



尼康大型多光子活体成像系统

超快共振扫描仪、高灵敏度、低噪音GaAsP探测器和上佳的光学元件使得尼康A1R MP多光子共聚焦显微镜成为深层组织成像的优异工具。尼康近期与艾伦脑科学研究所协作取得的设计成果——开放架构多光子系统——能够对大标本进行成像。在这一协作成果的激励下，尼康开发了适合要求极为严苛的活体成像应用的商用大型多光子系统。

深层、快速、双色红外成像

体内和活体成像中，对更深层组织成像能力的需求在不断增长。由于光线散射减弱，长波光线相较于短波光线能更深入地穿透进组织内部。研究还表明，长波长的光损伤明显更小。尼康A1R MP扫描仪和25×/1.1-NA（数值光圈）多光子物镜针对使用长波长激光源（波长1300 nm以下）而进行了优化。这些元件，加上高灵敏度GaAsP NDD探测器，为研究人员提供了一种多光子成像系统，它能在样本深层成像、适应红移荧光团（如mCherry）并能将光损伤减至最小（图1）。此外，尼康最新版A1R MP还兼顾了双红外（IR）激光束的输入，以适应同步双色IR成像。它还兼容外部光刺激器件，例如能够灵活选择波长和进行同步刺激以及用于高阶光遗传学实验成像的数字微镜器件。

开放架构A1R MP

配置在显微镜架上的传统多光子系统的主要局限之一是最大标本尺寸，通常这会导致样本的选择仅限于离体组织或被固定不动的小动物，如啮齿动物。为了满足活体成像对灵活选择样本的需要，艾伦脑科学研究所的科研人员最近与尼康合作开发了一款能够适应较大样本的灵活多光子系统。重新配置的尼康A1R MP系统采用开放型龙门架结构，为大标本提供了充裕的空间（图2）。艾伦研究所的研

Lynne Chang

Nikon Instruments, Inc., Melville, New York, USA. Correspondence should be addressed to L.C. (lchang@nikon.net) or Steve Ross (sross@nikon.net).

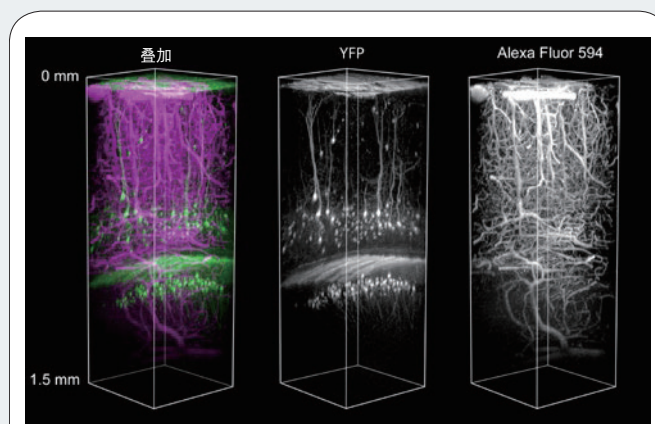


图1. 用尼康A1R MP对小鼠大脑进行的体内双色成像。图中所示为用开放型颅骨方法成像的YFR-H小鼠（4周大）麻醉后的大脑皮层。为可视化血管，将Alexa Fluor 594注入尾静脉。使用的浸水物镜为CFI75 Apochromat LWD 25x/1.10-NA MR1300，激发波长为1100nm。图像由北海道大学电子科学研究所川上良介、日比辉正和根本知己提供。

究人员打算应用该系统对小鼠皮层成像，小鼠在转台式转轮上奔跑，同时接受相邻视频监视器提供的视觉刺激。刺激包括各种漂移格栅、天然场景、噪音等，典型读出将包括与行为数据（如奔跑速度、眼部跟踪和身体姿态评价）结合的双光子延时成像。艾伦研究所研究人员的长期目标是获取小鼠视觉系统潜在感官表示、行为和认知中神经活动的生理地图集，并免费对外公开这些数据。

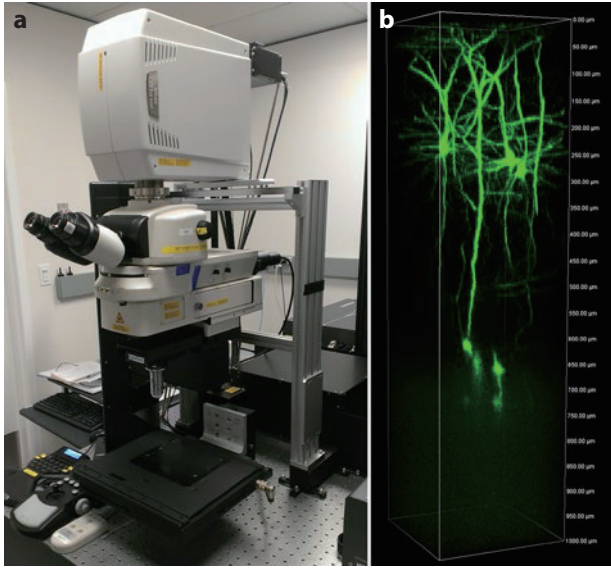


图2. 尼康A1R MP配置在龙门架上以配合大标本活体成像，于艾伦脑科学研究所。(a) 该仪器可以配置（如图所示）或不配置适应各种样本的载物台。(b) 用新款A1R MP捕获的Thy1-eGFP转基因小鼠皮层Z向3D图像。使用的浸水物镜为CFI75 LWD 16x/0.8-NA。图像由艾伦脑科学研究所提供。

面向活体成像的尼康新款大型A1R MP

尼康在与艾伦脑科学研究所协作成果的激励下，新开发了一款商业化大型多光子系统。由于多光子显微镜配置在龙门架上，物镜周围畅通无阻，因此这款大型A1R MP与以上描述的系统颇为相似。可根据需要配置各种载物台，或者系统也可以配置成无载物台，以便提供额外空间。这一新款A1R MP可对样本（如在跑步机上奔跑的小鼠）轻松成像，也可容纳大型立体定向仪，甚至体型更大的标本（如猪胎儿和猴子胎儿），从而扩大多光子活体成像的应用范围。该系统的这些特性，加上其快速灵敏的双红外成像能力和对外部光刺激器件的适应能力，使得这一新款大型A1R MP成为定制活体成像应用的灵活工具。