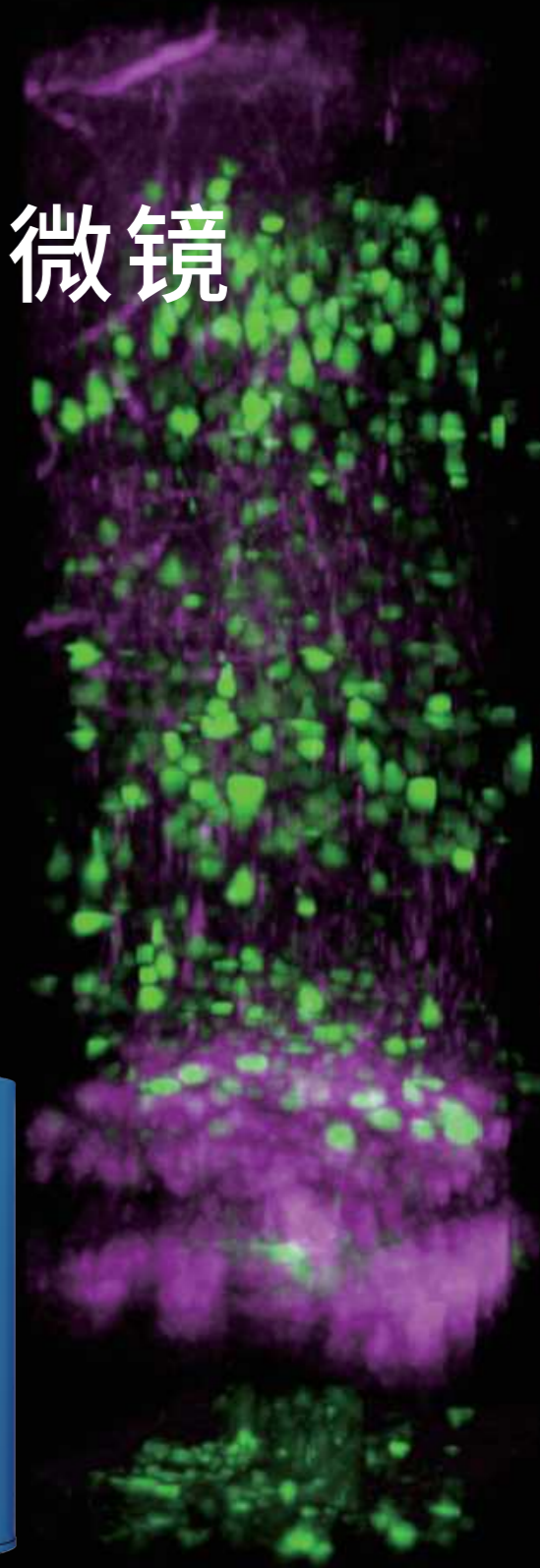




SUPERNOVA-3000 微型化三光子显微镜

自由行为动物非侵入式深脑成像解决方案



北京超维景生物科技有限公司

地址：北京市海淀区安宁庄东路16号融科融智·蜂巢工场
东区5号楼

电话：+86 10 6254 6960

邮编：100085

南京超维景生物科技有限公司

地址：江苏省南京市江北新区探秘路73号树屋十六栋B2-1

电话：+86 25 5889 5768

邮编：211800

服务热线：400-998-9826

邮箱：info@tvscope.cn

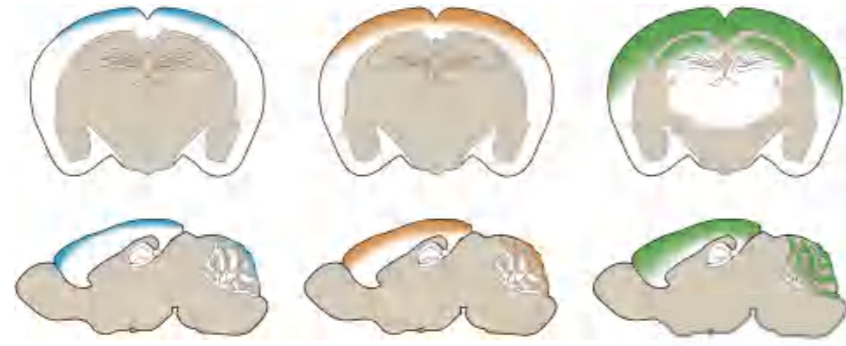
网站：<http://www.tv-scope.com/>



SUPERNOVA-3000

微型化三光子显微镜

大脑深部区域与基本生命功能密切相关,在各种神经疾病中均观察到深部大脑的结构和功能异常,例如帕金森病、阿尔茨海默症、抑郁症和强迫症等。但在啮齿类动物研究模型中,由于神经组织,特别是胼胝体,具有对光的高散射光学特性,所以如何突破成像深度极限,在自由活动动物上对距离脑表层深度 $>1\text{ mm}$ 的结构进行成像是极大的挑战。三光子成像技术的出现将成像深度大大扩展至 $1500\text{ }\mu\text{m}$,给非侵入式深脑成像带来了曙光。



单光子光学、双光子光学和三光子光学对小鼠大脑的成像深度对比

微型化三光子显微镜SUPERNOVA-3000搭配新颖的光学构型设计的微型化三光子探头,有效增加散射荧光的收集效率,达到台式三光子成像深度的极限,并且扫描速度快,成像效果清晰。SUPERNOVA-3000的出现,使得神经科学的研究人员将可以在保留完整的大脑皮层结构投影的前提下,对例如涉及海马或纹状体结构等,大脑皮层及皮层下方脑区之间的神经网络进行深入研究。

Go deeper: 更深

- 长波长飞秒激光脉冲,钙成像深度达到 1.2 mm
- 穿透整个小鼠大脑皮层,突破胼胝体,进行海马成像

More freedom: 自由运动下的卓越成像性能

- 2.2 g 超轻微型化探头,小动物轻松佩戴
- 利用ETL实现三维成像
- 独有光学设计,集成柔性避光光纤、空芯光子晶体光纤、MEMS等尖端技术

Less damage: 非侵入式手术,轻松上手

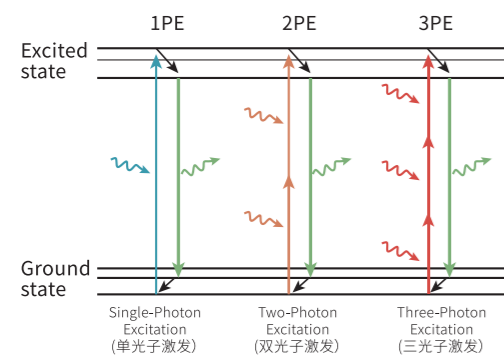
- 深脑成像只需颅窗手术,避免植入式GRIN Lens损伤脑组织
- 激发光波长更长,更低光毒性
- 散射荧光增强收集构型,实现深脑低功率成像



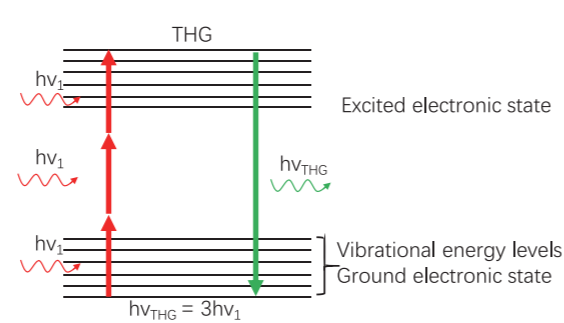
Go Deeper

更深

SUPERNOVA-3000利用五阶非线性效应,极大降低了成像焦面以外的荧光激发,背景噪声更小,深层大脑成像保真度高。系统使用更长波长的激发光,使得生物组织对激发光的散射减弱,达到活体成像深度极限,可以得到明亮的高分辨率的三光子激发图像和三次谐波图像。



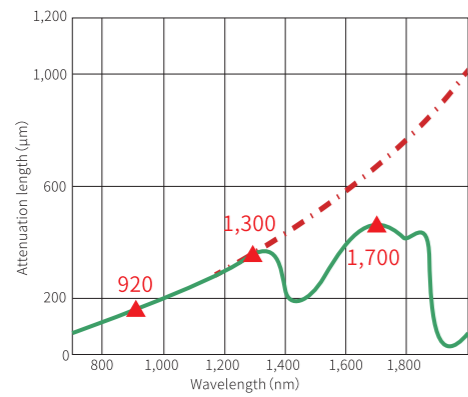
荧光激发示意图



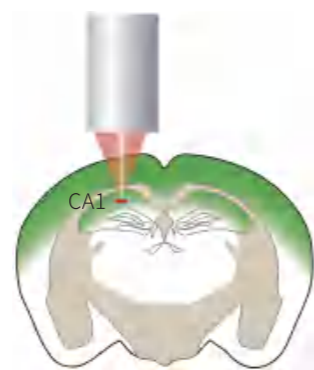
三次谐波示意图

更强的穿透力

SUPERNOVA-3000能够发射超快、低重频的长波长飞秒激光脉冲 (1300 nm、1700 nm), 超强穿透力使更多的光子在不引起任何功能性干扰或物理损伤的情况下到达标本深处的激发焦点, 得到更明亮的高分辨率图像。钙信号成像深度可以达到1.2 mm, 穿透整个小鼠大脑皮层突破胼胝体, 抵达海马等深部脑区。

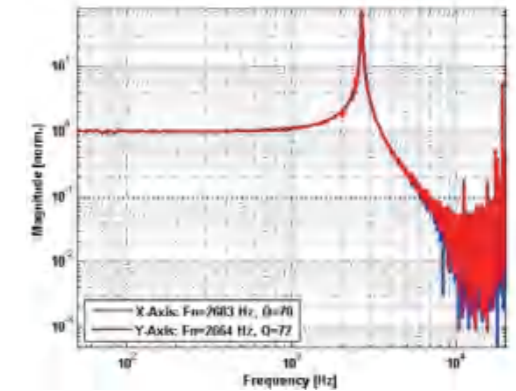
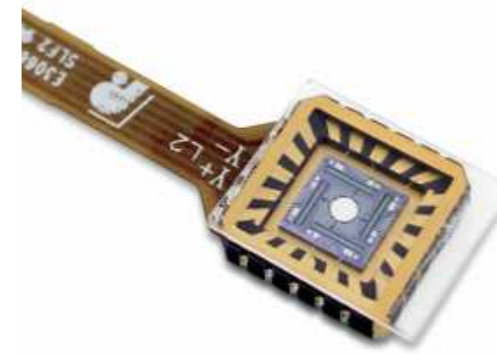


小鼠脑组织中散射长度的光谱分布



更快的扫描速度——MEMS 扫描振镜

高速扫描振镜将无万向节制动结构集成在一起,整体加工制造而成。封装尺寸为8.89 mm×8.89 mm×165 mm。可提供0.8 mm至2.0 mm的一系列可选镜面尺寸。谐振频率可达1200~4500 Hz。搭配FPGA实时控制采集系统,实现纳秒级同步,捕捉快速信号反应。

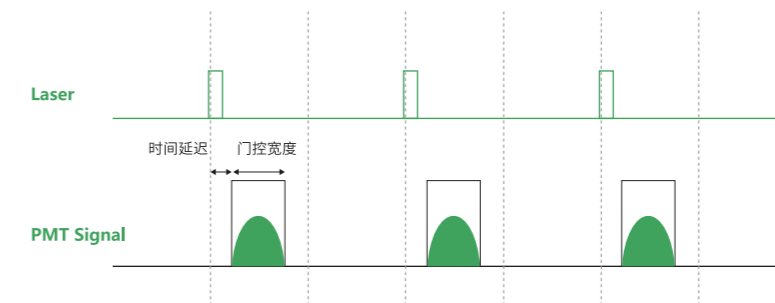


MEMS扫描振镜及其谐振频率

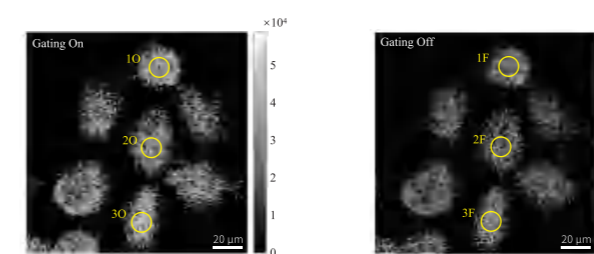
更清晰的成像——FPGA门控降噪系统

三光子成像应用中,受限于激光重频,使得有用信号之间存在较长空白(噪声)周期,因此我们针对激光同步信号对PMT输出进行门控采集做出了以下优化,将SNR提高了十几倍。

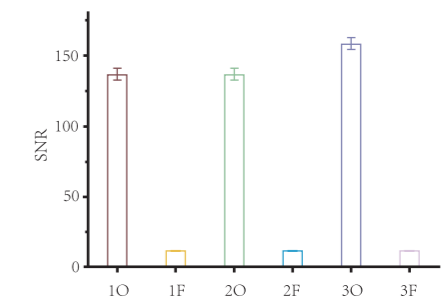
- FPGA高系统时钟控制:门控延迟和采集时间宽度的控制精度可达8.3 ns,准确采集有效信号
- 单像素停留时间自动匹配:自动计算,保证图像的每一个像素点内至少有一个激光脉冲
- 实时SNR计算:集成了SNR实时计算,实现最优化信噪比门控参数与可视化参数调教



门控示意图



门控开启和关闭采集模式收集图像



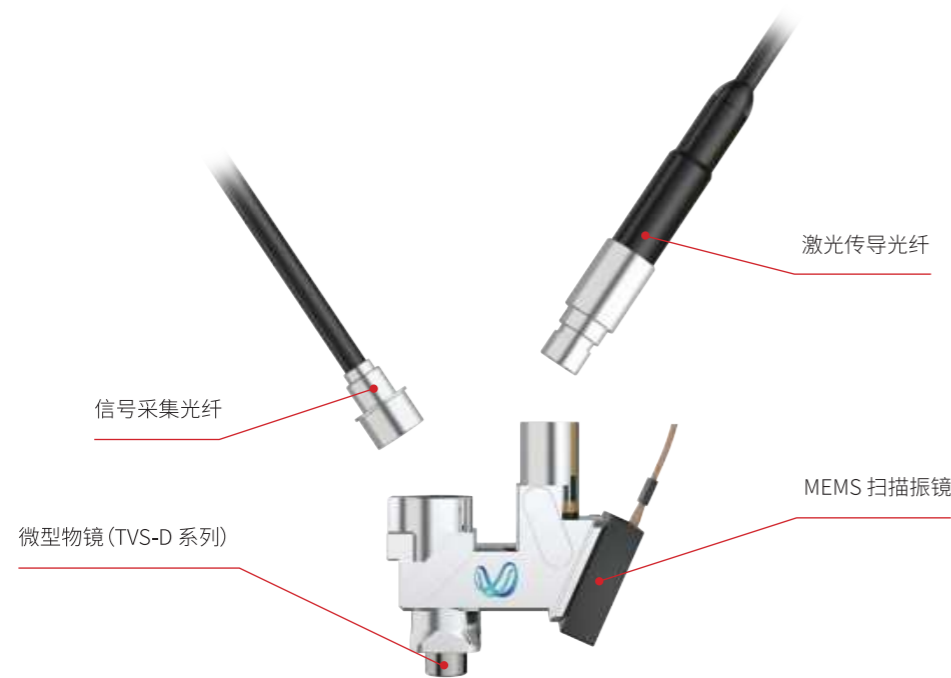
门控采集模式的性能

More Freedom

“戴着跑”的显微镜

2.2g 新型微型化探头

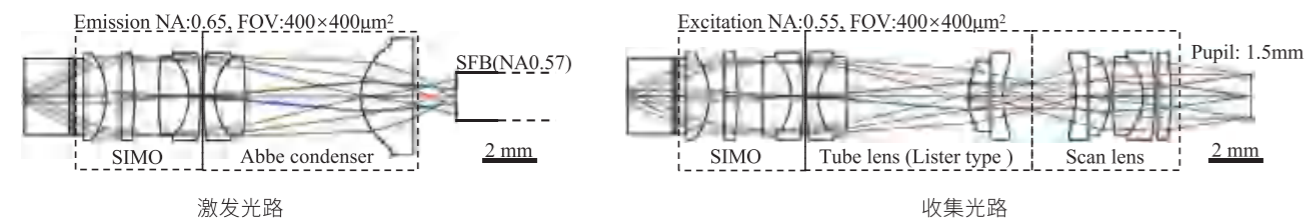
微型化探头将阿贝聚光镜构型引入荧光收集光路增强散射荧光收集效率，将李斯特物镜构型引入荧光激发光路校正残余像差，通过激发与收集双光路元件复用，将三光子光学组件高度集成在一个微型化探头内，体积仅有 $2 \times 1.6 \times 0.9 \text{ cm}^3$ ，实现飞秒激光脉冲无畸变传输、高质量激光汇聚、高效率荧光收集和激发。同时外壳使用超轻航空铝合金，重量仅2.2g，既轻盈又坚固，搭配电动变焦模块、定制光纤、光屏蔽GaAsP PMT，保证了对自由运动小鼠深脑神经活动的高稳定性、高分辨成像。



TVS-D 物镜

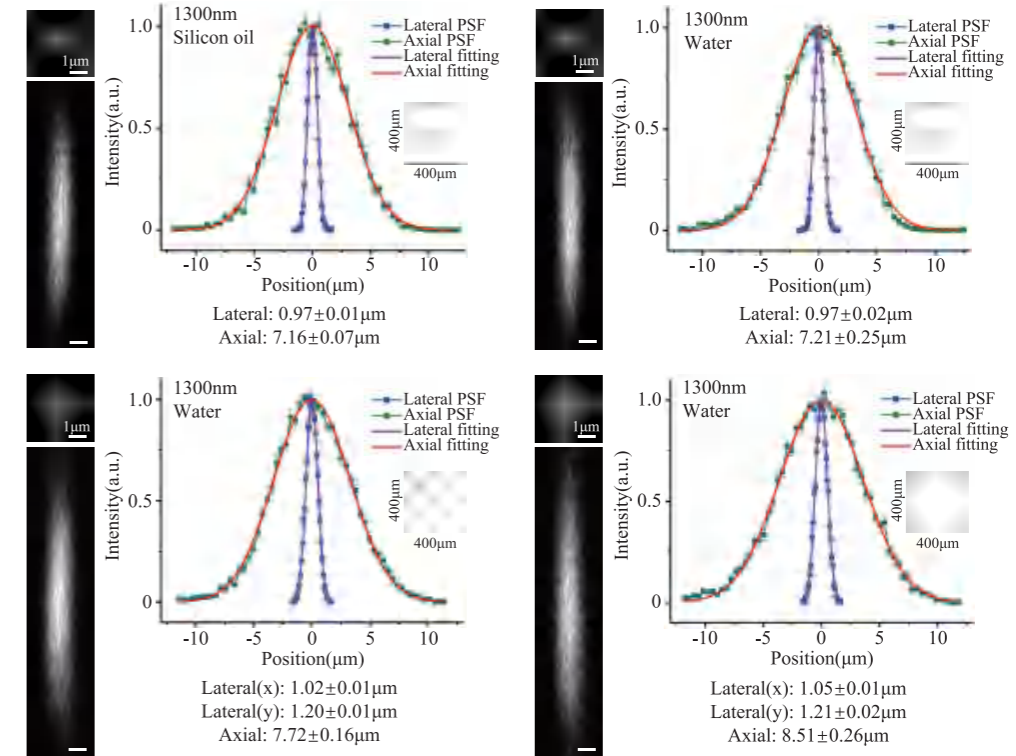
TVS-D 物镜采用了新型内嵌阿贝聚光镜复合式光学构型，阿贝聚光镜结构与简化的无限远物镜密接的同时在激发光路中与Lister微型管镜部分复用，进一步简化结构，降低损耗，缩小体积。直径仅3.4 mm，具备高分辨率、大视野、长工作距离、色差校正以及针对深散射组织成像优化等特点。

专利号: 202211443539.5



高分辨率

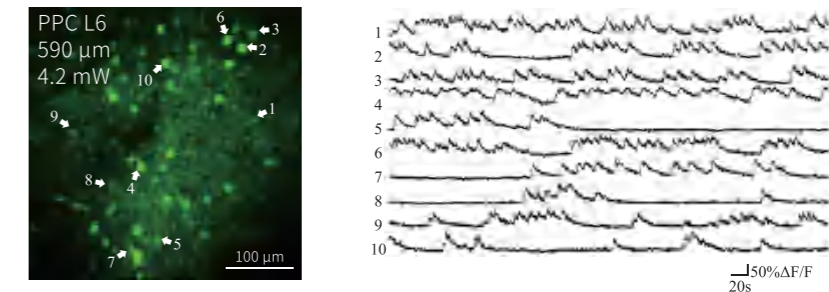
SUPERNOVA-3000在水和硅油的介质中的横向分辨率 $< 1 \mu\text{m}$ ，轴向分辨率为 $7.2 \mu\text{m}$ ，同时在侧向和轴向的分辨率边缘离轴变化接近理论衍射极限。有效消除视野内的球面像差和散焦像差等特性，实现全视野高分辨率成像。



微型化三光子显微镜在不同介质中的成像视野中心点及离轴位置分辨率测试

大视场

微型化三光子显微镜的成像视野 (FOV) 高达 $400 \times 400 \mu\text{m}^2$ ，可同时对深脑数以百计的神经细胞进行成像。



AAV-hSyn-GCaMP6s标记自由行为小鼠顶叶后皮质 L6 (PPC L6) 的神经元钙活动

TVS-D	分辨率	NA	重量	浸没液体	成像视野	工作距离	直径
	$< 1 \mu\text{m}$	0.55 (激发) 0.65 (收集)	2.2 g	水/硅油	$400 \times 400 \mu\text{m}^2$	1.75 mm	3.4 mm

电动变焦模块 (ETL)

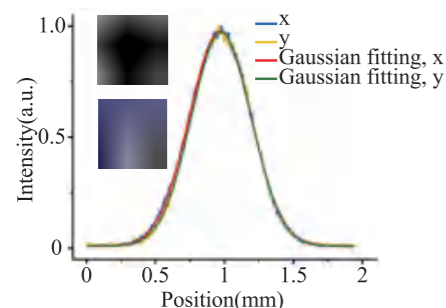
为了保证动物在自由活动中进行三维成像, 利用微型化三维变焦模块, 将成像探头从定焦成像模式转变为变焦成像模式。自主研发的4F共轭光学系统, 保证了对自由行为动物进行三维成像时变焦范围内的分辨率恒定。变焦范围: 0~150 μm 。



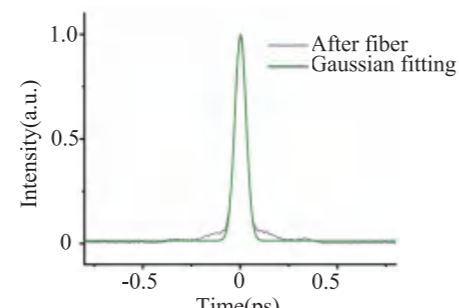
电动变焦模块光路图

激光传导光纤--空芯光纤

SUPERNOVA-3000系列光纤均具有准单模传输、低损耗、低非线性、低色散、高激光器损伤阈值的特点。高效率传输1300 nm飞秒脉冲激光, 将空间光路转变为光纤传输, 强抗弯折性能, 使自由运动下观察成为可能。



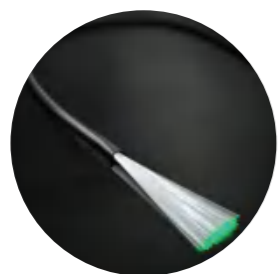
空芯光子带隙光纤截面和输出光斑示意图



出口处激光脉冲时间剖面

信号采集光纤—柔性光纤束

- 芯径仅 1.7 mm 的柔性新型光纤, 使动物运动引起的扭矩和拉拽力最小化
- 强避光外壳以及光纤避光设计实现避光性能, 满足光照环境行为学实验



高灵敏光屏蔽GaAsP PMT

- 优化光路, 保证散射荧光光子有效收集
- 高灵敏度探测, 捕捉微弱荧光信号
- 避光封装, 实现超强避光性能, 实现光照条件下自由行为成像



Less Damage

安全高效, 轻松上手

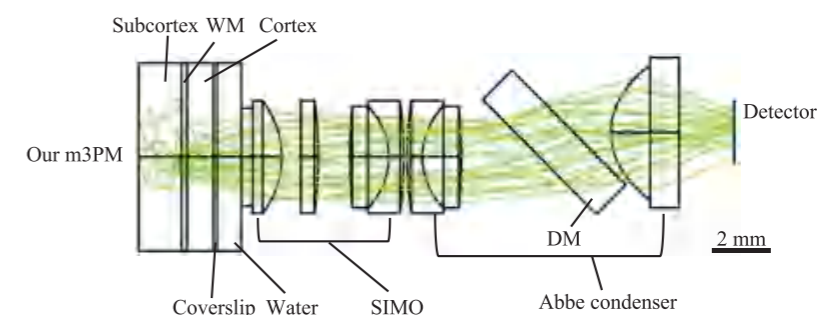
非侵入式手术

- 深脑成像避免使用GRIN Lens, 对小鼠大脑损伤更小, 避免影响小鼠正常神经生理状态
- 无GRIN Lens, 成本更低
- 手术便捷, 成功率更高

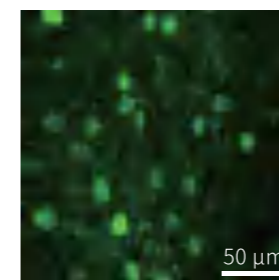
超低光毒性

散射荧光增强收集构型——深脑超低功率成像

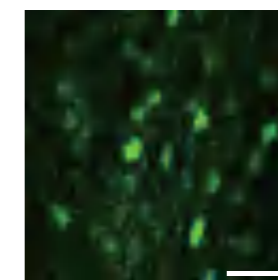
SUPERNOVA-3000创新的使用微型阿贝聚光镜与无限远物镜密接提高散射光的收集效率; 李斯特微型管镜复用简化结构, 优化光路设计, 提高荧光收集效率的同时, 保证了大视场分辨率。总体上, 散射荧光增强收集构型使微型化显微镜的散射荧光收集效率实现了成倍的提升, 实现了在超低成像功率下对自由运动小鼠大脑深部脑区神经元活动进行实时监测。



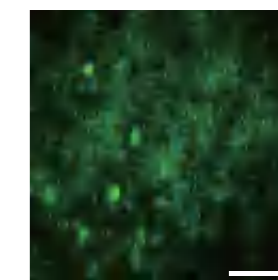
基于散射荧光增强收集构型, 实现全皮层钙信号成像仅需几个毫瓦, 海马钙信号成像仅需要几十毫瓦, 大大低于组织损伤的安全阈值。因此, SUPERNOVA-3000可以长时间、不间断连续观测神经元功能活动, 且不产生明显的光漂白与光损伤。



L4/5
495 μm
1.2 mW



L6
670 μm
4.6 mW



CA1
908 μm
24.7 mW

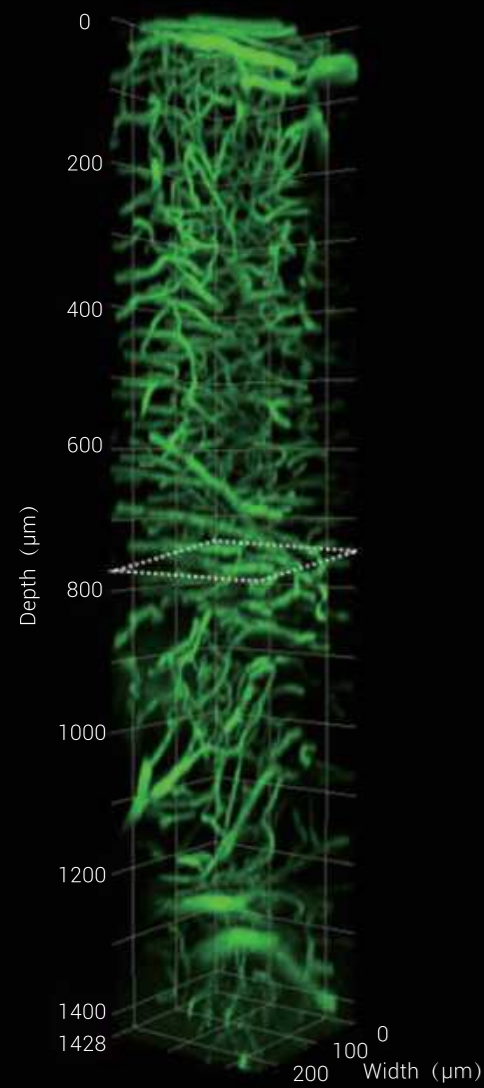
AAV-hSyn-GCaMP6s病毒注射小鼠大脑不同深度脑区超低功率钙成像

应用

小鼠大脑组织3D重构

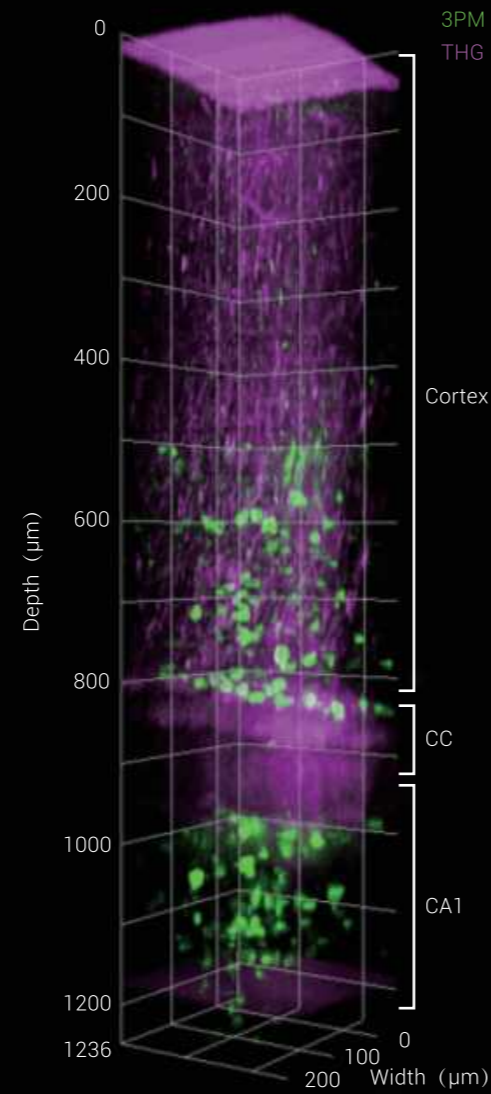
小鼠大脑皮层至海马区血管三维重建成像

绿色: FITC-Dextran dye
成像深度: 0~1428 μm
激发波长: 1320 nm
清醒小鼠头部固定成像



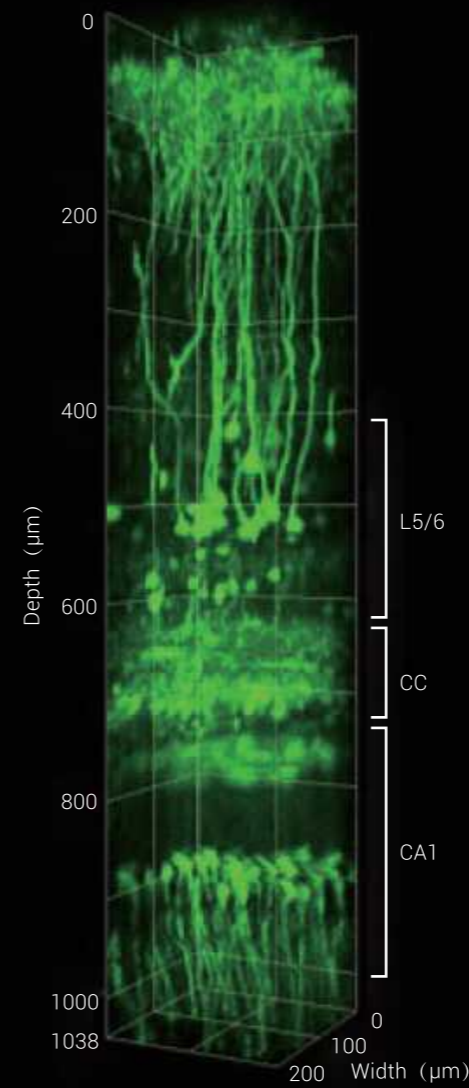
小鼠后顶叶皮层至海马CA1区神经元三维重建成像

绿色: AAV-hSyn-GCaMP6s
洋红色: 三次谐波信号
成像深度: 0~1236 μm
激发波长: 1320 nm
清醒小鼠头部固定成像



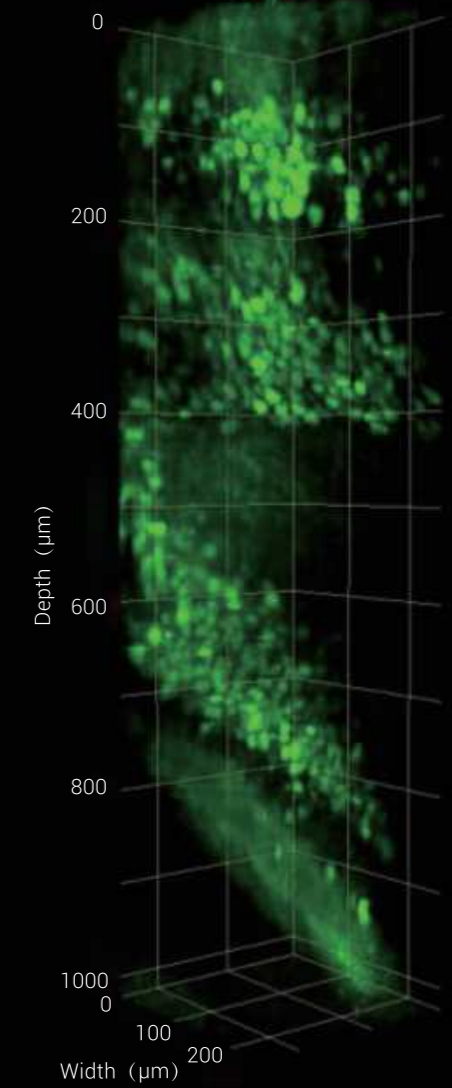
小鼠后顶叶皮层至海马CA1区神经元三维重建成像

绿色: Thy1-YFPH
成像深度: 0~1038 μm
激发波长: 1320 nm
清醒小鼠头部固定成像



小鼠大脑皮层至Postsubiculum三维重建成像

绿色: AAV-Hsyn-GCaMP6f
成像深度: 0~1000 μm
激发波长: 1320 nm
清醒小鼠头部固定成像

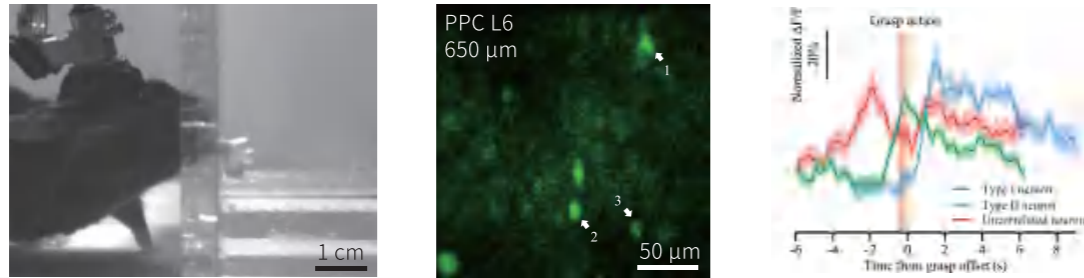


应用

动物自由运动成像

行为学实验下的小鼠顶叶后皮质 L6 (PPC L6) 的神经元钙活动 (成像深度650 μm)

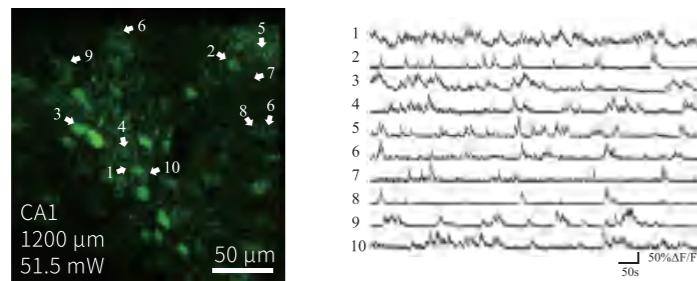
微型化三光子显微镜可以搭配不同行为学实验的深部脑区进行单细胞级的稳定高时空分辨率成像, 满足实时监测单个神经元的活动, 结构变化以及不同功能神经元分类等实验需求。



行为学实验下小鼠大脑PPC L6的神经元活动

自由运动小鼠大脑海马CA1亚区的神经元钙活动 (成像深度1.2 mm)

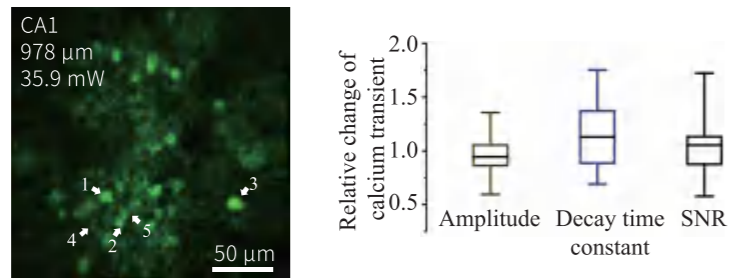
安全激光功率下通过非侵入式手术对背侧海马CA1 (深度达1.2 mm) 的钙活动进行成像, 监测神经元的钙活动轨迹, 并与小鼠行为视频进行同步。



自由行为小鼠大脑海马CA1亚区的神经元活动

长时程监测自由运动小鼠大脑海马CA1亚区的神经元钙活动 (成像深度978 μm)

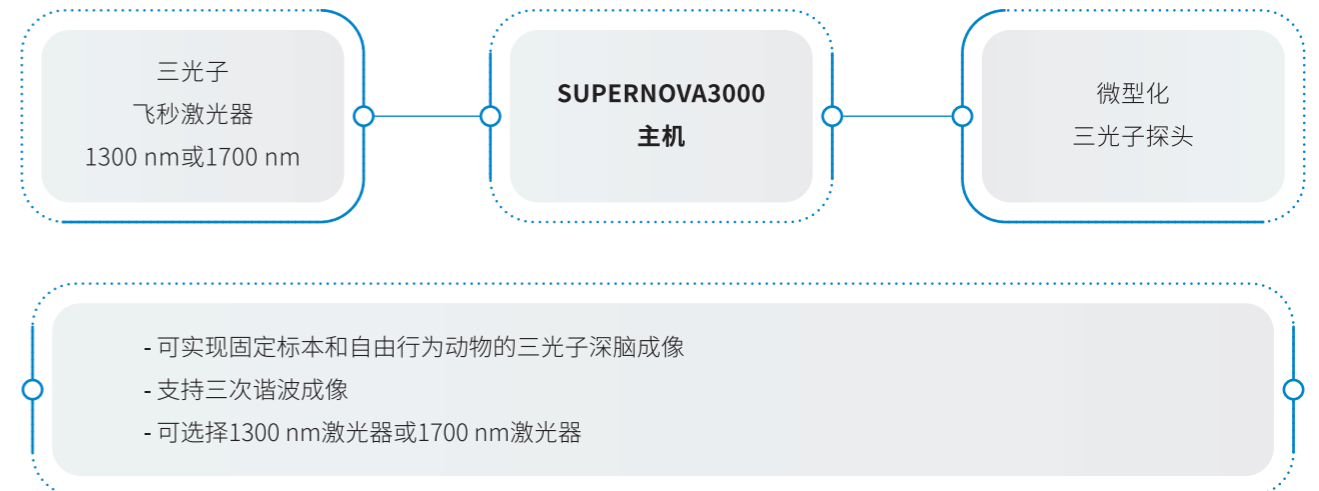
在8.35 Hz的成像速率下, 进行100分钟不间断连续监测采集自由运动小鼠大脑海马CA1亚区神经元活动, 钙信号瞬态特征无明显变化 (平均振幅, 衰减时间常数, SNR)



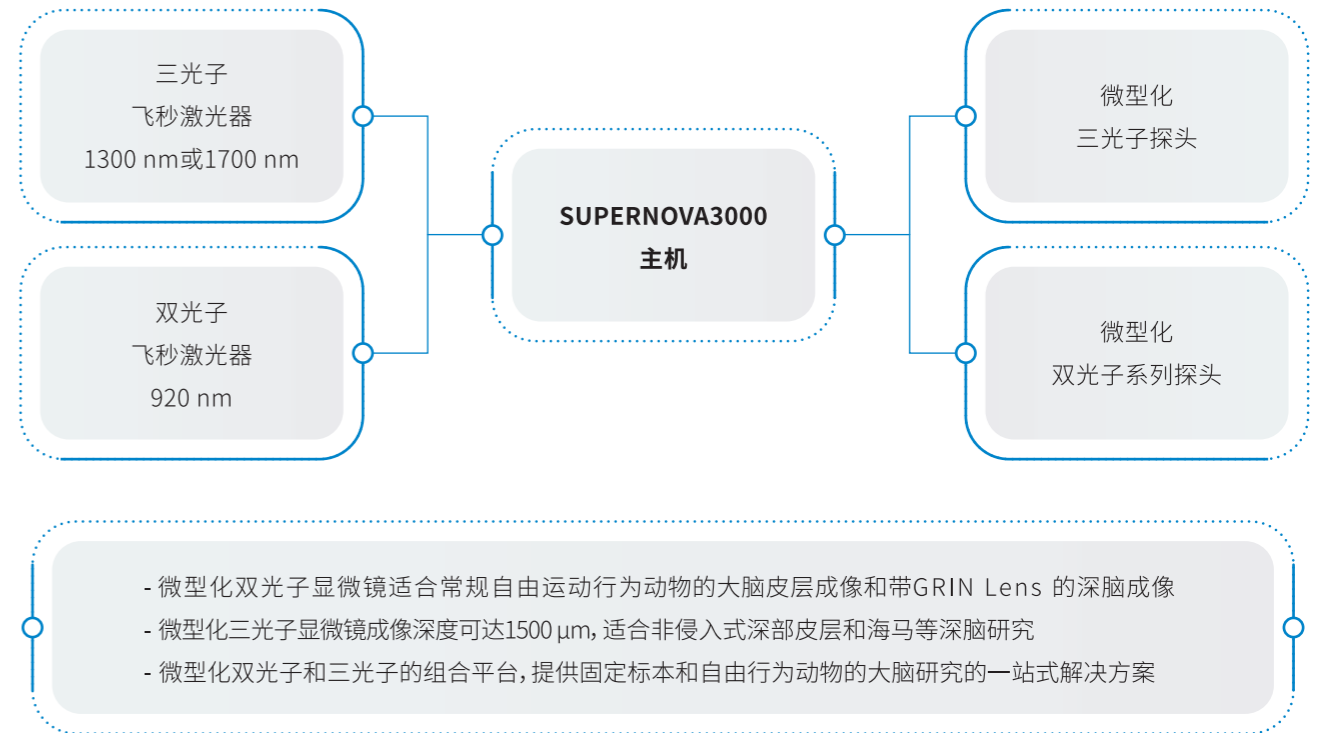
100分钟不间断采集自由运动小鼠大脑海马CA1亚区神经元活动

不同组合满足用户不同需求

微型化三光子专用型



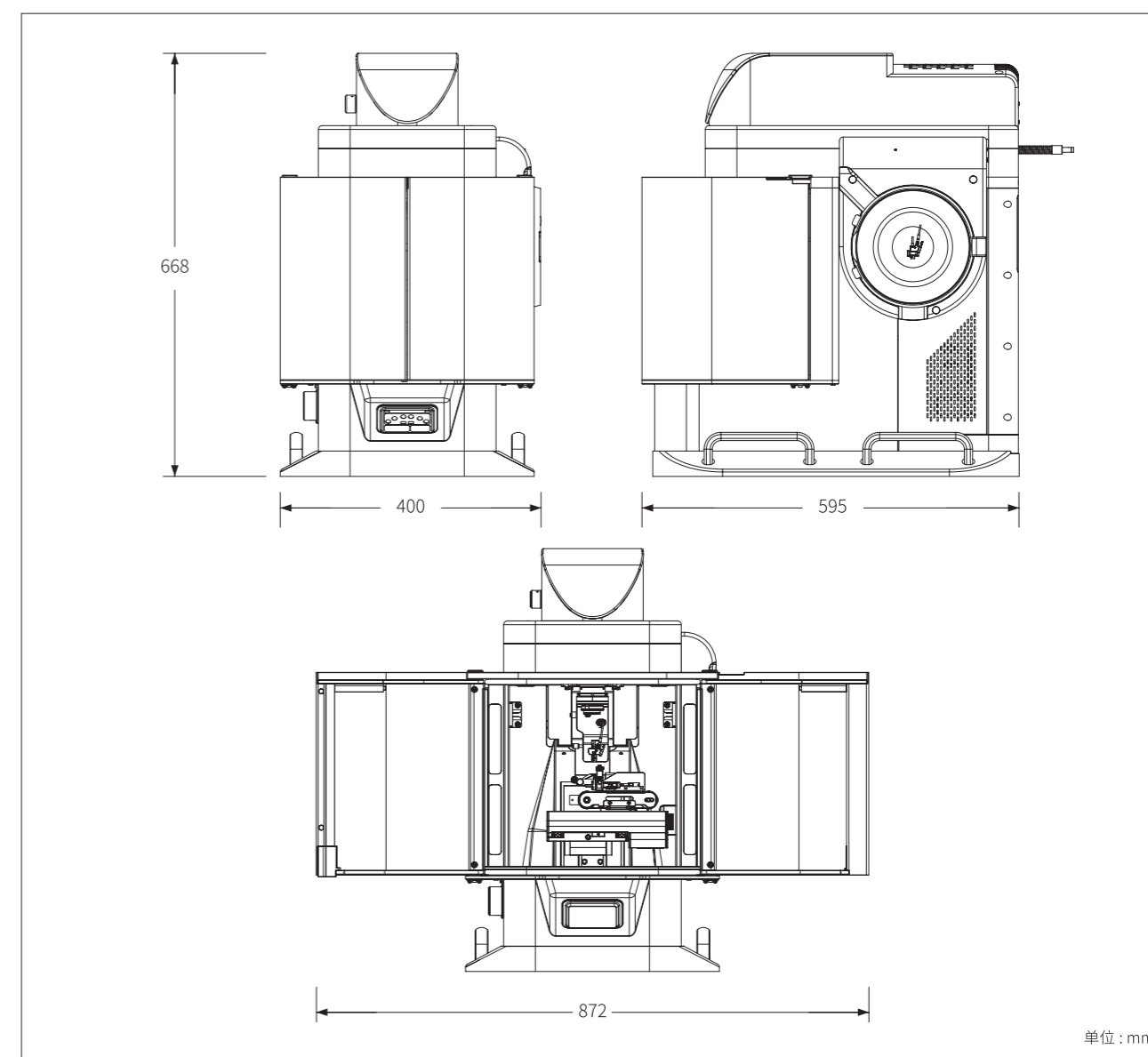
微型化双光子+三光子组合型



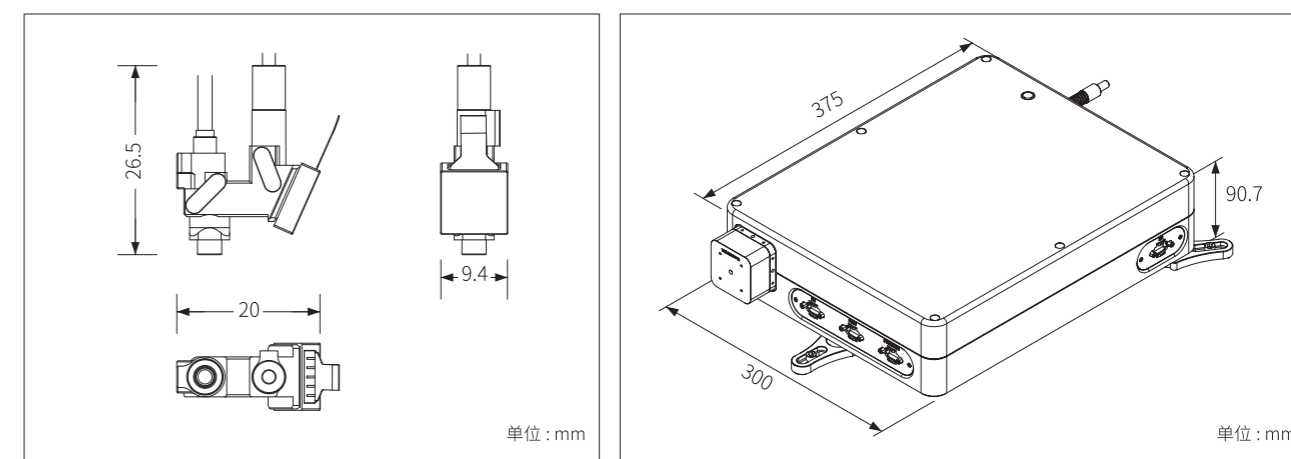
技术参数

微型化探头	
重量	2.2 g
NA	0.55 (激发) 0.65 (收集)
浸没液体	水/硅油
成像视野	400×400 μm ²
工作距离	1.75 mm
直径	3.4 mm
荧光检测模块	高灵敏 GaAsP PMT 采集波长范围:300~720 nm 绿色荧光通道:520+/-25 nm (GCaMP6 / GFP) 红色荧光通道:625+/-25 nm (RCaMP/tdTomato/mCherry)
控制器	采样率≥ 120 MS/s 模拟输入分辨率≥ 14 bit 模拟信号带宽≥ 60 MHz
光纤耦合模块	内置 AOM, 响应时间 < 250 ns; 带激光快门保护
成像模式切换模块	XYZ 载物台, 双向重复精度:1 μm 用于寻找成像视野和定位成像区域
荧光检测模块	激发波长490~550 nm CCD 相机, 分辨率 1920X1200 像素, 全视野成像速度 40 Hz
软件	SUPERGIN: 系统控制采集软件 SUPERANALY: 数据处理与分析软件
系统安装体积	595×400×668 mm ³
微型化三维变焦模块	150 μm
飞秒激光器 (可选)	1300 nm 飞秒激光器、1700 nm 飞秒激光器 可适配各品牌飞秒激光器
成像工作站 (可选)	成像工作站 推荐配置: OS-Win10、RAM-32G、HDD-512 SSD 和 2T HDD
动物行为学装置 (可选)	动物行为学装置可适用于大多数小鼠行为学实验
防震台 (可选)	推荐尺寸: 1200×2000×750 mm ³
安装条件	温度20~30°C, 湿度<60%

系统尺寸



SUPERNOVA-3000 尺寸



微型化探头尺寸

激光适配器尺寸