

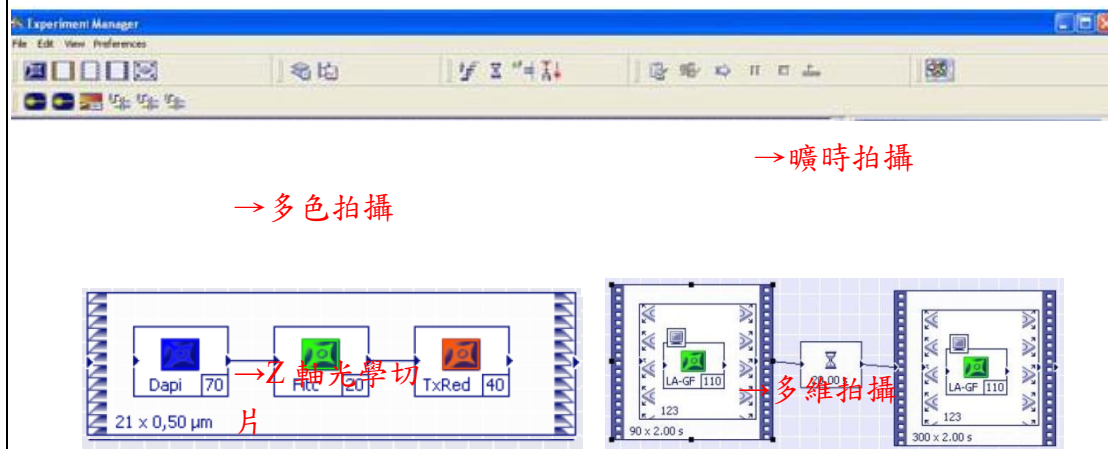
科技部生科司 110 年「生技醫藥核心設施平台」

計畫名稱：生醫光學影像核心平台

一、儀器名稱
全內反射螢光顯微影像系統
二、儀器負責人
邱文泰 老師 (電話：06-2757575 分機 63435) E-mail：wtchiu@mail.ncku.edu.tw
三、儀器技術員/連絡窗口
技術員：黃邑筑 小姐 (電話：06-2353535 分機 4931) E-mail：bioimagecorefacility@gmail.com 相關資訊： http://bioimage.med.ncku.edu.tw/
四、儀器設備/功能
<p>本機配備 3 個物鏡鏡頭[60X(oil)、100X(oil)、100X(special oil)]，兩支不同波長雷射[491 nm、561nm]，配有 TIRF 專用螢光濾片組可同步擷取 2 組螢光影像與 1 組 DIC 影像，並搭配 Xcellence 影像擷取處理系統。</p> <p>配合全自動螢光顯微鏡和 Xcellence 操作軟體，全內反射螢光顯微影像系統可進行細胞膜蛋白與細胞膜動力學的觀察、全內反射螢光訊號擷取、細胞內訊息傳遞記錄、細胞間溝通機制、細胞移動觀測、胞吐及胞噬作用觀測、非侵入式 Z 軸光學空間偵測。利用 Xcellence 分析軟體，可進行螢光 3D 影像重組、deconvolution 運算、螢光強度變化、螢光能量共振轉移、colocalization 等分析。</p>
五、儀器特色
<p>全反射現象是指光線進行全反射，以電磁波的觀點來看，在發生全反射的介面，電磁場會透入一小段距離，我們叫這個電磁波為漸逝波(evanescent wave)。因漸逝波強度成指數衰減，如果在非常靠近介面的地方有螢光分子，漸逝波仍然有能力去激發這個螢光分子，因而產生螢光發散。漸逝波分佈的區間我們稱為 evanescent field 漸逝區間，其深度大約為 200 nm。利用漸逝波範圍可以用來觀察貼附於靠近蓋玻片 200 nm 以內所發生的螢光訊息，例如表現於細胞膜附近的螢光標定之 focal adhesion 蛋白。因此，全內反射螢光顯微影像系統有下列幾個優點：(1)於細胞模式應用時可避免細胞整體其他螢光訊號的干擾，而得以提升影像 S/N ratio，以得到清晰的細胞表面淺層訊號；(2) 觀察貼附於蓋玻片上之細胞膜行為，例如：胞吞、胞吐作用、細胞貼附及爬行過程、蛋白運送(protein trafficking)、細胞膜受體(receptor)與接合子(ligand)的反應等；(3) 配備有 Z 軸漂移補償裝置 ZDC，利用連續自動對焦模式，可以長時間保持正確的焦距，避免因為因溫度變化、灌入或添加藥劑而產生的焦距漂移而造成影像失焦。</p>

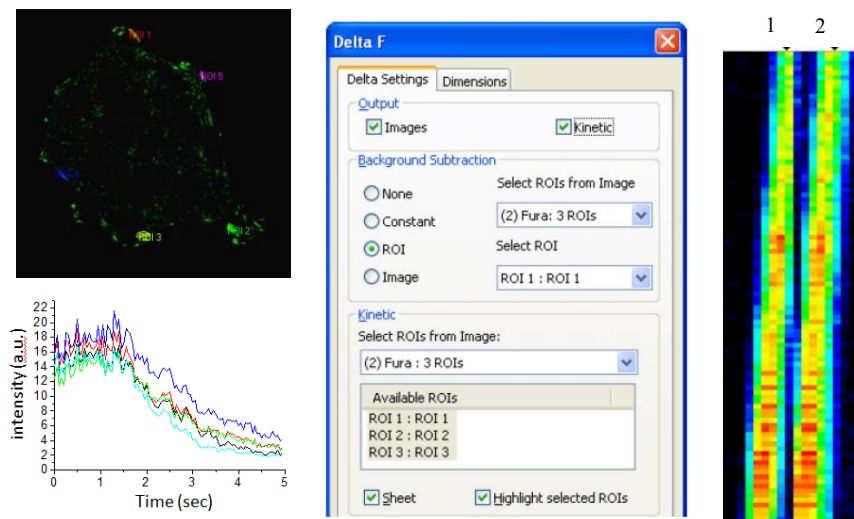
下圖為全內反射螢光顯微影像系統拍照與分析應用實例：

1. 影像拍攝實驗設計：利用軟體介面設計多種拍攝模式之實驗。



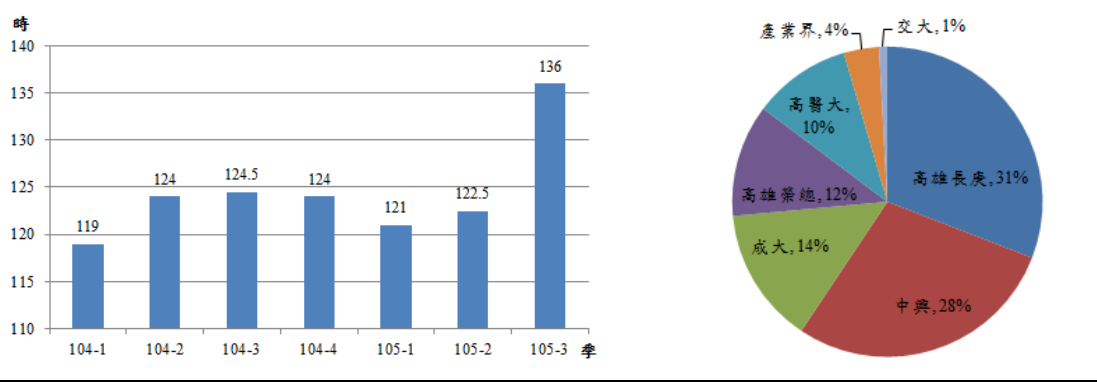
2. 影像分析-計算影像強度分析：

定義欲分析之面域或線性區域，進行影像強度分析



六、儀器使用狀況/對象

本儀器系統皆完全對外開放，對於校外使用機關並無特殊設限。
104-105 年度全內反射螢光顯微影像系統使用時數統計表及使用者單位分佈圖如下。



七、技術員服務內容

技術員將每三個月舉辦一次儀器訓練課程，提供使用者了解儀器原理及操作規則，並配合一站化服務提供使用者最佳實驗參數設計、樣品製備、專業技術諮詢與代工操作。一站化服務包括三種層次服務流程，使用者直接與技術員接洽實驗設計、樣品製備及影像分析，並由技術員代工操作以完整取得影像數據。

八、期許與展望

全內反射式顯微鏡具有著很多特別的優點，包括奈米等級的縱向解析度，高訊號/背景比，架設容易便宜，可以和其他的光學方法容易結合等等。因此，在細胞和單分子的顯影與偵測上，全內反射式顯微鏡都占有相當重要的應用價值。