

多种基于荧光成像技术开发的方法和仪器部件

周芳

(中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072)

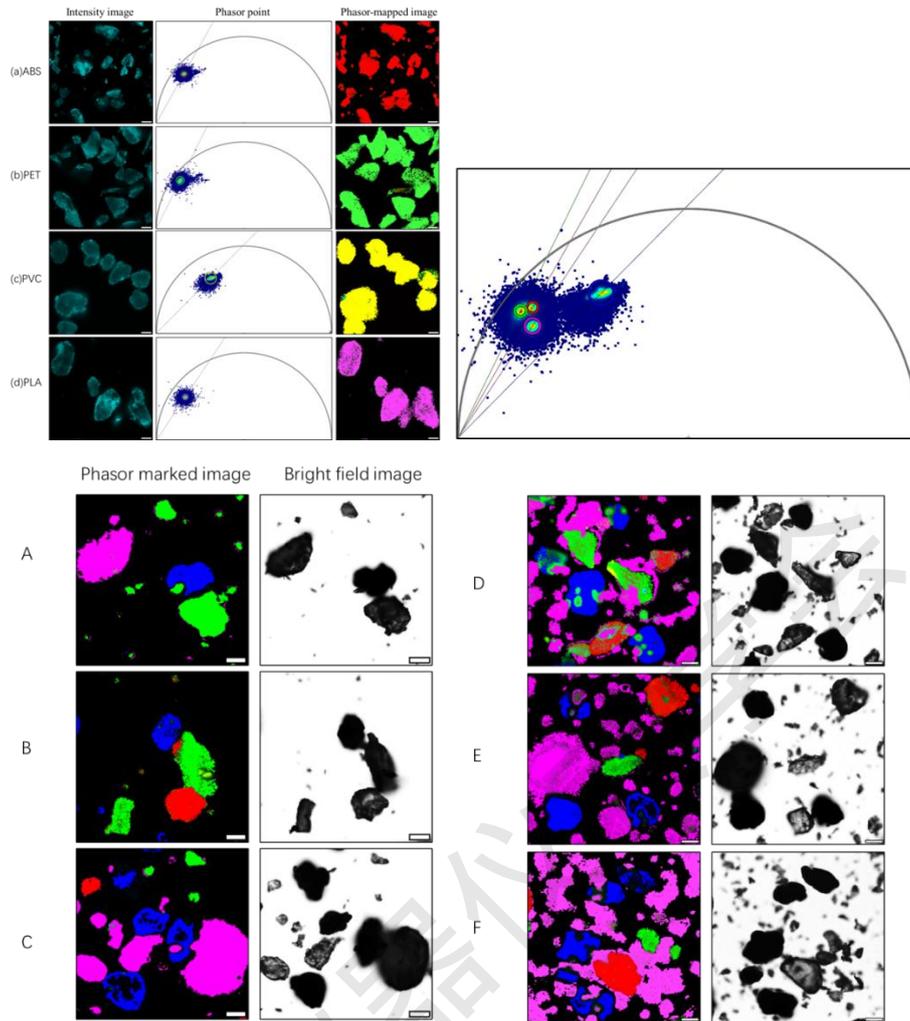
摘要: 简要介绍作者在提升荧光显微镜成像效果而开发的实验方法和仪器改造方案。

关键词: 荧光成像;显微镜

1 专业技术成果介绍

1.1 建立了一种基于荧光寿命成像技术快速检测微塑料的方法

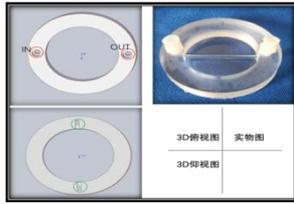
利用荧光寿命成像技术对四种尼罗红染色和未染色的微塑料进行了检测,通过相量分析获得了不同微塑料的独特相量指纹。追踪荧光寿命图像中“指纹”的相应像素,可以快速直观地识别混合样品中的不同微塑料及其位置分布。与用荧光染料染色四种微塑料相比,使用微塑料自发荧光寿命形成的相量“指纹库”更容易区分混合样品中的微塑料。通过添加三种单一物质-二氧化硅、甲壳素和十溴二苯乙烷(DBDPE)以及表面沉积物来模拟环境中的干扰,进一步测试了该方法的可行性,其结果为复杂环境中微塑料的识别和分析提供了潜在的应用。



FLIM 技术观察 4 种微塑料的荧光强度、荧光寿命相量图、“指纹图谱”并对多种微塑料进行识别。

1.2 用于光片显微镜的上样装置研制

根据实际科研需求和显微镜的结构限制，研制了一套自动进样及分选装置，实现了针对斑马鱼这类样品的流体自动进样、载样芯片、分选回收装置一体化，用于发育生物学研究中的在可控条件下斑马鱼胚胎和幼鱼的快速高分辨长时间活体成像及分选。自动进样和分选省去了大量的人工劳动成本，稳定的自动上样系统可以减少每次上样时的光路校正，真正实现大样本的快速活体 3D 成像。



CNC机加工工艺



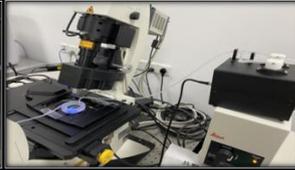
3D打印工艺



3D打印工艺,真空吸附



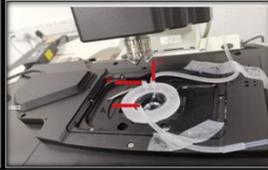
离线测试系统液压控制



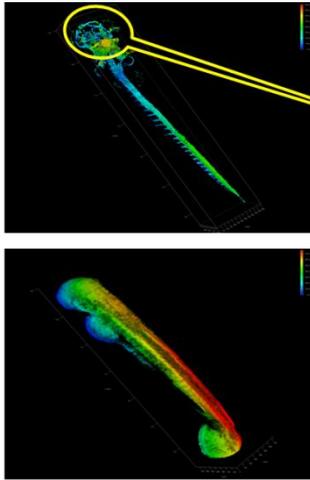
在线测试与光片系统兼容性



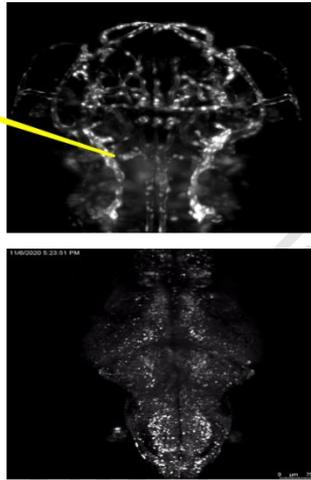
更换FEP管路



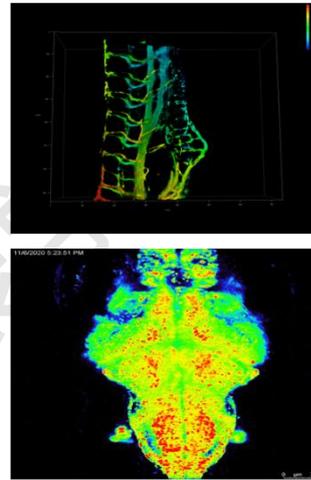
改进芯片分选出口设计



10X xyzm 5Tiles, 205 Slices

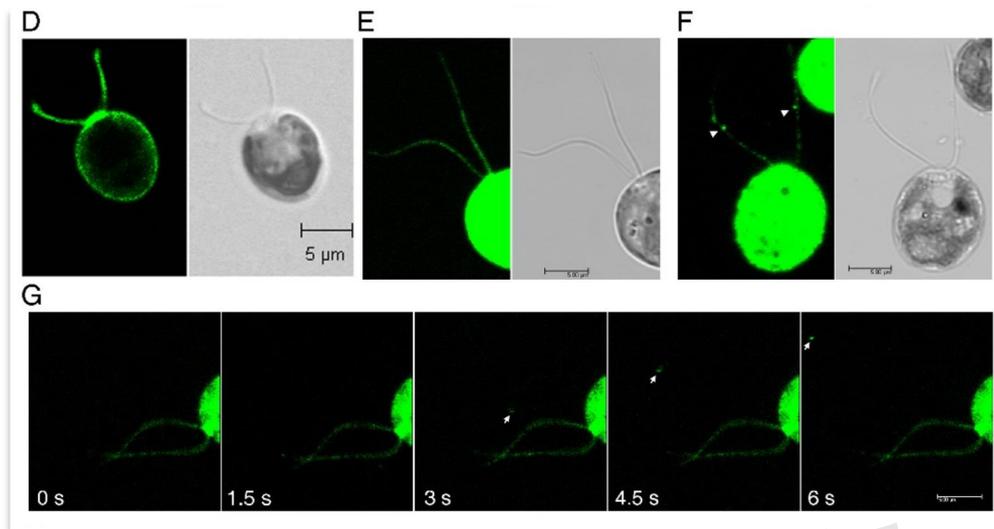


10X xyztm 6Slices, 300 time points



1.3 建立了快速敏感监控衣藻纤毛囊泡释放的方法

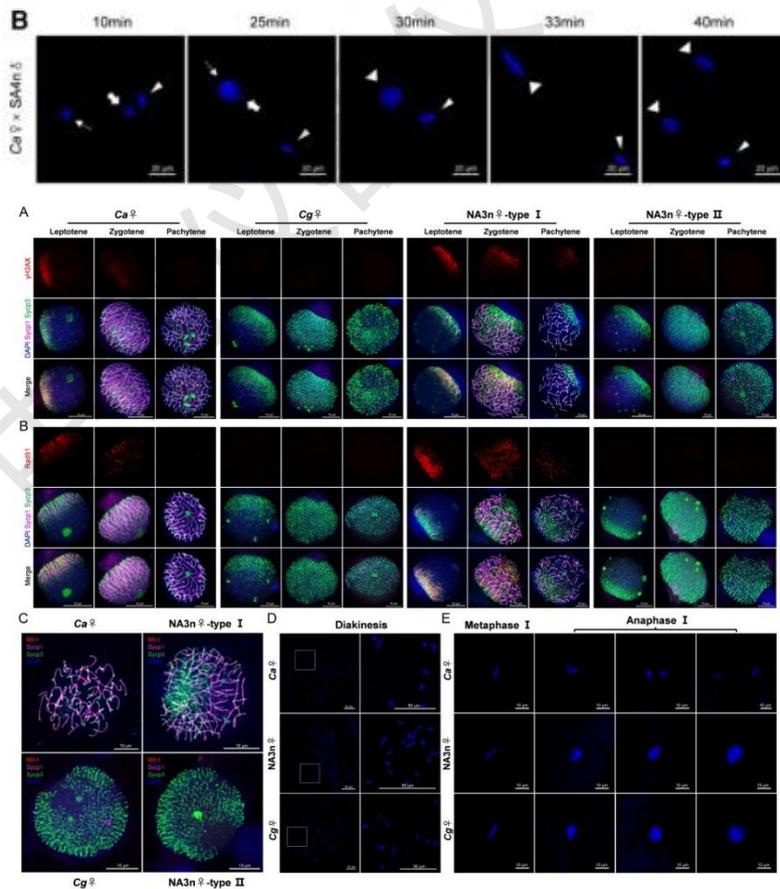
在以衣藻为研究模型探寻纤毛囊泡的分泌与纤毛解聚过程中,由于纤毛囊泡分泌的过程快速而不易捕捉,且胞体有叶绿素荧光信号干扰,纤毛及囊泡信号不易成像,通过摸索激光共聚焦显微镜 Time 和 Z-Stack 等成像条件建立快速敏感监控衣藻纤毛囊泡释放的方法,成功观察到囊泡内 PDCD6 随囊泡分泌的整个动态过程,为该研究人员进一步解析纤毛解聚的分子机理找到了一个新的方向。



时间序列拍摄到鞭毛囊泡分泌的过程

1.4 超高分辨显微成像助力多倍体鲫生殖方式转换的研究

采用超高分辨共聚焦显微镜系统对卵母细胞成熟发育的细胞学过程以及卵子的受精行为进行成像，并对 3D 图像数据进行处理，清楚观察到了不同类型的卵母细胞及同源染色体的差异。



超分辨显微成像观察新型双三倍体(NA3n)两种卵母细胞的染色体行为。