

# Portatif ve Düşük Maliyetli Merceksiz Holografik Mikroskop Platformu ile Nanoparçacık Tespiti

## Nanoparticle Detection with Portable and Low-Cost Lensless Holographic Microscopy Platform

Kerem Delikoyun  
Department of Bioengineering  
Izmir Institute of Technology  
Izmir, Turkey  
keremdelikoyun@iyte.edu.tr

Seren Keçili  
Department of Bioengineering  
Izmir Institute of Technology  
Izmir, Turkey  
serenkeçili@iyte.edu.tr

H. Cumhur Tekin  
Department of Bioengineering  
Izmir Institute of Technology  
Izmir, Turkey  
cumhurtekin@iyte.edu.tr

**Özetçe**—Biyoloji ve tıp bilimlerinde çok düşük konsantrasyonlarda (<100 pg/mL) biyomolekül tespiti çeşitli hastalıkların teşhisi, ilaç direncinin ölçülmesi ve kanser araştırmalarında oldukça önem arz eden ve geniş olarak kullanılan yöntemdir. Hedef biyomolekülün yakalanması ile oluşan sinyal (floresan, renk, vs.) uzman personeller tarafından taşınması güç, pahalı ve hassas cihazlarda analiz edilerek biyomolekül tayin testleri yapılabilmektedir. Ancak, kaynakların yetersiz olduğu bölgelerde klinik uygulamalar için bu testlere erişim sınırlı olmaktadır. Merceksiz holografik mikroskopi, geleneksel görüntüleme teknolojilerinde kullanılan yüksek maliyetli ve hassas optik elemanlara (ayna, mercek, filtre vb.) ihtiyaç duymadan numunenin yüksek çözünürlükte görüntülenmesini sağlamaktadır. Bu teknoloji dayanıklı, portatif ve düşük maliyetli bir tasarım sunmakla beraber, numune görüntüsünün dijital işleme şemaları ile tamamen otomatik işlenmesine olanak sağlamakta ve bu da kullanıcı hatasını ortadan kaldırmaya yardımcı olabilmektedir. Bu çalışmada, hassas biyomolekül tespiti için uygulanan yüzey kaplama tahlillerinde kullanılacak merceksiz holografik mikroskop platformu sunulmaktadır. Bu platformda biyomoleküllerin tespiti için yüzey kaplama tahlillerinde etiket olarak kullanılan nanoparçacıkların (700-1200 nm) algılanabileceği gösterilmiştir. Böylelikle, biyomolekül tespit analizlerinin hızlı ve hassas bir şekilde bu kullanımı kolay ve düşük maliyetli görüntüleme platformu ile yüksek teşkilatlı sağlık kuruluşlarının bulunmadığı lokasyonlarda ve hatta hasta başında sağlanabileceği ön görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler** — merceksiz holografik mikroskopi, biyomolekül algulama, nanoparçacıklar, yüzey kaplama tahlili

**Abstract**— In the biological and medical science, detection of biomolecule at very low concentration (<100 pg/mL) is of great importance and it is extensively used in the diagnosis of diseases, drug response monitoring and cancer research. For biomolecule detection tests, captured biomolecules generate signals (fluorescence, color, etc.), which are analyzed by trained personnel in bulky, high cost and fragile devices. However, for clinical applications, the access to these tests is very difficult at resource-limited settings. Lensless holographic microscopy provides high resolution imaging of samples without the need of expensive and fragile optical elements (mirror, lens, filter, etc.) used in traditional imaging technologies. While this technology offers a robust, portable and low-cost design, it enables fully automated

processing of the sample image with digital processing schemes and this can also help eliminate user error. In this study, lensless holographic microscopy platform, which can be used in surface coverage assays for the detection of biomolecules, is proposed. It has been shown that nanoparticles (700-1200 nm) used as labels in surface coverage assays for the detection of biomolecules could be sensed on the platform. Therefore, it is anticipated that biomolecules detection could be realized rapidly and sensitively with this easy-to-use and low-cost imaging platform at the location where the high-level health institutions are not available and even at point-of-care settings.

**Keywords** — lensless holographic microscopy, biomolecule detection, surface coverage assay

### I. GİRİŞ

Hastalıkların teşhis ve takibi için çok düşük konsantrasyonlarda biyomoleküllerin saptanması klinikte büyük bir öneme sahiptir [1]. Örneğin, metastaza bağlı çeşitli antijenlerin mümkün olduğunca erken safhada saptanıp gereken tedavinin hızlı bir şekilde hastaya uygulanabilmesi için teşhiste kullanılacak medikal cihazların düşük maliyette, taşınabilir ve hastane standartlarında biyomolekül saptama seviyelerinde olması gerekmektedir [2]. Günümüzde birçok biyomolekül saptama testleri tam teşekküllü hastanelerin biyokimya laboratuvarlarında yüksek maliyetli ve uzman personeller tarafından idare edilen karmaşık cihazlarda yapılmaktadır. Ancak, kaynakların sınırlı olduğu veya hastaneye ulaşımın olmadığı lokasyonlarda hastalar bu testlere erişememektedir. Bu nedenle, erken teşhiste hayati rol oynayabilecek ve çok düşük konsantrasyonlarda biyomolekül tespiti yapabilen taşınabilir ve düşük maliyetli biyomedikal cihazların geliştirilmesi günümüzde büyük bir öneme sahiptir.

Son yıllarda mikroakışkan yonga teknolojisinde uygulanan yüzey kaplama tahlilleri, 1 damla numune içerisindeki (<10 µL) biyomoleküllerin hassas, hızlı, düşük maliyetli ve taşınabilir tespiti için kullanılabilmektedir [3]. Bu yöntemde biyomoleküllerin varlığının tespiti için etiket olarak manetik mikro/nanoparçacıklar kullanılmaktadır. Yüzeğe yapışan mikro/nanoparçacıkların miktarı örnek içindeki biyomolekül miktarı ile artmakta olup parçacıkların miktarı biyomolekül konsantrasyonunu belirlemek için kullanılmaktadır. Yüzeideki

mikro/nanoparçacıkların algılanması için yüksek çözünürlüklü konvansiyonel mikroskopik görüntüleme sistemleri, yüzey plazmon rezonans sistemleri, kuartz mikroterazi sistemleri ve manyetik sensörler kullanılabilir [4]. Ancak, söz konusu algılama sistemlerinin pahalı ve hassas yapıları bu yüksek hassasiyette biyomolekül tespit yönteminin yaygın olarak kullanımını etkileyen faktörlerdendir.

Merceksiz holografik mikroskopi, geleneksel mikroskopi sistemleri ile karşılaştırılabilir düzeyde yüksek çözünürlükte (<2 µm) görüntü elde edilmesine imkan sağlamaktadır [5]. Bununla beraber, merceksiz holografik mikroskopi tekniği ile maliyetli ve hassas optik elemanlar (mercek, ayna) ortadan kaldırılıp düşük boyutta ve portatif görüntüleme sistemleri elde edilebilmektedir. Ayrıca, bu teknik ile manuel optik ayarlamaya (ör. odaklama vb.) ihtiyaç duyulmadan tüm görüntüleme süreci dijital olarak gerçekleştirilebilmektedir [6]. Bu teknikte numune doğrudan görüntü sensörü üzerine yerleştirilerek sensörün tüm aktif alanı kullanılıp, geleneksel mikroskop sistemlerine göre 50 kata kadar daha büyük bir örnek alanı eş değer çözünürlükte görüntülenebilmektedir [6]. Bu denli büyük bir alanı görüntülemek, özellikle geniş yüzeyli örneklerin hızlı ve kolay bir şekilde incelenmesini sağlamaktadır. Daha önce benzer görüntüleme sistemleri ile görüntü sensörüne yakın şekilde konumlandırılmış düşük boyuttaki (<300 nm) nanoparçacıkların tespiti mümkün olmuştur [7]. Bu sistemler holografik görüntülerdeki arka plan gürültüsünü bastırarak sinyal-gürültü oranı arttırmaktadır. Bunun için de karmaşık ve yüksek maliyetli optik elemanlara ve yüksek çözünürlükte görüntü sentezlemek için bir dizi holografik görüntünün (>500) kaydedilerek dijital olarak işlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bir başka yaklaşım ise nanoparçacıkları kırıcı bir malzeme ile kaplayarak boyutlarını ve saçılma kesit alanları arttırılmaktadır [8]. Ancak bu yöntemler bir dizi örnek hazırlama basamaklarını içerdiğinden bu yöntemlerin kullanımı sınırlanmaktadır [9].

Bu çalışmada, biyomolekül tespiti için absorpsiyon tabanlı nanoparçacık saptayabilen yeni bir merceksiz holografik mikroskop platformu sunulmaktadır. Bu platform düşük maliyetli ve çevresel etkilere dayanıklı olarak tasarlanmış olup, yüzey kaplama tahlillerinde kullanılabilir. Ayrıca, platform üzerinde gerçekleşen görüntü işleme basamakları baştan sona otonom hale getirilerek kullanıcı hatası engellenmekte ve bu da yüksek hassasiyette ölçüm yapılabilmesine yardımcı olmaktadır.

## II. DENEYSEL PROTOKOL

### A. Mikroakışkan Yonga Üretimi

Nanoparçacıklar mikroakışkan yonga üstünde bulunan kanal içerisinde algılanmıştır. Mikroakışkan yonga üç katmandan oluşmaktadır. Üst katman olan cam lam, kanal giriş ve çıkışlarını içermektedir. Bu katmana numunenin kanala enjekte edilmesi için kullanılan şırınga pompasının bağlantılarının yapıldığı kılcal borular bağlanmaktadır. Alt katmanlar sırasıyla 50 µm kalınlığında çift taraflı bant (DSA) ve cam lamdan oluşmaktadır. Şekillendirilmiş DSA, manyetik nanoparçacıkların bağlanması için silanlanmış cam lamı kanal giriş ve çıkışlarının bulunduğu diğer cam katmanına yapıştırılıp mikroakışkan kanalın oluşturulması için kullanılmıştır (Şekil 1a). DSA, Epilog Zing 16 lazer kesici ile şekillendirilmiştir.

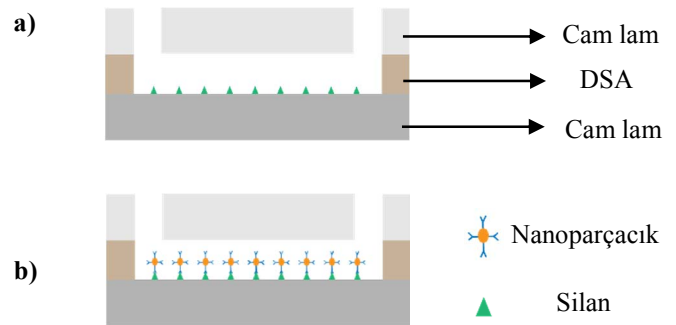
Üst cam lamındaki kanal giriş ve çıkışları matkap yardımıyla açılmıştır.

### B. Manyetik Nanoparçacıkların Mikroakışkan Kanala Yakalanması

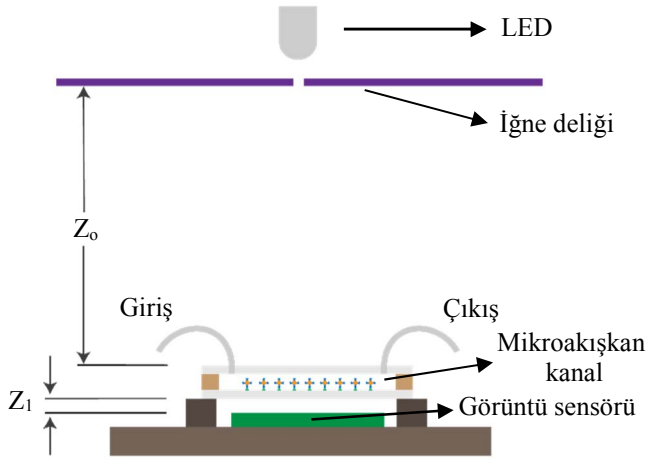
Mikroakışkan yonganın en alt katmanı olan cam lam nanoparçacıkların bağlanması için, öncelikle %70'lik etanol (EtOH) içinde 10 dakika boyunca sonikasyon ile temizlenmiştir. Daha sonra, cam lamlar azot gazıyla kurutulup, 2 dakika oksijen plazma (Zepto 100 mW, 0.5 mbar, Diener, Germany) işlemine tabii tutulmuştur. Cam lamlar %4'lük EtOH içinde hazırlanan 3-merkaptopropil trimetoksisilan (3-MPS) solüsyonu ile karanlık ortamda 45 dakika bekletilmiş ve ardından %99'lük EtOH ile yıkanarak oda sıcaklığında kuruması beklenmiştir. Silan ile yüzey aktivasyonu sağlanan camlar, DSA ile birleştirildikten sonra, Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS) ile yıkanmıştır. Ardından nominal çapları 1000 nm ölçülerindeki nanoparçacıklar (Thermo 88816 Pierce Streptavidin Magnetic Beads, Lot ND1545251) PBS içinde 600 kat seyreltilerek mikroakışkan kanala şırınga pompası (NewEra Instruments SyringeONE) yardımıyla verilmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek cam yüzeye yapışması sağlanmıştır. Daha sonra yüzeye yapışmayan nanoparçacıklar, kanala şırınga pompasıyla PBS verilerek yüzeyden uzaklaştırılmıştır. Böylelikle mikroakışkan kanal nanoparçacıklarla kaplanmıştır (Şekil 1b).

### C. Merceksiz Holografik Mikroskopi Platformu

Merceksiz holografik mikroskopi platformu aydınlatma sistemi ve görüntü sensörü olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Aydınlatma sistemi, 1 W gücünde üç farklı dalga boyunda ışık sağlayabilen bir ışık yayan diyot (LED) (Edison Power Leds Edixeon S5 Series) ve ışığın uzaysal olarak filtrelenmesi için 100 µm çapında bir iğne deliğinden oluşmaktadır (Şekil 2). İğne deliğinden ayrılan ışık görüntü sensörü üzerine yerleştirilmiş mikroakışkan yongadan yeterince uzakta (~10 cm) olduğu için düzlem dalga özelliği göstermektedir. 1.1 µm piksel boyutunda ve toplam 21.7 mm<sup>2</sup> görüntüleme alanı sunan, 4912 (H) x 3648 (W) çözünürlükte bir CMOS görüntü sensörü (AR1820HS - ON Semiconductors) kullanılmıştır.



Şekil 1. Mikroakışkan kanala manyetik nanoparçacıkların yakalanmasının (a) öncesi ve (b) sonrası.



Şekil 2. Merceksiz holografik mikroskop platformu.  $Z_0$  ( $>10$  cm) iğne deliğinin numuneye ve  $Z_1$  ( $<1$  mm) numunenin görüntü sensörüne olan mesafesini göstermektedir.

Görüntü sensörü, kanal içerisindeki nanoparçacıklardan kırılan ışık sonucu oluşan hologramı kaydeder. Hologramlar ( $\psi_{p_o}(x, y)$ ), Açısal Spektrum Yöntemi kullanılarak hologramların kaydedildiği sensör düzleminde nanoparçacıkların bulunduğu nesne düzlemine doğru dijital olarak taranarak ( $z$ ) yapılandırılıp, geleneksel optik mikroskop kalitesinde nesne düzlemindeki görüntü ( $\Psi_p(x, y; z)$ ) elde edilir [6]:

$$\Psi_p(x, y; z) = \mathcal{F}^{-1}\{\mathcal{F}\{\Psi_{p_o}(x, y)\} H(k_x, k_y; z)\} \quad (1)$$

$\mathcal{F}$  Fourier dönüşüm fonksiyonu ve  $H(k_x, k_y; z)$  uzaysal transfer fonksiyonu göstermektedir:

$$H(k_x, k_y; z) = \exp\left[-jk_0 z \sqrt{1 - \frac{(k_x \Delta_{kx})^2}{k_0^2} - \frac{(k_y \Delta_{ky})^2}{k_0^2}}\right] \quad (2)$$

$k_0 = w_0/c$  dalga sayısı,  $w_0$  ışığın açısal frekansı (rad/s) ve  $c$  ışık hızını ifade etmektedir.  $(x, y)$  ve  $(k_x, k_y)$  sırasıyla uzaysal ve Fourier alanlarının indisleridir.  $\Delta_{kx} = 2\pi/M\Delta_x$  ve  $\Delta_{ky} = 2\pi/N\Delta_y$  frekans çözünürlükleri (radyan/birim uzunluk),  $\Delta_x$  ve  $\Delta_y$  örnekleme periyodu,  $M$  ve  $N$ ,  $x$  ve  $y$  eksenlerindeki örnek sayısı ve  $z$  numuneye görüntü sensörü arasındaki mesafedir.  $z$  ( $>0$ ) kesin olarak bilinmediği için tekrarlamalı olarak eksen boyunca görüntüler taranarak nesnelerin odaklandığı düzlem bulunur. Bunun için eksen boyunca yapılandırılan her bir görüntünün keskinliği bir önceki görüntüye göre hesaplanarak görüntünün odaklandığı düzlem ( $z$ ) Tenengrad Varyans (TENV) algoritması ile elde edilir [10]. Böylelikle, mikroakışkan yonganın nanoparçacıklar ile kaplanan tabanında bulunan belli bir referansa (kanal içindeki toz veya başka bir işaret) otomatik olarak odaklanılmaktadır. Gri tona çevrilmiş ve yapılandırılmış görüntü ( $\Psi_p(x, y; z)$ ) kompleks değerli olduğu için gerçek ve sanal bölümlerden oluşmaktadır. Genlik görüntüsü, yapılandırılmış kompleks değerdeki görüntünün modülü ve faz görüntüsü ise argümanı olarak hesaplanır.

#### D. Merceksiz Holografik Mikroskop ile Mikroakışkan Kanalin Görüntülenmesi

Mikroakışkan yonga CMOS görüntü sensörü üzerine yerleştirildikten sonra mikroakışkan kanalın görüntülenmesi sağlanmıştır. Nanoparçacıkların yüzeye tutunması için uygulanan protokolün tamamı görüntü sensörü üstünde gerçekleştirilmiştir. Kanal nanoparçacıklarla kaplanmadan önce ve sonra kırmızı (R), yeşil (G) ve mavi (B) renk yayan LED ile aydınlatılarak ardışık 10'ar adet hologram kaydedilmiştir. Mikro parçacıkların kaplanmış yüzey Zeiss AxioVertA1 ters ışık mikroskobu üzerinde 40 $\times$  objektif kontrol edilmiştir.

#### E. Hologramların Dijital Olarak Yapılandırılması ve Nanoparçacıkların Algılanması

Kaydedilen hologramlar MATLAB üzerinde geliştirilen Açılı Spektrum Yöntemi değeri (Denklem 1 ve 2) ile genlik görüntülerine dönüştürülmüştür. Her bir renkte çekilmiş hologram görüntüsü için yapılandırılmış genlik görüntüleri elde edilmiştir. Her görüntü üstünde rastgele 10 farklı 100 piksel  $\times$  100 piksel boyutlarında alan kesilip ortalama parlaklık değeri ( $\mu$ ) hesaplanarak nanoparçacıkların bağlanmasından önce ve sonra için farklı LED aydınlatması (R/G/B) altında elde edilen ortalama parlaklık indeksleri hesaplanmıştır:

$$\text{Parlaklık indeksi (R/G/B)} = \frac{1}{10} \sum_{\text{örnek}=1}^{10} \mu_{\text{örnek}} \quad (3)$$

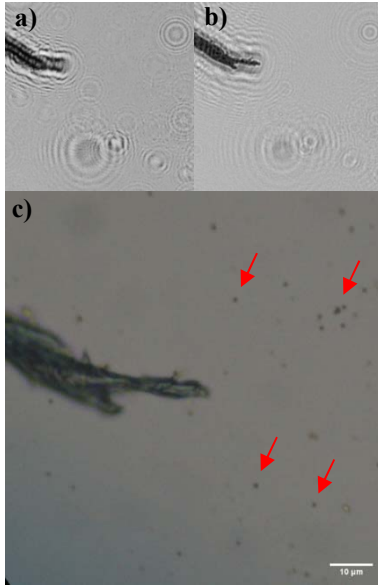
### III. SONUÇLAR

Holografik mikroskopi platformunda numune doğrudan görüntü sensörü üzerine yerleştirildiği için uzaysal çözünürlük görüntü sensörünün piksel boyutu ile sınırlanmaktadır. Dolayısıyla boyutları 700-1200 nm arasında değişen nanoparçacıklar, piksel boyutu 1.1  $\mu\text{m}$  olan görüntü sensörüne sahip merceksiz holografik mikroskopi platformunda doğrudan görüntülenememektedir. Şekil 3'de nanoparçacıkların bulunduğu kanaldan elde edilen hologram, yapılandırılmış genlik ve ışık mikroskobu görüntüleri paylaşılmıştır. Yapılandırılmış genlik görüntüsünün ortalama parlaklık değeri holograma göre farklılık gösterebilmektedir. Ayrıca, nanoparçacıklar ışık mikroskobuyla görüntülenebilmesine rağmen hologramda veya yapılandırılmış genlikte gözlemlenmemiştir.

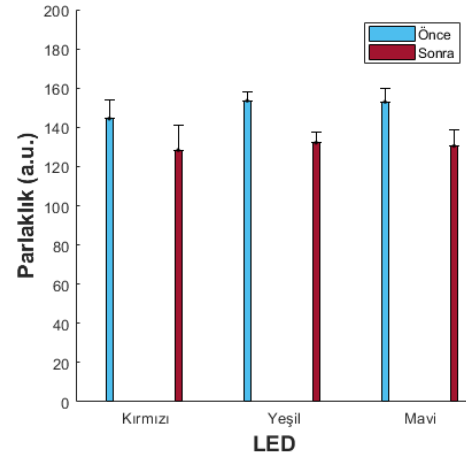
Merceksiz holografik mikroskopta oluşan girişim deseni piksel boyutundan çok daha düşük boyutta olduğu için dijital olarak tek nanoparçacık bazında görüntülenmeye imkan vermese de nanoparçacıklar için absorpsiyon temelli bir saptama yapılabilir. Şöyle ki, kanaldaki nanoparçacıklardan kırılan ışık ile etkileşime giren referans dalgası sonucu elde edilen görüntünün parlaklık değerinde farklılıklar meydana gelmektedir. Parlaklık değerlerindeki değişimlere bakılarak, nanometre boyutundaki parçacıkların belirlenmesi sağlanabilir. Şekil 4'de farklı dalga boylarındaki LED'ler ile elde edilen yapılandırılmış görüntülerdeki parlaklık değerleri, kanal içinden rastgele seçilen 10 bölgenin ortalaması hesaplanarak gösterilmiştir. Nanoparçacıklar kanal yüzeyine bağlandıktan ( $\sim 2300$  nanoparçacık/ $\text{mm}^2$ ) sonra üç farklı LED için de

parlaklık seviyelerinde azalma görülmektedir. Parlaklık seviyeleri her LED için farklı seviyede ölçülmüştür. Bu durum farklı dalga boyundaki LED'lerin parlaklık seviyelerindeki değişimler, CMOS görüntü sensörünün kuantum veriminin dalga boyu ile değişmesi ve nanoparçacıkların farklı dalga boyları için soğurma değerlerinin farklı olabileceği ile açıklanabilir. LED parlaklık seviyelerinde zaman içinde değişimler olabileceği için nanoparçacık ölçümlerinde muhakkak nanoparçacıksız olan bir kanala göre karşılaştırma yapılması ölçüm metodunun doğruluğunu artıracaktır.

Bu çalışmada yüzey kaplama tahliliyle biyomoleküllerin tespitinde kullanılacak nanoparçacık etiketlerin belirlenmesi için merceksiz holografik mikroskopi tabanlı, düşük maliyetli (<500 TL) ve taşınabilir bir görüntüleme platformu sunulmuştur. Bu platformda mikrokanaal içinde düşük konsantrasyonlarda (~2300 nanoparçacık/mm<sup>2</sup>) kaplanan nanoparçacıklar, elde edilen kanal görüntülerinin parlaklık değerlerindeki azalmayla başarılı bir şekilde tespit edilebilmiştir. Platformda algılanan nanoparçacık boyutları sadece birkaç nanometre boyutundaki proteinleri hassas bir şekilde algılamak için kullanılabilir [4]. Gelecekte, önerilen platform yüzey kaplama tahlillerinde kullanarak, hasta örneklerindeki biyobelirteçlerin hasta başında, hızlı ve hassas bir şekilde algılanmasına yönelik çalışmalar yapılacaktır. Bu platform, günümüzde yüksek maliyetli cihazlarda uzman personeller tarafından gerçekleştirilen hassas biyomolekül belirleme testlerinin yayılımını artırılmasını ve böylelikle bu testlerin geniş kitlelere ulaştırılmasını sağlayabilecektir. Platform dijital görüntülemeye izin vermekte olup, ileride platform üstünde elde edilecek test sonuçları mobil ağlar üzerinden hızlıca sağlık personellerine iletilebilecektir. Dolayısıyla, platform kritik durumlarda teletıp sistemleri üzerinden hastalara erken müdahale edilebilmesine de olanak sağlayabilecektir.



Şekil 3. Kanal içindeki nanoparçacıkların görüntüleri. (a) Hologram, (b) yapılandırılmış genlik ve (c) 40 × objektif ile çekilmiş ışık mikroskobu görüntüleri. Kırmızı oklar nanoparçacıkları göstermektedir.



Şekil 4. Üç farklı dalga boyundaki LED'ler ile çekilmiş hologramların yapılandırılması ile nanoparçacıkların bağlanmasından önce ve sonra elde edilen renklere bağlı parlaklık değişimleri.

#### BİLGİLENDİRME

*Bu çalışma 119M052 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında desteklenmiştir.*

#### KAYNAKLAR

- [1] R. Craig-Schapiro *et al.*, "Multiplexed immunoassay panel identifies novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis and prognosis," *PLoS One*, vol. 6, no. 4, p. e18850, Apr 19 2011
- [2] A. Bosco, E. Ambrosetti, J. Mavri, P. Capaldo, and L. Casalis, "Miniaturized Aptamer-Based Assays for Protein Detection," *Chemosensors*, vol. 4, p. 18, 09/02 2016
- [3] H. C. Tekin, M. Cornaglia, and M. A. Gijs, "Attomolar protein detection using a magnetic bead surface coverage assay," *Lab Chip*, vol. 13, no. 6, pp. 1053-9, Mar 21 2013,
- [4] H. C. Tekin and M. A. Gijs, "Ultrasensitive protein detection: a case for microfluidic magnetic bead-based assays," *Lab Chip*, vol. 13, no. 24, pp. 4711-39, Dec 21 2013,
- [5] A. C. Sobieranski *et al.*, "Portable lensless wide-field microscopy imaging platform based on digital inline holography and multi-frame pixel super-resolution," *Light: Science & Applications*, vol. 4, no. 10, pp. e346-e346, 2015/10/01 2015
- [6] K. Delikoyun, E. Cine, M. Anil-Inevi, M. Ozuysal, E. Ozcivici, and H. C. Tekin, "Lensless Digital in-Line Holographic Microscopy for Space Biotechnology Applications," in *2019 9th International Conference on Recent Advances in Space Technologies (RAST)*, 11-14 June 2019, pp. 937-940
- [7] M. U. Daloglu *et al.*, "Computational On-Chip Imaging of Nanoparticles and Biomolecules using Ultraviolet Light," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, p. 44157, 2017/03/09
- [8] O. Mudanyali *et al.*, "Wide-field optical detection of nanoparticles using on-chip microscopy and self-assembled nanolenses," *Nature Photonics*, vol. 7, no. 3, pp. 247-254, 2013/03/01
- [9] Y. Wu, and A. Ozcan, "Lensless digital holographic microscopy and its applications in biomedicine and environmental monitoring," *Methods*, 136, pp. 4-16, 2018
- [10] J. L. Pech Pacheco, G. Cristobal, J. Chamorro-Martinez, and J. Fernandez-Valdivia, "Diatom autofocusing in brightfield microscopy: A comparative study.", pp. 314-317 vol.3, 2000