

高雄榮總鐳射共軛焦顯微影像分析服務儀器功能說明

共軛焦顯微鏡 (Zeiss LSM 5 Pascal Confocal microscopy) 影像分析功能及原理:

幾何光學上，光源的焦點、顯微鏡物鏡的焦點（光在樣品內部的焦點）和針孔（pinhole）及偵測器（如:光電倍增管）的焦點位置互相對稱（落在同一焦點上）稱之為：共軛焦。只有對焦的（焦點在針孔位置）的光線才能通過針孔返達偵測器，不對焦的光線以及樣品探測點外散射光的干擾都被被屏蔽掉，而形成單一偵測點的完美影像。樣品在聚焦平面的二維影像（X-Y）可經由對樣品進行水平平移掃瞄得以重現。光學切片術之三維影像，則是加上在垂直方向（Z-方向）的細微掃瞄，所得之訊號再經電腦分析處理與影像重組呈現。共焦掃描顯微鏡極大之優點就在：其光學斷層掃描不需將樣品實際切片，就可利用清楚顯示樣品內部（厚度可達 10 mm）。

儀器設備內容：

1. 顯微鏡：電動倒立式機身
2. 雷射波長：405、458、477、488、514、561、633 nm
3. 螢光濾片：DAPI、FITC、Rhodamine、CFP、YFP、CYFRET
4. 影像偵測器：一般螢光偵測器(x2)、穿透光偵測器
5. 物鏡倍率：10x、20x、40x、100x(oil)

應用範圍 (以下皆為玻片樣本)：

1. 多重免疫螢光標定或螢光蛋白標定之樣本。
2. 以光譜式螢光偵測器分析相近波長之染劑與螢光蛋白質。
3. 需 3D 影像擷取與動畫呈現之樣本。
4. 短時間活體影像擷取。
5. Photo Bleach、Photo Activation、Photo Conversion、FRET 實驗。
6. 量測分析：空間量測、螢光亮度分析、Histogram、Profile、Colocalization。

開放時間：

1. 正常上班時間(週二至週五（週一為休機日），9:00-12:00 & 13:30-17:30，例假日除外)。
2. 欲操作機器者須經過考試認證後及並遵守其使用規範，才可預約並使用機器。

儀器使用規則：

1. 需一週前登記。預約後因故無法使用，須於前一日取消預約。
2. 請先於一般螢光顯微鏡上作初步觀察，確認樣本製備優良再送件，以免浪費時間、金錢與公用資源。
3. 請自備空白光碟片(禁止使用隨身碟)存取個人實驗資料。管理人將不定期無預警清空電腦硬碟所有資料夾中所有檔案。

儀器管理人：

教研部基礎醫學研究科 王伶藺 (Tel：3422121#1560, E-mail：linllwang@vghks.gov.tw)