

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Using a DFB laser as the laser source

**Kính hiển vi Raman đối Stokes sử dụng
nguồn kích laser màu phản hồi phân bố
(DFB)**

Vũ Dương - IOP

Hà Nội, 2/8/2021

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Nhóm Quang Sinh Nano

<https://sites.google.com/site/nbptteams/trang-chinh-home>



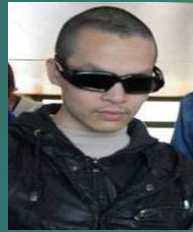
PGS. TS. Nghiêm Thị Hà Liên

PGS. TS. Đỗ Quang Hòa

TS. Nguyễn Trọng Nghĩa
TS. Nguyễn Thị Bích Ngọc



TS. Vũ Dương



Nguyễn Văn Toàn



TS. Nguyễn Thị Thùy



- Chế tạo và ứng dụng vật liệu nano trong y sinh

- Ứng dụng kỹ thuật in 3D trong các phương pháp đo quang

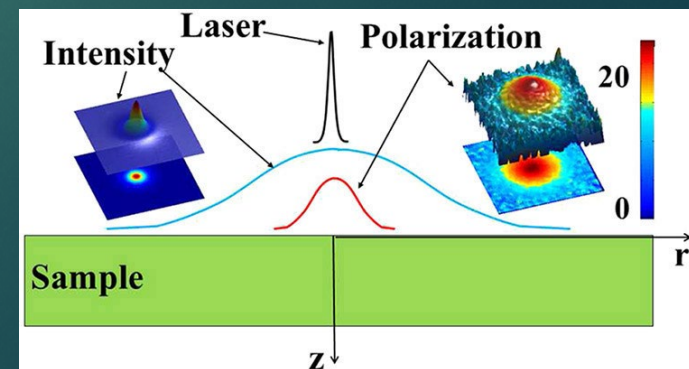
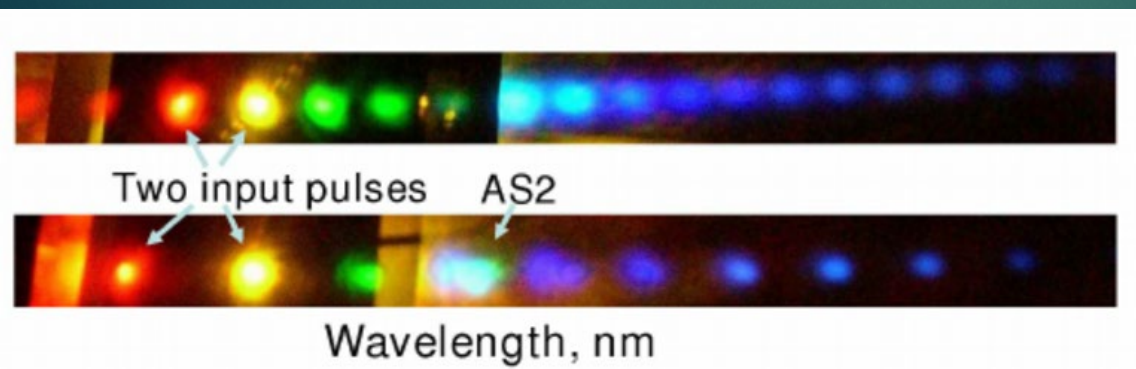
- Các phương pháp hiển vi quang học

- Laser và các phương pháp quang phổ

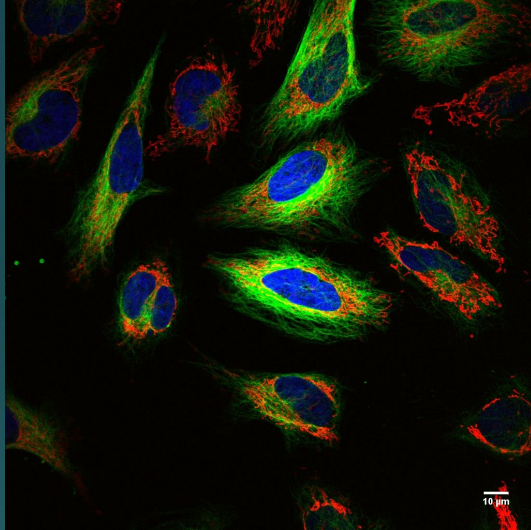
Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Hướng nghiên cứu:

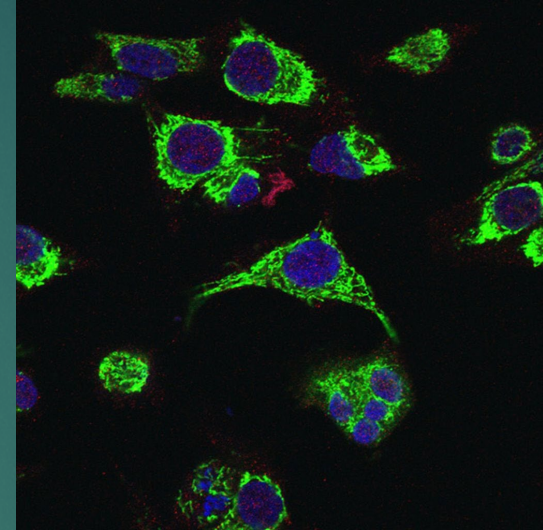
- Laser màu phản hồi phân bố thay đổi bước sóng
- Quá trình truyền quang điện tử trong bán dẫn
- Kính hiển vi huỳnh quang truyền năng lượng (FRET)
- Hiệu ứng trộn Raman 4 sóng (VUV-UV-VIS-NIR)
- Kính hiển vi Raman; Raman đối Stokes



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



Lu Wei and Wei Min, J. Phys. Chem. Lett. 2018, 9, 4294-4301



Topica Photonic

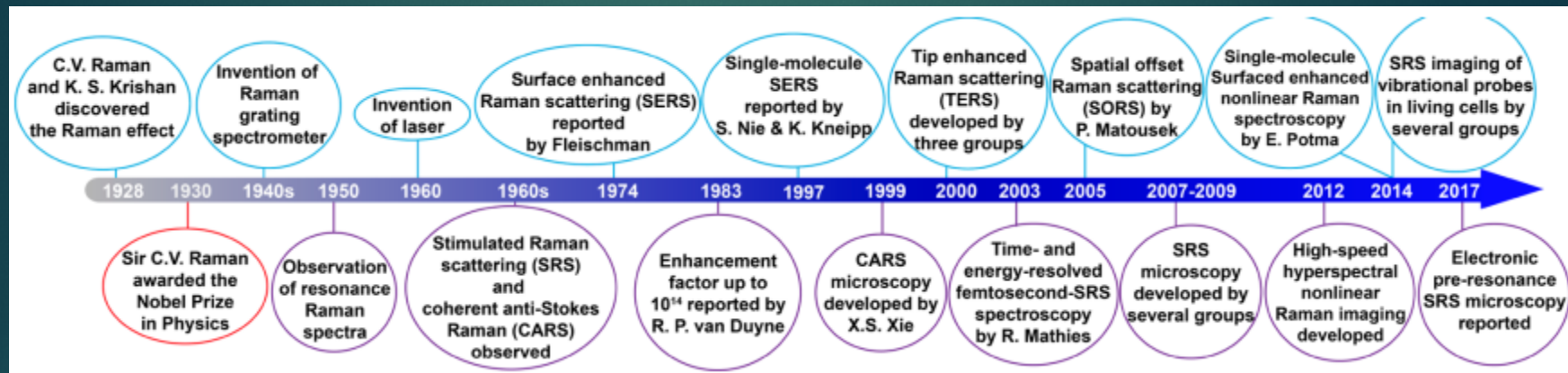
Kính hiển vi huỳnh quang

- Cần đánh dấu tế bào
- Không có thông tin về cấu trúc hóa học

Kính hiển vi Raman

- Không cần đánh dấu
- Cung cấp thông tin về cấu trúc hóa học

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



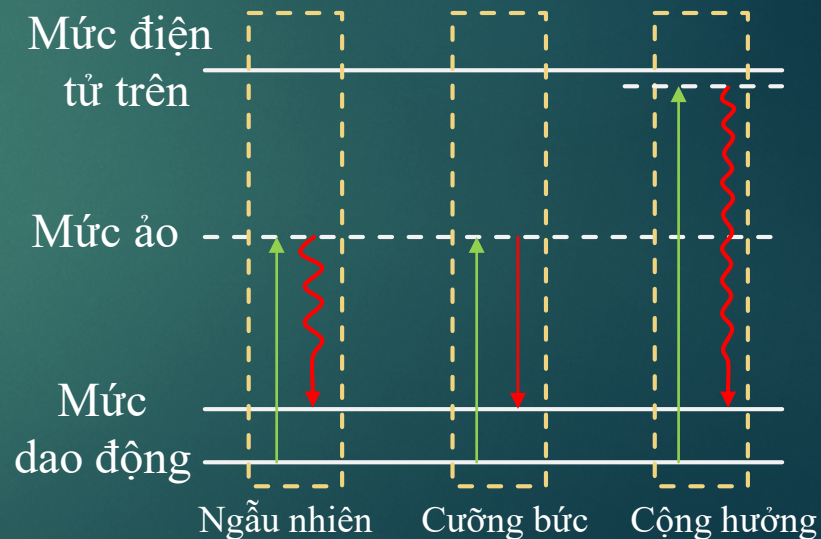
Tín hiệu tán xạ Raman thường thấp hơn nhiều lần tín hiệu huỳnh quang.



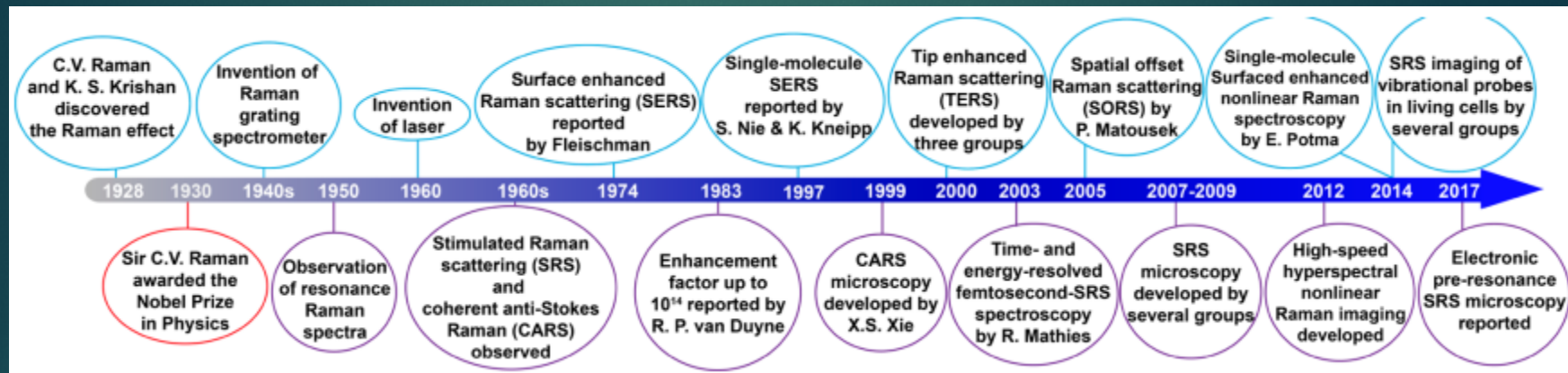
Sử dụng các tương tác trường gần làm tăng trường tín hiệu (SERS, TERS)



Giới hạn ứng dụng trong sinh học do tương tác với mẫu



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



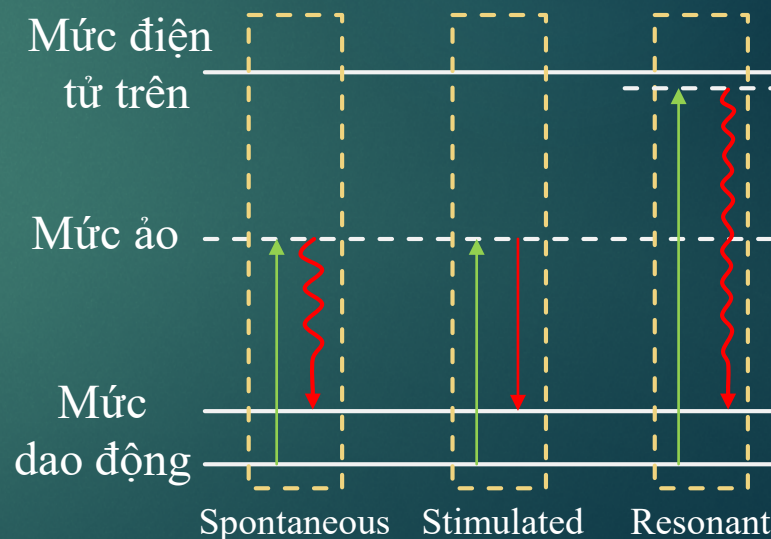
Tín hiệu tán xạ Raman thường thấp hơn nhiều lần tín hiệu huỳnh quang.



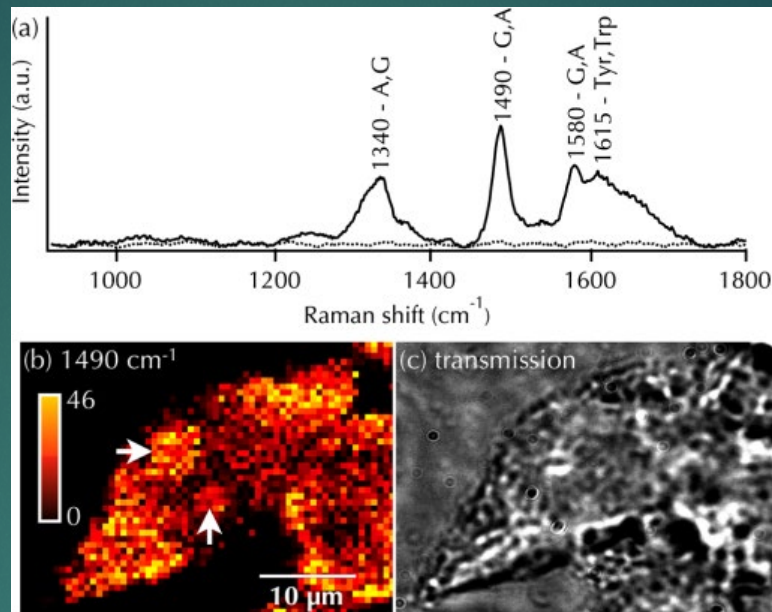
Hiệu ứng Raman cộng hưởng có khả năng thực hiện Raman đơn phân tử



- Giới hạn nhiễu nền huỳnh quang
- Phá hủy mẫu



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



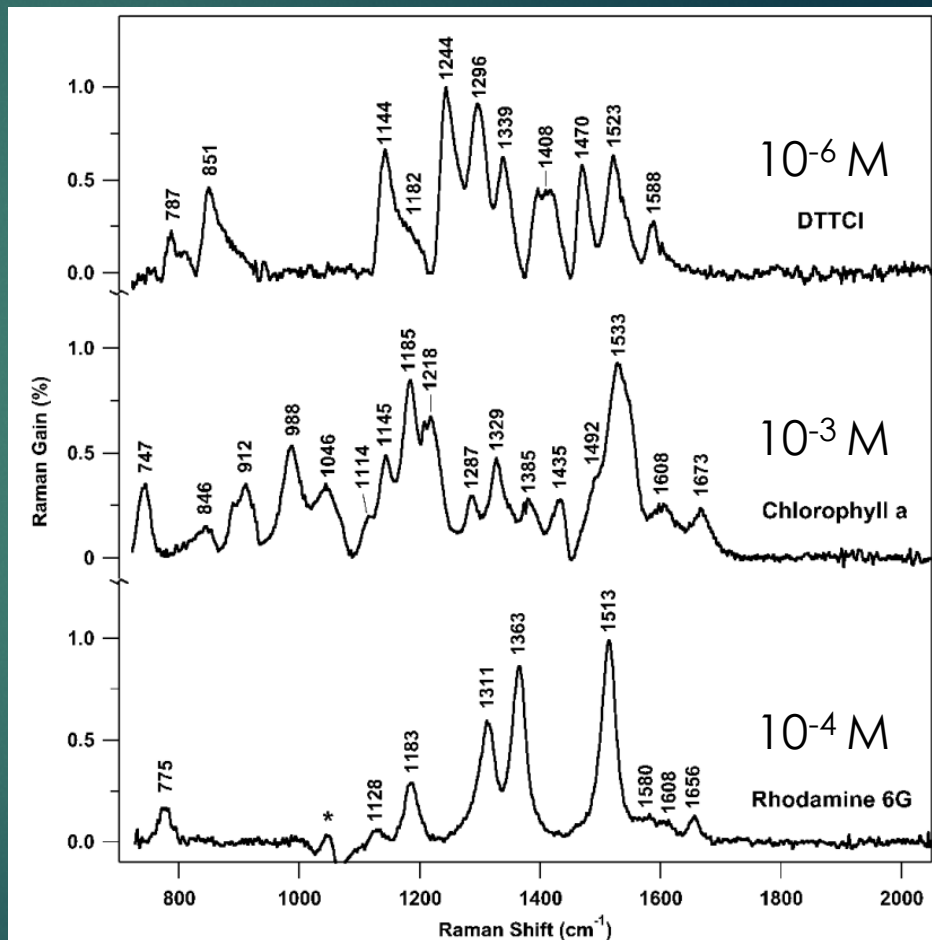
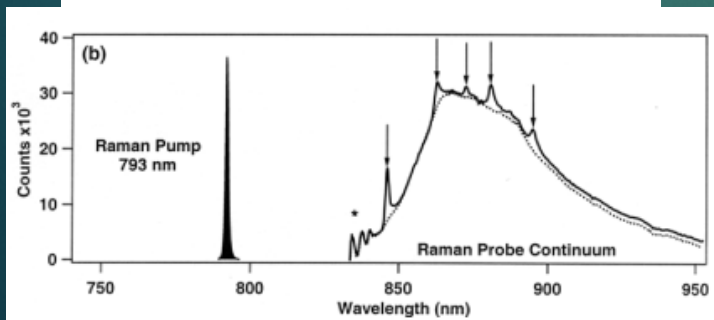
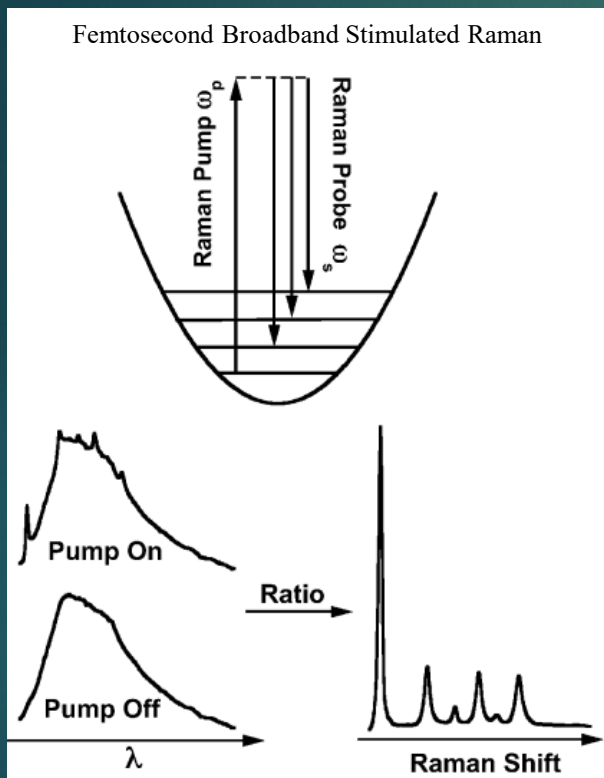
Raman Image of a HeLa cell
Excited at 257nm

Giới hạn nhiễu nền huỳnh quang trong raman cộng hưởng có thể khắc phục bằng time-gated, quenching... NHƯNG KHÔNG TRIỆT ĐỂ

Raman phi tuyến là hướng nghiên cứu triển vọng hướng tới xây dựng các hệ hiển vi Raman quan sát tế bào sống thời gian thực

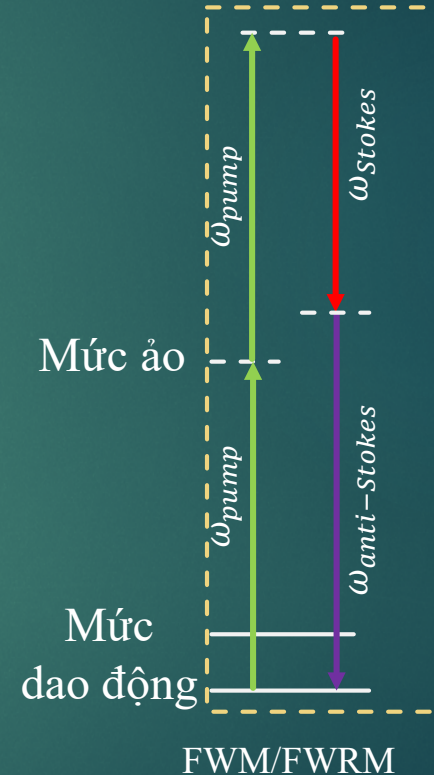
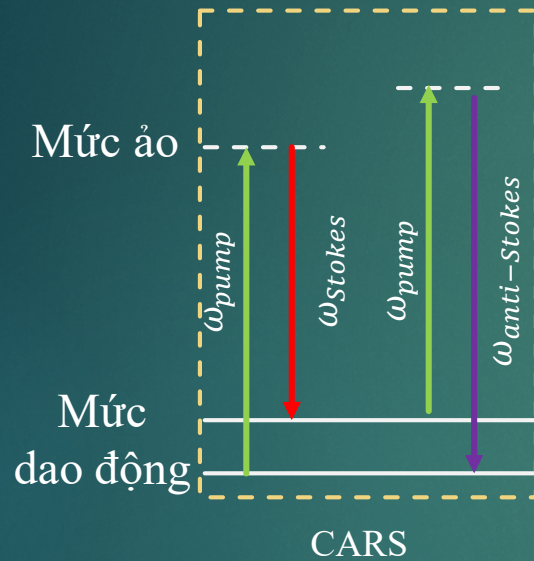
Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Raman phi tuyến



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Raman kết hợp phát đối Stokes



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Raman kết hợp phát đối Stokes

Nguồn kích thích

- Laser femto giây toàn rắn + OPO/OPA
- Laser rắn pico giây + OPO
- Laser sợi/ hệ laser sợi

Ưu điểm

- Các hệ CARS, FWRM ... với nguồn cơ bản là các laser femto đã trở nên phổ biến
- Các kỹ thuật nén xung, tạo Chirp cho phép xây dựng các hệ quang phổ tinh tế

Hạn chế

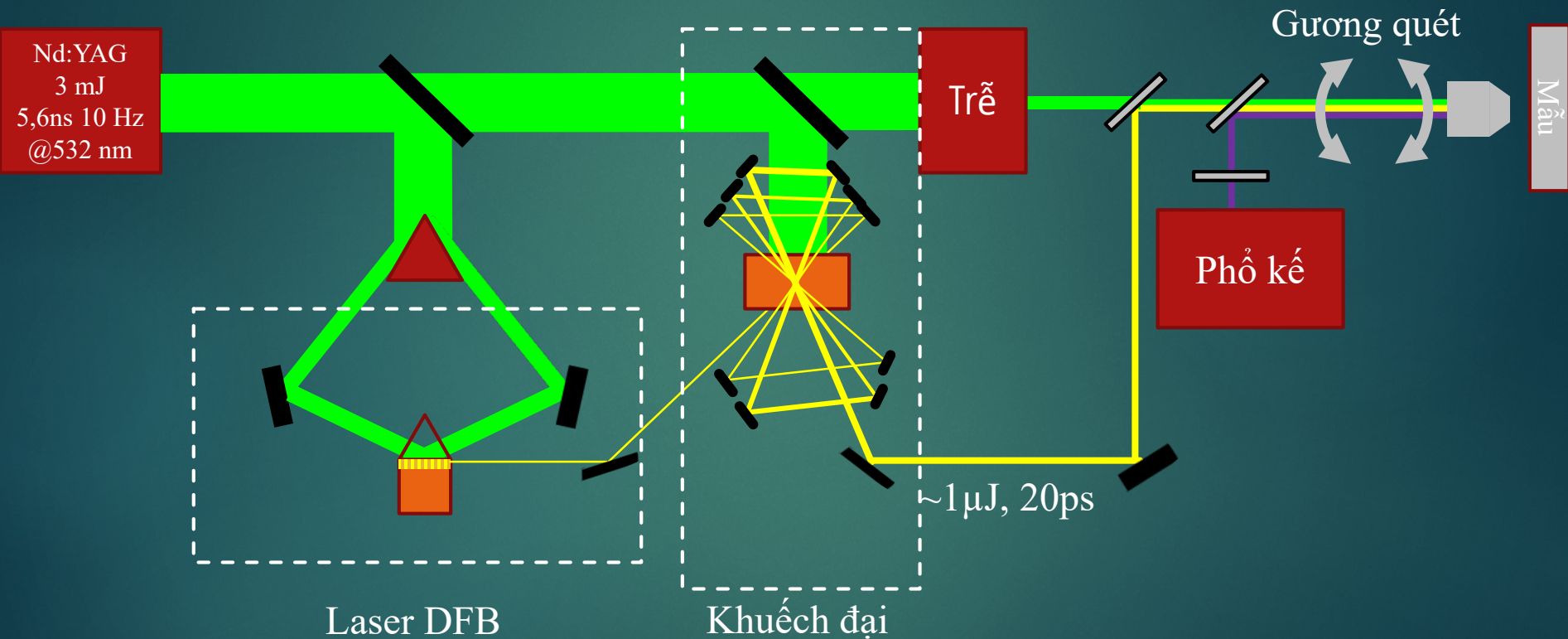
- Giá thành cao
- Vận hành phức tạp
- Không ổn định trong điều kiện tại VN



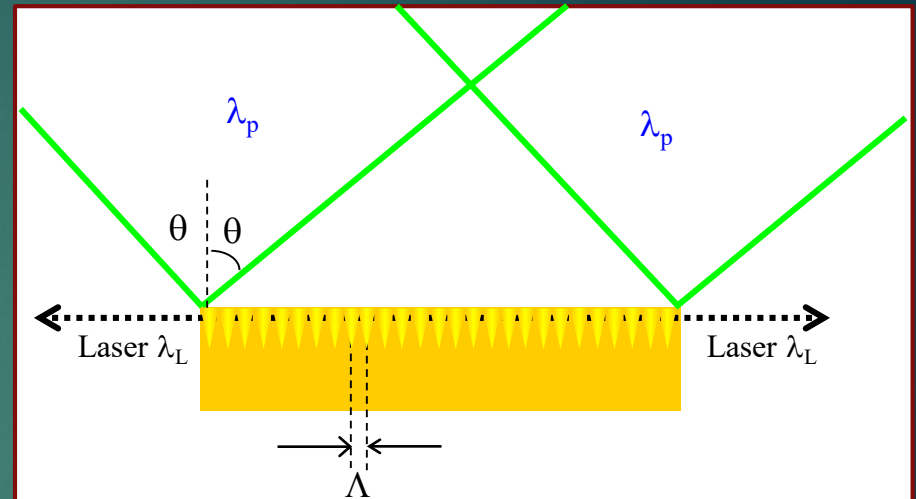
Sử dụng laser YAG:Nd kết hợp phát xung Stokes sử dụng cấu hình DFB

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Thực Nghiệm



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

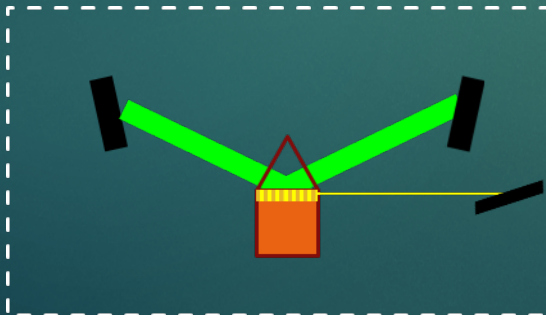


Điều chỉnh bước sóng laser DFB

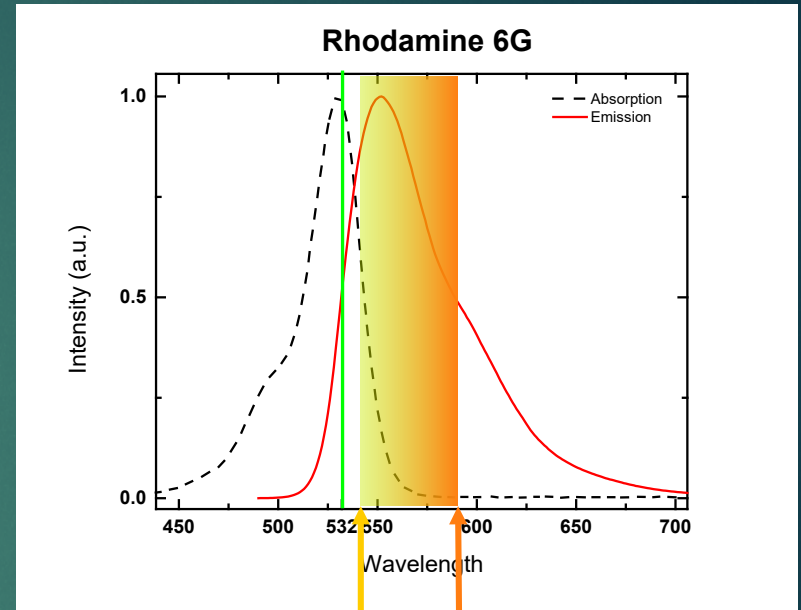
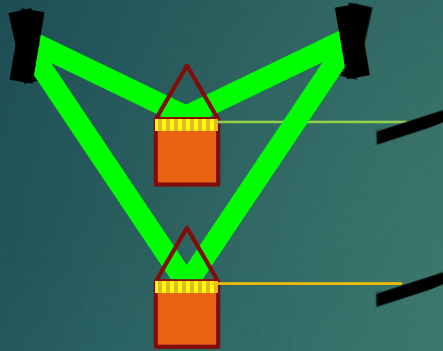
$$\Lambda = \frac{\lambda_L}{2 \sin \theta}$$

$$\lambda_L = m \frac{\Lambda}{2}$$

Để dàng điều chỉnh
bước sóng bằng
cách thay đổi góc
tới θ

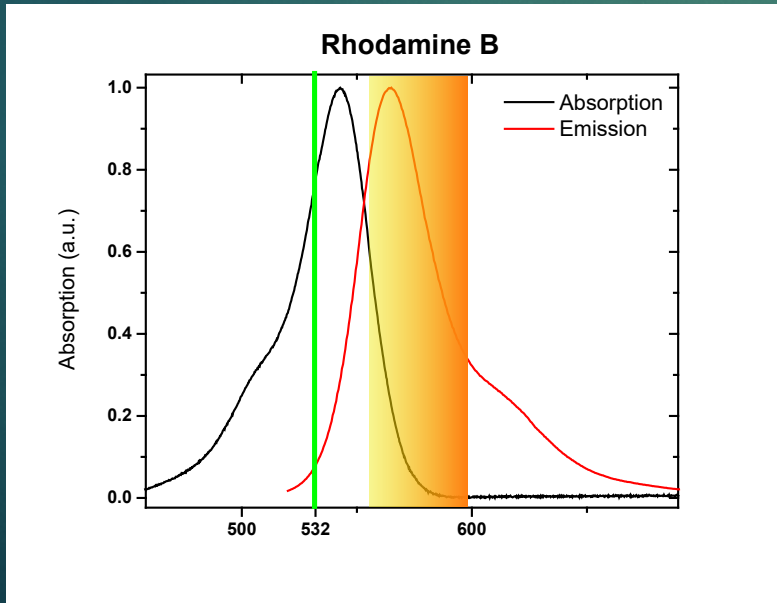


Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

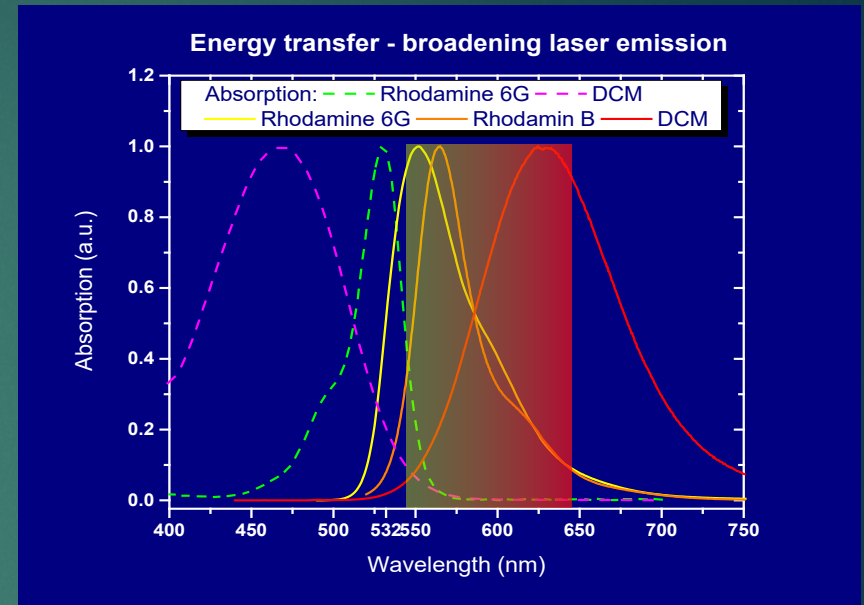
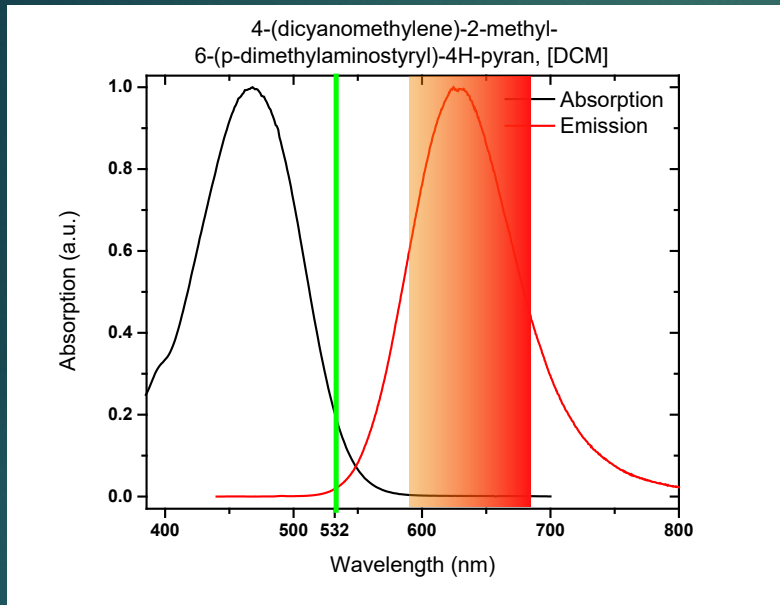


θ lớn

θ nhỏ

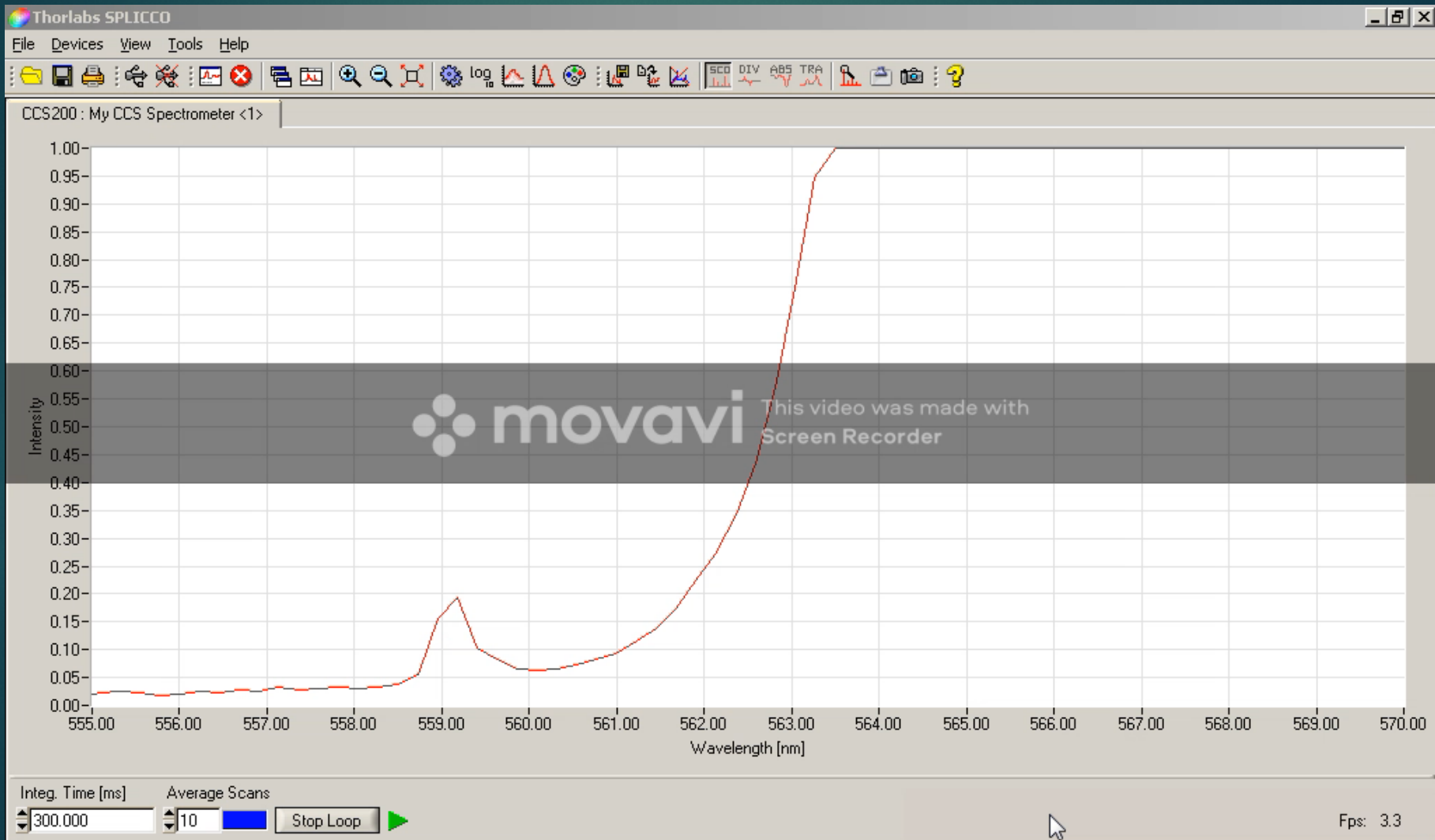


Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

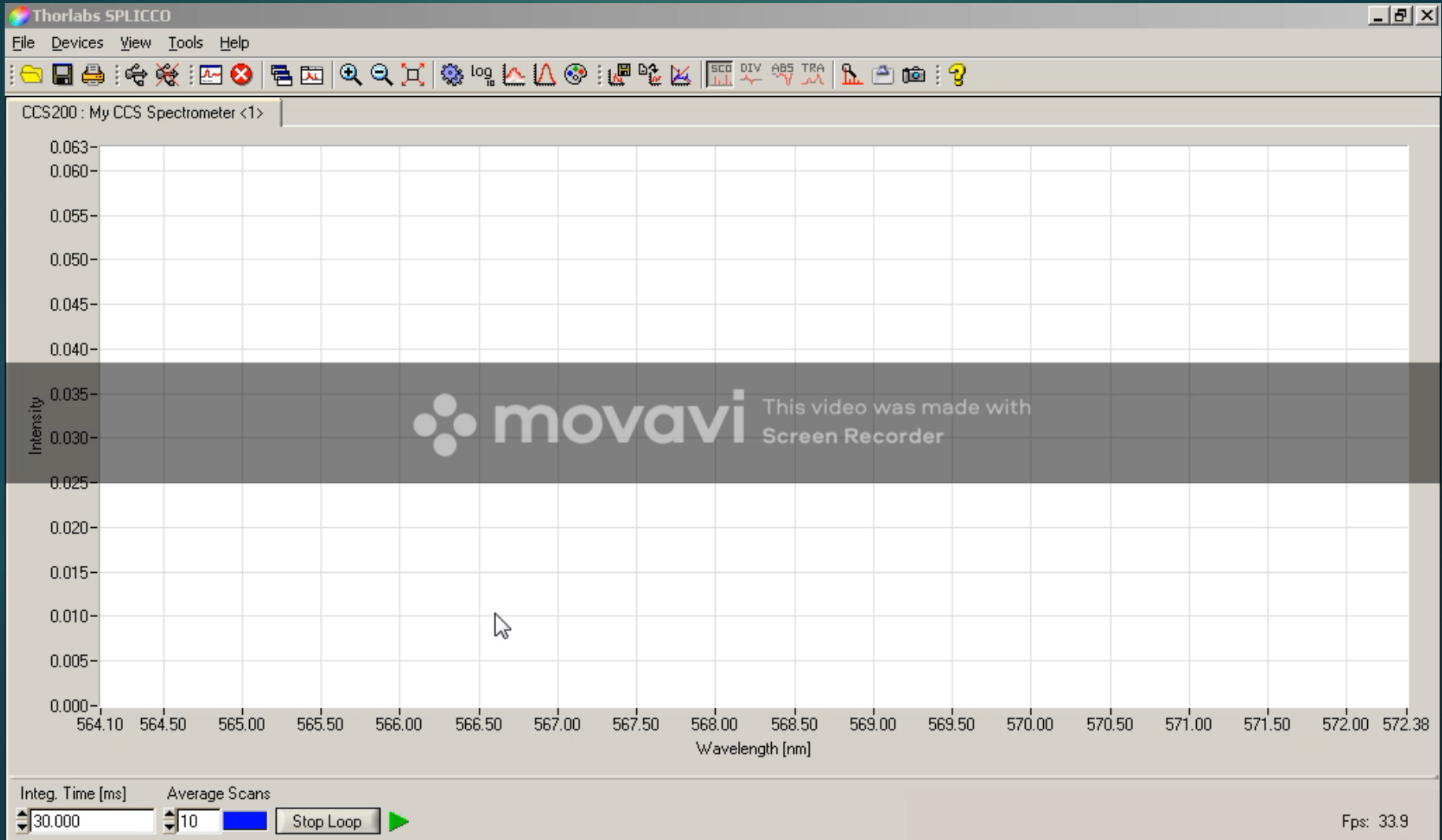


Hệ laser DFB điều chỉnh bước sóng trong khoảng
560 nm – 650nm khi kích thích tại 532 nm

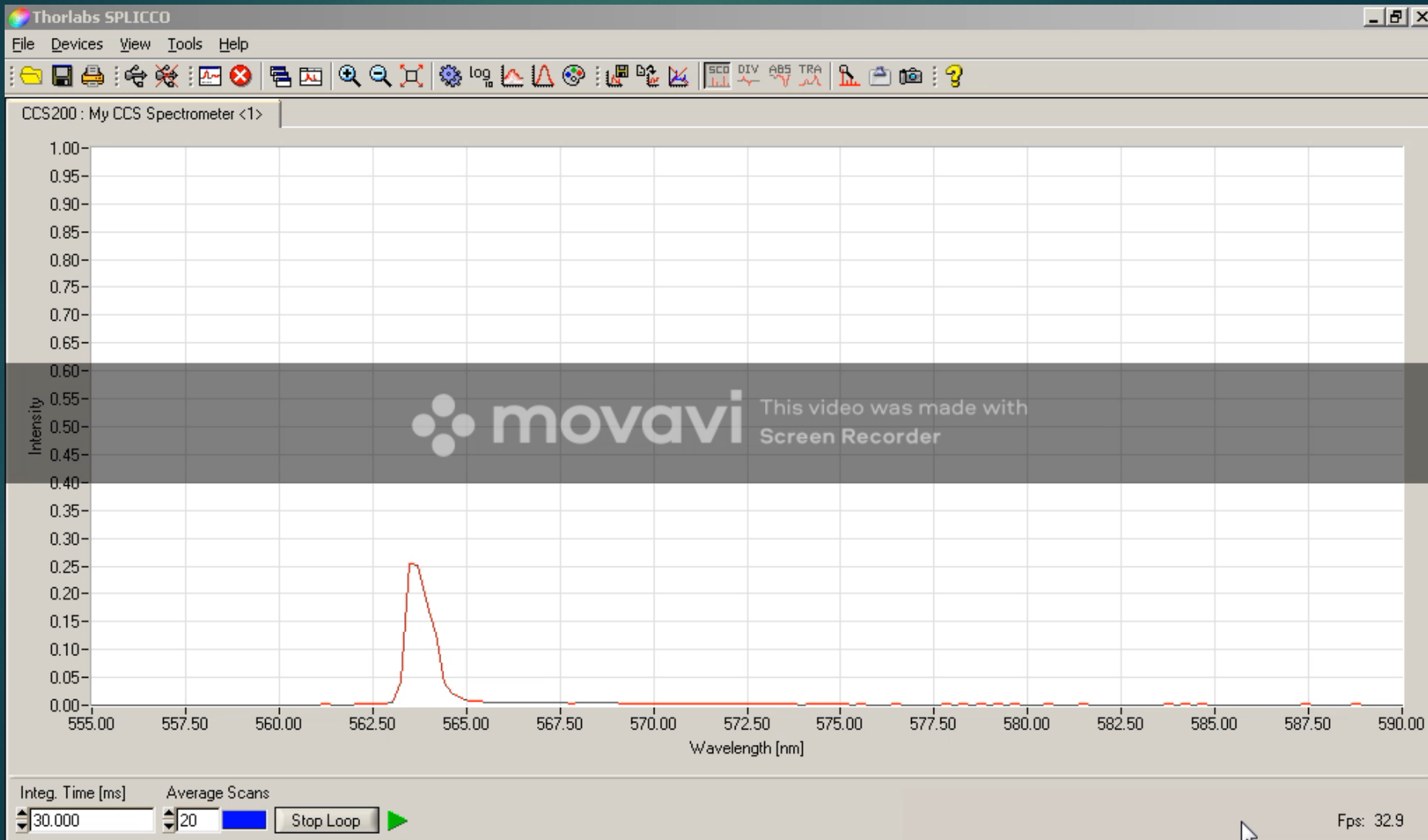
Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



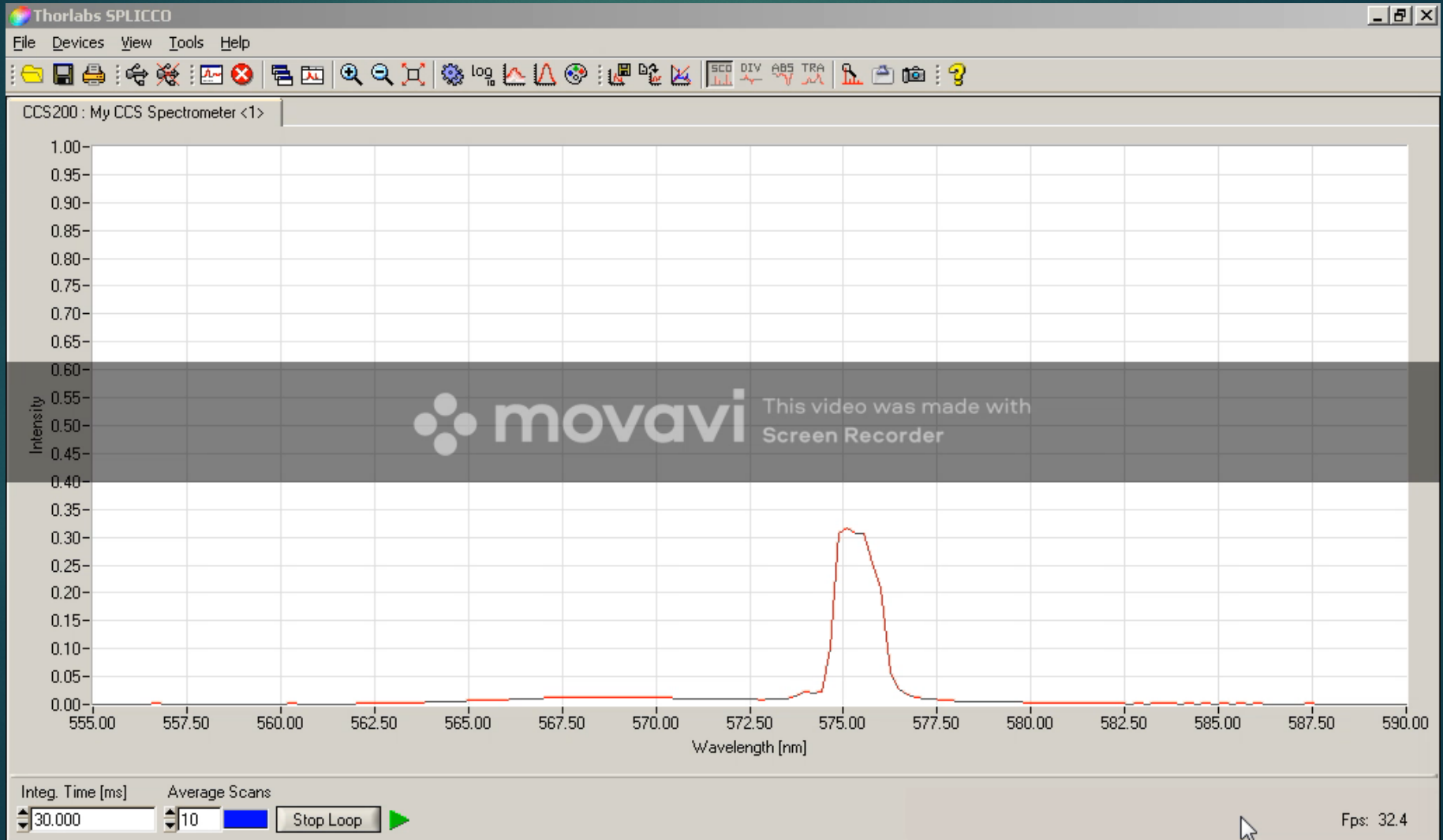
Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

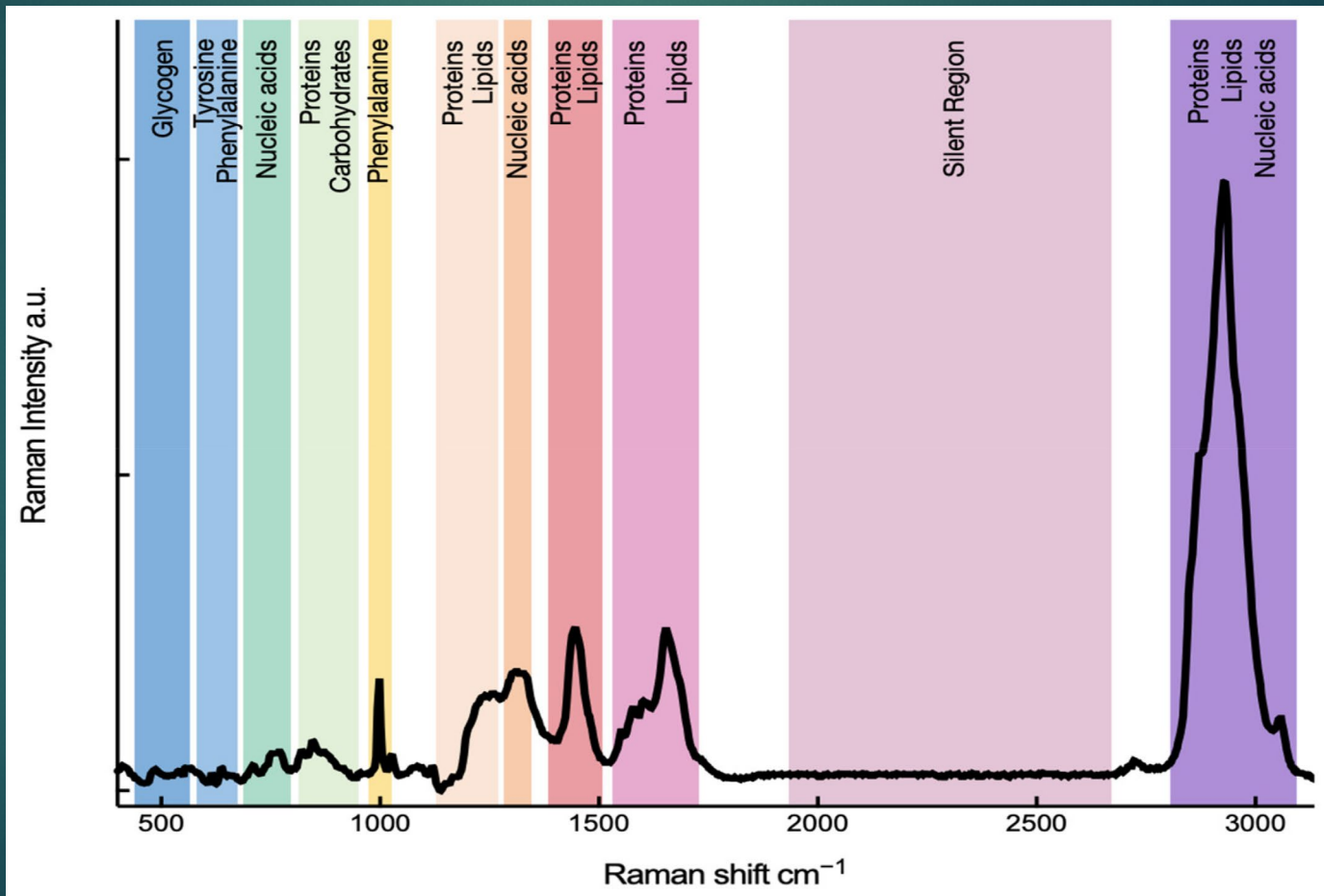


Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



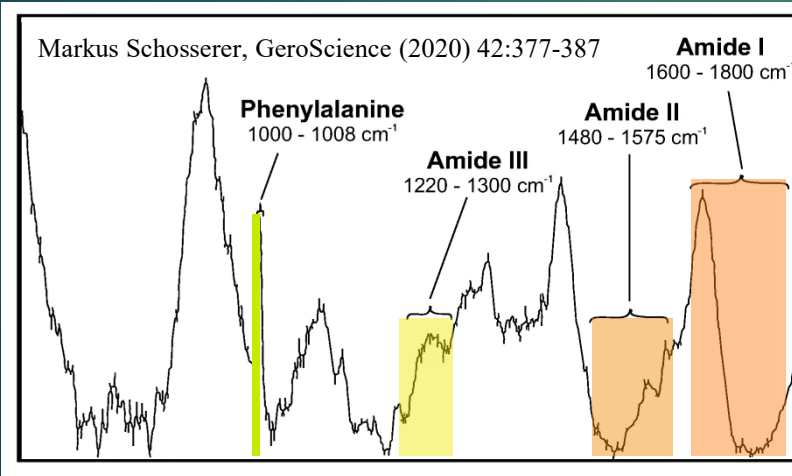
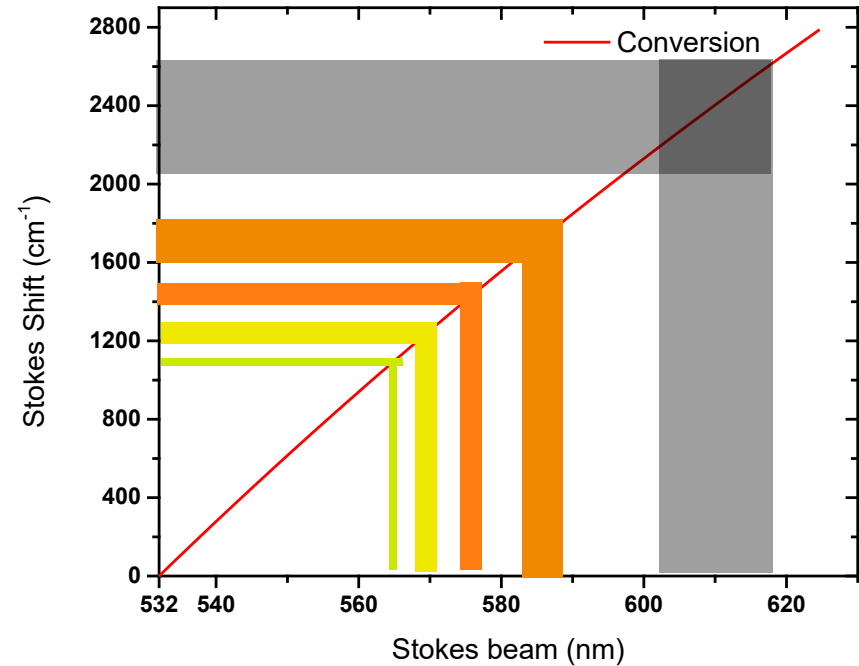
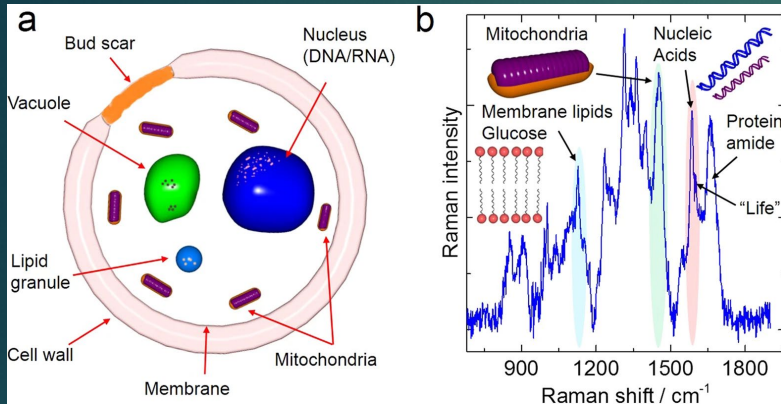
Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Raman signal from a cell



Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

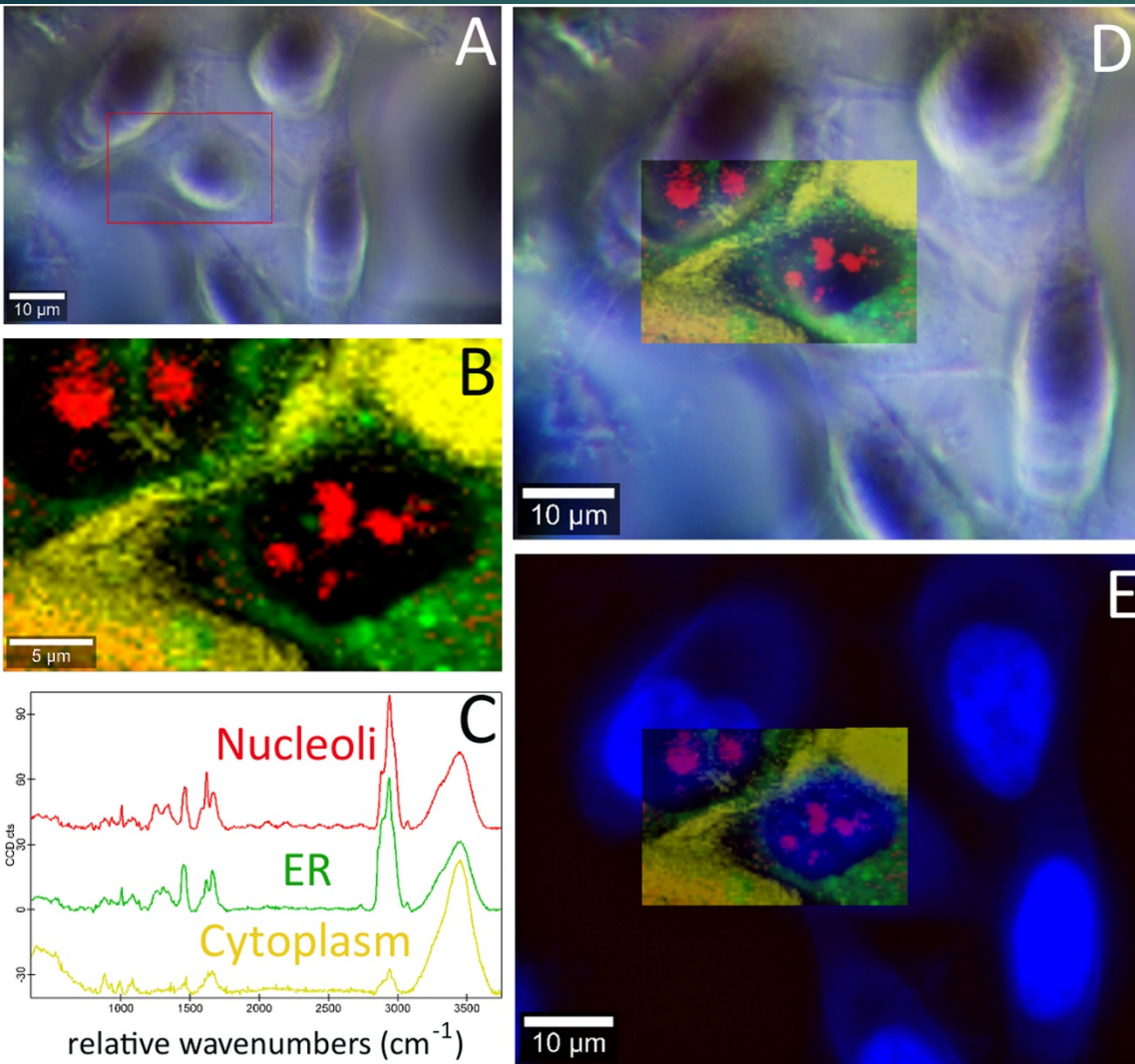
Raul D. Rodriguez. *Scientific Reports* volume 5, Article number: 13150 (2015)



Eg.:

Phenylalanine/amide I – Membrane protein composition and structure
Amide III → membrane protein folding

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



Ảnh tế bào thực vật có nhân:

A. Ảnh trường sáng

B. Ảnh quét Raman đồng tiêu trong vùng khoanh đỏ A. Nhân tế bào đánh dấu đỏ, (red), lưới nội chất đánh dấu xanh và tế bào chất đánh dấu vàng

C. Phổ Raman của các vùng

D. So sánh ảnh trường sáng và Raman

E. Ảnh huỳnh quang khi nhuộm nhân tế bào với DAPI

Nguồn: Dr. Claudia Scalfi-Happ, ILM, Ulm, Germany.

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



Tế bào má:

- Kích thước lớn
- Phân biệt nhân và tế bào chất

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope

Kết luận:

- Nghiên cứu ứng dụng hệ nguồn laser DFB trong xây dựng kính hiển vi Raman đối Stokes
 - Nguồn cơ bản Nd:YAG là phổ biến tại Việt Nam cũng như các PTN khác
 - Hệ DFB cấu tạo đơn giản, dễ vận hành, giá thành thấp
 - Bước sóng DFB thay đổi liên tục trong dải rộng, phù hợp với ứng dụng CARS (dưới 4000 cm^{-1})
- Xây dựng kính hiển vi Raman đối Stokes có khả năng dựng ảnh nhiều thành phần không xâm lấn mẫu.

Coherent anti-Stokes Raman Scattering Microscope



Cảm ơn đã lắng nghe