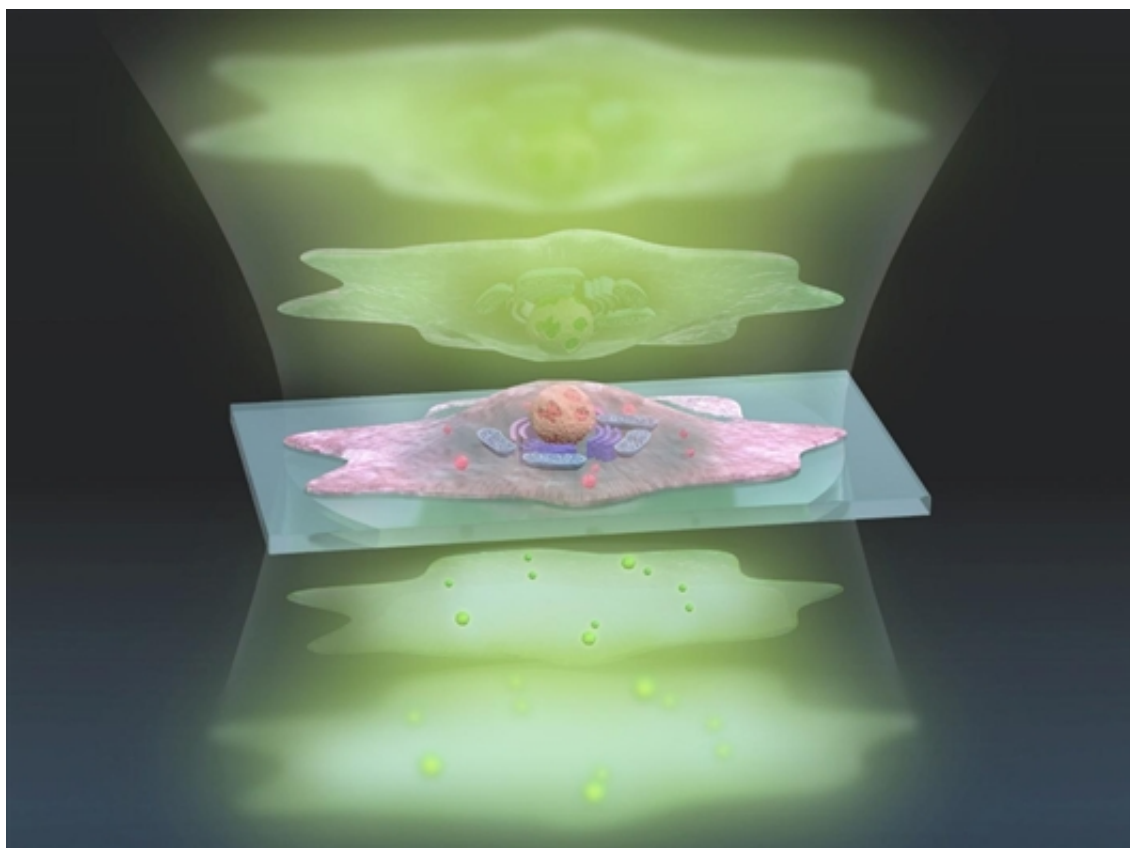

显微技术迎来新跨越

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/12347.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

显微技术迎来新跨越。



日本东京大学研究人员开发了一种方法，可以提高现有定量相位成像的灵敏度，同时看到活细胞内从微小颗粒到大型结构的所有结构。图片来源：s-graphics.co.jp

2021年伊始，显微镜技术也迎来新的跨越。

光物理学家开发出一种新方法，利用现有显微镜技术，无需添加染色剂或荧光染料，就能更详细地观察活细胞内部。

一种荧光寿命显微镜技术，能够使用频率梳而不是机械部件来观察动态生物现象。

我认为无标签技术将是一个重要的研究方向。特别是以无标签的方式对细胞内外病毒和外来体等小颗粒进行测量的技术将是未来成像设备的一个趋势。其中一项研究的领导者、日本东京大学光子科学与技术研究所副教授Takuro Ideguchi在接受《中国科学报》采访时表示。

更大范围 更小相位变化

由于单个细胞几乎是半透明的，因此显微镜照相机必须能探测到穿过部分细胞的光线的极其细微的差异。这些差异被称为光的相位。相机图像传感器则受到它们能检测到的光相位差的限制，即动态范围。

为了使用同一图像传感器看到更详细的信息，我们必须扩大动态范围，这样就可以探测到更小的光相位变化。Ideguchi说，更大的动态范围允许我们测量小型和大型的相位图像。例如，如果测量一个细胞，细胞的主干会产生大的相位变化，而细胞内的小颗粒/分子会产生小的相位变化。为了使两者可视化，我们必须扩大测量的动态范围。

该研究小组开发了一种技术，通过两次曝光分别测量光相位的大小变化，然后将它们无缝连接起来，制造出详细的最终图像。他们将这种方法命名为自适应动态范围偏移定量相位成像（ADRIFT-QPI）。相关论文近日发表于《光：科学与应用》。

一直以来，定量相位成像是观察单个细胞的有力工具，它允许研究人员进行详细的测量，比如根据光波的位移跟踪细胞的生长速度。然而，由于图像传感器的饱和容量较低，该方法无法跟踪细胞内及周围的纳米颗粒。

而新方法克服了定量相位成像的动态范围限制。在ADRIFT-QPI中，相机需要两次曝光，并产生一个最终图像，其灵敏度是传统定量相显微镜的7倍。

两次曝光 告别光毒

第一次曝光是用常规的定量相位成像产生的——平的光脉冲指向样品，并在它通过样品后测量光的相移。计算机图像分析程序基于第一次曝光的图像，快速设计一个反射样品图像。然后，研究人员用一个叫做波前整形装置的独立组件，用更高强度的光产生一种光雕塑，以获得更强的照明，并向样品发出脉冲，进行第二次曝光。

如果第一次曝光产生的图像是样品的完美代表，第二次曝光的雕刻光波将以不同的相位进入并穿过样品，最终只能看到一个黑暗的图像。

有趣的是，我们在某种程度上抹去了样本的图像。实际上，我们几乎什么都不想看到。我们去掉了大的结构，这样就能看到小的细节。Ideguchi解释道，由于第一次测量中存在较大的相位对象，受动态范围的限制，无法对较小的相位对象进行可视化，研究人员称之为洗掉。他们需要第二次测量观察动态范围移位的小相位物体的细节。

此外，该方法不需要特殊的激光、显微镜或图像传感器，研究人员可以使用活细胞，而且不需要任何染色或荧光，出现光毒性的可能性很小。光毒性是指用光杀死细胞，这也是其他成像技术如荧光成像面临的一个问题。

另一篇论文的通讯作者、日本德岛大学Post-LED光子学研究所教授Takeshi Yasui指出，在传统的

激光扫描共焦显微镜中，强激发光聚焦在一个焦点上，并对焦点进行二维机械扫描，使光毒性的影响较强。Yasui等人的荧光成像新方法中，激发光被聚焦为一个二维焦点，因此每个焦点的光强度变得非常弱。光毒性高度依赖于入射光的强度，我们的方法也可以显著降低。

改造荧光成像

实际上，荧光显微镜广泛用于生物化学和生命科学，因为它允许科学家直接观察细胞及其内部和周围的某些化合物。荧光分子能吸收特定波长范围内的光，然后在较长的波长范围内重新发射。

然而，传统荧光显微技术的主要局限性是其结果难以定量评价，而且荧光强度受实验条件和荧光物质浓度的显著影响。现在，一项新研究将彻底改变荧光显微镜领域。

当荧光物质被一束短脉冲光照射时，产生的荧光不会立即消失，而是随着时间的推移衰减。但荧光衰减非常快，普通相机无法捕捉到它。虽然可以使用单点光电探测器，但必须在整个样本区域进行扫描，才能从每个测量点重建出完整的二维图像。这个过程涉及到机械部件的运动，这极大地限制了图像捕捉的速度。

幸运的是，在最近发表于《科学进展》的一项研究中，科学家开发了一种不需要机械扫描就能获得荧光寿命图像的新方法。领导这项研究的日本德岛大学Post-LED光子学研究所教授Takeshi Yasui说，我们能在2D空间上同时映射44400个‘光秒表’来测量荧光寿命——所有这些都有一次拍摄中，不需要扫描。

到目前为止，光频率梳被广泛地用作测量光频率的标尺，但我们一直在考虑其他的用途。Yasui在接受《中国科学报》采访时说，我们意识到，如果将光学频率梳视为具有超离散多光谱结构的光，通过维数转换将被测物理量叠加在光谱上，可以从双梳光谱获得的模式分辨光谱中共同获得被测物理量。

研究人员使用光学频率梳作为样品的激发光。一个光学频率梳本质上是一个光信号，它们之间的间隔是恒定的。研究人员将一对激发频率梳信号分解为具有不同强度调制频率的单个光拍信号（双梳光拍），每个光拍携带单个调制频率，辐照到目标样品上。而且，每束光束都在一个不同的空间位置击中样本，在样本二维表面的每个点和双梳光拍的每个调制频率之间形成一一对应的关系。

研究人员用数学方法将测量信号转换为频域信号，根据调制频率处的激发信号与测量信号之间存在的相位延迟，计算出每个像素处的荧光寿命。

Yasui表示，这将有助于动态观察活细胞，还可以用于多个样本的同时成像和抗原检测——这种方法已经被用于新冠肺炎的诊断。该技术还有助于开发出新的顽固性疾病疗法，提高预期寿命。

同样，Ideguchi也提到，ADRIFT-QPI能够在整个活细胞的背景下看到微小颗粒，而不需要任何标签或染色。该技术可以检测到来自纳米级粒子的细小信号，比如病毒或在细胞内外移动的粒子，这样就可以同时观察它们的行为和细胞的状态。（来源：中国科学报唐凤）

相关论文信息：

<https://doi.org/10.1038/s41377-020-00435-z>

<https://doi.org/10.1126/sciadv.abd2102>

版权声明：凡本网注明来源：中国科学报、科学网、科学新闻杂志的所有作品，网站转载，请在正文上方注明来源和作者，且不得对内容作实质性改动；微信公众号、头条号等新媒体平台，转载请联系授权。邮箱：shouquan@stimes.cn。

作者：Takuro Ideguchi 来源：《光：科学与应用》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发