

# ROZLIŠOVACÍ SCHOPNOST VYBRANÝCH MIKROSKOPICKÝCH METOD



Bi4070 Analýza obrazu a mikrofotografie v biologii

# rozlišovací schopnost

= schopnost rozeznat 2 u sebe ležící body

**Abbe:**

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

jaký nejmenší bod lze pozorovat

**Rayleigh:**

$$R = \frac{1.22\lambda}{2NA}$$

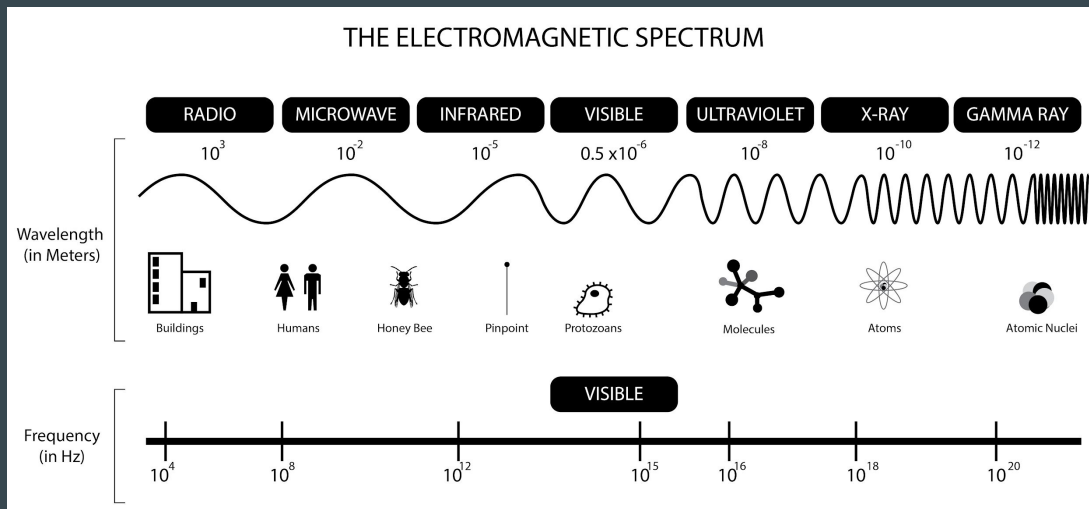
jak vzdálené jsou 2 rozlišitelné body od sebe

# rozlišovací schopnost

rozlišovací schopnost lze zvýšit:

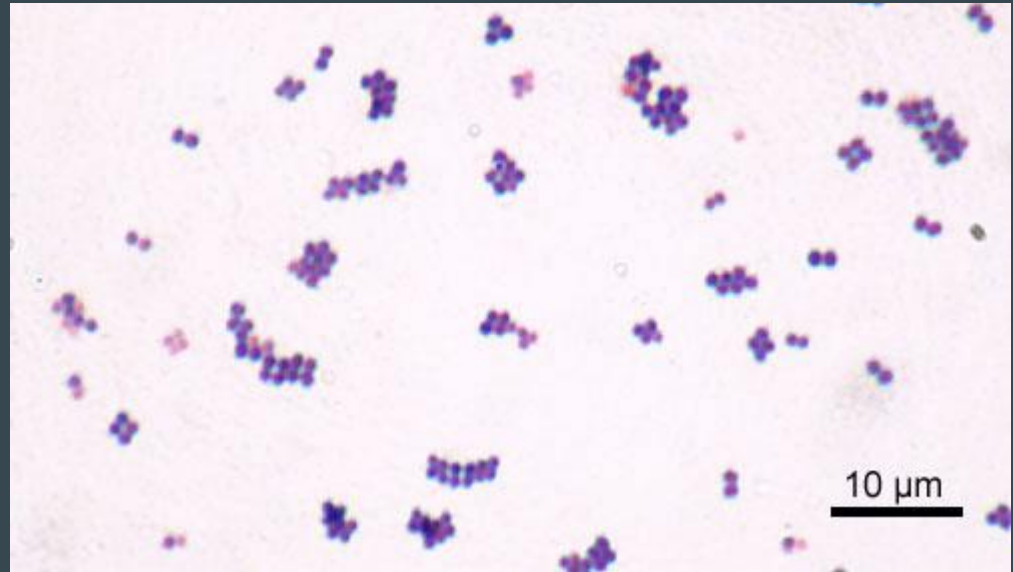
snížením  $\lambda$   $\longrightarrow$  použití záření o jiné vlnové délce

zvyšováním  $n$   $\longrightarrow$  použití imerzního oleje



# světelná mikroskopie

**0,2  $\mu\text{m}$**  limitována vlnovou délkou světla

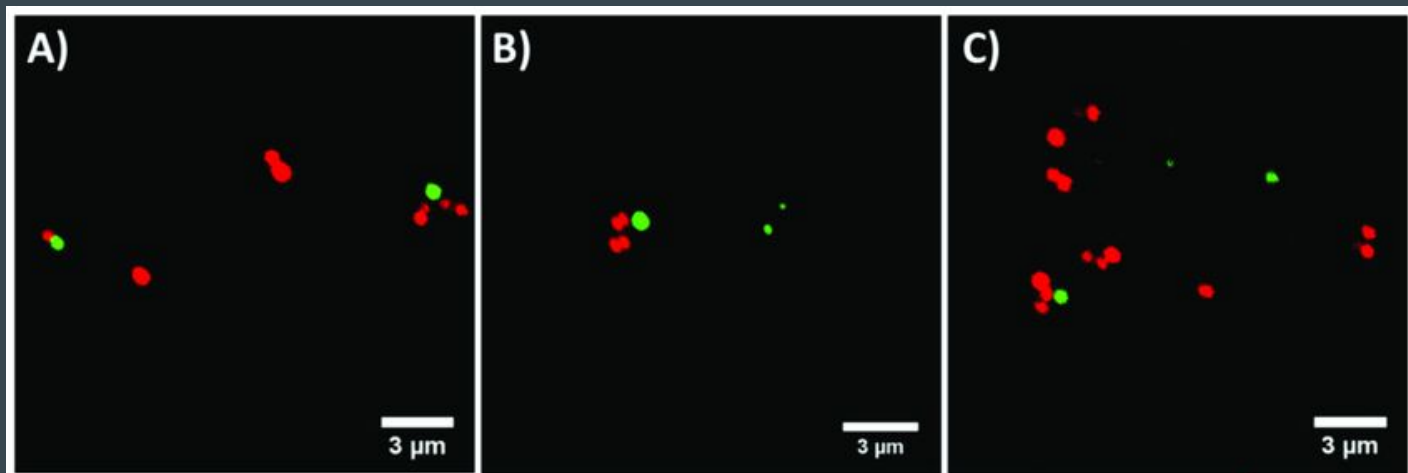


*Staphylococcus aureus*

# konfokální mikroskop

0,14  $\mu\text{m}$  v příčné rovině

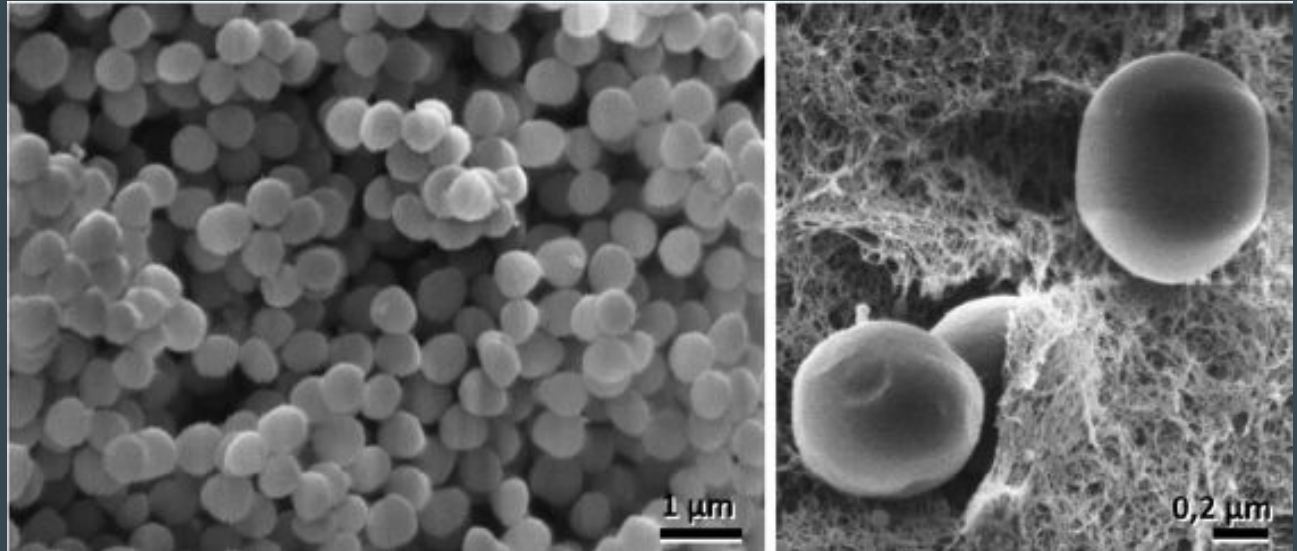
0,23  $\mu\text{m}$  v podélné rovině



*Staphylococcus aureus*

# SEM skenovací (řádovací) elektronový mikroskop

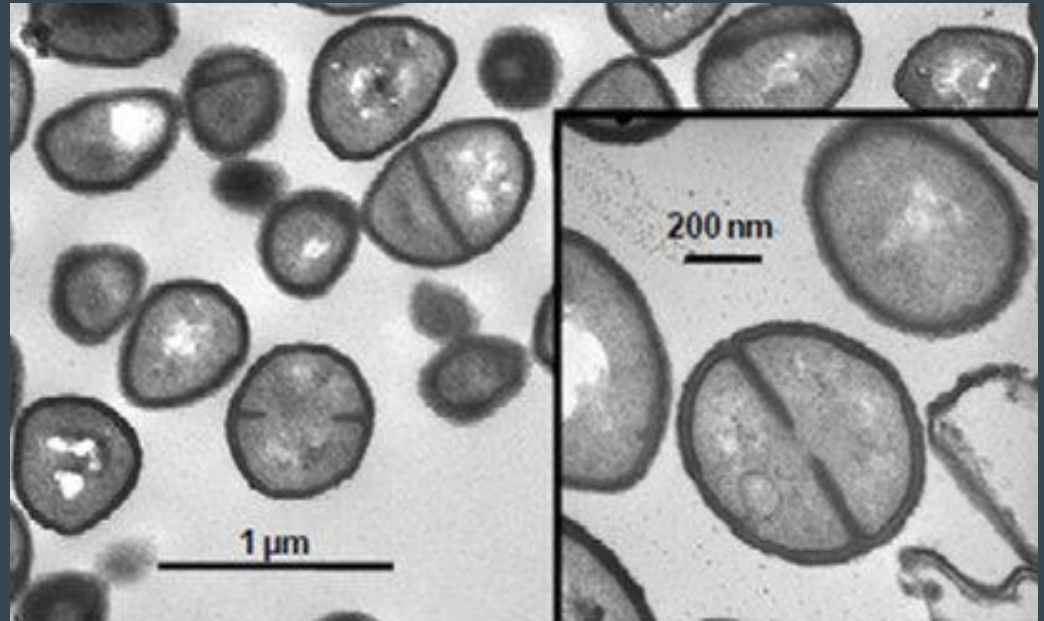
1 nm



*Staphylococcus aureus*

# TEM transmisní elektronový mikroskop

0,05 nm

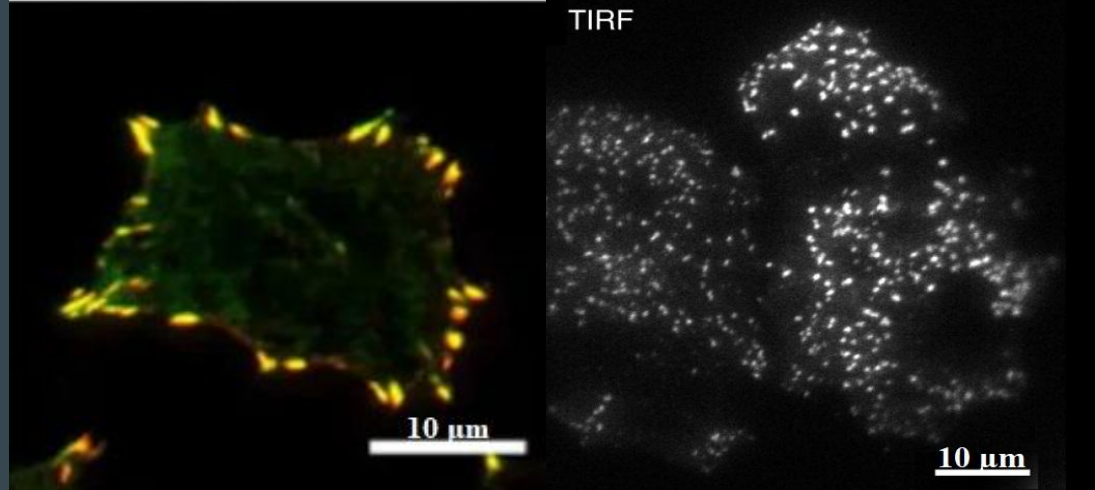


Staphylococcus aureus

# TIRF totální interní odrazová fluorescenční mikroskopie

100 nm v příčné rovině

230 nm v podélné rovině

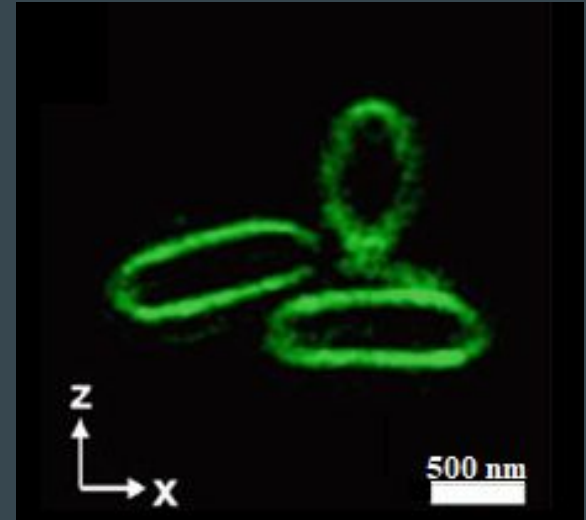




# 4Pi mikroskopie

100 nm v příčné rovině

190 nm v podélné rovině



*E. coli*

# SIM mikroskopie se strukturovaným osvětlením

100 nm



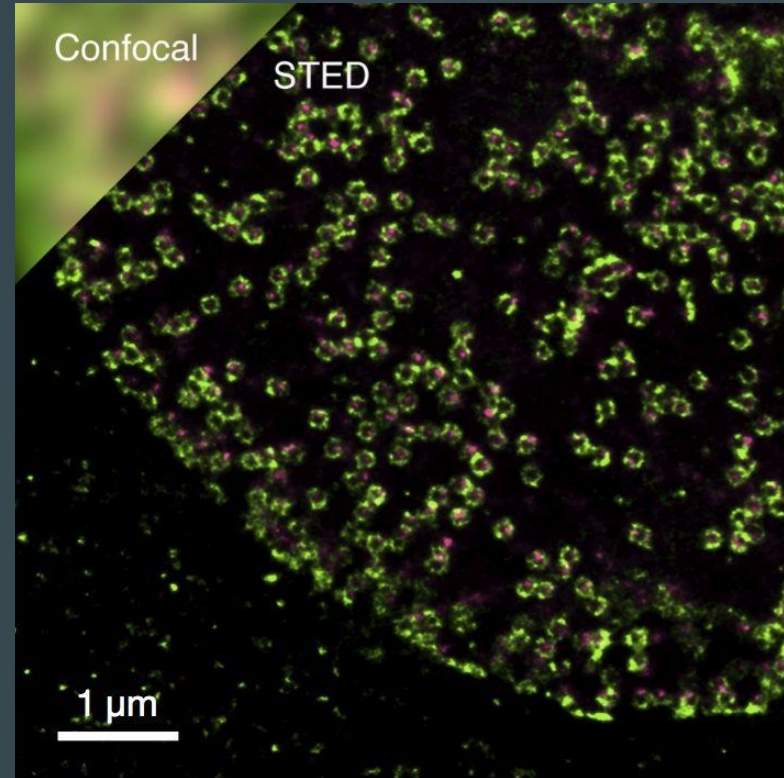
melanocyt

# STED vyčerpání stimulovanou emisí

50 nm v příčné rovině

80 nm v podélné rovině

jaderné póry

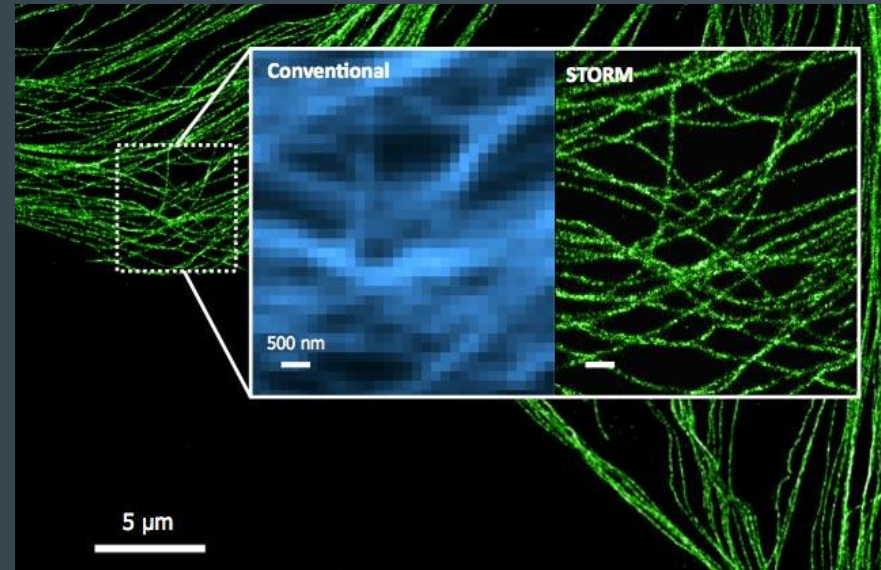


# STORM stochastická optická rekonstrukční mikroskopie

30 nm v příčné rovině

> 50 nm v podélné rovině

mikrotubuly

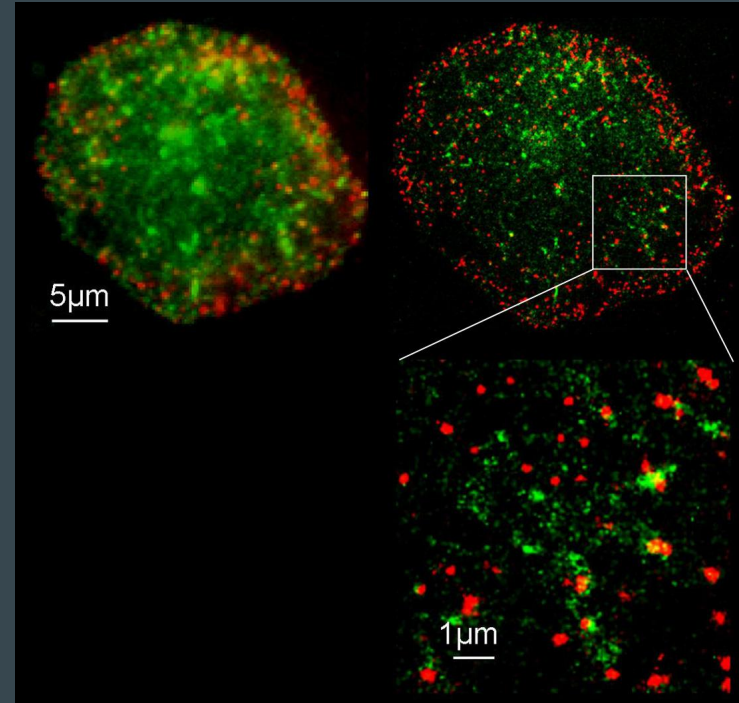


# PALM fotoaktivační lokalizační mikroskopie

30 nm v příčné rovině

> 50 nm v podélné rovině

T-lymfocyt



# zdroje (informace + obrázky)

<https://www.labcompare.com/10-Featured-Articles/342799-Beyond-the-Limit-The-World-of-Super-Resolution-Microscopy/>

<https://www.optixs.cz/slovník-17/fpalm-87s>

[https://en.wikipedia.org/wiki/Photoactivated\\_localization\\_microscopy](https://en.wikipedia.org/wiki/Photoactivated_localization_microscopy)

[https://en.wikipedia.org/wiki/Super-resolution\\_microscopy](https://en.wikipedia.org/wiki/Super-resolution_microscopy)

[https://cs.wikipedia.org/wiki/Superrozli%C5%A1ovac%C3%AD\\_mikroskopie](https://cs.wikipedia.org/wiki/Superrozli%C5%A1ovac%C3%AD_mikroskopie)

<http://www.nanotech.upenn.edu/nuggets/0102.html>

[http://www.precoptic.pl/uploads/images/nSTORM/N-STORM-Resolution\[1\].jpg](http://www.precoptic.pl/uploads/images/nSTORM/N-STORM-Resolution[1].jpg)

<https://yourmicrowiki.blogspot.com/2018/03/sted-microscopy.html>

<https://www.nottingham.ac.uk/Life-Sciences/images-multimedia/Picture4timslef500x248.jpg>

[https://www.researchgate.net/profile/Per\\_Niklas\\_Hedde/publication/258843401/figure/fig1/AS:297087251042321@1447842528704/4Pi-microscopy-a-By-using-a-single-objective-lens-only-fluorescence-photons-from.png](https://www.researchgate.net/profile/Per_Niklas_Hedde/publication/258843401/figure/fig1/AS:297087251042321@1447842528704/4Pi-microscopy-a-By-using-a-single-objective-lens-only-fluorescence-photons-from.png)

<https://d3i71xaburhd42.cloudfront.net/7485889c51183b18ef1d5eefe507a016d40ebbe0/2-Figure1-1.png>

[https://media.springernature.com/full/springer-static/image/art%3A10.1186%2F1471-2121-14-2/MediaObjects/12860\\_2012\\_Article\\_639\\_Fig1\\_HTML.jpg](https://media.springernature.com/full/springer-static/image/art%3A10.1186%2F1471-2121-14-2/MediaObjects/12860_2012_Article_639_Fig1_HTML.jpg)

[https://www.researchgate.net/profile/Dina\\_Raafat/publication/308725044/figure/fig2/AS:601857198129152@1520505346424/Ultrastructure-of-S-aureus-SG511-Berlin-and-CRV-as-seen-under-a-TEM-Pictures-of-S.png](https://www.researchgate.net/profile/Dina_Raafat/publication/308725044/figure/fig2/AS:601857198129152@1520505346424/Ultrastructure-of-S-aureus-SG511-Berlin-and-CRV-as-seen-under-a-TEM-Pictures-of-S.png)

[https://www.researchgate.net/profile/Erik\\_Bongcam-Rudloff/publication/270276278/figure/fig1/AS:304633072373760@1449641592198/Scanning-electron-microscopy-of-ILRI-Eymole-1-1-S-aureus-grow-on-agar-Left-overview.png](https://www.researchgate.net/profile/Erik_Bongcam-Rudloff/publication/270276278/figure/fig1/AS:304633072373760@1449641592198/Scanning-electron-microscopy-of-ILRI-Eymole-1-1-S-aureus-grow-on-agar-Left-overview.png)

<https://www.researchgate.net/publication/325704887/figure/fig3/AS:636521602371591@1528769984843/Confocal-microscopy-images-of-S-aureus-A-C-and-E-coli-D-F-treated-with-the-MIC-of.png>

[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/08/Staphylococcus\\_aureus\\_Gram.jpg/300px-Staphylococcus\\_aureus\\_Gram.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/08/Staphylococcus_aureus_Gram.jpg/300px-Staphylococcus_aureus_Gram.jpg)

[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3a/BW\\_EM\\_spectrum.png/300px-BW\\_EM\\_spectrum.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3a/BW_EM_spectrum.png/300px-BW_EM_spectrum.png)