بیست و یکمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و هفتمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۲۳ تا ۲۵ دی ماه ۱۳۹۳، دانشگاه شهید بهشتی

نظریه الکترومغناطیسی میکروسکوپ فلورسنس میدان میرای موجبری برای موجبرهای معکوس در یک ساختار پنج لایه‌ایی سلول- موجبر

شب بو ساعدی، عبدالله حسن زاده

گروه فیزیک، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

چکیده - میکروسکوپ فلورسنس میدان میرای موجبری امکان تصویربرداری از ناحیه تماس سلول با سطح موجبر را مهیا می‌کند. هنگامی که یک سلول روی سطح موجبر پخش شده و به آن چسبیده باشد، ناحیه پوشش موجبر دیگر یک ناحیه یکنواخت تک‌لایه نیست بلکه چندین لایه دارد. در این مقاله تئوری الکترومغناطیسی امواج هدایت یافته در موجبرهای تخت با ناحیه پوششی چند لایه‌ایی با لایه‌های یکنواخت را که مدلی از یک سلول چسبیده به سطح می‌باشد، برای یک موجبر معکوس ارائه خواهد شد. کمیت‌هایی مانند میزان تحریک مولکول‌های فلورسنس، فلورسنس زمینه و میزان جدایی سلول از سطح موجبر بررسی می‌گردد.

کلید واژه- ساختار سلول- موجبر، عمق نفوذ، میدان میرا، میکروسکوپ میدان میرای موجبری

Electromagnetic theory of reverse waveguide evanescent field fluorescence (WEFF) microscope for a five layered cell - waveguide structure

Shabbo Saedi, Abdollah Hassanzadeh

Department of Physics, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Abstract- Waveguide evanescent field fluorescence microscope can be used to image cell – waveguide contact regions. When a cell is attached to and spread on a waveguide surface, the cover region becomes a multilayer and is not a simple single – layer region any more. In this paper, the electromagnetic theory of guided waves in a planar waveguides with a multilayer cover region, which is a model for an attached cell, is investigated. Quantifies such as the excited fluorescence, background fluorescence and the distance of the cell from waveguide surface are analyzed.

Keywords: cell - waveguide structure, penetration depth, evanescent field, waveguide evanescent field microscope

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-14]

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

۱- مقدمه

موجبرها ساختارهای اپتیکی هستند که می‌توانند امواج الکترومغناطیسی را درون خود به دام انداخته و هدایت کنند. امروزه موجبرها نقشی اساسی را در خیلی کاربردها از جمله: اپتیک مجتمع [۳ - ۱]، حسگرها [۴] و میکروسکوپ میدان میرا [۷ - ۵] ایفا می‌کنند.

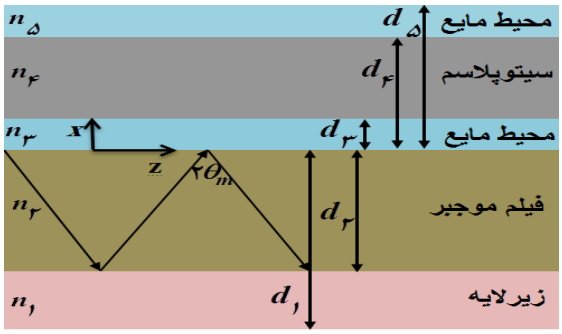
معمولی‌ترین موجبرها، موجبرهای سه لایه تخت هستند که لایه‌های آن عبارتند از ۱- زیر لایه ۲- فیلم موجبر ۳- محیط پوشش. براساس مقایسه ضرایب شکست زیر لایه و محیط پوشش با هم، موجبرها به سه دسته کلی تقسیم می‌شوند. اگر ضریب شکست زیر لایه بزرگتر باشد موجبر را معمولی، اگر ضریب شکست محیط پوشش بزرگتر باشد موجبر را معکوس و اگر ضریب شکست این دو لایه با هم برابر باشد موجبر را متقارن می‌نامند. در هر سه حالت ضریب شکست فیلم از دو لایه دیگر بزرگتر است.

میکروسکوپ میدان میرای موجبری از دسته میکروسکوپ‌هایی است که در آنها از یک میدان میرا برای روشن کردن نمونه فلورسنس استفاده می‌شود. با توجه به قدرت تفکیک محوری عالی و نیز نسبت سیگنال به نویز بالای آن از ارجحیت خاصی نسبت به سایر میکروسکوپ‌ها برخوردار است و از آن می‌توان برای اندازه‌گیری فاصله سلول تا سطح موجبر، تصویربرداری از نقاط تماس سلول با سطح موجبر و بررسی اثرات داروها روی سلول‌ها استفاده کرد [۷]. اگرچه این میکروسکوپ در سال ۲۰۰۶ معرفی شده است اما تا به حال تئوری آن مورد بررسی قرار نگرفته است. در این مقاله بخشی از کارهایی را که در ارتباط با تئوری آن انجام گرفته، بیان خواهد شد.

۲- تئوری

برای سهولت در محاسبات یک سلول چسبیده به سطح موجبر به صورت یک لایه نازک دی‌الکتریک فرض خواهد شد. این لایه در یک محلول غوطه‌ور است و موازی سطح موجبر در فاصله مشخصی از آن قرار می‌گیرد. با این توصیف اکنون با ساختاری پنج لایه مواجه خواهیم بود که لایه‌های آن به ترتیب عبارتند از: ۱- زیرلایه ۲- فیلم موجبری ۳- محیط مایع ۴- سیتوپلاسم ۵- محیط مایع (شکل ۱).

برای هدایت موج درون لایه موجبری و ایجاد میدان میرا در مرز فیلم با محیط پوشش، بایستی موج تحت زوایای خاصی (زوایای هدایتی) که بزرگتر از زاویه بحرانی میان لایه‌های یک و دو و نیز لایه‌های دو و سه هستند وارد لایه موجبری شود. این زوایا از معادله مد موجبر بدست خواهند آمد. یک روش برای بدست آوردن معادله مد، اعمال شرایط مرزی میدان‌های الکترومغناطیسی در مرزهای متوالی ساختار چندلایه است.



شکل ۱: ساختار پنج لایه‌ایی سلول- موجبر.

با استفاده از معادلات ماکسول معادله امواج هدایت یافته در درون موجبر بدست خواهد آمد. رابطه (۱) معادله موج را در لایه r- ام از یک موجبر را توصیف می‌کند:

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2}E_{yr}(x,z) = -k_{xr}^2 E_{yr}(x,z) = \left(k_{zr}^2 - n_r^2 k_0^2\right)E_{yr}(x,z) \quad (۱)$$

که در آن $k_{zr} = k_0 n_r \sin(\theta_r)$.

به کمک قانون اسنل ($n_r \sin\theta_r = n_2 \sin\theta_m$) می‌توان نوشت:

$$k_{zr} = k_0 n_r \sin(\theta_r) = k_0 n_2 \sin(\theta_m) = k_{z2} \quad (۲)$$

همچنین E_{yr} و n_r (r=۱-۵) به ترتیب میدانهای الکتریکی و ضرایب شکست در لایه‌های ۱ تا ۵ است. رابطه (۱) با این فرض که موج فرودی دارای قطبش s است بدست آمده و محاسبات به این حالت خاص محدود شده است، که در آن جهت نوسان میدان الکتریکی موازی لایه‌های موجبر (محور y) است.

جواب‌های کلی برای معادله (۱) در نواحی پنج گانه به صورت زیر در نظر گرفته خواهد شد:

$$E_{yr}(x,z) = \left(A_r e^{-\alpha_r x} + B_r e^{\alpha_r x}\right)e^{-ik_{z2}z} \quad (۳)$$

که در این رابطه $\alpha_r = \sqrt{k_{z2}^2 - n_r^2 k_0^2}$ است. در هر لایه که α_r حقیقی باشد میدان در آن لایه میرا است. به

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-14]

دلیل بازتابش کلی میدان در لایه سوم همواره میراست و چون ضریب شکست محیط پنجم با محیط سوم برابر است، در این لایه نیز همواره میدان میراست. اما در لایه چهارم هرکدام از حالات میرا یا پیوسته بودن میدان می‌تواند اتفاق بیفتد. برای این لایه اگر رابطه $\theta_c(۴,۲) \succ \theta_m$ برقرار باشد در آن محیط α موهومی خواهد بود و میدان در آن محیط نوسانی است. $\theta_c(۴,۲)$ زاویه حد میان لایه چهارم و لایه دوم است و θ_m زاویه هدایتی بدست آمده از معادله مد است.

با اعمال شرط مرزی (پیوستگی مولفه‌های مماسی میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی در مرزهای مشترک هر دو محیط مجاور با همدیگر) ثابت‌های معادله (۳) محاسبه شده‌اند و معادله مد این ساختار پنج لایه که به صورت زیر است، بدست آمده است:

$$\left(k_{x2}d_2 - m\pi\right) = \tan^{-1}\left(\frac{\alpha_{x1}}{k_{x2}}\right) + \tan^{-1}\left(\frac{\alpha_{x3}w_1}{k_{x2}w_2}\right) \quad (۴)$$

که در آن:

$$k_{x2} = \left(n_2^2 k_0^2 - k_{z2}^2\right)^{\frac{1}{2}}$$
$$w_1 = a_1 \cosh\alpha_3 d_3 - b_1 \sinh\alpha_3 d_3$$
$$w_2 = a_1 \sinh\alpha_3 d_3 - b_1 \cosh\alpha_3 d_3$$
$$a_1 = \mathrm{Re}^{-\delta} - e^{\delta}, \mathrm{b}_1 = C\left(\mathrm{Re}^{-\delta} + e^{\delta}\right)$$
$$R = \frac{\alpha_{x4} - \alpha_{x5}}{\alpha_{x4} + \alpha_{x5}}, C = \frac{\alpha_{x3}}{\alpha_{x4}}, \delta = \alpha_{x4}\left(d_4 - d_3\right)$$

با حل غیر جبری معادله (۴) زوایای هدایتی (θ_m) بدست می‌آیند.

در میکروسکوپ فلورسنس میدان میرای موجبری از مواد فلورسنس برای برچسب زدن محیط استفاده می‌شود. اگر محیط مایع که سلول در آن قرار می‌گیرد با مواد فلورسنس آغشته شود در ناحیه بین سلول و سطح موجبر میزان فلورسنس‌های تحریک شده متناسب با انرژی میدان الکتریکی است و ضریب تناسب شامل ضریب کوانتومی (Q)، تراکم فلورسنس‌ها (N)، و چند فاکتور دیگر می‌باشد که همگی در یک ثابت (C) قرار داده شده‌اند [۸]. بنابراین می‌توان میزان تحریک فلورسنس‌ها (F_c) را در ضخامت t_3 محیط مایع، فلورسنس زمینه (F_b) را در ناحیه‌ایی که سلول وجود ندارد و نیز فلورسنس نسبی (F) را به ترتیب از روابط زیر بدست آورد:

$$F_c = QNC\int_0^{d_3}\left|\vec{E}_{y3}(x,z)\right|^2 dx = QNCI(t_3) \quad (۵)$$

$$F_b = QNC\int_0^{\infty}\left|\vec{E}_{y3}(x,z)\right|^2 dx = QNCI(\infty) \quad (۶)$$

$$F = \frac{F_c}{F_b} = \frac{I(d_3)}{I(\infty)} \quad (۷)$$

قابل ذکر است که به کمک رسم فلورسنس نسبی و رسم آن بر حسب t_3 میزان جدایی سلول از سطح موجبر بدست خواهد آمد [۸].

برای انجام محاسبات عددی، فرض شده است که:

$$n_۱ = ۱/۲۰, n_۲ = ۱/۷۷, n_۳ = ۱/۳۳, n_۴ = ۱/۳۷, n_۵ = ۱/۳۳$$
$$d_۲ = ۷۰۰nm, d_۳ = ۲۴/۴۴nm, d_۴ = ۲۶۸/۴۴nm, \lambda = ۴۸۸nm$$

با در نظر گرفتن این داده‌ها، در هر سه لایه بالای فیلم میدان میرا خواهد شد. میدان در لایه سوم به صورت زیر است:

$$E_{y3}(x,z) = \frac{Z}{2\left(\alpha_{x3}w_1 - w_2\right)}\left[\begin{array}{l}\left(b_1 - a_1\right)e^{\alpha_{x3}\left(d_3 - x\right)} \\ +\left(b_1 + a_1\right)e^{-\alpha_{x3}\left(d_3 - x\right)}\end{array}\right] \quad (۸)$$

که در این رابطه $Z = \cos\phi - k_2 \sin\phi$ خواهد بود.

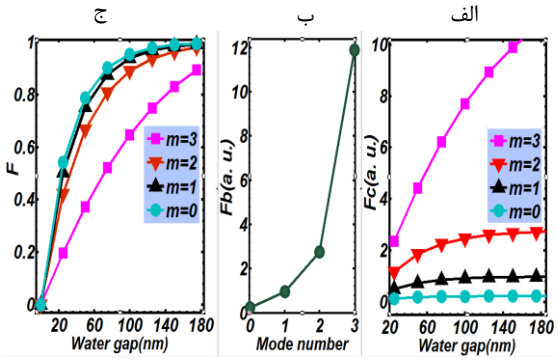
ϕ اختلاف فاز ناشی از بازتابش داخلی کلی در مرزهای فیلم با لایه‌ی ۲ یا ۳ است. پس به کمک روابط ۵ و ۸ بدست خواهد آمد که:

$$F_C = \frac{QNC}{2\alpha_{x3}}\left(\frac{Z}{2\left(\alpha_{x3}w_1 - w_2\right)}\right)^2\left[\begin{array}{l}\left(b_1 - a_1\right)^2\left(e^{2\alpha_{x3}d_3} - 1\right) \\ +\left(b_1 + a_1\right)^2\left(1 - e^{-2\alpha_{x3}d_3}\right) \\ +4\alpha_{x3}d_3\left(b_1^2 - a_1^2\right)\end{array}\right] \quad (۹)$$

برای محاسبه F_b فرض شده است $d_۳ = ۲۰۰۰nm$. نمودار ۲ F_c، F_b و F را بر حسب d_3 نشان می‌دهد. F_c در یک d_3 ثابت برای مد اول کمترین مقدار را دارد. بیشترین عمق نفوذ میدان میرا درون لایه سوم را مد آخر

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-14]

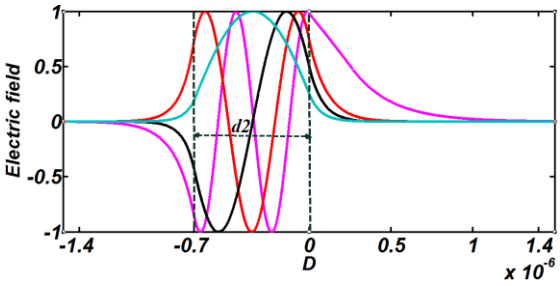
دارد. عمق نفوذ به ترتیب از مد اول به آخر برابر است با ۳۵/۴، ۴۰/۳، ۵۵/۵، ۲۰۴ نانومتر است. برای مد آخر میدان به لایه‌های بالاتر هم نفوذ کرده است، همانطور که در شکل ۳ هم به وضوح دیده می‌شود.



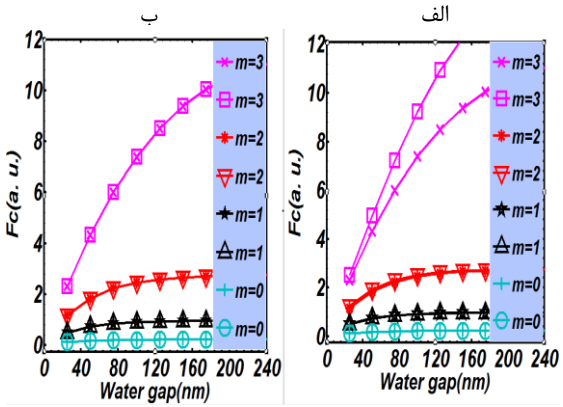
شکل ۲: (الف)میزان تحریک مولکول‌های فلورسنس بر حسب ضخامت لایه سوم، (ب)میزان فلورسنس زمینه برحسب شماره مدها، (ج)میزان فلورسنس نسبی بر حسب ضخامت لایه سوم

با توجه به نمودار ۲ ب F_b برای مد آخر بیشترین و برای مد اول کمترین مقدار را دارد که این نیز به دلیل عمق نفوذ میدان‌هاست، چون همانطور که در بالا ذکر شد آخرین مد بیشترین عمق نفوذ را خواهد داشت. بر طبق نمودار ۲ ج F عکس F_c عمل می‌کند.

در شکل ۳ توزیع میدان الکتریکی را برای موجبر معکوس در لایه‌های مختلف برای مدهای مختلف رسم شده است. همانطور که از این شکل پیداست میدان در فیلم سینوسی و در سایر لایه‌ها میراست. شکل۴ تأثیر خواص اپتیکی سیتوپلاسم را بر مقدار F_c بررسی می‌کند. همانطور که در شکل ۴ دیده می‌شود (الف) تغییر ضریب شکست و یا (ب) ضخامت سیتوپلاسم در مدهای پایین، افزایش یا کاهش چشمگیری را در میزان فلورسنس تحریک شده ایجاد نمی‌کند. زیرا نمودارهای مشخص شده برای هر مد (به جز مد آخر در شکل ۴ الف)بر هم منطبق شده‌اند.



شکل ۳: توزیع میدان الکتریکی در موجبر ۵ لایه معکوس برای مدهای مختلف.



شکل ۴: میزان تحریک مولکول‌های فلورسنس بر حسب ضخامت لایه سوم(الف)برای ضریب شکست‌های ۱/۳۷ و ۱/۴ سیتوپلاسم،(ب)برای ضخامت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ نانومتر سیتوپلاسم

۳- نتیجه گیری

در این مقاله یک موجبر ۵ لایه معکوس طراحی شده است و با استفاده از معادلات ماکسول توزیع میدان الکتریکی در تمام لایه‌ها به دست آورده شده است. با بدست آوردن شدت میدان الکتریکی در لایه سوم، میزان تحریک فلورسنس در لایه سوم (F_c)، فلورسنس زمینه (F_b) و فلورسنس نسبی (F) محاسبه شده و در پایان نیز نشان داده شده که میزان تحریک فلورسنس‌ها وابستگی زیادی به خصوصیات اپتیکی سلول ندارد بلکه وابسته به عواملی همچون ضریب شکست موجبر و محیط سوم و مد هدایتی است.

مراجع

[1] J. E. Goell and R. D. Standley, *Integrated optical circuits*, **Proc. IEEE**, 58, (1970) 1504-1512.
[2] P. K. Tien,*Light Waves in Thin Films and Integrated Optics*, **Appl. Opt**.10, (1971) 2395-2413.
[3] S. E. Miller, *A survey of integrated optics*, **IEEE J. Quantum Electron. QE-8**, (1972) 199-205.
[4] M. A. Brusatori, P. Van Tassel, *Biosens*, **Bioelectronics**, 18(10), (2003) 1269-1275.
[5] A. Hassanzadeh, K. K. H. Wong, *Waveguide evanescent field fluorescence microscopy: waveguide mode scattering by non-uniform grating and defects in the waveguiding\film*, **SPIE**, 7386, 73861P-1 (2009).
[6] A. Hassanzadeh, M. Nitsche, S. Armstrong, S. J. Dixon, U. Lanbein, S. Mitler, *Waveguide evanescent field fluorescence: thin film fluorescence intensities and itsapplication in cell biology*, **Applied Physics Letters**. 92(23), 233503 (2008).
[7] A. Hassanzadeh, D. Azami , *Waveguide evanescent field fluorescence microscopy: theoretical investigation of optical pressure on a cell*, **J. Nanophoton.** 8(1) 083076 (2014).
[8] D. Gingell, O. S. Heavens, J. S. Mellor, *General electromagnetic theory of total internal reflection fluorescence: the quantitative basis for mapping cell substratum topography*, **Journal of Cell Science**, 87, (1987) 677-693.

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-14]