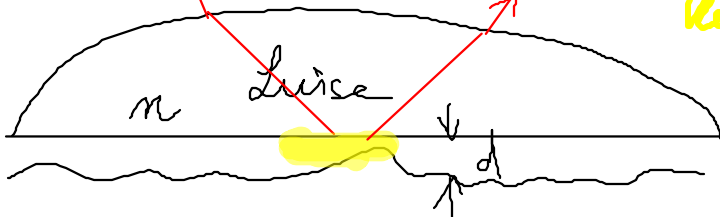


solid immersion lens

- lege Linse „direkt“ auf die Probe (hemisphärische Linse)

total internal reflection

beleucht Probe mit
evaneszenzfeld



- Verwendung „normales“ Mikroskop

STED / 4Pi

- Überwinden der Beugungsgrenze

$$FWHM_x \text{ (falls nicht groß maximum)} = \frac{0,4 \lambda}{n \sin \theta} \Rightarrow \text{Auflösung } x \approx 200 \text{ nm (lateral)}$$
$$FWHM_z = \frac{0,45 \lambda}{n(1 - \cos \theta)} \Rightarrow \text{Auflösung } z \approx 500 \text{ nm (axial)}$$

- 2 Objektiv von 2 Seiten \Rightarrow 4Pi

\Rightarrow Interferenzmuster durch beide Strahlen kohärent (gleicher opt. Weg)
Phasenrichtige Interferenz

\Rightarrow entferne Nebenmaxima mit PSF des Mikroskops Maximum bestimmen

Faltung von PSF des Mikroskops und des Signals

wieder entfalten und Nebenmaxima entfernen

\Rightarrow viel bessere axiale Auflösung

\Rightarrow Justage ist sehr aufwendig

Objektive müssen sehr ähnlich sein (aufwendig!)

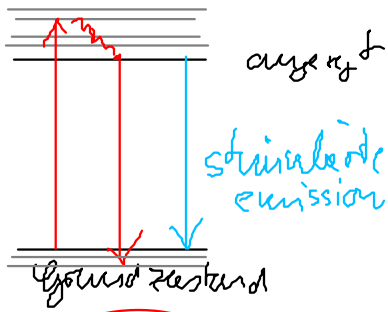
Glycerin als Immersionsflüssigkeit

Zelle zwischen 2 Quarzplättchen

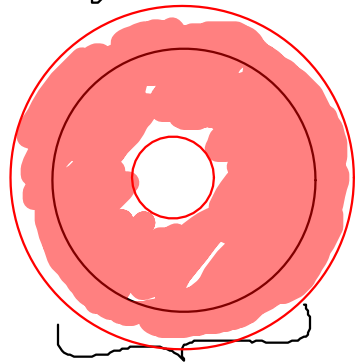
STED stimulated emission depletion microscopy

• Nutzt Sättigung der Fluoreszenz

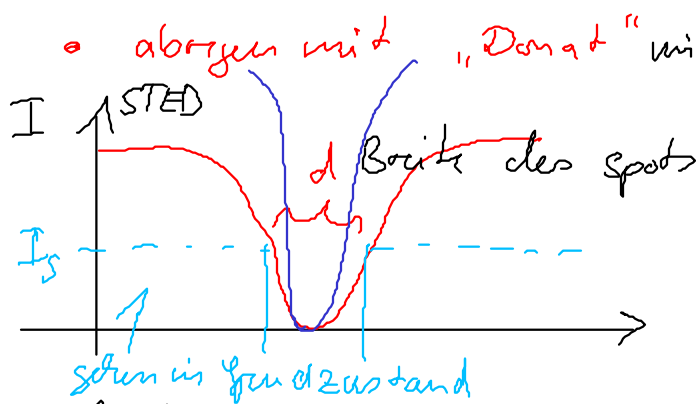
• durch höhere Anregung
 ⇒ Besetzungsinversion



• mit stimulierte Emission gezielt „abtragen“ = STED pulse (depletion)



$\frac{\lambda}{2}$ Beugungsschleife (spot)



• erzeugt
 schmalere
 Pulse (höhere Intensität)
 ⇒ kleinere Breite

• verwendet stabile Farbstoffe (Proteine mit Dipoleigenschaften) oder Salze einfärben mit Zentren (Leerstellen) z.B. Diamant

⇒ permanentes Leuchten (bleicht nicht aus)

⇒ beste Ergebnisse von STED Auflösung $\sim 1 \text{ \AA}$
 Atomarer Bereich

⇒ seitlich von Molekülen

Symmetrie des Kristalls \Rightarrow kein Dipol mehr

\Rightarrow optimale Anregung möglich

• verwendet zirkular polarisiertes Licht um auch Dipole recht optimal anzuregen (in einer Ebene) und von verschiedenen Seiten anzuregen x, y und z