

# КОМБИНИРОВАННАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ И ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ НА ОСНОВЕ АКУСТООПТИЧЕСКОЙ ФИЛЬТРАЦИИ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ

*Л. И. Бурмак, А. С. Мачихин*

Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, г. Москва

Оптическая когерентная микроскопия (ОКМ) позволяет получить информацию трехмерной поверхностной и внутренней приповерхностной структуре микрообъектов, а флуоресцентная микроскопия – выявить спектральные особенности этой структуры и процессы, происходящие в ней. Одновременное применение двух этих методов повысило бы информативность и качество проводимых исследований микрообъектов в биологии, медицине и других областях. Предлагаемый в данной работе подход объединяет в одной установке функции ОКМ и флуоресцентной микроскопии.

Схема строится на основе интерферометра Майкельсона, в регистрирующей ветви которого располагается акустооптический (АО) монохроматор, осуществляющий спектральную фильтрацию изображений. При работе в режиме ОКМ (рис. 1,а) используется широкополосный источник излучения 1. Излучение коллимируется конденсором 4, делится светоделителем 6 и направляется в опорный и объектный каналы. Идентичные микрообъективы 7 фокусируют излучение на исследуемом объекте 8 и на опорном зеркале 9. Отраженные зеркалом 9 и исследуемым объектом 8 световые пучки, переносящие изображения, через микрообъективы 7 возвращаются на светоделитель 6 и интерферируют. Светоделитель 6 собирает пучки и направляет их в АО монохроматор, состоящий из двух скрещенных поляризаторов 12 и АО фильтра 11. Отфильтрованные пучки фокусируются объективом 13 на матричном приемнике излучения камеры 14. Перестройка по длине волны  $\lambda$  осуществляется с персонального компьютера (ПК) путем изменения частоты высокочастотного (ВЧ) сигнала, задающего период дифракционной решетки. При сканировании по длине волны записываются спектральные интерференционные изображения, цифровая обработка совокупности которых позволяет восстановить зависимость отраженного сигнала от глубины в образце во всех пикселях. Локальный слой по глубине образца выбирается при смещении микрообъектива 7 совместно с опорным зеркалом 9 в опорном канале.

При работе в режиме флуоресцентного микроскопа используется лазерный источник излучения 2 с оптоволоконным выходом 3. Для того, чтобы направить излучение в схему, в ход лучей вводится подвижное зеркало 5. Опорный канал перекрывается подвижным непрозрачным экраном 10. АО фильтром 11 производится сканирование по спектру. Совокупность спектральных изображений позволяет восстановить спектр флуоресценции исследуемого объекта 8 во всех пикселях.

Изображения, получаемые в обоих режимах, полностью пространственно совмещены и могут быть наложены друг на друга. При проведении экспериментов в предлагаемой схеме в качестве широкополосного источника излучения использовались галогенная лампа или суперлюминесцентный диод, а в режиме флуоресценции – лазер с длиной волны 532 или 633 нм. Перестройка осуществлялась с помощью неколлинеарного АО фильтра в диапазоне  $\Delta\lambda = 450-760$  нм.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента МК-4296.2015.8.

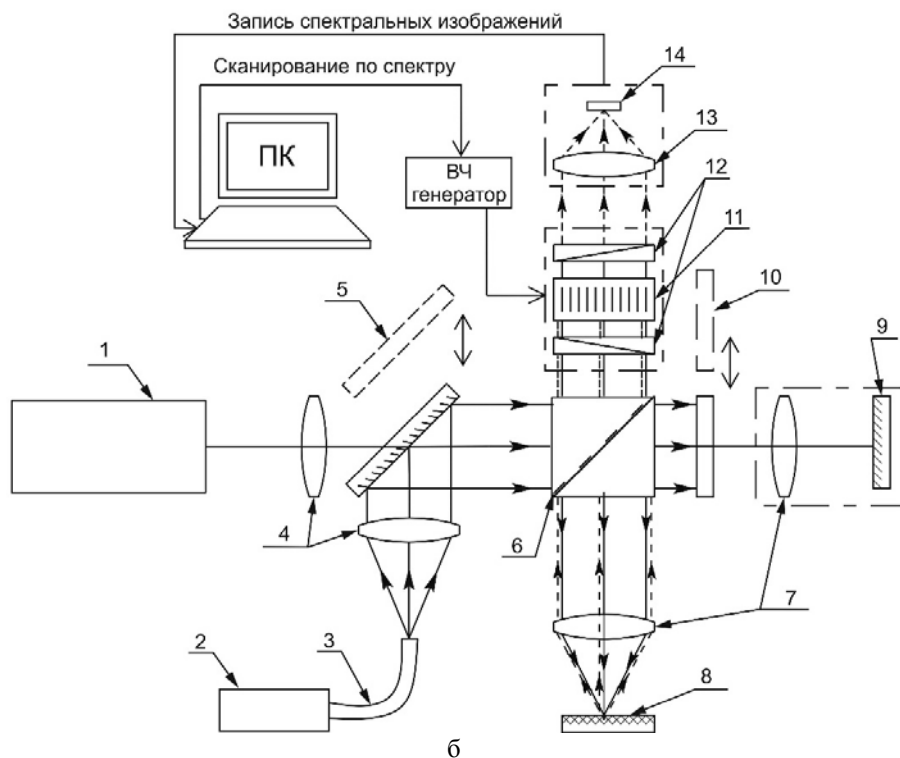
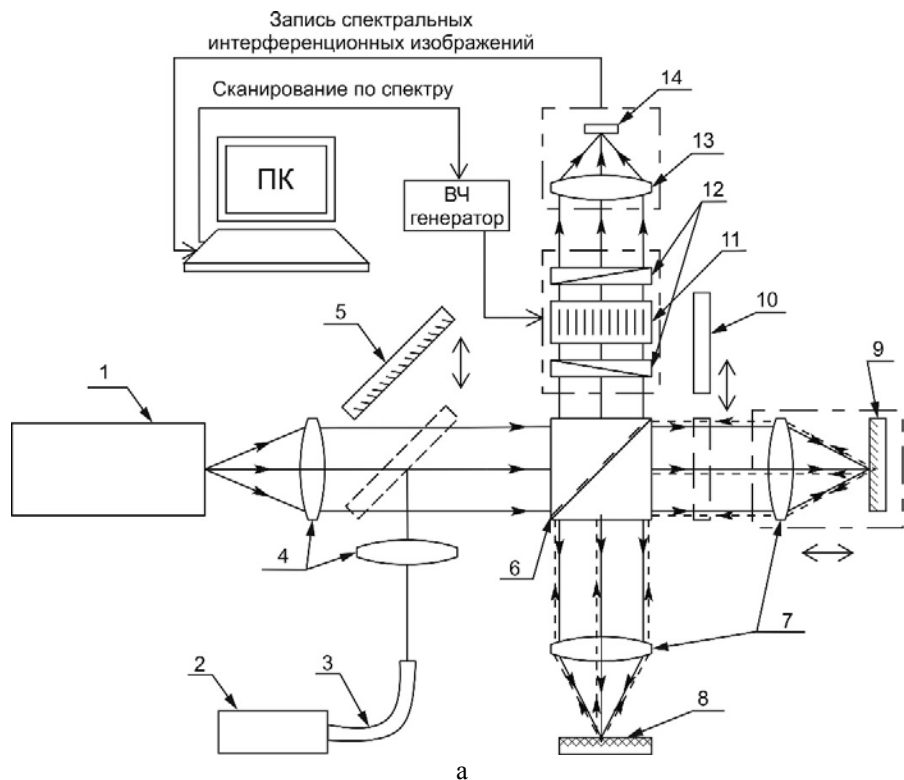


Рис. 1. Схема комбинированной оптической когерентной и флуоресцентной микроскопии на основе акусто-оптической фильтрации интерференционных изображений: а – режим ОКМ; б – режим флуоресцентной микроскопии; 1 – широкополосный источник излучения, 2 – лазер, 3 – оптоволокно, 4 – конденсор, 5 – подвижное зеркало, 6 – светоделитель, 7 – мирообъектив, 8 – исследуемый объект, 9 – опорное зеркало, 10 – непрозрачный экран, 11 – АО фильтр, 12 – поляризатор, 13 – фокусирующий объектив, 14 – матричный приемник излучения, ВЧ – высокочастотный генератор

## Список литературы

1. Machikhin A., Viskovatykh A., Pozhar V., Burmak L. Imaging-AOTF-based full-field spectral-domain optical coherence tomography // Proc. SPIE 9448, Saratov Fall Meeting 2014: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVI; Laser Physics and Photonics XVI; and Computational Biophysics, 94481B (2015).
2. Machikhin A. S., Pozhar V. E., Burmak L. I., Viskovatykh A. V. Acousto-optical tunable filter for combined wide-band, spectral and optical coherence microscopy // Applied Optics, Vol. 54, Issue 25, p. 7508-7513 (2015).