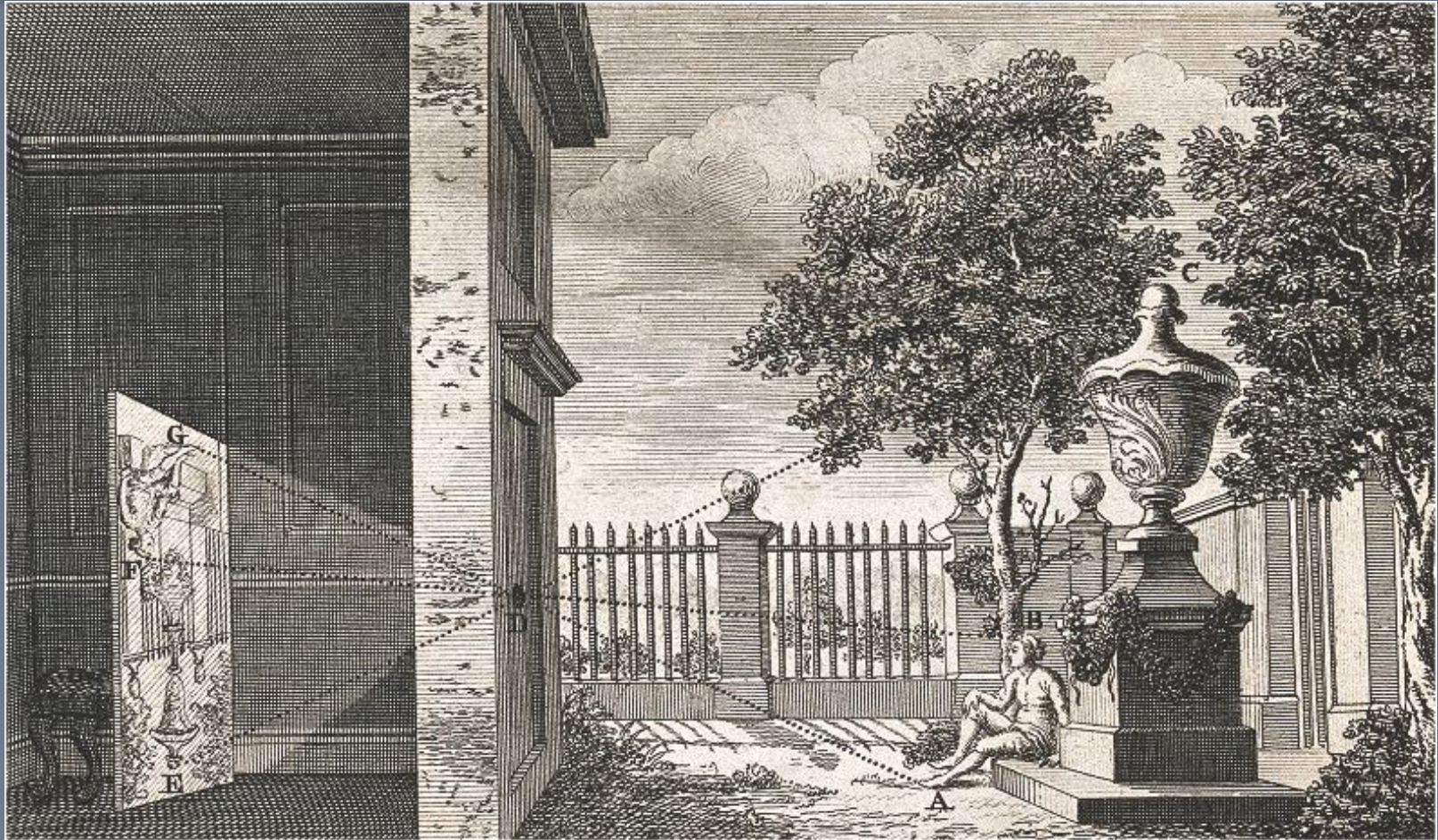




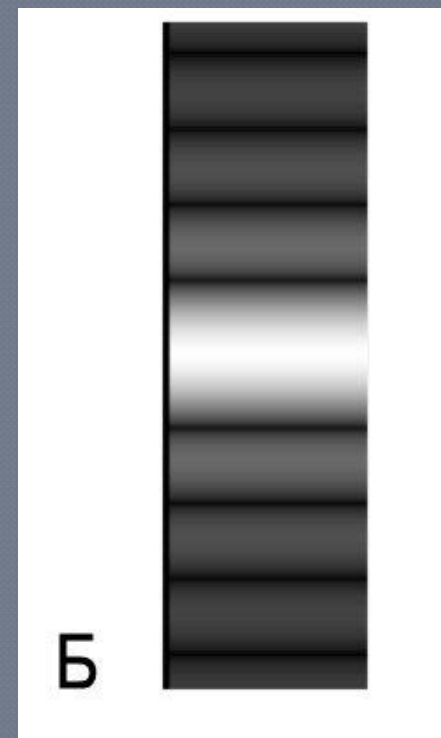
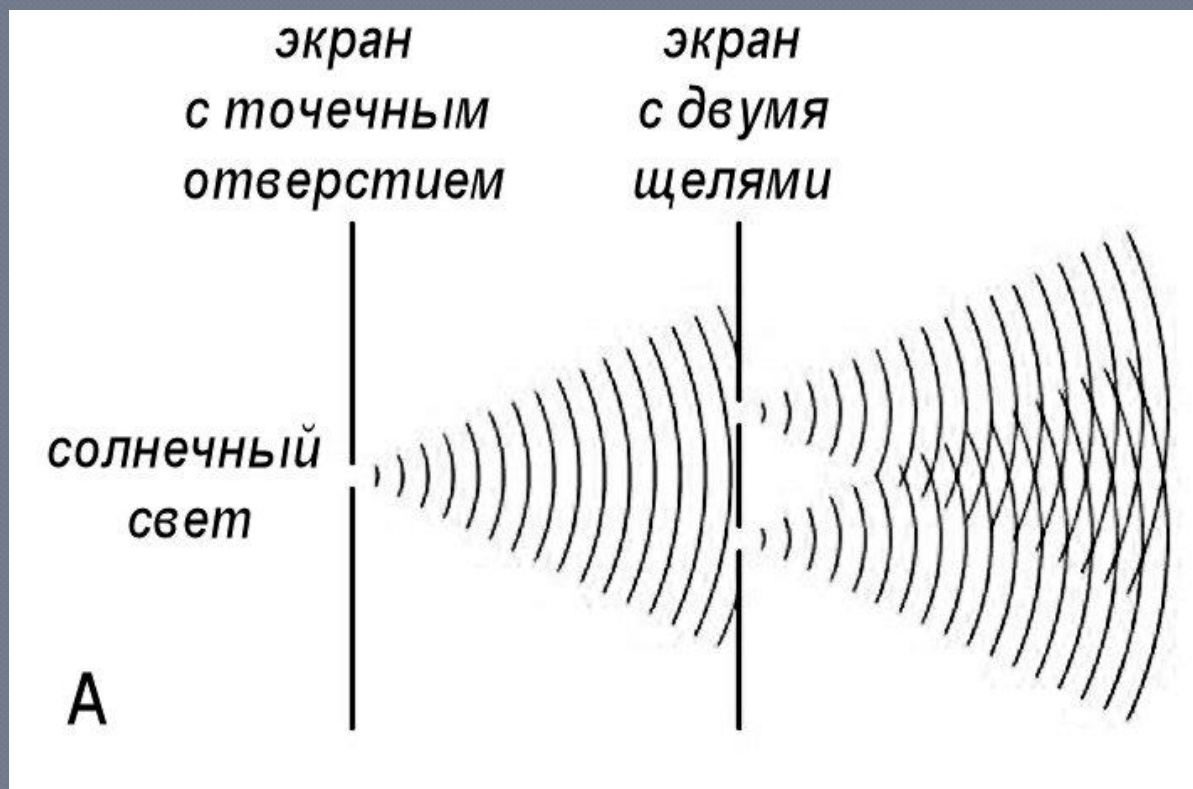
МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ

Волновая природа света

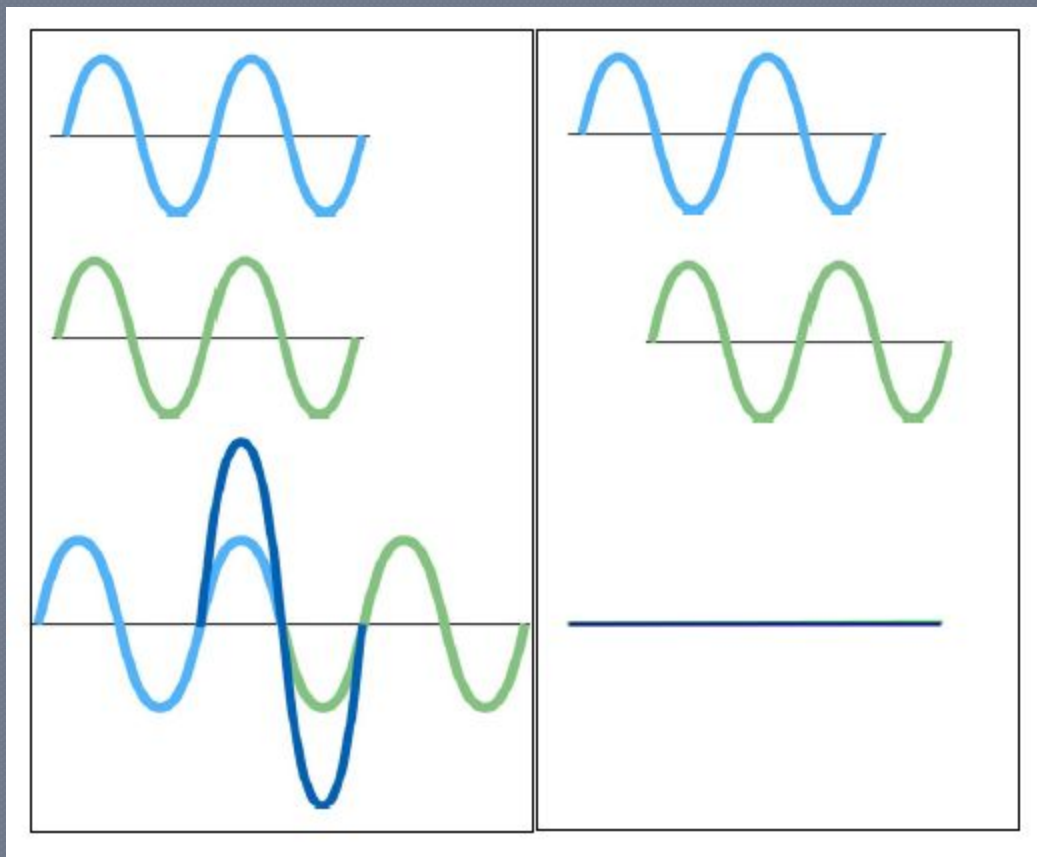


Camera obscura

Эксперимент Томаса Юнга



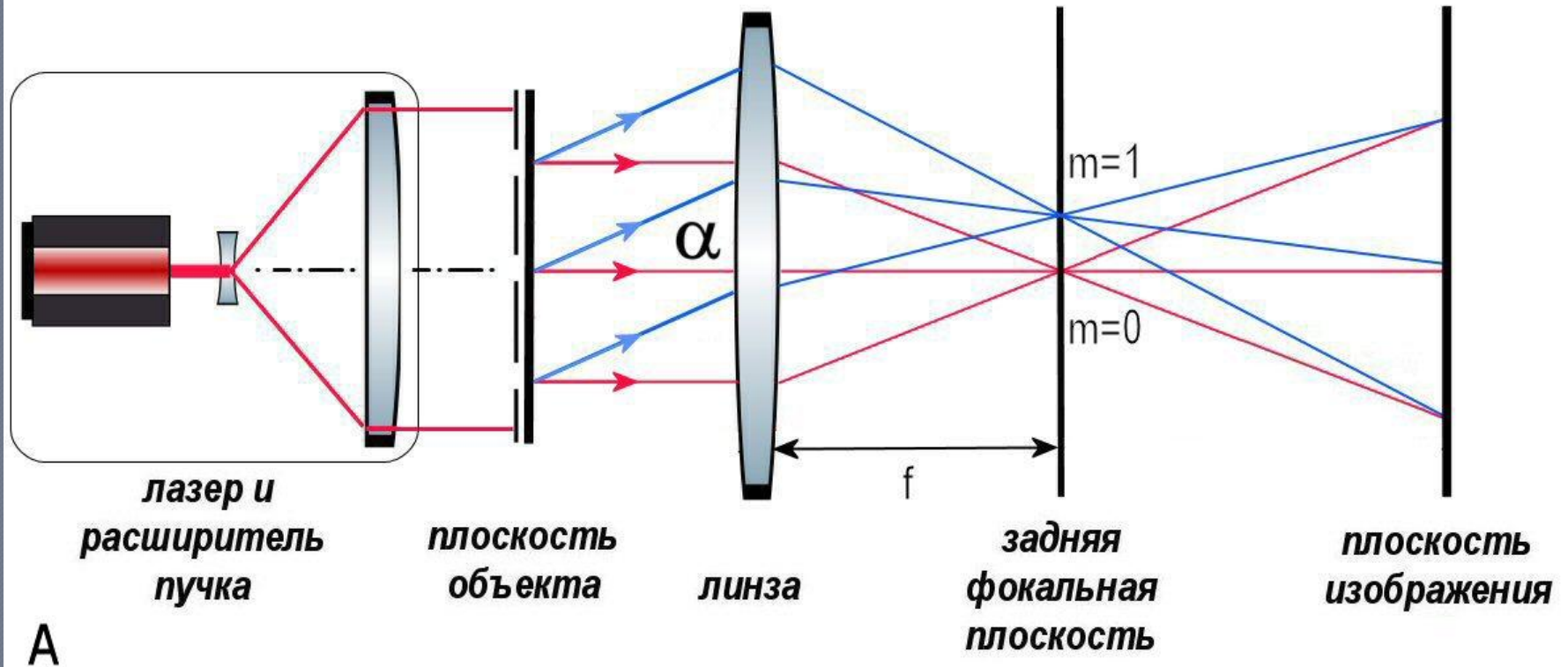
Интерференция и дифракция



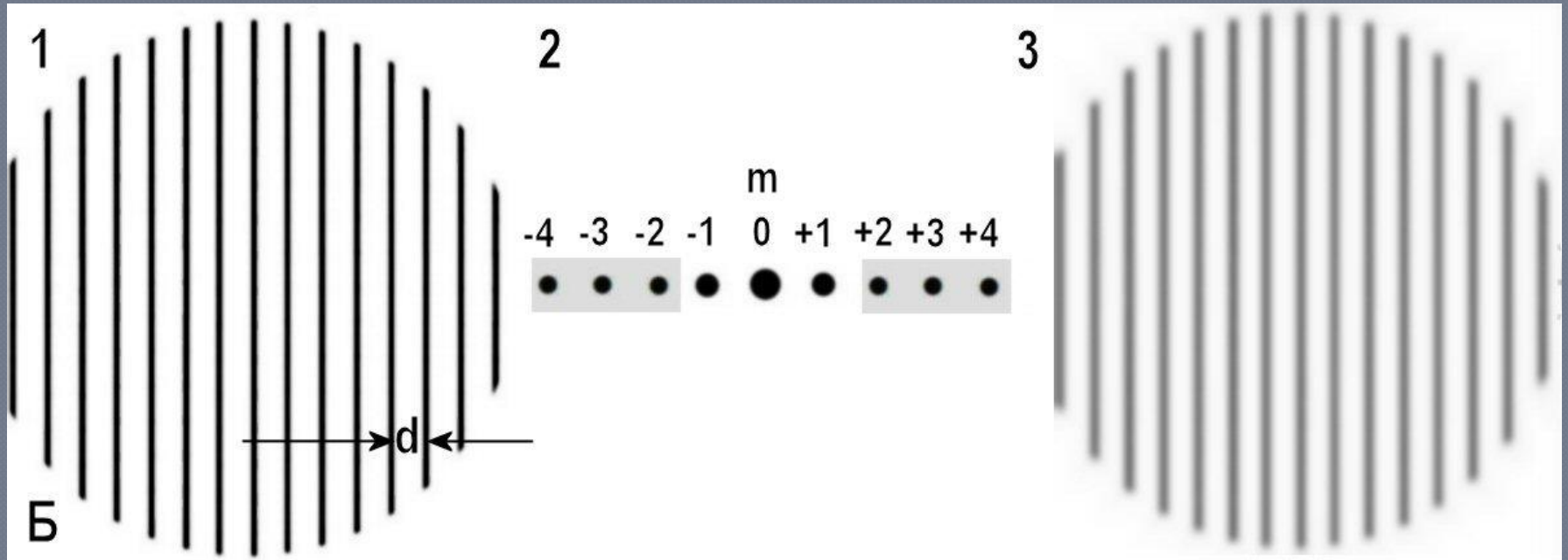
Дифракция - это
огибание волнами
препятствий на их
пути

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

Эксперимент Аббе



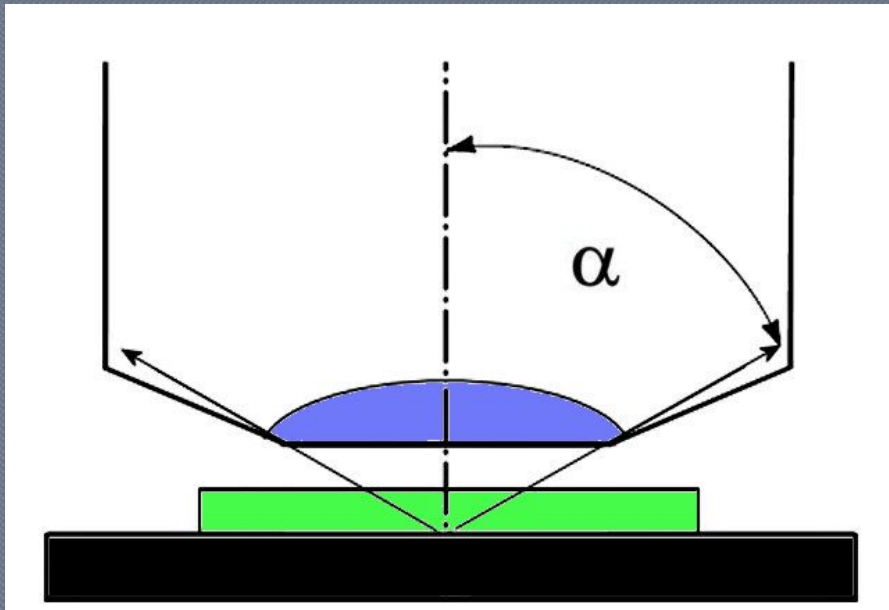
Эксперимент Аббе



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

Формула Аббе

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



λ – длина волны света;

n – показатель преломления среды

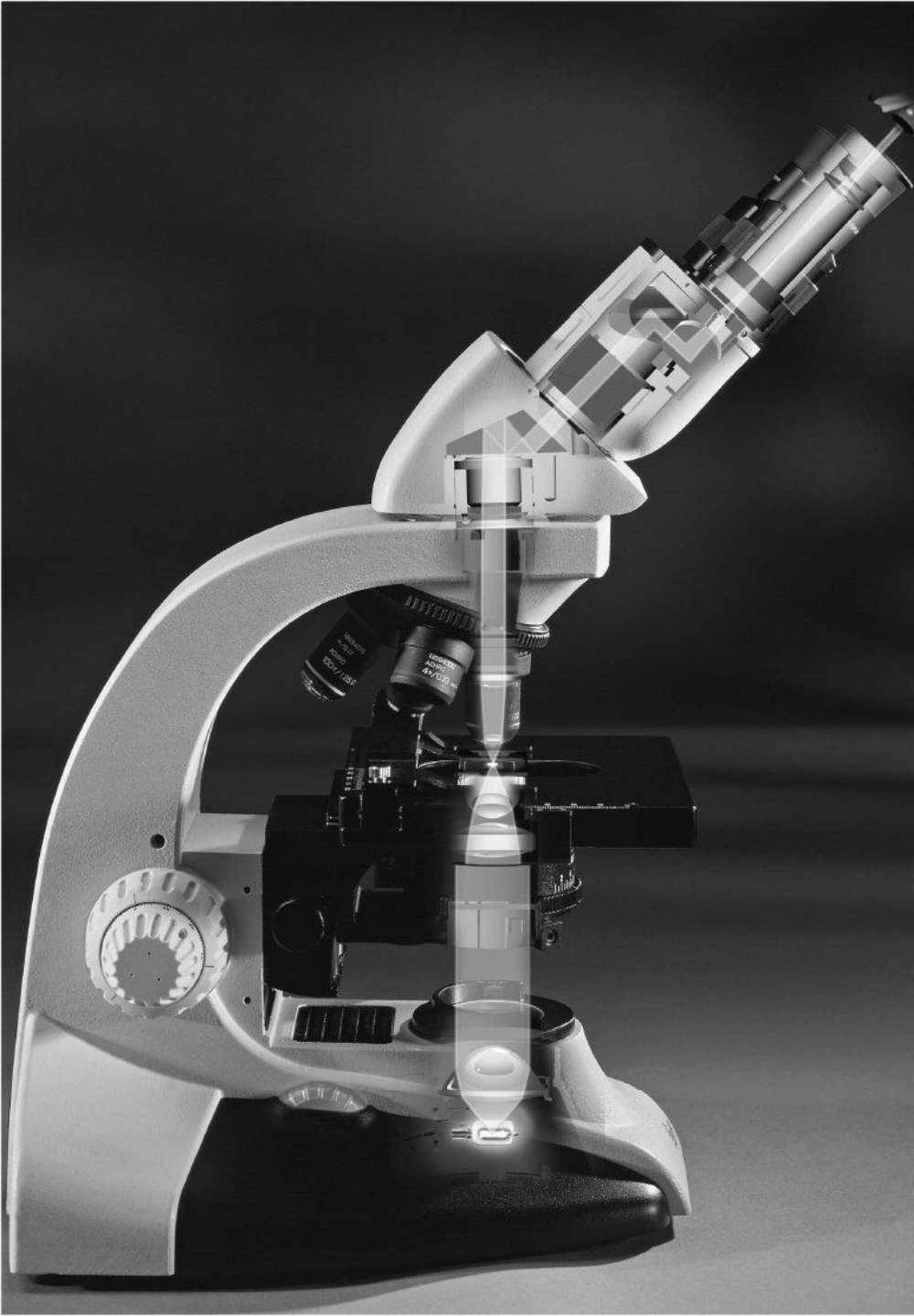
α – половина угла раскрытия объектива

1-ая модификация формулы Аббе

$$d = \lambda / NA$$

λ – 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

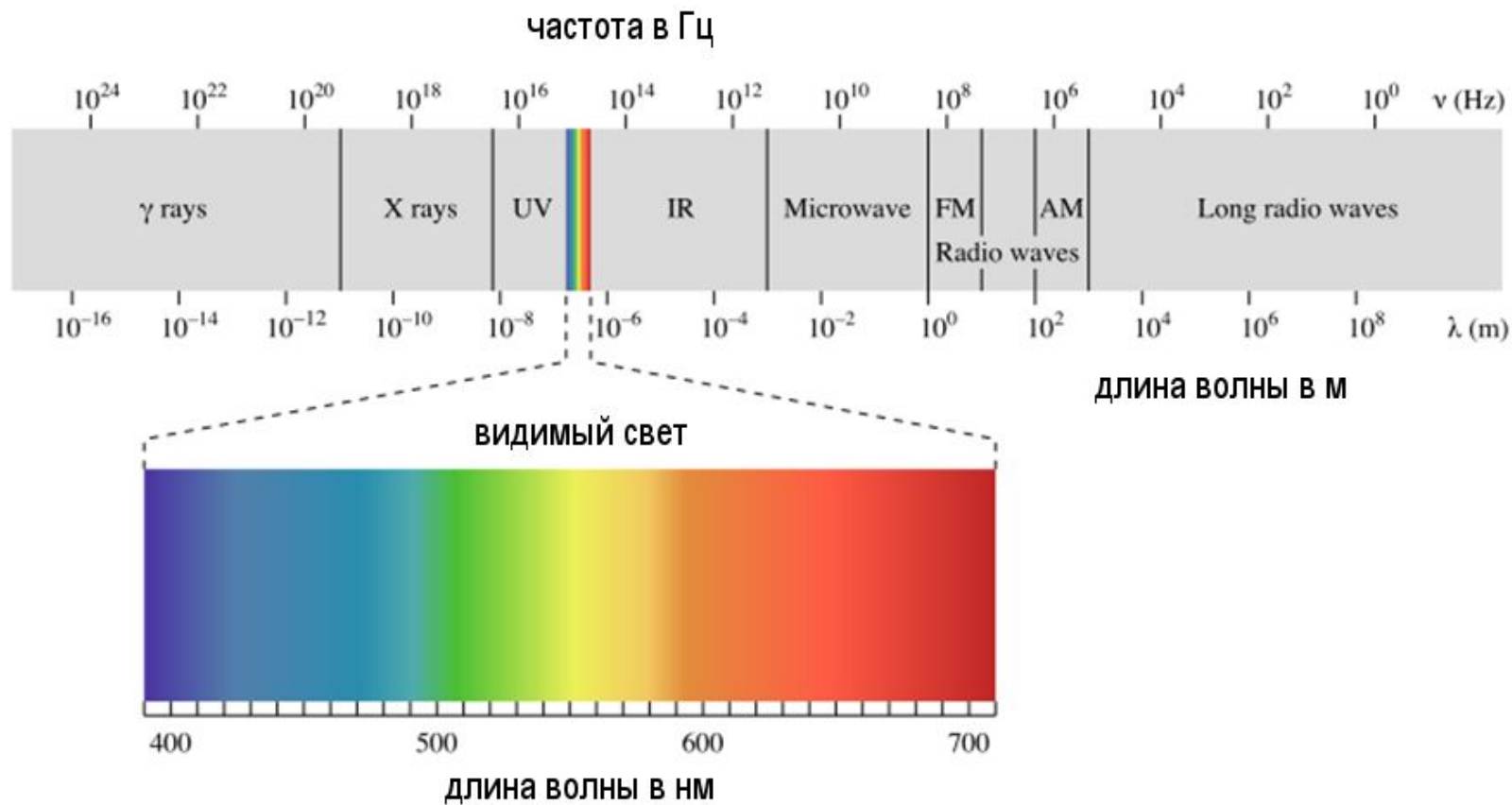
настройка на толщину
покровного стекла
выбор типа иммерсии



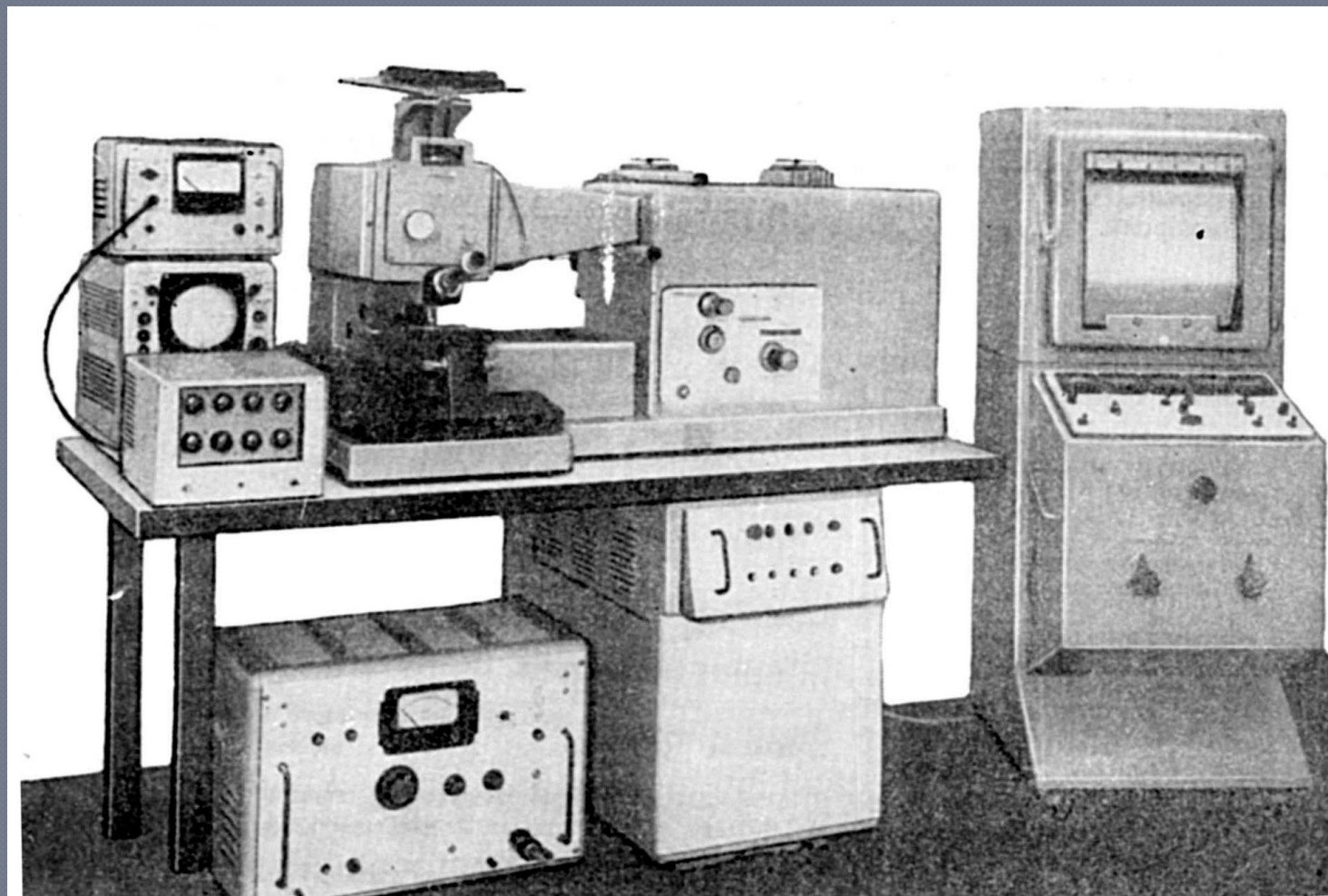
Классификация методов микроскопии

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

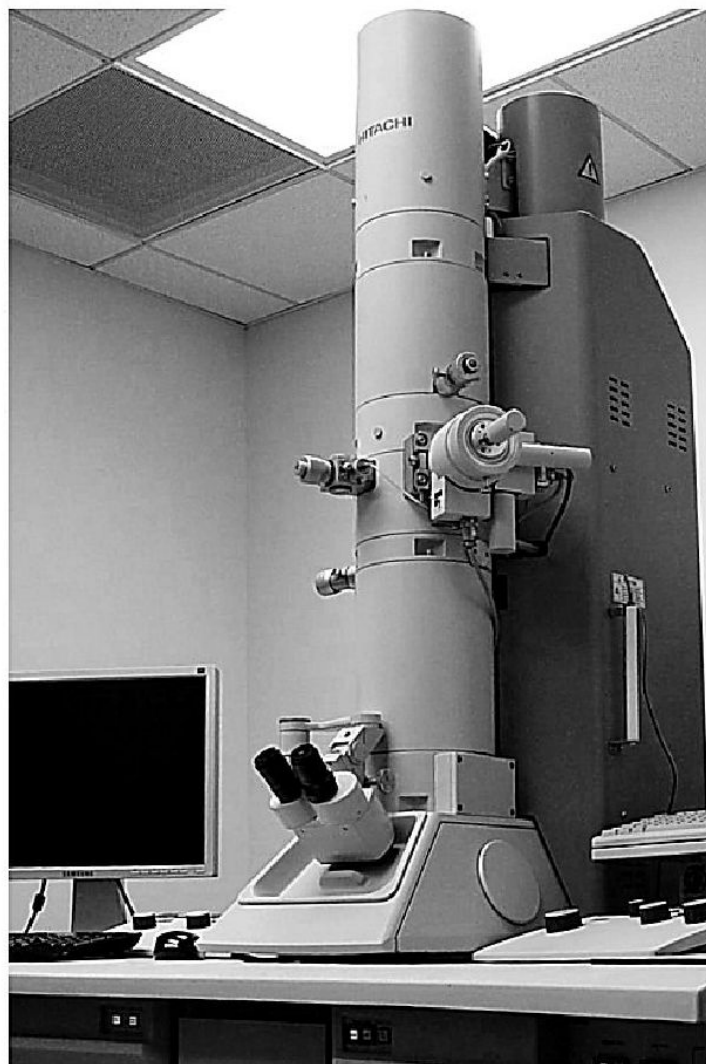
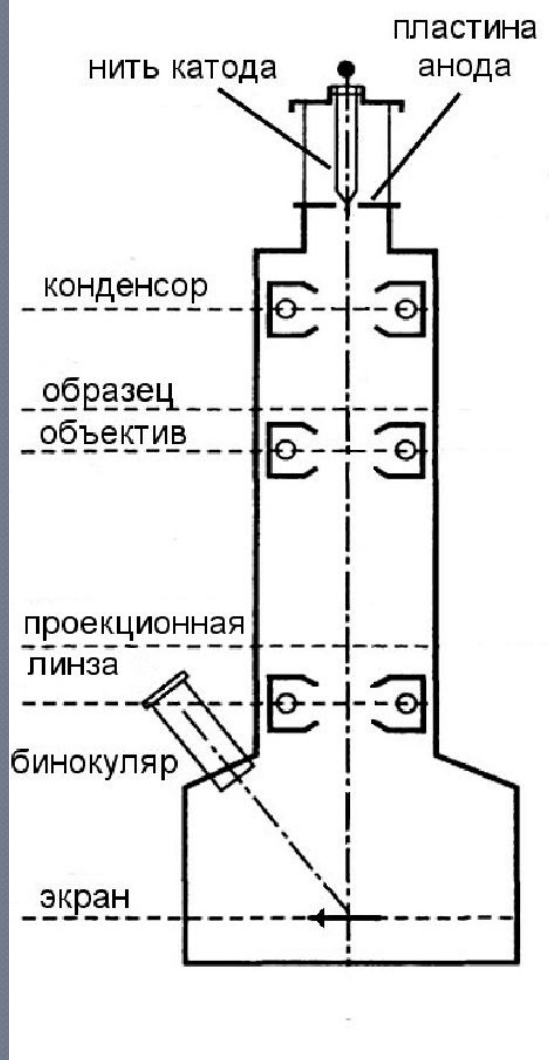
Шкала электромагнитных волн



Ультрафиолетовый микроскоп МУФ-5

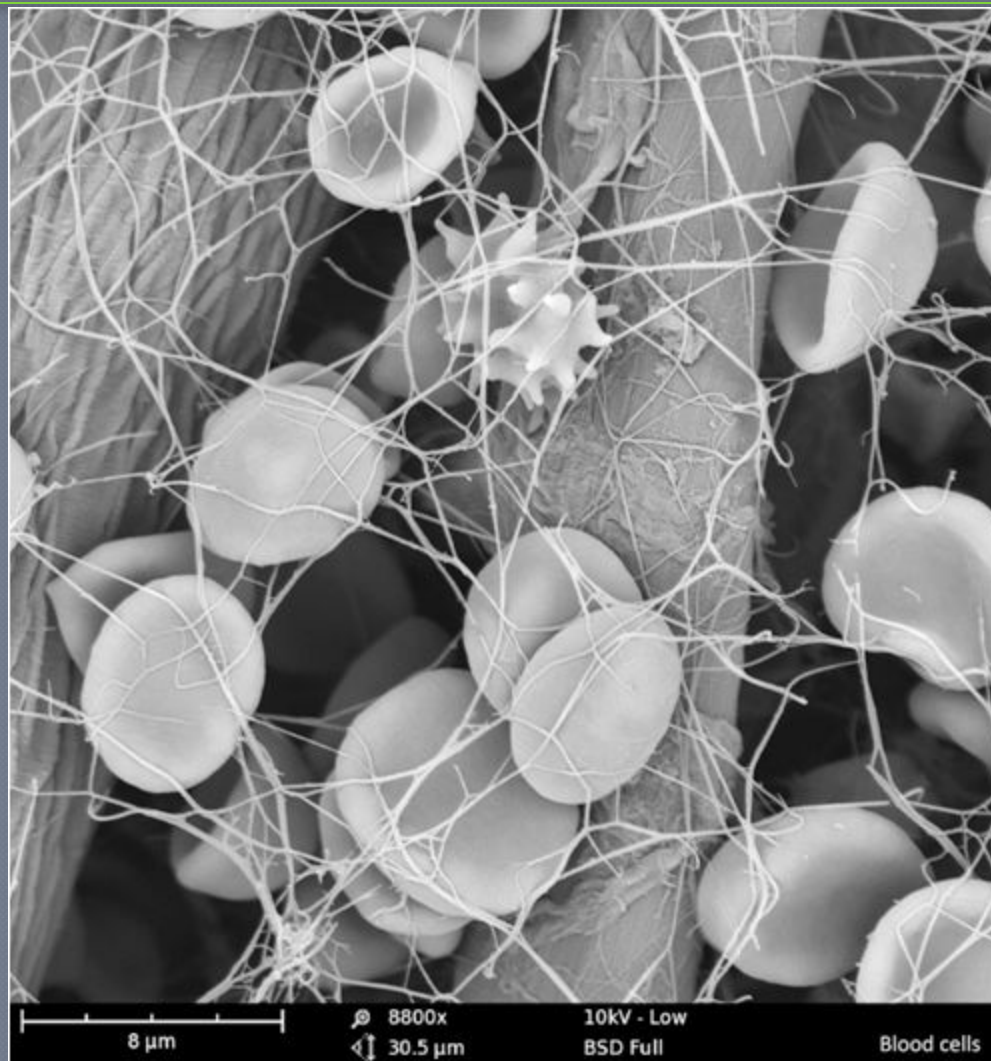


Электронный микроскоп

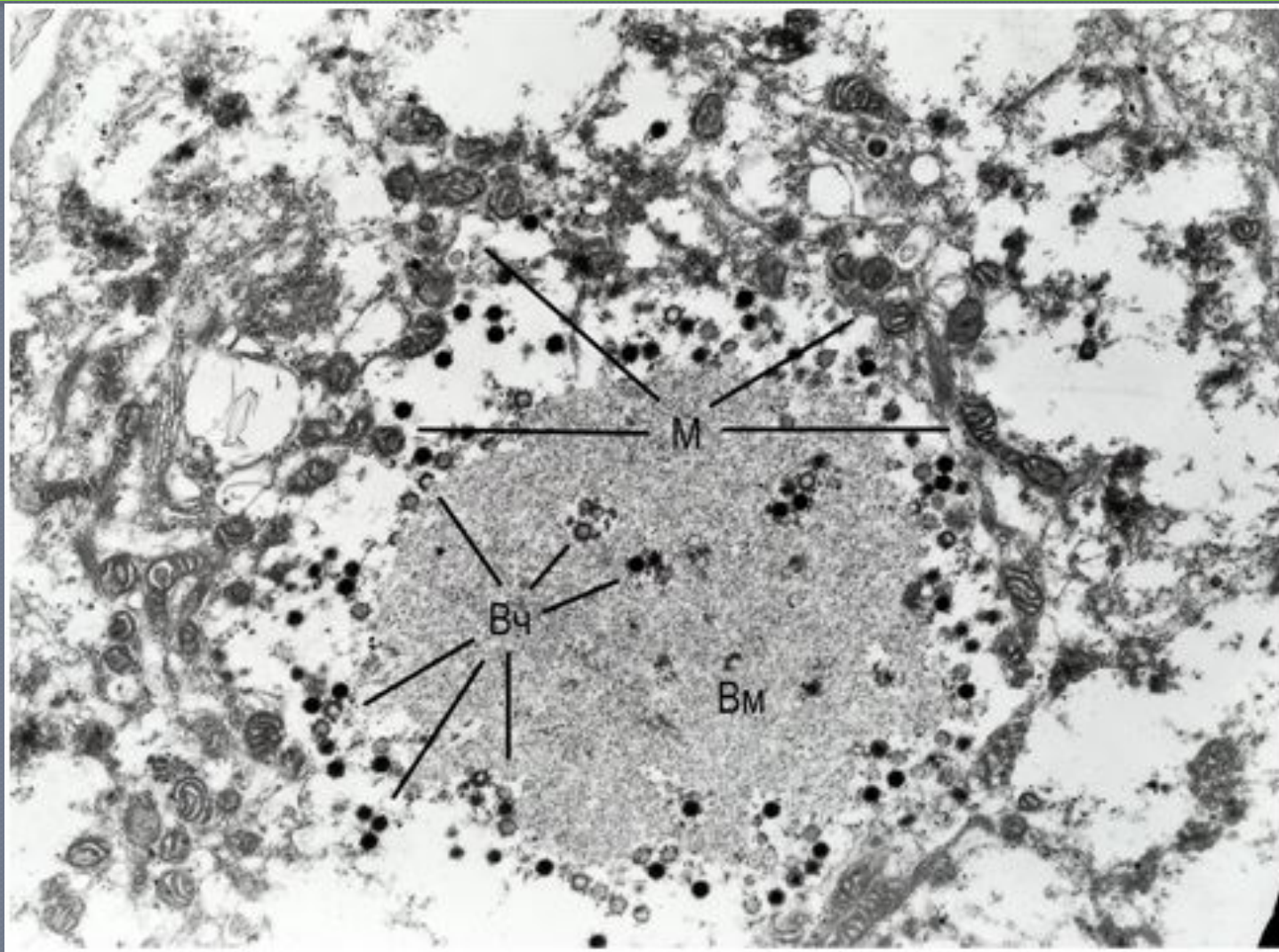


Формула
де Бройля
 $\lambda = h/mv$

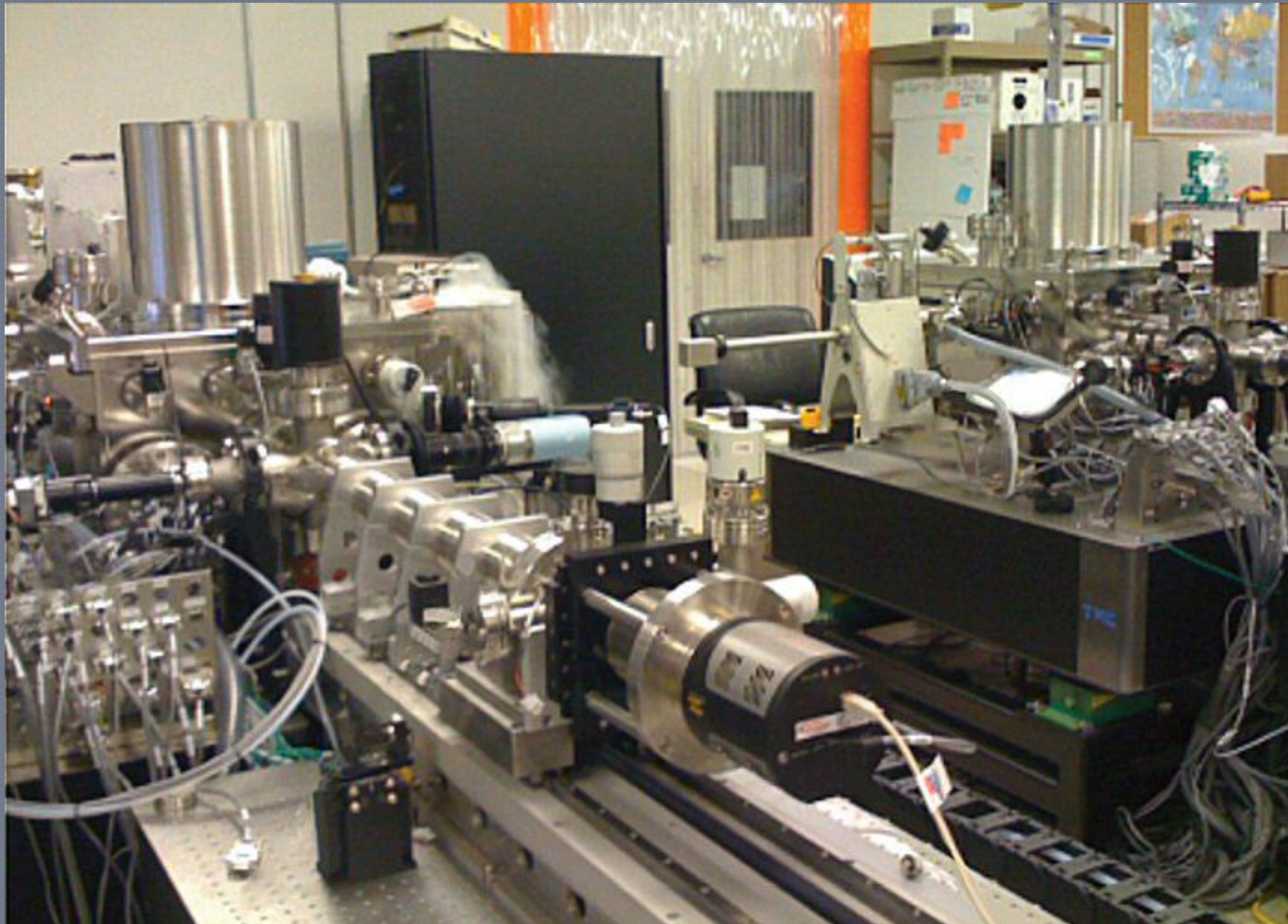
Сканирующий электронный микроскоп



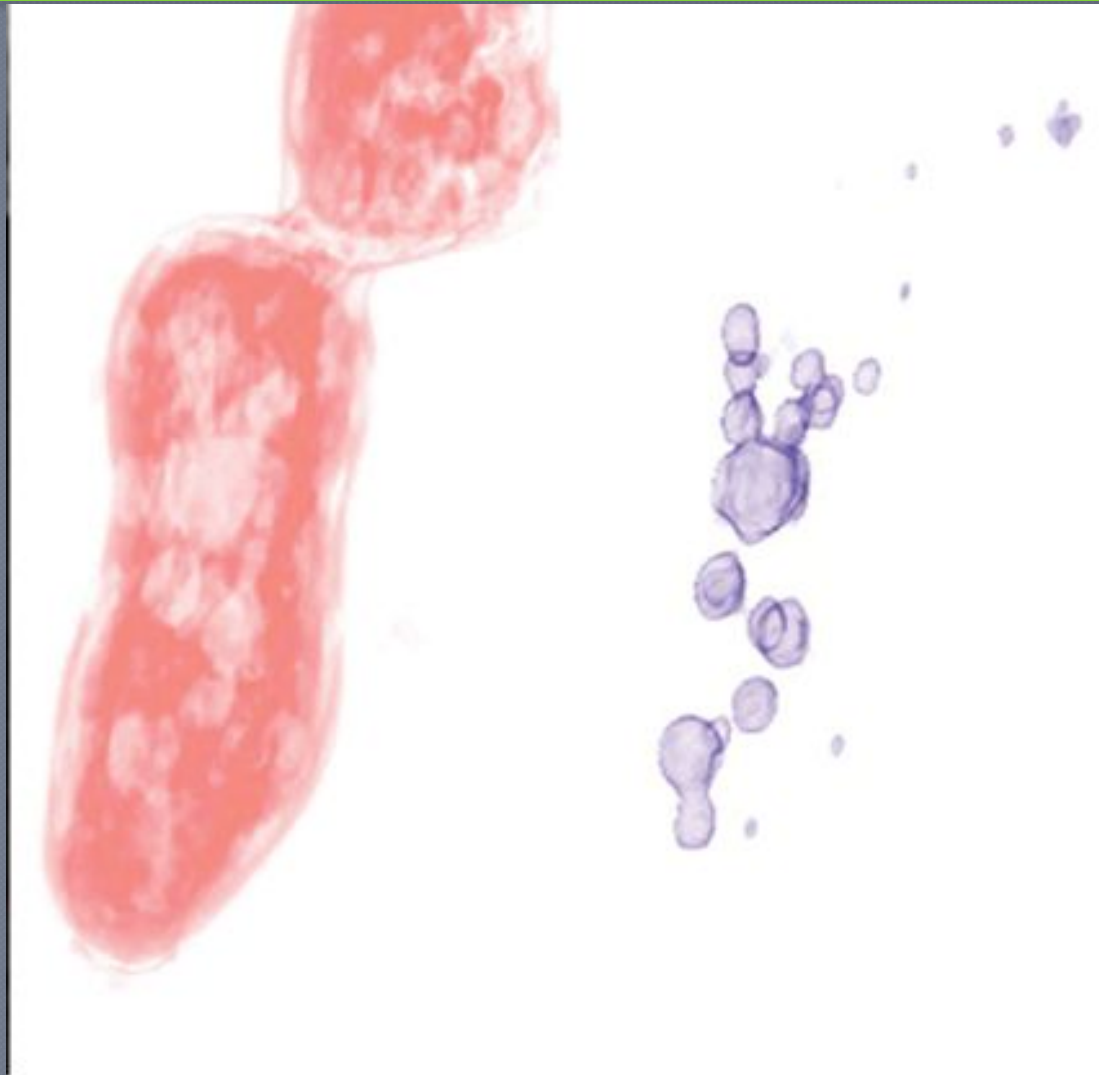
Трансмиссионный электронный микроскоп



Рентгеновский микроскоп



Рентгеновский микроскоп



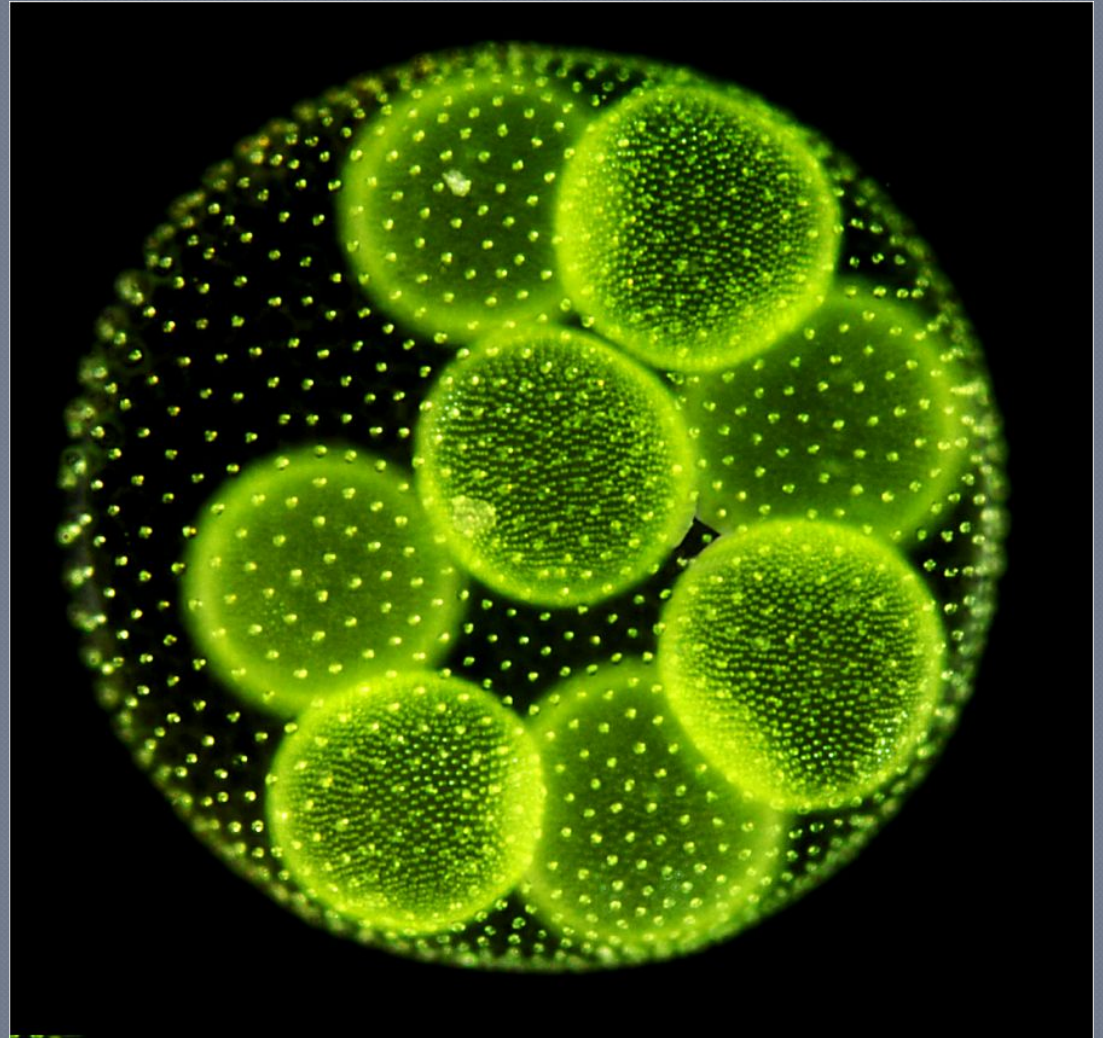
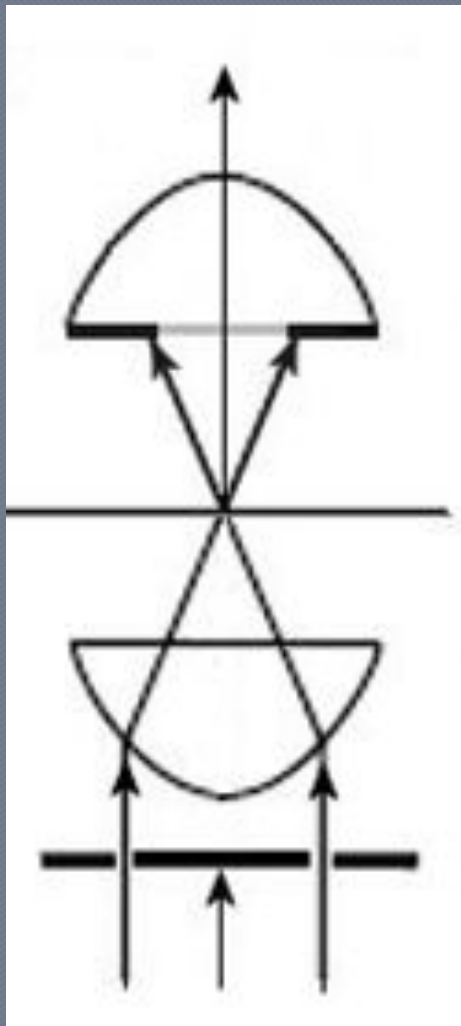
Классификация методов микроскопии

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

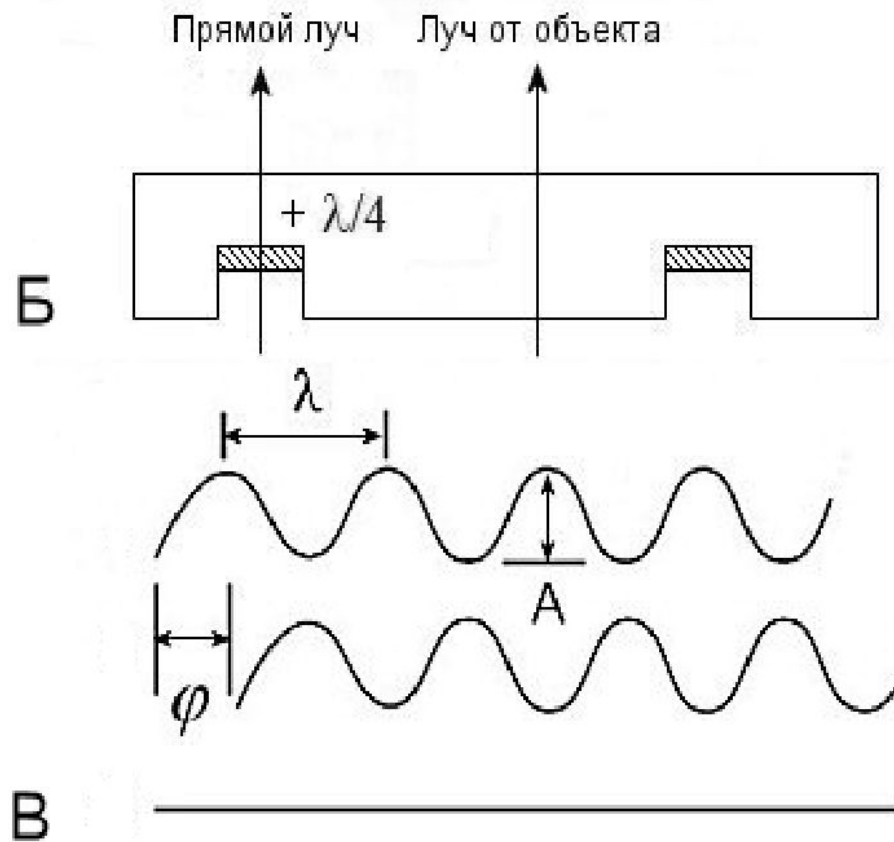
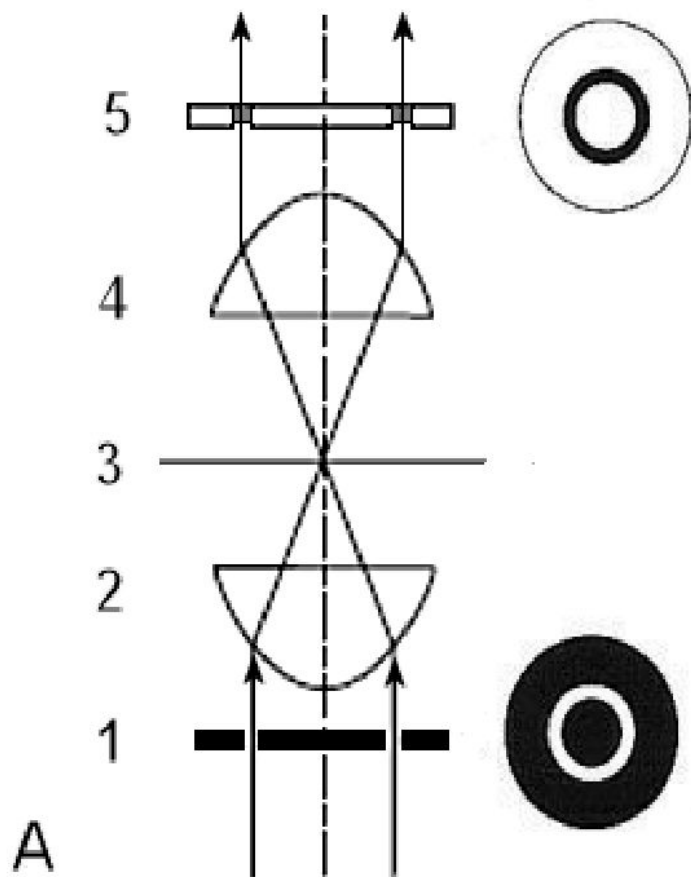
Метод светлого поля: клетки *Vinca rosea*



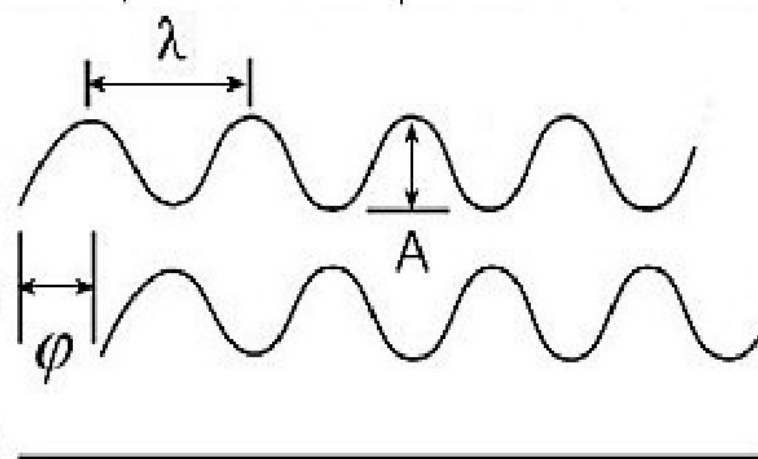
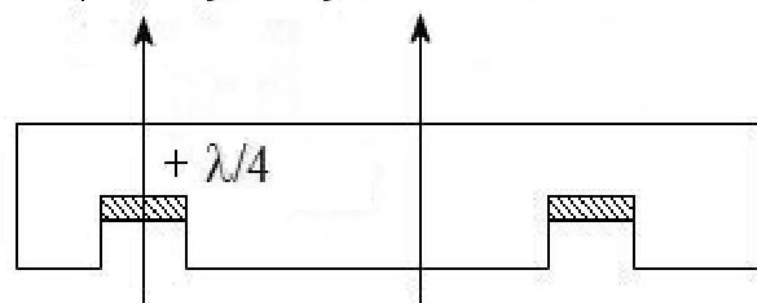
Метод темного поля: *Volvox aureus*



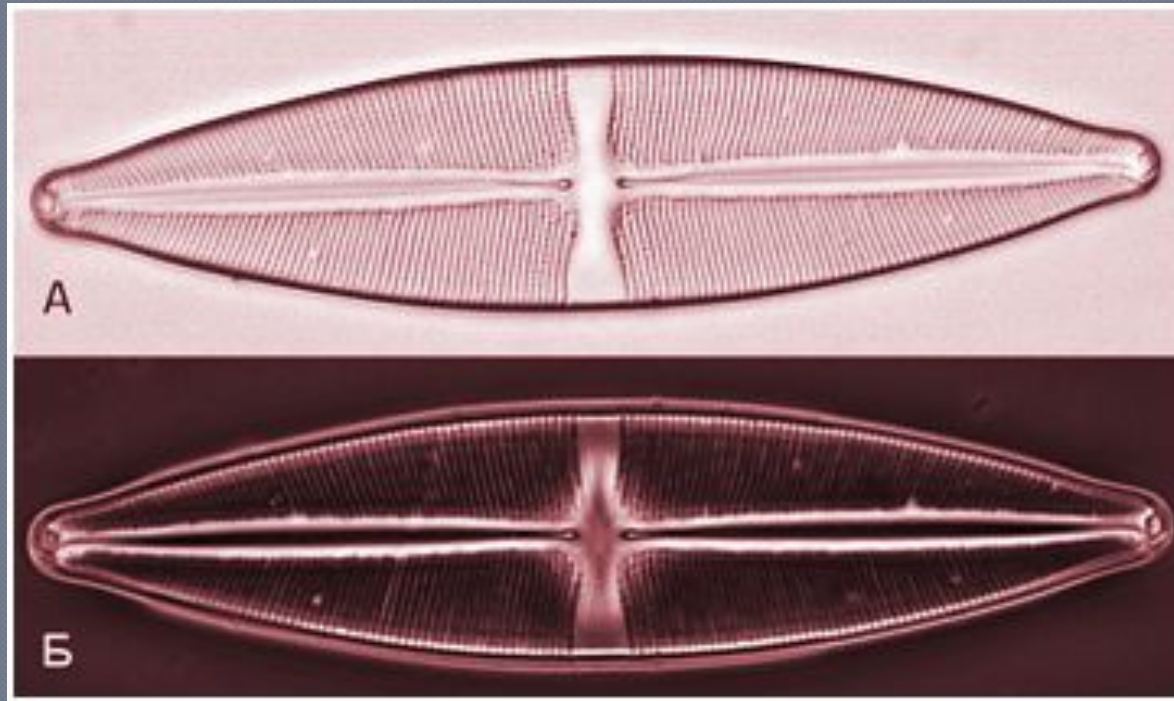
Метод фазового контраста



Прямой луч Луч от объекта

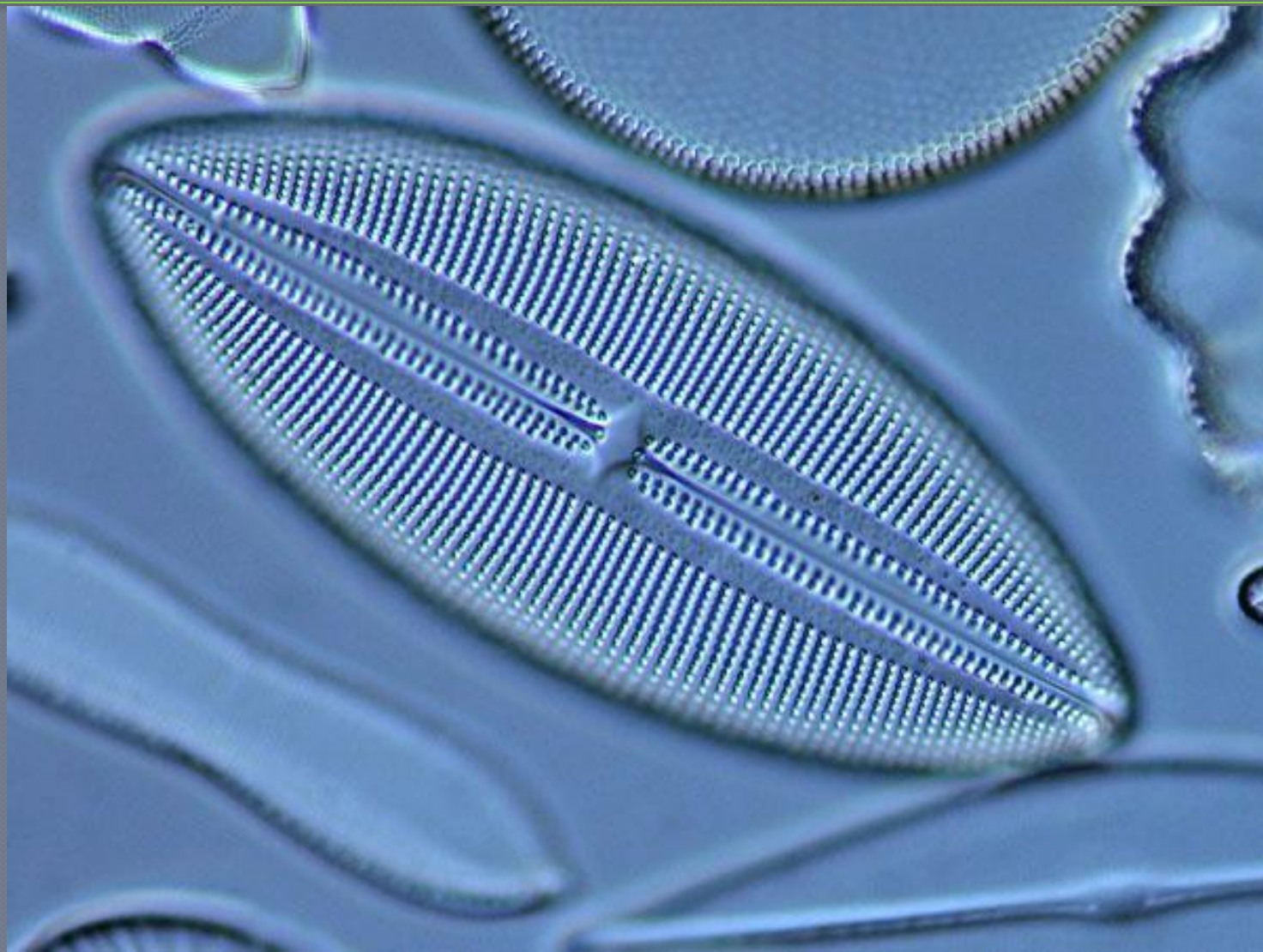


Метод фазового контраста

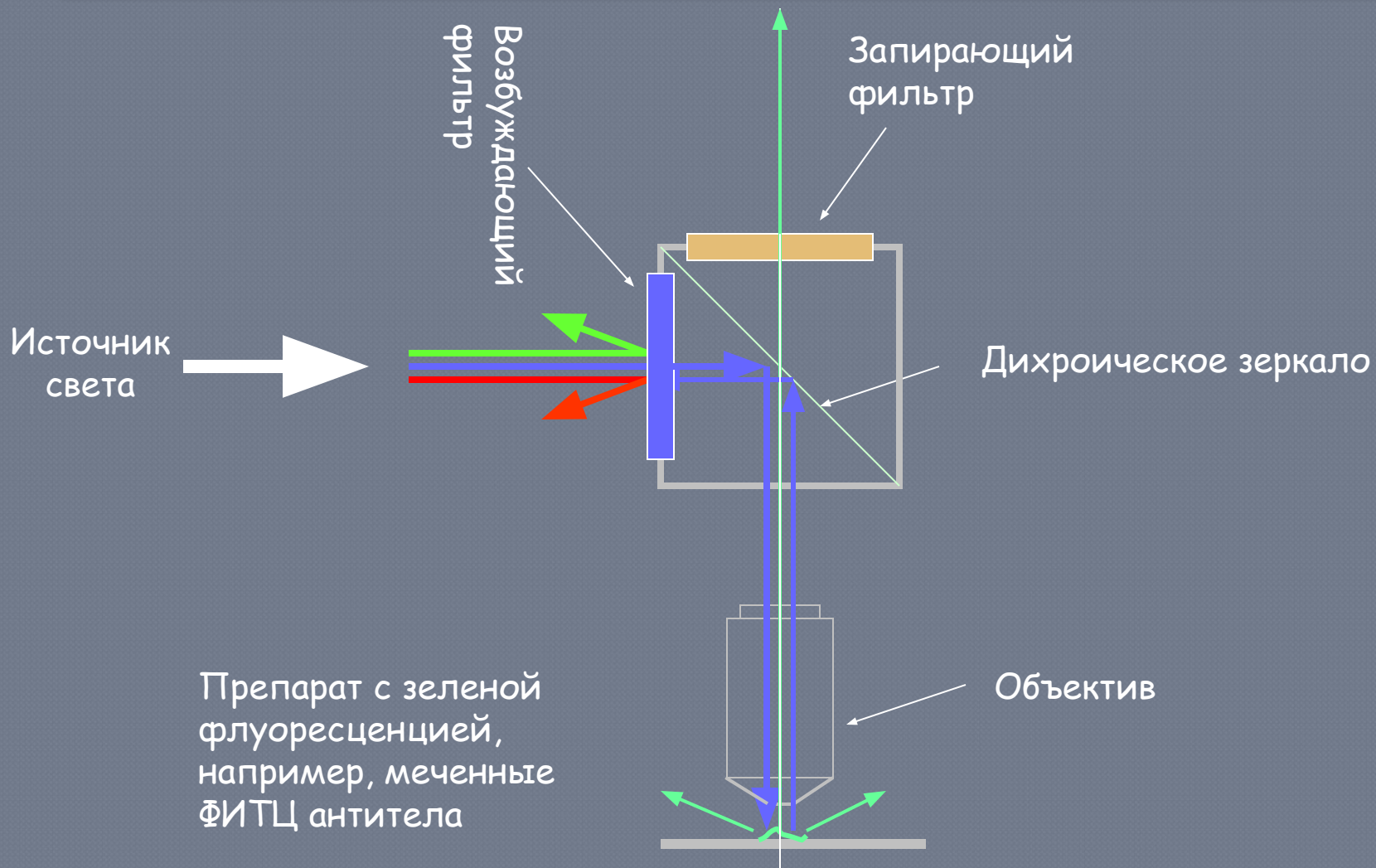


Диатомовая водоросль *Stauroneis phoenicenteron* в положительном (А) и отрицательном (Б) фазовом контрасте

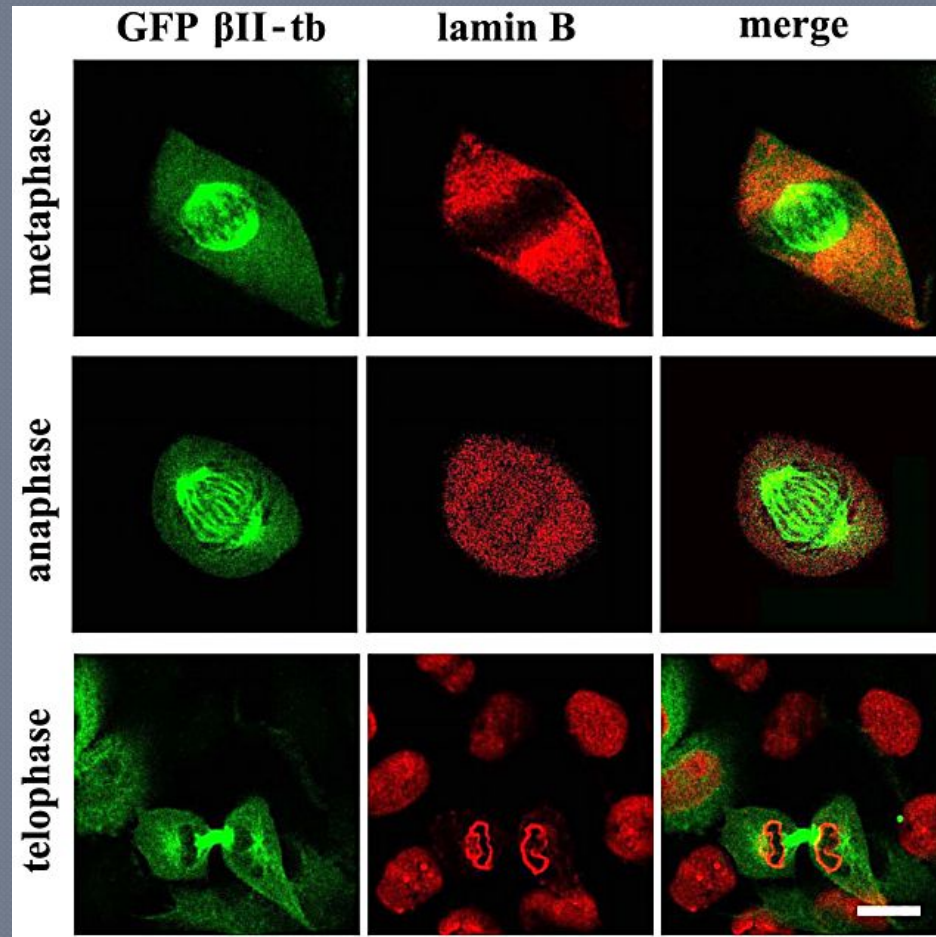
Дифференциальный интерференционный контраст по Номарскому (DIC)



Эпифлуоресцентная схема Брумберга-Крыловой



Флуоресцентная микроскопия

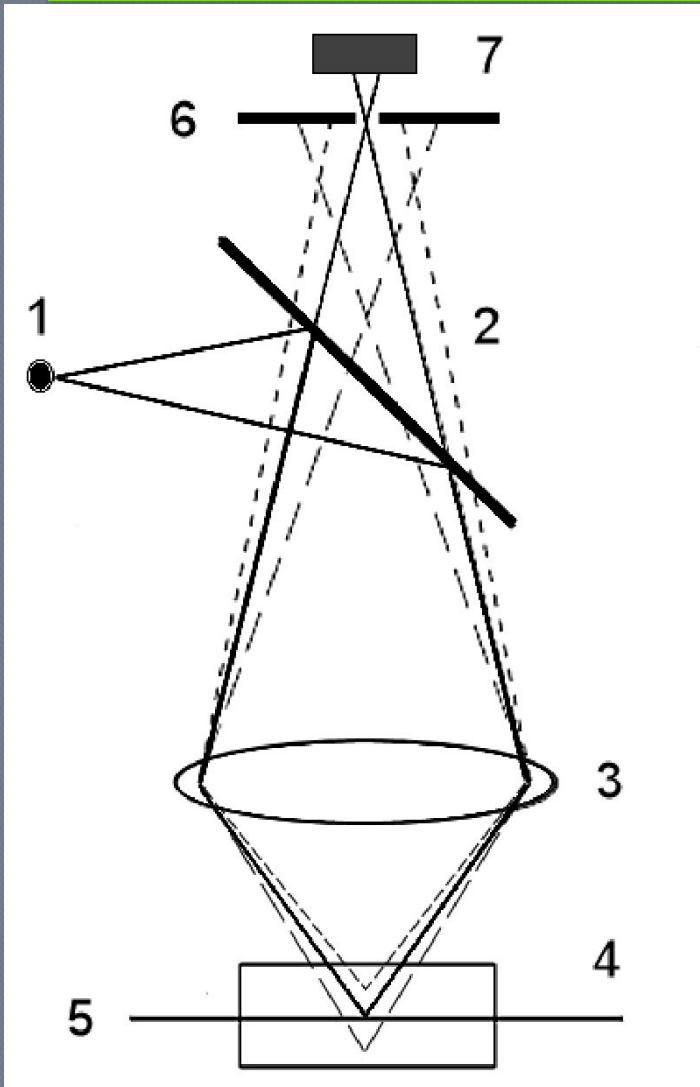


С помощью флуоресцирующих белков отслеживают экспрессию генов

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	

Принцип конфокальности



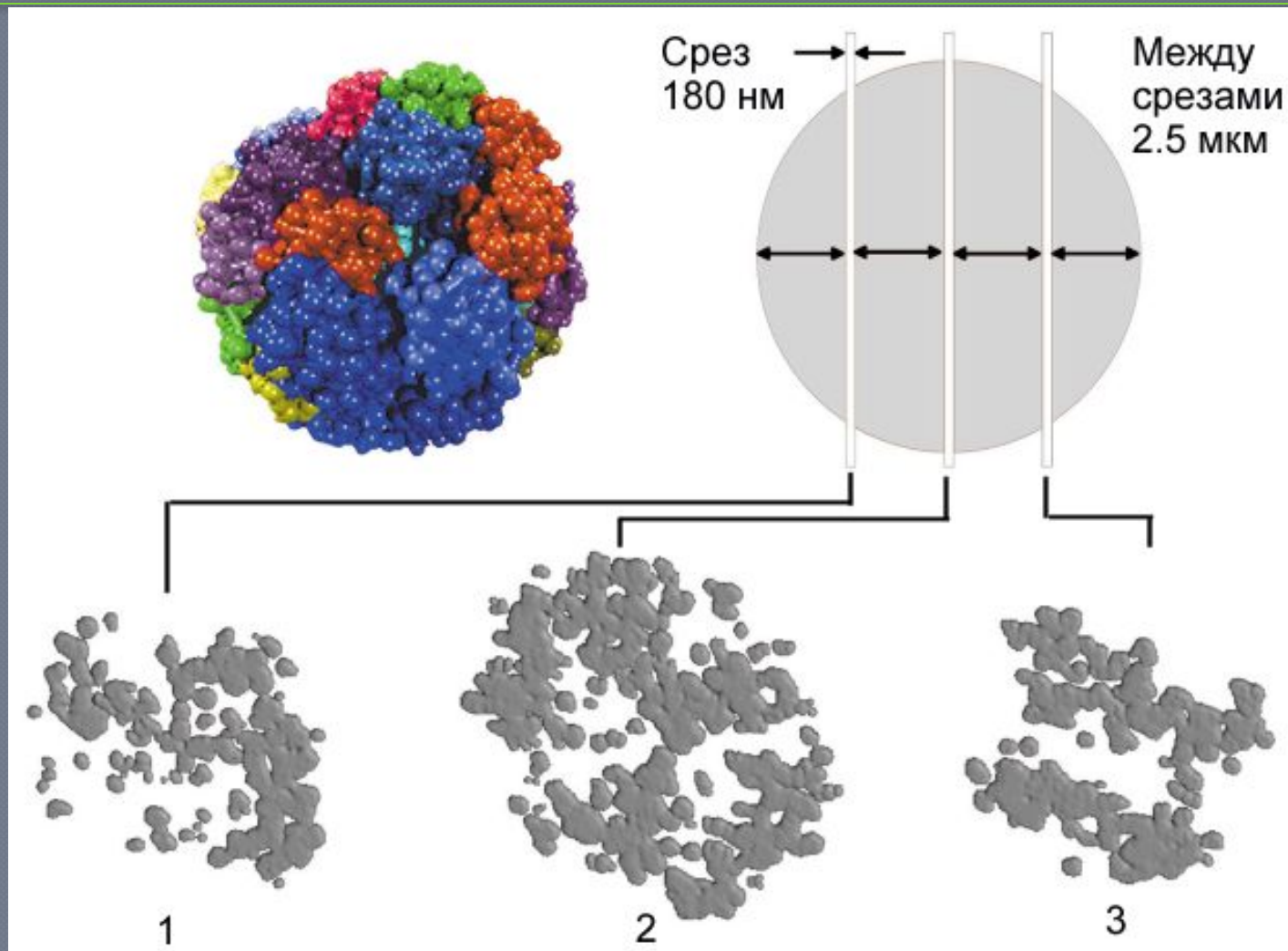
1 – точечный источник света,
2 – полупрозрачное зеркало,
3 – объектив,
4 – препарат,
5 – фокальная плоскость,
6 – точечная диафрагма,
7 - детектор

Марвин Мински (1957)

Конфокальный микроскоп ZEISS LSM PASCAL



3D-реконструкция клеточного ядра



Световая микроскопия высокого разрешения

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

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



**СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ**
