



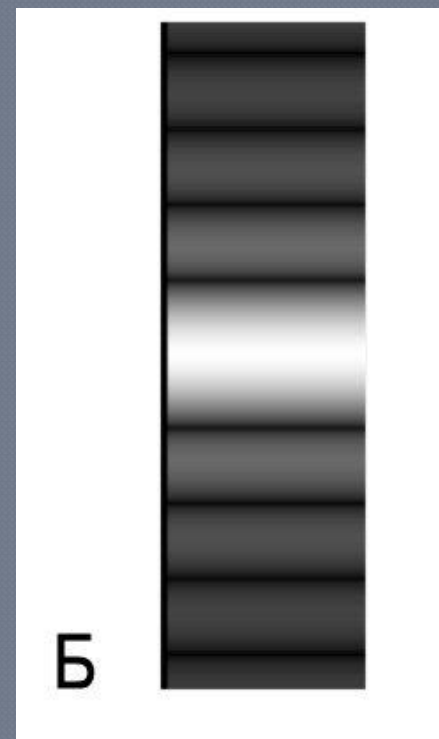
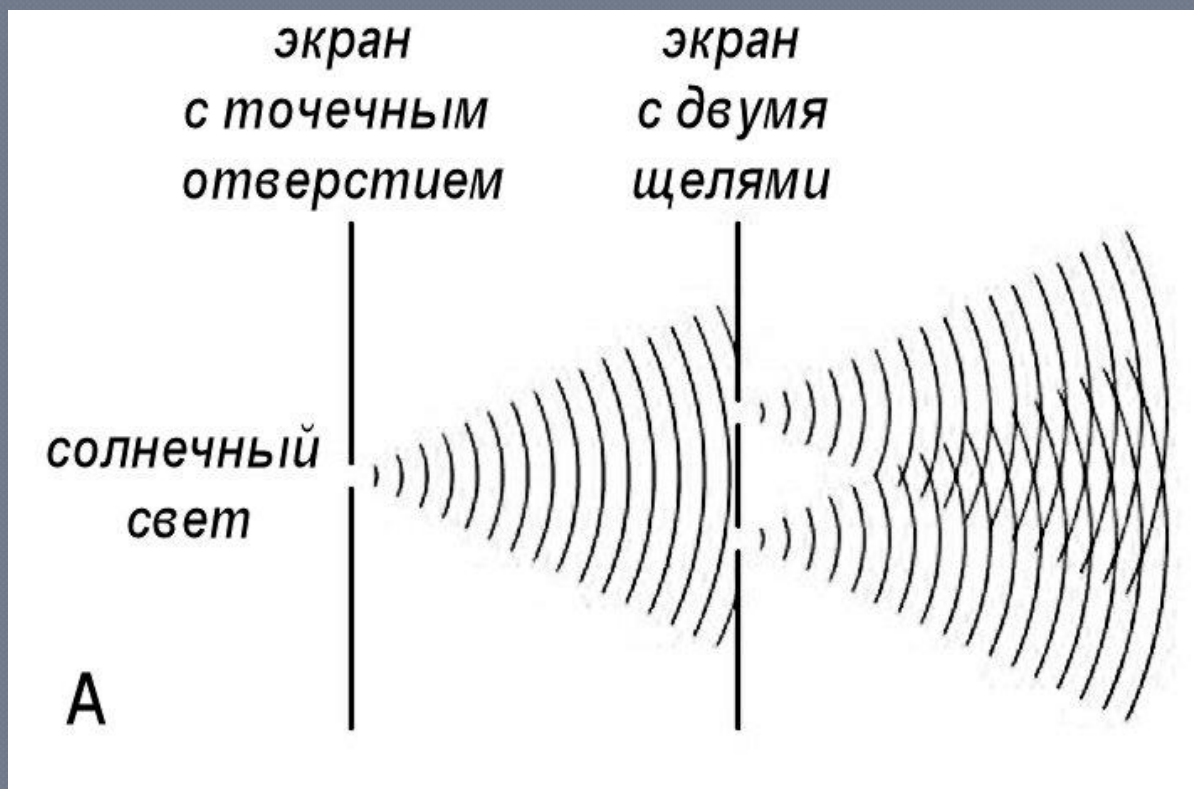
# МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ

# Волновая природа света

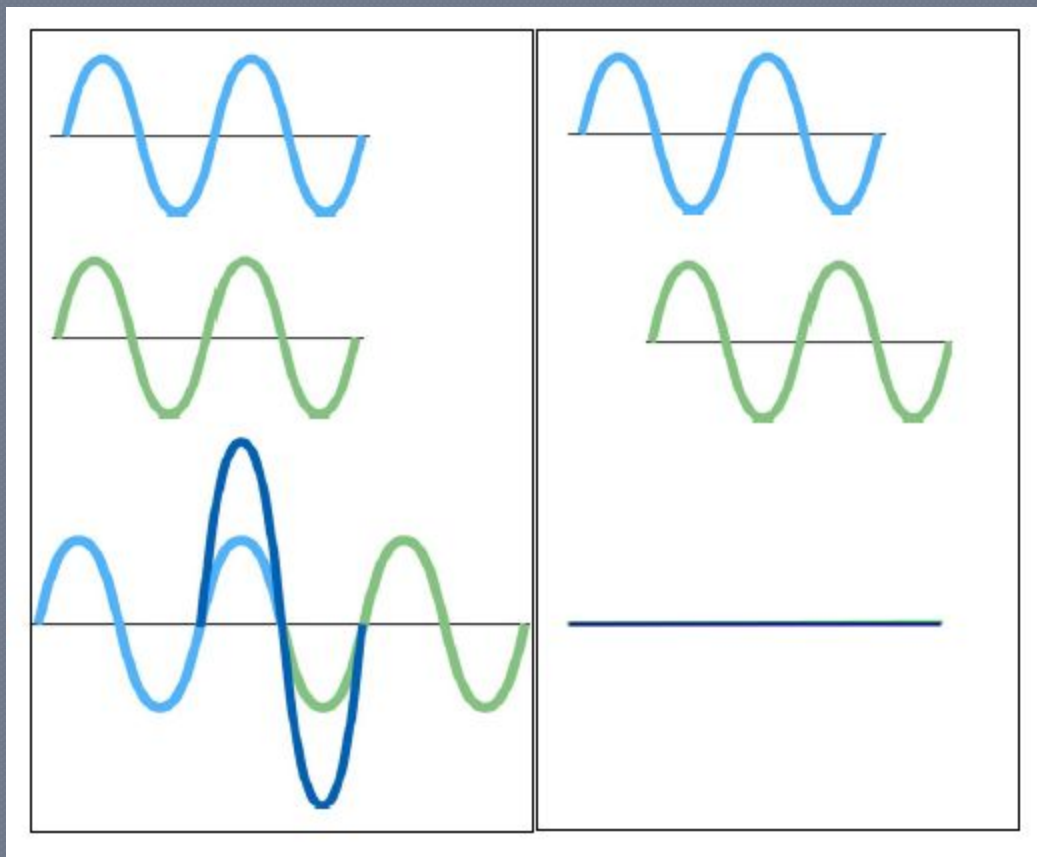


Camera obscura

# Эксперимент Томаса Юнга



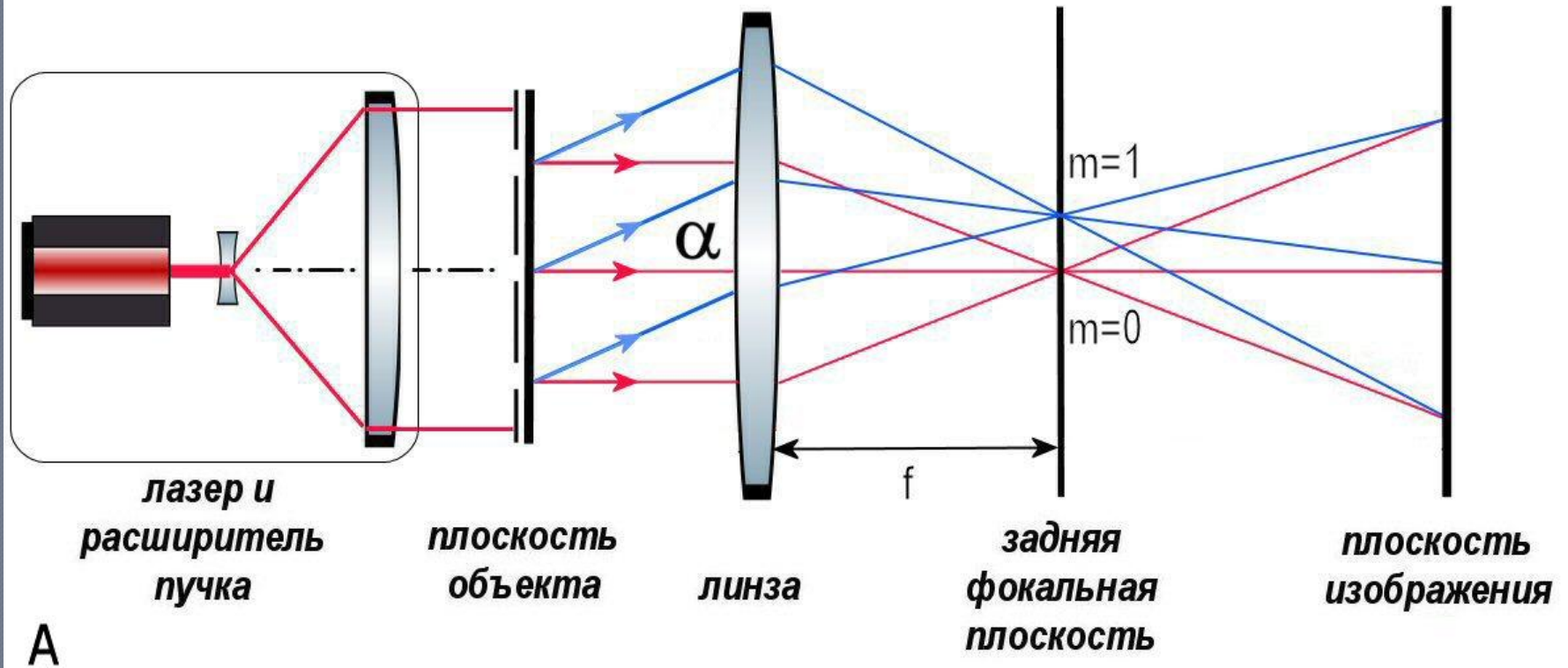
# Интерференция и дифракция



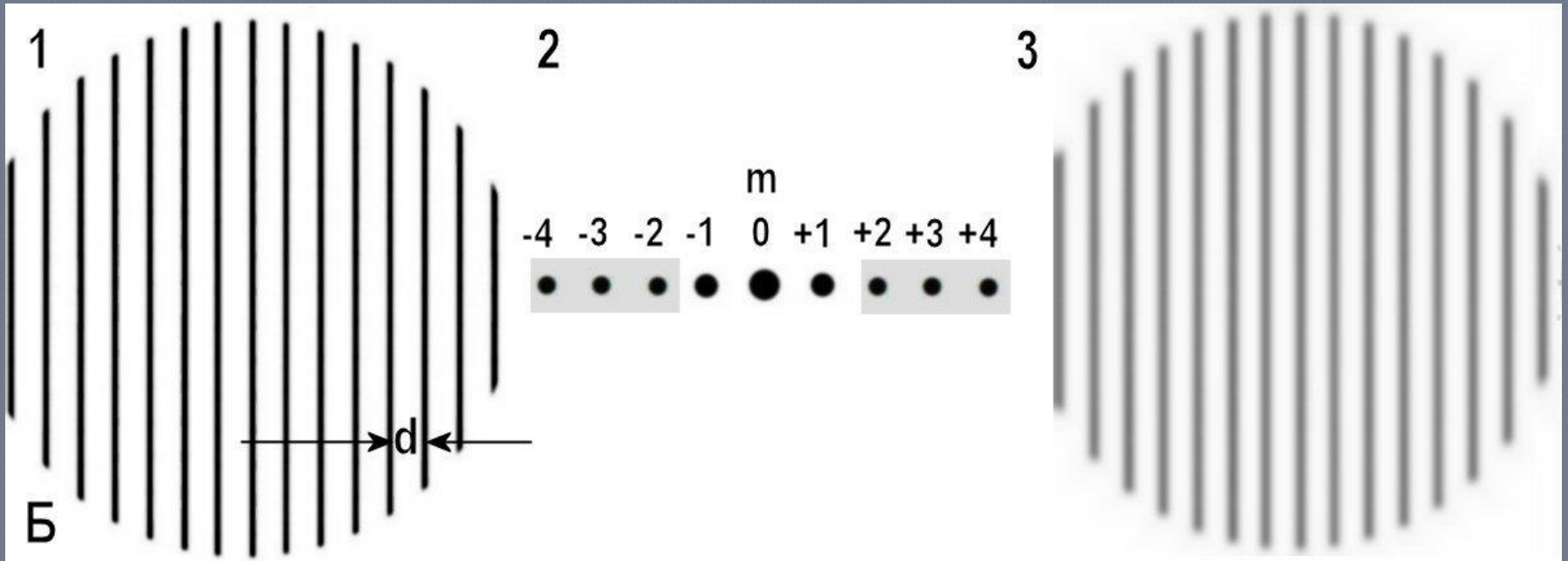
Дифракция - это огибание волнами препятствий на их пути

Условием интерференции и дифракции волн является их **когерентность** – постоянство длины волны и разности фаз

# Эксперимент Аббе



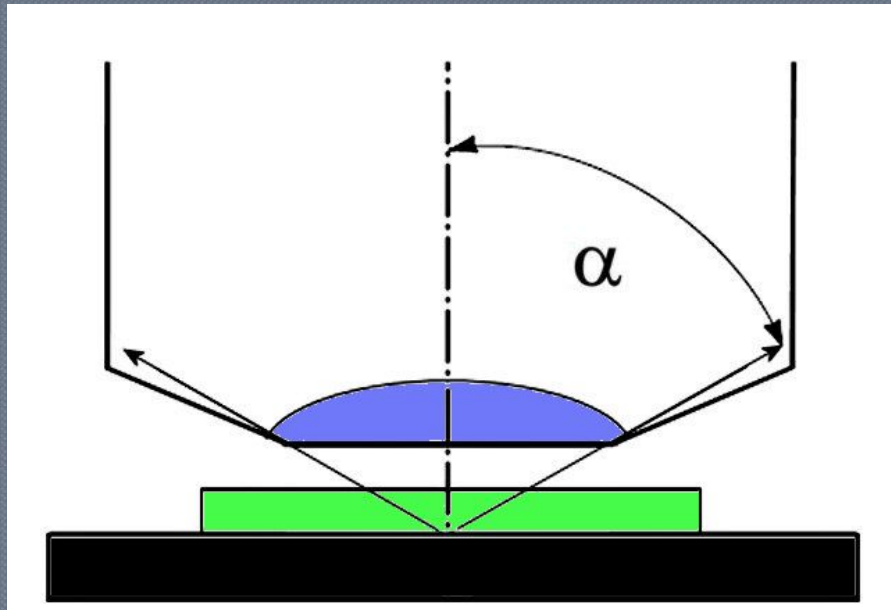
# Эксперимент Аббе



$$d * \sin \alpha = m * \lambda$$

# Формула Аббе

$$d = \lambda / n \sin \alpha$$



$\lambda$  – длина волны света;

$n$  – показатель преломления среды

$\alpha$  – половина угла раскрытия объектива

# 1-ая модификация формулы Аббе

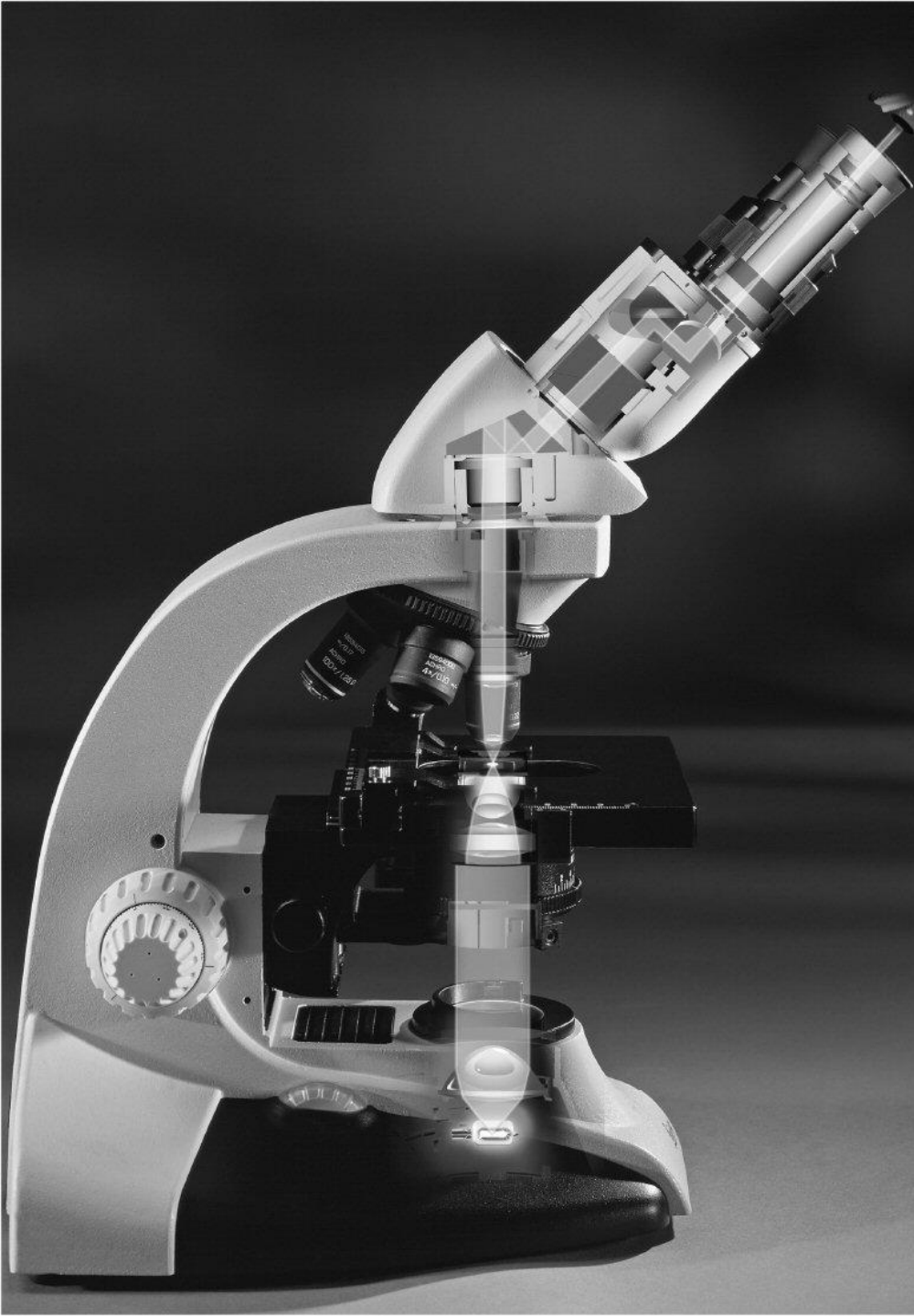
---

$$d = \lambda / NA$$

$\lambda$  – длина волны света;  $NA = n \sin\alpha$  – численная апертура (относительное отверстие) объектива

Формула Аббе показывает, что разрешающая способность микроскопа тем выше, чем меньше длина волны света, используемого для освещения препарата, и чем больше численные апертуры объектива и конденсора





## 2-ая модификация формулы Аббе

$$d = 1.22 \lambda / (NA_{об} + NA_{кон})$$

$$d = \lambda / 2NA$$

съемка живых клеток  
плоское поле  
флюоритовое  
стекло

увеличение/апертура  
дифференциально-  
интерференционный  
контраст

коррекция на  
бесконечность

толщина покровного  
стекла 0 или 0.19-0.15 мм

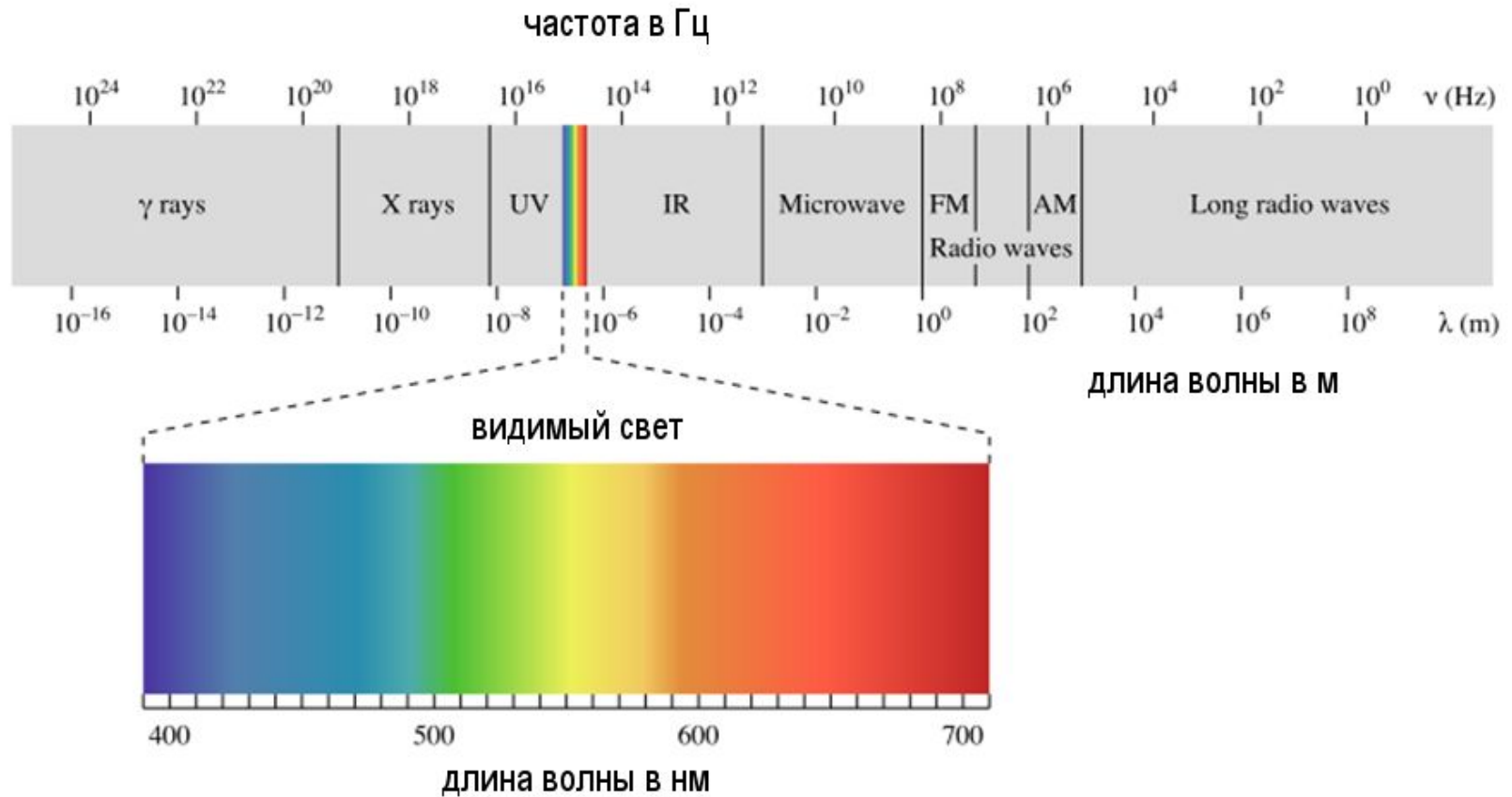
настройка на толщину  
покровного стекла  
выбор типа иммерсии



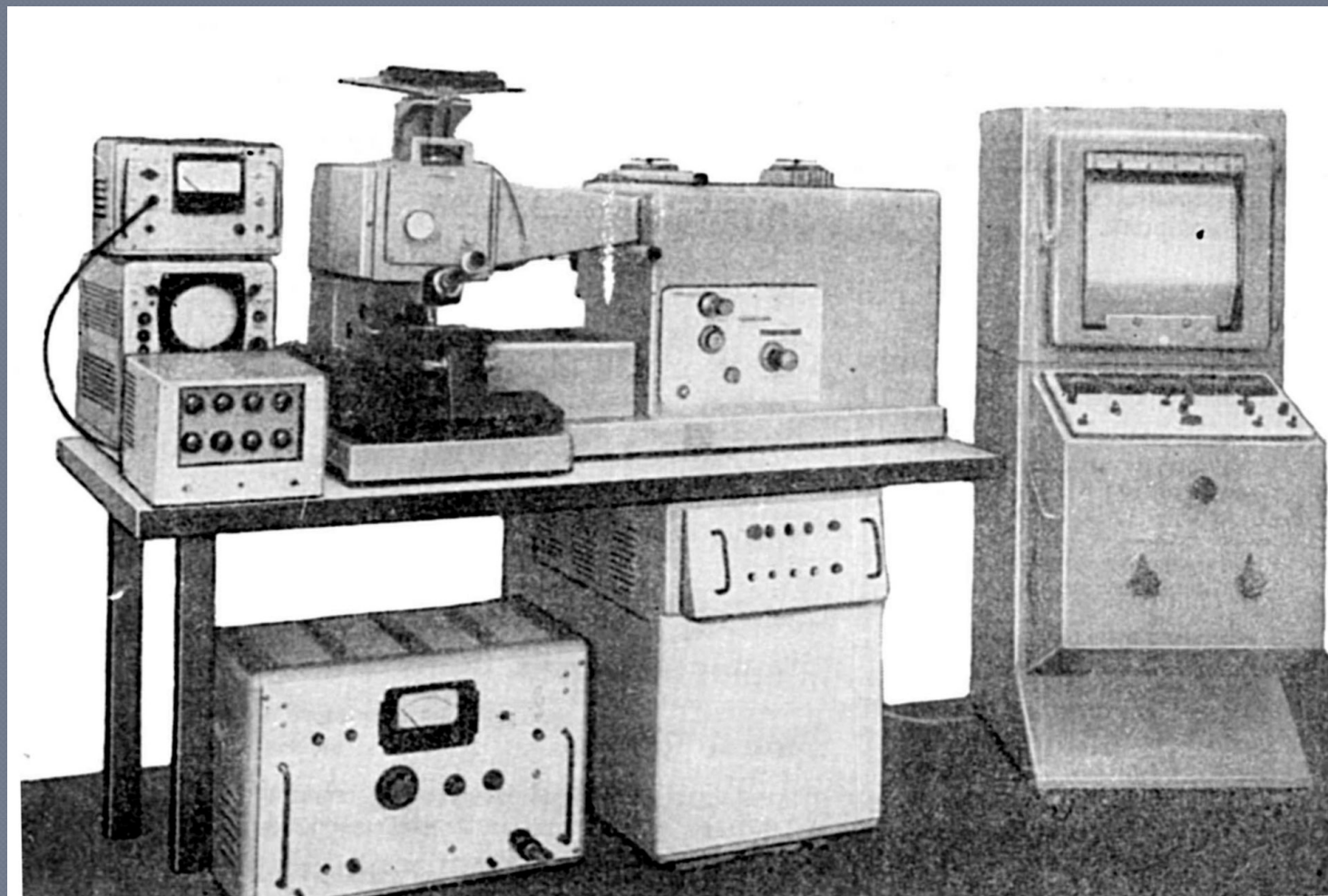
# Классификация методов микроскопии

Методы повышения разрешения	Методы повышения контраста
Ультрафиолетовая микроскопия	Темное поле
Электронная микроскопия	Фазовый контраст
Рентгеновская микроскопия	Дифференциальный интерференционный контраст
	Флуоресцентная микроскопия
Конфокальная микроскопия	

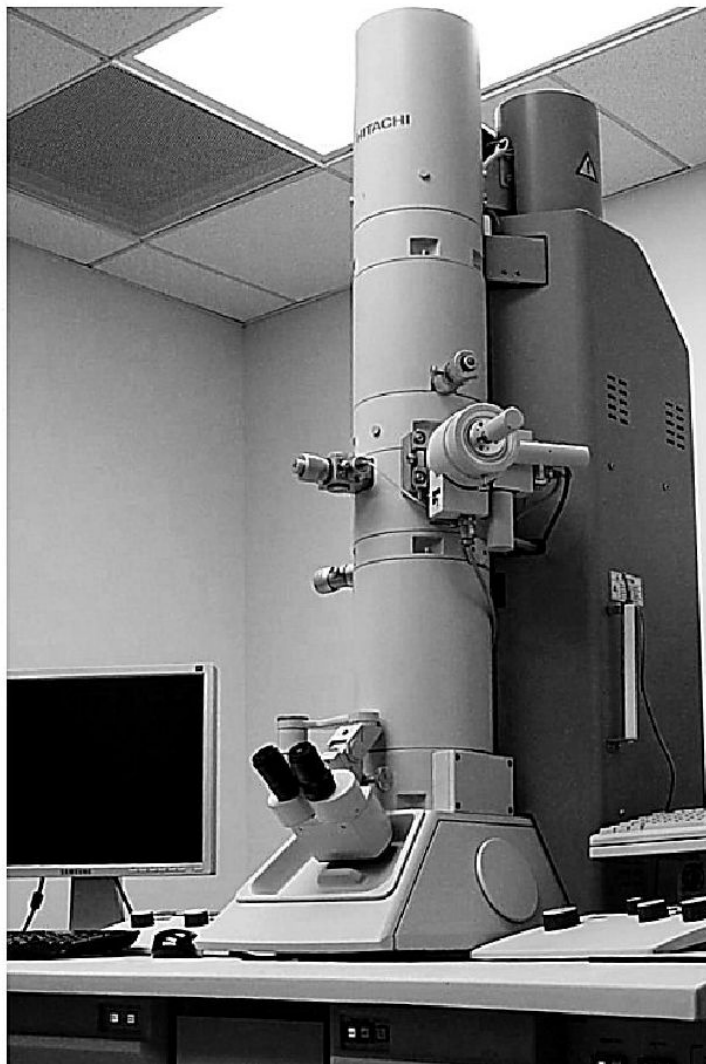
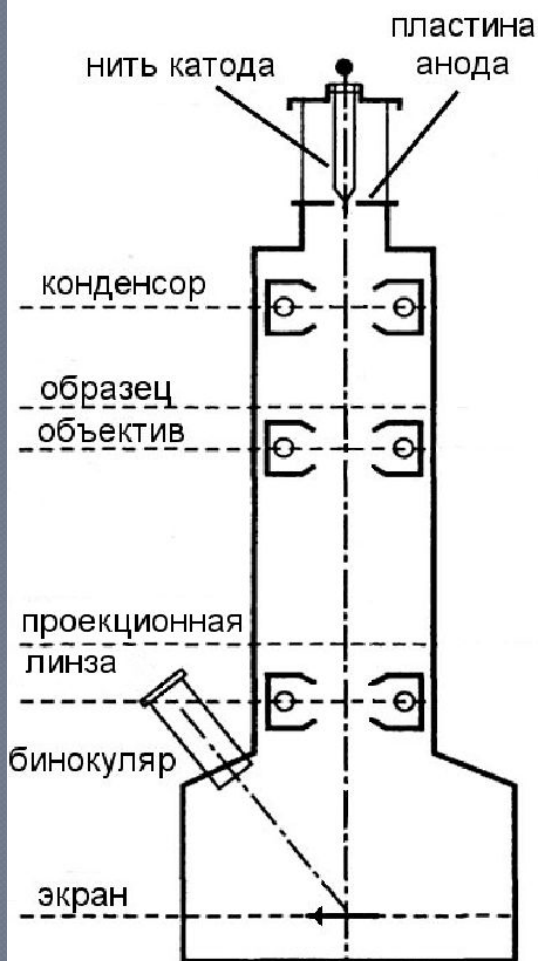
# Шкала электромагнитных волн



# Ультрафиолетовый микроскоп МУФ-5

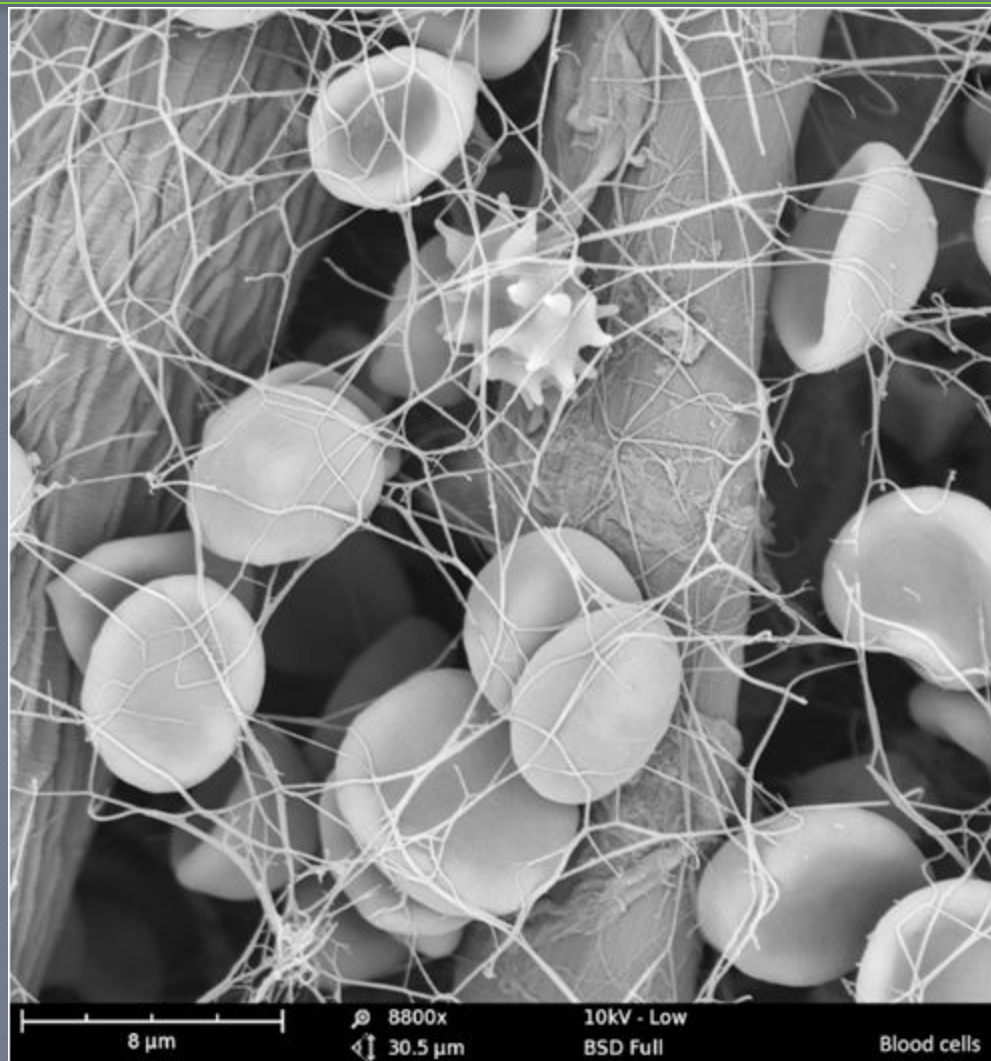


# Электронный микроскоп

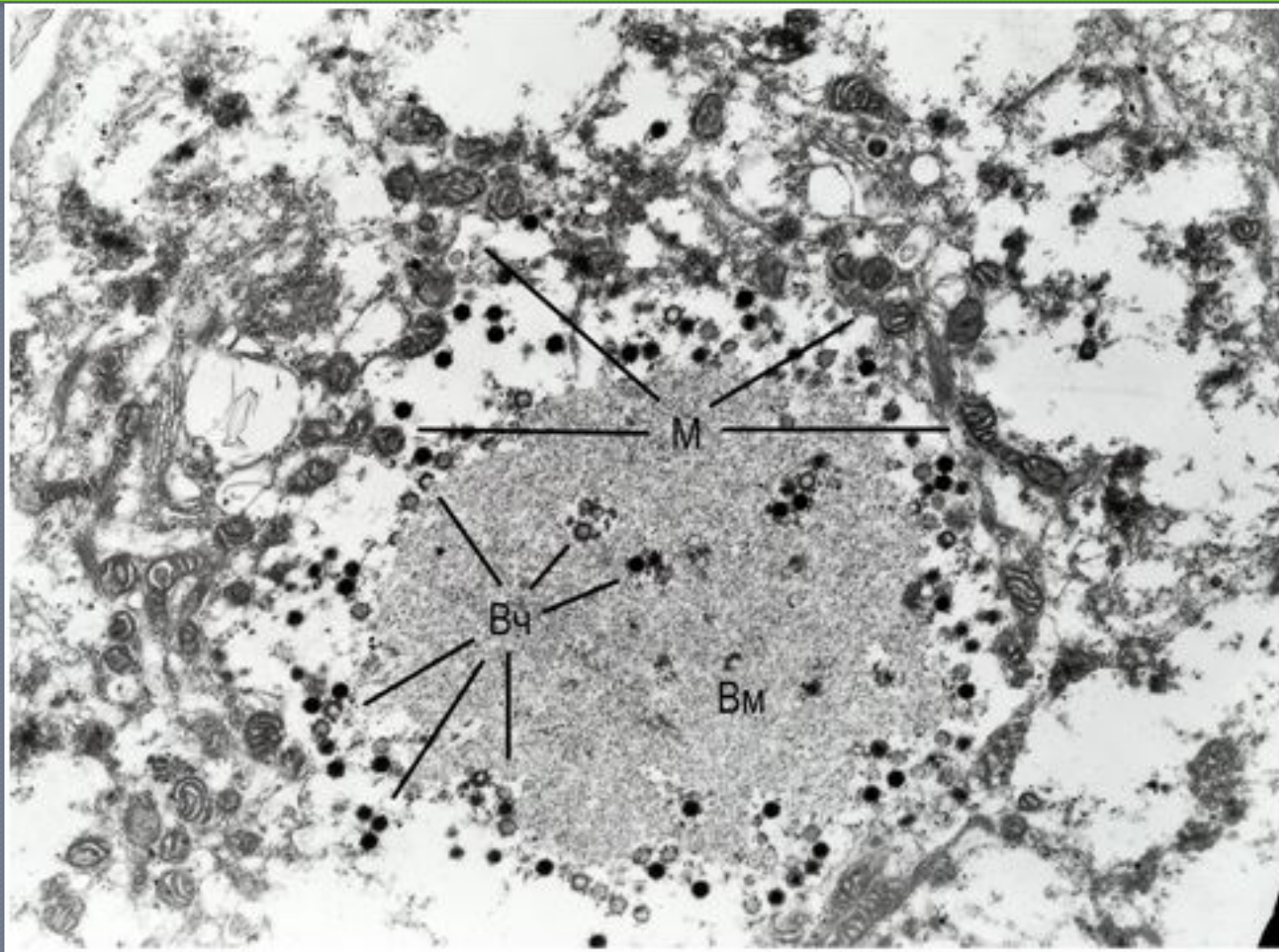


Формула  
де Бройля  
 $\lambda = h/mv$

# Сканирующий электронный микроскоп



# Трансмиссионный электронный микроскоп

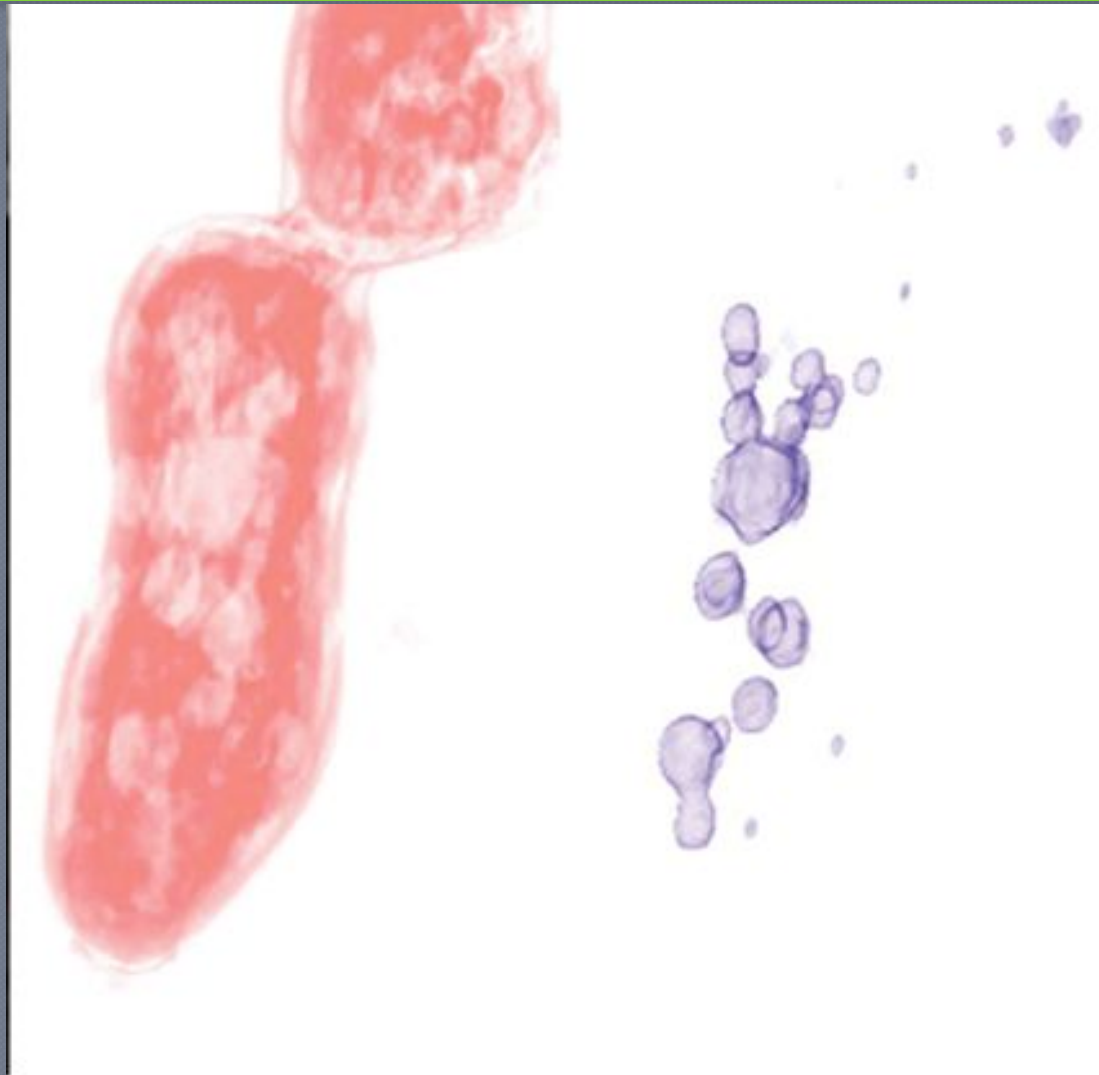




# Рентгеновский микроскоп



# Рентгеновский микроскоп



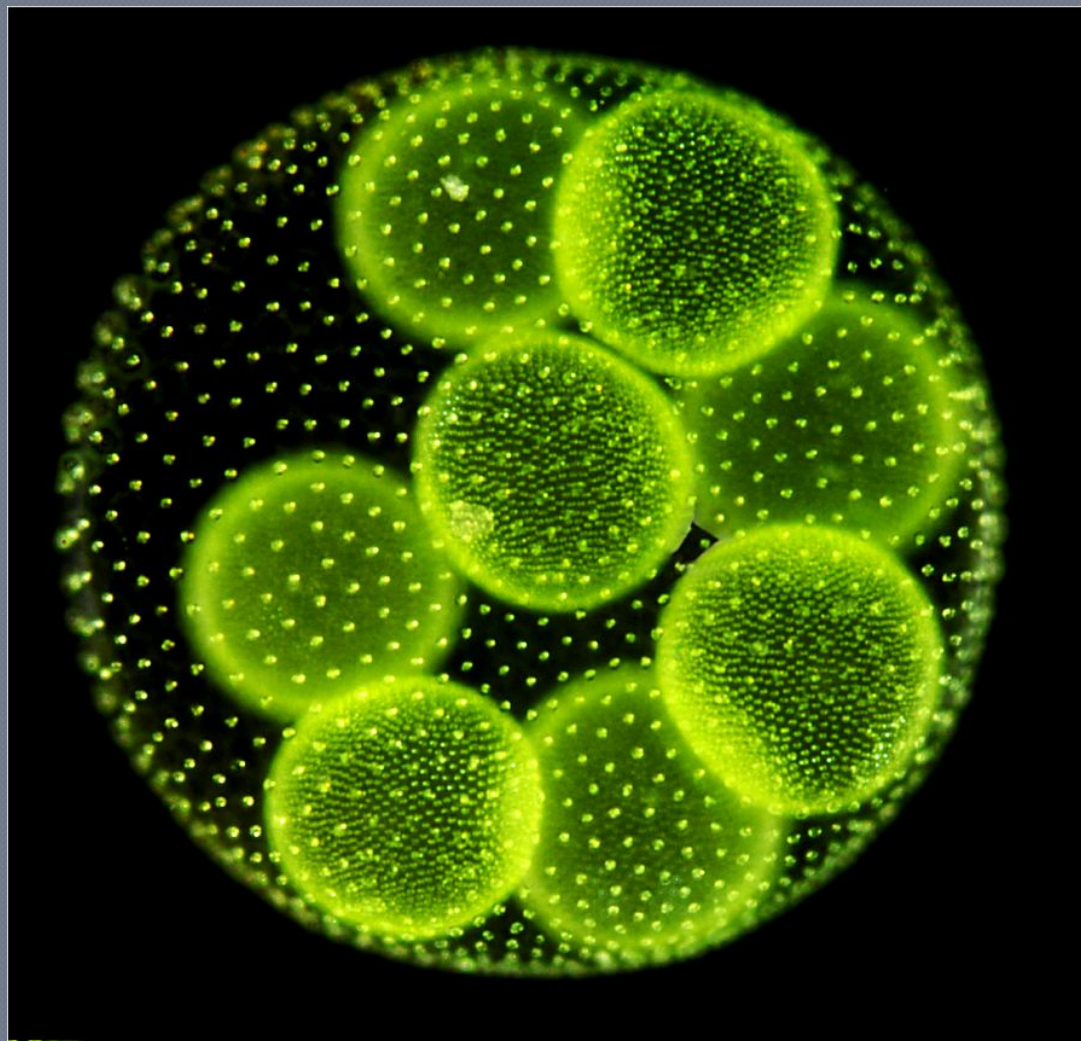
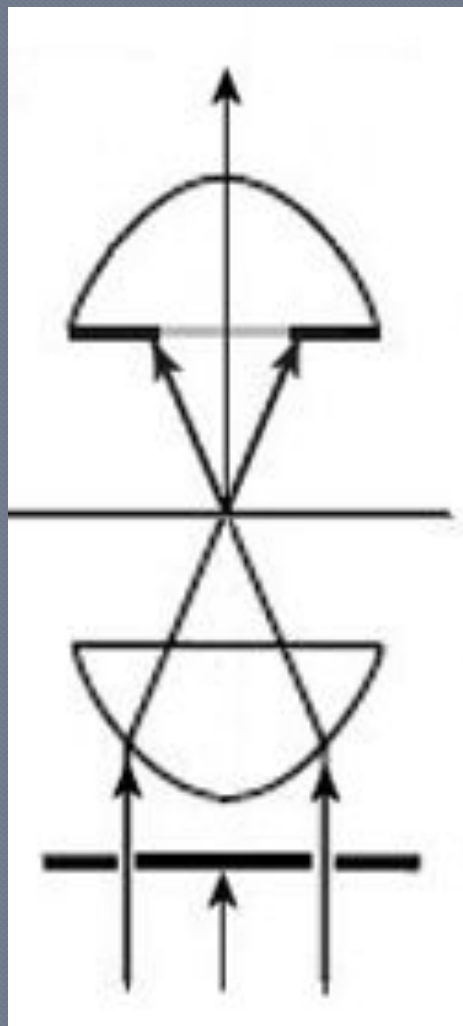
# Классификация методов микроскопии

Методы повышения разрешения	Методы повышения контраста
Ультрафиолетовая микроскопия	Темное поле
Электронная микроскопия	Фазовый контраст
Рентгеновская микроскопия	Дифференциальный интерференционный контраст
	Флуоресцентная микроскопия
Конфокальная микроскопия	

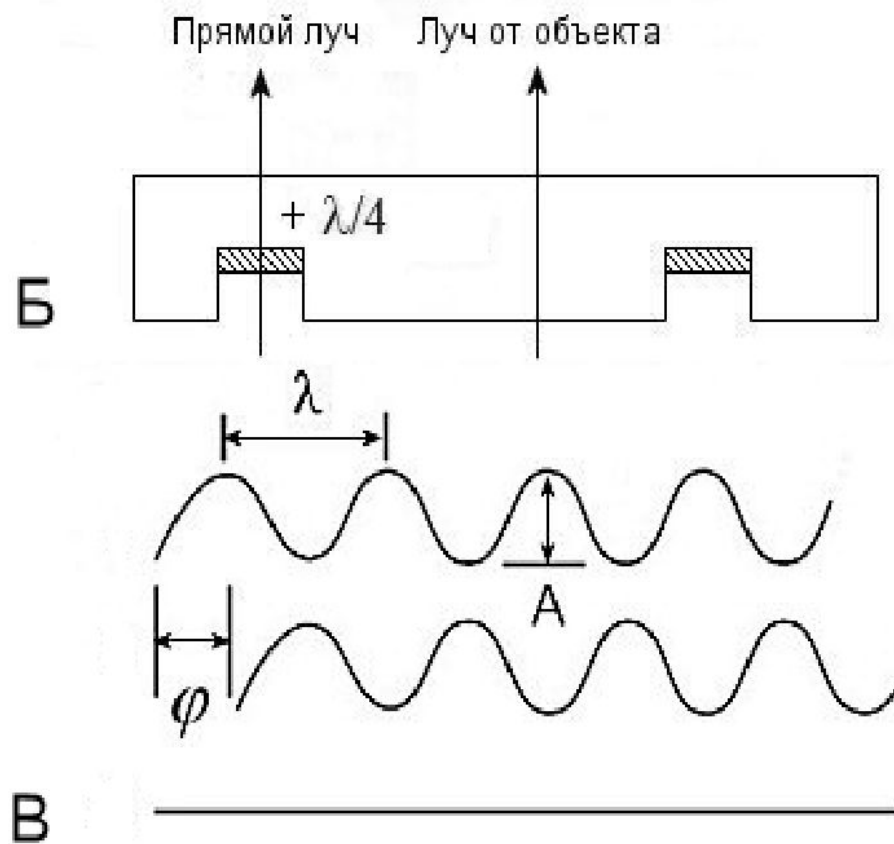
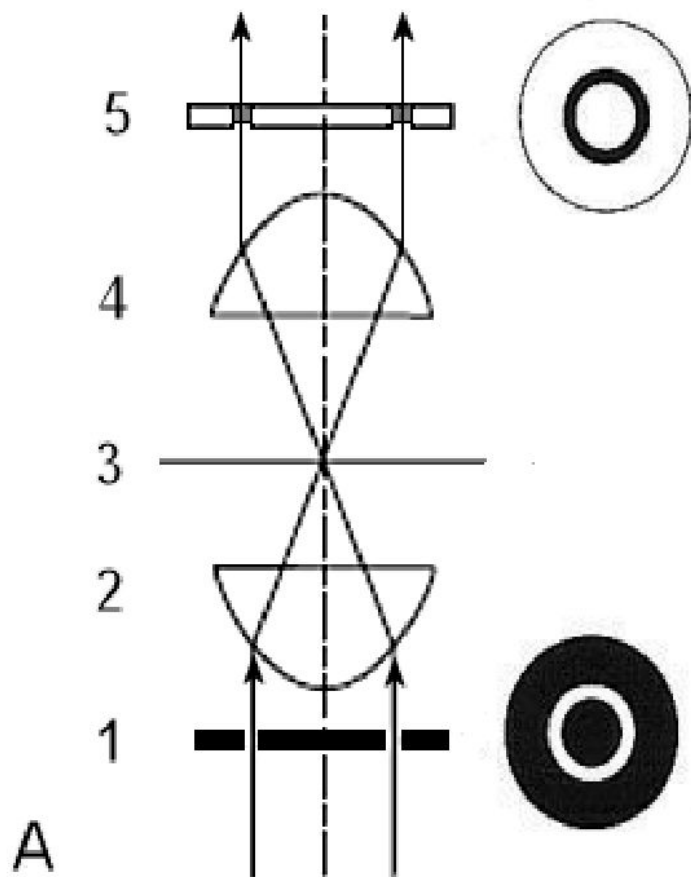
# Метод светлого поля: клетки *Vinca rosea*



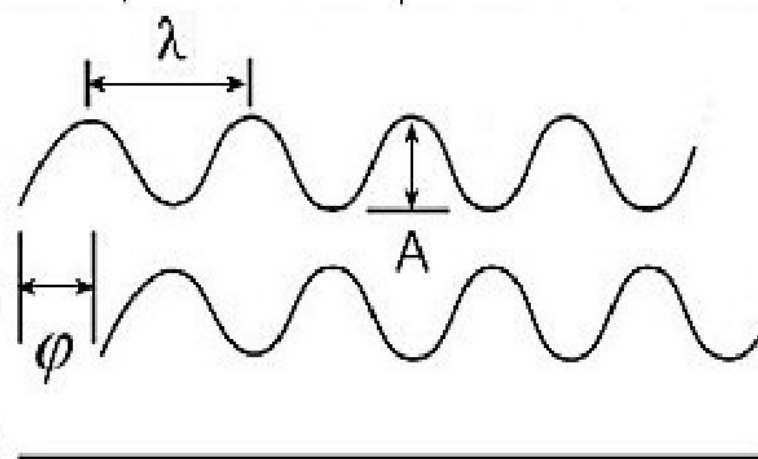
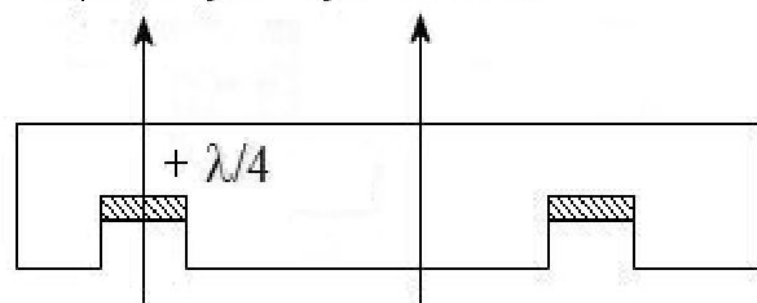
# Метод темного поля: *Volvox aureus*



# Метод фазового контраста

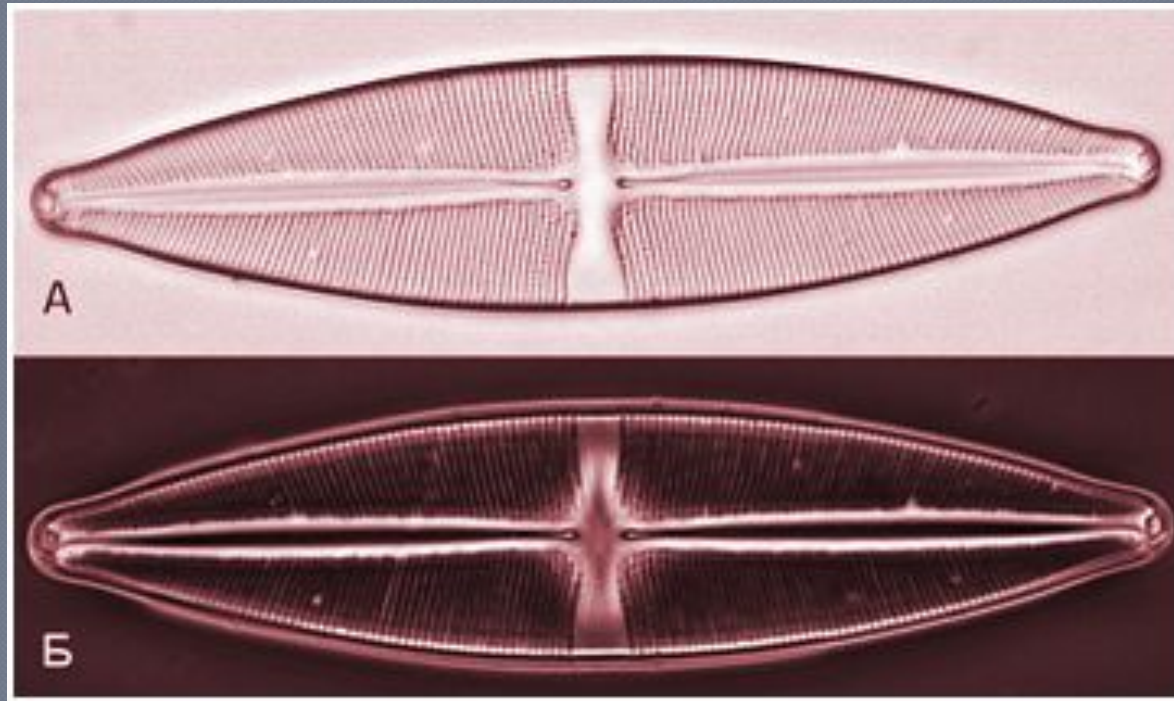


Прямой луч    Луч от объекта



# Метод фазового контраста

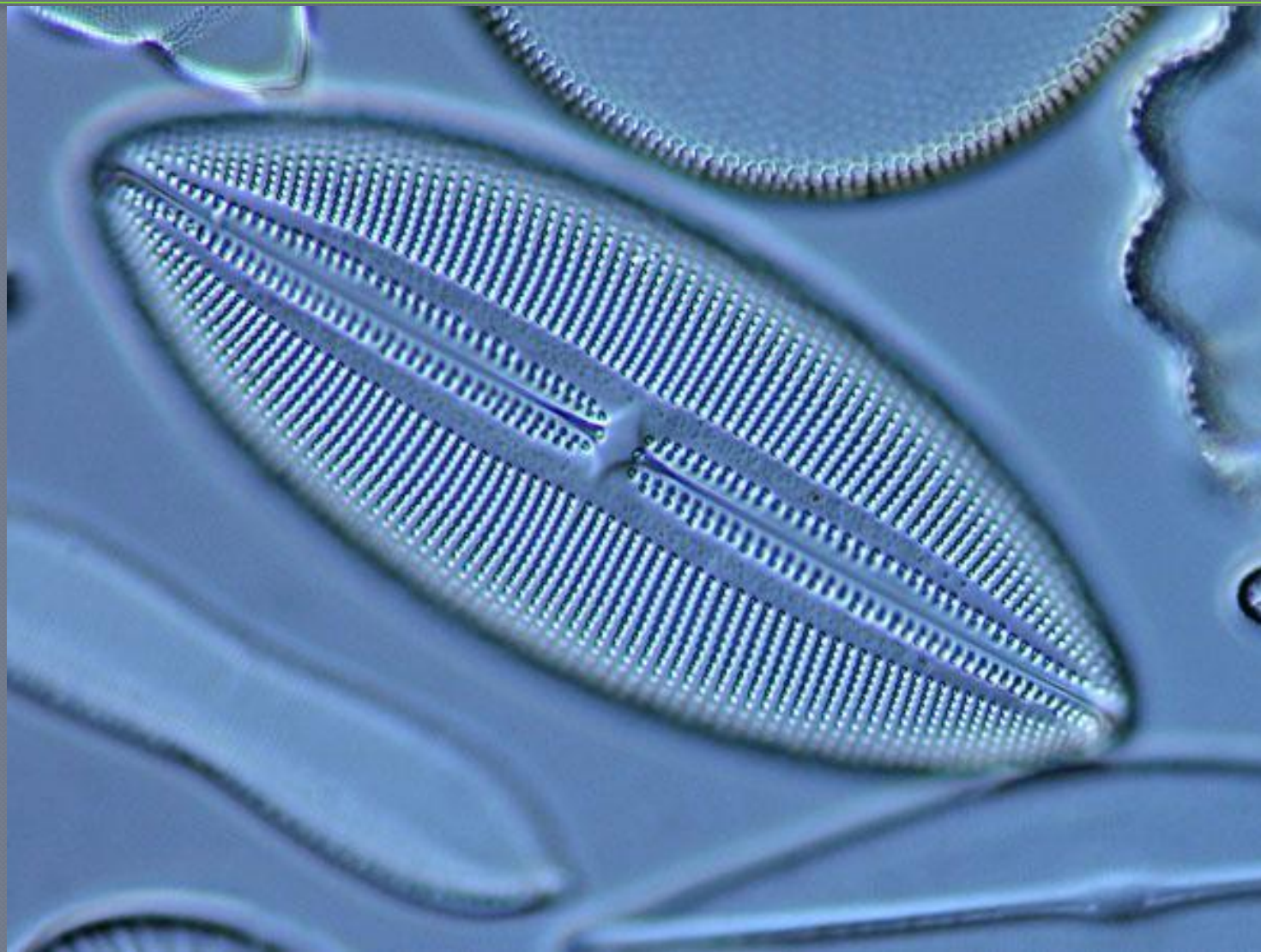
---



Диатомовая водоросль *Stauroneis phoenicenteron* в положительном (А) и отрицательном (Б) фазовом контрасте

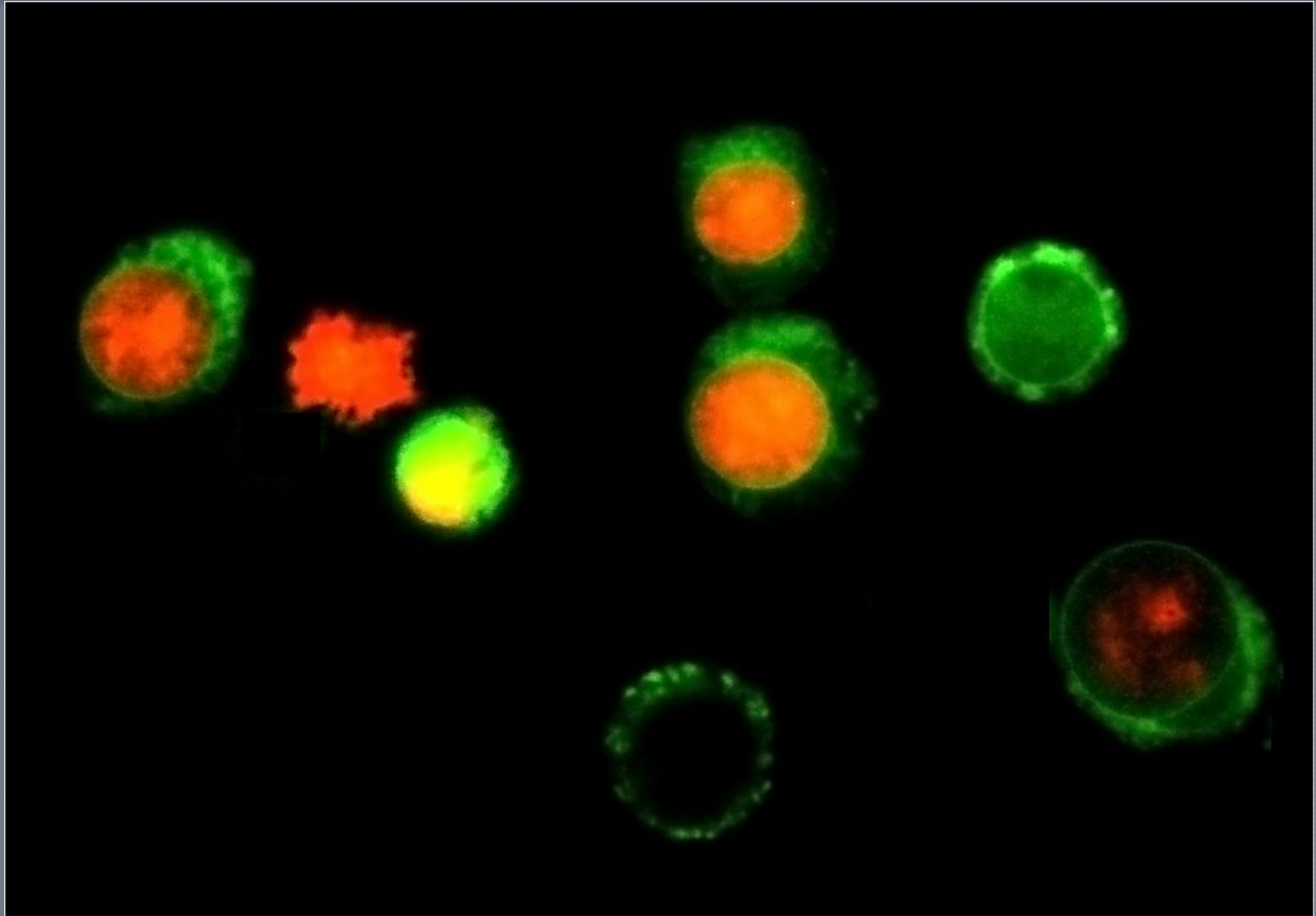
# Дифференциальный интерференционный контраст по Номарскому (DIC)

---

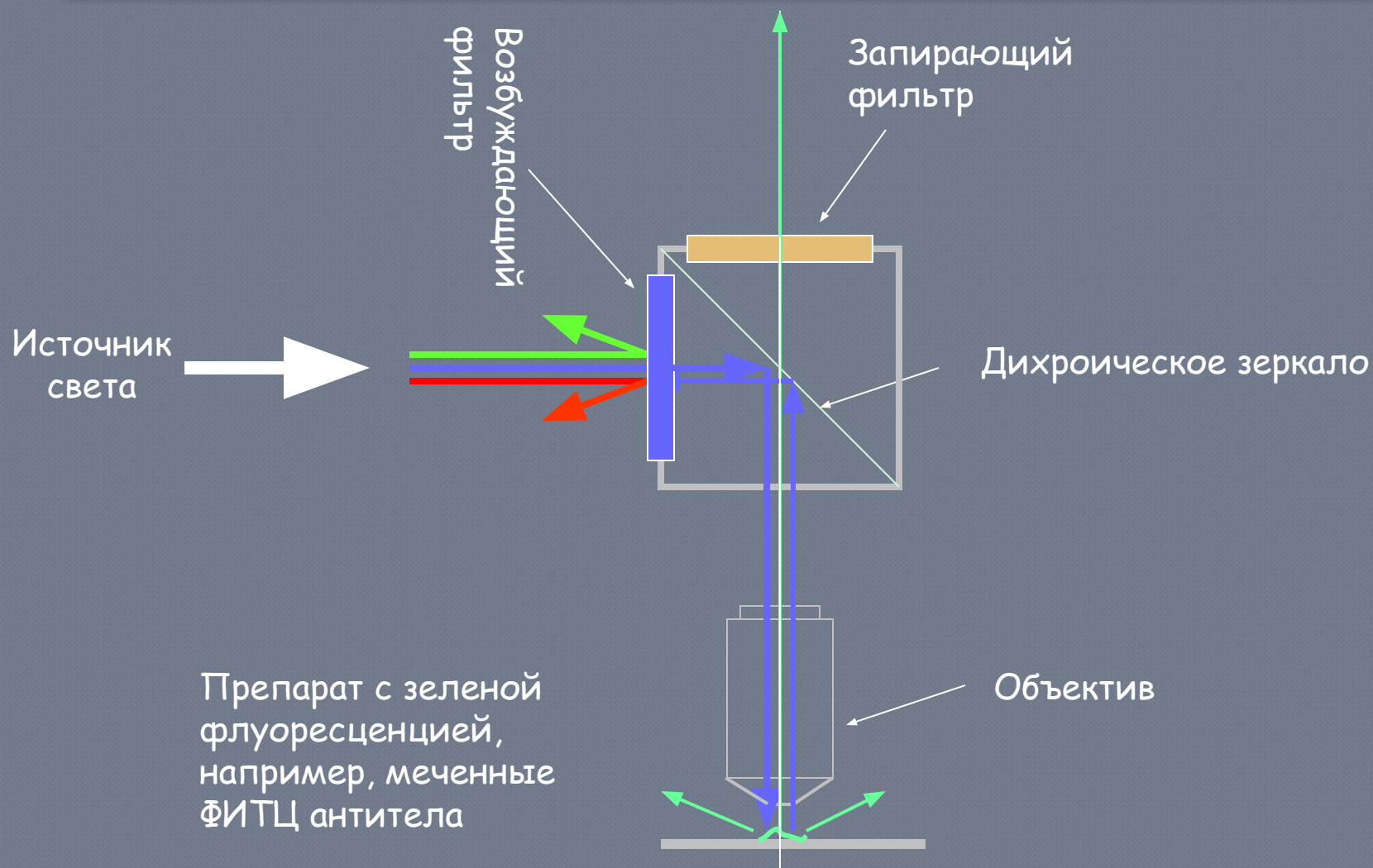




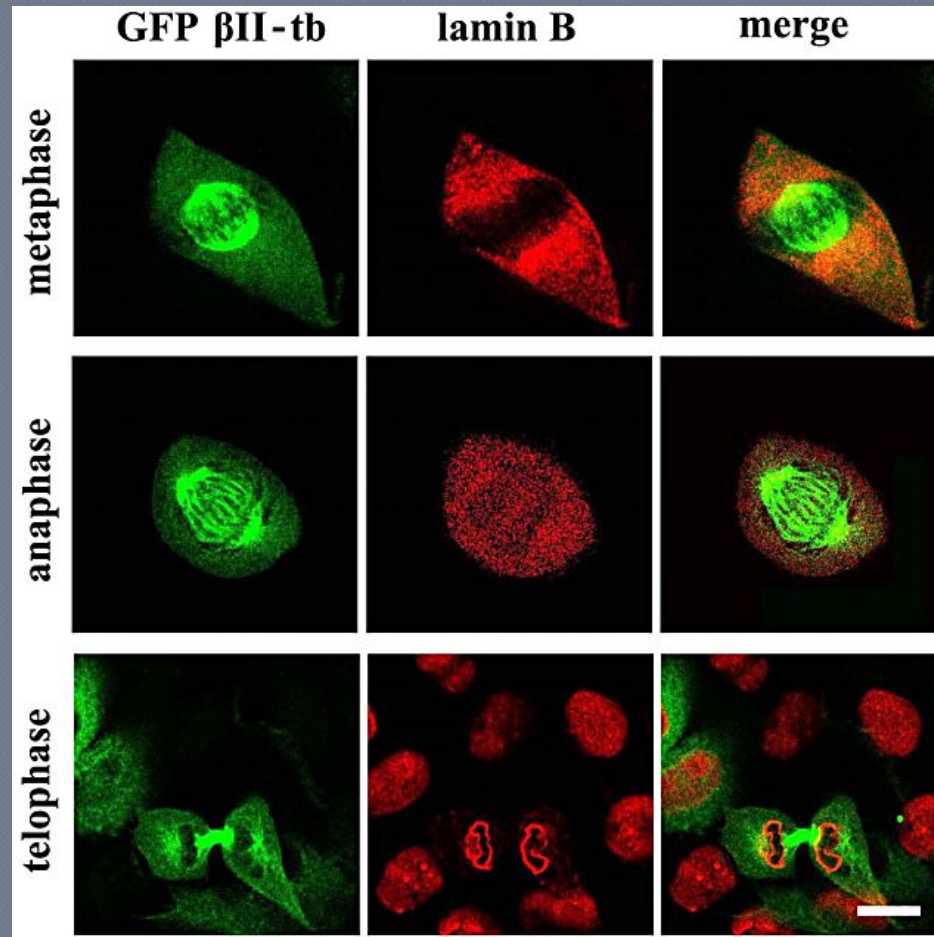
# Флуоресцентная микроскопия



# Эпифлуоресцентная схема Брумберга-Крыловой



# Флуоресцентная микроскопия

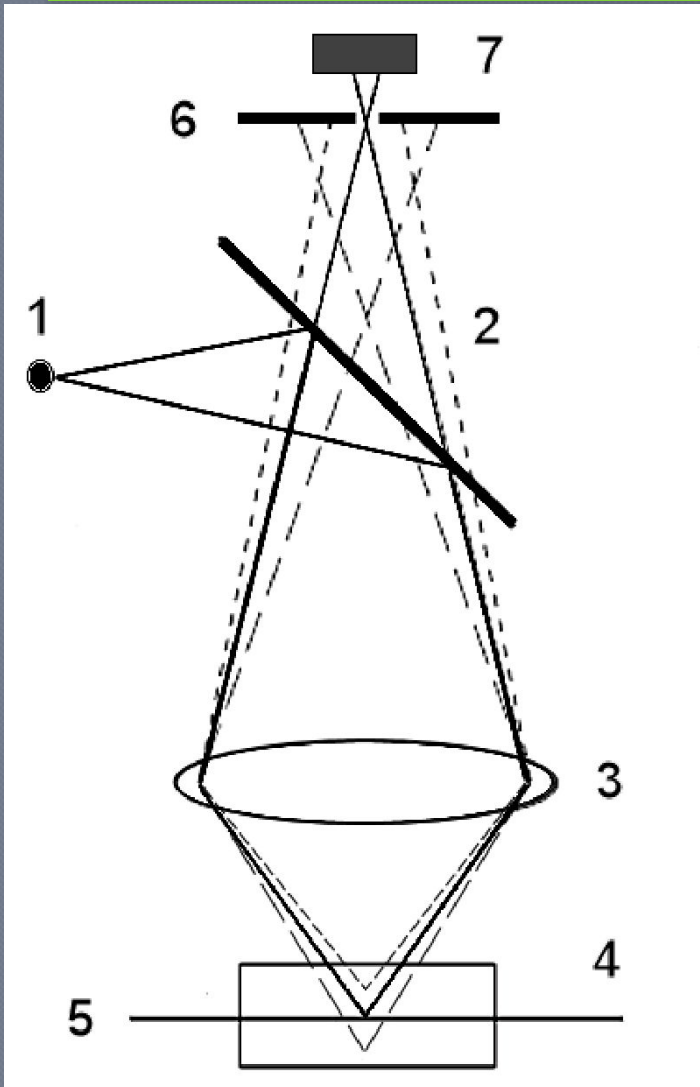


С помощью флуоресцирующих белков отслеживают экспрессию генов

# Классификация методов микроскопии

<b>Методы повышения разрешения</b>	<b>Методы повышения контраста</b>
Ультрафиолетовая микроскопия	Темное поле
Электронная микроскопия	Фазовый контраст
Рентгеновская микроскопия	Дифференциальный интерференционный контраст
	Флуоресцентная микроскопия
<b>Конфокальная микроскопия</b>	

# Принцип конфокальности



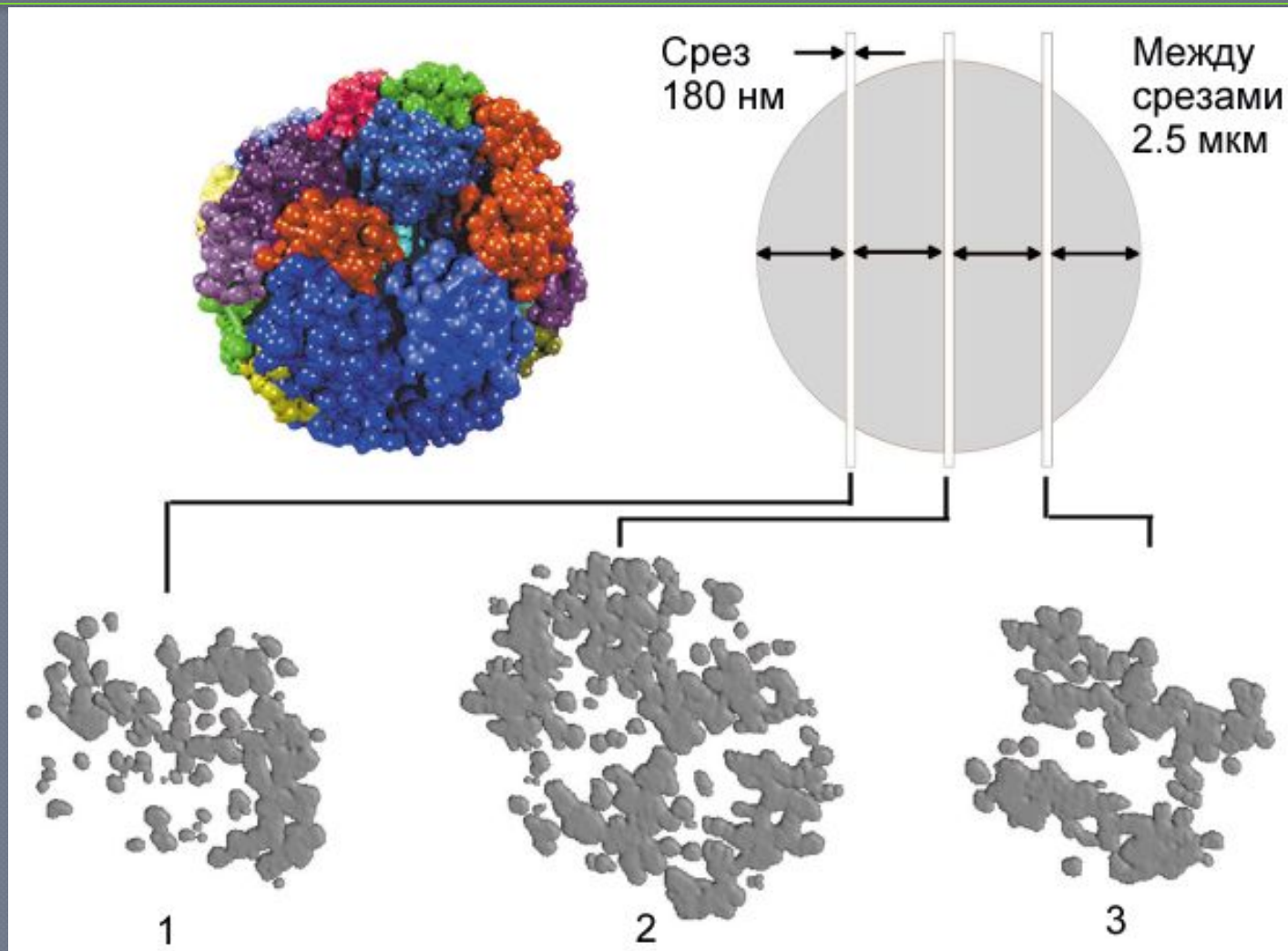
1 – точечный источник света,  
2 – полупрозрачное зеркало,  
3 – объектив,  
4 – препарат,  
5 – фокальная плоскость,  
6 – точечная диафрагма,  
7 - детектор

Марвин Мински (1957)

# Конфокальный микроскоп ZEISS LSM PASCAL



# 3D-реконструкция клеточного ядра



# Световая микроскопия высокого разрешения

<b>Акроним</b>	<b>Полное название</b>	<b>Время разработки</b>	<b>Достигнутое разрешение</b>
<b>STED</b>	Stimulation Emission Depletion Microscopy	1994 - 1999	<b>60 нм</b>
<b>SIM</b>	Structured Illumination Microscopy	2002 - 2005	<b>85 нм</b>
<b>PALM</b>	Photoactivated Localization Microscopy	2006 - 2010	<b>20 - 50 нм</b>
<b>STORM</b>	Stochastic Optical Reconstruction Microscopy	2006 - 2008	<b>30 нм</b>
<b>CLSM</b>	Confocal Laser Scanning Microscopy	1957	<b>180 нм</b>



Эрику Бетцигу, Стефану Хелю и Уильяму Мёрнеру была  
присуждена Нобелевская премия по химии за 2014 г.  
за разработку методов высокого разрешения

---



**СПАСИБО ЗА  
ВНИМАНИЕ**

---