

# Advanced methods of fluorescence microscopy

Jenia Sheremet



# Флуоресценция



# Jablonski Energy Diagram

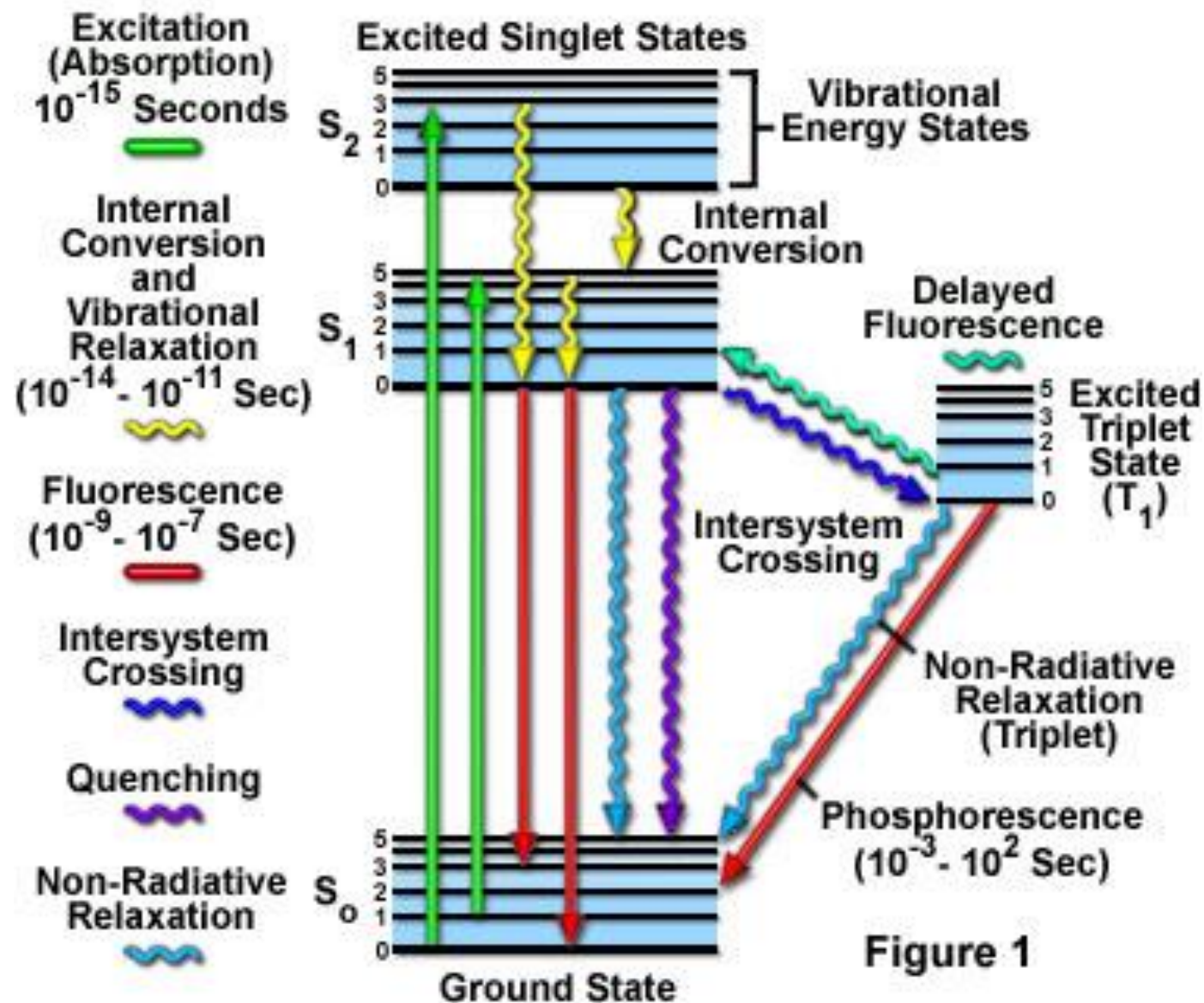
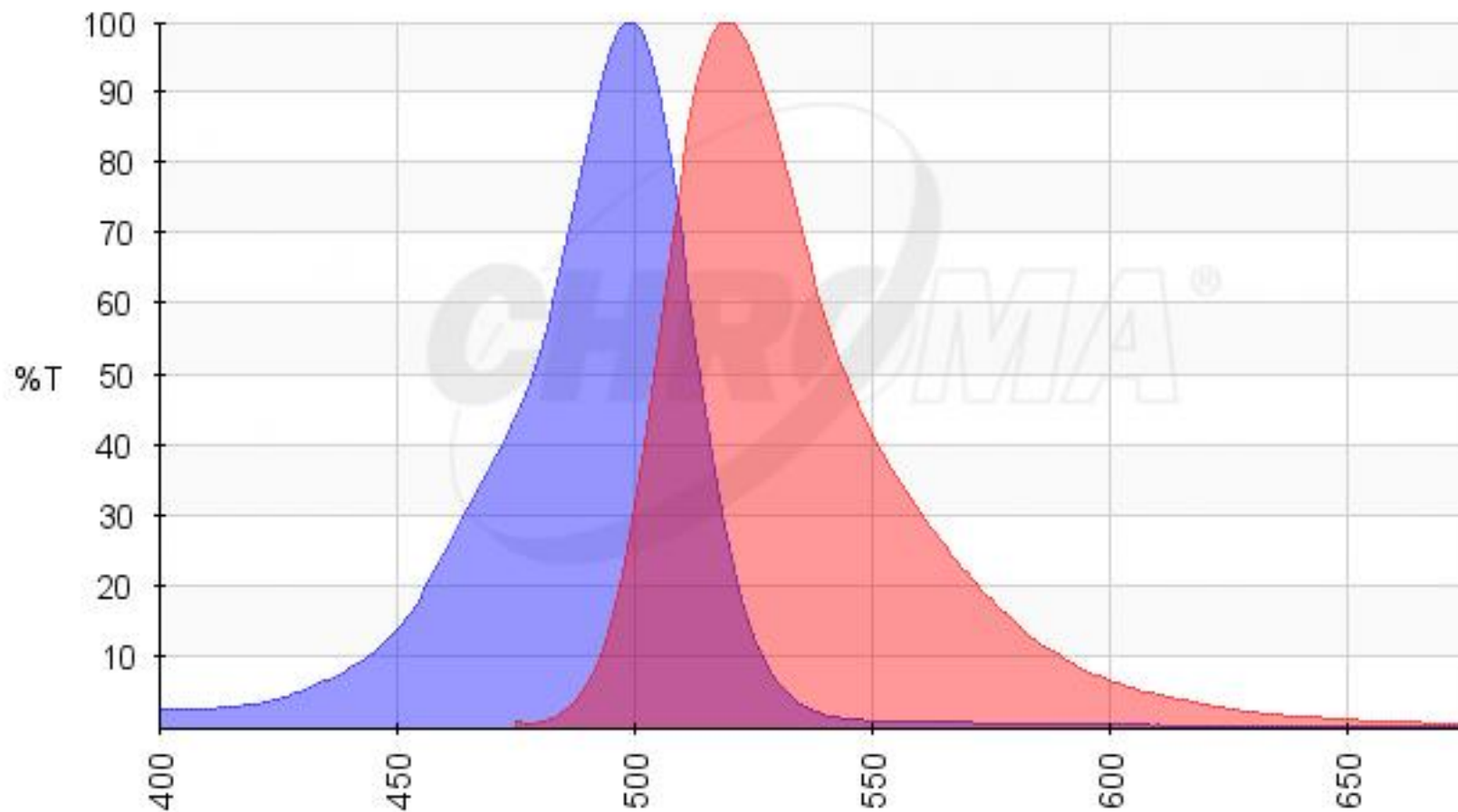
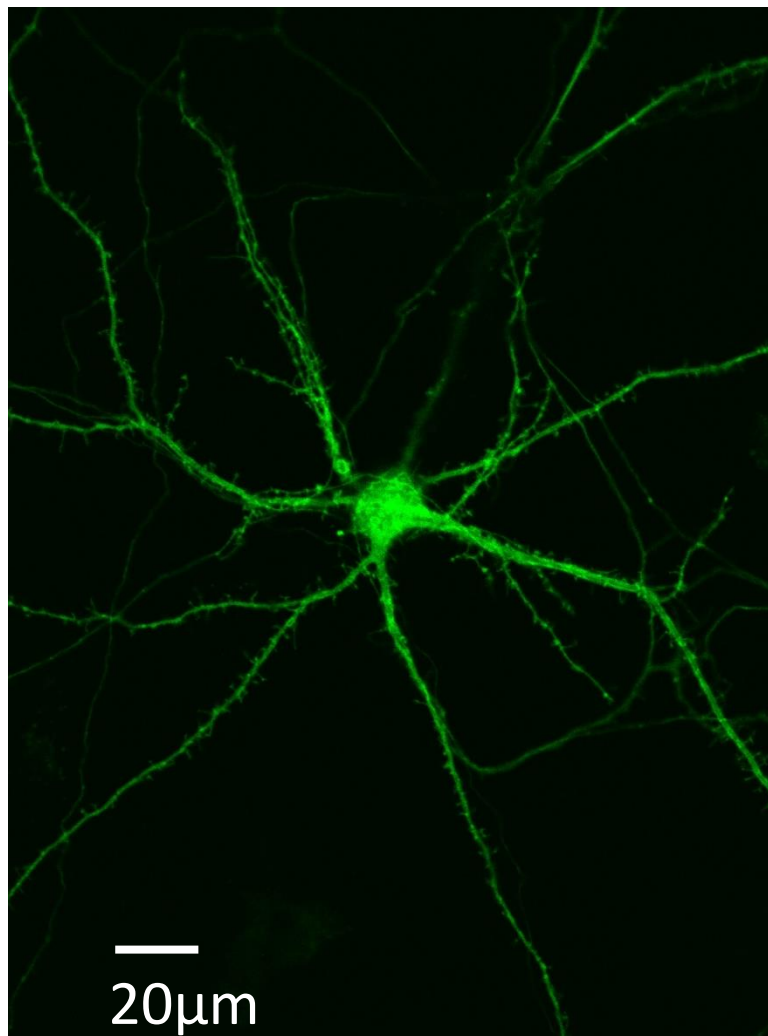


Figure 1

# Спектр(ы) флуоресценции



# Базовые методы: Widefield



## Airy Patterns and the Limit of Resolution

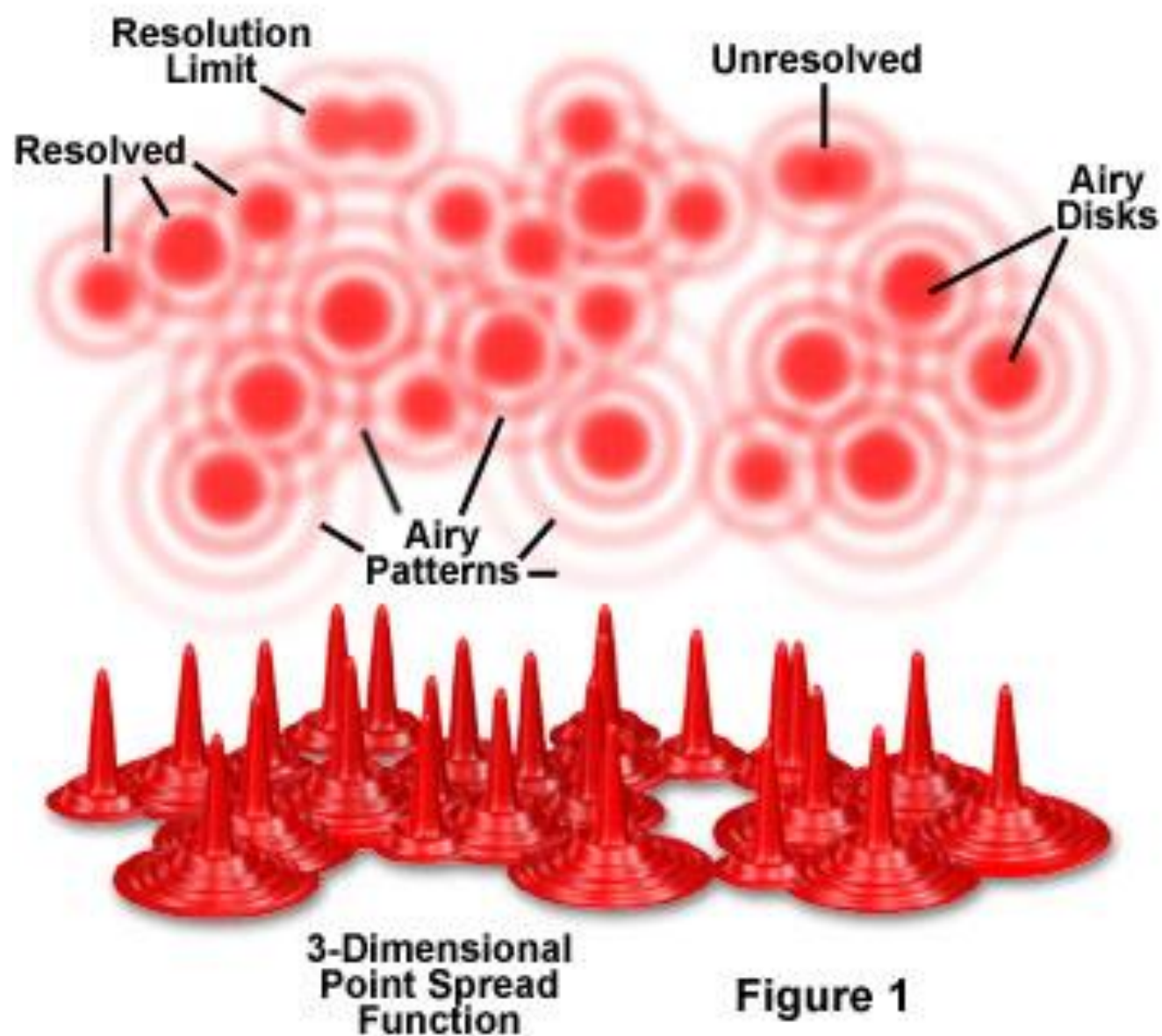


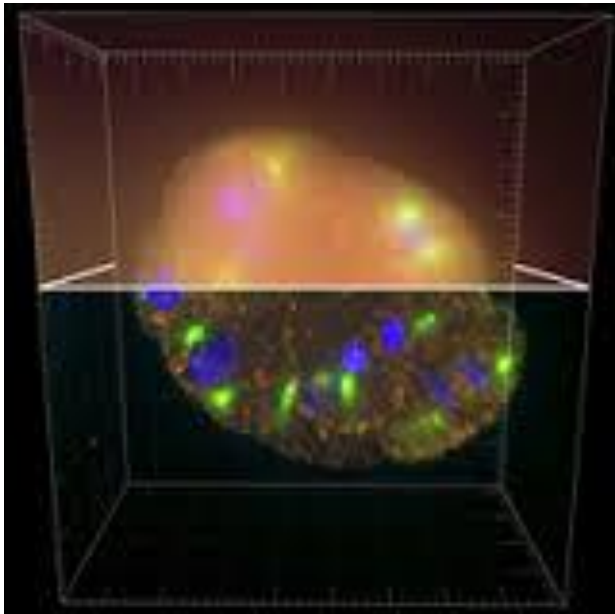
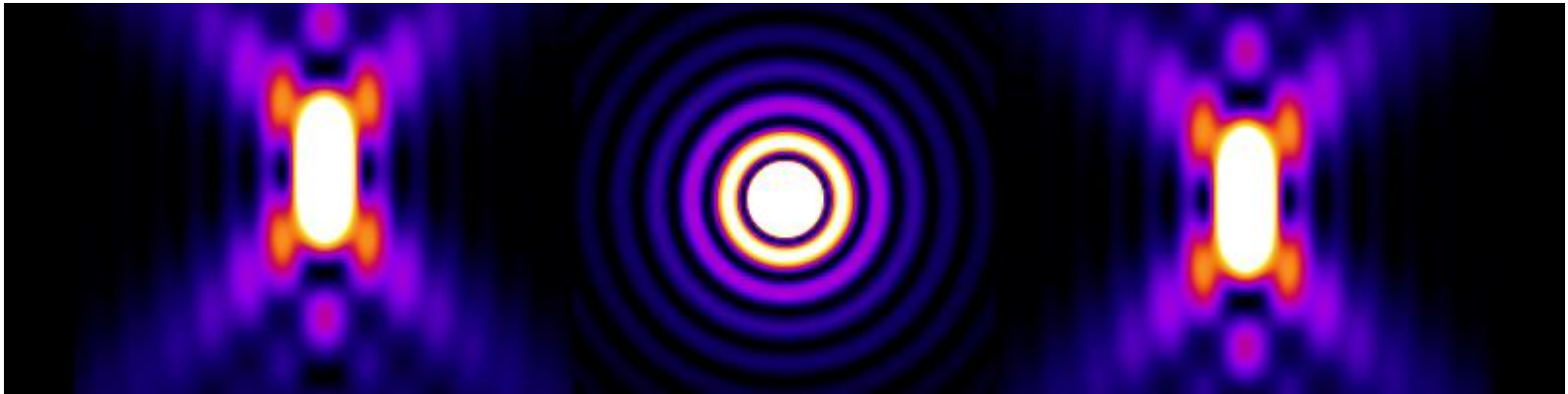
Figure 1



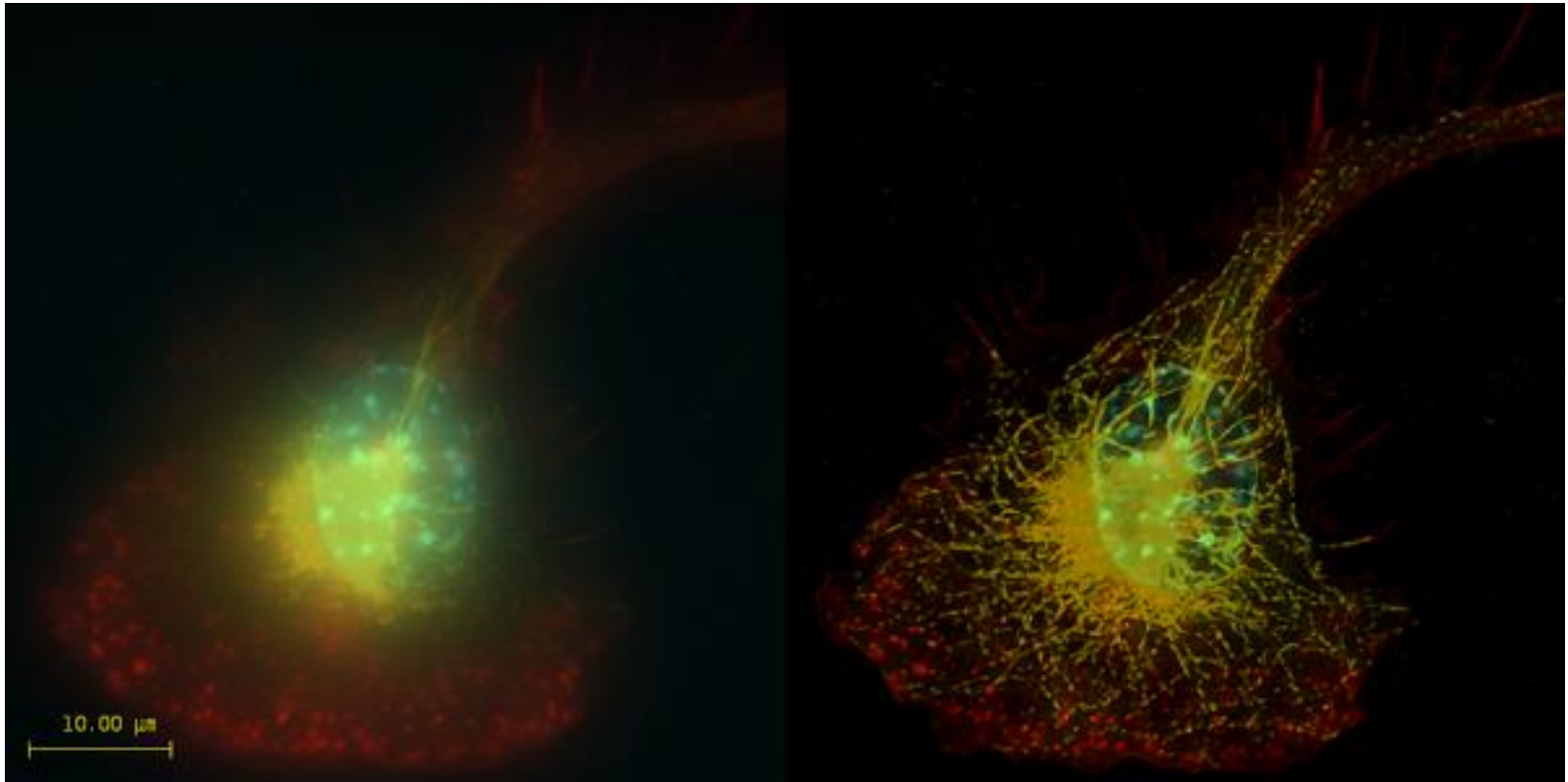


# 3D Deconvolution

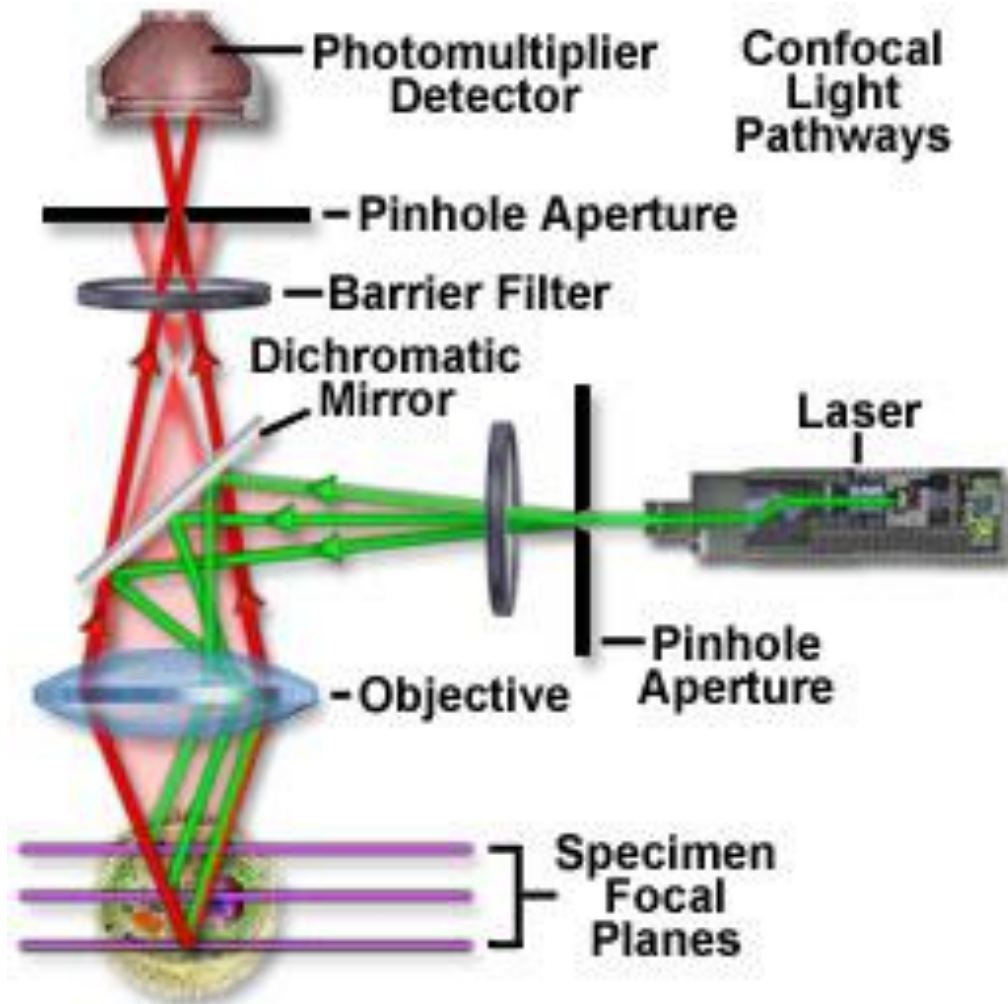
Point spread function



# Widefield RAW vs Deconvolved



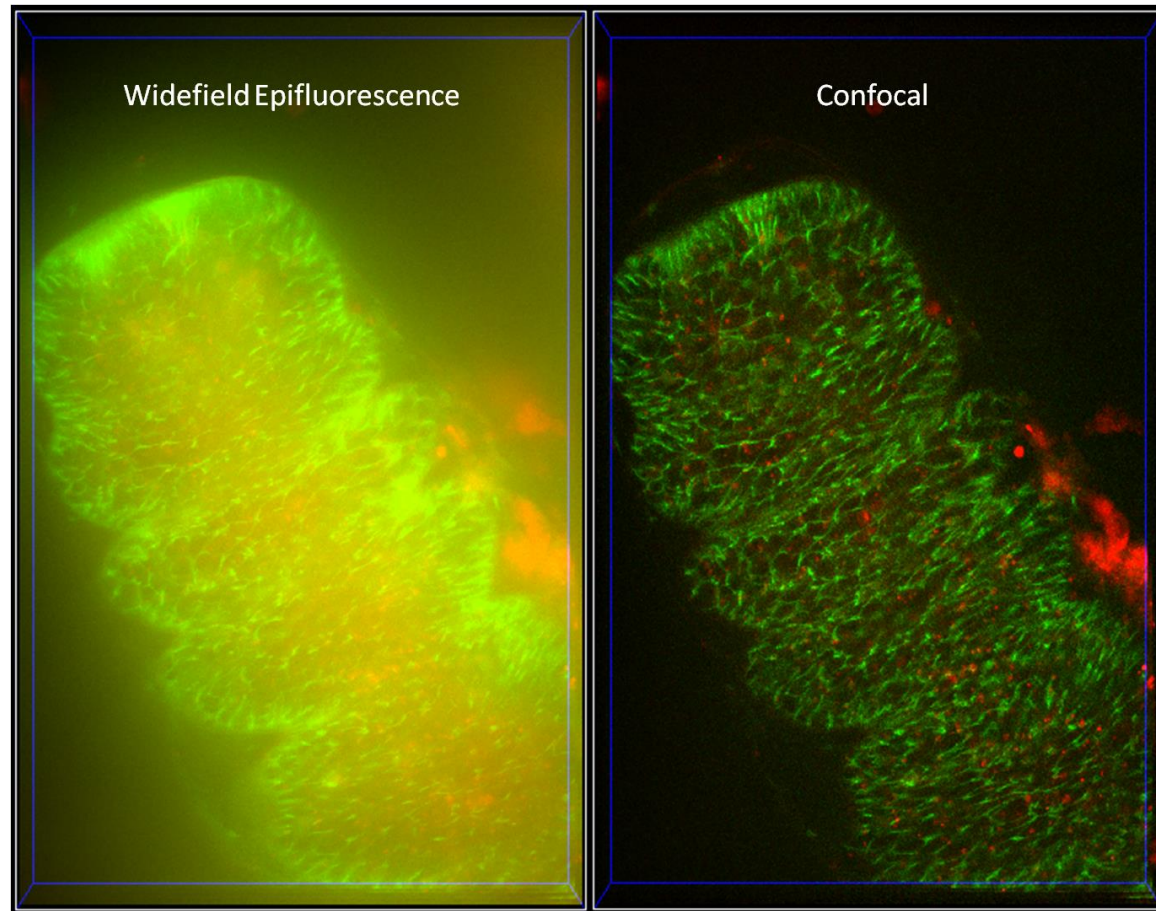
# Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM)



# Universal confocal/STED

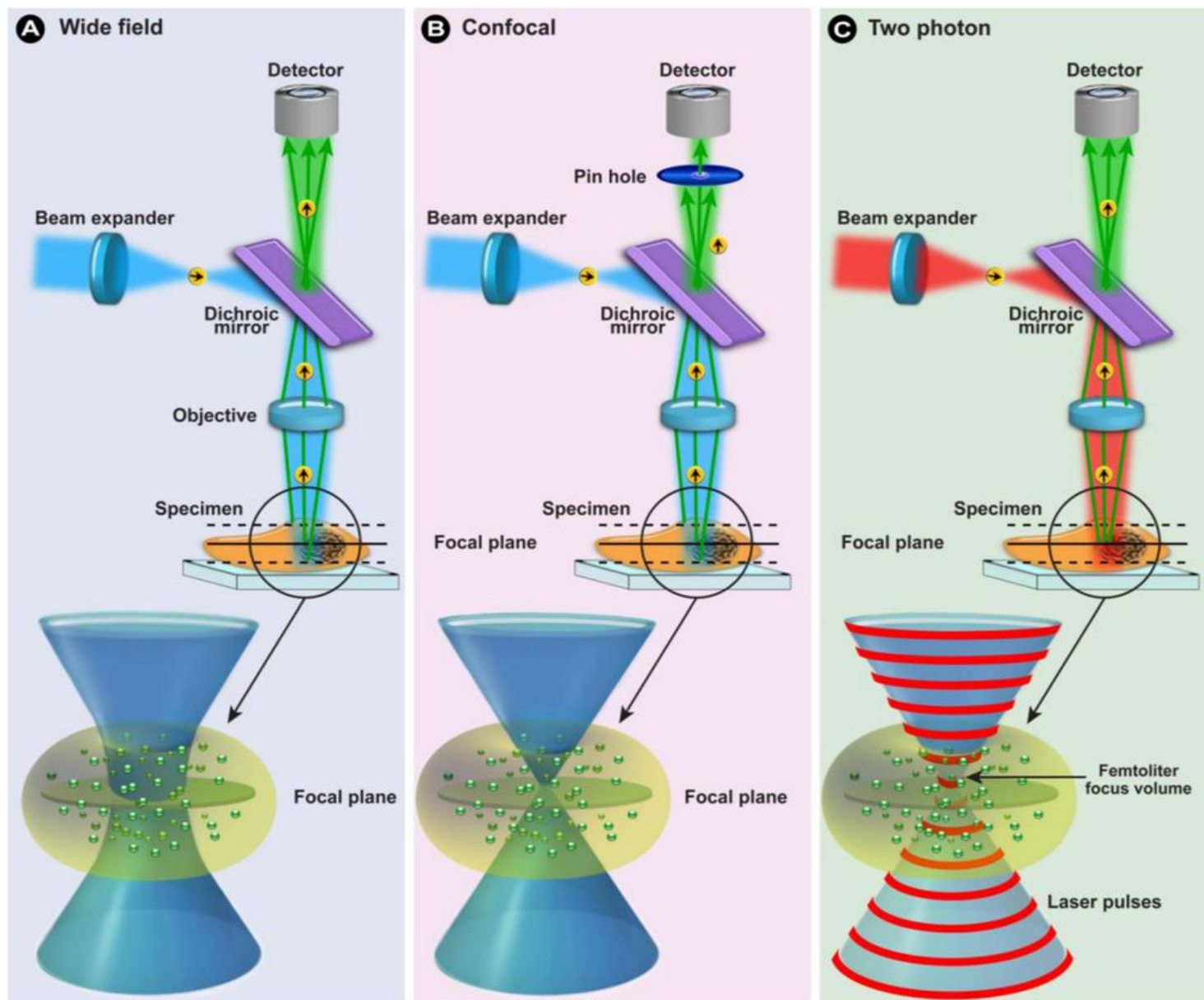


# Widefield vs Confocal

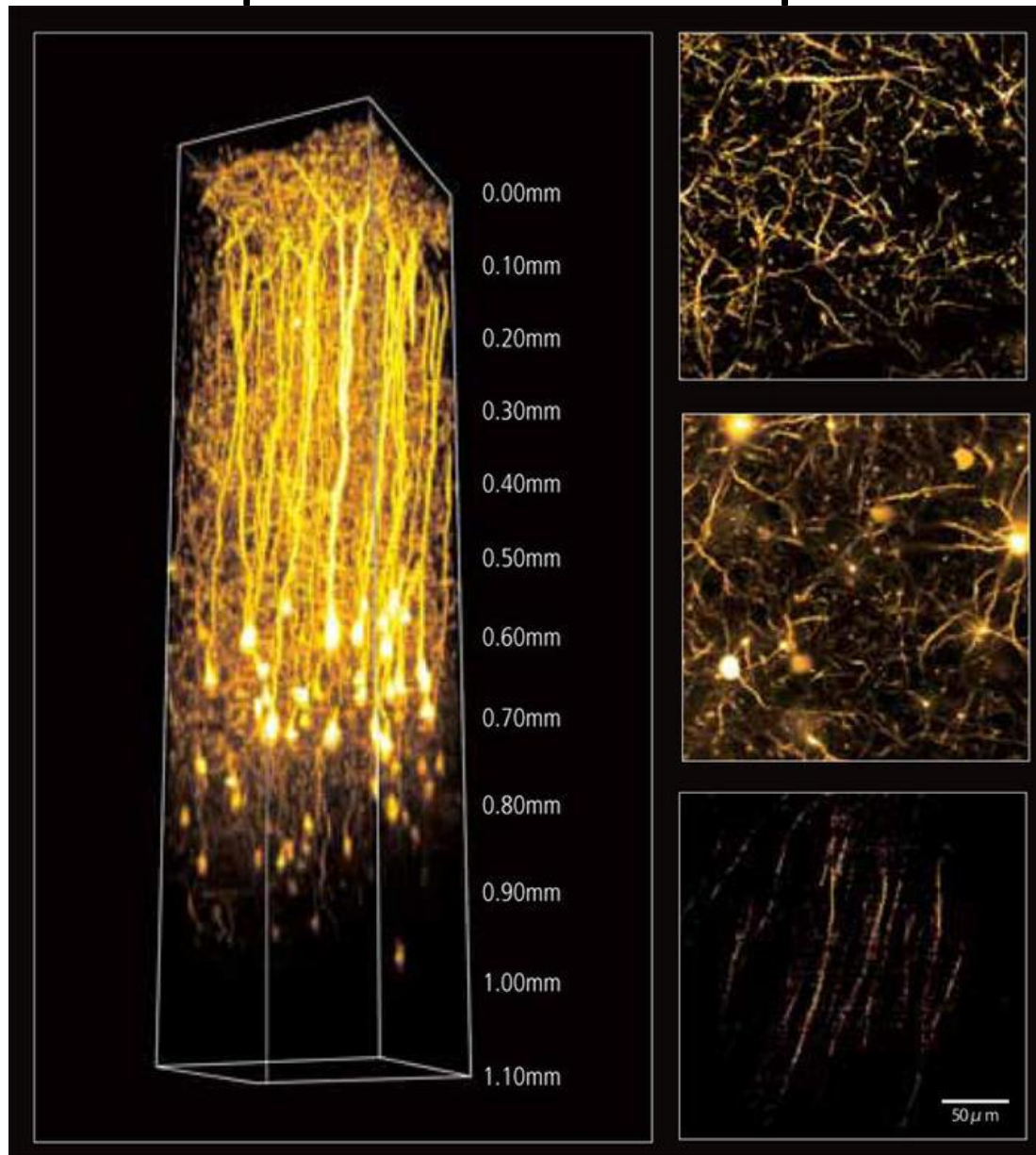




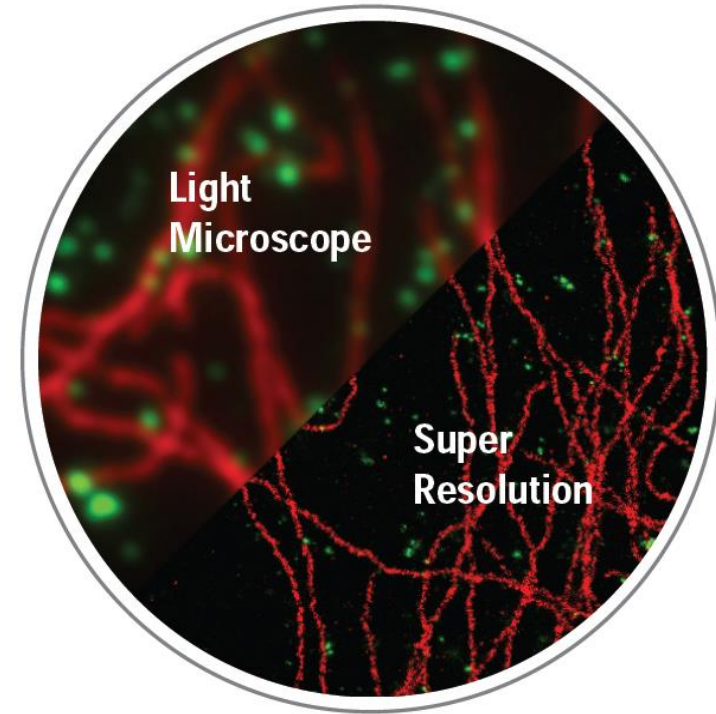
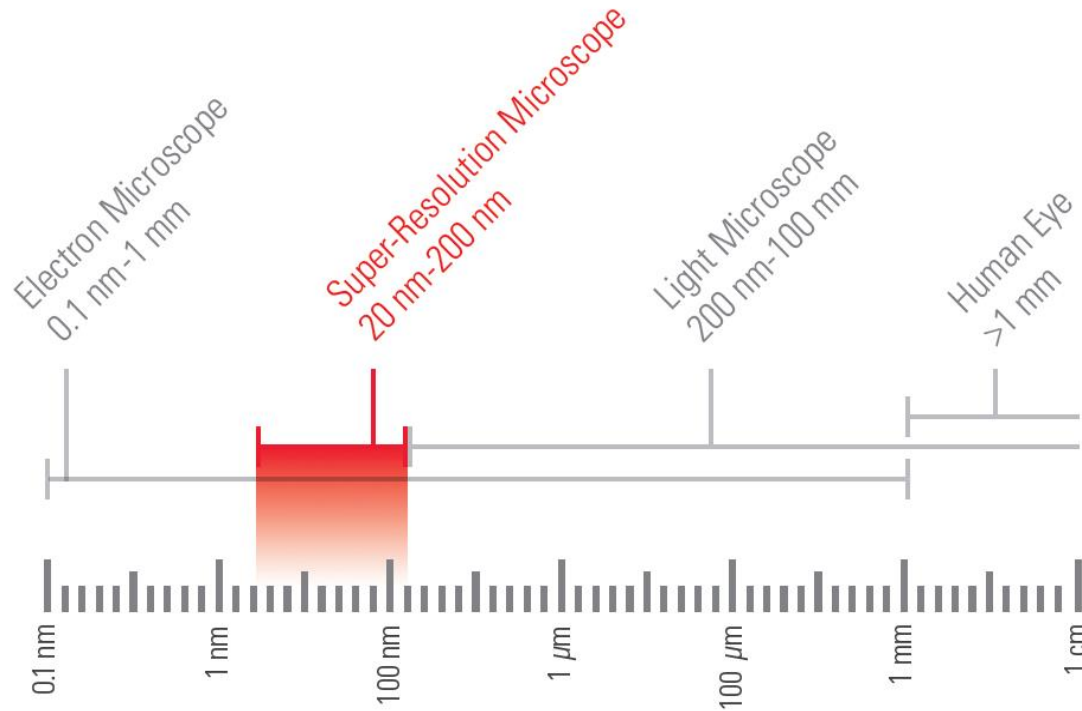
# Multiphoton



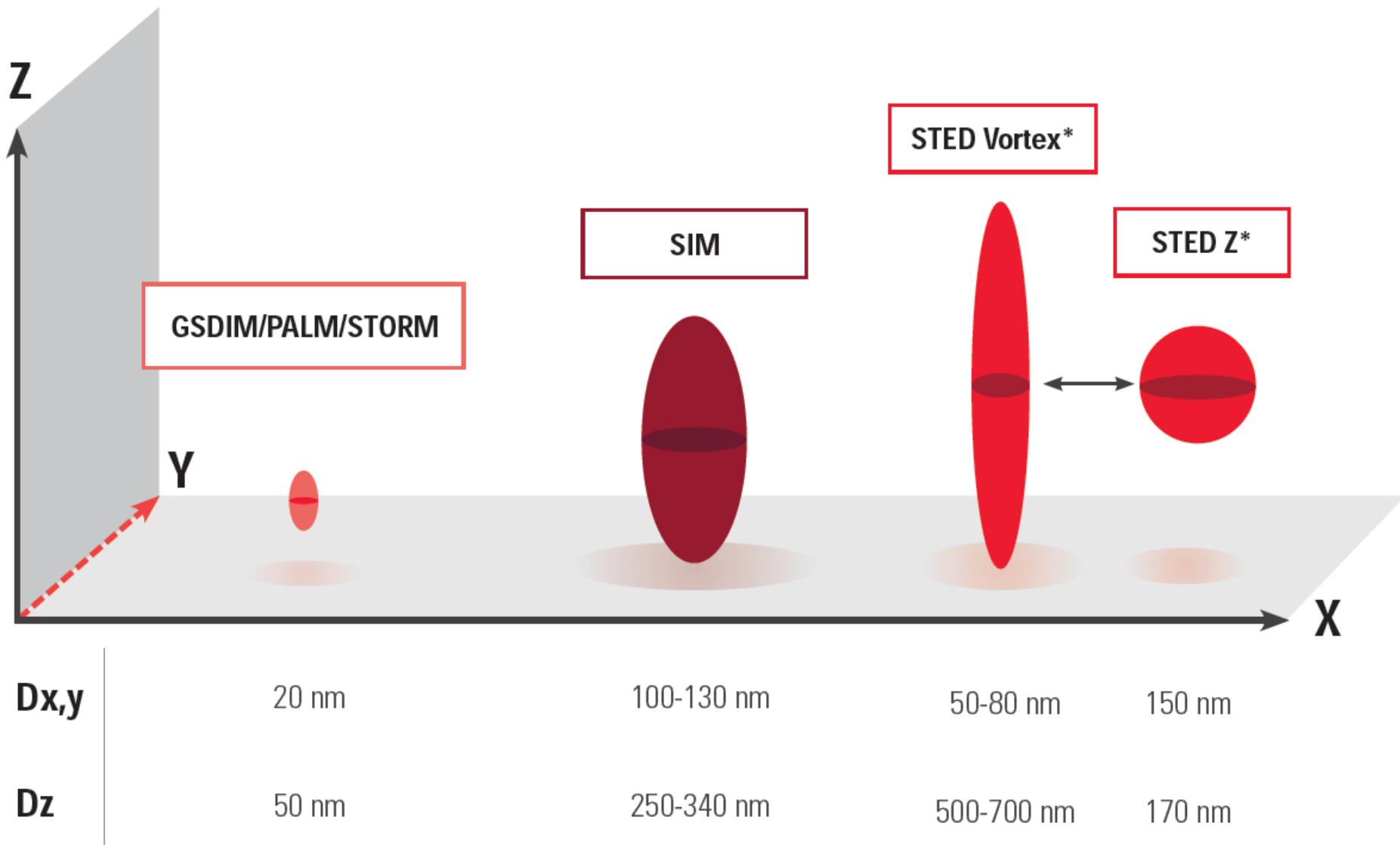
# Multiphoton z-depth



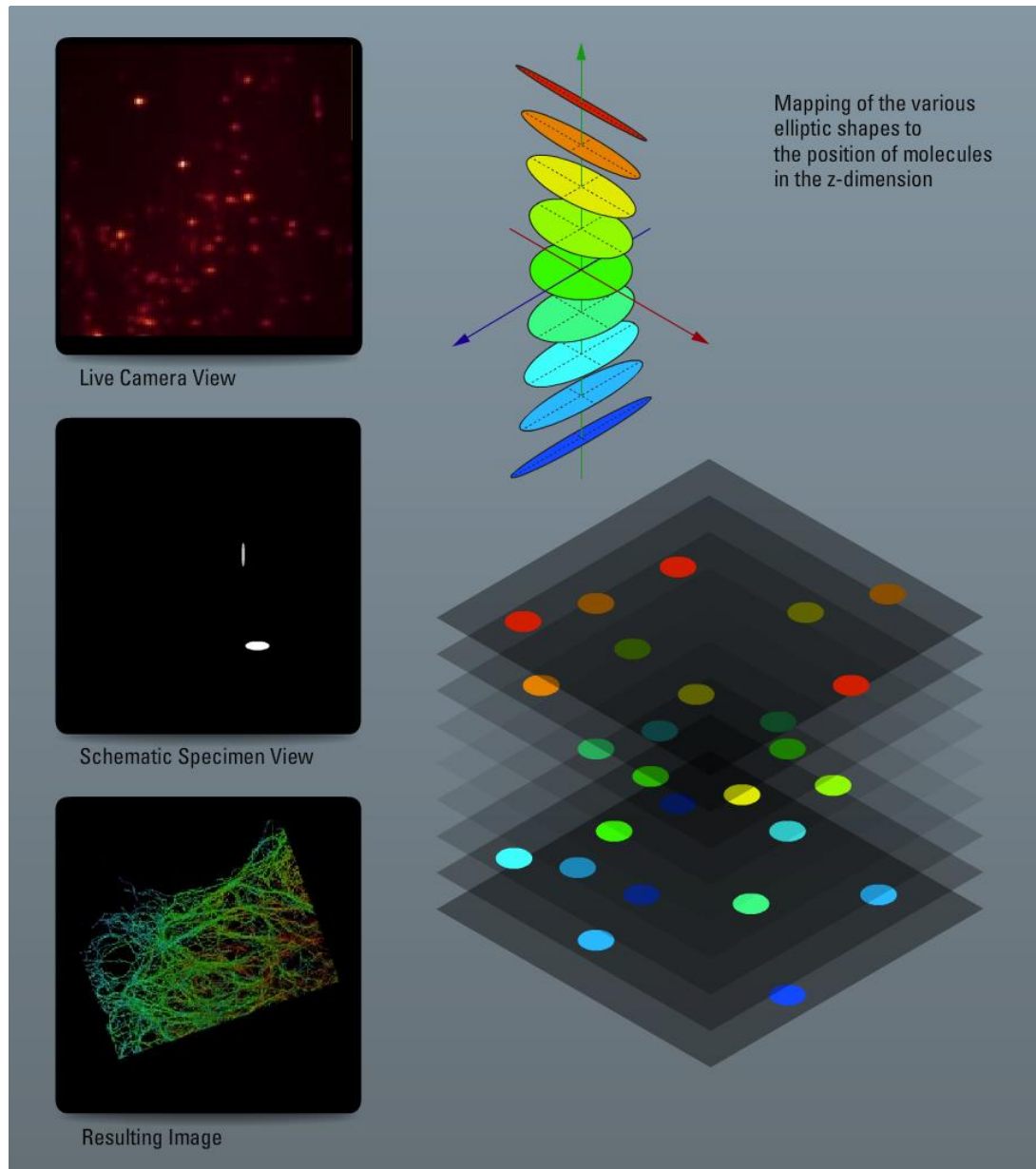
# Superresolution







# GSDIM/PALM/STORM - стохастические



Важно:

Флуорофоры должны «мигать», т.е. одновременно не должны излучать два флуорофора, расстояние между которыми меньше 300нм.

Картинка получается путем вычисления координат центра пятна.

Для хорошего изображения нужно снять от 10 до 100 тысяч кадров.

Разрешение(XYZ):  
20x20x50 нм



# Confocal vs STORM

Superresolution Imaging of Microtubules with STORM

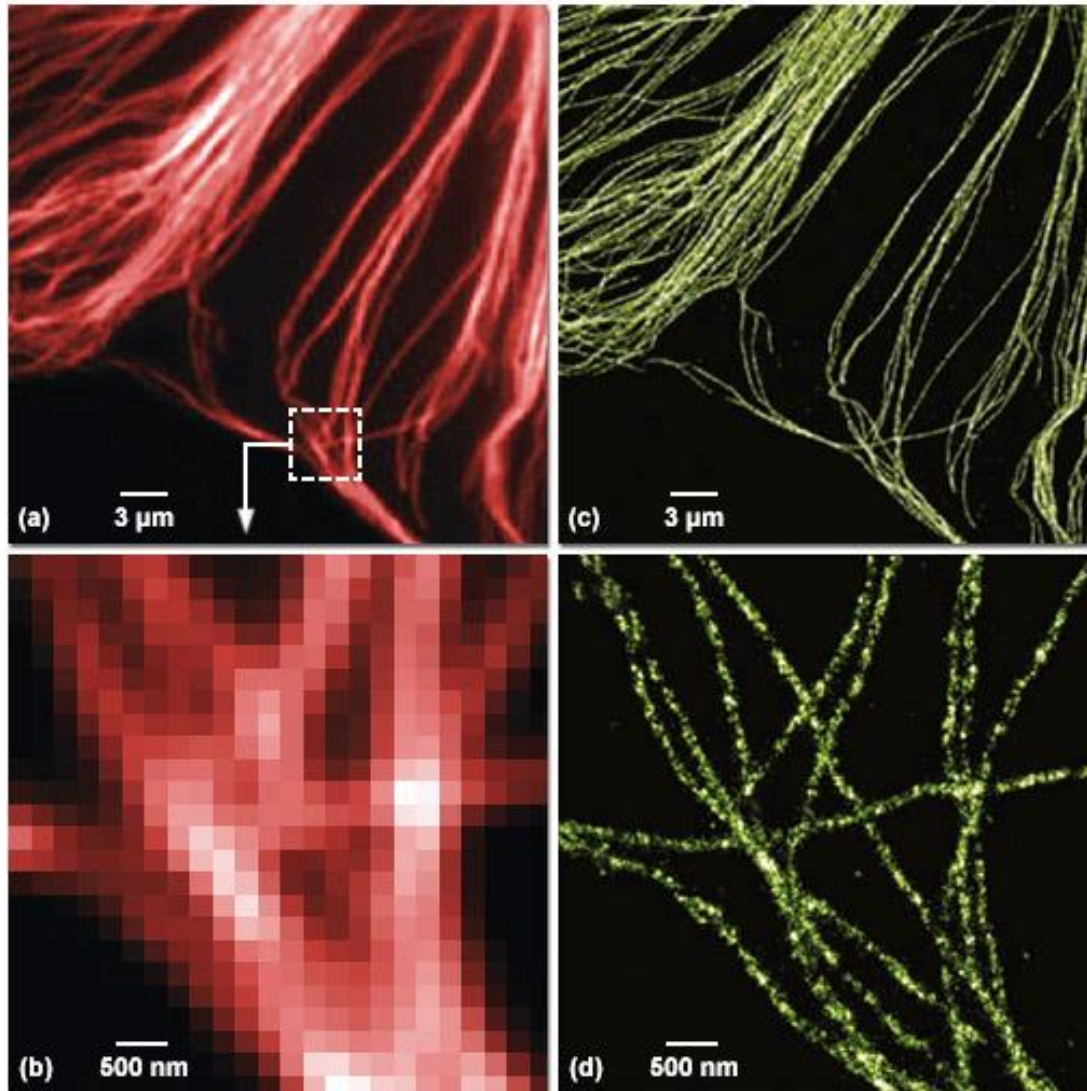
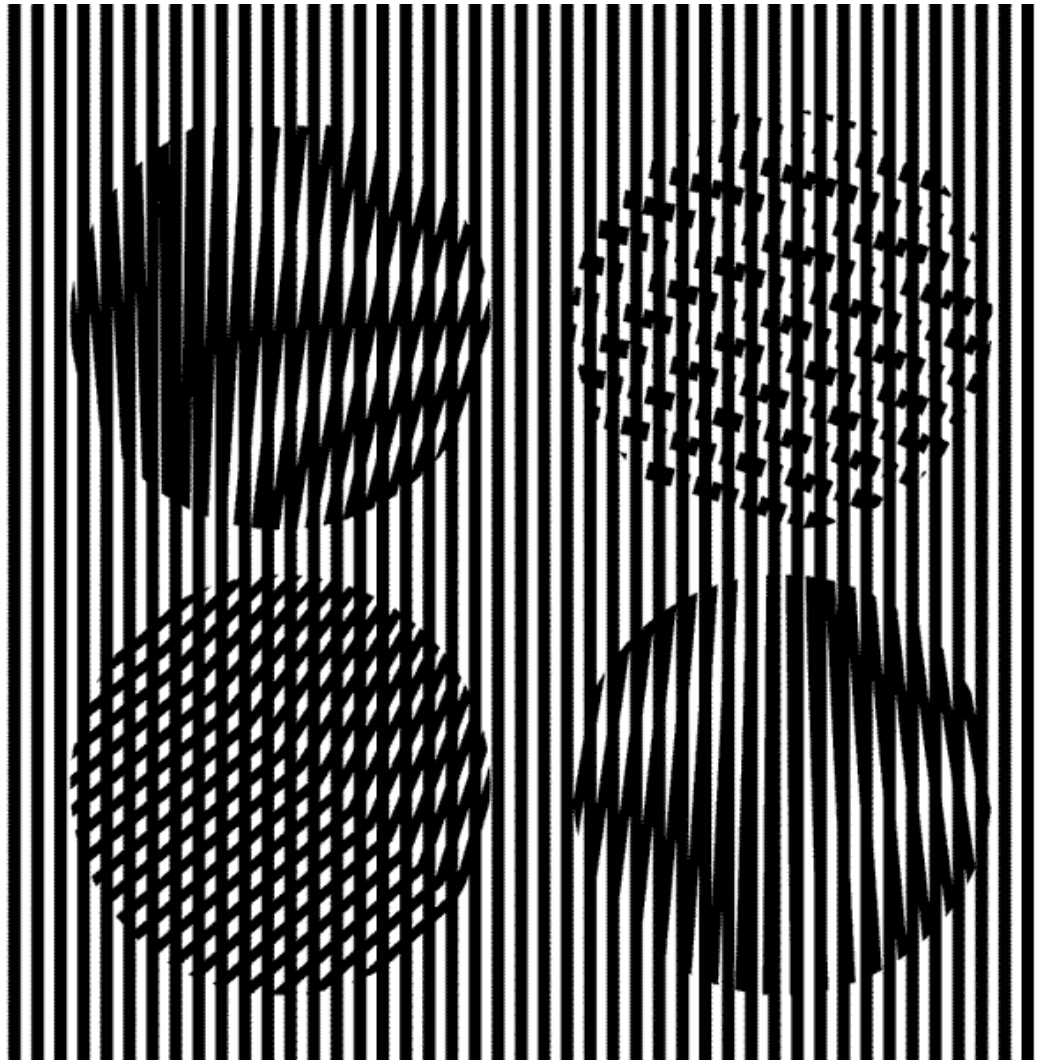


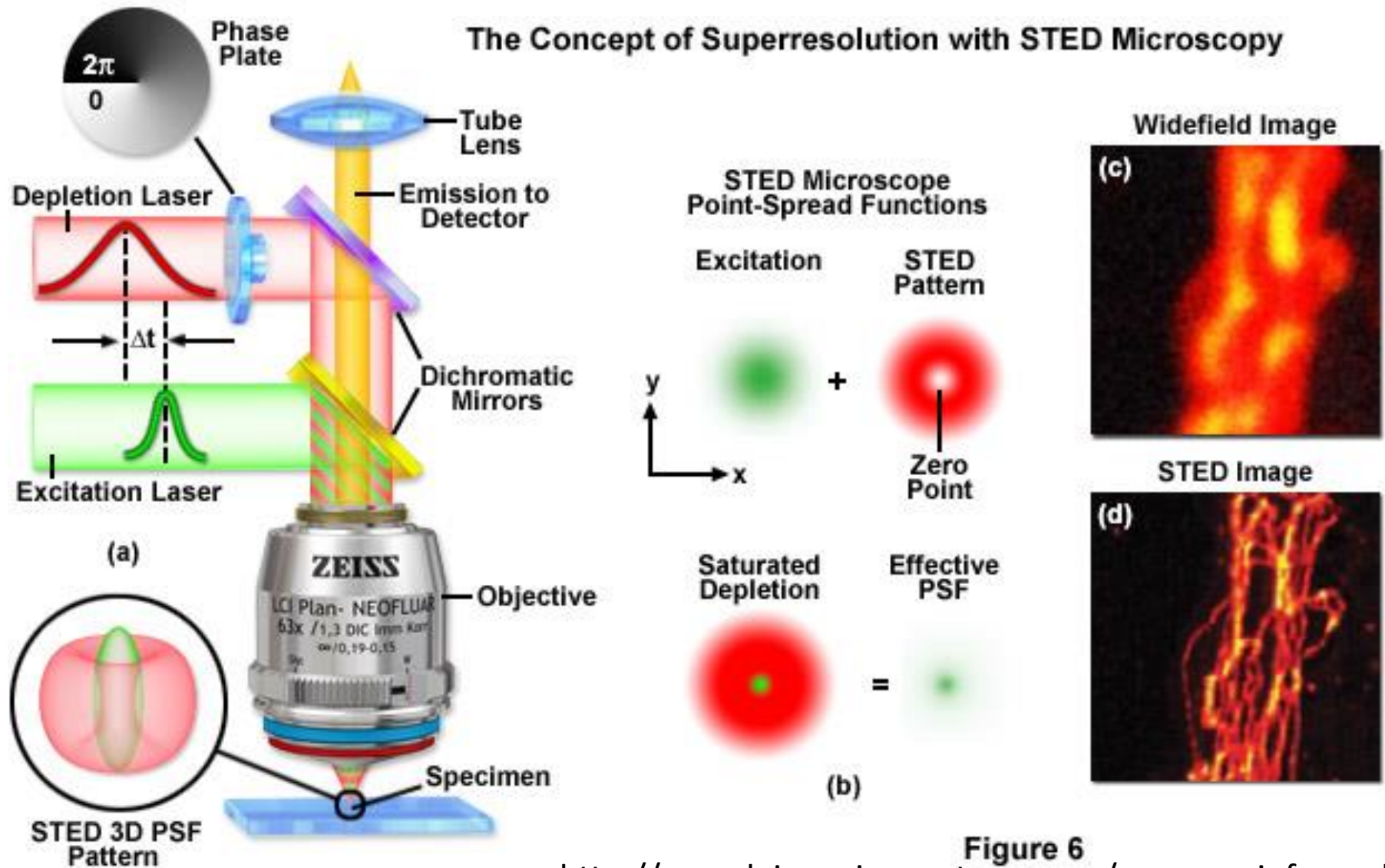
Figure 4

# SIM - Structured illumination microscopy





# STED – Stimulated Emission Depletion

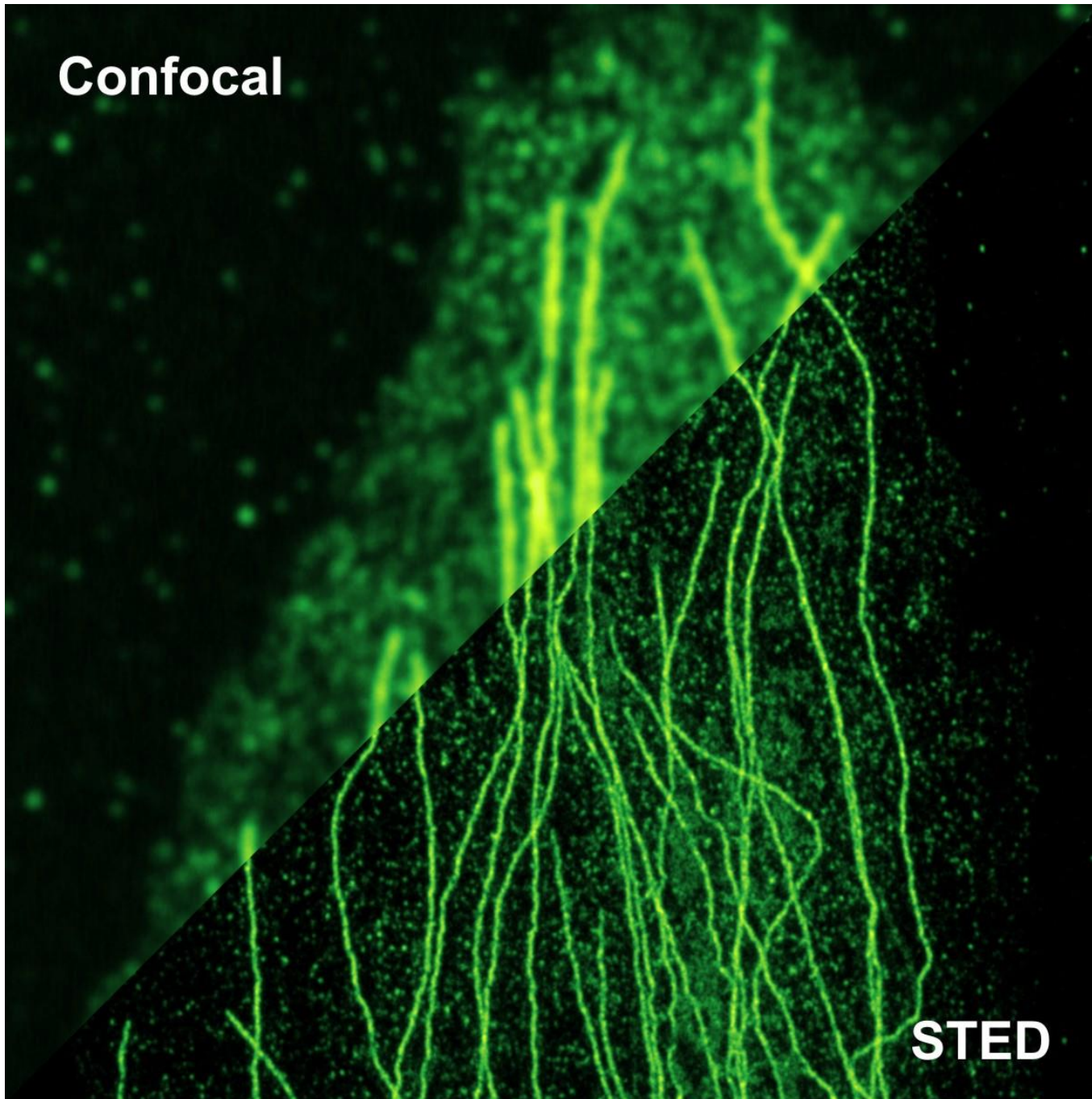






**Confocal**

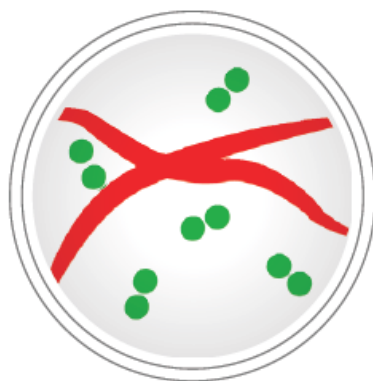
**STED**



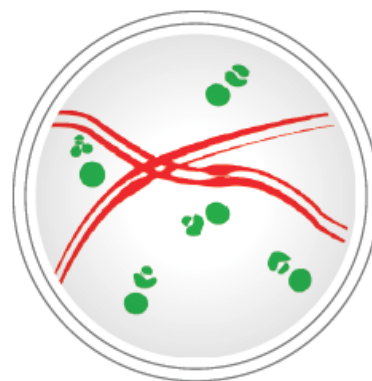
У всех методов есть преимущества и недостатки, зная их, нужно оптимально выбирать метод исследования для конкретной цели.



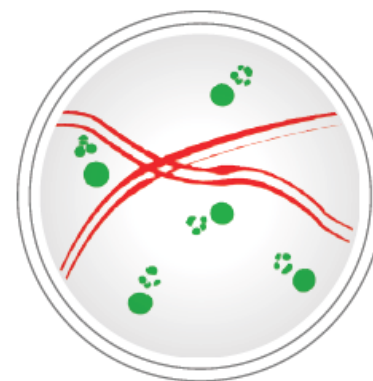
Widefield



SIM

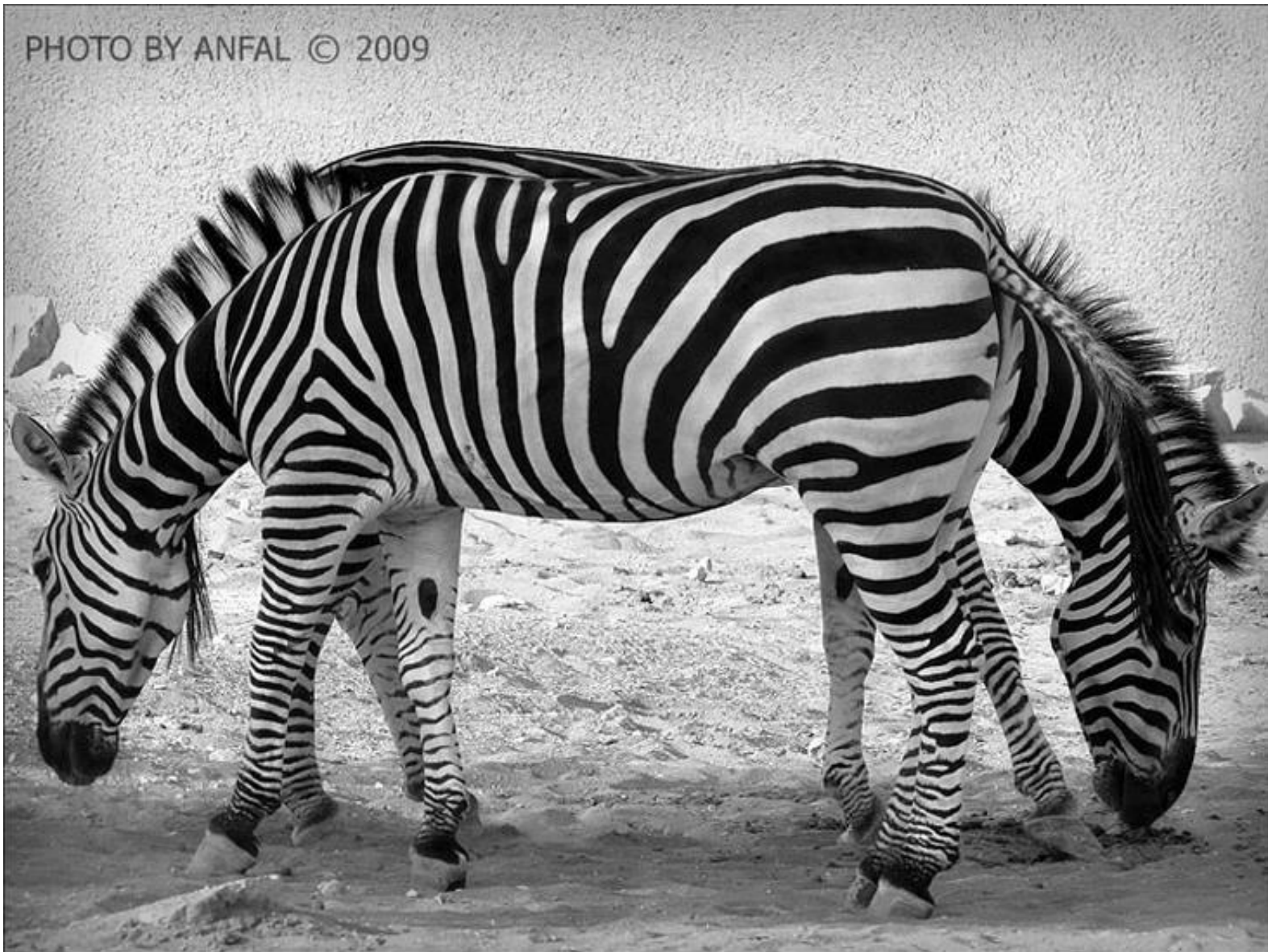


STED



Localization

# Seeing is not always believing!



Спасибо за внимание