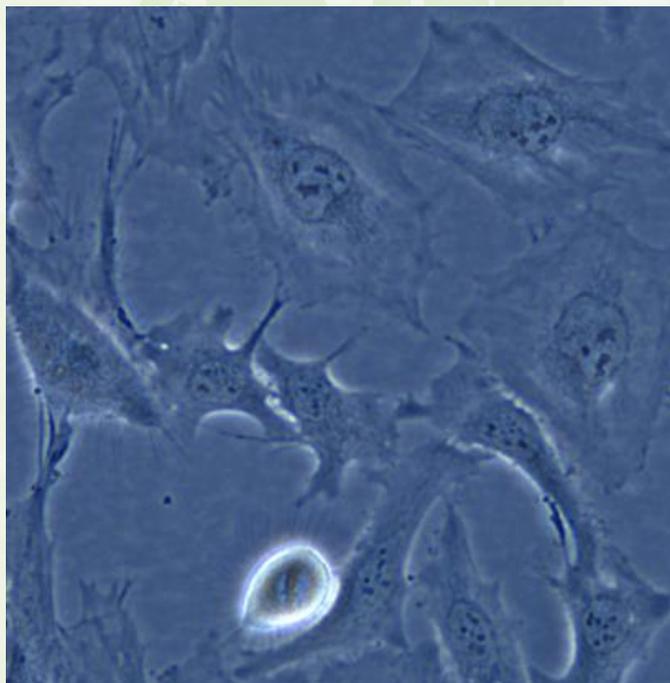


觀察細胞的最佳眼鏡- 相位差顯微鏡

在日常生活中，我們經常會遇到觀察透明或半透明物體的困難。例如，當我們試圖透過一杯清水觀察其中的細小顆粒時，這些顆粒往往因為透明而難以辨識。同樣的，在科學研究中，觀察厚度不均的樣本或細胞也是一個挑戰 (圖一)。這些樣本的不同部分會導致光線的相位發生變化，讓細節難以看清。為了解決這一問題，科學家們發明了相位差顯微鏡。這種技術利用光的相位變化來增強樣本的對比度，使得原本難以觀察的細節變得清晰可見。當光線穿過樣本時，由於樣本內部的折射率和厚度差異，光的相位會發生變化。相位差顯微鏡通過將這些相位變化轉換為振幅變化，使透明樣本的細節顯現。



(圖一， HeLa Cell Culture Phase Contrast 2v1.png from Catfaster)

相位差顯微鏡的發明可以追溯到1930年代，由荷蘭物理學家弗里茨·澤爾尼克 (Frits Zernike) 所創 (圖二)。澤爾尼克在研究光學現象時，發現了利用相位差來增強顯微鏡對比度的方法，並於1935年發表了相關論文。這一發明在1941年得到了實際應用，並於1953年為澤爾尼克贏得了諾貝爾物理學獎。隨著技術的不斷進步，相位差顯微鏡在生物醫學領域得到了廣泛應用，成為觀察活細胞和組織的重要工具。

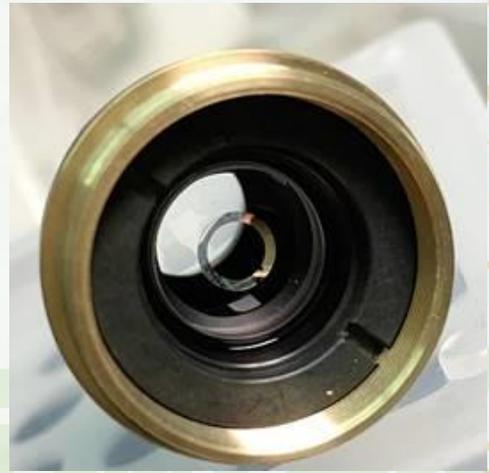


(圖二，弗里茨·澤爾尼克 (Frits Zernike)
photo from Baidu Baike)

相位差顯微鏡的基本原理包含以下幾個步驟：光的相位變化：當光線穿過透明樣本時，樣本的不同部分會導致光線的相位發生變化。相位板和環形光闌：相位差顯微鏡使用一個特殊的相位板和環形光闌。環形光闌位於聚光器的孔徑光闌位置，而相位板則位於物鏡的後焦平面 (圖三)。相消干涉：未被樣本改變的光 (參考光) 和被樣本改變的光 (折射光) 會在相位板處發生干涉。相位板 (圖四) 將參考光的相位角超前90度，使參考光和折射光之間的相位差達到180度，產生相消干涉，以增強對比度。



(圖三，插入式位相差光闌。Photo from wikipedia)



(圖四，位相差物鏡，可見相位板。
Photo from wikipedia)

相位差顯微鏡的主要優勢在於其能夠在不染色的情況下觀察活細胞，避免染劑對樣本造成傷害，這種優勢特別適合研究細胞和其他透明樣本。對於操作者來說，相位差顯微鏡操作簡單，適用範圍廣。它也有一些限制，如相位差顯微鏡對厚樣本的觀察效果不佳，且在觀察高對比度樣本時可能會產生光暈效應，因此較不適合組織切片類樣本。此外，製作高品質的相位板和環形光闌需要精密的技術和設備，成本較高。隨著科技的進步，相位差顯微鏡技術也在不斷搭配最新的技術發展。例如，利用數位圖像處理技術，搭配相位差顯微鏡，能夠更精確分析樣本的相位變化。未來，隨著新材料和新技術的應用，相位差顯微鏡有望在生物醫學研究中發揮更大的作用，帶來更多生命的奧秘。

參考文獻：

Murphy, Douglas B Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging, John Wiley & Sons (2001)

Pluta, Maksymilian, Advanced Light Microscopy, Vol 2, Specialized Methods, Elsevier and PWN-Polish Scientific Publishers (1989)

Zernike, F., Phase-contrast, a new method for microscopic observation of transparent objects. Part I., Physica: 9, 686-698 (1942)

Zernike, F., Phase-contrast, a new method for microscopic observation of transparent objects. Part II., Physica: 9, 974-986 (1942)

Zernike, F., How I discovered phase contrast., Science: 121, 345-349 (1955)

岑祥技術部
編撰