



Warszawa, 7 października 2020

SOFISM, czyli mikroskopia poza limitem rozdzielczości

Zespół z Wydziału Fizyki UW we współpracy z naukowcami z izraelskiego Instytutu Weizmanna dokonał kolejnego ważnego odkrycia w dziedzinie mikroskopii. Na łamach czasopisma „Optica” naukowcy wśród których byli m.in. Aleksandra Środa, Adrian Makowski i dr Radek Łapkiewicz z Zakładu Optyki IFD, przedstawili nową metodę mikroskopii, która teoretycznie nie ma limitu rozdzielczości. W praktyce zespołowi udało się uzyskać cztery razy lepszą rozdzielczość, niż wynikające z natury światła tzw. ograniczenie dyfrakcyjne, będące jedną z głównych przeszkód w obserwowaniu najmniejszych struktur biologicznych.

Rozwój nauk biologicznych i medycyny wymaga obserwacji coraz to mniejszych obiektów. Naukowcom zależy na tym, żeby mieć wgląd w strukturę i wzajemne oddziaływania np. białek w komórkach. Przy tym, oglądane próbki nie powinny różnić się od struktur występujących naturalnie w organizmie, co wyklucza użycie zbyt agresywnych procedur i odczynników. Klasyczny mikroskop optyczny, choć dokonał rewolucji w naukach przyrodniczych, dziś jest już dalece niewystarczający. Z uwagi na falową naturę światła mikroskop optyczny nie pozwala na obrazowanie struktur mniejszych niż około 250 nanometrów. Obiekty położone od siebie bliżej niż połowa długości fali światła (czyli właśnie ok. 250 nm dla światła zielonego) przestają być rozróżnialne. Jest to tzw. ograniczenie dyfrakcyjne, które próbują pokonać naukowcy. Rozdzielczość o kilka rzędów wielkości większą niż mikroskop optyczny ma mikroskop elektronowy, ale można w nim obserwować wyłącznie martwe obiekty, umieszczone w próżni i bombardowane wiązką elektronów. Za pomocą mikroskopii elektronowej nie można zatem badać żywych organizmów ani naturalnie zachodzących w nich procesów. Rozwiązaniem jest mikroskop fluorescencyjny. Dlatego też superrozdzielcza mikroskopia fluorescencyjna jest aktualnie bardzo prężnie rozwijającym się obszarem nauk fizycznych, a badania na rzecz jej rozwoju zostały już dwukrotnie uhonorowane Nagrodą Nobla – w 2008 i 2014 roku.

Obecnie istnieje już kilka technik mikroskopii fluorescencyjnej, a niektóre z nich stały się narzędziami powszechnie stosowanymi w obrazowaniu biologicznym. Część metod, takich jak mikroskopia PALM, STORM lub STED, charakteryzuje się olbrzymią rozdzielczością i pozwala na rozróżnianie obiektów oddalonych od siebie o zaledwie kilkanaście nanometrów. Techniki te wymagają jednak długiego czasu ekspozycji oraz skomplikowanego przygotowania preparatów biologicznych. Inne techniki, takie jak mikroskopia SIM lub ISM, są metodami łatwymi w użyciu, ale posiadają znacznie ograniczoną rozdzielczość i pozwalają oglądać struktury jedynie dwukrotnie mniejsze od ograniczenia dyfrakcyjnego.

Aleksandra Środa, Adrian Makowski i dr Radek Łapkiewicz z Laboratorium Optyki Kwantowej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego wraz z zespołem prof. Dana

Orona z Instytutu Weizmanna w Izraelu opracowali nową technikę mikroskopii superrozdzielczej, nazwaną przez nich *Super-resolution Optical Fluctuation Image Scanning Microscopy* (SOFISM). Technika SOFISM bazująca na metodzie ISM (Image Scanning Microscopy) opiera się na analizie przebiegów czasowych natężenia światła fluorescencji pochodzącego z niezależnie fluktuujących emiterów. Metoda ISM wykorzystuje mikroskop konfokalny (nazwa pochodzi od emisji światła jedynie z ogniska układu, które można przesuwając odtwarzając cały obraz), w którym pojedynczy detektor zostaje zastąpiony macierzą małych detektorów. W nowo opracowanej technice SOFISM, dzięki mierzeniu korelacji światła emitowanego z różnych punktów i zarejestrowanego przez detektory z mikroskopu ISM, otrzymuje się dodatkową informację – oprócz obrazu natężenia światła także obraz korelacji. Im wyższy rząd obliczonej korelacji, tym lepsza rozdzielczość. W praktyce jednak, rozdzielczość zależy od stosunku sygnału do szumu.

- SOFISM oferuje kompromis pomiędzy łatwością użycia a rozdzielczością. Wierzymy, że nasza metoda może wypełnić niszę pomiędzy skomplikowanymi, trudnymi w użyciu technikami o bardzo wysokiej rozdzielczości a metodami o niskiej rozdzielczości, lecz prostymi w użyciu. SOFISM nie posiada teoretycznego limitu rozdzielczości, jednakże w naszej pracy przedstawiliśmy wyniki, w których zdołaliśmy czterokrotnie pokonać ograniczenie dyfrakcyjne. W artykule pokazaliśmy również, że metoda SOFISM posiada wysoki potencjał w obrazowaniu trójwymiarowych struktur biologicznych – mówi dr Radek Łapkiewicz.

Co niezwykle ważne, metoda SOFISM jest – od strony technicznej – bardzo przystępna, ponieważ wymaga tylko niewielkiej modyfikacji powszechnie stosowanego w laboratoriach mikroskopu konfokalnego: wymiany w nim fotopowielacza na detektor SPAD array. Dodatkowo konieczne jest niewielkie wydłużenie czasu pomiaru oraz zmiana procedury obróbki danych.

- Detektory SPAD array były do niedawna drogie, a ich parametry nie były wystarczające do zastosowań takich jak nasze. Ta sytuacja zmieniła się ostatnio. Od ubiegłego roku dostępne są nowe detektory SPAD, w których zarówno bariery technologiczne, jak i cenowe zostały usunięte. Dlatego uważamy, że techniki mikroskopii fluorescencyjnej oparte na pomiarach korelacji, takie jak SOFISM, mogą w ciągu kilku lat stać się powszechnie stosowane w badaniach mikroskopowych – podkreśla dr Łapkiewicz.

Projekt był realizowany w ramach programu FIRST TEAM Fundacji na rzecz Nauki Polskiej.

Fizyka i astronomia na Uniwersytecie Warszawskim pojawiły się w 1816 roku w ramach ówczesnego Wydziału Filozofii. W roku 1825 powstało Obserwatorium Astronomiczne. Obecnie w skład Wydziału Fizyki UW wchodzi Instytut: Fizyki Doświadczalnej, Fizyki Teoretycznej, Geofizyki, Katedra Metod Matematycznych oraz Obserwatorium Astronomiczne. Badania pokrywają niemal wszystkie dziedziny współczesnej fizyki, w skalach od kwantowej do kosmologicznej. Kadra naukowo-dydaktyczna Wydziału składa się z ok. 200 nauczycieli akademickich, wśród których jest 87 pracowników z tytułem profesora. Na Wydziale Fizyki UW studiuje ok. 1000 studentów i ponad 170 doktorantów.

PUBLIKACJE NAUKOWE:

Aleksandra Środa, Adrian Makowski, Ron Tenne, Uri Rossman, Gur Lubin, Dan Oron, Radek Łapkiewicz: „SOFISM: Super-resolution optical fluctuation image scanning microscopy”, *Optica* Vol. 7, Issue 10, pp. 1308-1316 (2020). DOI: <https://doi.org/10.1364/OPTICA.399600>

KONTAKTY:

dr **Radek Łapkiewicz**
Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
tel.: +48 22 5532740
email: radek.lapkiewicz@fuw.edu.pl

POWIĄZANE STRONY WWW:

<http://quantumoptics.fuw.edu.pl/>
Strona grupy badawczej dr. R. Łapkiewicza

<https://www.weizmann.ac.il/complex/DOron/>
Strona grupy badawczej prof. Orona

<http://www.fuw.edu.pl>
Strona Wydziału Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego.

<http://www.fuw.edu.pl/informacje-prasowe.html>
Serwis prasowy Wydziału Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego.

MATERIAŁY GRAFICZNE:

FUW201007b_fot01

https://www.fuw.edu.pl/tl_files/press/images/2020/FUW201007b_fot01.jpg
Obraz mikrotubul w utrwalonej próbce komórek 3T3 barwionej kropkami kwantowymi. Dane zostały przeanalizowane na dwa sposoby: lewa górna strona - image scanning microscopy (ISM), prawa dolna strona - super-resolution optical fluctuation image scanning microscopy (SOFISM) oraz Fourier-reweighting. (Źródło: Wydział Fizyki UW, A. Makowski)

Program FIRST TEAM jest realizowany przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej ze środków UE pochodzących z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój, oś IV: Zwiększenie potencjału naukowo-badawczego, Działanie 4.4 Zwiększanie potencjału kadrowego sektora B+R.