

基于波前相位调制的宽视场光片显微镜研究

徐 豪^{1,2} 张运海¹ 张 欣¹ 黄 维¹

¹中国科学院苏州生物医学工程技术研究所江苏省医用光学重点实验室, 江苏 苏州 215163

²中国科学院大学, 北京 100049

摘要 为解决光片显微镜成像视场范围小的问题,通过光束波前相位调制与图像拼接技术实现了光片显微镜对样本的宽视场成像。数值模拟了照明光束在波前相位调制后物镜聚焦面处的光强分布。搭建了光片显微镜光路系统,并对荧光微球、菊花花粉进行成像实验。采用片状照明光束对不同聚焦位置处的样本进行成像,再将图像进行剪裁、拼接得到宽视场成像结果。实验结果表明,488 nm 激发光通过数值孔径为 0.3 的物镜照明样本成像,可在保持光片厚度为 0.81 μm 的情况下达到 31.93 μm 的成像视场,视场扩展到原视场的 3 倍以上。仿真和实验表明,采用光束波前相位调制与图像拼接技术可在不损失层切能力的前提下扩展光片显微镜的成像视场。

关键词 显微; 荧光显微镜; 视场扩展; 波前相位调制; 空间光调制器

中图分类号 TH742 **文献标识码** A

doi: 10.3788/AOS201636.0818001

Field of View-Extended Light Sheet Microscope Based on Wavefront Phase Modulation

Xu Hao^{1,2} Zhang Yunhai¹ Zhang Xin¹ Huang Wei¹

¹*Jiangsu Provincial Key Laboratory of Medical Optics, Suzhou Institute of Biomedical Engineering and Technology, Chinese Academy of Sciences, Suzhou, Jiangsu 215163, China*

²*University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*

Abstract In order to extend the field of view (FOV) of the light sheet microscopy system, wavefront phase modulation and digital image tiling are proposed. The intensity distribution of the light sheet at the focal plane of the objective lens after wavefront phase modulation is numerically simulated. A light sheet microscopy system is built to carry out the imaging experiments for fluorescent particles and flower pollen. The light sheet illuminates different sample positions by beam defocusing to obtain different images, which are tiled to get the FOV-extended image. FOV is extended to 3 times (about 31.93 μm) of the original field with wavelength of 488 nm and numerical aperture of 0.3 while the thickness of light sheet retains 0.81 μm . The experiment and simulation results suggest that FOV of the system can be extended by wavefront phase modulation and digital image tiling with tomographic ability not sacrificed.

Key words microscopy; fluorescence microscope; field of view extending; wavefront phase modulation; spatial light modulator

OCIS codes 180.2520; 100.5010; 180.6900

1 引 言

光片显微镜是一种新型的光学显微镜。与传统的落射式照明荧光显微镜不同,光片显微镜的照明光路与荧光探测光路相互垂直。照明光束经过柱面透镜形成了在一定范围内厚度很薄、很均匀的片状光束,而探

收稿日期: 2016-03-09; **收到修改稿日期:** 2016-04-07

基金项目: 国家重大科研装备研制项目(ZDYZ2013-1)、江苏省“六大人才高峰”计划(2012-swyy-020)、苏州应用基础研究计划(SYG201510)

作者简介: 徐 豪(1990—),男,硕士研究生,主要从事光学显微镜方面的研究。E-mail: 18552441906@163.com

导师简介: 张运海(1975—),男,研究员,博士生导师,主要从事激光扫描共聚焦显微镜成像、超分辨显微光学等方面的研究。E-mail: zhangyh@sibet.ac.cn(通信联系人)

测光路在与照明光路垂直的方向进行探测成像,激发光束被限制在探测物镜焦面附近。光片显微镜成像的光毒性弱,成像速度快,适于进行活体组织三维成像与长时间实时成像,可以得到细胞和亚细胞水平的实时动态。因此,光片显微镜对于生命科学研究有非常重要的意义^[1-3]。

1993年,Voie团队提出了一种光片显微系统,正交荧光光切显微术(OPFOS)。OPFOS利用单侧片状光照明,对荧光标记样本进行成像。尽管初步实现了光片显微镜成像,但成像存在阴影与条纹干扰。2004年,Huisken等提出了选择性平面照明显微镜(SPIM)。SPIM进行单侧光片照明,同时样本可以绕垂直轴进行旋转,实验系统成像速度快,对样本层析能力好。2007年,Doth等提出了超显微技术,设置了两个照明物镜进行双侧光片照明,并利用了样本透明化技术,实验系统成功地对大生物样本进行了实时成像。各种新型的光片显微镜相继出现,光片显微镜开始快速发展。光片显微技术在2014年“Nature Methods”期刊上被评为年度关键技术^[4-5]。

尽管光片显微镜在大生物样本成像中优势突出,但也存在不足之处。由于光片形状与照明物镜数值孔径密切相关,其厚度与宽度(视场)相互制约,即光片厚度会随着视场(FOV)的扩展而相应变厚,导致扩展视场时系统光学层切能力与轴向分辨率有所损失。研究人员一直探索在保证层切能力的前提下扩展视场的方法,从而提高光片显微镜性能。Dean等^[6]提出利用变焦镜头进行快速变焦,从而在接收面得到扩展视场后的成像结果。这种方法在扩展视场的同时没有增加光片的厚度,但是由于变焦镜头在快速扫描时将光片的不同位置叠加在一起,因此非焦面处的样本被激发,导致成像分辨率与层切能力的损失。Fahrbach等^[7]提出利用贝塞尔光束的非衍射性质扩展光片显微镜的视场,与利用高斯光束相比,这种方法扩展光片显微镜视场的效果明显,但贝塞尔光束本身具有旁瓣,并且旁瓣占据了光束很大一部分能量,导致光片位置能量的损失,且当增大激光能量时还会导致样本的光漂白与光毒性效应。

本文通过光束波前相位调制与图像拼接技术实现了光片显微镜对样本的宽视场成像。在不影响空间分辨率和层切能力的前提下扩展视场,改善光片显微镜性能,并通过数值模拟与样本成像实验验证上述扩展视场方法。

2 原理与方法

光片显微镜通过柱面镜或扫描高斯光束的方式生成了片状照明光束,同时光片显微镜的荧光探测光路与照明光路相互垂直。图1所示为柱面镜生成片状照明光束的光片显微镜原理图。由于光片显微镜的片状照明方式激发样本的范围较大且为CCD感光面探测,因此成像速度很快。光片尽可能地将激发光限制在感兴趣的探测焦面附近,只有焦面附近的荧光物质才会被激发,从而降低了非焦面荧光的干扰,提高了成像层切能力与轴向分辨率。与传统落射式照明不同,光片显微镜的照明光束从样本侧面进行激发,而探测光路在与照明光路相垂直的方向探测荧光,从探测方向上观察,激发光与样本作用的面积小,降低了光毒性效应与光漂白性^[8-10]。

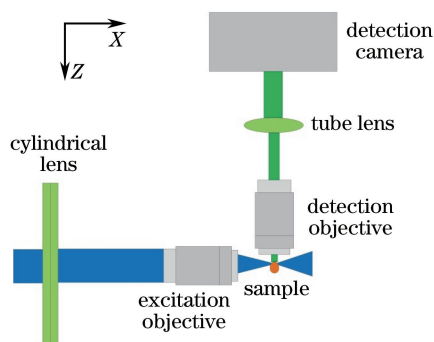


图1 光片显微镜原理图

Fig. 1 Schematic of light sheet microscope

光片显微镜的性能由光片的形状和能量分布决定。如图2(a)所示,当高斯光束光斑面积(S_1 或 S_2)为束腰处光斑面积(S_0)的两倍时,两个光斑之间的距离为瑞利长度。高斯光束共轭焦距(L_0)为瑞利长度(L_1 或 L_2)的两倍。光片视场的定义与瑞利长度有关,将高斯光束共轭焦距定义为光片的视场^[11]。如图

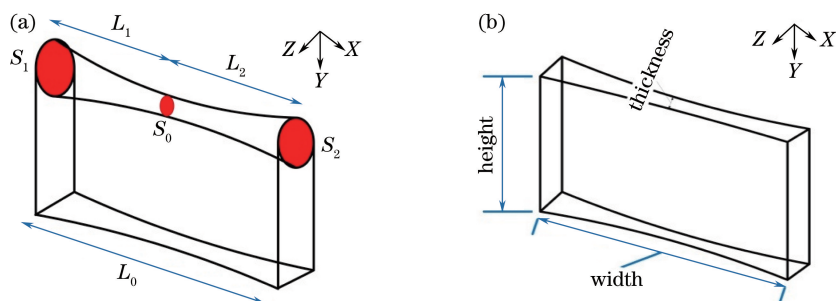


图 2 (a) 高斯光束瑞利长度及共轭焦距示意图; (b) 光片形状示意图

Fig. 2 (a) Gaussian beam Rayleigh length and conjugate focal distance; (b) illuminating light sheet

2(b)所示, X 方向为视场(宽度)所在方向; Y 方向上的光片高度取决于光束口径大小; Z 方向是探测光路光轴方向, 该方向表示光片的厚度, 光片厚度决定光片显微镜层切能力和轴向分辨率。

高斯光束形成光片的厚度为

$$d = \frac{\lambda}{2NA}, \quad (1)$$

光片的宽度(视场)为

$$w = \frac{\lambda}{n(1 - \cos \theta)}, \sin \theta = \frac{NA}{n}, \quad (2)$$

式中 λ 为激发波长, NA 为照明物镜的数值孔径, n 为折射率^[12]。根据(1)、(2)式, 取 $n=1$, 可得光片厚度与光片视场的关系, 如图 3 所示。

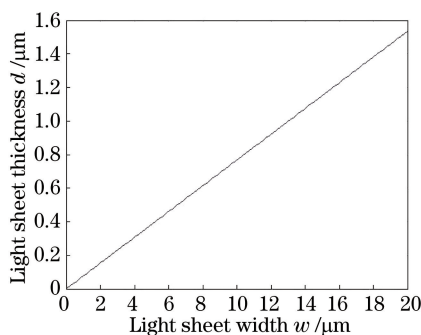


图 3 光片厚度与宽度的关系

Fig. 3 Relationship between length and thickness of light sheet

由图 3 可看出光片厚度与视场大小呈正比关系。光片显微镜的轴向分辨率、层切能力与光片厚度息息相关, 光片越薄, 轴向分辨率越高, 层切能力越好。但在追求分辨率与层切能力的同时, 光片宽度势必变小, 即视场范围变小, 导致成像效率降低, 因此光片显微镜必须在空间分辨率、层切能力、视场大小之间进行取舍。

本文提出了一种在不影响空间分辨率和层切能力的前提下扩展视场的方法, 实现了宽视场光片显微镜成像。空间光调制器(SLM)是一种调制光波光场分布的元件, 广泛应用于光学显微成像技术^[13-14]。通过 SLM 改变入射照明光束波前相位, 使光束沿光轴方向发生离焦。快速改变 SLM 上加载的离焦相位图, 生成一系列离焦光束, 再将这些离焦光束进行整合、拼接, 则在探测光路方向上得到扩展了的视场。模拟照明物镜的数值孔径 $NA=0.3$, 激发波长 $\lambda=488 \text{ nm}$, 折射率 $n=1$ 。利用物镜聚焦面处光强分布进行数值仿真^[15-17]。仿真结果如图 4 所示, 图 4(a)~(c)所示为 SLM 上加载的相位图, 离焦系数分别为 $-6.5, 0, +6.5$ 。图 4(a)~(c)右列分别为相应聚焦光斑在 XZ 平面内的点扩展函数。离焦光斑位置随着离焦系数的变化而变化。通过 SLM 软件对相位图进行转换, 可以得到这些离焦光束, 再将这些离焦光束进行图像拼接, 则在探测光路方向上会得到扩展了的视场。图 4(d)所示为离焦光束焦点位置光斑进行图像拼接的结果。如上所述, 可在不牺牲分辨率与层切能力的情况下扩展视场。

将 $NA=0.3, n=1, \lambda=488 \text{ nm}$ 代入(1)、(2)式得到光片厚度 $d=0.81 \mu\text{m}$, 光片视场 $w=10.71 \mu\text{m}$ 。在

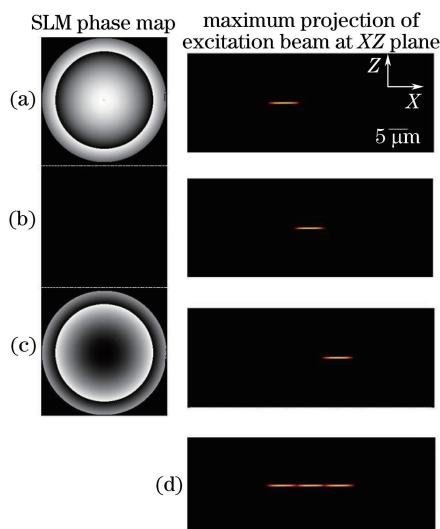


图 4 光束波前相位调制数值仿真结果。(a)离焦系数为 -6.5 时的焦面光强分布;(b)离焦系数为 0 时的焦面光强分布;(c)离焦系数为 $+6.5$ 时的焦面光强分布;(d)各位置处的焦面光强分布拼接图

Fig. 4 Simulation results of beam wavefront phase modulation. (a) Beams generated by adding a $+6.5$ off-axis binary spherical phase map; (b) beams generated by adding a 0 off-axis binary spherical phase map; (c) beams generated by adding a -6.5 off-axis binary spherical phase map; (d) extended field of view by tiling excitation beams

SLM 上分别加载离焦系数 $-6.5, 0, +6.5$,从相位图可以得到上述离焦光束,再将这些离焦光束进行图像拼接得到 $32.13 \mu\text{m}$ 的视场。视场范围由原来的 $10.71 \mu\text{m}$ 扩展到 $32.13 \mu\text{m}$,视场增大到原视场的 3 倍。

宽视场光片显微镜成像是将光片依次移动到样本中 3 个不同位置照明样本成像,再将这些图像进行剪裁和拼接,最后得到一个宽视场图像。 3 个小视场图像在拼接之前,每个小视场的光束中心能量集中,光束两端能量发散。由于光束中心和两端的亮度不均,如果将 3 个小视场的成像图像按照首尾相连依次拼接,则导致最终拼接的宽视场成像图像的亮度不均。为避免这种情况,当聚焦光束在样本中移动时,仅选择光束中心附近亮度均匀的部分照明样本的目标成像位置,同时选择的所有目标成像位置都依次相邻。对目标位置处的图像进行剪裁、选择、拼接,得到完整的宽视场光片显微镜成像,可将亮度不均带来的影响降到最低。

与普通光片显微镜相比,宽视场光片显微镜对样本成像图像的拼接需要对样本不同位置进行光片照明,再将这些图像进行拼接得到宽视场光片成像图像,因此牺牲了成像速度,但却成倍扩大了视场。与生物学研究中常用的共聚焦显微镜相比,由于光片显微镜的片状照明方式激发样本的范围相对较大且为 CCD 感光面探测,因此本文提出的宽视场光片显微镜成像速度依然较快。

3 成像实验与结果

3.1 荧光微球成像

搭建了光片显微镜光路系统,并对荧光微球进行了成像实验。将 110 nm 荧光微球溶于 1% (质量分数)琼脂糖溶液中,均匀混合,然后降温凝固成凝胶作为实验成像样本。如图 5 所示,由 488 nm 激光器产生的激光依次经过偏振片,扩束镜扩束后入射到分光棱镜(PBS)上分光。激光入射到 SLM 上,选用的 SLM 为纯相位调制型。将离焦相位图加载到 SLM 后,经过调制的光束返回分光棱镜并透射,通过振镜扫描光束的方式得到片状光,光片通过照明物镜激发样本发出荧光。在探测方向上,样本发出的荧光依次通过探测物镜、筒镜、荧光滤色块,最后射入 CCD 进行成像。宽视场光片成像图像获取过程如下:1)由扫描振镜扫描光束形成光片,生成的光片照明样本,并通过探测物镜对视场范围内的样本进行成像,获得光片处于位置 1 的图像;2)在 SLM 上加载正离焦系数的相位图使聚焦光斑位置发生移动,从而实现光片的位置改变,探测物镜对样本区域进行成像,获得光片处于位置 2 的图像;3)在 SLM 上加载负离焦系数的相位图,获得光片处于位置 3 的图像;4)将光片处于 3 个不同位置处获得的样本图像进行剪裁和拼接,形成一个宽视场图像。将溶有荧光微球的琼脂糖凝胶放入样品槽中,激发光照明样本,CCD 探测并收集荧光信号。安道尔制冷 CCD(英国)的

曝光时间设置为 0.3 s。通过 C 语言进行编程,设计控制程序,对 CCD、精密电动位移台和 SLM 进行自动控制。考虑到 CCD 曝光时间、精密电动位移台移动时间与 SLM 更换相位图片时间,单张宽视场成像图片的采集时间为 1 s。对样本进行三维重建时,通过控制精密电动位移台移动,以 $0.5 \mu\text{m}$ 为步距移动样本,拍摄 600 张图像,采用 Imaris 软件对这些荧光微球成像图片进行三维重建。每一张宽视场成像结果都由 3 张小视场光片图片剪裁和拼接形成,这 3 张图片分别是光片在 3 个位置处对样本的成像结果。实验中,原始小视场光片成像图片共 1800 张,宽视场图像拼接结果为 600 张。为分析成像结果的层切能力,选取 XZ 面荧光微球的成像结果进行视场扩大实验的验证。利用该方法生成一系列不同位置处的离焦光束图像,并将这些图像进行剪切、拼接,则在探测光路方向上会得到扩大的视场。

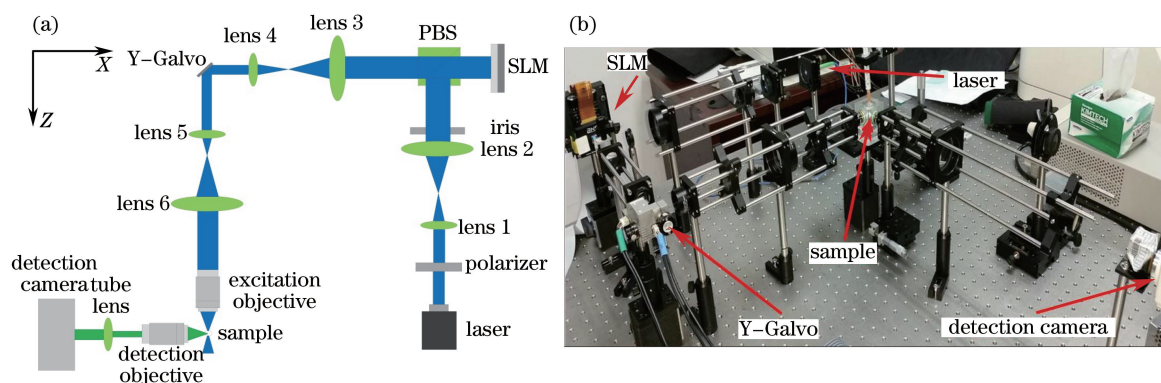


图 5 实验系统。(a)实验光路原理图;(b)实验光路实物图

Fig. 5 Experimental system. (a) Schematic of experimental system; (b) photograph of experimental system

光片显微镜对荧光微球的成像结果如图 6 所示。图 6(a)~(c)所示分别为离焦系数为 $-6.5, 0, +6.5$ 的荧光微球 XZ 平面成像结果。将这些离焦光束对样本不同位置所成的像进行剪裁、拼接,则在探测光路方向上会得到扩大的成像结果[图 6(d)]。图 6(e)~(h)分别为图 6(a)~(c)中单个荧光微球的放大图像。图 6(i)为图 6(e)~(h)单个荧光微球在 Z 方向上的光强分布。荧光微球在 XZ 面中的分布情况反映了轴向分辨率的高低,也反映了层切能力。由于光片厚度很小,只有焦点附近的荧光物质才会被激发,降低了非焦点荧光的干扰,因此位于光片区域中的荧光微球在探测光轴方向(即 Z 方向)有较高的轴向分辨率。由(1)式可得照明光路的横向分辨率为 $0.81 \mu\text{m}$,即探测光路轴向分辨率为 $0.81 \mu\text{m}$ 。当 Z 轴方向上荧光微球点扩展函数尺寸可达 $0.81 \mu\text{m}$ 时,认为此荧光微球轴向可分辨且位于视场区域中,由此界定视场范围^[18-19]。可以清楚地判定图 6(a)~(c)中虚线框内区域是光片所在位置,从 CCD 上测得视场大小为 $10.60 \mu\text{m}$,这与由(2)式计算得到的光片视场理论值 $10.71 \mu\text{m}$ 接近。图 6(a)~(c)中光片的位置变化验证了在 SLM 上加载离焦相位可实现光片位置的变换。

图 6(f)中荧光微球在 Z 方向半峰全宽很大,而图 6(e)、(g)、(h)中半峰全宽相对窄小,说明图 6(e)、(g)、(h)轴向分辨率比图 6(f)高。通过图中光强分布可以看到图 6(e)~(h)的光强分布对比。将图 6(a)~(c)图像进行拼接,即将图 6(a)左侧部分、图 6(b)中间部分,图 6(c)右侧部分进行拼接、整合,可以得到荧光微球宽视场成像结果[图 6(d)],通过 CCD 图像测得图 6(d)视场大小为 $31.93 \mu\text{m}$,在 XZ 面可以直观地看到轴向分辨率与层切能力的高低。对比图 6(b)、(d)可得,图 6(b)的视场范围从 $10.60 \mu\text{m}$ 扩展到了图 6(d)的 $31.93 \mu\text{m}$ 。图 6(d)具有很好的层切能力,且视场范围扩大到原视场的 3 倍以上,在不影响轴向分辨率和层切能力的前提下,扩展了宽视场光片显微镜视场。图 6(a)~(d)样本图片的视场宽度为 $31.93 \mu\text{m}$,高度为 $20.06 \mu\text{m}$,视场范围为 $640.52 \mu\text{m}^2$ 。

3.2 花粉成像

在图 5 所示实验系统中进行菊花花粉的成像实验。常温下,将菊花花粉管固定并浸入到样品槽的水中进行光片显微镜成像。首先利用 LED 灯进行明场照明,找到花粉管上附着的花粉位置。然后关闭明场照明并打开 488 nm 激光进行光片照明,CCD 探测接收花粉发出的荧光成像。由于菊花花粉大小约为 $20 \mu\text{m}$,而光片视场为 $10.60 \mu\text{m}$,只需要拼接两个样本位置的图像。在 SLM 上加载离焦相位图,离焦系数分别为 0,

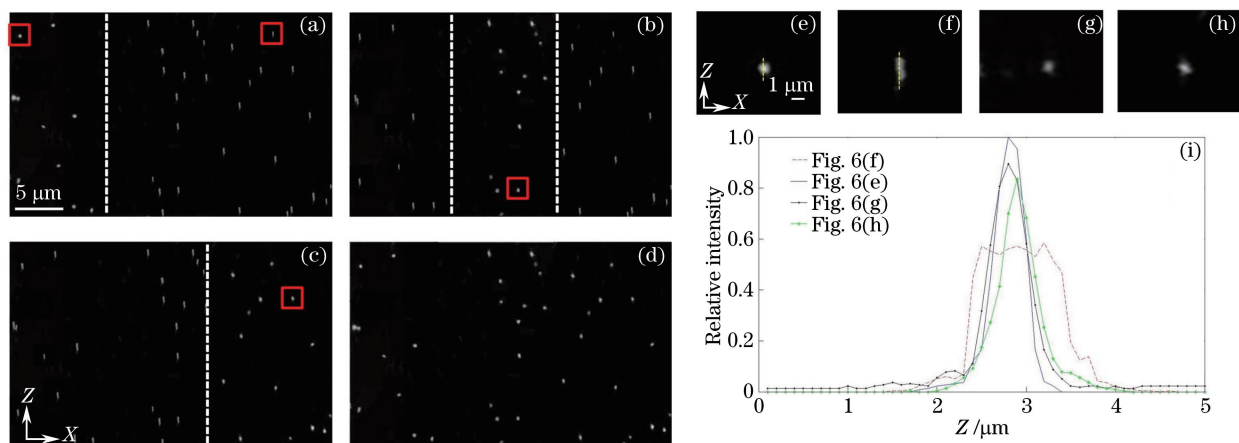


图 6 XZ 平面处宽视场光片显微镜荧光微球三维成像结果。(a)(b)(c)离焦系数分别为 $-6.5, 0, +6.5$ 的片状激发光照明的 XZ 面荧光微球成像结果;(d)剪切拼接图 6(a)~(c)得到的荧光微球成像结果;(e)(f)(g)(h)分别为图 6(a)~(c)中标记的单个荧光微球的放大图像;(i)图 6(e)~(h)中单个荧光微球在 Z 方向上的光强分布

Fig. 6 3D imaging of fluorescent particles at XZ plane by light sheet microscopy. (a)(b)(c) Fluorescent particle images at XZ plane illuminated by excitation light sheet when the defocus coefficients are $-6.5, 0, +6.5$ respectively; (d) fluorescent particle image obtained by tiling Figs. 6(a)-(c); (e)(f)(g)(h) magnified views of selected fluorescent particles marked in Figs. 6(a)-(c); (i) intensity distribution of single fluorescent particles in Figs. 6(e)-(h) in Z direction

$+6.5$, 光片显微镜对花粉进行成像。如图 7(a)、(b)所示, 激发光束发生离焦, 激发光片聚焦在花粉的不同位置, 探测 CCD 分别对不同花粉位置进行成像, 可以看到图 7(a)中虚线左侧花粉图像清晰, 右侧模糊, 图 7(b)虚线右侧花粉图像清楚, 左侧模糊。将这两幅图像的清晰部分进行拼接处理, 得到一幅视场大小为 $20 \mu\text{m}$ 的完整花粉图像, 如图 7(c)所示。

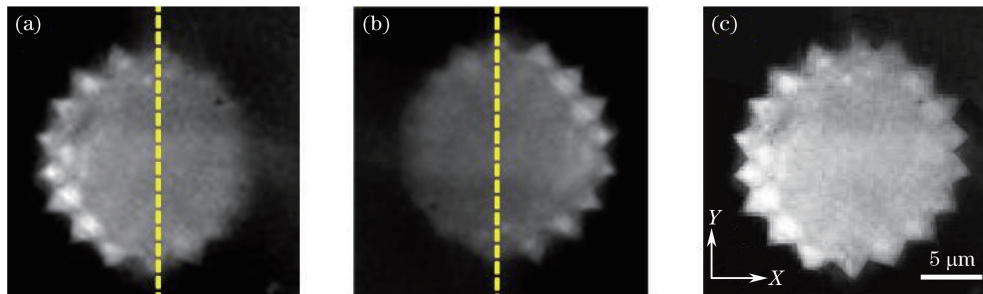


图 7 菊花花粉宽视场成像。(a)(b)分别为片状激发光照明视场左、右侧时菊花花粉的 XY 面成像结果;(c)剪切拼接图 7(a)虚线左侧图像与图 7(b)虚线右侧图像并进行图像增强得到的完整菊花花粉图像

Fig. 7 FOV-extended imaging of chrysanthemum pollen. (a)(b) Imaging results of chrysanthemum pollen at XY plane when the excitation light sheet illuminates the left side and the right side of FOV respectively; (c) completed chrysanthemum pollen image obtained by tiling the left half image in Fig. 7(a) and the right half image in Fig. 7(b) and performing image enhancement

通过光片显微镜对菊花花粉的成像实验, 验证了在不损失分辨率与层切能力的前提下可扩展花粉成像的视场。从只能对花粉局部清晰成像, 到对花粉整体都清楚成像, 视场大小由 $10 \mu\text{m}$ 扩大到 $20 \mu\text{m}$, 同时确保了光片显微镜系统仍然对花粉整体成像具有很好的层切能力。光片显微镜的照明光路与探测光路垂直, 所以成像质量很大程度上取决于照明光入射样本的情况。由于菊花花粉本身透明度不够, 受 488 nm 激光穿透样本能力的限制, 靠近激发光入射面处的花粉位置成像质量好于花粉深处。对图像进行图像增强处理可以提高最终的成像质量。

4 结 论

在光片显微镜成像基础上提出了一种确保层切能力前提下扩展视场的方法。通过 SLM 改变入射照明光束波前相位,使光束聚焦位置在光轴方向发生离焦偏移。利用该方法生成一系列聚焦光束,再将这些聚焦光束激发的荧光图像进行剪裁、拼接,则在探测光路方向上得到扩展了的视场。通过所提出的方法,可以在保持光片厚度 $0.81\ \mu\text{m}$ 的情况下,将视场从原来的 $10.60\ \mu\text{m}$ 扩展到 $31.93\ \mu\text{m}$ 。通过数值模拟与实验对上述视场扩展方法进行验证。该方法解决了由于光片形状造成的光片显微镜成像视场范围小的问题,改善了光片显微镜性能,扩大了光片显微镜在生物科学中的应用范围。

参 考 文 献

- Mitchell T J, Saunter C D, O'Nions W, *et al.* Adaptive optimisation of illumination beam profiles in fluorescence microscopy[J]. SPIE, 2015, 9335: 93350B.
- Mertz J, Kim J. Scanning light-sheet microscopy in the whole mouse brain with HiLo background rejection[J]. Journal of Biomedical Optics, 2010, 15(1): 016027.
- Fuchs E, Jaffe J S, Long R A, *et al.* Thin laser light sheet microscope for microbial oceanography[J]. Optics Express, 2002, 10(2): 144-154.
- Huisken J, Stainier D Y R. Selective plane illumination microscopy techniques in developmental biology [J]. Development, 2009, 136: 1963-1975.
- Santi P A. Light sheet fluorescence microscopy: A review[J]. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 2015, 59(2): 129-138.
- Dean K M, Fiolka R. Uniform and scalable light-sheets generated by extended focusing[J]. Optics Express, 2014, 22(21): 26141-26152.
- Fahrbach F O, Gurchenkov V, Alessandri K, *et al.* Self-reconstructing sectioned Bessel beams offer submicron optical sectioning for large fields of view in light-sheet microscopy[J]. Optics Express, 2013, 21(9): 11425-11440.
- Yu B, Yu J, Li W H, *et al.* Nanoscale three dimensional single particle tracking by light sheet based double-helix point spread function microscopy[J]. Applied Optics, 2016, 55(3): 449-453.
- Nylk J, Mitchell C, Vettenburg T, *et al.* Wavefront shaping of a Bessel light field enhances light sheet microscopy with scattered light[J]. SPIE, 2014, 8949: 89490V.
- Olarte O E, Rodriguez J L, Palero J A, *et al.* Image formation by linear and nonlinear digital scanned light sheet fluorescence microscopy with Gaussian and Bessel beam profiles[J]. Biomedical Optics Express, 2012, 3(7): 1492-1505.
- Gao L. Optimization of the excitation light sheet in selective plane illumination microscopy [J]. Biomedical Optics Express, 2015, 6(3): 881-890.
- Gao L. Extend the field of view of selective plan illumination microscopy by tiling the excitation light sheet[J]. Optics Express, 2015, 23(5): 6102-6111.
- Du Yanli, Ma Fengying, Gong Qiaoxia, *et al.* Optical microscopic imaging technology based on spatial light modulator [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2014, 51(2): 020002.
杜艳丽, 马凤英, 弓巧侠, 等. 基于空间光调制器的光学显微成像技术 [J]. 激光与光电子学进展, 2014, 51(2): 020002.
- Li Bo, Wu Guiling, Su Feiran, *et al.* Analysis and experimental study on phase-encoded photonic analog-to-digital conversion based on phase modulator[J]. Chinese J Lasers, 2015, 42(5): 0505002.
李 博, 吴龟灵, 苏斐然, 等. 基于相位调制器的相位编码光模数转换分析和实验研究 [J]. 中国激光, 2015, 42(5): 0505002.
- Xiao Yun, Zhang Yunhai, Wang Zhen, *et al.* Effect of incident laser on resolution of LSCM[J]. Optics and Precision Engineering, 2014, 22(1):31-38.
肖 昀, 张运海, 王 真, 等. 入射激光对激光扫描共聚焦显微镜分辨率的影响 [J]. 光学 精密工程, 2014, 22(1): 31-38.
- Liu Qinxiao, Yu Feihong. Design and research of wavefront coding microscope system based on traditional microscope system[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(3): 0322004.
刘钦晓, 余飞鸿. 基于传统显微系统的波前编码显微系统设计研究 [J]. 光学学报, 2014, 34(3): 0322004.
- Shen Chuan, Zhang Cheng, Liu Kaifeng, *et al.* Research on issues about reconstructed holographic image based on a

pixelated spatial light modulator[J]. Acta Optica Sinica, 2012, 32(3): 0309001.

沈 川, 张 成, 刘凯峰, 等. 基于像素结构空间光调制器的全息再现像问题研究[J]. 光学学报, 2012, 32(3): 0309001.

18 Engelbrecht C J, Voigt F, Helmchen F. Miniaturized selective plane illumination microscopy for high contrast *in vivo* fluorescence imaging[J]. Optics Letters, 2010, 35(9): 1413-1415.

19 Xue Qingsheng. Optical system design of wide field of view and large relative aperture hyper-spectral imager[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(2): 0222003.

薛庆生. 宽视场大相对孔径高光谱成像仪光学系统设计[J]. 光学学报, 2014, 34(2): 0222003.