

平场定量相位显微镜在骨髓间充质干细胞线粒体动力学观察中的应用研究(特邀)

戴太强^{1,2,3,4}, 马英⁵, 杜宇轩^{1,2,3,4}, 侯燕^{1,2,3,4}, 吕前欣^{1,2,3,4}, 康娟^{1,2,3,4}, 姚保利⁶, 郜鹏⁵, 孔亮^{1,2,3,4*}

¹口腔系统重建与再生全国重点实验室, 陕西 西安 710032;

²国家口腔疾病临床医学研究中心, 陕西 西安 710032;

³陕西省口腔疾病临床医学研究中心, 陕西 西安 710032;

⁴第四军医大学口腔医院颌面外科, 陕西 西安 710032

⁵西安电子科技大学物理学院, 陕西 西安 710171;

⁶中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学与光子技术国家重点实验室, 陕西 西安 710119

摘要 分离培养SD大鼠骨髓间充质干细胞, 传代纯化后接种至共聚焦培养皿, 置于自主研发搭建的平场定量相位显微镜下, 利用荧光及相位双通道证实线粒体特征后, 进行长时间无标记观察, 分析平场定量相位显微镜观察到的线粒体分裂、融合过程, 以及细胞凋亡过程中的线粒体变化。平场定量相位显微镜无标记观察到的线粒体可与荧光标记的线粒体完全重叠, 表明平场定量相位显微镜可以清晰观察线粒体并进行无标记高分辨率成像。同时, 平场定量相位显微镜可以对培养条件下的骨髓间充质干细胞进行长时间无标记观察, 并高分辨率记录线粒体分裂、融合过程。此外, 还利用平场定量相位显微镜首次完整记录了CCCP作用下线粒体的变化, 该变化直观地呈现了线粒体途径的细胞凋亡过程。平场定量相位显微镜可以对培养的细胞进行长时间无标记高分辨率观察, 为线粒体动力学的研究提供了一种新的观察手段。

关键词 无标记成像; 平场定量相位显微镜; 骨髓间充质干细胞; 线粒体动力学

中图分类号 Q271

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP240642

Application of Flat-Field Quantitative Phase Microscopy for Observing Mitochondrial Dynamics in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells (Invited)

Dai Taiqiang^{1,2,3,4}, Ma Ying⁵, Du Yuxuan^{1,2,3,4}, Hou Yan^{1,2,3,4}, Lü Qianxin^{1,2,3,4}, Kang Juan^{1,2,3,4}, Yao Baoli⁶, Gao Peng⁵, Kong Liang^{1,2,3,4*}

¹State Key Laboratory of Oral & Maxillofacial Reconstruction and Regeneration, Xi'an 710032, Shaanxi, China;

²National Clinical Research Center for Oral Diseases, Xi'an 710032, Shaanxi, China;

³Shaanxi Clinical Research Center for Oral Diseases, Department of Oral, Xi'an 710032, Shaanxi, China;

⁴Maxillofacial Surgery, School of Stomatology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China;

⁵School of Physics, Xidian University, Xi'an 710171, Shaanxi, China;

⁶State Key Laboratory of Transient Optics and Photonics, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710119, Shaanxi, China

Abstract To investigate the feasibility of label-free imaging using flat-field quantitative phase microscopy for observing mitochondrial dynamics in mesenchymal stem cells (MSCs) derived from bone marrow, SD rat bone marrow MSCs were isolated and cultured. Following passages and purification, they were seeded into confocal culture dishes and placed under a flat-field quantitative phase microscope developed by our team. Label-free observations were conducted over an extended period after confirming mitochondrial characteristics using fluorescence and phase dual channels. The mitochondrial division, fusion processes, and mitochondrial changes during cell apoptosis observed using the flat-field quantitative phase microscope were analyzed. The mitochondria observed via unlabeled flat-field quantitative phase microscopy exhibited

收稿日期: 2024-01-04; 修回日期: 2024-02-05; 录用日期: 2024-02-10; 网络首发日期: 2024-02-15

基金项目: 国家重点研发计划政府间国际科技创新合作(2022Y17E0100700)、空军军医大学伙伴实验室合作交流计划(2022HB011)、陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2022JQ-788)

通信作者: liangkong2014@163.com

complete overlap with fluorescently labeled mitochondria, demonstrating the microscope's capability to visualize mitochondria and conduct unlabeled high-resolution imaging. Moreover, the flat-field quantitative phase microscope facilitated long-term unlabeled observations of bone marrow MSCs under cultivation conditions, enabling high-resolution recording of mitochondrial division and fusion processes. Furthermore, we used the flat-field quantitative phase microscope to record mitochondria changes under CCCP treatment for the first time, visually presenting the apoptosis via mitochondrial pathway. The flat-field quantitative phase microscope allows for prolonged, unlabeled, high-resolution observations of cultured cells, offering a new tool for investigating mitochondrial dynamics.

Key words label free imaging; flat-field quantitative phase microscopy; bone marrow mesenchymal stem cells; mitochondrial dynamics

1 引言

线粒体是细胞代谢的关键细胞器,在合成分解代谢、细胞信号转导,以及程序性细胞死亡过程中发挥着重要作用^[1-2]。为响应外界环境压力和细胞的功能需求,线粒体经常发生形态、成分和功能的变化,展现出高度的可塑性和动态性^[3-4]。线粒体功能的变化常常表现为形态和分布的改变,而形态和分布的改变则由分裂、融合等动态过程实现,称作线粒体动力学^[5-7]。因此,关于线粒体动力学过程的研究对于分析线粒体功能状态具有重要的意义。

骨髓间充质干细胞(BMSCs)是医学研究中常用的干细胞,它易于分离获取,增殖活跃,具有良好的分化潜能。BMSCs的增殖、分化和凋亡等过程与骨的发育以及骨质疏松等疾病密切相关,而在这些过程中线粒体动力学起到了关键作用^[8-10]。因此,线粒体动力学观察对于研究BMSCs功能变化具有重要意义。目前BMSCs线粒体的主要观察手段包括荧光标记观察以及透射电镜观察^[11-15]。荧光标记观察线粒体,具有较好的特异性,线粒体形态显示清晰,当以超分辨显微镜观察时,甚至可以观察到线粒体的内嵴等结构^[16-17]。然而荧光标记通常存在光毒性^[18-20]和光漂白问题^[21],难以长时间捕捉真实的生理过程。此外,利用透射电镜可以实现线粒体的纳米级高分辨率观察,尤其对于线粒体内部结构可以清晰成像。然而,透射电镜只能观察固定切片以后的细胞,不能对活细胞中线粒体的动态过程进行观察记录,无法用于线粒体动力学研究^[22]。因此,需要一种无需荧光标记就能对线粒体动态过程进行长时间高分辨率观察的手段进行线粒体动力学研究。利用细胞内部结构折射率的不同,本课题组自主研发搭建了平场定量相位显微镜^[23]。本文利用平场定量相位显微镜观察培养的大鼠BMSCs,探究该显微镜在观察线粒体分裂、融合,以及细胞凋亡中线粒体变化过程的适用性。

2 材料与方法

2.1 实验设备

自主研发搭建的高时空分辨率平场定量相位显微镜,可利用细胞内部结构折射率的不同进行无标记成像。其横向分辨率可达 245 nm,时间分辨率可达 250 Hz,可以捕捉活细胞内的快速动态过程。该系统采

用多个 LED 进行环形照明,光能够沿倾斜方向照射在样品上,产生不受样品影响的非散射光及与样品相关的散射光,空间光调制器收集非散射光,并对非散射光循环加载 0、0.5 π 、 π 、1.5 π 进行相位调制,从而根据细胞器折射率的不同获取清晰成像^[23]。该系统共路径干涉的光学结构提高了系统对外界扰动的免疫性,基于 LED 的多角度环形超斜部分相干照明,极大地提高了图像质量和空间分辨率。同时,平常定量相位显微镜融合了荧光通道,可以利用荧光标记辅助确认细胞器的特异性。

2.2 实验动物和材料

2 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,购买自空军军医大学实验动物中心。实验材料包括 α -MEM 培养基(Gibco, 美国)、胎牛血清(Hyclone, 美国)、PBS(Gibco, 美国)、青霉素/链霉素双抗溶液(Hyclone, 美国)、0.25% 胰蛋白酶/EDTA 消化液(Hyclone, 美国)、Mitotracker(Thermo, 美国)、异氟烷(瑞沃德, 中国)、羰基氰化物间氯苯腈(CCCP, MCE, 美国)、10 cm 细胞培养皿(Corning, 美国)、50 mm 共聚焦培养皿(WPI, 美国)。

2.3 实验方法

2.3.1 大鼠 BMSCs 的分离培养

取 2 周龄的 SD 大鼠,置于密闭容器中,通入过量异氟烷麻醉安乐死后,置于 75% 的酒精中浸泡 5 min,进行体表消毒。随后,将 SD 大鼠捞出置于超净台中,用无菌眼科剪及眼科镊分离后肢股骨和胫骨,置于无菌培养皿中,加入 PBS 浸泡清洗。随即将股骨和胫骨两端剪开,5 mL 无菌注射器吸取 PBS 反复吹打骨髓腔,直至骨质发白。收集细胞悬液于 15 mL 离心管,1000 revolution/min 离心 5 min 后,弃去上清。用含 10% 胎牛血清、1% 双抗的 α -MEM 完全培养基重悬细胞沉淀,接种至 10 cm 培养皿中,每 2~3 天换液一次,待细胞生长汇合至 80% 以上时按 1:3 进行传代培养。

2.3.2 活细胞的无标记观察

待细胞传代至第 3 代,生长汇合至 80% 左右时,0.25% 胰蛋白酶/EDTA 消化,收集细胞悬液,1000 revolution/min 离心 5 min,按 1×10^5 个细胞接种至 50 mm 共聚焦培养皿,培养至少 24 h 后,转移至平场定量相位显微镜下进行长时间无标记观察。

2.3.3 线粒体荧光标记染色

将第 3 代 BMSCs 消化,离心收集细胞,接种至 50 mm 共聚焦培养皿,培养至少 24 h 以后,弃去原有培

培养液,用预热的无血清培养基清洗 2 遍后,加入 1:5000 稀释的 Mitotracker,37 °C 孵箱内孵育 30 min 后取出,用预热的无血清培养基清洗 2 遍后,加入预热的完全培养基,随后转移至平场定量相位显微镜下进行荧光及相位双通道成像。

2.3.4 细胞凋亡过程中线粒体变化的观察

BMSCs 接种至 50 mm 共聚焦培养皿,培养 24 h 后,更换新鲜培养液,置于平场定量相位显微镜下观察 15 min,随后按 1:100 加入 CCCP,继续观察记录线粒体的变化情况。

2.3.5 图像的采集

将共聚焦培养皿置于平场定量相位显微镜下,使用 100 倍油镜进行观察。目镜下观察,微调调整焦距,细胞对焦以后调整视野,选取细胞状态良好,贴壁伸展完全,细胞内细胞器对比度好的细胞进行拍摄。从最清晰的对焦面开始,沿 Z 轴各上下 2 μm 分 20 层进行扫描,连续拍摄。

2.4 数据处理

利用 Matlab 编写的图像处理程序处理原始采集获得的图像。由 4 张相位图片计算得出 1 张包含细胞内部精细结构相位信息的图片,并在 20 张 Z 轴扫描计算后的图像中挑选最聚焦的图像导入 Image J 中调整亮度及对比度后,作为某时间点的最佳图像,最后将时间序列图像组合,还原线粒体的快速动态过程。

3 结果

3.1 平场定量相位显微镜无标记成像下的线粒体特点

为了明确线粒体在平场定量相位显微镜下的形态特点,首先利用荧光通道和相位通道进行双通道成像,然后叠加双通道结果,如图 1 所示。结果表明,相位通道无标记拍摄的线粒体呈长棒状、短棒状、点状或相互之间连接成网格状,与 Mitotracker 标记的线粒体能够完全重叠,证实了平场定量相位显微镜下的线粒体特征。

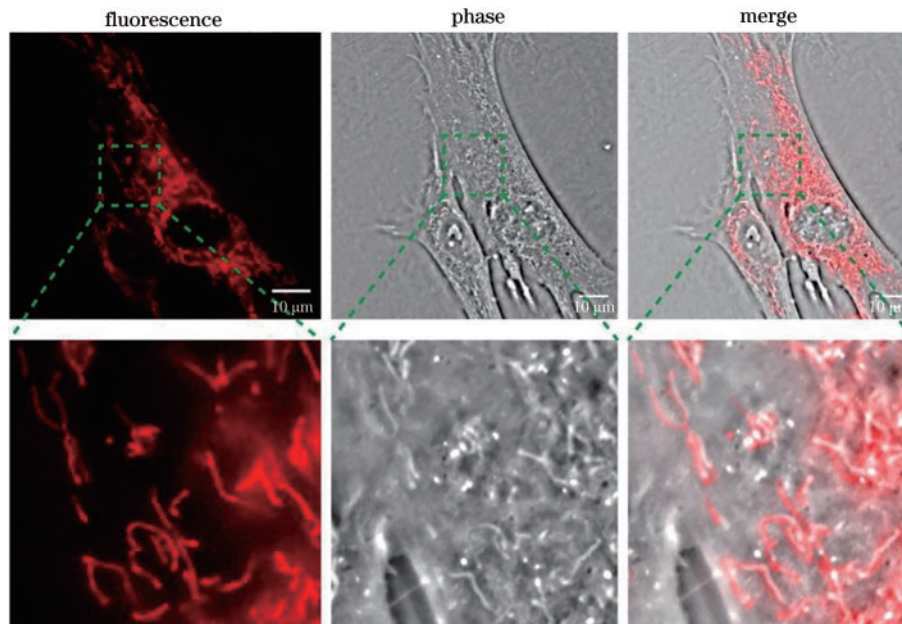


图 1 BMSCs 线粒体的荧光相位双通道成像

Fig. 1 Fluorescence and phase images of BMSCs mitochondria

3.2 平场定量相位显微镜无标记成像下的线粒体融合过程

线粒体的融合与分裂是其调控形态、数量和细胞内位置分布的主要方式,而这种动态调控与细胞的功能状态、能量代谢模式,以及细胞的命运有着密切的关系。在明确平场定量相位显微镜下线粒体的形态特征后,对正常培养的大鼠 BMSCs 进行长时间无标记成像,结果如图 2 所示,可以看出,线粒体存在不同的融合方式:1)对称端端融合,平行排列的两个长度相当的独立线粒体相互靠近,以相互靠近的两端融合在一起,最终形成一个弯曲的线粒体,整个过程大约在 20 s 内完成,如图 2(b)所示;2)端侧融合,一条直线上两个长度基本一致的独立线粒体,两端相对并相互靠近,然而

并没有以端端相对融合,而是一条线粒体的一端接触于另一条线粒体的侧面,并最终形成具有一个节点的 Y 形线粒体,如图 2(c)所示;3)不对称端端融合,一条长棒状和一条短棒状线粒体两端相对靠近,最终端端相接形成一条长棒状线粒体,如图 2(d)所示。

3.3 平场定量相位显微镜无标记成像下的线粒体分裂过程

线粒体的分裂与融合高度协调,处于动态平衡之中,以维持线粒体的数量和大小。分裂将产生数量更多、体积更小的线粒体。经过对正常培养 BMSCs 长时间动态成像进行分析,可以观察到以下线粒体分裂方式:1)端侧分裂,由图 3(b)可见,一条长棒状线粒体中间部分存在一个节点,侧向伸出短棒状线粒体,随后

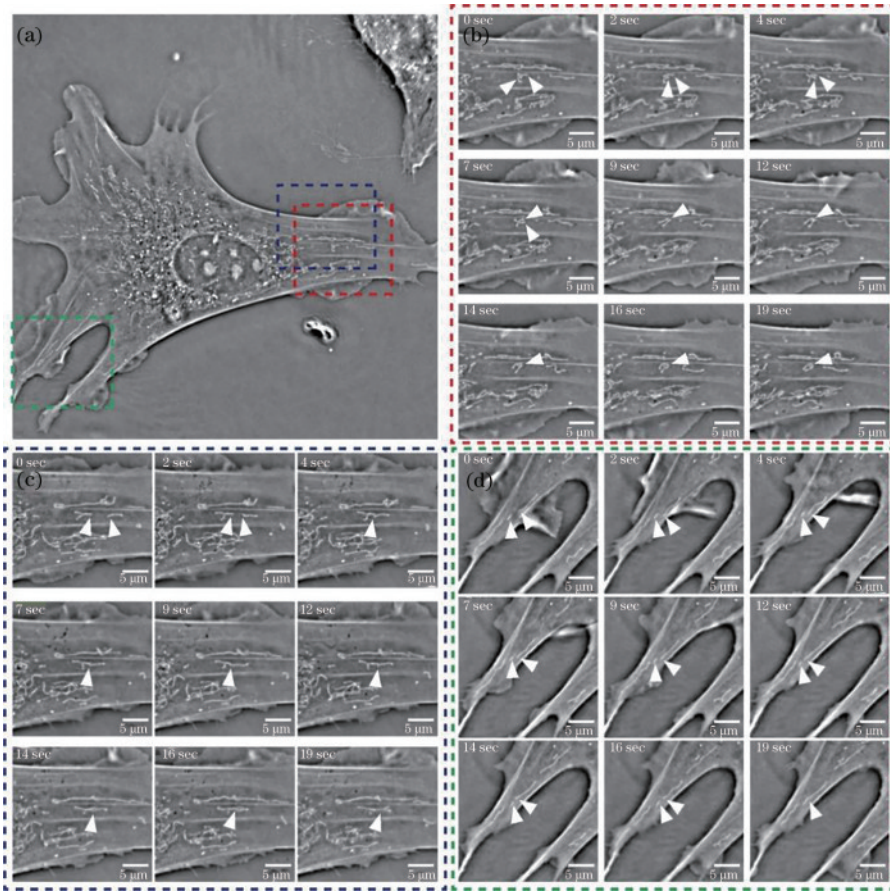


图 2 正常培养大鼠 BMSCs 线粒体融合过程的无标记成像。(a) 细胞整体观；(b) 对称端端融合；(c) 端侧融合；(d) 不对称端端融合
 Fig. 2 Label-free imaging of mitochondrial fusion in cultured BMSCs of rats. (a) Panoramic view of BMSCs; (b) symmetric end to end fusion of mitochondria; (c) end to lateral fusion; (d) asymmetrical end to end fusion

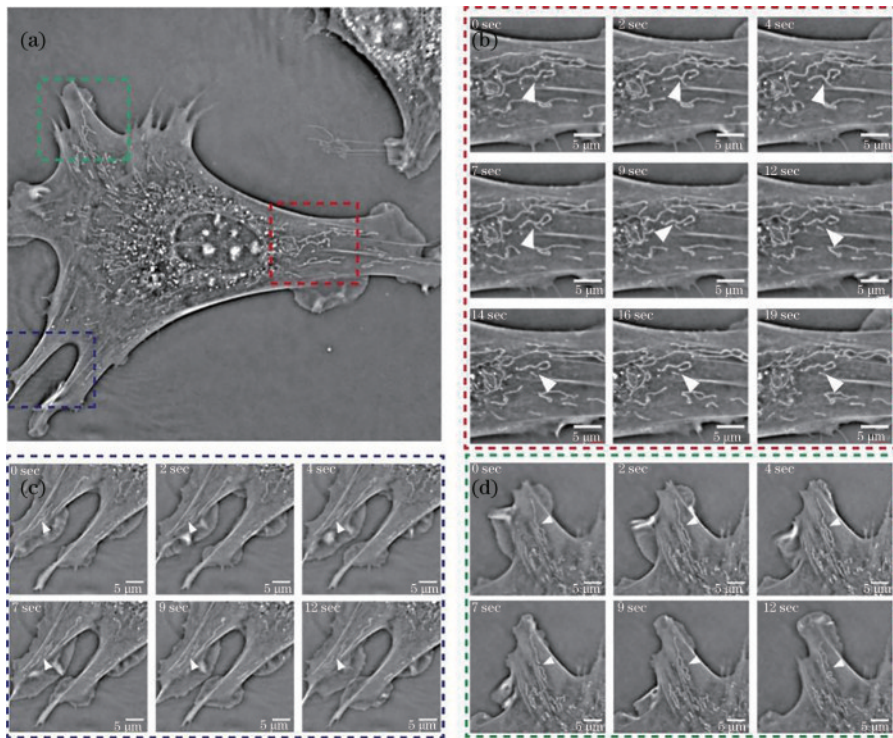


图 3 正常培养大鼠 BMSCs 线粒体分裂过程的无标记成像。(a) 细胞整体观；(b) 端侧分裂；(c) 对称分裂；(d) 柄杆分裂
 Fig. 3 Label-free imaging of mitochondrial fission in cultured BMSCs of rats. (a) Full view of BMSCs; (b) end to lateral fission; (c) symmetric fission; (d) handle to rod fission

短棒状线粒体从节点处脱离长棒状线粒体,形成两条一长一短独立的线粒体;2)对称分裂,长棒状线粒体在中央部分分裂,形成两条长度基本一致的线粒体,如图 3(c)所示;3)柄杆分裂,如图 3(d)所示,环形线粒体似钥匙柄,长棒状线粒体似钥匙杆,长棒状线粒体自与环形线粒体连接处脱落,形成钥匙柄与钥匙杆样的柄杆分裂。

3.4 平场定量相位显微镜无标记成像下细胞凋亡中的线粒体变化

细胞凋亡是一种生理性的程序性细胞死亡过程,在维持器官发育、生物体稳态和进化中具有重要作用。线粒体途径的凋亡是细胞凋亡的一种重要形式,CCCP作为一种解偶联剂,能引起线粒体内膜膜电位

急剧下降,造成线粒体损伤,最终导致细胞凋亡。利用自主搭建的平场定量相位显微镜,完整观察了CCCP诱导的细胞凋亡过程,如图 4所示。可以看出:正常培养条件下,BMSCs的线粒体呈现长棒状、短棒状、点状等,第 13 min 加入 CCCP 后,部分线粒体立刻变为环状,同时右侧细胞膜出现收缩的趋势。在随后的 2 min 内,线粒体基本变为环状,收缩趋势更加明显。在加药接近 19 min 时,细胞膜收缩,产生大量的收缩丝。加药 30 min 后,细胞收缩成一团,部分细胞膜处出现起泡现象。待到 70 min 左右时,细胞内原有线粒体逐渐变为空泡,随时间延长,空泡数量逐渐增加。最终在 3 h 左右时,细胞膜起泡增多,泡状结构从细胞分离。

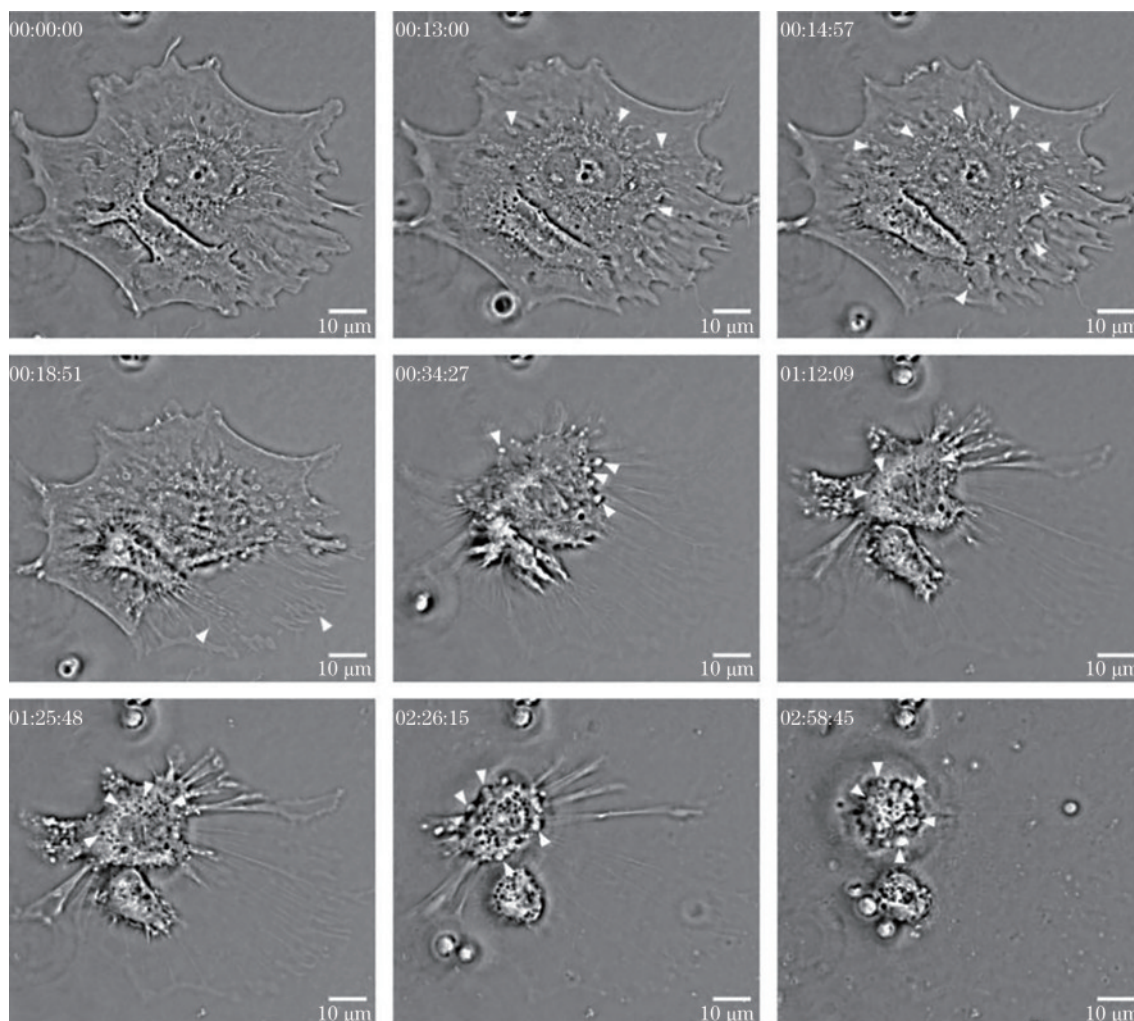


图 4 CCCP 处理大鼠 BMSCs 线粒体变化过程的无标记成像

Fig. 4 Label-free imaging of BMSCs mitochondrial dynamics after incubation with CCCP

4 结 论

线粒体动力学对于干细胞特性以及命运决定具有重要影响,线粒体的数量、形态和分布与干细胞的分化状态密切相关^[24-25]。因此,高分辨率快速捕捉线粒体动力学变化过程对于干细胞的研究具有重要意义。传

统的活细胞研究中,线粒体的观察常采用荧光标记进行高对比度成像^[11-13]。然而,荧光标记常存在光毒性和光漂白等问题,在一定程度上影响了细胞的正常生理过程,且很难长时间连续观察^[18-21]。定量相位成像是一种无标记的成像方法,它利用组织和细胞折射率的不同,获取光经过组织或细胞后产生的微小相位差,

并最终呈现出高对比度的图像^[26-27]。本团队在前期的研究中提出了一种平场定量相衬显微技术,基于此搭建的平场定量相位显微镜可以实现活细胞的无标记长时间连续成像,时空分辨率达到了 245 nm 和 250 Hz,能够以高分辨率捕捉活细胞内部细胞器的快速生理过程^[23]。

平场定量相位显微镜可以对细胞内部的多个细胞器进行同时成像,为了验证线粒体的特异性,我们将同个细胞内线粒体荧光标记成像和无标记成像进行叠加,高度重叠在一起的长/短棒状、点状,以及连接成网状的结构即为线粒体,其具有高对比度,成像清晰,表明平场定量相位显微镜在线粒体的成像中具有显著的优势。通过对骨髓干细胞中线粒体的长时间连续成像观察,我们观察到线粒体的对称/不对称的端端融合、端侧融合,已有报道的线粒体对称分裂、不对称分裂,甚至未见报道过的柄杆分裂,丰富了对线粒体动力学的认识。此外,还完整记录了 CCCP 处理后线粒体由长/短棒状,逐渐变为环形/点状,并最终变为对比度低的黑色空泡的变化过程,对细胞凋亡过程中线粒体的变化有了清晰完整的了解。

近年来,定量相位成像已成为一种定量细胞水平生物物理过程的分析工具,用于观察细胞的形态和生物力学等信息,如细胞形态检测及分类、细胞干重检测、细胞力学测量、细胞增殖、迁移等行为,以及细胞器的观察和分析等^[28-30]。与其他定量相位技术相比,本研究中的系统光路结构抗外界干扰能力强,可以实现高对比度、高分辨率的成像,而且对活细胞的成像时间更长,从而可以实现细胞器的长时间高分辨率成像,进而探测细胞器的真实动态过程。但它也存在一定局限性,例如:与超分辨荧光成像相比,它的分辨率还无法突破衍射极限;因为线粒体未标记,缺乏特异性导致数据后期处理较难等问题。随着未来光学技术和人工智能数据识别处理能力的发展,以上局限性有望得到解决。

由此可见,我们自主研发的平场定量相位显微镜可以对线粒体进行高对比度成像,并能以高时空分辨率观察线粒体形态、数量和分布的变化过程,为线粒体的动力学研究提供了一种新的观察手段。

参 考 文 献

- [1] Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health[J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-1159.
- [2] Bock F J, Tait S W G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death[J]. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 2020, 21(2): 85-100.
- [3] Garbincius J F, Elrod J W. Mitochondrial calcium exchange in physiology and disease[J]. *Physiological Reviews*, 2022, 102(2): 893-992.
- [4] Heine K B, Hood W R. Mitochondrial behaviour, morphology, and animal performance[J]. *Biological Reviews*

of the Cambridge Philosophical Society, 2020, 95(3): 730-737.

- [5] Fenton A R, Jongens T A, Holzbaur E L F. Mitochondrial dynamics: shaping and remodeling an organelle network[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2021, 68: 28-36.
- [6] Okamoto K, Shaw J M. Mitochondrial morphology and dynamics in yeast and multicellular eukaryotes[J]. *Annual Review of Genetics*, 2005, 39: 503-536.
- [7] Chan D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease[J]. *Annual Review of Pathology*, 2020, 15: 235-259.
- [8] Hollenberg A M, Smith C O, Shum L C, et al. Lactate dehydrogenase inhibition with oxamate exerts bone anabolic effect[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2020, 35(12): 2432-2443.
- [9] Smith C O, Eliseev R A. Energy metabolism during osteogenic differentiation: the role of Akt[J]. *Stem Cells and Development*, 2021, 30(3): 149-162.
- [10] Sánchez-Aragó M, García-Bermúdez J, Martínez-Reyes I, et al. Degradation of IF1 controls energy metabolism during osteogenic differentiation of stem cells[J]. *EMBO Reports*, 2013, 14(7): 638-644.
- [11] Tamura T, Fujisawa A, Tsuchiya M, et al. Organelle membrane-specific chemical labeling and dynamic imaging in living cells[J]. *Nature Chemical Biology*, 2020, 16(12): 1361-1367.
- [12] Choi N E, Lee J Y, Park E C, et al. Recent advances in organelle-targeted fluorescent probes[J]. *Molecules*, 2021, 26(1): 217.
- [13] Zou W W, Yang L, Lu H D, et al. Application of super-resolution microscopy in mitochondria-dynamic diseases [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2023, 200: 115043.
- [14] Sun M G, Williams J, Munoz-Pinedo C, et al. Correlated three-dimensional light and electron microscopy reveals transformation of mitochondria during apoptosis [J]. *Nature Cell Biology*, 2007, 9(9): 1057-1065.
- [15] Mannella C A, Marko M, Penczek P, et al. The internal compartmentation of rat-liver mitochondria: tomographic study using the high-voltage transmission electron microscope[J]. *Microscopy Research and Technique*, 1994, 27(4): 278-283.
- [16] Chen Q X, Jin C Z, Shao X T, et al. Super-resolution tracking of mitochondrial dynamics with an iridium(III) luminophore[J]. *Small*, 2018, 14(41): e1802166.
- [17] Liu T Y, Stephan T, Chen P, et al. Multi-color live-cell STED nanoscopy of mitochondria with a gentle inner membrane stain[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(52): e2215799119.
- [18] Ojha A, Ojha N K. Excitation light-induced phototoxicity during fluorescence imaging[J]. *Journal of Biosciences*, 2021, 46: 78.
- [19] Purschke M, Rubio N, Held K D, et al. Phototoxicity of Hoechst 33342 in time-lapse fluorescence microscopy[J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2010, 9(12):

- 1634-1639.
- [20] Tinevez J Y, Dragavon J, Baba-Aissa L, et al. A quantitative method for measuring phototoxicity of a live cell imaging microscope[J]. *Methods in Enzymology*, 2012, 506: 291-309.
- [21] Demchenko A P. Photobleaching of organic fluorophores: quantitative characterization, mechanisms, protection[J]. *Methods and Applications in Fluorescence*, 2020, 8(2): 022001.
- [22] Eskelinen E L, Reggiori F, Baba M, et al. Seeing is believing: the impact of electron microscopy on autophagy research[J]. *Autophagy*, 2011, 7(9): 935-956.
- [23] Ma Y, Dai T Q, Lei Y Z, et al. Label-free imaging of intracellular organelle dynamics using flat-fielding quantitative phase contrast microscopy (FF-QPCM) [J]. *Optics Express*, 2022, 30(6): 9505-9520.
- [24] Chakrabarty R P, Chandel N S. Mitochondria as signaling organelles control mammalian stem cell fate[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(3): 394-408.
- [25] Zhang H B, Menzies K J, Auwerx J. The role of mitochondria in stem cell fate and aging[J]. *Development*, 2018, 145(8): dev143420.
- [26] Park Y, Depeursinge C, Popescu G. Quantitative phase imaging in biomedicine[J]. *Nature Photonics*, 2018, 12: 578-589.
- [27] 闵俊伟, 郜鹏, 但旦, 等. 高精度定量相位显微成像方法研究[J]. *光学学报*, 2024, 44(2): 0200003.
Min J W, Gao P, Dan D, et al. Research on high-precision quantitative phase microscopy imaging methods [J]. *Acta Optica Sinica*, 2024, 44(2): 0200003.
- [28] Butt S S, Fida I, Fatima M, et al. Quantitative phase imaging for characterization of single cell growth dynamics [J]. *Lasers in Medical Science*, 2023, 38(1): 241.
- [29] Nguyen T L, Polanco E R, Patananan A N, et al. Cell viscoelasticity is linked to fluctuations in cell biomass distributions[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 7403.
- [30] Nguyen T L, Pradeep S, Judson-Torres R L, et al. Quantitative phase imaging: recent advances and expanding potential in biomedicine[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(8): 11516-11544.