

基于空间光调制器的光学显微成像技术

杜艳丽 马凤英 弓巧侠 郭茂田 梁二军

郑州大学物理工程学院, 河南 郑州 450001

摘要 空间光调制器(SLM)是一种对光波的光场分布进行调制的元件。它广泛应用于光信息处理、光束变换和输出显示等诸多应用领域。随着高分辨率空间光调制器在光学显微成像系统中的应用,大大提高了显微振幅和相位样品显微成像的分辨率和对比度,不仅能够实现各种传统的相位显微技术,而且能够灵活地以更复杂的相位调制方式实现新的显微成像。在光学显微系统中,SLM不仅用以控制样品照明光束,同时能作为空间傅里叶滤波器用于成像光路,综述了SLM在光学显微系统中的多种灵活应用。

关键词 成像系统;空间光调制器;液晶;显微成像;相位衬比度;螺旋相位滤波器

中图分类号 O438 **文献标识码** A **doi:** 10.3788/LOP51.020002

Optical Microscopic Imaging Technology Based on Spatial Light Modulator

Du Yanli Ma Fengying Gong Qiaoxia Guo Maotian Liang Erjun

School of Physical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450001, China

Abstract Spatial light modulator (SLM) is a kind of optical modulating elements for the optical field distribution. It is widely used in optical information processing, beam transformation, output display and many other application fields. With the wide applications of high-resolution SLMs, the microscopic imaging resolution and contrast of phase and amplitude samples are enhanced greatly, which can not only achieve traditional phase microscopic techniques, but also achieve new type microscopic imaging with a more complicated way and flexibility to modulate phase. In microscopy SLM can not only be used to control the sample illumination, but also act as spatial Fourier filters in the imaging path. Some of these flexible applications are reviewed in this article.

Key words imaging systems; spatial light modulator; liquid crystal; microscopic imaging; phase contrast; spiral phase filter

OCIS codes 110.0180; 070.6110; 070.6120; 090.1995; 100.6890; 180.6900

1 引言

自从17世纪列文虎克的光学显微镜发明以来,光学成像技术极大地推动了人类文明的进程,使人类的观察视野延伸到极端的微观世界,迄今为止,它仍是一个非常活跃的研究领域。看得更细、更清楚一直是人们不断追求的目标,因此各种技术层出不穷以提高光学显微成像系统的分辨率和图像衬比度。

由于光的波动性,最大可达到的光学分辨率约为200 nm,即光学衍射极限或阿贝极限。为了突破该极限,最早通过减小波长的电子显微镜实现亚纳米水平的空间分辨率,该技术被用来观察生物细胞内的亚细胞结构,但不能研究活体细胞,即使对冷冻细胞其穿透深度也极其有限。只有光学显微手段才有可能进行活细胞三维成像,因此寻求突破衍射极限限制的分辨率成了光学显微成像技术发展的一个必然方向。根据突破衍射极限的方法所利用的渠道可分为近场和远场的超分辨成像方法。近场的超衍射极限分辨成像方法就是利用只存在于近场的倏逝波来实现超分辨,具体方法包括全内反射荧光显微^[1-3]、近场扫描显微镜(SNOM)^[3-6]和超透镜^[7-9]。远场超衍射极限分辨成像包括荧光和非荧光显微成像。非荧光远场超衍射极限分辨成像相关研究较少,目前研究主要集中在荧光远场超衍射极限分辨成像,如利用激光非线性效应的受

收稿日期: 2013-10-15; 收到修改稿日期: 2013-10-18; 网络出版日期: 2014-01-20

基金项目: 郑州市科技局项目(121ppTGG360-7)

作者简介: 杜艳丽(1979—),女,博士,副教授,主要从事数字全息、三维成像、光电检测等方面研究。

E-mail: duyanli@zzu.edu.cn

激跃迁激发耗尽(STED)技术就是远场荧光纳米成像突破衍射极限分辨的开始^[10-12]。

光学显微技术发展的另一方向是提高图像衬比度。许多生物样品属于相位型,光波通过后通常相位改变,而波长和振幅变化不大。因此利用普通显微镜观察时,由于成像对比度不高,人眼很难分辨样品细节。据此,一系列基于干涉、滤波、相衬和微分方法的新型光学显微技术相继出现,用于相位物体的成像与观测。主要有 Zernike 相衬显微^[13-14]、微分干涉显微(DIC)^[15-16]、荧光显微^[17-18]等。相衬显微方法需要改变物镜结构,且成像伴有晕轮和渐暗现象,要求由物体厚度不同引起的相位改变要远小于 2π 等。而 DIC 需要采用两个 Wollaston 棱镜形成干涉的偏振光束,不适合双折射样品的观察,成像时会产生伪像。两者均不能实现定量的相位测量和重现。而荧光方法则不能观察那些本身不发出荧光的活体生物样品,应用范围受到限制。

近年来,光学和光电子学中的空间光调制器(SLM)作为一种对光波的光场分布进行调制的元件,相关研究和应用迅速发展。SLM 能实时地在空间上调制光束,使其成为光电混合系统中开展光学检测、图像处理、光计算、模式识别、光学相关、光学控制、显示技术等应用的基本构件和关键器件。

SLM 最初是开发用作视频投影的显示设备的,最近被用于光学显微系统中控制系统成像性能。本文综述了 SLM 在显微镜系统中的典型作用,主要表现为三个方面:1)在照明光路中作为一个衍射光学元件(DOE)整形照明光束,以获得灵活复杂的照明模式或动态可控的照明光源;2)作为滤波器用于成像光路可提高成像分辨率和衬比度;3)两者结合,照明图案与傅里叶滤波匹配,产生新的显微系统模式。

2 光学显微系统中的 SLM

2.1 SLM 工作原理

在常用的 SLM 中,液晶 SLM(LCSLM)具有制作简单、价格低、耗能低、易控制、易制成二维器件且易构成并行光学信息处理器件等优点,相关研究和应用备受关注,本文所涉及的 SLM 就以 LCSLM 为例。LCSLM 又称光学快门阵列(OSA),它将液晶层作为光调制材料,采用向列型液晶的混合场效应工作模式,在液晶层上各区域施加不同的电场,可以引起液晶分子排列方向和位置的变化,从而导致其光学性质的变化,实现对光信号的相位和振幅的调制。图 1 所示为德国 Holoeye 公司的型号为 Pluto-VIS 的 LCSLM 及其工作原理。

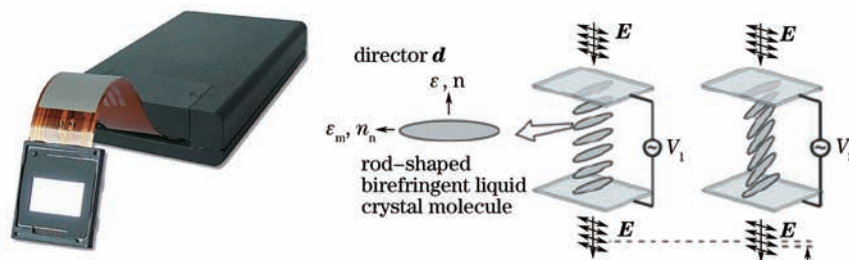


图 1 Holoeye 液晶 SLM Pluto-VIS 及其工作原理

Fig.1 Photograph and principle of a Pluto-VIS LCSLM panel from Holoeye Photonics AG

2.2 SLM 用于照明光路

采用 SLM 进行光束整形是利用了 SLM 的相位调制特性,结合扩束准直、空间滤波、CCD 采集以及实时控制等多种方法来实现。计算机实时地向 SLM 输入相位编码,从而驱动 SLM 对入射光束进行调制,在空间光束整形和色散补偿上已有应用^[19-21]。如图 2 所示为基于 SLM 的飞秒脉冲整形实验光路^[22]。理论和实验研究表明,采用 LCSLM 能够实现纯振幅或纯相位的调制,可方便地进行激光束的实时、可控光束空间整形,获得所需形状(如方形、圆形等几何形状)的近“平顶”光强分布的近场光束,如图 3 所示。

照明光路中的 SLM 作为 DOE,不仅能够整形单个光点,也可在不同的焦平面上整形大量的聚焦点。通过改变 SLM 上闪耀光栅的光栅常数和方向来实现光斑的横向位移,若同时叠加一个菲涅耳透镜则能够控制光斑的轴向位置,通过算法实现复杂的相息图,高效控制样品中照明场的三维空间分布^[23]。同时,利用 SLM 改变焦点的能力可以实现荧光探针扫描,目前利用 SLM 的共轭照明和检测,实现了一种能够进行光学切片的可编程荧光显微镜^[24]。

在宽视场荧光显微镜系统中,利用 SLM 产生结构光照明样品增加宽视场显微镜的横向和轴向分辨率^[25]。采用结构光照明时,可改变样品上投射光的倾斜角度、光栅常数或光栅取向,测量条纹的变形来获得微观表面

形貌^[26]。而最近的研究表明,结构化照明结合非线性光学效应可以产生理论上无限高的分辨率^[11],所有结构光都可以利用SLM灵活实现,而不需机械运动部件产生所需相移^[27-29]。

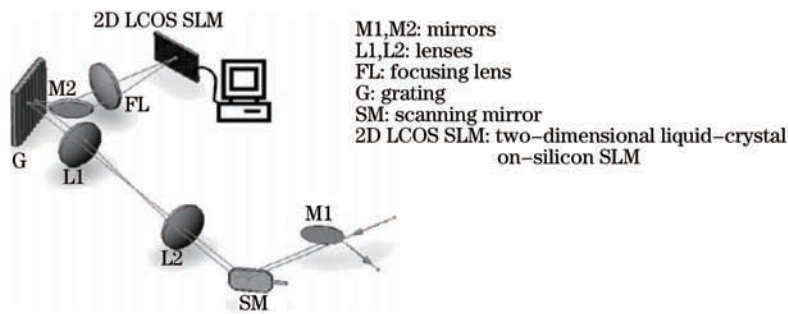


图2 飞秒脉冲整形实验光路

Fig.2 Experimental setup of femtosecond optical pulse shaping

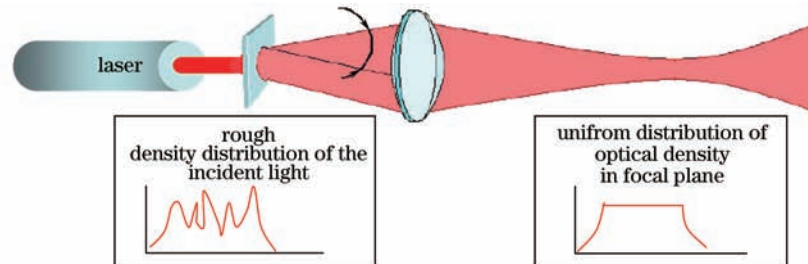


图3 激光束整形效果图

Fig.3 Effect of laser beam shaping

2.3 SLM用于成像光路

傅里叶光学中显微物镜可以看作光学傅里叶变换器,则SLM放置其后可以直接调制物光波的空间频率,即进行傅里叶滤波,实现增强显微图像衬比度的目的。

2.3.1 光路结构

SLM放置于显微成像光路中可分同轴和离轴两种光路结构。便于分析,给出最简单的同轴光路模式如图4所示,即通常的 $4f$ 系统中位置放置一个透射式SLM^[30]。平行入射光场经物面发生衍射,形成频谱;通过SLM形成不同类型的滤波器在频谱面上进行滤波,则可以改变成像光路,进而改变物体像。

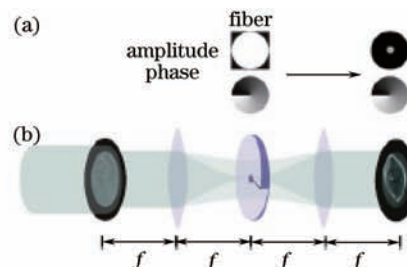


图4 基于透射式SLM傅里叶滤波的同轴光路结构

Fig.4 Schematic setup for the on-axis Fourier filtering with a transmissive SLM

实际的显微系统应用中,由于反射型SLM光效高,多采用离轴的光路模式,如图5所示。样品的频谱通过物镜成像在后焦面的SLM上进行相位调制,即傅里叶滤波,为了保证衍射光中的零级和一级衍射完全分离,在SLM的调制内容中添加一个闪耀光栅,经SLM调制后一级衍射光成像。但这种离轴模式通常有较高的空间光路要求,若系统没有色散补偿元件,则需要准单色光源^[31]。最近已有利用白光光源的离轴系统实现了相位或振幅物体的多色显微成像^[32]。

2.3.2 SLM作为传统傅里叶滤波器

传统的提高相位衬比度的方法,如Zernike相衬和DIC技术均是通过改动零级频谱分量的振幅或相位,实现幅相转换,获得暗场或相衬显微图像。如果成像光路中采用SLM,能够更加灵活地变换SLM掩模形式对样品频谱进行相应的相位变换,实现同样的效果。图6所示分别为基于图5的离轴模式实现的染色体亮

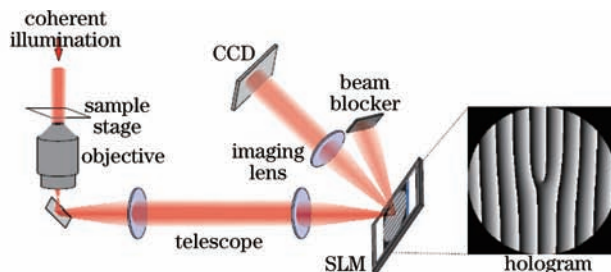


图5 基于反射式SLM傅里叶滤波的离轴光路结构

Fig.5 Schematic setup for the off-axis Fourier filtering with a reflective SLM

场、暗场和相衬显微图像及对应的SLM相位掩模。图6(a)显示,如果SLM相位掩模只是普通的闪耀光栅,频谱不变,单纯将光束衍射至成像系统获得的亮场图像衬比度低。图6(b)中将闪耀光栅中心小的圆形区域吸收,此时零级分量被滤除,显微图像为黑暗背景下的明亮结构,即暗场图像,衬比度很高。图6(c)为闪耀光栅中心小的圆形区域有 $\pi/2$ 的相对相移,则零级傅里叶分量与其他衍射光干涉,在不损失入射光的情况下实现相幅转换,形成相衬图像。

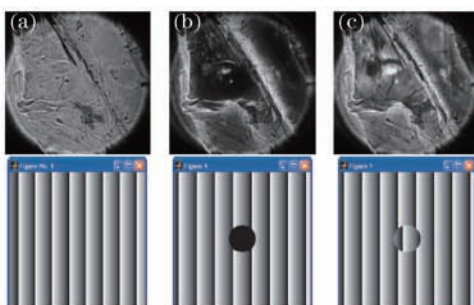


图6 基于SLM的浸油云母片傅里叶滤波图像。(a)亮场;(b)暗场;(c)相衬

Fig.6 Emulation of classical Fourier filters. (a) Bright field; (b) dark field and (c) phase contrast images of mica fragment dispersed in immersion oil

基于SLM滤波也可以实现微分干涉显微成像^[33]。该系统不需要传统DIC中的两个Wollaston棱镜,而是通过控制SLM上的相位掩模实时控制两束成像相干光的方向、夹角和相位差,操作方便。也可灵活改变SLM进行多次相位调制,实现定量测量和动态DIC显微成像^[34]。图7为基于SLM滤波的DIC显微图像。

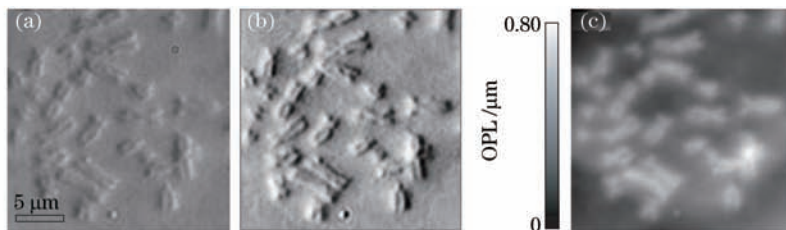


图7 基于SLM滤波的染色体DIC显微图像。(a) DIC图像;(b)重现的水平相位梯度;(c)由相位梯度计算的光程差

Fig.7 SLM-DIC measurements of chromosomes. (a) A sample DIC image; (b) recovered horizontal phase gradient;

(c) optical path length difference (OPD) obtained from the gradients

2.3.3 SLM作为螺旋相位滤波器

采用高分辨率的LCSLM,还能实现更为复杂的滤波器,如螺旋相位滤波器或光学旋涡滤波器。光学旋涡是一种具有连续螺旋相位波前和确定轨道角动量的特殊光场^[35],其螺旋相位中心的光强为零,中心相位无法确定,光学旋涡中心的奇异性能够有效地将入射光散射使其远离中心。采用螺旋相位滤波器对光学图像进行滤波对应于进行广义的希尔伯特变换,能够得到振幅型物体^[36]和相位型物体^[37]的等方向性边缘增强图像^[38]。在此基础上,若将滤波器原本不透光的吸收中心改为了透射中心,可以得到与DIC类似的三维浮雕成像效果,且同样对相位梯度变化敏感,与DIC不同的是螺旋相衬法无需考虑样本双折射的影响^[39]。

1) 等方向性边缘增强。

螺旋相位滤波器的透射率函数可以表示为 $T(x,y)=\exp(i\Phi)$,其中 Φ 为旋转方位角。将该滤波器引入

到图像波的傅里叶频谱面,滤波后像平面的复振幅分布为

$$E(x,y) = O(x,y) * F\{\exp(i\phi)\} = O(x,y) * i \frac{\exp(i\phi)}{2\pi r^2} = \int_{-\infty}^{\infty} d\bar{x}d\bar{y} O(x-\bar{x},y-\bar{y}) i \frac{\exp(i\phi)}{2\pi \bar{r}^2}, \quad (1)$$

式中,物体透射率函数为 $O(x,y)$, $r = \sqrt{x^2 + y^2}$, $\phi = \arctan(y/x)$ 为极坐标。 r, ϕ 和 $\bar{r}, \bar{\phi}$ 分别在垂直于光轴的 SLM 平面和 CCD 平面。图 8 给出了同轴和离轴光路模式下螺旋相位滤波器相位掩模效果图,其中图 8(a1), (a2) 为中心不透光时的相位掩模,图 8(b1), (b2) 为中心均匀相位透射的相位掩模。

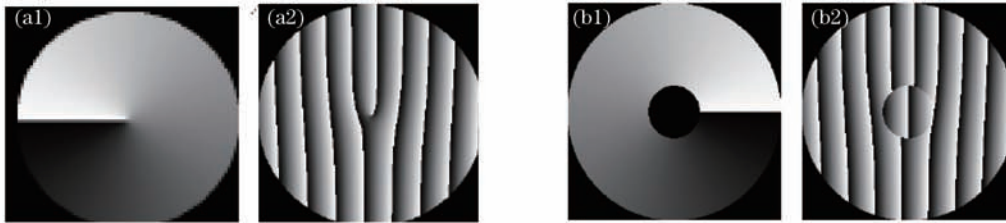


图 8 同轴 (a1), (b1) 和离轴 (a2), (b2) 光路下的螺旋相位滤波器相位掩模。(a1), (a2) 中心不透光; (b1), (b2) 中心均匀相位透射
Fig.8 On-axis (a1), (b1) and off-axis (a2), (b2) spiral phase filters. (a1), (a2) No transmission in the central region; (b1), (b2) a uniform transmissive phase filter in the central region

当相位掩模为中心不透光时,沿螺旋相位滤波器任意直径方向都会有一个 $n\pi$ 的相位差,因此,沿任意穿过滤波器中心的直线方向都等价于一个一维的希尔伯特变换,其结果是让沿样品边缘的光场等方向增强。在离轴的螺旋相位滤波系统中,SLM 的相位掩模叠加上闪耀光栅后中心出现叉形结构分布,如图 8(a1), (a2) 所示,则于中央位置的零级傅里叶分量被散射掉,形成类似暗场的边缘增强图像。图 9 为相同样品分别在亮场和螺旋相位滤波情况下成像的比较。

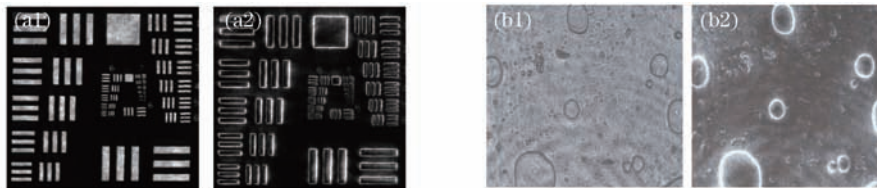


图 9 亮场 (a1), (b1) 与螺旋相位滤波显微等方向边缘增强图像 (a2), (b2) 比较。(a1), (a2) 吸收分辨率目标; (b1), (b2) 在水中浸泡的油滴

Fig.9 Comparison between imaging using bright field (a1), (b1) and spiral phase contrast (a2), (b2). (a1), (a2) Absorptive resolution target; (b1), (b2) drops of immersion oil in water

2) 虚拟立体图像。

若改变 SLM 滤波器相位掩模,将原本不透光的吸收中心改为均匀相位的透射中心,如图 8(b) 所示,则螺旋相位滤波器的旋转对称性被破坏,中心零级分量不能被散射出去,而和其余的衍射光波相干涉,成像结果具有与 DIC 类似的三维浮雕效果,有一定的立体感。图 10 为在离轴模式下,染色体、血细胞和生物酶的虚拟立体显微图像^[40],高分辨率显微图像的整体视场中阴影效果明显可见。

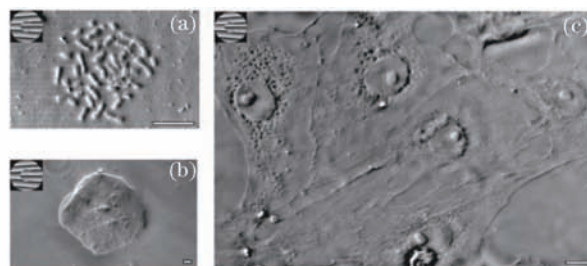


图 10 螺旋相位滤波显微的虚拟立体图像。(a) 染色体; (b) 血细胞; (c) 生物酶

Fig.10 Spiral phase contrast filtering with relief effect. (a) Chromosomes; (b) cheek cell; (c) bio-enzyme

3) 定量图像重建。

很多实现对比度增强的光学显微技术如 DIC 和霍夫曼调制相衬(HMC)已广泛应用于相位样品的研究。但这些技术不能从显微图像中提取量化的相位信息。而已有的显微定量测量光学方法包括定量相位

显微镜(QPM)^[41-43]和数字全息显微镜(DHMS)^[44-45]。基于SLM的傅里叶滤波方法则能够根据图像相位变化定量地确定样品的光学厚度,具有亚波长的轴向分辨率^[46-49]。

定量测量的原理基于共光路干涉,输入光波中未被调制的零级傅里叶分量作为参考波沿着同样的光路与剩余的调制后的成像波干涉叠加。至少改变三次中心像素的相位记录不同的显微图像,获得复杂样品的定量的振幅和相位信息。图11给出了颊细胞的螺旋相位滤波显微图像,三个不同相位记录的图像经过相应的数字处理,可以获得图像定量的强度透射像和相位轮廓图;图中还给出了重建后的相位剖面图。

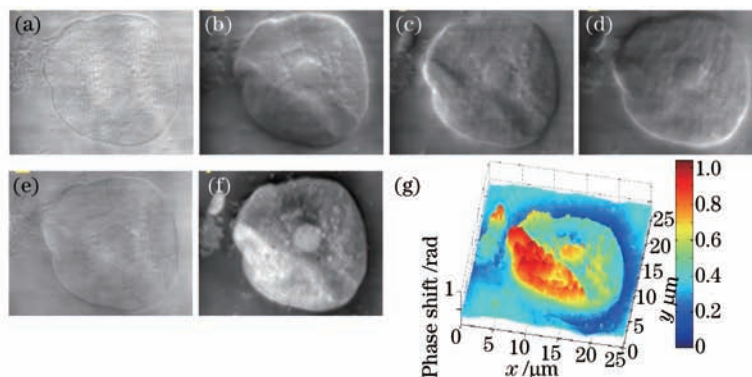


图11 颊细胞的螺旋相位滤波显微图像。(a)亮场;(b)~(d)相位分别为 0 , $2\pi/3$ 和 $4\pi/3$ 时的阴影效果图像;(e)~(f)数字处理后样品的强度透射像和相位轮廓;(g)表面相位剖面图

Fig.11 Spiral phase imaging of a cheek cell. (a) Bright-field image; (b)~(d) three shadow-effect images recorded at spiral phase plate angles of 0 , $2\pi/3$ and $4\pi/3$, respectively; (e)~(f) numerically processed intensity transmission and phase profile images of the sample; (g) surface plot of the phase profile

4) 螺旋干涉图样。

SLM添加了螺旋相位调制内容后,螺旋条纹图样的对称性被其旋转方向打破,传统显微中共路干涉的闭合曲线干涉图样,变为螺旋状的开环干涉条纹,旋转方向则包含相位形貌信息,据此可以判断样品形貌的上升或凹陷。图12给出了夹在两个盖玻片之间的浸油中包括气泡,传统干涉不能区分空气泡和油气泡的干涉图样。而根据螺旋干涉条纹的旋转方向区分则一目了然。由螺旋干涉条纹还可以获得纯相位样品的定量形貌信息并进行三维重建。图13所示为局部加热的约 $500\mu\text{m}$ 范围变形的胶带传统干涉图样和螺旋干涉图样,同时给出了数值处理的轮廓线和重建后的三维形貌。

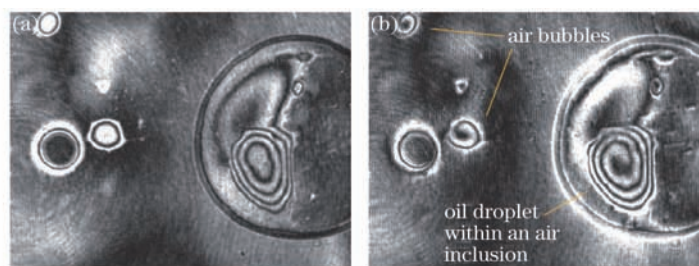


图12 油滴的两种干涉图样。(a)传统干涉图样;(b)螺旋干涉图样

Fig.12 Immersion oil with included air bubbles. (a) Classical interferogram; (b) spiral interferogram

近年来,利用螺旋相位滤波结合其他显微成像技术,形成了多种模式的光学显微成像系统。如将螺旋相称技术用于高分辨率STED显微系统,系统无需添加光学元件,能够同时实现宽场和扫描两种模式成像,能够对荧光标记纳米结构的固定样本和活体细胞超分辨率成像,同时由于引入了螺旋相衬技术实现了高的光学衬比度。实验结果对荧光蛋白成像分辨率达到 80nm ,用有机染料成像分辨率甚至优于 50nm ^[50]。此外,结合数字全息显微技术,可形成基于SLM的多模式立体显微镜系统^[51],该系统采用立体照明,基于SLM多滤波器[如可同时采用相衬、螺旋相位、双螺旋点扩展函数、空间光干涉显微(SLIM)滤波器、Gabor滤波器等]兼容实现多模式立体显微成像,达到扩展景深的目的,适用于弱散射物体成像,同时能够进行粒子追踪。系统结构如图14所示。

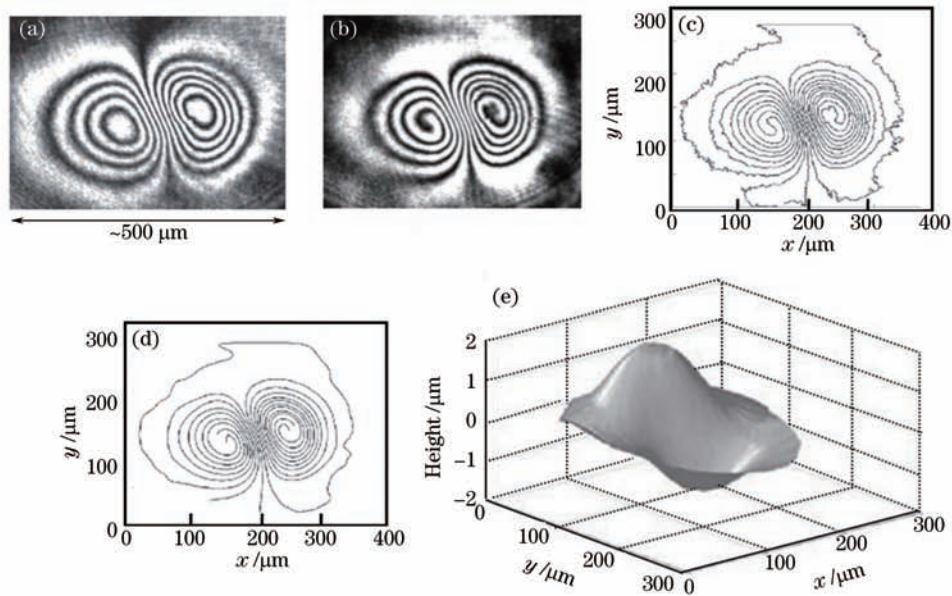


图 13 加热变形胶带的两种干涉图样与数值重建。(a) 传统干涉图样; (b) 螺旋干涉图样; (c), (d) 两种干涉图样数值处理的轮廓线; (e) 重建后的三维形貌

Fig.13 One-image demodulation of a heat-induced deformation in a glue strip. (a) Classical closed-fringe interferogram; (b) spiral interferogram; (c), (d) single contour lines of raw data and data after preprocessing, respectively; (e) reconstructed three-dimensional shape

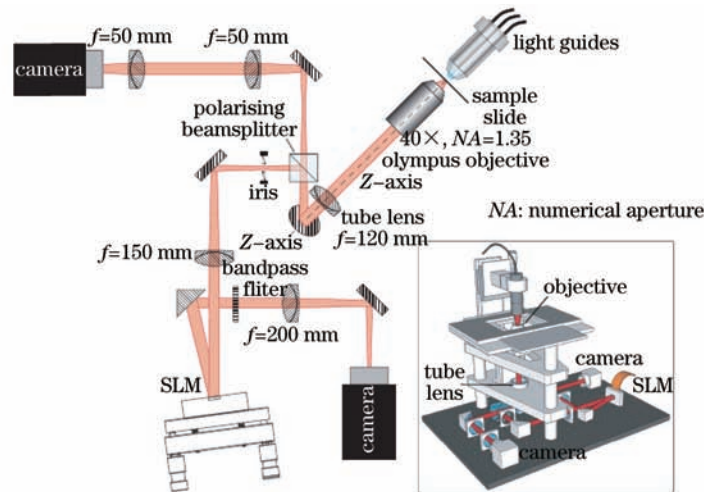


图 14 基于 SLM 的多模式立体显微镜系统结构

Fig.14 Configuration of multi-modal stereo microscope based on a SLM

图 15 给出了三个悬浮在光刻胶上的 $5 \mu\text{m}$ 二氧化硅微球的多滤波器模式成像结果。图 15(a)~(c)分别为双螺旋、离焦和暗场时的 SLM 掩模形式,图 15(d)为三种掩膜叠加到 SLM 后的显示结果,图 15(e)给出了最终的成像结果,分别对应双螺旋图像(左上),非衍射零级图像(中心),暗场图像(右边)和离焦图像(左下)。

2.4 SLM 同时用于照明和成像光路

这种方式中,照明光路中的第一个 SLM 产生所需的照明图案可以精确匹配成像光路中的第二个 SLM 上所需的傅里叶滤波器^[62]。如图 16 所示,通过在照明光路和成像光路中使用一对 SLM 实现光束整形和滤波成像。激光束照射 SLM₁, SLM₁ 上显示为预先设计的全息图,通过透镜 L 将相应的强度模式投影到旋转扩散板 D,利用聚光透镜 C 引导散射光照明样品 S。物镜 O 接收成像光波到 SLM₂,作为空间滤波器的 SLM₂ 放置在样品 S 的傅里叶频谱面上,同时也是旋转扩散板 D 的清晰像面。则 SLM₁ 上的全息图在 D 上产生的照明图案在 SLM₂ 上成像,通过特定的滤波器进行空间滤波后可在 CCD 上得到相应的图像。

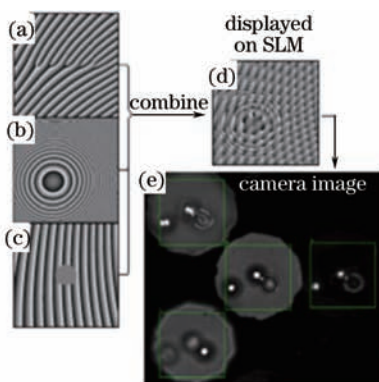


图 15 三个悬浮在光刻胶上的 $5\ \mu\text{m}$ 二氧化硅微球的多滤波器模式成像结果
Fig.15 Images of three $5\ \mu\text{m}$ silica spheres suspended in optical adhesive

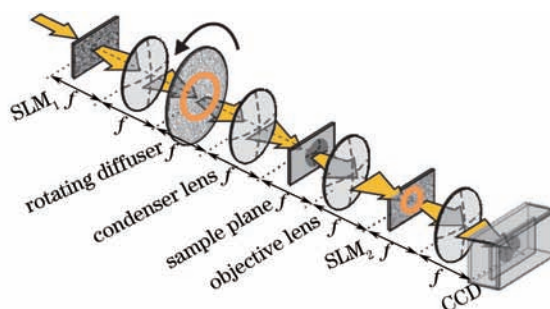


图 16 双 SLM 分别用于照明和成像光路

Fig.16 Double-SLM setup for matched illumination tailoring and subsequent spatial Fourier filtering.

若利用以上系统实现 Zernike 相衬成像,照明光源为一个光点,可通过 SLM_1 上的全息图在 D 上投影环形的强度分布,转换为样品平面中均匀的照明场,进而利用 SLM_2 的环形相位图案对中心的零级傅里叶分量产生相移,实现相位衬比图像。和传统的 Zernike 显微系统相比,环形光阑被 SLM_1 上的全息图取代,相位板被 SLM_2 上显示的环形相位图案取代,则可以方便地调节 SLM_1 和 SLM_2 上的显示内容实现不同相位衬比间的转换,而不需改变硬件组件如环形光阑或相位板,调节方便,系统紧凑。

双 SLM 系统通过照明和空间滤波间的匹配,未来还可能扩展到其他应用领域,如衍射层析成像、定量成像和干涉测量系统中,可以设想干涉仪中使用第一个 SLM 作为分束器,第二个 SLM 作为合束器构成干涉光路结构。

3 结束语

利用 SLM 良好的相位调制特性,几乎能够实现所有传统的光学衬比显微技术,同时不需要对硬件组件进行大的改动,只用合适的 SLM 实现相应的照明图像或滤波器掩模即可,灵活实现的收益远超过设计系统成本的增加。同时,基于 SLM 的显微系统也实现了一些新的纯光学模式的衬比度增强技术,如螺旋相位滤波,能够实现定量测量和动态显示,能够适应超精密加工、纳米技术、微机电系统等都对微纳尺度的三维表面形貌测量要求,同时为活体生物和细胞形貌等相关研究提供了更丰富、更全面的样品信息。随着 SLM 自身性能的提高以及与其他技术手段的不断结合,SLM 将会有更灵活、更广泛的应用。

参考文献

- 1 D Axelrod. Cell-substrate contacts illuminated by total internal reflection fluorescence[J]. J Cell Biol, 1981, 89(1): 141-145.
- 2 Olga Gliko, Gaddum D Reddy, Bahman Anvari, *et al.*. Standing wave total internal reflection fluorescence microscopy to measure the size of nanostructures in living cells[J]. J Biomed Opt, 2006, 11(6): 0640131.
- 3 Peter Kner, Bryant B Chhun, Erie R Griffis, *et al.*. Super-resolution video microscopy of live cells by structured illumination[J]. Nature Methods, 2009, 6(5): 339-342.
- 4 A Rasmussen, V Deckert. New dimension in nanoimaging: breaking through the diffraction limit with scanning near-field optical microscopy[J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 381(1): 165-172.

- 5 Eric Betzig, Jay K Trautman. Near-field optics: microscopy, spectroscopy, and surface modification beyond the diffraction limit[J]. *Science*, 1992, 257(5067): 189–195.
- 6 Reddick R C, Warmack R J, Chilcott, D W, *et al.*. Photon scanning tunneling microscopy[J]. *Rev Sci Instrum*, 1990, 61(12): 3669–3677.
- 7 J B Pendry. Negative refraction makes a perfect lens[J]. *Phys Rev Lett*, 2000, 85(18): 3966–3969.
- 8 Zhaowei Liu, Stephane Durant, Hyesog Lee, *et al.*. Far-field optical superlens[J]. *Nano Lett*, 2007, 7(2): 403–408.
- 9 Zhaowei Liu, Stephane Durant, Hyesog Lee, *et al.*. Experimental studies of far-field superlens for sub-diffractive optical imaging[J]. *Opt Exp*, 2007, 5(11): 6947–6954.
- 10 Klar T A, Jakobs S, Dyba M, *et al.*. Fluorescence microscopy with diffraction resolution limit broken by stimulated emission[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2000, 97(15): 8206–8210.
- 11 Mats G L Gustafsson. Nonlinear structured-illumination microscopy: wide-field fluorescence imaging with theoretically unlimited resolution[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(37): 13081–13086.
- 12 B Hein, K I Willig, S W Hell. Stimulated emission depletion (STED) nanoscopy of a fluorescent protein-labeled organelle inside a living cell[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2008, 105(38): 14271–14276.
- 13 F Zernike. Diffraction theory of the knife-edge test and its improved form, the phase-contrast method[J]. *Mon Not R Astron Soc*, 1934, 94(5): 377–384.
- 14 F Zernike. Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects[J]. *Physica*, 1942, 9(10): 686–698.
- 15 Jack G Dodd. Interferometry with Schlieren microscopy[J]. *Appl Opt*, 1977, 16(2): 470–472.
- 16 M Arnison, K Larkin, C Sheppard, *et al.*. Linear phase imaging using differential interference contrast microscopy[J]. *J Microsc*, 2004, 214(Pt1): 7–12.
- 17 M Schmitt, B Dietzek, G Hermann, *et al.*. Femtosecond time-resolved spectroscopy on biological photoreceptor chromophores[J]. *Laser & Photon Rev*, 2007, 1(1): 57–78.
- 18 M Heilemann, P Dedecker, J Hofkens, *et al.*. Photoswitches: key molecules for subdiffraction-resolution fluorescence imaging and molecular quantification[J]. *Laser & Photon Rev*, 2009, 3(1–2): 180–202.
- 19 M Hacker, G Stobrawa, R Sauerbrey, *et al.*. Micromirror SLM for femtosecond pulse shaping in the ultraviolet[J]. *Appl Phys B*, 2003, 76(6): 711–714.
- 20 Yu Xiaochen, Hu Jiasheng, Wang Lianbao. Laser beam shaping based on liquid-crystal spatial light modulator[J]. *Acta Optica Sinica*, 2012, 32(5): 0514001.
于晓晨, 胡家升, 王连宝. 基于液晶空间光调制器的激光束整形[J]. *光学学报*, 2012, 32(5): 0514001.
- 21 Qiu Jisi, Fan Zhongwei, Tang Xiongxin. New adjustment method for Gamma curve of liquid crystal spatial light modulator and its effect on beam shaping[J]. *Laser & Optoelectronics*, 2012, 49(6): 061402.
邱基斯, 樊仲维, 唐熊忻. 液晶空间光调制器 Gamma 曲线的线性化调试算法及其对光束整形的影响[J]. *激光与光电子学进展*, 2012, 49(6): 061402.
- 22 E Frumker, Y Silberberg. Femtosecond pulse shaping using a two-dimensional liquid-crystal spatial light modulator[J]. *Opt Lett*, 2007, 32(11): 1384–1386.
- 23 G Sinclair, J Leach, P Jordan, *et al.*. Interactive application in holographic optical tweezers of a multi-plane Gerchberg-Saxton algorithm for three-dimensional light shaping[J]. *Opt Express*, 2004, 12(8): 1665–1670.
- 24 G M Hagen, W Caarls, M Thomas, *et al.*. Biological applications of an LCOS-based programmable array microscope (PAM)[C]. *SPIE*, 2007, 6441: 64410S.
- 25 K Leonhardt, U Droste, H J Tiziani. Microshape and rough-surface analysis by fringe projection[J]. *Appl Opt*, 1994, 33(31): 7477–7488.
- 26 L Hirvonen, K Wicker, O Mandula, *et al.*. Structured illumination microscopy of a living cell[J]. *Eur Biophys J*, 2009, 38(6): 807–812.
- 27 S Monneret, M Rauzi, P F Lenne. Highly flexible whole-field sectioning microscope with liquid-crystal light modulator[J]. *J Opt A: Pure Appl Opt*, 2006, 8(7): S461–S466.
- 28 R Fiolka, M Beck, A Stemmer. Structured illumination in total internal reflection fluorescence microscopy using a spatial light modulator[J]. *Opt Lett*, 2008, 33(14): 1629–1631.
- 29 J Y Lin, R P Huang, P S Tsai, *et al.*. Wide-field super-resolution optical sectioning microscopy using a single spatial

- light modulator[J]. *J Opt A: Pure Appl Opt*, 2009, 11(1): 015301.
- 30 C Maurer, S Bernet, M Ritsch-Marte. Refining common path interferometry with a spiral-phase Fourier filter[J]. *J Opt A: Pure Appl Opt*, 2009, 11(8): 094023.
- 31 S Furhapter, A Jesacher, S Bernet, *et al.* Spiral phase contrast imaging in microscopy[J]. *Opt Express*, 2005, 13(3): 689-694.
- 32 Ruth Steiger, Stefan Bernet, Monika Ritsch-Marte. SLM-based off-axis Fourier filtering in microscopy with white light illumination[J]. *Opt Express*, 2012, 20(14): 15377-15384.
- 33 Timothy J McIntyre, C Maurer, S Bernet, *et al.* Differential interference contrast imaging using a spatial light modulator [J]. *Opt Lett*, 2009, 34(19): 2988-2990.
- 34 T J McIntyre, C Maurer, S Fassl, *et al.* Quantitative SLM-based differential interference contrast imaging[J]. *Opt Express*, 2010, 18(13): 14063-14078.
- 35 L Allen, M W Beijersbergen, R J C Spreeuw, *et al.* Orbital angular momentum of light and the transformation of Laguerre-Gaussian laser modes[J]. *Phys Rev A*, 1992, 45(11): 8185-8189.
- 36 Jeffrey A Davis, Dylan E McNamara, Don M Cottrell, *et al.* Image processing with the radial Hilbert transform: theory and experiments[J]. *Opt Lett*, 2000, 25(2): 99-101.
- 37 Severin Fürhapter, Alexander Jesacher, Stefan Bernet, *et al.* Spiral phase contrast imaging in microscopy[J]. *Opt Express*, 2005, 13(3): 689-694.
- 38 A M Blackburn, J C Loudon. Vortex beam production and contrast enhancement from a magnetic spiral phase plate[J]. *Ultramicroscopy*, 2014, 136: 127-143.
- 39 Alexander Jesacher, Severin Furhapter, Stefan Bernet, *et al.* Shadow effects in spiral phase contrast microscopy[J]. *Phys Rev Lett*, 2005, 94(23): 233902.
- 40 Christian Maurer, Alexander Jesacher, Stefan Bernet, *et al.* What spatial light modulators can do for optical microscopy[J]. *Laser & Photon Rev*, 2011, 5(1): 81-101.
- 41 A Barty, K Nugent, D Paganin, *et al.* Quantitative optical phase microscopy[J]. *Opt Lett*, 1998, 23(11): 817-819.
- 42 K R Lee, K Kim, J Jung, *et al.* Quantitative phase imaging techniques for the study of cell pathophysiology: from principles to applications[J]. *Sensors*, 2013, 13(4): 4170-4191.
- 43 I Iglesias, F Vargas-Martin. Quantitative phase microscopy of transparent samples using a liquid crystal display[J]. *J Biomed Opt*, 2013, 18(2): 026015.
- 44 P Ferraro, D Alferi, S D Nicola, *et al.* Quantitative phase-contrast microscopy by a lateral shear approach to digital holographic image reconstruction[J]. *Opt Lett*, 2006, 31(10): 1405-1407.
- 45 P Marquet, B Rappaz, P J Magistretti, *et al.* 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.
- 46 A Y M Ng, C W See, M G Somekh. Quantitative optical microscope with enhanced resolution using a pixelated liquid crystal spatial light modulator[J]. *J Microsc*, 2004, 214(Pt3): 334-340.
- 47 Ma Lihong, Wang Hui, Jin Hongzhen, *et al.* Experimental study on quantitative phase imaging by digital holographic microscopy[J]. *Chinese J Lasers*, 2012, 39(3): 0309002.
马利红, 王 辉, 金洪震, 等. 数字全息显微定量相位成像的实验研究[J]. *中国激光*, 2012, 39(3): 0309002.
- 48 M Baranek, Z Bouchal. Rotating vortex imaging implemented by a quantized spiral phase modulation[J]. *J Europ Opt Soc Rap Public*, 2013, 8: 13017.
- 49 Ruth Steiger, Stefan Bernet, Monika Ritsch-Marte. Mapping of phase singularities with spiral phase contrast microscopy[J]. *Opt Express*, 2013, 21(14): 16282-16289.
- 50 Marcel A Lauterbach, Marc Guillon, Asma Soltani, *et al.* STED microscope with spiral phase contrast[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 2050.
- 51 M P Lee, G M Gibson, R Bowman, *et al.* A multi-modal stereo microscope based on a spatial light modulator[J]. *Opt Express*, 2013, 21(14): 16541-16551.
- 52 C Maurer, A Jesacher, S Bernet, *et al.* Phase contrast microscopy with full numerical aperture illumination[J]. *Opt Express*, 2008, 16(24): 19821-19829.