

Тайпотронные, характронные и композитронные системы для микроскопии структурированного освещения (флуоресцентной и трансмиссионной) с катодолуминесцентной иллюминацией

Орехов Ф.К., Панкратов С.К., Скрыник А.А., Яблоков А.Г.

УДК 621.385.832.82

Россия, ИНЭПХФ РАН им. В.Л. Тальрозе,

Группа инициативных НИР по имэджингу¹

Прогресс микроскопии привел в последние годы к созданию сканирующих оптических лазерных флуоресцентных микроскопов и SIM-микроскопов (Structured Illumination Microscopy). В первом случае речь идет о применении гальванометрических сканеров и акустооптических дефлекторов, во втором – о внедрении решеток, синтезирующих тот или иной паттерн иллюминации, в плоскости, сопряженной с фокальной. Индуцируемая паттерном флуоресценция зависит от положения и формы паттерна. Нами предлагается использовать для этих целей электронно-лучевые трубки специальной конструкции, принцип действия которых эквивалентен знакопечающим трубкам / индикаторам – характронам, тайпотронам или композитронам. Данные трубки характеризуются наличием двух отклоняющих систем, между которыми находится трафарет. В отличие от стандартных трубок данного типа, трафареты которых проецируют на люминофор знаки алфавита, нами предлагается создание на отплавляемых трубках систем сканирования с трафаретами, содержащими не знаковую или пиктографическую запись, а оптически-оптимальные структуры, проекционное возбуждение с которых на люминофоре может быть полезно для создания систем структурированного освещения для микроскопии, а также – в случае возбуждения флуоресценции в заданных областях на образце (ROI) специальной формы для методов Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP).

Ключевые слова: SIM / микроскопия структурированного освещения, тайпотрон, характрон, композитрон, FRAP, катодолуминесцентная микроскопия, электронно-лучевые микротрубки

Введение

Стремительное развитие радиоэлектронно-микроскопических и оптоэлектронно-микроскопических систем привело в последние годы к созданию сканирующих оптических лазерных флуоресцентных микроскопов и SIM-микроскопов (Structured Illumination Microscopy). В первом случае речь идет о применении гальванометрических сканеров и акустооптических дефлекторов, во втором – о внедрении решеток, синтезирующих тот или иной паттерн иллюминации, в плоскости, сопряженной с фокальной. Индуцируемая паттерном флуоресценция зависит от положения и формы паттерна, однако для выделения полезного сигнала в дальнейшем приходится осуществлять трудоемкую компьютерную обработку для фильтрации флуоресценции от паразитных слоев в RAW-файлах, а также

¹ URL: <https://www.researchgate.net/project/Chemometric-microscopy> ;
<http://istina.msu.ru/projects/51891942/>

увеличения разрешения по аппликате (оси Z). Т.н. «сверхразрешение» в SIM является следствием многократного изменения положения / ориентации решетки (что позволяет реконструировать структуру, не визуализируемую в обычных методах микроскопии из-за дифракционного предела), а также цифровой обработки слоев RAW.

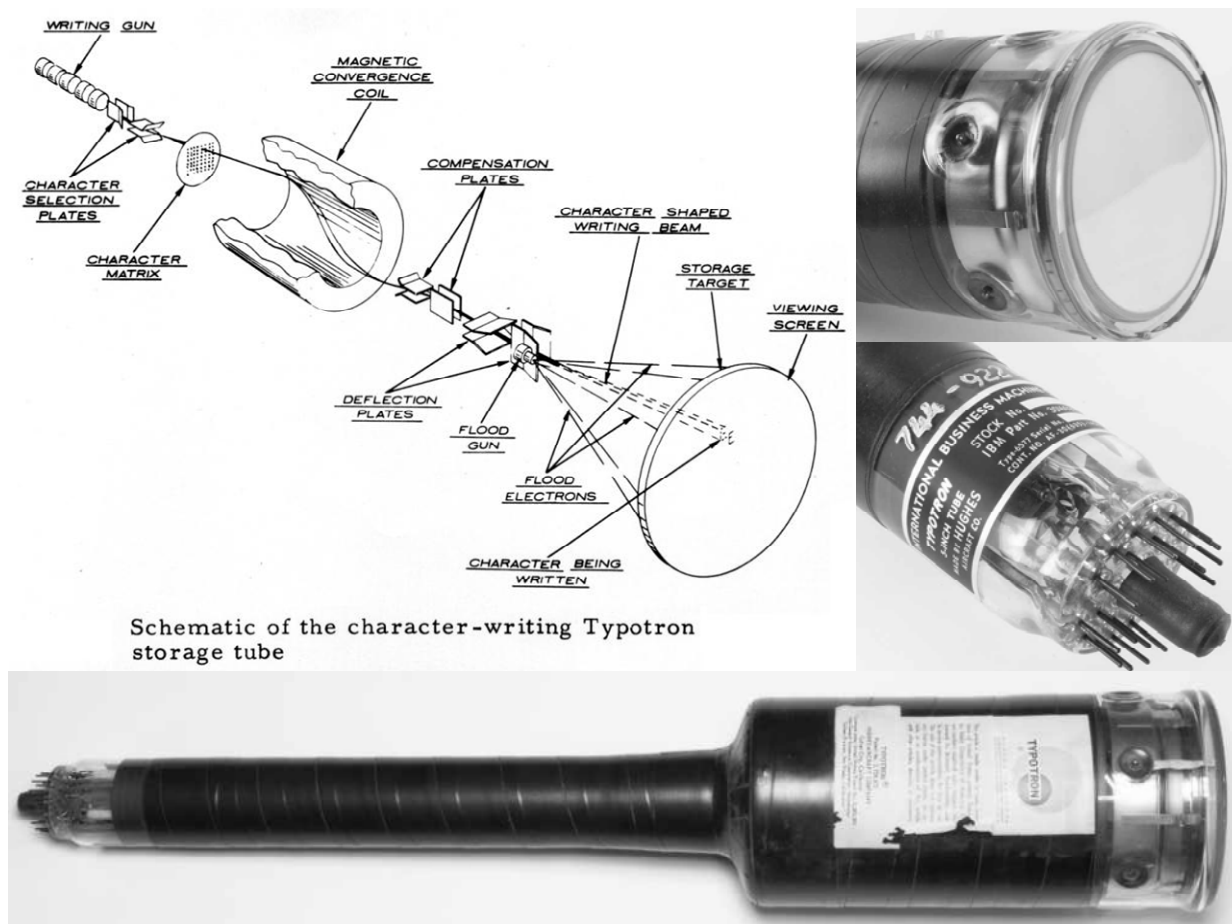


Рис. 1. Схема трассирования пучка и фотографии тайпотрона (каталог: <http://lampes-et-tubes.info/>).

Проблемы и цели улучшения качества SIM сводятся к задачам шумоподавления, прогресса в обеспечении высокого отношения сигнал/шум [1], увеличения разрешения и достижения уровней сверхразрешения [2] (в наиболее распространенных случаях речь идет о латеральном разрешении и сверхразрешении [3]). В рамках стохастического подхода к анализу разрешения в SIM отношения сигнал/шум и разрешение в режиме счета фотонов с учетом тепловых и квантовых шумов связаны единой системой выражений [4], поэтому требуется использование стохастических передаточных функций для описания соответствующих SIM систем [5] (что рационально также и с точки зрения элиминации негативных эффектов неомогенных оптических полей на SIM-|сверх|разрешение [6]). Вследствие статистической природы детектирования фотонов флуоресценции в SIM –

идеологии и технологии улучшения качества SIM-imaging'а сводятся к увеличению статистики эмиссии и счета фотонов: внедрением двухфотонного возбуждения, заимствованного в двухфотонной микроскопии [7,8]; внедрением двойной экспозиции с фазовым сдвигом и преобразованием Гильберта на стадии процессинга [9,10]; вводом двойных муаровых структур с параллельным удвоением разрешающей способности за счет восстановления высоких пространственных частот [11]; использованием пучка / луча Бесселя [12] (который, как известно, в идеальном случае, не дифрагирует и не рассеивается, а также самовосстанавливается при частичном затенении – то есть распространяется практически без потерь, с точки зрения формирования микроскопического изображения; естественно, что пучок / луч Бесселя как таковой – идеализация, но в условиях оптических лабораторий эквивалентный по свойствам поток может быть получен фокусировкой гауссового луча аксиконом).


<i>Typotron Characteristics</i>		H-1055/6577
	Diameter, max., inches	5%
	Useful screen diameter, min., inches	4
	Length, max., inches	30¼
	Phosphor type	PI
	Storage mode	Bistable
	Focusing method	E'static
	Convergence method	E'magnetic
	Deflection method	E'static
	Character writing time, microseconds	65
	Character registration	1.33
	Viewing time, seconds	Until erased
	Brightness, foot-lamberts	20
	Erase time, milliseconds	200
	Viewing screen potential, kilovolts	+3
	Writing gun cathode potential, kilovolts	-3.1
Deflection factor, volts per inch	120	

Рис. 2. Технические характеристики классических тайпотронов H-1055/6577 (<http://lampes-et-tubes.info/>).

Другой подход к увеличению разрешающей способности широкопольной SIM, ограниченно годный для измерений в микроэлектронике, наноэлектронике, физики и химии твердого тела и границ раздела фаз, имеет в основе механизмы поверхностного плазмонного резонанса, возбуждаемого пучком оптического излучения, либо физику локализованных плазмонов [13-16]. Поскольку поверхностные плазмоны и локализованные плазмоны взаимодействуют с излучением с образованием поляритонов, очевидна возможность реализации поляритонной SIM на данных принципах, по аналогии с уже известными ме-

годами поляритонной микроскопии [17-19]. Это также увеличивает статистику детектирования – например, поверхностное усиление комбинационного рассеяния (surface-enhanced Raman scattering – SERS), которое лежит в основе SERS-микроскопии [20,21], редоксметрической комбинационной (рамановской) микроскопии [22], иммуно-SERS-флуоресценции и иммуно-SERS-микроскопии [23] и комбинированной SPR-SERS-скопии [24]. Реализуемы аналогичные указанным методы и на SIM. Последним путем к улучшению фотонной статистики является использование алгоритмов уровня MAP-SIM (*Structured Illumination Microscopy {based on} Maximum A posteriori Probability*), с использованием которых осуществляется лишь относительное подавление внефокусного и паразитного излучения на основе апостериорной вероятности, вычисляемой при обработке RAW-файлов [25], но здесь идет, по существу, лишь согласованная пороговая обработка, а не увеличение статистики выхода или аппаратного детектирования фотонов.

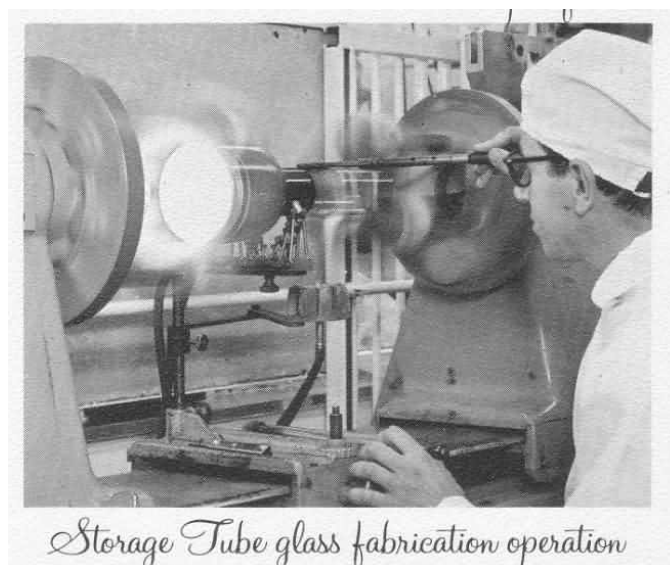


Рис. 3. Изготовление тайпотрона (из брош.ры производителя: <http://lampes-et-tubes.info/cr/typotron.jpg>).

Улучшение разрешающей способности напрямую связано с изменением увеличения – предельное разрешение достижимо на предельном увеличении – однако не исчерпывается им. Со времен получения первых субдифракционных многоцветных изображений SIM [26] существенных рекордов в данном направлении не зарегистрировано. В общеупотребительных / промышленных SIM сверхразрешение и рост разрешения достигается за счет пространственных модуляторов света [27], таких как акусто-оптические дефлекторы, АОД (как и в других методах сверхразрешающей микроскопии [28]), в частности – при создании поля структурированного излучения сканирующим пучком [29]. В цифро-

вых методиках деконволюции / развертки синтез полей с заданной областью возбуждения флуоресценции, очевидно, невозможен, поэтому методики программного увеличения разрешающей способности (например – на основе птихографии для объектов, размеры которых превышают поперечные размеры фокального пятна, разработанной для решения обратной фазовой задачи перекрывающихся ROI, либо метода Люси-Ричардсона [30]) уступают по эффективности аппаратным оптическим реализациям инкрементации разрешения SIM. В то же время, применение перестраиваемой по фокусу, а также адаптивной оптики для варьирования увеличения SIM [31,32], чреватое aberrациями [33], не может считаться оптимальным, в отличие от схем микроскопии без оптического тракта [28], в которых aberrации невозможны.

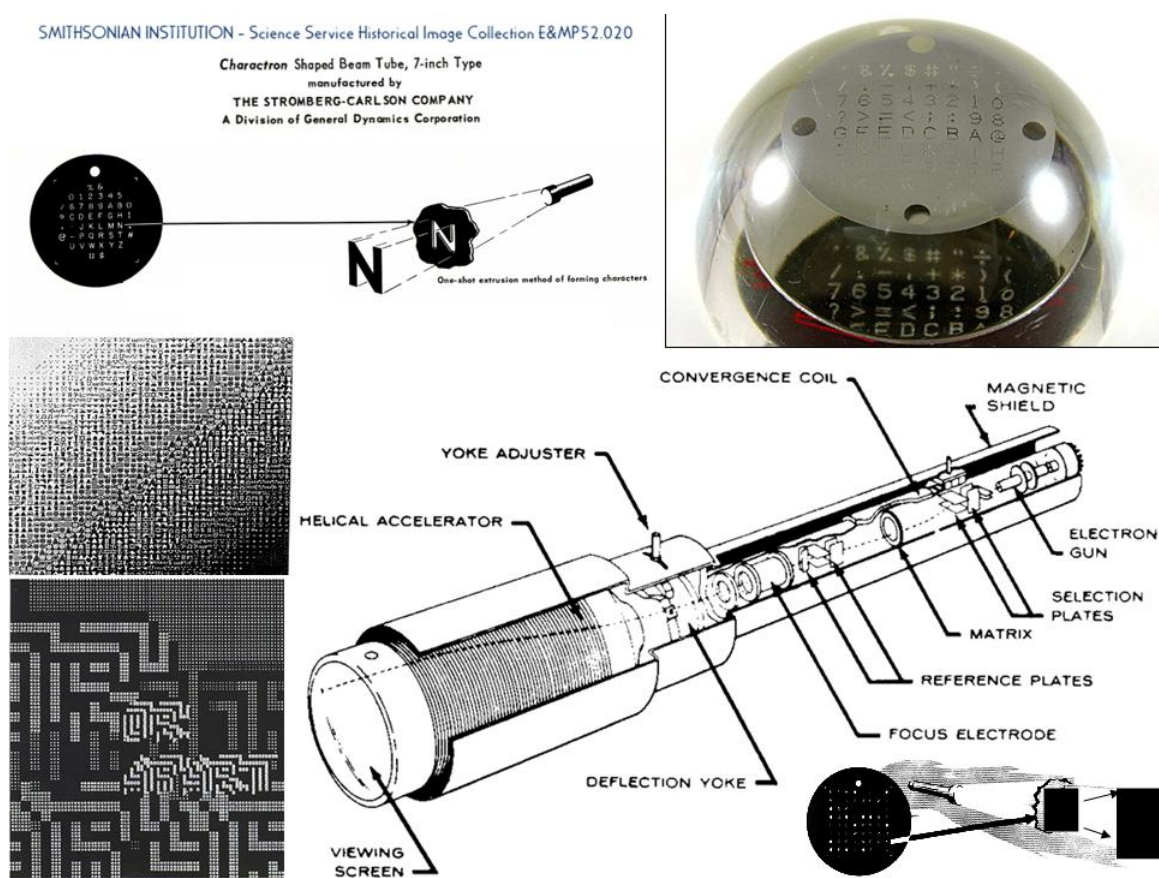


Рис. 4. Схема трассирования пучка в характроне, изображение его маски-генератора (справа сверху), принципа проецирования (в правом нижнем и левом верхнем углу) и характеристических паттернов дискретного (слева внизу) и точно-градиентного (слева выше) типов формирования изображения на люминофоре.

Таким образом, в случае «идеального конструкторского решения» (АРИЗ): необходима сканирующая система с варьруемым паттерном облучения / ROI, соотносимым с масштабом сканирования, но достаточно жестким и стабильным (не флуктуирующим при

каждом проходе сканирующего пучка), регулярно-воспроизводимым и оптически-жестким паттерном проекции (как дифракционная решетка или эшшеле), не выдающим aberrации.

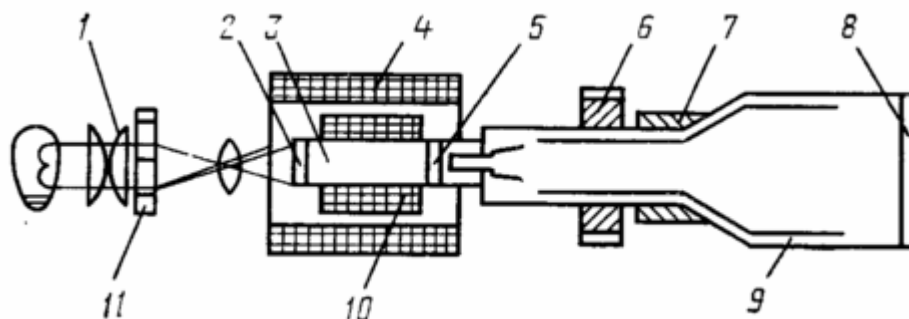


Рис. 5. Схема композитрона: 1 - проекционная система; 2 - фотоэмиссионный катод; 3 - первый анод; 4 - фокусирующая катушка ("дефлектор"); 5 - селектор; 6 - катушка; 7 - адресная система; 8 - люминофор; 9 - второй анод (<http://www.ngpedia.ru/pngs/019/0197Zj143019v4I3M9t4.png>).

Новизна

Нами предлагается использовать для этих целей электронно-лучевые трубки специальной конструкции, принцип действия которых эквивалентен знакопечатающим трубкам / индикаторам – характронам, тайпотронам или композитронам. Данные трубки характеризуются наличием двух отклоняющих систем, между которыми находится трафарет. Схема трассирования пучка в тайпотроне и фотографии данной электронно-лучевой трубки приведены на рис. 1, её технические характеристики, по данным брошюры фирмы – производителя и разработчика, даны на рис. 2, процедура изготовления и тестирования, по тем же данным, на рис. 3. Схема трассирования пучка в характроне, изображение его маски-генератора, принципа проецирования и характеристических паттернов дискретного (слева внизу) и точно-градиентного (слева вверху) проецирования приведены на рис. 4. Схема композитрона с расшифровкой приведена на рис. 5.

В отличие от стандартных трубок данного типа, трафареты которых проецируют на люминофор знаки алфавита, нами предлагается создание на отпаиваемых трубках систем сканирования с трафаретами, содержащими не знаковую или пиктографическую запись, а оптически-оптимальные структуры, проекционное возбуждение с которых на люминофоре может быть полезно для создания систем структурированного освещения для микроскопии, а также – в случае возбуждения флуоресценции в заданных ROI специальной формы для методов FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching). Технически это реализуемо, поскольку, несмотря на устаревание и утерю технологий массового выпуска

радиоламп и ЭЛТ, сохранились, во-первых, знакопечатающие индикаторы, способные стать прототипом аппаратуры сканирования², во-вторых – патентная документация³, в-третьих, первичные приоритетные статьи по каждому типу приборов: характронам [34-38] (и не публиковавшиеся отчеты и диссертации [39-41]), тайпотронам [42]⁴, композитронам [43]⁵. Рационально использование их как прототипов при стеклодувном изготовлении либо – использование их в качестве «каннибализируемых» элементов, откачиваемых на вакуумных постах при замене трафарета (однако это не дает эффекта).

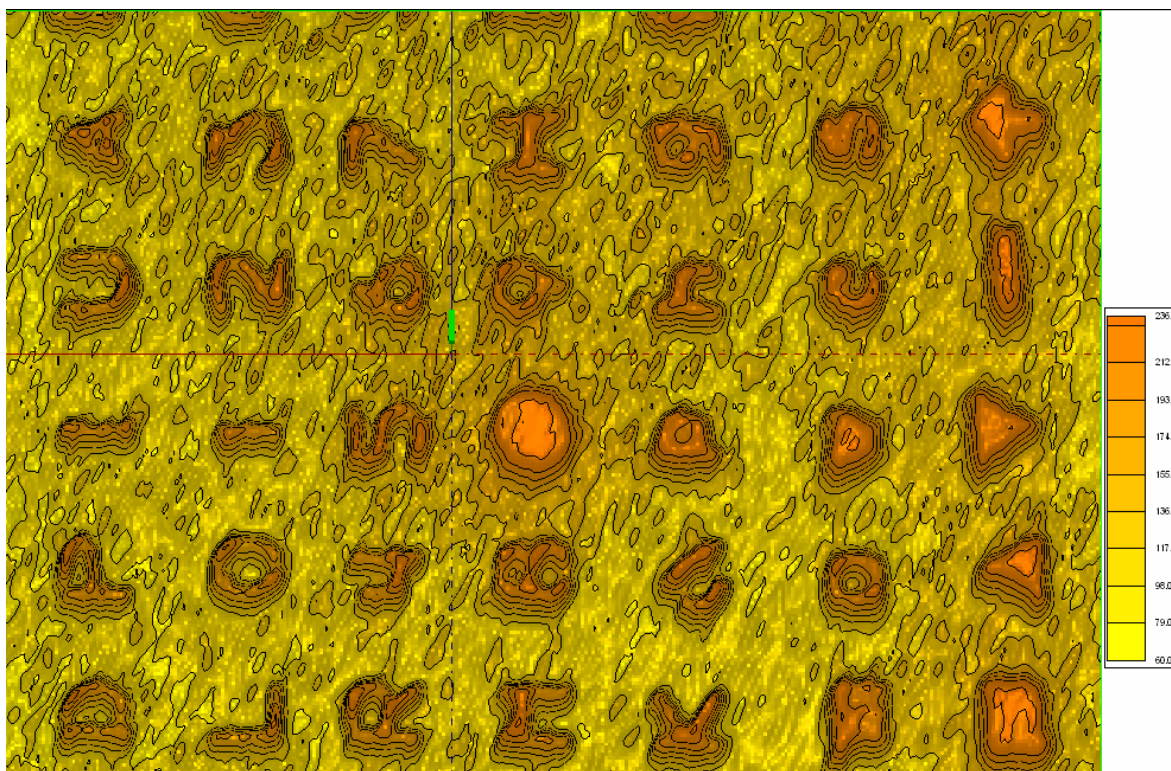


Рис. 6. Изофоты эмиссии характроного генератора паттернов (Charactron Character Generator).

Одним из авторов данной статьи, С.К. Панкратовым, реализована программная симуляция системы (геометрий характрона, композитрона и тайпотрона) с использованием

² В быв. СССР – 13ЛНС1, 13ЛС3, 18ЛС4А-1, 18ЛС4А-2, 18ЛС4А-3, 18ЛС4А-4, 18ЛС4А-5, 18ЛС4А-6, 18ЛС4И, 43ЛС9И, 43ЛС9И-1, 43ЛС9И-2, 45ЛС6, 45ЛС7Н, 45ЛС8И, 51ЛС1, 51ЛС2; в США – 19-дюймовые CRT СНТ-61, СНТ-62-1, СНТ-72-2, СНТ-73, СНТ-75, СНТ-80, Convair U*-1, 0082, 0083, 0208 трубки-характроны, согласно С.30 Меморандума No. 6М-3674 {Massachusetts Institute of Technology}.

³ Патенты СССР: 63401, 74659, 316133, 892523 и др. Патенты США: 126626А, 2735956 А, 2824250 А etc.

⁴ Не считая недоступной в РФ 176-страничной работы Вольриха «Use of the 6577 Typotron Tube as a Digital Computer Read-out Device» 1959 г., зарегистрированной в Калифорнийском университете магистерской диссертации Бальдена «A High Speed Computer Readout System Using a Typotron» 1957 г. и 111-страничной итоговой отчетной работы Л. Мартина «Studies of the typotron-tube performance under simulated operational conditions» 1955 г.

⁵ См. также патенты США 3681777 А и др.

стандартной для подобных расчетов математики⁶, которая готовится к международной регистрации. Целью настоящего сообщения является фиксация приоритета по данному направлению. Иллюстрации полученных моделей, CAD/CAM/CAE-эскизы подобных сканирующих приборов для микроскопии и чертежи установок данного назначения приводятся в документации к программному обеспечению как обучающие примеры. На цифровых геометрических «фантамах» иллюстрируется эвристическая ценность данных методов / алгоритмов. Изофоты эмиссии характерного генератора паттернов (Charactron Character Generator) и барельефные профили эмиссии (3D Luminance Surface; по изофотам – изолиниям освещенности) характерного генератора паттернов (Charactron Character Generator) с учетом рассеяния и отражения приведены на рис. 6, рис. 7 соответственно. Вполне очевидно, что при изготовлении специальных масок (под разные типы ROI и геометрии / топологии проецируемого пучка для микроманипуляций по Чахотину [44], FRAP-методов [45-49], хеометрической ультрамикроскопии [50,51] (на CR-трубках с ультрафиолетовыми спектрально-селективными люминофорами)) возможно достичь произвольной геометрии пучка и воздействовать на микроскопируемый объект в тех зонах, которые нужно облучать при эксперименте, не воздействуя на те зоны, которые облучать не нужно. Иными словами при использовании данных геометрий трубок, возможна реализация идеологии и принципов «согласованного фильтра» с позиционной чувствительностью.

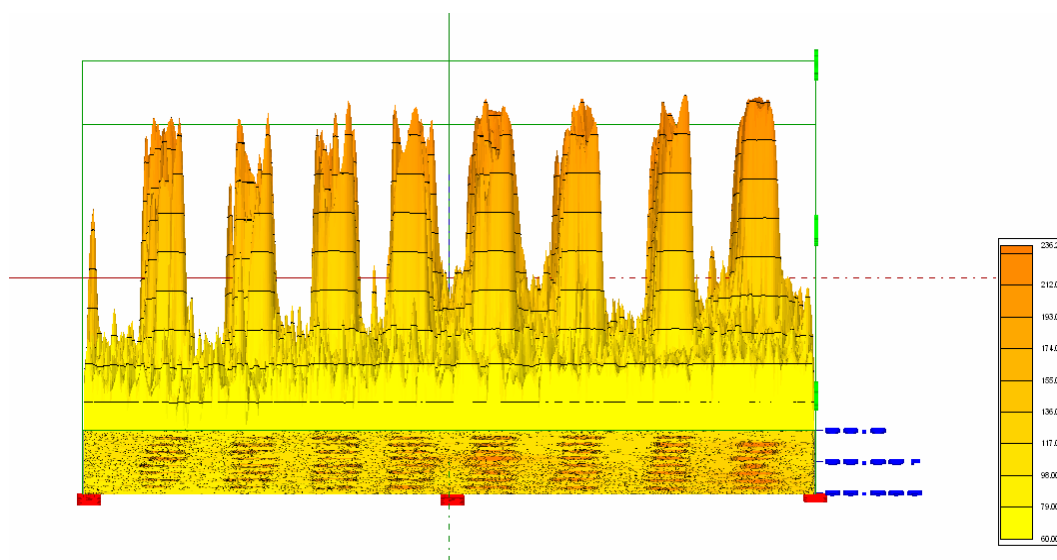


Рис.7. Барельефные профили эмиссии (3D Luminance Surface; по изофотам – изолиниям освещенности) характерного генератора паттернов (Charactron Character Generator) с учетом рассеяния и отражения.

⁶ Методы Монте-Карло в моделях переноса излучения, программно реализуемые на MCNP {Los Alamos National Laboratory, LANL}, Geant3 либо Geant4 {Conseil Européen pour la Recherche Nucléaire, CERN}, FLUKA {Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Repubblica Italiana, INFN совместно с Conseil Européen pour la Recherche Nucléaire, CERN} и др.).

Список литературы

1. Chu K., McMillan P.J., Smith Z.J., Yin J., Atkins J., Goodwin P., Wachsmann-Hogiu S., Lane S. Image reconstruction for structured-illumination microscopy with low signal level // *Opt. Express.* – 2014, v. 22, №7, p. 8687-8702.
2. Allen J.R., Ross S.T., Davidson M.W. Structured illumination microscopy for superresolution // *ChemPhysChem.* – 2014, v. 15, № 4, p. 566-576.
3. Park J.H., Lee J.Y., Lee E.S. Enhancing the isotropy of lateral resolution in coherent structured illumination microscopy // *Biomed. Opt. Express.* – 2014, v. 5, № 6, p. 1895-1912.
4. Somekh M., Hsu K., Pitter M. Resolution in structured illumination microscopy: a probabilistic approach // *Journ. Opt. Soc. Am. A.: Opt. Image Sci. Vis.* – 2008, v. 25, № 6, p. 1319-1329.
5. Somekh M., Hsu K., Pitter M. Stochastic transfer function for structured illumination microscopy // *Journ. Opt. Soc. Am. A.: Opt. Image Sci. Vis.* – 2009, v. 26, № 7, p. 1630-1637.
6. Beversluis M.R., Bryant G.W., Stranick S.J. Effects of inhomogeneous fields in super-resolving structured-illumination microscopy // *Journ. Opt. Soc. Am. A.: Opt. Image Sci. Vis.* – 2008, v. 25, № 6, p. 1371-1377.
7. Winter P.W., York A.G., Nogare D.D., Ingaramo M., Christensen R., Chitnis A., Patterson G.H., Shroff H. Two-photon instant structured illumination microscopy improves the depth penetration of super-resolution imaging in thick scattering samples // *Optica.* – 2014, v. 1, № 3, p. 181-191.
8. Ingaramo M., York A.G., Wawrzusin P., Milberg O., Hong A., Weigert R., Shroff H., Patterson G.H. Two-photon excitation improves multifocal structured illumination microscopy in thick scattering tissue // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2014, v. 111, № 14, p. 5254-5259.
9. Patorski K., Trusiak M., Tkaczyk T. Optically-sectioned two-shot structured illumination microscopy with Hilbert-Huang processing // *Opt. Express.* – 2014, v. 22, № 8, p. 9517-9527.
10. Zhou X., Lei M., Dan D., Yao B., Qian J., Yan S., Yang Y., Min J., Peng T., Ye T., Chen G. Double-exposure optical sectioning structured illumination microscopy based on Hilbert transform reconstruction // *PLoS One.* – 2015, v. 10, № 3, Art. No. e0120892, p. 1-9.
11. Blau Y., Shterman D., Bartal G., Gjonaj B. Double moiré structured illumination microscopy with high-index materials // *Opt. Lett.* – 2016, v. 41, № 15, p. 3455-3458.

12. Zhao M., Zhang H., Li Y., Ashok A., Liang R., Zhou W., Peng L. Cellular imaging of deep organ using two-photon Bessel light-sheet nonlinear structured illumination microscopy // *Biomed. Opt. Express.* – 2014, v. 5, № 5, p. 1296-1308.
13. Wei F., Liu Z. Plasmonic structured illumination microscopy // *Nano Lett.* – 2010, v. 10, № 7, p. 2531-2536.
14. Wei F., Lu D., Shen H., Wan W., Ponsetto J.L., Huang E., Liu Z. Wide field super-resolution surface imaging through plasmonic structured illumination microscopy // *Nano Lett.* – 2014, v. 14, № 8, p. 4634-4639.
15. Ponsetto J.L., Wei F., Liu Z. Localized plasmon assisted structured illumination microscopy for wide-field high-speed dispersion-independent super resolution imaging // *Nanoscale.* – 2014, v. 6, № 11, p. 5807-5812.
16. Ponsetto J.L., Wei F., Liu Z. Correction // *Nanoscale.* – 2016, v. 8, № 6, p.3848.
17. Su Y., Chiu K., Chang N., Wu H., Chen S. Study of cell-biosubstrate contacts via surface plasmon polariton phase microscopy // *Opt. Express.* – 2010, v. 18, № 19, p. 20125-20135.
18. Kubo A., Pontius N., Petek H. Femtosecond microscopy of surface plasmon polariton wave packet evolution at the silver/vacuum interface // *Nano Lett.* – 2007, v. 7, № 2, p. 470-475.
19. Tanaka T., Yamamoto S. Laser-scanning surface plasmon polariton resonance microscopy with multiple photodetectors // *Appl. Opt.* – 2003, v. 42, № 19, p. 4002-4007.
20. Schlücker S. SERS microscopy // *ChemPhysChem.* – 2009, v. 10, № 9-10, p. 1344-1354.
21. Palonpon A., Ando J., Yamakoshi H., Dodo K., Sodeoka M., Kawata S., Fujita K. Raman and SERS microscopy for molecular imaging of live cells // *Nat. Prot.* – 2013, v. 8, № 4, p. 677-692.
22. Wilson A.J., Willets K.A. Visualizing site-specific redox potentials on the surface of plasmonic nanoparticle aggregates with superlocalization SERS microscopy // *Nano Lett.* – 2014, v. 14, № 2, p. 939-945.
23. Salehi M., Steinigeweg D., Ströbel P., Marx A., Packeisen J., Schlücker S. Rapid immuno-SERS microscopy for tissue imaging with single-nanoparticle sensitivity // *Journ. Biophotonics.* – 2013, v. 6, № 10, p. 785-792.
24. Meyer S.A., Auguié B., Le Ru E.C., Etchegoin P.G. Combined SPR and SERS microscopy in the Kretschmann configuration // *Journ. Phys. Chem. A.* – 2012, v. 116, № 3, p.1000-1007.

25. Lukeš T., Křížek P., Švindrych Z., Benda J., Ovesný M., Fliegel K., Klíma M., Hagen G.M. Three-dimensional super-resolution structured illumination microscopy with maximum a posteriori probability image estimation // *Opt Express.* – 2014, v. 22, № 24, p. 29805-29817.
26. Schermelleh L., Carlton P.M., Haase S., Shao L., Winoto L., Kner P., Burke B., Cardoso M.C., Agard D.A., Gustafsson M.G., Leonhardt H., Sedat J.W. Subdiffraction multicolor imaging of the nuclear periphery with 3D structured illumination microscopy // *Science.* – 2008, v. 320, № 5881, p. 1332-1336.
27. Chang B., Chou L., Chang Y., Chiang S. Isotropic image in structured illumination microscopy patterned with a spatial light modulator // *Opt. Express.* – 2009, v. 17, № 17, p. 14710-14721.
28. Skrynnik A. Laser scanning biological microscope for non-invasive studies of the cell structures without fluorescent dyes // *Super-resolution in different dimensions (SRDD 2015)*, p. 87.
29. Mandula O., Kielhorn M., Wicker K., Krampert G., Kleppe I., Heintzmann R. Line scan-structured illumination microscopy super-resolution imaging in thick fluorescent samples // *Opt. Express.* – 2012, v. 20, № 22, p. 24167-24174.
30. Chakrova N, Rieger B, Stallinga S. Deconvolution methods for structured illumination microscopy // *Journ. Opt. Soc. Am. A.: Opt. Image Sci. Vis.* – 2016, v. 33, № 7, p. B12-B20.
31. Débarre D., Botcherby E.J., Booth M.J., Wilson T. Adaptive optics for structured illumination microscopy // *Opt. Express.* – 2008. – Vol. 16, № 13, p. 9290-9305.
32. Hinsdale T., Malik B.H., Olsovsky C., Jo J.A, Maitland KC. Volumetric structured illumination microscopy enabled by a tunable-focus lens // *Opt. Lett.* – 2015, v. 40, № 21, p. 4943-4946.
33. Arigovindan M., Sedat J.W., Agard D.A. Effect of depth dependent spherical aberrations in 3D structured illumination microscopy // *Opt. Express.* – 2012, v. 20, № 6, p. 6527-6541.
34. Harris W.P., Green B.F., Wilson E.A., Liaudansky L. H. The design of characters for the charactron // *Mass. Inst. Tech., Lincoln Laboratory Technical Report.* – 1956, №. 117, p. 1-25.
35. Ferber B. The use of the charactron with ERA 1103 // *AIEE-IRE'56 {Feb. 7-9, 1956}*, - p. 34-36.
36. McNaney J.T. The Charactron // *Proc. Inst. Radio Engin.* – 1952, v. 40, №. 2, p. 231.

37. McNaney J. T. The C19K Charactron // Proc. Inst. Radio Engin. – 1955, v. 43, №. 3, p. 354-355.
38. Rosendahl G.R. Determination of resolution of a charactron tube by Fourier analysis // Journ. Opt. Soc. Amer. – 1963, v. 53, №. 11, p. 1341.
39. Tandy P. C. Investigation of factors affecting life of charactron tubes. – 1955 (Diss. Thesis).
40. D'Antonio N.F. A study of in-air thermoplastic recording of charactron CRT displays // “General Electric” Fin. Tech. Rep. – 1966, Acces. Num.: AD0803284 (5 Jul.1965 – 5 Aug. 1966), p. 1-72.
41. Brahan J. W. Flight plan correlation using the Charactron // Report (Nat. Res. Counc. of Canada; Radio and Electrical Engineering Division). – 1957, № ERB-448, p. 1-24.
42. Smith H. M. The Typotron-A Novel Character-Display Storage Tube // Proc. Inst. Radio Engin. – 1955, v. 43, №. 3, p. 373-373.
43. Kistler R.J. The compositron – A developmental printing tube for computer output // Proc. Intern. Electr. Dev. Meeting – 1957, p. 112.
44. Jablovkov A., Skrynnik A., Gradov O. Applications of tunable diode lasers and the tunable laser diode spectroscopy in tschachotin's microbeam setups for irradiation of biological tissues, cells and cellular compartments with positional selectivity // Journal of Physical Chemistry & Biophysics. — 2015, v. 5, № 3, p. 74.
45. Alexandrov P. , Notchenko A. , Gradova M. , Gradov O. Simultaneous in situ detection of the optical fluorescence, fluorescence recovery kinetics after photobleaching & membrane ion flux on the electrophysiological lab-on-a-chip / // American Journal of Optics and Photonics. — 2015, v. 3, № 5, p. 118–122.
46. Jablow A., Gradov O. “MS-FRAP or MALDI Imaging Setups With Programmable Laser Sources: a New Way to the Diffusion, Molecular Mobility and Binding Measurements”, 63-rd ASMS Conf. on Mass Spectr. & Allied Topics (2015) DOI: 10.13140/RG.2.1.4919.1841
47. Jablow A., Gradov O. “Verifying Continuity of Membranous Organelles and Measurements of Exchange Rate Between the Nucleus and Cytoplasm using FLIP-Like MALDI-Based Imaging”, 63-rd ASMS Conf. on Mass Spectr. & Allied Topics (2015) DOI: 10.13140/RG.2.1.2322.3203
48. Orekhov F. K., Jablovkov A. G., Skrynnik A. A. Hybridization of laser-induced spectrofluorescence analysis (LIFS), matrix-assisted laser desorption / ionization mass spectrometry (MALDI), fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) and fluorescence

- loss in photobleaching (FLIP) microtechnics // Journal of Biomedical Technologies. — 2016, no. 2, p. 42–52. {DOI: 10.15393/j6.art.2016.3702}
49. Jablokow A., Orehov F. Hybridization of the position sensitive tunable laser diode microspectroscopy and laser ionization mass spectrometry on the scanning microscopic stage for multiparametric colocalization imaging // JBI (CERN). — 2016, no. 47012 [Art. pub. via ZENODO | DOI: 10.5281/ZENODO.47012].
50. Gradov O.V. (comp.) Chemometric microscopy and mapping (Lecture Course). – AcademicPub. / Ambassador Education Solutions. {<http://istina.msu.ru/courses/13236898/>}
51. Gradov O.V. Experimental setups for ozonometric microscopy // Biomedical Engineering. — 2013, v. 46, № 6, p. 260–264.
-

UDC 621.385.832.82

TYPOTRON-LIKE, CHARACTRON-LIKE AND COMPOSITORN-LIKE MICROSYSTEMS FOR TRANSMISSION AND FLUORESCENCE SIM

Orehov F.K., Pankratov S.K., Skrynnik A.A., Jablokow A.G.

Russia, Moscow, INEPCP RAS

A recent progress in microscopic techniques resulted in the development of the scanning optical laser fluorescent microscopes and SIM-microscopes (Structured Illumination Microscopy). The former ones operate using galvanometer scanners and acousto-optic deflectors, while the latter constructions are based on the arrays synthesizing a desired illumination pattern in the plane coupled with the focal one. The pattern-induced fluorescence depends on its position and shape. We propose to apply for the same purposes of the pattern generation and fluorescence

induction cathode-ray tubes of a special design, with the operation principles similar to those of the storage tubes / indicators – charactrons, typotrons and compositrons. Such tubes include two deflecting systems with the stencil between them. Unlike the standard cathode-ray tubes with the stencils projecting the alphabetic symbols to the luminophore, we propose to design within the tubes a scanning system with the stencils containing the optically suitable structures providing projected excitation on the luminophore, which can be used for designing of the structured illumination systems for microscopic applications, as well as for FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) techniques when the fluorescence is to be excited within the given areas (ROI) with the special shape.

Keywords: Structured Illumination Microscopy (SIM), typotron, charactron, compositron, Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP), cathodoluminescence microscopy, cathode ray tubes