm, 定位精度1nm) 	<ul style="list-style-type: none"> • 80 μm x 80 μm物镜扫描 (1nm定位精度) • 可选厘米级别大范围扫描台
主要光学部件	<ul style="list-style-type: none"> • 最多可支持4通道的共聚焦探测模块 • 多种规格的分光部件 • 额外的输出接口 • 易于更换型二向色镜支架模块 	<ul style="list-style-type: none"> • 用于光斑分析的CCD相机和光电二极管 • 所有光学元件都可替换和调整
探测器	<ul style="list-style-type: none"> • 单光子雪崩二极管 (SPAD) • 混合型光电倍增管 (Hybrid-PMT) • 光电倍增管 (PMT) 	
数据采集方式	<ul style="list-style-type: none"> • 基于时间相关单光子计数 (TCSPC) 的TTTR测量模式 • 独立4通道同步采集 	
计数模块	<ul style="list-style-type: none"> • PicoHarp 300 (短荧光寿命测量) • HydraHarp 400 (短荧光寿命测量) • Timeharp 260 (较长荧光寿命测量) 	
分析软件	SymPhoTime 64	

选项

基于受激发射损耗STED的超分辨成像

MicroTime 200 STED选项通过受激发射损耗 (STED) 的原理来达到低于50纳米的空间分辨率。STED显微系统中包含两束照明光, 其中一束为激发光, 另外一束为Donut形状的损耗光。该损耗光的波长大于激发光。当激发光的照射使其衍射斑范围内的荧光分子被激发, 其中的电子跃迁到激发态后, 损耗光使得部分处于激发斑外围的电子以受激发射的方式回到基态, 其余位于激发光斑中心的被激发电子则不受损耗光的影响, 继续以自发荧光的方式回到基态。由于在受激发射过程中所发出的荧光和自发荧光的波长

及传播方向均不同, 因此真正被探测器所接受到的光子均是由位于激发光斑中心部分的荧光样品通过自发荧光方式产生的。由此, 有效荧光的发光面积得以减小, 从而提高了MicroTime200的空间分辨率。在MicroTime 200 STED系统中, Donut由一个叫做EasyDonut的相偏板产生。MicroTime 200 STED系统作为一套耐用性强, 易于操作的超分辨系统, 无需冗长的准备工作, 同时保留Microtime 200系统的所有功能, 并可后续升级。



原子力显微镜AFM结合使用

原子力显微镜 (AFM) 灵敏的共聚焦荧光显微镜相结合, 使结构学、动力学和单分子研究能够有机的结合在一起。原子力显微镜揭示了纳米级分辨率的大分子复合物的结构, 而荧光有助于它们组成部分的识别。此外, 由于原子力显微镜针尖的纳米光子效应, 如荧光猝灭或增强, 可进一步增加光学分辨率, 到超出衍射极限的级别。该

技术实现了同时对生物样品高精度物理接触作用研究, 及其参数的测量。所述MicroTime200目前已实现了三种不同的原子力显微镜的结合: BioScope Catalyst: Bruker NanoWizard 3: JPK MFP-3D-BIO: Asylum research



Solea超连续谱白光光源

Solea不仅波长可调, 重复频率也可以根据样品要求进行调节。结合其超短的脉冲宽度特性, 可以很好的完成宽谱荧光寿命测量时激发光的扫描, 也可以胜任单一激光波长的荧光激发。Solea可以配合多达四个不同波长的脉冲半导体激光器耦合进入激光耦合单元 (LCU)。采用这

种方式, 再配合PDL828 “Sepia II” 的激光器控制器, 使Solea和其它脉冲半导体激光器实现脉冲交替激发 (PIE) 成为了可能。从而使Solea在MicroTime200中成为了PIE最灵活的解决方案。



紫光升级

紫光升级赋予MicroTime200对天然发色团组织的原生物分子荧光如酪氨酸或色氨酸进行直接测量的功能。紫光升级部件包括266nm激光器紫

光敏感的光电倍增管, 石英光学部件。对于荧光寿命测量和荧光寿命成像都可以轻松升级。而且可见光谱的的荧光检测不受影响。



双聚焦FCS (2fFCS)

在2fFCS中, 两个偏振垂直的半导体激光器以脉冲交替激发 (PIE) 的方法产生一个稳定的双焦点几何形状。这个稳定的双焦点距离为研究溶液扩散学提供了稳定的探测范围, 克服了单焦点

FCS的各种不稳定性和局限性。因为单焦点FCS的分析依赖于共焦体积的大小和形状。所以2fFCS大幅度的提高了测量绝对扩散系统的精度。



单分子灵敏光谱仪选项

通过增加具有单分子灵敏 CCD 的光谱仪 (Andor公司的SR-163), MicroTime200的功能得到进一步拓展。光谱仪通过一根多模光纤连接到MicroTime200主光单元的一个出口上。在主光单元内部,采用合适的光学元件用来将一部分发射光引导到该出口。该光学元件(100%反

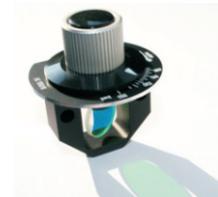
射镜,50/50分束器,...)可以根据用户的实验要求更换。部分荧光用来获得光谱信息;单分子的强度波动,荧光衰减特性和光谱数据也同时获得。光谱随时间的变化以及不同分子的光谱比较都因MicroTime200与光谱仪的结合而成为可能。



双光子激发单元

MicroTime200的主光路单元通过配备一组附加光学器件和电气部件,对外部激光器进行耦合。这些配件将该激光光束调整到正确的高度,扩大光斑用于聚焦激发,并且给TCSPC模块提供合适的同步信号。这些光学元器件由PicoQuant进行

预对准,也可以根据实际情况由使用者进行重新调整。在TPE单元中,为了确保使用者的安全,激光光束是完全封闭的。双光子激发的应用包括在材料科学深层组织成像和时间分辨光致发光。



可调谐带通滤波器

可调谐带通滤波器通过手动调整入射角,具有极宽的调谐范围。多种规格的滤波器覆盖了从

440~700nm波长范围,每个滤波器都有17nm的固定谱宽。

最新推出超分辨时间分辨共聚焦荧光显微系统

Micro Time 200 STED



光学分辨率	<ul style="list-style-type: none"> • <50nm (STED) • <300nm (共聚焦) 	
激发子系统	<ul style="list-style-type: none"> • 光纤整合型皮秒脉冲半导体激光器 (功率/重复频率可调,最大80MHz) • 375~900nm波长范围 • 支持单通道或者多通道驱动 • 支持紫光266nm • 支持外部激光器 (如钛蓝宝石激光器) • 支持Solea超连续白光光源 	<ul style="list-style-type: none"> • STED激发光部分 • 640nm (激发光), 765nm (STED激光) • 双样品STED采用640nm和595nm激发光 • 双样品STED采用640nm和660nm激发光
显微镜	<ul style="list-style-type: none"> • 光纤整合型皮秒脉冲半导体激光器 (功率/重复频率可调,最大80MHz) • 375~900nm波长范围 • 支持单通道或者多通道驱动 • 支持紫光266nm • 支持外部激光器 (如钛蓝宝石激光器) • 支持Solea超连续白光光源 	<ul style="list-style-type: none"> • STED激发光部分 • 640nm (激发光), 765nm (STED激光) • 双样品STED采用640nm和595nm激发光 • 双样品STED采用640nm和660nm激发光
物镜规格	<ul style="list-style-type: none"> • 标准20x和40x物镜 • 可选多种高端特殊物镜 	(水/油镜, 红外/紫外强化, TIRF, 超长工作距离型等)
扫描台	<ul style="list-style-type: none"> • 电脑控制 • 80 μm x 80 μm规格2D压电扫描台 (1nm定位精度) 	<ul style="list-style-type: none"> • PIFOC 3D立体成像 (行程80 μm, 定位精度1nm) • 可选厘米级大范围扫描台
主要光学部件	<ul style="list-style-type: none"> • 最多可支持4通道的共聚焦探测模块 • 所有光学组件容易安装、调整和更换 • 用于光斑分析的CCD相机和光电二极管 	<ul style="list-style-type: none"> • 定制高端二向色镜, 提供系统稳定性 • 变量分束单元和出口端口, 轻松连接外部设备
探测器	<ul style="list-style-type: none"> • 单光子雪崩二极管 (SPAD) • 混合型光电倍增管 (Hybrid-PMT) 	
数据采集方式	<ul style="list-style-type: none"> • 基于时间相关单光子计数 (TCSPC) 的TTTR测量模式 	<ul style="list-style-type: none"> • 独立4通道同步采集
计数模块	<ul style="list-style-type: none"> • PicoHarp 300 (短荧光寿命测量) • HydraHarp 400 (短荧光寿命测量) 	<ul style="list-style-type: none"> • Timeharp 260 (较长荧光寿命测量)
分析软件	SymPhoTime 64	