



Q-PHASE

全息法定量相位显微镜

无损活细胞动态成像

全参量测定/细胞干质量分布



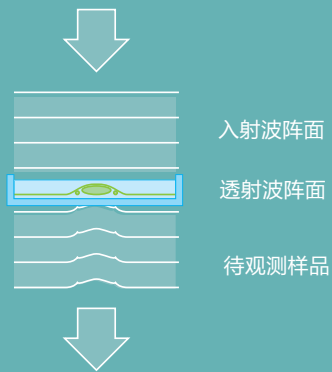
简介

TESCAN公司特别推出一款全新的光学成像设备——Q-PHASE，又称多模式全息定量相位显微镜（MHM）。它标志着TESCAN公司成功将其业务范畴扩展至高端光学显微镜领域，为广大用户提供更全面的技术支持。Q-PHASE是一款基于名为相干控制全息显微的专利技术^[1,2]开发的新型显微镜，能够精准地完成定量相位成像（QPI）。从而对活细胞进行长程动力学监测，包括实时测定细胞周长、面积等形态参量，实时测定细胞干质量，实时测定细胞生长速率，运动路径和速率；同时这也是目前唯一一种能够在散射介质中实现细胞定量相位成像的技术。Q-PHASE 的独特设计，其采用非相干光源（卤素，LED 等），适合活细胞体外观察的同时，获取高品质的定量相位成像。

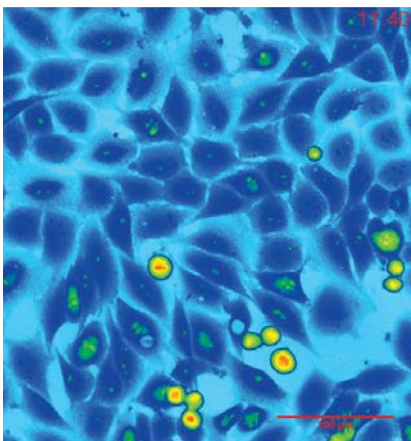
Q-PHASE 拥有高端的倒置显微技术平台，其光学系统整体位于一个箱体单元内，且该款设备优异的机械设计足够满足用户对实验自动化诸多需求。此外，Q-PHASE 显微镜的光学系统集成了荧光模块、模拟 DIC 以及明场成像选项等，为用户提供多种可选的成像模式。Q-PHASE 显微镜的上述特点，使其成为生物及生物科技领域极具使用价值的研究设备。无论是研究细胞经特定处理后的反应（即使在散射严重不透明的介质内），还是监测包括有丝分裂在内的细胞生命周期，亦或是鉴定细胞死亡的不同形式，及分析细胞的生长、迁移、形态变化以及胞外基质成像^[3,4]等，Q-PHASE 显微镜都能够完美实现。

定量相位成像（QPI）原理

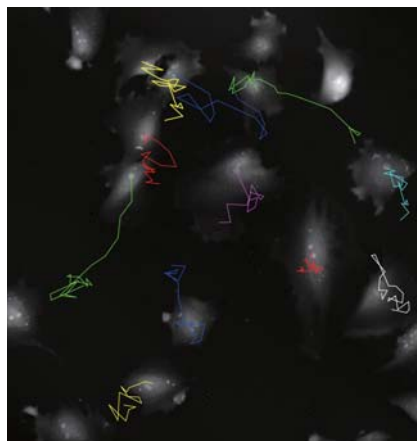
光波通过特定环境介质所需的时间，取决于介质的折射率以及光程。当光波通过样品时，折射率不同或高（厚）度不同的部位时，其波阵面将发生扭曲且同时产生光波相位改变。Q-PHASE能够通过测定样品平面内的光波相位分布进行成像，这种测定样品平面内光波相位分布的过程通常被称作定量相位成像（QPI）。定量相位成像可以获得样品形态、表面



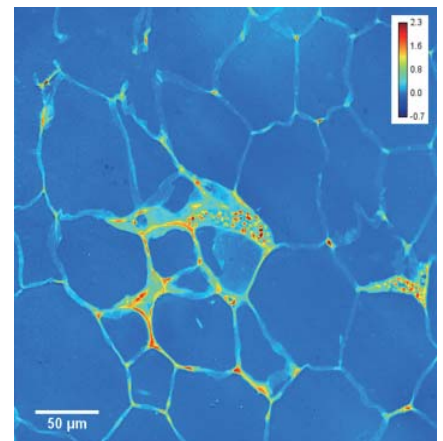
形貌以及细胞干质量^[5,6]分布等信息。细胞干质量以 $\text{pg}/\mu\text{m}^2$ 为计量单位，可以通过每像素点上的相位值直接计算得出。定量相位成像（QPI）是一种简便且精确，具有高灵敏度高分辨率的观测方法。可分辨低至 3.5 mrad 的相位变化，获取更精细的信息。Q-PHASE使用彩色LUTs来呈现相位图像，使相位值不同的区域易于观察区分。



▲非转移性纤维状LW13K2 (K2)细胞的QPI图像



▲大鼠肉瘤细胞的QPI图像，细胞示踪



▲脂肪组织切片的QPI 图像

Q-PHASE的主要特点

精细观察和精准测量

- 高分辨率与高灵敏度
570nm横向分辨率
相当于低至0.002 pg/μm²质量变化的灵敏度
- 精准的细胞边界界定
无晕轮效应等图像伪影
样品无需标记，无需染色，无光至褪色问题。
独特的光学系统设计以及使用的非相干照明光源，确保成像过程无损失。
有效抑制相干噪声&寄生干扰（不同于激光干涉仪）
- 快速图像采集
使用先进的偏轴全息技术手段，使获取巨量数据的同时保持快速的图像采集，
2048X2048 pixels 5.5fps.

真实有效的细胞成像

- 优化细胞成像条件
极低的光毒性——采用非相干光源及光路独特设计，样品照射光密度0.2 μW/cm²
（比荧光显微镜低107倍），从而可进行数天的长时间实验观察
- 更广的成像时细胞培养条件
对细胞培养基的成分没有特殊的要求，也无需复杂的样品处理过程
对细胞培养器皿没有特殊要求
相干门效应使其在散射介质（磷脂感光剂、胞外基质等）中仍能够进行样品观察
- 参考样品的设置
成像时同时放置参照样品，可以将成像环境中器皿等噪音光点信息剔除。

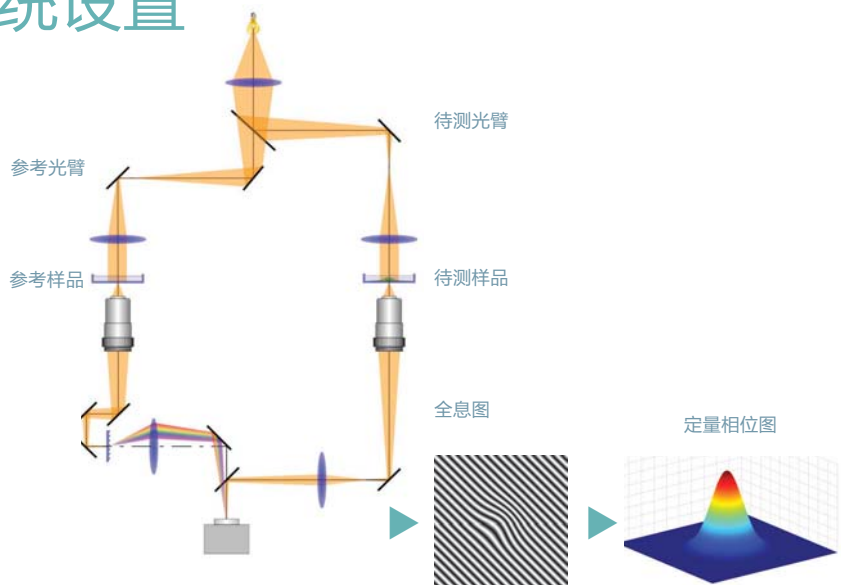
多模式成像和多维获取

- 多模式成像
集成了荧光成像、模拟DIC成像以及明场成像选项等
- 自动多维度成像
定时成像，多通道成像，多视野成像，Z-stack
- 数据定量分析
随意选取被研究的单个细胞或细胞群，使用统计表格或图表显示细胞周长、面积、
趋圆率、生长速率、迁移路径、迁移速率、干细胞质量等变化的情况。



获得专利的光学系统设置

Q-PHASE显微镜由两组相互独立的光路组成，其中一组为待测光路，另外一组为参考光路。两组光路使用相同的照明光源系统，且具有相似的透镜结构设计。待测样品被放置在待测光路内，同时参考样品（空白样品）被放置在参考光路的相应位置。两组光臂内的入射光束通过各自光臂内的样品后，在显微镜的像平面上汇聚。正是凭借这种独特的光学系统设置，Q-PHASE显微镜在使用卤素灯或LED灯作为照明光源时，仍能够获得良好的光波干涉，进而拍摄高质量的全息图。相干涉的光束汇聚后，获得的全息图被探测器收集记录，计算机进行实时处理后便获取定量相位图像。

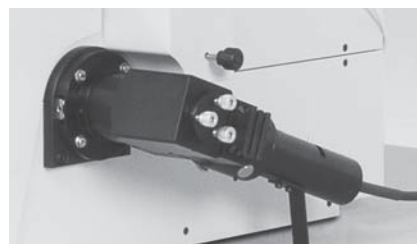


▲Q-PHASE获得专利的光学系统设置

Q-PHASE的多模式成像

每一项技术都有其独特的优势和长处。结合使用不同技术，集合各自的优点，来全面精准的揭示一个想象背后的本质，是科学研究方法发展的趋势。Q-PHASE显微镜集成了全息显微技术和荧光显微技术，能够进行定量相位成像，荧光成像，模拟DIC成像，明场成像，为研究者提供多元化的手段。这使得Q-PHASE成为一款强大的设备，多模式的成像过程不仅可以

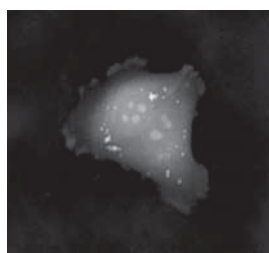
在相同条件和时间节点下实现快速切换，所得的图像数据也可以进行叠加分析。Q-PHASE的荧光模块适用于所有的常用荧光染料(DAPI/FITC/TRITC, GFP/mCherry,CFP/YFP, Alexas...),其配有多个荧光通道，也可以实现多荧光通道的切换成像。荧光光源可选择固态光源与液体光导管联用，也可以使用氙灯。Q-PHASE软件也集成了多种成像模式的采集程序



▲Q-PHASE侧边腔口的荧光模块

需特别指出的是，Q-PHASE的荧光模块组件装配于主体一侧的腔口，方便拆卸用于其他成像技术。

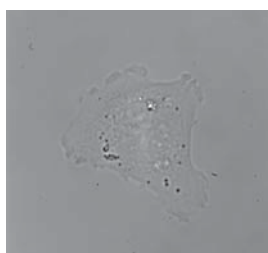
定量相位图像



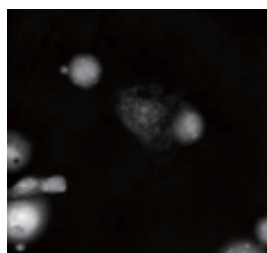
模拟DIC



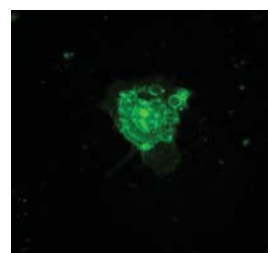
明场图像



定量相位图像



荧光图像 (膜联蛋白V)



▲人体恶性黑色素瘤细胞的多模式成像

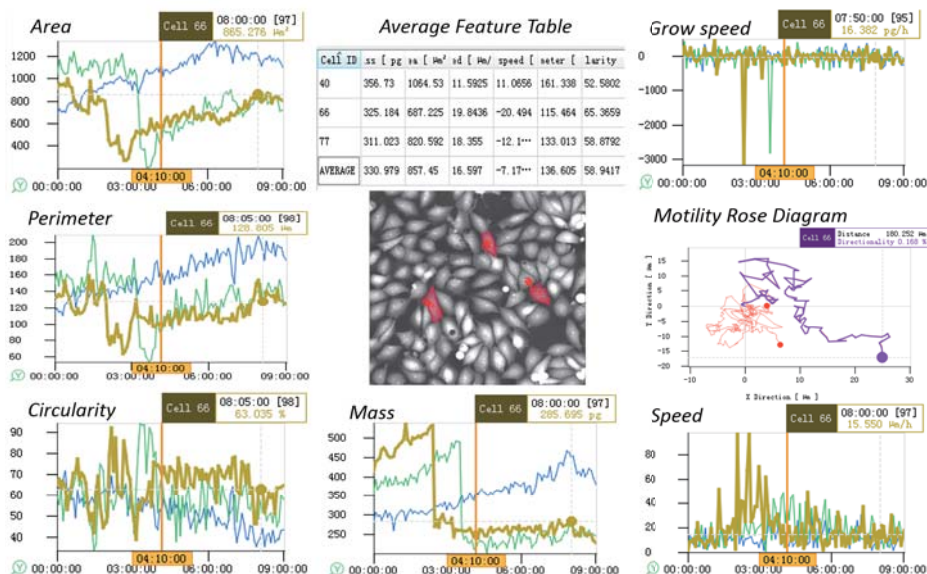
▲人体前列腺癌细胞的多模式成像

Q-PHASE 的细胞分析功能

Q-PHASE 拥有强大的细胞分析功能，可以测定细胞周长、面积等形态参量，测定细胞干质量，测定细胞生长速率，绘制运动路径和速率。

由于 Q-PHASE 拥有精准的细胞边界界定能力，Q-PHASE 的软件系统可精确的为您界定视野中的每一个细胞，用户可通过软件自由选取

所要研究的单个细胞或多个细胞，并可使用统计表格、散点图表或单参数分析图表等形式展示出来。



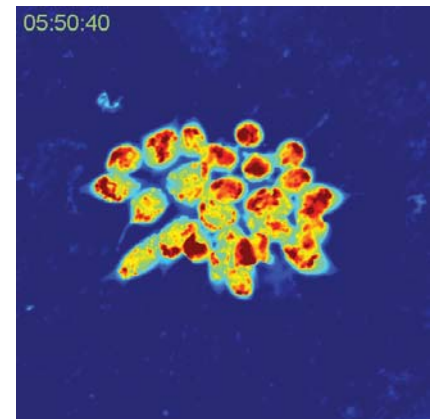
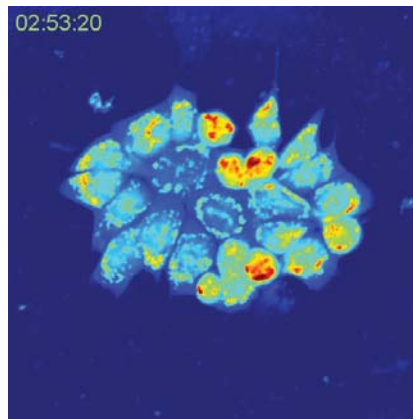
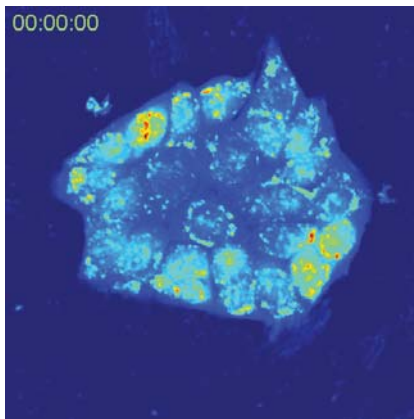
散射介质中的高品质成像

Q-PHASE显微镜的一个突出特点是拥有相干门技术，这是一种众所周知的效应，能够确保在散射介质中实现样品观察来进行光学相干断层扫描。

Q-PHASE采用非相干光源，结合获得

专利的独特光学系统设置，从而产生这种效应。这种效应使透射光具有一种特殊形态，这种形态能够有效抑制环境介质在散焦面上产生的光散射，从而仅采用非散射光进行成像。通过这种方式，

即使是在类似活性磷脂乳剂这种中度散射不透明的介质中，仍能够完成细胞观察与成像。



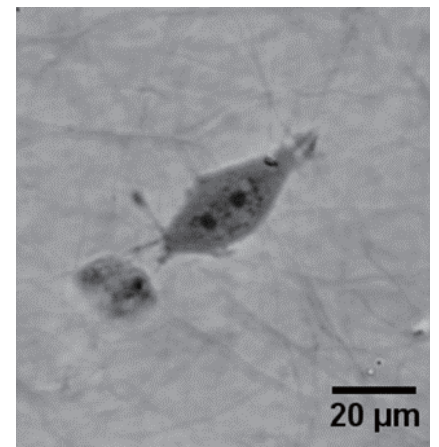
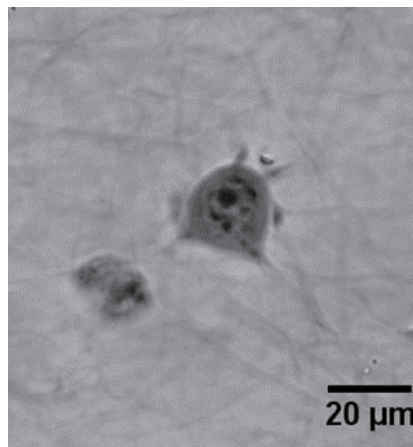
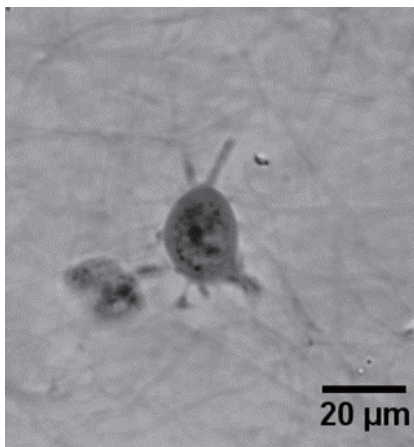
▲人体直肠癌细胞经0.15%活性磷脂乳剂（散射介质）处理后反应过程的QPI图像

胞外基质内的细胞成像

在胶原蛋白凝胶等胞外基质中细胞进行成像时，相干门效应也发挥重要作用。胞外基质与细胞所处的活体环境极为相似，大大提高了研究细胞反应动力学过

程的真实性，尤其是细胞对其所处环境的反应。这种胞外基质实验，通常用来对癌细胞的侵入性与转移能力进行测试。Q-PHASE显微镜不仅能够记录细

胞的迁移规律以及其与胞外介质交互作用的机制，而且能够在不进行额外的细胞染色的前提下观察测试细胞与其他细胞间的反应。



▲人体肉瘤细胞在胶原蛋白凝胶转移机制的QPI图像（反向LUT）

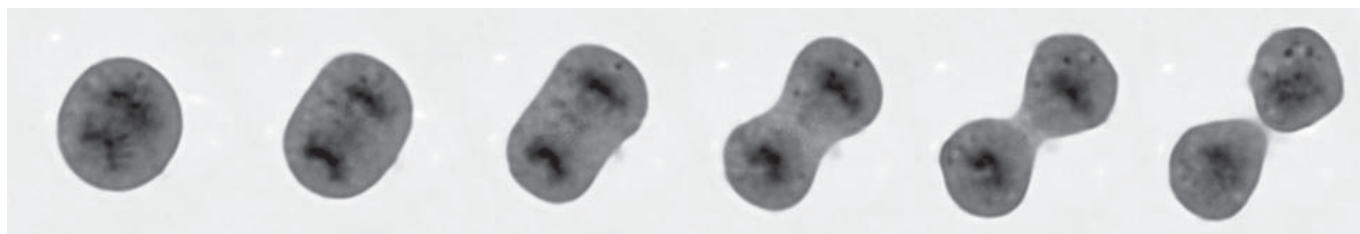
应用领域

Q-PHASE 显微镜能够对多种样品进行观察成像，例如单层贴壁细胞、组织切片以及植物细胞。样品无需复杂制备过程，可直接在培养器皿中观测。也可通过使用灌流系统，联合培养室等辅助培养器材，满足多样化的研究需求。作为一款高分辨高灵敏度的细胞动态观测和测量工具，为细胞生物学、癌症研究和干细胞领域提供更优化的研究手段。

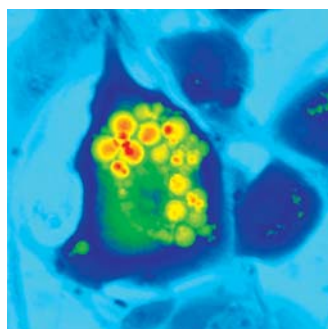
■ 应用案例

- 细胞生命周期，细胞增殖，细胞分化，细胞活性，细胞计数
- 细胞干质量计算，细胞生长，细胞干质量分布变化
- 细胞形态变化，细胞内反应过程
- 细胞运动，细胞示踪
- 细胞与胞外基质及其他细胞的交互作用，细胞混合培养

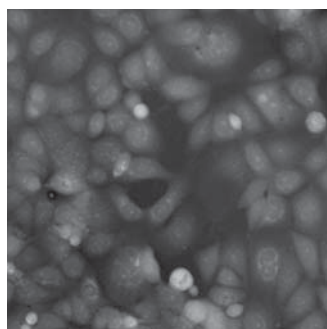
- 快速的细胞理化过程
- 检测特别处理下的细胞反应，细胞毒性效应
- 散射不透明介质内成像（如磷脂乳剂），3D环境（如胶原蛋白胞外基质）下成像
- 多模式成像（QPI成像与荧光成像、DIC及明场成像自动关联）



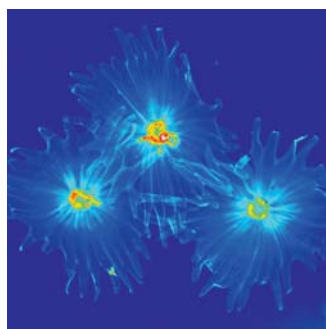
▲大鼠肉瘤细胞有丝分裂的QPI图像（反向LUT，由自动对比度调节方法增强对比度）



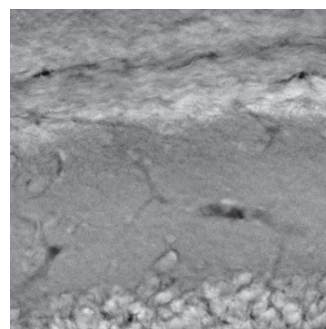
▲人体脂肪细胞的QPI图像



▲人体乳腺癌细胞的QPI图像



▲橄榄叶片守卫细胞的QPI图像



▲鼠脑海马CA1 区冠状切片（30 μm）

软件设计

Q-PHASE软件为该显微镜的内置部分，搭载在64位Windows™系统上运行。该软件被分为两种模式，即Live和Data-set模式，从而为实验测试、图像处理与分析提供所需的功能及参数设置。Q-PHASE显微镜软件采用图形界面，方便用户快速掌握并熟悉操作。同时，Q-PHASE软件支持用户导出标准格式的图像，便于使用第三方软件进行图像处理与分析。内置GPU图形处理加速器进一步提高了Q-PHASE软件性能。

- 显微镜操控（调焦，样品台移动，物镜更换，荧光通道切换，光源选择，快门，相机设置）
- 多维度图像采集（延时拍照，通道选择，定位，Z向堆叠）
- GPU加速器提高实时全息图像重构速度
- 多维度数据采集查看
- 图像处理与分析
- 控制面板操控显微镜
- 设置问题客服交流软件

- 用户管理
- 自动化向导程序完成显微镜对中
- 显微镜保温箱控制



▲控制面板

设备参数

■ 显微镜参数

透镜结构配置	透射式倒置显微镜
显微技术	全息摄影技术（定量相位成像），荧光显微技术，模拟DIC，明场
物镜	放大倍数为 4× 到 60×
物镜转台	6孔，马达驱动自动更换
光源	卤素灯
光波波长	650 nm
样品台	马达驱动，130 mm × 90 mm的移动范围
调焦	马达驱动物镜转台，8 mm行程范围
压电式调焦	可选择，具有多种移动行程
横向分辨率	4× NA 0.1物镜下可达到3.3 μm 60× NA 1.4物镜下可达到0.57μm
视场	取决于物镜，4×物镜下最大视场范围为950 μm × 950 μm
采集帧速率	2048X2048 pixels 下为 5.5 帧 / 秒（可选更高的帧速率）
重构相位图像大小	600 px × 600 px
样品平面内的照明功率	低至0.2 μW/cm ²
相位检测灵敏度	低至 0.0035 rad ($\Delta n = 0.5$ 时为0.7 nm) Δn - 待测样品与参考样品的折射率差
电源	230 V/50 Hz (也可选120 V/60 Hz), 2300 VA
外形尺寸 (W × L × H)	1100 mm × 950 mm × 1620 mm (带保温箱的显微镜) 2515 mm × 974 mm × 1620 mm (包括操作台在内)
重量	350 kg (包括显微镜支撑台，荧光显微镜附件和显微镜保温箱)
视场与光圈	
侧面腔口可用于装配荧光模块或其他显微技术模块	
显微镜支撑台具备主动防振悬浮设计	
控制面板配有多功能触摸屏，样品台操纵杆和旋转把手	
显微镜的样品培养室完成计算机温度设置与温度数据记录	
样品培养室精确检测且长期控制室内温度、湿度及CO ₂ 浓度	

■ 荧光模块（可选）

光源	Lumencor Aura, Lumencor Spectra, Sutter Lambda XL
探测器	标准的CCD相机，像素为1.4 Mpix (1392 px × 1040 px) 可选配高灵敏度的sCMOS相机，像素为 5.5 Mpix (2560 px × 2160 px)
滤光片	多通道滤波器，马达驱动通道切换

参考文献

¹ US patent No. 8526003.

² T. Slab'Y et al.: Off-axis setup taking full advantage of incoherent illumination in coherence-controlled holographic microscope. Optics Express 21, 2013, 14747.

³ H. Janeckova et al.: Proving tumour cells by acute nutritional/energy deprivation as a survival threat: a task for microscopy. Anticancer Research 29, 2009, 2339 – 2345.

⁴ J. Balvan et al.: Multimodal holographic microscopy: distinction between apoptosis and oncosis. PLOS ONE, 2015 (submitted).

⁵ R. Barer: Interference microscopy and mass determination. Nature 169, 1952, 366–367.

⁶ H. Davies, M. Wilkins: Interference microscopy and mass determination. Nature 169, 1952, 541.

请观看Q-PHASE相关视频



细胞对治疗与处理的反应

<http://q-phase.tescan.com/index.php/applications/cells-in-scattering-media-and-3d-environment>

胶原蛋白内细胞

<http://q-phase.tescan.com/index.php/applications/cells-in-scattering-media-and-3d-environment>

细胞增殖

<http://q-phase.tescan.com/index.php/applications/cell-dynamics>



请关注我们的微信
了解全面的产品信息和技术动态
欢迎参加技术交流和探讨



上海市闵行区联航路1688弄旭辉国际28号楼1层
电话 +86 21 6439 8570 ; 15026628696
传真 +86 21 6480 6110
邮箱 wentong.zhu@tescanchina.com

北京办事处

地址：北京市昌平区北清路中关村生命科学园创新大厦A108室
电话 +010-80765953
传真 +010-80765055

www.tescan-china.com