

doi: 10.3788/gzxb20184709.0917003

# 基于菲涅耳透镜色散的双波长荧光显微深度成像

黄新荣, 郑继红, 刘悠嵘, 朱天贇, 缪涛

(上海理工大学 光电信息与计算机工程学院, 教育部光学仪器与系统工程研究中心,  
上海市现代光学系统重点实验室, 上海 200093)

**摘 要:**提出一种非轴向扫描的细胞显微深度成像技术,在显微系统中加入菲涅耳透镜,利用菲涅耳透镜的色散将不同激发光波长聚焦到不同的轴向位置,以实现两个或多个焦平面同时成像.基于 405 nm 和 532 nm 两种激发光波长,在传统的荧光显微镜的激发路径中加入对应的两个成像探测器来探测两个不同焦平面所对应像面的成像信息,搭建得到一个能够实现探测深度约为 12  $\mu\text{m}$  的基于菲涅耳透镜的荧光显微深度成像系统,并与基于显微物镜色差无菲涅耳透镜的荧光显微深度成像系统的成像深度和轴向分辨率进行实验对比.实验结果表明:加入菲涅耳透镜能够实现系统对不同焦面的同时成像;对于同一荧光波段,保证系统横向分辨率的同时,扩大了成像景深.该系统可以实现荧光生物细胞内部不同深度处的多波段同时探测.

**关键词:**显微系统;荧光显微成像;菲涅耳透镜;荧光细胞;焦距偏移;深度成像;轴向分辨率

中图分类号:TH742

文献标识码:A

文章编号:1004-4213(2018)09-0917003-7

## Dual Wavelength Fluorescence Microscopy Depth Imaging Based on Fresnel Lens Chromatic Aberration

HUANG Xin-rong, ZHENG Ji-hong, LIU You-rong, ZHU Tian-yun, MIAO Tao  
(Engineering Research Center of Optical Instrument and System, Ministry of Education, Shanghai  
Key Lab of Modern Optical System, School of Optical-Electrical and Computer Engineering,  
University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

**Abstract:** A technique about non-axial-scanning microscopic cell depth imaging is proposed. Fresnel lens are added into the microscopic system, and the chromatic aberration of a Fresnel lens is exploited to focus different excitation light wavelengths into different axial positions. It can realize the imaging of two or more focal planes. Based on the excitation light wavelengths of 405 nm and 532 nm, two imaging detectors are added into the excitation path of a conventional fluorescence microscope to detect the imaging information of the image plane corresponding to two different focal planes. A fluorescence microscopic depth imaging system with a detection depth of about 12  $\mu\text{m}$  is established. The imaging depth and axial resolution of the proposed system are compared with those of a fluorescence microscopic depth imaging system based on a microscope-less Fresnel lens. Experimental results show that the addition of Fresnel lens enables simultaneous imaging of different focal planes. For the same fluorescence band, the lateral resolution of the system is ensured while the imaging depth of field is expanded, the system can achieve multi-band simultaneous detection at different depths of fluorescent biological cells.

**Key words:** Microscopy system; Fluorescent microscopic imaging; Fresnel lens; Fluorescent cell; Focal shift; Depth imaging; Axial resolution

**OCIS Codes:** 170.2520; 170.0110; 040.1520; 080.0080; 080.1010

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(No.18060502500)资助

第一作者:黄新荣(1994-),女,硕士研究生,主要研究方向为荧光显微细胞成像系统.Email: xinrong5126@163.com

导师(通讯作者):郑继红(1975-),女,教授,博士,主要研究方向为聚合物分散液晶材料及光电器件、信息光学等.Email: jihongzheng@sina.com

收稿日期:2018-03-21;录用日期:2018-06-13

<http://www.photon.ac.cn>

## 0 引言

20世纪50年代MINSKY M提出共焦扫描显微<sup>[1]</sup>的概念,随后共焦显微系统在生物医学等领域被广泛应用.20世纪80年代中期,激光扫描共焦显微镜(Confocal Laser Scanning Microscope, CLSM)<sup>[2]</sup>被用于分析活细胞结构、分子、离子的实时动态变化过程、细胞多层成像、细胞三维重构等方面.荧光显微镜系统,如荧光并行共焦显微镜<sup>[3]</sup>、频分复用荧光共焦显微镜系统<sup>[4]</sup>等,能实现多通道并行共焦扫描探测荧光显微细胞成像,提高了共焦显微系统成像的探测速度,且具有较高的分辨率.但由于其只能针对某一个焦平面进行扫描成像,而且不同焦平面的成像依赖于焦平面之间的切换且受时间的限制,不能同时对两个或多个不同的焦平面进行成像,所以大多数荧光共焦显微镜系统的成像只局限在二维成像水平,限制了生物学中三维细胞动力学的研究进展.

2004年PRABHAT P等提出用两个或多个成像探测器来实时探测活细胞的动态胞吐过程<sup>[5]</sup>,系统中利用显微物镜自身的色差进行荧光细胞显微深度探测,但探测得到的细胞深度或是动态范围较小.近年来提出的基于多焦面衍射光栅方法<sup>[6-7]</sup>的显微成像技术可以用于多分子动态追踪,实现大景深的动态成像且达到较高的定位精度,但该方法主要通过利用多焦面衍射光栅进行分光,将样品所发出的荧光按照不同的轴向位置进行分割,导致样品所发出的荧光会被均分,降低光能;由于成像探测面大小一定,多个分光面会使得探测面也同时进行等分,导致成像范围减小;且多焦面衍射的使用需要足够高的激发光强度,对光源器件的自身性能要求较高.

本文提出了一种基于菲涅耳透镜色散的双波长荧光显微深度成像系统,将菲涅耳透镜引入到反射式荧光显微成像系统中,利用菲涅耳透镜的色散特性将不同激发光波长聚焦到不同的轴向位置,激发得到不同深度位置的荧光信号.采用405 nm和532 nm两种激光波长的合光作为激发光源进行初步实验,在反射式荧光显微成像系统的激发路径中加入两个工业相机成像探测器<sup>[8]</sup>,由两个工业相机分别在两个成像透镜的焦平面处同时接收得到深度约为12  $\mu\text{m}$ 的两个深度面的完整荧光显微图像.对荧光显微深度成像的可行性进行分析,同时与基于显微物镜色差的无非涅耳透镜的荧光显微深度成像系统进行对比分析.

## 1 系统的原理和光路设计

在荧光显微系统基础上,采用单色性和方向性较好的两束激光405 nm和532 nm的合光作为激发光源.基于菲涅耳透镜色散的荧光显微深度成像系统和基于显微物镜色差的无非涅耳透镜的荧光显微深度成像系统,分别利用菲涅耳透镜的色散以及显微物镜自身的色散特性,在两种显微系统中引入色差.

将两束激发光源准直扩束,经过菲涅耳透镜并通过准直透镜重新准直后,入射到无限远显微物镜中,经过无限远显微物镜聚焦到经荧光染料染色的样品的两个不同深度位置,激发反射回来的荧光信号和激发光同时被显微物镜收集,激发光经两发射滤光片组滤除,所激发的两束荧光(发射荧光波段的中心波长分别为552 nm和605 nm)经过两成像透镜最终成像在两个成像探测器相机的像面位置,进行基于菲涅耳透镜色散的双波长荧光显微深度的细胞宽场成像.

实验中采用平面反射镜作为样品,荧光探测显微成像得到引入色差的两种不同激发光波长下系统的深度响应曲线,同时探测得到马铃薯细胞样品中两个不同深度位置所激发荧光细胞的显微图像.

基于菲涅耳透镜色散的荧光显微深度成像系统的光路如图1,405 nm和532 nm两束激发光进行扩束,经过菲涅耳透镜由透镜重新准直后以平行光入射到显微物镜,经过无限远显微物镜会聚在细胞样品的两个不同深度面Position<sub>1</sub>、Position<sub>2</sub>上,两束激发光分别激发产生两束荧光信号.激发光与荧光信号同时被显微物镜收集,激发光经两发射滤光片组滤除,透过的荧光信号被成像透镜会聚在成像相机上,进行基于菲涅耳透镜色散的荧光显微深度成像实验.

基于显微物镜色差无非涅耳透镜的荧光显微成像系统,不考虑菲涅耳透镜的色散,只考虑物镜本身的色差特性,并与加入菲涅耳透镜的系统作对比.405 nm和532 nm两束激发光进行合光后准直,直接入射到无限远显微物镜上,经过无限远显微物镜会聚在细胞样品的两个不同深度面Position<sub>1</sub>、Position<sub>2</sub>上.在图1所示的系统的基础上,去掉菲涅耳透镜与其后的准直透镜对显微系统的影响即为基于显微物镜色差无非涅耳透镜的荧光显微成像系统光路.

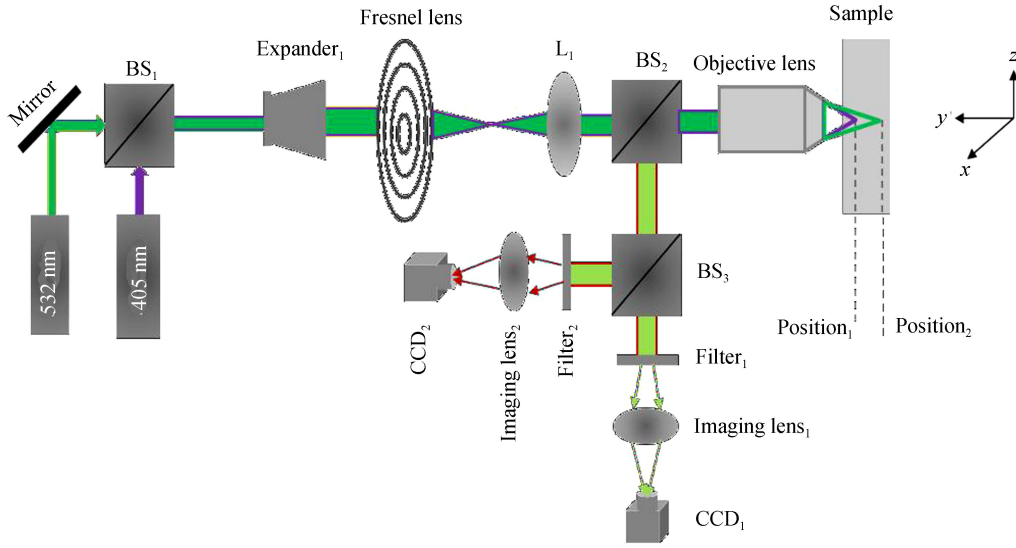


图1 基于菲涅耳透镜色散的荧光显微深度成像系统光路

Fig.1 Fluorescent microscope depth imaging system optical path based on the Fresnel lens dispersion

影响荧光显微探测系统轴向分辨率的主要因素是轴向光强分布,即深度响应函数

$$I(z) = \left\{ \frac{\sin [knz(1 - \cos \beta)]}{knz(1 - \cos \beta)} \right\}^2 \quad (1)$$

评价其深度响应的指标为半极大处全宽度(Full Width at Half Maximum, FWHM),定义为沿轴向采样时,接收端的轴向光强  $I(z)$  最大值的一半所对应的轴向坐标间距  $\Delta Z$ ,计算公式为<sup>[9]</sup>

$$\Delta z = d_{\text{FWHM}} = \frac{0.443\lambda}{1 - \cos \alpha} = \frac{0.443\lambda}{n - \sqrt{n^2 - \text{NA}^2}} \quad (2)$$

式中, $\lambda$  为激发光波长, $\alpha$  为物镜的孔径角, $\beta$  为有效数值孔径, $n$  为显微物镜的折射率,NA 为显微物镜的数值孔径, $\text{NA} = n \sin \alpha$ .

$d_{\text{FWHM}}$  越窄,轴向分辨率越高.分析式(2)可知,NA 越大, $\lambda$  越小,则  $d_{\text{FWHM}}$  越小,其轴向分辨率越高.对系统的轴向分辨率可做一定的理论计算:实验选取  $\text{NA} = 0.7$  的显微物镜,则当激发光波长为 405 nm 时, $d_{\text{FWHM}} \approx 1 \mu\text{m}$ ;激发光波长为 532 nm 时, $d_{\text{FWHM}} \approx 1.4 \mu\text{m}$ .

荧光显微探测系统的横向分辨率的计算公式为

$$\Delta r = \frac{0.61\lambda}{\text{NA}} \quad (3)$$

系统的横向分辨率是由入射的激发光波长和显微物镜的数值孔径决定.当激发光波长为 405 nm 时, $\Delta r \approx 0.35 \mu\text{m}$ ;激发光波长为 532 nm 时, $\Delta r \approx 0.46 \mu\text{m}$ .

## 2 系统的深度响应曲线测试及分析

### 2.1 实验系统

实验系统光路如图 1,激发光源采用紫外(Ultraviolet UV)波段的半导体准直激光器(Dream Laser 公司),功率为 50 mW,波长为 405 nm;532 nm 的 Verdi 激光器,额定功率为 2 W,实验输出功率为 50 mW.物镜为 ZEISS 公司提供的放大倍率为  $50\times$ , $\text{NA} = 0.7$  的无限远消色差显微物镜(消色差波段为绿光波段).轴向扫描器由德国 PI 公司提供的型号 E-517 的线性纳米位移台.菲涅耳透镜是由 THORLABS 公司提供,型号 FRP251,焦距  $f_0 = 51 \text{ mm}$  ( $\lambda_0 = 588 \text{ nm}$ , $\lambda_0, f_0$  为该透镜的设计波长和该设计波长下透镜的焦距),槽距为 0.33 mm,探测宽场成像的工业相机是由 Allied Vision Technologies 公司提供的,曝光时间约为 500 ms;两成像透镜的焦距均为 120 mm.

### 2.2 菲涅耳透镜的色散特性分析

菲涅耳透镜是由一系列同心沟槽组成的光学系统,每个环带都相当于一个独立的折射面,这些环带均能

使入射光线会聚到一个共同的焦点.两种或多种波长导致的像点位置差异的色差称为位置色差或轴向色差<sup>[10]</sup>,图2所示为两个波长下由于菲涅耳透镜的色散导致的像方焦点偏移示意图.以平行光作为光源,菲涅耳透镜在 $\lambda_1, \lambda_2 (\lambda_1 < \lambda_2)$ 两种波长下在像方聚焦于 $A'_1, A'_2$ 两点,焦距分别为 $f'_1, f'_2$ ,菲涅耳透镜的色差可定性表示为

$$\Delta f'_{12} = f'_1 - f'_2 \quad (4)$$

由理论分析可知,菲涅耳透镜的焦距与入射光波长关系可表示为<sup>[11]</sup>

$$\lambda f = \lambda_0 f_0 \quad (5)$$

单透镜的焦距为

$$f(\lambda) = \frac{1}{[n(\lambda) - 1] \left( \frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2} \right)} \quad (6)$$

式中, $R_1, R_2$ 为单透镜两表面的曲率半径,对应为菲涅耳透镜未进行加工压缩时两表面的曲率半径, $n(\lambda)$ 是该透镜材料在不同波长 $\lambda$ 下的折射率.则单透镜在不同波长下的焦距偏移量表达式为

$$\delta f = -\frac{\delta n}{(n_0 - 1)} f_0 \quad (7)$$

在405 nm和532 nm两种波长下的折射率分别为 $n_{0.405} \approx 1.506\ 533\ 3, n_{0.532} \approx 1.494\ 582$ ,由式(5)~(7)可知,可通过折射率关系理论计算得到菲涅耳透镜在405 nm和532 nm下的焦距偏移量即焦深<sup>[12-13]</sup>,则由式(7)可计算得到该菲涅耳透镜在405 nm和532 nm两种波长下的焦距偏移量 $\delta f \approx 1.2$  mm.

利用ZEMAX软件模拟得到菲涅耳透镜在不同波长下的焦距偏移量曲线如图3所示,横坐标的焦距偏移量用以632 nm为基准的坐标表示,纵坐标为400~800 nm的波长范围.

由图3分析可得,在405 nm和532 nm两种波长下的焦距偏移量约为1.2 mm,与理论计算结果一致,将其引入到该反射式荧光显微成像系统中.

### 2.3 深度响应曲线测试及分析

实验中将平面反射镜代替待测样品放置在PI纳米位移台上作为探测样品,将系统中的BS3以下的实验装备直接换置为成像透镜和成像工业相机.设置位移台步长为 $1\ \mu\text{m}$ ,无限远显微物镜的数值孔径为0.7,选取405 nm和532 nm两种激发光波长分别进行基于菲涅耳透镜色散的荧光细胞显微深度成像系统以及基于显微物镜色差无非涅耳透镜的荧光显微深度成像系统下的深度响应曲线测试.测得的深度响应曲线反映光学系统焦平面与非焦面处点的强度的对比关系.分析可知,光强最大值所对应的轴向位置对应某一特定波长下的焦平面位置.工业相机探测成像的像方焦平面对应物方以平行光入射,则以平行光入射到显微物镜的两束激发光聚焦在荧光显微样品的两个焦平面位置.当在两束激发光波长下像方光强达到最大值时,PI纳米位移台的位移量可近似看作两束激发光进入细胞的深度.

图4(a)所示为激发光波长分别为405 nm、532 nm时测得的加入菲涅耳透镜后的系统的深度响应曲线,当激发光波长为405 nm,成像探测器处于成像透镜的像方焦平面时,PI纳米位移台的移动位置对应图1中的Position<sub>1</sub>处, $\Delta Z_1 = 9\ \mu\text{m}$ ,同理可得532 nm时像方焦平面对应图中的Position<sub>2</sub>处, $\Delta Z_2 = 21\ \mu\text{m}$ , $\Delta Z_1$ 、

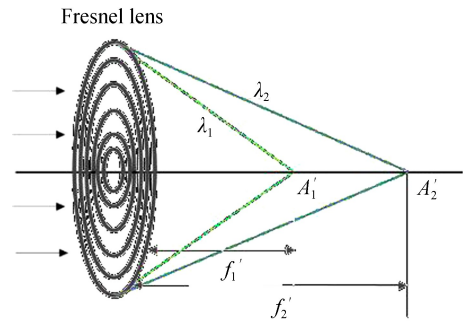


图2 菲涅耳透镜的轴向色差示意图

Fig.2 Axial chromatic aberration diagram of Fresnel lens

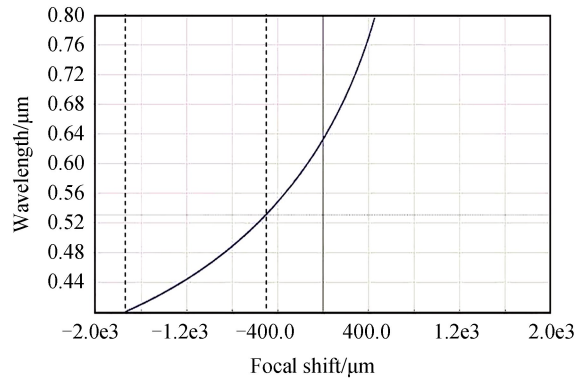


图3 菲涅耳透镜在不同波长下的焦距偏移量曲线

Fig.3 Focal length shift curve of Fresnel lens at different wavelengths

$\Delta Z_2$  分别为样品边界到 Position<sub>1</sub>、Position<sub>2</sub> 面的距离.则在 405 nm 和 532 nm 两束激发光波长下,探测得到基于菲涅耳透镜色散的荧光显微深度成像系统进入细胞样品的深度约为 12  $\mu\text{m}$ .

图 4(b)所示为激发光波长分别为 405 nm、532 nm 时测得的不加入菲涅耳透镜后的系统的深度响应曲线,同理可知,基于显微物镜色差的无非涅耳透镜的荧光显微深度成像系统的实验得到了约 3.6  $\mu\text{m}$  的显微探测深度.

从图 4 还可以看出,基于菲涅耳透镜色散的荧光显微深度成像系统中,当激发光波长为 405 nm 时,系统的轴向分辨率为 10.6  $\mu\text{m}$ ,532 nm 时轴向分辨率为 14  $\mu\text{m}$ ;基于显微物镜色差无非涅耳透镜的荧光显微深度成像系统中,当激发光波长为 405 nm 时,系统的轴向分辨率为 2.5  $\mu\text{m}$ ,532 nm 时轴向分辨率为 3.5  $\mu\text{m}$ .由于杂散光和散射荧光等因素的影响,两种系统下的实验结果与式(2)的计算结果均有所差异,系统轴向分辨率有待提高.

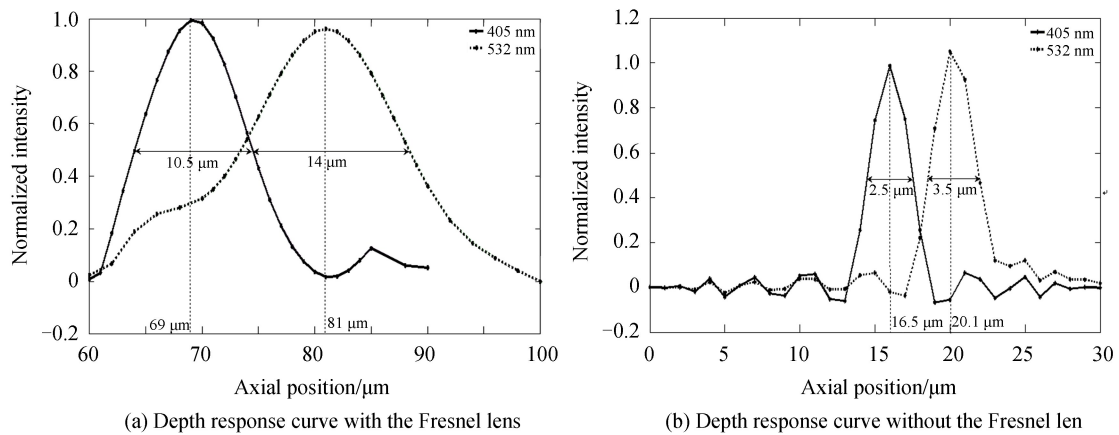


图 4 激发光波长分别为 405 nm 和 532 nm 时系统加与不加菲涅耳透镜下的深度响应曲线

Fig.4 Depth response curve of the system with the Fresnel lens and without Fresnel lens when the excitation light wavelengths are 405 nm and 532 nm respectively

由式(3)可知,当激发光波长一定,系统的横向分辨率仅由显微物镜的特性决定,与系统中是否加入菲涅耳透镜无关.

由上述分析可知,菲涅耳透镜的加入在一定程度上有利于扩大系统的成像景深,但成像景深的扩大是以牺牲系统的轴向分辨率为代价实现的.

### 3 基于菲涅耳透镜色散的双波长的荧光显微深度成像实验

基于有无菲涅耳透镜两种系统下深度响应曲线的实验结果初步验证了荧光显微深度成像的可行性.相干性好、光功率较高的两束激发光经过菲涅耳透镜和准直透镜后被无限远显微物镜聚焦到待测样品的两个不同深度位置,如图 5 上部分是这一过程的清晰结构示意图<sup>[14]</sup>,所激发的两束荧光经过显微物镜收集和滤光片组滤光后,经过两相同的成像透镜最终成像在两工业相机的像方焦面上,图 5 下部分为工业相机所探测接收得到的两个不同深度位置处的马铃薯细胞的宽场显微图像.

实验中,激光光源的相干性在显微系统中带来了散斑和相干噪声;在荧光显微系统中,菲涅耳透镜的加入可以得到更大的荧光显微细胞的成像深度,但同时在系统中引入一定的色差,对系统的轴向分辨率及成像质量造成一定的影响.因此在后续的工作中,拟采用非相干光源在一定程度上改善散斑和相干噪声,提高荧光细胞图的成像质量,提高系统的分辨率.此外,该荧光显微深度成像系统由于荧光的干扰,只能探测某几个特定波长下的显微细胞深度,是一种非轴向扫描荧光显微深度探测系统,在实验过程中的几个特定波长间的  $z$  轴距离不可调谐.为了实现特定波长间的  $z$  轴距离可调,探测对应成像的深度位置的细胞信息,可以通过在成像前,制作得到全息曝光的双焦点电控可调的液晶菲涅耳透镜来代替购买的菲涅耳透镜,利用双焦点透镜的电控焦距可调特性,实现不同特定波长间的  $z$  轴距离可调<sup>[15]</sup>;或是在后续工作中采用超连续白激光光源的某一特定波段同时激发样品,经过搭建的反射式显微成像系统接收反射回来的光谱信号,不同的波长对应待测样品的不同扫描深度位置,得到一定波段下该系统的轴向扫描范围<sup>[16-17]</sup>,来直接探测连续变化的位置

信息所对应的深度位置关系。

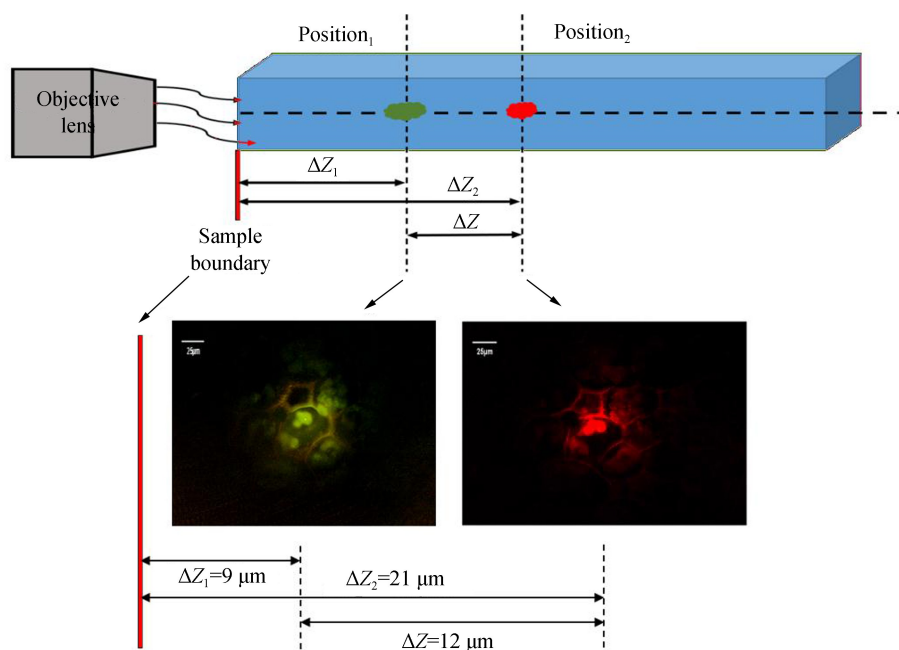


图 5 基于菲涅耳透镜色散的两个深度位置的马铃薯细胞显微图

Fig.5 Microscopic images of potato cell map at two depth positions based on Fresnel lens aberrations

## 4 结论

本文利用 405 nm、532 nm 两种激发光光源,搭建了基于菲涅耳透镜色散与显微物镜色差无非涅耳透镜的两种双波长荧光显微深度成像系统,对实现荧光显微深度成像的可行性进行合理分析并得到两种系统下的初步实验对比结果.结果表明:菲涅耳透镜的加入在一定程度上有利于扩大成像景深,实现更大的荧光显微细胞成像深度;系统的横向分辨率是由显微物镜的特性决定,与是否加入菲涅耳透镜无关.进行了基于菲涅耳透镜色散的荧光显微深度成像探测实验,拍摄得到在双激发光波长下两个不同深度位置处马铃薯细胞的宽场显微成像图.

### 参考文献

- [1] MINSKY M. Microscopy apparatus; US, 30133467[P]. 1961-12-19.
- [2] DAVIDOVITS P, EGGER M D. Scanning laser microscope[J]. *Nature*, 1969, **223**(5208): 831.
- [3] WANG Qing-qing, ZHENG Ji-hong, GUI Kun, *et al.* Fluorescence confocal parallel detection microscopy imaging system design and experiment[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2015, **44**(8): 0811002.  
王青青,郑继红,桂坤,等.荧光共焦并行探测显微成像系统设计及实验[J].光子学报,2015, **44**(8): 0811002.
- [4] ZHENG Ji-hong, WANG Kang-ni, TANG Ping-yu, *et al.* A four-channel frequency division multiplexed fluorescent microscope modulated by holographic polymer dispersed liquid crystal grating array[J]. *Liquid Crystals*, 2014, **41**(4): 585-590.
- [5] PRABHAT P, RAM S, WARD E S, *et al.* Simultaneous imaging of different focal planes in fluorescence microscopy for the study of cellular dynamics in three dimensions[J]. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 2004, **3**(4): 237-242.
- [6] YU Bing, LI Heng, CHEN Dan-ni, *et al.* Design, preparation and experimental study of diffractive optical elements for 3D nano-resolution multi-molecular tracking with large depth of field[J]. *Chinese Journal of Physics*, 2013, **62**(15): 154206.  
于斌,李恒,陈丹妮,等.用于大景深三维纳米分辨多分子追踪的衍射光学元件的设计制备和实验研究[J].物理学报. 2013, **62**(15):154206.
- [7] ABRAHAMSSON S, CHEN J, HAJJ B, *et al.* Fast multicolor 3d imaging using aberration-corrected multifocus microscopy[J]. *Nature methods*, 2013, **10**(1): 60-62.
- [8] RAM S, KIM D, OBER R J, *et al.* 3D single molecule tracking with multifocal plane microscopy reveals rapid intercellular transferrin transport at epithelial cell barriers[J]. *Biophysical Journal*, 2012, **103**(7): 1586-1600.
- [9] TU Long, YU Jin, FAN Zhong-wei, *et al.* Research on parallel laser confocal microscopy detection based on digital micromirror[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2013, **50**(10): 101702.

- 涂龙,余锦,樊仲维,等.基于数字微镜的并行激光共焦显微检测技术研究[J].激光与光电子学进展,2013, **50**(10): 101702.
- [10] XU Zhong-bao, TAO Wei-seng, WANG Shuang-ying, *et al.* Achromatic lens based on liquid crystal spatial light modulator[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2018, **47**(4): 042201.  
许忠保,陶伟森,王双迎,等.基于液晶空间光调制器的消色差透镜[J].光子学报,2018,**47**(4):042201.
- [11] YANG Chuan, SHI Ke-bin, LI Hai-feng, *et al.* Chromatic second harmonic imaging[J]. *Optics Express*, 2010, **18**(23): 23837- 23843.
- [12] CORY O, RYAN S, OSCAR C Z, *et al.* Chromatic confocal microscopy for multi-depth imaging of epithelial tissue[J]. *Biomedical Optics Express*, 2013, **4**(5): 732-740.
- [13] KIM T, KIM S H, DO D, *et al.* Chromatic confocal microscopy with a novel wavelength detection method using transmittance[J]. *Optics Express*, 2013, **21**(5): 6284-6296.
- [14] PURNAPATRA S B, BERA S, MONDAL P P. Spatial filter based bessellike beam for improved penetration depth imaging in fluorescence microscopy[J]. *Scientific Reports*, 2012, **2**(39): 692: 1-11
- [15] CHE J H, SHEU C R. Using photopolymerization to achieve tunable liquid crystal lenses with coaxial bifocals[J]. *Optics Express*, 2012, **20**(4): 4738-4746.
- [16] SHI Ke-bin, LI Peng, YIN Shi-zhuo, *et al.* Chromatic confocal microscopy using supercontinuum light[J]. *Optics Express*, 2004, **12**(10): 2096-2101.
- [17] SHI Ke-bin, NAM S H, LI Peng, *et al.* Wavelength division multiplexed confocal microscopy using supercontinuum [J]. *Optics Communications*, 2006, **263**(2): 156-162.

---

**Foundation item:** Shanghai Science and Technology Commission Scientific Research Plan Project (No. 1806052500)

引用格式: HUANG Xin-rong, ZHENG Ji-hong, LIU You-rong, *et al.* Dual Wavelength Fluorescence Microscopy Depth Imaging Based on Fresnel Lens Chromatic Aberration[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2018, **47**(9): 0917003

黄新荣,郑继红,刘悠嵘,等.基于菲涅耳透镜色散的双波长荧光显微深度成像[J].光子学报,2018,**47**(9):0917003