

# Лазерные «скиатронно-хроматронные системы», моноскопы и потенциалоскопы для трансмиссионной и флуоресцентной микроскопии (и микроспектрометрии) структурированного освещения с электронным возбуждением кристаллофосфора

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 имэджингу<sup>1</sup>

В качестве систем сканирования и формирования ROI произвольной специальной геометрической формы (паттерна структурированного освещения) для установок микроскопии структурированного освещения (SIM) можно использовать электронно-лучевые трубки, адекватные широко известным с середины XX века тайпотронам, характронам и композитронам. Соответствующие системы были промоделированы ранее с использованием методов Монте-Карло, используемых в моделях переноса излучения. Результирующие установки сканирующего типа с катодолюминесцентной иллюминацией получают рабочие наименования установок «тайпотронной растровой микроскопии структурированного освещения» (CRT-TS-SIM), «характронной растровой микроскопии –||–» (CRT-CS-SIM) и «композитронной растровой микроскопии –||–» (CRT-CompoS-SIM), объединяемых аббревиатурой CDT-SIM (character display tube /assisted/ structured illumination microscopy). В ходе предварительных работ был выявлен ряд недостатков этих микроскопических систем, обусловленных свойствами трубок-прототипов. Нами предлагается комплексное, но дифференцированное решение данных недостатков, основанное на советском заделе в области инжиниринга лазерных электронно-лучевых трубок для различных спектральных диапазонов. Для них решается проблема стабильности паттерна и времени его физического сохранения. Кроме того, решается противоречие между негибкостью и неперестраиваемостью паттерна структурированного облучения и ROI при использовании трубок, прототипами которых являются моноскоп и титоскоп, с одной стороны, и нестабильностью паттерна облучения при использовании в качестве прототипа запоминающих трубок со сравнительно небольшим временем хранения, с другой стороны.

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

## Введение

В препринте [1] (и выходящей на его основе сокращенной статье) нами было показано, что в качестве систем сканирования и формирования ROI произвольной специальной геометрической формы (паттерна структурированного освещения) для установок

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

микроскопии структурированного освещения (SIM) можно использовать электронно-лучевые трубки, адекватные широко известным с середины XX века тайпотронам, характеристронам и композитронам. Соответствующие системы были промоделированы, в частности, с использованием методов Монте-Карло, используемых в моделях переноса излучения, а впоследствии начаты эксперименты по откачиваемым прототипам реальных систем данной функциональной направленности. Результирующие установки сканирующего типа с катодоллюминесцентной иллюминацией получают рабочие наименования установок «тайпотронной растровой микроскопии структурированного освещения» (CRT-TS-SIM), «характернонной растровой микроскопии –||–» (CRT-CS-SIM) и «композитронной растровой микроскопии –||–» (CRT-CompoS-SIM), объединяемых аббревиатурой CDT-SIM (character display tube /assisted/ structured illumination microscopy). В ходе предварительных работ был выявлен ряд недостатков этих микроскопических систем, обусловленных неотъемлемыми свойствами трубок-прототипов:

1. Излучение трубок некогерентно (то есть – не может быть использовано в технологиях SIM фазового типа [2-4]) и не поляризовано (т.е. невозможен выигрыш в разрешении за счет поляризационно-селективного детектирования [5,6]). Необходима разработка и внедрение фазово-транспарантного метода.
2. Хотя в ряде методов SIM используется некогерентное детектирование, это не отменяет задачи интенсивного возбуждения флуоресцентного образца (так как стандартным для микроскопии структурированного пучка получением окрашенных препаратов является флуоресцентная *in situ* гибридизация [7,8]). Лазерное возбуждение позволяет работать в режиме насыщенной флуоресценции с нелинейной зависимостью потока выходящих фотонов флуоресценции от плотности потока фотонов возбуждающего излучения. Это широко используется в методах нелинейной SIM и её гибридах с STED-микроскопией (англ. Stimulated Emission Depletion Microscopy — микроскопия на основе подавления спонтанного испускания) [9-12]. Развитие двухфотонных и многофотонных технологий SIM [13-16] говорит о потребности создания лазерных источников структурированного освещения с заданным паттерном иллюминации / высвечиваемым ROI.
3. Сканирование модулированным лазерным когерентным пучком [17,18], некогерентное облучение пучком с заданным профилем (паттерном) облученности в многофотонном режиме [19], SIM с использованием некогерентного отражения [20], «виртуализация» паттерного формата при пост-процессинге файлов с

выделением требуемого ROI [21] – требуют качественно отличных трубок либо качественно различных режимов работы трубки. Нужно разработать универсальную трубку – либо поддержку многих режимов.

4. Одни знакопечатающие электронные трубки относятся к схемам мгновенного действия (трассировка электронного пучка с пушки происходит с помощью электростатической отклоняющей системы, также называемой первой адресной системой, системой выбора знаков; после фокусирующей катушки луч падает на компенсирующую отклоняющую систему, а затем на вторую адресную отклоняющую систему: электростатическую или магнитную, после чего направляется на люминофор, зачастую содержащий два уровня преобразования), а другие – к схемам с запоминанием (в тракт пучка, дополнительно к элементам схемы трубок мгновенного действия, вводится сетчатая преэкспозиционная мишень перед экраном, аналогично наличествующим в схемах запоминающих ЭЛТ). В связи с этим существует неполное перекрытие между потребностями режимов по п. 3 и возможностями потенциально исполняющих их трубок по п. 4. Например: характроны не обладают свойствами запоминания, имея несменяемую матрицу знаков, то есть – их паттерны воспроизводятся только в течение времени действия электронного луча, записывающего знаки, и времени послесвечения люминофора; у тайпотронов паттерн, записанный однократно, но перезаписываемый и меняемый неограниченное число раз, эмитирует фотоны любое время до точки стирания соответствующих сигнатур с поля люминофора (принудительного). Качественно иной характер действия характеризует композитрон, в котором матрица вынесена за пределы трубки, а изображение ее знаков вводится в трубку с помощью проекционных оптических систем и фотоэмиссионного катода (естественно – полупрозрачного) – без ввода отклоняющих и компенсирующих пластин; при этом является возможным использование произвольных сменных матриц проецируемых паттернов, что дает возможность адаптации композитронов для техники SIM-микроскопии практически без конструктивных изменений. Нечто подобное также относится к трубкам типа 45ЛС8И, допускающим наложение оптической проекции на изображение, формируемое электронным способом. Как и в случае с композитронами, единственным неудобством (при абсолютной для наших задач геометрии трассировки) являются габариты соответствующих трубок, даже без учета обвязки. Потому, в идеале речь должна идти о воспроизведении

соответствующих схем трассировки в специально проектируемых трубках, что нереализуемо в имеющихся условиях.

5. Сканирующий режим трубок можно синхронизовать со сканирующим режимом систем считывания, как в методах SIM линейного сканирования. Более того, в случае успеха в воспроизведении геометрии трубок множественной проекции, можно формировать не только гибридные катодолюминесцентные паттерны, но и гибридизовать технологии сканирования оптической и электронной микроскопии, пространственно разделенные в случае SIM [22] (аналогично техникам корреляционной флуоресцентной и электронной микроскопии [23] или корреляционной световой и электронной микроскопии [24]).
6. Спектральные длины волн катодолюминесценции у большинства широкоупотребимых фосфоров не совпадают с длинами волн возбуждения широкоупотребимых красителей молекулярно-биологического и иммунофлуоресцентного назначения. Перестраиваемой по длинам волн катодолюминесцентной среды в промышленном виде не существует.



Рис. 1. Фотография скиатрона и первое упоминание о нем в массовой открытой радиопечати.



Рис. 2. Примеры моноскопических электронно-лучевых трубок и изображения их паттерн-генераторов.

Нами предлагается комплексное, но дифференцированное решение указанных недостатков, основанное на советском заделе в области инжиниринга лазерных электронно-

лучевых трубок (для различных спектральных диапазонов), способных работать при комнатной температуре [25-29], то есть - пригодных к использованию для микроскопии живых тканей *in vivo* и *in situ* при нормальных температурах. Возможность использования пониженного напряжения (20-30 кВ вместо 50-70 кВ) в методах микроскопии с размещением образца на источнике, а объектива – над ним, существенно уменьшает паразитные наводки, что позволяет реализовывать электрофизиологические методики в переживающем препарате, находящемся над трубкой по ходу оптического тракта [30]. Внедрение лазерных ЭЛТ в СИМ позволяет работать в сканирующем режиме [31], так как, по общеизвестному определению, «электроннолучевая трубка с лазерным экраном представляет собой сканирующий лазер» [32].

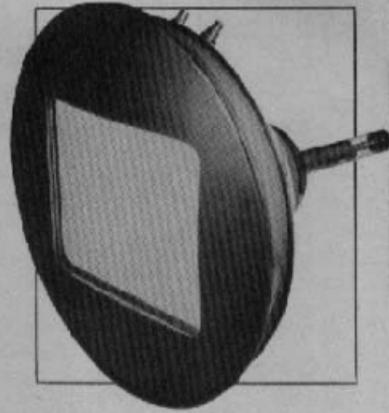


**Рис. 2.** Потенциалоскопы ЛН-14-1, ЛН-16К, ЛН-5 (справа налево).

# ADVANTAGES OF THE CHROMATRON

## A SINGLE GUN TRI-COLOR TELEVISION TUBE

RETMA #23AP22  
The Model PDF 22-4 single-gun Chromatron has



- WIDE DEFLECTION ANGLE -  $72^\circ$ , which makes it a
- SHORT TUBE - Its overall length for the  $22\frac{1}{2}$ " picture tube is 22". It gives a
- LARGE PICTURE - over 60% larger than the three-gun shadow mask tube. It produces a
- BRIGHT PICTURE - at an anode voltage of 18 KV, the brightness measured through a 66% efficient filter face plate is above 50 ft. lamberts in the highlights. It requires
- LOW RASTER SCANNING POWER - the deflected beam is only  $1/4$  the potential of the final acceleration, and
- LOW COLOR DEFLECTION POWER - for 3.58 mc switching with the NTSC system, 25 to 30 watts dc power input.
- RESOLUTION - in the horizontal direction is equivalent to present black and white, in the vertical direction, limited only by the number of color strips, totaling 720.

# LITTON INDUSTRIES

Electronic Display Laboratory, 1476 Sixty-sixth Street  
Emeryville, California • Telephone OLYmpic 8-3831

## CHROMATRON®

Licensed under U.S. patents of Chromatic Television Laboratories, Inc.



TYPE PDF 10-1X

DEVELOPMENT TUBE: MODEL PDF 10-1X  
SINGLE-GUN COLOR TUBE  
ROUND METAL SHELL  
ALUMINIZED SCREEN  
TWO-COLOR PERSISTENT PHOSPHORS  
ACTIVE SCREEN AREA OVER  $6\frac{1}{2}$ " DIAMETER  
SCREEN VOLTAGE UP TO 18,000 VOLTS

High resolution is afforded by phosphor strips of approximately 8 mils width on  $12\frac{1}{2}$  mil centers, or 80 color strips per inch. Sensitivity to external magnetic fields is low, and operation is not adversely affected by the earth's magnetic field due to changes in aircraft course or attitude. Simple circuitry is adequate for power supplies and color switching. Color convergence is inherent in the tube independent of circuit adjustment.

Deflection Angle (Approx.)  
Length  
Weight

$34^\circ$   
20 $\frac{1}{4}$  in.  
11 $\frac{1}{4}$  lbs.

### \*MAXIMUM RATINGS

Screen (ultor) voltage (Note 1)  
Grid #3 voltage  
Grid #2 voltage  
Color selector voltage  
Color grid to phosphor plate  
Seeker voltage (Note 2)  
Grid #1 voltage:  
Negative bias value  
Positive bias value  
Positive peak value

max. volts  
18,000 DC  
8,000 DC  
600 DC  
400 peak  
13,500 DC  
350 DC  
200  
0 DC  
2

Рис. 2. Сканы документации промышленных трихроматических спектрональных хроматронов с перечисленными качественными и количественными техническими характеристиками.

При этом возможна реализация методов голографической микроскопии, замещающих известные потребности современных прогрессивных SIM в объемной реконструкции, реализуемой, как правило, с помощью цифровых вычислительных машин [33]; в случае голографической SIM и смежных методов, реализуемых с помощью лазерных ЭЛТ, это реализуется методами аналоговой или гибридной аналого-цифровой оптической вычислительной обработки [34]. Голография на ЭЛТ с лазерным экраном [32,35,36] широко известна, элементарно реализуется и имплементируема для SIM. При этом возможно улучшение параметрики изображения, разрешения – за счет технологий фазовой голографии и фазовой интерферометрии [36]. При этом можно профилировать паттерн за счет использования масок специальной формы, аналогично работе моноскопов / титоскопов, но так как возможно создание запоминающих лазерных ЭЛТ с использованием МНОП-структур [37], тип паттерна SIM может временно вводиться в ОЗУ на лазерной ЭЛТ – аналогично принципам работы ЗУ на знакопечатающих трубках с запоминанием. Таким образом нивелируется противоречие меж потенциалоскопами, характронами, тайпотронами и композитронами – в аспекте их использования их как прототипов в SIM в случае использования их лазерных аналогов запоминанием на МНОП.

## Проблемы

Основной проблемой для любого флуоресцентного микроспектрального анализа, в том числе столь экзотических на первый взгляд, как предлагаются нами здесь, являются стойкость (к фотообесцвечиванию / фотовыжиганию) красителя [38-40]. Это же касается и люминофора электронно-лучевой трубки. Проблема стабильности паттерна и времени его физического сохранения является одной из теоретических и практических проблем, явно лимитирующих использование лазерных электронно-лучевых трубок в микроскопии структурированного освещения (SIM) с их использованием.

Явным является противоречие между негибкостью и неперестраиваемостью паттерна структурированного облучения и ROI при использовании трубок, прототипами которых являются моноскоп и титоскоп, с одной стороны, и нестабильностью паттерна облучения при использовании в качестве прототипа запоминающих трубок со сравнительно небольшим временем хранения, с другой стороны. Методы SIM, разработанные под стандартизированные маски, базирующиеся на использовании источников когерентного типа, прототипами которых по электронной оптике являются характрон и тайпотрон, не являются гибкими, но отличаются по возможностям хранения паттерна: ЭЛТ типа характрона с несменной матрицей не обладают свойствами запоминания, а их паттерны воспроизво-

дится только в течение времени действия электронного луча и времени послесвечения, если таковое не является пренебрежимо малым для данного рассмотрения; у тайпотронов паттерн, записанный однократно, но перезаписываемый и меняемый неограниченное число раз, эмитирует фотоны любое время до точки стирания соответствующих сигнатур с поля эмиттера – лазерного экрана в случае лазерных ЭЛТ.

Лазерные ЭЛТ, прототипами которых являются композитроны, в которых матрицы вынесены за пределы трубки, а изображение ее знаков вводится в трубку с помощью проекционных систем и полупрозрачного фотоэмиссионного катода, позволяют варьировать паттерны структурированного освещения и ROI, что является компромиссным решением. На физическом уровне часто проблема долгосрочного запоминания в запоминающих ЭЛТ в активном (люминесцирующем) режиме может быть сведена к проблеме стабильности люминофора, выгорающего под действием пучка. Поэтому возможность использования лазерных ЭЛТ в SIM также, зачастую, может быть сведена к проблеме деградации экрана.

Исследования деградации лазерных экранов сканирующих лазерных ЭЛТ, проводившиеся в СССР в 1970-х-1980-х гг. показали, что параметры деградации различны для различных составов экранов и связаны с собственными параметрами, в частности – излучательными характеристиками материалов, из которых они изготовлены [41-43]. Характерным примером являются лазерные экраны из монокристаллов сульфида кадмия [44,45], разрушающихся под действием собственного лазерного излучения [43] с воспроизводимыми характеристическими глубинами нарушенного слоя [42]. Можно строить состав-специфичные и структурно-специфичные зависимости параметров деградации для экранов / люминофоров разного состава, пользуясь методами QSPR, учитывая разнообразие сред и композитных структур потенциальных твердотельных лазерных излучателей и носителей записи в технологиях лазерной CRT-проекции (CdS и CdSe [44], ZnSe и ZnTe [46], соединения АПВVI [47] и др.; учитывая также специфичность эродирования катода, зависящую от состава, определяющего, в частности, параметрику выхода электронов [48] и катодного пятна вакуумной дуги [49], целесообразно учитывать химизм и структуру катодов лазерных ЭЛТ [50], ассоциируемые с выходом электронов и ионов [51]). Это позволяет сформулировать новые подходы к созданию SIM на лазерных ЭЛТ.

Учитывая, что при неизменности электронного пучка, возбуждающего излучение экрана (и обеспечивающего выгорание и деградацию слоев люминофора / активного тела) для каждой среды с известным химическим составом и структурой специфичны собственные длины волн излучения (спектрохимические дескрипторы), параметры высвечивания, кинетика затухания люминесценции, пороги разрушения и т.д., можно создать лазерную

ЭЛТ для SIM с несколькими спектроскопически различными компонентами излучающего (под действием возбуждающего пучка) экрана. Благодаря этому, можно обеспечить спектрально-зональную или мультиспектральную иллюминацию в SIM; более того, можно обеспечить отдельный паттерн структурированного освещения для каждого диапазона спектра, селективно визуализируя отдельные структуры клеток и тканей (лазерно-индуцированной флуоресценцией под действием излучения лазерных ЭЛТ, в частности). Возможно реализовать для этого также перестраиваемые лазерные ЭЛТ, изменив химизм твердотельных покрытий экранов (в частных случаях – пленок и монокристаллов), инспиративным примером чего может являться ряд широко известных работ по созданию твердотельных перестраиваемых лазеров (неорганических не на красителях – в особенности) [52-60]. Возможность создания перестраиваемых твердотельных лазеров под различные цветовые модели (кортежные описания и реализации цветовых координат в цветовом пространстве) за счет использования встроенных в трубку кристаллов преобразователей спектра (рамановских – см., например, конструкторскую работу [61], где использование кристалла  $\text{KGd}(\text{WO}_4)_2$  позволило реализовать дискретно-перестраиваемый твердотельный лазер – в зеленом, красном и желтом диапазоне) также позволяет реализовать перестраиваемые мультиспектральные лазерные ЭЛТ – без использования многокомпонентных экранов. Это целесообразно для анализа колокализации – когда в одной области исследуемого образца находятся несколько по-разному излучающих или поглощающих химических структур – в SIM. Однако следует понимать, что в случае мультикомпонентного экрана скорость деградации его компонент будет различной, а в случае монокомпонентного перестраиваемого – интенсивность свечения и кинетика затухания на разных длинах волн будет различной, что нужно учитывать как при проектировании, так и при регулярной проверке при разных режимах эксплуатации. Так или иначе, возможно создание разных по полноспектральным / колориметрическим характеристикам (цветовым пространствам) лазерных ЭЛТ для SIM, прототипом которых могут являться характроны и индексроны.

Селективная эффективность разных длин волн для деградации некоторого соединения или селективная восприимчивость разных соединений – компонент лазерных электронов к деградации при данных параметрах излучения (классический пример чего является разрушение монокристаллов  $\text{CdS}$  собственным лазерным излучением [43]) позволяет рационально использовать характеристики деградации проекционного экрана лазерной ЭЛТ – как предпосылки для записи информации о ROI или паттерна структурированного освещения на проекционном экране. Рационально рассматривать деградацию проекционных поверхностей и эрозию слоев [42] не как недостаток конструкции ЭЛТ, а как аналогию

записи в одной из простейших ЗЭЛТ (запоминающих электронно-лучевых трубок) – скиатроне, гибридируя принцип его работы на одних длинах волн (как трубки с т.н. темновой записью – с потемнением или выцветанием в месте падения электронного пучка) с принципами работы лазерных ЭЛТ на других длинах волн (с излучением в точке попадания пучка). Можно использовать ионные кристаллы и селективные тушители флуоресценции в качестве скиатронных элементов, комплементарных лазерной ЭЛТ. Управление положением пучка реализуемо при этом теоретически элементарным путём: след ROI по маске, образуемый при бомбардировке экрана пучком электронов обязан двигаться между электродами, между которыми лежит экран, от полюса к полюсу. Особенностью «скиатронного компонента» лазерных трубок, построенных по аналогии с проектором сменной маски (композитроном) состоит в необходимости обеспечения негативной полярности сигнала, модулирующего электронный пучок, чтобы минимальный ток соответствовал наиболее светлым областям. Потому может быть целесообразным разделение электронных пучков (общеизвестным примером чего являются пилотный и пишущий лучи в индекстронах, адресуемых электронным пучком трубках – ВІТ [beam-index tube]), возможно – с использованием более, чем одной электронной пушки. Гибридизация адресации (в «память», выполненную на люминофоре ЗЭЛТ) скиатронного элемента (экран представляет мозаичную структуру; на боковые поверхности матрицы могут быть нанесены указанные управляющие электроды) и индекстронного элемента (с обратной связью) в данном случае является возможным путём разделения эффектов скиатронного и индекстронного происхождения в построении паттерна структурированного освещения и зоны интереса (ROI) темнопольной микроскопической регистрации одновременно.

Следует указать на дополнительную возможность индексной адресации в таких гибридных трубках, которая была промоделирована нами, наряду с другими указанными: эмиттер электронов может быть заменен рентгеновским эмиттером с установкой сцинтилляторов в задней части трубки рядом с электронными пушками, в соответствии с техническими идеями Дэвида Гудмана (из Нью-Йоркского Университета) 1960-х гг. [62]; эквивалентно может быть использована как источник для возбуждения лазерной эмиссии нейтронная трубка (neutron generator tube), подобная используемым в нейтронно-активационном анализе [63], что сближает описанную схему на основе ускорительной трубки с принципами работы лазеров с ядерной накачкой [64], так как, согласно определению [65], «электроннолучевая трубка с лазерным экраном представляет собой сканирующий лазер», а техник накачки сканирующих лазеров, в том числе корпускулярных (по аналогии с ЭЛТ [66]) известно на данный момент несколько десятков. В разработанном

С.К. Панкратовым FTP-репозитории данных методов лазерные SIM с ядерной накачкой получили рабочую аббревиацию NPL-SIM, а методики с использованием нейтронных трубок – NGT-SIM. Технологии с использованием сцинтилляторов в качестве элементов лазерного экрана можно найти по тегу ScintCRT-SIM. К последним относятся, в частности, сульфид кадмия и сульфид цинка [67-71], использовавшиеся как компоненты лазерно-сканирующих ЭЛТ (и систематически использующиеся в сканирующей электронной микроскопии [70,71]). Являясь классическими сцинтилляторами для моделирования (и трассирования) методами Монте-Карло [72-77], подобные конструкции могут быть промоделированы на Geant4 и FLUKA; в частности, моделированию подвергаются характеристики скиатронного запоминания (посредством моделирования зональной и послойной деградации [36]) и лазерной генерации – перестраиваемой и в ТГц-диапазоне [77] в том числе. Поэтому имеет смысл рассчитывать лазерные скиатронно-хроматронные системы, моноскопы и потенциалоскопы для трансмиссионной и флуоресцентной микроскопии структурированного освещения с катодно-лучевой иллюминацией визуализируемого поля по тем же принципам, что и тайпотронные, характронные и композитронные системы для микроскопии структурированного освещения (флуоресцентной и трансмиссионной) с катодолюминесцентной иллюминацией – с использованием методов Монте-Карло и программных средств их имплементации.

### Список литературы

1. Тайпотронные, характронные и композитронные ЭЛТ-системы в трансмиссионной микроскопии структурированного освещения с катодолюминесцентной иллюминацией // Препринт ИНЭПХФ РАН – 2016. – с. 1-28.
2. Shao L., Winoto L., Agard D.A., Gustafsson M.G., Sedat J.W. Interferometer-based structured-illumination microscopy utilizing complementary phase relationship through constructive and destructive image detection by two cameras // Journ. Microsc. – 2012, v. 246, № 3, p. 229-236.
3. Wicker K., Mandula O., Best G., Fiolka R., Heintzmann R. Phase optimisation for structured illumination microscopy // Opt. Express. – 2013, v. 21, № 2, p. 2032-2049.
4. Wicker K. Non-iterative determination of pattern phase in structured illumination microscopy using auto-correlations in Fourier space // Opt. Express. – 2013, v. 21, № 21, p. 24692-24701.

5. Huang H.C., Chang B.J., Chou L.J., Chiang S.Y. Three-beam interference with circular polarization for structured illumination microscopy // *Opt. Express.* – v. 21, № 20, p. 23963-23977.
6. O'Holleran K., Shaw M. Polarization effects on contrast in structured illumination microscopy // *Opt. Lett.* – 2012, v. 37, № 22, p. 4603-4605.
7. Markaki Y, Smeets D, Cremer M, Schermelleh L. Fluorescence in situ hybridization applications for super-resolution 3D structured illumination microscopy // *Meth. Mol. Biol.* – 2013, v. 950, p. 43-64.
8. Markaki Y., Smeets D., Fiedler S., Schmid V.J., Schermelleh L., Cremer T., Cremer M. The potential of 3D-FISH and super-resolution structured illumination microscopy for studies of 3D nuclear architecture: 3D structured illumination microscopy of defined chromosomal structures visualized by 3D (immuno)-FISH opens new perspectives for studies of nuclear architecture // *Bioessays.* – 2012, v. 34, p. 412-426.
9. Rego E.H., Shao L., Macklin J.J., Winoto L., Johansson G.A., Kamps-Hughes N., Davidson M.W., Gustafsson M.G. Nonlinear structured-illumination microscopy with a photoswitchable protein reveals cellular structures at 50-nm resolution // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2012, v. 109, № 3, p. E135-143.
10. Zhang H., Zhao M., Peng L. Nonlinear structured illumination microscopy by surface plasmon enhanced stimulated emission depletion // *Opt. Express.* – 2011, v. 19, № 24, p. 24783-24794.
11. Gur A., Zalevsky Z., Micó V., García J., Fixler D. The limitations of nonlinear fluorescence effect in super resolution saturated structured illumination microscopy system // *J. Fluor.* – 2011, v. 21, p. 1075-1082.
12. Gustafsson M.G. Nonlinear structured-illumination microscopy: wide-field fluorescence imaging with theoretically unlimited resolution // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2005, v. 102, № 37, p. 13081-13086.
13. 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.
14. 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. 296-2308.

15. 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.
16. Isobe K., Takeda T., Mochizuki K., Song Q., Suda A., Kannari F., Kawano H., Kumagai A., Miyawaki A., Midorikawa K. Enhancement of lateral resolution and optical sectioning capability of two-photon fluorescence microscopy by combining temporal-focusing with structured illumination // *Biomed. Opt. Express*. – 2013, v. 4, № 11, p. 2396-2410.
17. Yeh C.H., Chen S.Y. Resolution enhancement of two-photon microscopy via intensity-modulated laser scanning structured illumination // *Appl. Opt.* – 2015, v. 54, № 9, p. 2309-2317.
18. 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.
19. Winter PW, Chandris P, Fischer RS, Wu Y, Waterman CM, Shroff H. Incoherent structured illumination improves optical sectioning and contrast in multiphoton super-resolution microscopy // *Opt. Express*. – 2015, v. 23, № 4, p. 5327-5334.
20. Hoffman Z.R., DiMarzio C.A. Structured illumination microscopy using random intensity incoherent reflectance // *Journ. Biomed. Opt.* – v. 18, № 6, p. 061216-1 – 061216-7.
21. Lu R.-W., Wang B.-Q., Zhang Q.-X., Yao X.C. Super-resolution scanning laser microscopy through virtually structured detection // *Biomed. Opt. Express*. – 2013, v. 4, № 9, p. 1673–1682.
22. Wanner G., Schroeder-Reiter E., Ma W., Houben A., Schubert V. The ultrastructure of mono- and holocentric plant centromeres: an immunological investigation by structured illumination microscopy and scanning electron microscopy // *Chromosoma*. – 2015, v. 124, № 4, p. 503-517.
23. Schirra R.T., Zhang P. Correlative fluorescence and electron microscopy // *Curr Protoc Cytom.* – 2014, v. 70, p. 12.36.1-12.36.10.
24. Rijnsoever C., Oorschot V., Klumperman J. Correlative light-electron microscopy (CLEM) combining live-cell imaging and immunolabeling of ultrathin cryosections // *Nat. Meth.* – 2008, v. 5, № 11, p. 973-980.
25. Насибов А.С., Папуша В.П., Козловский В.И. Электроннолучевая трубка с лазерным экраном // *Квант. электрон.* – 1974, т. 1, № 3, с. 534–541.

26. Насибов А.С., Шемчук Е.С. Применение лазерных электронно-лучевых трубок в проекционном телевидении // Квант. электрон. – 1978, т. 5, № 9, с. 1911–1917.
27. Козловский В.И., Насибов А.С., Печенов А.Н., Попов Ю.М., Резников П.В. Получение генерации в телевизионном режиме работы лазерной электронно-лучевой трубки при комнатной температуре лазерного экрана // Квант. электрон. – 1977, т. 4, № 10, с. 2246–2248.
28. Басов Н.Г., Дианов Е.М., Козловский В.И., Крыса А.Б., Насибов А.С., Попов Ю.М., Прохоров А.М., Трубенко П.А., Щербаков Е.А. Лазерная электронно-лучевая трубка на основе сверхрешетки ZnCdSe/ZnSe, работающая при  $T = 300$  К // Квант. электрон. – 1995, т. 22, № 8, с. 756–758.
29. Козловский В.И., Насибов А.С., Резников П. В. Характеристики излучения лазерного экрана из CdS при 300 К // Квант. электрон. – 1981, т. 8, № 11, с. 2493–2500.
30. Козловский В.И., Насибов А.С., Решетов В.И. О возможности снижения ускоряющего напряжения в лазерных электронно-лучевых трубках // Квант. электрон. – 1978, т. 5, № 12, с. 2624–2627.
31. Козловский В.И., Насибов А.С., Негоднов А.Г., Папуша В.П., Печенов А.Н., Скасырский Я.К. Получение телевизионного изображения с помощью лазерной электронно-лучевой трубки в режиме сканирования вдоль строки // Квант. электрон. – 1975, т. 2, № 7, с. 1587–1588
32. Васильев Б.И., Козловский В.И., Насибов А.С., Печенов А.Н. Восстановление голографического изображения излучением полупроводникового лазерного экрана // Квант. электрон. – 1974, т. 1, № 1, с. 84–90.
33. Righolt C.H., Mai S., van Vliet L.J., Stallinga S. Three-dimensional structured illumination microscopy using Lukosz bound apodization reduces pixel negativity at no resolution cost // Opt. Express. – 2014, v. 22, № 9, p. 11215-11227.
34. Престон К. Когерентные оптические вычислительные машины // М., Мир, 1974, 402 с.
35. Козловский В.И., Костров Н.А., Насибов А.С., Печенов А.Н. Запись голограмм электроннолучевой трубкой с лазерным экраном // Квант. электрон. – 1974, т., № 1, с. 158–159.
36. Баженов Ю.М., Козловский В.И., Кувшинский Н.Г., Митрофанова Л.А., Насибов А.С., Папуша В.П., Печенов А.Н., Почерняев И.М. Использование электроннолучевой трубки с полупроводниковым лазерным экраном для записи фазовых голо-

- грамм на фотопластических носителях // Квант. электрон. – 1974, т. 1, № 1, с. 193–195.
37. Козловский В.И., Кучаев С.В., Насибов А.С., Печенов А.Н., Плотников А.Ф., Попов Ю.М., Саввина Р.М., Селезнев В.Н. Оптоэлектронное оперативное запоминающее устройство на основе МНОП-структуры и лазерной ЭЛТ // Квант. электрон. – 1980, т. 7, № 7, с. 1585–1588.
38. Jablokov 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.
39. 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.
40. Gradov O.V. Experimental setups for ozonometric microscopy // Biomedical Engineering. — 2013, v. 46, № 6, p. 260–264.
41. Насибов А.С., Печенов А.Н., Попов Ю.М., Решетов В.И. Исследование деградации лазерного экрана электронно-лучевой трубки // Квант. электрон. – 1980, т. 7, № 5, с. 1058–1062.
42. Акимова И.В., Борович Л.Н., Василищева И.П., Дуденкова А.В., Егоров А.В., Насибов А.С., Таленский О.Н., Попов Ю.М., Шапкин П.В. Определение глубины нарушенного слоя в лазерных экранах, изготовленных из монокристаллов сульфида кадмия // Квант. электрон. – 1977, т. 4, № 6, с. 1357–1359
43. Решетов В.И., Бушуева Г.В., Зиненкова Г.М., Насибов А.С., Печенов А.Н., Тяпунина Н.А. Разрушение монокристаллов CdS собственным лазерным излучением // Квант. электрон. – 1987, с. 14, № 1, с. 164–169.
44. Козловский В.И., Красильников А.И., Насибов А.С., Папуша В.П., Печенов А.Н. Лазерный экран из объемных монокристаллов сульфида и селенида кадмия // Квант. электрон. – 1974, т. 1, № 9, с. 2083–2085.
45. Козловский В.И., Насибов А.С., Печенов А.Н., Попов Ю.М., Таленский О.Н., Шапкин П.В. Лазерные экраны из монокристаллических слитков CdS, CdS<sub>x</sub>Se<sub>1-x</sub>, ZnSe // Квант. электрон. – 1977, т. 4, № 2, с. 351–354.

46. Дуденкова А.В., Насибов А.С., Сенокосов Э.А., Скорбун С.Д., Попов Ю.М., Усатый А.Н., Царан В.М. Лазерные экраны из монокристаллических пленок ZnSe и ZnTe, выращенных на сапфире // Квант. электрон. – 1981, т. 8, № 6, с. 1380–1382.
47. Козловский В.И., Насибов А.С., Печенов А.Н., Попов Ю.М. О механизме генерации в лазерных экранах, выполненных из полупроводниковых соединений АПВVI // Квант. электрон. – 1979, т. 6, № 1, с. 189–196.
48. Месяц Г.А. Эктон — лавина электронов из металла // УФН – 1995, Т. 165, № 6, с. 601–626.
49. Любимов Г.А., Раховский В.И. Катодное пятно вакуумной дуги // УФН – 1978, Т. 125, с. 665–706.
50. Козловский В.И., Насибов А.С., Скасырский Я.К. Использование точечного катода из LaB6 в лазерной ЭЛТ // Квант. электрон. – 1983, т. 10, № 8, с. 1699–1700.
51. Азарян Н.С., Баренгольц С.А., Месяц Г.А., Перельштейн Э.А., Тараканов В.П. Управляемое коллективное ускорение электрон-ионных сгустков // Письма в ЖЭТФ – 2012, т. 96, № 8, с. 552–556.
52. Moulton P. Ti-doped sapphire: tunable solid-state laser // Optics News. – 1982, v. 8, № 6, p. 9.
53. Kück S. Laser-related spectroscopy of ion-doped crystals for tunable solid-state lasers // Applied Physics B. – 2001, v. 72, № 5, p. 515-562.
54. Dubinskii M.A., Semashko V.V., Naumov A.K., Abdulsabirov R.Y., Korableva S.L. Ce<sup>3+</sup>-doped colquiriite: A new concept of all-solid-state tunable ultraviolet laser // Journal of Modern Optics – 1993, v. 40, № 1, p. 1-5.
55. Moulton P. F. Tunable solid-state lasers // Proc. IEEE. – 1992, v. 80, № 3, p. 348-364.
56. Reisfeld R., Brusilovsky D., Eyal M., Miron E., Burstein Z., Ivri J. A new solid-state tunable laser in the visible // Chem. Phys. Lett. – 1989, v. 160, № 1, p. 43-44.
57. Fedorov V.V., Mirov S.B., Gallian A, Badikov D.V., Frolov M.P., Korostelin Y.V., Kozlovsky V.I., Landman A.I., Podmar'kov Y.P., Akimov V.A., Voronov A.A. 3.77-5.05- $\mu\text{m}$  tunable solid-state lasers based on Fe<sup>2+</sup>-doped ZnSe crystals operating at low and room temperatures // IEEE Journ. Quant. Electron. – 2006, v. 42, № 9, p. 907-917.
58. Payne S.A., Chase L.L., Newkirk H.W., Smith L.K., Krupke W.F. LiCaAlF<sub>6</sub>: Cr<sup>3+</sup>: a promising new solid-state laser material // IEEE Journ. Quant. Electron. – 1988, v. 24, № 11, p. 2243-2252.
59. Brauch U., Dürr U. KZnF<sub>3</sub>: Cr<sup>3+</sup> - a tunable solid state NIR-laser // Opt. Commun. – 1984, v. 49, № 1, p. 61-64.

60. Samtleben T. A., Hulliger J. LiCaAlF<sub>6</sub> and LiSrAlF<sub>6</sub>: tunable solid state laser host materials // Optics and lasers in engineering. – 2005, v. 43, № 3, p. 251-262.
61. Mildren R.P., Pask H.M., Ogilvy H., Piper J.A.. Discretely tunable, all-solid-state laser in the green, yellow, and red. Optics letters – 2005, v. 30, № 12, p.1500-1502.
62. Gilmore C.P. Color TV: Is It Finally Worth the Money? // Pop. Sci. – 1963, Aug., p. 178.
63. Bounden J.E., Lomer P.D., Wood J. A neutron tube with constant output (1010 n/sec) for activation analysis and reactor applications // Nucl. Instrum. Meth. – 1965, v. 33, № 2, p. 283-288.
64. Воинов А.М., Кривоносов В.Н., Мельников С.П., Пикулев А.А., Сизов А.Н., Сиянский А.А. Лазеры с ядерной накачкой – устройства с прямым преобразованием ядерной энергии в лазерное излучение // Вопросы атомной науки и техники. Серия: Физика ядерных реакторов. – 2013, № 3, с. 46-64.
65. Васильев Б.И., Козловский В.И., Насибов А.С., Печенов А.Н. Восстановление голографического изображения излучением полупроводникового лазерного экрана // Квант. электрон. – 1974, т. 1, № 1, с. 84–90.
66. Kaloshin G. A., Shishkin S. A. The vision range calculation of light signals of thw navigation complex with the scanning semi-conductor laser with electronic pumping. Part II. Aerosol extinction and calculation results // Atmospheric and Oceanic Optics. – 2007, v. 20, p. 353-361.
67. Zweben S. J. Four-channel ZnS scintillator measurements of escaping tritons in TFTR // Rev. Sci. Instrum. – 1989, v. 60, № 4, p. 576-587.
68. Kostyrko A., Wisniewski A., Zarnowiecki K. A method of producing a layer of zns scintillator for an alpha particle detector // Nukleonika. – 1962, v. 7 (Preprint).
69. 梶津武, 早川宗八郎, 牧島象二. 高速中性子計測用 ZnS 系 Scintillator の研究 //応用物理. – 1958, v. 27, p. 38-41.
70. Takahashi R. Backscattered SEM using CdS layer scintillator-proposal of reflected SEM //Scanning Electron Microscopy. – 1977, v. 1, p. 71-8.
71. Takahashi R. Reflection scanning electron-microscopy using CdS scintillator for an application to biological specimens in air // Journ. Electr. Microsc. – 1975, v. 24, № 3, p. 217.
72. Antolak A.J., Williamson W. Monte Carlo electron backscattering in ZnS and PbS films // Journ. Appl. Phys. – 1988, v. 64, № 1, p. 416-418.

73. Greeff A. P., Swart H. C. Monte Carlo simulation of low-energy electron trajectories and energy loss in ZnS phosphor powders // *Surf. Interf. Anal.* – 2001, v. 31, № 6, p. 448-456.
74. Bellotti, E., Brennan K.F., Wang R., Ruden P.P. Monte Carlo study of electron initiated impact ionization in bulk zincblende and wurtzite phase ZnS // *Journ. Appl. Phys.* – 1998, v. 83, № 9, p. 4765-4772.
75. Jalbout A., Contreras-Torres F., Roy A., de Leon A. Monte Carlo Simulation on the RKKY Interactions of Co-Doped ZnS and ZnSe Nano-Films // *Journ. Comput. Theor. Nanosci.* – 2009, v. 6, № 1, p. 148-152.
76. Swart H. C., Greeff A. P. Degradation effect of a ZnO layer on ZnS: comparison between a Monte Carlo simulation and experimental Auger and CL measurements // *Surf. Interf. Anal.* – 2001, v. 32, № 1, p. 84-87.
77. Ghosal A., Biswas A. Monte-Carlo study of velocity-field characteristics and terahertz generation in CdSe // *Journ. Electr. Dev.* – 2012, v. 15, p. 1236-1240.
- 
- 

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 [DIY imaging group]

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