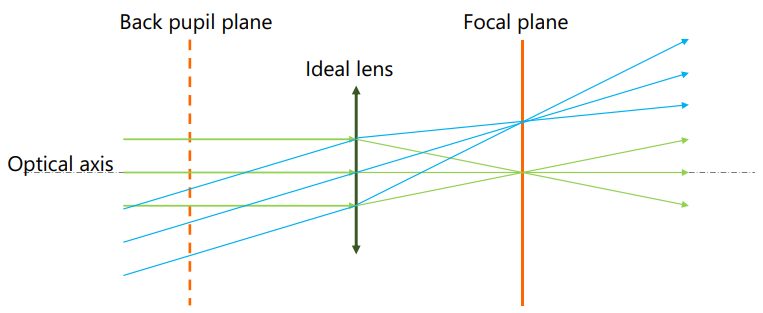
Optical Imaging for Biological Sciences

赵钰琛

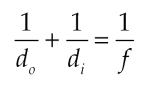
重要的知识点

1、画光路，例如给出绿光经过透镜的光路图，画出蓝光经过透镜后的光路图。



知识点：（1）光线通过透镜中心时不会发生偏转；（2）平行的光线会聚焦在焦平面上的一个点上

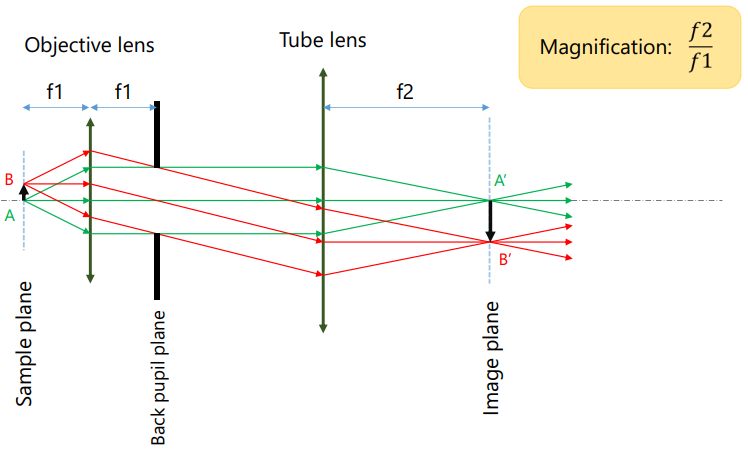
2、成像公式，例如给任意两个参数，算另一个参数

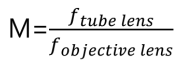


知识点：物距的倒数与像距的倒数之和等于焦距的倒数

3、无穷远校正成像系统

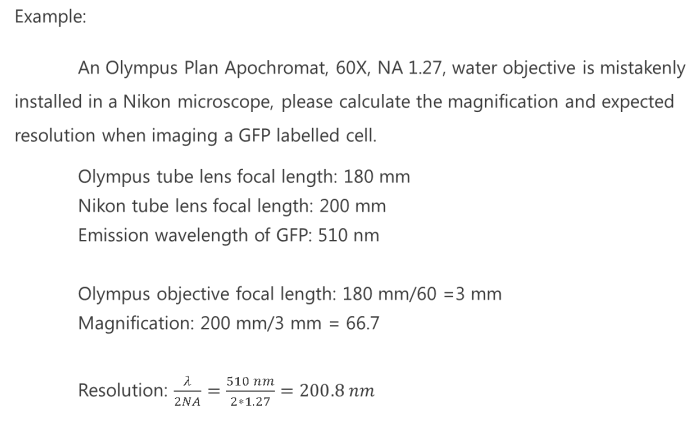
例如给出Tube lens和Objective lens的焦距，算放大率，或者给出Tube lens焦距和放大率，算Objective lens的焦距（重要）

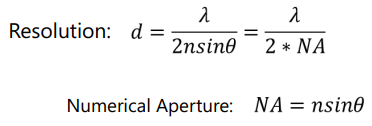


对于无穷远校正成像系统（样品的光经过物镜后变成平行光，经过Tube lens后汇聚成像平面）。

理论放大率：

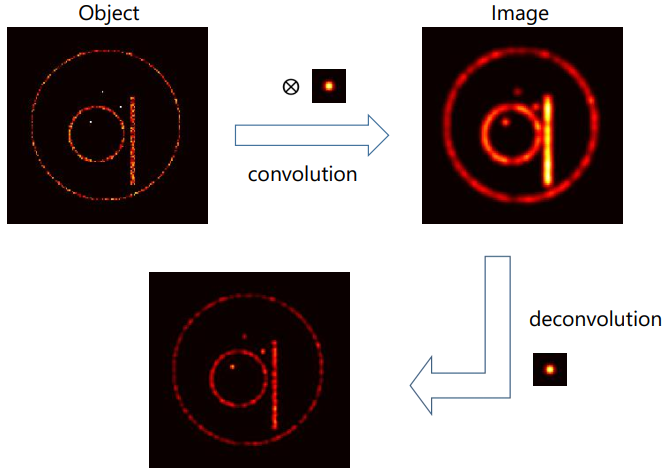
老师给的例题：



不同厂家的Tube lens焦距不同，Olympus的物镜装在Nikon的系统上，计算放大率时要注意，物镜焦距用Olympus的，Tube lens焦距用Nikon的。计算理论分辨率使用：

4、点扩散函数概念（Point spread function）

例如，简述什么是Point spread function

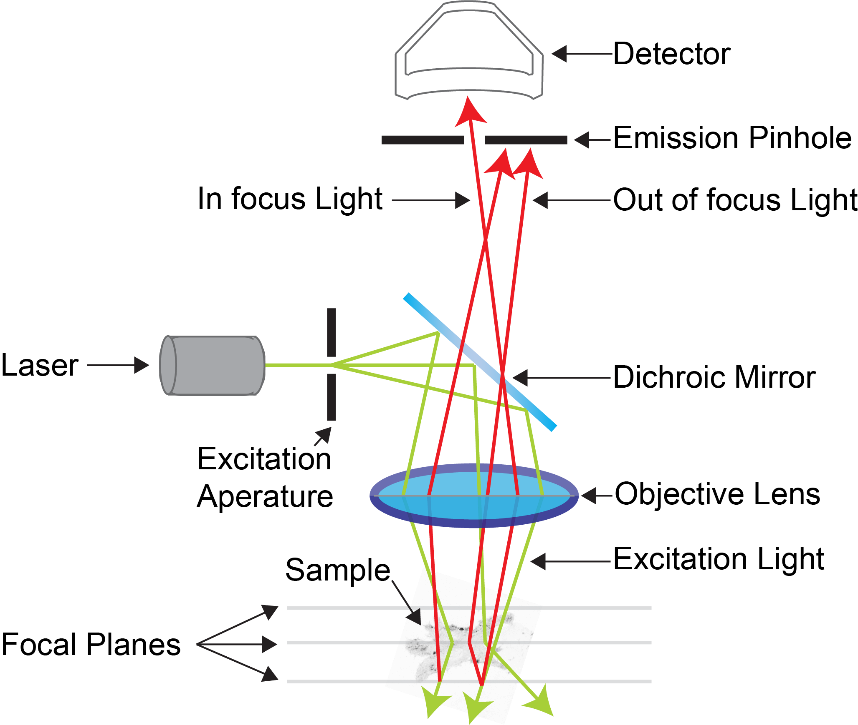


点扩散函数（PSF）描述了成像系统对点光源的响应，反应了成像系统的好坏，决定了成像系统的分辨率。

因为光的衍射，某一光点经过成像系统后，会在焦点处形成艾里斑 (Airy disk)，物体成的像可以认为是物体发出的所有光点形成的艾里斑的叠加（即Image = Object卷积PSF）。

PSF可以通过对小于分辨率极限的荧光Beads进行成像，测量出成像系统的PSF。知道了成像系统的PSF，可以通过对Image进行反卷积，得到更好的成像质量。

5、Confocal Scanning Microscope原理

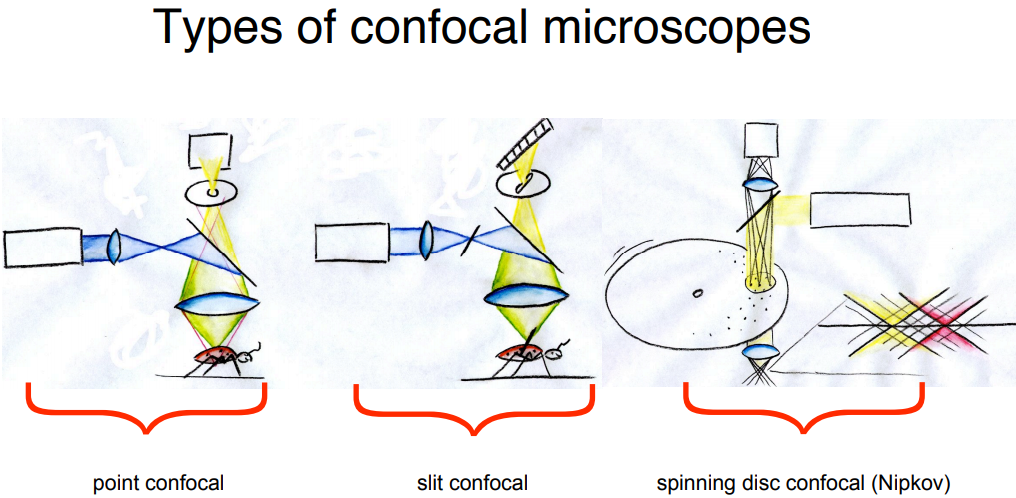


关键点：

(1).Detector前有pinhole，pinhole与焦面共轭，只有焦平面上的光可以通过pinhole，非焦面的光被阻挡不能通过，只保留焦面上的光，从而降低了背景噪声，改善了成像的分辨率；

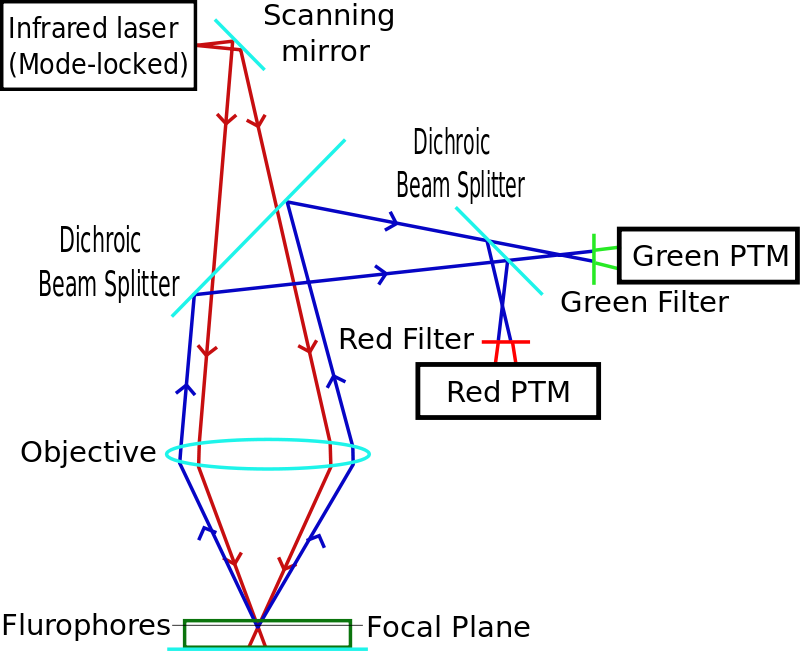
(2).二向色镜（Dichroic Mirror），反射波长短的光（例如蓝光），透过波长较长的光（绿光），可以结合荧光的激发来答。

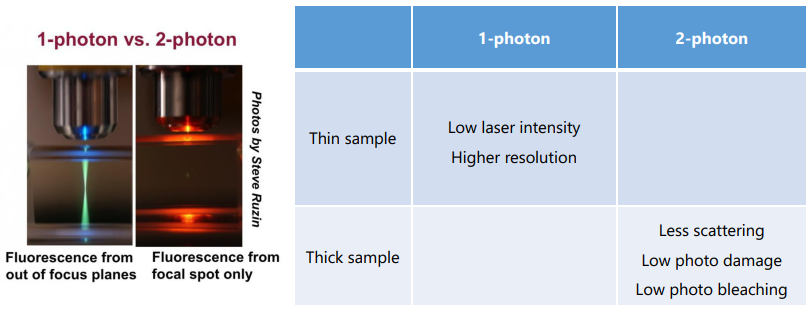
(3).扫描成像原理，confocal系统里通常有两个galvo（扫描振镜），从X和Y轴上扫描样品，从而得到一张图片，即点扫描。另外也有线扫和Spinning disk两种扫描方式，虽然提高了成像速度，但牺牲了分辨率。Z轴方向上以一定步长移动样品，即可得到不同Z轴位置的图像信息。



缺点：（1）成像时在Z轴上照亮整个样品，但每次只获得某一平面的信息，在进行3D扫描时会造成荧光漂白以及样品的损伤。（2）因为是点扫描，所以成像速度较慢，所以会出现线扫以及Spinning Disc扫描，但点扫描的分辨率最好。（3）成像深度较小（与双光子相比）。

6、Two photon microscope原理





关键点：（1）两个光子激发一个荧光，所以激发光的波长更长（近红外），穿透能力更强，可以看得更深；（2）激发光的波长更长，频率更低，能量更低，光毒性更低；（3）不需要pinhole，每次只激发一个点，光漂白更小；

缺点：速度慢，热效应，分辨率不如confocal（因为激发波长变长）。

7、超分辨显微镜

STED Microscope

Localization Microscope: PALM/STORM

Structured Illumination Microscope (SIM)

超分辨考的可能性不大，但建议多了解，能大致描述。重点关注物镜焦距、放大率的计算、Confocal和Two photon的原理。