

# 基于 Hadamard 优化矩阵的多分辨显微 关联成像研究

冯悦姝<sup>1,2</sup>,周成<sup>1,2</sup>,刘轩<sup>3</sup>,刘小涵<sup>1,2</sup>,宋立军<sup>1,2\*</sup> <sup>1</sup>吉林工程技术师范学院量子信息技术交叉学科研究院,吉林长春 130052; <sup>2</sup>吉林省量子信息技术工程实验室,吉林长春 130052; <sup>3</sup>长春理工大学电子信息工程学院,吉林长春 130022

**摘要** 为满足显微成像领域的多样化需求,解决实际应用中成像质量与成像时间之间的矛盾,提出一种基于数字 微镜器件的多分辨显微关联成像方法。该方法利用 LED 光源作为背景照射光源,对科研级荧光正置显微镜原光 路改装设计为关联成像光路,采用多分辨 Hadamard 优化矩阵作为数字微镜器件的预置图样,实现了生物组织样 品的连续多分辨成像。实验结果表明,多分辨显微关联成像系统的分辨率可达 218 nm,单组测量后可同时输出 8 组不同分辨率图像,能够根据实际应用中不同图像质量需求选择不同的分辨率,减少成像时间和存储空间,极大地 提高了显微成像的灵活性。这种新型多分辨显微关联成像方法可以扩展至细胞筛选、细胞实时成像等领域,对推 动关联成像在细胞和生物组织显微成像领域的应用具有重要意义。

# Study of Multi-Resolution Microscopic Correlation Imaging Based on Optimized Hadamard Matrix

Feng Yueshu<sup>1,2</sup>, Zhou Cheng<sup>1,2</sup>, Liu Xuan<sup>3</sup>, Liu Xiaohan<sup>1,2</sup>, Song Lijun<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Institute for Interdisciplinary Quantum Information Technology, Jilin Engineering Normal University, Changchun, Jilin 130052, China;

 <sup>2</sup> Jilin Engineering Laboratory for Quantum Information Technology, Changchun, Jilin 130052, China;
 <sup>3</sup> School of Electronic Information Engineering, Changchun University of Science and Technology, Changchun, Jilin 130022, China

**Abstract** A multi-resolution microscopic correlation imaging method based on a digital micromirror device was proposed to meet the diverse needs of microscopic imaging and resolve the contradiction between imaging quality and imaging time in practical applications. In this method, an LED was used as the background illumination source, and the original optical path of a research-grade upright fluorescence microscope was modified to be an optical path of correlation imaging. The multi-resolution optimized Hadamard matrix was adopted as the preset pattern of the digital micromirror device. Continuous multi-resolution microscopic imaging of biological tissue samples was achieved by this system. The experimental results demonstrate that the resolution of the multi-resolution microscopic correlation imaging system reaches 218 nm. Eight groups of images in different resolutions can be output simultaneously after a single measurement. Therefore, different resolutions can be selected according to particular image quality requirements in practical applications. By reducing the imaging time and storage space needed, this system greatly improves the flexibility of microscopic imaging. The proposed multi-resolution

收稿日期: 2021-04-06;修回日期: 2021-05-01;录用日期: 2021-05-17 基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20200404141YY)、吉林省教育厅"十三五"科学研究规划项目(JJKH20200171KJ) 通信作者: \*ccdxslj@126.com

#### 研究论文

microscopic correlation imaging method can be extended to fields such as cell screening and real-time cell imaging. It is expected to promote the application of correlation imaging in microscopic imaging of cells and biological tissues. **Key words** imaging systems; microscopic imaging; correlation imaging; digital micromirror device; optimized Hadamard matrix; multi-resolution imaging

OCIS codes 110.0180; 110.1758; 110.3010

### 1 引 言

显微成像技术作为研究生物器官、组织和细胞 的主要手段,对生物和医学的发展起到了极大推动 作用。传统显微成像技术主要依赖光学显微镜,因 其低信噪比且易受光学衍射极限影响,已无法满足 生物医学快速发展的需求<sup>[1]</sup>。超分辨显微成像虽可 以提高空间分辨率,但需较长的时间测量和大量的 数据处理,技术复杂,成本相对较高<sup>[2-3]</sup>。电子显微 镜的电子束照射会对样品造成辐照损伤,难以观测 活生物样品而限制了其应用领域<sup>[4]</sup>。

研究人员一直在寻求一种高效便捷的生物医学 显微应用成像方式,以便在不损坏测试样本的同时 提高成像空间分辨率<sup>[5-8]</sup>。临床应用中由于成像需 求及测试样本的多元化,往往导致测试人员无法确 认每个样本观测的最佳分辨率,较高的空间分辨率 通常会在成像和数据处理方面带来较大的资源消 耗。如果图像分辨率过低,则不能满足临床观测要 求,需要重新测试以获取更高分辨率图像,测试时间 将成倍增加;针对细胞筛选等实时成像需求,如果获 得的图像分辨率高于实际需要,则大量的时间消耗 和存储空间反而造成一种资源浪费。因此,如何根 据临床应用精确获得合适分辨率的图像,减少不必 要的时间消耗是目前显微成像应用领域亟待解决的 课题<sup>[9-11]</sup>。

如果能够根据临床应用所需成像质量实时控制 成像时间,输出不同分辨率成像结果,实现多分辨成 像,将为上述问题提供一种良好的解决途径。近期, Zhou等<sup>[12]</sup>提出一种连续多分辨计算关联成像方 法。所谓计算关联成像是指利用光场的高阶关联来 获得物体的空间或相位分布信息。相比传统关联成 像方法,计算关联成像光路简单,可以通过设计特殊 散斑图样提高图像重构质量。这种成像方式由于其 空间分辨率高、抗干扰能力强、物像分离等优势,在 生物医学领域具有巨大的应用潜力<sup>[13-20]</sup>。连续多分 辨计算关联成像方法则是采用 Hadamard 优化矩阵 作为预置图样,按偶阶顺序从低到高对 Hadamard 矩阵进行重新优化排序,每个偶阶矩阵实现一种分 辨率的重构成像。

近年来,一些将关联成像方法应用于显微成像 领域的研究工作相继被报道。2016年,Yu等<sup>[21]</sup>搭 建了基于数字微镜器件(DMD)的差分关联成像系 统,成功实现微弱光照条件下的微米级样品成像。 2018年,Peng 等<sup>[22]</sup>提出一种基于阵列单像素探测 器的光场显微成像系统,重建样本在不同视角下的 视差图像,从而获得样本在不同深度的差分相衬图。 同年,Ota 等<sup>[23]</sup>提出一种基于单像素探测器的细胞 识别和分选系统"关联成像细胞测定仪",它将关联 成像技术与人工智能相结合,实现细胞的高通量、高 速识别和分选。2019年,Li等<sup>[24]</sup>提出基于稀疏关 联成像的宽场显微成像法,有效利用荧光发射器的 稀疏性,对一幅原始图像进行压缩感知重构,将成像 分辨率提高至 80 nm。2020年,朱孝辉等<sup>[25]</sup>通过对 双臂式显微关联成像系统二阶关联函数及分辨率公 式的理论分析和仿真实验,发现显微关联成像系统 能够显著提高成像分辨率,并且分辨率随参考臂透 镜数值孔径的增加而增大。

综上所述,本文将计算关联成像方法与普通光 学显微镜相结合,通过基于显微镜主体的软硬件改 装,设计了一种新型显微关联成像系统,采用多分辨 Hadamard 优化矩阵作为 DMD 的预置图样,简单快 速地实现生物组织样品的多分辨成像。这种多分辨 率显微成像方式,可以灵活应用于细胞、生物组织高 质量成像及细胞筛选等高速识别领域。

# 2 基于 Hadamard 优化矩阵多分辨关 联成像原理

本文采用 Hadamard 优化矩阵进行多分辨关联 成像研究。Hadamard 矩阵是由+1和-1元素构 成的方阵,具有正交性和完备性,Hadamard 矩阵可 由克罗内克积快速生成,表示为

$$\boldsymbol{H}_{2^{k}} = \boldsymbol{H}_{2^{1}} \otimes \boldsymbol{H}_{2^{k-1}} = \begin{bmatrix} +\boldsymbol{H}_{2^{k-1}} & +\boldsymbol{H}_{2^{k-1}} \\ +\boldsymbol{H}_{2^{k-1}} & -\boldsymbol{H}_{2^{k-1}} \end{bmatrix}, (1)$$

其中,

$$\boldsymbol{H}_{2^{1}} = \begin{bmatrix} +1 & +1 \\ +1 & -1 \end{bmatrix}, \quad (2)$$

式中: ※表示克罗内克积; k 为大于2的整数。对于

| 产生 | т | 行n | 列 $(m=n)$ 的    | Hadamard | 矩阵可表示为 |
|----|---|----|----------------|----------|--------|
|    |   |    | $H_{\perp}(n)$ | (n,n) =  |        |

|        | 2       |     |        |   |     |
|--------|---------|-----|--------|---|-----|
| H(1,1) | H(1,2)  | ••• | H(1,n) |   |     |
| H(2,1) | H(2,2)  | ••• | H(2,n) |   | (0) |
| :      | :       |     | :      | 0 | (3) |
| H(m,1) | H(m, 2) |     | H(m,n) |   |     |

为实现如图 1 所示的基于 Hadamard 矩阵的计 算关联成像,我们将 Hadamard 矩阵  $H_{2^k}(m,n)$ 的 每一行组成一个空间光场  $H^m(x,y), m = 1, 2,$ 3,…,M,其中 M 为利用 Hadamard 矩阵生成用于 空间光场调制的矩阵数量。将  $H^m(x,y)$ 加载到 DMD 设备上实现空间光场的调制。光源发出的光 束照射到 DMD 上,经 DMD 调制后的空间光场通过 成像透镜照射到物体 O(x,y)上,空间光场与物体 作用后所有的光场强度被单像素探测器收集,相应 的探测值用  $H^m$ 表示。



图 1 计算关联成像原理图

Fig. 1 Diagram of computational correlated imaging

经过 M 次测量后,物体重构图像的二阶关联成 像公式表示为

$$\boldsymbol{G}(x,y) = \langle \boldsymbol{B}^m \cdot \boldsymbol{H}^m(x,y) \rangle, \qquad (4)$$

式中:*G*(*x*,*y*)代表空间光场和单像素探测器探测 值的二阶关联函数;〈〉表示求系综平均。为了方便 说明问题,将二阶关联成像公式表示成矩阵形式,其 中探测值 *B*<sup>m</sup> 可以表示为一维列向量,

$$\boldsymbol{B} = \begin{bmatrix} B^1 & B^2 & \cdots & B^M \end{bmatrix}^{\mathrm{T}}, \tag{5}$$

式中:[]<sup>T</sup>表示矩阵的转置。同时将物体 O(x,y) 表示为一维列向量,

 $O = [O(1,1) \quad O(1,2) \quad \cdots \quad O(m,n)]^{T}$ 。(6) 由于关联成像用于空间光场调制的 Hadamard 矩阵  $H^{m}(x,y)$ 是由  $H_{2^{k}}(m,n)$ 的每一行组成,所以 在矩阵形式中设  $H = H_{2^{k}}(m,n)$ 。所有探测值向量

#### 第 41 卷 第 21 期/2021 年 11 月/光学学报

由此,(4)式即可被改写为

 $B = HO_{\circ}$ 

$$\boldsymbol{G} = \frac{1}{M} \boldsymbol{H}^{\mathrm{T}} \boldsymbol{B} = \frac{1}{M} \boldsymbol{H}^{\mathrm{T}} \boldsymbol{H} \boldsymbol{O}_{\circ}$$
(8)

(7)

由于每一阶的 Hadamard 矩阵都是正交且完备 的,所以  $H^{T}H$  的结果为对角阵。由(8)式可以得 出,在满采样(m=M)时,关联成像可以获得一种近 乎完美的重构图像。且 Hadamard 矩阵的阶数越 大, $H^{m}(x,y)$ 中x 和y 的数量越大,即成像分辨率 越高。由(1)式所示 Hadamard 矩阵的生成规则可 知,高阶的 Hadamard 矩阵包含其所有低阶矩阵。 所以,将高阶 Hadamard 矩阵包含其所有低阶矩阵依 次前排(文献[12]对多分辨 Hadamard 矩阵优化做 了详细讨论),即可在探测次数m=M时得到当前 分辨率及其所有的低分辨率成像结果。为获得多分 辨重构图像,本文中均采用多分辨 Hadamard 优化 矩阵进行多分辨显微关联成像实验。

基于 Hadamard 优化矩阵的多分辨显微关联成 像流程图如图 2 所示,在完成初始参数设置后,控制 DMD 和单像素探测器同步,对 DMD 加载的测量矩 阵和单像素探测器同步采集的数据进行二阶关联运 算,重构目标物体图像。实时判断图像分辨率是否 满足实际应用场景需求,如果满足可直接输出多分 辨图像,不满足则进一步提高采样次数,以提升重构 图像分辨率直至满足需求。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 多分辨显微关联成像系统设计

多分辨显微关联成像系统主要由光源、显微镜、 DMD、单像素探测器四部分构成,系统主体部分为 正置荧光显微镜(BX53,Olympus,日本)。在保留 原有显微镜主要功能的基础上,对显微镜光源、内部 光路进行改装设计,通过在显微镜主体上增加多个 通光口,实现光信号在不同成像条件下切换成不同 方式导入。其中,采用 LED 冷白光(MCWHLP1, Throlabs,美国)替换显微镜原有的卤素灯作为明场 照明光源,LED 冷白光具有稳定性好、使用寿命长、 低能耗等优点。将冷白光从显微镜底部导入照射位 于样品台上的生物组织。在显微镜主体上另外增加 分光装置,并在分光装置旁侧预留通光口,保证样品 光信号正常进入目镜和 CCD 相机的同时,能够通过 外置光机桶装置导出。外置光机桶内透镜可根据实 际需求沿光轴前后移动,对成像焦平面进行调节。





实际成像过程中,携带样品信息的光信号垂直 通过物镜后被分成两束:一束信号光直接由 CCD 相 机(像素为 2688×2200,像素尺寸为 4.54  $\mu$ m)接 收,用于确定成像视场。另一束信号光通过外置光 机桶投射至 DMD(像素为 1024×768,像素尺寸为 13.7  $\mu$ m),经过 DMD 调制后被单像素探测器 (PDA100A2, Thorlabs, 美 国)接收。通过 Hadamard矩阵和单像素探测器探测强度的二阶关 联运算,获得样品的重构图像,多分辨显微关联成像 系统光路示意图如图 3 所示。

#### 3.2 多分辨显微关联成像实验结果分析

本文选择较为复杂的生物组织切片(结节性甲 状腺肿)作为待测目标物体,如图 4(i)所示。显微关 联成像实验过程中对目标物体进行 20 倍物镜放大, 获取了 8 组不同分辨率的成像结果,结果如 图 4(a)~(h)所示。在图像分辨率分别为 2×2  $(M=2^{2\times 1})$ 、4×4( $M=2^{2\times 2}$ )、8×8( $M=2^{2\times 3}$ )和



图 3 多分辨显微关联成像系统光路示意图 Fig. 3 Schematic of optical path for multi-resolution microscopic correlated imaging system

 $16 \times 16$  (*M* =  $2^{2 \times 4}$ )的低分辨情形,由图 4(a)~(d) 可以发现生物组织的重构图像无法被分辨。随着采 样次数的增加,生物组织的重构图像逐渐变得清晰, 当图像分辨率为  $32 \times 32(M = 2^{2 \times 5})$ 时,如图 4(e)所 示,生物组织的轮廓已经能够比较清楚地进行识别, 此时重构成像分辨率可以满足细胞筛选、血流速度 测试等领域的应用。随着采样次数的进一步增加, 重构图像质量明显提高,生物组织的更多边缘细节 清晰可见,当分辨率达到 256×256(M=2<sup>2×8</sup>)时,如 图 4(h)所示,可以获得更高质量的重构图像,图像 分辨率随着测量时间的增加而稳步提高。上述连续 多分辨显微关联成像过程中,单组测量后可同时输 出8组不同分辨率图像,既可以获得高分辨率图像, 又能够满足活细胞成像、神经科学、细胞筛选、血流 成像等实时成像中低分辨率图像的需要。实际应用 中可以根据对待测目标物体的不同图像质量需求选 择不同的分辨率,平衡成像质量与成像时间之间的 矛盾关系[26-29]。

为进一步说明多分辨显微关联成像技术的时间 分辨率性质,利用表 1 和表 2 对比分析了不同空间 分辨率下的成像时间和存储空间。其中,表 1 为不 同空间分辨率图像的成像时间,包含数据采集时间 和图像重构时间两部分;表 2 为不同空间分辨率图 像的存储空间,包含 Hadamard 矩阵占用的存储空 间和单像素探测器探测值占用的存储空间两部分, 其中每个单像素探测器的探测值占用 8 个字节。随



- 图 4 生物组织切片多分辨显微关联成像重构结果。(a)  $M = 2^{2\times 1}$ (分辨率:2×2);(b)  $M = 2^{2\times 2}$ (分辨率:4×4);(c)  $M = 2^{2\times 3}$ (分辨率:8×8);(d)  $M = 2^{2\times 4}$ (分辨率:16×16);(e)  $M = 2^{2\times 5}$ (分辨率:32×32);(f)  $M = 2^{2\times 6}$ (分辨率:64×64); (g)  $M = 2^{2\times 7}$ (分辨率:128×128);(h)  $M = 2^{2\times 8}$ (分辨率:256×256);(i) 原图
- Fig. 4 Reconstruction results of multi-resolution microscopic correlated imaging for biological tissue section. (a) M=2<sup>2×1</sup> (2×2 resolution); (b) M = 2<sup>2×2</sup> (4×4 resolution); (c) M = 2<sup>2×3</sup> (8×8 resolution); (d) M = 2<sup>2×4</sup> (16×16 resolution); (e) M = 2<sup>2×5</sup> (32×32 resolution); (f) M = 2<sup>2×6</sup> (64×64 resolution); (g) M = 2<sup>2×7</sup> (128×128 resolution); (h)M=2<sup>2×8</sup> (256×256 resolution); (i) original image

着成像空间分辨率的提高,成像时间逐步增长,所需 存储空间逐步增大。

由于 Hadamard 矩阵的特殊性,高阶的 数据。实际应用 Hadamard 矩阵包含其所有低阶矩阵。将高阶 率图像,节约了 表1 不同空间分辨率图像的成像时间

Hadamard 矩阵中包含的低阶矩阵依次前排,每一张 高分辨率图像的数据内均包含其所有低分辨率图像 数据。实际应用中,无需重复测试即可获取所有分辨 率图像,节约了成像时间,且避免了存储空间的浪费。

|                        | Table 1      | able 1 Time consumption of different spatial resolutions |              |              |                |                |                  |                  |  |
|------------------------|--------------|--|--------------|--------------|----------------|----------------|------------------|------------------|--|
|                        | $2 \times 2$ | $4 \times 4$   | 8×8          | 16 	imes 16  | $32 \times 32$ | $64 \times 64$ | $128 \times 128$ | $256 \times 256$ |  |
|                        |              | $2 \times 2$   | $4 \times 4$ | $8 \times 8$ | 16 	imes 16    | $32 \times 32$ | 64 	imes 64      | $128 \times 128$ |  |
|                        |              |  | $2 \times 2$ | $4 \times 4$ | $8 \times 8$   | 16 	imes 16    | $32 \times 32$   | $64 \times 64$   |  |
|                        |              |  |              | $2 \times 2$ | $4 \times 4$   | $8 \times 8$   | 16 	imes 16      | $32 \times 32$   |  |
| Resolution             |              |  |              |              | $2 \times 2$   | $4 \times 4$   | $8 \times 8$     | 16 	imes 16      |  |
|                        |              |  |              |              |                | $2 \times 2$   | $4 \times 4$     | $8 \times 8$     |  |
|                        |              |  |              |              |                |                | $2 \times 2$     | $4 \times 4$     |  |
|                        |              |  |              |              |                |                |                  | $2 \times 2$     |  |
| Measurement time /s    | 0.002        | 0.008  | 0.032        | 0.128        | 0.512          | 2.048          | 8.192            | 32.768           |  |
| Reconstruction time /s | 0.005        | 0.011  | 0.032        | 0.116        | 0.444          | 1.637          | 6.360            | 23.756           |  |
| Total /s               | 0.007        | 0.019  | 0.064        | 0.244        | 0.956          | 3.685          | 14.552           | 56.524           |  |

Table 1 Time consumption of different spatial resolution

研究论文

第 41 卷 第 21 期/2021 年 11 月/光学学报

|                        | Table 2      | Memory cons  | sumption of  | different sp | atial resolut  | tions          |                  |                   |
|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------|----------------|------------------|-------------------|
|                        | $2 \times 2$ | $4 \times 4$ | 8×8          | 16 	imes 16  | $32 \times 32$ | 64 	imes 64    | $128 \times 128$ | 256 	imes 256     |
|                        |              | $2 \times 2$ | $4 \times 4$ | $8 \times 8$ | 16 	imes 16    | $32 \times 32$ | 64 	imes 64      | $128\!	imes\!128$ |
|                        |              |              | $2 \times 2$ | $4 \times 4$ | $8 \times 8$   | 16 	imes 16    | $32 \times 32$   | $64 \times 64$    |
|                        |              |              |              | $2 \times 2$ | $4 \times 4$   | $8 \times 8$   | 16 	imes 16      | $32 \times 32$    |
| Resolution             |              |              |              |              | $2 \times 2$   | $4 \times 4$   | $8 \times 8$     | $16\!	imes\!16$   |
|                        |              |              |              |              |                | $2 \times 2$   | $4 \times 4$     | $8 \times 8$      |
|                        |              |              |              |              |                |                | $2 \times 2$     | $4 \times 4$      |
|                        |              |              |              |              |                |                |                  | $2 \times 2$      |
| Detection signal /kB   | 0.03125      | 0.125        | 0.5          | 2            | 8              | 32             | 128              | 512               |
| Hadamard pattern $/kB$ | 256          | 1,024        | 4,096        | 16,384       | 65,536         | 262,144        | 1,048,576        | 4,194,304         |
| Total /kB              | 256.003      | 1,024.125    | 4,096.5      | 16,386       | 65,544         | 262,176        | 1,048,704        | 4,194,816         |

表 2 不同空间分辨率图像的存储空间

显微成像系统的分辨能力是由成像物镜和 DMD 面元大小共同决定,为进一步考察多分辨显 微关联成像系统的分辨率,下面以纳米分辨率板 (HIGHRES-1,NEWPORT,美国)作为待测目标物 体(最小线宽137 nm),进一步标定本文设计的多分 辨显微关联成像系统的分辨能力。首先,通过100 倍物镜(浸油物镜)对分辨率板进行放大,同样进行 8组不同分辨率的成像实验,结果如图5所示。



图 5 分辨率板多分辨显微关联成像重构结果。(a)  $M = 2^{2\times1}$ (分辨率:2×2);(b)  $M = 2^{2\times2}$ (分辨率:4×4);(c) $M = 2^{2\times3}$ (分 辨率:8×8);(d)  $M = 2^{2\times4}$ (分辨率:16×16);(e)  $M = 2^{2\times5}$ (分辨率:32×32);(f)  $M = 2^{2\times6}$ (分辨率:64×64);(g)  $M = 2^{2\times7}$ (分辨率:128×128);(h)  $M = 2^{2\times8}$ (分辨率:256×256);(i)原图

Fig. 5 Reconstruction results of multi-resolution microscopic correlated imaging for resolution board. (a)  $M = 2^{2\times 1} (2 \times 2 \times 2 \times 2)^{-1}$  (b)  $M = 2^{2\times 2} (4 \times 4 \times 4 \times 2)^{-1}$  (c)  $M = 2^{2\times 3} (8 \times 8 \times 2 \times 2)^{-1}$  (d)  $M = 2^{2\times 4} (16 \times 16 \times 2)^{-1}$  (e)  $M = 2^{2\times 5} (32 \times 32 \times 2)^{-1}$  (f)  $M = 2^{2\times 6} (64 \times 64 \times 64 \times 2)^{-1}$  (g)  $M = 2^{2\times 7} (128 \times 128 \times 2)^{-1}$  (h)  $M = 2^{2\times 8} (256 \times 256 \times 2)^{-1}$  (i) original image

#### 研究论文

#### 第 41 卷 第 21 期/2021 年 11 月/光学学报

与复杂的生物组织样品相比较,分辨率板的重构图像具有完全相同的成像规律。在不同的分辨率 情形下,随着采样次数的增加,重构图像质量相应提高。当图像的分辨率为16×16(*M*=2<sup>2×4</sup>)时,如图 5(d)所示,目标物体的位置及轮廓已经能够初步进 行识别。当图像的分辨率为32×32(*M*=2<sup>2×5</sup>)时, 如图 5(e)所示,可以清楚地分辨图像轮廓。随着采 样次数进一步增加,成像质量随之提高,达到满采时 (*M*=2<sup>2×8</sup>),如图 5(h)所示,分辨率板的线条细节已 经可以完全清晰的显现。

下面,对多分辨显微关联成像系统的分辨能力 进行定量分析。本文提取了重构图像特定位置的强 度分布,结果如图 6 所示。其中,图 6(a)为分辨率 板目标位置的放大图像,表格代表分辨率板不同位 置对应的线条间隔(表格及放大图像来自 Newport 官网),图 6(b)为分辨率 256×256(*M*=2<sup>2×8</sup>)时的 图像重构结果,图 6(c)为重构图像目标位置的归一 化强度分布曲线,三条曲线分别代表分辨率板线条 间隔为 244 nm、218 nm、194 nm,分别对应分辨率 板 11-1、11-2、11-3 位置。随着线条间隔的减小,谱 线展宽逐渐加大,峰间隔逐渐减小,谱线强度逐渐减 弱。当分辨率板线条间隔为 194 nm 时,谱线强度 值明显减弱,无明显最强峰,系统无法精确区别两条 线条。因此,成像系统分辨率可达 218 nm。



图 6 实验结果。(a)分辨率板目标位置的放大图像;(b)分辨率256×256(M=2<sup>2×8</sup>)的重构图像; (c)重构图像特定位置的归一化强度分布图(表格代表分辨率板不同位置对应的线条间隔)

Fig. 6 Experimental results. (a) Enlarged image of target position in resolution board; (b) reconstructed image of resolution board ( $M = 2^{2\times8}$ , 256 × 256 resolution); (c) normalized intensity distribution of target position in reconstructed image (table represents the line spacing corresponding to different positions of resolution board)

### 4 结 论

本文对传统荧光显微镜进行了改装设计,搭建 了基于 DMD 的显微关联成像系统,利用多分辨成 像方法实现了生物组织样品的多分辨显微关联成 像。这种成像方法无需额外的测试方式,即可简单 快速地获得待测样品的连续多分辨图像,成像分辨 率可以达到 218 nm,单次测量可以同时输出 8 组不 同分辨率的成像结果,以满足生物医学领域的不同 需求,大大提高了显微成像系统应用的灵活性。当 目标物体为稀疏物体时,多分辨显微关联成像有望 实现实时成像,在细胞和生物组织等生物成像领域 具有广泛的应用前景。

#### 参考文献

- [1] Jacob Z, Alekseyev L V, Narimanov E. Optical hyperlens: far-field imaging beyond the diffraction limit[J]. Optics Express, 2006, 14(18): 8247-8256.
- [2] Huang X, Fan J, Li L, et al. Fast, long-term, super-resolution imaging with Hessian structured illumination microscopy [J]. Nature Biotechnology,

#### 第 41 卷 第 21 期/2021 年 11 月/光学学报

#### 研究论文

#### 2018, 36(5): 451-459.

- [3] Pan W H, Chen B L, Zhang J G, et al. Compressed sensing STORM super-resolution image reconstruction based on noise correction-principal component analysis preprocessing algorithm [J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 020724.
  潘文慧,陈秉灵,张建国,等.基于噪声校正主成分 分析的压缩感知 STORM 超分辨图像重构[J].中国 激光, 2020, 47(2): 020724.
- [4] Liu X X, Guo H X, Xu T, et al. *In-situ* liquid phase transmission electron microscope and its application in nanoparticle characterization [J]. Acta Physica Sinica, 2021, 70(8): 086701.
  刘玄玄,国洪轩,徐涛,等.原位液相透射电子显微 镜及其在纳米粒子表征方面的应用[J].物理学报, 2021, 70(8): 086701.
- [5] Klar T A, Jakobs S, Dyba M, et al. Fluorescence microscopy with diffraction resolution barrier broken by stimulated emission [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, 2000, 97 (15): 8206-8210.
- [6] Liu Z, Luo Z W, Wang Z Y, et al. Super-resolution fluorescence microscopy image reconstruction algorithm based on structured illumination [J]. Chinese Journal of Lasers, 2021, 48(3): 0307001. 刘智,罗泽伟,王正印,等.基于结构照明的超分辨 荧光显微成像重建算法[J].中国激光, 2021, 48 (3): 0307001.
- [7] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, et al. Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution [J]. Science, 2006, 313 (5793): 1642-1645.
- [8] Xu K, Babcock H P, Zhuang X. Dual-objective STORM reveals three-dimensional filament organization in the actin cytoskeleton [J]. Nature Methods, 2012, 9(2): 185-188.
- [9] Tao Y, Wang X X, Yang F B. Edge detection based on high-pass filter ghost imaging [J]. Laser &. Optoelectronics Progress, 2020, 57(2): 021101.
  陶勇,王肖霞,杨风暴.基于高通滤波鬼成像的边缘 检测方法[J].激光与光电子学进展, 2020, 57(2): 021101.
- [10] Xiao K, Tian L J, Wang Z Y. Fast super-resolution fluorescence microscopy imaging with low signal-tonoise ratio based on deep learning [J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(10): 1007002.
  肖康,田立君,王中阳.基于深度学习的低信噪比下 的快速超分辨荧光显微成像[J].中国激光, 2020, 47(10): 1007002.
- [11] Ma H B, Hu S Y, Jie Y H, et al. A floating topelectrode electrowetting-on-dielectric system[J]. RSC

Advances, 2020, 10(9): 4899-4906.

- [12] Zhou C, Tian T, Gao C, et al. Multi-resolution progressive computational ghost imaging [J]. Journal of Optics, 2019, 21(5): 055702.
- [13] Yang S C, Yu H, Lu R H, et al. Simulation of Fourier-transform ghost imaging using polychromatic X-ray sources[J]. Acta Optica Sinica, 2019, 39(5): 0511003.
  杨善初,喻虹,陆荣华,等.非单色 X 光傅里叶变换 鬼成像模拟[J].光学学报, 2019, 39(5): 0511003.
- [14] Wang C L, Gong W L, Shao X H, et al. Influence of receiving numerical aperture and rough target size on ghost imaging via sparsity constraint [J]. Chinese Journal of Lasers, 2019, 46(8): 0810002.
  王成龙,龚文林,邵学辉,等. 接收数值孔径和粗糙 目标尺寸对稀疏限制的鬼成像影响研究[J]. 中国激光, 2019, 46(8): 0810002.
- [15] Ma H Y, Sang A J, Zhou C, et al. High-efficiency reconstruction of ghost imaging based on equivalent deformation of 2D Walsh transform [J]. Journal of Optics, 2020, 22(12): 125702.
- [16] Cai H J, Yao Z H, Gao C, et al. Reflection ghost imaging based on superimposed speckle-pattern [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2019, 56(7): 071101.
  蔡宏吉,姚治海,高超,等.基于叠加散斑图的反射 鬼成像[J]. 激光与光电子学进展, 2019, 56(7): 071101.
- [17] Wu H, Wang R Z, Li C S, et al. Influence of intensity fluctuations on Hadamard-based computational ghost imaging [J]. Optics Communications, 2020, 454: 124490.
- [18] Liu H C. Imaging reconstruction comparison of different ghost imaging algorithms [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 14626.
- [19] Shapiro J H. Computational ghost imaging [C]// Conference on Lasers and Electro-Optics/ International Quantum Electronics Conference, May 31-June 5, 2009, Baltimore, Maryland. Washington, D.C.: OSA, 2009: IThK7.
- [20] Feng W, Zhao X D, Tang S J, et al. Compressive computational ghost imaging method based on region segmentation[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(10): 101105.
  冯维,赵晓冬,汤少靖,等.基于区域分割的压缩计 算鬼成像方法[J].激光与光电子学进展, 2020, 57 (10): 101105.
- [21] Yu W K, Yao X R, Liu X F, et al. Compressive microscopic imaging with "positive-negative" light modulation[J]. Optics Communications, 2016, 371: 105-111.

#### 第 41 卷 第 21 期/2021 年 11 月/光学学报

#### 研究论文

- [22] Peng J Z, Yao M H, Cheng J J, et al. Microtomography via single-pixel imaging [J]. Optics Express, 2018, 26(24): 31094-31105.
- [23] Ota S, Horisaki R, Kawamura Y, et al. Ghost cytometry [J]. Science, 2018, 360 (6394): 1246-1251.
- [24] Li W W, Tong Z S, Xiao K, et al. Single-frame wide-field nanoscopy based on ghost imaging via sparsity constraints[J]. Optica, 2019, 6(12): 1515-1523.
- [25] Zhu X H, Zhou W P, Zhang S H, et al. Study on the resolution of microscopic ghost imaging system [J]. Journal of Hunan University of Science &. Technology (Natural Science Edition), 2020, 35(4): 117-124.
  朱孝辉,周伟平,张顺辉,等.显微鬼成像系统的分

辨率研究[J]. 湖南科技大学学报(自然科学版),

2020, 35(4): 117-124.

- [26] Sun M J, Meng L T, Edgar M P, et al. A Russian Dolls ordering of the Hadamard basis for compressive single-pixel imaging [J]. Scientific Reports, 2017, 7 (1): 3464.
- [27] Lane T J, Ratner D. What are the advantages of ghost imaging? Multiplexing for X-ray and electron imaging[J]. Optics Express, 2020, 28(5): 5898-5918.
- [28] Ren Y X, Kong C H, He H S, et al. Encrypted wide-field two-photon microscopy with single-pixel detection and compressed sensing [J]. Applied Physics Express, 2020, 13(3): 032007.
- [29] Tenne R, Rossman U, Rephael B, et al. Superresolution enhancement by quantum image scanning microscopy[J]. Nature Photonics, 2019, 13(2): 116-122.