

熒光顯微鏡

维基百科，自由的百科全书

熒光顯微鏡是一種使用熒光或磷光物質的光學顯微鏡，或除此之外使用反射和吸收用於研究的有機或無機物質的特性。^{[1][2]}“熒光顯微鏡”是指使用熒光來產生一個圖像的任何顯微鏡，無論是更簡單的設置像落射熒光顯微鏡，或更複雜的設計如共聚焦顯微鏡，其使用光學切片，以獲得分辨率更高的熒光圖像。

2014年10月8日，諾貝爾化學獎頒給了艾力克·貝齊格，威廉·莫爾納爾和斯特凡·赫爾，表揚其發展超高解析度熒光顯微鏡（Super-Resolved Fluorescence Microscopy），帶領光學顯微鏡由微米級進入納米級尺度中。^{[3][4]}

原理

样品被照射特定波长（或波段）的光，其被熒光团吸收，导致它们发出更长波长的光（例如和被吸收的光不同的颜色）。通过使用光谱发射滤片，该照明光被从弱得多的发射熒光中分离出来。

近年來在生物學研究中，熒光標籤被廣泛地使用來標定生物分子，使熒光顯微鏡變得更加重要。它以水銀燈或氙氣燈為光源，搭配具激發濾片，發散濾片濾片組的光學儀器。

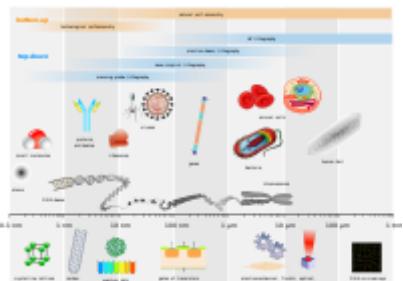
目前被普遍使用的熒光顯微鏡屬於落射熒光顯微鏡，是指激發光的來源和觀察的位置（接目鏡），皆位於樣品的同方，通過相同的光路。這些顯微鏡被廣泛應用於生物學，并且是更先進的顯微鏡設計的基礎，例如共軛焦顯微鏡或全內反射熒光顯微鏡（TIRF）。

光源

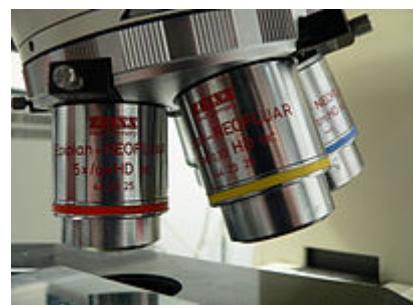
熒光顯微鏡要求強烈的，近乎單色光的照明，這是一些普遍的光源，比如卤素灯泡不能提供的。四種主要類型的光源的使用，包括氙氣燈或帶有激發濾片（Excitation Filter）的水銀燈，激光，超連續光譜光源，和高功率發光二極管。激光被最廣泛地用於更複雜的熒光顯微技術，像共聚焦顯微鏡或全內反射熒光顯微鏡。而氙氣燈，水銀燈，和發光二極管與分色激發濾片通常被用於廣角落射熒光顯微鏡（Epi-Fluorescence Microscopes）。



正立的奧林巴斯BX61熒光顯微鏡，在物鏡上面有熒光濾光塊轉盤，聯接數碼相機。

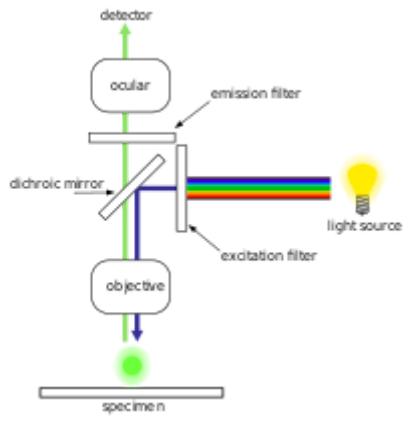
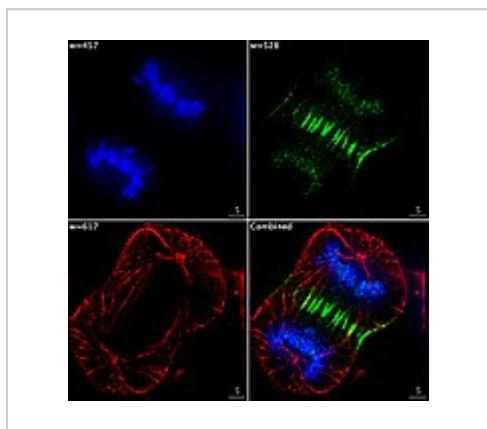


各種生物體的大小尺寸比較，毛髮，細胞，染色體，病毒，原子。

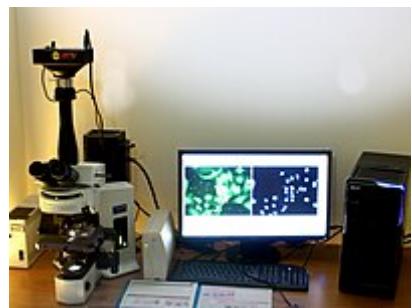


蔡司的熒光顯微鏡物鏡

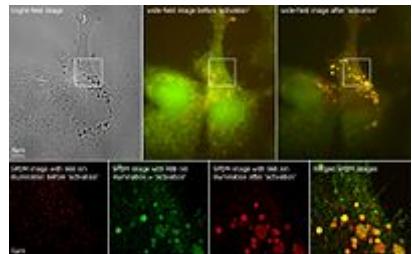
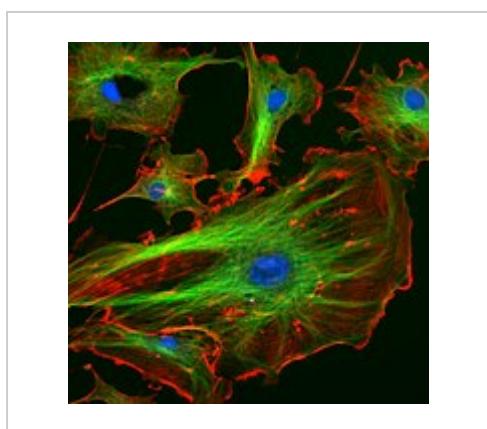
螢光顯微鏡圖片



螢光顯微鏡原理

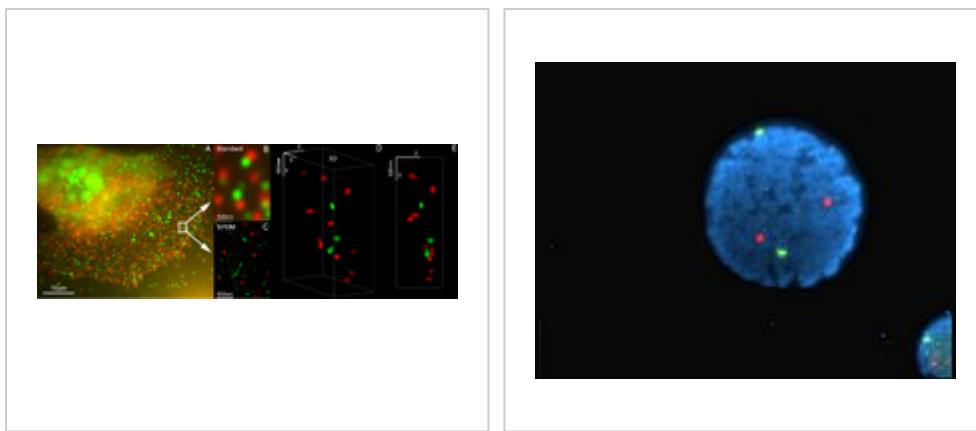


奧林巴斯BX51螢光顯微鏡及數位影像處理系統



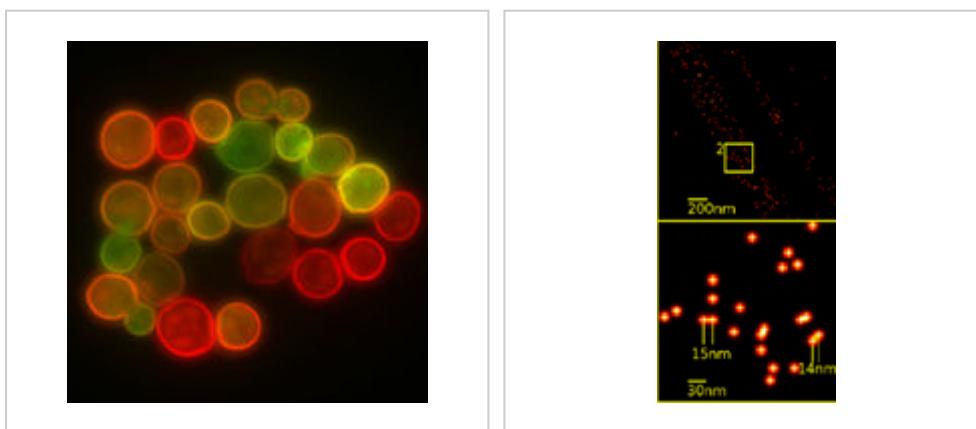
自體螢光超高分辨率顯微鏡記錄細胞結構

牛肺動脈內皮細胞（BPAE），使用DAPI將核染成藍色；微管則被FITC的綠色螢光所標記；肌動蛋白絲則被TRITC標示了紅色。



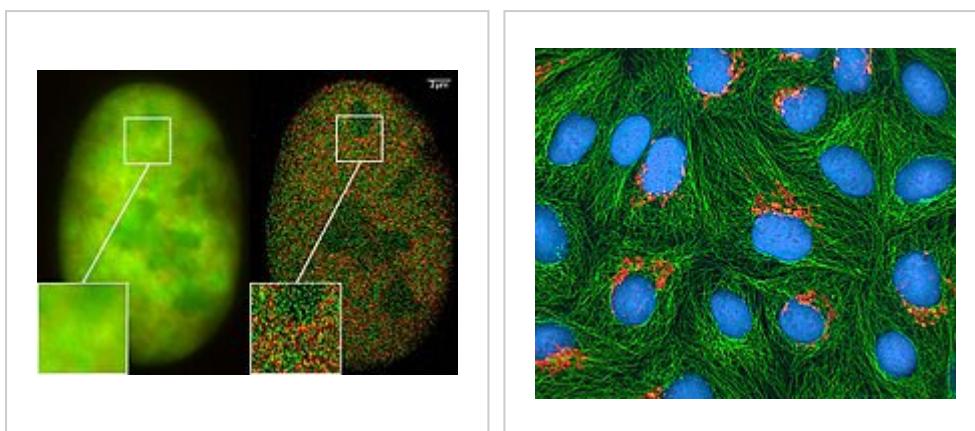
3D雙色超高分辨率顯微鏡，人類表皮生長因子受體2 (HER2) , 人類表皮生長因子受體3 (HER3) 在乳腺癌細胞中，染料: Alexa488, Alexa568, 利蒙顯微鏡

螢光原位雜合技術 (FISH) , 絲粒探針雜交，人類淋巴細胞核染色，螢光染料 (DAPI), 13號染色體 (綠色) 和21號染色體 (紅色)



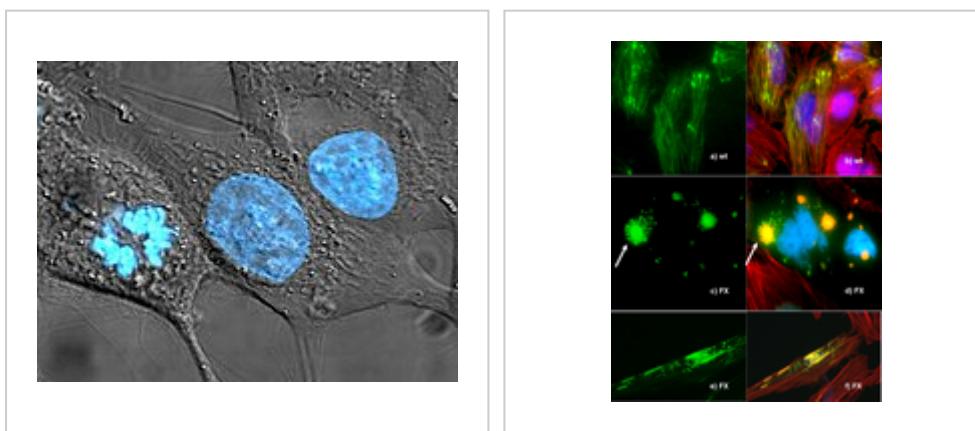
利用RFP和GFP螢光標記物標示酵母細胞的膜蛋白。

超高分辨率顯微鏡：黃色螢光蛋白 (YFP) 單分子在人類癌細胞的檢測



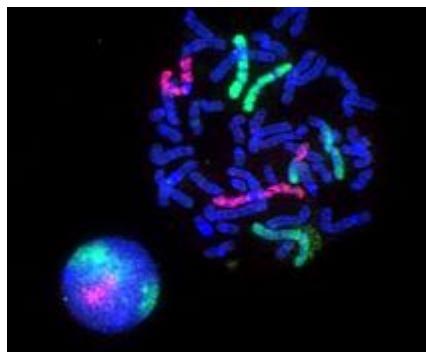
超高分辨率顯微鏡：共定位顯微鏡（2CLM），綠色螢光蛋白（GFP）和紅色螢光蛋白（RFP）融合蛋白（骨癌細胞的細胞核）

海拉細胞的高爾基體（橙色），微管（綠色）和染色体（青色）的多光子螢光圖像。

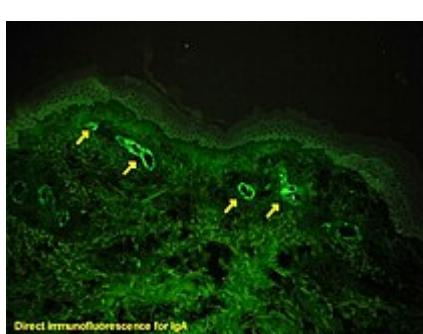


經過藍色赫斯特染色的海拉細胞染色体，中間與右邊的細胞正經歷分裂間期，可見整個細胞核都呈藍色。而左方的細胞正在進行有絲分裂，其細胞核正在崩解，準備接下來要進行的分裂。

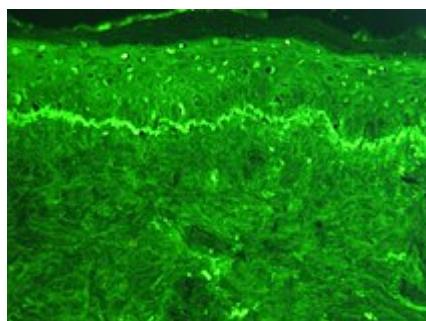
利用螢光顯微鏡觀察人類野生型與P239S突變型的表現。



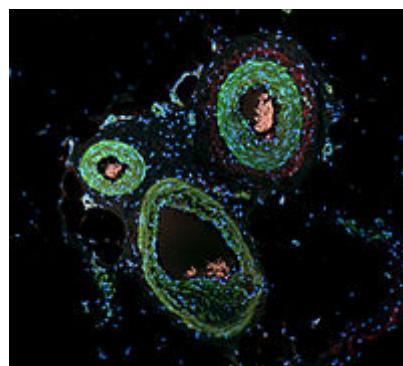
血液細胞太陽耀斑病理，螢光顯微鏡圖像下紅色為受影響的區域



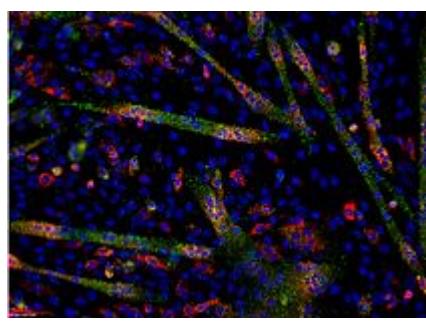
過敏性紫癜的患者，用抗IgA抗體製備的皮膚，IgA的沉積在表淺小的毛細血管(黃色箭頭)的血管壁上。在上面的淺綠色波浪區域是表皮(皮膚)，底部纖維區域是真皮



紅斑狼瘡的患者，直接免疫螢光法，並示出的IgG沉積物



豬皮膚下血管，螢光染色平滑肌的肌動蛋白



在C2C12分化細胞中，ViewRNA檢測 miR-133 (綠色)和肌細胞生成素 mRNA (紅色)

參看

- 水銀燈
- 斯托克斯位移 (Stokes shift)
- 顯微鏡
- 氬氣燈
- 綠色熐光蛋白 (GFP)

參考資料

1. Spring KR, Davidson MW. Introduction to Fluorescence Microscopy. Nikon MicroscopyU. [2008-09-28]. (原始內容存檔于2016-07-03) .
2. The Fluorescence Microscope. Microscopes—Help Scientists Explore Hidden Worlds. The Nobel Foundation. [2008-09-28]. (原始內容存檔于2010-01-09) .
3. Ritter, Karl; Rising, Malin. 2 Americans, 1 German win chemistry Nobel. AP News. October 8, 2014 [October 8, 2014]. (原始內容存檔于2018-10-02) .
4. Chang, Kenneth. 2 Americans and a German Are Awarded Nobel Prize in Chemistry. New York Times. October 8, 2014 [October 8, 2014]. (原始內容存檔于2014-10-09) .

外部連結

- (英文) Fluorophores.org (<http://www.fluorophores.org>) Archive.is的存檔 (<https://archive.today/20121205013840/http://www.fluorophores.org/>)，存档日期2012-12-05, 螢光染料的數據庫
- (英文) MicroscopyU (<http://www.microscopyu.com/>) (页面存档备份 (<https://web.archive.org/web/20190927115732/http://www.microscopyu.com/>)，存于互联网档案馆)
- (英文) Nico Stuurman的簡短演講: "螢光顯微鏡" (<https://web.archive.org/web/20141019231817/http://www.ibiology.org/ibioeducation/taking-courses/ibiology-microscopy-short-course/introduction-to-fluorescence-microscopy-2.html>)

取自“<https://zh.wikipedia.org/w/index.php?title=%E5%8A%A0%EF%BC%88%E9%9D%A2%EF%BC%89&oldid=74451378>”

■