

雷射掃描共軛焦光譜顯微鏡

Laser Confocal Scanning Microscope

【儀器原理及功能】

從一個點光源發射的探測光通過透鏡聚焦到被觀測物體上，如果物體恰在焦點上，那麼反射光通過原透鏡應當匯聚回到光源，這就是所謂的共聚焦，簡稱共焦。共焦顯微鏡在反射光的光路上加上了一塊半反半透鏡（dichroic mirror），將已經通過透鏡的反射光折向其它方向，在其焦點上有一個帶有針孔（Pinhole），小孔就位於焦點處，擋板後面是一個光電倍增管（photomultiplier tube, PMT）。可以想像，探測光焦點前後的反射光通過這一套共焦系統，必不能聚焦到小孔上，會被擋板擋住。於是光度計測量的就是焦點處的反射光強度。其意義是：通過移動透鏡系統可以對一個半透明的物體進行三維掃描。這樣的構想，是在1953年，美國學者Marvin Lee Minsky提出，經過了30年的發展，才利用雷射為光源，發展出符合理想的共軛焦顯微鏡。

【儀器說明】

1. 廠牌及型別：Leica TCS SP5
2. 配備：
 - 雷射共軛焦掃描系統
 - 共軛焦專用倒立式顯微鏡(含電動XYZ載物台)
 - 數位影像量測分析系統
3. 儀器性能：解析度最高8K x 8K pixels
4. 螢光顯微鏡目鏡：10X
5. 螢光顯微鏡物鏡：
 - 10X- FLUOTAR等級，一般玻片或培養皿適用。
 - 20X-長工作距離FLUOTAR等級，培養皿適用。
 - 40X-長工作距離FLUOTAR等級，培養皿適用，另有DIC組配。
 - 40X-APO等級油鏡，需使用0.17mm玻璃蓋玻片，另有DIC組配。
 - 63X-APO等級油鏡，需使用0.17mm玻璃蓋玻片，另有DIC組配。
 - 63X-APO等級甘油鏡，需使用0.13-0.21mm玻璃蓋玻片。
 其中40X、63X油鏡，甘油鏡適用405 nm雷射。
6. 雷射共軛焦掃描系統可激發之螢光波長為405 nm、458/476/488/514 nm、561 nm、633nm。激發波長為上述雷射附近之螢光染劑均適用。
7. 共有3組螢光偵測光電倍增管(PMT)可同時擷取3組螢光影像與1組穿透光影像。

【服務項目】

1. 螢光半定量分析、量測功能 (Fluorescence quantification)。
2. 多重螢光影像擷取 (Multiple fluorescence Image)。
3. 細胞間聯繫偵測 (Cell communication)。
4. 三維影像重組 (3D restructure)。
5. 釋出螢光光譜掃描 (Lambda scan)。
6. 螢光雜染原位分析 (Colocalisation)。
7. FRAP, FLIP, FRET。

【申請辦法】

1. 請在預定使用日前3-10天，至生物農業科技學系預約登記。
2. 填寫『試驗申請委託單』，並至出納組繳費，以繳費收據確認上機時間。
3. 服務時間週一至週五：每日上午9時至12時，下午2時至五時。預約時段以3小時為一單位。
4. 經預約排定時間後，若因故未能使用，請務必事先告知取消。若經二次預約登記而未使用者，則停止使用權利一個月。

【收費標準】

為確保本儀器最佳服務品質，以及增加其有效服務年限，使用本儀器之個人或單位，均必需分擔本儀器使用之耗材、維修、及操作人員服務所需之費用。配合教學研究計畫之使用或示範亦需收費。

1. 校內收費標準：上機費用700元/小時。
2. 校外收費標準：上機費用1200元/小時。
3. 收費方式：填寫『試驗申請委託單』，並至出納組繳費，以繳費收據確認上機時間。

【連絡人】

儀器負責人：生物農業科技學系 吳希天 助理教授 校內分機 7767

技術員：(研究生)

【儀器室地點】

生物農業科技大樓二館(A-33) 2F 顯微鏡室

【使用準備須知】

- 1.參加本系舉辦之「雷射共軛焦顯微鏡訓練課程」，經考核通過方能獲得使用權限（原則上以寒暑假期間各開一次訓練課程）。
- 2.請自備CD-R光碟片存取所需之影像圖檔，禁用隨身碟或磁片。
- 3.本儀器以處理一般組織或細胞樣本為主，若須進行其他具感染性樣品實驗，須先與儀器諮詢老師討論。
- 4.本儀器開機和關機時，請依所附標準流程操作。
- 5.儀器使用完後，請保持儀器之清潔和清理操作台面，並於登記簿上記錄使用情形。
- 6.儀器發生故障時，請儘速告知技術人員，勿自行拆裝儀器，並請將儀器故障情形，詳細記錄於故障登記簿。
- 7.因個人因素所造成之儀器損壞，請由個人負擔維修相關費用。
- 8.本項儀器之收費標準僅計算耗材成本，不含儀器購置、維護等費用。請確認您的樣本準備良好，若並非儀器故障導致實驗結果不良，使用者仍必須依收費標準付費。

雷射掃描共軛焦光譜顯微鏡

Laser Confocal Scanning Microscope



Laser Confocal Scanning Microscope