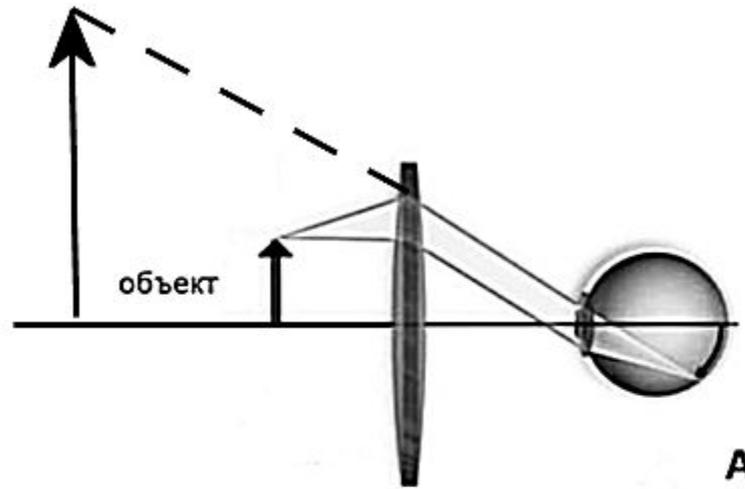


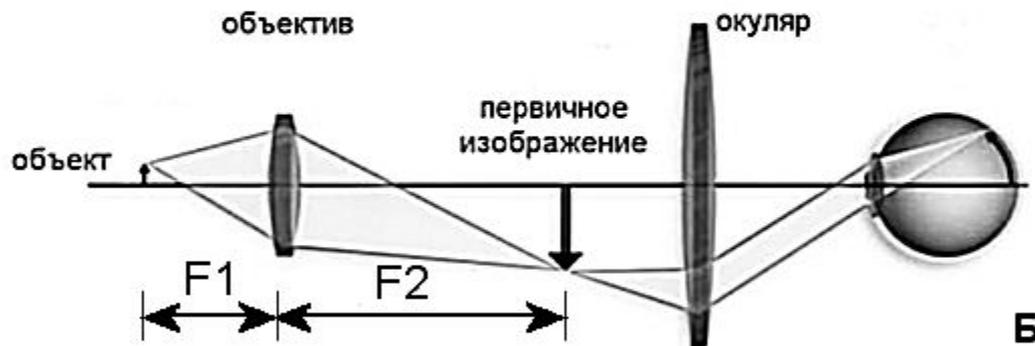
A close-up photograph of a microscope's objective lenses. The lenses are metallic and have various markings, including magnification levels like '20X' and '10X'. One lens has a blue band, another has a green band, and a third has a yellow band. The background is blurred, showing a laboratory setting.

# СПЕЦИАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ

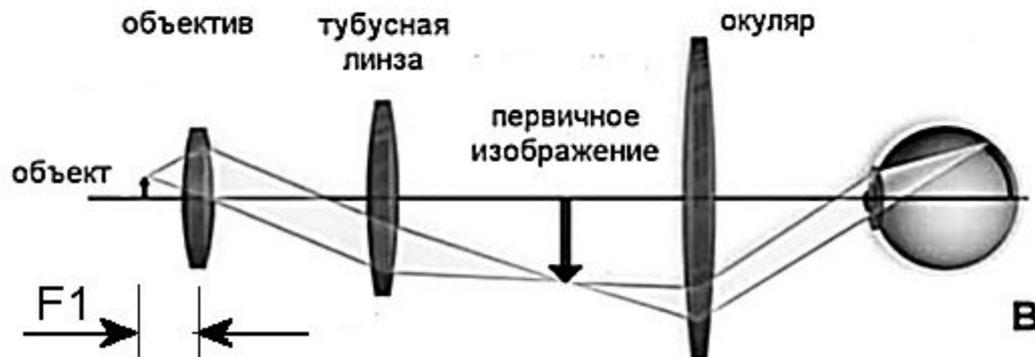
# Геометрическая оптика



Увеличение лупы:  
 **$250/F$**



Увеличение  
2К-микроскопа:  
 **$M_{об} * M_{ок}$**



Увеличение  
3К-микроскопа:  
 **$M_{об} * 250/F_{тл} * M_{ок}$**

# Классификация специальных методов

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

# Методы повышения разрешения

Формула Аббе:

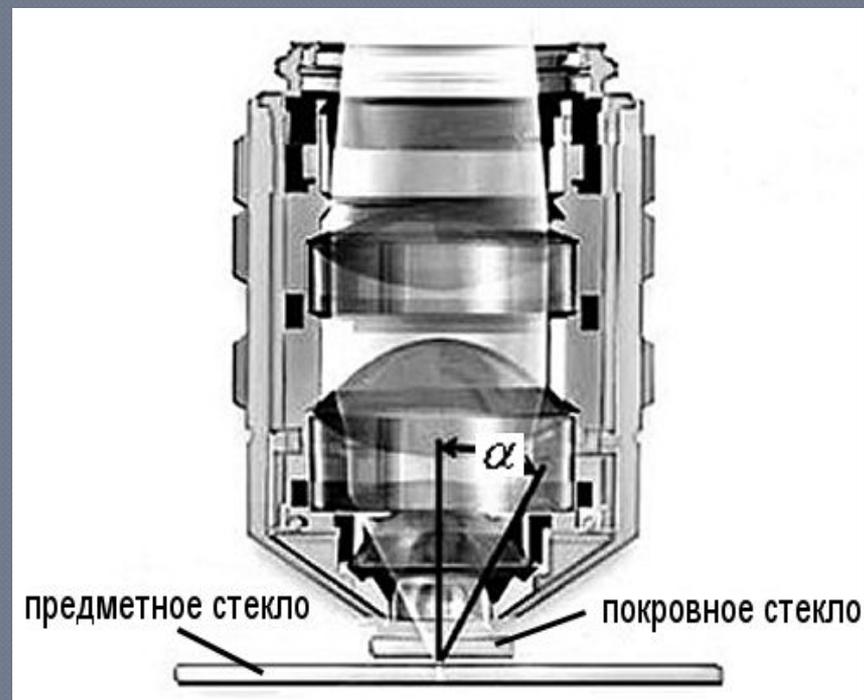
$$d = 0.61 \frac{\lambda}{n * \sin \alpha}$$

где  $\lambda$  – длина волны света;

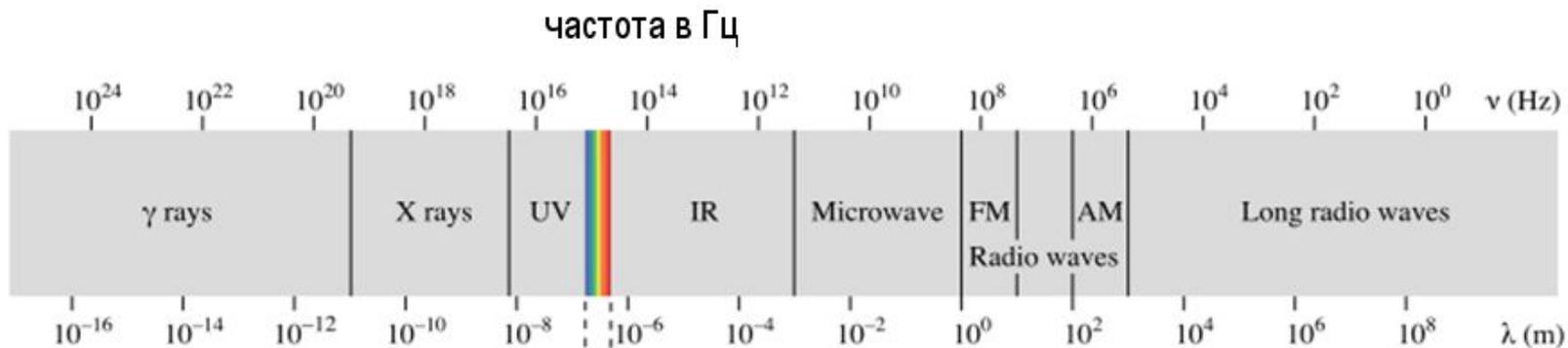
$n$  – показатель преломления среды ;

$\alpha$  – половина угла раскрытия объектива

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



# Шкала электромагнитных волн

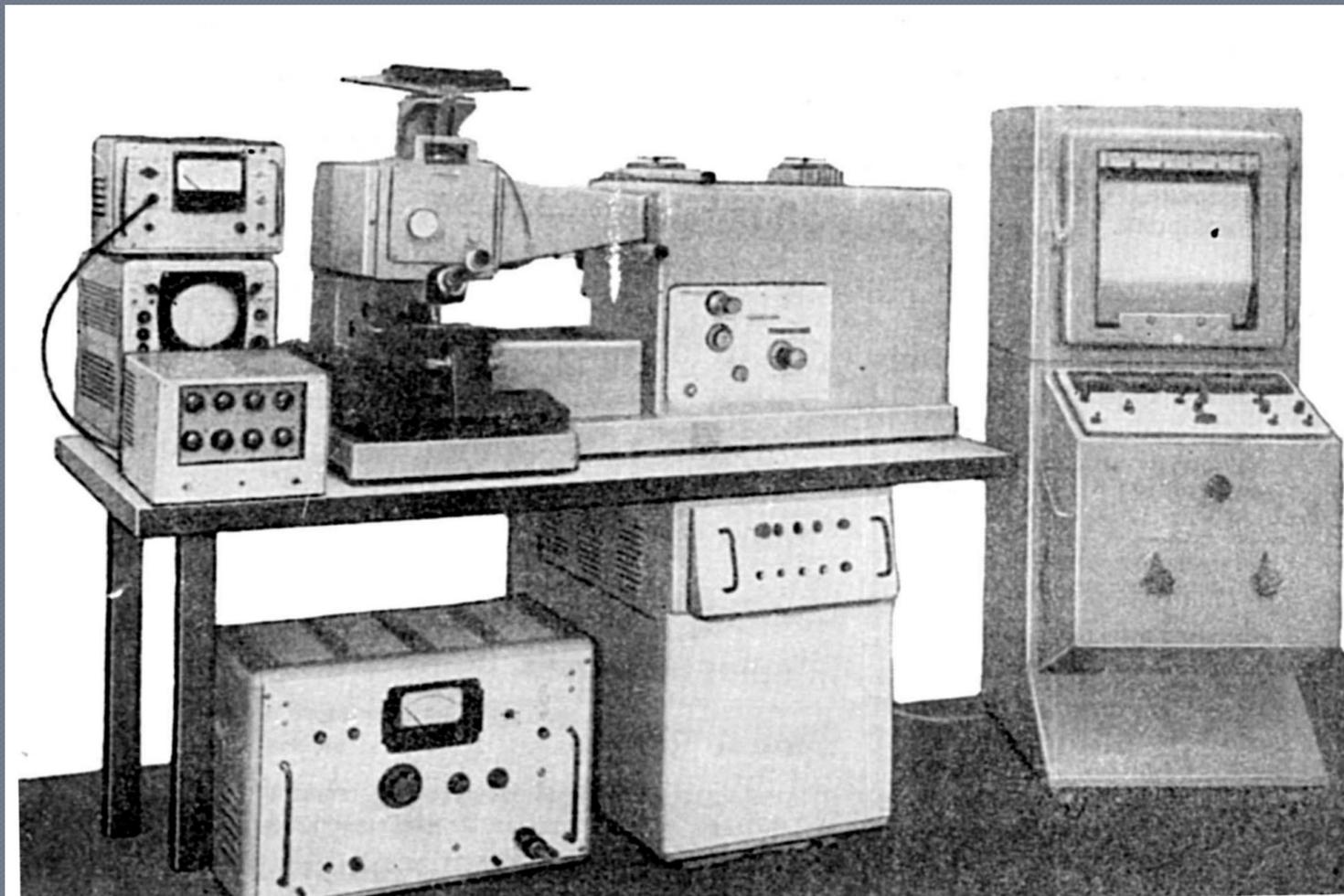


ДЛИНА ВОЛНЫ В М

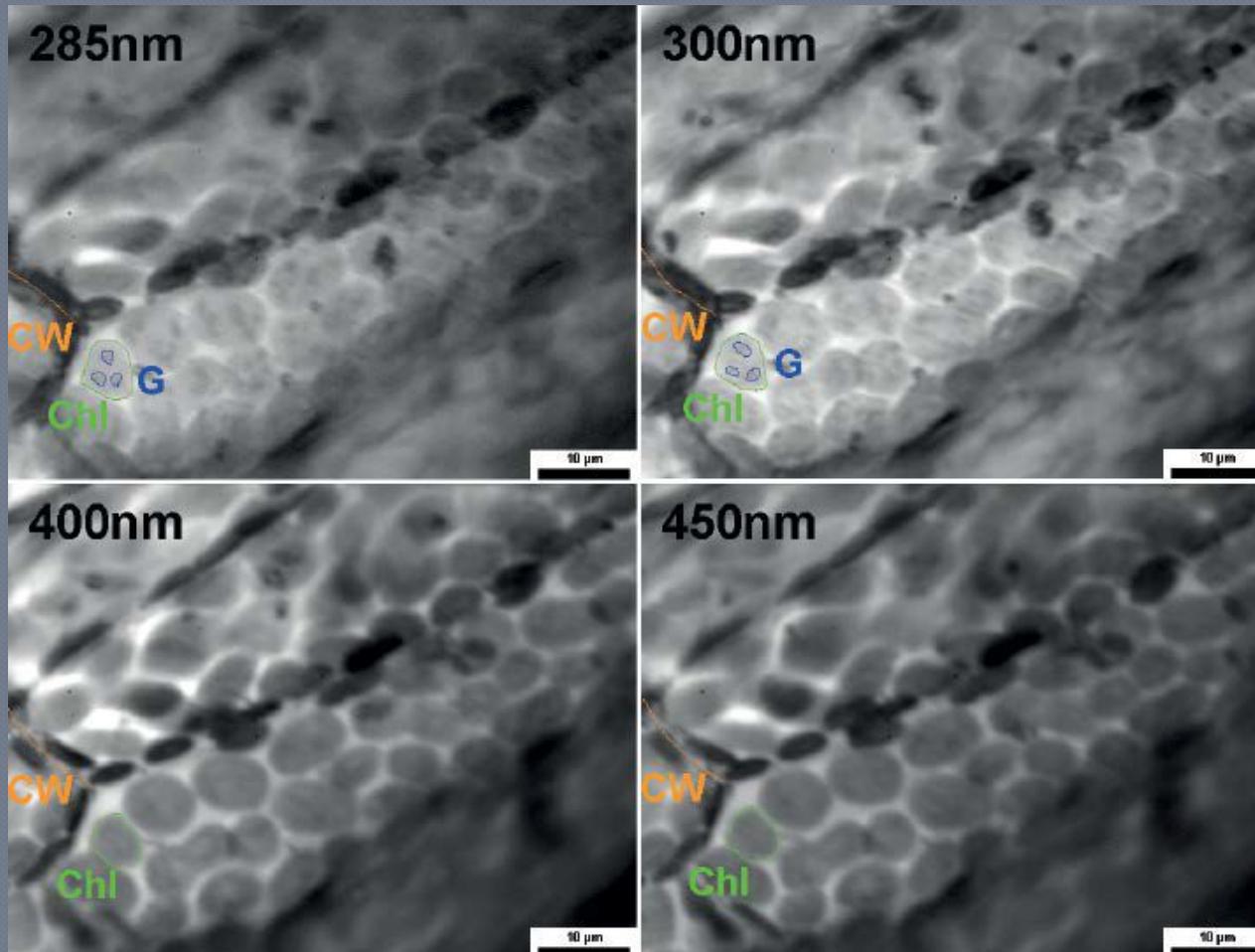


ДЛИНА ВОЛНЫ В НМ

# Ультрафиолетовый микроскоп МУФ-5



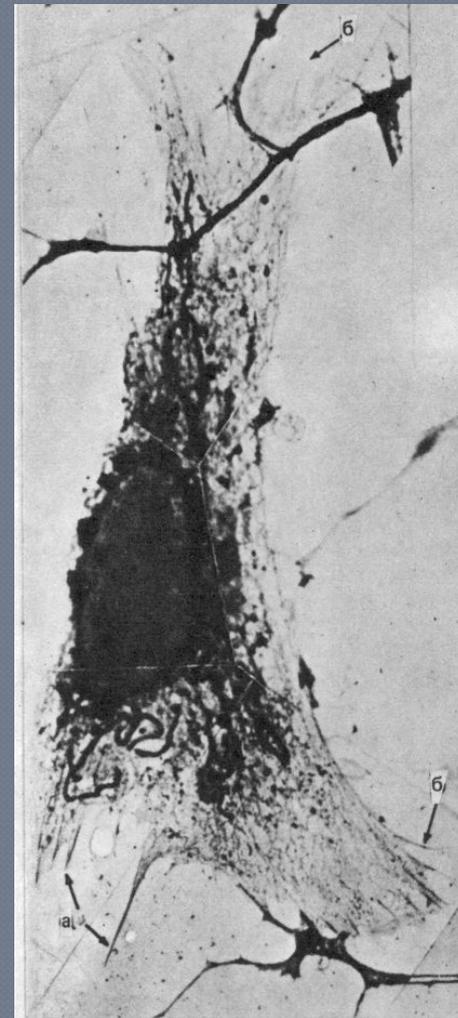
# Ультрафиолетовый микроскоп



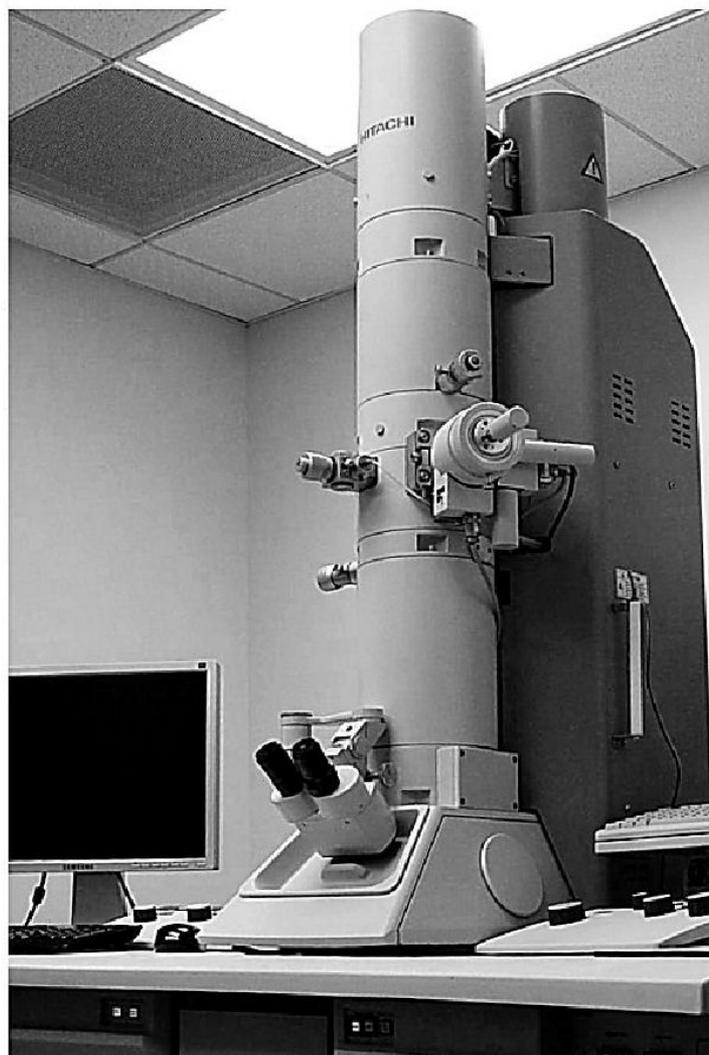
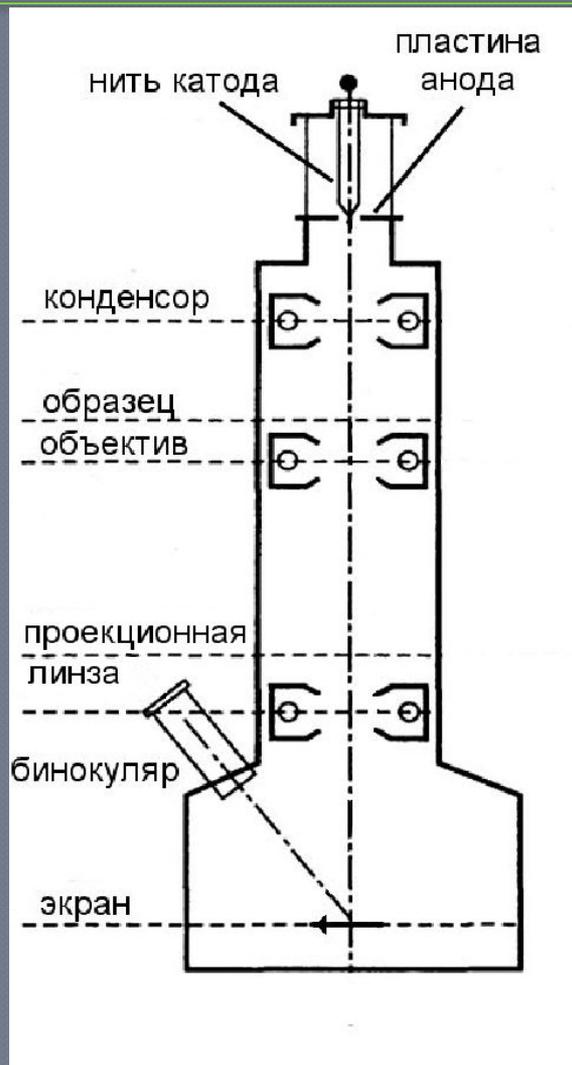
# Электронный микроскоп

## Формула де Бройля $\lambda = h/mv$

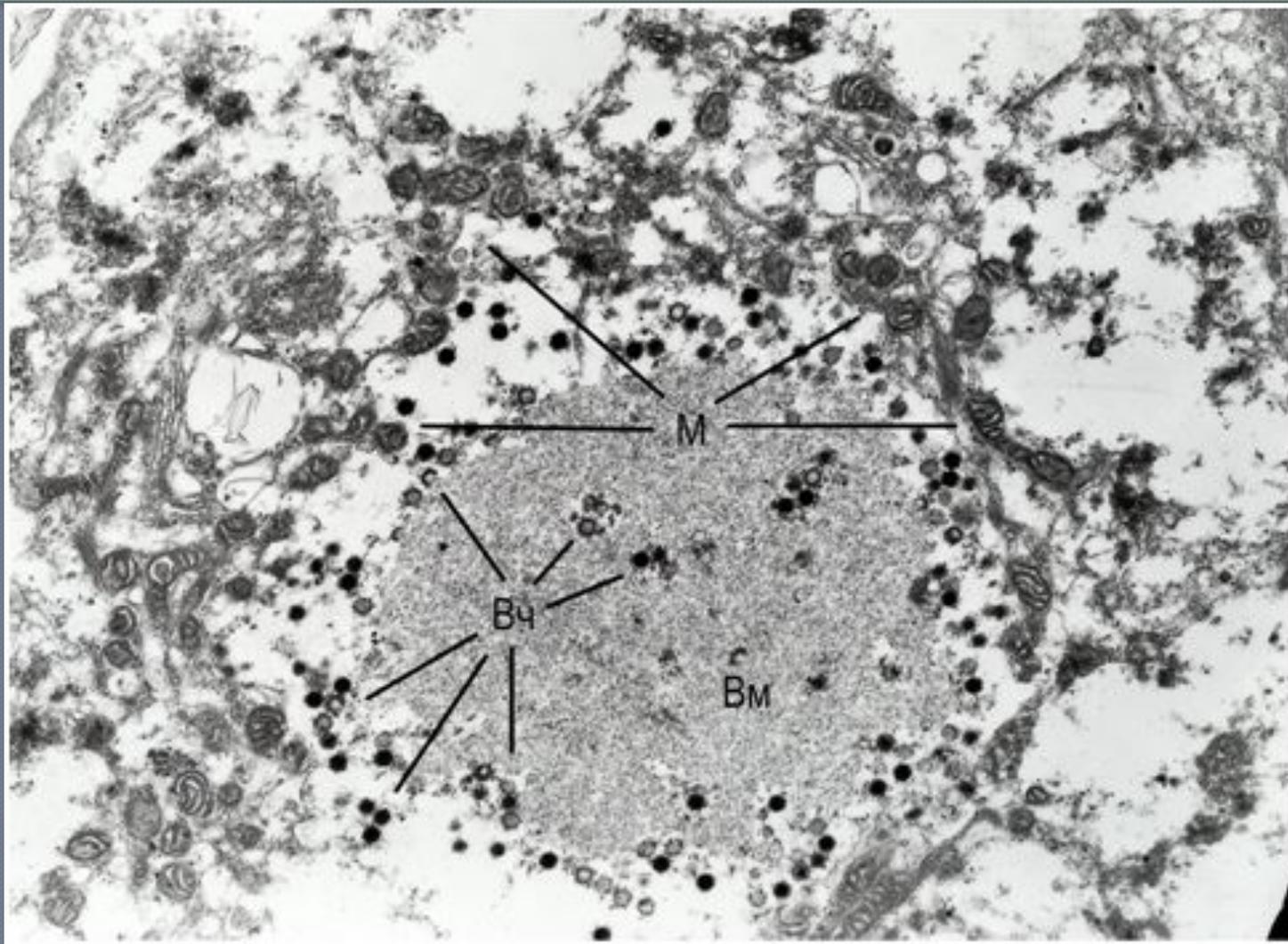
---



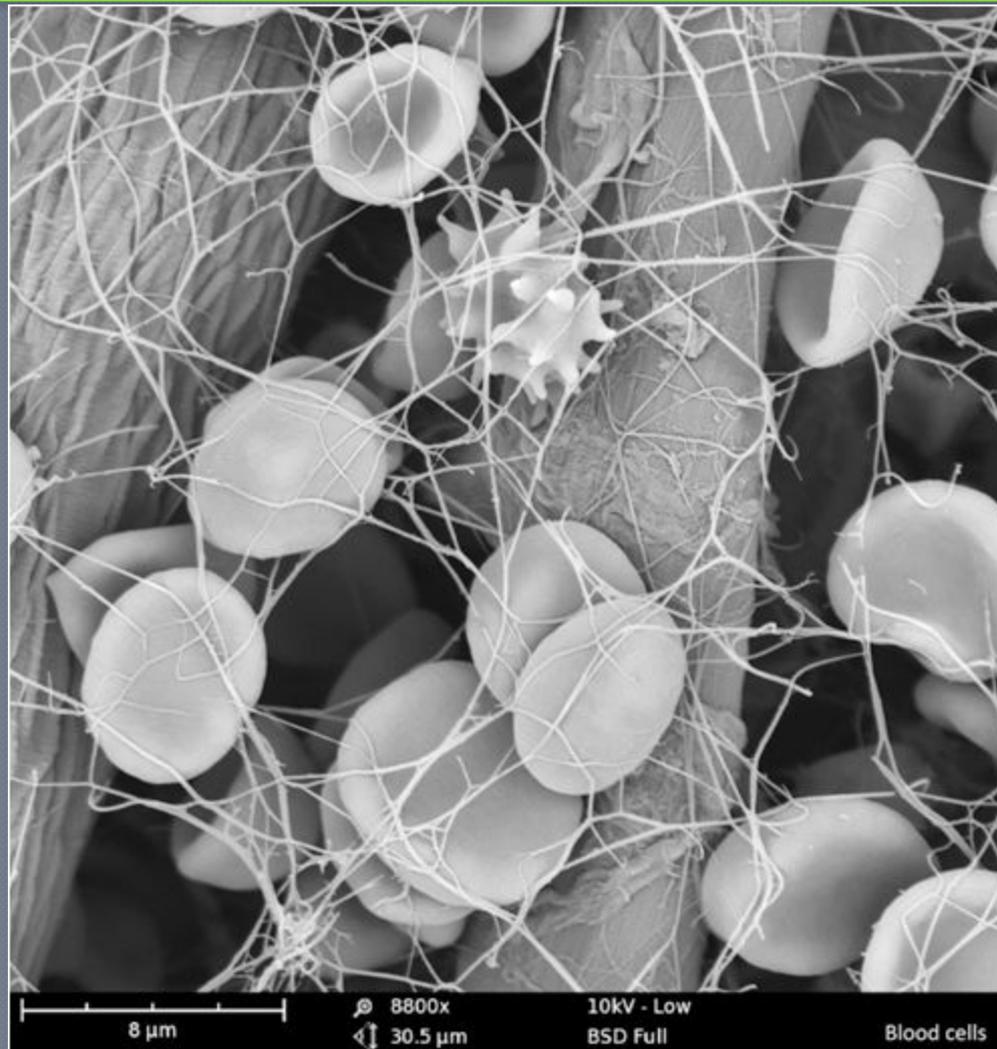
# Электронный микроскоп



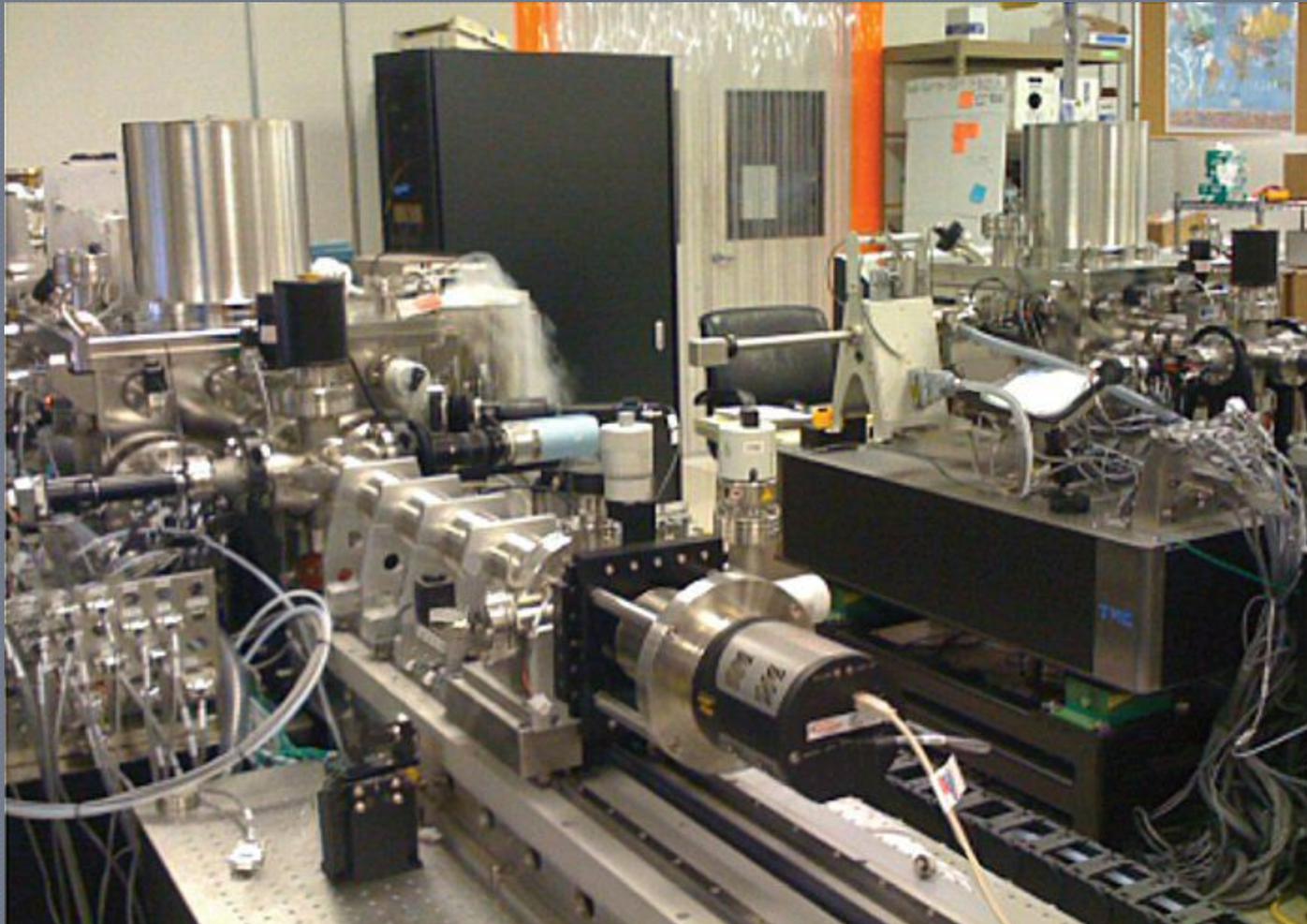
# Трансмиссионный электронный микроскоп



# Сканирующий электронный микроскоп



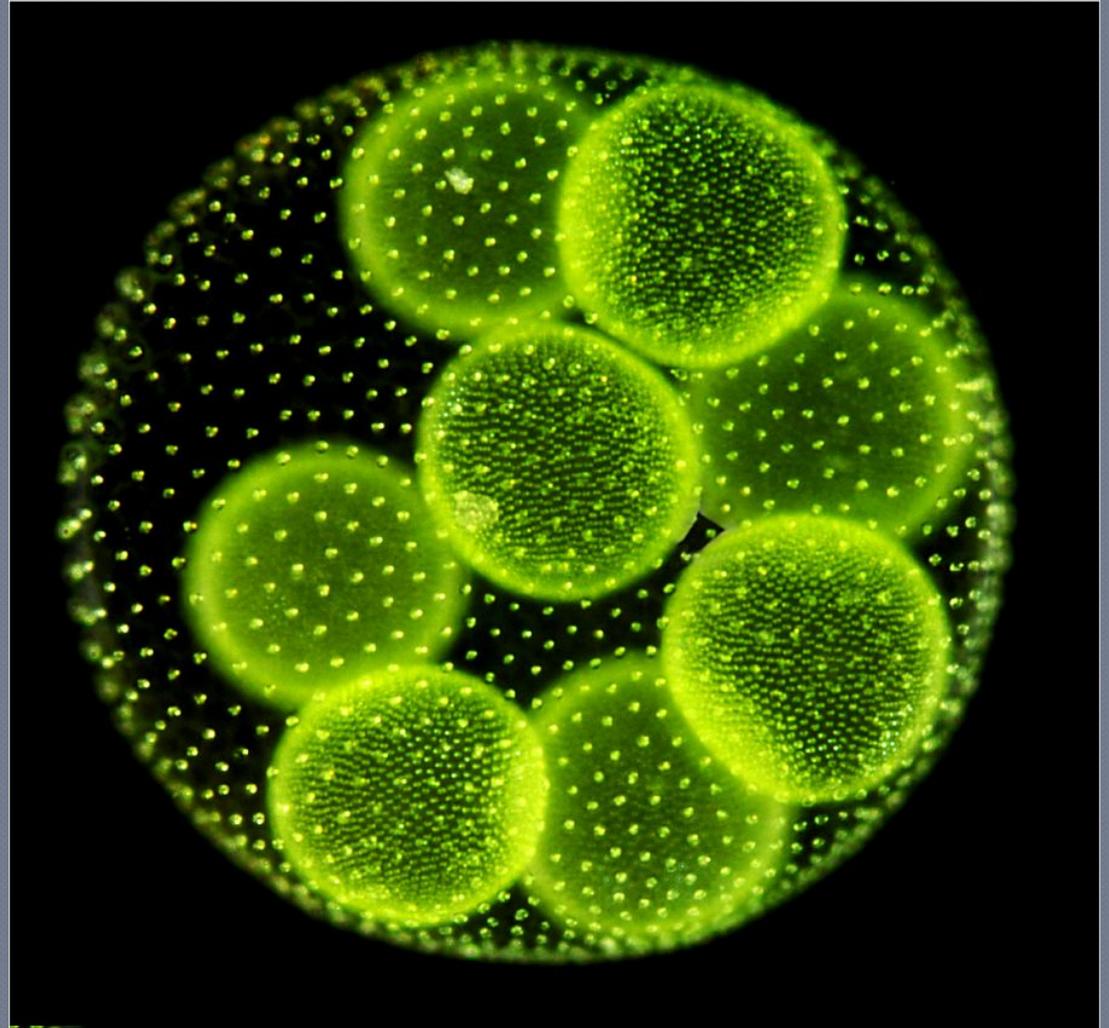
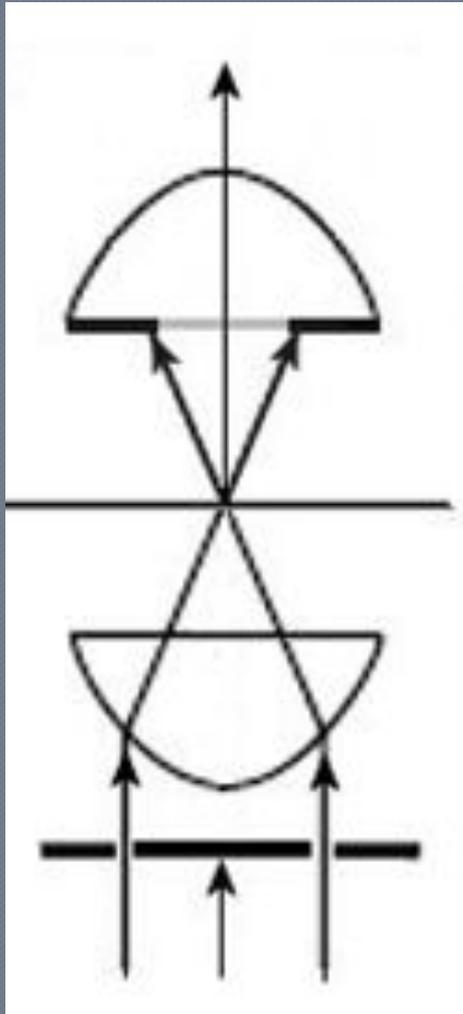
# Рентгеновская микроскопия



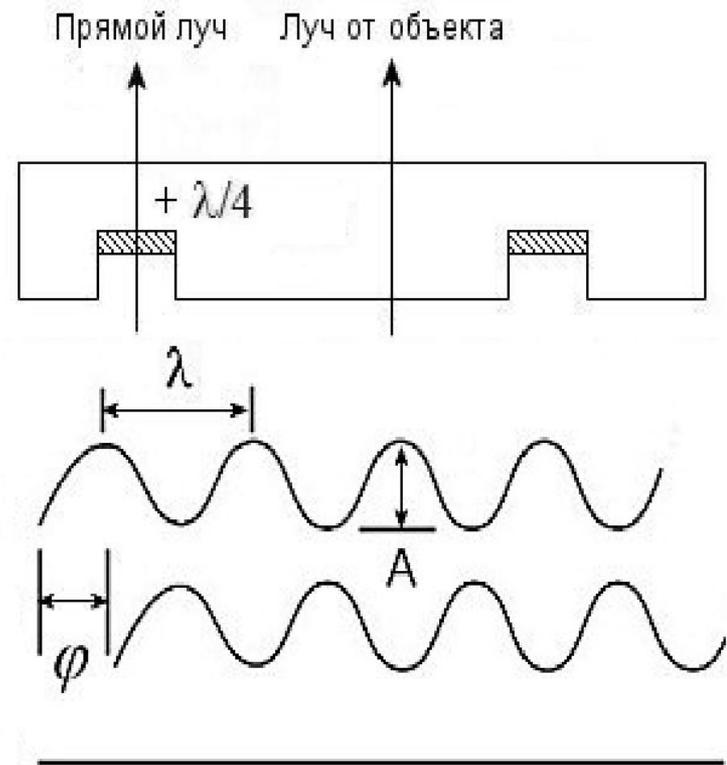
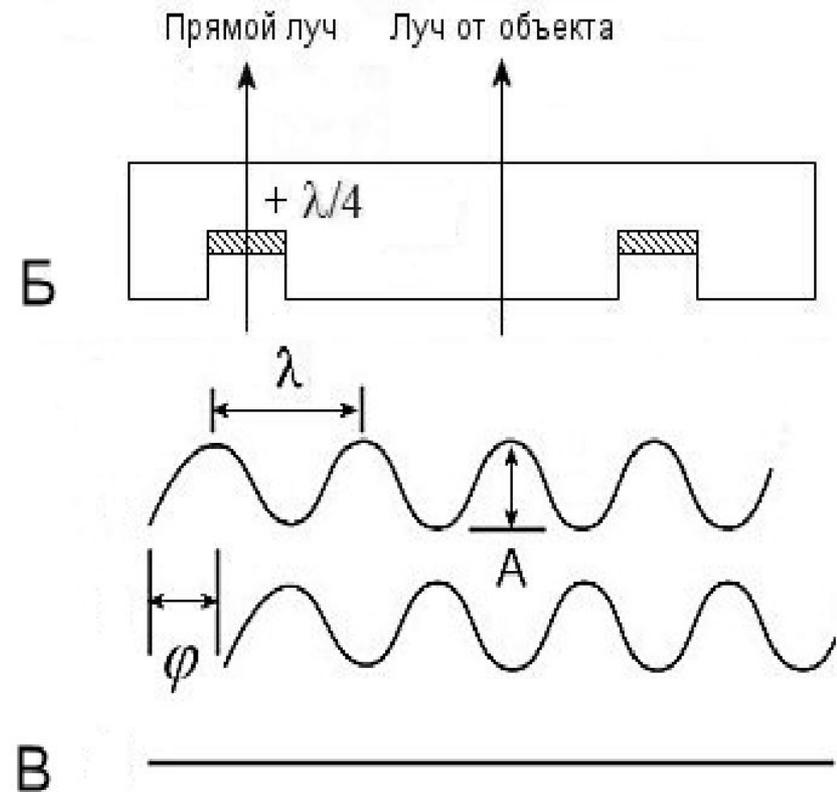
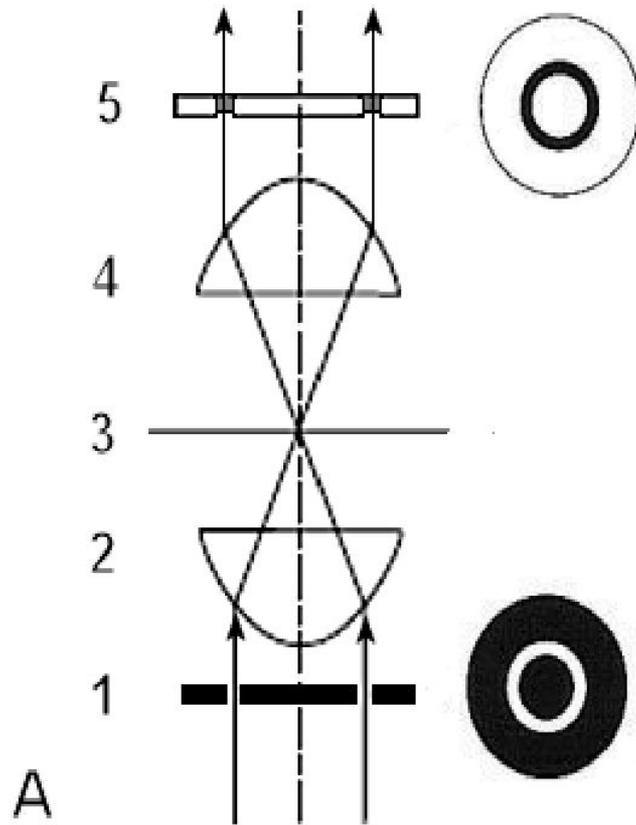
# Классификация специальных методов

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

# Метод темного поля: 3D-фото *Volvox aureus*

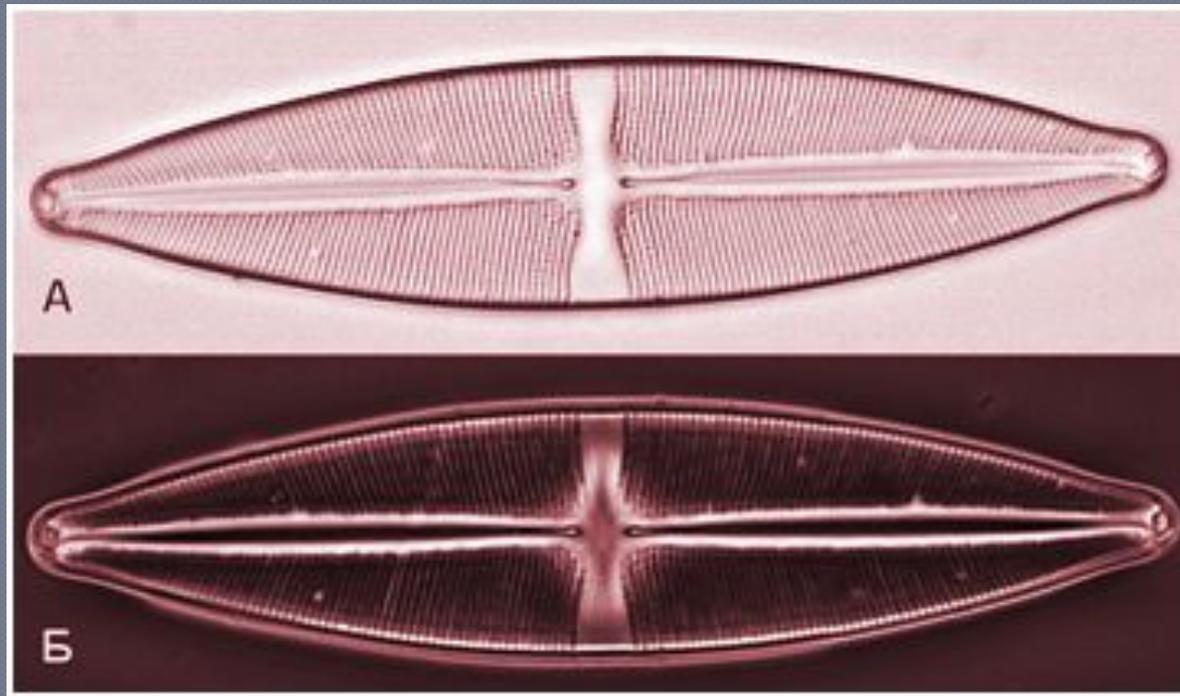


# Метод фазового контраста



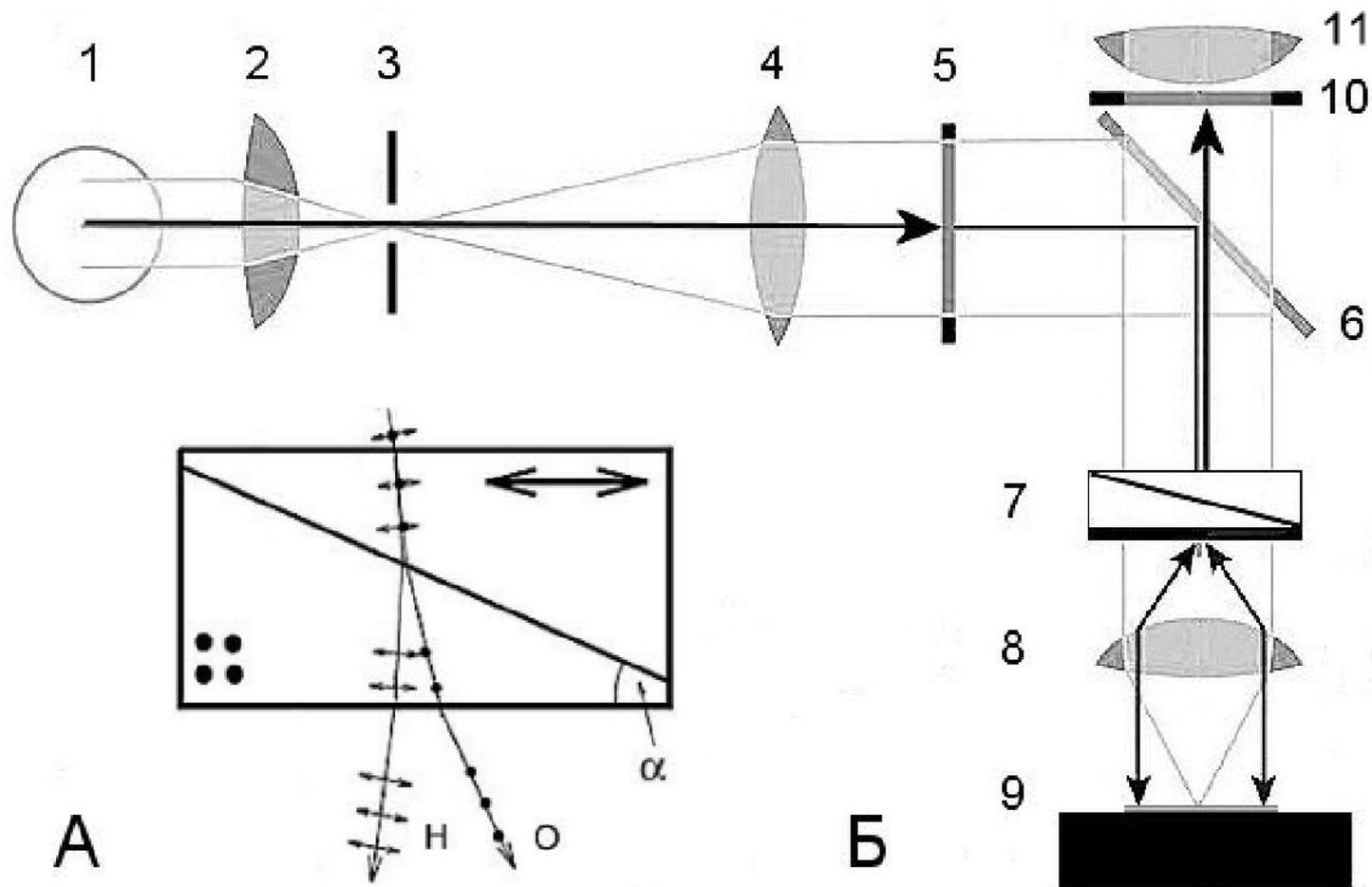
# Метод фазового контраста

---



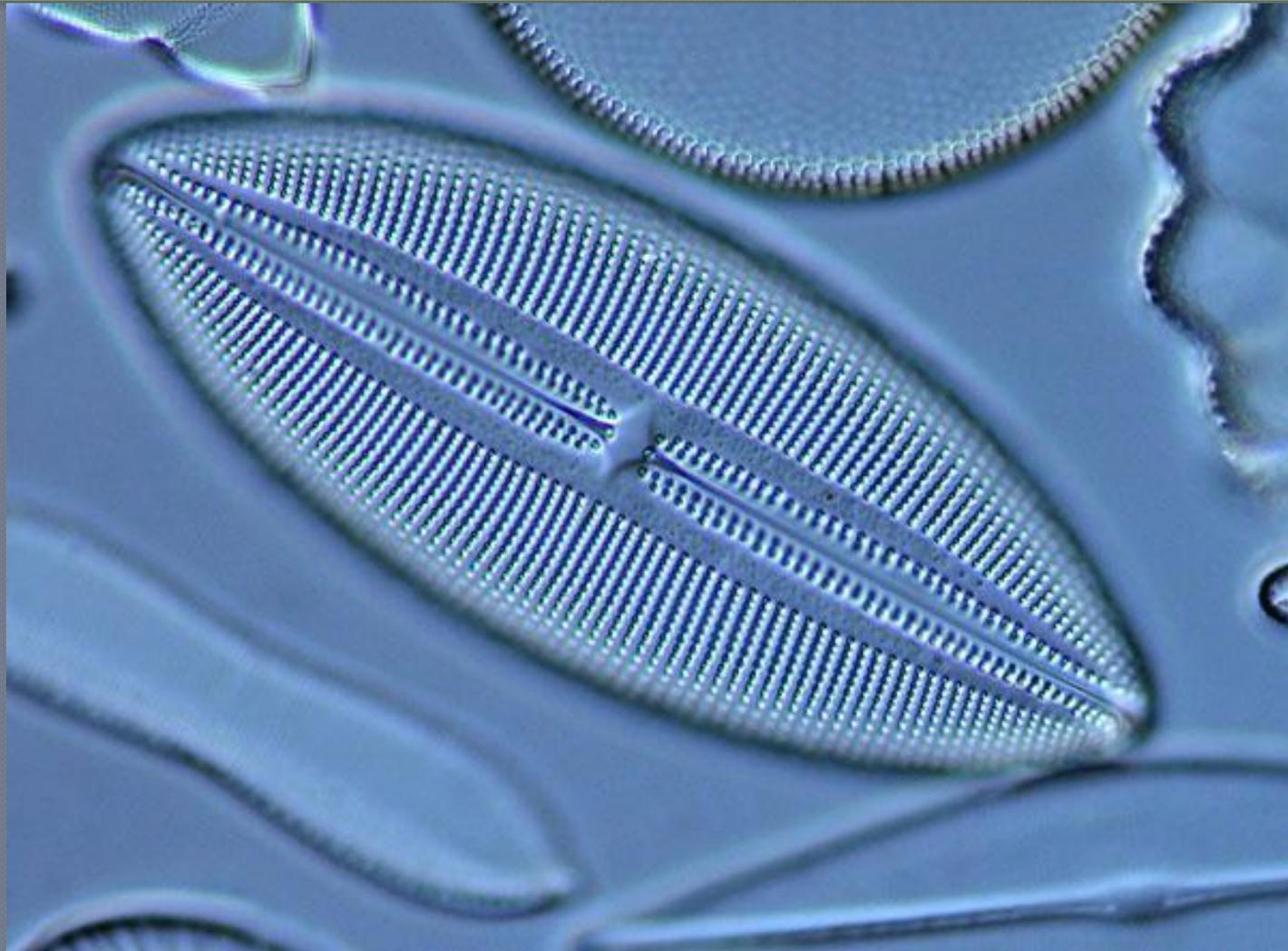
Диатомовая водоросль *Stauroneis phoenicenteron* в положительном (А) и отрицательном (Б) фазовом контрасте

# Дифференциально-интерференционный контраст по Номарскому (ДИК)



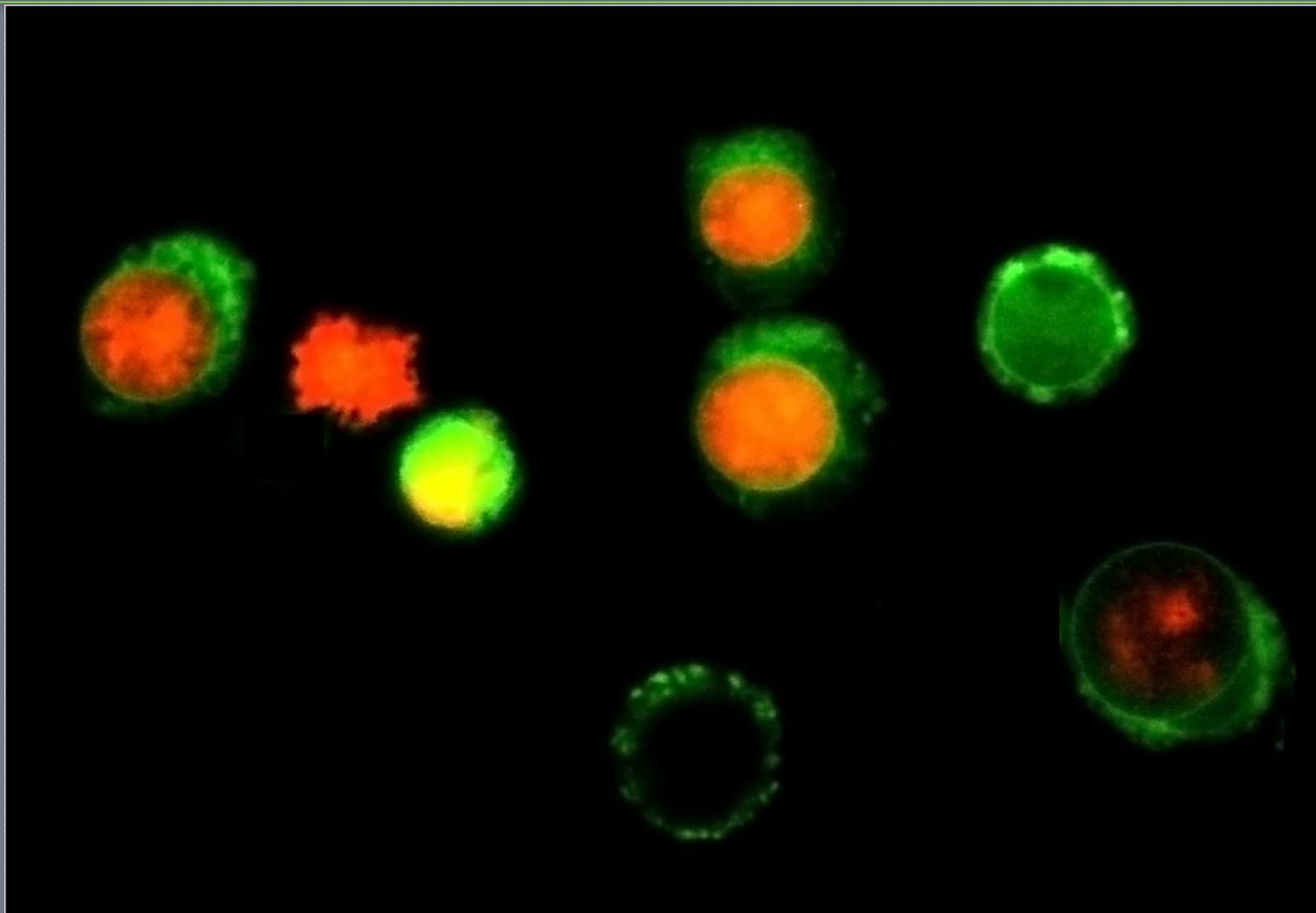
# Дифференциально-интерференционный контраст по Номарскому (ДИК)

---



# Флуоресцентная микроскопия

Katsumi 1 : R123+EB



# Флуоресцентная микроскопия

## Квантовая механика флуоресценции

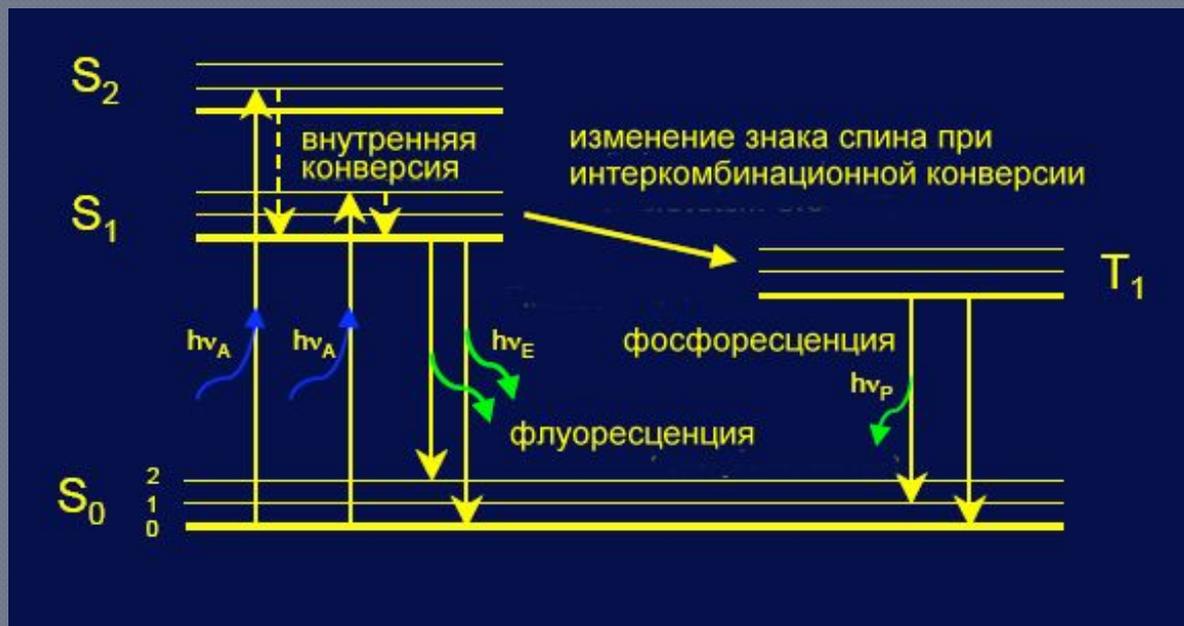
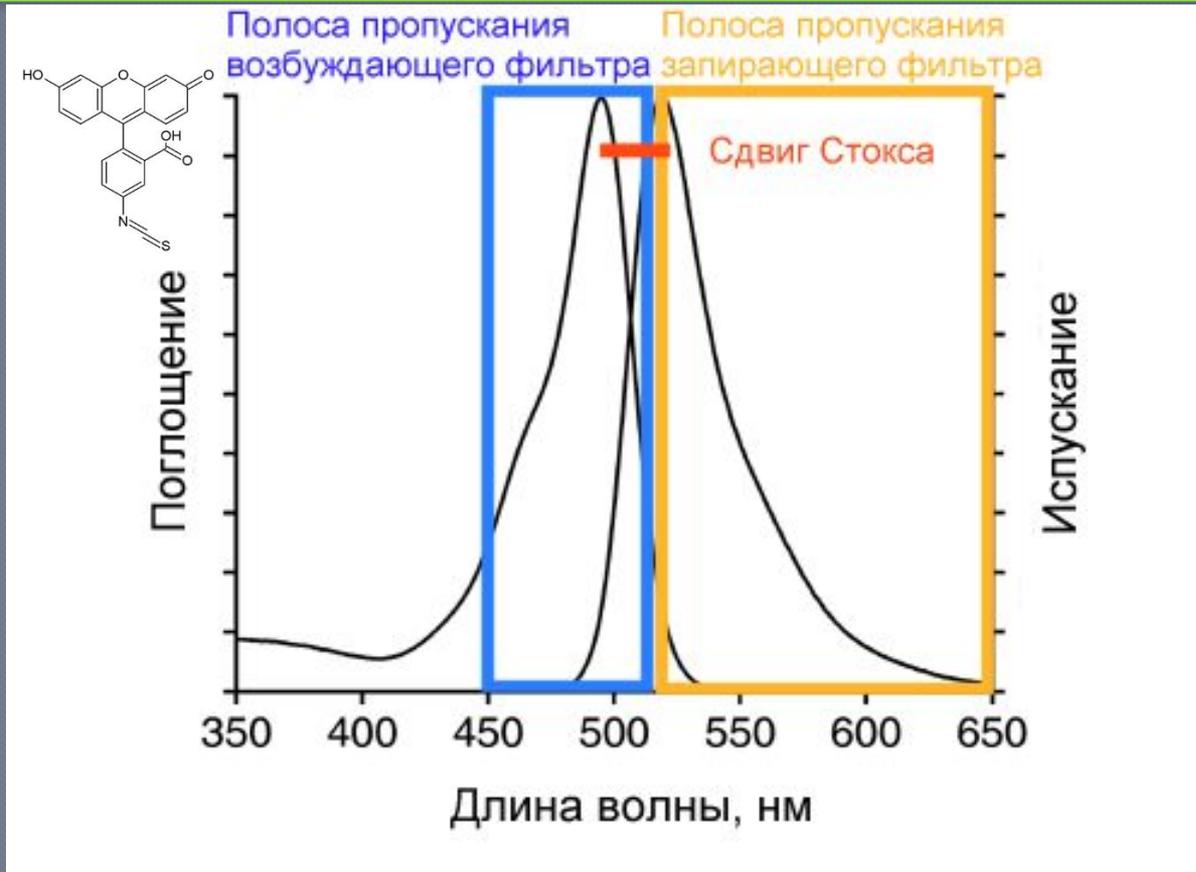


Диаграмма Яблонского

- S<sub>0</sub> – основной энергетический уровень молекулы;
- S<sub>1</sub> – излучательный энергетический уровень возбужденного состояния;
- S<sub>2</sub> – безизлучательный энергетический уровень возбужденного состояния;
- T<sub>1</sub> – триплетный уровень

# Флуоресцентная микроскопия

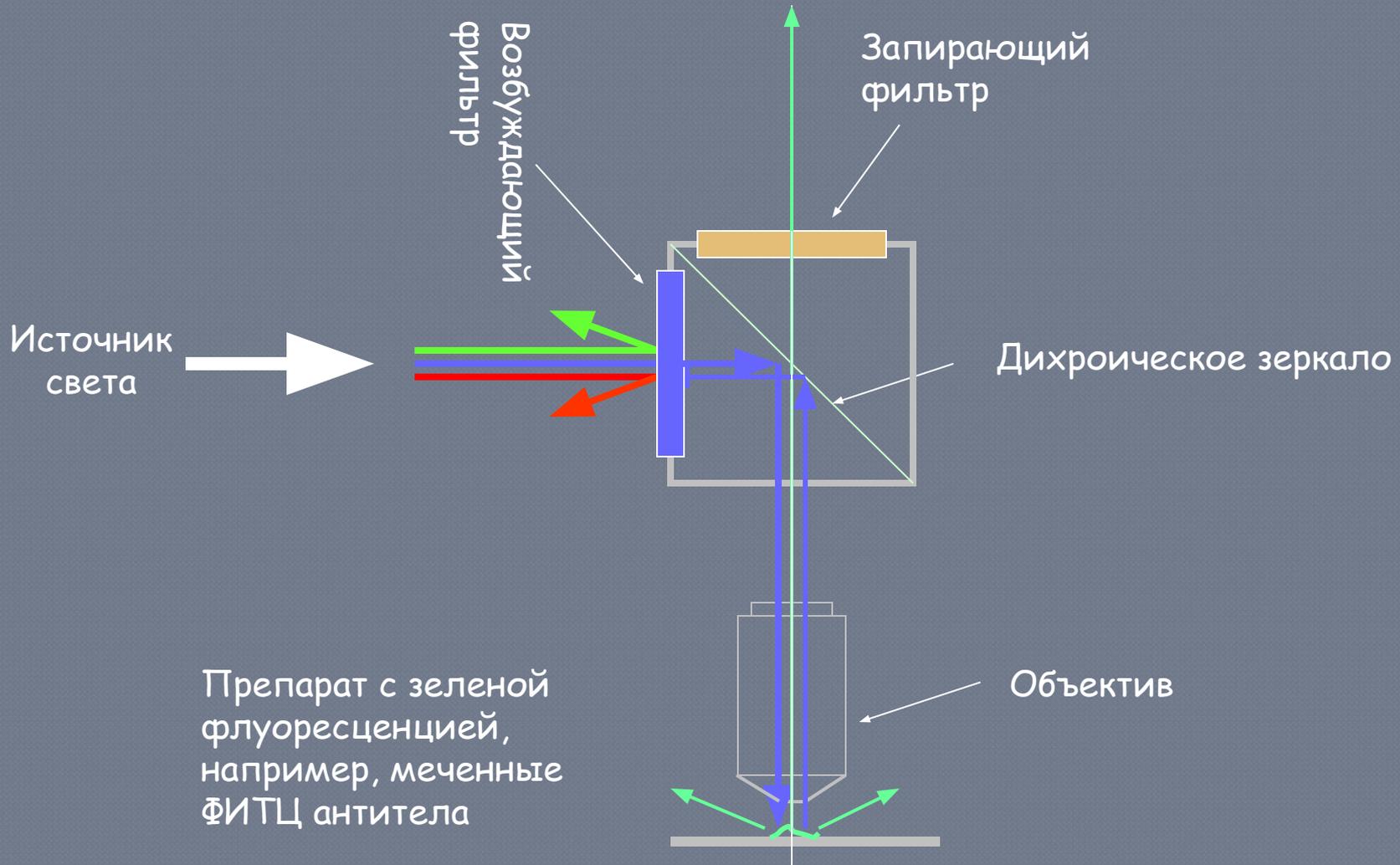
## Спектры поглощения и излучения флуорохрома



Спектры возбуждения и испускания FITC (флуоресцеин-изотиоцианата)

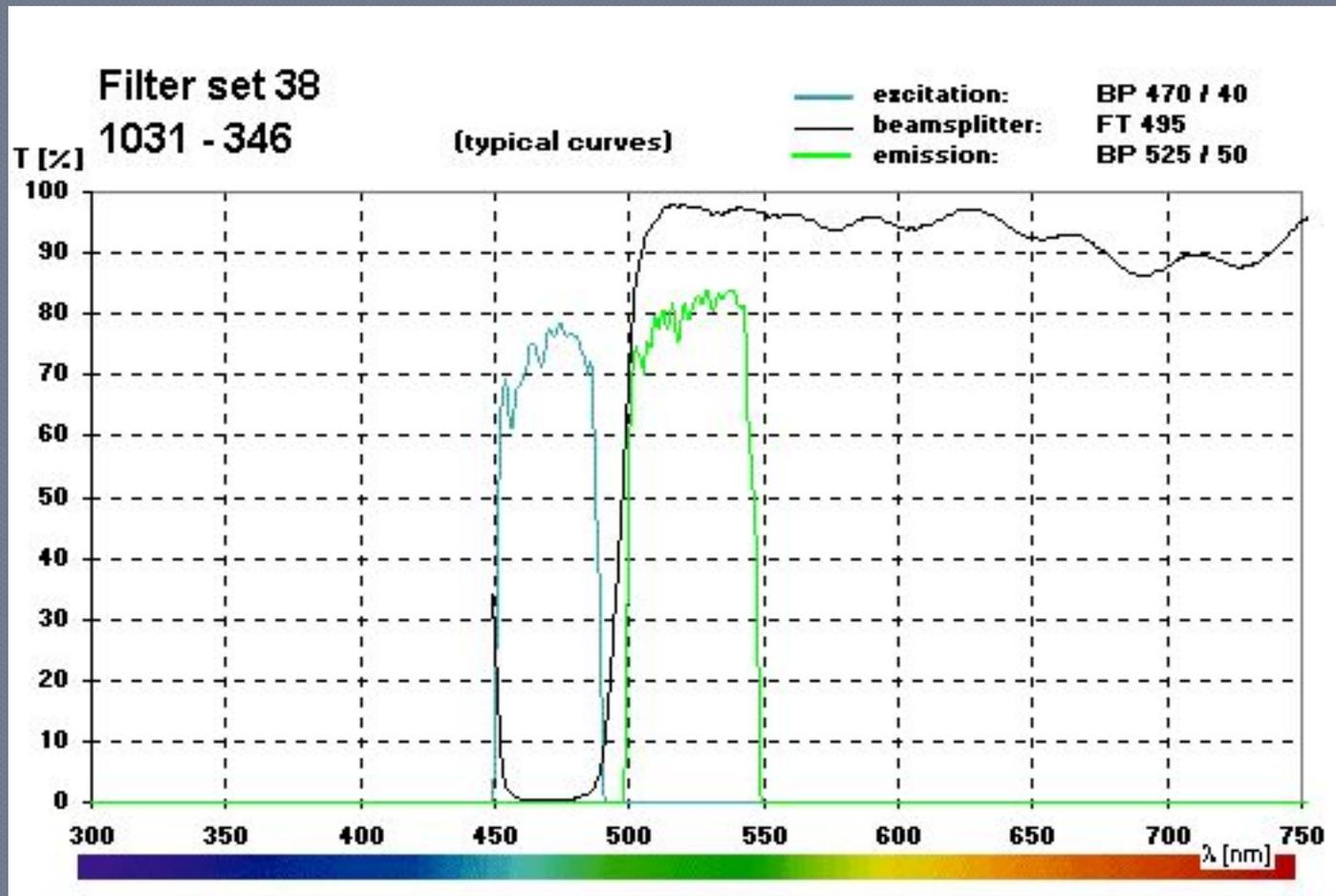
# Флуоресцентная микроскопия

## Эпифлуоресцентная схема Брумберга и Крыловой



# Флуоресцентная микроскопия

Спектральные кубы для флуорохромов



Набор фильтров для FITC

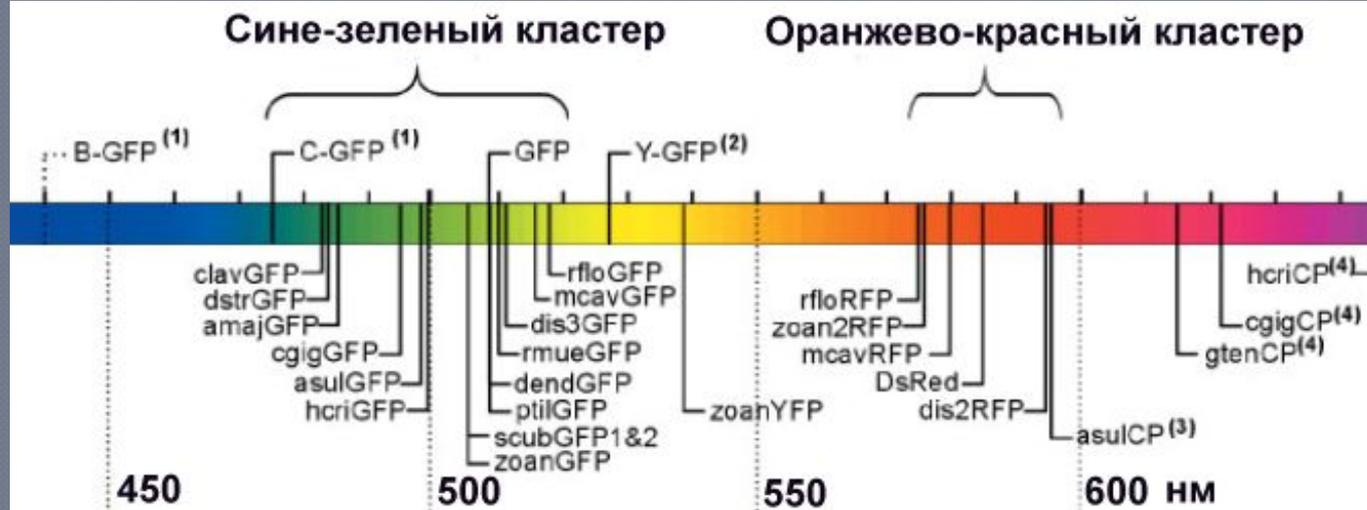
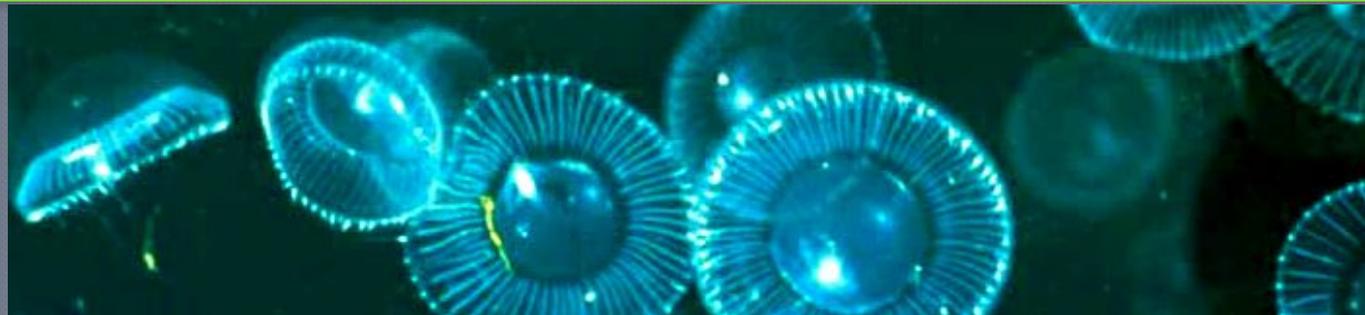
# Флуоресцентная микроскопия

## флуорохромы

Флуорохром	Excitation, $\lambda_{max}$ , nm	Emission $\lambda_{max}$ , nm	Extinction, $M^{-1}cm^{-1}$	QY	Bright-ness	Мишень
FITC	490	525	90000	0.35	31.50	антитела
TRITC	540	580	67000	0.35	23.45	антитела
Alexa Fluor 488	495	519	71000	0.94	66.70	антитела
Alexa Fluor 532	532	553	81000	0.80	64.80	антитела
Acridine Orange	490	530/640	27000	0.20	5.40	ДНК/РНК
Ethidium Bromide	510	595	27000	0.35	9.45	ДНК
Propidium Iodide	536	617	27000	0.12	3.24	ДНК
7-AAD	555	565	25000	0.07	1.75	ДНК
DAPI	359	461	24000	0.34	9.18	ДНК
Hoechst 33342	352	461	45000	0.38	17.48	ДНК
Hoechst 33258	365	480	40000	0.42	19.32	ДНК
GFP	475	510	30000	0.80	24.00	белки
QD 605	350-450	605	1450000	0.40	580.0	любая

# Флуоресцентная микроскопия

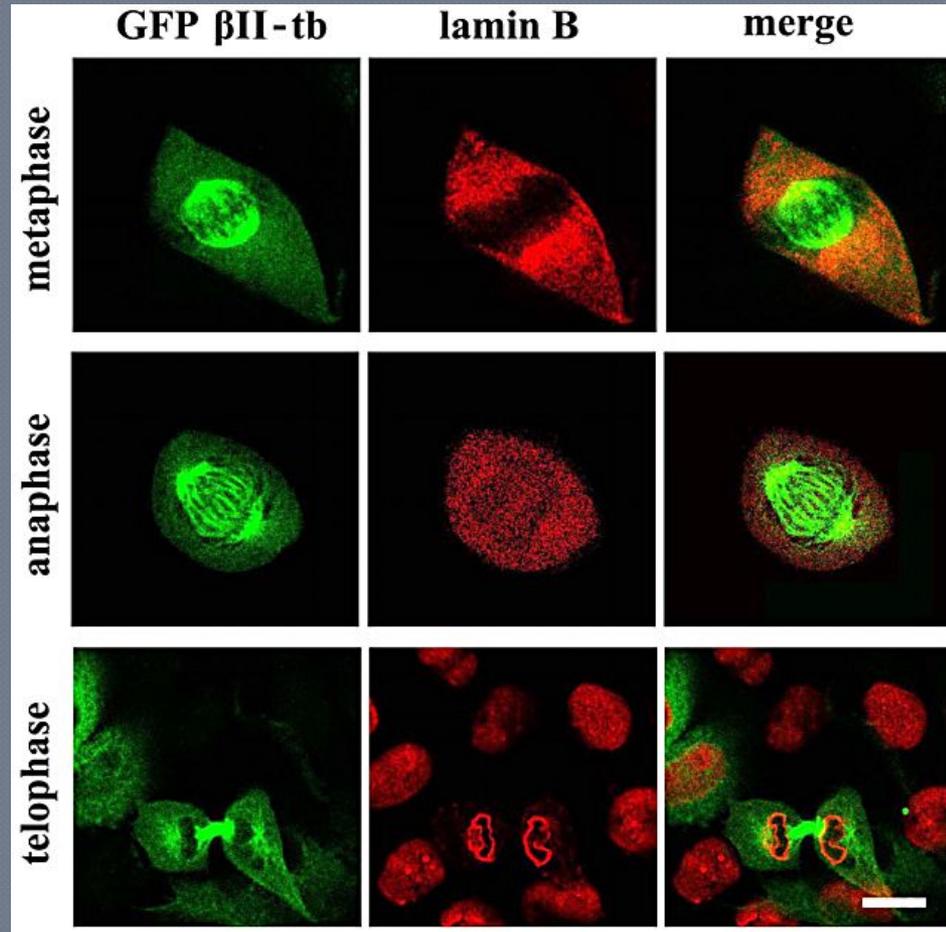
Флуоресцирующие белки вместо флуорохромов



Медуза *Aequorea victoria*, из которой был выделен GFP.  
Распределение флуоресцирующих белков по спектру.

# Флуоресцентная микроскопия

Применение флуоресцирующих белков



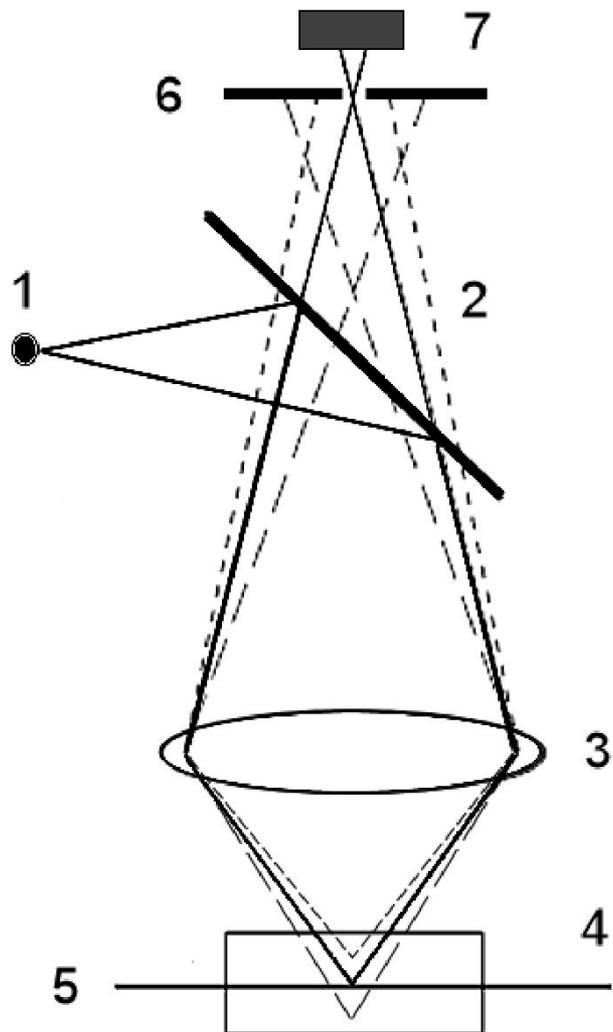
С помощью флуоресцирующих белков можно метить гены

# Классификация специальных методов

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

# Конфокальная микроскопия

Патент Марвина Мински (1957)

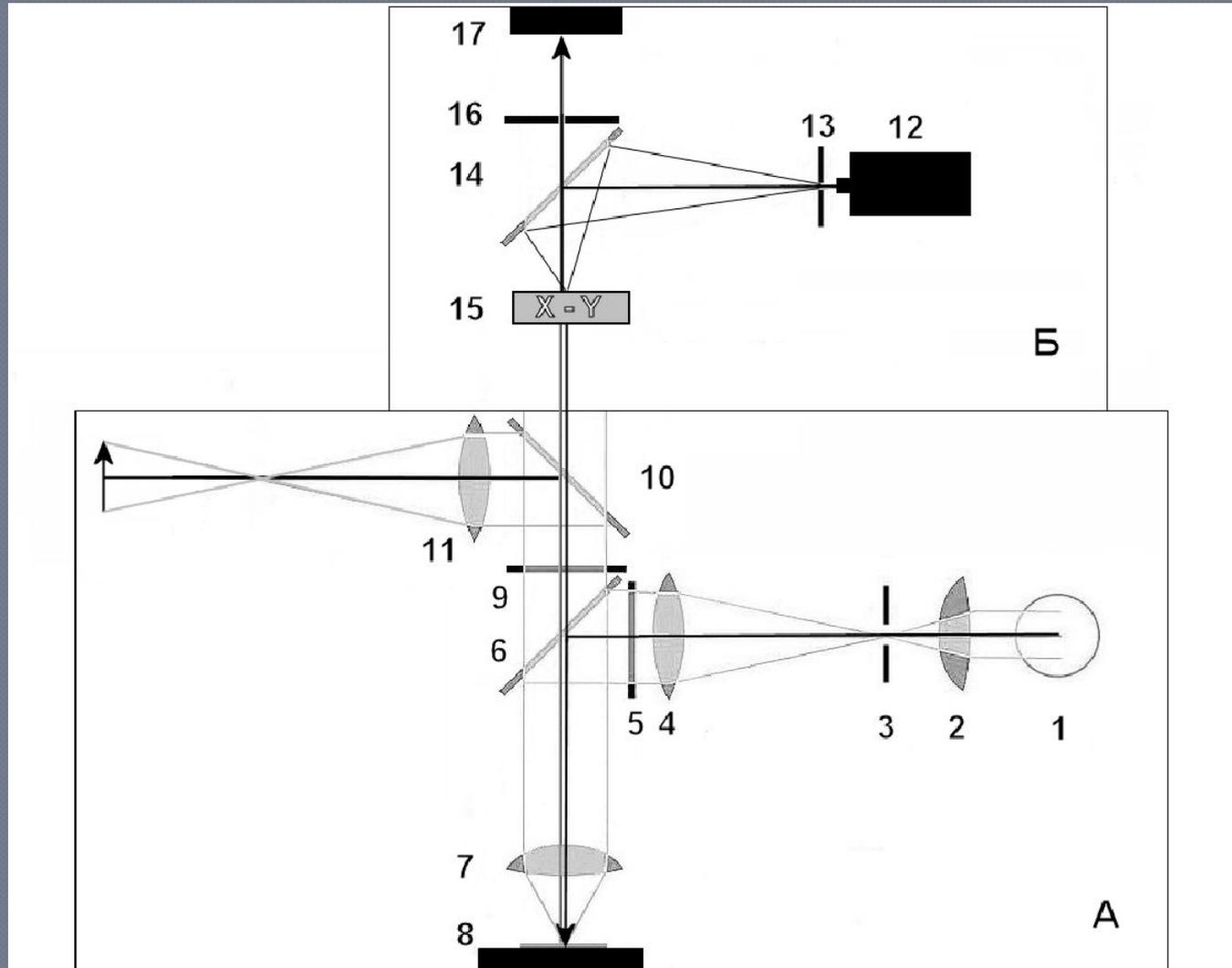


- 1 – точечный источник света,
- 2 – полупрозрачное зеркало,
- 3 – объектив,
- 4 – препарат,
- 5 – фокальная плоскость,
- 6 – точечная диафрагма,
- 7 - детектор

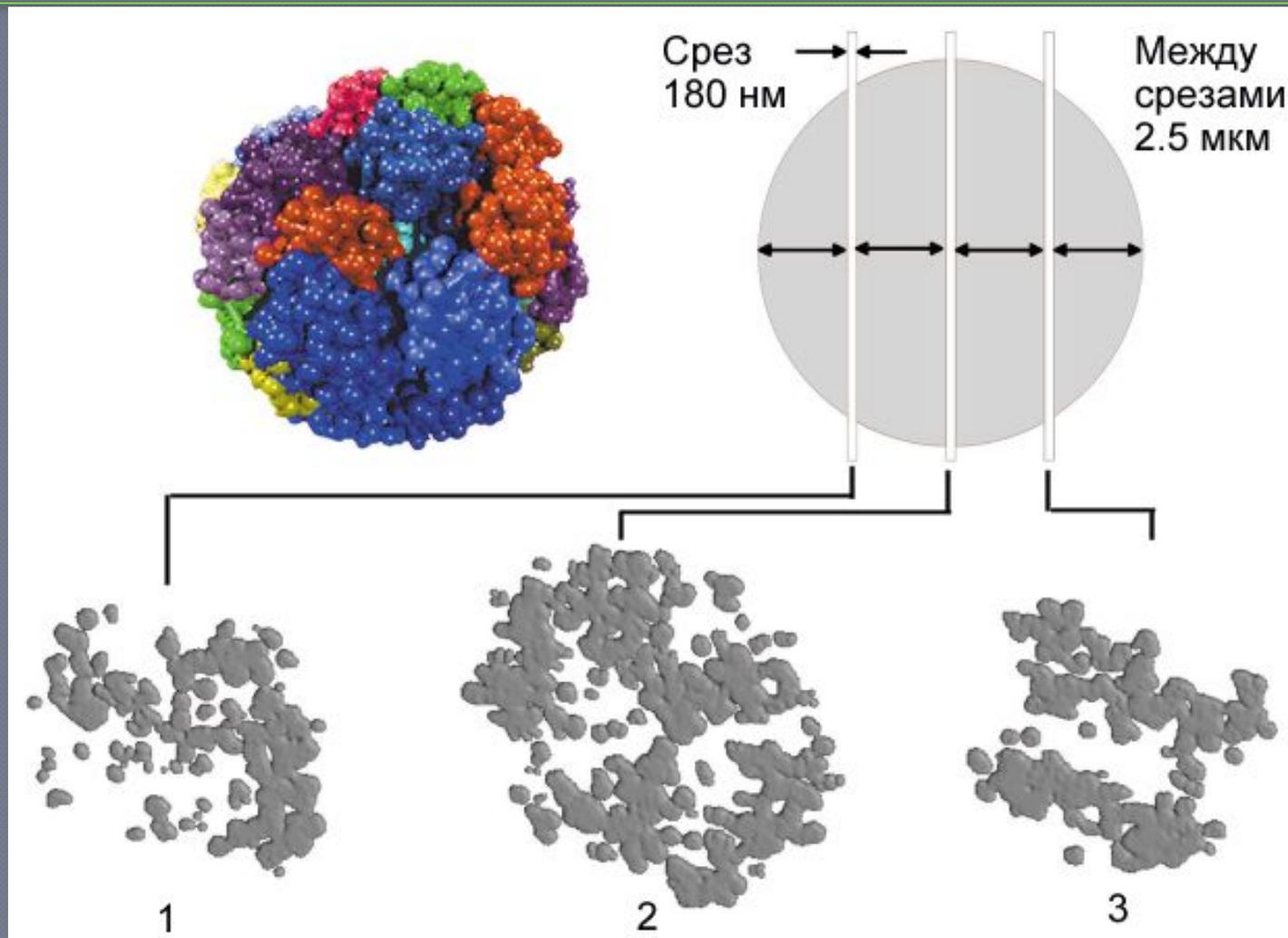
# Конфокальный микроскоп ZEISS LSM PASCAL



# Конфокальный микроскоп ZEISS LSM PASCAL



# Конфокальная микроскопия



**СПАСИБО ЗА  
ВНИМАНИЕ**

---