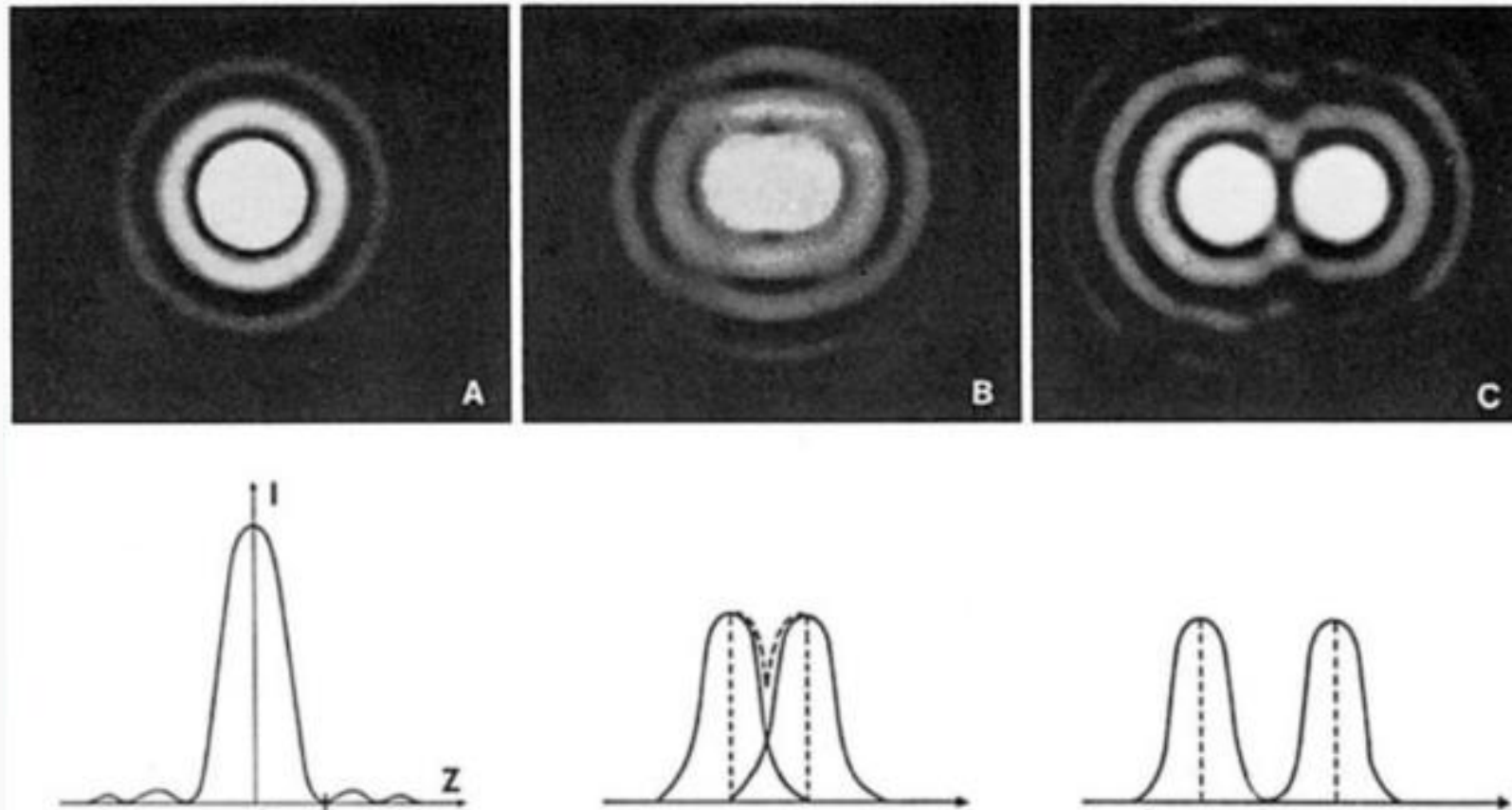


Микроскопия сверхразрешения

Сафонова Арина

Дифракционный предел



$$d = \frac{\lambda}{2NA}$$

SSIM

PAINT

STORM

4-рі микроскоп

BALM

PALM

SIM

SOFI

GSD

SPDM

NORM

STED

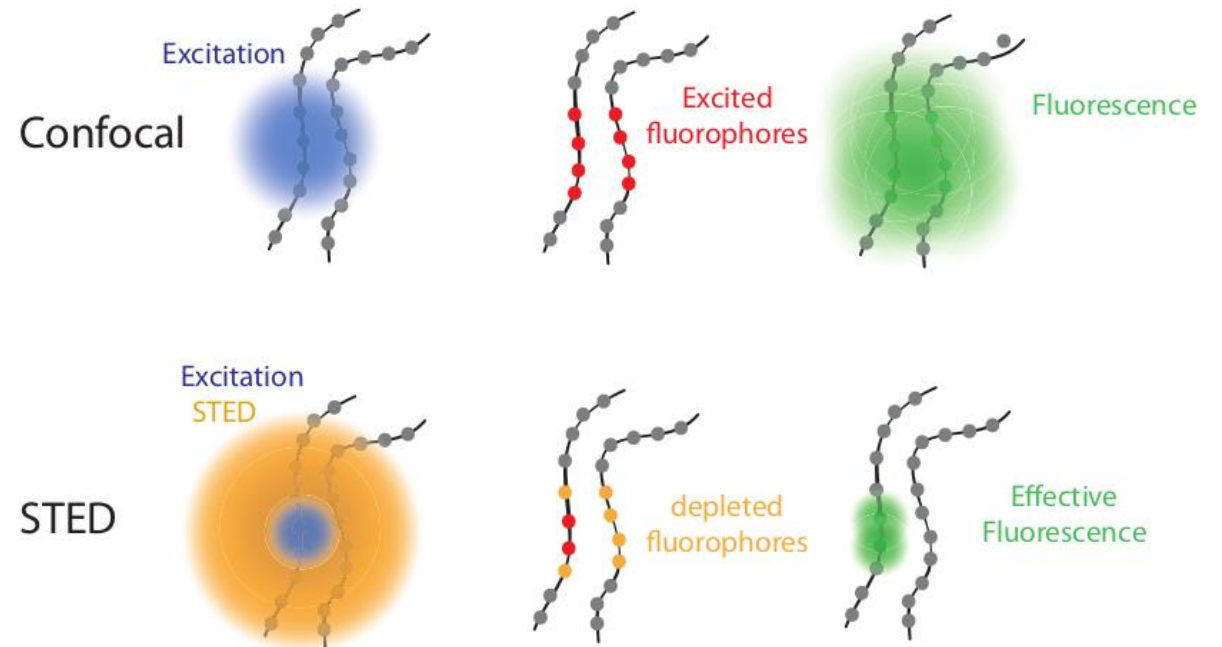
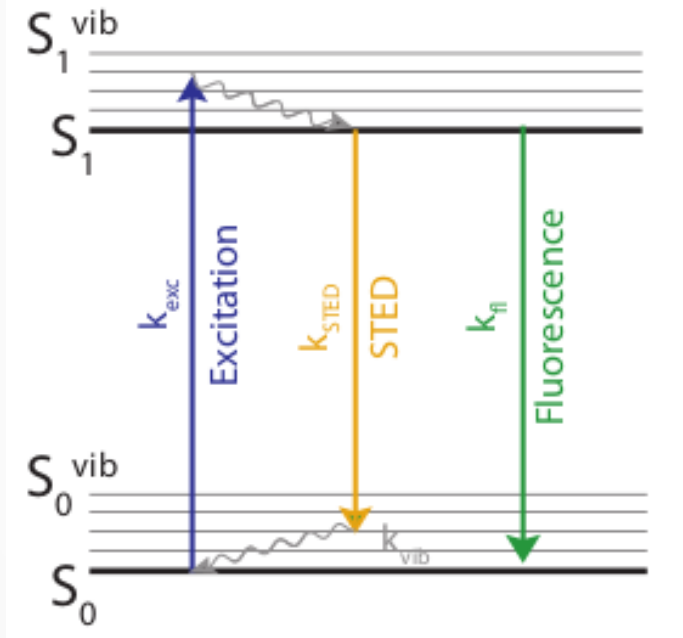
FPALM

COLD

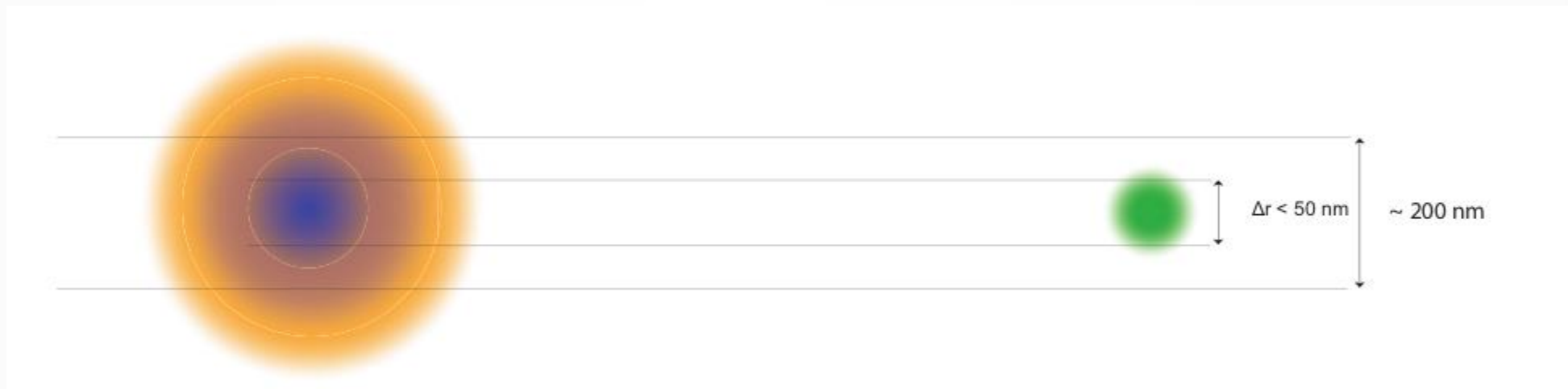
Микроскопия сверхвысокого разрешения в дальней зоне

1. Детерминированное сверхразрешение:
 - Обратимые насыщаемые переходы оптической флуоресценции (RESOLFT): STED, GSD

Микроскопия на основе подавления спонтанного испускания(STED)



$$\Delta r \approx \frac{0.5\lambda}{n \sin \theta \sqrt{I_{\text{STED}}^{\text{max}}/I_{\text{sat}} + 1}} = \frac{\lambda}{2\text{NA}} \frac{1}{\sqrt{I_{\text{STED}}^{\text{max}}/I_{\text{sat}} + 1}}$$

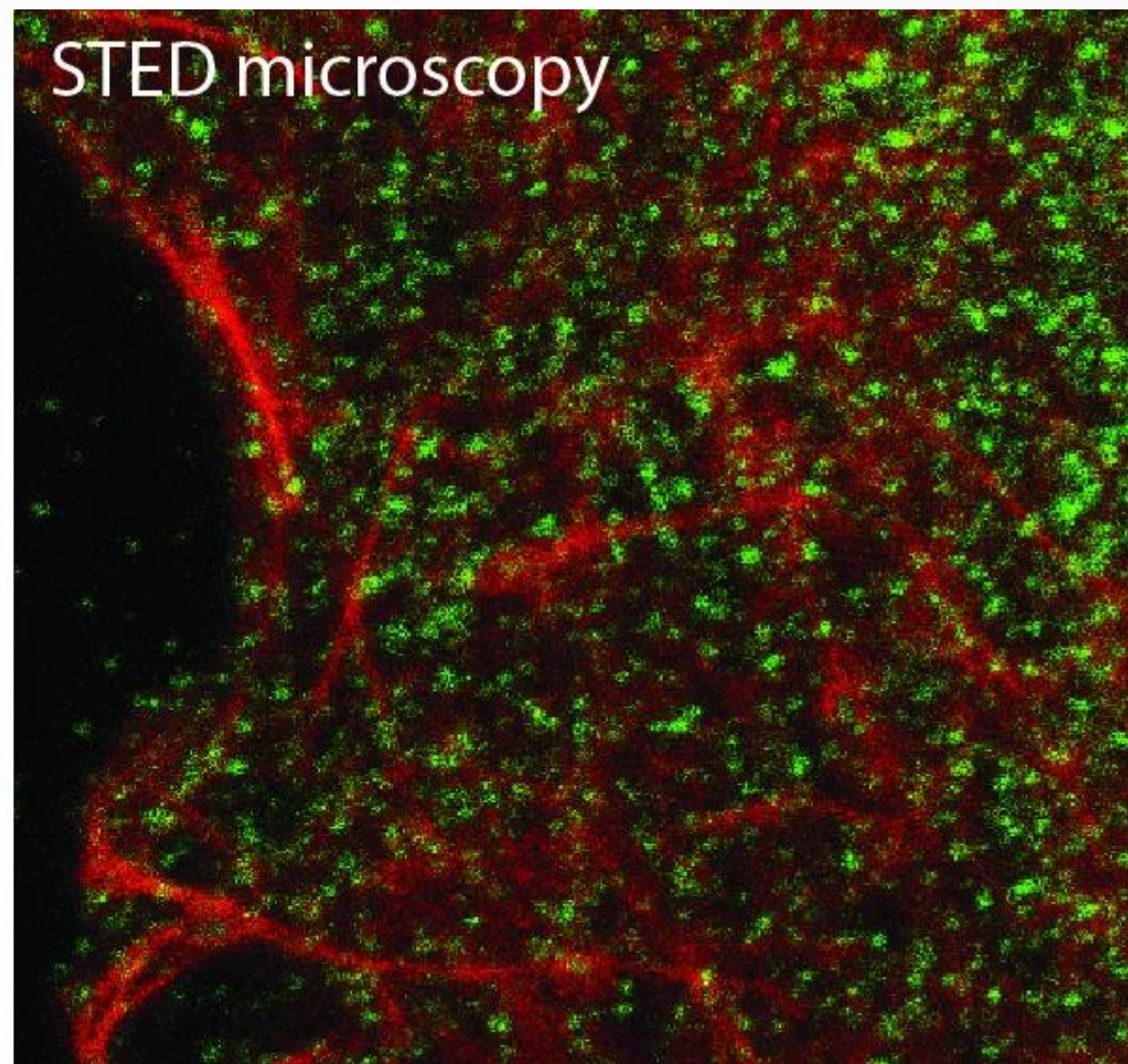
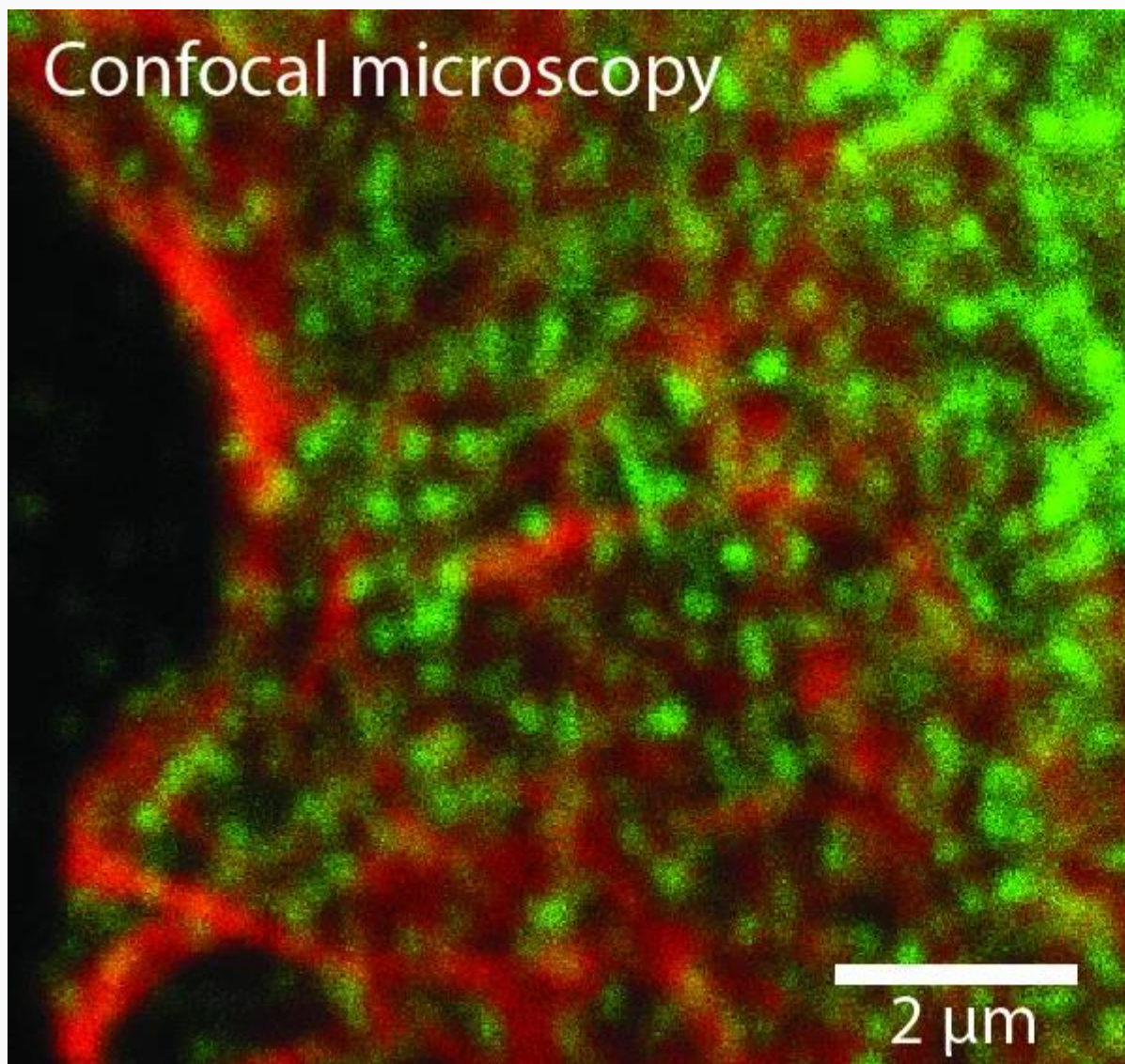


Преимущества:

- Сверхразрешение в режиме реального времени
- Высокая скорость сканирования

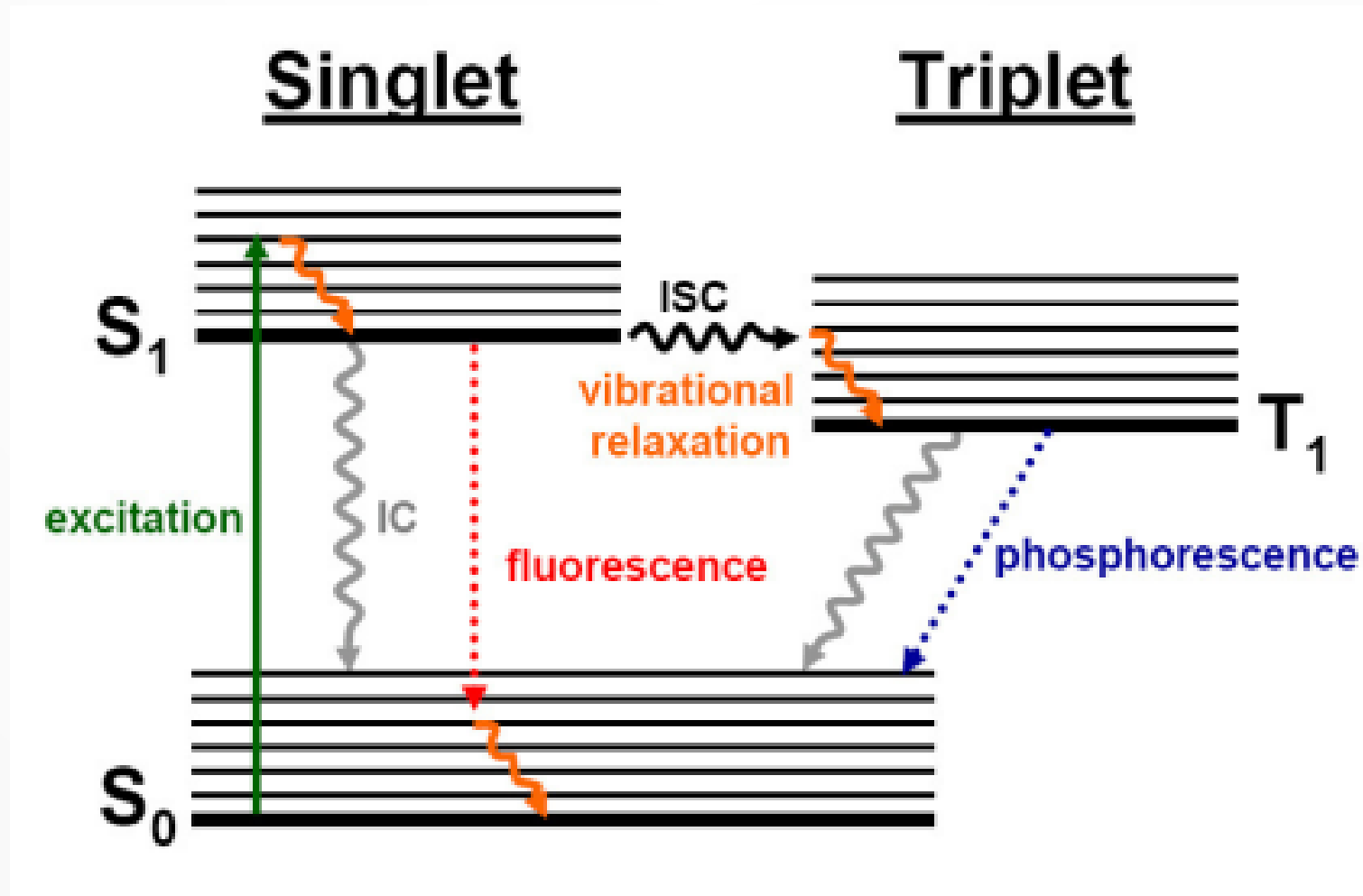
Недостатки:

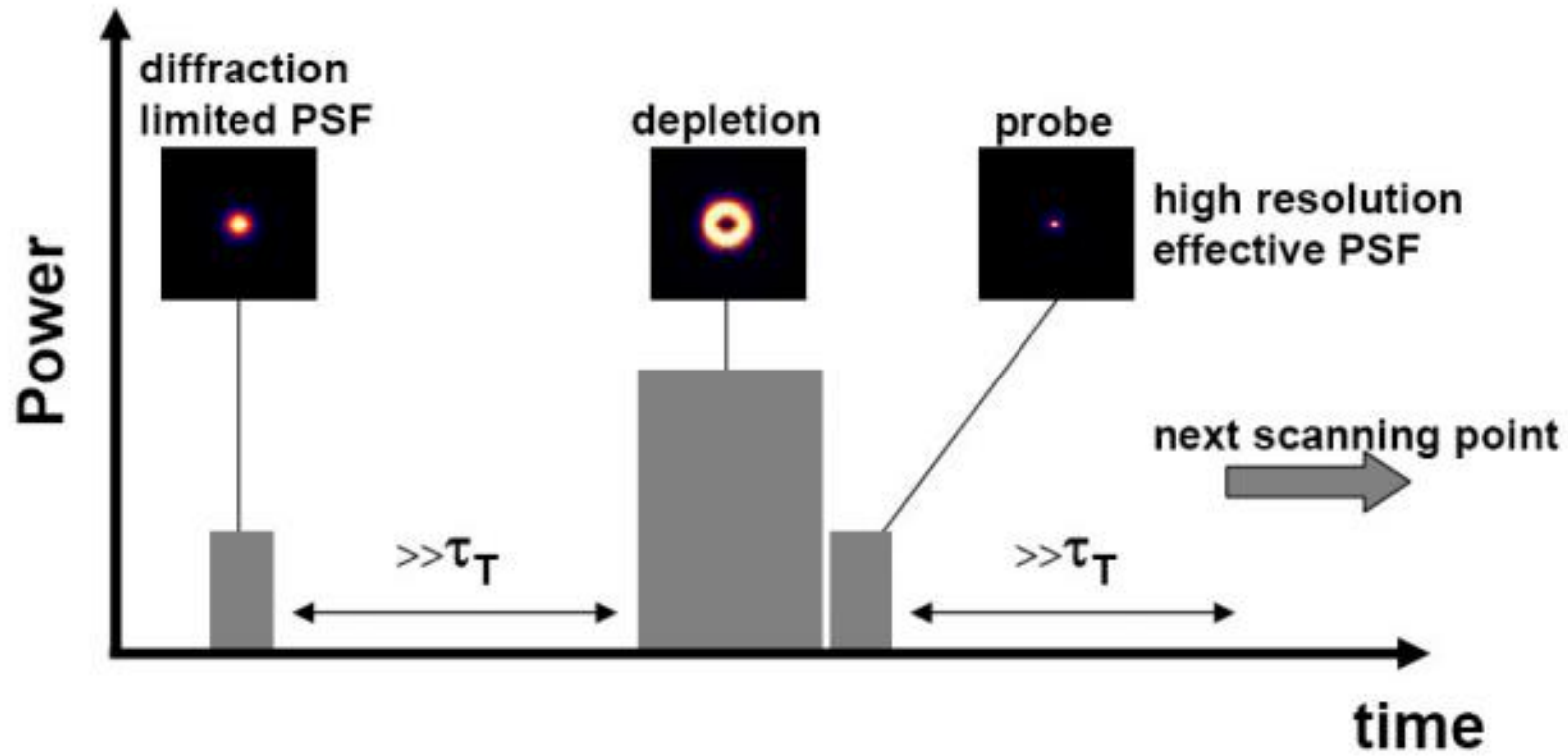
- Дороговизна
- Высокоинтенсивное лазерное излучение (от 10^8 до 10^{10} Вт/см²)
- Фиксированные образцы



Разрешение: 30-50 нм

Истощение основного состояния (GSD)





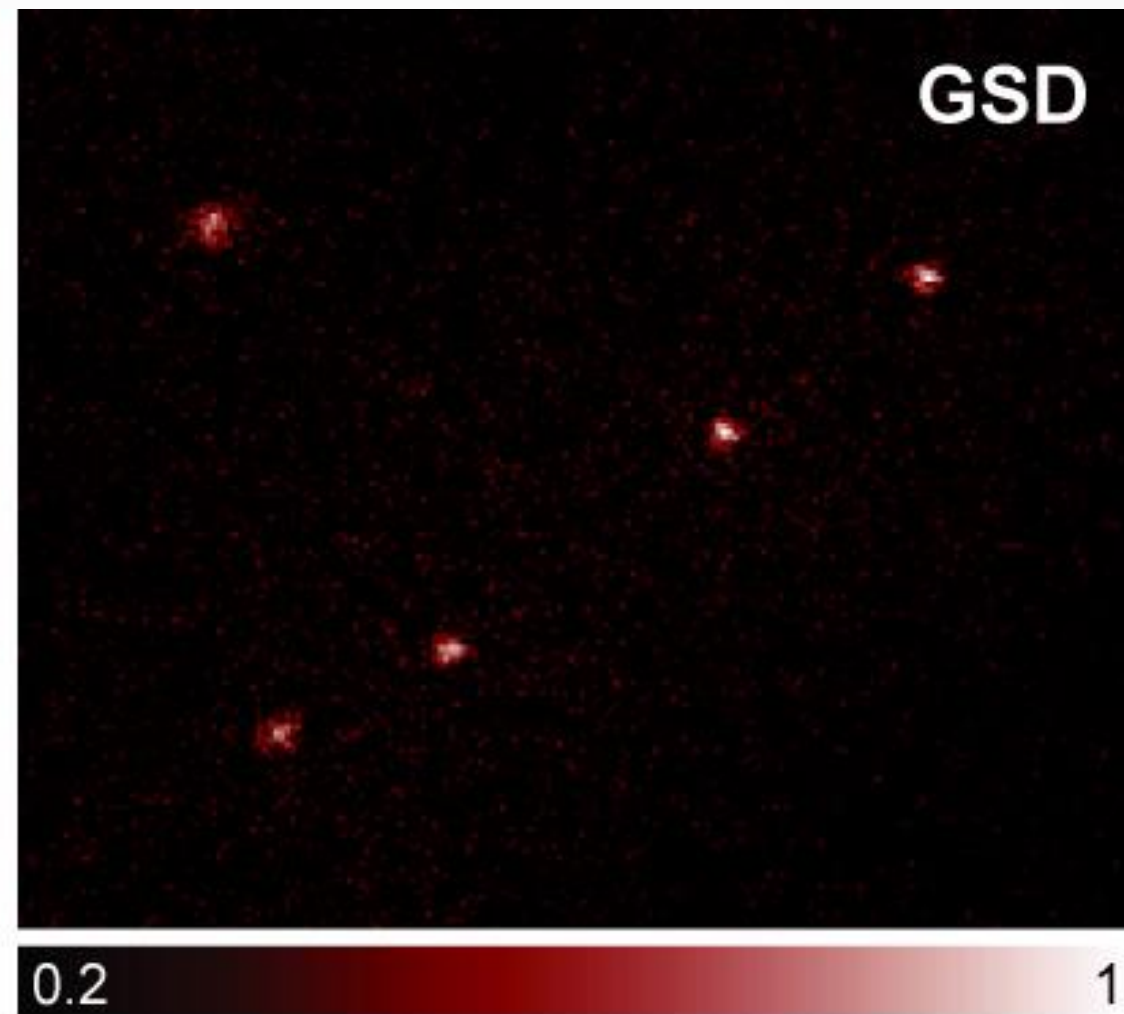
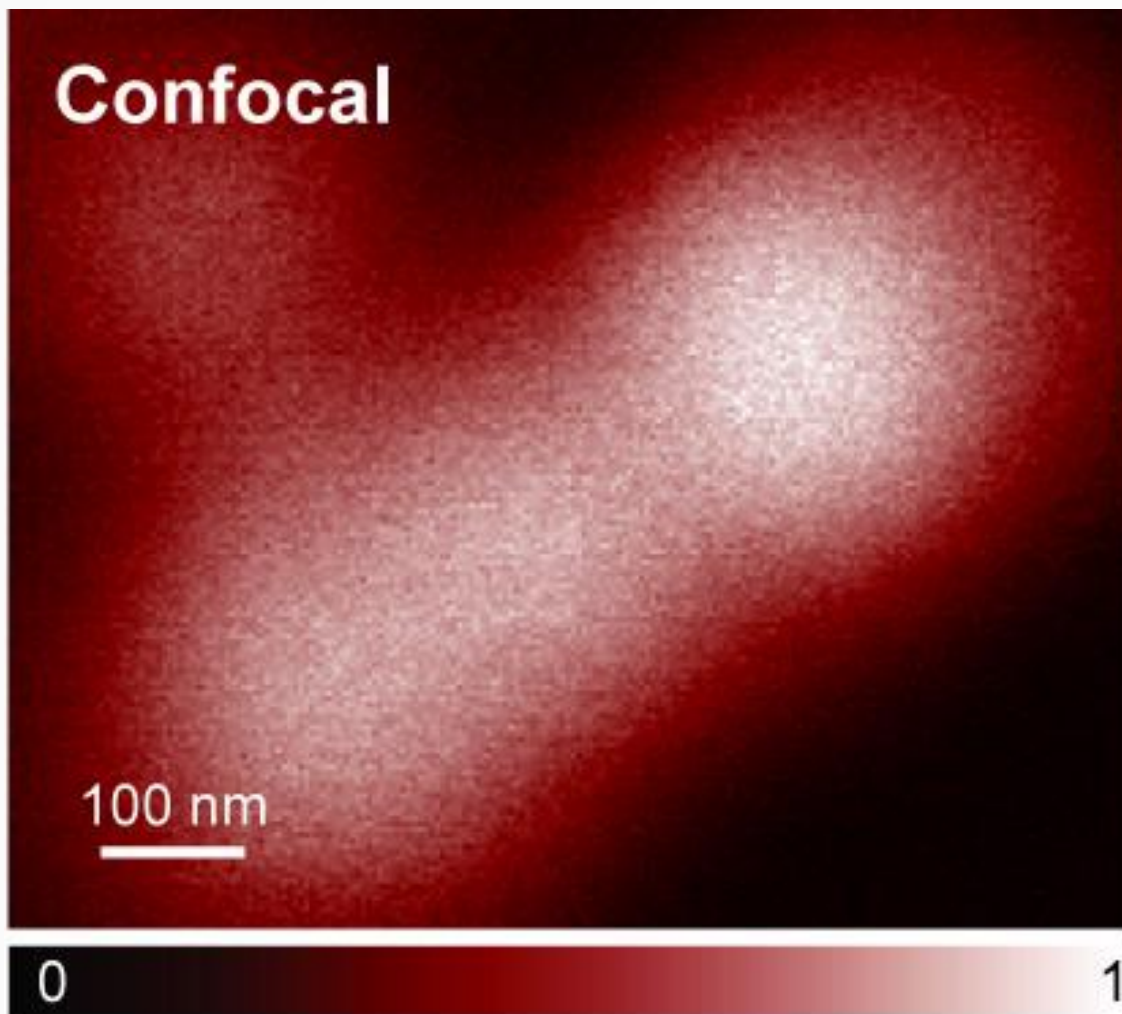
$$\Delta r \approx \frac{0.5\lambda}{n \sin \theta \sqrt{I_{\text{STED}}^{\text{max}} / I_{\text{sat}} + 1}} = \frac{\lambda}{2\text{NA}} \frac{1}{\sqrt{I_{\text{STED}}^{\text{max}} / I_{\text{sat}} + 1}}$$

Преимущества:

- Сравнительно низкие интенсивности лазера (от 10^3 до 10^5 Вт/см²)

Недостатки:

- Низкая скорость сканирования
- Менее фотостабильные флуорофоры

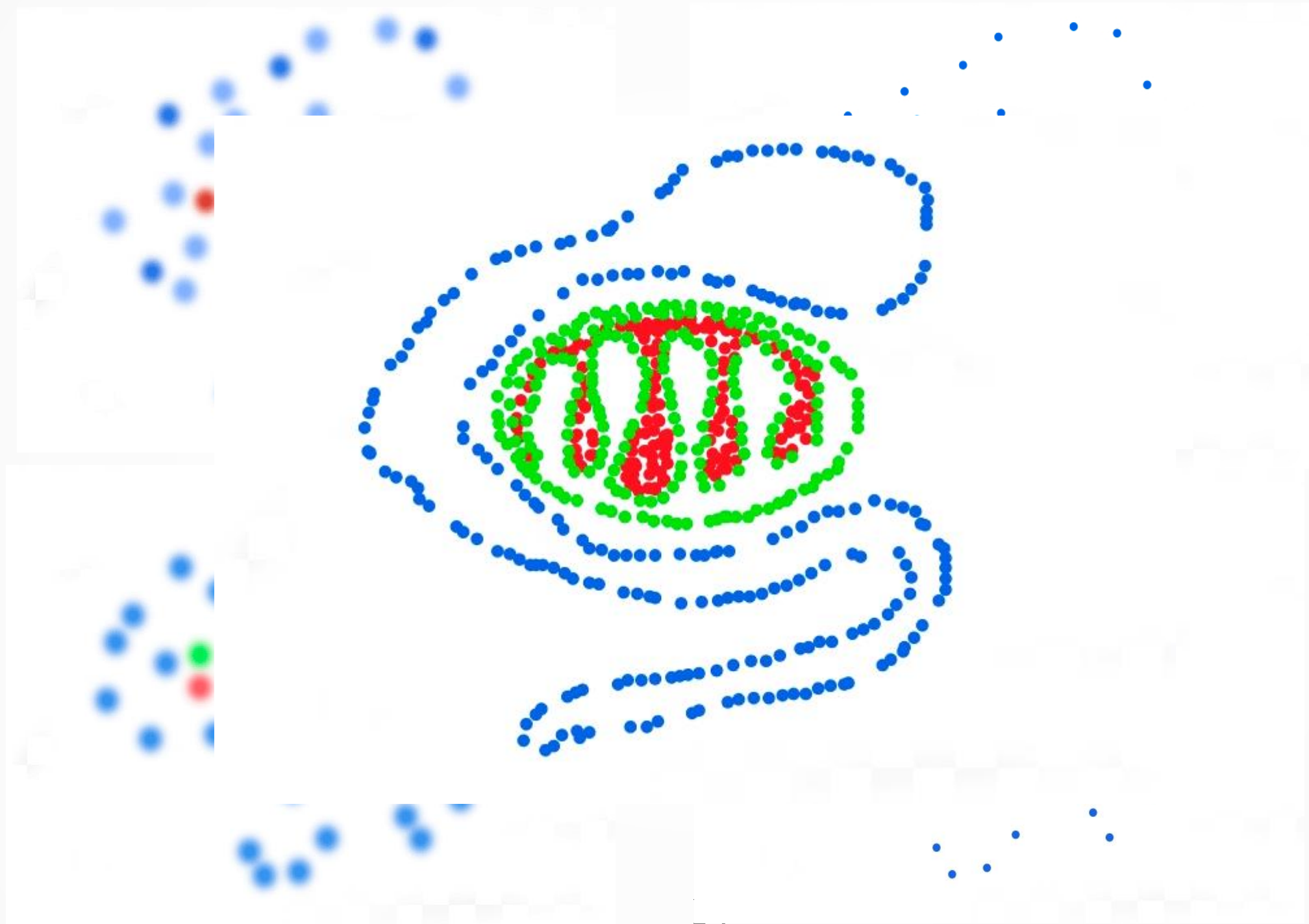


Разрешение: до 10 нм

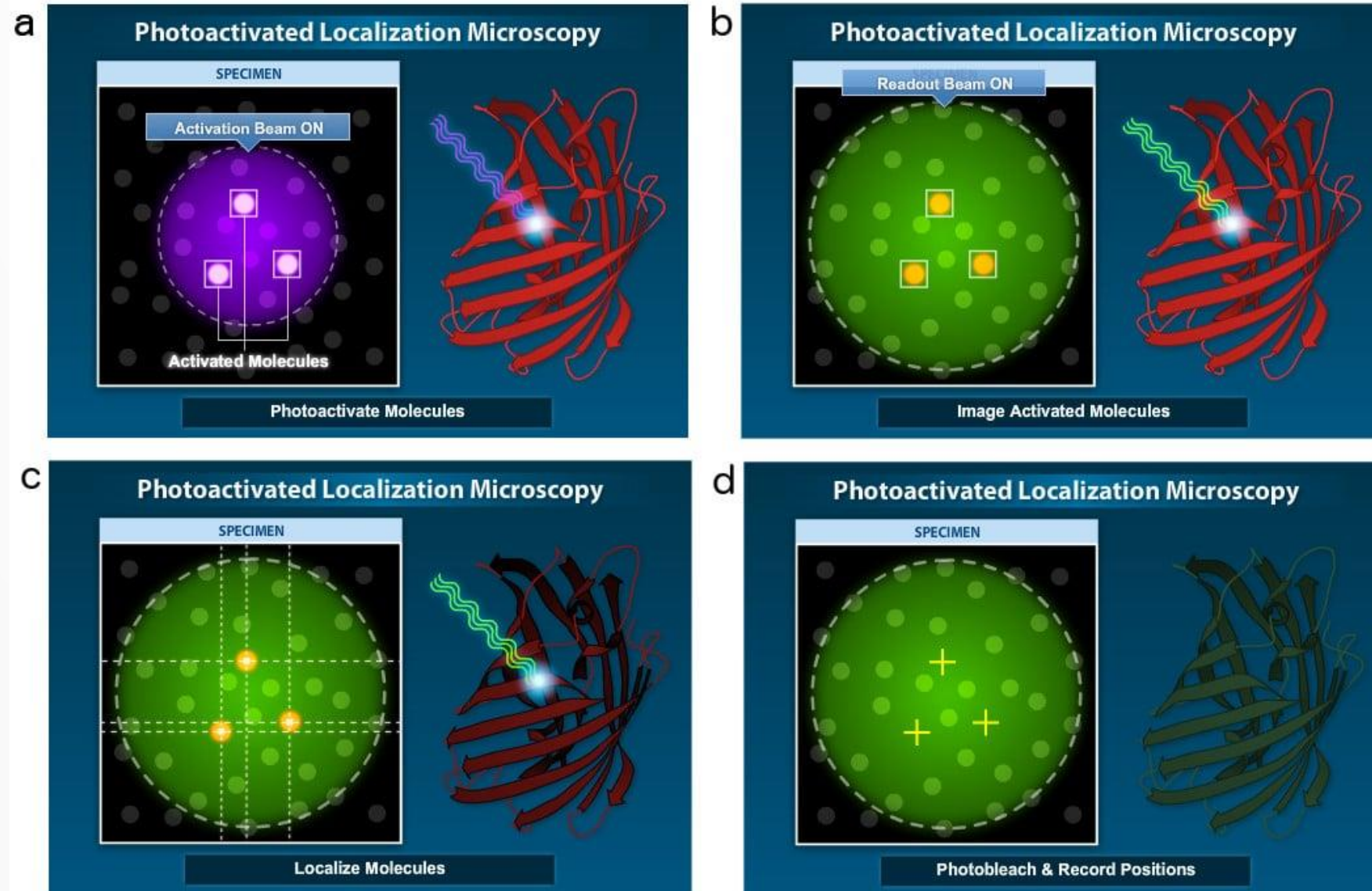
Микроскопия сверхвысокого разрешения в дальней зоне

2. Стохастическое сверхразрешение:

- Методы локализации одиночных молекул (SMLM): PALM, STORM, BALM, PAINT



Микроскопия фотоактивируемой локализации (PALM)



$$\sigma = \sqrt{\frac{s^2}{N} + \frac{\left(\frac{a^2}{12}\right)}{N} + \frac{4\sqrt{\pi}s^3b^2}{aN^2}}$$

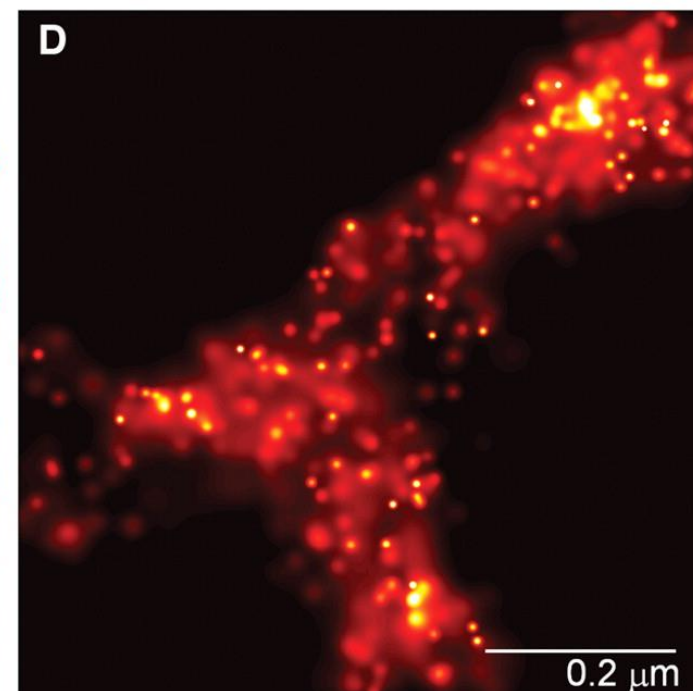
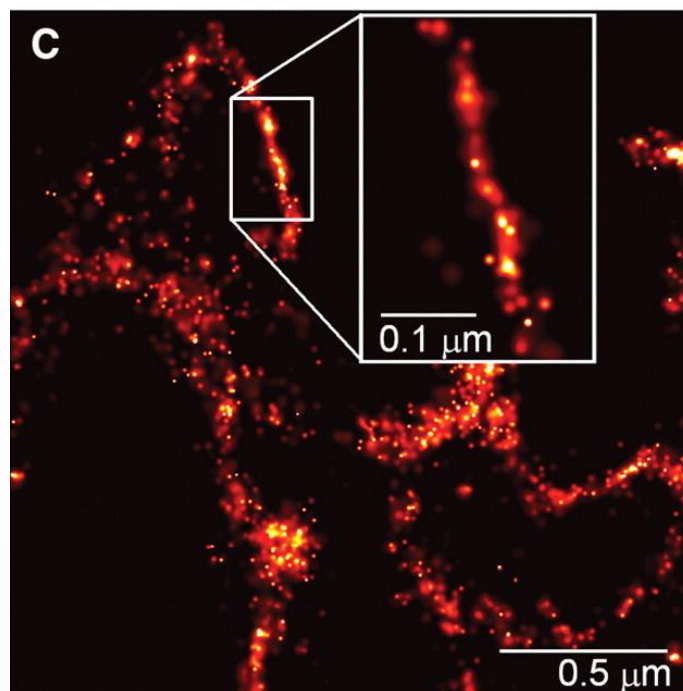
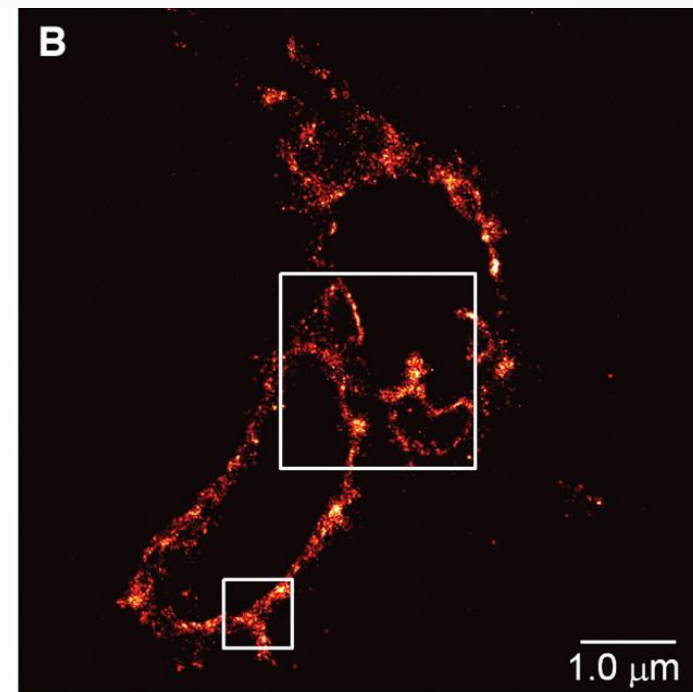
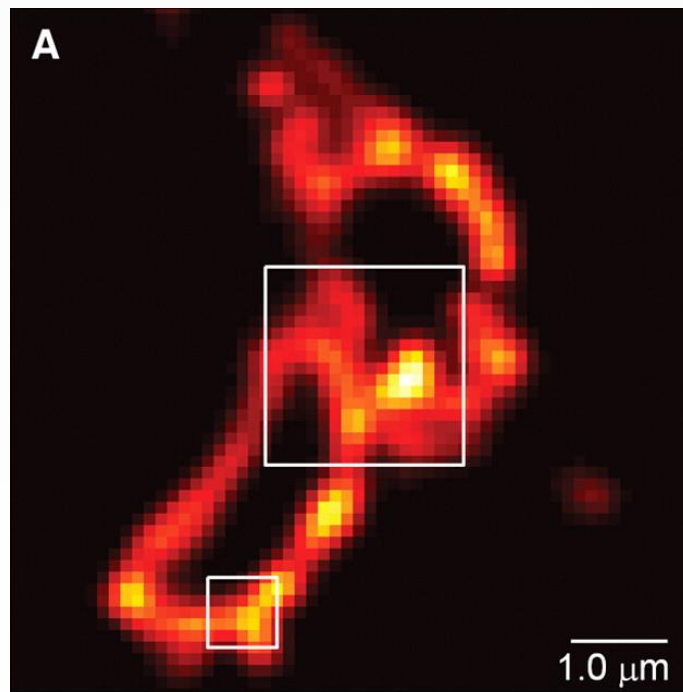
дробовой шум

конечность размера пикселя

фоновой шум

$$\sigma \approx \frac{s}{\sqrt{N}}$$

Разрешение: 10-40 нм



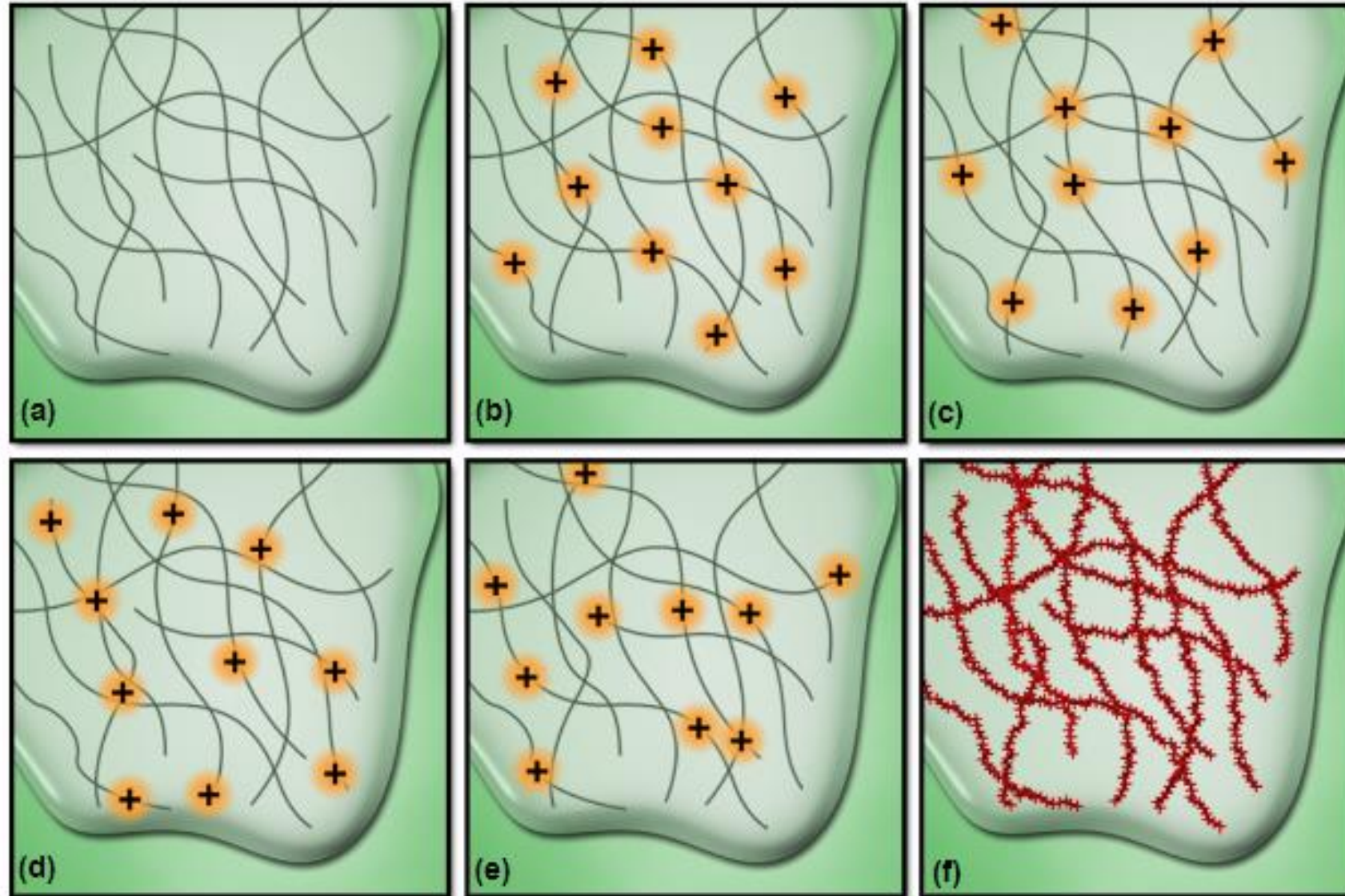
Преимущества:

- Визуализация живых или фиксированных клеток
- Количественная оценка
- Возможность изображения любого белка

Недостатки:

- Более низкая точность локализации

Микроскопия стохастической оптической реконструкции (STORM)

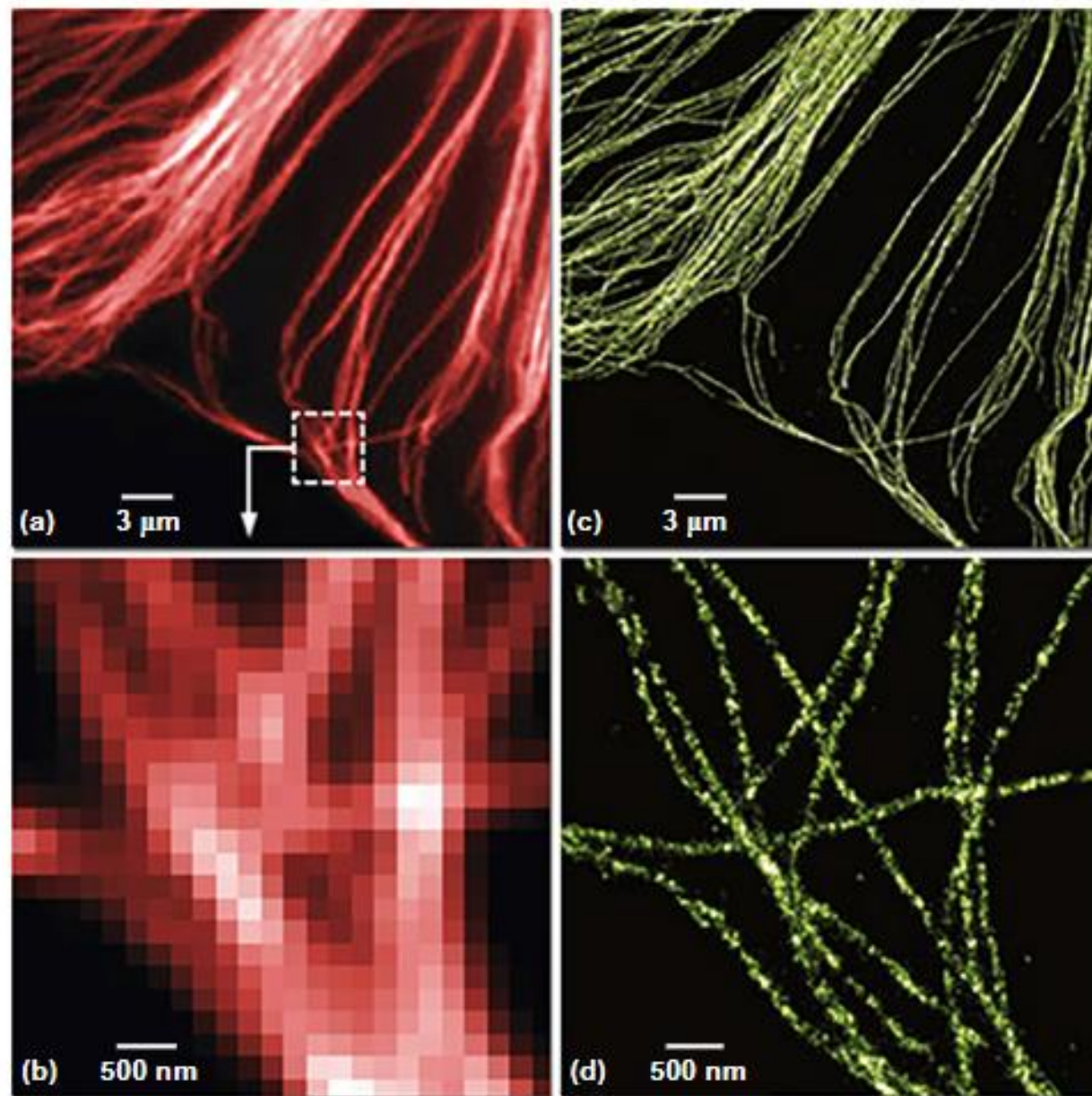


Преимущества:

- Большое количество излучаемых фотонов

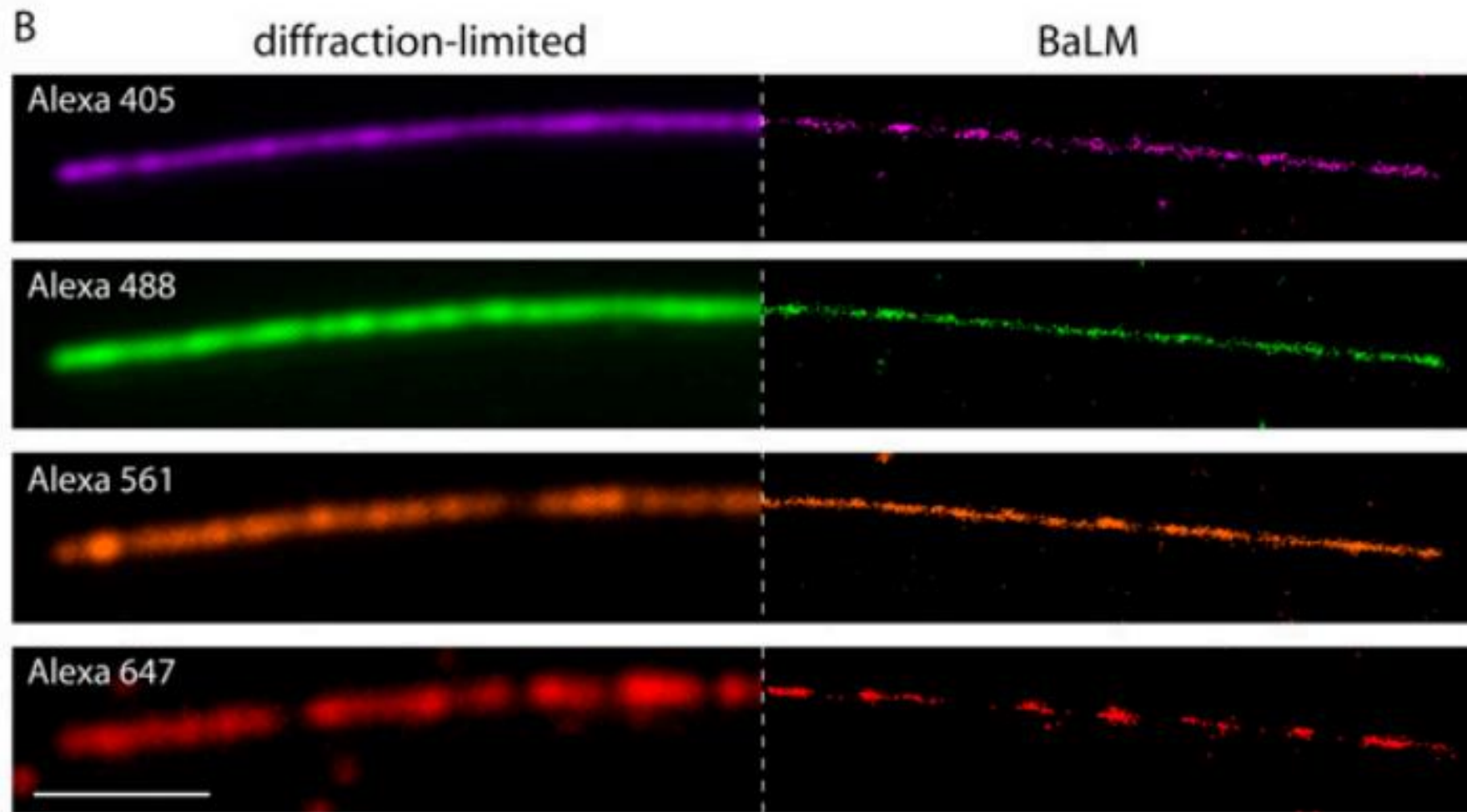
Недостатки:

- Только фиксированные клетки
- Подготовка образца



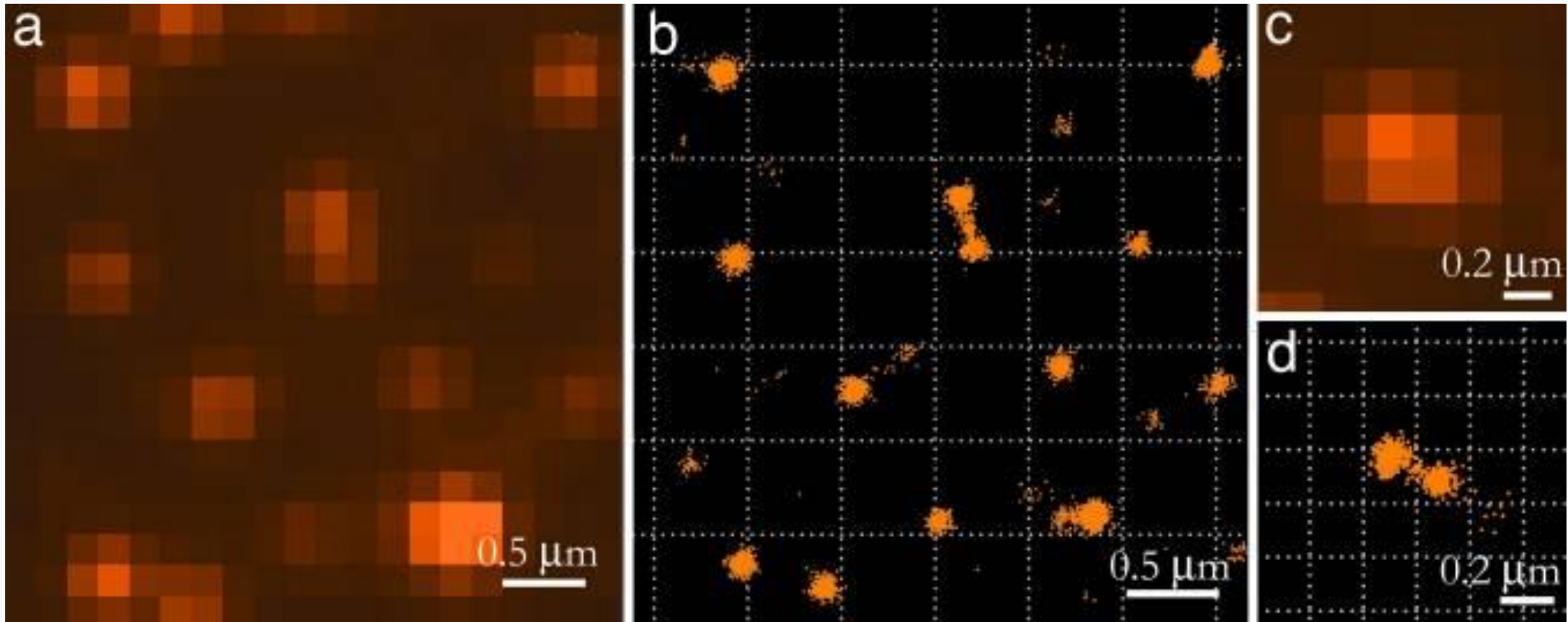
Разрешение: 10-15 нм

Микроскопия локализации, активируемая связыванием (BALM)



Разрешение: около 30 нм

Накопление точек для визуализации в наноразмерной топографии (PAINT)



Разрешение: около 25 нм

**Спасибо за
внимание!**