

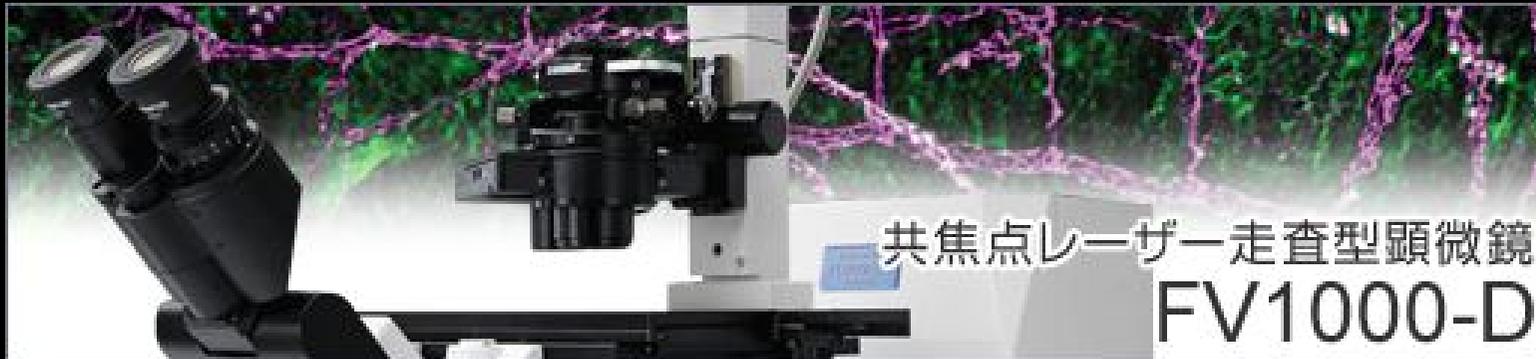
共軛焦顯微鏡之應用



FV1000-D

元利儀器 易德明

共軛焦顯微鏡介紹

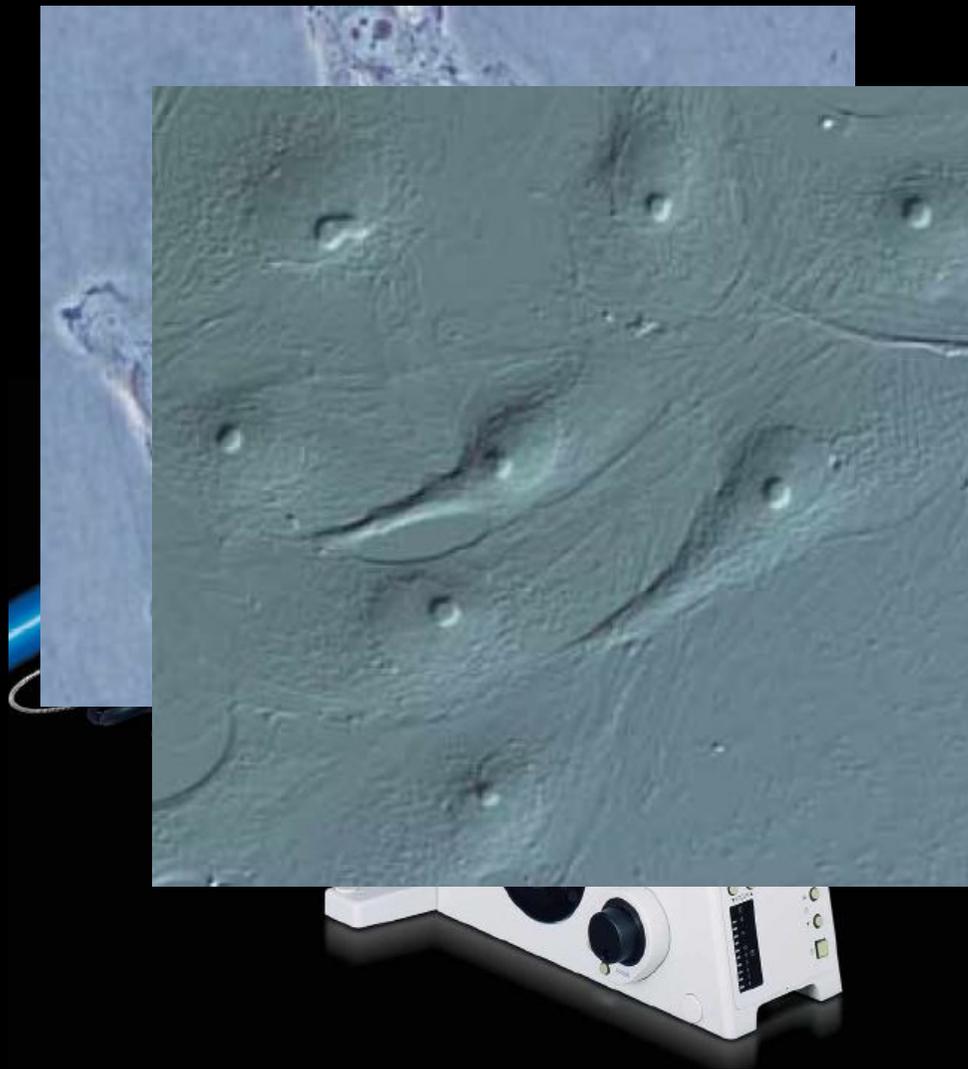


- 儀器設備簡介
- 注意事項
- 共軛焦之應用

FV1000-D設備簡介

- 電動顯微鏡與共軛焦掃描器
- 四雷射耦合系統
- 電動XY載物臺
- 載物臺型CO₂細胞培養箱
- 氣壓式防震桌

電動倒立式顯微鏡



全電動控制：

可由軟體或控制面版操作

目鏡觀察法：

藍綠紅三色螢光以及

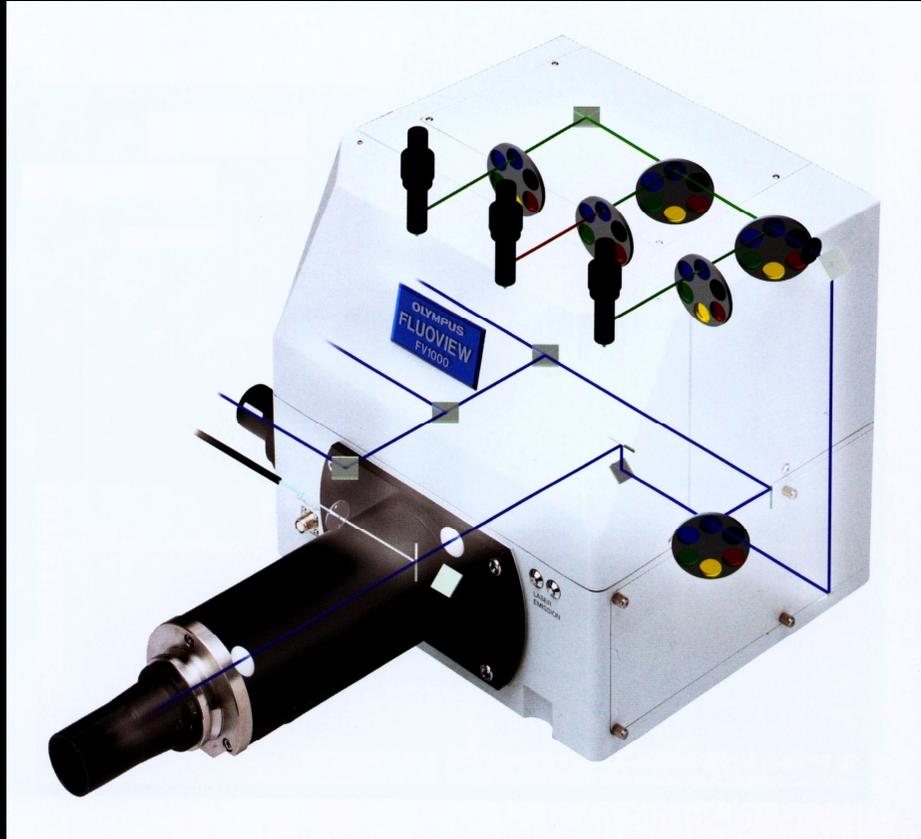
DIC影像

雷射對焦系統：

確保長時間觀察

無離焦影像

共軛焦掃描器



螢光感測器:

**3 PMT for
fluorescence**

最高解析度:

point to 4096 x 4096

速度:

16 fps (256 x 256)

光學放大: **1x ~ 50x**

4雷射耦合系統

➤ 雷射波長

405nm

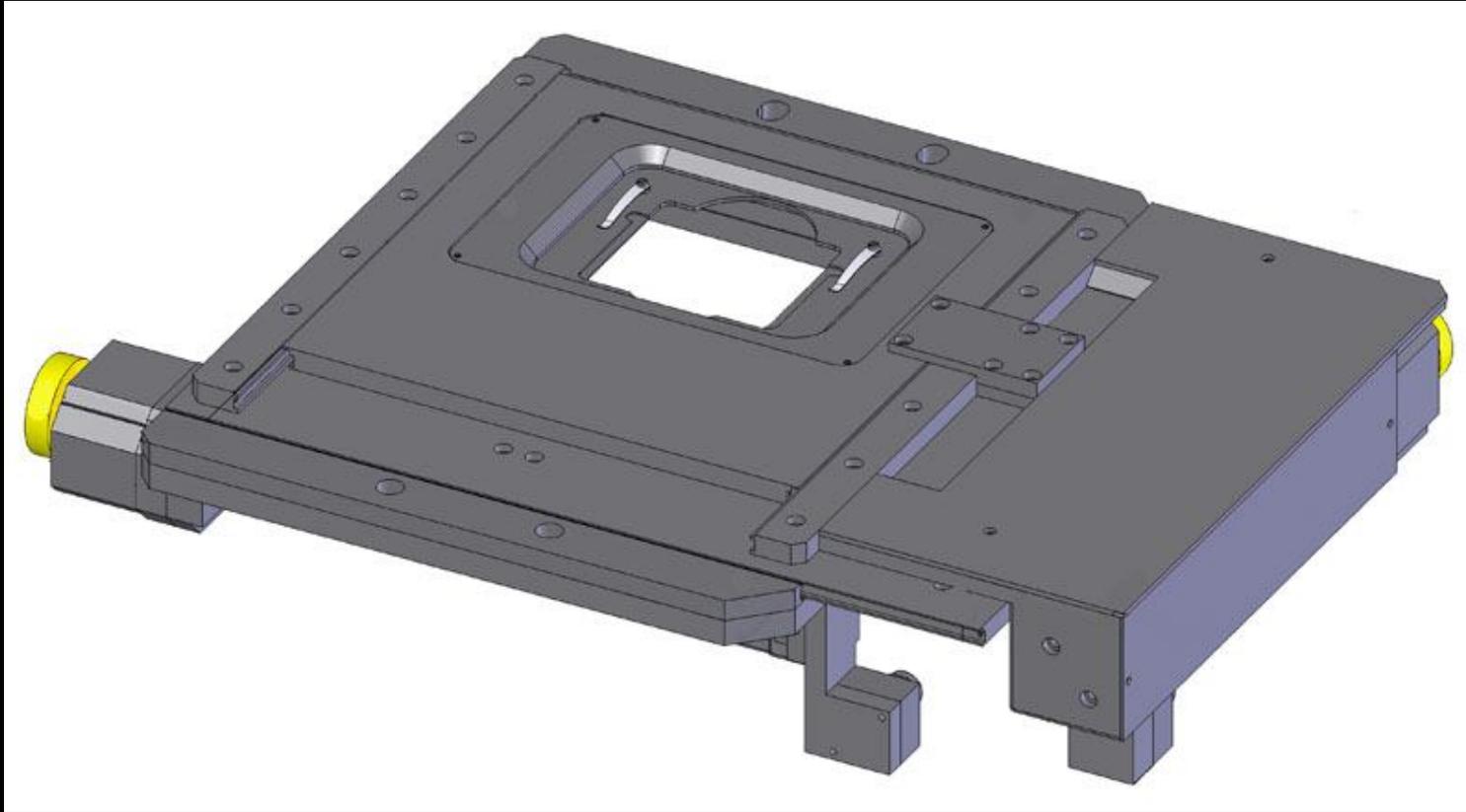
473nm

543nm

635nm



電動XY載物臺



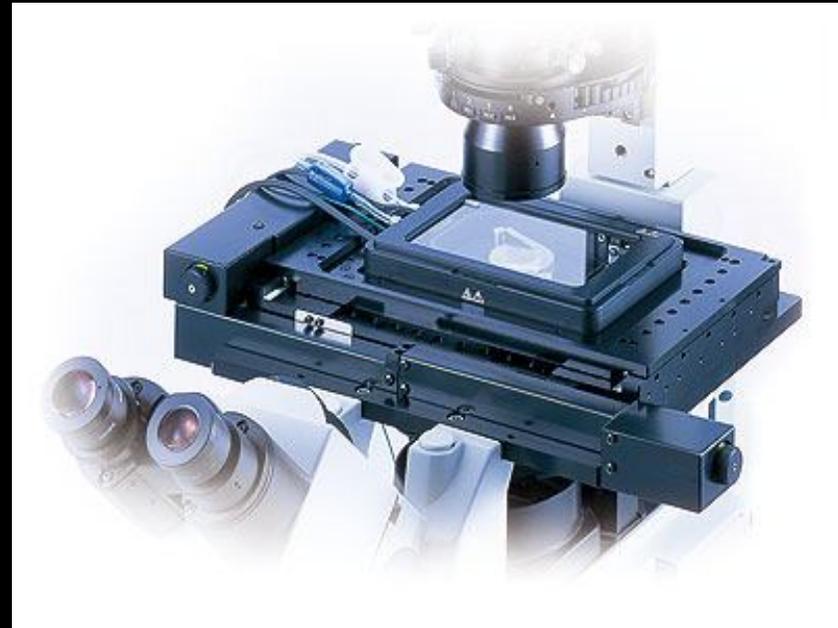
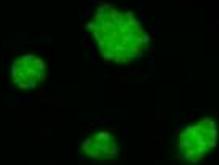
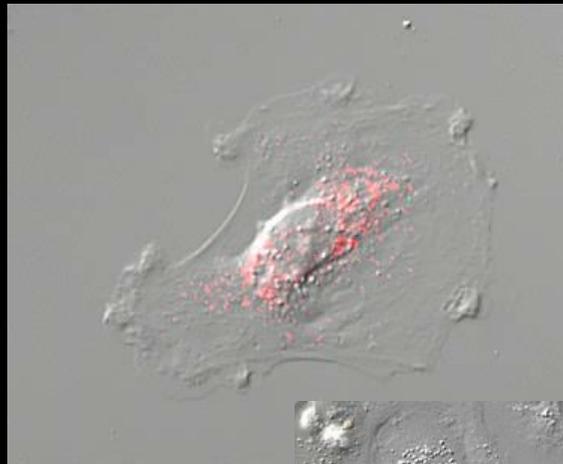
移動範圍:

112 x 74 mm

適用樣本:

Slide, 35 & 50mm dish

載物臺型細胞培養箱



控溫部件:

Stage, 水浴槽, 上蓋, 鏡頭

適用樣本:

**Slide, 35 mm dish,
chambered cover glass**

氣壓式防震桌

OLYMPUS®



主動式防震:

維持長時間觀察穩定的影像

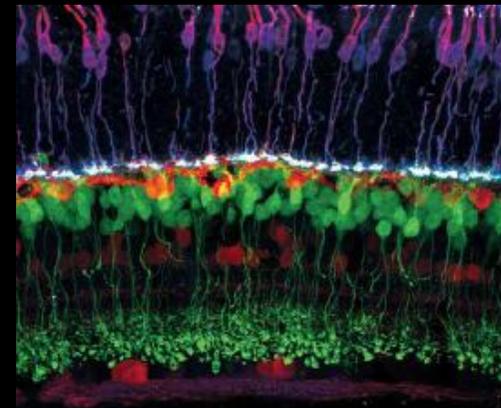
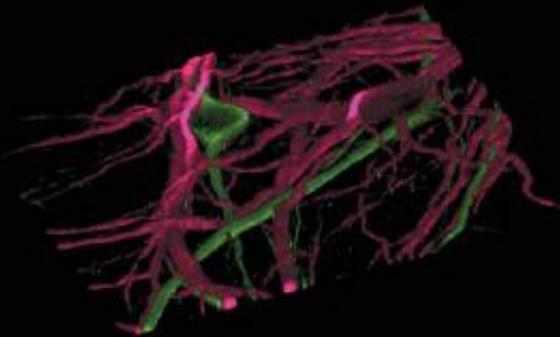
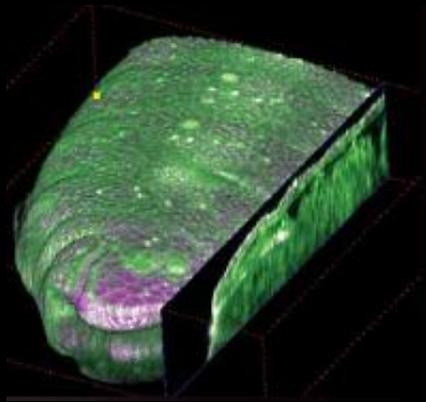
注意事項

- 系統對應之螢光染劑
- 活細胞觀察事項
- **FRET-pair**之挑選



對應之螢光染劑

- **LD405** **DAPI Hoechst**
- **LD473** **EGFP FITC Alexa 488**
- **HeNe543** **RFP Rhodamine MitoTracker**
- **LD635** **Cy5 Alexa 635**



活細胞觀察

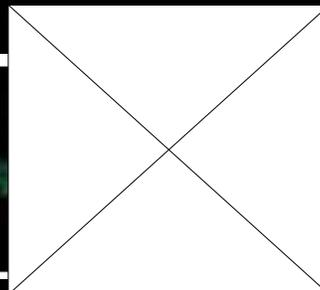
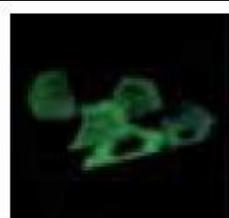
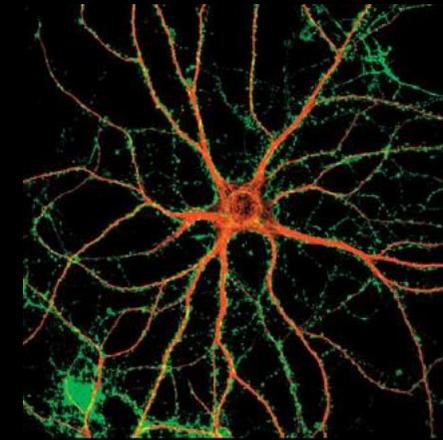
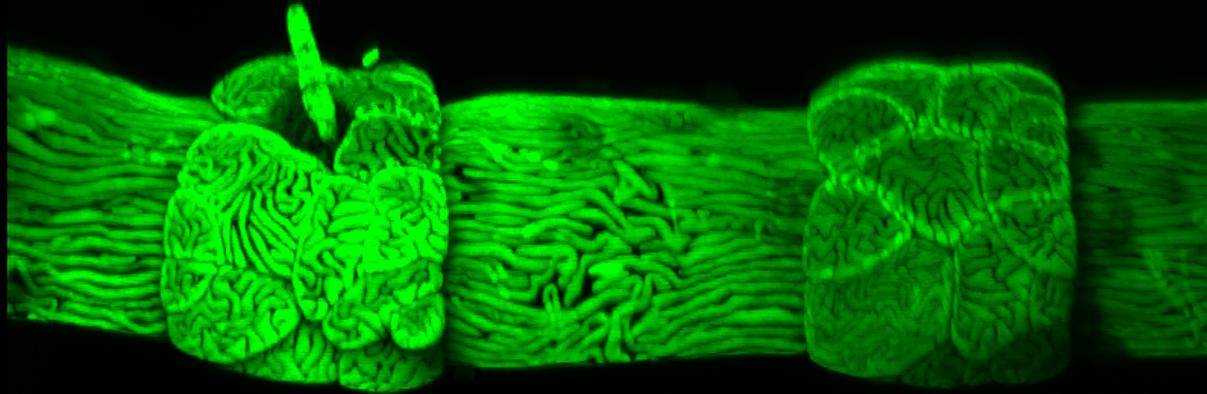
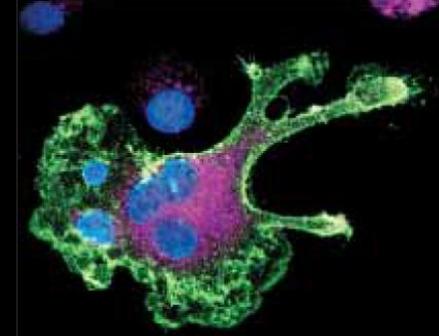
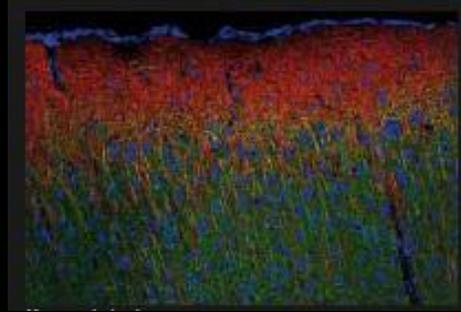
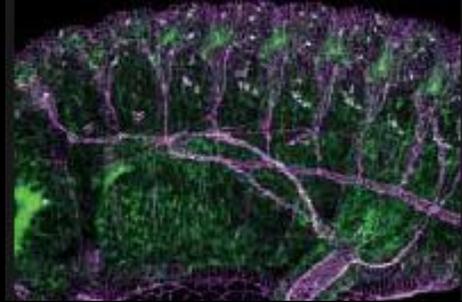
- 活細胞螢光染劑-Hoechst or EGFP
- 雷射強度的調整-小於5%開始調整
- 細胞培養之最佳條件-溫度,CO₂濃度

FRET-pair

共軛焦顯微鏡之應用

- **2D/3D/4D** 影像
- 螢光共位分析
- 活細胞長時間影像
- **MATL** (多點長時間活細胞影像)
- **FRET** (螢光共振能量傳遞)
- **FRAP** (Fluorescence recovery after Photobleach)

2D/3D/4D 影像



蛍光共位分析



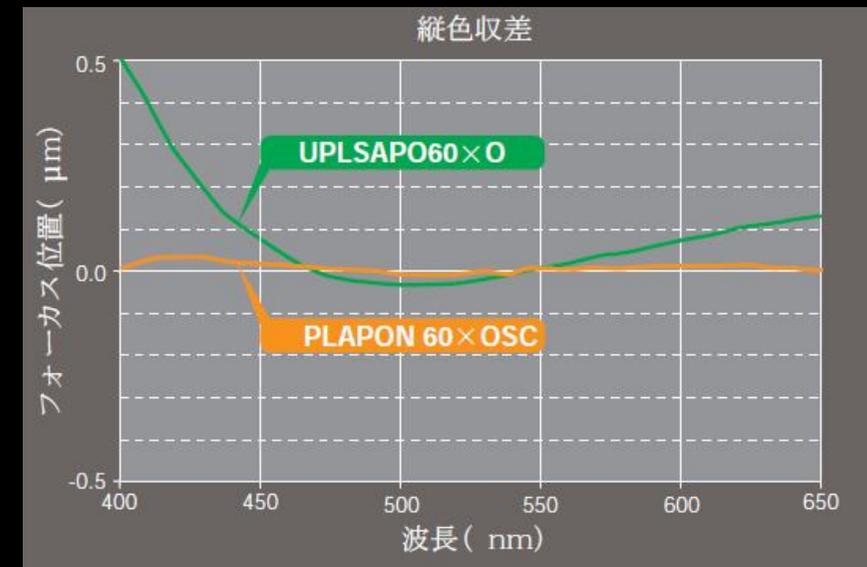
Colocalization

プロット上にて蛍光強度の閾値を自由に設定
2分子間における位置情報をもとに正確に局在解析

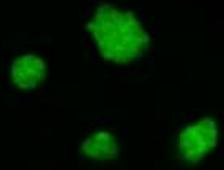
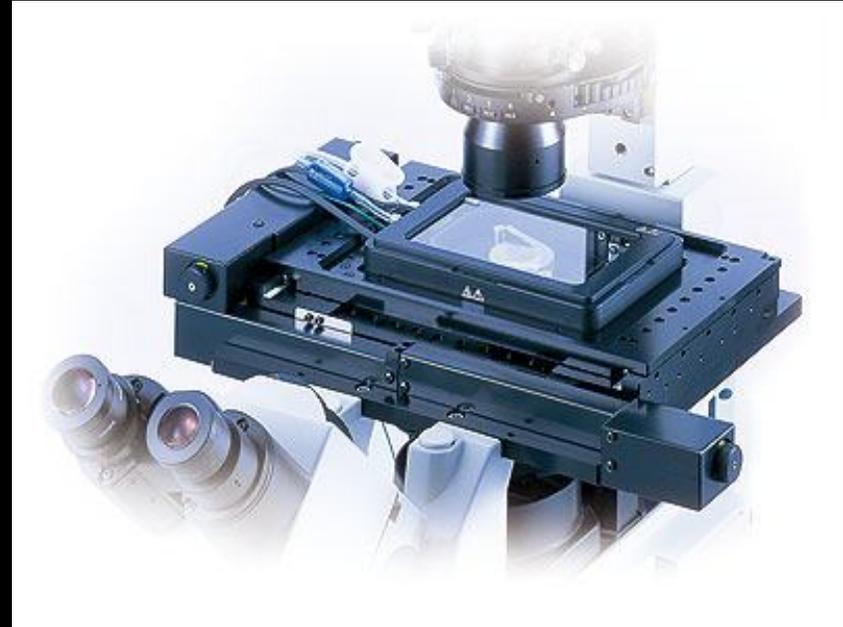
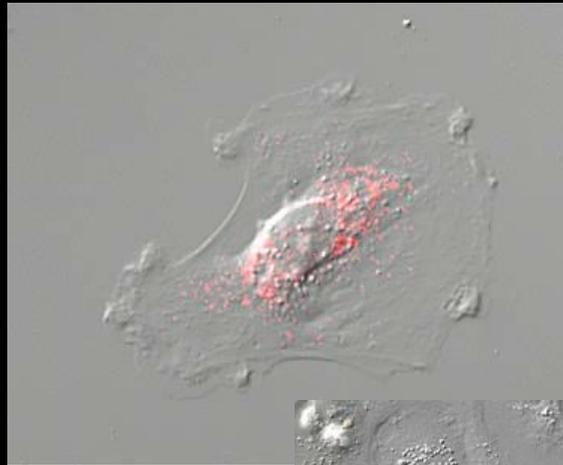
	PLAPON60XOSC	UPLSAPO60XO
軸上 縦色収差 (Z方向) PSF-蛍光ビーズ (405nm, 633nm) で比較 約0 μ m		
軸外 (FN6) 横色収差 (XY方向) PSF-蛍光ビーズ (405nm, 488nm, 633nm) で比較 約0.1 μ m		
3D画像 Ptk2のTubulinを 2色(405nm, 635nm)で ラベリングし、比較		

低色散差物鏡:

更精確之蛍光影像



活細胞長時間影像



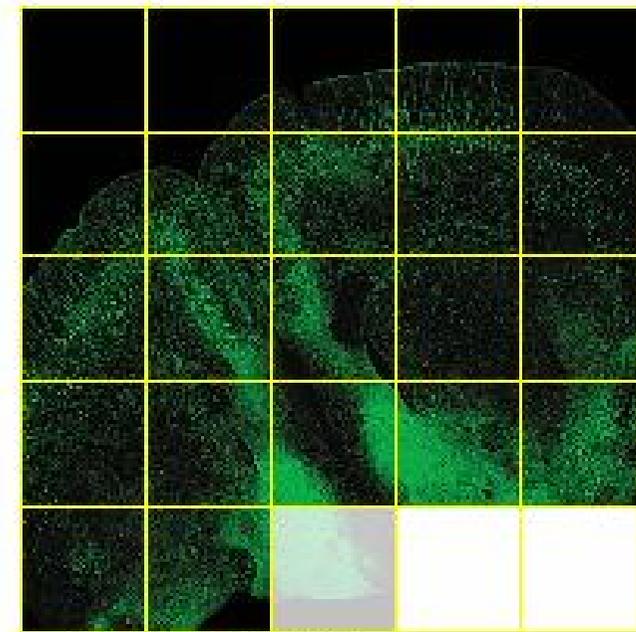
Incubator & ZDC:

維持長時間無離焦,穩定的細胞影像

MATL (Multi Area Time Lapse)



複数のエリアの細胞を同時にタイムラプスする



タイリング画像取得

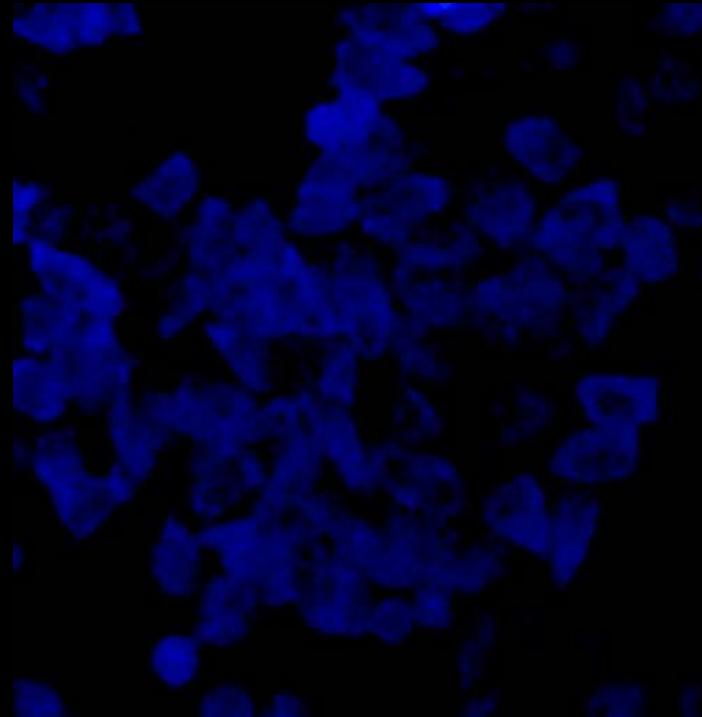
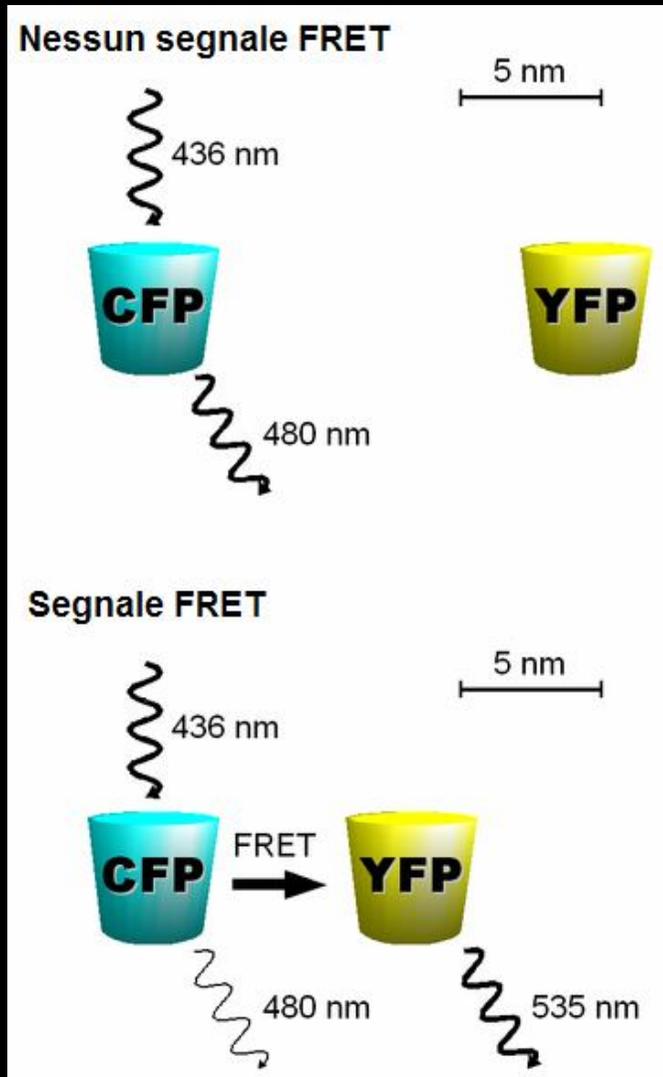
MATL:

多點長時間活細胞影像

大範圍拼圖:

無接縫螢光影像拼圖

FRET(螢光共振能量傳遞)

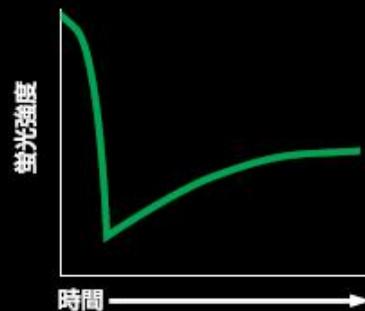


軟體分析模組:

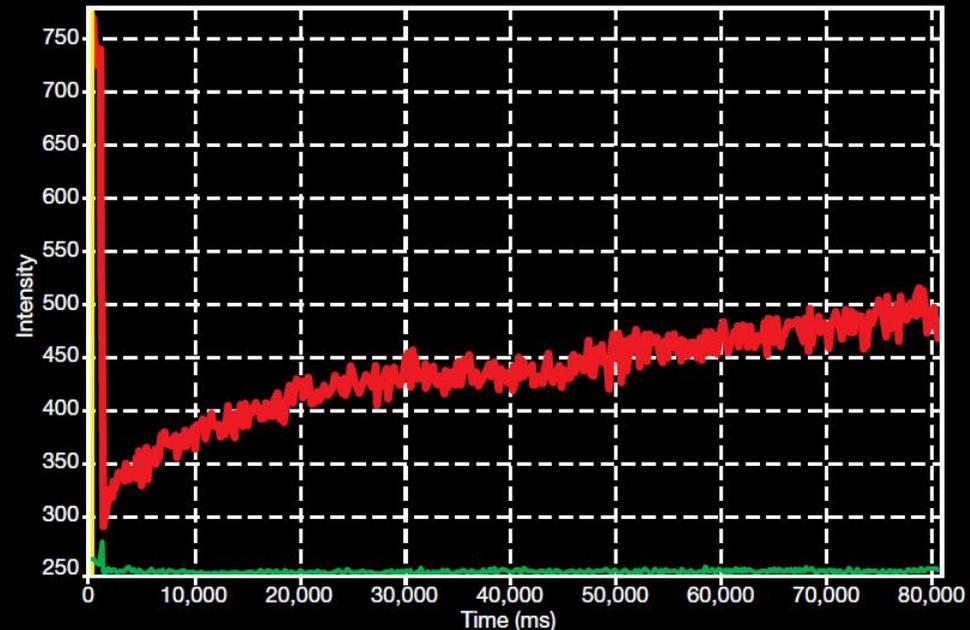
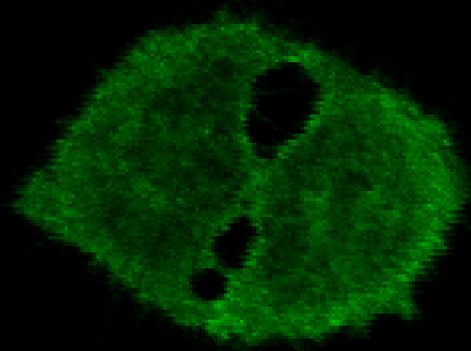
Ratio, Acceptor photobleach

pFRET

FRAP (Fluorescence recovery after Photobleach)



例：相互作用を起こしている場合の蛍光強度の回復
 タンパク質がある構造体へ強く結合、もしくは大きなタンパク質複合体を形成し、存在している場合はブリーチ領域の蛍光回復がフリーの状態よりも遅くなります。



活細胞実験：

由蛍光恢復速率分析分子大小

OLYMPUS[®]

Your Vision, Our Future