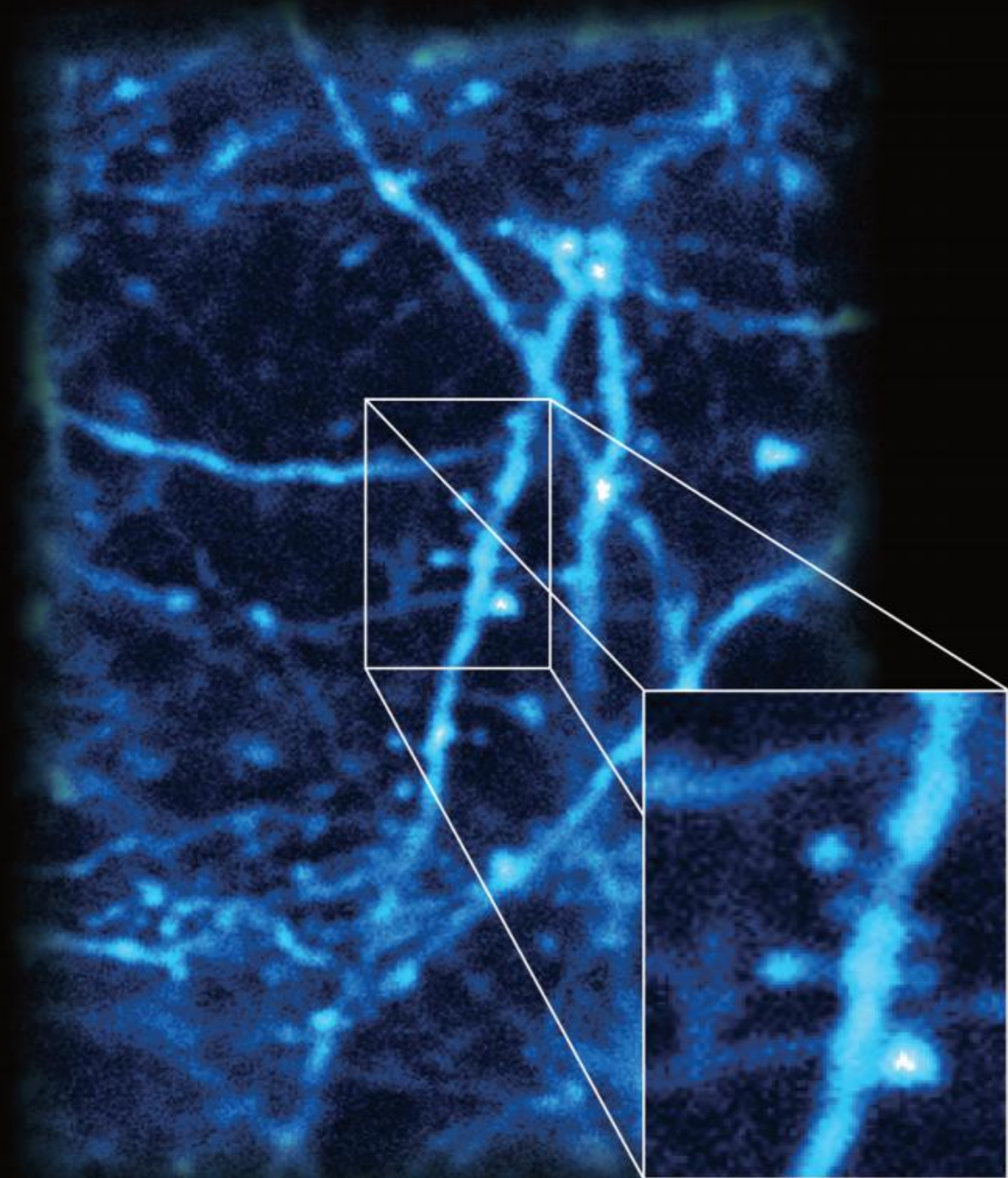


**基于中国自主核心技术  
创建世界领先的高端生物医学成像装备**

**FIRM-TPM**  
微型化双光子显微成像系统

**自由行为动物  
稳定高分辨成像**

# 亚细胞级成像 树突棘动态变化尽在眼前

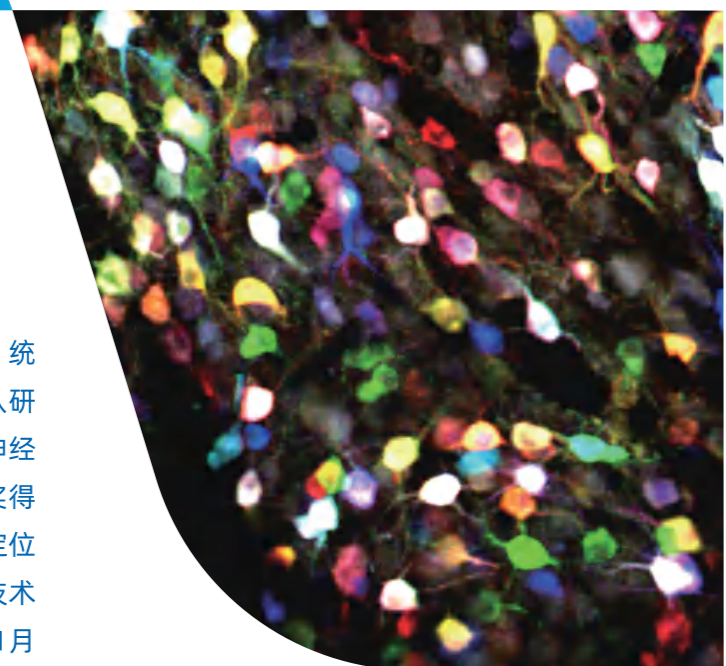


Thy-1小鼠树突棘高分辨率成像

## “看见” 大脑思维

### 实现自由行为动物 单个树突棘水平 神经活动的实时观察

微型化双光子显微成像系统（FIRM-TPM）由北京大学程和平院士团队研制，开启了脑科学研究新范式，获得国内外神经科学家的高度赞誉，被诺贝尔生理学或医学奖得主Edvard Moser教授称之为“研究大脑空间定位神经系统革命性的新工具”。2017年该核心技术荣获科技部“中国科学十大进展”，2019年1月被《Nature Methods》评为“2018年度方法”（无限制行为动物成像）。



## 产品简介

自主研发的快速微型化双光子显微成像系统，可在动物自由活动状态下，实现对大脑神经元和神经突触活动的高分辨实时成像，为研究大脑的结构和功能提供了一个革命性的新工具。

其可融合微观神经元和神经突触活动与大脑整体信息处理和个体行为的信息，是全景式解析连接图谱和功能动态图谱的利器。

全球第一次实现了  
自由行为小鼠树突棘清晰、稳定的动态成像

诺贝尔生物学或医学奖获得者爱德华·莫泽（Edvard I. Moser）博士访问实验室，他对微型化双光子显微镜给予了很高的赞誉，称：

“We rarely see so unlimited excitation. Based on the information on they brought, we must say we are impressed. Miniature two-photon microscope provides a revolutionary new tool for neuroscience research, especially the Spatial Representation System we are studying. The new technology will dominate in the field of in vivo imaging over the next few years, it's extremely important for the scientific community.”

冷泉港亚洲脑科学专题会议主席阿尔希诺·席尔瓦（Alcino J. Silva）教授，美国著名神经科学家在评述中写道：

“By every standard, this microscope represents a fundamental discovery that will change the way we image cellular and sub-cellular structures in behaving animals. The doors that this microscope opens go beyond imaging of neuronal and dendritic activity.”

## 产品优势

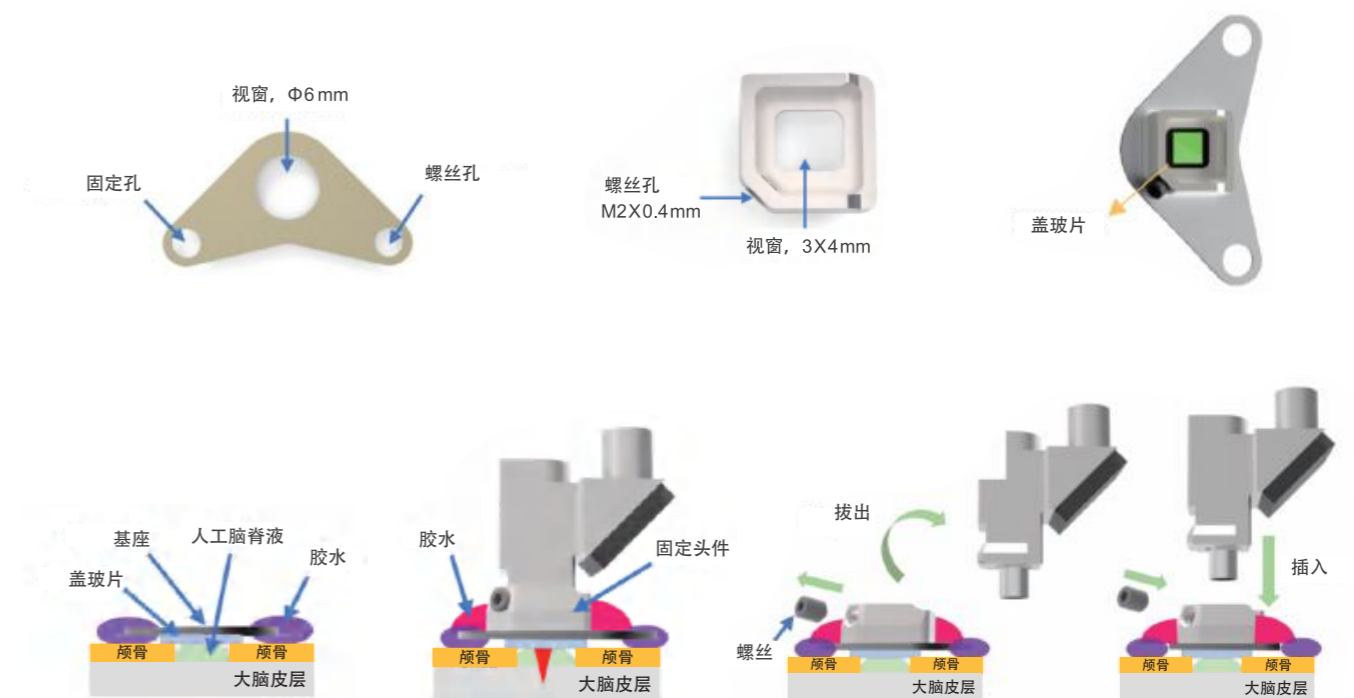
稳：各部件精密设计，可对同一区域长时程、反复成像，动物剧烈运动时仍稳定成像

快：成像速度快，为9Hz@512x512，平面间切换速度为4Hz@512x512，可实时观察神经元和神经网络活动

简：探头可整体即时拔插，极大地简化了实验操作，避免长期佩戴对动物的干扰

柔：系统采用柔性光纤和细软的微机电扫描振镜线缆，以使动物运动引起的扭矩和拉拽力最小化，确保动物自由运动

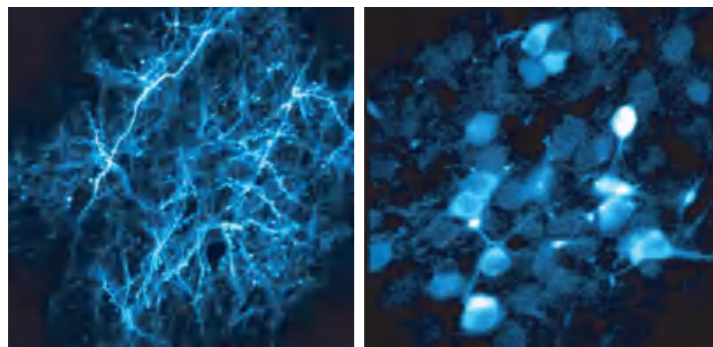
可拆卸的探头设计组装过程如下



# 产品功能

## ● 高分辨成像

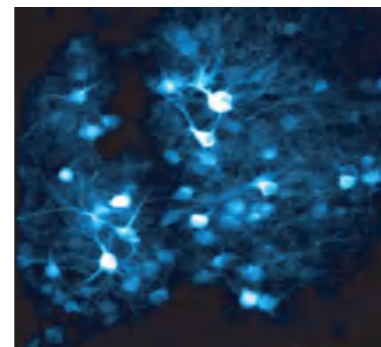
分辨率高，为 $<850\text{nm}$ ，可实时观察树突棘等微观结构，实现亚细胞级成像。



小鼠 (hSyn-GCaMP6s病毒注射)  
前额叶皮层神经元

## ● 大视场成像

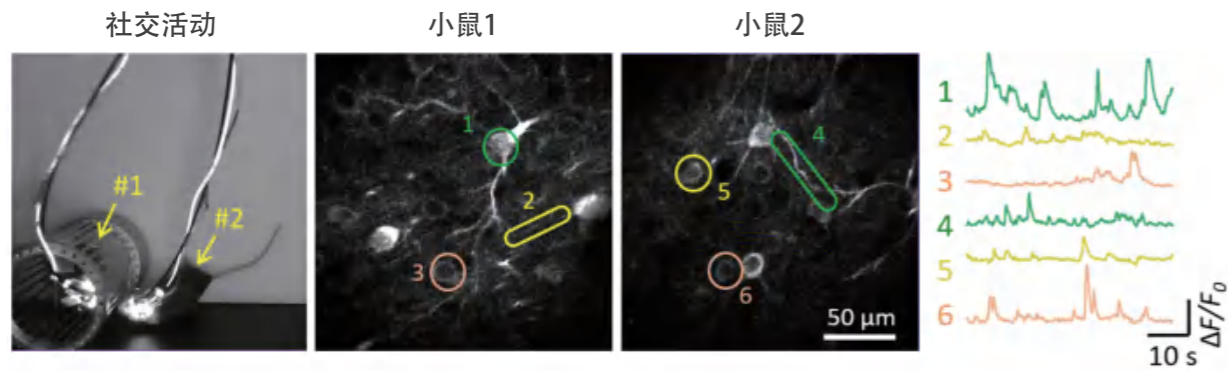
$400\mu\text{m} \times 400\mu\text{m}$  大视野成像，可实时记录数百个神经元，上千个突触的动态信号。



小鼠 (hSyn-GCaMP6s病毒注射)  
前额叶皮层神经元

## ● 多通道同时成像

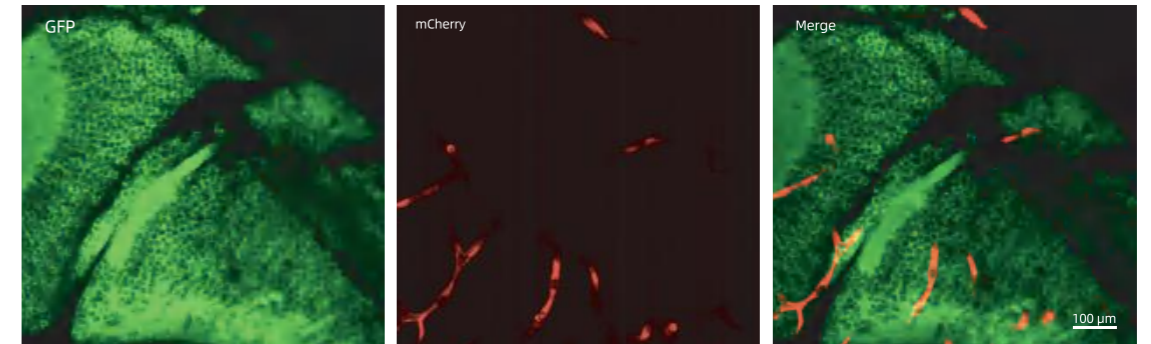
在同一波长下，通过多个探头同时对多只动物、或者同一动物不同区域成像。可同时观察发生社交行为的两只动物的神经活动，或者观察同一动物不同核团的变化。



小鼠 (hSyn-GCaMP6s病毒注射) 社交活动时前额叶皮层神经元

## ● 双色同步成像

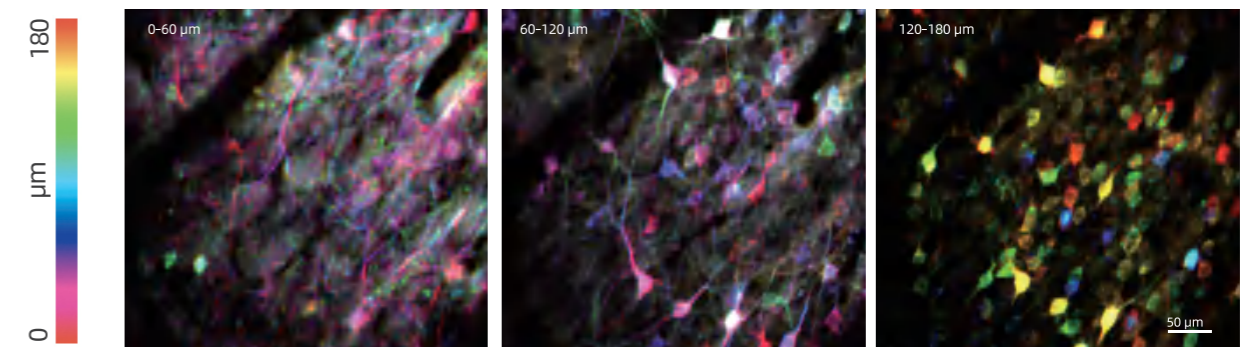
FIRM-TPM可双波长同时激发，实现双色同步成像。不同颜色标记特定的细胞群，可研究不同细胞群之间的相互关系。



全神经标记斑马鱼 (GFP标记神经, mCherry标记血管)

## ● 三维变焦成像

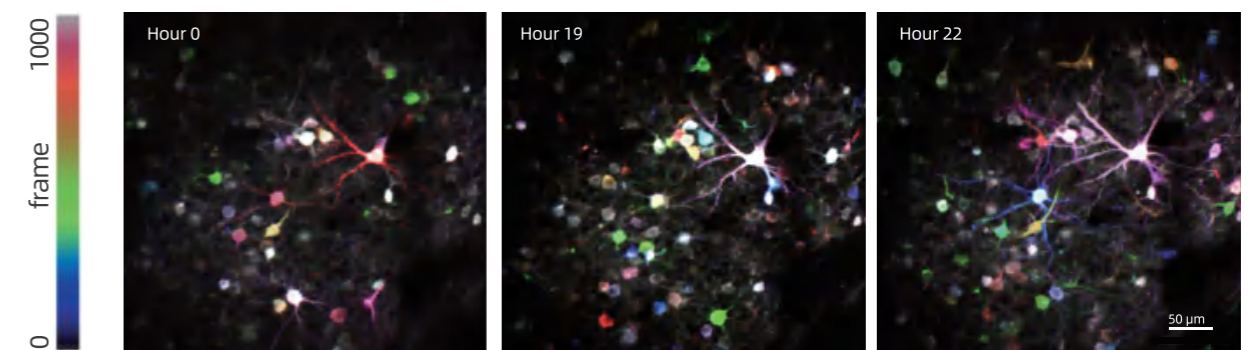
可在z轴 $150\mu\text{m}$ 范围内，进行三维电动变焦，实现对神经环路的观察。



小鼠 (hSyn-GCaMP6s病毒注射) 前额叶皮层不同深度的神经元

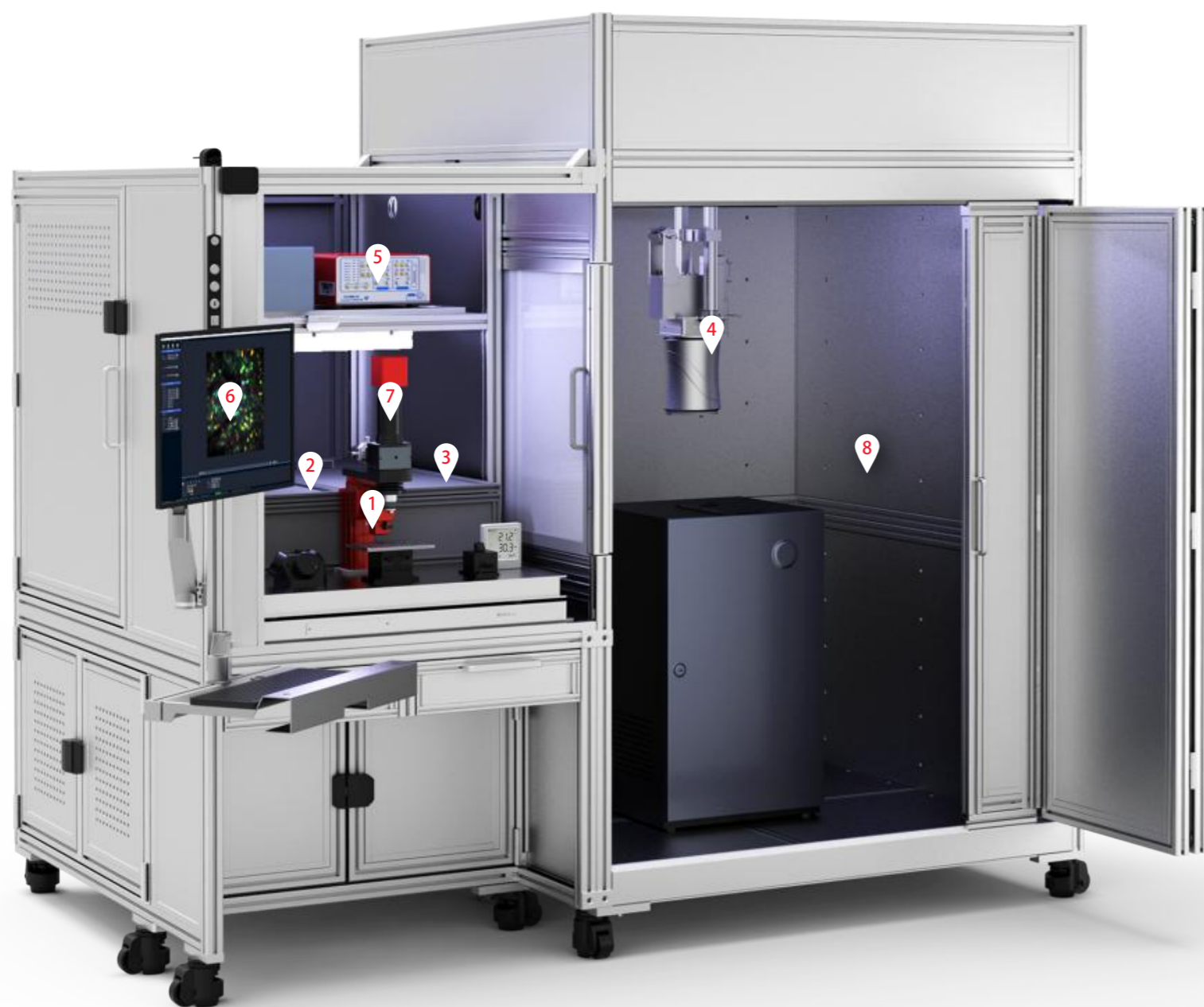
## ● 长时程重复成像

间隔数天仍能追踪到同一细胞的生理活动，可方便地进行慢性成像实验以及重复性的科学研究。



小鼠 (hSyn-GCaMP6s病毒注射) 前额叶皮层神经元

## 产品结构



### 【1】 微型化双光子显微镜

该模块是系统的核心技术模块，包括微型化双光子显微镜探头和激光传导光纤、荧光信号采集光纤和MEMS微机电扫描振镜线缆等耗材。

### 【2】 飞秒脉冲激光器

自主研发的飞秒光纤激光器，有780nm、920nm以及1030nm等波长，分别用于激发蓝色、绿色和红色荧光等。

### 【3】 激光耦合模块

可以实现激光光强的调节、激光快门保护和耦合调节功能。

### 【4】 荧光采集模块

可实现不同荧光信号的采集和转化。模块采用高灵敏度GaAsP光电倍增管(PMT)探测微弱荧光信号。

### 【5】 成像控制模块

成像系统的控制中心，包括MEMS驱动、信号发生模块、信号采集模块、信号处理和电源，对采集的电信号进行处理、还原、图像重建，以保证成像系统正常工作。

### 【6】 成像处理模块

成像系统的显示终端和控制终端，并对图像进行处理和分析，包括电脑工作站和成像控制分析软件。通过该模块可以调整成像速度和激光功率、显示图像并进一步对图像进行分析和处理。

### 【7】 视场搜寻模块

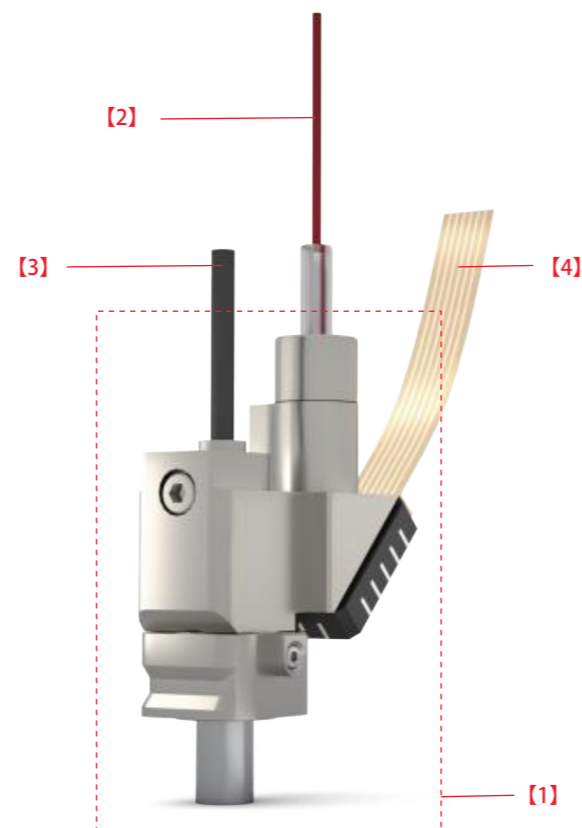
在微型化双光子活体成像前搜寻视野，用来快速定位最佳成像区域，提高实验效率。

### 【8】 一体式动物行为学成像平台

具有隔音、避光、紫外杀菌、耐腐蚀和耐磨损等多种优点，确保行为学实验和成像质量。工作台可根据实验需求灵活搭配几十种行为学设备，如经典迷宫、条件恐惧、自身给药、睡眠剥夺、斯金纳等。

## 微型化双光子显微镜

该模块是系统的核心技术模块，包括微型化双光子显微镜探头【1】和激光传导光纤【2】、荧光信号采集光纤【3】和MEMS微机电扫描振镜线缆【4】等耗材。



### 【1】微型化双光子显微镜探头

探头经过特殊设计，高度集成了常规双光子显微镜的核心器件，可实现飞秒激光脉冲的无畸变传导、微小空间内的高速扫描/图像重建、高质量激光汇聚以及高效激发，成功获取了小鼠在自由行为过程中大脑神经元和神经突触活动的高分辨图像。

### 【2】激光传导光纤

可无畸变传输数百毫瓦的920nm飞秒激光，实现了对最常用的荧光指示剂GFP和钙离子指示剂GCaMP的高效激发，从而获得了动物神经活动（一般用钙活动来反映）的高对比度图像。

### 【3】荧光信号采集光纤

使用柔软的新型光纤，以使动物运动引起的扭矩和拉拽力最小化；采用独立的可旋转连接器连接光学探头上的光纤和电线，减少动物在自由探索期间线的扭曲和缠绕。

### 【4】MEMS微机电扫描振镜线缆

系统使用细软的线缆给微机电振镜提供扫描信号，在确保良好的抗干扰条件下尽量减轻模块重量，确保动物自由运动。

## 探头优势

轻：探头约重2.2g，可在小鼠头部“戴着跑”

小：体积小，可佩戴于小鼠头部或者大动物头部的多个部位

精：分辨率高，可清楚观察单个树突棘的结构变化。高分辨型： $<850\text{nm}$ ，大视场型： $<1.3\mu\text{m}$

深：工作距离为1mm，并具有盖玻片补偿功能，在150 $\mu\text{m}$ 范围电动变焦，可观察神经环路活动

### 为什么需要用微型化双光子显微镜进行脑成像？

#### 1、神经科学需要以自由行为动物作为研究对象

神经科学最基本的研究内容是寻求了解神经回路如何感受周围世界、如何实施行为。这需要能够对自由行为动物的神经活动进行记录和操控。

#### 2、头部固定的成像方式不能满足研究的需要

头部固定的研究方式限制了行为学研究的方式和内容，使许多行为学研究不可能实现，例如空间导航、社会行为等。后来改进的采用虚拟现实和滚动球的方法来弥补头部固定缺憾的实验方式，对一些实验有所帮助，但是这些方法需要额外的训练，并且反映的毕竟不是完全的真实世界的行为。实际上，头部固定的方式仅仅解决了获得稳定成像的问题。

#### 3、单光子成像分辨率低，不能对单个树突棘成像

活体组织对光的散射非常强烈，导致大部分信号丢失，灵敏度和分辨率下降。例如对于500nm的光，在活体组织中有约90%被散射，每次仅可看到几十个细胞胞体闪烁的信号，看不清细胞轮廓。由于其散射强烈，随着样本深度加大，其信号越发微弱，可看到的细胞数量明显减少。基本上，单光子可看到的组织深度不超过100 $\mu\text{m}$ 。

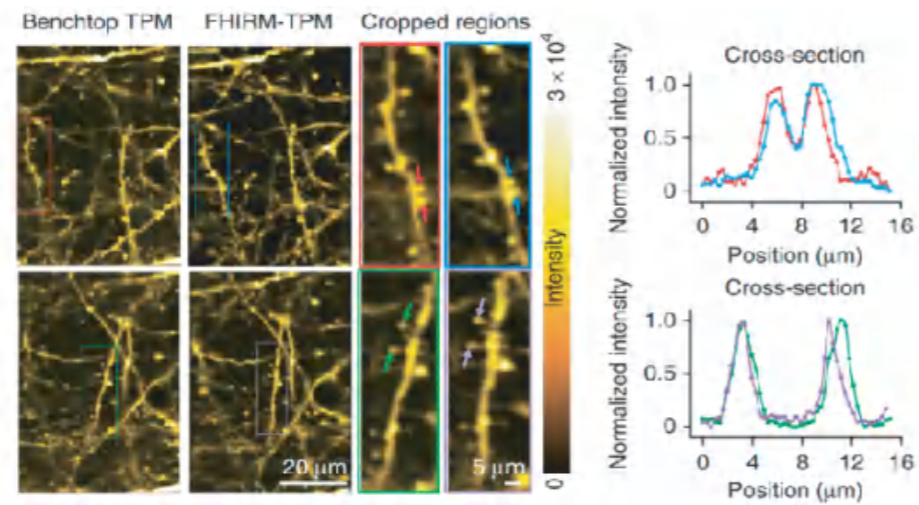
#### 4、微型化双光子实现了对自由行为动物的亚细胞级、稳定成像

微型化双光子攻克了“佩戴式”显微镜成像的种种困难，在全球第一次实现了自由行为动物的清晰稳定成像，可在小鼠跑、跳、觅食、社交等种种正常活动中观察单个树突棘的结构和功能变化。

## 产品应用

### ● 观察自由运动小鼠大脑皮层表达GFP的神经元

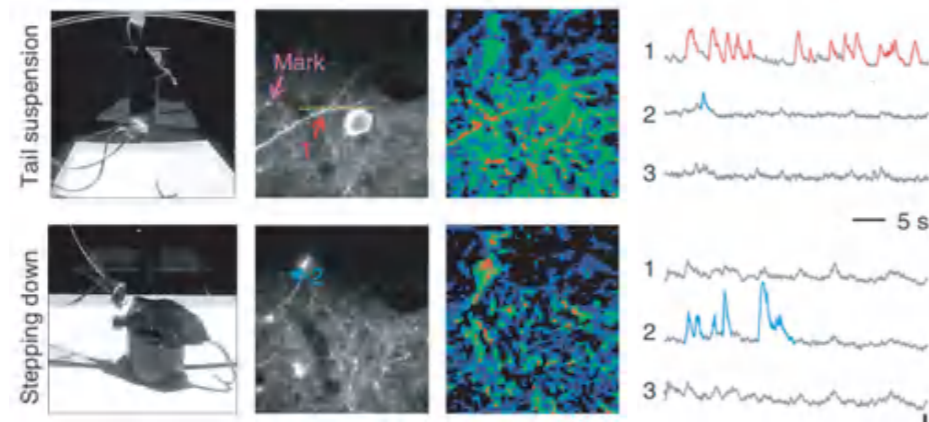
小鼠大脑皮层的神经元表达Thy1-GFP，用微型化双光子显微系统和台式双光子显微镜进行观察，显示出几乎相同的对比度和分辨率，都可以清楚地观察到神经元的树突和树突棘。



微型化和台式双光子观察Thy1-GFP小鼠的神经元成像

### ● 行为学实验下的小鼠大脑皮层的神经元钙活动

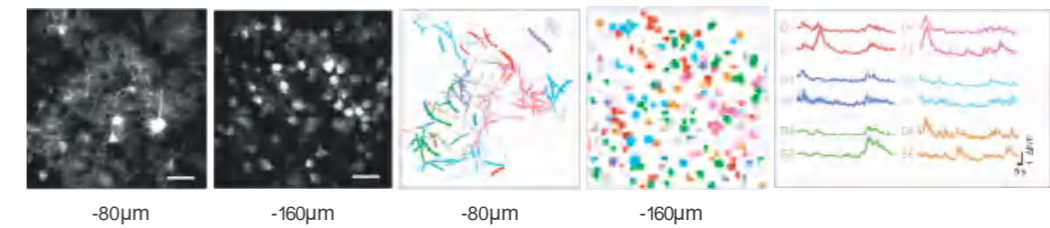
微型化双光子显微成像系统可以对自由行为动物进行稳定高分辨成像。当小鼠在进行多种行为学实验时，比如悬尾实验、跳台实验和社交行为，可实时监测小鼠大脑皮层的神经元活动。



不同行为学实验下小鼠大脑皮层的神经元活动

### ● 观察处于不同平面的胞体和树突的钙活动，揭示深层的神经集群活

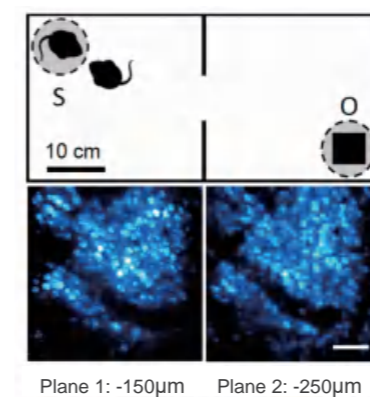
解码神经网络整合需要同时检测树突的输入和胞体的输出。微型化双光子显微成像系统可在不同平面间快速切换，从而观察主要位于软脑膜下方80μm的树突和软脑膜下方160μm的胞体。经过Pearson相关分析和网络分析，将树突和胞体分为6个群，发现不同群的树突和胞体在同一平面内部和不同平面之间相互交叉，并且每个群显示出平面特异的不同的空间分布模式。



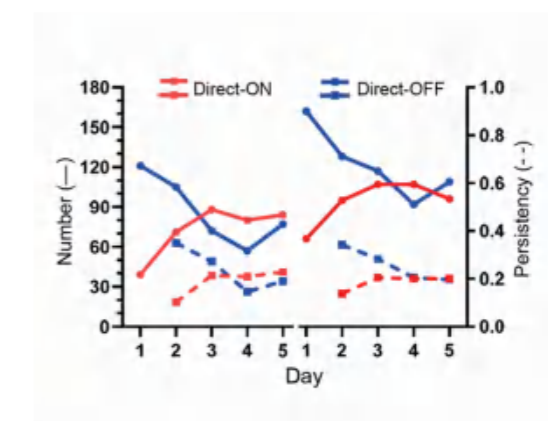
位于大脑皮层不同平面的树突和胞体及其功能分群

### ● 观察处于不同平面的神经元活动，将特定行为学相关的神经元进行分群分析

在小鼠行为学实验中，连续5天，观察mPFC中深度为150μm和250μm的神经元，同时辅以行为学成像，发现了受社会行为调控的ON和OFF神经元，并发现社会行为相关神经元的分群呈现高度动态变化：不仅ON神经元增多OFF神经元减少，而且两种神经元可以相互转换，甚至可以都转换成其它神经元。

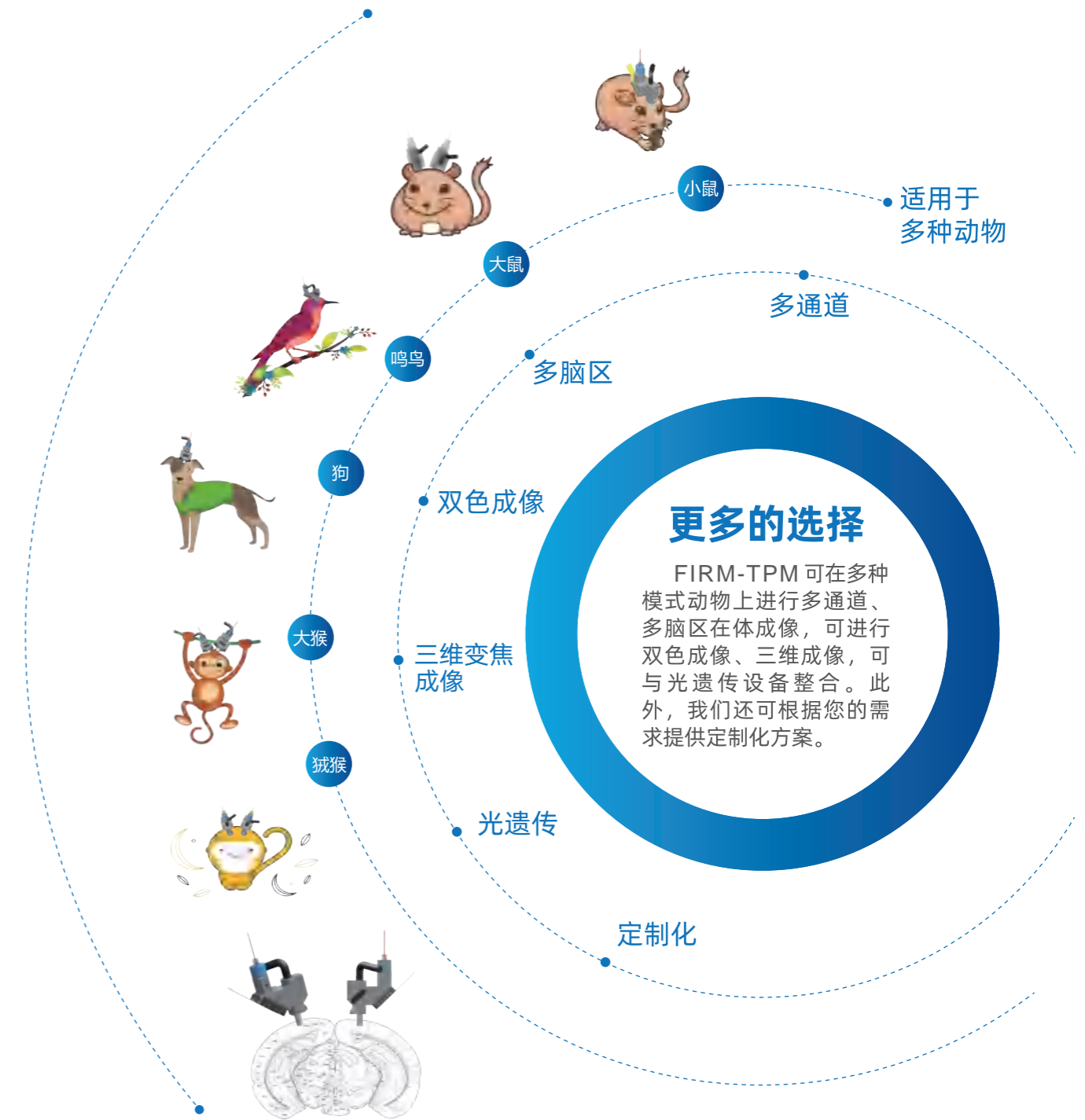


mPFC不同平面社会行为相关神经元的分类及其动态变化



## 产品参数

成像探头	高分辨型 重量：2.2g 大小：9.5×15.5×17mm <sup>3</sup> 分辨率：<850nm 成像视野：>180×180μm <sup>2</sup> 工作距离：>390μm 成像速度：9Hz@512×512, 18Hz@256×256	大视场型 重量：2.8g 大小：10×16×21mm <sup>3</sup> 分辨率：<1.3μm 成像视野：>400×400μm <sup>2</sup> 工作距离：1mm 成像速度：9Hz@512×512, 18Hz@256×256
三维变焦模块 (可选配置)	变焦范围：~30μm, 平面间切换速度：4Hz	变焦范围：~100μm, 平面间切换速度：4Hz
飞秒脉冲激光器	920nm/1030nm飞秒脉冲激光器 平均功率：>400mW	重复频率：40-80MHz 脉冲宽度：<200fs
激光耦合模块	实现飞秒激光与激光传导光纤的有效耦合	
荧光采集模块	高灵敏度 GaAsP PMT 光谱接收范围：300~720nm 绿色通道：520/50nm (GCaMP6/GFP) 红色通道：605/50nm (tdTomato) 可定制双通道	
成像控制模块	最大采样率：≥120MS/s	模拟输入分辨率：≥16-bit 模拟输入带宽：≥110MHz
成像处理模块	成像工作站 屏幕：30英寸显示器 显卡：2GB DDR5专业级显卡 系统：win10操作系统	CPU内存：32G 硬盘：256G固态硬盘和2T机械硬盘 成像控制分析软件：GINKGO-MTPM
视场搜寻模块	便于宽场荧光与双光子成像切换	
一体式动物行为学成像工作台	可兼容大部分小鼠行为学实验, 具有隔音、避光、紫外杀菌、耐腐蚀和耐磨损等多种特点	
系统尺寸	成像系统：955×1380×1825mm <sup>3</sup> 行为学工作台：1380×1380×2179mm <sup>3</sup>	
系统环境	温度：24±2℃, 建议使用可独立控制的空调系统	湿度：<60%



FIRM-TPM 适用于多种动物在体成像，大鼠、灵长类等模式动物可满足多脑区同时成像。