

В. М. ГИНЗБУРГ, Э. Г. СЕМЕНОВ, С. Н. СМЕРНОВА, Б. М. СТЕПАНОВ

ГОЛОГРАФИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННАЯ МИКРОСКОПИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ КЛЕТОК

(Представлено академиком А. Ю. Ишлинским 23 IV 1971)

В последнее время появился ряд работ, посвященных применению голографической микроскопии для изучения биологических объектов (¹⁻⁴). В этих работах получены голограммы тканей мозга, диатомовых водорослей, волоса и др. По полученным голограммам восстанавливались отдельные детали объекта, разнесенные по глубине. В работе (³) голографические изображения обрабатывались методами интерферометрии и фазового контраста.

Голографическая микроскопия с непосредственным получением интерферограммы объекта описана в (⁵). В этой работе с помощью разработан-

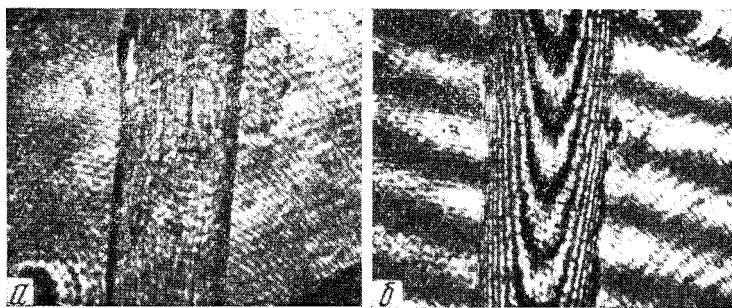


Рис. 1. Микрофотография в когерентном свете (а) и интерферограмма в полосах конечной ширины (с клином) (б) человеческого волоса. 400 $\times$

ного авторами голографического микроскопа была получена интерферограмма капли масляной иммерсии.

Здесь мы приводим предварительные результаты исследования биологических клеток методом голографической интерференционной микроскопии в реальном масштабе времени, позволяющей производить непосредственное наблюдение интерферограмм живых клеток. Исследования проводились на голографической установке УИГ-2, разработанной во Всесоюзном научно-исследовательском институте оптико-физических измерений (^{6, 7}).

В порядке подготовки эксперимента при отсутствии объекта на фотопластинке регистрируется голограмма. Сигнальный волновой фронт проходит через объектив микроскопа, а опорный волновой фронт падает на фотопластинку под углом 30° к нормали. После проявления пластинки на месте экспонирования (без смещения) установка подготовлена к эксперименту. Исследуемый препарат помещается между коллимирующей линзой и объективом микроскопа. Возникающая интерференционная картина в полосах бесконечной ширины наблюдается через окуляр микроскопа. Интерференционная картина в полосах конечной ширины может быть получена с помощью клина, помещенного между коллимирующей линзой и

объектом. Перекрывая опорный волновой фронт, можно наблюдать микроскопическое изображение объекта в когерентном свете.

На рис. 1 приведена микрофотография человеческого волоса при увеличении $400\times$ в когерентном свете и интерферограмма в полосах конечной ширины при введении клина в сигнальный луч.

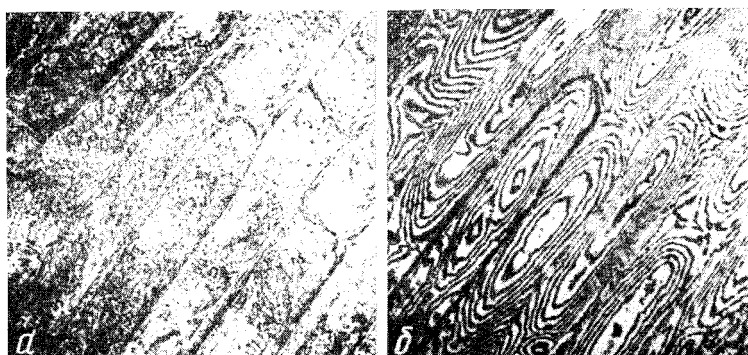


Рис. 2. Микрофотография в когерентном свете (а) и интерферограмма без клина (б) клеток кожицы лука. $200\times$

Аналогичное изображение кожицы лука показано на рис. 2 (увеличение $200\times$).

На приведенных интерферограммах четко различаются интерференционные картины в отдельных клетках. Сравнивая полученные микроинтер-

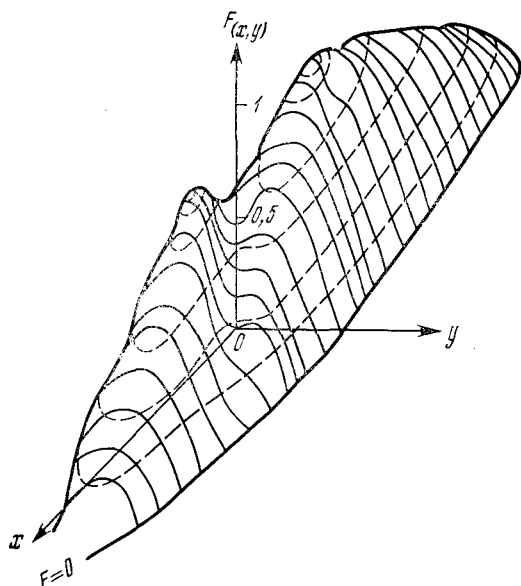


Рис. 3. Функция относительного распределения оптической длины луча для клетки

ферограммы и микрофотографии одних и тех же клеток, можно установить взаимосвязь между особенностями структуры клетки и ее интерферограммой. По частоте интерференционных полос можно оценить оптические неоднородности, вызванные как неравномерностью коэффициента преломления по клетке, так и неравномерностью ее толщины.

Например, произошедшая при делении клетки, выделенной жирной линией на рис. 2б, деформация соседних с ней клеток вызвала увеличение частоты интерференционных полос в них.

Полученные таким способом интерферограммы позволяют производить не только качественную, но и количественную оценку внутренней структуры клеток.

Если пренебречь для упрощения расчетов рефракцией света в клетке и считать, что луч света, проходя через клетку, не изменяет своего направления, то для данной точки с координатами x, y получим соотношение

$$n_{(x, y)}d_{(x, y)} = n_0d_0 + N\lambda,$$

где $n_{(x, y)}$ — средний коэффициент преломления для луча, прошедшего через клетку, $d_{(x, y)}$ — толщина клетки в данной точке, n_0 — коэффициент преломления, соответствующий краю клетки, d_0 — толщина клетки на краю, N — число полос от края клетки до данной точки, λ — длина волны излучения (6328 Å).

Очевидно, что для всех замкнутых линий на интерферограмме оптические длины nd будут равны.

В качестве иллюстрации на рис. 3 показана функция относительного распределения оптической длины для клетки (рис. 2б)

$$F(x, y) = \frac{n_{(x, y)} d_{(x, y)} - n_0 d_0}{n_{\max} d_{\max} - n_0 d_0} = \frac{N}{N_{\max}}.$$

Аналогичная функция может быть построена также по интерферограмме волоса (рис. 1б), если предположить, что он обладает аксиальной симметрией и воспользоваться известным в интерферометрии методом расчета распределения коэффициента преломления в осесимметричных фазовых объектах⁽⁸⁾.

Описанный метод дает возможность регистрации интерферограмм живых микрообъектов и визуализации процессов, происходящих в них.

Авторы выражают благодарность В. Д. Софронову за ценные советы и консультацию.

Поступило
19 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. Leith, I. I. Upatniehs, J. Opt. Soc. Am., 55, 569 (1965). ² R. F. Van Ligten, H. Osterberg, Nature, 211, 282 (1966). ³ G. W. Ellis, Science, 154, 119S (1966). ⁴ W. L. Anderson, Lab. Manag., 1, 20 (1968). ⁵ K. Snow, R. Vanderwarker, J. Appl. Opt., 7, 549 (1968). ⁶ Е. А. Антонов, В. М. Гинзбург и др., Метрология, № 9 (1971). ⁷ В. М. Гинзбург, Б. М. Степанов, Измерительная техника, № 12 (1971). ⁸ Г. Г. Долгов, С. Л. Мандельштам, ЖЭТФ, 24, в. 6 (1953).