

# Оптимизация дифракционных оптических элементов для увеличения продольного разрешения микроскопов

Д.В. Прокопова<sup>1,2</sup>, Е.Н. Воронцов<sup>1</sup>, Н.Н. Лосевский<sup>1</sup>, С.П. Котова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Самарский филиал ФИАН, Ново-Садовая 221, Самара, Россия, 443011

<sup>2</sup>Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Московское шоссе 34А, Самара, Россия, 443086

**Аннотация.** В работе исследуется возможность увеличения дифракционной эффективности фазовых масок, формирующих двухлепестковые световые поля. Такие световые поля можно использовать в микроскопии сверхвысокого разрешения с модификацией функции рассеяния точки для увеличения точности локализации излучающих объектов в продольном направлении. Тенденции, отмеченные при анализе численного моделирования, подтверждены экспериментально.

## 1. Введение

В материаловедении, биологии, медицине, спектроскопии одиночных молекул актуальной является задача увеличения точности определения трехмерного положения светящегося точечного объекта. Существующая потребность привела к разработке систем наноскопов на основе флуоресцентных оптических микроскопов, зарекомендовавших себя как удобный инструмент для данного класса исследований. Учет структуры аппаратной функции флуоресцентного микроскопа позволил определить положение объекта в поперечной плоскости с точностью, превышающей предел дифракции. За разработку данных методов, получивших название STED (STimulated Emission Depletion microscopy) и PALM (Photo Activated Localization Microscopy), была вручена Нобелевская премия по химии в 2014 году. Эти идеи продолжились в разработке методов, позволяющих получить сверхразрешение в трехмерном пространстве. Так, в этом направлении были созданы такие методы как мультифокусные, особые методики подсветки образца (например, микроскопия полного внутреннего отражения). Появились подходы, связанные с модификацией функции размытия точки (ФРТ) микроскопа таким образом, чтобы по полученному изображению можно было однозначно определить не только положение источника в плоскости XY, но вдоль оси Z. Последние методы получили свое развитие в создании системы с дополнительно введенным астигматизмом, (astigmatic PSF) двухспиральной ФРТ (double-helix PSF) и более сложных видов, например, тетраподная ФРТ (tetrapod PSF) [1].

Данная работа является продолжением исследований по созданию фазовых дифракционных оптических элементов (ДОЭ) для формирования двухлепесткового поля на основе оптики спиральных пучков света [2,3]. Такие элементы можно использовать для модификации ФРТ флуоресцентного микроскопа в двухспиральную ФРТ. Разработанные в работе ДОЭ отличаются повышенной дифракционной эффективностью получения двухлепесткового поля. Выполнена оптимизация ДОЭ под распределение интенсивности, формируемое

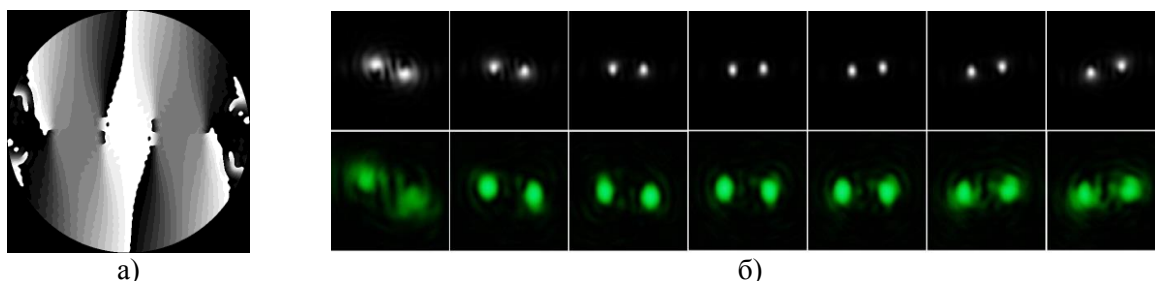
микрообъективом, применяемым в системе микроскопа. Данные отличия должны позволить получить информацию о положении источника с большей точностью за счет формирования более контрастного изображения. За счет уменьшения времени накопления информации об исследуемом объекте увеличится также временное разрешение системы.

## 2. Расчет фазового дифракционного оптического элемента

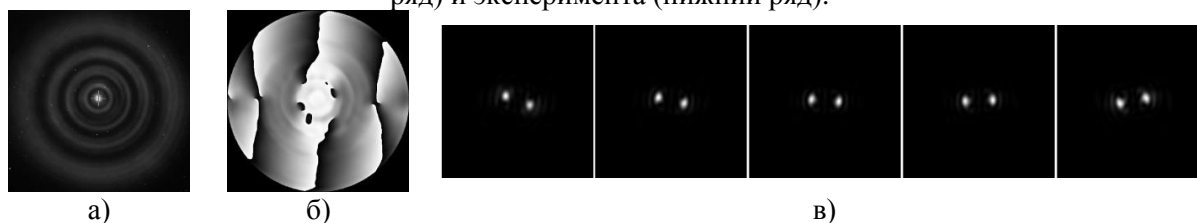
Для создания дифракционного элемента был использован предложенный нами ранее итерационный алгоритм расчета [4,5]. В качестве начального приближения использовалось фазовое распределение спирального пучка света, представляющего собой суперпозицию 5 мод Лагерра-Гаусса:

$$F(x, y) = LG_{0,0} + LG_{1,2} + LG_{2,4} + LG_{3,6} + LG_{4,8} \quad (1)$$

С целью увеличения дифракционной эффективности  $\eta$  была проведена модификация алгоритма. Под дифракционной эффективностью  $\eta$  понимается отношение мощности, приходящейся на главные максимумы в распределении интенсивности, ко всей мощности в плоскости регистрации. Было уменьшено расстояние между опорными плоскостями, в которых происходила коррекция распределения интенсивности формируемого поля при расчете ДОЭ, что привело к увеличению значения  $\eta$ . На рисунке 1 представлен полученный фазовый элемент и результаты численного и натурального моделирования по формированию двухлепесткового поля при помощи полученного ДОЭ. Отметим, что модификация алгоритма привела к уменьшению области, в которой полученное поле сохраняет свою структуру распределения интенсивности в виде двух ярких пятен. Фазовый элемент, предложенный нами ранее в работах [4,5], формирует двухлепестковое поле, распределение интенсивности которого поворачивается на  $200^\circ$ . Новый элемент (рисунок 1а) формирует поле, поворачивающееся на  $60^\circ$ . Такой элемент можно применять для исследования тонких образцов. Генерация поля происходит со средней дифракционной эффективностью  $\eta=73\%$ . Усреднение проводится по зарегистрированным сечениям поля, в которых структура распределения интенсивности поля сохраняется.



**Рисунок 1.** Распределение фазы полученного ДОЭ в градациях серого (а) и распределения интенсивности формируемого поля (б) по результатам численного моделирования (верхний ряд) и эксперимента (нижний ряд).



**Рисунок 2.** Распределение интенсивности, формируемое микрообъективом (а); распределение фазы рассчитанного ДОЭ (б); поле, формируемое полученным ДОЭ (в).

Распределение интенсивности пучка, которым будет освещаться фазовый ДОЭ в системе флуоресцентного оптического микроскопа, отличается от однородного, что приводит к искажению формируемого изображения [6-8]. С целью минимизации таких искажений мы рассчитали фазовый элемент под распределение интенсивности, формируемое конкретной микроскопической системой (главным образом микрообъективом). Результат оптимизации

приведен на рисунке 2. При сравнении рисунков 1(а) и 2(б) видны различия в фазовом профиле полученных ДОЭ.

Оптимизированный ДОЭ формирует требуемое изображение с эффективностью  $\eta=69\%$ . Поворот распределения интенсивности формируемого поля осуществляется на  $64^\circ$ .

### 3. Заключение

В работе на основе оптики спиральных пучков света были получены ДОЭ, позволяющие повысить точность определения продольной координаты точечного источника в флуоресцентных оптических микроскопах с модифицированной ФРТ за счет увеличения дифракционной эффективности  $\eta$ . Полученный в ходе расчета ДОЭ формирует двухлепестковое поле со средней дифракционной эффективностью  $\eta=73\%$ . Распределение интенсивности двухлепесткового поля при распространении поворачивается на  $60^\circ$ .

Также был получен ДОЭ, оптимизированный под распределение интенсивности, формируемое микрообъективом. Он генерирует изображение с эффективностью  $\eta=69\%$  и поворотом распределения интенсивности на  $64^\circ$ .

Для дальнейшего развития этой темы представляет интерес создание набора ДОЭ, формирующих двухлепестковые поля с разной скоростью поворота при распространении. Возможно, что здесь будут полезным ДОЭ на основе пучков Бесселя, позволяющих обеспечить большую скорость вращения [9].

### 4. Литература

- [1] Diezmann, A. Three-Dimensional Localization of Single Molecules for Super-Resolution Imaging and Single-Particle Tracking / A. Diezmann, Y. Shechtman, W. E. Moerner // *Chem. Rev.* – 2017. – Vol. 117(11). – P. 7244-7275. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00629.
- [2] Abramochkin, E. Spiral-type beams / E. Abramochkin, V. Volostnikov // *Optics Communications.* – 1993. – Vol. 102(3-4). – P. 336-350. DOI: 10.1016/0030-4018(93)90406-U.
- [3] Абрамочкин, Е.Г. Современная оптика гауссовых пучков / Е.Г. Абрамочкин, В.Г. Волостников. – М.: ФизМатЛит, 2010. – 184 с.
- [4] Volostnikov, V.G. A Diffraction Element Used to Evaluate the Depth of Bedding of Nano-Sized Radiating Objects/ V.G. Volostnikov, E.N. Vorontsov, S.P. Kotova, N.N. Losevskiy, D.V. Prokopova // *EPJ Web of Conferences*, 2015. DOI: 10.1051/epjconf/201510310007.
- [5] Волостников, В.Г. Дифракционный элемент на основе спиральных пучков для определения глубины залегания излучающих объектов / В.Г. Волостников, Е.Н. Воронцов, С.П. Котова, Н.Н. Лосевский, Д.В. Прокопова // *Известия РАН. Серия Физическая.* – 2016. – Т. 80, № 7. – С. 841-845. DOI: 10.7868/S0367676516070243.
- [6] Ghosh, S. Effect of double-helix point-spread functions on 3D imaging in the presence of spherical aberrations / S. Ghosh, G. Grover, R. Piestun, C. Preza // *SPIE BiOS. International Society for Optics and Photonics.* – 2011. – P. 79041D-9.
- [7] Cao, Z. Effects of astigmatism and coma on rotating point spread function / Z. Cao, K. Wang // *Applied Optics.* – 2014. – Vol. 53, №. 31. – P. 7325-7330. DOI: 10.1364/AO.53.007325.
- [8] Воронцов, Е.Н. Влияние амплитудных и фазовых искажений на формирование световых полей с вращением распределения интенсивности / Е.Н. Воронцов, С.П. Котова, Н.Н. Лосевский, Д.В. Прокопова, С.А. Самагин // *Краткие сообщения по физике ФИАН.* – 2018. – Т. 45, № 3. – С 9-14. DOI: 10.3103/S1068335618030028.
- [9] Kotlyar, V.V. An algorithm for the generation of laser beams with longitudinal periodicity: Rotating images / V.V. Kotlyar, V.A. Soifer, S.N. Khonina // *Journal of Modern Optics.* – 1997. – Vol. 44(7). – P. 1409-1416. DOI: 10.1080/09500349708230745.

### Благодарности

Коллектив авторов выражает благодарность И.Ю. Еремчеву, А.А. Горшелеву и А.В. Наумову за предоставленное распределение интенсивности, формируемое микрообъективом, и интерес к работе.

Работа проведена при поддержке РФФИ (проект № 16-29-11809).

## **Diffraction optical elements optimization aimed to increase the longitudinal resolution of microscopes**

**D.V. Prokopova<sup>1,2</sup>, E.N. Vorontsov<sup>1</sup>, N.N.Losevsky<sup>1</sup>, S.P. Kotova<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Lebedev Physical Institute, Novo-Sadovaya street 221, Samara, Russia, 443011

<sup>2</sup>Samara National Research University, Moskovskoe Shosse 34A, Samara, Russia, 443086

**Abstract.** The subject of the study is the possibility of increasing the diffraction efficiency of the phase elements that generate two-lobe light fields. The light fields of this type can be used for super resolution microscopy with the modification of the point spread function to improve the accuracy of the radiating objects localization in the longitudinal direction. The trends observed under modeling have been confirmed in our experiments