

Методы современной микроскопии

Лекция 5:

Конфокальная лазерная микроскопия.
Особенности, подготовка образцов
для микроскопии.

Масгутова Галина Андреевна

Конфокальная микроскопия

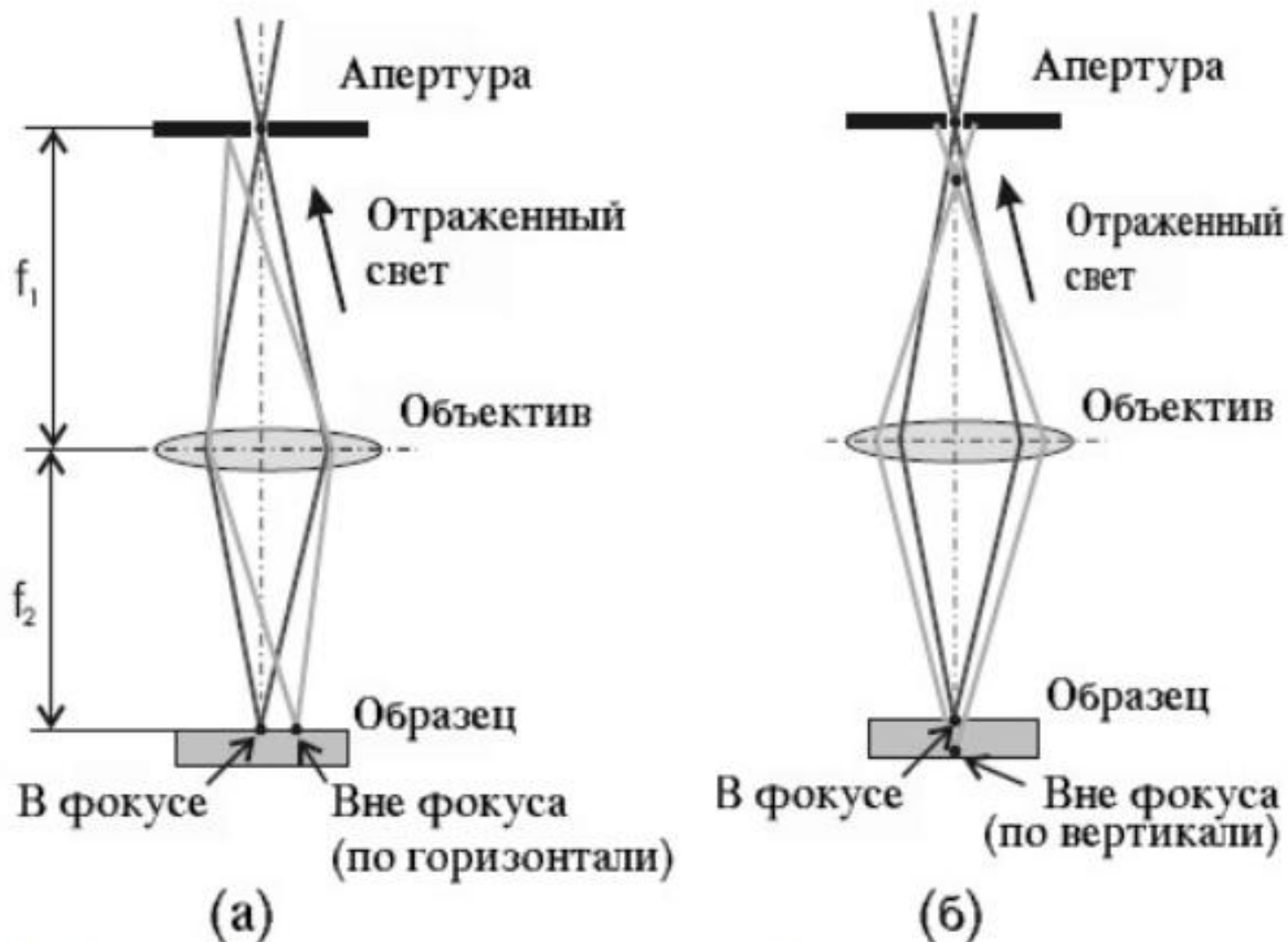
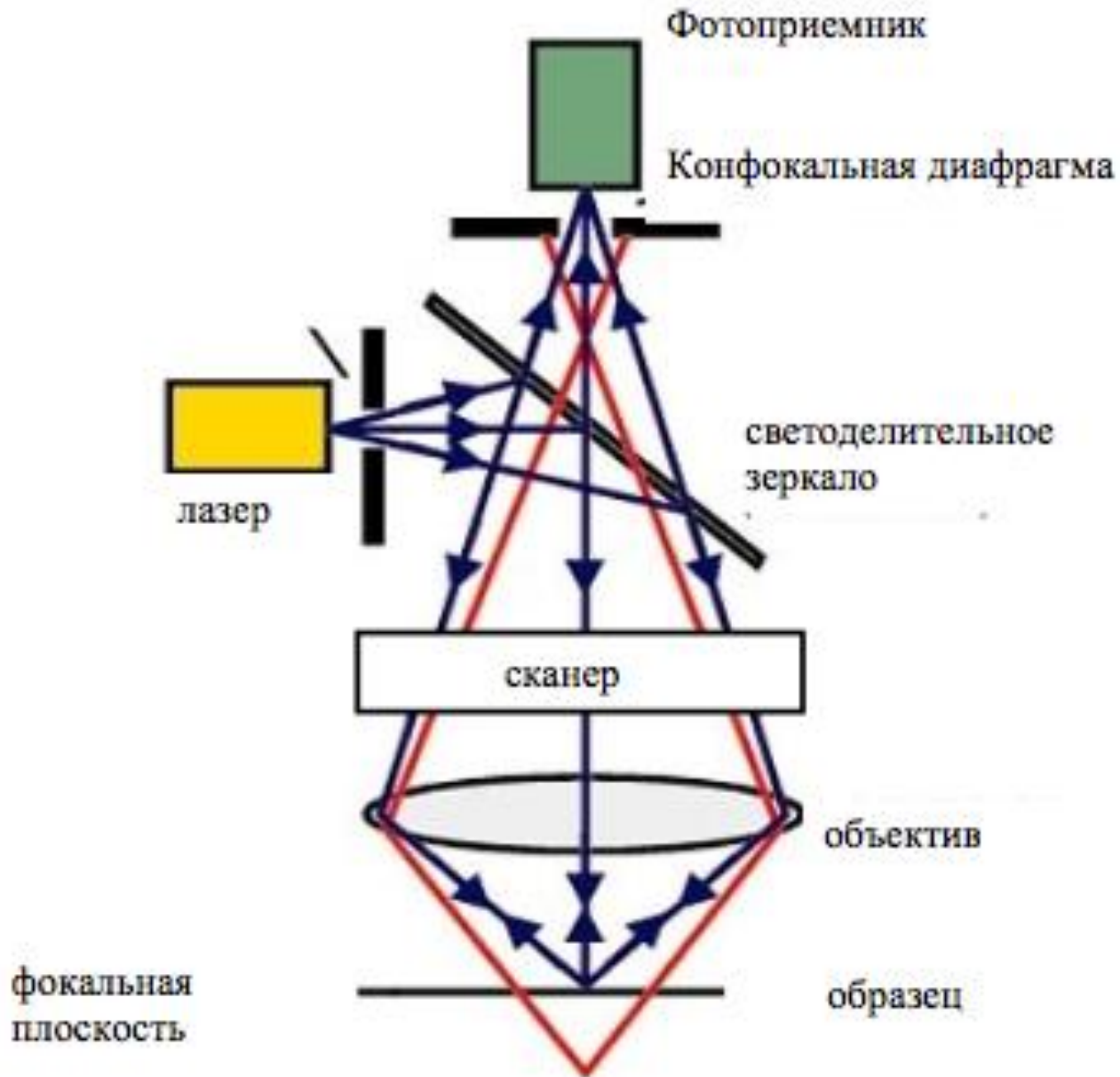
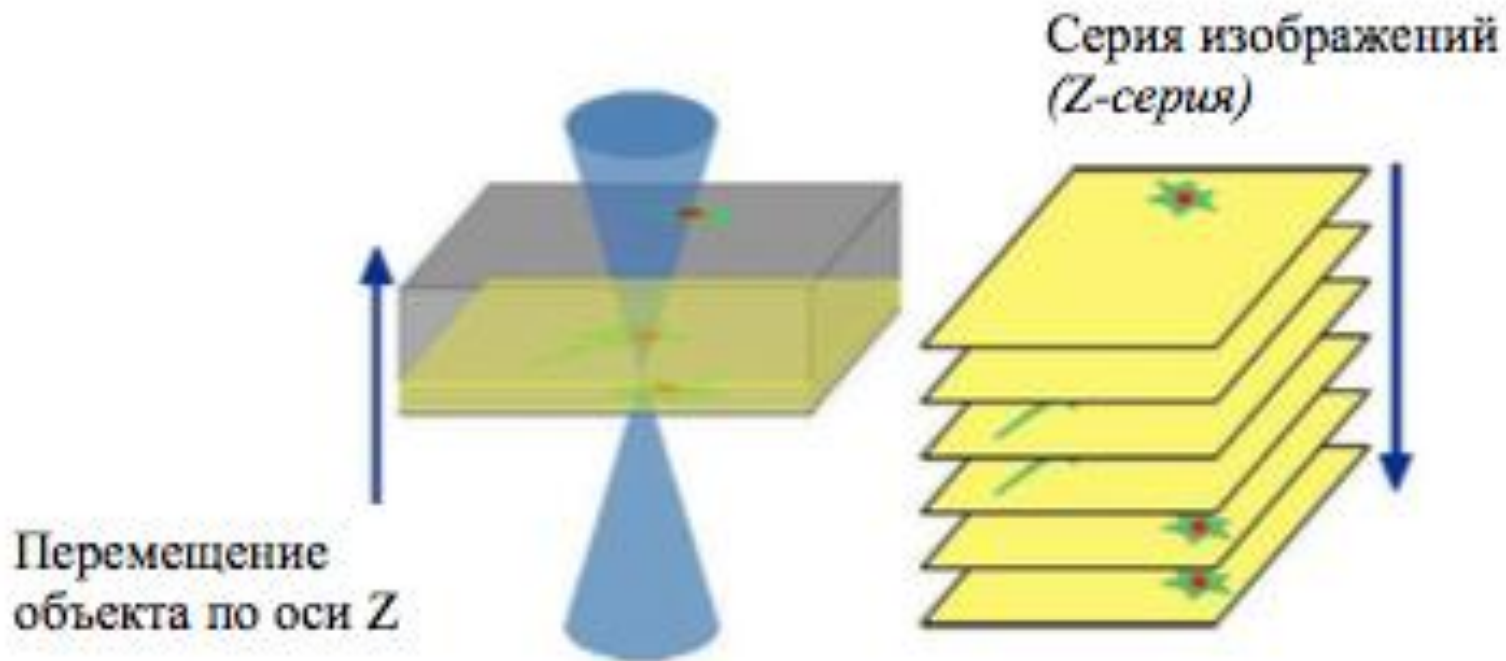


Рис. 1.2.21. Схема формирования пучков в конфокальной микроскопии.

Конфокальная микроскопия



Конфокальная микроскопия



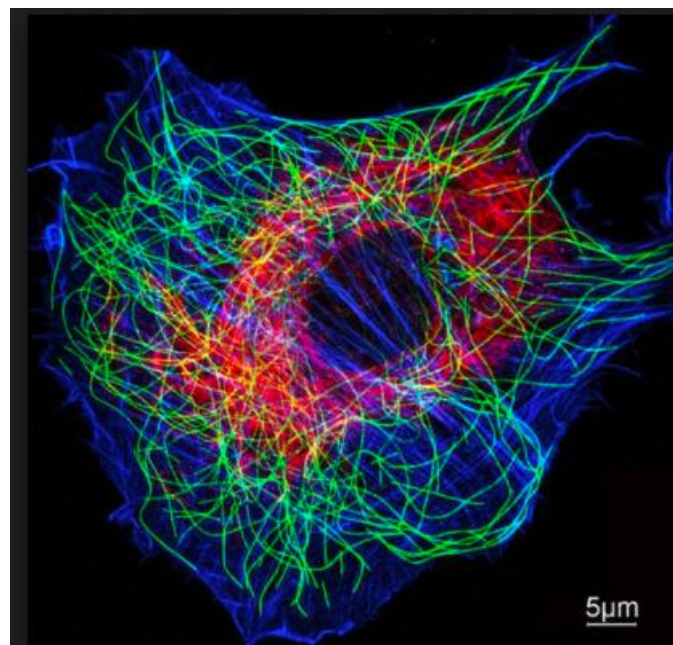
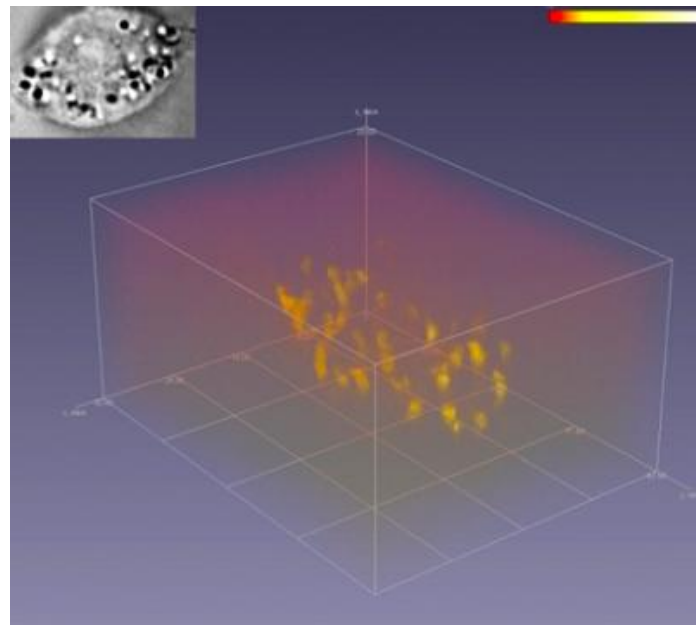
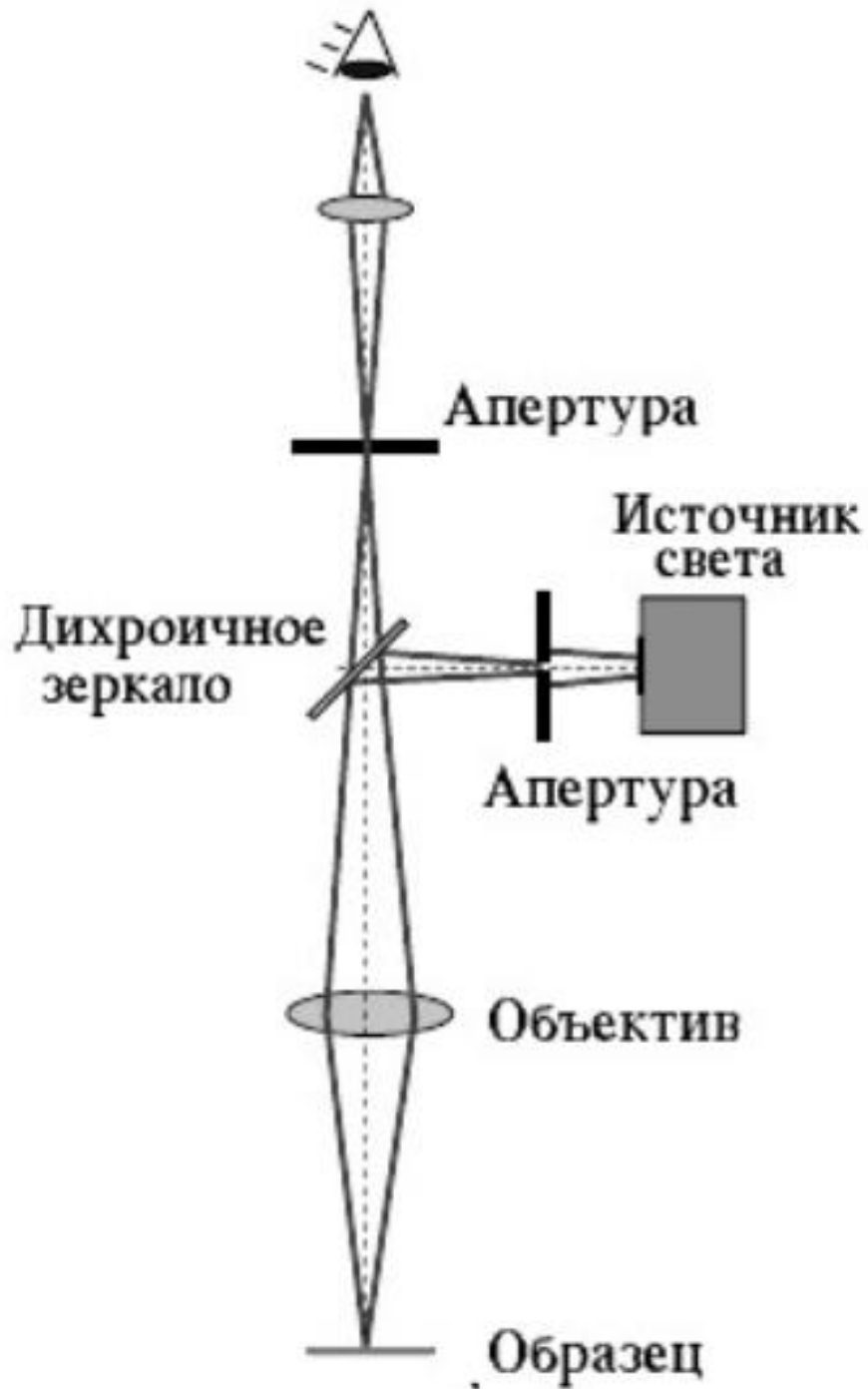
Конфокальная микроскопия

Преимущества:

1. Высокая контрастность изображения.
2. Улучшенная разрешающая способность (латеральная в 1.4 раза, аксиальная – в зависимости от размера конфокальной диафрагмы).
3. Получение «оптических срезов», трехмерная реконструкция.
4. Мультиспектральные исследования с высокой степенью разделения сигналов от разных флуорохромов.
5. Возможности применения методов цифровой обработки изображений.

Недостатки:

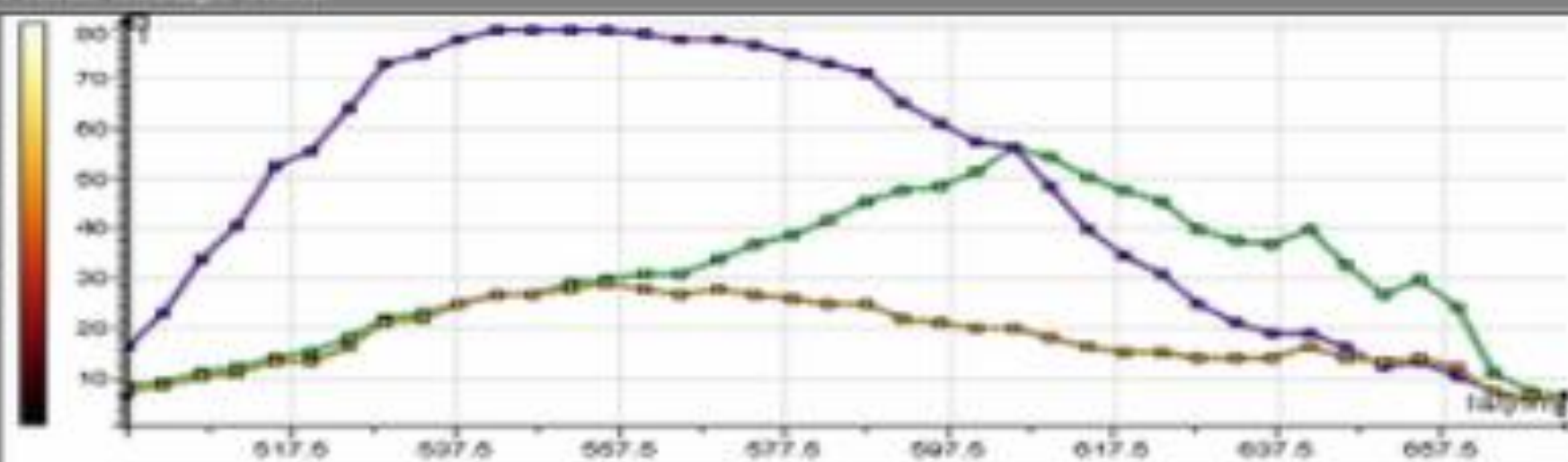
1. Сложность настройки прибора.
2. Отсутствие в ЛСКМ «оптического» изображения. Оно существует только в цифровой форме и отображается на экране монитора.
3. Высокая стоимость оборудования и его эксплуатации.



3D-серии и 4D-серии в конфокальной микроскопии

1. Последовательный просмотр изображений серии, меняя их вручную или автоматически (play) и выбирая наиболее информативный срез.
2. Создание ортогональных проекций XZ или YZ. Положение разреза может задаваться вручную. Можно сделать также XZ сканирование.
3. Объемная (3D) реконструкция. Изображение объекта может наблюдаться под разными углами зрения (рис. В.5, В.6).
4. То же, но с автоматическим изменением угла зрения (анимация).
5. Стереοизображение. Программа на основании 3D серии создает два изображения разных цветов (например, красный и зеленый), сдвинутые на небольшой угол. Совмещенное изображение рассматривается на экране с помощью специальных очков.
6. То же, но с автоматическим изменением угла зрения (стереοанимация)

Profile through Slack



ROI 1		ROI 2		ROI 3	
Length	= 672.50 µm	Length	= 672.50 µm	Length	= 672.50 µm
Mean Amplitude	= 30.72	Mean Amplitude	= 48.27	Mean Amplitude	= 18.00
Max. Amplitude	= 57.00	Max. Amplitude	= 57.00	Max. Amplitude	= 29.00
Pos. Max. Ampl.	= 602.50 µm	Pos. Max. Ampl.	= 541.25 µm	Pos. Max. Ampl.	= 554.38 µm
Min. Amplitude	= 6.00	Min. Amplitude	= 6.00	Min. Amplitude	= 6.00
Pos. Min. Ampl.	= 668.13 µm	Pos. Min. Ampl.	= 663.75 µm	Pos. Min. Ampl.	= 663.75 µm
Avg. Deviation	= 11.97	Avg. Deviation	= 24.75	Avg. Deviation	= 6.20
Std. Deviation	= 14.56	Std. Deviation	= 27.40	Std. Deviation	= 7.12
Variance	= 212.72	Variance	= 751.02	Variance	= 50.72
h(672.50 nm)	= 6.00	h(672.50 nm)	= 6.00	h(672.50 nm)	= 6.00
h(672.50 nm)	= 6.00	h(672.50 nm)	= 6.00	h(672.50 nm)	= 6.00
dI	= 0.00	dI	= 0.00	dI	= 0.00
dIa	= 0.00 m	dIa	= 0.00 m	dIa	= 0.00 m