

# INVERTED FLUORESCENCE MICROSCOPE DEMONSTRATION

DATE : 14 JUNE 2021 (MONDAY)

TIME : 11.00 AM-11.30 AM

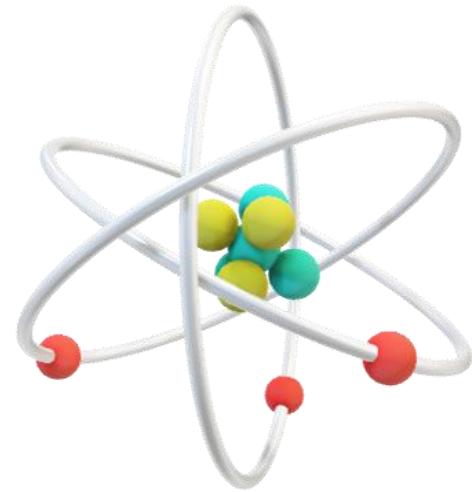
VENUE : ONLINE



**ZEISS Axio Vert.A1**

# Isi Kandungan

- Pengenalan
- Prinsip
- Bahagian/parameter
- Demonstrasi
- Kelebihan/kekurangan





# Pengenalan

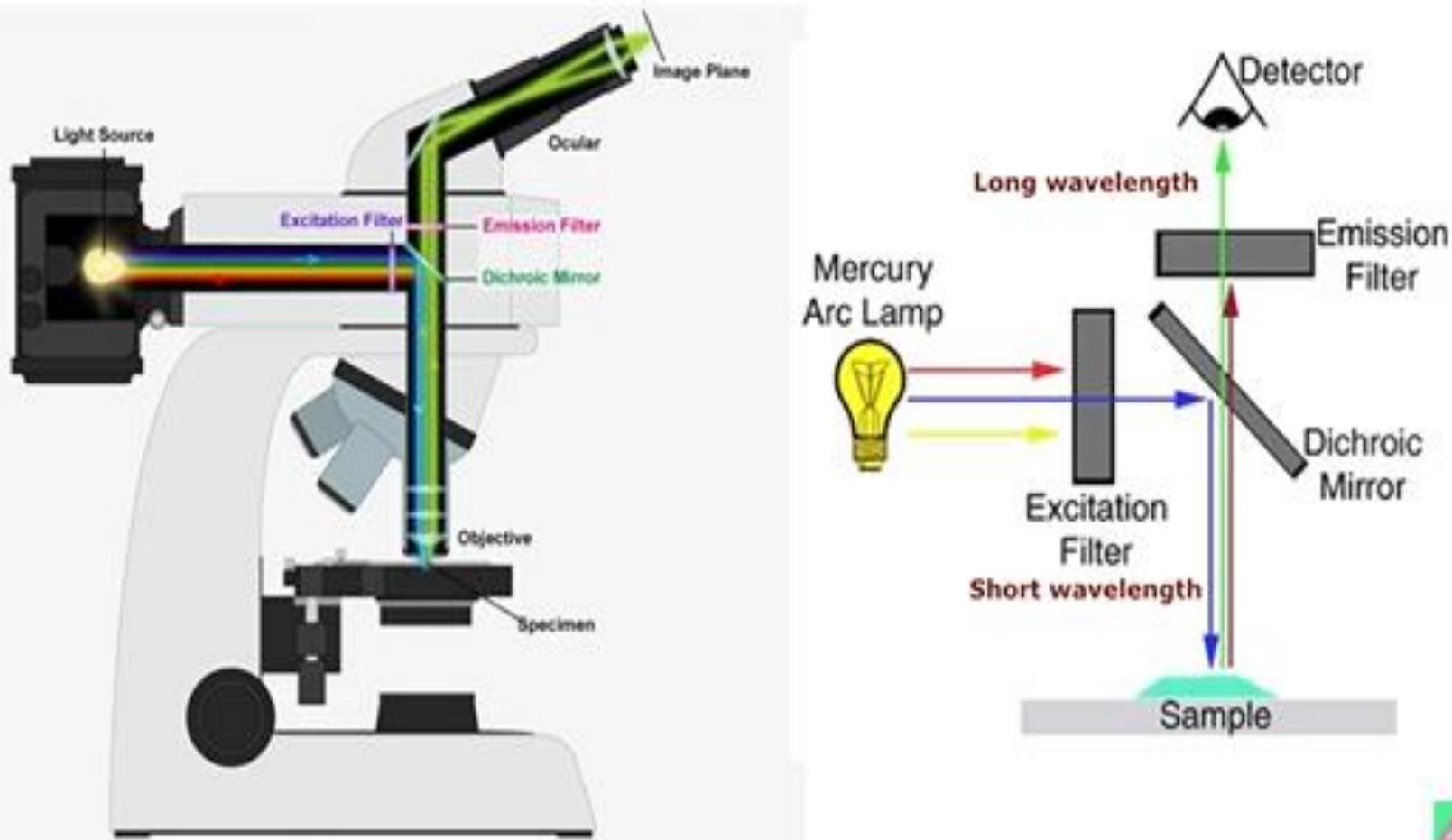
- ❖ Mikroskop pendarfluor adalah sejenis **mikroskop cahaya** yang berfungsi berdasarkan **prinsip pendarfluor**.
- ❖ Suatu bahan (dye) dikatakan pendarfluor ketika menyerap tenaga radiasi panjang gelombang yang lebih pendek yang tidak kelihatan (seperti cahaya UV) dan memancarkan radiasi panjang gelombang cahaya yang lebih panjang (seperti cahaya hijau atau merah).
- ❖ Fenomena ini, juga disebut pendarfluor, banyak digunakan dalam keadaan klinikal dan diagnostik untuk pengesan mikroorganisma, antibodi, dan banyak bahan lain dengan cepat.



# Prinsip

- Untuk memerhatikan sampel melalui mikroskop pendarfluor, ia harus dilabel terlebih dahulu dengan pewarna / bahan pendarfluor yang dikenali sebagai **fluorofor**.

# FLUORESCENCE MICROSCOPE

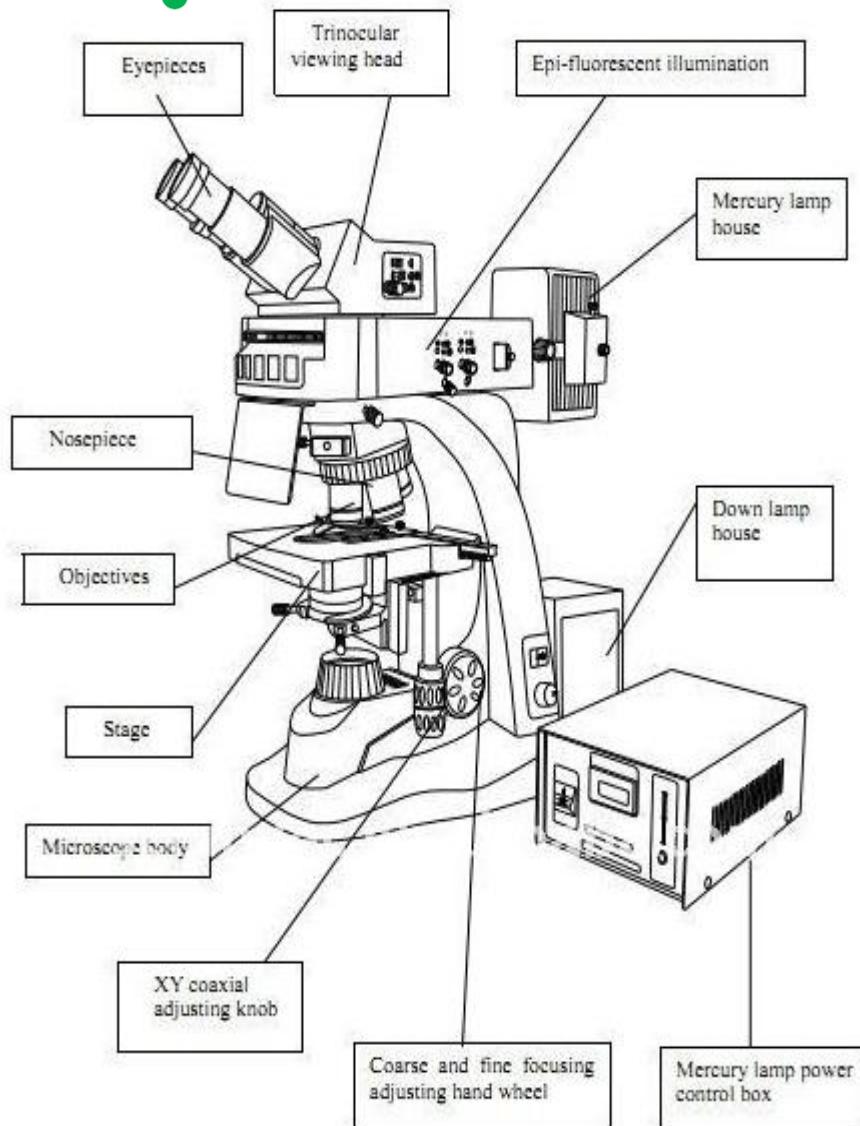




# Bahagian pada mikroskop



UTM  
UNIVERSITI TEKNOLOGI MALAYSIA



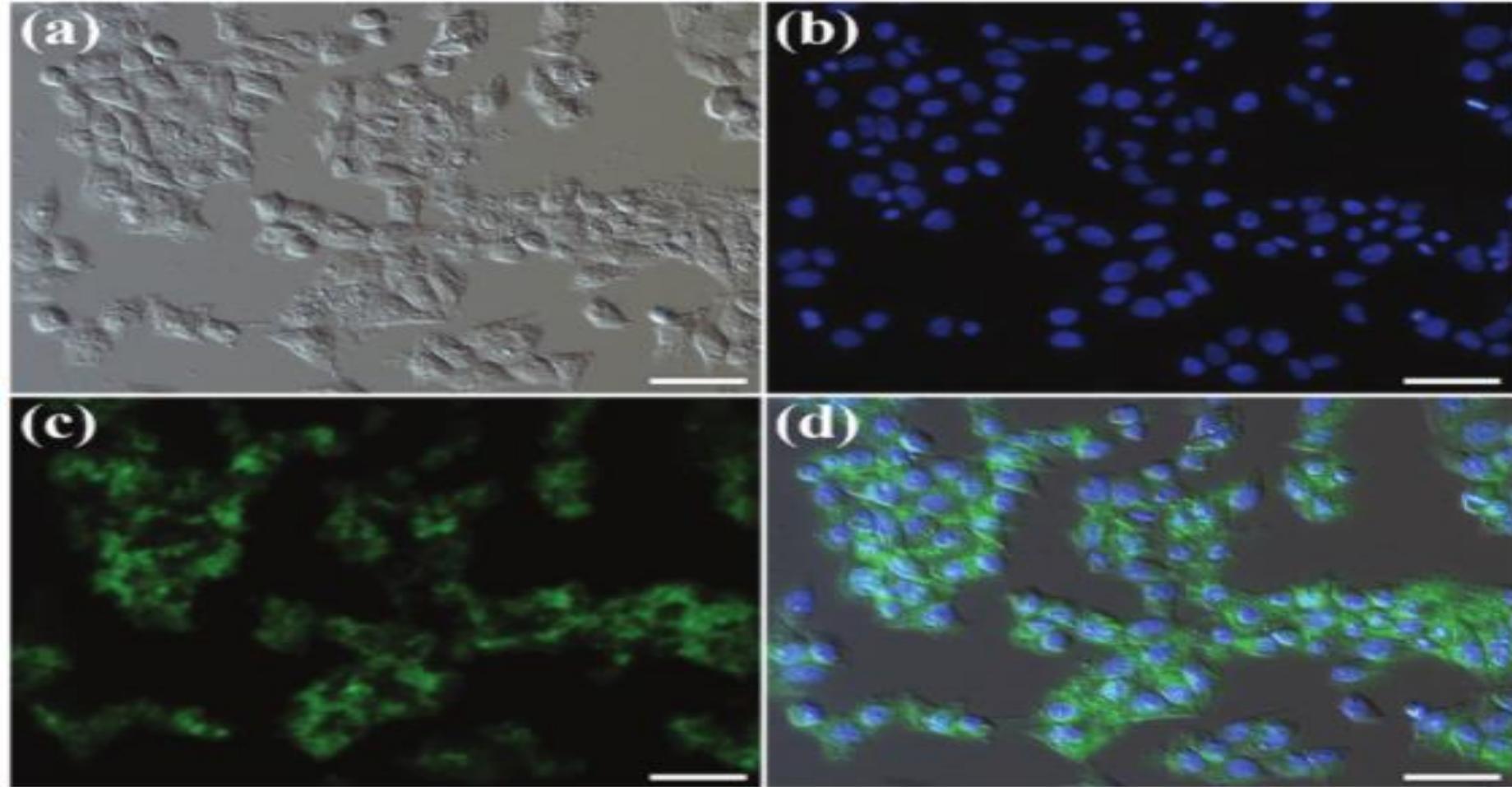


# Parameter

- Ada 5 magnification : 5x,10x,20x,40,100x (oil)
- Ada 4 filter
  - : - Dapi (biru)
  - Green Fluorescent Protein (GFP)
  - Cy3 (oren)
  - Cy5 ( merah)
- TL & RL
  - Transmitted Light &
  - Reflected Light



# Contoh Sampel

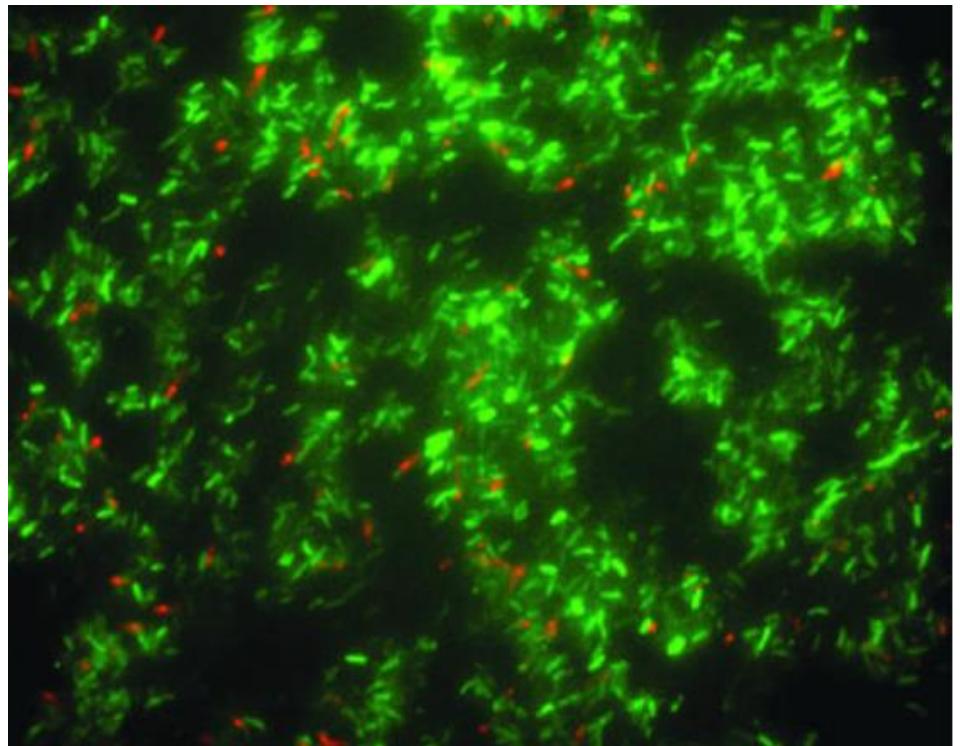


Inverted fluorescence microscope images of HeLa cells incubated with PEGylated UCNPs@TEMPO@SiO<sub>2</sub> nanocomposites at 200 µg mL<sup>-1</sup> for 6 h at 37 °C. (a) Bright-field image, (b) nuclei of cells (dyed in blue with Hoechst 33258 for visualization), (c) upconversion luminescence (UCL) image collected in the green channel (500 nm to 600 nm), (d) overlay image of the three. All scale bars are 50 µm. All images were taken under identical conditions and the nuclei were stained with Hoechst 33258.

# Contoh Sampel



*3 ply mask*



*E.Coli bacteria*

# Kelebihan IFM

- ❑ Pengesanan protein atau antigen yang menarik dalam spesimen dengan mudah kerana latar belakangnya benar-benar gelap kecuali antigen bertanda fluorophore.
  
- ❑ Ia menawarkan gambar molekul selular yang diperbesar dan jelas dalam spesimen dibandingkan dengan mikroskop optik biasa.

# Kelemahan IFM

- **Photobleaching**- Fluorofores beransur-ansur hilang untuk berpendar kerana diterangi cahaya.
  
- Beberapa teknik perwarnaan (*staining*) untuk mengurangkan **photobleaching** seperti penggunaan fluorofer yang lebih kuat dengan meminimumkan pencahayaan, atau dengan menggunakan bahan kimia pemulung fotoreaktif.

## Share video link :

1. <https://www.youtube.com/watch?v=PCJ13LjncMc>
2. <https://www.youtube.com/watch?v=CUjMoyqJV4c>
3. YouTube <https://www.youtube.com/watch?v=IYMdq2J9Zus&t=48s>

**Sekian,  
terima kasih.**