



超扁 Light-Sheet 光束设计

黄隆钤

2020 年 11 月

目录

1 总述	1
2 背景与要求	1
3 光片荧光成像基本原理	1
4 超扁光束系统设计	2
4.1 光束系统总体设计	2
4.2 激光系统设计	2
4.3 扩束系统设计	3
4.4 聚焦系统设计	4
4.5 系统求解	5

1 总述

本文为光电子学的大作业一，设计用于荧光显微的超扁光片。

2 背景与要求

要开展活体亚细胞水平成像技术的研究，需要高分辨快速的荧光成像系统。

所谓荧光成像，就是用具有特异性荧光试剂与需要观察的细胞内的蛋白等特定组分相结合，同时用可以激发荧光染料发光的激光照射，这样凡是标注了荧光的蛋白就会发出荧光，只要对荧光成像，就可以观看到相应蛋白的分布与特性。

有多种不同的荧光显微成像：如宽场荧光显微、荧光共焦显微，STED 显微，STORM 显微等等。但是这些显微成像技术成像速度较慢，三维成像时速度更慢，无法满足活体亚细胞成像的需求。因此需要发展一种快速的高分辨的三维成像技术。人们提出将原来共焦系统中的接近衍射极限的聚焦光点，改为聚焦光片，实现片状光场的荧光激发扫描成像，有可能提高成像速度，特别是大范围生物样品三维成像的速度。这就是 **light sheet microscope** 的基本原理。

在这样的系统中，需要形成一个在尽可能长的距离上具有尽可能宽同时尽可能薄的片状的激光光束，希望在尽可能长的区域（几百微米）内形成很薄的（微米级或亚微米级），宽度尽可能宽的激光束。设计这样的光束系统。

3 光片荧光成像基本原理

整个光片荧光显微成像系统分为两部分，一部分为照明系统，一部分为显微系统，设照明光片在样品的强度分布为 $I(x, y = y_0, z)$ ，探测样品的显微镜系统的点扩散函数为 $\text{PSF}_{\text{det}}(x, y, z)$ ，则系统的点扩散函数为

$$\text{PSF}_{\text{sys}}(x, y, z) = I(x, y = y_0, z) \cdot \text{PSF}_{\text{det}}(x, y, z).$$

设在样品中加入的荧光分子分布为 $f(x, y, z)$ ，则系统最终获取的图片强度为 [3]

$$I_{\text{image}} = f(x, y, z) * \text{PSF}_{\text{sys}}(x, y, z),$$

对 I_{image} 进行解卷积处理，可以还原出样品的三维图像。

本文将对光束系统进行简要的设计，而不考虑显微系统。

4 超扁光束系统设计

4.1 光束系统总体设计

为了使光片更扁，由高斯光束的透镜整形性质，可先将其进行扩束。扩束后进入聚焦系统，在最后的束腰处得到超扁光束并照射样品。下图为系统简图，透镜均使用柱面镜，图中所展示的作为其截面。

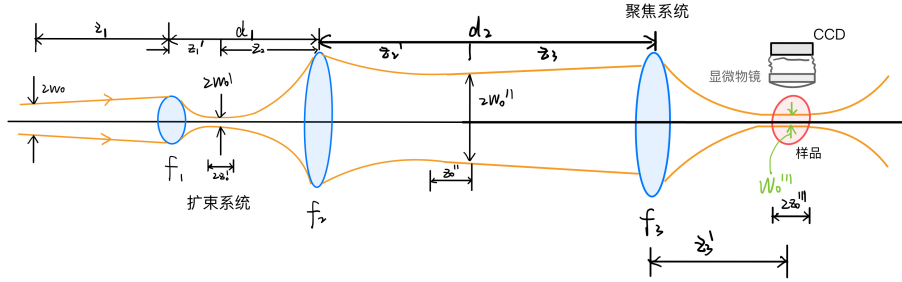


图 1: 超扁光束系统总体设计图

图中， $z, d_1, d_2, f_1, f_2, f_3, W_0$ 为可控参量，目标变量为 W_0''' 和 z_0''' ，由于 $z_0 = \pi W_0^2 / \lambda$ ，若目标 $z_0 = 100 \mu m$ ，则 $W_0''' = 4.184 \mu m$ 。 z_0''' 和 W_0''' 有一一对应关系且正相关。因此设定可目标束腰半径 $W_0''' = 5 \mu m$ ，此时光束较扁且宽度在百微米。

4.2 激光系统设计

考虑到常用的荧光光谱线在 $300 \sim 600 nm$ ^[4]，选取激光波长为 $550 nm$ 。选择激光器使输出激光束腰半径为 $W_0 = 5 mm$ ，则 $z_0 = \pi W_0^2 / \lambda = 142.8 m$ 。

另外，可增加激光扫描系统，使光束上下扫描，从而获取样品不同高度处的信息。

4.3 扩束系统设计

如下图，输出光束将经过两个透镜组成的扩束系统。

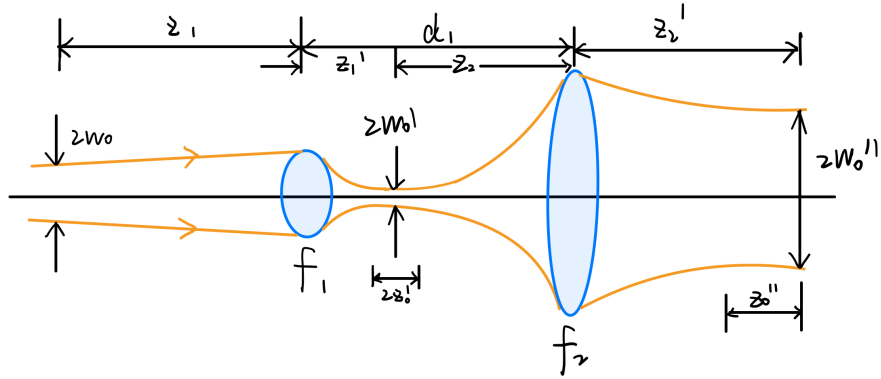


图 2: 扩束系统

根据高斯光束的透镜变换理论，第一、二个透镜的放大倍率

$$M_1 = \frac{M_{r_1}}{[1 + r_1^2]^{\frac{1}{2}}} = \frac{f_1^2}{(z_1 - f_1)^2 [1 + \frac{z_0^2}{(z_1 - f_1)^2}]^{\frac{1}{2}}}$$

$$M_2 = \frac{M_{r_2}}{[1 + r_2^2]^{\frac{1}{2}}} = \frac{f_2^2}{(z_2 - f_2)^2 [1 + \frac{z_0'^2}{(z_2 - f_2)^2}]^{\frac{1}{2}}}$$

进而有

$$W_0'' = M_2 W_0' = M_2 M_1 W_0$$

$$= \frac{f_1^2 f_2^2}{(z_1 - f_1)^2 [1 + \frac{z_0^2}{(z_1 - f_1)^2}]^{\frac{1}{2}} (z_2 - f_2)^2 [1 + \frac{z_0'^2}{(z_2 - f_2)^2}]^{\frac{1}{2}}}$$

其中 f_1, f_2, z, d 均为可控参数，而

$$z_2 = d_1 - z_1' = d_1 - [f_1 + M_1^2(z_1 - f_1)].$$

4.4 聚焦系统设计

下图为聚焦系统示意图。

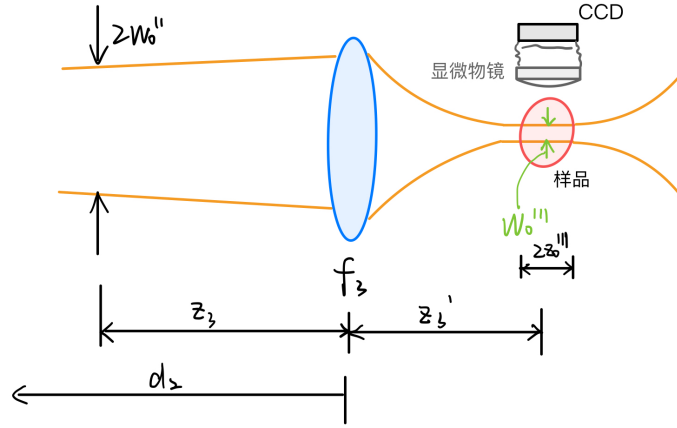


图 3: 聚焦系统

同样根据高斯光束的透镜变换理论，聚焦透镜的放大率

$$M_3 = \frac{M_{r_3}}{[1 + r_3^2]^{\frac{1}{2}}} = \frac{f_3^2}{(z_3 - f_3)^2 [1 + \frac{z_0''^2}{(z_3 - f_3)^2}]^{\frac{1}{2}}}$$

其中 z_3 满足

$$z_3 = d_2 - z_2' = d_2 - [f_2 + M_2^2(z_2 - f_2)]$$

因此出射光束的束腰半径

$$\begin{aligned} W_0''' &= M_3 W_0'' \\ &= \frac{f_1^2 f_2^2 f_3^2}{(z_1 - f_1)^2 (z_2 - f_2)^2 (z_3 - f_3)^2} \\ &\quad \times \left[\left(1 + \frac{z_0^2}{(z_1 - f_1)^2}\right) \left(1 + \frac{z_0'^2}{(z_2 - f_2)^2}\right) \left(1 + \frac{z_0''^2}{(z_3 - f_3)^2}\right) \right]^{-\frac{1}{2}} \end{aligned}$$

4.5 系统求解

由于变量过多，进行编程求解，相关的 Python 代码如下：

```
1 import numpy as np
2 def M(z0,z,f):
3     return f**2/((z-f)**2*(1+(z0/(z-f))**2)**1/2)
4
5 def zout(zin,f,M):
6     return f+M**2*(zin-f)
7
8 def get_z0(w0):
9     lmd=550e-6 #mm
10    return np.pi*(w0**2/lmd)
11
12 w0=5 # mm
13 z0=get_z0(w0) # mm
14 # print("z0:",z0)
15 z1=-10
16 d1=90
17 d2=200
18 f1=100
19 f2=5
20 f3=200
21 M1=M(z0,z1,f1)
22 # print("M1:",M1)
23 z11=zout(z1,f1,M1)
24 # print("z1out:",z11)
25 z2=d1-z11
26 w1=M1*w0
27 # print("W0':",w1)
28 z01=get_z0(w1)
29 # print("z0':",z01)
30 M2=M(z01,z2,f2)
31 # print("M2:",M2)
32 w2=M2*w1
```

```

33 # print("W0'':" ,w2)
34 z02=get_z0(w2)
35 # print("z0'':" ,z02)
36 z21=zout(z2,f2,M2)
37 # print("z2out:" ,z21)
38 z3=d2-z21
39 M3=M(z02,z3,f3)
40 # print("M3:" ,M3)
41 w3=M3*w2
42 z03=get_z0(w3)
43 print("W0' ' ' =" ,w3*1000,"um")
44 print("z0' ' ' =" ,z03*1000,"um")
45 # W0' ' ' = 4.805678126687134 um
46 # z0' ' ' = 131.915716897478 um
47
48 # while(1)
49 # {
50 #     z1=-10
51 #     d1=100
52 #     d2=100
53 #     f1=100
54 #     f2=5
55 #     f3=200
56 # 可对以上五个参数进行遍历
57 #     M1=M(z0,z1,f1)
58 #     # print("M1:" ,M1)
59 #     z11=zout(z1,f1,M1)
60 #     # print("z1out:" ,z11)
61 #     z2=d1-z11
62 #     w1=M1*w0
63 #     # print("W0':" ,w1)
64 #     z01=get_z0(w1)
65 #     # print("z0':" ,z01)
66 #     M2=M(z01,z2,f2)
67 #     # print("M2:" ,M2)

```



```

68 #         w2=M2*w1
69 #         # print("W0'':" ,w2)
70 #         z02=get_z0(w2)
71 #         # print("z0'':" ,z02)
72 #         z21=zout(z2,f2,M2)
73 #         # print("z2out:" ,z21)
74 #         z3=d2-z21
75 #         M3=M(z02,z3,f3)
76 #         # print("M3:" ,M3)
77 #         w3=M3*w2
78 #         z03=get_z0(w3)
79 #         print("W0'"" =",w3*1000,"um")
80 #         print("z0'"" =",z03*1000,"um")
81 #         if(w3*1000>1 and w3*1000<10 and z0*1000>100)
82 #         {
83 #             print(z1,d1,d2,f1,f2,f3)
84 #         }
85 #     }

```

其中，核心思想是对高斯光束进行光线追迹，可以在 while 循环（已注释掉）中对可变参数进行遍历。

经过计算求解，可以得到：当

$$z_1 = -10, d_1 = 90, d_2 = 200, f_1 = 100, f_2 = 5, f_3 = 200 \text{ mm}$$

时 (-10 表示在透镜左侧 10mm，相关参数的几何意义请见图1)，将获得束腰半径 $W_0 = 4.8 \mu\text{m}$ ，焦深 $2z_0 = 263.83 \mu\text{m}$ 的超扁光束。

参考文献

- [1] Engelbrecht C J, Stelzer E H. Resolution enhancement in a light-sheet-based microscope (SPIM)[J]. Optics letters, 2006, 31(10): 1477-1479.
- [2] 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.
- [3] Kafian H, Lalenejad M, Moradi-Mehr S, et al. Light-Sheet Fluorescence Microscopy with Scanning Non-diffracting Beams[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-12.
- [4] 崔泽实, 郭德伦. 荧光显微镜的功能配置及应用要点 [J]. 医疗装备, 2004, 17(9): 4-6.