山东农业大学大型仪器设备购置论证报告

申请单位名称 \*\*\*\*院

仪器设备名称 超高分辨率共聚焦显微镜

联 系 人 \*\*\*\*

联 系 方 式 137\*\*\*\*\*\*\*\*\*

2023年10月09日

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 设备名称  (进口设备要有中英文名称) | 超高分辨率共聚焦显微镜（Ultra-high resolution confocal microscopy imaging system） | 采购数量 | 1 |
| 单价（人民币） | 540万元 | 总价（人民币） | 540万元 |
| 经费来源 | “冲一流”建设经费 | 采购方式 | 公开招标 |
| **设备基本情况** | | | |
| 1.设备功能、技术参数、配置要求及应用等  **设备功能：**  超高分辨率共聚焦显微镜生物学研究中不可缺少的重要仪器，主要用来进行组织和细胞中荧光标记的分子和结构检测，荧光强度信号的定量分析，荧光漂白及恢复实验以及其他生物学应用。  该设备用于获取清晰的高质量的以及超高分辨率的共聚焦荧光图像，可用于观测固定细胞，活细胞，动植物组织的深层结构， 得到清晰锐利的多层Z 平面结构 （光学切片）。  **技术参数：**  1. 激光器部分  1.1 全部采用固体激光器，保证出光纤口的激光功率足够荧光激发；  二极管激光器405nm：额定功率≥30mW，光纤末端入扫描头前最低功率≥14mW；  二极管激光器445nm：额定功率≥30mW，光纤末端入扫描头前最低功率≥7.5mW；  二极管激光器488nm：额定功率≥30mW，光纤末端入扫描头前最低功率≥10mW；  二极管激光器514nm：额定功率≥30mW，光纤末端入扫描头前最低功率≥10mW；  二极管激光器561nm：额定功率≥25mW，光纤末端入扫描头前最低功率≥10mW；  二极管激光器639nm：额定功率≥25mW，光纤末端入扫描头前最低功率≥7.5mW；  1.2 激光器波长覆盖从近紫外、可见光波段，单一谱线激光器可同时使用≥8条。  1.3 可见光激光器最低能量≤0.001%，最小调节精度≤0.001%。  1.4 激光器绝对值受监测并校准，激光器使用寿命内激光器输出功率恒定。  1.5 激光器远程维护可读取能量、寿命、温度、电流等参数。  1.6 激光器使用寿命不低于10000小时。  2 扫描模块  2.1 扫描器与显微镜一体化设计，一体化像差及色差校正。所有扫描器组件都直接耦合，无光纤连接。  2.2 扫描头，检测器，扫描模块中的电子部件，均采用液态制冷方式，动态反馈系统保证温度稳定，减少信号干扰。  2.3 独立的405激光校正，保证其与其他激光在XYZ精确吻合。  2.4 主分色镜采用双转轮设计，＜13°小角度入射二向色镜分光或AOBS，最高可达100种激发光谱线组合方式。  2.5 复消色差针孔，针孔大小可直接软件调节，调节范围0.0-8Airy units。  2.6 扫描振镜数量≤2，采用超快线扫及帧飞回技术。扫描模式为绝对线性扫描，保证激光在每个点驻留时间相同，适用于任何定量实验。扫描头回转时间短，≥85%的帧时间（frame time）有效地用于图像采样。  2.7 扫描方式：xy，xyz，xyt，xyzt，xz，xt，xzt，spot-t，xλ，xyλ，xyzλ，xytλ，xyztλ，xzλ，xtλ，xztλ，直线扫描，任意曲线扫描，剪切扫描。  2.8 可以在预览扫描状态下进行同方向360°任意旋转扫，在0-360度之间的调节精度为0.1度。同时可以变倍以及移动扫描区域的中心。旋转、变倍、移动中心均可以实时（扫描过程中）进行。  2.9 扫描光学变倍可以做≤0.7x的变倍扫描，且变倍连续可调；  2.10扫描分辨率：可以在32 x 1至8000x 8000之间自由选择。同时扫描分辨率可自动匹配采样频率和分辨率。  2.11扫描速度38档可调，可同时满足以下面扫描速度指标：≥13幅/秒（512x512像素，16位）；≥420幅/秒（512x16像素，16位）；≥25幅/秒（256x256像素，16位）；线扫描速度≥6800线/秒（512x1像素，16位）；  2.12 荧光检测器个数： ≥4个；荧光检测器类型，1个GaAsP超高灵敏度检测器，1个由32个GaAsP组成的大靶面超高灵敏度检测器； 2个PMT检测器；透射光检测单元1个，用于样品明场及DIC的透射激光成像。  2.13 荧光光谱分光系统，采用高效全息光栅实现线性分光，光谱检测范围380nm ~ 750nm。其中光谱循环系统，实现对分光中散射或折射的光谱信息再次回收进行分光，最大程度提升系统光效率。  2.14 荧光光谱分辨率及检测器调节精度：在全荧光检测范围内光谱分辨率≤3nm，全部荧光检测器调节精度≤1nm。  2.15共聚焦针孔采用复消色差校正，适合短波长（如 405 nm）激光成像，调节范围0.0-8 Airy units。  2.16实时电子组件监控，控制显微镜、激光器、扫描模块和其它附件；通过实时电路进行数据采集和同步管理；过量采样读取逻辑电路；在采集图像的同时可进行。  3 超高分辨率部分  3.1 超高分辨率成像可使用激光器波段：405nm，445nm，488nm，514nm，561nm和639nm。  3.2 超高分辨率多通道成像：可以实现蓝绿、绿红、红及近红等多通道成像；其中蓝绿、绿红、红及近红等双通道成像无需切换荧光滤片，只需切换激光，实现高速双通道成像。  3.3 在一个实验中可实现蓝、绿、红、近红4种颜色超高分辨率成像。  3.4 超高分辨率快速模式成像速度可满足： ＞45幅/秒 （512\*512像素，16位）。  3.5 超高成像分辨率：分辨率XY方向上≤95nm，Z方向≤270nm，同时相较传统共聚焦提升4-8x灵敏度或信噪比。  3.6 获取超高分辨率图像的检测器采用由≥32个磷酸砷化镓检测单元组成的面阵列检测器，且同时检测成像点数量≥4个。  3.7 在实现超高分辨率成像时，为保证荧光收集效率，针孔必须≥1.25AU。  3.8 荧光样品选择：所有适合配置激光器激发的荧光样品都可以进行超高分辨率成像，无需选择特定的荧光染料。  3.9 超高分辨率成像深度：同一样品具有与共聚焦相同的超高分辨率成像深度,可达100um。  4 显微镜主机  4.1 研究型全自动正置显微镜，采用无限远光学系统，物镜目镜独立的双重（轴向、径向）色差校正。  4.2 显微镜内置电动调焦驱动马达，最小步进≤12nm。  4.3 全电动扫描台，行程范围≥130mm x 85mm，最大速度≥25mm/s，精度≤0.1 μm，重复精度≤1μm，绝对精度≤5 μm。  4.4 显微镜透射光源：12V 100W卤素灯，根据所用物镜，光源自动匹配适当亮度。显微镜反射荧光光源：白光LED光源（直接连接）激发光波长范围365nm-700nm，寿命≥20000h  4.5 荧光附件：复消色差荧光光路，长寿命金属卤素灯荧光光源，六位电动滤色镜转盘，电动光闸，含UV、B、G激发滤色镜组件。  4.6 全套微分干涉部件（DIC），有与不同数值孔径的物镜一一对应的棱镜。  4.7目镜一对：10X，视场数23。  4.8 物镜：  10x物镜，数值孔径≥0.45；工作距离≥2.1mm  20x物镜，数值孔径≥0.8；工作距离≥0.55mm；  40x物镜，数值孔径≥0.95；工作距离≥0.25mm  40x 物镜，数值孔径≥1.2；水镜，工作距离≥0.41mm  63x物镜，数值孔径≥1.4，油镜，工作距离≥0.19mm；  100x 物镜，数值孔径≥1.4，油镜，工作距离≥0.17mm  4.9 通过TFT电子触控屏系统控制显微镜并显示工作状态。  4.10专业显微镜系统专用防震台  5 软件部分及图像工作站  5.1 原装进口图像工作站一套：经共聚焦厂家验证其稳定性和匹配性。  5.2 硬件配置不低于以下要求： Intel® Xeon Gold 4核处理器，主频≥3.6 GHz，≥512 G SSD高速硬盘以及≥2个6TB SATA 7200 rpm硬盘，≧64GB内存，DVD刻录机，≥32英寸液晶显示器，分辨率≥3840 × 2160，Windows 10 Ultimate x64操作系统。  5.3 智能化光路设置：通过选择样品的染料标记，提供3种光路配置模式，一键自动设置所有的光路。  5.4 自动聚焦模块：自动寻找样品中的最佳聚焦位置，适用于透射光、反射光和荧光。  5.5 三维采集模块：用于设置及自动获取Z轴三维图像。  5.6 时间序列模块：用于设置及自动随时间获取动态图像。  5.7 景深扩展模块：用于全景深图像叠加运算和展示。  5.8 共定位分析模块：对多通道荧光图像中两个通道之间的共定位进行定量分析。包括共定位系数，曼德尔系数，皮尔森系数等。  5.9 REUSE功能。再次调用存储在每张图像里的所有的拍照参数来重现实验及进行精确对比。  5.10 三维图像处理：3D和4D图像渲染，有四种渲染方式（阴影、表面、透明及最大强度投影）并可进行不同渲染方式的结合（如透明结合表面渲染）；可实现三维空间的距离和角度测量；自定义式的3D和4D视频制作与导出。  5.11 交互式漂白，在进行图像采集的同时（包括连续扫描和时间序列实验），通过鼠标点击对指定任意区域进行漂白。适用于主动光活化实验、光转化实验或者快速光漂白实验等。  5.12 Z轴深度补偿功能，自动补偿由于样品深度增加造成的信号衰减。  5.13具有图形化的感兴趣区域荧光强度平均值分析，实时或在扫描完成后显示和计算离子浓度。  5.14 裁剪功能，灵活地选择扫描区域。  5.15 光谱扫描及拆分功能，可以去除自发荧光，及荧光串扰。  5.16 图像分析功能：具备直方图分析和任意线的序列测量，长度、角度、面积、强度等的测量；定量的共定位分析；可根据要求编辑测量程序，对自定义的类和子类进行图像分割、计数和面积、强度等的测量，并将结果以表格、列表和散点图/直方图形式显示；可进行批量图像分析。  5.17 图像与视频导入/导出：适用于所有常见的文件格式（如：JPEG, BMP, TIFF, BigTIFF, PNG, WDP, SUR, AVI, WMF, MOV, OME-TIF, ZVI）。  5.18 图像反卷积处理功能：提供≥3种图像反卷积（Deconvolution）方式用于图像处理，提高图像的信噪比、对比度和分辨率。  5.19多位点及大视野拼图模块：可对任意形状的预设区域进行拼图扫描以及根据位点列表进行多点成像，支持聚焦校正地图、拼接以及阴影校正；支持自定义多孔板及各种样品载具规格，多种模式设定获取图像的多个位点。  5.20 显微图像分析处理软件，可视化和分析多维图像，该软件对超过数 TB 的大型数据有很强的性能，包含体积分析功能，例如高级分割、对象分类和报告生成。  5.21可分析小物体（如：粒子跟踪）或大物体（如：细胞核，细胞，生物）随时间的移动。随着时间的推移在三维结构中识别感兴趣结构，可看到活细胞的动态并定量比较和量化各种活细胞参数。 | | | |
| 2.同类设备市场情况简介（原则上提供三个及以上品牌、价格、市场占用率等）  超高分辨率激光共聚焦显微镜目前国内尚无生产。国外供货厂商主要有德国蔡司公司(ZEISS)、德国徕卡公司（LEICA）、日本奥林巴斯公司（OLYMPUS）。   |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | 品牌 | 蔡司 | 徕卡 | 奥林巴斯 | | 型号 | LSM980 | STELLARIS 8 | FV3000 | | 价格 | 540万 | 580万 | 250万 | | 主要技术参数1 | 激光器：采用单模保偏光纤，典型动态范围 ≥10000:1；直接调制≥ 500:1  二极管激光器405nm：额定功率≥30mW，  二极管激光器445nm：额定功率≥30mW，  二极管激光器488nm：额定功率≥30mW，  二极管激光器514nm：额定功率≥30mW，  二极管激光器561nm：额定功率≥25mW，  二极管激光器639nm：额定功率≥25mW | 固态激光器405 nm  固态激光器445 nm  固态激光器488 nm  固态激光器514 nm  固态激光器552 nm  固态激光器638 | 固体激光器LD lasers:  405nm: 50mW,  440nm: 25mW,  445nm；25mW  473nm: 15mW,  559nm: 15mW,  635mW, 20mW | | 主要技术参数2 | 光谱分光：采用高效全息光栅实现线性分光，光谱检测范围380nm ~ 750nm。其中光谱循环系统，实现对分光中散射或折射的光谱信息再次回收进行分光，最大程度提升系统光效率。 | 传统的棱镜分光，分光精度为5nm | 光栅分光，分光精度为2nm | | 主要技术参数3 | 扫描头绝对线性扫描运动，回转时间短，>85%的帧时间 | 震荡扫描 | 震荡扫描 | | 主要技术参数4 | 荧光检测器个数： 4个；荧光检测器类型，1个GaAsP超高灵敏度检测器，1个由32个GaAsP组成的大靶面超高灵敏度检测器； 2个PMT检测器；透射光检测单元1个，用于样品明场及DIC的透射激光成像。 | 荧光检测器配4个，两个HyD，两个PMT，透射光检测单元1个 | 荧光检测器类型，2个GaAsP超高灵敏度检测器， 2个PMT检测器，透射光检测单元1个 | | 主要技术参数5 | 超高分辨率检测器：采用由32个GaAsP（磷酸砷化镓）-PMT组成的高灵敏度面阵列探测器，实现xy方向90nm分辨率 | 采用软件反卷积计算的方式实现超高，徕卡真正的超高是利用STED硬件检测器成像，通过缩小针孔实现XY方向120nm分辨率 | 采用软件反卷积计算的方式实现超高，通过缩小针孔实现XY方向120nm分辨率 | | 主要技术参数6 | 单独配置原厂显微图像分析处理软件，可视化和分析多维图像，该软件对超过数 TB 的大型数据有很强的性能，包含体积分析功能， | 处理软件本品牌非常简单，需要单独配置第三方，但是操作和兼容性都不好 | 没有单独的后期分析软件，只能配第三方，操作和兼容性都不好 |   综上所述，蔡司公司超高分辨率共聚焦显微成像系统在技术上及成像效果上具有显著优势，其产品成熟度与应用灵活性更高。  蔡司公司的LSM 980 with Airyscan 2是最新一代的超高分辨率成像设备，有较大的优势。LSM 980 with Airyscan 2具有以下众多的独有设计功能：   1. 激光器部分   ZEISS 在显微镜系统的各个环节都投入了大量的高端技术和创新。激光器各条谱线都可以通过软件控制开关和能量调节，最重要的是：新一代共聚焦整体的激光器全部为新一代的固态激光器，使用比较低的功率激发出更好的样品图像，延长激光器的使用寿命，能达到10000小时，比上一代提高了5倍；  1）蔡司最优化的激光耦合技术和全光路的色差校正技术。其最高质量的高通光率光学器件，保证了光信号损失最小，图像信噪比最高。没有出现光路中严重的激光散射和损失，避免了激光器的高功率激光热效应等对光学，精密镀膜元器件的损伤，保证了系统稳定性和寿命最大化。在这一方面，ZEISS远远优于任何对手。  2）10度小角度入射的主分光镜，带有优异的激光噪音抑制技术（OD 6-7）的高级光路设计产生最高的检测效率。  3）采用光栅线性分光，具有减少信号损失的循环光路设计，光谱范围370-760nm，具有减少信号损失的循环光路设计。  2. 超高分辨率共聚焦显微成像系统扫描单元部分  超高分辨率共聚焦显微成像系统中的扫描头部分是决定一个系统的荧光收集，以及光刺激等操作是否准确，高效的关键部分。ZEISS 以其优异的设计和最高的光学品质给予了保证，其扫描头部分多次赢得R&D发明设计大奖。详细描述：  1）蔡司的扫描方式是线性的。线性扫描“linear scan”是confocal成像中最精确的扫描方式，它能够保证每个像素的曝光时间相同，可以用来进行精确的定量拍摄和分析。ZEISS使用精确的“线性扫描”成像方式，各像素曝光时间相同，由于扫描头的精确控制，85%的时间用来成像，比“正弦扫描/共振扫描”的像素停留时间多66%，信噪比高29%。 同时速度达到13fps@512\*512像素。  2） 可以实时扫描头位置矫正，保证扫描精度。  激发光斑之所以能够在样品上来回移动是因为有一个振镜在不断的进行扫描，为了提高扫描速度，会采用双向扫描的方式来减少回程中的时间损失。ZEISS 独创性的使用了专利技术，来对扫描头进行实时的检测和矫正，保证图像结果的准确可靠。  3. 超高分辨率模块  1）没有任何样品限制，适用于所有共聚焦成像常用样品和荧光染料. (而样品限制是其他超高技术最大的问题)  2）在厚样品中也能有非常好的成像效果. (~100um 对比于 其他技术的20um )  3）容易在一个实验中进行多色实验（其他超高技术多数只能做2色，3色非常困难）。  4）可以视为一个特殊的检测器来进行FRAP FRET 实验. (其他技术大多只能进行图像拍摄)  5）线性数据处理模式，数据准确可靠，可以用于对比实验和定量分析.  6）可以使用共聚焦显微镜本身所有的激光器，并适用于普通共聚焦成像所有染料.  蔡司的LSM 980 with Airyscan 2方案具有光学成像质量优异、自动化程度高、系统维护保养方便等特点。  其他厂家的超高分辨率技术在样品选择、成像速度、成像质量（综合信噪比与分辨率）上都有诸多限制，对于公共成像平台而言，应用广泛性不如Airyscan技术。  蔡司产品质量性能在同类产品中都是最好的，在我们学校医学院、生科院、微生物重点实验室等单位有很多台蔡司的同类设备，运行使用都很好但从性价比来看蔡司产品还是很有优势的。售后服务方面据了解，蔡司在山东有专门的售后服务工程师以及技术应用工程师，在共聚焦的使用和维护上能够提供最快的支持，而其他厂家在共聚焦产品上目前了解在山东服务人员设置不如蔡司。 | | | |
| 3.采购设备为进口设备的，请勾选有关选项，并明确阐述采购进口设备原因  ☑中国境内无法获取：□无法以合理的商业条件获取：□其他  原因阐述：  目前，国内暂无厂家可以提供超高分辨率共聚焦显微镜。 | | | |
| 4.本单位同类设备使用情况（设备数量分布、预约共享等情况）  目前，本单位有1台Leica SP5激光共聚焦显微镜，但因组件损坏，处于不可用状态。 | | | |
| 5.校内同类设备使用情况（设备数量分布、预约共享等情况）  目前，本校共有7台激光共聚焦显微镜正常运转，分别位于动科院2台，农学院1台，植物保护学院1台，国家重点实验室3台。其中仅有2台配备超高分辨率模块，其使用机时数均超过1800小时/年，仪器使用频率高，预约困难，已影响到正常的科研工作进度。因此，本单位申购一台超高分辨率共聚焦显微镜供单细胞生物学平台使用，该仪器可与平台其他仪器共同组成完整的单细胞分析测试流程。同时，仪器面向全校科研人员预约共享。 | | | |
| 1. 设备购置的必要性（学科发展、平台需求、支撑科研教学、社会服务情况等）   超高分辨率共聚焦显微镜是单细胞生物学平台建设计划中的重要组成部分。单细胞生物学平台作为我校作物学学科下设的分析测试平台，采用并开发国际领先的单细胞生物学技术，为解决我校作物学发展过程中遇到的重要生物学问题，如优质性状关键基因挖掘，种质资源精准改良等提供新的视角和机遇。  单细胞生物学平台采用的分析测试技术是在单细胞或单一细胞类型水平上，采用高通量、高精度的单细胞研究技术与方法，进行动植物细胞遗传、表观遗传分析与生化代谢特性分析的前沿热点技术，其分析流程可分为单细胞基因组学和单细胞生物学验证两大部分。其中针对单细胞组学分析出的数据进行生物学验证是单细胞生物学实验的重要环节。该环节中，超高分辨率共聚焦显微镜是必备的仪器之一。该仪器可以以无损的方式对样品进行断层扫描和成像，观察和分析细胞的三维空间结构，显示并追踪荧光标记基因的表达和变化等。这些数据很好的补足了单细胞基因组学实验在时空维度上的不足，是本平台建设的必备设备之一。  目前，我校的许多科研教学工作都需要显微成像技术的支持。本平台申购的超高分辨率共聚焦显微镜是具有国际前沿技术的光学显微成像设备，能够满足我校高水平作物科学的研究需求，为开展植物显微成像的教学工作提供助力，同时可以培养具有相关技术能力的大学生。 | | | |
| 7.现有支持条件说明（明确设备安装地点、设备管理人员、配套设施、运行环境、是否参加共享等信息）  所属平台名称：  安装地点： 岱宗校区 国重楼 B129房间  安装环境（水电、承重等）：该实验室内现有的水电气设置都能满足设备的需要，无特殊要求。  配套设施（空调系统、通风系统等）：所申购的设备配套齐全，无需特殊保障。  人员配备（人员数量、岗位类型、专兼职情况等）：三人，一人负责操作，一人负责安全管理和培训，一人负责售后维护。  安全管理（安全设施配套与制度）：无特殊要求，对环保和安全无影响。 | | | |
| 1. 使用效益预测与共享实施方案   共享实施方案：该仪器操作简单，自动化程度高，可开放共享。  年使用机时预测：2000小时/年  全年开机时间：必要的开机准备时间+测试时间+必须的后处理时间 = 2300小时/年  申请人（签字）： | | | |
| 9.申购单位意见：  该申购设备，是否符合本单位学科发展 ☑是 □否  是否纳入单位规划 ☑是 □否  是否支持开放共享 ☑是 □否  是否具备场地人员条件 ☑是 □否  是否同意申购等 ☑是 □否  其他意见：  主管领导（签字） （单位盖章）  年 月 日 | | | |
| 10.学校大型科研仪器设备论证专家组评议意见：  单细胞生物学是近年来迅速发展的国际前沿学科，单细胞生物学平台的建设对学校作物学发展具有极大的推动作用。在本次论证会上，专家组在听取汇报和现场问询的基础上，对该平台申购的超高分辨率共聚焦显微镜的技术参数和购置必要性进行了充分论证，认为超高分辨率共聚焦显微镜可以以无损方式对植物组织进行超高分辨率水平上的三维成像，所产生数据可对单细胞组学数据分析的候选基因的机制研究提供可靠的细胞和亚细胞水平的证据。设备选型合适，性能突出，具备前瞻性，预算合理，开放共享程度高，预期使用频次高，能够对学科发展、人才培养、科学研究等形成有力支撑。  经过论证，专家组一致同意申报单位购置该仪器设备。  专家签字：  专家组组长：  年 月 日 | | | |