

基于并行波前校正算法的大视场深穿透光学显微成像

赵琪¹, 石鑫¹, 龚薇², 胡乐佳¹, 郑瑶¹, 祝欣培², 斯科^{1,2*}

¹浙江大学光电科学与工程学院, 现代光学仪器国家重点实验室, 浙江 杭州 310027;

²浙江大学医学院神经科学研究中心, 浙江 杭州 310058

摘要 针对较厚的组织, 普遍采用的自适应光学技术由于其单次校正视场范围有限, 空间光调制器或可变形镜的刷新率有限, 难以满足大视场范围波前畸变的快速校正, 进而难以满足大视场高速成像的需求。结合共轭型自适应光学系统和相干光自适应校正技术, 提出了一种并行的波前畸变校正算法, 该算法可以在不增加空间光调制器等刷新次数的前提下, 通过并行测量多个导引星的波前畸变, 实现大视场范围内像差的一次性校正, 为生物组织深处的高速、高分辨成像提供一种可行的参考方案。仿真结果表明: 在采用 9 个导引星时, 针对 5 层随机相位屏构成的薄散射介质, 该算法单次校正的有效视场约为传统算法的 4.7 倍; 对于 120 μm 厚的小鼠大脑组织切片样本, 单次校正的有效视场约为传统算法的 4.6 倍。所提算法可以通过增加导引星的数量来进一步增大一次校正的视场范围, 并且不会显著增加校正时间, 在活体生物样本的大视场成像中具有广阔的应用前景。

关键词 成像系统; 显微成像; 深穿透成像; 散射测量; 自适应光学; 波面整形

中图分类号 O439

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.1207001

Large Field-of-View and Deep Tissue Optical Micro-Imaging Based on Parallel Wavefront Correction Algorithm

Zhao Qi¹, Shi Xin¹, Gong Wei², Hu Lejia¹, Zheng Yao¹, Zhu Xinpei², Si Ke^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentation, College of Optical Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China;

²Center for Neuroscience, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310058, China

Abstract As for deep tissues, the field of view of a single correction in the widely used adaptive optics is limited and the refresh rate of a spatial light modulator or a deformable mirror is also limited. Therefore it is difficult for them to satisfy the requirement of large field-of-view (FOV) rapid correction of wavefront distortion and thus that of high-speed imaging. A parallel wavefront correction method is proposed based on the conjugate adaptive optical correction system and the coherent optical adaptive technique. In this method, without increasing the number of refresh times of spatial light modulator, the large FOV of one-time correction can be realized by means of the parallel measurement of wavefront distortion of multiple guide stars, which provides a feasible reference solution for the high-speed and high-resolution imaging of deep tissues. The simulation results show that when 9 guiding stars are used, the effective FOV of a single correction by the proposed method is about 4.7 times than that of the conventional method for a thin scattering medium composed of 5 layers of random phase masks, and 4.6 times than that of the conventional method for 120- μm thick mouse brain tissue. Moreover, the proposed method can further improve the FOV of one-time correction by increasing the number of guide stars while the correction time does not significantly increase, which has broad application prospect in the large FOV imaging of *in vivo* biological tissues.

Key words imaging systems; micro-imaging; deep tissue imaging; scattering measurement; adaptive optics; wavefront shaping

OCIS codes 110.0180; 110.1080; 070.5040; 070.6120

收稿日期: 2018-07-04; 修回日期: 2018-07-26; 录用日期: 2018-08-05

基金项目: 国家自然科学基金(31571110, 81771877)、浙江省自然科学基金(LY16F050002, LZ17F050001)

* E-mail: kesi@zju.edu.cn

1 引言

在现代生物学研究领域中,光学显微镜作为一种不可替代的研究工具,被广泛应用于生物组织成像中^[1-3]。大多数生物组织都具有折射率各向异性的特点,所以光波在传输过程中会发生散射和畸变。尤其是在对深层组织样本进行成像时,随着穿透深度增加,散射现象越来越严重,波前畸变也随之增强,最终导致成像分辨率和对比度严重下降,限制了显微镜对深层生物组织的成像能力。为了消除生物组织中散射带来的影响,获取深层组织的清晰图像,研究人员普遍采用自适应光学技术来校正散射引起的像差。自适应光学的概念最初是由巴布柯克于1953年提出的^[4]。作为一种能够在闭环反馈下对光学波前动态畸变进行实时检测和校正的技术,自适应光学技术起初被广泛应用于天文学成像中,用于消除大气湍流动态干扰带来的影响^[5],由于在生物组织成像中也存在类似的问题,该项技术后来也被广泛应用于各类光学显微成像过程中,例如对人眼视网膜的成像^[6-7]和荧光显微成像^[8]等。

一般情况下,自适应光学利用可变形镜或空间光调制器(SLM)作为波前校正器件对像差进行补偿^[9-10]。SLM具有较高的分辨率,常用于校正生物组织引起的高级次像差。传统的自适应光学系统将波前校正器件放置于与物镜后瞳面共轭的位置,被称为光瞳型自适应光学系统^[11-12]。在显微成像中,生物组织折射率的非均匀性分布所引起的像差一般是与空间位置相关的,但是光瞳型自适应光学系统只对随空间位置不变的像差具有校正效果,因此其单次校正视场很小。为了增大单次校正视场的范围,共轭型自适应光学(CAO)系统被提出^[13-16]。在该系统中,波前校正器件被置于与散射样本共轭的位置,因此,随空间位置变化的像差可以被校正。但对于传统的共轭型自适应光学系统,单次可校正范围仍然不能满足更大视场下的成像要求。为了得到大视场下清晰的成像结果,通常需要进行多次自适应光学校正和成像,然后将图像拼接起来得到最终结果。但这样会使校正时间随着校正次数的增加而线性增加,且受限于SLM较慢的刷新速率,因此无法满足活体生物成像的实时性要求,如活鼠大脑的实时钙离子成像。

鉴于此,本文提出了一种并行共轭型自适应光学(PCAO)校正算法,该算法以相干光自适应校正技术(COAT)^[17-18]为基础。与传统的共轭型自适应光学方法相比,所提算法可以并行提取多路光强反馈信号,因此在SLM刷新次数相同的情况下,可以增大有效校正视场的范围,从而实现快速波前校正。为了证明并行共轭型自适应光学校正算法的可行性,本课题组将该算法用于多层随机相位屏和小鼠大脑组织的散射校正,并通过仿真实验获取荧光小球的成像结果。

2 共轭型自适应光学校正系统设计

共轭型自适应光学系统的原理图如图1所示。固体激光器发出的波长为630 nm的连续激光通过一对中继透镜(L1, L2)准直并扩束后,透过二向色镜传播到二维扫描振镜组上。该振镜组由X轴振镜(X)和Y轴振镜(Y)组成,两振镜间加入一对中继透镜(L3, L4)使其保持共轭关系;最后一对中继透镜(SL, TL)将Y轴振镜共轭于物镜的后焦面,并成放大的像。一个可见光波段的SLM放置在扫描透镜(SL)和套筒透镜(TL)之间,并与散射介质(SM)的主要散射层保持共轭。假设SLM共轭于散射介质的中间层,但实际上只需将SLM共轭于散射介质内部任意位置,就能实现几乎同等的校正效果。这里将散射介质的中间层置于物镜前焦面之后1/2焦距处,物体(O)置于物镜的前焦面处。样本中被激发的背向散射荧光信号经过退扫描后,被二向色镜反射,然后通过带通滤波片(BPF)和小孔(P)滤波,最终被光电倍增管(PMT)收集。探测的荧光信号既可作为自适应光学的反馈信号,又可用于共聚焦荧光成像。

在传统的光瞳型自适应光学校正系统中,SLM放置在与物镜后瞳面共轭的位置,因而到达散射介质不同位置处的光束都会覆盖SLM上的相同区域,不存在空间上的对应关系,所以只能校正随空间位置不变的像差。但是,对于本课题组采用的共轭型自适应光学系统而言,在振镜扫描过程中,光束在经过SLM上的不同区域时也对应于透过散射介质上的不同区域,这种在空间上一一对应的关系就确保了此系统能够校正随空间位置变化的像差。基于该系统的这一特性,本课题组提出并行共轭型自适应光学校正算法。

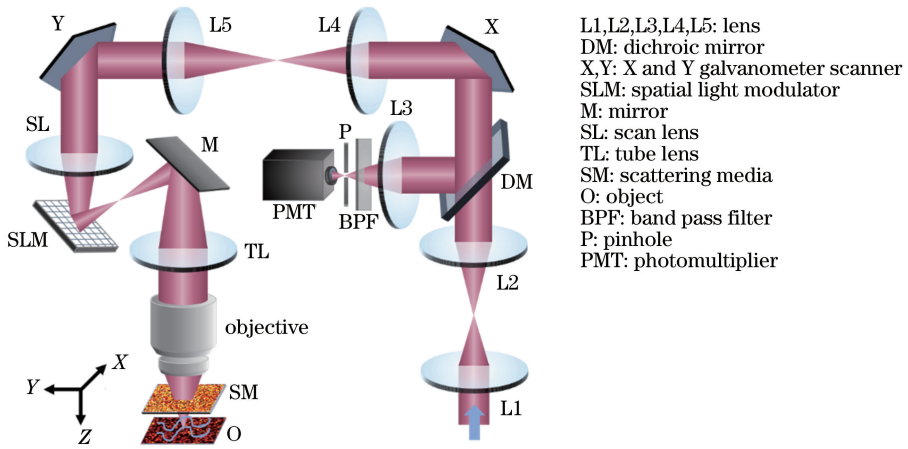


图 1 共轭型自适应光学校正系统示意图

Fig. 1 Schematic of conjugate adaptive optical correction system

3 并行波前校正算法的原理

在显微成像领域,导引星是植入生物组织后侧的参考点光源,通过检测它的相位扰动即可实时检测出其周围区域生物组织散射所产生的波前相位扰动。在传统的自适应光学算法中,每次的校正过程都是通过检测单个导引星的相位扰动来获得校正相位分布的。而本课题组提出的并行共轭型自适应光学校正算法,可以通过并行检测多个导引星的相位扰动来获得更大区域范围的校正相位分布,从而获得更大的单次校正视场。

图 2 展示了并行共轭型自适应光学校正算法的原理示意图。在共轭型自适应光学系统中,每个导引星覆盖 SLM 的一定区域范围,即单个导引星对

应的有效校正相位的范围,称为导引星分区。据此可将 SLM 划分为 m 个导引星分区,如图 2 中红色矩形框区域所示。然后,将导引星分区再划分为若干小块的子分区,用于相干光自适应校正技术算法中不同调制频率的相位加载,称为相位分区。在所有的导引星分区中加载相同的调制模式,即一半的相位分区上加载互不串扰的相位调制频率 ($\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n$),另一半相位分区作为参考不做任何调制。在每次 SLM 刷新调制相位后,通过振镜依次扫描 m 个导引星,并记录各自的干涉光强值。重复上述过程直到 SLM 的一次全域相位调制频率的加载完成后,得到每个导引星的光强信号变化值 $[I_1(t), I_2(t), \dots, I_m(t)]$,分别经过傅里叶变化提取出每个导引星分区中 $\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n$ 频率处的波

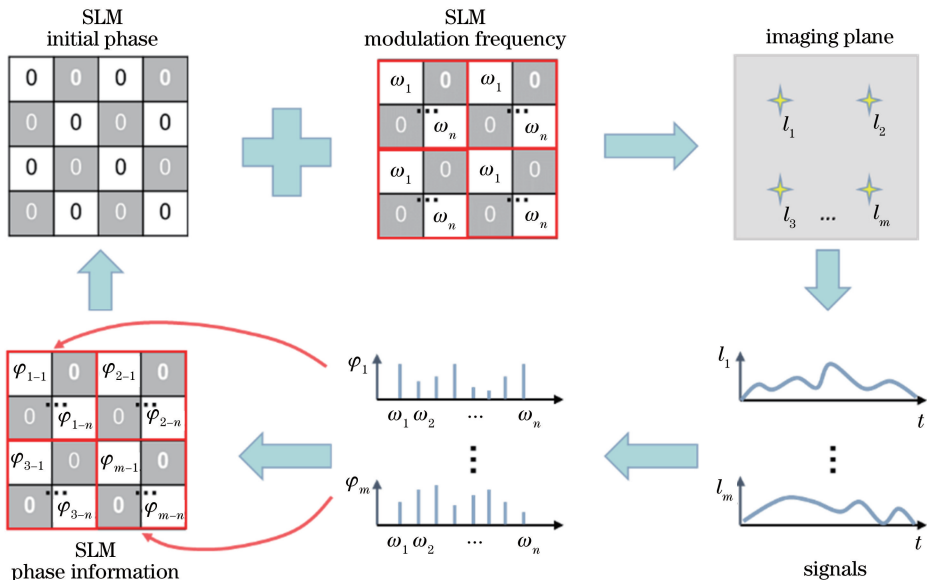


图 2 并行共轭型自适应光学校正算法的原理示意图

Fig. 2 Schematic of parallel conjugate adaptive optical correction algorithm

前相位信息,将其加载到各自对应的相位分区上。类似的,对另一半未调制的相位分区重复相同的过程,就可以获得完整的波前相位信息。在该算法中,由于在所有的导引星分区中加载相同的调制模式,因此 SLM 只需要传统的单导引星共轭型自适应光学校正时的刷新次数,便可以同时完成 m 个导引星的共轭型自适应光学校正过程,从而实现快速大视场范围内的自适应光学校正。

在此,本课题组利用标量衍射场的角谱理论来模拟光束的传输过程^[19-20]。在仿真中,入射激光波长为 630 nm,光束在物镜后瞳面上的直径为 256 pixel,物镜的数值孔径设定为 0.1。SLM 总的尺寸为 288 pixel×288 pixel,划分为 18×18 个相位分区,每个相位分区大小为 16 pixel×16 pixel。本课题组采用的随机散射介质包括单层及 5 层相位屏,并且相位值随机分布在 0 和 Ψ_{\max} 之间,通过改变 Ψ_{\max} 的值来调整散射强度,使其接近真实的生物样本。在每层散射介质之间假设光束为自由传输,将光波的复振幅乘以相位分布来模拟散射过程。

4 结果与分析

4.1 导引星位置及数量的选取

为了讨论需要选取的导引星的数量及位置,首先定义 SLM 上有效的校正相位区域为相位视场。校正相位与实际所加散射相位的差值称为相位残差,其结果限制在 $[-\pi, \pi]$ 范围内。为了表征校正后的波前平整度,用 η 表示相位残差的均方根误差, η 值越小,表示该视场区域内的校正效果越好。

首先测定单个导引星的共轭型自适应光学算法校正后的相位视场大小,以确定导引星分区的大致合适范围。如图 1 所示,在散射介质位置处放置单层随机相位屏,散射介质的散射系数表示

为 μ_s ,厚度表示为 L ,则 $\mu_s L$ 可以表示样本的散射强度。对于单层随机相位屏, $\mu_s L = 3.35$ 。经视场中心处单个导引星的共轭型自适应光学算法校正后,得到如图 3(a)所示的相位残差分布图,图中蓝色实线圈定的区域表示入射光束经过 SLM 时实际覆盖的区域。经计算得到在整个 SLM 区域内 η 值为 1.67,而光束实际覆盖区域内的 η 值为 0.15,因此只将该蓝色实线圈定的区域视为相位视场。由于单个导引星共轭型自适应光学算法只能校正一定视场内的波前畸变,如果需要校正更大视场内的畸变波前,就需要引入更多的导引星。

根据上述测定结果,选取 SLM 上 96 pixel×96 pixel 的方形区域作为单个导引星的有效作用区域,如图 3(a)红色虚线方框所示,因而整个 288 pixel×288 pixel 大小的 SLM 可划分成 3×3 个导引星分区,如图 3(b)红色虚线方框所示。然后,在每个导引星分区对应的视场中央附近选取合适的荧光小球作为导引星。实际上,SLM 导引星分区大小与导引星和散射介质的距离相关,距离越大,相应的导引星分区越大。可以推测,采用该分区方案结合本课题组提出的快速波前校正算法,可以得到更大范围的相位视场。依据此导引星分区结果,应用并行共轭型自适应光学算法校正后,得到了如图 3(b)所示的相位残差分布图。可以看出,全区域对应的视场范围都得到了有效校正,因此整个 SLM 区域均可视为相位视场。在全区域内 η 值为 0.36,与上述单导引星共轭型自适应光学算法校正后相位视场内的 η 值相比增大了 0.21,与全区域内的 η 值相比降低了 1.31。可见,该导引星选取方法可在校正精确度未显著降低的同时,最大化地利用整个 SLM 区域用于相位校正。后续仿真均依据该分区方案进行。

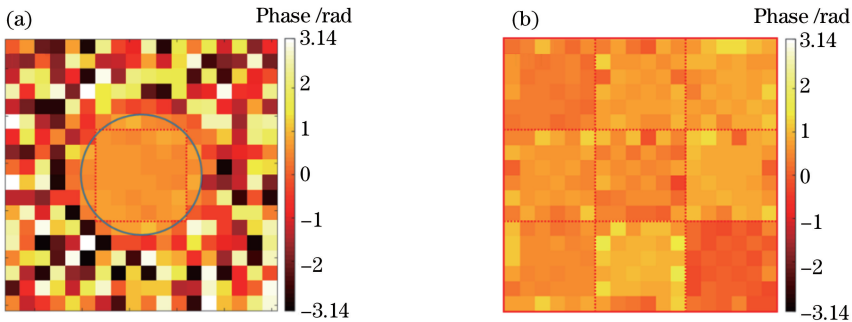


图 3 不同算法校正后的相位残差分布。(a)传统的共轭型自适应光学算法;(b)并行共轭型自适应光学算法
Fig. 3 Phase residue distributions after the correction of different algorithms. (a) Conventional conjugate adaptive optical algorithm; (b) parallel conjugate adaptive optical algorithm

4.2 透过随机相位屏的荧光成像结果仿真

为了验证并行共轭型自适应校正算法的效果,选取 5 层厚度为 $6\ \mu\text{m}$ 的随机相位屏作为散射介质,利用如图 1 所示的共聚焦显微成像系统对随机分布的直径为 $4\ \mu\text{m}$ 的荧光小球进行成像。随后运用 9 个导引星的并行共轭型自适应光学校正算法对每个导引星分区进行波前校正,在分别得到 9 个导引星分区的校正相位分布后,将其拼接起来得到完整的校正相位。之后,只需要在 SLM 上加载一次全域校正相位,便可以通过振镜的二维扫描来获得大视场的清晰荧光图像。

图 4 为不同算法校正后的荧光小球成像结果。未放置散射介质时,可以得到如图 4(a)所示的理想共聚焦荧光成像结果。放置散射介质后,未进行

自适应光学校正的散射图像由于随机相位屏引入了像差而很难分辨小球的基本形状,如图 4(b)所示。图 4(c)、(d)分别为利用传统的共轭型自适应光学算法及并行共轭型自适应光学校正算法校正后的荧光图像。根据在校正视场范围内所有位置都需具有明显校正效果的假设,通过白色虚线大致圈定圆形校正视场范围。可以看到,传统的共轭型自适应光学算法只在导引星附近具有较好的校正效果,其校正视场半径约为 $34\ \mu\text{m}$ 。而并行共轭型自适应光学算法由于获取了 9 个导引星的校正相位信息,因此校正视场的半径可以达到约 $74\ \mu\text{m}$,校正视场面积为传统共轭型自适应光学算法的 4.7 倍。图 4(a)~(d)每个图下侧分别对应放大后 $83\ \mu\text{m}\times 83\ \mu\text{m}$ 视场内的荧光图像。白色圆形虚线分别圈定校正视场

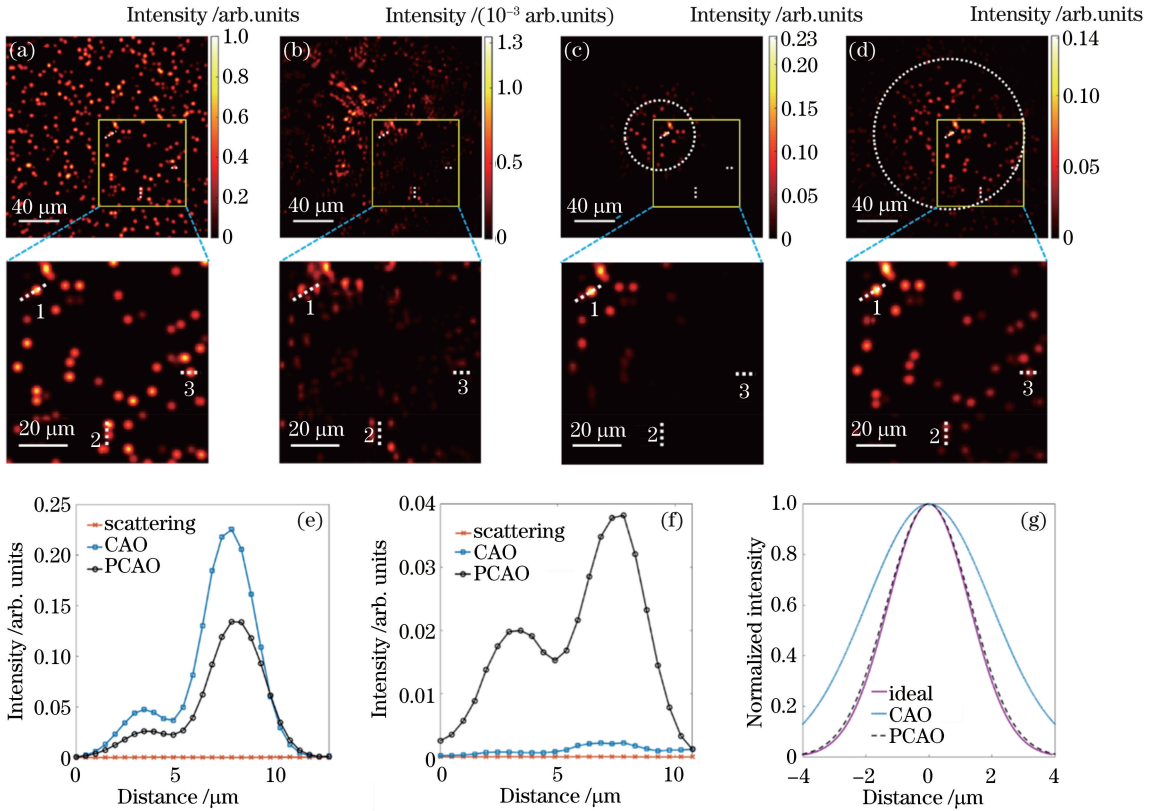


图 4 不同算法校正后 $200\ \mu\text{m}\times 200\ \mu\text{m}$ 视场内 $4\ \mu\text{m}$ 荧光小球的成像结果及其白色虚线 1、2、3 的光强分布曲线。(a)未放置散射介质时的成像结果;(b)透过随机相位屏散射后的成像结果;(c)传统共轭型自适应光学算法校正后的成像结果;(d)并行共轭型自适应光学算法校正后的成像结果;(e)虚线 1 处的光强分布曲线;(f)虚线 2 处的光强分布曲线;(g)虚线 3 处经过光强归一化和高斯拟合处理后的光强分布曲线

Fig. 4 Imaging results of fluorescent beads with diameter of $4\ \mu\text{m}$ in $200\ \mu\text{m}\times 200\ \mu\text{m}$ field of view and luminous intensity profiles along white dotted lines 1, 2, and 3 after the correction of different algorithms. (a) Imaging result without scattering medium; (b) imaging result after random phase screen scattering; (c) imaging result after correction by conventional conjugate adaptive optical algorithm; (d) imaging result corrected by parallel conjugate adaptive optical algorithm; (e) luminous intensity profile along white dotted line 1; (f) luminous intensity profile along white dotted line 2; (g) luminous intensity profile after normalized light intensity and Gaussian fitting along white dotted line 3

的大致范围。

图 4(e)~(g)分别为不同算法校正后的成像结果上沿编号为 1、2、3 的白色虚线处的光强分布。其中,图 4(g)是不同校正方法的分辨率对比图,该图经过光强归一化并高斯拟合处理(散射介质 $\mu_s L = 5.38$)。从图中可以得到理想情况下传统共轭型自适应光学和并行共轭型自适应光学算法校正后的半峰全宽(FWHM)分别为 3.03, 4.66, 3.14 μm 。从结果可以看出,在远离中心视场处,与理想情况相比,经过传统共轭型自适应光学算法校正后,FWHM 下降明显,成像分辨率较低,而采用并行共轭型自适应光学算法校正后,FWHM 仅增加了 0.11 μm ,依然具有很好的校正效果。该结果进一步证实了并行共轭型自适应光学算法校正可以带来更大视场范围内的分辨率提升。

4.3 透过生物组织的荧光成像结果仿真

为了进一步验证并行共轭型自适应校正算法对生物组织的校正效果,本课题组用 120 μm 厚的小鼠大脑组织样本代替随机相位屏作为散射介质,并用共聚焦显微成像系统对随机分布的直径为 4 μm 的荧光小球进行成像。散射介质的设置方式如图 5(a)所示,其中大脑组织切片样本的荧光图像是通过双光子显微镜(OLYMPUS BX61WI-FV1200MPE, 10 \times)拍摄的,其 Z 轴步距位移为 4 μm 。

图 5(b)展示了未放置散射介质时理想的共聚焦荧光小球成像结果。图 5(c)为经过散射介质散射但未进行自适应光学校正的荧光小球图像。可以看到,小鼠大脑组织样本光学特性的非均匀性导致散射强度不均匀分布,从而引起散射后荧光强度分布严重不均匀,以致于在部分区域无法分辨荧光小球。图 5(d)、(e)分别为经过传统的共轭型自适应光学算法及并行共轭型自适应光学算法校正后的荧光图像,可以发现,散射介质散射强度较弱区域的校正效果普遍较好。除此区域之外,单导引星共轭型自适应光学的校正效果集中于导引星周围区域,校正视场的半径约为 39 μm ,而并行共轭型自适应光学算法的校正视场半径约为 84 μm ,校正视场面积为前者的 4.6 倍。图 5(b)~(e)右侧分别对应黄色矩形框内放大后 83 $\mu\text{m} \times 83 \mu\text{m}$ 视场内的荧光图像,白色虚线分别圈定校正视场的大致范围。

图 5(f)~(h)分别是不同方法校正后在像面上沿编号为 1、2、3 的白色虚线的光强分布曲线,其中图 5(h)经过光强归一化和高斯拟合处理。散射介

质 $\mu_s L = 2.65$ 。在图 5(f)中,传统的共轭型自适应光学算法的校正效果略优于并行共轭型自适应光学算法,光强提升了 18%。实际上,在中心位置邻近的区域处,传统的共轭型自适应光学算法校正后的图像分辨率及对比度都略优于并行共轭型自适应光学算法,并行共轭型自适应光学算法以牺牲较少的中心视场处的分辨率为代价换取了更大范围的分辨率提升,因而能在更大的视场范围内清晰地分辨出荧光小球。在图 5(g)中,并行共轭型自适应光学算法的光强比传统共轭型自适应光学算法的光强提高了 34.60 倍。图 5(h)比较了两种算法校正后的图像分辨率。理想系统、并行共轭型自适应光学算法及传统共轭型自适应光学算法校正后的 FWHM 分别为 2.98, 3.04, 6.19 μm 。与传统的共轭型自适应光学算法相比,并行共轭型自适应光学算法的 FWHM 降低了 51%,且与理想系统的分辨率基本接近(只增大了 2%)。因此,在更大的视场范围内,并行共轭型自适应光学算法可以达到更高的对比度、更低的背景噪声及更高的分辨率。

5 结 论

基于共轭型自适应光学系统提出了一种多导引星的快速并行波前校正算法。大多数显微自适应光学校正系统普遍以 SLM 作为校正器件,由于其较低的刷新速率(60~300 frame/s),在利用传统的自适应光学校正算法时,无法实现大视场的快速校正成像,限制了其在活体中的应用。相较于单次校正视场范围受限的传统自适应光学算法,本课题组采用的并行共轭型自适应光学校正算法在 SLM 刷新次数保持不变的同时,可以实现多导引星光强信号变化的并行记录和相位校正。值得注意的是,与较慢的 SLM 刷新速率相比,约 250 μs 的振镜大角度响应稳定时间及 PMT 信号采集积分时间均可忽略不计,因此,并行共轭型自适应光学校正算法可在校正时间几乎不变的条件下,完成对更大视场范围内波前畸变的校正。为了验证校正效果,采用 9 个导引星分区方案,分别对使用随机相位屏和小鼠大脑组织作为散射介质的情况进行讨论,结果表明:相比于传统共轭型自适应光学校正算法,并行共轭型自适应光学校正算法的有效校正视场面积分别提升了 3.7 倍和 3.6 倍。可以预料出,导引星选取数量的增加可以有助于校正视场范围的进一步提升,从而大大减少像差计算和补偿的时间,为生物组织深处高速高分辨成像提供一种可行的参考方案。在未来对

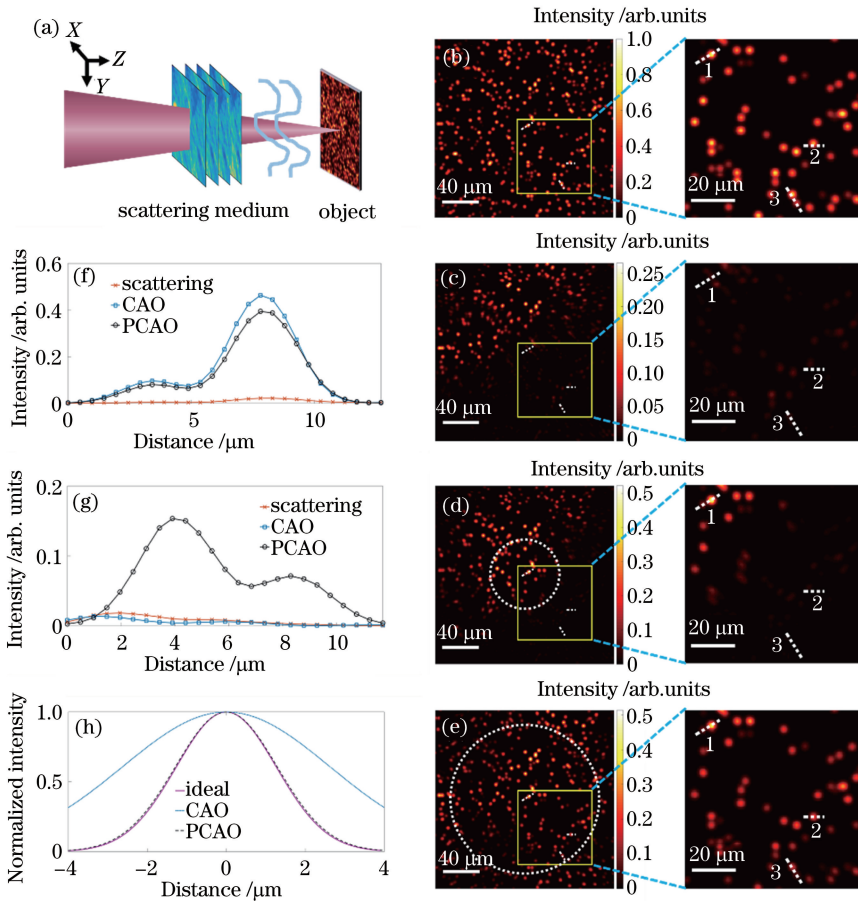


图 5 散射介质设置原理图、不同算法校正后 $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ 的视场内直径为 $4\ \mu\text{m}$ 的荧光小球的成像结果及其白色虚线处的光强分布。(a) 散射介质设置原理图; (b) 未放置散射介质时的成像结果; (c) 透过小鼠大脑切片散射后的成像结果; (d) 传统共轭型自适应光学算法校正后的成像结果; (e) 并行共轭型自适应光学算法校正后的成像结果; (f) 虚线 1 处的光强分布曲线; (g) 虚线 2 处的光强分布曲线; (h) 虚线 3 处经过光强归一化和高斯拟合处理后的光强分布曲线

Fig. 5 Schematic of scattering medium configuration, imaging results of fluorescent beads with diameter of $4\ \mu\text{m}$ in $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ field of view, and luminous intensity profiles along white dotted lines after the correction of different algorithms. (a) Schematic of scattering medium configuration; (b) imaging result without scattering medium; (c) imaging result after mouse brain slice scattering; (d) imaging result corrected by conventional conjugate adaptive optical algorithm; (e) imaging result corrected by parallel conjugate adaptive optical algorithm; (f) luminous intensity profile along white dotted line 1; (g) luminous intensity profile along white dotted line 2; (h) luminous intensity profile after normalized light intensity and Gaussian fitting along white dotted line 3

动态对象进行成像时,可用多像素可变形镜替换SLM来实现实时像差校正,文中的并行校正算法仍然可以用于可变形镜上,以缩短校正过程所需的时间。可见,本课题组提出的并行共轭型自适应光学校正算法有望应用于活体深层组织的实时像差校正,实现大视野内清晰的活体生物成像,对于神经科学研究具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Betzig E, Trautman J K. Near-field optics: microscopy, spectroscopy, and surface modification beyond the diffraction limit [J]. Science, 1992, 257

(5067): 189-195.

[2] Helmchen F, Denk W. Deep tissue two-photon microscopy [J]. Nature Methods, 2005, 2(12): 932-940.
 [3] Ahrens M B, Orger M B, Robson D N, *et al.* Whole-brain functional imaging at cellular resolution using light-sheet microscopy [J]. Nature Methods, 2013, 10(5): 413-420.
 [4] Babcock H W. The possibility of compensating astronomical seeing [J]. Publications of the Astronomical Society of the Pacific, 1953, 65(386): 229.
 [5] Rao C H, Jiang W H, Ling N, *et al.* Temporal

- correction effectiveness of adaptive optical system for light wave atmospheric propagation[J]. *Acta Optica Sinica*, 2001, 21(8): 933-938.
- 饶长辉, 姜文汉, 凌宁, 等. 自适应光学系统对实际大气湍流波前的时域校正效果[J]. *光学学报*, 2001, 21(8): 933-938.
- [6] Jiang W H, Zhang Y D, Rao C H, *et al.* Progress on adaptive optics of institute of optics and electronics, Chinese Academy of Sciences[J]. *Acta Optica Sinica*, 2011, 31(9): 0900106.
- 姜文汉, 张雨东, 饶长辉, 等. 中国科学院光电技术研究所的自适应光学研究进展[J]. *光学学报*, 2011, 31(9): 0900106.
- [7] Liang J Z, Williams D R, Miller D T. Supernormal vision and high-resolution retinal imaging through adaptive optics[J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 1997, 14(11): 2884-2892.
- [8] Tan Z J, Xie J, Lu J, *et al.* High spatial resolution confocal microscopy using adaptive optics[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2012, 49(9): 090002.
- 谭佐军, 谢静, 卢军, 等. 自适应光学高分辨率共聚焦显微成像技术[J]. *激光与光电子学进展*, 2012, 49(9): 090002.
- [9] Booth M J. Adaptive optical microscopy: the ongoing quest for a perfect image [J]. *Light: Science & Applications*, 2014, 3(4): e165.
- [10] Wang C, Ji N. Characterization and improvement of three-dimensional imaging performance of GRIN-lens-based two-photon fluorescence endomicroscopes with adaptive optics [J]. *Optics Express*, 2013, 21(22): 27142-27154.
- [11] Wang K, Milkie D E, Saxena A, *et al.* Rapid adaptive optical recovery of optimal resolution over large volumes [J]. *Nature Methods*, 2014, 11(6): 625-628.
- [12] Wang C, Liu R, Milkie D E, *et al.* Multiplexed aberration measurement for deep tissue imaging *in vivo* [J]. *Nature Methods*, 2014, 11(10): 1037-1040.
- [13] Li J, Beaulieu D R, Paudel H, *et al.* Conjugate adaptive optics in widefield microscopy with an extended-source wavefront sensor[J]. *Optica*, 2015, 2(8): 682-688.
- [14] Mertz J, Paudel H, Bifano T G. Field of view advantage of conjugate adaptive optics in microscopy applications [J]. *Applied Optics*, 2015, 54(11): 3498-3506.
- [15] Park J H, Sun W, Cui M. High-resolution *in vivo* imaging of mouse brain through the intact skull[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(30): 9236-9241.
- [16] Wu T W, Cui M. Numerical study of multi-conjugate large areawavefront correction for deep tissue microscopy[J]. *Optics Express*, 2015, 23(6): 7463-7470.
- [17] Cui M. Parallel wavefront optimization method for focusing light through random scattering media[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(6): 870-872.
- [18] Liu R, Milkie D E, Kerlin A, *et al.* Direct phase measurement in zonal wavefront reconstruction using multidither coherent optical adaptive technique [J]. *Optics Express*, 2014, 22(2): 1619-1628.
- [19] Si K, Fiolka R, Cui M. Fluorescence imaging beyond the ballistic regime by ultrasound-pulse-guided digital phase conjugation [J]. *Nature Photonics*, 2012, 6(10): 657-661.
- [20] Si K, Reto F, Cui M. Breaking the spatial resolution barrier via iterative sound-light interaction in deep tissue microscopy [J]. *Scientific Reports*, 2012, 2(10): 748.