

Mikroskopia obrazowania czasów życia fluorescencji z użyciem macierzy fotodiod lawinowych

A. Macioch¹, P. Szczypkowski¹, R. Łapkiewicz^{1, †},

¹ Wydział Fizyki, Uniwersytet Warszawski, Pasteura 5, 02-093 Warszawa

†email: radek.lapkiewicz@fuw.edu.pl

Mikroskopia obrazowania fluorescencyjnego czasu życia (ang. Fluorescent Lifetime Imaging Microscopy – FLIM) to technologia pozwalająca na uzyskanie obrazów mikroskopowych w oparciu o fluorescencyjny czas życia cząsteczek próbki, otrzymany z analizy czasu emisji fotonów. Stałym wyzwaniem pozostaje konieczność akwizycji danych z dużą częstotliwością przy małej ilości fotonów docierających do detektora. Jednym z detektorów umożliwiających takie pomiary są matryce Single-photon avalanche diode (SPAD). Dzięki coraz większej rozdzielczości pozwalają one na uzyskiwanie obrazów próbek bez konieczności skanowania, co jest ważne w szczególności przy żywych próbkach [1]. Dodatkowo, użycie ogniskowania czasowego możliwego w przypadku wzbudzenia dwufotonowego, zamiast standardowego ogniskowania przestrzennego, pozwala na uzyskanie obrazów o rozdzielczości osiowej porównywalnej do układów z ogniskowaniem przestrzennym, przy prostszej konstrukcji układu i szybszym procesie uzyskiwania obrazu [2].

Planuję zbadać możliwości matryc SPAD jako bramkowanych czasowo detektorów w układach FLIM. Wykorzystam laser femtosekundowy, którego wiązkę zogniskuję czasowo, do wzbudzania próbki fluoroforu. Dokonam przeglądu dostępnej literatury opisującej dotychczasowe zastosowania detektorów SPAD w mikroskopii fluorescencyjnej. Kamery SPAD, dzięki postępującemu rozwojowi, mają szansę stać się preferowanym wyborem m.in. przy konstrukcji układów wykorzystujących technologię FLIM i wymagających najwyższej precyzji przy obrazowaniu w czasie rzeczywistym [3].

Literatura

- [1] Zickus, V., Wu, ML., Morimoto, K. et al. *Fluorescence lifetime imaging with a megapixel SPAD camera and neural network lifetime estimation*. Sci Rep **10**, 20986 (2020).
- [2] Oron D, Silberberg Y. *Temporal focusing microscopy*. Cold Spring Harb Protoc. 2015 Feb 2;2015(2):145-51.
- [3] Bruschini C, Homulle H, Antolovic IM, Burri S, Charbon E. *Single-photon avalanche diode imagers in biophotonics: review and outlook*. Light Sci Appl. 2019 Sep 18;8:87.