

SPIM系统设计, part 1

畅星兆

2019.06.13

需求分析

1. 使用光纤形成光片
2. 兼容已有trapping系统
3. 性能要求

1.使用光纤形成光片

问题

- 则照明光路、探测光路固定，样品可以移动
- 能否实现操纵光纤进行扫描？

2. 兼容已有系统

1. 探测光路：使用已有的显微镜系统进行探测 – 光片水平入射

2. PDMS:

1. 照明光路工作距、探测光路工作距
2. 折射率的匹配

• 问题:

1. 正入射/斜入射?
2. 封闭/开放?

3. 性能要求

1. 照明光路工作距
2. 探测光路工作距
3. 视场大小
4. 纵向分辨率/光片厚度
5. 横向分辨率
6. 扫描速度

典型值

	描述	照明物镜	照明光路工作距	视场大小	纵向分辨率	横向分辨率	探测光路工作距	成像速度	探测物镜
[1]		40*/ NA 0.8	3.3 mm		0.5 μm			1400 Hz	
[2]	IML- SPIM	40*/ NA 0.8			2 μm	500 nm		33 Hz	100*/ NA 1.1
		100*/ NA 1.1		80 μm	900 μm				
[3]	IsoView	/ NA 0.714	3.09 mm	800 μm	1.5 μm	0.3 μm	3.09 mm	2 Hz	/ NA 0.714
		/ NA 0.714			0.21 μm	0.21 μm			
[4]	soSPIM	100*/ NA 1.3		13 μm	0.6 μm			< 500 Hz	
		20*/ NA 0.5		220 μm	2.15 μm				
		10*/ NA 0.3		265 μm	2.6 μm				
[5]	DSLIM	5*/ NA 0.16	12.1 mm				2.1 mm	15 Hz	63x/ NA1.0
[6]	APOM	100*/ NA 1.4	0.13 mm	70 μm ?	1 μm	μm			
[7]	Bessel + DSLIM				0.3 μm	0.3 μm		200 Hz	
[8]	in solution	10*/ NA 0.28	33.5 mm	80 μm	1.5 μm		0.28 mm	100 Hz	40*/ NA 1.2
[9]	Ispim	40*/ NA 0.8	3.5 mm	50 μm	0.6 μm		3.5 mm		40*/ NA 0.8

3.1 照明光路设计

期望

1. 使用光纤+超表面
2. 光片水平入射
3. *工作距: $WD \geq 3 \text{ mm}$
4. *纵向分辨率: $r \leq 1 \text{ }\mu\text{m}$
($thickness \leq 2 \text{ }\mu\text{m}$)
5. *视场大小: $50 \times 20 \text{ }\mu\text{m}^2$

问题

1. 纤芯直径 $9 \text{ }\mu\text{m}$, 可否产生期望的工作距和视场
2. 超表面的设计满足纵向分辨率要求

3.5 探测光路设计

- 采用探测光路采用的显微镜系统
- 工作距：多少合适

问题汇总

1. 照明光路

- 光片正入射/斜入射
- 超表面的设计方案（满足纵向分辨率要求）
- 光纤可否产生期望的工作距和视场
- 能否实现操纵光纤进行扫描？

2. 探测光路

- 是否使用已有的显微镜系统？
- 工作距

3. 其他

- 样本室封闭/开放
- 扫描方案

参考文献

1. Capoulade, Jérém et al., "Quantitative fluorescence imaging of protein diffusion and interaction in living cells" , Nature Biotechnology, 2011.
2. Cella Zanacchi, Francesca et al., "Live-cell 3D super-resolution imaging in thick biological samples" , Nature Methods, 2011.
3. Chhetri, Raghav K et al., " Whole-animal functional and developmental imaging with isotropic spatial resolution" , Nature methods, 2015.
4. Galland, Remi, "3D high- and super-resolution imaging using single-objective SPIM" , Nature methods, 2015.
5. Keller, Philipp J, "Reconstruction of Zebrafish Early Embryonic Development by Scanned Light Sheet Microscopy" , Science, 2008.
6. Li, Tongcang, "Axial Plane Optical Microscopy" , Scientific reports, 2014.
7. Planchon, Thomas A, "Rapid three-dimensional isotropic imaging of living cells using Bessel beam plane illumination" , Nature methods, 2011.
8. Ritter, Jörg Gerhard, "Light Sheet Microscopy for Single Molecule Tracking in Living Tissue" , PLoS ONE, 2010.
9. Theer, Patrick, " π SPIM: high NA high resolution isotropic light-sheet imaging in cell culture dishes" , Scientific Reports, 2016.