

GRIN LENCSES CARS ENDOMIKROSKÓP OPTIKAI LEKÉPEZŐ RENDSZERÉNEK SZÍNHIRBA KORREKCIÓJA

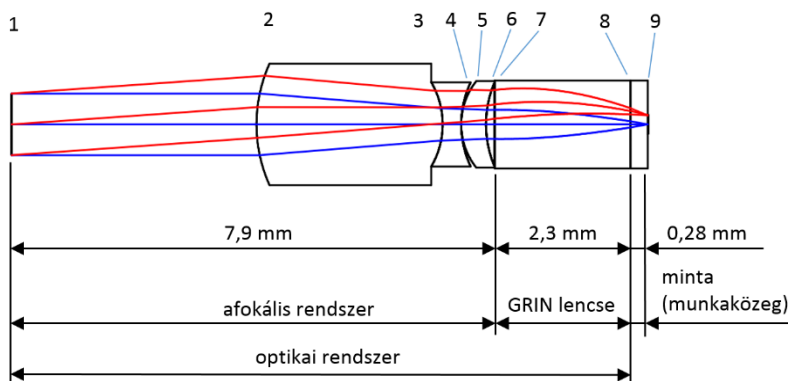
Csákányi Attila, Szipócs Róbert

MTA Wigner FK, Szilárdtestfizikai és Optikai Intézet, 1121 Budapest, Konkoly Thege út 29-33.

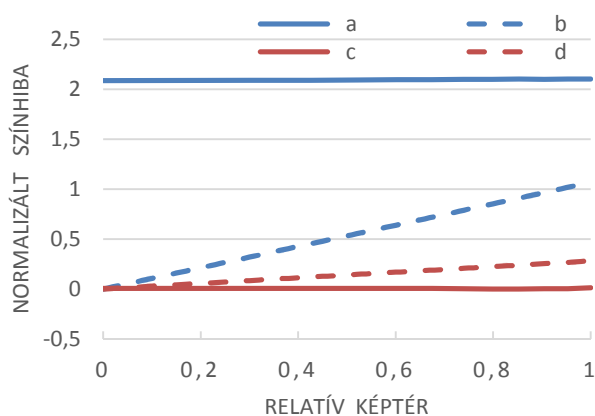
Napjainkban az élő mintán végzett 3D mikroszkópiás vizsgálatok egyik leggyorsabban fejlődő, fluoreszcens jelöléstől mentes módszere a CARS (Coherent anti-Stokes Raman Scattering) technikán alapul. Ez a módszer két, különböző hullámhosszú lézernyaláb egy pontba fókuszálásával állít elő az adott molekulára, szövetre jellemző optikai jelet [1, 2]. A módszer elterjedését hátráltatja az optikai elven működő mikroszkópok egyik jelentős korlátozó tényezője, hogy a fény - annak hullámhosszától függően - csak mintegy 300-1300 μm -es mélységig képes a roncsolásmentesen behatolni a szövetekbe a fényszórás illetve az abszorpciós veszteségek következtében. Ennél mélyebben lévő képletek mikroszkópiás vizsgálata csak úgy lehetséges, hogy magát az objektívet juttatjuk megfelelő közelségbe. Erre legalkalmasabb egy kis átmérőjű, túszerű optikai eszköz, az úgynevezett endomikroszkóp.

A hagyományos lencséből kialakított mikroszkópobjektív esetében a méretek csökkentésével a gyártási és szerelési nehézségek hatványozottan növekednek, ezért kis méretű, főleg nagy görbületű, kis átmérőjű rendszereket nehéz készíteni belőlük [3, 4]. Hagyományos optikai elemek kiváltására használható a GRIN (gradient index) lencse [5], ami tulajdonképpen egy sugárirányban csökkenő törésmutatójú üveghenger, mely lencseként viselkedik, azaz a véglapján keresztül belépő párhuzamos sugarakat egy pontba fókuszálja. Mechanikai kialakítása, gyártása jóval egyszerűbb, mint a több hagyományos lencséből álló mikroszkópobjektívé. Hátránya, hogy jelentős longitudinális és transzverzális színhibával rendelkezik, azaz a CARS módszerhez szükséges két nyalábot nem fókuszálja egy pontba. (További, a leképező rendszer színhibájával járó probléma az ultrarövid fényimpulzusok jelentős kiszélesedése a fókuszpontban.) Ezen színhibák korrekcióját végeztük el a fejlesztés során, ezt pedig a pásztázó MEMS egység (Microvision, Inc.) [6] és az objektívként funkcionáló GRIN lencse (GRINTECH GmbH; Jena; Germany) között lévő afokális leképező rendszer célirányos megtervezésével értük el. Az optikai tervezést és kiértékelést Zemax programmal végeztük (Zemax release 13 SP 2 Standard (64bit); Zemax, LLC, Redmond, WA, USA).

Az optikai rendszer felépítése az 1. ábrán látható. A rendszer teljes hossza a szkennertől a képsíkig 10,38 mm, legnagyobb átmérője 1,98 mm. Párhuzamos belépő nyaláb esetén a munkatávolság 283 μm , a képtér 306 μm átmérőjű 4 fokos szkennertől oldali pásztázási szög nélkül. Alább látható a rendszer felépítése. Az szkennerből (1) érkező eltérített nyaláb az első (2-3 felület), második (3-4 felület), majd a harmadik lencsén (5-6 felület) keresztül a GRIN lencsébe (7-8 felület) jut. A GRIN lencse aztán a munkaközegben (8-9 felület) a képsíkra (9 felület) fókuszálja a sugarakat.



1. ábra Az optikai rendszer elvi elrendezése az afokális tag, a GRIN lencse és a tárgyter vázlatával, főbb méreteivel.



2. ábra Normalizált színhibák a relatív képtér függvényében. GRIN lencse axiális (a) és transzverzális (b) normalizált színhibája, a korrigált teljes rendszer axiális (c) és transzverzális (d) normalizált színhibája.

A rendszer két legfontosabb paramétere a foltméretre vonatkoztatott axiális és laterális színhiba, azaz az axiális és laterális relatív színhiba. A relatív színhiba 0 értéke azt jelenti, hogy a két folt geometriai közepe egybeesik, így maximális az átfedés. A relatív színhiba 1 értéke azt jelenti, hogy a két folt geometriai közepe között a távolság akkora, mint a nagyobbik folt diffrakciókorlátos foltmérete, tehát nincs átfedés a két folt között. A 2. ábrán a GRIN lencse axiális (a) és transzverzális (b) színhibája, valamint a teljes optikai rendszer axiális (c) és transzverzális (d) színhibája látható a relatív képtér függvényében.

Mérőrendszerünket elsősorban neurodegeneratív betegségek, azon belül is kísérletes autoimmun encephalomyelitis állatkísérleti modellek (pl. cuprizone modell) *in vivo* vizsgálatára optimalizáltuk, ahol az idegsejtek axonjait borító myelin hüvelyről festékjelölés mentesen, a CARS módszerrel készítünk 3D mikroszkópiás képeket. A korábban általunk már behatóan vizsgált zsírszövethez [2] hasonlóan a myelin hüvely - magas zsírtartalma miatt - erős rezgési rezonanciát mutat $\omega = 2845 \text{ cm}^{-1}$ -en, ami a benne lévő telített zsírsavak CH_2 kötéseinek rezgési állapotához tartozik. A mérésekhez speciálisan megtervezett, optikai szálon keresztül érkező "pumpa" lézer hullámhossza 796 nm, a "Stokes" lézeré 1028 nm, míg a keltett anti-Stokes jelet 649 nm-en mérjük. A teljes optikai rendszer a gerjesztéshez használt két hullámhosszon 69-65%-os áteresztő képességgel rendelkezik, míg detektált jel hullámhosszán ez az érték 68-65 %.

A most bemutatott munkát a NFÜ TECH-09-A2-2009-0134 számú szerződése és a Nemzeti Agykutatási Program KTIA_NAP_13 azonosítójú projektje támogatta.

Hivatkozások

- [1] D. Csáti, P. G. Antal and R. Szipöcs, "An Inherently Synchronized Yb Fiber Laser Extension Unit for Broadly Tunable, Femtosecond Pulse Ti-sapphire Lasers for CARS Microscopy," in FILAS Technical Digest (OSA), paper **JTh2A.29** (2012)
- [2] A. Kolonics, D. Csáti, P. Antal and R. Szipöcs, "A simple, cost efficient fiber amplifier wavelength extension unit for broadly tunable, femtosecond pulse Ti-sapphire lasers for CARS microscopy," in BIOMED Technical Digest (OSA), paper **BSu3A.28** (2012)
- [3] R. Mittal, M. Balu, P. Wilder-Smith, E. O. Potma, Biomedical Optics Express **4**, 2196 (2013)
- [4] Cheon-Seog Rim, J. Opt. Soc. Korea **14**, 431-437 (2010)
- [5] D.M. Huland, K. Charan, D.G. Ouzounov, J.S. Jones, N. Nishimura and Ch. Xu, Biomedical Optics Express **4**, 652-658 (2013)
- [6] Ch. Arrasmith, D.L. Dickensheets, A. Mahadevan-Jansen, Optics Express **18**, 3805-3819 (2010)