

## 摘要

我們開發了一個新的簡易層光顯微鏡平台，提供使用者選用不同層光產生技術，並為浸潤式鏡頭設計新型樣本槽，增進樣本放置與角度調整的便利性。並透過新型的樣本固定方法免除軟組織樣品膠體包埋的需要。

## 技術優勢

1. 層光產生技術: 本平台層光產生是藉由高斯分布(Gaussian) 或高斯—貝索分布(Gaussian-bessel) 光束經由一對照明鏡頭在Y方向的掃描所產生均勻片狀照明，可以配合科研級互補式金屬氧化物半導體 (sCMOS) 相機的逐列掃描模式可以達到線性掃描共軛焦成像 (Slit-Scan confocal) 的效果。目前已商業化之層光顯微鏡 (Light Sheet Microscope) 大多提供高斯光束掃描，容易被樣本中氣泡或雜質阻礙而產生條狀斑紋。高斯—貝索分布光束能自我重組，不易被干擾。另外目前商業機種都沒有提供線性掃描共軛焦模式。本平台可以由使用者自行選擇採用高斯或高斯—貝索光束，以及是否使用線性掃描共軛焦模式 (速度會降低為1/4)，另外也可以運用結構照明增強訊號對比，使用者可以針對實驗需求在擷取速度與影像品質中取得平衡選擇適合的技術。
2. 樣本槽與樣本載台: 本平台照明與影像鏡頭皆採取浸入式設計以取得最佳的影像，樣本槽透過特殊材質薄膜保有鏡頭位移空間。目前針對大樣品的層光顯微鏡樣本載台多以上方懸掛為主 (Zeiss Light Sheet Z1, OpenSPIM, OpenSPIN, COLM)，或是經由上方移動機構延伸到樣本槽底部 (LaVision BioTec UltraMicroscope II)，再由底部與樣本連結。我們採用由樣本下方載台提供多個自由度的位移與轉動，確保樣本擷取的角度符合最適合的觀察方向。並保留樣本上方空間作為快速更換樣品與增設鏡頭用來監測樣本或提供照明的光軸校正。
3. 樣本固定: 透明化的組織需要折射率相符的浸入液(FocusClear, RapidClear, RIMs ... )，軟質樣本在這種高比重的液體中會受到浮力作用有向上漂移的驅力，另外進行3D 擷取需要移動Z軸，或是大範圍拼接(Stitching)需移動樣本XY軸時，樣品因為液體阻力易產生移動遲滯或飄動的現象。一般解決方法是運用洋菜凝膠包埋樣品，但是會因凝膠與液體介面產生折射影響成像品質。我們新型樣本固定方式可以提供樣本更穩固的支持，並且避免因接著劑黏接樣本與載台干擾取像的情形。
4. 擷取控制軟體: 商業層光顯微鏡一般需要專屬軟體控制，使用者不能自己選擇軟體功能，也無法附加非支援的他牌生產裝置，我們以獨立的單版微電腦 Arduino擷取相機同步訊號來控制層光光束的掃描，可以完全不經電腦影像擷取軟體介入，使用者可以任意選擇自己慣用的影像擷取軟體如Meta Morph / NIS element / Cellsens 等，或是使用基於ImageJ 開發的開源軟體的Micro-manager。我們的設計大幅增加系統的擴充能力，不受限於少數軟硬體組合。

## 本院覽號

26T-1070110

## 公告日期

2018-06-11

## 智財權狀態

know-how

## 應用範圍

在活體組織，本平台可以細胞層級的解析度觀察動植物的發育，生長，或是其他可藉由螢光觀察之現象。運用在透明化處理的固定樣本上，本系台可以對小型胚胎或器官、組織 (4mm x 4mm x 10mm) 進行大範圍立體掃描與拼接 (Tile Scan)。

## 創作人

陳壁彰、李佳銘