

神经所光学成像平台手册

目录

实验室简介	1
提供的服务和技术	2
仪器使用规章制度	3
仪器使用收费标准	4
技术员操作规范	5
光学成像实验注意事项	14
光学成像实验要点	18
附录：显微镜配置和参数	22

实验室简介

神经所光学成像实验室成立于 2002 年，是中科院上海生命科学院神经科学研究所的光学显微镜公共实验平台，现有专业技术人员 6 名，由胡谦博士负责管理。

光学成像实验室分为两组。第一组位于新实验大楼一楼，由马倩茹(组长)、王永红和陆征宇负责，管理 Nikon Ti 活细胞工作站 (A0107)、Prairie 活体双光子显微镜 (A0119)、Nikon Ti-A1R 倒置共聚焦显微镜 (A0119)、Nikon Fn1-A1R 正置共聚焦显微镜 (A0119)、Olympus Fv-10i (水式) 台式共聚焦显微镜 (A0119)、Olympus Fv-10i (油式) 台式共聚焦显微镜 (A0119)、LOTOS SCAN 双光子显微镜 (神经系统楼 329) 等 7 台设备。第二组位于新实验大楼四楼，由向丹 (组长) 和陈旭鑫负责，管理 Nikon NiE-A1 plus 探头式在体正置共聚焦显微镜 (A0438)、Nikon TiE-A1 plus 荧光寿命和荧光相关光谱倒置共聚焦显微镜 (A0438)、Nikon A1 倒置共聚焦显微镜 (A0434)、Olympus FV-1000 倒置共聚焦显微镜 (A0438)、Olympus FV-1000 正置共聚焦显微镜 (A0438)、Olympus VS120 高通量荧光成像系统(A0436)、Bruker 双光子显微镜(A0438) 等 7 台设备。实验室还配备有 EPC-10 膜片钳放大器、AMPI Master-8 可编程刺激器等电生理研究专用设备。

房间号	仪器设备	仪器管理负责人	卫生负责人
A0434	Nikon Ti-A1 倒置共聚焦显微镜	向丹、陈旭鑫	向丹
A0436	Olympus VS120 高通量荧光成像系统	向丹、陈旭鑫	向丹
A0438	Nikon NiE-A1 plus 探头式在体正置共聚焦显微镜 Nikon TiE-A1 plus 荧光寿命和荧光相关光谱倒置共聚焦显微镜 Olympus FV-1000 倒置共聚焦显微镜 Olympus FV-1000 正置共聚焦显微镜 Bruker 双光子显微镜	向丹、陈旭鑫	陈旭鑫
A0119	Nikon Ti-A1R 倒置共聚焦显微镜 Nikon FN1-A1R 正置共聚焦显微镜 Olympus FV-10i (水式) 台式共聚焦显微镜 Olympus FV-10i (油式) 台式共聚焦显微镜 Prairie 活体双光子显微镜	马倩茹、王永红、陆征宇	王永红、陆征宇 (CO ₂ 细胞培养箱由马倩茹负责维护)
A0107	Nikon Ti 活细胞工作站	马倩茹、王永红、陆征宇	马倩茹
神经系统楼 329	LOTOS SCAN 双光子显微镜	马倩茹、王永红、陆征宇	马倩茹、王永红、陆征宇

实验室开放时间：每周开放 80 小时，周一至周五 9:00 AM — 10:00 PM，周六、周日 2:00 PM — 10:00 PM。神经所光学成像实验室为国内技术较先进、仪器使用率较高的公共实验室。

提供的服务和技术

- 1、多标记固定标本和活体标本的高分辨率荧光成像, 可同时采集明场、相差、和微分干涉图像 (标本厚度可达 100 微米)。
- 2、活体和固定标本的光切片成像和三维重建 (光切片最薄可达 0.1 微米)。
- 3、脑片和其它厚组织标本的双光子荧光成像 (标本厚度可达 400 微米)。
- 4、活细胞荧光信号动态变化的时间序列成像和分析。
- 5、快反应信号高时间分辨率成像和分析。
- 6、细胞内重要离子的浓度测量 (包括: 钙、钠、钾、镁离子、细胞膜电位和 pH)。
- 7、使用笼锁分子进行实验。
- 8、荧光共振能量转移 (FRET) 实验。FRET 技术可以用来测量分子间的相互作用。
- 9、光漂白恢复 (FRAP) 实验。FRAP 是指将细胞某一区域内的荧光标记分子用激光照射漂白, 然后观察该区域的荧光恢复 (经周围荧光分子扩散)。FRAP 技术可以用来测量分子的运动和扩散。
- 10、光学信号和电信号同时测量和分析。
- 11、细胞和亚细胞结构定量分析, 包括: 结构属性 (如: 形状大小) 和分子属性 (如: 荧光信号强弱)。
- 12、TIRF 实验。TIRF 是利用全内反射原理加强荧光成像轴向解析度的一种光学成像技术, 可以用来观察与细胞膜相关的过程, 如: 如细胞粘附、分子运输、胞吐 (神经递质的释放和吸收) 和内存等过程。

仪器使用规章制度

本实验室所有设备都按仪器设备所级中心的要求纳入中科院仪器设备共享管理平台,提供仪器共享和网上实验预约(<http://samp.cas.cn>)。(在填写网上预约单“检验业务委托书”时,表格最后一行的右边“委托人员”必须填写实验者本人的姓名、联系邮件为实验者本人的邮箱地址,联系电话为实验者本人的手机号码。预约的时间仅限本人使用。)

实验室仪器预约: (1) 每台设备可以提前 1 周预约。(2) 每周每台设备,每人最多可以预约 4 次实验,其中 Olympus VS120 高通量荧光成像系统以及 NIKON 的共聚焦显微镜,每周每人最多可以预约 2 次实验。(3) 因实验需要,每周必须预约超过 2 次实验才能完成实验的同学,请与实验室主任讨论实验,将视情况给与特殊的预约权限。(4) 因实验需要,必须使用指定显微镜才能完成实验的同学,请与实验室主任讨论实验,将视情况给与提前 2 周预约实验的权限。(5) 对于取消实验、或连续 2 周末做光学成像实验的同学,我们将取消其已经获得的特殊预约权限。

注: (1) 周一至周五分为 3 个时间段 9:00 - 12:00 (上午)、13:00 - 17:00 (下午)、18:00 - 22:00 (晚上);周六、周日分为 2 个时间段 14:00 - 17:00 (下午)、18:00 - 22:00 (晚上)。(2) 1 次实验指预约 1 个时间段的实验,跨时间段预约计作 2 次预约。(3) 下午(周一至周五)和晚上不接受小于 3 小时的实验预约,只有上午和周末下午才接受小于 3 小时的实验预约。(4) 需要使用灌流系统的实验,因需要在实验后冲洗灌流系统,晚上 9 点后停止实验。

取消预约的实验: (1) 需取消实验或更改已预约的实验,需提前 2 天用 e-mail 发 all1、all2、all3、all4 通告,并注明取消或更改实验的原因、自己的姓名、导师的姓名。(2) 提前 2 天在设备共享管理平台上申请撤销实验并发 e-mail 通告者,可以不收取仪器使用费(仅限每周取消 1 次实验)。(3) 取消 1 次以上实验、或取消 2 天以内的实验的照常收费。(4) **超过实验预约时间 2 小时还未来进行实验的,收取 2 倍的仪器使用费,并全所通报。**

实验开始和结束: (1) 实验者必须经过实验室工作人员培训、掌握仪器的操作方法后,才能独立操作仪器做实验。(2) 实验开始前请先刷园区卡记录开始时间,并在征得实验室工作人员同意后再开始实验。(3) 未经许可不得擅自更改显微镜和工作电脑的软、硬件设置。(4) 遇到仪器故障或对实验数据不满意,请立刻告知实验室工作人员,以求及时解决。**严禁擅自处理或隐瞒仪器故障。**(5) 实验结束后请及时刷园区卡记录结束时间、填写对于本次实验的满意度,并立即通知实验室工作人员。(6) 请清理自带设备(如:灌流系统、加热系统、电生理设备等)、和实验过程中产生的垃圾。(7) 不要清理显微镜物镜和关闭仪器的软件和硬件。**显微镜清理和仪器关闭等工作都应由实验室工作人员来完成。**

实验数据拷贝: 数据应先上传到数据服务器,然后从数据服务器复制到实验者自己的存储设备(USB 盘)。**严禁使用仪器工作电脑的软驱、光驱、光驱刻录机、USB 外插设备等拷贝数据。** 因为数据服务器的存储空间有限,我们会定期删除多余的数据。**实验者应及时备份自己的实验数据(2 天内),实验数据的安全由实验者本人负责!!!**

仪器使用收费标准

本实验室仪器按使用时间进行收费，收费标准（元 / 小时）如下：

设备名称	神经所内	中科院内	中科院外
Nikon NiE-A1 plus 探头式在体正置共聚焦显微镜	50	300	600
NIKON Ti 活细胞工作站	50	300	600
Nikon TiE-A1 plus 荧光寿命和荧光相关光谱倒置共聚焦显微镜	50	300	600
NIKON Ti-A1、Ti-A1R、Fnl-A1R 共聚焦显微镜	50	300	600
OLYMPUS FV-1000 共聚焦显微镜	50	300	600
OLYMPUS FV10i 台式共聚焦	50	300	600
Prairie 活体双光子显微镜	50	400	800
Olympus VS120 高通量荧光成像系统	50	300	600
Bruker 双光子显微镜	50	400	800
LOTOS SCAN 双光子显微镜	50	400	800

（注：请预约者按照预约时间前来实验，因突发情况需要延迟实验者请及时与工作人员联系，以免仪器空开造成不必要的浪费。 仪器使用时间少于预约时间的按预约时间收费，仪器使用时间超过预约时间的按实际使用时间收费。）

技术员操作规范

1. 不要迟到早退，上班时间（除中午 12:00-13:00 和下午 17:00-18:00 吃饭时间）不要无故离开实验室。
2. 保持实验室清洁。根据各自的卫生负责区域每两天清理实验室一次（包括仪器、电脑、实验台、地面、墙壁等等）。为防止灰尘飞扬，应该用湿抹布和湿拖把清理，不能用干抹布和扫帚清理。要经常检查和保持显微镜系统清洁，如：聚光镜、物镜、目镜、载物台和仪器表面等。
3. 要经常注意实验室的温度，检查实验室空调是否处于正常工作状态。实验完毕离开实验室前，要关好门、窗、水、电，确保仪器安全。
4. 时刻注意停电通知，根据停电时间通知学生安排好实验。停电复电后，应注意实验室空调是否处于工作状态，及时打开实验室空调。
5. 实验室内空调、水电维修时，应用塑料台布将仪器盖上，以防维修时水漏到仪器上。
6. 注意防震台是否有气压，没气时要及时更换气瓶。防震台一律使用空气。
7. 每周检查一次计算机容量，发现硬盘容量小于 5 G 时，应检查各个实验者的数据量和时间，将超过一周的数据删除。
8. 实验结束后应及时填写仪器使用记录。每月由指定的技术员（马倩茹和陈旭鑫）统计仪器使用量和课题组应收费用，每月初将上个月的统计报表发给各组 PI 和管家。
9. 如果同时有多个学生需要带实验时，应按照先来后到、先简后繁、先熟练后生疏的次序协助学生实验。
10. 实验开始时，应帮助学生找到标本焦平面、设置好仪器参数（激光强度、Pinhole 大小、PMT 增益、滤光片、聚光镜、DIC、相差等）、并采集一张符合标准的图像，然后再让学生独立实验。在设置仪器参数的时候，要边讲解边设置。
11. 在设置多荧光标记标本的实验参数时，要一个通道一个通道按次序设置（NIKON 的共聚焦显微镜可使用 Preview 和 Capture 分别保存预览参数和正式采图参数）。
12. 对于首次实验或者不能熟练使用显微镜的学生，应首先讲解仪器的工作原理和仪器的操作步骤，然后按先做示范、边讲解边示范、边讲解边让学生自己动手采集图像的步骤，逐步教会学生掌握仪器操作。
13. 在示范和操作显微镜时要注意以下仪器操作要点：（1）检查物镜是否清洁、检查显微镜镜油有没有结晶或浑浊物；（2）物镜的盖玻片厚度校正是否设置正确；（3）明视野光路是否清洁、无灰尘；（4）物镜的类型是否选择正确（首选高数值孔径 Plan-APO 物镜、用水镜来观察活标本等）；（5）共聚焦针孔设置是否正确（一般选 1 Airy Unit）；（6）合适的扫描速度和平均次数；（7）合适的采图分辨率（根据 Nyquist 采样定律，

采图分辨率应最起码为所需观察的最小物体空间尺度率的 $1/2-1/3$); (8) 荧光定量分析实验要注意图像亮度不要过亮、PMT 的 Offset 不要过高, 应使用 Hi-Lo 调色板或 Line-Profile 来检查图像亮度; (9) 更换标本和物镜时要先把物镜降到最低位置; (10) 聚焦时要注意样品和物镜的距离(可参考显微镜前方小显示屏中物镜的 Z 轴位置读数), 避免物镜升得过高撞及样品损坏物镜; (11) 观察或采集载玻片边缘的标本时要注意物镜离样品架之间的距离, 避免物镜顶到样品架造成设备损坏。

14. 在学生实验过程中, 应经常检查采图参数是否正确、仪器工作状态是否正常、学生的操作是否正确。及时关闭不使用的激光器, 及时收纳不需要使用的物镜。

15. 使用恒温加热台时要注意: 打开盖子和合上盖子时不要朝一个方向缠绕电线、通气时要注意水槽中的水不能溢出。使用 3-4 小时后, 应向水槽中补足超纯水。

16. 使用灌流系统的实验要注意: 要在物镜或聚光镜上加一层保鲜膜, 检查负压泵是否正常工作, 防止实验溶液溢出在仪器设备上。

17. 在实验过程中遇到仪器故障或问题应及时告知实验室主任。在实验室主任帮助操作仪器、做操作或实验演示时, 要认真听讲。

18. 实验完毕及时关闭和清理设备: (1) 仪器恢复到初始状态: 将荧光光路上的 ND 滤片全部拉出、将光路切换到目视观察位置、载物台位置复位、ZDC 或者 PFS 置于 OUT 位置、倒置(正置)显微镜的物镜放置到 Z 轴最低(高)位置。按每台仪器的关机步骤关闭仪器。(2) 及时清洁物镜, 每台显微镜只留一个空气物镜, 将不使用的物镜清洁后装入镜盒收纳。

19. 使用气体的实验(活细胞成像实验、需使用灌流系统的实验)结束后, 应及时关闭气体阀门。若发现漏气或气阀失灵, 应停止实验, 立即检查并修复。

20. 使用灌流系统的实验结束后, 要及时冲洗灌流系统和清理废物瓶。实验完后将废物瓶的负压泵及时关闭。

21. 冲洗灌流系统的步骤: (1) 将压力调至最小, 用 10ML 的注射器把每一管灌流管中的溶液抽干; (2) 用 5ML 的注射器向每一管灌流管中注满超纯水, 再用 10ML 的注射器依次抽干, 此步骤重复 3 次; (3) 用 5ML 的注射器将每一管灌流管中注满超纯水, 打开气体压力到 80kpa, 检查每一管灌流管是否通畅, 如有堵塞, 用 10ML 的注射器倒吸管子里的堵塞物; (4) 等溶液全部流完后, 将压力调至最小, 关闭气体阀门。

22. 灌流系统每 1-2 月彻底清洗一次, 由组长负责清洗: (1) 配置 5% 浓度的 84 消毒液, 用 5ML 的注射器注入到每一管灌流管, 浸泡 40 分钟, 用 10ML 的注射器依次抽干灌流管内溶液, 用超纯水清洗 3 遍; (2) 把灌流系统上的三通以及所有软管和电极头拆下, 分别用 5% 浓度的 84 消毒液冲洗浸泡, 最后用超纯水浸泡冲洗。清洗完后, 装回灌流系统, 用 5ML 注射器将所有灌流管中注满超纯水, 冲洗管道 10 遍; (3) 清洗完后将气体压力关到最小, 关闭气体阀门。

23. 物镜清洁注意事项: 空气镜和油镜用无水乙醇擦拭。擦拭时应选用物镜专用擦镜纸

或长纤维的脱脂棉签，从中心往外呈螺旋形擦拭，或单方向擦拭。严禁来回摩擦镜头。水镜用超纯水清洗，再用擦镜纸擦干。

24. 细胞箱维护注意事项：经常检查二氧化碳气体余量、培养箱的门是否关紧、CO₂ 的浓度和培养箱的温度。及时清理培养箱内剩余的细胞。每 2 周更换一次培养箱内的超纯水。每 2 个月彻底清洁培养箱内壁和托盘。每年给培养箱内部加一次超纯水。

遵守每台仪器的开机和关机流程以及注意事项：

1. Nikon Ti-A1 倒置共聚焦显微镜（A0434）

开机步骤：开汞灯（开明场灯）→开电脑→开 E-box →开显微镜→开电动载物台电源→开激光器→开软件

注意事项：

- 1) 使用 Preview 和 Capture 分别设置预览参数和正式采图参数。
- 2) 更换标本时应先将物镜降到最低位位置。聚焦时注意标本和物镜间的距离（可参考显微镜前方小显示屏中物镜 Z 轴位置读数），避免物镜升得过高损坏标本和物镜。
- 3) 标本应离载玻片 2 端 1 厘米，如标本不符合标准应向学生指出并拒绝实验，待学生改正后再进行实验。观察载玻片边缘的标本时，要注意物镜和样品架之间的距离，避免损伤物镜和样品架。
- 4) 实验结束后，应将光路切换到 GFP 观察位置、将物镜降到最低位置、将电动载物台复位。
- 5) 清洁所有物镜，除了 10X 和 20X 物镜外，收纳其它物镜。

关机步骤：与开机步骤相反。

2. Nikon TiE-A1 plus 荧光寿命和荧光相关光谱倒置共聚焦显微镜（A0438）

开机步骤：开汞灯（开明场灯）→开电脑→开电动载物台电源→开显微镜→开 E-box →开激光器→开软件

488 激光器开启：先将 488 激光器电源开关“ON”→打开钥匙

注意事项：

- 1) 使用 Preview 和 Capture 分别设置预览参数和正式采图参数。
- 2) 更换标本时应先将物镜降到最低位位置。聚焦时注意标本和物镜间的距离（可参考显微镜前方小显示屏中物镜 Z 轴位置读数），避免物镜升得过高损坏标本和物镜。
- 3) 标本应离载玻片 2 端 1 厘米，如标本不符合标准应向学生指出并拒绝实验，待学生改正后再进行实验。观察载玻片边缘的标本时，要注意物镜和样品架之间的距离，避免损伤物镜和样品架。
- 4) 实验结束后，应将光路切换到 GFP 观察位置、将物镜降到最低位置、将电动载物台复位。
- 5) 清洁所有物镜，除了 10X 和 20X 物镜外，收纳其它物镜。

关机步骤：与开机步骤相反。

关闭 488 激光器：关钥匙→等 488 激光器冷却，风扇停止转动→关 488 激光器电源开关

3. Nikon NiE-A1 plus 探头式在体正置共聚焦显微镜（A0438）

开机步骤：开汞灯（开明场灯）→开电脑→开电动载物台电源→开显微镜→开 E-box →开激光器→开软件

注意事项：

- 1) 使用 Preview 和 Capture 分别设置预览参数和正式采图参数。
- 2) 更换标本时，先将物镜轻轻抬起来，放置好标本后，再将物镜轻轻放下来。使用高倍（40x/60x）油镜聚焦时注意不要调焦过猛，避免损坏标本和物镜。
- 3) 实验结束后，将电动载物台复位。
- 4) 实验结束后清洁所有物镜并收纳。

关机步骤：与开机步骤相反。

4. Olympus FV-1000 倒置共聚焦显微镜（A0438）

开机步骤：开汞灯→开电脑→开 E-box→开电动载物台电源→开显微镜→开激光器→开软件

405 激光器开启：先将 405 激光器电源开关“ON”→打开钥匙

488 激光器开启：先将 488 激光器电源开关“ON”→打开钥匙

543/633 激光器开启：打开 543/633 激光器电源钥匙

注意事项：

- 1) 做活细胞实验时，提前开启加热台预热。
- 2) 更换标本时应先将物镜降到最低位位置。聚焦时注意标本和物镜间的距离（可参考显微镜前方小显示屏中物镜 Z 轴位置读数），避免物镜升得过高损坏标本和物镜。
- 3) 标本应离载玻片 2 端 1 厘米，如标本不符合标准应向学生指出并拒绝实验，待学生改正后再进行实验。观察载玻片边缘的标本时，要注意物镜和样品架之间的距离，避免损伤物镜和样品架。
- 4) 固定标本成像时，应将 ZDC 置于“OUT”位置。
- 5) 活细胞成像实验结束后，及时关闭气体阀门。若发现漏气或气阀失灵，应停止实验，立即检查并修复。
- 6) 实验结束后，切换到 GFP 荧光观察模式，物镜降到 Z 轴最低点，将电动平台复位。

关机步骤：与开机步骤相反。

关闭 488 激光器：关钥匙→等 488 激光器冷却，风扇停止转动→关 488 激光器电源开关

关闭 543/633 激光器：关 543/633 激光器电源钥匙

关闭 405 激光器：关钥匙→关 405 激光器电源开关

5. Olympus FV1000 正置共聚焦显微镜 (A0438)

开机步骤：开汞灯→开电脑→开 E-box→开显微镜电源→开激光器→开软件

注意事项：

- 1) 做活细胞实验时，提前开启加热台预热。
- 2) 不要将载物台一直往一个方向偏移，当载物台位置过偏时，及时将载物台复位。
- 3) 更换标本时，先将物镜升到 Z 轴最高点，放置好标本后，再将物镜慢慢降下聚焦、找到焦平面。聚焦时注意不要调焦过猛，避免损坏标本和物镜。
- 4) 活细胞成像实验结束后，及时关闭气体阀门。若发现漏气或气阀失灵，应停止实验，立即检查并修复。
- 5) 实验结束后，观察滤片切换到位置 6，关闭荧光 shutter，物镜升到 Z 轴最高点，将载物台复位。

关机步骤：与开机步骤相反。

6. OLYMPUS VS120 高通量荧光成像系统 (A0436)

开机步骤：开汞灯→开电脑→开载物台电源→开显微镜电源→开 CCD→开软件

注意事项：

- 1) 等汞灯预热好后，再开软件。
- 2) 不要长时间在荧光灯下观察标本，在没有进行图像采集和不观察标本时，及时关闭荧光 shutter，以免不必要的荧光照射标本，以防标本漂白。
- 3) 实验结束后，将观察/采图切换拉杆切换到观察模式，将电动载物台复位。

关机步骤：与开机步骤相反。

7. Bruker 活体双光子显微镜 (A0438)

开机步骤：开接线板总电源→开设备总电源→开四个接线板电源→开双光子激光器→开汞灯→开 Conoptics Model→开电脑→开双光子激光器软件→开 PMT control→开软件

开双光子激光器：开双光子激光器→开电脑→开双光子激光器软件→打开双光子激光器的 shutter→设置学生使用的双光子波长→设置最佳光补偿参数

注意事项：

- 1) 实验开始前，检查 Galvo position centered 光斑是否居中。
- 2) 观察标本：（重要：先确认 PMT 放在 0，以免强光照射到 PMT 上造成损坏。）
打开外罩的门→推入杆子→切换滤片→汞灯光强打开 1 格→打开汞灯 shutter→观察标本
- 3) 采图：
关闭汞灯 shutter→滤片切换到 1 →拉出杆子→关上外罩的门→汞灯光强关到最小→采图

4) 实验结束后, 将 PMT HV 设置在 0、Laser power 设置在 0, 其他参数 reset 到初始状态, 将显微镜滤光块位置拨到位置 4、将显微镜光路切换至“观察”, 以免外部强光损坏 PMT。

关双光子激光器: 把波长设置成 800nm→关双光子激光器的 shutter →关闭双光子激光器软件→关闭双光子激光器 (钥匙转到 Standby 状态)。

关机步骤: 与开机步骤相反。

8. NIKON Ti-A1R 共聚焦显微镜 (A0119)

开机步骤: 开汞灯 (开明场灯) →开 E-box →开电脑→开 shutter 控制器→开显微镜→开电动载物台电源→开 E-box →开激光器→开软件

488 激光器开启: 打开接线板电源→打开外接电源→打开外接电源钥匙→将 488 激光器电源开到“ON”→打开钥匙

注意事项:

- 1) 使用 Preview 和 Capture 分别设置预览参数和正式采图参数。
- 2) 更换标本时应先将物镜降到最低位位置。聚焦时注意标本和物镜间的距离 (可参考显微镜前方小显示屏中物镜 Z 轴位置读数), 避免物镜升得过高损坏标本和物镜。
- 3) 标本应离载玻片 2 端 1 厘米, 如标本不符合标准应向学生指出并拒绝实验, 待学生改正后再进行实验。观察载玻片边缘的标本时, 要注意物镜和样品架之间的距离, 避免损伤物镜和样品架。
- 4) 实验结束后, 应将光路切换到 GFP 观察位置、将物镜降到最低位置、将电动载物台复位。
- 5) 清洁所有物镜, 除了 10X 物镜外, 收纳其它物镜。

关机步骤: 与开机步骤相反。

488 激光器关闭: 关钥匙→将 488 激光器电源设置到“OFF”→等风扇停→关外接电源钥匙→关外接电源→关接线板电源

9. NIKON Fn1-A1R 共聚焦显微镜 (A0119)

开机步骤: 开汞灯 (开明场灯) →开 E-box →开电脑→开 Z 轴远程控制器→开激光器 (先打开 440nm 激光控制器, 再打开 440nm 激光器电源) →开软件

注意事项:

- 1) 使用 Preview 和 Capture 分别设置预览参数和正式采图参数。
- 2) 更换标本时, 先将物镜轻轻抬起来, 放置好标本后, 再将物镜轻轻放下来, 注意不要调焦过猛, 避免损坏标本和物镜。
- 3) 实验结束后, 将载物台复位。
- 4) 实验结束后清洁所有物镜并收纳。
- 5) 每月更换一次聚光器上用于防水的保鲜膜。

关机步骤: 与开机步骤相反。

10. Prairie 活体双光子显微镜 (A0119)

开机步骤: 开接线板电源→开分压器→开电源控制器→开检流式光学扫描控制器(2台)→开 device control (带风扇)→开 PMT control→开 device control→开汞灯→开 BIAS VOLTAGE →开光检测器→开电脑→开软件

开双光子激光器: 开电脑→开 maitai 软件, 设置 “COM3” →长按 “ON” , warm up 到 100% →打开 “Info” 和 “Setup” →打开 “ON” , 激光器锁模并能量稳定后, 设置学生使用的双光子波长→开 DeepSee 软件, 设置为 “4” , 设置最佳光补偿参数→开双光子激光器的 “shutter” →调节 bias voltage , 使光检测器上的数值达到最小。(过一段时间后, 光检测器的上的数值会变化, 要及时调节 bias voltage)

注意事项:

- 1) 实验结束后, 将 Master 8 刺激器的所有通道的电流关到最小后再关闭 Master 8 刺激器和刺激隔离器。
- 2) 经常观察激光器的状态: 是否锁模, 能量是否稳定, 激光器的温度和湿度等。
- 3) 观察标本: (重要: 先确认 PMT 放在 0 , 以免强光照射到 PMT 上造成损坏。) 打开外罩的门→推入杆子→切换滤片→汞灯光强打开 1 格→打开汞灯 shutter→观察标本
- 4) 采图: 关闭汞灯 shutter→滤片切换到 1 →拉出杆子→关上外罩的门→汞灯光强关到最小→采图
- 5) 其他设备不使用双光子激光器时, 要把遮光盒挡在其光路上, 以防激光长时间照射分光镜造成损坏。
- 6) 实验结束后, 将 PMT Gain 设置在 0、将显微镜滤光块位置拨到位置 5、将显微镜光路切换至 “观察”, 以免外部强光损坏 PMT 。

关双光子激光器: 关激光器的 shutter→把波长设置成 “800nm” →选择 “OFF” 关闭激光器→关闭 Maitai 和 DeepSee 的软件→关电脑。

关机步骤: 与开机步骤相反。

11. NIKON Ti 活细胞工作站 (A0107)

开机步骤: 开电脑 (启动完毕后) →开接线板电源→开单色仪 (或开汞灯) →开明场灯→开显微镜→开 shutter 控制器→开 CCD 风扇→开 CCD →开软件

注意事项:

- 1) 更换单色仪光纤和汞灯的光纤时, 动作要轻。
- 2) 每月彻底清洗一次灌流系统。
- 3) 对于需要灌流的实验, 在物镜上加一层保鲜膜防止液体溢出到设备上。

关机步骤: 与开机步骤相反。

12. Olympus FV10i 台式共聚焦显微镜（水式）（A0119）

开机步骤：开电脑→开 E-box→开显微镜电源→机器预热，指示灯闪光→机器预热完毕，指示灯停止闪光→开软件

注意事项：

- 1) 将细胞培养皿放置在样品架上，注意用弹片固定、放平。
- 2) 打开台式机机箱盖子，盖子开启时注意用手防护，防止盖子弹起速度过快。
- 3) 将水槽加入超纯水后装入仪器内，放入通气管，调节好通气量（气瓶压力设置为 5kpa，压力调节旋钮旋到最小）。
- 4) 将样品架放置到显微镜机箱内的载物台上，放标本架和放细胞盒盖时一定要确认放到位。
- 5) 双手分别置于机箱盖左右两端，用力轻缓盖好机箱盖。
- 6) 打开采图软件，驱动电动载物台自动获取 10x 物镜下样品焦平面，采集预览的 map 时，应选择最重要的 2 个通道来采集。
- 7) 选择 60x 水镜，给物镜加水前先排除气泡。
- 8) 自由选点，调节每个荧光通道和明场通道的采图参数，Z-stack 参数。
- 9) 依据设定的参数自动进行长时间、多点位置、4 色荧光及相差图像采集。
- 10) 关闭气体阀门，将水槽取出后把水倒干净，清洁样品架后收纳、清洁所有物镜、清洁载物台。

关机步骤：与开机步骤相反。

13. Olympus FV10i 台式共聚焦显微镜（油式）（A0119）

开机步骤：开 E-box→开显微镜电源（电源键按一下）→机器预热，指示灯闪光→机器预热完毕，指示灯停止闪光→开软件

注意事项：

- 1) 将标本盖玻片朝下放置在样品架上，要采集的标本部位对齐样品架上的 1、2、3、4、5 位置标记。标本载玻片注意用弹片固定、放平。
- 2) 打开台式机机箱盖子时注意用手防护，防止盖子弹起速度过快。
- 3) 将样品架放置到显微镜机箱内的载物台上，注意方向正确。
- 4) 盖机箱时，注意用双手分别置于机箱盖左右两端，用力轻缓盖好机箱盖。
- 5) 打开采图软件，选择需要的荧光通道，驱动电动载物台自动获取 10x 物镜下样品焦平面，取得标本全景图。
- 6) 选择 60x 油镜，油镜会自动移到加油孔，将镜油排除空气后滴到加油孔。确认加油后 60x 油镜自动移到标本下。
- 7) 自由选点，调节每个荧光通道和明场通道的采图参数，Z-stack 参数。
- 8) 依据设定的参数自动进行长时间、多点位置、4 色荧光及相差图像采集。
- 9) 因台式共聚焦显微镜是自动获取样品焦平面，要求样品制备要标准片。盖玻片的厚度不能过厚，标本要放置在载玻片的中央位置。当找不到焦平面时，要检查盖玻片表面是否清洁、盖玻片厚度是否合适，是否使用了过多的封片剂，使用油镜时滴的镜油里是否有气泡，标本载玻片是否用弹片固定平整。

10) 清洁样品架后收纳、清洁所有物镜、清洁载物台。

关机步骤：与开机步骤相反。

14. LOTOS 双光子显微镜（神经系统楼 329）

开机步骤：开控制器→开 pockels cell 控制器→开 PMT 控制器→开 stage 控制器电源→开 stage 控制器→开 X、Y 方向控制器电源→开 Z 方向控制器电源→开 LED 灯电源→开双光子激光器→开电脑→开软件

开双光子激光器：开电脑，关 360 安全卫士→开 maitai 软件，设置“COM3”→长按“ON”，warm up 到 100% →打开“Info”和“Setup”→选择“green power”模式，能量先设置为“8.5”，等激光器能量稳定到“8.5”之后，逐步加到“14.7”，激光机锁模并能能量稳定后，设置学生使用的双光子波长→切换回“IR power”模式→开 DeepSee 软件，设置为“4”，设置最佳光补偿参数→开双光子激光器的“shutter”→调节 bias voltage，使光检测器上的数值达到最小。（过一段时间后，光检测器的上的数值会变化，要及时调节 bias voltage）

注意事项：

- 1) 经常观察激光器的状态：是否锁模，能量是否稳定，激光器的温度和湿度等。
- 2) 观察标本：（重要：先确认 PMT 放在 0，以免强光照射到 PMT 上造成损坏。）
打开外罩的帘子→推入 shutter→推入右方杆子（目镜观测样本）→推入前方杆子（切换到 LED 灯）→打开 LED 灯→观察标本
- 3) 采图：
关闭 LED 灯→拉出前方杆子（切换到双光子）→拉出右方杆子（切换到采图）→拉出 shutter→关上外罩的帘子→采图
- 4) 其他设备不使用双光子激光器时，要把遮光盒挡在其光路上，以防激光长时间照射分光镜造成损坏。
- 5) 实验结束后，将 PMT Gain 设置在 0、将显微镜光路切换至“观察”，以免外部强光损坏 PMT。

关机步骤：与开机步骤相反。

光学成像实验注意事项

- 1) 显微镜属于高精密的科学仪器，所处环境应保持洁净、干燥、稳定。严禁在显微镜室中吃东西、喝饮料。成像实验室的温度需常年保持在 18℃ 左右，请勿私自更改空调的温度。进出光学成像实验室请注意关门，保证室内温度稳定。
- 2) 用于显微镜观察的标本应放置在载玻片的中央部位，盖玻片应该朝向物镜。如果使用的是油（水）镜，确定在物镜和盖玻片之间有足够的油（水），并且没有气泡。
- 3) 固定标本需要等封片剂干了、用棉签沾无水乙醇擦干玻片表面的水汽后才能进行成像实验。活细胞标本需将培养皿底部的盖玻片用无水乙醇擦干后才能进行成像实验。
- 4) 固定标本应放置在片盒或者其它避光盒中，活细胞应放在培养箱中。标本和实验器材应放置在实验桌上，不得放在仪器设备（如：E-box、激光器、载物台上等）上。
- 5) 禁止戴手套操作仪器设备。
- 6) 使用恒温加热台时，打开盖子和合上盖子时要注意不要朝一个方向缠绕电线，通气时要注意水槽中的水不能溢出。
- 7) 移动任何光学部件时动作要轻柔、不能用蛮力。实验时身体不得依靠在仪器上。
- 8) 聚焦时要注意镜头和标本间的距离，防止压坏标本和损坏物镜！取放样品之前，倒置显微镜务必降下物镜，正置显微镜务必升上物镜。
- 9) 如在实验室需要使用自带设备（如：微操纵器、电刺激器等）或显微镜的通讯接口，请提前告知工作人员，并按工作人员的安排将自带设备放置于固定位置且使用指定的电源接口。未经允许不得使用显微镜通讯接口和实验室的电源接口。电生理实验后的玻璃电极请自己带走，不可丢在实验室垃圾桶里。
- 10) 移动 XY 电动平台时，要小心避开控制器前方的 CCD 电源线。手不能靠在电动载物台上，以免损坏电动平台。
- 11) 不要将实验溶液溢出在仪器设备上，如有不慎溢出的情况，请马上报告工作人员。
- 12) 使用灌流系统时，溶液要用 0.2 μ m 孔径的过滤器过滤。如溶液含脂溶性或者剧毒的化合物，请提前告知工作人员。
- 13) 使用 CCD 进行图像采集的时候，应将光路切换到 CCD；不进行图像采集时，不要将光路切换至 CCD，以免强光长时间照射 CCD，使 CCD 灵敏度降低。当荧光信号很强时，调低曝光时间，以防损坏 CCD。
- 14) 不要直视激光光束（尤其是双光子激光）和正在扫描的样品，以免损伤眼睛。

- 15) 无关人员请不要私自进入实验室。激光器的打开和关闭、物镜的安装和更换、室内通风及温度控制等必须由本实验室工作人员进行。
- 16) 实验者的手机、电脑等自带电子设备禁止插用本实验室的电源插座。

Nikon Ti A1 和 A1R 倒置共聚焦显微镜（特别注意事项）：

- 1) 观察标本、聚焦时应注意物镜和标本以及标本夹之间的距离，以免物镜压坏标本和标本夹。严禁使用不规范制作的标本（如：标本排列过密、标本距载玻片两端的距离过近）做实验。

Nikon FN1 -A1R 正置共聚焦显微镜（特别注意事项）：

- 1) 观察标本、聚焦时需要注意：用白色金属圈（粗调节）聚焦，或者用远程控制器（细调节）聚焦，不要旋转黑色聚焦旋钮。

正确操作：用白色金属圈（粗调节）聚焦，或者用远程控制器（细调节）聚焦



错误操作：此黑色圈聚焦已锁住，强行旋动会造成仪器损坏



- 2) 注意载物台的位置：使用一段时间后要将载物台移回中央位置，不要沿一个方向移动载物台、以防超过平台的最大移动距离、损坏载物台。

Prairie 活体双光子显微镜（特别注意事项）：

- 1) 注意载物台的位置：使用一段时间后将载物台移回中央位置，不要沿一个方向移动载物台、以防超过平台的最大移动距离、损坏载物台。
- 2) 实验中如果需要改变双光子激光的波长，请通知工作人员，切勿自己操作。
- 3) 不采图时，将 PMT Gain 设置在 0、将显微镜滤光块位置拨到位置 5、将显微镜光路切换至“观察”，以免外部强光损坏 PMT。
- 4) 如需使用显微镜的 Targ in 、line out 和 frame out 等信号，请提前告知工作人员。连接信号线时需专心，切勿连错信号线、损坏设备。

Nikon Ti 活细胞工作站（特别注意事项）：

- 1) 观察标本：先将显微镜切换至 EYE 状态，再打开光源的 shutter 观察标本。



- 2) 采图：先关闭光源的 shutter，再切换至 L100（CCD）采图。



Olympus FV10i 台式共聚焦显微镜（特别注意事项）：

- 1) 开仓门时，一个手摀住开仓的开关，另一个手挡住抬起的盖子，慢慢打开：



- 2) 关仓门时，双手同时向下关闭仓门：



- 3) 放标本架和放细胞盒盖时一定要确认放到位（放好后，左右轻轻推一下，确认放到位），否则会损坏设备！
- 4) 采集预览的 map 时，应选择最重要的 2 个通道来采集。

光学成像实验要点

1) 使用面积较小的盖玻片制作标本时, 应使用 ProLong® Diamond Antifade Mountant 等凝固型封片剂封片。使用凝固型封片剂可以避免标本移动。

- a. Add 1 drop of ProLong® Diamond Antifade Mountant onto glass slide.
- b. Remove excess liquid from coverslip.
- c. Place coverslip sample-side down onto ProLong® Diamond Antifade Mountant on the glass slide.
- d. Cure for 24 hours at room temperature in the dark.
- e. Clean coverslip and image cells.

2) 应尽量使用平场复消色差 (Plan-APO) 物镜来采集图像。使用平场复消色差 (Plan-APO) 物镜可以获得较平整的和色差较小的图像。

3) 在采集荧光图像时尽量不要同时采集 DIC 图像以免降低图像分辨率和影响图像亮度。

4) 在进行荧光亮度定量分析实验时, 所有的采图参数 (光路设置、激光强度、PMT 增益、PMT Offset、平均次数、Zoom、Pinhole 等) 都必须保持一致, 建议使用阳性标本 (荧光亮度最亮的标本) 来设置参数, 避免荧光亮度过饱和。应尽量预订足够长时间的实验时间, 在一次实验中完成所有荧光定量分析标本的成像。

5) 在共聚焦采图时, 如无特殊原因 Pinhole 应该设置在 1 Airy Unit 位置, PMT Offset 应该设置在 0 位置, PMT Gain 分别设置在 50-150 (for NIKON Ti-A1R、NIKON FN1-A1R)、600-800 (for Olympus FV-1000)、40-60% (for Olympus FV-10i)、600-700 (for Zeiss LSM 510)。

6) 在共聚焦活标本采图时, 可以根据实验需要适当增大 Pinhole、降低激光强度、增加 PMT Gain、降低采图分辨率、增加采图速度以减小激光对细胞活性的影响。

7) 在使用 Prairie Two-photon 显微镜双光子采图时, PMT Gain 应该设置在 600-800, PMT Offset 设置在 1.17 左右, 并使用 HiLo Lookup Table 检查图像亮度, 避免背景过低或图像过饱和。

8) 在活细胞成像时 应尽量使用 水镜, 避免球差引起的分辨率变差、结构变形 (拉长或缩短)。

9) 在多标记标本荧光成像时, 要使用序列扫描来减少串色。串色只能尽量减少不可能完全避免, 所以还必须使用单荧光标记标本作为对照来检查是否串色, 并用软件来进行串色校正。

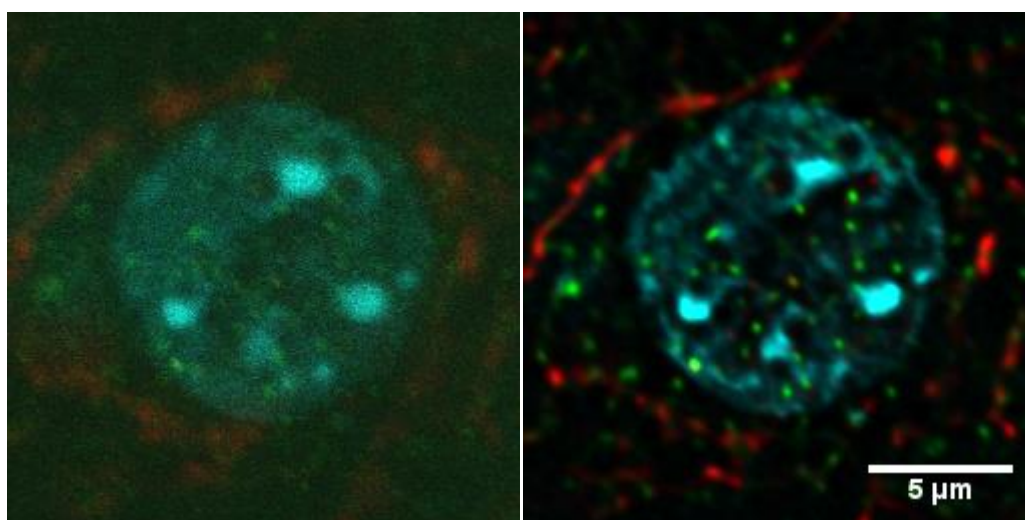
10) 不要用 Live-scan 长时间扫描标本、也不要长时间在荧光灯下观察标本, 以防标本漂白。

11) 设置参数要 1 个通道 1 个通道设置, NIKON 共聚焦显微镜应使用 Preview 和 Capture 分别设置预览参数和正式采图参数。采集预览图像时应使用低分辨率扫描, 不要使用高分辨率扫描或平均。

12) 在多荧光标记标本成像时(尤其是使用 Plan-APO 60x 高数值孔径物镜高分辨成像时), 必须使用多色荧光小球标本为对照来检查色差引起的图像在 XYZ 方向上的偏移。色差只能尽量避免(如: 使用 Plan-APO 物镜、使用 波长比较接近的 488 nm 和 561 nm 激光来采图等)不可能完全避免。色差一般为 几十—几百 纳米(视不同的显微镜构架、物镜类型、激发光波长的不同而不同), 高分辨率成像实验的图像必须使用软件来进行色差校正。

13) 高分辨率图像采集和活细胞图像采集的图像(包括 Z-stack、Time-series、Two-photon image), 可以使用反卷积软件来进一步提高分辨率或降低噪声(提高信噪比)。反卷积的效果与原始图像的采图分辨率密切相关, 一般采图分辨率需要达到物镜极限分辨率的 1/3-1/4。

图像的分辨率和信噪比对荧光共定位分析至关重要。荧光共定位分析实验必须使用高数值孔径物镜成像。图像必须经过反卷积、色差校正、串色校正等处理。需要做反卷积处理的同学请找胡谦老师讨论实验和确定采图参数。



左图为原始图像(此标本荧光标记比较弱, 无法获得高信噪比的图像), 右图为经过反卷积和色差校正后的图像, 使用 OLYMPUS FV-1000 PLAPON 60xOil NA. 1.42 物镜, 采图分辨率 $xy=0.069 \mu\text{m}/\text{pixel}$, $z=0.25 \mu\text{m}/\text{pixel}$

14) 所有光学成像实验都必须设计和完成**正对照实验**和**负对照实验**来保证光学成像实验结果的正确性和准确性。http://en.wikipedia.org/wiki/Scientific_control

Positive controls are groups where a phenomenon is expected. That is, they ensure that there is an effect when there should be an effect, by using an experimental treatment that is already known to produce that effect (and then comparing this to the treatment that is being investigated in the experiment).

Negative controls are groups where no phenomenon is expected. They ensure that there is no effect when there should be no effect. To continue with the example of drug testing, a negative control is a group that has not been administered the drug of interest. This group receives either no preparation at all or a sham preparation (that is, a placebo), either an excipient-only (also called vehicle-only) preparation or the proverbial "sugar pill." We would say that the control group should show a negative or null effect.

附：Fura-2 AM Loading Protocol

分 子 式: C₄₄H₄₇N₃O₂₄

分 子 量: 1001.85

外 观: 黄色或橙黄色粉末

Loading cells with Fura-2

General Information on Fura-2 AM ester:

Fura-2 is a high-affinity ($K_d = 220$ nM) Ca^{2+} dye.

AM ester = acetoxymethyl ester; The AM ester makes the dye membrane permeable because it caps hydrophilic carboxyl groups to form esters. Once the dye is taken up into cells, the esters are cleaved by intracellular esterases and the dye is trapped inside.

Excitation ratiometric imaging of Fura-2 is carried out by using 340/26 nm and 380/10 nm excitation filters, a 455 nm dichroic mirror (must have good reflectivity down to approximately 330 nm), and a 535/40 nm emission filter.

Fura-2 is light sensitive so store in lightproof manner (e.g., wrapped in tin-foil) at $-20^{\circ}C$.

Both Fura-2 and Pluronic F-127 can be obtained from Molecular Probes (Invitrogen).

Pluronic F-127 is used to help disperse/solubilize Fura-2.

Loading Cells:

1) Prepare individual Fura-2 and Pluronic F-127 solutions:

50 micrograms of Fura-2 dissolved in 50 microliters 100% DMSO to yield an approximately 1 millimolar solution.

Prepare a 20% Pluronic F-127 solution in 100% DMSO

Mix 4 microliters of Fura-2 with 2 microliters Pluronic F-127 in a 1.5 milliliter eppendorf tube. Mix well. You may need to vary the ratio of Fura-2/Pluronic!

Add 1 mL HBSS to yield a 4 micromolar Fura-2, 0.04% Pluronic solution.

After use, Fura-2 can be stored at -20°C . Pluronic should be stored at room temperature.

2) Remove cells from incubator, wash 2 times with 2 milliliters HBSS (1x Hanks Balanced Salts + 20 millimolar HEPES + 2 g/L D-glucose, pH 7.4).

3) Add the 1mL Fura-2, Pluronic and HBSS to the dish. Let cells sit in the dark at room temperature for 30 min. Do not load Fura-2 at 37°C ; this has a tendency to load internal compartments.

4) After 30 min remove Fura-2 solution. Rinse with 2 milliliters HBSS then add 1 milliliter HBSS to cells and let sit in the dark at room temperature for 15 min. This time is meant to allow for cleavage of the AM ester, trapping the Fura-2 inside the cell.

5) After 15 min replace media with 1 mL fresh HBSS.

Calibration of Fura-2 inside cells:

Treat cells with 8 micromolar ionomycin and 10 millimolar EGTA in Ca^{2+} -free HBSS to obtain minimum ratio (Rmin).

After obtaining Rmin, treat with 2-8 micromolar ionomycin and 20 millimolar Ca^{2+} in HBSS to obtain maximum ratio (Rmax).

Use the standard equation to convert the Fura-2 340/380 ratio to cytosolic Ca^{2+} concentration, $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$, where Sf and Sb is the emission intensity at 380 nm for Ca^{2+} -free and Ca^{2+} -bound Fura-2, respectively:

$$[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}} = K_d * [(R - R_{\text{min}}) / (R_{\text{max}} - R)] * S_f / S_b$$

$$K_d = 220 \text{ nM}$$

附录：显微镜配置和参数

1. NIKON Ti-A1R 共聚焦显微镜 (A0119)

仪器主要用途： 固定标本和活细胞标本荧光成像、3D 多标记荧光成像、活细胞长时间成像、FRET (CFP/YFP) 实验、FRAP 实验、TIRF 实验、光谱拆分实验、大范围 3D 拼图实验、共振扫描高速成像（可在成像的同时进行光刺激、光漂白）等。

仪器配置：

(1) NIKON Ti-E 全自动倒置荧光显微镜，含完美聚焦系统、快速荧光快门、TIRF 照明、电动 XYZ 载物台、5% CO₂ 细胞孵育系统。

(2) 5 个显微镜荧光滤块：

DAPI (Ex. 330-385, Em. 420, DM 400)

ECFP (Ex. 425-445HQ, Em. 460-510HQ, DM 450)

EGFP (Ex. 460-480HQ, Em. 495-540HQ, DM 485)

EYFP (Ex. 490-500HQ, Em. 515-560HQ, DM 505)

RFP (Ex. 535-555HQ, Em. 570-625HQ, DM 565)

(3) 6 个物镜：

Plan Apo 10x DIC N1 NA 0.45 WD 4.0

Plan Apo VC 20x DIC N2 NA 0.75 WD 1.0

Plan Apo 40x DIC M/N2 NA 0.95 WD 0.14

S Fluor 40xOil DIC H/N2 NA 1.3 WD 0.22

Plan Apo VC 60xOil DIC N2 NA 1.4 WD 0.13

Plan Apo VC 60xWater DIC N2 NA 1.2 WD 0.31-0.28

(4) 4 个激光器：405 nm、457/488/514 nm、561nm、638 nm。

(5) 2 个激光扫描装置：检流计镜面扫描和高速振镜扫描。

(6) 4 个光检测器：2 PMT 高灵敏荧光检测器、2 PMT 荧光检测器、透射光检测器、32PMT 光谱检测器。

(7) 数字信号输入输出：提供同步触发信号输入和输出端口。

(8) ANDOR DU-897E EM CCD

2. NIKON Fn1-A1R 共聚焦显微镜 (A0119)

仪器主要用途： 固定标本、脑片、小动物（斑马鱼、果蝇）荧光成像、3D 多标记荧光成像、FRET (CFP/YFP) 实验、FRAP 实验、光谱拆分实验、共振扫描高速成像（可在成像的同时进行光刺激、光漂白）等。

仪器配置：

(1) FN1 正置荧光显微镜。

(2) 5 个显微镜荧光滤块：

DAPI (Ex. 330-385, Em. 420, DM 400)

ECFP (Ex. 425-445HQ, Em. 460-510HQ, DM 450)

EGFP (Ex. 460-480HQ, Em. 495-540HQ, DM 485)

EYFP (Ex. 490-500HQ, Em. 515-560HQ, DM 505)

RFP (Ex. 535-555HQ, Em. 570-625HQ, DM 565)

(3) 9 个物镜:

Plan Apo VC 20x DIC N2 NA 0.75 WD 1.0

Plan Apo 40x DIC M/N2 NA 0.95 WD 0.14

Plan Apo VC 60xOil DIC N2 NA 1.4 WD 0.13

Plan Fluor 10xWater DIC N1 NA 0.3 WD 3.5

NIR Apo 40xWater DIC N2 NA 0.8 WD 3.5

NIR Apo 60xWater DIC N2 NA 1.0 WD 2.8

Plan 100xWater DIC N2 NA 1.1 WD 2.5

CFI75 LWD 16xWater DIC N2 NA 0.8 WD 3.0 (物镜在 4 楼, DIC 滤片在 A103)

CFI75 Apo LWD 25xWater DIC N2 NA 1.1 WD 2.0

(4) 5 个激光器: 405 nm、457/488/514 nm、561nm、638 nm、440 nm。

(5) 2 个激光扫描装置: 检流计镜面扫描和高速振镜扫描。

(6) 3 个光检测器: 4 PMT 荧光检测器、透射光检测器、32PMT 光谱检测器。

(7) 数字信号输入输出: 提供同步触发信号输入和输出端口。

(8) HAMAMATSU C2400-79H IR CCD

3. Prairie 活体双光子显微镜 (A0119)

仪器主要用途: 活体动物双光子成像、3D 多标记标本双光子成像 (最多 2 个通道)、双光子 FRET (CFP/YFP) 实验、双光子漂白、损毁实验、基于 AOD 的高速成像 (分辨率较差, 可在成像的同时进行光刺激、光漂白) 等。

仪器配置:

(1) Olympus BX-61/51 WI 显微镜, 配有电动 XYZ 载物台和 2 个荧光滤块:

ET-GFP (FITC/CY2)、ET-DsRed (TRITC/CY3)。

(2) 3 个物镜:

Plan Fluor 10xWater DIC N1 NA 0.3 WD 3.5

UPlanSApo 10x NA 0.4 FN 26.5

LCPlan Fl 20x NA 0.4 (Old)

(3) 2 个双光子成像荧光滤块: GFP/DsRed (DM 575, BA 525/70 nm, BA 607/45 nm), CFP/YFP (DM 515 nm, BA 485/50 nm, BA 540/40 nm)。

(4) 3 个激光扫描装置: 高精度检流计扫描镜面、基于 AOD 的高速扫描、独立的光刺激扫描镜面。

(5) TriggerSync 软件, 可在成像的同时进行多点漂白、解笼锁、和触发外部电生理设备等。

(6) 数字信号输入输出: 提供同步触发信号输入和输出端口。

(7) 2 个 MaiTai DeepSee Ti:Sapphire 近红外高速脉冲激光器, 具有脉宽预补偿功能, 波长可调范围: 690 nm-1020 nm。用于双光子成像和刺激。

4. NIKON Ti-E 活细胞工作站 (A0107)

仪器主要用途： 培养细胞的结构和功能研究、活细胞长时间成像、离子成像、TIRF 实验等。

仪器配置：

(1) NIKON Ti-E 全自动倒置荧光显微镜，含完美聚焦系统、快速荧光快门、基于汞灯的 TIRF 照明、电动 XYZ 载物台、5% CO₂ 细胞孵育系统。

(2) 5 个荧光滤块：

Fura2 (Ex. 330-385, Em. 470-550, DM 400)

FITC (Ex. 465-495HQ, Em. 515-555, DM 505)

G-2A (Ex. 510-560HQ, Em. BA590, DM 575)。

ECFP (Ex. 420-445HQ, Em. 460-510, DM 450)

EYFP (Ex. 490-500HQ, Em. 520-560, DM 510)

(3) 9 个物镜：

Plan Fluor 10x Ph1 DL NA 0.30 WD 15.2

S Fluor 20x NA 0.75 WD 1.0

Plan Fluor ELWD 20x ph1 ADL NA 0.45 WD 7.4

S Fluor 40xOil DIC H/N2 NA 1.3 WD 0.22

Plan Apo 60xOil Ph3 DM N.A. 1.4 WD 0.13

Plan Apo 60xWater DIC H NA 1.2 WD 0.22

Apo TIRF 60xOil DIC N2 NA 1.49 WD 0.12

Apo TIRF 100xOil DIC N2 NA 1.49 WD 0.12

S Fluor 100xOil Iris N.A. 0.5-1.3 WD 0.2

(4) 其他：CCD: Roper Cascade 512B EMCCD, Till Polychrome IV 单色仪, MetaMorph and MetaFluor 成像软件。

CCD 分辨率 (um/pixl)

物镜	ZOOM 1.0	ZOOM 1.5
Plan Fluor 10x Ph1 DL N.A. 0.30	1.623377	1.082251
S Fluor 20x N.A. 0.75		
S Fluor 40x DIC H/N2 Oil N.A. 1.3	0.399464	0.267387
Plan Apo 60x Ph3 DM Oil N.A. 1.4	0.269770	0.179837
Plan Apo 60xA Water N.A. 1.2		
Apo TIRF 60x DIC Oil N.A. 1.49	0.266917	0.178581
Apo TIRF 100x Oil N.A. 1.49	0.160256	0.107296
S Fluor 100x Oil Iris N.A. 0.5-1.3		

5. Olympus FV-10i 台式共聚焦显微镜 (水式) (A0119)

仪器主要用途： 活细胞和固定标本荧光成像、可以同时采集 4 种颜色荧光图像和 1 张明视野相差图像，采图模式：XYT、XYZ、XYZT、多位置 XYT、多位置 XYZT。

仪器配置：

- (1) 由计算机和暗箱式共聚焦显微镜组成：含电动 XYZ 载物台、2 个物镜、4 个激光器等部件。
- (2) 4 个激光器：405 nm、473 nm、559 nm、635 nm。
- (3) 3 个光检测器：2 PMT 荧光检测器，1 个透射光检测器
- (4) 物镜：Plan APO 10x Ph NA 0.4 和 Plan APO 60xWater Ph NA 1.2（有自动加水和清洁装置）。
- (5) 温控和 CO₂ 控制：温度控制 37±1° C，湿度大于 90%，CO₂ 控制 5%。
- (6) 含聚焦稳定装置：硬件自动识别培养皿玻底和溶液的界面，可长时间（> 72 小时）稳定聚焦平面。

6. Nikon A1 倒置共聚焦显微镜（A0434）

仪器主要用途： 固定标本荧光成像，3D 多标记荧光成像，大范围 3D 拼图等。

仪器配置：

- (1) NIKON Ti-E 全自动倒置荧光显微镜，配有电动 XYZ 载物台。
- (2) 3 个显微镜荧光滤块：
DAPI (Ex. 330–385, Em. 420, DM 400)
EGFP (Ex. 460–480HQ, Em. 495–540HQ, DM 485)
RFP (Ex. 535–555HQ, Em. 570–625HQ, DM 565)
- (3) 4 个物镜：
Plan Apo 10x DIC N1 NA 0.45 WD 4.0
Plan Apo VC 20x DIC N2 NA 0.75 WD 1.0
S Fluor 40xOil DIC H/N2 NA 1.3 WD 0.22
Plan Apo VC 60xOil DIC N2 NA 1.4 WD 0.13
- (4) 4 个激光器：405 nm、457/488/514 nm、561nm、633 nm。
- (5) 2 个光检测器：4 PMT 荧光检测器、透射光检测器。

7. Olympus FV1000 倒置共聚焦显微镜（A0438）

仪器主要用途： 固定标本和活细胞荧光成像、3D/4D 多标记荧光成像、大范围 3D 拼图（最多 3 个通道）。

仪器配置：

- (1) Olympus FV1000 倒置荧光显微镜，配有电动 XYZ 载物台、载物台活细胞孵育系统。
- (2) 4 个显微镜荧光滤块：
DAPI (Ex. 330–385, Em. 420, DM 400)
EGFP (Ex. 470–495, Em. 510–550, DM 485)
RFP (Ex. 530–550, Em. 575IF, DM 565)
CY5 (Ex. 620/60HQ, Em. 700/75HQ, DM 660)
- (3) 6 个物镜：

UPLSAPO 10x NA0.45

UPLSAPO 20x DIC NA0.75

UPLFLN 40xOil DIC NA 1.3

PLAPON 60xOil DIC NA 1.42

LUCPLFLN 20X NA 0.45

UPLSAPO 100xOil NA 1.4

(4) 4 个激光器: 405 nm、488 nm、543nm、633 nm。

(5) 2 个光检测器: 3 PMT 荧光检测器、透射光检测器。

8. Olympus FV-10i 台式共聚焦显微镜 (油式) (A0119)

仪器主要用途: 固定标本荧光成像、可以同时采集 4 种颜色荧光图像和 1 张明视野相差图像, 采图模式: XYT、XYZ、XYZT、多位置 XYT、多位置 XYZT。

仪器配置:

(1) 由计算机和暗箱式共聚焦显微镜组成: 含电动 XYZ 载物台、2 个物镜、4 个激光器等部件。

(2) 4 个激光器: 405 nm、473 nm、559 nm、635 nm。

(3) 3 个光检测器: 2 PMT 荧光检测器, 1 个透射光检测器

(4) 物镜: Plan APO 10x Ph NA 0.4 和 Plan APO 60xOil Ph NA 1.35。

9. Nikon TiE-A1 plus 荧光寿命和荧光相关光谱倒置共聚焦显微镜 (A0438)

仪器主要用途: 固定标本荧光图像采集, 活细胞荧光图像采集。可以同时采集 4 个荧光通道和 1 个明场通道的图像, 可以进行 3D 采图、多位置采图、大范围 3D 拼图、XYZ-T 采图、光漂白实验、光刺激光漂白实验。可以进行 FLIM-FRET 实验、FCS 和 FCCS 实验。

仪器配置:

(1) Nikon TiE 全自动倒置荧光显微镜, 配有高精度电动 XY 载物台、显微镜 Z-轴控制, 物镜 z-轴控制、完美聚焦系统、载物台细胞培养系统。

(2) 5 个显微镜荧光滤块:

DAPI (Ex. 330-385, Em. 420, DM 400)

ECFP (Ex. 425-445HQ, Em. 460-510HQ, DM 450)

FITC (Ex. 460-480HQ, Em. 495-540HQ, DM 485)

EYFP (Ex. 490-500HQ, Em. 515-560HQ, DM 505)

TRITC (Ex. 535-555HQ, Em. 570-625HQ, DM 565)

(3) 9 个物镜:

Plan Apo 10x N.A. 0.45 W.D. 4.0

Plan Apo 20x N.A. 0.75 W.D. 1.0

Plan Fluor 40xOil N.A. 1.3 W.D. 0.20

Plan Apo 60xOil N.A. 1.4 W.D. 0.13

Apo LWD 40xWI N.A. 1.15 W.D. 0.60

Plan Apo 60xWI N.A. 1.27 W.D. 0.17

Plan Apo 60xA WI N.A. 1.20 W.D. 0.31-0.28

Apo TIRF 60xOil N.A. 1.49 W.D. 0.12

Apo TIRF 100xOil N.A. 1.49 W.D. 0.12

(4) 4 个激光器: 405nm、457/488/514 nm、561nm、640 nm。

(5) 2 个光检测器: 1 个 4 -PMT 荧光检测 (其中 2 个为 高灵敏的 GaAsP PMT), 1 个透射光检测。

(6) PicoQuant FLIM & FCS Upgrade Kit 部分: (i) PicoHarp 260, 用于时间分辨数据采集的电子部件 (TCSPC electronics for time-resolved data acquisition); (ii) 3 个皮秒脉冲二极管激光器 (LDH series lasers, 405 nm、440nm、488nm) 以及激光控制单元; (iii) 2 个雪崩式光子计数器 (photon counting detectors SPAD); (iv) SymPhoTime 数据采集和分析软件。

10. Nikon NiE-A1 plus 探头式在体正置共聚焦显微镜 (A0438)

仪器主要用途: 固定标本荧光图像采集、活细胞荧光图像采集, 可以同时采集 4 个荧光通道和 1 个明场通道的图像, 可以进行 3D 采图、多位置采图、大范围 3D 拼图、XYZ-T 采图、光漂白实验、光刺激光漂白实验。

仪器配置:

(1) Nikon NiE 全自动正置荧光显微镜, 配有高精度电动 XY 载物台, 显微镜 Z-轴控制, 物镜高速 z-轴控制。

(2) 5 个显微镜荧光滤块:

DAPI (Ex. 330-385, Em. 420, DM 400)

ECFP (Ex. 425-445HQ, Em. 460-510HQ, DM 450)

FITC (Ex. 460-480HQ, Em. 495-540HQ, DM 485)

EYFP (Ex. 490-500HQ, Em. 515-560HQ, DM 505)

TRITC (Ex. 535-555HQ, Em. 570-625HQ, DM 565)

(3) 18 个物镜:

Plan Apo 10x N.A. 0.45 W.D. 4.0

Plan Apo 20x N.A. 0.75 W.D. 1.0

Plan Apo 40x N.A. 0.95 W.D. 0.21

Plan Fluor 40xOil N.A. 1.3 W.D. 0.20

Apo 60xOil N.A. 1.4 W.D. 0.13

Plan Fluor 10xW N.A. 0.30 W.D. 3.5

Plan Fluor 20xW N.A. 0.50 W.D. 2.0

Apo 25xW MP N.A. 1.1 W.D. 2.0

Apo 40xW NIR N.A. 0.8 W.D. 3.5

Apo 60xW NIR N.A. 1.0 W.D. 2.8

8 个高数值孔径内窥式成像物镜:

① High-NA Endomicroscopic Imaging Objective for 2-Photon Microscopy, Input NA = 0.8, Output NA = 0.415, Assembly diameter 1.4 mm 2 pcs.

② High-NA Endomicroscopic Imaging Objective for 2-Photon Microscopy, Input NA = 0.8, Output NA = 0.415, Assembly diameter 1.4 mm 2 pcs.

③ GRIN Needle Endomicroscope, doublet, diameter 0.5 mm, magnification 2.6:1, geometrical length approx. 3.76 mm, non-coated, mounted in stainless steel tube (OD 0.7mm) • object side: working distance 250 μm in water @ 860nm, NA 0.5 • image side: working distance 100 μm air @ 860nm, NA 0.19 1 pc.

④ GRIN Needle Endomicroscope, doublet, diameter 0.5 mm, magnification 2.6:1, geometrical length approx. 9.86 mm, non-coated, mounted in stainless steel tube (OD 0.7mm) • object side: working distance 250 μm in water @ 860nm, NA 0.5 • image side: working distance 100 μm air @ 860nm, NA 0.19 1 pc.

⑤ GRIN Needle Endomicroscope, doublet, diameter 0.5 mm, magnification 2.6:1, geometrical length approx. 15.97 mm, non-coated, mounted in stainless steel tube (OD 0.7mm) • object side: working distance 250 μm in water @ 860nm, NA 0.5 • image side: working distance 100 μm air @ 860nm, NA 0.19 1 pc.

⑥ GRIN Needle Endomicroscope, Singlet, diameter 1.0 mm, magnification 1:1, geometrical length approx. 4.48 mm, non-coated, mounted in stainless steel tube (OD 0.7mm) • object side: working distance 250 μm in water @ 860nm, NA 0.5 • image side: working distance 100 μm air @ 860nm, NA 0.5 1 pc.

⑦ GRIN Needle Endomicroscope, doublet, diameter 1.0 mm, magnification 2.6:1, geometrical length approx. 8.16 mm, non-coated, mounted in stainless steel tube (OD 1.2mm) • object side: working distance 250 μm in water @ 860nm, NA 0.5 • image side: working distance 100 μm air @ 860nm, NA 0.19 1 pc.

⑧ GRIN Needle Endomicroscope, doublet, diameter 1.0 mm, magnification 2.6:1, geometrical length approx. 20.43 mm, non-coated, mounted in stainless steel tube (OD 1.2mm) • object side: working distance 250 μm in water @ 860nm, NA 0.5 • image side: working distance 100 μm air @ 860nm, NA 0.19 1 pc.

(4) 4 个激光器: 405 nm、457/488/514 nm、561 nm、640 nm。

(5) 2 个光检测器: 1 个 4 -PMT 荧光检测 (其中 2 个为 高灵敏的 GaAsP PMT), 1 个透射光检测。

11. OLYMPUS VS120 高通量荧光成像系统 (A0436)

仪器主要用途: 对动物的整个大脑切片或组织切片进行高分辨率、高灵敏、高通量、多通道荧光成像和明场彩色成像; 可以进行高速大范围 2D 和 3D 拼图; 高效率地对连续大脑切

片的图像进行图像处理、对齐、三维重构以及数据分析。

仪器配置:

(1) Olympus VS120 全自动正置荧光显微镜, 配有高速电动载物台, 可放置 6 块 26x76 mm 载玻片或 2 块 2x3 inch 载玻片或 1 块 3x4 inch 载玻片或 1 块 4x5 inch 载玻片。

(2) 5 个显微镜荧光滤块:

DAPI (Ex. 350/50, Em. 460/50m)

EGFP (Ex. 470/40, Em. 525/50)

TRITC (Ex. 545/25, Em. 605/70)

CFP (Ex. 436/20, Em. 480/40)

(3) 6 个物镜:

Plan Apo2X/0.08

U plan super Apo 4X/0.16

U Plan Super Apo 10X/0.4

U plan super Apo 20X/0.75

U plan super Apo 40X/0.95

U plan super Apo 60X/1.35 Oil

(4) 双 CCD 系统: 1 个高分辨高色彩还原彩色 CCD 和 1 个 Hamamatsu sCOMS 单色制冷高灵敏荧光 CCD。

12. Bruker 活体双光子显微镜 (A0438)

仪器主要用途: 适合脑片、视网膜、斑马鱼、以及大小鼠大脑活体双光子成像、3D 多标记标本双光子成像 (最多 2 个通道)、双光子 FRET (CFP/YFP) 实验、双光子漂白、损毁实验、成像的同时进行光刺激、光漂白等。

仪器配置:

(1) 整套系统由双光子显微镜 (含常规扫描、高速振镜扫描、光刺激 3 个激光入口)、2 台双光子激光器 (单通道飞秒激光器和双通道长波长可谐调飞秒激光器)、桌面光路组成 (含成像光路、普通光刺激光路、Temporal Focus 光刺激光路)。

(2) 2 个双光子激光器: 1 个 Coherent Chameleon Vision S > 2.5 @ 800nm 双光子激光器, 谐调范围 690nm-1050nm。1 个 Coherent Chameleon Discoery 双光子激光器, 双波长输出 (宽谐调范围 680nm-1300nm 和固定波长 1040nm)。

(3) 双光子扫描系统: 一组 X-Y Galvanometer mirrors 组成的高精度常规扫描成像装置: 6mm 扫描振镜。一个 X-Resonant scan mirror 组成的高速共振扫描装置: 8 kHz resonant scan speed, 可进行全幅 (full frame) 每秒 30 帧高速成像, 常规扫描和共振扫描可电动切换 (由软件控制)。由一组独立的 X-Y Galvanometer mirrors 组成的高精度用于光刺激、光损毁的光解笼振镜装置: 在进行成像 (包括常规振镜成像和共振振镜成像) 的同时可以进行光刺激。2 路不同波长的双光子激光进入扫描单元进行双波长成像 (包括常规振镜成像和共振振镜成像)。

(4) 正置显微镜, 显微镜底部有大空间, 适合脑片、视网膜、斑马鱼、以及大小鼠大脑活体观察。

(5) 荧光光源: X-Cite 120 光源, 3 mm x 3000 mm 光导, BX2 显微镜准直适配器。

(6) 3 个荧光滤块:

DAPI filter set with Olympus Filter Cube

DsRed (TRITC/CY3) filter set with Olympus Filter Cube

GFP (FITC/CY2) with Olympus Filter Cube

(7) 单物镜镜架含 3 个物镜适配器: 分别适用 OLYMPUS XLPLN25xWMP2 、 OLYMPUS LUMPLFLN40xW 、 NIKON LWD16x/0.80W。

(8) 软件控制电动 XY 载物台。

(9) 400 μ m Z-轴压电物镜聚焦, 适合 OLYMPUS LUMPLFLN40xW 、 OLYMPUS XLPLN25xWMP2 、 OLYMPUS XLPLN10xSVMP、 OLYMPUS XLSLPLN25XGMP、 NIKON LWD16x/0.80W、 NIKON CFI75 Apo 25xW MP、 NIKON CFI Apo 40xW NIR 等物镜的使用。

(10) 2 个外置超高敏 GaAsP PMT (External non-descanned detectors): 量子效率大于 45%, 暗电流小于 1 nA, 含 PMT 冷却风扇、GaAsP PMT 高压控制电路、PMT 信号预扩增电路等。

(11) 通过目镜可进行红外普通明视野、斜照明观察; 通过 CCD 和成像软件可在电脑屏幕上进行红外普通明视野、斜照明成像; 在双光子荧光成像的同时, 可进行透射光明视野、斜照明成像 (PMT 成像)。

(12) 载物台下聚光镜: Oil Immersion Condenser, 数值孔径 1.4, XYZ 可移动聚光镜臂。

(13) 透射光源和透射光探测器, 1 个多碱阴极 PMT, 含红外照明和 PMT 成像切换以及 PMT 保护电路。

(14) 透射光成像 CCD: DCC3240N CMOS 红外相机, 1280*1024 像素。

(15) 高性能图像工作站: 包括: 2 个 512 GB 固态硬盘用于数据采集, 2 个 128 GB RAID1 固态硬盘阵列用于操作系统, 1 个 3TB 硬盘用于数据存储, 32 GB 内存, Intel Quad Core i7 CPU, 主板, DVD 读写驱动器, 7-port USB hub, 4-port USB-serial hub, Acronis data backup and recovery software, 机箱电源功率大于 700W, 超宽屏显示器 (≥ 27 -inch 液晶监视器), Window 7 Pro 64-bit 操作系统, 扫描控制和图像采集软件, 7 口 PCI 拓展箱, 鼠标、以及背照式键盘等。

13. Olympus FV1000 正置共聚焦显微镜 (A0438)

仪器主要用途: 适合活细胞、脑片、斑马鱼等荧光图像采集, 可以同时采集 3 个荧光通道和 1 个明场通道的图像, 可以进行 3D 采图、XYZ-T 采图。

仪器配置:

(1) Olympus FV1000 正置荧光显微镜。

(2) 3 个显微镜荧光滤块:

DAPI (Ex. 330-385, Em. 420, DM 400)

EGFP (Ex. 470-495, Em. 510-550, DM 485)

RFP (Ex. 530-550, Em. 575IF, DM 565)

(3) 4 个物镜:

Zeiss Achroplan 10x/0.30 W

Zeiss Achroplan 20x/0.50 W

Zeiss IR-AchroPlan 40x/0.8W

Zeiss IR-AchroPlan 63x/0.9W

(4) 3 个激光器: 405 nm、473 nm、543nm。

(5) 2 个光检测器: 3 PMT 荧光检测器、透射光检测器。

14. LOTOS 双光子显微镜 (神经系统楼 329)

仪器主要用途: 活体动物的高分辨率双光子图像采集快反应信号高时间分辨率扫描图像采集和分析。

仪器配置:

(1) 显微镜部分: LOTOS Scan 双光子显微镜配有电动 XYZ 载物台, 最小步进 100 nm , 配有 360 度可旋转物镜底座。

(2) 2 个荧光滤块: 可以采集红绿两个通道。

(3) 5 个物镜:

PLAPON 2x NA 0.08 WD 6.2

UPLFLN 4x NA 0.13 WD 17.0

CFI75 LWD 16xWater DIC N2 NA 0.8 WD 3.0

XLPlan N 25xWater WMP2 NA 1.05 WD 2.0

LUMPLFLN 40xWater NA 0.8 WD 3.3

(4) 双光子部分:

扫描装置: 共振高速扫描。标准模式 (full-frame mode) 40 Hz @ 600 x 600 p, 标准 LOTOS 模式 200 Hz @ 600 x 120 p, 极限 LOTOS 模式 1000 Hz @ 600 x 24 p, 高分辨率模式 20 Hz @ 1200 x 1200 p。Mai Tai DeepSee Ti:Sapphire 近红外高速脉冲激光器, 波长可调范围: 690 nm-1020 nm。在成像的同时, 可进行外部电生理记录同步。可进行 x-y、x-y-t、x-y-z 图像采集。数字信号输入输出: 提供同步触发信号输入和输出端口。