

文章编号: 0253-2239(2010)s100403

数字共焦显微技术成像分辨率

陈 华 聂 雄

(广西大学计算机与电子信息学院, 广西 南宁 530004)

摘要 生物光学显微镜对生物细胞(组织)厚样本成像时,由于受衍射和散焦成份的共同影响,成像分辨率明显下降。数字共焦显微技术通过三维图像复原方法可以提高图像分辨率。提出了分辨率劣化比和分辨率改善比的指标,并设计了一个包含相互间不同横向和轴向间距的光点和线条的仿真厚样本,采用半峰全宽(FWHM),对仿真的生物光学显微镜薄样本衍射成像、叠加散焦成份的厚样本成像和数字共焦显微技术复原图像的分辨率进行测定和评价。研究结果表明,数字共焦显微技术具有很高的分辨率改善比,可以有效地恢复厚样本横向和轴向分辨率。

关键词 显微技术;数字共焦;分辨率;厚样本;图像复原

中图分类号 TN911.73 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS201030.s100403

Image Resolution of Digital Confocal Microscopy

Chen Hua Nie Xiong

(School of Computer and Electronics and Information, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China)

Abstract When biological cells or tissue thick specimens are imaged by bio-optical microscopy, image resolution decreased significantly due to the impact of diffraction and defocus. Digital confocal microscopy can improve the image resolution through a three-dimensional image restoration method. The criterions of resolution degradation ratio and resolution improvement ratio are proposed, and a simulation-thick specimen is designed with different lateral and axial spacing of optical points and lines. The full width at half-maximum is used for measurement, evaluation and analysis in the image resolution of thin specimen diffraction imaging, thick specimen imaging containing out-of-focus ingredients, and image by restored digital confocal microscopy. The results show that the digital confocal microscopy has high resolution improve ratio, and can restore lateral and axial resolution of thick specimen effectively.

Key words microscopy; digital confocal; resolution; thick specimen; image resolution

OCIS codes 180.1790; 170.0180

1 引 言

生物光学显微镜由于光学衍射效应的影响,其焦面成像分辨率存在一个极限。如果观察的是厚样本生物细胞或组织,由于散焦成份的影响,焦面成像分辨率进一步下降。数字共焦显微技术在生物光学显微镜的基础上,通过光学切片的采集,获取细胞的序列图像,采用三维图像复原算法进行处理,可以提高图像分辨率,恢复原物清晰图像。该技术的成像机理及复原算法已有学者进行了较为深入的研究^[1~8],但其分辨率的研究则很少涉及。本文根据光学显微镜厚样本光学切

片成像模型,对厚样本在光学显微镜中的成像进行仿真,采用半峰全宽(FWHM)对显微镜成像和数字共焦显微技术复原图像进行分辨率测试分析,同时计算分析成像分辨率的劣化和复原分辨率的改善。

本文着重研究光学衍射及散焦情况下分辨率问题,为避免问题复杂化,含噪声情况另行研究。

2 生物光学显微镜成像特性

2.1 薄样本成像

考虑显微镜观察的生物样本是一个非常薄的物

收稿日期: 2010-03-17; 收到修改稿日期: 2010-05-31

基金项目: 广西自然科学基金(桂科自 0728034),广西高校人才小高建设创新团队资助计划(桂教人[2007]71号),广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 0992002-23),南宁市科学研究与技术开发计划(200801028A)和广西大学科学基金(X071005)资助课题。

作者简介: 陈 华(1958—),男,博士,教授,主要从事生物显微图像处理与光电成像技术方面的研究。

E-mail: chenhua_cn@163.com

体,用 $f(i,j)$ 描述该薄样本的亮度分布。将该薄样本 $f(i,j)$ 置于显微镜物镜焦平面上,通过物镜,在像平面上得到聚焦像 $g(i,j)$ 。根据光学衍射成像理论,其离散域成像模型为

$$g(i,j) = \sum_{m'=1}^{N_1} \sum_{n'=1}^{N_2} f(i',j') h(i-i',j-j') = f(i,j) * h(i,j), \quad (1)$$

$$g(i,j,k) = \sum_{m'=1}^{N_1} \sum_{n'=1}^{N_2} \sum_{l'=1}^{N_3} f(i',j',k') h(i-i',j-j',k-k') = f(i,j,k) * h(i,j,k). \quad (2)$$

这是一个三维卷积,其中 $h(i,j,k)$ 为物镜光学系统的三维点扩散函数(3D-PSF)。

2.3 厚样本光学切片成像

考虑沿光轴 z 有一定厚度 T 的厚样本物体 $f(x,y,z)$ 。沿光轴 z 将该厚样本分成一叠微小间隔

式中 $h(i,j)$ 为物镜光学系统的二维点扩散函数(2D-PSF), $*$ 为卷积。由于光学衍射效应, $g(i,j)$ 的分辨率比 $f(i,j)$ 低,清晰度下降。

2.2 厚样本成像

如果考虑的是沿光轴 z 厚度为 T 的厚样本物体 $f(i,j,k)$,通过物镜,在像空间得到其三维图像 $g(i,j,k)$,其离散域三维成像模型为

为 Δz 的切片堆叠 $f(x,y,\pm n\Delta z)$ ($n = -N_1, \dots, -1, 0, 1, 2, \dots, N_2$), $f(x,y,z)$ 中的某一置于焦平面 $z=0$ 的第 k 切片 $f_k(x,y,0)$,通过物镜,在像平面上实际得到的像 $g_k(x,y,0)$,其成像模型为

$$g_k(x,y,0) = \sum_{n=0}^{\max(N_1, N_2)} f_k(x,y,\pm n\Delta z) * h(x,y,\pm n\Delta z) = \sum_{n=0}^N g_{\pm kn}(x,y,0) = g_{k0}(x,y,0) + \sum_{n=1}^{\max(N_1, N_2)} g_{\pm kn}(x,y,0), \quad (3)$$

式中 $h(x,y,\pm n\Delta z)$ 为散焦量为 $\pm n\Delta z$ ($n=1,2,\dots$) 的 2D-PSF; $g_{\pm kn}(x,y,0)$ 为置于焦外的散焦量 $\pm n\Delta z$ 的物切片散焦像; $g_{k0}(x,y,0)$ 为 $f_k(x,y,0)$ 的聚焦像;第二项的求和 $\sum_{i=1}^{\max(N_1, N_2)} g_{\pm kn}(x,y,0)$ 表示所有散焦量为 $\pm n\Delta z$ ($n=1,2,\dots$) 散焦像的叠加, N_1 和 N_2 为两侧散焦像数。

(3)式表示,厚样本中某置于焦平面的第 k 切片 $f_k(x,y,0)$ 在像平面上实际得到的像 $g_k(x,y,0)$,是(3)式焦面像 $g_{k0}(x,y,0)$ 和所有的散焦像叠加形成的像。

在离散域下,(3)式表示为

$$g_k(i,j,0) = g_{k0}(i,j,0) + \sum_{n=1}^{\max(N_1, N_2)} g_{\pm kn}(i,j,0), \quad (4)$$

$g_k(i,j,0)$ 即(2)式 k 取某个值的二维切片图像 $g(i,j,k)$,称为光学切片。

由于在聚焦像 $g_{k0}(i,j,0)$ 上叠加了一系列散焦像,使得图像更加模糊,分辨率进一步下降。数字共焦显微技术采用三维图像复原算法,以去除或降低光学衍射效应和散焦像的影响,恢复和提高图像分辨率。

3 瑞利判据和半峰全宽

由于光的衍射效应,显微镜物镜焦面上的一个微小光点,在像面上形成一个光斑,称为艾里斑。当两个光点不断接近时,像面上对应的两个光斑便会出现重合。当一个光斑的中心与另一个光斑的第一级暗环重合时,刚好能分辨出是两个光斑。此时两个斑的中心距离称为瑞利距离 r_0 :

$$r_0 = 0.61 \frac{\lambda}{NA}, \quad (5)$$

式中 λ 为波长, NA 为物镜的数值孔径。瑞利距离 r_0 是判断显微镜物镜能分辨两个光点的最小距离,称为显微镜物镜理想光学系统的分辨率。

艾里斑光斑的半峰全宽^[9],是以光斑亮度峰值的一半处为圆周的斑点直径,称为阿贝距离。半峰全宽是描述光学系统分辨率的另一更为实用的判据,更适于在实际的测定。瑞利距离 r_0 与半峰全宽 D 的关系为

$$r_0 = 1.22D, \quad (6)$$

采用半峰全宽表示分辨率。光斑的半峰全宽越小,分辨率越高。

相对于(1)式表示的薄样本成像 $g(i,j)$, (4)式表示的厚物体某一切片的成像 $g_{k0}(i,j,0)$,由于像

面上还叠加有散焦成份的影响,可以推断分辨出焦面两个光点的最小距离将增加,使分辨率下降。根据(1)式和(4)式成像模型,通过对光学显微镜成像前后光点和线条半峰全宽,以及采用数字共焦显微技术的复原算法处理后半峰全宽的测定,分析成像前后分辨率劣化程度以及复原后分辨率改善程度。

4 分辨率评价的两个指标

为分析评价分辨率变化的情况,提出“分辨率劣化比”和“分辨率改善比”指标。分辨率劣化比 R_d 定义为

$$R_d = \frac{|D_g - D_f|}{|D_f|}, \quad (7)$$

参考改善信噪比,分辨率改善比 R_a 定义为

$$R_a = 20 \lg \frac{|D_g - D_f|}{|D_f - D_i|}, \quad (8)$$

式中 D_f 为原物光点半峰全宽, D_g 为模糊图的半峰全宽, D_i 为复原图的半峰全宽。 R_d 和 R_a 越大,分别表明分辨率劣化和改善的程度越大。

5 分辨率测量与分析

5.1 仿真厚样本设计

设计一个仿真厚样本 $f(i, j, k)$, 大小为 $46 \times 46 \times 40$ 的三维矩阵, 即该厚样本用 40 个大小为 46×46 , 厚度为 1 pixel 的切片表示, 灰度值范围为 $0 \sim 255$ 。样本由若干组不同间距的光点和直线构成, 光点和线条的 xy 向横向宽度和 z 向轴向深度均为一个基本像素, 灰度值均为 255, 其余空间为 0, 立体图如图 1 所示。

图 2(a) 为厚样本正面 (xy 平面) 从前面算起第 10 层切片图, 图中左起第 1 列光点为不同间距的 5 对光点, 顶部光点为 0 间距, 底部间距 3 pixel。

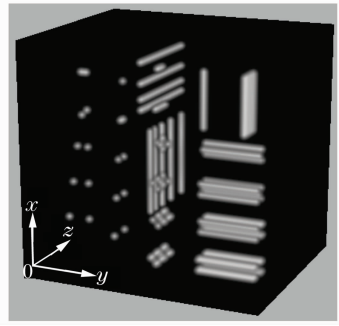


图 1 厚样本三维图

Fig. 1 Three-dimensional diagram of thick specimen

图 2(a) 第 2 列顶部为一个光点 a, 其以下为沿光轴 z 向(轴向)间距分别为 $0 \sim 3$ pixel 的 4 对光点。图 2(c) 为该列的侧面图, 左起第 17 列像素层的截面。图 2(c) 右部还设计了间距为 1, 2, 3 或 4 pixel 的横向和轴向间隔的两组线条。

图 2(a) 第 3 列光点上部两个光点 b 和 c 轴向前后长度分别为 3 个和 5 个光点, 如图 2(d1), (d2); 下部 d, e, f, g 等 4 个光点, 其轴向前后不同层面, 在光点位置的上下左右有 4 个光点, 形成梅花状, 如图 2(b) 所示。在光点 d 轴向后有 1 层, 光点 e 轴向前后各有 1 层, 光点 f 轴向前 1 层后 2 层, 光点 g 轴向前 2 层后 2 层, 如图 2(d1) 所示。

图 2(a) 第 4 列为 2 组线条: 上部线条 h 轴向深度为 1 pixel, 线条 i 轴向前后深度为 5 pixel, 如同一块薄板, 如图 2(d1), (d2) 第 40 层所示。下部由上至下 4 条线条 j, k, l, m, 每条线条在轴向前后 $1 \sim 2$ 层上, 在对应位置上下两侧分别有两条同长线条, 如图 2(d2)。

图 2(c) 中两组线条 o, p, q, r, s 和 t, u, v, w, 为在轴向切片上的轴向和横向间隔 $1 \sim 4$ pixel 的线条。

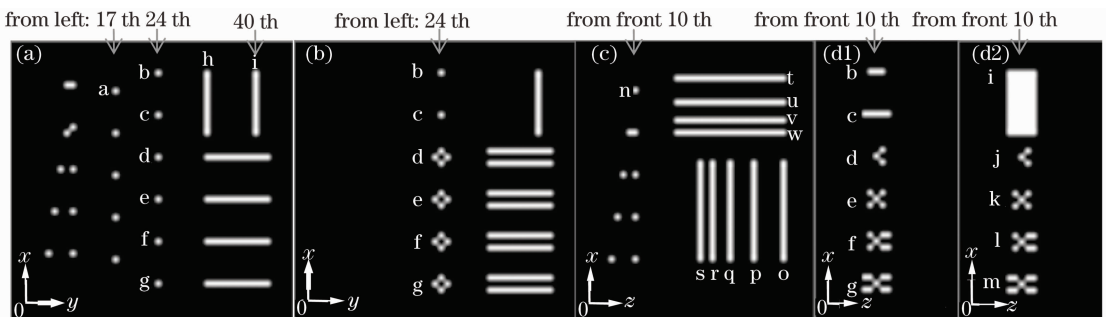


图 2 厚样本切片图(a)正面第 10 层, (b)正面第 11 层, (c)左侧第 17 层, (d1), (d2) 左侧第 24/40 层

Fig. 2 Sectioning of thick specimen (a) 10th from front, (b) 11th from front, (c) 17th from left, (d1), (d2) 24/40th from left

5.2 设计 3D-PSF

按照文献[10]设计显微镜物镜 PSF 的方法,设计(2)式的 3D-PSF(矩阵大小 $5 \times 5 \times 5$): $h(i, j, k)$ 。设计参数为:物镜 $40 \times / 0.65 NA$,显微镜光学管腔长度 160 mm ,样本光波长 $\lambda = 490 \text{ nm}$,切片间距 $\Delta z = 625 \text{ nm}$ 。

5.3 计算薄样本和厚样本图像

按照(1)式,(2)式和(5)式成像模型,计算得到如图 3 所示的薄样本图像 $g(i, j)$,厚样本三维成像图像 $g(i, j, k)$ 和如图 4 所示的 $g(i, j, k)$ 的正面第 10 层光学切片 $g_{10}(i, j, 0)$ 及侧面左起第 17 层光学切片 $g_{17}(i, 0, k)$ 。

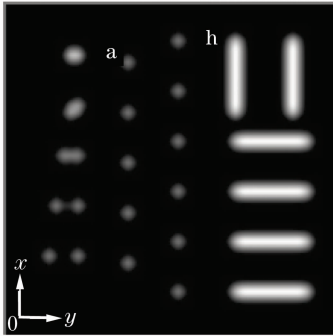


图 3 正面第 10 层薄样本成像图

Fig. 3 Imaging of 10th thin specimen from front

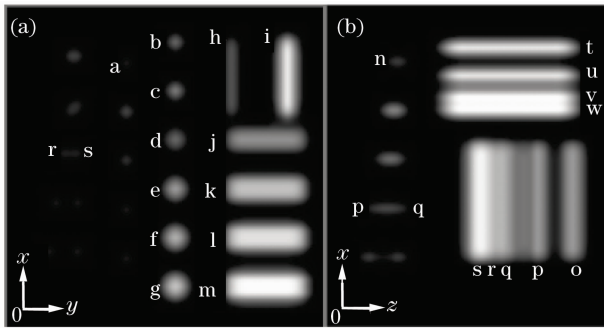


图 4 光学切片(a)正面第 10 层, (b)左侧第 17 层

Fig. 4 Optical sectionings (a) 10th from front,

(b) 17 th from left

5.4 去卷积复原

采用最大似然三维图像复原算法(ML 法)对 $g(i, j, k)$ 进行去卷积复原,复原结果三维图为 $\hat{f}(i, j, k)$,其正面第 10 层切片 $\hat{f}_{10}(i, j, 0)$ 及侧面第 17 层切片 $\hat{f}_{17}(i, 0, k)$ 如图 5 所示。

5.5 半峰全宽测定

在 photoshop7.0 环境下,对图 2 的厚样本切片图、图 3 的薄样本成像、图 4 的光学切片和图 5 的复

原切片中的光点和线条进行半峰全宽测定。通过测量光点和线条的亮度峰值、半峰值及相应坐标,即得到其半峰全宽 D 。根据(7)式和(8)式计算相应的分辨率劣化比 R_d 和分辨率改善比 R_a 。测量和计算结果如表 1、表 2 和表 3 所示。 D_l 表示横向半峰全宽, D_a 表示轴向半峰全宽。 D_l 和 D_a 的数值在本文中为无确定量纲的测量值。

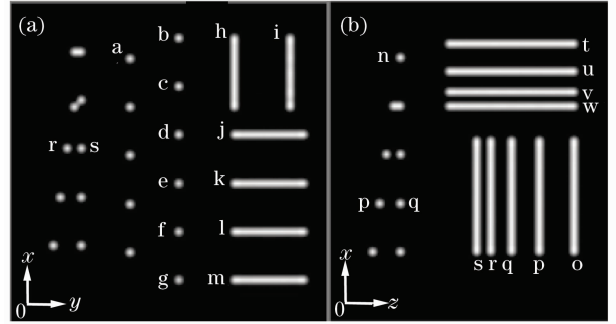


图 5 光学切片复原结果

(a)正面第 10 层, (b)左侧第 17 层

Fig. 5 Restoration results of optical sectionings

(a) 10 th from front, (b) 17 th from left

薄样本成像光点和线条的半峰全宽 D 满足 $r_0 = 1.22D$ 。根据(5)式,可以计算出表 2 中光点 a 和线条 h 的实际半峰全宽 D_r 为 376.923 nm (此半峰全宽即光学显微镜在 $0.65 NA$ 物镜、 490 nm 波长下成像的极限分辨率)。表 2 中光点 a 和线条 h 的无量纲半峰全宽 D_l 为分别为 2.55 和 2.56,因此得到薄样本成像光点和线条的实际半峰全宽 D_r 与本文无量纲半峰全宽 D_l 的关系分别为

$$D_r = \frac{376.923}{2.55} D_l, D_r = \frac{376.923}{2.56} D_l. \quad (9)$$

表 1 厚样本切片图光点和线条半峰全宽

Table 1 FWHM of points and lines in sectioning of a thick specimen

Point or line	Brightness peak value	FWHM D_l
a	254	1.35
h	254	1.35
n	254	1.35(D_a)
o	254	1.35(D_a)

表 2 薄样本成像图光点和线条半峰全宽

Table 2 FWHM of points and lines a thin specimen

Point or line	Brightness peak value	FWHM D_l	Resolution degradation ratio R_d
a	117	2.55	0.889
h	254	2.56	0.896

表 3 光学切片和复原图光点和线条半峰全宽

Table 3 FWHM of points and lines in Optical sectioning and its restoration result

Point or line	Optical section			Sections of restored image		
	Brightness peak value	FWHM D_l	Resolution degradation ratio R_d	Brightness peak value	FWHM D_l	Resolution Improvement ratio R_a
a	30	2.63	0.948	244	1.35	∞
b	79	2.51	0.859	246	1.35	∞
c	100	2.62	0.941	246	1.35	∞
d	82	3.32	1.459	240	1.39	33.848
e	134	3.51	1.600	230	1.39	34.648
f	158	3.69	1.733	225	1.39	35.343
g	181	3.79	1.807	220	1.42	30.846
h	67	2.54	0.881	246	1.38	31.969
i	229	2.80	1.074	248	1.38	33.685
j	125	3.72	1.756	244	1.38	37.953
k	182	4.18	2.096	243	1.39	36.995
l	218	4.33	2.207	242	1.39	37.443
m	255	4.37	2.237	241	1.39	37.559
n	71	2.51	0.859(lateral)	249	1.35	∞ (lateral)
		4.03(D_a)	1.985(axial)		1.35(D_a)	∞ (axial)
o	155	4.33(D_a)	2.207(axial)	250	1.36(D_a)	49.484(axial)
t	231	2.65	0.963	252	1.35(D_a)	∞ (axial)

5.6 分辨率分析

图 3 二维薄样本模糊图按(1)式模型成像。由于 $g(i, j)$ 没有受轴向各散焦像叠加的影响, 只受横向衍射[体现在 $h(i, j)$]影响, 所以每个光点的 D_l 都相等, R_d 也都相等, 分别为 2.55 和 0.889; 同样, 每条线条的 D_l 都相等, R_d 也都相等, 分别为 2.56 和 0.896。 R_d 接近 1, 表明半峰全宽增加接近 1 倍, 即分辨率下降接近 1 倍。并且光点和线条的 D_l 十分接近, R_d 也十分接近, 表明受到的横向衍射影响相同, 分辨率下降相同。但光点峰值为 117, 线条峰值为 254, 即线条中心亮度大于光点 2 倍多, 这是由于线条中的某个像素点(亮点)的能量向四周扩散造成峰值下降的同时, 也受两侧亮点能量叠加的缘故。

图 4 光学切片模糊图按(4)式模型成像。这种模型的成像不仅受横向衍射影响, 还受轴向各散焦像叠加影响。表 3 显示, 光学切片成像图中的 a, b, c 三个轴向深度不同的光点, 由于受散焦像影响不同, 亮度不同, 所以其峰值不同, 但 D_l 及 R_d 分别很接近, R_d 接近 1, 即分辨率下降接近 1 倍。这与薄样本成像分辨率情况基本相同, 表明相同 xy 坐标、不同 z 坐标的散焦面的光点, 只对焦面光点的峰值即亮度有影响, 而对半峰全宽, 即分辨率影响不大。对线条也有相同的结论, 如表 3 光学切片轴向深度为

1 pixel 和 5 pixel 的 h 和 i 线条, 以及表 2 薄样本成像的 h 线条, R_d 均为 1 左右, 即分辨率下降均 1 倍左右。

表 3 光学切片图中的 d, e, f, g 4 个光点, 由于其轴向前后的散焦面在该点坐标上下左右邻域存在 4 个光点的影响, 其 D_l 及 R_d 明显增大, 这表明散焦面邻域光点不只对焦面光点的峰值有影响, 并且对分辨率影响也很大, 使横向分辨率明显下降, 如受前后 4 层散焦面影响的 g 光点 R_d 超过 1.8。轴向前后存在邻域光点的散焦面越多, 受影响越大。

对线条也有相同的结论, 如表 3 光学切片图中的 j, k, l, m 线条, 其中受轴向前后 4 层散焦面上两侧线条影响的 m 线条, 其 R_d 达到 2.237。所以厚生物组织和细胞成像的横向分辨率明显低于薄样本成像的横向分辨率。

表 3 显示, 光学切片图中的光点 n 轴向 D_a 及 R_d 均明显大于其横向 D_l 及 R_d 。轴向 R_d (1.985) 大于其横向 R_d (0.859) 1 倍多, 表明轴向分辨率下降程度远大于横向分辨率。这从图 4(b) 也可看出, 光点 n 在轴向拉宽的程度明显大于在横向拉宽的程度, 轴向相隔 2 pixel 的两光点 p, q 已不能区分, 而在图 4(a) 中横向相隔 1 pixel 的两光点 r, s 仍能区分。对于线条 o 和 h, 同样是 1 pixel 的横向宽度和轴向深度, 并且均不受其它邻

域线条影响,而图 4(a)和(b)显示线条 o 在轴向拉宽的程度明显大于 h 线条在横向拉宽的程度。由表 3 可知,该两线条比较,轴向 R_d (2.207) 也大于横向 R_d (0.881) 近 2 倍。

图 4(b)中两组线条 o,p,q,r,s 和 t,u,v,w 表示,在轴向切片面的轴向拉宽的程度大于横向,同样相隔 2 pixel,轴向的 p,q 两线条已不易区分,而横向的 u,v 两线条可轻易区分。由表 3 可知,o 线条轴向 R_d 大于 t 线条横向 R_d 1 倍多。同时可知 t 线条和 h 线条的横向 R_d 相差很小,这表明不管在轴向还是横向切片面上,线条的横向 R_d 是差不多的。

从表 3 光学切片复原图的数据可看出,各光点和线条的半峰宽度和峰值均很接近,甚至等于表 1 原物的数据,获得很高的分辨率改善比。受到轴向不同深度散焦像影响的光点和线条 a,b,c,n 和 t 等,分辨率改善比 R_a 为 ∞ ,表明它们得到了完全复原;受到轴向前后不同层数散焦面邻域光点成线条影响的光点 d,e,f,g 以及线条 j,k,l,m,o 等,分辨率改善比 R_a 也超过 30,表明它们均得到很好的复原。结果表明三维显微图像复原方法获得理想的复原效果,复原分辨率不但明显高于表 2 未受散焦成份影响的薄样本成像分辨率,还几乎达到原物分辨率。成像中严重下降的轴向分辨率,也获得很好的恢复,如光点 n(∞) 和线条 o(49.484)。这说明复原方法不但去除了散焦成份的影响,还很大程度削弱了光学衍射的影响。

从图 5 也可看出,受衍射和不同类型散焦成份共同影响的各光点和线条都得到很好的复原,所有的光点和线条的亮度和大小宽度一致、清晰可辨,十分接近于图 2 原物。

6 结 论

对生物细胞(组织)厚样本成像时,由于受衍射和散焦成份的共同影响,生物光学显微镜分辨率明显下降。本文提出了分辨率劣化比和分辨率改善比的指标,用于厚样本成像分辨率的分析评价。设计了一个包含不同横向和轴向间距的光点和线条的厚样本,采用半峰全宽,对衍射成像和同时叠加散焦成份的光学切片成像分辨率进行测定与分析。仿真结果表明:

1) 对于薄样本焦面成像,由于只受横向衍射影响,每个光点的 R_d 都相等,每条线条的 R_d 也都相等,均接近 1,即分辨率下降接近 1 倍;

2) 对于厚样本光学切片成像:①处于相同横向坐标不同轴向坐标的散焦面光点或线条,对焦面光点或线条的亮度峰值有较大影响,但对分辨率影响很小。 R_d 约为 1,即分辨率下降 1 倍左右,与薄样本成像分辨率情况基本相同。②在散焦面上横向邻域的光点和线条不只对焦面光点和线条的峰值(亮度)影响大,并且对分辨率影响也很大,使横向分辨率明显下降。③轴向 R_d 大于其横向 R_d 1 倍多,说明轴向分辨率下降程度远大于横向分辨率。④数字共焦显微技术可以获得理想的复原效果,不但可以去除了散焦成份的影响,还很大程度削弱了光学衍射的影响。横向分辨率和轴向分辨率都获得很好的恢复,复原分辨率十分接近于原物的分辨率。

参 考 文 献

- 1 T. J. Holmes, Blind convolution of quantum-limited imagery: maximum likelihood approach [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1992, **9**(7): 1052~1061
- 2 S. Joshi, and M. I. Miller. Maximum x posteriori Estimation with Good's roughness for optical-sectioning microscopy [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1993, **10**(5): 1078~1085
- 3 J. A. Conchello, J. G. McNally, Fast regularization technique for expectation maximization algorithm for optical-sectioning microscopy [C]. *SPIE*, 1996, **2655**: 199~208
- 4 M. R. P. Momem, N. D. A. Mascarenhas, L. F. Costa *et al.*. Biological image restoration in optical-sectioning microscopy using prototype image constraints [J]. *Real-Time Imaging*, 2002, **8**: 475~490
- 5 M. R. P. Homem, N. D. A. Mascarenhas, L. F. Costa. Linear filters for deconvolution microscopy [C]. *Image Analysis and Interpretation*, 2004. 6th IEEE Southwest Symposium on 28-30 March, 2004: 142~146
- 6 D. Laksa meethanasan, S. S. Brandt, P. Engelhardt A. three-dimensional Bayesian reconstruction method with the point spread function for micro-rotation sequences in wide-field microscopy[C]. *Biomedical Imaging: Macro to Nano*, 2006. 3rd IEEE International Symposium on 6-9 April 2006: 1276~1279
- 7 Qingchuan Tao, Xiaohai He, Jia Zhao *et al.*. Image estimation based on depth-variant imaging model in three-dimensional microscopy [C]. *SPIE*, 2005, **5637**: 590~598
- 8 Zhao Jia, He Xiaohai, Tao Qingchuan *et al.*. Regularized EM image estimation based on depth-variant imaging model [J]. *Optical Technique*, 2006, **32**(3): 396~402
赵佳,何小海,陶青川等.基于深度变化成像模型的调整 EM 算法[J]. *光学技术*, 2006, **32**(3): 396~402
- 9 K. R. Castleman. *Digital Image Processing*[M]. Zhu Zhigang *et al.*. Transl. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2002: 308~310
K. R. 卡斯尔曼. *数字图像处理*[M]. 朱志刚等译. 北京: 电子工业出版社. 2002: 319~322
- 10 Chen Hua, Jin Weiqi, Wang Xia *et al.*. Investigation about 3D microscopical image restoration and PSF [J]. *Optical Technique*, 2006, **32**(3): 434~439
陈华,金伟其,王霞等. 三维显微图像复原及点扩散函数的研究[J]. *光学技术*, 2006, **32**(3): 434~439