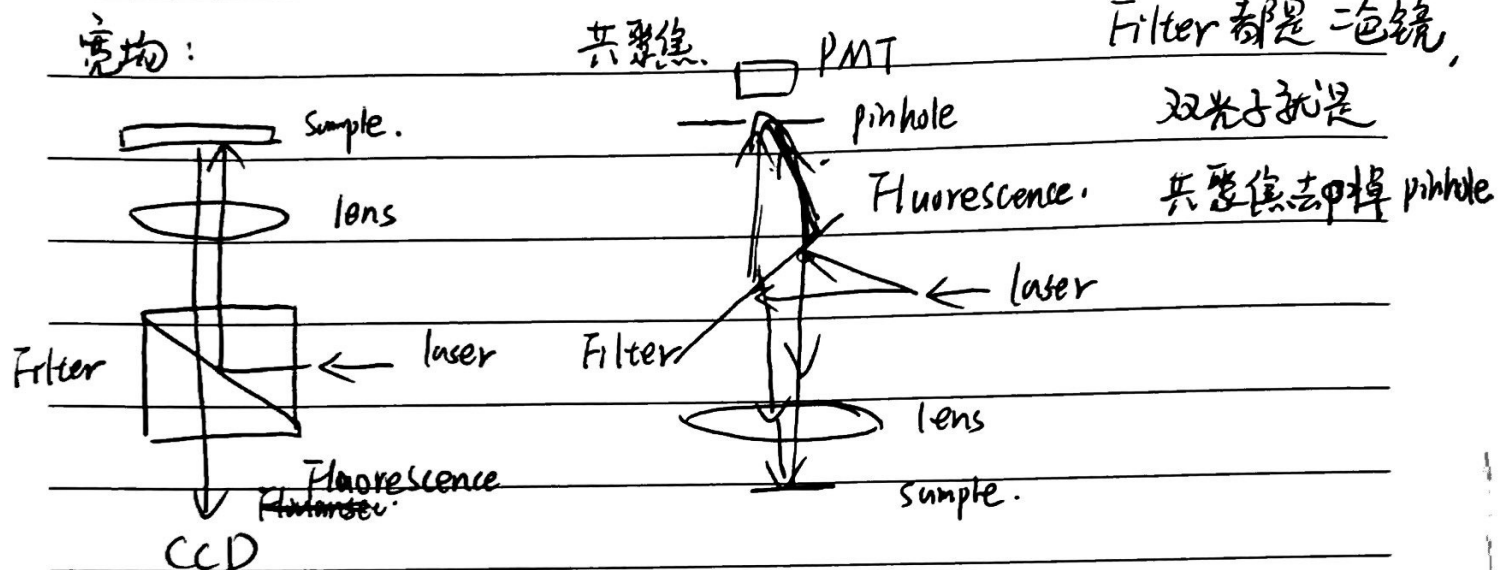


# 1. 宽场、共聚焦、双光子显微镜



差异: 宽场没有 pinhole, 直接接受所有的荧光, 分辨率低, 2轴光漂白强。共聚焦有 pinhole, 且 pinhole 和焦点对 laser 来说是共轭的 (用二色镜反射) 则焦点处的荧光才能通过 pinhole, 阻挡了其它区域的荧光, 且其使用 PMT 作为接收器, 只记录光强, 不记录也无法记录分布, 分布通过移动 lens 调整焦点记录; 但是二者无法产生紫外荧光, 而且光漂白都严重 (共聚焦的焦点 z 轴也是整个垂直轴)。

双光子不用 pinhole, 使用非线性光学成像, 用 2 个光子激发一个荧光。由于非线性激发概率极低 ( $10^{-9}$ ), 仅在焦点处大量被吸收, 产生荧光, 故不需要 pinhole, 因为很少有焦点外的荧光信号; 其使用的 laser 是脉冲信号, 用于短时间大量产生光子, 激发荧光。

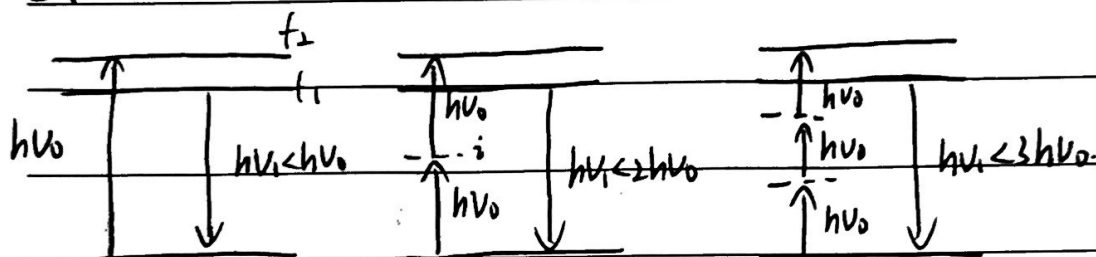
2. 双光子特点. 可以深层扫描

① 扫描深度大 (30-80  $\mu\text{m}$ ) ② 焦点外光损伤小, 不用 pinhole, 光漂白少.

③ 可以激发紫外荧光, 对样本损伤小 ④  $\lambda_{\text{双}} < 2\lambda_{\text{单}}$ , 与荧光波长差距大.

Filter 二透镜易设计.

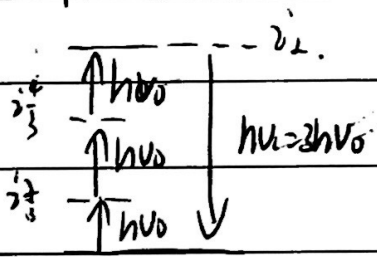
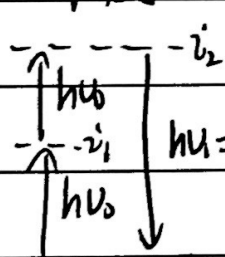
3.



单光子

双 photon

三 photon



二次谐波

三次谐波

差异: X光子是有吸收和释放光子的过程, 故光子的能量有损耗, 变成热.

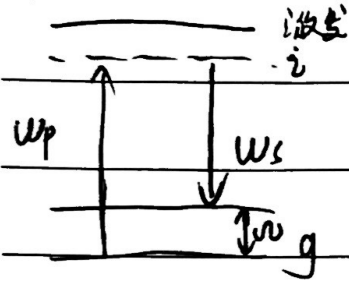
故  $h\nu_0$  不等于 X倍  $h\nu_0$ ,  $\nu_0$  要实验去测.

而 X次谐波则没有光子的吸收、释放过程, 只有虚能级, 故是 "二" 关系.

没有热损失

#### 4. 受激 Raman.

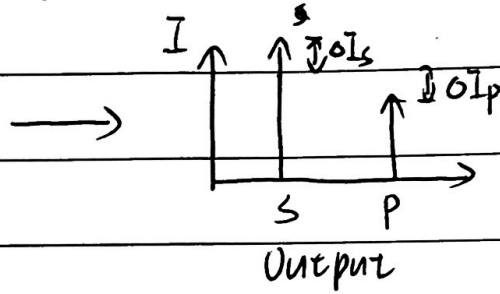
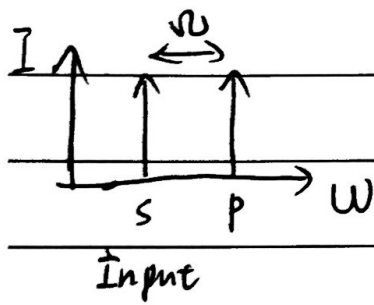
Spontaneous.



P 是 pumping 光子, S 是 Stokes, 自发 S 可忽略.

持续提供  $\omega_p$  光波, 间歇提供  $\omega_s$  光波.

由于自发 Raman 可以忽略, 仅在提供  $\omega_s$  时会大量吸收  $\omega_p$  的光子, 导致输出的  $\omega_p$  变少,  $\omega_s$  变多.



根据  $\Delta I_s$  和  $\Delta I_p$  来推

测目标物质信息

调整  $\omega$  可以测不同物质

的存在情况,  $\Delta I_s, \Delta I_p$  则与

$\Delta I_p = 0$  物质浓度有关, 测浓度.

