

Microimage 期刊

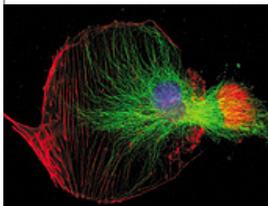
2008年第三期



Microimage 期刊 第三期 2008.7.31 全新发布

栏目索引

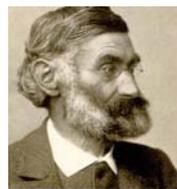
显微课堂



显微镜的八种观察方法

使用显微镜，除了普通的明视场观察，还有专用的观察方法，多达八种。它们各自的原理、特点、应用领域.....
更多.....

人物杂记



缅怀天才—阿贝

恩斯特·卡尔·阿贝，一位天才的光学家，一位勇于创新的社会改革者。为德国乃至世界的光学发展做出不可磨灭的贡献，用行动提出企业创新改革。人们深深缅怀这位天才.....
更多.....

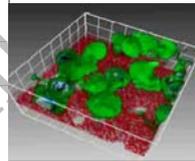
系统专题



显微切割技术

由于其细微、原位、同质、结合的优势，越来越多的应用于分子生物学、细胞遗传学、产前诊断、肿瘤学及病理学。同时，Zeiss、Leica、MMI、Arcturus 四大厂家的激光捕获显微切割技术首次如此详细的对比.....
更多.....

新产品介绍



Imaris-多维软件专家

模块化设计，生命科学领域显微图像分析、多维图像处理和分析的主导软件.....



X-Cite exacte

革命性新荧光光源。照明更稳定、更突出的重复性.....
更多.....

专业论坛



双光子显微镜专题

是不是双光子更高级呢？可以替代其他共聚焦吗？它究竟能看多深的样品？.....

进口显微镜国产化。利？弊？
显微镜跟放大镜有什么区别啊？
激光扫描共聚焦显微镜的分辨率？.....
更多.....

系列讲座



系列讲座活动正在进行.....

2008年4月以来，中国显微图像网在中科院、北大、清华等地举办讲座，受到广大用户的认同。第三季度，活动将扩展到南开、河北等地，敬请期待.....
更多.....

一、显微课堂

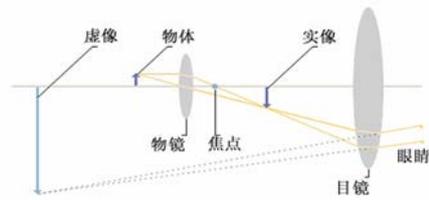
显微镜的八种观察方法

使用显微镜进行观察，最常见的是明视野观察，此外还有多种专用的观察方法，它们利用不同的光学原理在普通显微镜上发展出来，分别为暗视野观察、相差（相衬）观察、微分干涉相衬观察、塑料微分干涉相衬观察、霍夫曼观察、偏光观察、荧光观察。本文对这八种观察方法的原理、特点和应用一一做了简要阐述。

一、明视野（Brightfield）

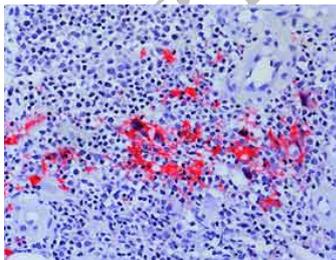
明视野是传统的显微观察方法，常应用于医疗和生物学领域，例如组织切片和涂片等染色样品的观察。通常需要用 H&E、Gram 染色等方法染色。所有显微镜均能完成此功能。

原理：即为显微镜成像的基本原理。显微镜的放大是通过透镜来实现的，物镜和目镜各相当于一个凸透镜。以下为透镜的两步放大过程：（1）当物体位于透镜物方二倍焦距以内，焦点以外时，则在像方二倍焦距以外形成放大的倒立实像；（2）当物体位于透镜物方焦点以内时，则像方无像的形成，而在透镜物方的同侧比物体远的位置形成放大的直立虚像。

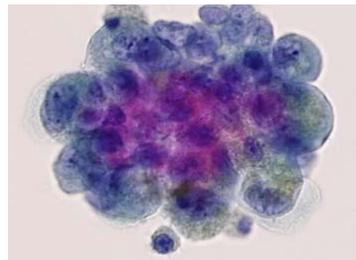


明视野成像的特点是视场明亮，图像较暗。

乳癌，
A-Plan 20x



胚(孢)囊，
A-Plan 40x

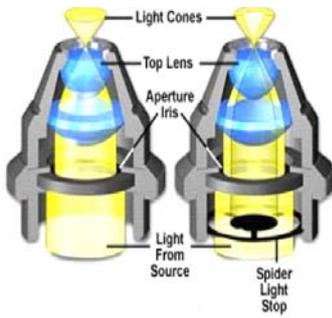


二、暗视野（Darkfield）

暗视野的特点和明视野不同，不直接观察到照明的光线，而是光束斜射，观察到被检物体的反射或衍射光线。因此，视场为黑暗的背景，而被检物体则呈现明亮的像，看起来就像夜晚的繁星。

原理：根据丁道尔现象，微尘细粒在强光直射通过的情况下，不能为人眼所见，这是因为光线过强及绕射现象等因素，而看不到微尘的像。若光线斜射它们，则由

于光的反射或衍射，微尘细粒似乎增大了体积，而为人眼可见。暗视野观察便是利用这一原理设计出来。暗视野显微镜的结构与明视野显微镜基本相同，只是采用的是暗场聚光镜。



用这一原理设计出来。暗视野显微镜的结构与明视野显微镜基本相同，只是采用的是暗场聚光镜。

优点：暗视野观察的优越性，在于分辨率提高，能观察到在明视野下观察不到的极其微小的物体外部细节。在明视野观察的油浸物镜下，最高分辨率可达 $0.4\mu\text{m}$ ；而在暗视野情况下，其分辨率可为 $0.02\sim 0.004\mu\text{m}$ 。因此，暗视野观察又称“超显微术”。

缺点：只能观察到物体的存在和运动，而很难分辨其内部结构。

应用：(1) 观察如硅藻、放射虫类、细菌等具有规律结构的单细胞生物和细胞的外部细微结构，如鞭毛、纤维等。

(2) 观察细胞内微小颗粒的运动。



三、相差 (Phase Contrast)

在光学显微镜的改进过程中，相差显微镜的制造成功和普遍应用，是近代显微镜技术中的重要成就。在 1935 年荷兰学者泽尼克提出了相差法原理，至 1941 年由德国蔡司工厂诞生了世界上第一台相差显微镜。它的产生，使人类的视觉在光学显微镜下又得到新的扩展。从信息利用的角度来看，人们将它视为光学信息处理概念下的第一个产品，因而获得了 1953 年诺贝尔奖金。

原理：相差显微镜利用被检物体的光程（折射率与厚度之乘积）之差进行镜检。即有效地利用光的干涉现象，将人眼不可分辨的相位差变为可分辨的振幅差。即使是无色透明的物质亦成为清晰可见，这是普通显微镜难以达到的。



相差显微镜在装置上都包括：相位板和环状光阑。

优点：活细胞不必染色就能看到，可清楚地分辨细胞的形态，以及细胞核等颗粒状结构。

明视野和相差的对比图



缺点：(1) 光晕和渐暗光晕妨碍了精细结构的观察。(2) 样品的厚度应该为 $5\mu\text{m}$ 或者更薄。当样品较厚时，上层是很清楚，深层则会模糊不清，并且会产生相位移干扰及光的散射干扰。(3) 只有明暗对比，没有三维立体感。

四、微分干涉相衬 (DIC, Differential and Interference Contrast)

微分干涉相衬显微镜是在 60 年代中期出现的，它不仅能观察无色透明的物体，而且图像呈现出浮雕状的立体感，具有相差显微术所不能达到的某些优点，观察效果更为逼真，它在多学科的研究应用中日益显示出其优越性能。

原理：微分干涉相衬显微镜利用了偏光干涉的原理：光只有在振源频率相同，各波列之间有固定的相位差并且振动方向一致时才会发生干涉。因此干涉显微镜都具备偏光装置（起偏镜和检偏镜），起偏镜是用来产生偏光的，检偏镜是检查偏光的。

产生偏光后，微分干涉相衬显微镜利用特制的渥拉斯顿棱镜（或诺马斯基棱镜）来分解光束。分裂出来的两个光束的振动方向相互垂直且强度相等，光束分别在距离很近的两点（小于光学分辨率）上通过被检物体，在相位上略有差别。由于两光束的裂距极小，而不出现重影现象，使图像呈现出立体的三维感觉。

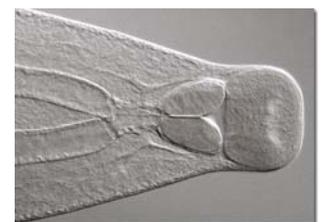
优点：(1) 产生浮雕状三维立体感，不出现光晕现象；(2) 能观察无色透明的物体；(3) 无需特殊物镜；(4) 比相差观察的分辨率更高。

缺点：需要光强高，双折射性的物质不能达到 DIC 效果，不能用于塑料容器观察。

应用：常用于观察无色透明活体标本的细微结构和显微操作（细胞注射）。



微分干涉与相差比较图



五、塑料微分干涉相衬 (PlasDIC)

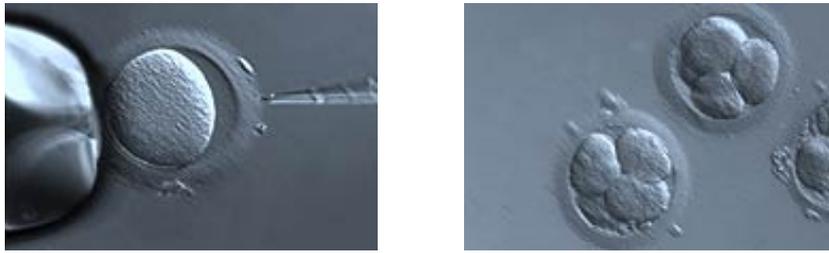
塑料微分干涉相衬是 ZEISS 公司的专利技术，曾获 R&D100 奖。这是第一个适用于实验室常规应用的微分干涉相衬技术，并可以应用于观察塑料容器，对薄或厚样品都可以产生出色的浮雕三维效果，得到更重要的细节特征。

其原理与微分干涉相衬相似，在部件上多一个狭缝光阑，少一块诺马斯基棱镜。

优点：(1) 操作方便，无需调中和变换光阑。(2) 图像效果好。(3) 使用标准

的物镜，在聚光镜上也不需要棱镜，更高性价比。(4)可以用于塑料容器观察。

应用： PlasDIC 技术非常适用于活细胞显微观察、操作。

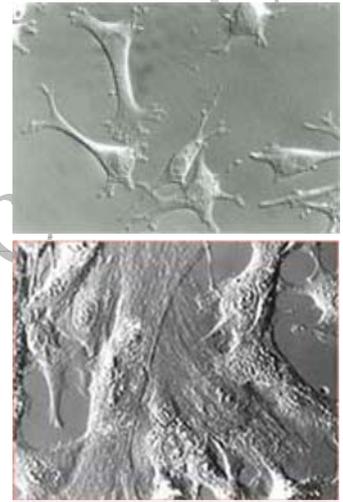


六、霍夫曼 (Hoffmann)

原理： 基于斜照明，照射到物体上产生折射、衍射光，通过物镜光密度梯度调节器产生不同阴影，从而使透明标本产生明暗差异，增加观察对比度。使活的透明标本形成一个高衬比、具有三维效果的图像。

优点： 允许使用塑料培养皿来观察活的标本，有立体感。主要用于观察透明标本和显微注射，比如活细胞观察、转基因。

缺点： 需要专用的霍夫曼物镜，成本相对高，分辨率差。



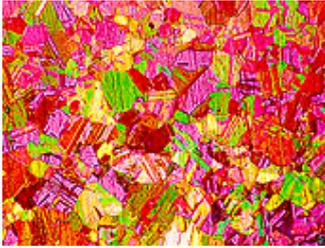
七、偏光 (Polarizing)

偏光显微镜是用来鉴定物质细微结构光学性质的。偏光显微镜的特点就是将普通光改变为偏振光进行镜检，以鉴别某一物质是单折射性（各向同性）或双折射性（各向异性）。

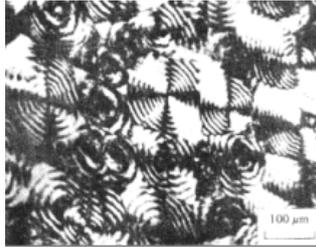
原理： 自然光经过反射、折射、双折射及吸收等作用，可以成为只在一个方向上振动的光波，这种光波称为“偏光”或“偏振光”。偏光显微镜有两个偏振镜，一个装置在光源与被检物体之间的叫“起偏镜”；另一个装置在物镜与目镜之间的叫“检偏镜”。

应用： 双折射性是晶体的基本特征。因此，偏光显微镜被广泛地应用在矿物、化学等领域。而在生物学中，很多结构也具有双折射性，这就需要利用偏光显微镜加以区分。

在植物学方面，如鉴别纤维、染色体、纺锤丝、淀粉粒、细胞壁以及细胞质与组织中是否含有晶体。在植物病理上，病菌的入侵，常引起组织内化学性质的改变，也可以利用偏光显微术进行鉴别。在人体及动物学方面，常利用偏光显微术来鉴别骨骼、牙齿、胆固醇、神经纤维、肿瘤细胞、横纹肌和毛发等。



矿物质



聚乙烯球晶



安哥拉兔毛

八、落射荧光 (Fluorescence)

荧光显微镜与普通光学显微镜不同，它不是通过普通光源的照明观察标本，而是利用一定波长的光（通常是紫外光、蓝紫光）激发显微镜下标本内的荧光物质，使之发射荧光。我们之所以能观察标本，是由于标本内荧光物质吸收激发的光能后所呈现的荧光现象。

荧光观察呈现黑色的背景，彩色的图像。

原理：荧光现象的实质是分子（用荧光素染色过的被检物体）吸收了短波长的能量，又以发光的形式以波长较长的荧光射出，而为人眼可见。

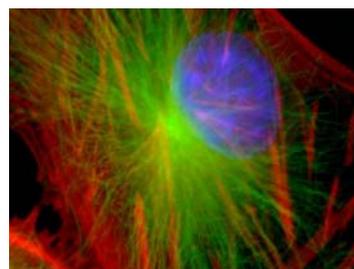
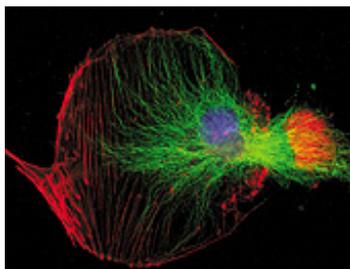
组成特点：荧光显微镜在装置上的重要部件就是能提供充分的特定波长的光源装置，使被检物体得到理想的激发而发出强的荧光。为达到这一要求，均借助滤光片把激发光的光谱限定在这一特定波长区域内，而把伴随发出的可见光全部吸收或反射掉。此外，为了提高荧光镜检效果，对聚光镜（透射式用）、载玻片、盖玻片和物镜均有一定的要求。



优点：（1）灵敏度高，荧光易被检出；（2）背景暗，成像明亮；（3）能进行多重染色；（4）分辨率高。

应用：（1）静态：观察细胞及亚细胞形态结构，细胞或组织内生物大分子（DNA、蛋白等）的定性、定位和定量研究。

（2）动态：活体细胞或组织的实时动态检测，离子浓度测定（钙、钠离子等），PH测定，膜电位检测等。



微管绿色
微丝红色、
核蓝色、

二、人物杂记

缅怀天才—阿贝



恩斯特·卡尔·阿贝 (Ernst Karl Abbe) (1840~1905)，德国物理学家、数学家、光学家、企业家。

1840年1月23日生于爱森纳赫 (Eisenach) 的一个纺织工人家庭，家境贫困，阿贝靠别人资助才得以以上中学和大学。21岁时在 Goettengen 获得博士学位。1863年到耶拿大学工作，于1870年成为物理学和数学教授。1878年成为天文和气象台的主管。

[光学先驱·阿贝]

1866年阿贝以研究导师的身份加入了蔡司的工作室，两人开始研究光学产品的科学基础结构。经过六年对新型光学玻璃的研究，终于在1872年制造出无与伦比的复合显微镜。这台仪器是今天所有现代复合显微镜的鼻祖。



第二年，他还发表了一篇科学论文，对如何设计完美复合式显微镜的数学方法作了详细的描述，第一次详细地叙述了光学设计中的像差、衍射、慧差等内容。阿贝对光学过程描述得如此详细，以至于这篇论文成为了现代光学的基础。

1876年卡尔·蔡司邀请阿贝作为合作者。这一合作有力地促进了德国光学工业的发展。以显微镜为中心，阿贝在光学仪器的光具组理论上，做出了两项重要贡献：一是几何光学的“正弦条件”，确定了可见光波段上显微镜分辨极限，为迄今光学设计的基本依据之一；二是波动光学的显微镜二次衍射成像理论，把物面视为复合的衍射光栅，在相干光照明下，由物面二次衍射成像。1906年，波特在著名的阿贝—波特实验中有力的证明了该理论。在以激光为实验条件的光学变换理论中，这一理论成为基础理论之一。

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}$$

在光学元件和仪器方面，他在1867年制成测焦计，1869年制成阿贝折射计及快速测定玻璃色散的分光仪。1870年后，又制成数值孔径计、高度计和比长仪等。1879年与肖特合作，研制成可用于整个可见光区的复消色差镜头，使其研究达到了顶点。

他还计算出如何设计没有球差的镜头，将萤石引进镜头设计中以消除色散。阿贝发明的显微镜辅台聚光镜照明系统、目镜数值光圈系统、浸没透镜至今仍在应用。

阿贝对天文学有很大兴趣，在他从事光学仪器的研究和设计中改进了不少天文观察仪器，如棱镜望远镜和立体测远计等。

阿贝无疑是一个天才，他在许多领域里都有很深的造诣，感谢上天，他将一生中最多的时间花费在光学上，对光学系统和实用产品进行了大量的研究，为现代摄影和显微镜设计做出了巨大的贡献。

[企业家·阿贝]

恩斯特·卡尔·阿贝还是一位勇于创新的企业家和先进的社会改革者。

阿贝博士兴趣广泛，兴趣之一是社会改善事业。1888年，卡尔·蔡司去世，根据遗嘱将其股权转让给儿子 Roderick。年轻的蔡司又将股权出售给阿贝，一年后即1889年，阿贝成立了 Carl Zeiss 基金会，作为蔡司公司的所有者。

在花了两年研究社会学和法律后，阿贝制定了一系列条例。他的绝大部分资产都立契转移到耶拿大学，大学的股权由教育系来管理。财产的结余部分则赠予给蔡司的雇员。这种对待员工的仁慈做法在 19 世纪末的确是不同寻常的。阿贝规定了雇员享受如下的福利：带薪假期、公费医疗、每日工作八小时、工人本人及家庭享受



伤残抚恤金和老年退休金，放弃种族、宗教信仰、政见及生活方式等歧视。

[纪念·阿贝]

1905年1月14日阿贝在耶拿逝世。人们用多种方式纪念这位卓越的天才。前东德以阿贝为图发行邮票；在其逝世 15 年后又以他的名字命名了在耶拿镇、萨勒河对面的体育场。在耶拿大学设有阿贝的纪念石，上面标有他发明的光学分辨率公式。



为纪念恩斯特·卡尔·阿贝在光学的贡献，月球上还有一个环形山以他来命名。

三、系统专题

显微切割技术

一、显微切割出现的背景

在分子病理学研究中，常常遇到两个比较棘手的问题，一是选取的研究材料需要具有一定程度的同质性，这种问题在对人体组织的深入研究中常常遇到却不易解决；二是随着研究的不断深入，需要在组织细胞中分离的研究材料日趋微小，常规手段往往不易做到。显微切割技术（Microdissection technique）可以很好的解决以上问题，因而受到高度重视并得以广泛应用，本文将对此技术进行阐述。

显微切割技术是在显微状态或显微镜观察下，通过显微操作系统对欲选取的材料（组织、细胞群、细胞、细胞内组分或染色体等）进行切割分离并收集用于后续研究的技术。显微切割技术实际上属于在微观领域对研究材料进行分离收集的技术，因此该技术往往是许多研究工作中起始的重要一步。

二、显微切割的特点

- 1、“**细微**”：由于是在显微状态、采用特殊的分离收集手段，显微切割的对象可以达到微米级，显微切割的精度可以达到毫微米级。
- 2、“**原位**”：利用显微切割技术是在组织细胞或染色体的原位取材，因此所取材料的定位清楚，所研究对象的历史背景明确。
- 3、“**同质**”：显微切割技术可以保证所取材料在一定层次上的同质性。
- 4、“**结合**”：可以与多种分子生物学、免疫学及病理学技术结合使用。正是由于显微切割技术具有上述特点，其在分子病理学研究中的应用十分广泛。

三、显微切割的方式

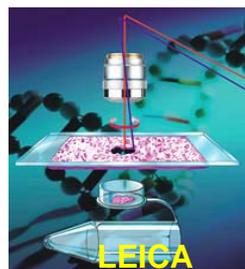
随着技术的不断发展，显微切割出现了多种方式，依其发展的过程可以分为以下四种：手动直接显微切割、机械辅助显微切割、液压控制显微切割和激光捕获显微切割（Laser Capture Microdissection）。这些方式各具特色，不同实验室可根据各自条件进行选择。

四、激光捕获显微切割技术的比较

做为目前最先进的切割技术，激光捕获显微切割因切割激光、显微镜类型和收集

方式等的不同，可分为以下四种，现比较如下：

比较内容	Zeiss	Leica	MMI	Arcturus
技术名称	Laser Pressure Catapulting (LPC)	Laser Micro-Dissection (LMD)	Laser Capture Microdissection (LCM)	Laser Capture Microdissection (LCM)
原理	利用 355nm 的紫外激光,对显微镜下的生物样本进行无接触显微切割和分离,核心技术是采用激光压力弹射技术。	利用 337nm 的紫外激光,对显微镜下的生物样本进行无接触显微切割和分离,然后依靠重力收集。	紫外激光切割需要分离的组织,然后用黏性的 Eppdorf 管盖收集,这样就可以将特定类型的细胞从组织切片上分离下来。	收集管的塑料帽表面有一层乙烯乙酸乙烯酯(EVA)的热塑膜,发射红外激光脉冲,瞬间高温使 EVA 膜融化与目标细胞黏合再迅速凝固。接着目标细胞就粘附在塑料帽表面的 EVA 膜一起移走。将塑料帽盖在装有缓冲液的离心管上,分离的细胞就转移到离心管中。
采用激光	355nm 的紫外激光	337nm 的紫外激光	355nm 的紫外激光	近红外激光
显微镜	倒置显微镜 Axio Observer	正置显微镜	NikonTE2000S 倒置显微镜	Nikon Eclipse Ti-E 倒置显微镜
收集方式	激光压力弹射,逆重力收集	靠重力,非目的样品易被收集	粘取取样(经常产生粘错现象)	粘取取样(经常产生粘错现象)
移动部件	载物台移动	激光移动	载物台移动	载物台移动
软硬件的系统整合	完全由 Zeiss 研制,提供	完全由 Leica 研制,提供	OEM 组配,无法掌握显微镜光学技术	OEM 组配,无法掌握显微镜光学技术
多重区域切割取样	可以	可以	不可以	不可以
活细胞切割	可以	未知	复杂,难以保证样品的完整性	复杂,难以保证样品的完整性



五、显微切割的应用

1、**分子生物学**：切割特定细胞，使 DNA、RNA 和蛋白质等的定量定性分析更精确简便，所切样品可直接用于 PCR、原位杂交、限制性片断多态性分析等。

2、**细胞遗传学**：特定染色体切割。结合了显微切割技术的 CGH 可以更加敏感、高效的检出前列腺癌组织的染色体失常情况。

3、**产前诊断**：从外围组织中无损伤获取胎儿细胞。

4、**肿瘤学及病理学**：检测肿瘤的发展过程；从病理切片中获取感兴趣组织或细胞，特异性地捕获该肿瘤细胞，进行深入研究；获取肿瘤或癌前病变或癌旁组织中的单一细胞甚至单个细胞，LCM 为这些研究提供了可靠的技术支持。



六、显微切割的结合技术

根据研究的需要可在显微切割前应用组织化学、免疫组织化学、原位杂交、原位末端标记、原位 PCR、FISH、组织特染等方法对需要切割的组织内成分进行标记。显微切割后获得的材料可以用于提取蛋白质、DNA 和 RNA 等，用于 Western Blot、Southern Blot、Northern Blot、PCR 等蛋白质和核酸的相关分析。正是由于能与多种分子生物学、免疫学、遗传学及病理学技术结合应用，使显微切割技术显示出蓬勃的生命力。

七、显微切割的最新进展

显微切割技术的进展主要体现在激光捕获显微切割技术的广泛应用。近年来，激光捕获显微切割技术在分子病理学研究中的应用不断深入，特别是在肿瘤基因突变检测、肿瘤特异基因表达分析、杂和性丢失检测、微卫星序列不稳定性分析、新基因发现、核酸及蛋白质的定量研究、染色体畸变分析、细胞局部病变病因学研究等多种领域进行了广泛应用，取得了许多本技术诞生前无法实现的新研究成果。

四、新产品介绍

(一) Bitplane—Imaris: 多维图像分析专家

1、公司简介

Bitplane 公司成立于 1992 年，总部设在瑞士的苏黎世。Bitplane 自创立起一直坚持不断创新和完美多维成像的信念，使得公司形成了独特的产品线，为高端显微图像用户提供多维图像显示、处理和数据分析系统——Imaris 系列软件模块。

2、产品组成

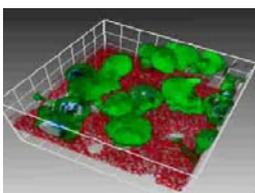
Imaris 系列软件模块是生命科学领域中的显微图像分析、多维图像处理和分析的主导软件。它由多个组分组成，主要包括：

- Imaris 基础软件
- ImarisMeasurementPro 测量软件
- ImarisTrack 追踪软件
- ImarisColoc 共定位分析软件
- FilamentTracer 丝状体追踪软件

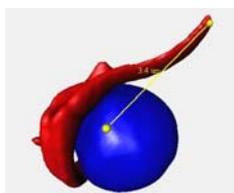


3、产品特点

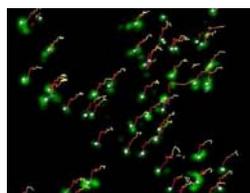
- (1) Imaris 基础软件：Imaris 在描绘 3D、4D 图像方面有着无人能比的质量和速度。
- (2) ImarisMeasurementPro 测量软件：突出的 3D 测量功能。在 Imaris 生成的立体图像中，任意两点均可测量，无论是在不同二维面上还是等值面上。
- (3) ImarisTrack 追踪软件：分两步实现观察瞬时运动的物体（目标分割和目标追踪）。然后将连续时间点的图像整合为一张运动轨迹图像，以实现 3D 追踪。
- (4) ImarisColoc 共定位分析软件：配合 3D、4D 和其他操作共同使用，以最优化的速度定量和验证多重染色生物学组织的共定位。
- (5) FilamentTracer 丝状体追踪软件：在显微图像自动检测神经元方面，该模块处于遥遥领先的地位，能确保用户获得神经的细节信息、掌握其外部特征的改变和得到特定定量信息。



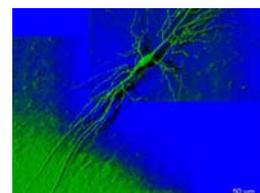
Imaris 基础软件



Imaris 测量软件



Imaris 追踪软件



Imaris 丝状体追踪软件

(二) 革命性新荧光光源—X-Cite exacte

1、公司简介

自 1982 年，EXFO 光电工程公司一直致力于创新性光能源利用系统的研发与制造，结合先进的光学工程技术、电子技术和光纤技术实现光源的独特设计。如今，EXFO 为全球 70 多个国家的顾客服务，已经成为国际公认的精密装配和光点固化技术的领导者，成为光源设备领域具有领导地位的开发商。EXFO 的先进技术也实现了无与伦比的可控性，提供了其他产品无法比拟的用户定制功能和精确度。

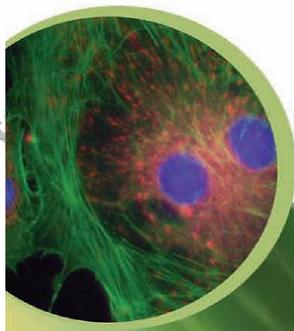
2008 年 2 月，继 X-Cite 120 系列，EXFO 推出最新的荧光光源 X-Cite exacte，为荧光照明提供了新的标准，特别为定量和活细胞成像提供革命性新光源。



2、X-Cite exacte 新光源的突出特征

- ◆ **稳定性：**专利的闭环反馈技术和直流灯保证光照强度极其稳定，可以维持几毫秒到几天，满足瞬时和长时观察的需要。
- ◆ **可重复性：**闭环反馈技术能够自动维持可重复性固化的照射等级。
可选配的辐射计能精确调校和设定照射等级，确保实验的高度重复性。
- ◆ **可控性：**以 1% 增量调整光输出，能实现精确控制。
可用主机按钮直接控制，也可从电脑进行外部操控，十分简易。
- ◆ **适合活细胞研究：**防止荧光漂白、低热量传导。
- ◆ **安全性：**特别关注安全性，多种安全部件的设计严密防止光泄漏。

3、保留 X-Cite 的特色



- **经济：**200W 直流灯，确保寿命高达 2000 小时。
- **智能：**智能照明灯，优选最佳的灯温度；自动累计灯泡使用时间。
- **方便：**预定心灯管，安装简单，无需校准。
- **适合多款显微镜：**为各种型号显微镜特别设计的适配器，使该光源为多款显微镜提供适合的光照强度和均匀性。

五、专业论坛



精华帖

(一) 双光子显微镜专题

[点击查看更多精彩回复](#)

A1: 是不是双光子更高级呢？可以替代其他共聚焦？（来自 **DRAGON**）

A2: 双光子显微镜和普通共聚焦显微镜搭配成一套，既能满足对深度的要求，又能得到高分辨的图像，而且还减少了光毒性、光漂白，可以说这样的组合已经很完美了，但是它的缺陷是速度不够快，所以取代还谈不上。（来自 **pipiqiqi**）

A3: 双光子扫描显微镜不能算是更高级的共聚焦显微镜，只不过是应用领域有所不同，不同的激光器罢了……（来自 **远山**）

A4: 皮秒激光和飞秒激光有什么重大区别吗？（来自 **大雪无痕**）

A5: 皮秒激光比飞秒激光的脉冲宽度大 1000 倍，脉冲宽度大，能量就会不集中，所以飞秒激光比皮秒激光的能量更集中(大约高 1000 倍)，在不损伤细胞的基础上，对荧光的激发效果更好。所以双光子激光共聚焦都用飞秒激光。（来自 **亿万光年**）

A6: 双光子显微镜最近很火啊，据说有的单位要买两台。它究竟能看多深的样品？（来自 **小胖**）

A7: 据说极致能到 500UM，不过跟实验条件、样品的透明度有很大关系！（来自 **Beloved**）……

(二) 进口显微镜国产化。利？弊？

[点击查看更多精彩回复](#)

Q: 现在国外各种各样的东西都在国产化。国外汽车、家电、服装等各行业都在国产化。生命科学领域也不例外。显微镜向国产化靠近，是利？是弊？（来自 **jackie**）

A1: 担心商家为了牟利，往中国卖次货。像数码相机一样，同样的款式，国内的货就是比不上日本原产的。（来自 **gene**）

A2: 中国是世界的大工厂！国外显微镜企业进入中国建厂或生产也是可以理解的。但的确国内的生产质量是值得担心的，不是工艺上的问题，主要还是管理上的差距。如果管理上和国外本厂保持一致，我相信国内生产的质量也不差。（来自 **Protein**）

A3: 虽说这样，但是在荧光方面国产的还是不行吧？🤔 (来自 **tjbaby**)

A4: 可能国产产品质量上差了一点，但也能满足我们使用，何况还解决了就业人口、税收等问题，这些都不算，我们也不可能一下就生产出高品质的产品啊！我们可以通过代工积累技术经验、管理经验和人才嘛！(来自 **老刀**)

A5: 国产的显微镜看荧光不好吗？我觉得还可以吧。😄 (来自 **小斑马鱼**)

A6: 同样的样品用国产进口镜子比较起来就出现差别了。(来自 **fuchu12**)

A7: 对啊，在荧光方面的确四大品牌要比国产的效果要好些。还有荧光显微镜最好配单色 CCD。(来自 **青云**)

(三) 显微镜跟放大镜有什么区别啊？

[点击查看更多精彩回复](#)

Q: 不要笑话我哦！人家本来就不知道嘛！(来自 **鲁西西**)

A1: 终于找到同志了。信心倍增！(来自 **开心就好**)

A2: 显微镜也是起放大作用的，只不过结构更复杂，多个透镜组组成，呵呵，可以这样理解不。(来自 **小琪**)

A3: 显微镜是两次成像,第一次在透镜的异侧成实象,第 2 次是在透镜的同侧成虚象,第 2 次的原理就和放大镜一样。(来自 **蓝精灵**)

A4: 首先是成像的原理：一个是虚象，另外一个虚实结合。放大倍数：放大镜的放大倍数一般不会太高，显微镜可以到 1000+，它们的共同特点就是都可以放大 ~~

😄 (来自 **gaoxuxi**)

A5: 从历史的角度来讲最初的显微镜就是一个单独的放大镜，或者说两者都是一个单独的凸透镜。像大名鼎鼎的列文虎克磨制的单透镜显微镜可以放大数百倍，此后很长时间没能有人超过他。此时也出现了复式显微镜，就是有目镜和物镜组成的显微镜，不过是单筒的。此后随着技术上的不断发展完善，相继出现各类聚光镜、可调载物台、粗细调螺旋等，并最终发展到现在我们看到的显微镜的样子。(来自 **Brusky**)

(四) 关于激光扫描共聚焦分辨率？

[点击查看更多精彩回复](#)

Q: 有 TX 知道激光共聚焦显微镜的分辨率吗？到底比普通显微镜高多少？（来自五米）

A1: 我认为共聚焦的分辨率提高主要是在 Z 轴方向非常明显，XY 平面上并不明显。一般认为可以在 Z 轴方向上提高到 0.3 微米（理想值）。但各个厂家的光学系统设计不同，计算公式也就不一样。所以同样 NA 的物镜，不同厂家可能会得出不同的数值。（来自 Protein）

A2: 徕卡有 8000*8000，奥林巴司 4000*4000，蔡司 2000*2000，搞不清楚这些参数和 0.2 微米的极限分辨率是什么关系，高手指点一下！（来自只争朝夕）

A3: 这都是扫描分辨率，光学分辨率受物镜制约，窃以为真正的分辨率提高需要扫描分辨率和物镜分辨率的配合，越高倍数物镜下的点越少，对扫描分辨率要求越低。对于目前的物镜来说，2000*2000 的扫描分辨率已经绰绰有余，更高的扫描分辨率对于提高激光共聚焦分辨率没有科学依据。（来自蓝羽）

A4: 不是物镜，不是马达，那是什么决定了共聚焦的 Z 轴分辨率？（来自小胖）

A5: 针孔啊！其实大家花那么多钱，就在买这个针孔啊！（来自 Protein）

A6: 共聚焦是靠提高反差消除 Z 轴的干扰杂光提高的清晰度。所以 Z 轴的分辨率很重要。XY 的分辨率实在没有什么大改善。所以有的厂家 8000*8000 的参数个人认为实在是华而不实。有不同见解的可以来讨论一下。（来自雷霆万钧）.....

中国显微图像网 版权所有 谢绝转载！

本期责编：秦 静

制 作：王 欢

通信地址：北京市朝阳区建国路 93 号万达广场 5 号楼 505

中国显微图像网

邮政编码：100022

联系电话：010-59604605

传 真：010-59604605-14

首 届

Microimage 显微摄影大赛 开始了!

那一瞬间：明场典雅，荧光璀璨，你捕捉到世界的精彩！

那些风景：细胞凋亡，膜脂流动，你找寻到生命的涵义！

由中国显微图像网主办的“Microimage 显微摄影大赛”于 2008 年 2 月 15 日正式拉开帷幕。本次大赛以“我爱实验，聚焦微观世界”为主题，运用显微镜将拍摄对象对准熟悉的实验样品，为你提供一次展示无限实验创意和精湛摄影技巧的机会，与你共同探索神秘的微观世界，一同欣赏它的绚丽多彩！征集时间自 2008 年 2 月 15 日至 2008 年 9 月 31 日。

奖励办法：

- 一等奖 1 名 人民币 3000 元，荣誉证书
- 二等奖 2 名 人民币 1000 元，荣誉证书
- 三等奖 9 名 人民币 500 元，荣誉证书
- 入围奖多名 价值 100 元的纪念品

**真诚期待你的参与！关于参赛细则和参赛表格等详情，
敬请登录：<http://www.microimage.com.cn>**

北京翔天智远科技有限公司

地 址：北京市朝阳区建国路 93 号万达广场 5 号楼

E-mail：support@microimage.com.cn

电 话：010-59604605

邮 编：100022

六、系列讲座



应广大用户的要求,中国显微图像网联合行业知名厂商举办系列讲座,内容涉及各种显微镜、CCD、软件的应用和相关新技术与进展,目的是增进用户对显微图像最新技术与应用的了解。内容丰富,活动多多,欢迎参加!

一、活动回顾

序号	举办时间	举办地点	讲座内容
1	2008年4月15日 参加公司: 1 德国 ZEISS	中科院动物研究所 2 瑞士 BITPLANE	共聚焦显微镜技术革新与应用
2	2008年4月24日 参加公司: 1 德国 ZEISS	中国农业大学 2 美国 MD 公司	显微成像技术革新与应用 3 美国 PE 公司
3	2008年5月15日 参加公司: 1 德国 ZEISS	北京大学 2 美国 MD 公司	显微成像技术革新与应用
4	2008年5月30日 参加公司: 1 德国 ZEISS	清华大学 2 美国 MD 公司	显微成像技术革新与应用 3 日本 Olympus 公司
5	2008年7月11日 参加公司: 1 德国 Metasystems 公司	医科院肿瘤所	2008年 mFish/ mBand 技术研讨会

二、第三季度活动安排

1	2008年9月中旬	南开大学生科院	显微成像技术革新与应用
2	2008年9月下旬	北京师范大学	显微镜应用、操作和维护
3	2008年10月中旬	河北师范大学	显微镜应用、操作和维护
4	2008年10月下旬	军事医学科学院	显微成像技术革新与应用

收费标准: 每次讲座,收费 2000 元。参加 4 次以上讲座的,免费赠送 1 个月广告(网站首页)!

如有意向,请联系中国显微图像网 (<http://www.microimage.com.cn>)

联系人: 秦静 010-59604605 13466381762