

老鼠大脑海马区神经元活细胞的数字全息相衬成像实验研究

欧阳丽婷¹ 王大勇¹ 赵 洁² 王云新¹ 何其华³

(¹ 北京工业大学应用数理学院, 北京 100124; ² 北京工业大学实验学院, 北京 101101)

³ 北京大学医学部, 北京 100191

摘要 针对生物活细胞的观测, 基于预放大离轴光路设计和构建了一套倒置式像面数字全息显微成像系统, 该系统的全息图记录平面与物体的像面重合, 无需光学衍射传播步骤, 简化了再现过程。对于引入到相位像中的畸变, 采用简单快速的曲面拟合法予以校正; 并利用分辨率板对系统实际分辨率进行测定, 该系统可以分辨的最小细节信息为 $0.87 \mu\text{m}$ 。以老鼠的大脑海马区神经元活细胞为成像物体, 实现了其在自然状态下的定量相衬成像, 清晰观察到了海马区神经元活细胞的胞体、树突等形态结构, 获得了细胞形态的基本参数。结果表明, 数字全息术可用于神经元等活体细胞的定量形态检测, 为生物医学领域的细胞形貌分析提供一种无损的相衬成像手段。

关键词 全息; 数字全息术; 相衬成像; 衍射传播; 海马区神经元活细胞

中图分类号 O436 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201340.0909001

Experimental Study on the Phase-Contrast Imaging of the Living Hippocampal Neuron Cells by Digital Holographic Microscopy

Ouyang Liting¹ Wang Dayong¹ Zhao Jie² Wang Yunxin¹ He Qihua³

(¹ College of Applied Science, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China
² The Pilot College of Beijing University of Technology, Beijing 101101, China
³ Health Science Center, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract In accordance with the need of observing and analyzing living cells, based on the pre-magnification off-axis digital holographic theory, an inverted setup of pre-magnification off-axis image plane digital holographic microscopy is designed and built, where the image plane of the microscope objective is coplanar with the recording plane of the hologram. Therefore, the step of the numerical diffraction propagation by the computer is needless and the numerical reconstruction is simplified. Meanwhile, the simple and fast surface fit method is applied to correct the phase aberration. Furthermore, the actual resolution is measured by using the USAF resolution mask, which is $0.87 \mu\text{m}$. Finally, the quantitative phase-contrast images of the living hippocampal neuron cells in the natural state are achieved. From the experimental results, the structures of cells including the cell body and the dendrite are observed. The basic parameters of the cell morphology are also obtained. The results show that the digital holography is useful in the quantitative morphological detection of living cells and it provides a non-destructive phase-contrast imaging approach for the cell morphological analysis in the field of the bio-medical research.

Key words holography; digital holography; phase-contrast imaging; diffraction propagation; living hippocampal neuron cell

OCIS codes 090.1995; 100.2000; 120.5050; 170.1530

收稿日期: 2013-03-25; 收到修改稿日期: 2013-05-06

基金项目: 国家自然科学基金(61077004, 61205010)、北京市自然科学基金(1122004)、高等学校博士学科点专项科研基金(20121103120003)

作者简介: 欧阳丽婷(1989—), 女, 硕士研究生, 主要从事数字全息方面的研究。E-mail: oylt1989@sohu.com

导师简介: 王大勇(1968—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事光学信息处理和数字显微测量等方面的研究。

E-mail: wdyong@bjut.edu.cn(通信联系人, 中国光学学会会员号: 1000093)

本文电子版彩色效果请详见中国光学期刊网 www.opticsjournal.ent

1 引 言

与传统光学全息术相比,数字全息术以探测器(如 CCD)等电子器件代替传统全息干板材料作为记录介质采集全息图,并通过计算机实现全息图的再现和相位图像提取等过程,具有实时、无损、非接触、高精度等优势^[1]。近年来,数字全息显微成像(DHM)研究发展迅速,一方面是从基础理论、数值算法的突破和实验结构的优化来提高 DHM 的性能^[2-5],如通过合成多幅全息图扩大等效记录面积的合成孔径 DHM^[2]可以提高分辨率、在参考光路适当位置放置与物光路相同的显微物镜的物理补偿方法^[3]可以校正二次相位畸变、采用非相干光源的生物荧光 DHM^[5]可以减少相干噪声的影响。同时,DHM 的应用领域也在不断拓展,尤其在生物学、生命科学以及医学领域,其优点逐渐得到发挥^[6-11]。与电子显微镜及其他光学显微镜等成像方法相比,使用 DHM 技术不需对生物细胞进行脱水、染色、荧光标定等操作,可实现在自然条件下对活体生物细胞的定量相衬成像。由于活体生物细胞没有进行染色和标记,细胞呈半透明状,在振幅像中不易分辨,因此通常采用相位像观察和分析细胞形貌及其变化过程。不同于常规的光学相衬显微成像,DHM 技术能提供细胞相位的定量信息,使显微成像与细胞生理功能分析结合愈加紧密。目前,DHM 已被用于对多种细胞的定量观测,如利用波长分别为 633 nm 和 532 nm 的双波长反射式数字全息光路,对 SKOV-3 卵巢癌细胞进行三维形貌定量观测^[12];利用改进的马赫-曾德尔装置,采用菲涅耳近似算法再现,分析了老鼠大脑皮层神经元细胞的形态及低渗透压动力特性等^[13-14];采用透射式离轴 DHM 光路,通过层析方法重建,获得活的阿米巴原虫的体积^[15];采用 DHM 光路,定量获得活的人体胰腺癌细胞的折射率,用于研究癌细胞的侵袭机制及抗癌药的作用机理^[16];对人类大脑微血管内皮细胞分裂过程进行观测,获取了细胞最厚处相位信息,即最大光学厚度,通过计算得到细胞最厚处的实际厚度^[17]。

神经元细胞是其中一个重要的研究样品类别,处于大脑海马体中的海马区神经元细胞负责学习和记忆,海马区神经元细胞的功能与其形貌特征有紧密联系,如过度运动会导致大脑海马区神经元细胞排列疏松、紊乱,细胞形态及超微结构发生损伤性改变,部分细胞固缩^[18]。若大脑海马区受损严重会导致出现失去部分或全部记忆的状况,同时想象能力也会变差^[19],因此神经元细胞的形貌检测对于神经

元细胞研究具有重要的指导意义。

本文以老鼠的大脑海马区神经元细胞为实验样品,期望有助于对大脑海马区神经元活动情形的研究。设计和构建了一套倒置式像面数字全息显微系统。通常,生物细胞尺寸较小,为几十微米量级,为了提高分辨率,在光路中加入预放大结构。同时,结合像面全息术,将 CCD 探测靶面置于显微物镜(MO)的成像平面上,即为预放大离轴像面数字全息光路结构。对于显微物镜等引入的相位畸变,仍然需要校正,采用曲面拟合法进行校正^[20],对无标记的老鼠大脑海马区神经元活细胞进行了相衬成像,获得了相位畸变得较好校正的大脑海马区神经元活细胞的再现相位像,能够清晰地观察到海马区神经元活细胞的胞体、树突等形态结构。

2 数字全息相衬成像原理

2.1 预放大离轴像面数字全息图的记录和再现

预放大离轴像面数字全息图记录过程的简化模型如图 1 所示^[21-22], x_0-y_0 平面、 x_m-y_m 平面分别是物平面和 MO 平面, $x-y$ 平面则是记录全息图的 CCD 平面,即 MO 的成像平面, z 轴垂直通过三个平面中心,MO 平面与物平面和记录平面的距离分别为 z_0 和 z_m 。 f 为透镜焦距, z_0 和 z_m 满足物像共轭关系,即

$$\frac{1}{z_0} + \frac{1}{z_m} = \frac{1}{f}. \quad (1)$$

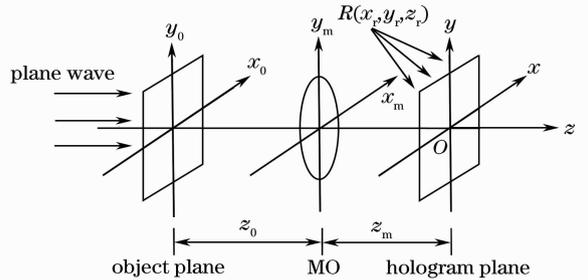


图 1 预放大离轴像面数字全息记录过程示意图
Fig. 1 Schematic of the recording for the pre-magnification off-axis image plane holography

假设利用一束单位振幅的平行平面波垂直入射到位于物平面 x_0-y_0 上的待测样品,对应的物光场分布为 $O(x_0, y_0)$ 。则在傍轴近似下,经自由传播过程和 MO 的位相变换作用后,CCD 探测平面上的物光波复振幅分布为^[23]

$$O(x, y) = \exp\left[\frac{jk}{2}\left(\frac{z_0 + z_m}{z_m^2}\right)(x^2 + y^2)\right] \cdot O_0\left(-\frac{x}{M}, -\frac{y}{M}\right), \quad (2)$$

式中 $O_0(-x/M, -y/M)$ 为物光场几何像的复振幅分布, 波数 $k = 2\pi/\lambda$, λ 为照明光波长, 放大倍率 $M = z_m/z_0$ 。

参考光为位于坐标 (x_r, y_r, z_r) 的参考点源发出的球面波, 该球面波在 CCD 平面上的光场复振

幅分布为

$$R(x, y) = \exp\left\{\frac{jk}{2z_r}[(x-x_r)^2 + (y-y_r)^2]\right\}. \quad (3)$$

则参考光和物光干涉后的全息图光强分布为

$$I_H(x, y) = |O(x, y) + R(x, y)|^2 = |O(x, y)|^2 + |R(x, y)|^2 + O(x, y)R^*(x, y) + R(x, y)O^*(x, y), \quad (4)$$

式中 * 表示共轭。如(4)式所示, 全息图包含四项, 前两项为零级分量, 第三项和第四项分别为原始像和共轭像。为简化, 使用频谱滤波方法滤除前两项零级分量和第四项共轭像, 只对第三项原始像进行后续计算, 由(2)、(3)式可得

$$O(x, y)R^*(x, y) = \exp\left[\frac{jk}{2}\left(\frac{z_0+z_m}{z_m} - \frac{1}{z_r}\right)(x^2+y^2)\right] \times \exp\left[\frac{jk}{z_r}(xx_r+yy_r)\right] O_0\left(-\frac{x}{M}, -\frac{y}{M}\right). \quad (5)$$

第三项原始像就是根据(5)式所得的待测样品的像, 但是这个像包含了一次和二次的相位畸变。

由于像面数字全息的 CCD 记录面与所记录物体成的像重合, 因此像面数字全息图的再现无需用参考光照明、在空间进行衍射传播, 而只需要直接从全息图 $I_H(x, y)$ 中提取出第三项原始像 $O(x, y)R^*(x, y)$, 就可得到待测样品的像, 简化了再现过程。实际的具体再现过程是: 对得到的像面全息图 $I_H(x, y)$ 直接进行傅里叶变换, 得到 $I_H(x, y)$ 的频谱, 前两项零级分量的频谱位于坐标原点, 第三项原始像和第四项共轭像的频谱分离并对称分布, 用频谱滤波的方式将 $I_H(x, y)$ 的频谱中第三项原始像的频谱提取出来^[24], 滤除前两项零级分量和第四项共轭像的频谱, 再将第三项原始像的频谱平移至坐标中心, 对其进行逆傅里叶变换, 即可完成再现过程, 得到待测样品的像光场复振幅分布为

$$O'(x, y) = F^{-1}\{F[I_H(x, y)]\}_{\text{filter}} = \exp\left[\frac{jk}{2}\left(\frac{z_0+z_m}{z_m} - \frac{1}{z_r}\right)(x^2+y^2)\right] \times \exp\left[\frac{jk}{z_r}(xx_r+yy_r)\right] O_0\left(-\frac{x}{M}, -\frac{y}{M}\right), \quad (6)$$

式中 filter 角标表示滤除零级分量和共轭像的频谱滤波步骤; F 和 F^{-1} 分别表示傅里叶变换和逆傅里叶变换运算。

取 $O'(x, y)$ 的强度分布 $I_i(x, y)$ 为

$$I_i(x, y) = |O'(x, y)|^2 = |O(x, y)|^2, \quad (7)$$

相应的相位分布 $\varphi(x, y)$ 为

$$\varphi(x, y) = \arctan\left\{\frac{\text{Im}[O'(x, y)]}{\text{Re}[O'(x, y)]}\right\}, \quad (8)$$

式中 $\text{Re}(\cdot)$ 和 $\text{Im}(\cdot)$ 分别表示复振幅分布的实部和虚部。

根据(6)式可以看出, $O'(x, y)$ 包含着一次和二次的相位畸变, 畸变对强度分布不产生影响, 因此再现得到的强度分布 $I_i(x, y)$ 即为真实的样品像的强度分布, 但再现得到的相位分布 $\varphi(x, y)$ 需要进行校正才能得到真实的样品像的相位分布。

2.2 曲面拟合法校正相位畸变

下面考虑如何校正 $\varphi(x, y)$ 中的相位畸变。与整个相位畸变量相比, 生物样品的相位分布通常不到其 1%, 只相当于程度很小的扰动, 可以忽略其对再现相位分布的影响。因此, 选用曲面拟合法来校正引入的相位畸变^[20]。

根据(6)式, 再现光场分布中存在一次和二次相位畸变。首先, 取相位分布 $\varphi(x, y)$ 中像素尺寸为 $t \times t$ 的区域解包裹^[25-26], 解包裹后的相位分布 $\varphi_a(x, y)$ 可表示为

$$\varphi_a(x, y) = \varphi_0(x, y) + \varphi_b(x, y), \quad (9)$$

式中 $\varphi_0(x, y)$ 表示理想的放大实像的相位分布, $\varphi_b(x, y)$ 表示所有相位畸变, 包括一次和二次相位畸变以及可能出现的高阶畸变。

所有相位畸变分布 $\varphi_b(x, y)$ 可用多项式建模表示为^[20]

$$\varphi_b(x, y) = c_{00} + c_{10}x + c_{20}x^2 + c_{01}y + c_{11}xy + c_{21}x^2y + c_{02}y^2 + c_{12}xy^2 + c_{22}x^2y^2. \quad (10)$$

通过定义横坐标矩阵 $\mathbf{B}_{t \times 3}$ 为

$$\mathbf{B}_{t \times 3} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1^2 \\ 1 & 2 & 2^2 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & t & t^2 \end{bmatrix}, \quad (11)$$

纵坐标矩阵 $\mathbf{G}_{t \times 3}$ 为

$$\mathbf{G}_{t \times 3} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1^2 \\ 1 & 2 & 2^2 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & t & t^2 \end{bmatrix}, \quad (12)$$

则上面多项式中各项系数可归结为一个矩阵^[27]:

$$\mathbf{C}_{3 \times 3} = \begin{bmatrix} c_{00} & c_{01} & c_{02} \\ c_{10} & c_{11} & c_{12} \\ c_{20} & c_{21} & c_{22} \end{bmatrix} = (\mathbf{B}^T \mathbf{B})^{-1} \mathbf{B}^T \varphi_a(x, y) \mathbf{G} (\mathbf{G}^T \mathbf{G})^{-1}. \quad (13)$$

通过(13)式得到多项式中的各项系数,代入(10)式中可拟合出所有相位畸变分布 $\varphi_b(x, y)$,用感兴趣区域解包裹后的相位分布 $\varphi_a(x, y)$ 减去该拟合出的所有相位畸变分布 $\varphi_b(x, y)$,最终可得到相位畸变被很好校正的无包裹再现相位像 $\varphi_0(x, y)$ 。这种相位畸变校正方法仅需要单幅全息图,且不需要获取准确的物距、像距和参考点源位置信息,实际上这些参数在实验中较难准确获取,因此该方法十分简洁、快速,有利于实现实时数字全息成像,也给实验装置的构建提供了充分的便利。

3 实验与结果分析

设计和构建了一套倒置式预放大离轴像面数字全息显微系统,其光路结构如图 2 所示。由波长为 532 nm、功率为 500 mW 的激光器出射激光,该束激光经过连续衰减片(NF)后,直接被光纤耦合器(LFC)耦合进单模光纤中,又被光纤分束器(FC)分为两束,分别作为物光和参考光;物光经光纤准直镜(FCL)准直后从上往下照在待测样品上,在光路调

整中应使待测样品的透射光经 20 倍显微物镜直接通过消偏振合束棱镜(BS)后成像在 CCD 探测平面上;参考光直接由纤芯直径约 9 μm 的光纤末端出射,近似用作为参考点源,根据前面所述的相位畸变校正方法,不需要获取精确的参考点源位置,因此不需精确调整,只需避免频谱之间的混叠,具有灵活性。参考光与经过待测样品的物光,被 BS 合束后进行干涉,参考光与物光有一个很小的角度,干涉图样的强度分布(即全息图)被 CCD 采集,所用 CCD 相机像素为 1280 pixel \times 1024 pixel,像素大小为 4.65 $\mu\text{m} \times$ 4.65 μm ,CCD 每个像素大小对应的物平面尺寸为 0.233 $\mu\text{m} \times$ 0.233 μm 。采集得到的数字全息图在计算机中完成数值再现,得到待测样品的相位分布 $\varphi(x, y)$,即畸变的相衬像;最后,应用曲面拟合法校正相位畸变,得到相位畸变被很好校正的无包裹再现相位像。

3.1 系统分辨率的测定

在预放大离轴像面数字全息光路中,系统分辨率由显微物镜和 CCD 的参数共同决定。光路中采用的显微物镜数值孔径(NA)为 0.4,若忽略 CCD 带来的影响,则系统的理想分辨率为

$$\delta = \frac{0.610\lambda}{NA} = 0.8113 \mu\text{m}. \quad (14)$$

利用美国空军分辨率板(USAF)作为成像物体进行实验,利用 CCD 在物体像面采集全息图,为便于快速傅里叶变换(FFT)计算,取全息图中 1024 pixel \times 1024 pixel 的正方形区域,如图 3(a)所示,得到的全息图频谱分布如图 3(b)所示。截取频谱图左上角的原始像后,得到如图 3(c)所示的分辨率板的振幅再现像。为了更好地得到该系统的实际分辨率,将图 3(c)中红框部分放大后,由图 3(d)可知,最小可以分辨到分辨率板的第 9 组第 2 线对,其对应的实际宽度为 0.87 μm ,表明该系统可以分辨的最小细节信息为 0.87 μm ,非常接近理论分辨率。这是由于本文构建的像面数字全息显微成像系统,在两路光路中采用单模光纤传播光波,参考光使用点光源,校正相位畸变的方法允许不关注点光源的精确位置,只要满足物象共轭关系,也不需获取物距和像距,使实验分辨率更容易接近理论预测性能。但无论如何,CCD 参数带来的影响以及实验中杂散光和噪声等因素导致实际分辨率不可能完全达到理论分辨率。

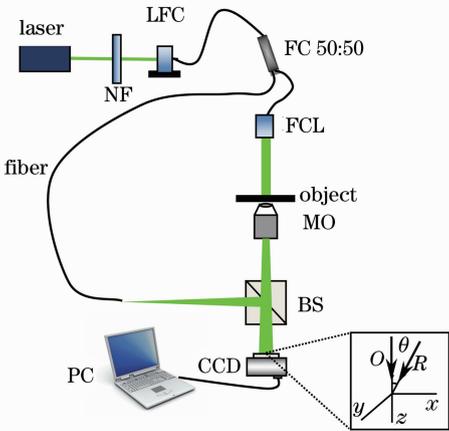


图 2 预放大离轴像面数字全息实验光路示意图

Fig. 2 Experimental configuration for the pre-magnification off-axis image plane digital holography

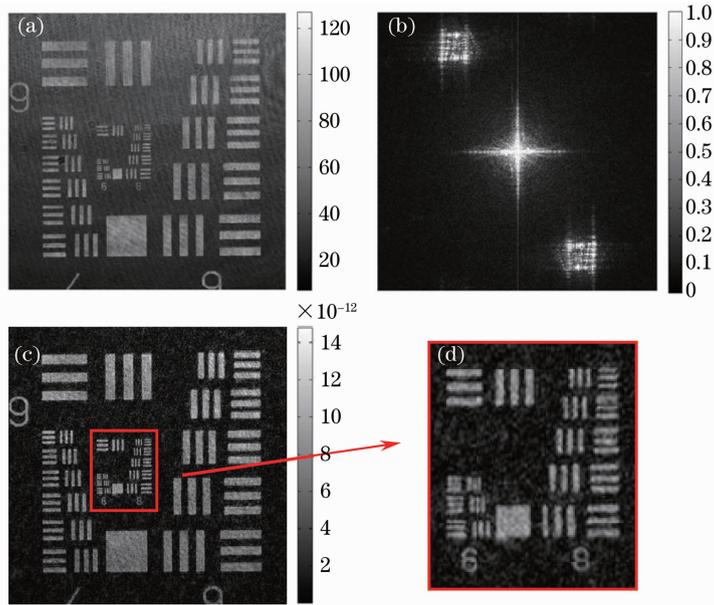


图 3 美国空军分辨率板的实验结果。(a) 全息图；(b) 频谱图；(c) 振幅再现像；(d) 图 3(c)中红框部分放大图
 Fig. 3 Experimental results of the USAF resolution mask. (a) Digital hologram; (b) spectrum of (a);
 (c) reconstructed amplitude image; (d) magnifying image of (c)

3.2 老鼠大脑海马区神经元活细胞成像结果

选用无标记的老鼠大脑海马区神经元活细胞作为成像物体进行相衬成像实验,采用直径为 35 mm 的培养皿来培养细胞,其中充满了适合细胞生长的培养液,细胞贴壁生长在培养皿的底面上。将培养皿放置到图 2 所示光路的载物平台上,采集到的原始全息图如图 4(a)所示,得到的全息图频谱分布如

图 4(b)所示。对图 4(b)做频谱滤波后,得到包裹相位图,如图 4(c)所示。使用最小二乘法解包裹后,得到无包裹的存在相位畸变的相位图。再根据曲面拟合畸变校正法,用无包裹的存在相位畸变的相位图拟合出如图 4(d)所示的曲面,最终得到畸变校正后无包裹的相位像,如图 4(e)所示,三维相位分布信息如图 4(f)所示。

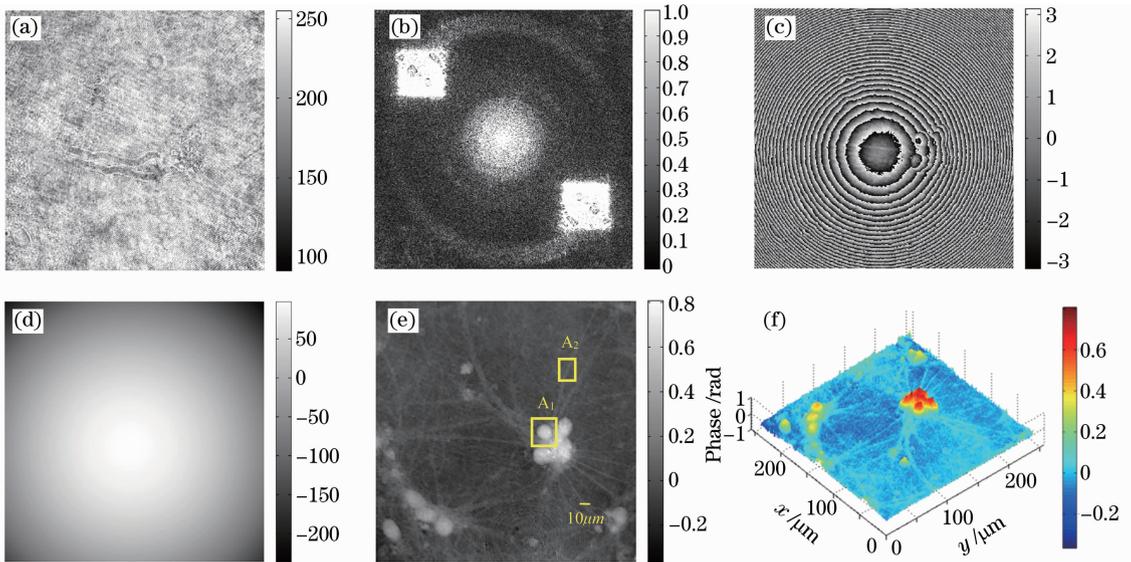


图 4 无标记的老鼠大脑海马区神经元活细胞的实验结果。(a) 全息图；(b) 频谱图；

(c) 包裹相位像；(d) 拟合的相位畸变分布；(e) 曲面拟合法去畸变后无包裹的相位像；(f) 三维相位分布

Fig. 4 Experimental results of the living hippocampal neuron cells. (a) Digital hologram; (b) spectrum of (a); (c) wrapped phase image; (d) aberration phase distribution after the surface fit; (e) unwrapped free-of-aberration phase image after subtraction; (f) three-dimensional phase distribution

神经元细胞是神经系统的功能单位之一,在结构上可分成胞体和神经突两部分,神经突又分树突和轴突两种。从得到的相衬图像中,可以清晰地观察到神经元细胞形态和结构,如图 4(e)所示,海马区神经元细胞以多极神经元最为多见,胞体呈三角形或椭圆形,有多个突起。正常海马区神经元细胞表面饱满光滑,起伏均匀、规律,神经元向四周发出树枝状的神经突起,突起之间交织成明显的网络,形

成神经网络,并且神经元细胞有聚集成团的现象。数字全息相衬成像能够提供定量的相位信息,分别用区域 A_1 和区域 A_2 标记图 4(e)中的老鼠大脑海马区神经元活细胞的胞体和树突结构,并进行定量计算,结果如表 1 所示。其中,由于各个细胞的树突部分是相互连结的,因此只测量区域 A_2 中树突结构的横截面直径和轴向最大光学厚度。

表 1 老鼠大脑海马区神经元活细胞形态信息

Table 1 Basic parameters of cell morphology of the living hippocampal neuron cells

	A_1	A_2
Number of pixels	63 pixel×61 pixel	12 pixel
Size of the corresponding object plane	14.7 μm ×14.2 μm	2.80 μm
Maximum axial optical thickness of cell structure in the marked area	61.301 nm	7.112 nm

4 结 论

针对生物活细胞的观测需要,设计和构建了一套倒置式预放大离轴像面数字全息显微系统,利用 CCD 在像平面采集全息图,在计算机中进行频谱滤波实现全息图再现和相位图像的提取,并结合曲面拟合法校正引入的相位畸变,无需获取精确的参考点源位置,调整方便、灵活,具有稳健性,使得实际分辨率更接近理论成像性能。实验中实现了无标定的老鼠大脑海马区神经元活细胞的定量相衬成像,可清晰观察到胞体、树突等形态结构,获得了神经元细胞形态的基本参数,期望为研究海马区神经元的活动对于记忆的运作机制等方面提供基本的生物参数依据。

参 考 文 献

- 1 J W Goodman, R W Lawrence. Digital image formation from electronically detected holograms[J]. Appl Phys Lett, 1967, 11(3): 77-79.
- 2 A Faridian, D Hopp, G Pedrini, *et al.*. Nanoscale imaging using deep ultraviolet digital holographic microscopy[J]. Opt Express, 2010, 18(13): 14159-14164.
- 3 W J Qu, C Q Choo, Y J Yu, *et al.*. Microlens characterization by digital holographic microscopy with physical spherical phase compensation[J]. Appl Opt, 2010, 49(33): 6448-6454.
- 4 W J Qu, C Q Choo, L T Rongwei, *et al.*. Physical spherical phase compensation in reflection digital holographic microscopy[J]. Opt & Lasers in Eng, 2012, 50(4): 563-567.
- 5 J Rosen, G Brooker. Non-scanning motionless fluorescence three-dimensional holographic microscopy[J]. Nature Photon, 2008, 2(3): 190-195.
- 6 B Javidi, E Tajahuerce. Three-dimensional object recognition by use of digital holography[J]. Opt Lett, 2000, 25(9): 610-612.
- 7 E Cucho, F Bevilacqua, C Depeursinge. Digital holography for quantitative phase-contrast imaging[J]. Opt Lett, 1999, 24(5): 291-293.
- 8 K J Chalut, W J Brown, A Wax. Quantitative phase microscopy

- with asynchronous digital holography[J]. Opt Express, 2007, 15(6): 3047-3052.
- 9 Wang Huaying, Guo Zhongjia, Zhang Zhihui, *et al.*. Image-plane digital holography for quantitative imaging of cells of chinese medical decoction pieces[J]. Chinese J Lasers, 2012, 39(2): 0209003.
- 10 Zhao Jie, Wang Dayong, Li Yan, *et al.*. Experimental study on the quantitative phase-contrast imaging of the biological samples by digital holographic microscopy[J]. Chinese J Lasers, 2010, 37(11): 2906-2911.
- 赵 洁, 王大勇, 李 艳, 等. 数字全息显微术应用于生物样品相衬成像的实验研究[J]. 中国激光, 2010, 37(11): 2906-2911.
- 11 Pan Feng, Xiao Wen, Liu Shuo. Digital holographic microscopy for long-term quantitative phase-contrast imaging of living cells[J]. Chinese J Lasers, 2011, 38(5): 0509001.
- 潘 锋, 肖 文, 刘 烁. 一种适用于长期定量观察生物活细胞的数字全息显微方法[J]. 中国激光, 2011, 38(5): 0509001.
- 12 A Khmaladze, M K Kim, C M Lo. Phase imaging of cells by simultaneous dual-wavelength reflection digital holography[J]. Opt Express, 2008, 16(15): 10900-10911.
- 13 B Rappaz, P Marquet, E Cucho, *et al.*. Measurement of the integral refractive index and dynamic cell morphometry of living cells with digital holographic microscopy[J]. Opt Express, 2005, 13(23): 9361-9373.
- 14 P Marquet, B Rappaz, P J Magistretti. Digital holographic microscopy: a noninvasive contrast imaging technique allowing quantitative visualization of living cells with subwavelength axial accuracy[J]. Opt Lett, 2005, 30(5): 468-470.
- 15 F Charriere, N Pavillon, T Colomb, *et al.*. Living specimen tomography by digital holographic microscopy: morphometry of testate amoeba[J]. Opt Express, 2006, 14(16): 7005-7013.
- 16 B Kemper, D Carl, J Schneckeburger, *et al.*. Investigation of living pancreas tumor cells by digital holographic microscopy[J]. J Biomed Opt, 2006, 11(3): 034005.
- 17 B Kemper, A Bauwens, A Vollmer, *et al.*. Label-free quantitative cell division monitoring of endothelial cells by digital holographic microscopy[J]. J Biomed Opt, 2010, 15(3): 036009.
- 18 Man Jun. Some Neurobiological Changes in Rat Hippocampus Induced by Six Weeks of Up-Graded Swimming and the

- Mechanism of the Changes [D]. Beijing: Beijing Sport University, 2002. 26—40.
- 满君. 六周游泳运动对大鼠海马区神经生物学指标的影响及其机理的研究[D]. 北京: 北京体育大学, 2002. 26—40.
- 19 L E Jarrard, L P Luu, T L Davidson. A study of hippocampal structure-function relations along the septo-temporal axis [J]. *Hippocampus*, 2012, 22(4): 680—692.
- 20 Y Z Zhang, D Y Wang, Y X Wang, *et al.*. Automatic compensation of total phase aberrations in digital holographic biological imaging [J]. *Chin Phys Lett*, 2011, 28(11): 114209.
- 21 E Cuche, P Marquet, C Depeursinge. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms [J]. *Appl Opt*, 1999, 38(34): 6994—7001.
- 22 T Colomb, E Cuche, F Charrière, *et al.*. Automatic procedure for aberration compensation in digital holographic microscopy and applications to specimen shape compensation [J]. *Appl Opt*, 2006, 45(5): 851—863.
- 23 J W Goodman. *Introduction to Fourier Optics* (3rd Ed.) [M]. Colorado: Roberts and Company Publishers, 2004. 108—114.
- 24 G Pedrini, S Schedin, H J Tiziani. Spatial filtering in digital holographic microscopy [J]. *J Mod Opt*, 2000, 47(8): 1447—1454.
- 25 J A Quiroga, E Bernabeu. Phase-unwrapping algorithm for noisy phase-map processing [J]. *Appl Opt*, 1994, 33(29): 6725—6731.
- 26 Zhang Yizhuo, Wang Dayong, Zhao Jie, *et al.*. Investigation on phase unwrapping algorithms in digital holography [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, 29(12): 3323—3327.
- 张亦卓, 王大勇, 赵洁, 等. 数字全息中实用相位解包裹算法研究 [J]. *光学学报*, 2009, 29(12): 3323—3327.
- 27 D Kincaid, W Cheney. *Numerical Analysis: Mathematics of Scientific Computing* [M]. Providence: American Mathematical Society, 2002.

栏目编辑: 何卓铭