

Фазовые дифракционные оптические элементы для трёхмерной локализации квантовых точек CdSe/ZnS

Д.В. Прокопова^{1,2}, Е.Н. Воронцов¹, Н.Н. Лосевский¹, С.П. Котова^{1,2}, А.А. Горшелев³,
И.Ю. Еремчев³, А.В. Наумов³

¹Самарский филиал ФИАН, Ново-Садовая 221, Самара, Россия, 443011

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

³Институт спектроскопии Российской академии наук, Физическая 5, Троицк, Москва, Россия, 108840

Аннотация. В работе исследуется возможность использования фазовой маски с повышенной дифракционной эффективностью, формирующей двухлепестковое световое поле, для трёхмерной локализации коллоидных квантовых точек CdSe/ZnS. Реализована схема дальнепольной люминесцентной трёхмерной локализационной микроскопии сверхвысокого разрешения с точностью восстановления координат $(\sigma_x, \sigma_y, \sigma_z) = (12 \text{ нм}, 12 \text{ нм}, 18 \text{ нм})$.

1. Введение

Дальнепольная люминесцентная трёхмерная локализационная микроскопия сверхвысокого разрешения - удобный инструмент для проведения исследований во многих областях: от биологии до материаловедения. Для увеличения пространственного разрешения флуоресцентных оптических микроскопов в продольном направлении (вдоль оси Z) предложен ряд методов [1], один из которых заключается в модификации функции рассеяния точки (ФРТ) оптической системы микроскопа таким образом, чтобы при изменении расстояния между микро-объективом и образцом вид изображения точечного источника менялся. Модификация ФРТ заключается в превращении пятна Эйри, в нашем случае, в двухлепестковое изображение, два главных максимума в котором поворачиваются при дефокусировке (double-helix point spread function, DHPSF) [2]. Метод удобен тем, что для превращения флуоресцентного микроскопа в микроскоп с трёхмерной локализацией точечных излучателей, в схему необходимо добавить небольшое количество оптических элементов. Это делает метод относительно простым для реализации, и в то же время позволяет получить высокую точность. Главным элементом для изменения формируемого изображения является фазовый дифракционный оптический элемент (ДОЭ), производящий преобразование падающего на него излучения в двухлепестковое поле. Нами были выполнены комплексные исследования по созданию таких фазовых дифракционных элементов с использованием оптики спиральных пучков света [3,4]. Было также исследовано влияние искажений амплитуды и фазы световой волны [5,6], которые могут появиться в системе флуоресцентного микроскопа. В настоящей работе приводятся результаты по разработке фазовой маски, оптимизированной для работы со светосильным

микро-объективом (Carl Zeiss 100x 1.3NA) и результаты экспериментов по трёхмерной локализации коллоидных квантовых точек CdSe/ZnS.

2. Расчёт оптимизированного фазового оптического элемента

Для создания оптимизированного фазового элемента было изменено начальное приближение при проведении модифицированного итерационного алгоритма Герчберга-Сэкстона. Подробно используемый нами ранее алгоритм расчёта описан в работах [7,8]. Модификация алгоритма состояла в использовании в качестве амплитудного распределения начального приближения распределения интенсивности, формируемого микро-объективом (рисунок 1а) и уменьшении расстояния между опорными плоскостями при расчёте фазового профиля элемента. На рисунке 1б в градациях серого показан фазовый профиль полученного элемента.

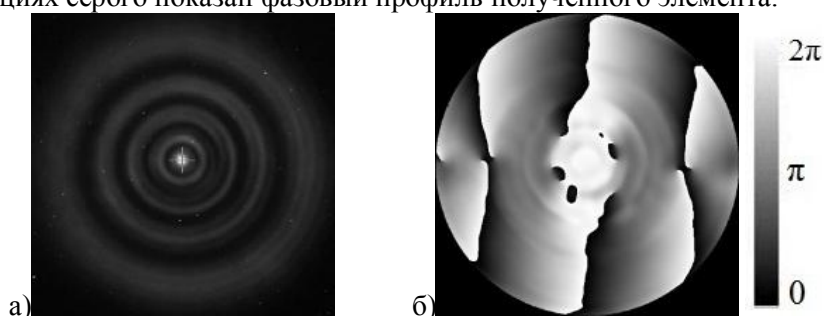


Рисунок 1. Распределение интенсивности, формируемое микрообъективом а); распределение фазы рассчитанного ДОЭ в градациях серого б).

Эффективность преобразования падающего излучения в двухлепестковое поле, оцениваемая как отношение мощности, приходящейся на главные максимумы в распределении интенсивности к мощности в функции Эйри, по результатам моделирования составила 86%, что подтверждается экспериментально измеренным в системе локализационного микроскопа значением 85% [9].

3. Трёхмерная локализация квантовых точек CdSe/ZnS при помощи разработанных элементов

Новый фазовый элемент использовался в схеме флуоресцентного 3D-микроскопа вместе с микро-объективом Carl Zeiss 100x 1.3NA для определения координат дрейфующих квантовых точек. Приготовление образца осуществлялось следующим образом. На покровное стекло микроскопа методом спин-коатинга наносилась плёнка полиизобутилена (ПИБ) с растворёнными квантовыми точками CdSe/ZnS. Толщина плёнки по результатам измерений на атомно-силовом микроскопе (АСМ) составила 50-100 нм. Приготовленный образец помещался на предметный столик люминесцентного трёхмерного микроскопа плёнкой вверх. Иммерсионный микро-объектив (Carl Zeiss 100x 1.3NA) располагался снизу на масляном контакте с образцом. Затем, на плёнку ПИБа наносилась капля такого же иммерсионного масла. Масло растворяло ПИБ, квантовые точки начинали отрываться от плёнки и свободно дрейфовать. Двухлепестковые изображения дрейфующих квантовых точек регистрировались со временем накопления сигнала 100 мс на кадр.

Для восстановления значения продольной координаты наноразмерного излучателя из относительного угла поворота в двухлепестковом изображении была построена калибровочная кривая - соответствие между углом поворота двухлепестковой функции и положением излучателя вдоль оптической оси (продольной координатой). Итоговая калибровочная кривая приведена на рисунке 2. Как видно из рисунка, при работе с микро-объективом с сильным увеличением и большой числовой апертурой, рабочий диапазон по оси Z, в котором удастся надёжно регистрировать изображения двухлепестковой функции точечного излучателя, составляет 700 нм.

Оценка точности восстановления трёх координат одиночных точечных излучателей показала следующее. Для излучателей, находящихся вблизи фокальной плоскости микро-

объектива (в середине рабочего диапазона по оси Z), наилучшая точность восстановления координат составила 12 нм для поперечных координат (x,y - в плоскости образца) и 18 нм для продольной координаты (z- в направлении оптической оси микроскопа). Для излучателей, находящихся близко к краям рабочего диапазона по оси Z, на расстояниях 300 нм от фокальной плоскости микро-объектива, наилучшая точность восстановления составила 21 нм для поперечных координат (x,y - в плоскости образца) и 34 нм для продольной координаты (z- в направлении оптической оси микроскопа). На рисунке 3 приведены гистограммы распределений всех трёх восстановленных координат одиночных квантовых точек вблизи фокальной плоскости микрообъектива.

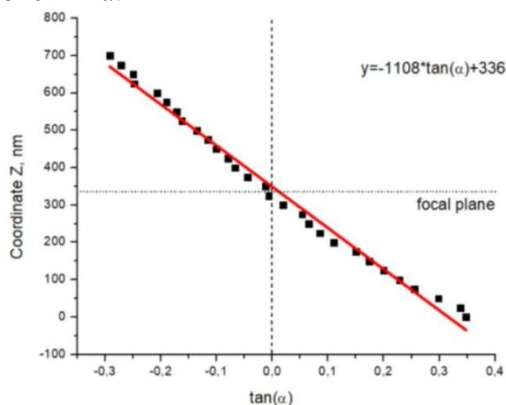


Рисунок 2. Калибровочная кривая, связывающая абсолютное значение положения точечного излучателя по отношению к фокальной плоскости микрообъектива (её положение соответствует значению 336 нм) с углом поворота духлесткового изображения излучателя (нулевой угол соответствует положению излучателя в фокальной плоскости).

Оценка точности восстановления трёх координат одиночных точечных излучателей показала следующее. Для излучателей, находящихся вблизи фокальной плоскости микро-объектива (в середине рабочего диапазона по оси Z), наилучшая точность восстановления координат составила 12 нм для поперечных координат (x,y - в плоскости образца) и 18 нм для продольной координаты (z- в направлении оптической оси микроскопа). Для излучателей, находящихся близко к краям рабочего диапазона по оси Z, на расстояниях 300 нм от фокальной плоскости микро-объектива, наилучшая точность восстановления составила 21 нм для поперечных координат (x,y - в плоскости образца) и 34 нм для продольной координаты (z- в направлении оптической оси микроскопа). На рисунке 3 приведены гистограммы распределений всех трёх восстановленных координат одиночных квантовых точек вблизи фокальной плоскости микрообъектива.

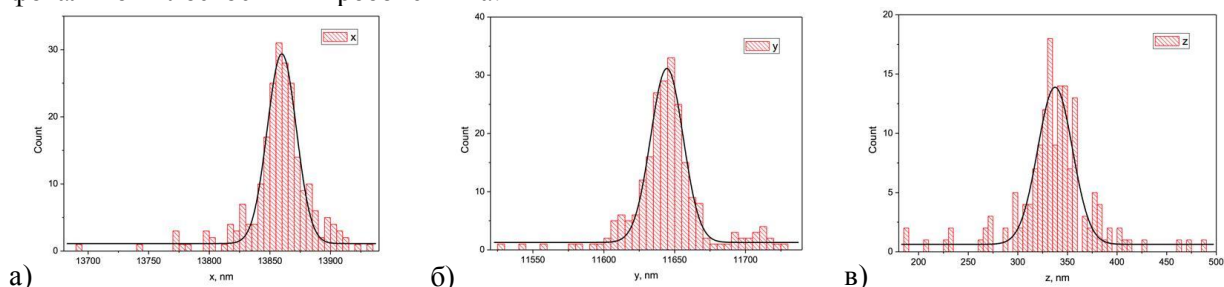


Рисунок 3. Гистограммы распределений координат одиночного точечного излучателя, восстановленные по результатам 500 измерений, и их аппроксимация функцией Гаусса. а) для координаты x ($\sigma=12$ нм), б) для координаты y ($\sigma=12$ нм), в) для координаты z ($\sigma=18$ нм).

Разработанные методы могут быть применены для различного рода исследований. Одиночная квантовая точка является хорошим модельным объектом сферического тела с малым гидродинамическим радиусом (10-20 нм). Регистрация её перемещений в вязкой среде позволяет оценивать коэффициент диффузии. Развитая методика даёт инструмент для

исследования медленной трёхмерной диффузии квантовой точки в различных средах с высокой вязкостью. Это, в частности, позволяет использовать разработанные методы для исследования неоднородных сильно вязких сред для определения распределения значений локального коэффициента вязкости в среде и определения характерных размеров областей с различной вязкостью.

4. Заключение

В работе продемонстрировано применение разработанного нами фазового элемента, преобразующего падающее на него излучение в двухлепестковое поле, для трёхмерной локализации коллоидных квантовых точек CdSe/ZnS. При его использовании реализована схема дальнепольной люминесцентной трёхмерной локализационной микроскопии сверхвысокого разрешения. Координаты одиночных квантовых точек восстановлены с точностью $(\sigma_x, \sigma_y, \sigma_z) = (12 \text{ нм}, 12 \text{ нм}, 18 \text{ нм})$.

Использование нового фазового элемента с высокой энергетической эффективностью и оптимизированного под конкретный микро-объектив Carl Zeiss 100x 1.3NA позволило существенно уменьшить время накопления сигнала в каждом кадре при регистрации двухлепестковых изображений, при сохранении требуемой точности восстановления координат точечных излучателей. В результате, впервые удалось провести эксперимент по трёхмерному отслеживанию квантовых точек, свободно дрейфующих в иммерсионном масле. Реализовать этот эксперимент ранее было невозможно, поскольку скорость дрейфа квантовых точек накладывает ограничение на время регистрации их изображений.

5. Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-32-90078.

6. Литература

- [1] Moerner, W.E. Single-Molecule Spectroscopy, Imaging, and Photocontrol: Foundations for Super-Resolution Microscopy (Nobel Lecture) // *Angewandte Chemie-International Edition*. – 2015. – Vol. 54(28). – P. 8067-8093.
- [2] Pavani, S.R.P. Three dimensional tracking of fluorescent microparticles using a photon-limited double-helix response system / S.R.P. Pavani, R. Piestun // *Optics Express*. – 2008. – Vol. 16(26). – P. 22048-22057.
- [3] 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.
- [4] Абрамочкин, Е.Г. Современная оптика гауссовых пучков / Е.Г. Абрамочкин, В.Г. Волостников – М.: ФизМатЛит, 2010. – 184 с.
- [5] Воронцов, Е.Н. Исследование формирования световых полей с различной скоростью вращения интенсивности / Е.Н. Воронцов, Н.Н. Лосевский, Д.В. Прокопова, Е.В. Разуева, С.А. Самагин // *Компьютерная оптика*. – 2016. – Т. 40, № 2. – С. 158-163. DOI: 10.18287/2412-6179-2016-40-2-158-163.
- [6] Volostnikov, V.G. Phase Filters for 3D Localization of Point Light Sources / V.G. Volostnikov, E.N. Vorontsov, N.N. Losevsky, S.P. Kotova, D.V. Prokopova, S.A. Samagin, // VII International Conference on Photonics and Information Optics, KnE Energy & Physics, 2018. – P. 469-481. DOI 10.18502/ken.v3i3.2061.
- [7] 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.
- [8] 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.

- [9] Проконова, Д.В. Повышение энергетической эффективности дифракционных оптических элементов для задач трехмерной наноскопии / Д.В. Проконова, Е.Н. Воронцов, С.П. Котова, Н.Н. Лосевский, С.А. Самагин, И.Т. Мынжасаров, А.А. Горшелев, И.Ю. Еремчев, А.В. Наумов // Известия РАН. Серия физическая. – 2019. – Т. 83, № 12. – С. 1608-1613. DOI: 10.1134/S036767651912024X.

Phase diffraction optical elements for three-dimensional localization of CdSe / ZnS quantum dots

D.V. Prokopova^{1,2}, E.N. Vorontsov¹, N.N. Losevsky¹, S.P. Kotova^{1,2}, A.A. Gorshelev³,
I.Yu. Eremchev³, A.V. Naumov³

¹Lebedev Physical Institute, Novo-Sadovaya street 221, Samara, Russia, 443011

²Samara National Research University, Moskovskoe Shosse 34A, Samara, Russia, 443086

³Institute of Spectroscopy, Russian Academy of Sciences, Fizicheskaya street 5, Troitsk, Russia, 108840

Abstract. The paper investigates the possibility of using a phase mask with increased diffraction efficiency, which forms a two-leaf light field, for three-dimensional localization of CdSe / ZnS colloidal quantum dots. A scheme of far-field luminescent three-dimensional localization microscopy of ultrahigh resolution with the accuracy of coordinate restoration (σ_x , σ_y , σ_z) = (12 nm, 12 nm, 18 nm) was implemented.