

УДК 535.42:543.456

## ДИФРАКЦИОННЫЕ ОПТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ ТРЕХМЕРНОЙ НАНОСКОПИИ С ВРАЩАЮЩИМИСЯ СВЕТОВЫМИ ПОЛЯМИ

© 2024 г. Д. В. Прокопова<sup>1,\*</sup>, И. Ю. Еремчев<sup>2, 3,\*</sup>, Н. Н. Лосевский<sup>1</sup>, Д. А. Белоусов<sup>4</sup>,  
С. К. Голубцов<sup>4</sup>, С. П. Котова<sup>1</sup>, А. В. Наумов<sup>3, 5</sup>

<sup>1</sup>Самарский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
«Физический институт имени П.Н. Лебедева Российской академии наук», Самара, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Институт спектроскопии Российской академии наук», Москва, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Физический институт имени П.Н. Лебедева  
Российской академии наук, Троицкое обособленное подразделение», Москва, Россия

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт автоматики и электрометрии  
Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

<sup>5</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Московский педагогический государственный университет», Москва, Россия

\*E-mail: prokopovadv@lebedev.ru

Поступила в редакцию 15.07.2024

После доработки 19.08.2024

Принята к публикации 30.08.2024

Исследованы дифракционные оптические элементы, изготовленные методами контактной печати на бихромированной желатине и прямой лазерной записи по фоторезисту, модифицирующие функцию рассеяния точки для реализации трехмерной флуоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения. Показано, что оба элемента формируют двухлепестковые вращающиеся световые поля и могут быть использованы для трехмерной наноскопии. Приводятся результаты по трехмерной субдифракционной локализации точечных флуоресцентных меток с оценкой точности восстановления их координат.

**Ключевые слова:** оптическая схема, трехмерная наноскопия, спиральные пучки света, дифракционные оптические элементы

DOI: 10.31857/S0367676524120026, EDN: EXXPUS

### ВВЕДЕНИЕ

Знание о структуре вещества на микро- и наноразмерах важно для развития различных областей науки и промышленности [1–7]. В начале XXI века появились новые оптические методы, позволяющие преодолеть предел дифракции и из оптического изображения получить информацию о положении наноразмерных излучающих объектов с точностью около десятков и единиц нанометров. Они позволили расширить класс исследуемых объектов и ускорить получение информации о наноструктуре. К таким методам относится микроскопия локализации одиночных молекул (Single Molecule Localization Microscopy (SMLM)). Ее принцип работы основан на раздельной регистрации сигналов от отдельных флуоресцентных меток (молекул, квантовых точек, флуоресцентных белков, наночастиц и др.) [8–10]. Фиксируя изображения с помощью классического микроскопа, можно получить

информацию о проекции структуры исследуемого образца на плоскость изображения.

Больше информации можно получить, расширив методику на три пространственные координаты. Один из подходов для достижения этой цели — дополнительная модификация функции рассеяния точки (ФРТ) отображающей системы таким образом, чтобы при изменении расстояния между светящимся наноразмерным объектом и фокальной плоскостью микрообъектива изображение объекта изменялось характерным образом. Это изменение должно быть таким, чтобы его можно было однозначно связать с осевым положением светящегося объекта. Были предложены различные варианты трансформации изображения при изменении расстояния между объектом и фокальной плоскостью [11–13]. Наиболее простым для анализа является вариант использования изображения в виде двух пятен, претерпевающих вращение вокруг общего центра при

дефокусировке. В работах [14—18] представлен ряд способов создания фазовой функции дифракционного оптического элемента (ДОЭ), формирующего двухлепестковую вращающуюся ФРТ системы. Нашим коллективом были предложены и успешно апробированы ДОЭ [19—24], полученные на основе оптики спиральных пучков света [25—27].

Во многих реализованных наноскопах ДОЭ формируется при помощи коммерчески доступных устройств, предназначенных для пространственной модуляции света (ПМС). Это позволяет в режиме реального времени корректировать структуру ДОЭ в зависимости от решаемой задачи. Предпочтительными для использования в наноскопах с точки зрения компактности и удобства интегрирования являются жидкокристаллические (ЖК) ПМС, работающие на пропускание света. Однако они обладают недостатком, связанным с наличием больших неактивных межпиксельных расстояний, приводящих к уменьшению собранного полезного сигнала. Использование же отражающих ЖК ПМС на платформе LCOS (Liquid Crystal on Silicon) [28] накладывает ограничения на расположение отдельных элементов схемы наноскопа, что приводит к существенному увеличению его размеров. Кроме того, такие ДОЭ имеют ряд ограничений, затрудняющих работу системы. В частности, ЖК ПМС изменяют фазовую задержку только линейно поляризованного света в направлении директора жидкого кристалла. Излучение же точечных источников может быть как не поляризованным, так и поляризованным, но со случайным распределением направлений поляризации. В этих случаях требуется использование поляризатора света для корректной работы ДОЭ. Это приводит к уменьшению собранного полезного сигнала от точечных излучателей и в конечном итоге к снижению пространственного разрешения трехмерного наноскопа. Стационарные ДОЭ, работающие на отражение или пропускание света, являются альтернативой ЖК ПМС и могут дать выигрыш, поскольку не ограничены использованием только линейно поляризованного света. В этой работе приводится демонстрация работы двух отражающих стационарных ДОЭ, изготовленных методами контактной печати на бихромированной желатине (БХЖ) и прямой лазерной записи по фоторезисту с последующими напылениями слоев алюминия на сформированные структуры. Показано, что оба ДОЭ формируют двухлепестковые вращающиеся световые поля, которые могут быть использованы для трехмерной наноскопии. Приводятся результаты по трехмерной локализации точечных флуоресцентных меток с оценкой точности восстановления их координат.

## СТАЦИОНАРНЫЕ ДОЭ

Фазовую функцию ДОЭ, преобразующего свет от точечного источника в двухлепестковое вращающееся поле, можно получить различными способами [14—18]. В нашем подходе, развитом на основе оптики спиральных пучков света [25—27], с помощью

итерационной процедуры [29] был получен оптимизированный ДОЭ, формирующий двухлепестковое изображение с эффективностью 85 % [23]. В качестве начального приближения для расчета фазовой функции ДОЭ использовался спиральный пучок в виде суперпозиции пяти мод Лагерра—Гаусса с распределением интенсивности, в структуре которого можно выделить два максимума, и параметром вращения  $\theta_0 = -2$ , обеспечивающий поворот распределения интенсивности пучка на  $\pi$  при распространении из ближней зоны в дальнюю [22]. Далее проводилась итерационная процедура, заключающаяся в коррекции формируемого поля в нескольких плоскостях с целью усиления двух ярких максимумов в распределении интенсивности. Подробное исследование влияния амплитудных и фазовых искажений на свойства световых полей, формируемых ДОЭ, полученных на основе оптики спиральных пучков [29, 30], показало необходимость дополнительной оптимизации ДОЭ в системе трехмерной локализации. Подбор количества плоскостей и расстояния между ними, а также учет аппаратной функции отображающей системы позволили получить высокоэффективный оптимизированный ДОЭ [23], успешно примененный для трехмерной наноскопии [24] (рис. 1а).

Стационарные ДОЭ могут быть изготовлены при помощи различных методов. В экспериментальном исследовании использовались элементы, изготовленные на БХЖ методом контактной печати и прямой лазерной записи по фоторезисту с последующим напылением слоя алюминия на сформированные структуры. Для реализации метода контактной печати на БХЖ с напыленным слоем алюминия были изготовлены фотошаблоны с рассчитанной фазовой функцией ДОЭ с дискретностью микроизображения 4.5 мкм. Слои БХЖ на низких пространственных частотах (до 10 лин/мм) обладают близкой к нулю передаточной функцией. Поэтому структура ДОЭ была дополнена линзой Френеля (фокусное расстояние  $F = 300$  мм), чтобы спектр пространственных частот получившегося распределения начинался с величины около 20 лин/мм. Исходные слои БХЖ для формирования фазовых элементов изготавливались на основе промышленных голографических фотопластинок ПФГ-03М. Промышленные фотопластинки предварительно обрабатывались в растворе фиксажа, для удаления галогидного серебра, затем проводилась сенсibilизация в 4 % растворе бихромата аммония и сушка при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем пленка с фотошаблоном приводилась в плотный контакт с исходным сформированным слоем БХЖ и проводилось экспонирование слоя сквозь прижимную стеклянную пластину излучением белой светодиодной матрицы мощностью 100 Вт. Полученные экспонированные образцы обрабатывались после экспозиции. Для получения отражательных ДОЭ проводилась предобработка экспонированных слоев водяным паром при температуре 40 °С с последующей сушкой в воздухе в течение 4 ч и затем производилось

напыление в вакуумной установке отражательного слоя алюминия.

Технология прямой лазерной записи по фоторезисту хорошо зарекомендовала себя для задач формирования оптических элементов с непрерывным профилем [31—33]. Данный метод формирования рельефа основан на создании необходимого распределения экспозиции в фоторезисте путем сканирования сфокусированного пучка по поверхности пленки фоторезиста, нанесенной на подложку, и последующего проявления фоторезиста в жидком щелочном проявителе. Для изготовления стационарного ДОЭ с использованием технологии прямой лазерной записи по фоторезисту на оптическую подложку методом центрифугирования был нанесен фоторезист марки ФП-2520 с последующей сушкой в печи при температуре  $95^{\circ}\text{C}$  в течение 10 мин. Экспонирование фоторезиста осуществлялось на лазерной литографической системе DWL-66+ (длина волны записывающего пучка  $\lambda = 375$  нм) производства Heidelberg Instruments [34]. Количество уровней дискретизации мощности записывающего пучка составило 256. После экспонирования, проявления и сушки слоя фоторезиста с микрорельефом ДОЭ глубиной 300 нм, поверхность сформированной структуры методом магнетронного напыления был нанесен отражающий слой алюминия.

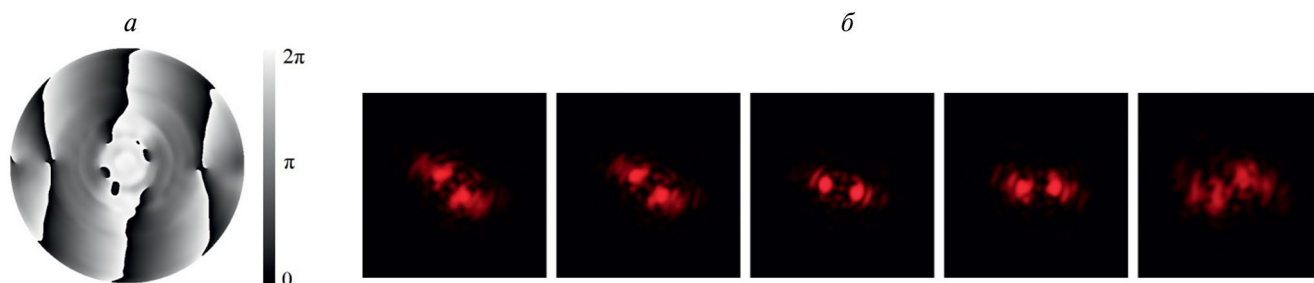
## РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изготовленные стационарные ДОЭ были исследованы на возможность формирования вращающихся двулепестковых световых полей. Для этого коллимированный пучок непрерывного излучения от He-Ne лазера ( $\lambda = 632$  нм) направлялся на ДОЭ, отраженное поле дополнительно фокусировалось линзой с фокусным расстоянием  $F = 250$  мм (для ДОЭ без вписанной линзы) и производилась регистрация распределения интенсивности на различных расстояниях вблизи фокальной плоскости линзы. Изображения, полученные с использованием стационарного ДОЭ, изготовленного методом прямой лазерной записи по фоторезисту, представлены на рис. 1б. Видно, что в фокальной плоскости формируется двулепестковая

картина, которая претерпевает поворот при смещении плоскости регистрации. Это говорит о том, что после ДОЭ формируется вращающееся световое поле с необходимой пространственной структурой. Смещение плоскости регистрации в таком эксперименте эквивалентно изменению кривизны волнового фронта пучка, падающего на ДОЭ от точечного источника в схеме микроскопа. Это означает, что исследованные стационарные ДОЭ могут быть использованы в трехмерном наноскопе. Оцененная величина средней эффективности (отношение мощности, приходящейся на два главных максимума, к общей мощности) для такого ДОЭ составляет 76 %.

Для демонстрации возможности использования стационарных ДОЭ в трехмерном наноскопе и оценки точности восстановления осевой координаты точечных излучающих объектов были проведены эксперименты с точечными флуоресцентными метками. Схема экспериментальной установки представлена на рис. 2. Система линз, состоящая из промежуточной линзы  $F_0$  и телескопа (линзы  $F_1$  и  $F_2$ ), перебрасывала распределение светового поля из задней плоскости микрообъектива MellesGriot ( $40\times$ ,  $0.65\text{ NA}$ ) на стационарный ДОЭ. После фазового преобразования световые пучки, отраженные от ДОЭ, формировали в фокальной плоскости ПЗС камеры люминесцентные двулепестковые изображения с помощью вписанной в ДОЭ линзы Френеля и дополнительных линз  $F_3$  и  $F_4$ . Результирующее оптическое увеличение микроскопа составляло  $\approx 64\times$ . Для преобразования световых пучков в двулепестковые световые поля использовался стационарный ДОЭ, изготовленный методом контактной печати на БХЖ с напыленным слоем алюминия.

В качестве флуоресцентных меток использовались одиночные кристаллы перовскита  $\text{MAPbI}_3$  с характерными размерами порядка нескольких десятков нанометров. Возбуждение флуоресцентных меток осуществлялось узкополосным лазерным источником на  $\lambda_{\text{ex}} = 532$  нм. Плотность мощности возбуждающего излучения составляла от 0.1 до 1 Вт/см<sup>2</sup>. Регистрация люминесценции производилась в спектральном диапазоне от 700 до 800 нм, соответствующем люминесценции меток (длина волны максимума



**Рис. 1.** Фазовая функция ДОЭ, оптимизированного для работы в трехмерном наноскопе (а). Распределения интенсивности, формируемые ДОЭ, изготовленным методом прямой лазерной записи по фоторезисту на различных расстояниях около плоскости фокусировки линзы с  $F = 250$  мм (б). Размер стороны кадра 2 мм.

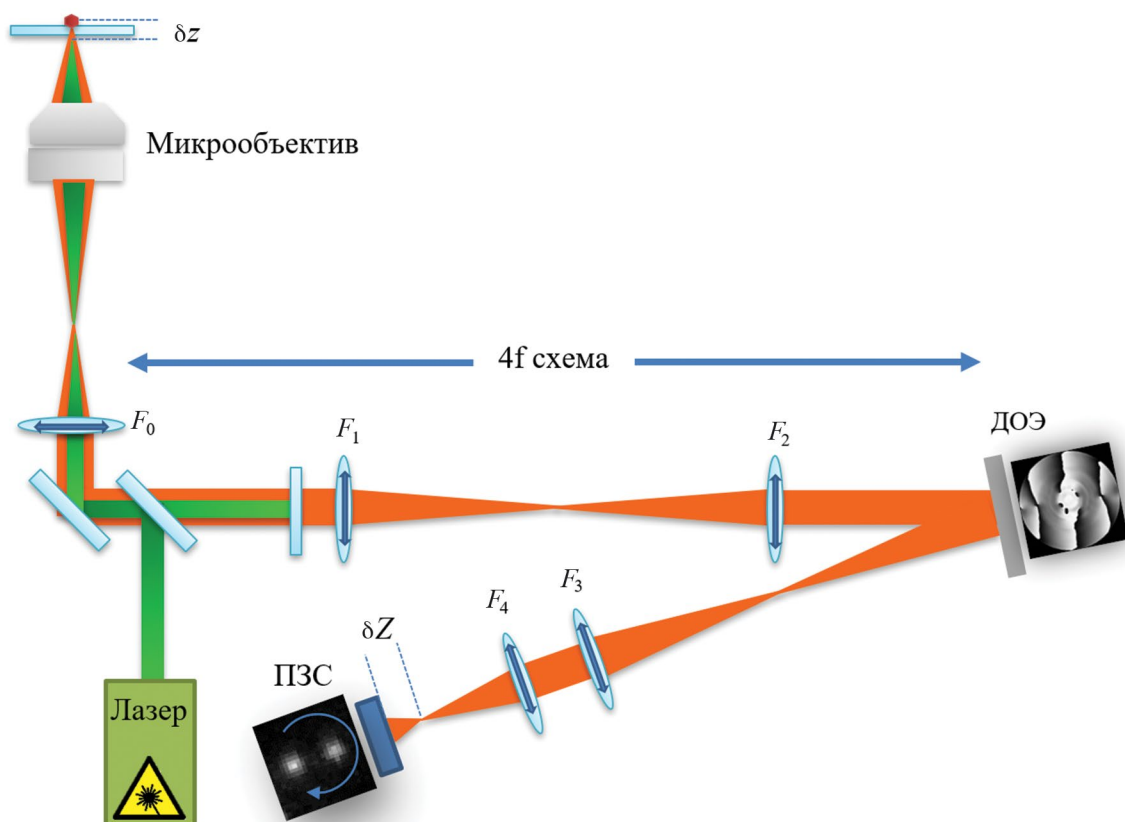


Рис. 2. Схема установки трехмерного наноскопа со стационарным отражательным ДОЭ.

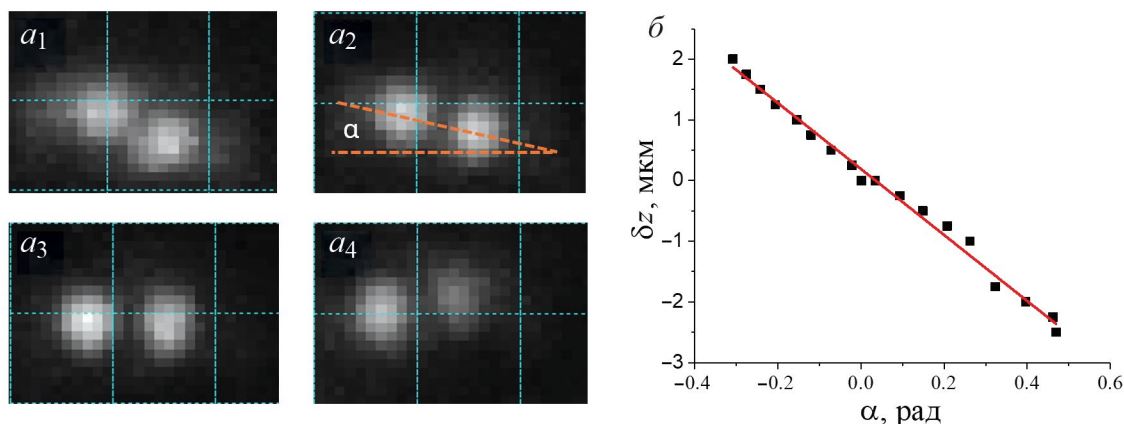
$\lambda \approx 760$  нм, ширина максимума  $\Delta\lambda \sim 20$  нм). Концентрация флуоресцентных меток на поверхности стеклянной подложки была такой, что отдельные изображения не перекрывались в плоскости наблюдения микроскопа. Регистрация люминесцентных изображений одиночных флуоресцентных меток осуществлялась с помощью высокочувствительной, охлаждаемой (до  $-20^\circ\text{C}$ ) ПЗС-камеры Andor Luca (квантовый выход  $\sim 25\%$  на длине волны 760 нм) с электронным усилением сигнала. Время экспозиции варьировалось от 10 до 400 мс. Для точного измерения расстояния между фокальной плоскостью микрообъектива и образцом использовался линейный транслятор на основе пьезо-сканера NanoScanTech.

На рис. 3а<sub>1–4</sub> показаны примеры модифицированных изображений точечных источников (двухлепестковых изображений) при различных расстояниях между точечным источником и фокальной плоскостью микрообъектива от  $-2$  до 1.5 мкм. Форма лепестков имеет симметричный вид, который мало меняется при повороте изображения. Видно, что изменение расстояния приводит к повороту двухлепесткового изображения. Это означает, что используемый ДОЭ успешно преобразует ФРТ системы.

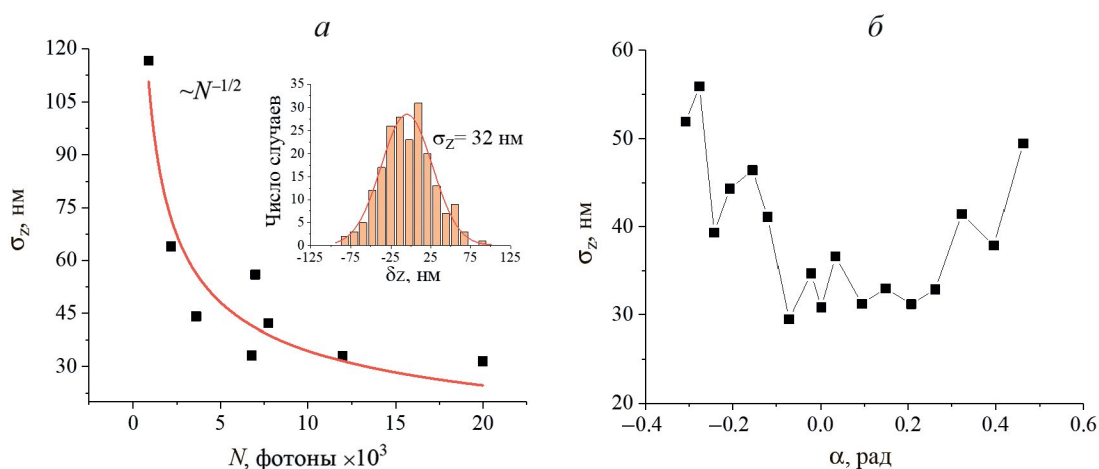
Для получения зависимости между углом поворота двухлепесткового изображения  $\alpha$  (рис. 3а<sub>2</sub>) и расстоянием между точечным объектом и фокальной

плоскостью объектива микроскопа  $\delta z$  была проведена калибровка схемы по методике, подробно описанной в [24]. Для этого при фиксированных положениях плоскости образца измерялись изображения точечных излучателей и проводилась аппроксимация двухлепестковых изображений двойной двумерной функцией Гаусса с помощью разработанного алгоритма [35]. В результате обработки изображений вычислялись тангенсы угла поворота каждого из изображений  $\tan \alpha$ . Для увеличения точности определения  $\tan \alpha$  проводилась серия измерений (длина серии  $n = 200$ ) и осуществлялось усреднение. На рис. 3б показана измеренная калибровочная кривая, связывающая угол поворота двухлепесткового изображения  $\alpha$  со смещением точечного объекта относительно фокальной плоскости микроскопа  $\delta z$ . Скорость вращения двухлепесткового изображения на линейном участке составляет  $k = 5.4$  мкм/рад.

Точность определения продольной координаты точечного источника  $\sigma_z$  (среднеквадратичное отклонение) оценивалось из распределения продольных координат  $z$ , измеренных при фиксированном положении точечного излучателя. Методика подробно описана в [24]. На вставке к рис. 4а приведен пример распределения восстановленных продольных координат  $z$ , полученный в серии измерений  $n = 200$



**Рис. 3.** Двухлепестковые изображения точечных флуоресцентных меток в 3-D наноскопе со стационарным ДОЭ, для различных положений излучателей относительно фокальной плоскости микроскопа  $\delta z$ :  $-2$  ( $a_1$ ),  $-1$  ( $a_2$ ),  $0$  ( $a_3$ ) и  $1.5$  мкм ( $a_4$ ). Зависимость величины угла поворота двухлепесткового изображения  $\alpha$  от расстояния  $\delta z$  ( $b$ ). Точки — экспериментально измеренные значения, красная линия — линейная аппроксимация зависимости.



**Рис. 4.** Точность восстановления осевой координаты. Зависимость точности восстановления продольной координаты точечных флуоресцентных меток от числа зарегистрированных фотонов  $N$  для угла наклона  $\alpha \sim 0^\circ$  ( $a$ ). На вставке — пример распределения восстановленных продольных координат  $z$ , полученный в серии измерений  $n = 200$  и его аппроксимация функцией Гаусса. Зависимость погрешности восстановления продольной координаты  $\sigma_z(\alpha)$  от угла поворота изображения при фиксированном числе фотонов  $N$  ( $b$ ).

и его аппроксимация функцией Гаусса. Для оценки точности восстановления координат были проведены эксперименты двух типов. В первом — измерялась зависимость точности  $\sigma_z(N)$  от числа фотонов люминесценции  $N$ , давших вклад в изображение. В этих экспериментах положение точечного излучателя относительно фокальной плоскости микроскопа  $z$  было фиксированным. Во втором типе исследовалась точность  $\sigma_z(\alpha)$  от угла поворота изображения  $\alpha$  при фиксированном числе фотонов  $N$ . Оценка числа фотоотсчетов в двухлепестковых изображениях проводилась с помощью метода, описанного в работе [36], пересчет фотоотсчетов в число фотонов  $N$  проводился с учетом коэффициента усиления ПЗС камеры [37].

Для нахождения зависимости  $\sigma_z(N)$  были проведены измерения большого числа флуоресцентных меток, одновременно попадающих в поле зрения микроскопа. Был использован тот факт, что интенсивность люминесценции разных меток может существенно отличаться из-за отличия в квантовом выходе люминесценции. Для каждого из изображений в серии из 200 измерений были рассчитаны гистограммы распределения продольной координаты  $z$  при фиксированном значении угла  $\alpha$ . Гистограммы были аппроксимированы с помощью функций Гаусса для получения оценки значений погрешности  $\sigma_z(N)$ . Полученная зависимость  $\sigma_z(N)$  для объектов в фокальной плоскости ( $\alpha \approx 0$ ) с использованием



стационарного отражательного ДОЭ представлена на рис. 4а. Полученная кривая имеет вид близкий к обратной корневой зависимости от числа фотонов  $N$ , что находится в соответствии с зависимостью, приведенной в работе [24]. Точность восстановления продольной координаты  $\sigma_z$  меняется от  $\approx 120$  нм до  $\approx 30$  нм при изменении числа фотонов  $N$  от  $\approx 10^3$  до  $2 \cdot 10^4$ . Необходимо отметить, что увеличение числовой апертуры микрообъектива должно привести к пропорциональному увеличению точности восстановления координаты.

Зависимость погрешности восстановления продольной координаты  $\sigma_z(\alpha)$  при фиксированном  $N$  представлена на рис. 4б. Видно, что в середине присутствует область со средним значением  $\sigma_z(\alpha) \approx 30$  нм, а на краях наблюдается рост погрешности до значений  $\sigma_z \approx 50$  нм. Наблюдаемый в эксперименте рост погрешности связан с тем, что при больших значениях угла (по модулю) уменьшается эффективность преобразования пучка во вращающееся двухлепестковое изображение. Это приводит к уменьшению сигнала в главных максимумах дифракционного двухлепесткового изображения и увеличению шумовой подставки и как следствие к росту ошибки определения координаты точечного излучателя.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исследованы стационарные ДОЭ, позволяющие формировать двухлепестковые вращающиеся световые поля. Такие элементы могут модифицировать ФРТ флуоресцентных микроскопов для реализации экспериментов по трехмерному определению пространственного положения точечных излучателей с нанометровой точностью. Исследованные ДОЭ были изготовлены на БХЖ методом контактной печати и методом прямой лазерной записи по фоторезисту с последующим напылением слоя алюминия на сформированные структуры. Показано, что обе методики позволяют физически реализовать рабочую структуру ДОЭ, которая эффективно формирует двухлепестковую картину. Средняя эффективность работы ДОЭ, изготовленного методом прямой лазерной записи по фоторезисту составила  $\sim 76\%$ , что позволяет применять такие ДОЭ в задачах трехмерной локализационной микроскопии сверхвысокого разрешения.

Использование ДОЭ на БХЖ в системе люминесцентного трехмерного наноскопа позволило провести осевую локализацию положения точечных флуоресцентных меток с субдифракционной точностью. Показано, что погрешность определения координат имеет обратную корневую зависимость от числа накопленных фотонов  $N$  люминесценции и достигает значений  $\approx 30$  нм для  $N = 2 \cdot 10^4$  фотонов при использовании микрообъектива с числовой апертурой  $NA = 0.65$ .

Работы по изготовлению стационарного ДОЭ методом прямой лазерной записи по фоторезисту выполнялись за счет средств субсидии на финансовую поддержку государственного задания ИАиЭ СО РАН (гос. регистрационный № 124041700107-9) с использованием оборудования ЦКП «Спектроскопия и оптика» ИАиЭ СО РАН.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mockl L., Moerner W.E. // J. Amer. Chem. Soc. 2020. V. 142. No. 42. P. 17811.
2. Naumov A., Eremchev I. Yu., Gorshchev A.A. // Eur. Phys. J. D. 2014. V. 68. P. 348.
3. Hettich C., Schmitt C., Zitzmann J. et al. // Science. 2002. V. 298. No. 5592. P. 385.
4. Еремчев И.Ю., Лозинг Н.А., Баев А.А. и др. // Письма в ЖЭТФ. 2018. Т. 108. № 1. С. 26; Eremchev I.Y., Lozing N.A., Baev A.A. et al. // JETP Lett. 2018. V. 108. No. 1. P. 30.
5. Осадько И.С. // Письма в ЖЭТФ. 2018. Т. 107. № 11. С. 755; Osad'ko I.S. // JETP Lett. 2018. V. 107. No. 11. P. 725.
6. Naumov A.V., Gorshchev A.A., Gladush M.G. et al. // Nano Lett. 2018. V. 18. No. 10. P. 6129.
7. Гладуш М.Г., Аникушина Т.А., Горшчев А.А. и др. // ЖЭТФ. 2019. Т. 155. № 5. С. 771; Gladush M.G., Anikushina T.A., Gorshchev A.A. et al. // JETP. 2019. V. 128. No. 5. P. 655.
8. Moerner W.E. // Angew. Chem. Int. Edit. 2015. V. 54. No. 28 P. 8067.
9. Betzig E. // Angew. Chem. Int. Edit. 2015. V. 54. No. 28. P. 8034.
10. Hell S.H. // Angew. Chem. Int. Edit. 2015. V. 54. No. 28. P. 8054.
11. Greengard A., Schechner Y., Piestun R. // Opt. Lett. 2006. V. 31. No. 2. P. 181.
12. Huang B., Wang W., Bates M., Zhuang X. // Science. 2008. V. 319. No. 5864. P. 810.
13. Shechtman Y., Sahl S.J., Backer A.S., Moerner W.E. // Phys. Rev. Lett. 2014. V. 113. No. 13. Art. No. 133902.
14. Pavani S.R.P., Piestun R. // Opt. Express. 2008. V. 16. No. 5. P. 3484.
15. Grover G., DeLuca K., Quirin S. et al. // Opt. Express. 2012. V. 20. No. 24. P. 26681.
16. Baranek M., Bouchal Z. // JEOS-RP. 2013. V. 8. Art. No. 13017.
17. Anand V., Khonina S., Kumar R. et al. // Nanoscale Res. Lett. 2022. V. 17. No. 1. P. 1.
18. Проконова Д.В., Котова С.П., Самагин С.А. // Изв. РАН. Сер. физ. 2021. Т. 85. № 8. С. 1205; Prokopova D.V., Kotova S.P., Samagin S.A. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2021. V. 85. No. 8. P. 928.

19. Волостников В.Г., Воронцов Е.Н., Котова С.П. и др. // Изв. вузов. Физика. 2015. Т. 58. № 11—3. С. 73.
20. Прокопова Д.В., Воронцов Е.Н., Лосевский Н.Н., Разуева Е.В. // Изв. Самар. НЦ РАН. 2015. Т. 17. № 2. С. 97.
21. Волостников В.Г., Воронцов Е.Н., Котова С.П. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. 2016. Т. 80. № 7. С. 841; Volostnikov V.G., Vorontsov E.N., Kotova S.P. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2016. V. 80. No. 7. P. 766.
22. Воронцов Е.Н., Лосевский Н.Н., Прокопова Д.В., и др. // Комп. оптика. 2016. Т. 40. № 2. С. 158.
23. Прокопова Д.В., Воронцов Е.Н., Котова С.П. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. 2019. Т. 83. № 12. С. 1612; Prokopova D.V., Vorontsov E.N., Kotova S.P. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2019. V. 83. No. 12. P. 1453.
24. Еремчев И.Ю., Прокопова Д.В., Лосевский Н.Н. и др. // УФН. 2022. Т. 192. № 6. С. 663; Eremchev I.Y., Prokopova D.V., Losevskii N.N. et al. // Phys. Usp. 2022. V. 65. No. 6. P. 617.
25. Abramochkin E., Volostnikov V. // Opt. Commun. 1993. V. 102. No. 3—4. P. 336.
26. Абрамочкин Е.Г., Волостников В.Г. // УФН. 2004. Т. 174. № 12. С. 1273; Abramochkin E.G., Volostnikov V.G. // Phys. Usp. 2004. V. 47. No. 12. P. 1177.
27. Абрамочкин Е.Г., Волостников В.Г. Современная оптика гауссовых пучков. М.: Физматлит, 2010. 184 с.
28. <https://www.hamamatsu.com/us/en/product/optical-components/lcos-slm/principle.html>.
29. Воронцов Е.Н., Котова С.П., Лосевский Н.Н. и др. // Кратк. сообщ. по физ. ФИАН. 2018. Т. 45. № 3. С. 9; Vorontsov E.N., Kotova S.P., Losevsky N.N. et al. // Bull. Lebedev Phys. Inst. 2018. V. 45. No. 3. P. 71.
30. Прокопова Д.В., Котова С.П. // Фотоника. 2020. Т. 14. № 2. С. 170; Prokopova D.V., Kotova S.P. // Photonics Russ. V. 14. No. 2. P. 170.
31. Korolkov V.P., Pruss C., Reichelt S., Tiziani H.J. // Proc. SPIE. 2002. V. 4900. P. 873.
32. Korolkov V.P., Nasyrov R.K., Shimansky R.V. // Appl. Optics. 2006. V. 45. No. 1. P. 53.
33. Xie S., Erjawetz J., Schuster C., Schift H. // J. Vac. Sci. Technol. B. 2021. V. 39. No. 5. Art. No. 052603.
34. <https://heidelberg-instruments.com/product/dwl-66-laser-lithography-system>.
35. Баяев А.А., Роженцов А.А., Наумов А.В., Еремчев И.Ю. Программа для распознавания двухлестковых изображений люминесцирующих наночастиц для трехмерной микроскопии сверхвысокого разрешения. Свид. о гос. рег. прог. для ЭВМ № 2022611212, 2022.
36. Еремчев И.Ю., Лозинг Н.А., Гладуш М.Г. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. 2018. Т. 82. № 11. С. 1624; Eremchev I.Y., Lozing N.A., Gladush M.G. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2018. V. 82. No. 11. P. 1482.
37. Gritchenko A.S., Eremchev I.Y., Naumov A.V., et al. // Opt. Laser Technol. 2021. V. 143. Art. No. 107301.

## Diffraction optical elements for the implementation of three-dimensional nanoscopy using rotating light fields

**D. V. Prokopova<sup>1,\*</sup>, I. Y. Eremchev<sup>2,3</sup>, N. N. Losevsky<sup>1</sup>, D. A. Belousov<sup>4</sup>, S. K. Golubtsov<sup>4</sup>, S. P. Kotova<sup>1</sup>, A. V. Naumov<sup>3,5</sup>**

<sup>1</sup>Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Branch in Samara, Samara, 443011 Russia

<sup>2</sup>Institute of Spectroscopy of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 108840 Russia

<sup>3</sup>Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Branch in Troitsk, Moscow, 108840 Russia

<sup>4</sup>Institute of Automation and Electrometry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>5</sup>Moscow State Pedagogical University, Moscow, 119435 Russia

\*e-mail: prokopovadv@lebedev.ru

Diffraction optical elements, made by contact printing on a bichrome gelatin and direct laser recording using photoresist, have been studied in order to modify the point-scattering function for the implementation of 3D ultrahigh-resolution fluorescence microscopy. It has been shown that these elements produce two-lobed, rotating light fields that can be used for 3D nanoscopy. Results of 3D subdiffractive localization of fluorescent labels, with an assessment of the accuracy of coordinate restoration, have also been presented.

**Keywords:** three-dimensional nanoscopy, spiral light beams, diffraction optical elements.