
激光差动共焦拉曼-布里渊光谱显微镜

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/23823.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！

激光差动共焦拉曼-布里渊光谱显微镜。

研究背景

癌变细胞和正常细胞在形态、化学性质和力学性质等方面有明显差异，肿瘤组织细胞化学和力学性能的检测可为细胞及人体组织病变过程提供多维信息。现有组织细胞形态、力学性能、化学性能的检测方法中，共焦拉曼光谱显微技术可对样品微区化学性能进行非接触、无标记探测，共焦布里渊光谱显微技术可对样品微区力学性能进行非接触、无损探测，将共焦拉曼光谱与布里渊光谱检测技术结合，来同时、同位检测组织甚至亚细胞结构的微区三维形貌、化学性能和机械力学性能，有望为组织细胞多维病变信息的检测提供新手段。

创新研究

现有共焦拉曼/布里渊光谱显微成像技术由于缺少高精度实时定焦能力，致使扫描过程中聚焦在样品上的光斑大小随着样品的高低起伏而变化，从而制约了共焦光谱显微系统理论空间分辨力的实现;其次，由于拉曼和布里渊散射光谱强度较弱，成像积分时间较长，共焦光谱显微系统极易受系统漂移的影响而导致离焦，进而影响空间分辨力和成像质量等;此外，在对生物组织切片样品进行成像时，垂直入射产生的荧光信号会降低样品拉曼光谱的信噪比，从而影响拉曼光谱和布里渊光谱探测的准确性，降低检测精度。

鉴于此，在国家自然科学基金重点项目机械形态性能激光分光瞳差动共焦布里渊—拉曼光谱测量原理与传感系统(51535002)等项目支持下，北京理工大学赵维谦教授团队发明了图1所示的高稳定、高分辨、抗散射分光瞳激光差动共焦拉曼-布里渊(Divided-aperture Laser Differential Confocal Raman-Brillouin, DLDCRB)图谱成像新方法(授权中国发明专利ZL 201410086366.5和欧洲发明专利EP 3118608 B1)，该方法将分光瞳激光差动共焦显微技术与拉曼光谱和布里渊光谱探测技术相结合，通过差动共焦测量技术进行纳米精度的样品定焦，来提高系统空间分辨力和稳定性;通过分光瞳斜向激发与探测技术进行反射光和层间散射光等干扰光的抑制，来提高系统的光谱探测信噪比;通过拉曼光谱与布里渊光谱的同源激光激发与高分辨分离探测，来实现微区几何形貌、拉曼光谱和布里渊光谱的高稳定、高分辨原位图谱成像。

基于该方法研制了图2所示的具有高空间分辨力和三维成像聚焦跟踪能力的DLDCRB光谱显微镜，其轴向定焦分辨力达1nm、光谱成像横向分辨力达400nm、拉曼光谱分辨力达 0.7cm^{-1} 、布里渊光谱探测分辨力达0.5GHz等。

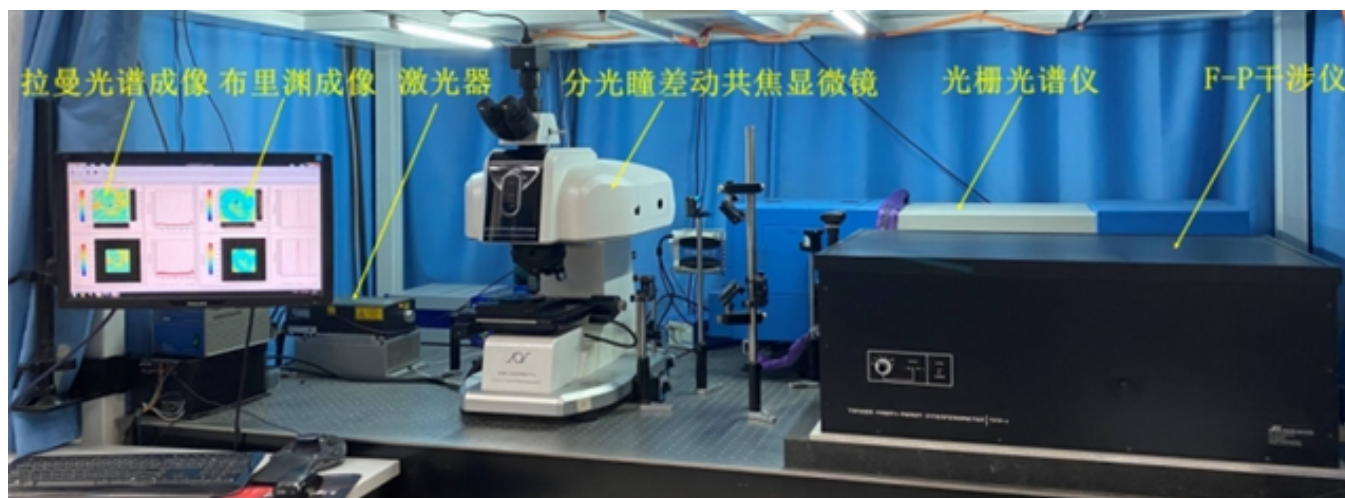


图2. DLDCRB光谱显微镜

利用研制的DLDCRB光谱显微镜，对条形样品进行了清晰成像，结果如图3所示，验证了所提方法的抗漂移能力;对PMMA/SiO₂双层样品进行了检测，结果如图4所示，验证了所提方法抑制离焦层散射光干扰的能力。

图3. 传统共焦光谱系统与DLDCRB光谱显微镜结果对比(a)经典共焦光谱系统成像(模糊) (b) DLDCRB光谱系统成像(清晰)

图4. 系统抗离焦噪声干扰机制 (a) 斜向激发与收集光路 (b) 压缩了散射体轴向尺寸

利用研制的DLDCRB光谱显微镜，对胃癌组织和癌旁正常组织进行了拉曼-布里渊光谱成像实验分析，证实了之前有关癌组织中蛋白质物质发生变化以及组织之粘弹性变化导致浸润性增加的假设。

图5给出了DLDCRB光谱显微镜对胃癌组织与癌旁正常组织的化学成像结果，浓度由拉曼光谱特征峰的强度来表征。胃癌组织与癌旁正常组织化学成像结果相比：胶原蛋白浓度低且分布离散；胃癌细胞的DNA物质浓度高且分布范围大；胃癌组织细胞基质内的蛋白质浓度低；胃癌组织的脂质在基质内浓度高，而正常组织的脂质分布相对均匀。

图5.胃癌组织与癌旁正常组织化学成像结果

图6给出了DLDCRB光谱显微镜对胃癌组织与癌旁正常组织的力学性能成像结果，布里渊光谱的频移表征物质的储能模量(弹性性能)，布里渊光谱的半高宽表征物质的损耗模量(粘性性能)。胃癌组织与癌旁正常组织力学成像结果相比，胃癌细胞和细胞间质的弹性低于正常细胞和细胞间质，癌细胞细胞核的弹性高于正常细胞;胃癌细胞和细胞间质的粘性低于正常细胞和细胞间质，癌细胞细胞核的粘性高于正常细胞。

图6. 胃癌组织与癌旁正常组织的力学性能对比图

本研究提出了具有高稳定、高分辨、抗散射的分光瞳激光差动共焦拉曼-布里渊图谱成像方法，研制成功了相应的仪器，实现了样品三维形貌、力学性能和化学组分的多维信息检测，并在肿瘤组织表征分析中进行了应用验证，本检测方法可为癌变过程和癌症治疗等领域的研究提供一种新的手段。

该文章近日发表在国际顶尖学术期刊《Light: Science Applications》，题为A high-precision multi-dimensional microspectroscopic technique for morphological and properties analysis of cancer cell。(来源：LightScienceApplications微信公众号)

相关论文信息：<https://www.nature.com/articles/s41377-023-01153-y>

特别声明：本文转载仅仅是出于传播信息的需要，并不意味着代表本网站观点或证实其内容的真实性;如其他媒体、网站或个人从本网站转载使用，须保留本网站注明的“来源”，并自负版权等法律责任;作者如果不希望被转载或者联系转载稿费事宜，请与我们联系。

作者：赵维谦等 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