

文章编号 1004-924X(2015)10-2971-09

共振扫描显微成像中的图像畸变校正

熊大曦^{1*}, 刘云^{1,2,3}, 梁永¹, 娄艳阳^{1,2,3}, 郑贤良¹, 金鑫¹, 蒋克明¹, 黎海文¹, 李辉¹

(1. 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所 江苏省医用光学重点实验室, 江苏苏州 215163;
2. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所, 吉林长春 130033; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:设计了一种校正算法用于校正双光子荧光显微镜等高速扫描成像系统中共振振镜扫描导致的图像畸变。首先对共振振镜的扫描运动建立模型, 推导出非线性扫描的运动公式, 进而得到图像畸变公式; 然后对一块朗奇光栅样品扫描成像, 设计了多峰高斯拟合算法得到光栅所有条纹的宽度变化并通过最小二乘法将条纹宽度数据拟合成一条畸变曲线; 最后利用畸变曲线对图像进行校正。结果表明: 采用提出的校正算法可使系统最大畸变减小到传统正弦校正方法的 1/3, 相对畸变减小到 1/5, 校正效果比传统的正弦校正法提高了 2 倍。由于提出的曲线拟合校正算法不用增加额外的光路, 且不需要切割边缘图像, 故显示了极好的图像使用效率和校正效果。

关键词:共振振镜; 扫描成像; 图像畸变; 畸变校正; 曲线拟合; 双光子显微镜

中图分类号: TH742.9; TP391 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20152310.2971

Correction of distortion in microscopic imaging with resonant scanning

XIONG Da-xi^{1*}, LIU Yun^{1,2,3}, LIANG Yong¹, LOU Yan-yang^{1,2,3},
ZHENG Xian-liang¹, JIN Xin¹, JIANG Ke-ming¹, LI Hai-wen¹, LI Hui¹

- (1. Jiangsu Key Laboratory of Medical Optics, Suzhou Institute of Biomedical Engineering and Technology, Chinese Academy of Sciences, Suzhou 215163, China;
2. Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China;
3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

* Corresponding author, E-mail: xiongdxi@sibet.ac.cn

Abstract: An efficient algorithm was proposed to correct the image distortion caused by a resonant scanner in higher speed scanning and imaging systems of confocal or two-photon laser scanning microscopes. A model of scanning movement for the resonant scanner was established, the movement formula of the nonlinear scanning was deduced, so that the distortion equation of the image was obtained. Then, a Ronchi grating sample was imaged by scanning, the multi peak Gauss fitting algorithm was designed to get all grating line widths. Those unequal line-widths were fitted into a distortion curve by least square method. Finally, the image correction was achieved through compressing or

收稿日期: 2015-05-29; **修订日期:** 2015-07-21.

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项资助项目 (No. ZDYZ2013-1); 国家自然科学基金面上项目 (No. 61475185); 中科院百人计划资助项目

stretching original image based on correction coefficients from the distortion curve. Experimental results indicate that the curve fitting correction algorithm reduces the maximum distortion and the relative distortion to 1/3 and 1/5 those of traditional one and the correction effect is twice as much as that of sinusoidal correction method. The fitting correction algorithm does not need to add other light paths and segment edge images, so it shows good image efficiency and correction effect.

Key words: resonant scanner; scanning image; image distortion; distortion correction; curve fitting; two-photon microscope

1 引言

双光子荧光显微镜对样品的光损伤较小,且具有深层次成像能力,因而在活体检测和生物样品的三维成像方面得到广泛应用^[1]。双光子显微镜属于激光扫描显微镜,其扫描速度直接决定成像速度。传统的双光子荧光显微镜采用双检流计式振镜来对 XY 两个方向进行扫描,而检流计式振镜的扫描速度一般不超过 2 kHz,对一幅 512 pixel×512 pixel 图像的时间分辨率只能达到 5 frame/s,极大限制了人们对于实时观测的需求^[2]。为了提高激光扫描显微镜的成像速度,研究者提出了各种扫描方式,比如把一系列微孔和微镜放置在一个旋转的尼普科夫盘上^[3-4],或者使用可编程的数字微镜阵列来实现并行扫描^[5],但综合考虑成像速度、成像质量以及系统的稳定性,目前最常用的是检流计式扫描振镜加共振振镜的扫描方法^[6]。

与检流计振镜不同,共振振镜以一个固有的谐振频率做简谐运动,其扫描速度可以达到 12 kHz,采用共振振镜的激光扫描显微镜的时间分辨率可以提高到 30 frame/s,达到了视频级别的时间分辨率^[7]。然而振镜的简谐运动使得其角速度在中心位置时最大,在两端时为零,如果采用传统等时采样方法,则采集到的图像会发生畸变^[6]。为了消除这种畸变,研究者提出了很多解决方案,其中最简单的是将图像畸变比较严重的区域直接切除,留下线性度比较好的区域,但是这样会使成像尺寸减小大概三分之一,降低图像的使用效率,并且剩余图像中间部分依然存在畸变的问题^[7]。

图像畸变的校正方法包括硬件校正和软件校正两种。硬件校正一般通过像素时钟来进行非等时采样^[6],但是这种方法有两个缺点:首先,共振

振镜的扫描曲线会随温度、湿度等环境因素改变,而固定不变的像素时钟则无法改变;其次,固定的像素时钟会限制成像尺寸和像素数,降低系统的拓展性^[9]。软件校正是指采用普通的等时采样得到畸变图像,后期再对图像进行校正,在采样频率足够高的条件下,软件校正可以在不牺牲图像质量的同时,避免硬件校正带来的一系列问题。共振振镜运动曲线的测量是图像畸变校正的基础。测量方法之一是在共振振镜背后增加一路反射光路^[6],光线依次通过振镜和一个朗奇光栅,通过测量光栅出射光来得到共振振镜的运动状态。该方法需要增加一路光路,从而使系统变得复杂繁琐^[10]。另外一种方法是基于标准正弦曲线的正弦校正,该方法直接采用正弦曲线来表示振镜的运动状态^[11]。正弦校正假定振镜处于理想工作状态,但是实际使用中振镜往往会由于使用环境、寿命等原因而偏离标准正弦曲线运动,此时,若仍使用正弦校正会使图像产生更大的畸变。

本文提出一种测量共振振镜运动曲线的方法,只需利用双光子显微镜自身的成像功能,不用增加额外的光路就能拟合出共振扫描曲线。

2 双光子显微系统的构成及其共振扫描原理

2.1 双光子显微系统

图 1 是双光子显微镜的光路示意图。由图 1 可知,激光经过扩束后到达 X, Y 振镜, X, Y 振镜进行正交扫描,如图 2(a)所示,从而使照射到样品上的光斑扫描形成二维平面。X 方向是扫描速度较快的共振振镜扫描, Y 方向是扫描速度较慢的检流计振镜扫描。扫描的光束经过物镜聚焦到载物台上,激发样品并产生荧光,荧光通过物镜

和二向色镜, 进入光电倍增管 (Photomultiplier Tube, PMT)。PMT 产生电信号, 计算机对 PMT 进行采样从而获得图像信息^[12-13]。

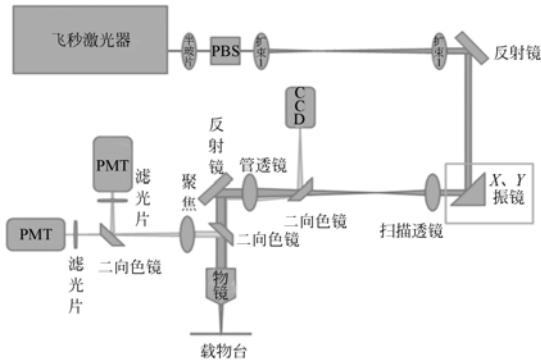
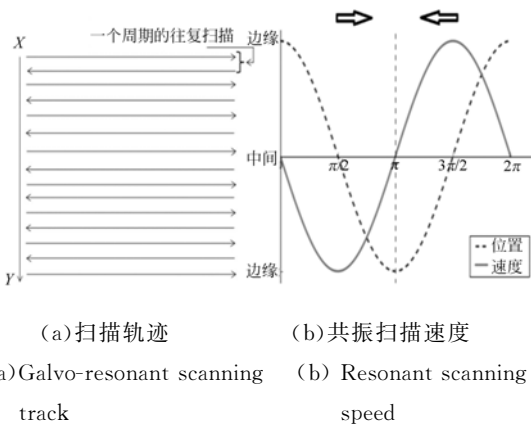


图 1 双光子显微系统光路图

Fig. 1 Optical path diagram of two-photon microscopy system

2.2 共振扫描原理

对于等时采样系统, 如果采用匀速扫描, 则图像不会产生畸变^[14], 但如果系统采用共振振镜扫描, 在左侧边缘扫描到右侧边缘时, 就会由于扫描速度先由慢到快, 再由快到慢而使重构图像发生畸变。图 2(b) 中间虚线的左边是自左向右扫描, 虚线右边是自右向左扫描。由于 X 方向的扫描为非匀速扫描, 所以等时间采样得到的图像点也不是等间距的。



(a) 扫描轨迹

(b) 共振扫描速度

(a) Galvo-resonant scanning track

(b) Resonant scanning speed

图 2 检流计振镜与共振振镜的扫描示意图

Fig. 2 Scanning maps of galvo and resonant mirrors

由于共振振镜在图像中间部分的扫描速度较快, 相邻采样点距离较大, 然而图像重建过程中, 采样结果会被等距离填充到每一个像素中, 从而导致图像中部出现 X 方向的压缩畸变; 与此相

反, 图像边缘会出现 X 方向的拉伸畸变^[6,8,15]。

2.3 共振扫描的畸变系数

共振振镜的扫描可近似为简谐振动, 其角度可以用下式描述:

$$\theta(t) = \theta_{\max} \cos(2\pi ft), \quad (1)$$

其中: θ_{\max} 为最大的扫描角度, f 为扫描频率, t 为扫描时间, θ 为 t 时刻的扫描角度。为了简化推导, 只针对从左向右的扫描, 对应图 2(b) 虚线左边的情况。

如公式(1)所示, 在 $1/2$ 个周期内, 当 $t=0$, $t = \frac{1}{2f}$ 时, 偏转角最大, 扫描光点在视场边缘; 当 $t = \frac{1}{4f}$ 时, 偏转角为零, 扫描光点在视场中间。对 t 求导, 得到振镜角速度的公式:

$$\frac{d\theta(t)}{dt} = -2\pi f \theta_{\max} \sin(2\pi ft), \quad (2)$$

可以看出, 当 $t=0$, $t = \frac{1}{2f}$ 时, 振镜的角速度为 0,

当 $t = \frac{1}{4f}$ 时, 振镜的绝对角速度最大, 为 $2\pi f \theta_{\max}$ 。

振镜位置和速度的关系决定了图像的畸变, 由公式(2)得到的畸变如下:

$$D(t) = \frac{1 - \sin(2\pi ft)}{D_{ND}}. \quad (3)$$

假设一行的像素总数为 P , 式中 $D(t)$ 为第 $(tf \times P)$ 个像素的畸变系数。任意选择一个位置为无畸变位置, 实际上由于此时使用像素来表示位置和距离, 所以这个选值只代表了图像整体放大或者缩小, 不会影响图像的相对畸变程度。假设选择扫描到 $\frac{1}{8f}$ 处为无畸变的位置, 则 $D_{ND} = 1 - \sin(\frac{2\pi f}{8f}) \approx 0.3$, 此时 $D(t) = 1$ 。畸变系数 $D(t) > 1$ 时, 表示图像拉伸; $D(t) < 1$ 表示图像压缩^[14]。公式(3)中 $1 - \sin(2\pi ft)$ 称为畸变曲线。

2.4 传统的正弦校正

畸变校正的核心思想是利用图像的畸变曲线来还原图像, 传统的正弦校正方法中的畸变曲线采用理想的正弦曲线; 而曲线拟合校正方法中的畸变曲线则是通过实验数据本身来拟合的。

正弦校正方法采用了公式(3)中所示的正弦畸变曲线, 要利用这个公式对图像进行校正, 需要作出 3 点假设:

(1) 在 X 方向上共振振镜扫描角速度的变

化遵循正弦变化;

(2) 图像的每一行对应一次扫描的半个周期(单向);

(3) 共振振镜的扫描角速度变化曲线在任何实验条件下都不会改变。

在这 3 个前提下, 可以认为系统所得到的图像在 X 方向上出现了符合正弦变化的畸变。则根据公式(3)可以推导出校正曲线:

$$C(t) = \frac{D_{ND}}{1 - \sin(2\pi ft)}, \quad (4)$$

式中: $C(t)$ 为校正系数, $C(t) > 1$ 表示图像拉伸; $C(t) < 1$ 则表示图像压缩。

3 共振扫描图像畸变校正

3.1 双光子激光扫描成像系统

图 3 所示是实验室所搭建的一台双光子激光扫描显微镜。采用检流计-共振振镜作为扫描模块, Y 方向的检流计振镜为 Cambridge galvo scanner 6215(5 mm), X 方向的共振振镜为 CRS 8 kHz resonant scanner (Cambridge Technology, Inc.)。系统采用 680~1 080 nm 波长可调的飞秒脉冲激光器(Coherent, Inc.)作为激发光源。PMT 采用滨松公司的 H9305-03, 其光谱响应为 185~900 nm, 物镜选自 Nikon 公司, 放大倍率为 16, 数值孔径为 0.8。此外, 系统中还使用了 Newport 公司的 9065-XYZ 三维移动平台作为样品台, 用于实现对焦和移动视场, 采用 TOSHIBA-TELI 的 CS8310 CCD 相机进行宽场显微成像, 用于在扫描成像前寻找感兴趣的样品区域^[16]。

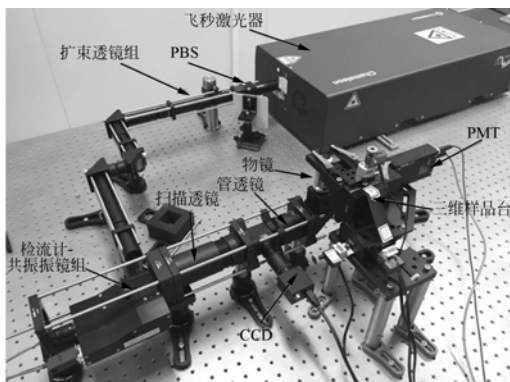


图 3 双光子显微镜系统

Fig. 3 Two-photon microscope system

3.2 曲线拟合校正

正弦校正方法简单快捷, 但是有着比较大的误差, 甚至可能会产生比原图更大的畸变, 其原因在于:

(1) 共振振镜的扫描角速度不一定严格遵循正弦曲线变化, 由于使用环境(如温度, 湿度等)的影响, 图像畸变也会偏离正弦曲线规律;

(2) 图像的畸变不仅来自振镜的扫描过程, 光路系统的偏差同样会改变畸变的正弦特性。

由于每一套系统都存在上述两种影响, 故都有各自的畸变, 因此正弦校正的通用性是以牺牲准确率为前提的。本文设计了一种根据各个系统的畸变情况进行校正的算法, 称为曲线拟合校正。

该算法分为三个步骤, 第一步通过测量一块朗奇光栅得出亮条纹的宽度, 第二步通过条纹宽度拟合出一条曲线来表示图像的畸变程度; 第三步参照正弦校正方法进行校正, 这里选用了拟合的曲线作为畸变曲线。

3.2.1 多峰高斯拟合

首先使用图 3 中的双光子激光扫描共焦显微镜对一块朗奇光栅扫描成像。由于成像系统的限制, 无法确切找到每一个条纹的边缘。为了提取光栅的亮条纹宽度, 用以描述图像的畸变程度, 本文设计了一种多峰高斯拟合算法^[17]。

首先选取共振扫描方向上某一行的强度值, 通过差分法得出所有的强度极小值, 每两个极小值之间就是一个单独的条纹。然后通过下式对每一个单独的条纹波形做高斯拟合:

$$f(x) = a + (b - a) \times \exp\left[-\frac{(x - c)^2}{2d^2}\right]. \quad (5)$$

通过公式(6)计算高斯曲线的半高宽:

$$FWHM = 2\sqrt{2\ln 2}d \approx 2.35482 \times d, \quad (6)$$

式中 FWHM 即为朗奇光栅亮条纹的宽度。

3.2.2 畸变曲线拟合

所有的条纹宽度可以组成大量离散的数据对(第几条条纹-对应的该条纹的宽度), 需要将这些数据对拟合成一条平滑的连续曲线, 再利用线性回归方法来拟合这条曲线^[18]。

假设得到 m 个数据对 $(x^{(i)}, y^{(i)})$, 首先假设要拟合的曲线形如公式(7):

$$h_{\theta}(x) = \theta_0 + \theta_1 x + \theta_2 x^2 + \theta_3 x^3 \cdots \theta_n x^n, \quad (7)$$

如果取 $n = 2$, 则得到代价函数, 如式(8)

所示:

$$J(\theta_0, \theta_1, \theta_2) = \frac{1}{2m} \sum_{i=1}^m (h_\theta(x^{(i)} - y^{(i)})^2). \quad (8)$$

公式(8)可以看作为拟合曲线函数值 $h_\theta(x^{(i)})$ 与实际的离散点 $y^{(i)}$ 之间的平方差,这个平方差越接近零,说明拟合的曲线越接近测量的真实数据,即拟合的目标为:

$$\min_{\theta_0, \theta_1, \theta_2} J(\theta_0, \theta_1, \theta_2). \quad (9)$$

求出代价函数 J 最小时的系数 $\theta_0, \theta_1, \theta_2$, 然后就可以得到拟合曲线 $h_\theta(x) = \theta_0 + \theta_1 x + \theta_2 x^2$ 。

3.2.3 曲线拟合校正

根据公式(3)以及公式(7),可以得到畸变曲线公式如下:

$$D(i) = \frac{h_\theta(i)}{D_{ND}}, \quad (10)$$

式中: $D(i)$ 称为畸变系数,表示第 i 个像素产生的畸变程度; D_{ND} 为标准值,作为未畸变的位置,可以得到 $D(i)=1$ 。当畸变系数 $D(i)>1$ 的时候,表示图像拉伸, $D(i)<1$ 的时候,表示图像压缩。

校正算法流程如图 4 所示,其包括 4 个步骤:扩大,切片,校正和还原。对于大小为 $P \text{ pixel} \times P \text{ pixel}$ 的待校正图像,由于单个像素无法拉伸或者压缩,因此把 X 方向上的 P 个像素扩充为 NP 个,相当于把图像横向放大了 N 倍,使每一列像素变成宽度为 N 的区域。这样就将对单个像素的操作转换成对像素区域的操作,每个区域就是图 4 中的单个切片,每个切片宽度为 N 个像素。宽度大于或小于 N ,则表示对这个区域进行了拉伸或者压缩^[19]。

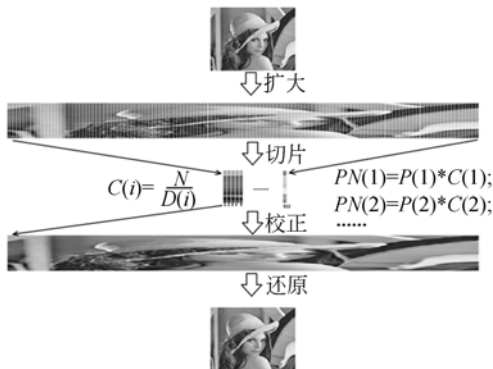


图 4 校正算法过程

Fig. 4 Process of correction algorithm

将畸变系数公式(10)转换成校正系数,如公式(11)所示:

$$C(i) = \frac{N}{D(i)}. \quad (11)$$

得到校正系数 $C(i)$ 之后,按照图 4 所示的算法流程,将切片的像素区域按照相应的校正系数 $C(i)$ 拉伸或者压缩。最后,再利用插值法将校正后的图像大小还原到 $P \text{ pixel} \times P \text{ pixel}$ 。

4 实验与结果评估

4.1 校正实验

4.1.1 拟合畸变曲线

使用如图 3 所示的双光子激光扫描显微镜,对一块条纹宽度为 $5 \mu\text{m}$ 的朗奇光栅进行共振扫描成像,数据的处理过程如图 5 所示。先使用多

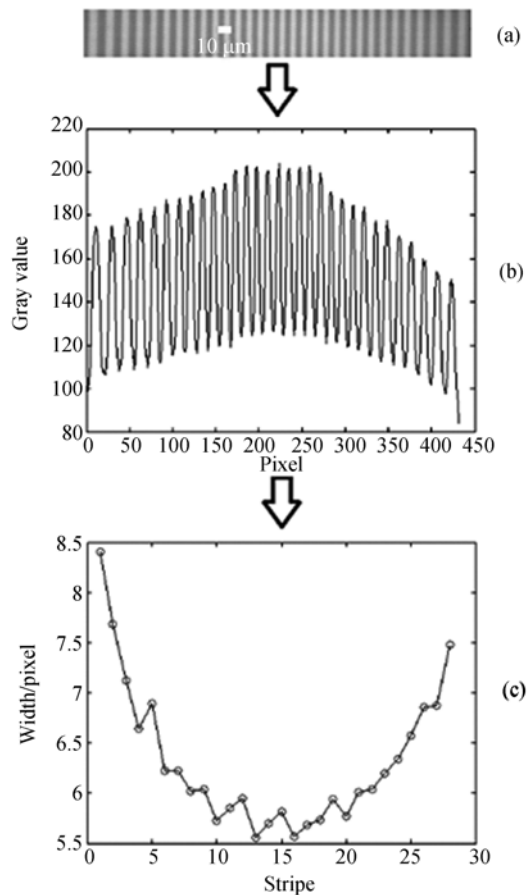


图 5 朗奇光栅的条纹宽度

(a) 光栅扫描成像 (b) 横向灰度值变化 (c) 宽度变化

Fig. 5 Stripe width of Ronchi grating

(a) Scanning imaging of grating (b) Gray level change in transverse direction (c) Width change of stripe

峰高拟合算法得到光栅亮条纹的宽度数据,可以看到,由于共振扫描畸变的存在,条纹的宽度出现了明显的正弦变化。得到的条纹宽度如表 1 所示。

表 1 光栅条纹宽度数据

Tab.1 Stripe width of Ronchi grating

条纹	1	2	3	4	5	6	7
宽度	8.41	7.68	7.12	6.64	6.89	6.23	6.22
条纹	8	9	10	11	12	13	14
宽度	6.02	6.04	5.73	5.85	5.95	5.56	5.70
条纹	15	16	17	18	19	20	21
宽度	5.82	5.57	5.68	5.73	5.95	5.77	6.01
条纹	22	23	24	25	26	27	28
宽度	6.04	6.19	6.34	6.58	6.85	6.88	7.48

利用得到的条纹宽度数据,通过公式(7)做二次多项式拟合,可得到畸变曲线函数,形式如下:

$$h_{\theta}(x) = 8.21 - 0.34x + 0.01x^2. \quad (12)$$

图 6 是拟合的畸变曲线与理想的正弦畸变曲线对比图。通过图 6 可以看出,拟合的曲线形状也类似于正弦变化,符合预期的理论推导。

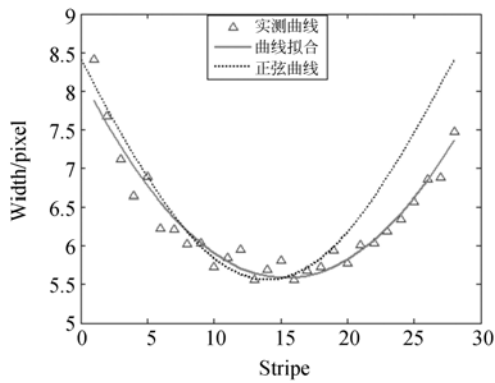


图 6 畸变曲线拟合

Fig.6 Distortion curve fitting

4.1.2 校正共振扫描畸变

利用畸变曲线和公式(11),可以得到校正系数。利用双光子显微镜对光栅条纹宽度为 2.5 μm 的朗奇光栅扫描成像,并使用曲线拟合校正算法和正弦校正算法对图像进行处理,结果如图 7 所示。

对于校正后的图像,再利用多峰高斯算法拟合得到亮条纹的宽度,如图 8 所示。其中,三条曲线分别代表了未校正图像,曲线拟合校正图像,以

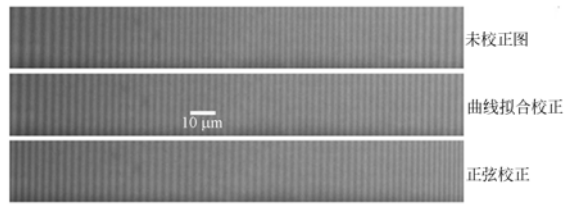


图 7 校正结果

Fig.7 Correction results

及正弦校正的图像中所提取出的条纹宽度。

通过图 7 可以看出,正弦校正方法对图像中间部分能起到一定校正作用,但是图像边缘出现了过度校正(把拉伸的图像校正为压缩的图像)。而曲线拟合校正对图像边缘的拉伸畸变以及中间的压缩畸变都有较好的校正效果。

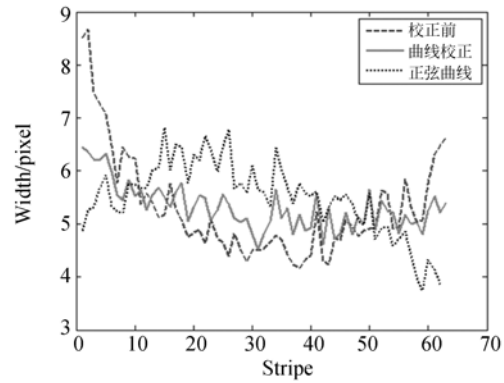


图 8 校正结果对比

Fig.8 Comparison of correction results

图像的畸变程度以及校正效果如表 2 所示,由于正弦校正对于边缘的校正效果比较差,一般只使用中间部分的数据,因此在最后一行单独列出了正弦校正图像中部的校正结果。

表 2 校正效果对比

Tab.2 Comparison of correction results

方法	畸变和	最大畸变	相对畸变
未校正图像	8.77	0.63	0.96
曲线拟合校正	3.94	0.21	0.18
正弦校正	6.64	0.30	0.49
正弦校正(截中间部分)	5.15	0.28	0.33

校正之后条纹宽度的平均值等于 5.32 pixel,由于已知光栅条纹宽度为 2.5 μm,则可以标定出在放大 32 倍的情况下,图像的一个像素对应 0.47

μm 。以此为标准可以评估图像的畸变以及校正程度,公式(13)是所有条纹相对于标准宽度的畸变累加:

$$D_{\text{sum}} = \frac{\sum_{i=1}^n |W_i - W_s|}{W_s} \quad (13)$$

同理最大畸变由公式(14)算得:

$$D_{\text{max}} = \frac{|\max(W_i) - W_s|}{W_s} \quad (14)$$

其中: W 是图像中的条纹宽度, $W_s = 5.32$ 是标准宽度。同理,平均畸变是指所有条纹的平均畸变程度。

由于光栅具有良好的周期性,理想条件下的亮条纹宽度也应当为恒定值。图像亮条纹宽度变化越大,说明畸变越严重。相对畸变反映了条纹宽度的方差,它是评估校正结果最为重要的指标。表 2 中的相对畸变由方差公式(15)算得, D_{avg} 表

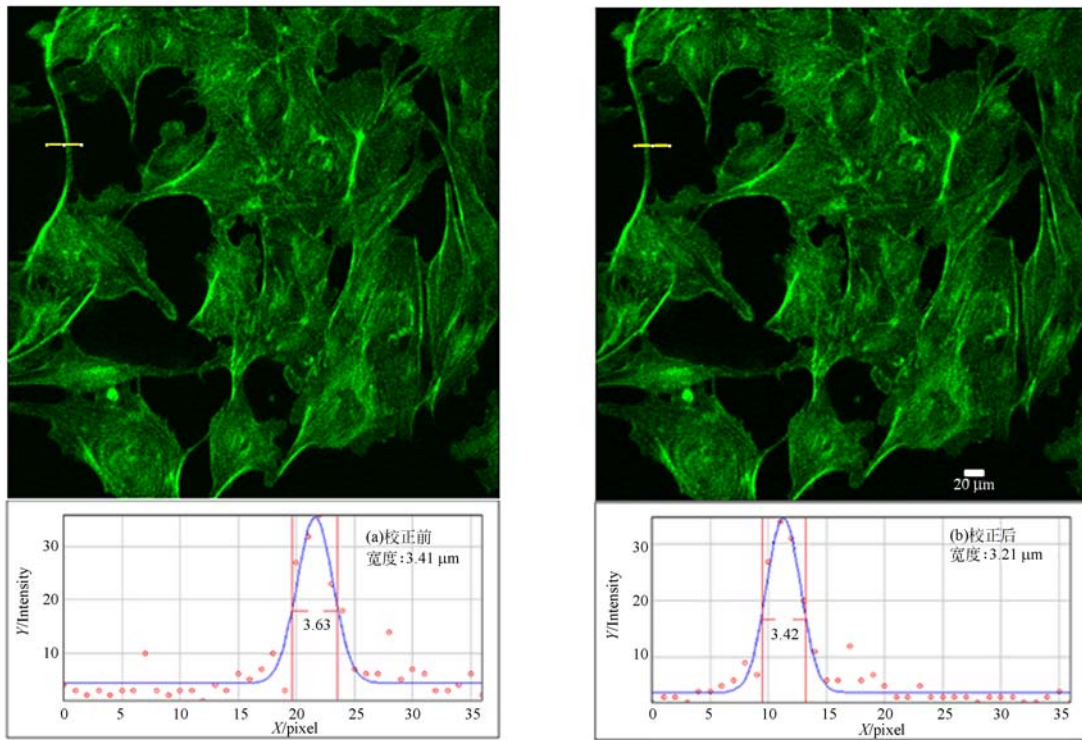
示畸变的平均值:

$$D_{\text{rel}} = \frac{\sum_{i=1}^n (D_i - D_{\text{avg}})^2}{n - 1} \quad (15)$$

本文提出的曲线拟合算法可以将图像的最大畸变减小到 1/3,相对畸变减小到 1/5,具有良好的校正效果。

4.2 BPAE 细胞双光子激光扫描成像畸变校正

图 8(彩图见期刊电子版)为双光子激光扫描显微系统采集的小牛肺动脉内皮(Bovine Pulmonary Artery Endothelial, BPAE)细胞图像,系统放大倍率为 16 倍,图像中一个像素对应的样品尺寸为 $0.94 \mu\text{m}$ 。BPAE 细胞内的肌动蛋白使用绿色荧光染料 Alexa Fluor[®] 488 染色,在波长为 750 nm 的飞秒激光照射下,激发出中心波长为 525 nm 的绿色荧光。黄线标出的细胞触角经过校正后,宽度由 $3.41 \mu\text{m}$ 校正为 $3.21 \mu\text{m}$ 。



(a)校正前

(a) Before correction

(b)校正后

(b) After correction

图 9 小牛肺动脉内皮细胞扫描成像畸变校正

Fig. 9 Correction of scanning imaging for bovine pulmonary artery endothelial cell

5 结 论

本文提出利用曲线拟合校正的方法来校正由于共振扫描非线性造成的双光子荧光显微成像的

图像畸变,并且与传统的正弦校正方法进行了对比。实验结果表明,曲线拟合校正方法使图像的畸变得到了明显改善,最大畸变减小到传统正弦校正方法的 1/3,相对畸变减小到 1/5,校正效果是正弦校正的两倍。

参考文献:

- [1] RENNINGER S L, ORGER M B. Two-photon imaging of neural population activity in zebrafish[J]. *Methods*, 2013, 62(3): 255-267.
- [2] 董贤子,段宣明. 双光子三维微结构快速制备技术[J]. *光学精密工程*, 2007, 15(4): 441-446.
DONG X Z, DUAN X M. High speed two-photon laser nanofabrication of three-dimensional microstructures [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2007, 15(4): 441-446. (in Chinese)
- [3] TANAAMI T, OTSUKI S, TOMOSADA N, *et al.*. High-speed 1-frame/ms scanning confocal microscope with a microlens and Nipkow disks[J]. *Appl. Optics*, 2002, 41(22): 4704-4708.
- [4] 徐正平,王德江,黄厚田,等. 数字微镜器件视频显示性能分析[J]. *液晶与显示*, 2013, 28(2): 255-260.
XU ZH P, WANG D J, HUANG H T, *et al.*. Analysis on performance of video displaying system based on DMD[J]. *Chinese Journal of Liquid Crystals and Displays*, 2013, 28(2): 255-260. (in Chinese)
- [5] HEINTZMANN R, HANLEY Q S, ARNDT-JOVIN D, *et al.*. A dual path programmable array microscope (PAM): simultaneous acquisition of conjugate and non-conjugate images[J]. *Journal Of Microscopy-Oxford*, 2001, 204: 119-135.
- [6] SANDERSON M J, PARKER I. *Video-rate Confocal Microscopy*[M]. GERARD MARRIOTT I P. *Methods in Enzymology*, New York: Academic Press, 2003: 447-481.
- [7] BROWN D. Rapid scanning applications drive mirror design [J]. *Laser Focus World*, 2009, 45(3): 45.
- [8] CALLAMARAS N, PARKER I. Construction of a confocal microscope for real-time x - y and x - z imaging [J]. *Cell Calcium*, 1999, 26(6): 271-279.
- [9] BORLINGHAUS R T. MRT letter: High speed scanning has the potential to increase fluorescence yield and to reduce photobleaching [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2006, 69(9): 689-692.
- [10] 王洋, 颜昌翔, 汪逸群, 等. 扫描镜非接触式检测系统的位置误差分析[J]. *红外与激光工程*, 2013, 42(7): 1804-1808
WANG Y, YAN CH X, WANG Y Q, *et al.*. Position error analysis on non-contact testing system of scanning mirror[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2013, 42(7): 1804-1808. (in Chinese)
- [11] LEYBAERT L, DE MEYER A, MABILDE C, *et al.*. A simple and practical method to acquire geometrically correct images with resonant scanning-based line scanning in a custom-built video-rate laser scanning microscope [J]. *Journal of Microscopy-Oxford*, 2005, 219: 133-140.
- [12] MULLIGAN S J, MACVICAR B A, M NDEZ-VILAS A, *et al.*. Two-photon fluorescence microscopy: basic principles, advantages and risks [J]. *Modern Research and Educational Topics in Microscopy Formatex*, 2007.
- [13] 张运海, 杨皓旻, 孔晨晖. 激光扫描共聚焦光谱成像系统[J]. *光学精密工程*, 2014, 22(6): 1446-1453.
ZHANG Y H, YANG H M, KONG CH H. Spectral imaging system on laser scanning confocal microscopy[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2014, 22(6): 1446-1453. (in Chinese)
- [14] LUBSANDORZHIEV B. On the history of photomultiplier tube invention [J]. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 2006, 567(1): 236-238.
- [15] YANG Q, YIN L, NOZATO K, *et al.*. Calibration-free sinusoidal rectification and uniform retinal irradiance in scanning light ophthalmoscopy [J].

- Optics Letters*, 2015, 40(1): 85-88.
- [16] 郑贤良, 刘瑞雪, 夏明亮, 等. 液晶自适应光学视网膜校正成像技术研究[J]. 中国光学 2014, 7(1):98-104.
ZHENG X L, LIU R X, XIA M L, *et al.*. Retinal correction imaging system based on liquid crystal adaptive optics[J]. *Chinese Optics*, 2014, 7(1): 98-104. (in Chinese)
- [17] 李超, 陈钱, 顾国华, 等. 改进的峰值检测反距离加权插值算法[J]. 红外与激光工程, 2013, 42(5):533-536.
LI CH, CHEN Q, GU G H, *et al.*. Improved inverse distance weighting interpolation algorithm for peak detection[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2013, 42(2):533-536. (in Chinese)
- [18] DODHIA R M. Applied multiple regression/correlation analysis for the behavioral sciences[J]. *J. Educ. Behav. Stat.*, 2005, 30(2): 227-229.
- [19] 王昊京, 王建立, 王鸣浩, 等. 采用双线性插值收缩的图像修复方法[J]. 光学精密工程, 2010, 18(5): 1234-1241.
WANG H J, WANG J L, WANG M H, *et al.*. Efficient image inpainting based on bilinear interpolation downscaling [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2010, 18(5): 1234-1241. (in Chinese)

作者简介:



熊大曦(1970—)男,湖北武汉人,研究员,博士生导师,2002年于美国麻省理工学院取得博士学位,主要研究领域是LED医用光源,光学显微成像技术。
E-mail: xiongdax@sibet.ac.cn



刘云(1990—)男,贵州铜仁人,硕士研究生,2013年于哈尔滨工程大学获得学士学位,主要研究领域为显微成像,光学图像处理,控制算法开发。E-mail: liuyun_ucas@163.com

(版权所有 未经许可 不得转载)