

## Сканирующий проточный цитометр для измерения двумерной индикатрисы светорассеяния одиночных частиц

Г. В. Дятлов\*, К. В. Гилев\*\*, К. А. Семьянов\*\*\*, В. П. Мальцев\*\*\*\*

\* ИМ СО РАН,  
пр. Ак. Коптюга, 4,  
630090 Новосибирск, Россия  
E-mail: dyatlov@math.nsc.ru

\*\* ИМ СО РАН,  
пр. Ак. Коптюга, 4,  
630090 Новосибирск, Россия  
E-mail: gil@ngs.ru

\*\*\* ИХКиГ СО РАН  
ул. Институтская, 3,  
630090 Новосибирск, Россия  
E-mail: kostik@kinetics.nsc.ru

\*\*\*\* ИХКиГ СО РАН  
ул. Институтская, 3,  
630090 Новосибирск, Россия  
E-mail: maltsev@kinetics.nsc.ru

*Работа поддержана Математическим отделением СО РАН (проект 2006-1.3.1), СО РАН (интеграционный проект 2006-03), РФФИ (грант 07-04-00356), и Государственной программой поддержки ведущих научных школ (НШ-7157.2006.1).*

## 1 Проточная цитометрия

В последние десятилетия, в связи с развитием вычислительной техники, появилась возможность изучать малые частицы (клетки крови, вирусы и т. п.) по данным светорассеяния. Такой подход предполагает математическое моделирование процесса (в нашем случае на основе системы уравнений Максвелла), а затем решение обратной задачи рассеяния (см. [1, 2, 3]).

В случае отдельной малой частицы к известным трудностям, связанным с решением обратной задачи, добавляются еще технические сложности измерения данных рассеяния, вызванные малостью частицы: сложность локализации и низкая интенсивность рассеянного света.

Около десяти лет назад нами был разработан проточный сканирующий цитометр [4]. Это устройство позволяет получать достаточно богатую информацию о свете, рассеянном частицей, со скоростью до 500 частиц в секунду. Однако, схема измерения предполагает интегрирование индикатрисы рассеяния по азимутальному углу, что приводит к потере информации в случае несферических частиц.

Здесь мы приводим описание модифицированного цитометра, позволяющего измерять индикатрису рассеяния как функцию двух переменных, а также соответствующий математический аппарат.

## 2 Оптическая схема

Оптическая схема состоит из кварцевого капилляра с одним отражающим сферическим концом и одним плоским, лазера и светочувствительного экрана. На Рис. 1 изображено сечение схемы плоскостью, проходящей через оптическую ось.

Внутренность капилляра — кювета — заполнена водой. Частица  $P$  располагается в кювете на оптической оси на расстоянии  $t$ ,  $0 < t < R$ , от левого конца  $E$  и рассеивает падающий свет от лазера во всевозможных направлениях.

Свяжем с точкой  $P$  систему координат в которой ось  $Pz$  совпадает с оптической осью и направлена в сторону конца  $E$ . В плоскости экрана также введем систему координат, согласованную с первой в том смысле, что оси  $Ox$  и  $Oy$  в них параллельны. Рассмотрим луч, выходящий из точки  $P$  под углом  $\theta$  к оси  $Oz$  и азимутальным углом  $\varphi$ . После преломления на границе вода — кварц, отражения от

сферического конца капилляра и преломления на границе кварц — воздух луч попадает на экран в некоторой точке  $F$ . Поскольку преломление и отражение происходит в одной плоскости, нам удобнее будет работать с полярными координатами  $r$  и  $\psi$  точки  $F$ . Будем считать, что  $r \in \mathbb{R}$ , а  $\psi \in [0, \pi]$ . В этом случае параметр луча  $r$  может быть отрицательным, а  $\psi$  всегда равно  $\varphi$ , если  $\varphi \in [0, \pi]$ .

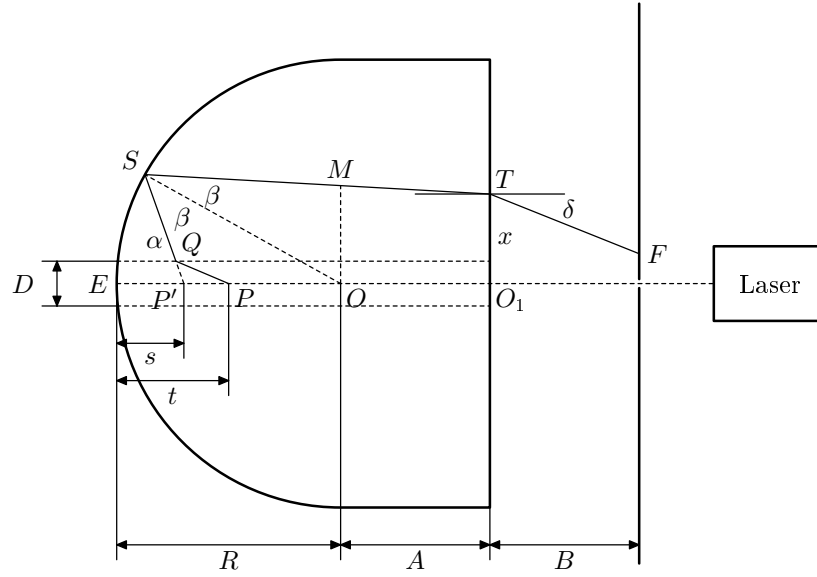


Рис. 1.

Используя известные законы отражения и преломления, можно найти связь между параметрами луча  $t$ ,  $\theta$ ,  $r$  и получить зависимость  $t(\theta, r)$  (именно она нам и нужна), которая, как выясняется, имеет однозначный характер.

### 3 Схема измерения

Зная геометрию лучей, мы попытаемся восстановить интенсивность света рассеянного частицей во всевозможных направлениях за определенный промежуток времени по интенсивности света попавшего на экран. Подход, при котором измеряется интегральная интенсивность имеет ряд преимуществ перед подходом, основанном на измерении мгновенной интенсивности: шире диапазон углов  $\theta$ , ниже требования к чувствительности и быстродействию измерительной аппаратуры.

Предположим, что частица движется равномерно вдоль оптической оси капилляра, не меняя своей ориентации в пространстве, и тем самым индикатриса рассеяния как функция двух углов  $\theta$  и  $\varphi$  в системе координат, связанной с точкой  $P$  не зависит от времени. Обозначим эту функцию через  $s(\theta, \varphi)$ .

При измерении мы будем учитывать лишь лучи с  $\varphi \in [0, \pi]$ , что достигается технически затемнением. Время можно отождествить с координатой  $t$  точки  $P$ . Обозначим интенсивность света, попавшего на экран в точку с координатами  $r$ ,  $\varphi$  за промежуток времени  $[t_{\min}, t_{\max}]$  через  $\sigma(r, \varphi)$ .

Наша задача — восстановить  $s(\theta, \varphi)$  по функции  $\sigma(r, \varphi)$ , известной при  $r \in [r_{\min}, r_{\max}]$ ,  $\varphi \in [0, \pi]$ .

Из закона сохранения энергии получается следующая интегральная зависимость между  $s(\theta, \varphi)$  и  $\sigma(r, \varphi)$ :

$$(Ks)(r, \theta) = - \int_{\theta_{\min}(r)}^{\theta_{\max}(r)} t_r(\theta, r) \sin \theta s(\theta, \varphi) d\theta = \sigma(r, \theta) r, \quad (*)$$

где  $\theta_{\min}(r)$ ,  $\theta_{\max}(r)$  — минимальный и максимальные возможные углы  $\theta$ , при которых луч с параметрами  $\theta$ ,  $t \in [t_{\min}, t_{\max}]$  может попасть в точку  $(r, \varphi)$ .

## 4 Ядро интегрального оператора

Если зависимость  $r$  от  $\theta$ ,  $t$  носит явный характер, хотя и имеет громоздкий вид, функция  $t(\theta, r)$  не может быть выписана в явном виде. Для ее приближенного численного нахождения использовался метод Ньютона решения систем нелинейных уравнений. Ядро интегрального оператора  $K$  изображено на рис. 2.

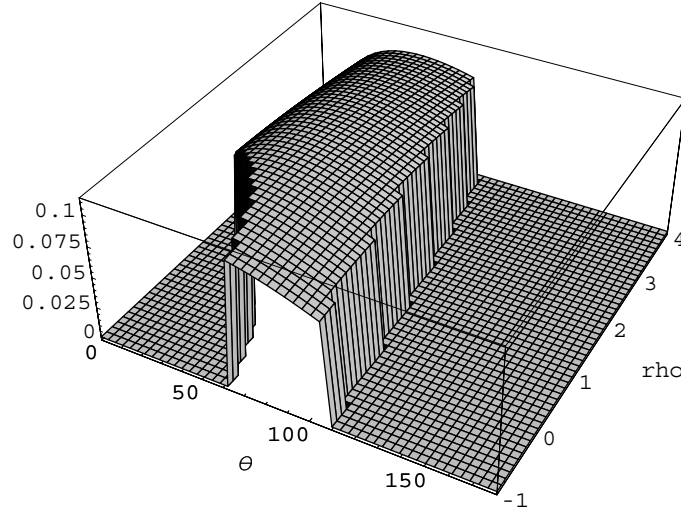


Рис. 2.

## 5 Решение интегрального уравнения

Уравнение (\*) представляет собой интегральное уравнение первого рода, и тем самым решение этого уравнения — некорректно поставленная задача. Для решения мы использовали стандартный метод регуляризации (см. [5]): приближенное решение  $s(\theta, \varphi)$  при фиксированном  $\varphi$  и приближенной правой части  $\sigma_\delta(r, \varphi)$  находилось путем минимизации функционала

$$J_\alpha(s) = \alpha l(s) + \|\mathcal{K}s - \sigma_\delta\|^2$$

с

$$l(s) = \int_0^\pi \left( |s(\theta)|^2 w_0^2(\theta) + |s'(\theta)|^2 w_1^2(\theta) \right) d\theta,$$

где  $w_j(\theta)$  — некоторые весовые функции.

## 6 Результаты численного эксперимента

В качестве точного решения мы брали элемент  $S_{11}(\theta, \varphi)$  матрицы Мюллера для разных малых частиц: сфероид, стержень, диск (при фиксированном  $\varphi$ ).

На рис. 3 представлены результаты для сфероида с показателем преломления 1,5 (показатель преломления среды равен 1,333), отношением полуосей 0,5, относительным размером 1,5. Частица была наклонена к оптической оси под углом  $45^\circ$ . На рис. 3(a) правая часть  $\sigma(r, \varphi)$ ,  $\varphi = 0$ , задана точно, а на рис. 3(b) — с 1% ошибкой. Жирной линией изображено оптимальное решение, тонкой линией — точное, а пунктиром — приближенные решения при больших или меньших параметрах регуляризации  $\alpha$ .

На рис. 4 представлены результаты эксперимента для стержня с показателем преломления 1,5, отношением полуосей 0,5, относительным размером 2. Частица была наклонена к оптической оси под углом  $45^\circ$ . Слева (рис. 4(a)) — точная индикатриса рассеяния, справа (рис. 4(b)) — найденная. Интенсивность показана в логарифмической шкале.

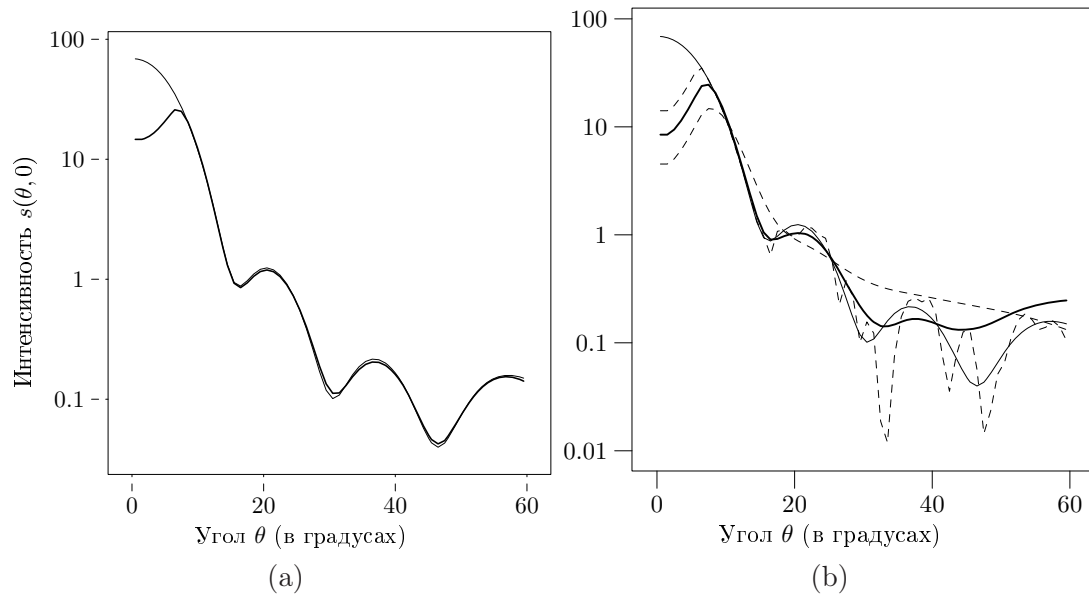


Рис. 3.

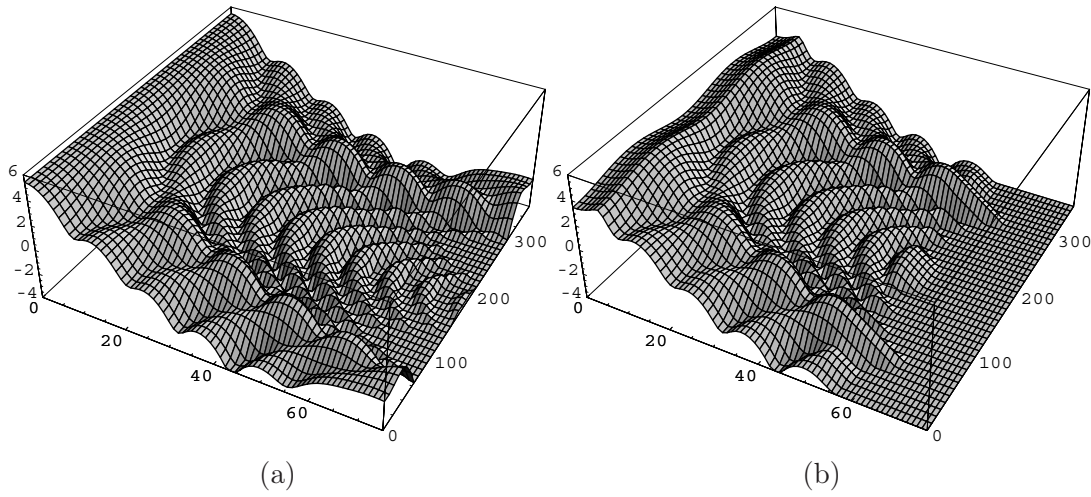


Рис. 4.

## References

- [1] C. F. Bohren and D. R. Huffman, *Absorption and Scattering Light by Small Particles*, (Wiley, New York, 1983).
- [2] D. Colton and R. Kress, *Inverse Acoustic and Electromagnetic Scattering Theory*, (Springer-Verlag, Berlin, 1998)
- [3] M. I. Mischenko, L. D. Travis, and A. A. Lacis, *Scattering, Absorption, and Emission of Light by Small Particles*, (Cambridge University Press, Cambridge, 2002).
- [4] V. P. Maltsev and K. A. Semyanov, *Characterization of Bio-Particles from Light Scattering*, (Inverse and Ill-Posed Problems Series, VSP, Utrecht, 2004)
- [5] A. N. Tikhonov and V. A. Arsenin, *Solutions of Ill-posed Problems*, (Winston & Sons, Washington, 1977).