

显微荧光高光谱成像系统

细胞学和病理学研究,通常是用肉眼或使用显微镜测试细胞、组织或器官标本,研究它们受疾病影响时发生的变化。通过专业的显微镜,相机和成像软件系统提供特别适合病理研究应用的解决方案。荧光测量对许多生物学(叶绿素和类胡萝卜素)、生物医学(病变的荧光诊断)和环境监测是必要的测量手段。对于大多数荧光应用来说,产生的荧光能量只相当于激发光能量的3%左右。荧光的光子能量比激发光的光子能量要小(所以波长要长),而且一般都是散射光(在各个方向上辐射能量)。

在显微高光谱应用中,内置了照明和滤光片用于获取目标的显微荧光成像及荧光光谱信息,激发某一特定波长的光来激发样本,进而使样本产生相应的荧光信号,其显微镜的结构、光路、光源进行相应的设计以满足不同的应用需求,荧光显微镜非常适用于测量和分析各种光波长的吸收和激发。内置荧光显微镜设置利用平板分光器将照明器的光源转折至平行光学路径,从机械的角度来说,此设置的复杂程度低于其他数字视频显微镜系统。与大多数光学系统一样,此系统同样具备了传感器、光学组件以及受检测物体。

受检测物体可以包括物体如生物样品、植物或昆虫、玻璃或金属材料,以进行检测或作为检测目标。

设备结构说明

组成部件:LED、激光、汞灯(100W HBO 超高压球型汞灯)、氙灯(光源选配)、滤光片组、光波导(选配)、荧光滤光片组、荧光显微镜、不同倍率的物镜(平场荧光物镜:5×,10×,20×,40×,100×),GaiaField系列高光谱相机光谱范围(400-800nm、400-1000nm、900-1700nm)、辅助光源、系统支架等。

A. GaiaField系列高光谱相机

GaiaField-V10E/N17E 高光谱相机、无需外置扫描结构;利用 GaiaField 系列产品中的内置推扫结构完成图像的扫描成像工作。利用笔记本电脑或者台式机直接对 GaiaField 相机进行控制,完成数据的采集、校准等流程。如需实现大面样品扫描成像和拼接可选配外置精密电控二维扫描平台配合 GaiaField 系列相机来完成。

B. 光源

氙灯光源:

光谱范围: 250nm-2500nm;

激发滤光片: 可选;

荧光滤光片: 可选;

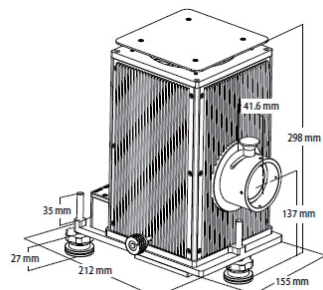


图 氙灯光源类型

反射荧光照明光源: 数字式汞灯电源控制盒, 宽电压 90~245VAC; 进口 OSRAM 100W 直流汞灯;

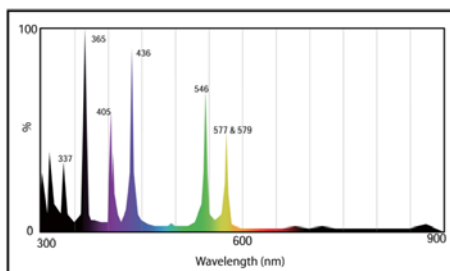


图 汞灯特征光谱

LED 光源: 350nm~600nm 波段不同功率的 LED 光源及组合体。

四波长高功率 LED 光源(Thorlabs)适用于需要多达 4 个波长光源的应用。与传统的非 LED 光源(如卤素灯和气体放电灯)相比,这些四波长光源具有许多优势,例如更高的信噪比(由于窄带宽发射)、更好的稳定性、更长的使用寿命、更低的更换成本、无需循环维护的简单操作、以及无需主动冷却或热过滤(由于最小化热负载)。

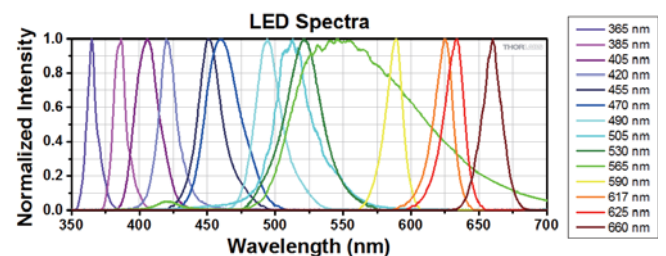


图 LED Spectra

C. 激发滤光片的选择

激发滤光片是放置于荧光显微镜的照明路径内。其目的是只允许荧光激发波长峰值周围的窄带波长通过。

D. 发射滤光片的选择

发射滤光片是放置于荧光显微镜的成像路径内。其目的是用于过滤受检测荧光团的整个激发能量范围,以及透射该荧光团的发射能量范围。发射滤光片能让样品产生的所需荧光到达探测系统,同时阻挡不必要的激发光。与激发滤光片类似,这种滤光片只让荧光发射波长峰值周围的窄带波长的光通过。

E. 二向色性滤光片（分光器）

二向色性滤光片或分光器是以 45° 角放置于激发滤光片与发射滤光片之间。其目的是用于将激发信号反射至受检测的荧光团，然后将发射信号透射至检测设备。最理想的二向色性滤光片或分光器应能够在最大反射率和最大透射率之间迅速过渡，激发滤光片带宽的最理想反射率为 $>95\%$ ，而发射滤光片带宽的最理想透射率为 $>90\%$ 。选择滤光片时，应该将荧光团的相交波长 (λ) 考虑在内，以确保获得最低杂散光和最高信噪比的荧光图像。



图 显微镜结构说明

汞弧灯产生的光线即使在紫外线、可见光谱范围内连续，集中在

365nm, 400nm, 440nm, 546nm 和 580nm 的离散波长。从紫外线到红外线，氙灯在整个光谱范围内具有更均匀的强度分布。荧光染料的选择对于确定荧光显微镜的适当光源至关重要。一些荧光探针具有与突出的水银线重合的激发带，而其他荧光探针受益于氙灯的更均匀分布的照射。

应用说明

荧光信号通常很弱，需要信噪比很好的探测器来进行探测，同时还需要显微镜的光学成像质量（清晰度、景深、倍率、信噪比等）很高。通常建议选用生物显微镜作为平台。