

雷射掃描共軛焦光譜顯微鏡

Laser Confocal Scanning Microscope

【儀器原理及功能】 【正常】

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×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 405nm 雷射。

- 雷射共焦掃描系統可激發之螢光波長為 405nm、458/476/488/514 nm、561nm、633nm。激發波長為上述雷射附近之螢光染劑均適用。
- 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】

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

【申請辦法】

- 請在預定使用日前 3-10 天，至生物農業科技學系預約登記。
- 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。
- 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。
- 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。

- 校內收費標準:上機費用 700 元/小時。
- 校外收費標準:上機費用 1200 元/小時。
- 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。

【使用準備須知】

- 參加本系舉辦之「雷射共焦顯微鏡訓練課程」，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。

【聯絡方式】

農業生物科技學系暨研究所 吳希天教授 電話：05-2717767

【儀器室地點】

國立嘉義大學農業生物科技學系精密儀器室

【儀器之 JPG 圖檔】

