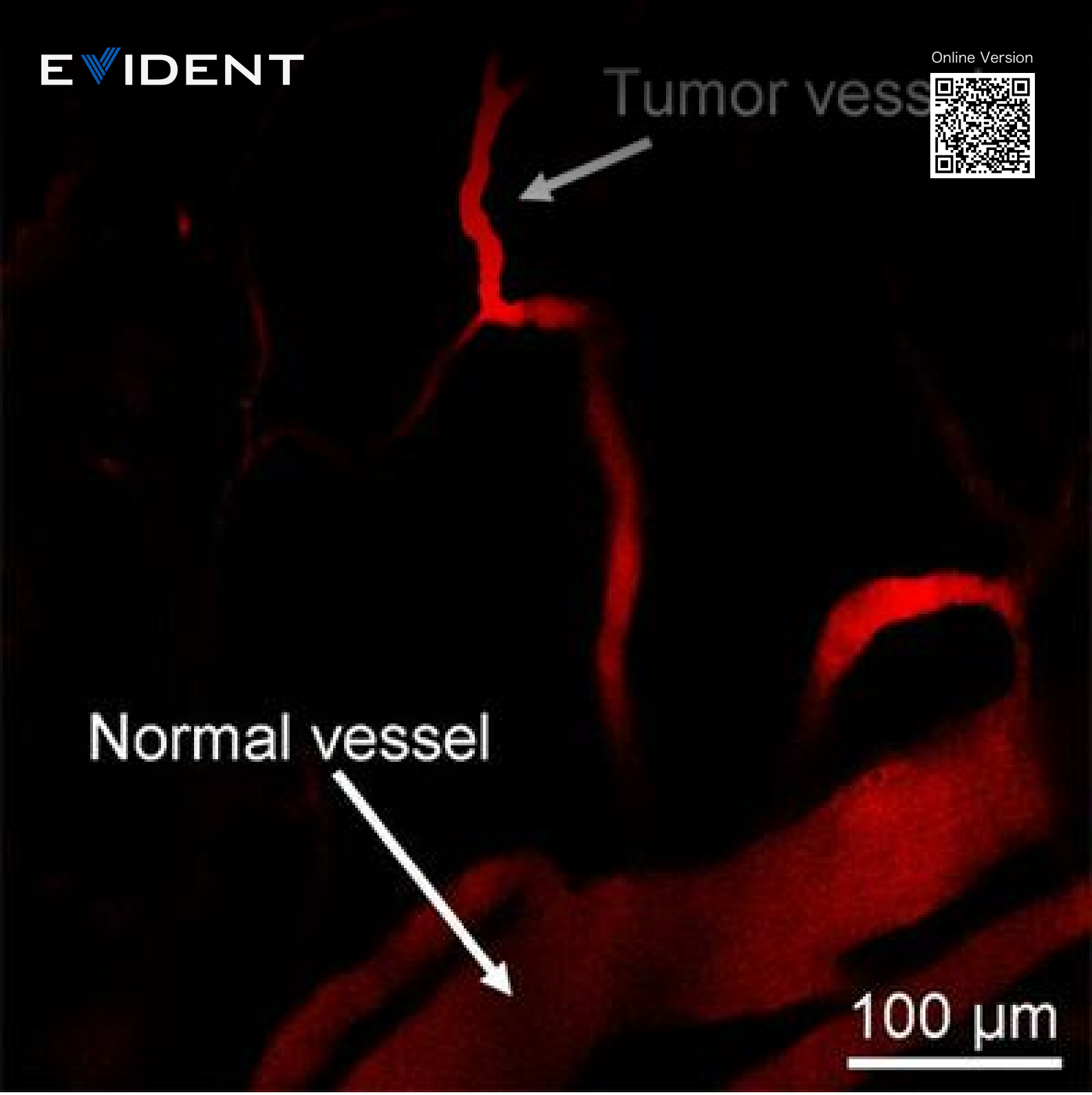
EVIDENT

Online Version



应用资料 2024年9月5日

利用多光子显微镜识别深脑肿瘤血管网络

常规双光子显微镜使用近红外一区NIR-I（700nm-950 nm）波长作为激发光源，成像深度通常限制在500 µm左右。与NIR-I波长光线相比，近红外二区NIR-II波长（1000nm–1700 nm）不仅在生物组织中的光衰减更少，还能穿透更深层的组织激发荧光团。此外，NIR-II激发的自发荧光远低于NIR-I，更有助于提高双光子图像的信噪比。

Copyright 2026 EVIDENT, All rights reserved.

奥林巴斯FVMPE-RS多光子激发显微镜配备了InSight DeepSee脉冲红外激光，支持680-1300 nm激发实现在体深层多光子成像。以下两个在体深层成像应用案例，将展示NIR-II多光子激发的优势。

1.NIR-II激发的共轭聚合物点用于颅骨深部双光子在体脑成像[1]

由于颅骨强烈散射作用，如何使得双光子成像穿透完整的小鼠颅骨仍十分具有挑战性。为了解决这一问题，我们开发了NIR-II激发的单链共轭聚合物点（Cpdots），它在NIR-I区域具有明亮的荧光（峰值位于725nm，量子产率为20.6±1.0%），可以用于对完整的小鼠大脑进行深度双光子成像。我们使用奥林巴斯多光子显微镜FVMPE-RS，分别使用800nm、1040nm和1200 nm激发光对小鼠大脑成像。这套多光子显微镜配有超快可调谐红外激光系统，可自由调节激发光波长，无需复杂设置。我们的数据显示，1200 nm激发可以实现最深成像和最高信噪比。此外，我们还穿透完整颅骨，获得垂直深度400μm的脑血管网络的三维重建图。

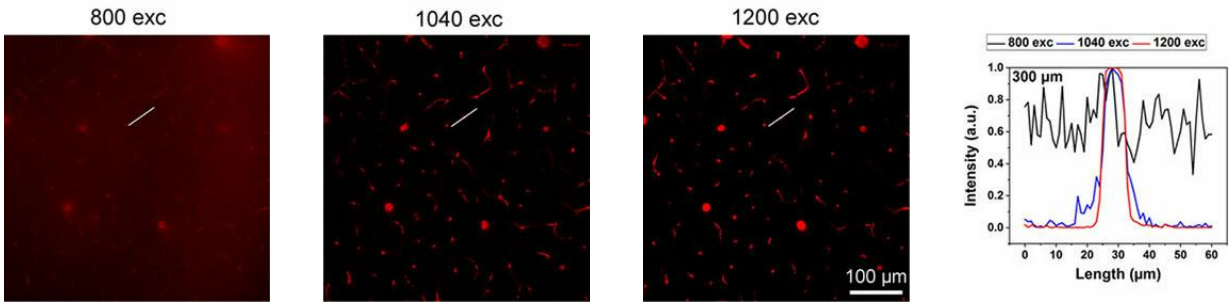


图1.注入CPdot的小鼠皮层脑血管在300 μm深度的双光子图像，分别由800nm、1040nm和1200 nm飞秒激光激发，检测660-750 nm发射信号。每帧采集时间3.22秒，图像比例尺：100 μm。每帧血管的线强度分布图。版权所有2019，Wiley-VCH。

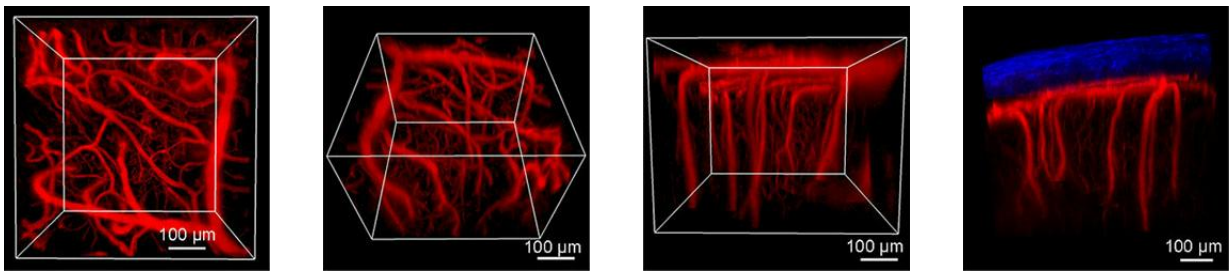


图2.穿透完整颅骨的脑血管三维重建双光子图像。二次谐波（SHG，蓝色）激发波长：950nm；双光子荧光激发：1200 nm。SHG发射光：455-500 nm，血管荧光发射光：660-750 nm。每帧采集时间3.22秒。版权所有2019，Wiley-VCH。

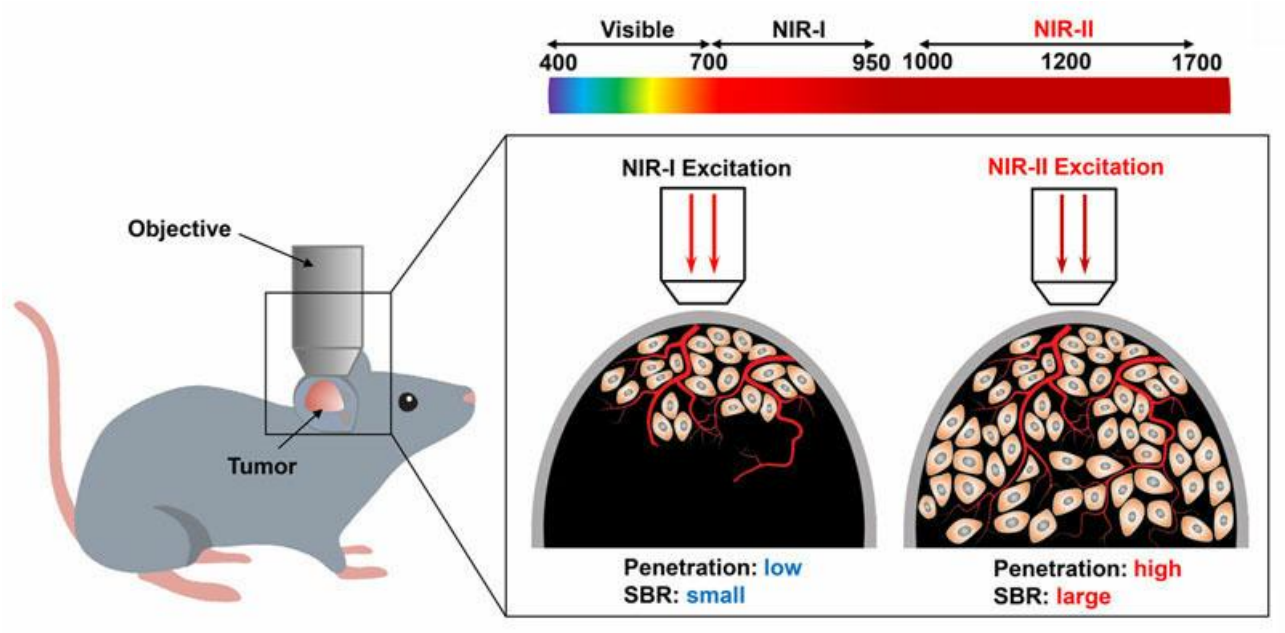
Video: distinguishing-cerebral_movie01(2)_720.mp4

Copyright 2026 EVIDENT, All rights reserved.

视频1.使用CPdots标记的脑血管三维重建双光子图。激发光：1200 nm。发射光：660-750 nm。版权所有2019，Wiley-VCH。

2.NIR-II激发活体双光子显微镜助力区分深层脑血管和肿瘤血管[2]

具有大穿透深度和高信噪比的深脑肿瘤血管形态和动态的无创实时活体成像，是研究和治疗血管相关疾病和癌症的重要技术。我们开发了一款聚集诱导近红外发射的高亮度荧光团，用于NIR-II激发下对大脑和肿瘤血管实现双光子荧光活体成像。NIR-II的光具有更深的组织穿透能力和更小的组织背景自发荧光，结合高亮度荧光团，让我们能够实现对深层组织如大脑和肿瘤血管网络系统的成像。



示意1.NIR-I和NIR-II激发下在体肿瘤双光子荧光成像示意图。版权所有2019，Wiley-VCH.

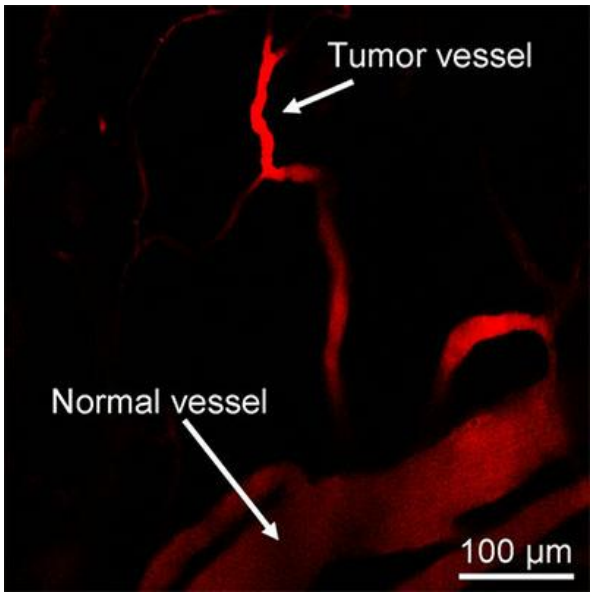


图3.使用我们的荧光团标记的肿瘤和正常血管双光子图像。与正常血管相比，肿瘤血管显示出更强的信号。激发

Copyright 2026 EVIDENT, All rights reserved.

光：1200 nm; 发射光：660-750 nm。版权所有2019，Wiley-VCH.

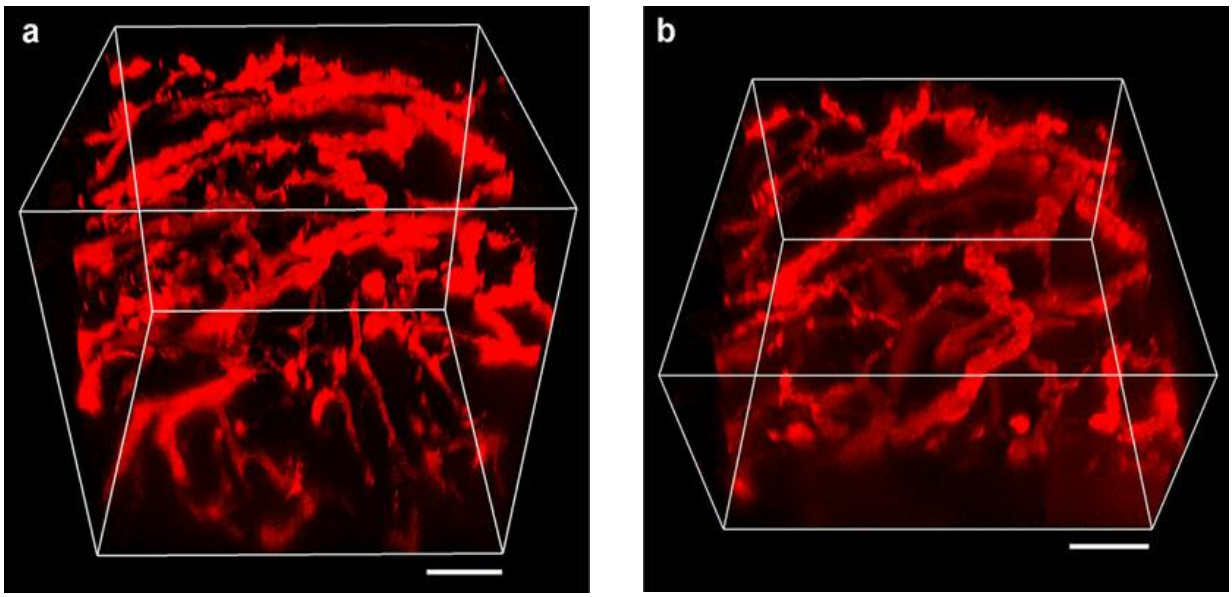


图4.NIR-II（a）和NIR-I（b）激发下同一肿瘤血管网络的三维重建双光子图像。激发光：NIR-II 1200 nm，NIR-I 920 nm。比例尺：100μm。成像深度（穿透皮肤）：NIR-II 500μm，NIR-I 300μm。版权所有2019，Wiley-VCH。

参考文献：

[1] NIR-II Excitable Conjugated Polymer Dots with Bright NIR-I Emission for Deep In Vivo Two-Photon Brain Imaging Through Intact Skull

[2] NIR-II-Excited Intravital Two-Photon Microscopy Distinguishes Deep Cerebral and Tumor Vasculatures with Ultrabright NIR-I AIE Luminogen

成像设备

显微镜：FVMPE-RS系统

物镜：25X 水浸物镜（XLPLN25XWMP2）

Shaowei Wang博士的评论

奥林巴斯FVMPE-RS多光子显微镜是进行活体成像的强大工具。具有680至1300 nm可调谐波长的InSight DS脉冲IR激光器适合各种在体双光子荧光成像应用。这套双光子系统采用红外优化镀膜，以及在NIR-II区高透过率的出色物镜，我们能够使用超亮荧光团进行NIR-II激发的活体双光子成像。我们的实验也证明了NIR-II激发可大大提升成像深度和图像信噪比。

Copyright 2026 EVIDENT, All rights reserved.

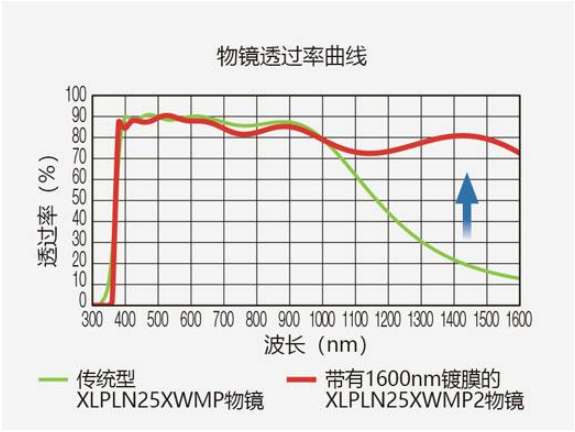


致谢

本应用指南的编写获得以下研究人员的帮助：

Shaowei Wang博士，新加坡国立大学化学与生物分子工程系（主页）

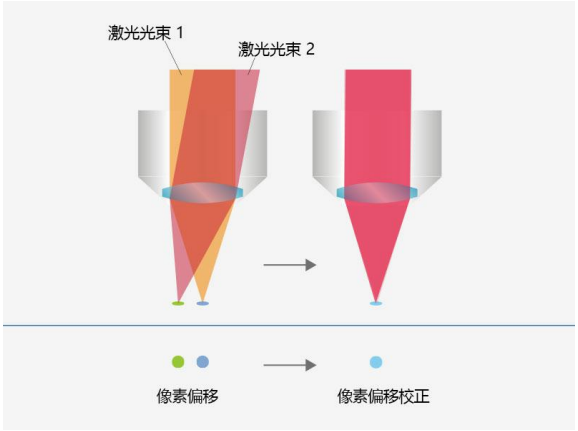
FVMPE-RS如何助力我们的实验



高效的NIR-II光透过率

与传统的镀铝振镜相比，镀银扫描振镜具有更高的近红外反射率，有助于提高激发强度，获得更明亮的图像，特别适用于在体深层成像。

另外，奥林巴斯双光子专用物镜和扫描光路全部采用1600nm光学镀膜技术，从400 nm到1600 nm均有出色光效率。



具有激光光轴自动对准的人性化设计

波长调谐造成的激光漂移会导致激发光轴偏差，从而降低多光子成像质量。

FVMPE-RS可以实现精准的激光4轴自动对准。通过自动调整激光位置和倾斜角度，实现更高的激光功率和更准确的像素配准。

相关产品

Copyright 2026 EVIDENT, All rights reserved.



多光子激光扫描显微镜

FV4000MPE

- 获取从宏观尺度到亚细胞结构的精准定量图像数据
- 从单张多色图像中获取更多信息
- 通过高速成像监控神经元和其他重要动态变化过程

学习更多内容 ▸ https://www.olympus-lifescience.com/laser-scanning/fv4000MPE/

Copyright 2026 EVIDENT, All rights reserved.

Evident Corporation is certified to ISO 9001, and ISO 14001.

All specifications are subject to change without notice. All brands are trademarks or registered trademarks of their respective owners and third party entities. Evident and the Evident logo are trademarks of Evident Corporation or its subsidiaries.