

μHOLLO: bezsoczewkowy mikroskop holograficzny do ilościowego obrazowania komórek i skrawków tkanek biologicznych

Maciej Trusiak^{1,†}, Emilia Wdowiak¹, Mikołaj Rogalski¹, Julianna Winnik¹, Paweł Matryba^{2,3,4}, Piotr Arcab¹, Anna Chwastowicz^{2,3}, Bartosz Górski¹, Kamil Kalinowski¹

¹ Politechnika Warszawska, Wydział Mechatroniki, Instytut Mikromechaniki i Fotoniki, ul. Boboli 8, 02-525 Warszawa, Polska

² Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Immunologii, ul. Nielubowicza 5, 02-097 Warszawa, Polska

³ Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego PAN, Pracownia Neurobiologii, BRAINCITY, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa, Polska

⁴ Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiologii 1, ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa, Polska
†email: maciej.trusiak@pw.edu.pl

Holograficzne obrazowanie bezsoczewkowe stanowi nowoczesne podejście do mikroskopii optycznej, umożliwiające szybkie, nieniszczące oraz szerokopowierzchniowe (pole pomiarowe równe wymiarom matrycy sensora) badania struktur biologicznych łatwych w przygotowaniu (brak barwienia) i bez ograniczeń wynikających z użycia klasycznych elementów optycznych, takich jak obiektywy. Brak soczewek eliminuje typowe problemy związane z aberracjami, zawężonym polem widzenia czy ograniczoną głębią ostrości, a jednocześnie upraszcza konstrukcję układu i obniża jego koszt. Rekonstrukcja holograficzna prowadzi do uzyskania informacji o absorpcji (amplituda przepropagowanego numerycznie pola zespolonego) i refrakcji (faza pola zespolonego) światła wprowadzanych przez próbkę co pozwala na uzyskanie struktury np. rozkładu współczynnika załamania próbki (ilościowy kontrast fazowy). Cechy te są szczególnie pożądane w zastosowaniach biomedycznych, takich jak analiza skrawków histologicznych, fenotypowanie/śledzenie komórek czy monitorowanie procesów preparatyki próbek (np. optyczne oczyszczanie).

Zasadniczą trudność stanowi brak dostępnych rozwiązań technologicznych, które łączyłyby zalety obrazowania bezsoczewkowego z jakością i odpornością na artefakty wystarczającą do analizy rzeczywistych próbek biologicznych – często grubości rzędu setek mikrometrów, silnie rozpraszających światło. Klasyczna holografia cyfrowa, szczególnie w konfiguracji Gabora, jest wyjątkowo wrażliwa na wielokrotne rozpraszanie, co w praktyce ogranicza jej zastosowanie do bardzo cienkich lub optycznie jednorodnych próbek.

W odpowiedzi na te ograniczenia opracowano kompletny demonstrator mikroskopu bezsoczewkowego nowej generacji, integrujący źródła światła o starannie dobranej koherencji czasowo-przestrzennej (zakres VIS–NIR) z autorskimi algorytmami rekonstrukcji holograficznej, które uwzględniają efekty wielokrotnego rozpraszania światła. System został wyposażony w specjalizowaną aplikację umożliwiającą nie tylko akwizycję i rekonstrukcję danych, lecz także ich dalszą analizę ilościową (np., operacje morfologiczne i statystyczne). Pozytywnie potwierdzono funkcjonowanie systemu w warunkach rzeczywistych, na próbkach skrawków tkanek i komórek – zarówno żywych, jak i utrwalonych – podkreślając potencjał tej technologii w kontekście cyfrowej mikroskopii biomedycznej i diagnostyki ilościowej o wysokiej przepustowości, realizowanej bez konieczności barwienia ani intensywnej preparatyki.

Źródła finansowania

Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (LIDER14/0329/2023).