doi:10.3788/gzxb20184707.0708002

# 贝塞尔光束的互补光束设计与优化

贾昊<sup>1,2</sup>,于湘华<sup>1</sup>,杨延龙<sup>1</sup>,周兴<sup>1,2</sup>,严绍辉<sup>1</sup>,刘超<sup>1,2</sup>,雷铭<sup>1</sup>,姚保利<sup>1</sup>

(1 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,西安 710119)

(2 中国科学院大学,北京 100049)

摘 要:提出无衍射贝塞尔光束的互补光束概念.基于惠更斯-菲涅尔原理和光场的相干叠加性,给出了 其频谱的一般形式.利用遗传算法搜索频谱相位分布的最优解,使得扫描互补光束光片场的强度分布与 贝塞尔光片旁瓣强度分布几乎一致,二者相减可消除旁瓣的影响,从而获得大视场均匀的理想薄光片. 将其应用在光片荧光显微成像中,可有效去除离焦背景噪声,提高成像质量.

关键词:无衍射光束;贝塞尔光束;空间光场调控;计算全息;遗传算法;光场再现 **中图分类号**:O439

**文章编号:**1004-4213(2018)07-0708002-8 文献标识码:A

## Construction and Optimization of the Complementary Beam of Bessel Beam

JIA Hao<sup>1,2</sup>, YU Xiang-hua<sup>1</sup>, YANG Yan-long<sup>1</sup>, ZHOU Xing<sup>1,2</sup>, YAN Shao-hui<sup>1</sup>, LIU Chao<sup>1,2</sup>, LEI Ming<sup>1</sup>, YAO Bao-li<sup>1</sup>

(1 State Key Laboratory of Transient Optics and Photonics, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710119, China) (2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The idea of propagation-invariant Complementary Beam (CB) to Bessel beam was proposed. Based on the Huygens-Fresnel principle and the superposition of coherent light field, the general form of CB's spectrum is suggested. The phase distribution of complex amplitude spectrum is optimized with the aid of genetic algorithm, in doing so the scanning complementary beam light-sheet enables to approximate the side lobes of Bessel light-sheet to the utmost. Thus, the substraction of two scans can eliminate the influence of the side lobes to produce a large FOV, homogeneous and thin light-sheet. The employment of the complementary beam into light-sheet fluorescence microscopy is a promising method to reduce the background signal as well as enhance the imaging quality.

Key words: Non-diffracting beam; Bessel beam; Modulation of spatial optical field; Computer generated hologram; Genetic algorithm; Light field reproduction

OCIS Codes: 080.1510; 070.3185; 070.6120; 090.1760; 150.1135

#### 引言 0

光片荧光显微(Light-Sheet Fluorescence Microscopy, LSFM)是近年来发展起来的一种新型三维显微 成像技术[1-2].它采用正交光路设计,用一层光束薄片从侧面激发样品,并在垂直于光片的方向上利用显微物 镜和数字相机拍摄样品二维荧光图像,通过轴向同步扫描光片和探测物镜或移动样品逐面成像,即可获取不 同深度处的层析图像并实现样品三维信息重构[3].光片荧光显微仅激发焦面薄层区域的样品,能有效避免离

基金项目:国家自然科学基金(Nos. 81427802, 11704405),中国科学院"西部青年学者"项目(No. XAB2016B26)和西安市博士后创新基 地科研项目资助

第一作者:贾昊(1990一),男,硕士研究生,主要研究方向为光片荧光显微技术. Email:jiahao@opt.cn

师:姚保利(1968-),男,研究员,博导,主要研究方向为超分辨显微成像技术和光学微操纵技术. Email; vaobl@opt.ac.cn 导

通讯作者:于湘华(1987一),男,助理研究员,博士,主要研究方向为空间光场调控与光片荧光显微技术. Email:yxh@opt.cn 收稿日期:2018-03-27;录用日期:2018-05-03

焦背景对成像质量的影响,具有对比度高的优点;其所需激光能量仅为激光扫描共聚焦显微系统的1/1000, 双光子荧光显微所需能量的1/1000000,极大地降低了光漂白和光毒性,因而适宜于对活体生物样品进行 数小时甚至数天的长时间成像;与逐点扫描成像模式相比,光片荧光显微采用逐面成像模式,因此具有成像 速度快的优势.

对于光片荧光显微系统,其轴向分辨率由探测物镜数值孔径与激发光片厚度共同决定<sup>[45]</sup>,观测视场主要受限于光片宽度,系统成像性能与光片的特性息息相关.传统的光片荧光显微利用柱面透镜聚焦<sup>[1]</sup>或振镜 扫描高斯光束<sup>[6]</sup>来生成高斯型光片场,光片的厚度(束腰半径)和宽度(瑞利长度)会随着柱面透镜焦距的增 大或照明物镜的数值孔径的减小而增大,大的观测视场通常以牺牲轴向分辨率和三维层析成像能力为代价. 在不牺牲系统轴向分辨率的前提下进一步扩大观测视场是关键问题.

贝塞尔光束具备在很长传播距离内能保持光束形状不变的无衍射特性,以及自愈合特性,即绕过障碍物后重新恢复原来形貌的传播特性<sup>[7]</sup>,将其应用在光片荧光显微中可有效提高系统的视场范围.一维扫描零阶贝塞尔光束可以生成强度分布均匀的光片<sup>[8+9]</sup>,然而贝塞尔光束的同心环状旁瓣激发出来的离焦背景信号,降低成像对比度和系统轴向分辨率.与共聚焦技术的结合解决了基于贝塞尔光束光片荧光显微成像对比度和轴向分辨率的问题<sup>[10-13]</sup>,然而线扫描共聚焦用细缝代替针孔,轴向分辨率的提升低于点扫描共聚焦.双光子激发荧光有效抑制了贝塞尔光束旁瓣产生的离焦背景噪声<sup>[14-15]</sup>,并保证了系统的成像速度,但高强度超短飞秒光脉冲的光漂白性强且无法进行多色荧光成像.

为解决这一问题,通过调控贝塞尔光束空间频谱(锐利的圆环)的相位分布,提出和设计了一种贝塞尔光 束的互补光束.基于惠更斯-菲涅尔衍射原理,推导出了互补光束空间频谱相位分布函数的正弦级数展开式; 利用遗传算法搜索出相位函数中级数的展开系数,从而得到了全局最优化的互补光束.该光束具有与贝塞尔 光束类似的无衍射特性,扫描互补光束可以生成新型光片场,其光场强度在中心为零,其余位置强度分布与 贝塞尔光片的旁瓣强度分布几乎一致,二者相减可消除旁瓣的影响,从而获得大视场均匀的理想薄光片.将 其应用在扫描贝塞尔光束的光片荧光显微中,可以有效消除离焦背景,提高成像质量.

## 1 互补光束的设计

### 1.1 贝塞尔光束的空间频谱

在空间直角坐标系中,设贝塞尔光束沿 y 轴方向传播,沿着 x 轴方向一维快速扫描光束可以形成光片场.光束的横截面为 xz 平面,其强度分布如图 1(a).贝塞尔光束是空间频谱分布在一个圆环上的无衍射光束



(a) Coordinates in spatial domain

(b) Coordinates in frequency domain

图1 贝塞尔光束在空域和频域的表征及其傅里叶变换关系

Fig.1 Representation of Bessel beam in spatial domain and frequency domain, and their relationship in Fourier transform

的一种<sup>[16-17]</sup>,它的空间频谱在频谱面二维极坐标系中可表示为 $\widetilde{E}_{BB}(k_r, \varphi) = \delta(k_r - k_{BB})^{[18]}$ ,如图 1(b)所示,其中  $k_{BB}$ 是贝塞尔光束频谱环的半径.贝塞尔光束的空间复振幅分布与其空间频谱在极坐标系中的傅里 叶变换为

$$E_{\rm BB}(r,\theta) = \int_{0}^{2\pi} \int_{0}^{\infty} \delta(k_{r} - k_{\rm BB}) \exp\left[irk_{r}(\cos\varphi\cos\theta + \sin\varphi\sin\theta)\right]k_{r} dk_{r} d\varphi = \int_{0}^{2\pi} k_{\rm BB} \exp\left(irk_{\rm BB}\cos\varphi\right) d\varphi = 2\pi k_{\rm BB} J_{0}(rk_{\rm BB})$$
(1)

式中J<sub>0</sub>(•)是第一类零阶贝塞尔函数.零阶贝塞尔光束的空间频谱的相位分布不随方位角 *φ* 的改变而变化, 若能基于复振幅调控技术对其空间频谱的相位进行调控,则能生成新的无衍射光束,这是互补光束的设计 思路.

#### 1.2 互补光束的空间频谱设计

互补光束需要满足两个关键条件:一是无衍射特性,保证扫描后和贝塞尔型光片场拥有相同的视场,因此其空间频谱应该分布在一个圆环上;二是光轴与扫描方向所决定的平面上光场强度为零(如图 2b 所示),保证互补光束扫描出的光片中心强度为零,这样在有效消除贝塞尔型光片场背景影响时尽可能多地保留在 焦有用信号.将互补光束复振幅记做  $E_{CB}$ ,其频谱记做 $\tilde{E}_{CB}$ ,则以上条件要求  $E_{CB}(x,0)=0.根据惠更斯-菲涅$ 尔衍射原理,如果互补光束的频谱环上关于  $k_x$ 轴对称的两点的复振幅正好相差  $\pi$  相位,即 $\tilde{E}_{CB}(k_x, -k_z) =$ 

 $-\widetilde{E}_{CB}(k_x,k_z)$ ,则它们的衍射场在xy面上的任意位置相干相消.

在优化设计之前,先讨论互补光束的初始解.空间频谱的最简形式为锐利圆环上沿着方位角进行 0-π 相位调制,具体解析式为

$$\widetilde{E}_{\rm CB}(k_r,\varphi) = \delta(k_r - k_{\rm BB}) \cdot \exp\{i \cdot [1 + \operatorname{sign}(\varphi)] \cdot \pi/2\}$$
(2)

式中,方位角 φ 的取值范围为(-π,π),sign 表示符号函数.该频谱对应的焦场和扫描后的初始互补光片强度 分布如图 2(b)所示.对归一化的初始互补光片需要乘以比例系数 γ 后与零阶贝塞尔光片相减.该系数选取遵





图 2 贝塞尔光束及优化前的互补光束截面及其扫描光片的强度分布 Fig.2 Characterization of Bessel beam, complementary beam and their scanning light-sheets

循的判据为相减后的等效光片一级波谷恰好为零,这样能有效消除贝塞尔光片一级旁瓣产生的离焦背景.这 里 γ 的取值为 0.57.然而初始互补光片光强的旁瓣与零阶贝塞尔光片的旁瓣符合度并不好,等效光片出现大 范围负值,会严重影响实际成像效果.理想的互补光片应为滤除主瓣的贝塞尔光片,记为

$$OF(z) = \left[1 - \exp\left(-\frac{z^2}{a^2}\right)\right] \cdot \left| \left| J_0(rk_{BB}) \right|^2 dx \right|$$
(3)

其中 1-exp(-z²/a²)为滤波器, a 是滤波参数, 选择合适的滤波参数以完全滤除贝塞尔光片的主瓣而不影 响旁瓣.由此可见, 还需要对互补光束进行进一步优化, 使其强度分布尽可能趋于理想.

为了便于实验实现,重点调控空间频谱的相位,而整个环的振幅值设为1.因此在极坐标系中无衍射互补 光束的空间频谱(即待优化函数)可表示为

$$\widetilde{E}_{CB}(k_r, \varphi) = \delta(k_r - k_{CB}) \cdot \exp\left[i \cdot f(\varphi)\right]$$
(4)

式中, $k_{CB}$ 决定互补光束频谱环半径,相位分布函数  $f(\varphi)$ 为分段实函数,满足条件

$$f(\varphi) = \begin{cases} f_1(\varphi) + \pi, \varphi \in (0, \pi) \\ f_1(-\varphi), \varphi \in (-\pi, 0) \end{cases}$$
(5)

 $f_1(\varphi)$ 是具有有限间断点的函数且关于  $\varphi = \pi/2$  对称,使互补光束光场关于 yz 面对称分布.为了得到  $f(\varphi)$  的具体表达式和  $k_{CB}$ 的值,可建立判据式

$$\varepsilon = \int \left| \int |\operatorname{FT}\{\widetilde{E}_{\operatorname{CB}}(k_r, \varphi)\}|^2 \mathrm{d}x - \overline{\operatorname{OF}(z)} \right| \mathrm{d}z \tag{6}$$

式中 FT 表示傅里叶变换,其变换核为 exp [i( $k_x x + k_z z$ )],式中函数上方横线表示对其归一化.无衍射互补 光场设计的基本思路是:利用最优化方法确定  $f(\varphi)$ 的具体表达式和  $k_{CB}$ 的值,使得  $\varepsilon$  取最小值,此时两个光 片在除主瓣外的区域强度分布几乎一致,相减后的等效光片旁瓣最弱.对  $f(\varphi)$ 进行周期性解析延拓可以借 助奇次项的正弦级数和符号函数进行展开

$$f(\varphi) = \operatorname{sign}(\varphi) \cdot \sum_{n=0}^{\infty} a_{2n+1} \sin (2n+1)\varphi + [1 + \operatorname{sign}(\varphi)] \cdot \pi/2$$
(7)

于是优化问题可转换成对 k<sub>CB</sub>和展开式系数 a<sub>2n+1</sub>的优化.

1.3 优化方法选定

判据函数式(6)中的傅里叶变换和沿 x 方向积分属于强非线性特征的运算,优化问题涉及的多个待优 化参数互相耦合,无法通过分别逐个优化单个参数获得全局优化解.遗传算法通过模拟自然界生物进化过程 中的现象(如自然选择、遗传、杂交、变异等)来解决最优化问题,因为它能够获得全局最优解,对于复杂的优 化问题有好的效果.为了简化问题和提高计算速度,取前五项 $a_{2n+1}$ 作为待优化参数.优化前需要给各个参数 分配合理的搜索范围.如果搜索范围过小,正弦级数对频谱的调制度不够,最优解不能很好地逼近目标函数; 但是搜索范围过大会导致初始化过程中随机生成的个体无法覆盖整个搜索空间,因此搜索范围过大也没有 意义.因为用振幅相同的正弦函数调制频谱环上的相位,最终它们都要包裹于 2 $\pi$  相位之内,振幅越大相位包 裹越深,相位跃变次数越多;同样的正弦函数频率越高也会导致更多的相位跃变,相位跃变增多会加重互补 光束光斑的弥散.一方面需要互补光束的弥散结构,用于逼近目标函数;另一方面要避免光斑过渡弥散导致 的聚焦性下降、光片变厚.综合以上的考虑,我们在控制互补光束的聚焦和弥散之间寻求一个平衡点,由此设 置了一个梯度下降的搜索范围如表 1 所示.考虑到激光波长  $\lambda$  为488 nm,对应的波矢  $k_0$ 为12.88  $\mu$ m<sup>-1</sup>.使用 有效数值孔径(NA)0.22 的激发物镜,由 NA= $n \cdot \sin \theta$  可得  $\sin \theta$  为 0.17,其中 n 取水的折射率 1.33, $\theta$  为物 镜允许入射平面波波矢与光轴的最大夹角. $\sin \theta \cdot k_0$ 为系统的截止频率,为了最大限度利用物镜的数值孔 径, $k_{\rm in}$ 取截止频率  $\sin \theta \cdot k_0$ 即 2.19  $\mu$ m<sup>-1</sup>.因此  $k_{\rm cn}$ 的搜索范围定为[0, 2.19].

表 1 展开式系数 a <sub>2n+1</sub> 的搜寻范围									
Table 1	Ranges, wit	hin which the o	coefficients a 2n	+1 are search	ned				
Coefficients	$a_1$	<i>a</i> <sub>3</sub>	$a_{5}$	<i>a</i> <sub>7</sub>	$a_9$				
Range	[-50, 50]	[-10, 10]	[-10, 10]	[-5,5]	[-5,5]				

## 2 优化步骤与结果

#### 2.1 初始化

算法总的流程图如图 3.遗传算法中最基本的单元为基因,一组基因构成单个个体,这组基因决定个体的 属性,多个个体组成种群.种群中的个体之间通过变异和交叉生成新一代的种群,与上一代种群相比因为进 化性能更好(更满足判据函数),通过多代的遗传获得最优化的结果.种群的大小和优化过程息息相关,种群 越大初始化覆盖到的总搜索空间越大,在后面的计算中越有可能找到全局最优解,但计算速度也会变慢,反 之种群偏小也会影响计算速度.选取遗传算法的种群中包含 100 个个体.单个个体包含六个基因,它由六个 元素的向量表征,前五个元素是正弦级数的系数 a<sub>2n+1</sub>,最后一个元素为 k<sub>CB</sub>.这六个元素共同决定个体的属 性,即互补光场的复振幅分布.种群的初始化是指随机生成 100 个个体作为初始种群,每个个体的基因从表 1 所示的搜索范围内随机抽取.



图 3 优化算法流程 Fig.3 Flow chart of optimization algorithm

#### 2.2 评估与选择

种群初始化完成后,对种群中的单个个体进行性能评估.个体对应的判据 ε 数值越小表示它性能更优 异,因而具有更高的适应性.找到式(3)表示的与目标函数完全一致的优化函数几乎不可能.由于光片显微系 统的轴向点扩散函数 PSF<sub>overall</sub>(z)为探测物镜的轴向点扩散函数 PSF<sub>det</sub>(z)与光片的乘积.优化过程中我们对 焦区的重合度要求比离焦区要求更高.在完全离焦的区域,即使待优化函数与目标函数完全不重合,对系统 的轴向分辨率的影响也可以忽略不计.考虑到以上因素,在实际优化过程中修正了判据函数 ε 为

$$\varepsilon = \int_{-l_4}^{l_4} \left| \int \left| \operatorname{FT}\{\widetilde{E}_{\operatorname{CB}}(k_r, \varphi)\} \right|^2 \mathrm{d}x - \overline{\operatorname{OF}(z)} \right| \cdot \operatorname{PSF}_{\operatorname{det}}(z) \mathrm{d}z \tag{8}$$

式中 $l_4$ 表示目标函数第四级旁瓣的位置.对于数值孔径为 0.8 的探测物镜而言, $l_4$ 以外的区域可以认为完全 离焦.焦场的数值模拟局限在 24  $\mu$ m×24  $\mu$ m 的视场范围内,待优化函数在x 方向的积分也只局限于此区域. 对于某些弥散的光场,其主要强度分布于视场边缘甚至视场以外,此时即使算出很小的  $\epsilon$  值,它也非我们所 需.为了去除这类解,对  $\epsilon$  做进一步修正

$$\widetilde{\varepsilon} = \varepsilon \cdot \frac{\int_{0}^{r} \int_{0}^{2\pi} |\operatorname{FT}\{\widetilde{E}_{CB}(k_{r},\varphi)\}|^{2} r \, d\theta \, dr}{\int_{0}^{r/2} \int_{0}^{2\pi} |\operatorname{FT}\{\widetilde{E}_{CB}(k_{r},\varphi)\}|^{2} r \, d\theta \, dr}$$
(9)

式中 $r=12 \ \mu m$ .至此 $\tilde{\epsilon}$ 做为衡量个体适应性的最终参数.评估结束后需要根据适应性随机选择100个个体作为新的种群.每一个个体被选中的概率 $P_i = \frac{1}{\tilde{\epsilon}_i} / \sum_{j=0}^{100} \frac{1}{\tilde{\epsilon}_j}$ .适应性高的个体被选中的概率高,即将其基因遗传到下一代,适应性低的则更易被淘汰.

#### 2.3 交叉

交叉即为在新的种群中随机选择一对个体,并随机选择它们的一对对应基因令其以一定的概率重新组 合成一对新的基因.我们选择交叉的概率为 0.7.在一次交叉中首先生成一个随机数,如果小于 0.7 则进行交 叉.然后通过生成随机数的方法确定交叉的两个个体和基因位置.以展开系数  $a_{2n+1}$ 为例,如选定两个基因 $a_m^i$ 和 $a_m^j$ ,其中 i,j分别表示第i和第j个个体,m 表示基因的位置,生成随机数 p表示交叉的幅度,则新的基因 分别为

$$\begin{cases}
 a_{m}^{i} = (1-p) \cdot a_{m}^{i} + p \cdot a_{m}^{j} \\
 a_{m}^{j} = (1-p) \cdot a_{m}^{j} + p \cdot a_{m}^{i}
 \end{cases}$$
(10)

每一轮迭代中算法提供了100次交叉的机会.

#### 2.4 变异

变异的过程是在种群中随机选择一个个体并随机选择一个位置的基因,令其以一定概率变为新的基因. 变异的出现为种群提供了新基因,然而过于频繁的变异使迭代不易于收敛.这里选择变异概率为 0.02.在一 次变异中生成随机数,如果小于 0.02 则进行变异.生成两个随机数确定要变异的个体和基因位置,如a<sup>i</sup><sub>m</sub>表示 零第 *i* 个个体的 *m* 位置处的基因变异.再生成随机数 *d* 确定变异方向,若大于 0.5 则基因朝增大的方向变 异,反之则减小.最后生成随机数 *q* 表示变异幅度,新的基因可表示为

$$\begin{cases} a_{m}^{i} = -\left[a_{m}^{i} - \inf(a_{m})\right] \cdot \left[1 - q^{(1 - g/50)^{2}}\right] + a_{m}^{i} \quad (d < 0.5) \\ a_{m}^{i} = \left[\sup(a_{m}) - a_{m}^{i}\right] \cdot \left[1 - q^{(1 - g/50)^{2}}\right] + a_{m}^{i} \quad (d > 0.5) \end{cases}$$

$$(11)$$

式中 g 为种群遗传的代数.变异幅度随着遗传代数的增加而减为零,这样可以有效避免计算过程中不收敛. 每一轮迭代中算法提供了 100 次变异的机会.

#### 2.5 优化结果

设定遗传代数为 50 代,即进行 50 次迭代.每一次迭代分别由评估与选择、交叉、变异构成.最优的级数展 开系数 *a*<sub>2n+1</sub>和 *k*<sub>CB</sub>如表 2 所示.

	表 2	展开系数与频谱环半径的最优值	
Table 2	Optimi	ized coefficients of $a_{2n+1}$ and $k_{CB}$ for CB beau	m

_	Coefficients	$a_1$	<i>a</i> <sub>3</sub>	$a_5$	<i>a</i> 7	<i>a</i> 9	$k_{\rm CB}$
	Values	27.69	2.03	7.55	-0.74	2.59	1.46

优化后的互补光束的频谱环上的相位分布如图 4(a)和 4(c)所示,互补光束沿传播方向的截面光强分布 如图 4(b)所示.与未优化的光束相比,优化后的光束强度分布略有扩展.但也正是由于扩展后的复杂结构使 得其扫描后的光片轴向强度分布 CB<sub>ont</sub>更接近贝塞尔光片的旁瓣强度 OF,如图 5(d)所示.



图 4 优化后的互补光束特征 Fig.4 Characteristics of optimized CB beam

根据第 1.2 节定义的判据,给优化后的归一化互补光片乘上 0.56 的 γ 系数后与贝塞尔光片相减可得相减后的等效光片强度分布.图 5(a)~(c)分别给出了贝塞尔光片、互补光片和二者相减后的等效光片在 yz 截面上的强度分布,视场大小为 200 μm×100 μm,数值模拟结果验证了互补光束的无衍射特性.互补光片沿 z 轴的强度分布在图 5(d)中由 CB<sub>opt</sub>表示,相减后的等效光片强度沿 z 轴分布如图 5(e)所示的 CBSLS<sub>opt</sub>曲线. 优化后的等效光片正负一级旁瓣强度只有 0.1,而未优化的值为 0.19(CBSLS<sub>preopt</sub>曲线);优化后的等效光片 距离焦区最近的负强度仅有一0.05,而未优化的等效光片这个值为一0.16.将等效光片 CBSLS<sub>opt</sub>与 PSF<sub>det</sub>相乘,可以得到优化后系统点扩散函数 PSF<sub>opt</sub>的轴向分布如图 5(f)所示.未做优化的系统点扩散函数 PSF<sub>preopt</sub>, 一级旁瓣强度有 0.12,第一级波谷强度为一0.04.这样剧烈抖动的不均匀点扩散函数在成像中将导致伪影, 降低成像质量.而优化后的光片系统具有更加平缓的系统点扩散函数 PSF<sub>opt</sub>,经过一个强度仅有 0.05 的一级 旁瓣后即衰减至零,可以获得更好的成像质量.



(a) Cross section of Bessel light-sheet in axial plane



(b) Cross section of CB light-sheet in axial plane

(c) Subtraction of CB light-sheet from Bessel light-sheet



图 5 优化前后的等效光片以及系统点扩散函数比较 Fig.5 Comparison of effective light-sheets and overall PSF before and after optimization

## 3 结论

通过修正贝塞尔光束的空间频谱,基于惠更斯-菲涅尔原理和相干光的叠加性,提出并设计了一类贝塞 尔光束的互补光束,利用遗传算法得到最优化的互补光束.优化后的互补光片场与贝塞尔光片旁瓣的强度分 布在探测物镜焦区高度一致,较优化前的结果相减后的等效光片场一级旁瓣被抑制了 49%,仅占主瓣强度 的 10%,对成像质量有害的负强度被抑制了 69%,占主瓣强度的 5%.模拟结果同时验证了互补光束具有与 贝塞尔光束一致的无衍射特性,二者沿传播方向 200 μm 长度内几乎保持不变.将本文的结果应用在光片荧 光显微中,分别用扫描贝塞尔光束和互补光束生成的光片激发荧光样品,获取两幅图像.两图像的强度差值 等效于用两个光片之差的等效光片进行光切片成像,因此可得到去除离焦背景的荧光图像,实现大视场高轴 向分辨率三维显微成像,提高光片荧光显微成像系统的性能.

#### 参考文献

- [1] HUISKEN J, SWOGER J, DEL B F, et al. Optical sectioning deep inside live embryos by selective plane illumination microscopy[J]. Science, 2004, 305 (5686): 1007-1009.
- [2] OLARTE O E, ANDILLA J, GUALDA E J, et al. Light-sheet microscopy: a tutorial[J]. Advances in Optics and Photonics, 2018, 10 (1): 111-179.
- [3] HUISKEN J, STAINIER D Y. Selective plane illumination microscopy techniques in developmental biology [J]. Development, 2009, 136 (12): 1963-1975.
- [4] ENGELBRECHT C J, STELZER E H. Resolution enhancement in a light-sheet-based microscope (SPIM)[J]. Optics Letters, 2006, **31** (10): 1477-1479.
- [5] POWER R M, HUISKEN J. A guide to light-sheet fluorescence microscopy for multiscale imaging[J]. *Nature Methods*, 2017, **14** (4):360-373.
- [6] KELLER P J, SCHMIDT A D, WITTBRODT J, et al. Reconstruction of zebrafish early embryonic development by scanned light sheet microscopy[J]. Science, 2008, 322 (5904): 1065-1069.
- [7] FAHRBACH F O, SIMON P, ROHRBACH A. Microscopy with self-reconstructing beams [J]. Nature Photonics, 2010, 4 (11): 780-785.
- [8] PLANCHON T A, LIANG G, MILKIE D E, et al. Rapid three-dimensional isotropic imaging of living cells using Bessel beam plane illumination[J]. Nature Methods, 2011, 8 (5): 417-423.
- [9] GAO L, SHAO L, CHEN B C, et al. 3D live fluorescence imaging of cellular dynamics using Bessel beam plane illumination microscopy[J]. Nature Protocols, 2014, 9 (5): 1083-1101.
- [10] FAHRBACH F O, ROHRBACH A. Propagation stability of self-reconstructing Bessel beams enables contrast-enhanced imaging in thick media[J]. *Nature Communications*, 2012, **3**: 632.
- [11] ZHANG P, PHIPPS M E, GOODWIN P M, et al. Confocal line scanning of a Bessel beam for fast 3D imaging[J]. Optics Letters, 2014, 39 (12): 3682-3685.
- [12] BAUMGART E, KUBITSCHECK U. Scanned light sheet microscopy with confocal slit detection[J].Optics Express, 2012, 20 (19): 21805-21814.
- [13] HU B, BOLUS D, BROWN J Q. Improved contrast in inverted selective plane illumination microscopy of thick tissues

using confocal detection and structured illumination[J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8 (12): 5546-5559.

- [14] OLARTE O E, JACOB L R, 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.
- [15] WELF E S, DRISCOLL M K, DEAN K M, et al. Quantitative multiscale cell imaging in controlled 3D microenvironments[J]. Developmental Cell, 2016, 36 (4): 462-475.
- [16] CHEN B C, LEGANT W R, WANG K, et al. Lattice light sheet microscopy: imaging molecules to embryos at high spatiotemporal resolution[J]. Science, 2014, 346 (6208): 1257998.
- [17] YU Xiang-hua, YAO Bao-li, LEI Ming, et al. Generation and three-dimensional characterization of complex nondiffracting optical beams[J]. Acta Physica Sinica, 2015, 64 (24): 202-209.

于湘华,姚保利, 雷铭, 等. 无衍射特殊光束的产生与三维表征[J]. 物理学报, 2015, 64 (24): 202-209.

[18] DURNIN J, MICELI JR J J, EBERLY J H. Diffraction-free beams[J]. Physical Review Letters, 1987, 58 (15): 1499-1501.

Foundation item: The National Natural Science Foundation of China (Nos. 81427802, 11704405), Western Youth Scholars Project of Chinese Academy of Sciences (No. XAB2016B26) and Postdoctoral Innovation Base Research Project of Xi'an

引用格式: JIA Hao, YU Xiang-hua, YANG Yan-long, *et al.* Construction and Optimization of the Complementary Beam of Bessel Beam [J]. Acta Photonica Sinica, 2018, **47**(7): 0708002

贾昊,于湘华,杨延龙,等.贝塞尔光束的互补光束设计与优化[J].光子学报,2018,47(7):0708002