



臺大醫學院第一共研電子報

第十二期 102 年八月發刊

顯微影像核心

本期編輯：影像核心實驗室 徐華蔓

編輯委員：鄧述諄 詹迺立 吳明賢 林淑華 林泰元

本期主題：1. 顯微鏡之基本清潔與維護

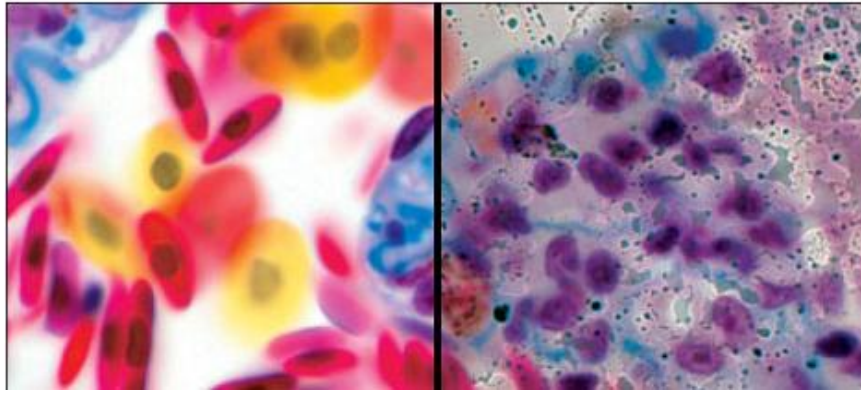
2. 本中心顯微鏡使用資格取得方式

前言

提供光學顯微鏡應用之相關諮詢，亦為顯微影像核心的服務項目之一，歡迎醫學院研究同仁多加利用與蒞臨指教。顯微鏡是許多研究同仁每日不可或缺的實驗儀器之一，本中心特以此電子報專刊「顯微鏡之保養與維護」基本要點，與大家分享『愛惜顯微鏡的正確方式』，提供大家做為日後照護顯微鏡之參考。

1. 在動手清潔前，下列數點應該先確認

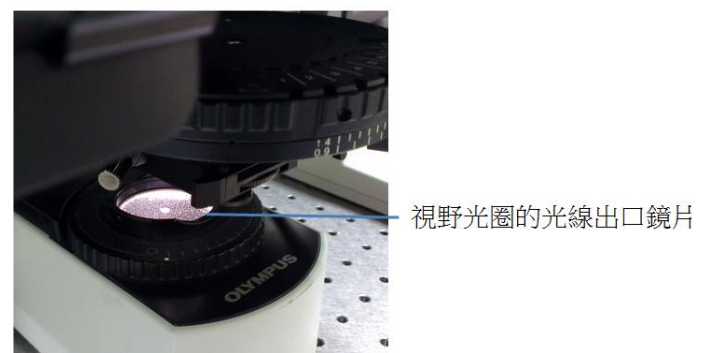
- 光線是否在合適條件：例如光圈大小是否合適、Köhler 照明校正、物鏡校正環位置是否正確等。
- 以標準玻片確認顯微鏡是否於最佳狀態。
- 使用的鏡油種類是否正確：若是使用油鏡則要確認使用的鏡油種類（例：標準油鏡、甘油鏡或水鏡皆有專屬鏡油）是否正確、鏡油是否沉澱變質或有不同批的鏡油混合一起等等。
- 避免使用 Anisol 作為鏡油：Anisol 與玻璃有很相近的折射率，但是當鏡油使用時影像銳利度、對比度會較標準鏡油差，且會對物鏡塗層造成傷害，因此不建議使用。



影像品質下降，視野內有不明髒污、對焦影像模糊，為什麼？

2. 引起顯微影像品質下降，視野內有不明髒污、對焦影像模糊，常見的髒污部位【圖一】

- 物鏡的前端鏡片：此部位髒污最容易發生，建議最先確認此部位
- 玻片樣品：樣品上的未乾水氣、多餘的浸潤液、封片膠、上次觀察未拭去的鏡油、新舊鏡油之混合等都會影響鏡油對光線的穿透率而下降影像品質。
- 蓋玻片：全新的蓋玻片使用前可確認正反面是否潔淨，有無指紋或發黴等，
- 相機感光晶片及其前端保護鏡
- 相機轉接環鏡片
- 接目鏡鏡桶鏡片內外層
- 靠近視野光圈的光線出口鏡片【圖二】
- 其它例如：鹵素燈、螢光汞燈箱前端聚光片、螢光濾片表面、色溫調整片與偏光片等位置



【圖二】

3.

4. 如何判斷髒汙位置與可以嘗試自行清潔的部位

- 輕微轉動相機，觀察影像是否跟著移動，若影像**不會跟著移動**，表示相機的感測晶片（CCD 或 CMOS）或其前方的保護鏡片可能為髒汙來源；若影像會跟著轉動則表示髒汙來源應來自於其它部位。
- 分別輕微轉動物鏡、聚光鏡前方鏡片、相機轉機環等部位，影像的髒汙會跟著移動時，表示髒汙可能在這幾個平面上。
- 基本上在不需要工具拆解且容易觸及的部位一般使用者可以自行清潔，如：物鏡、目鏡與聚光鏡的前端鏡片、色溫調整片與偏光片等可以自行清潔。螢光濾片與其他顯微鏡內部的各鏡片清潔則不建議一般使用者自行清潔。

5. 清潔髒汙

我們應先判斷要清潔的光學配件表層材質種類及其上面的髒汙類型，粉塵是非附著性髒汙主要因素；附著型的髒汙（污漬）則需要判斷是水溶性或非水溶性還是混合型的髒汙。

非附著型髒汙

空氣中飄浮的灰塵、棉絮、剝落的皮膚角質、花粉及風乾封片膠碎片、損毀玻片碎玻璃等都是鏡片的非附著性髒汙來源。為顯微鏡套上防塵罩為最基本，也最容易的防止粉塵污染顯微鏡的最基本功夫，此外例如機身上未使用的相機開口、物鏡鼻輪上的閒置物鏡孔【圖三】都應該加上蓋子防止落塵進入機身內部無法清潔的部位造成顯微鏡的使用壽命減短。清潔要點如下：

- I. 吹氣球【圖四】是清潔粉塵的最佳工具：勿使用壓縮空氣罐/噴瓶來清潔顯微鏡片，因為瞬間噴出的冷空氣可能會產生冰晶會割傷鏡片造成不可逆的傷害，也容易有液體殘留。
- II. 接著以濕棉花棒或拭鏡紙【圖四】清潔剩餘粉塵：以吹氣球清除大部分粉塵後，可以棉花棒沾潤去離子水清潔。
- III. 不要乾擦鏡片：切勿直接拿了張紙就直接擦拭鏡片，粉塵會對鏡片產生研磨的效果，造成刮傷。
- IV. 難以觸及的機身內部的清潔問題，都應尋求專業的專業顯微鏡工程師尋求協助。



閒置之相機轉接開口與物鏡鼻輪開口應該套上孔蓋，以免粉塵落入無法清潔的機身內部。

【圖三】



【圖四】

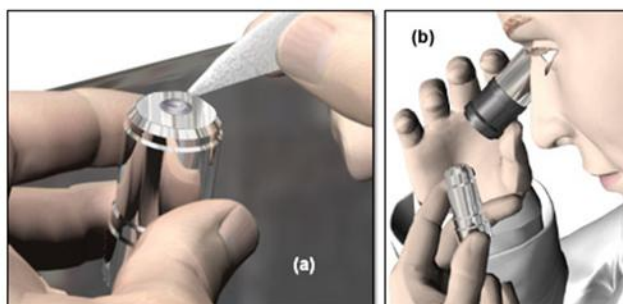
附著型髒污

- A. 水溶性髒污：來源有樣品 wash buffer、樣品浸潤液、封片膠...等
 - I. 以棉花棒沾去離子水清潔：以棉花棒沾潤適量乾淨的去離子水，將鏡片以畫流渦方式由內向外輕拭（見圖）。
 - II. 利用嘴巴呵出的水蒸氣清潔：將鏡片拿靠近嘴邊，輕輕對著鏡片呵氣（不是吹氣，吹氣很容易一起吹出唾液，唾液成分很複雜有細菌、蛋白質等），將鏡片以畫流渦方式由內向外清潔（見圖）。
 - III. 確認沒有殘留水漬。

- B. 非水溶性髒污：**例如鏡油、使用者手上與臉上的油脂、指紋、封片膠、封片指甲油...等
- I. 可使用乙醇（ultra pure 等級）做為清潔液，稍易有殘漬，不適用於出廠年代久遠顯微鏡機型的鏡片。
 - II. 清除物鏡或聚光鏡上的鏡油：
 1. 先以拭鏡紙輕輕吸走多餘鏡油，可重複兩三次。
 2. 接著以棉花棒或拭鏡紙（可利用對折後的四個尖角，清潔小面積區域【圖五 a.】）沾潤適量物鏡清潔液，可輕用棉花棒甩去多餘的清潔液，以畫漩渦方式由內向外擦拭鏡片【圖五】勿直接施壓用力於鏡片上，動作及施力務必輕柔。此步驟需重複二~三次。
 3. 使用含有低濃度清潔劑的水溶液也是方便的選擇：10ml 去離子水加入一滴溫和洗碗精混合均勻後使用。
 4. 最後確認不要有水漬的殘留痕跡。
 - III. 沾取清潔液擦拭時，應該使用質純無粉塵且不易殘留棉屑的醫藥棉花棒【圖四】，或者以木籤/竹籤與脫脂棉花【圖四】現場製作棉花棒。
 - IV. 沾取各種清潔液時皆適量即可，只需剛好濕潤棉花棒/拭鏡紙的用量，過多的清潔液將容易殘留於物鏡上或滲入細縫中。使含有有機溶液成分的清液時，以快速揮發者為佳，停留於物鏡上的時間過長會增加侵蝕鏡片的機會。
 - V. 在清潔的同時，我們可以用低倍率的解剖顯微鏡、放大鏡或者目鏡【圖五】一邊檢查我們的鏡片清潔效果，必要時再次重複前述清潔步驟。
 - VI. 已製作完成（封好片等待觀察）的玻片樣品上，常同時有水溶性與非水溶性兩種混合髒污，用顯微鏡觀察前，可以花些時間自棉花棒沾水開始清潔起。
 - VII. 玻片上的非水溶性髒污的清液可以用 Acetone 清潔，但不建議使用於物鏡（特別是出廠年代久遠的物鏡）或其他鏡片，因可能會溶解周圍塑膠/橡膠框。
 - VIII. 其它油性髒污亦有專業顯微鏡網站建議：85%petroleum ether+ 15% isopropanol，也可以考慮向廠商購買顯微鏡專用鏡片清潔液。
 - IX. 不要使用一般市售玻璃清潔劑，例如：穩潔，含有 ammonium 或 acid 溶液會傷害鏡片防反光塗層或旁邊的膠框。
 - X. 其餘如 benzene、xylene、chloroform 及其它清潔力更強的有機溶劑與其混合液...等，並不建議一般者使用，因不同鏡片/濾鏡各有不同種類塗層或接著劑，可能會被有機溶劑溶解，各

種應用下有不同考量，情況較複雜，因此建議盡量避免使用。必要時應尋求專業工程師協助。

- XI. 選擇有機溶劑做微鏡片清潔液時使用者也應有生物安全性的考量，以維護自身健康。
- XII. 為了使顯微鏡發揮最佳的效能，日常維護時拭鏡紙與棉花棒應該不吝嗇的使用，考慮到其身價的不斐，與其相較下這些耗材是非常值得的。



【圖五】



應以由內向外畫漩渦的方向清潔鏡片。

【圖六】

6. 良好的環境與使用習慣

在清潔顯微鏡前，我們應該要有「事前預防勝於事後清潔」的正確觀念。在台灣，顯微鏡應該置於一個溫度與濕度受到良好控制的環境中（維持溫度 25°C 以下、濕度 65% 以下為佳），可利用空調與除濕機控制溫濕度，降低黴菌生長的機會，一但黴菌附著於鏡片上生長對於鏡片的傷害往往是不可逆的。我們也應養成良好的日常使用習慣：每次使用完畢應該清潔物鏡，最後蓋上目鏡罩、防塵罩【圖七】，即使只是一個晚上未使用，這些簡單的動作也應確實做到。

我們在使用倒立顯微鏡時尤需要小心注意：物鏡與鼻輪部位很容易累積灰塵，也易受鏡油、打翻的細胞培養液汙染，加上重力的影響，液體也容易往物鏡鏡片與金屬殼間的細縫滲入。在顯微鏡暗房中進行活細胞螢光觀察時打翻培養皿，此類意外時常可聽聞發生，富含鹽類與各式養分的培養液流

入無法清潔的機身內部光路將會非常麻煩，物鏡也可能損毀。因此，使用者在操作倒立顯微鏡觀察培養皿的時候應該格外小心。



【圖七】

結語

微小的粉塵附著、鏡片些許的刮傷、不當的清潔方式、不良的使用習慣…也許在短時間內肉眼或相機影像內並觀察不出差異，往往讓我們忽略這些小地方的重要性，但日積月累長久累積之下，影像不良的效果將逐漸浮現且愈發嚴重，對顯微鏡早已造成不可逆的傷害，使得顯微鏡的效能降低、使用年限縮短，我們期許以此篇文章分享予在校所有顯微鏡使用者以擁有正確的保養與清潔觀念。

參考資料：

<http://micro.magnet.fsu.edu/>

<http://www.leica-microsystems.com/>

<http://www.microscopyu.com/>

<http://www.olympusmicro.com/>

<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/>

如何取得影像核心各顯微鏡使用資格?

1. 於本中心參加數位基礎課程



- 請於星期一至五上班時間 09:00~17:00 至基礎醫學大樓 R1448 上課，觀賞影音課程時間約 60~100 分鐘，自備耳機。
- 內容包含本中心使用規則、光學顯微鏡、共軛焦顯微鏡原理及應用介紹等簡報數位課程。

2. 詳細觀賞操作示範影片



- 針對您所欲使用的顯微鏡借覽示範操作影片。
- 影片光碟可攜回仔細觀賞學習，十日內歸還。

3. 與管理員預約第一次上機時段



- 管理員將陪同您上機的前半段時間，協助您找到樣品焦距、設定參數、重點提示等，我們也將判斷您的學習效果，若表現欠佳則視為認證不通過，請重新上課或將予以酌收 100~300 元/hr 之上機教學費。
- 此步驟不能由其他使用者（例如學長姐）取代。

4. 成為該儀器之合格認證使用者

- 完成以上步驟且通過認證，即可自由預約使用該顯微鏡。
- 日後若欲使用本中心其它儀器請重複所屬之 2~4 認證步驟。

