



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110823372 A

(43)申请公布日 2020.02.21

(21)申请号 201910974052.1

(22)申请日 2019.10.14

(71)申请人 中国科学院生物物理研究所
地址 100101 北京市朝阳区大屯路15号

(72)发明人 李栋 李迪

(74)专利代理机构 北京中强智尚知识产权代理
有限公司 11448

代理人 黄耀威

(51)Int.Cl.

G01J 3/28(2006.01)

G01J 3/44(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

G01J 3/10(2006.01)

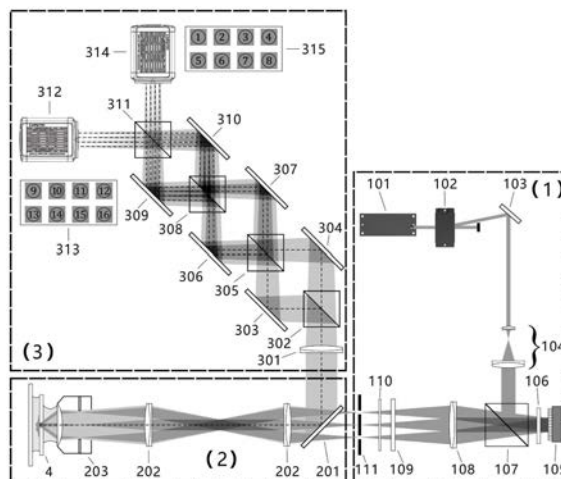
权利要求书2页 说明书7页 附图3页

(54)发明名称

一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统

(57)摘要

本发明公开了一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,包括激发光调制模块、显微放大模块和多焦面成像模块,其中,多焦面成像模块包括增焦分光组件和荧光探测器,增焦分光组件用于将荧光信号均分为不同传播方向和聚焦程度的多束信号光,从而使多束信号光在荧光探测器靶面的不同位置形成不同焦面的图像,实现多焦面图像的同时探测,获得物体的三维结构信息。相对传统结构光照明三维超分辨成像,此系统无需移动样品,因此成像速度大大提升,为活体样本三维结构的研究提供有力的技术手段。



1. 一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,包括激发光调制模块、显微放大模块和多焦面成像模块,

所述激发光调制模块,用于将所述激发光调制到指定状态后,发送给所述显微放大模块;

所述显微放大模块,用于利用调制后的所述激发光照亮样品,对所述样品进行显微观察,并将收集到的所述样品的荧光信号输送给所述多焦面成像模块;

所述多焦面成像模块,包括增焦分光组件和荧光探测器,所述增焦分光组件用于将所述荧光信号均分为不同传播方向和聚焦程度的多束信号光,进而使所述多束信号光在所述荧光探测器靶面的不同位置形成不同焦面的图像,实现多焦面图像的同时探测。

2. 根据权利要求1所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述增焦分光组件包括至少一组分光组件,所述分光组件包括两个分光棱镜和两个反射镜;

一所述分光棱镜,用于将所述显微放大模块输送的荧光信号或另一所述分光组件的两个反射镜输送的一束信号光,均分为不同传播方向和聚焦程度的两束信号光;

所述两个反射镜,用于分别反射均分后的两束信号光,使所述两束信号光分别输送至另一所述分光棱镜上;

另一所述分光棱镜,用于将反射后的两束信号光均分为具有不同传播方向和聚焦程度的四束信号光,并使所述四束信号光分别输送至所述荧光探测器靶面的不同位置或再一所述分光组件的两个反射镜上。

3. 根据权利要求2所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述显微放大模块和所述增焦分光组件之间设置有第一透镜,所述第一透镜用于汇聚所述显微放大模块输出的荧光信号。

4. 根据权利要求1所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述增焦分光组件包括反射式衍射元件和第二透镜,

所述反射式衍射元件,用于将所述显微放大模块输出的荧光信号反射为多束传播方向和聚焦程度不同的信号光;

所述第二透镜,用于将经所述反射式衍射元件分出的多束信号光分别汇聚,使汇聚后的所述多束信号光在所述荧光探测器的靶面的不同位置进行成像,进而实现多焦面同时成像。

5. 根据权利要求4所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述反射式衍射元件为反射式光栅、数字微镜器件(DMD)或反射式液晶空间光调制器(SLM)中的一种。

6. 根据权利要求1所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述增焦分光组件包括一反射镜、透射式衍射元件、色差补偿光栅、色差补偿晶体和第三透镜,

一所述反射镜,用于将所述显微放大模块输出的荧光信号反射到所述透射式衍射元件上;

所述透射式衍射元件,用于将经反射后的荧光信号分为多束波长和传播方向不同的光信号;

所述色差补偿光栅和色差补偿晶体,用于对经分出的多束光信号的色差进行补偿;

所述第三透镜,用于将经色差补偿后的多束信号光分别汇聚,使汇聚后的所述多束信号光在所述荧光探测器的靶面的不同位置进行成像,进而实现多焦面同时成像。

7. 根据权利要求6所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述透射式衍射元件为透射式光栅或衍射晶体或透射式液晶空间光调制器。

8. 根据权利要求1所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述激发光调制模块包括激发光发生组件、第一透镜组、偏振分束器、消色差半波片、空间光调制器和第四透镜,

所述第一透镜组,用于将激发光发生组件产生的初始激发光进行扩束;

所述偏振分束器,用于对经扩束后的初始激发光分束,将经分束后得到的激发光依次发送至所述消色差半波片和空间光调制器;

所述空间光调制器,用于将从所述消色差半波片接收到的激发光进行调制,并将调制后的激发光分为两或三束后,再依次将所述两或三束激发光发送给所述消色差半波片和偏振分束器;

所述第四透镜,用于将依次经过所述消色差半波片和偏振分束器的两或三束激发光汇聚成光轴平行的两束或三束聚焦激发光,并将两或三束激发光发送给所述显微放大模块。

9. 根据权利要求8所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述激发光调制模块还包括依次设置在所述第四透镜和显微放大模块之间的偏振调制器、消色差四分之一波片和掩模板,

所述偏振调制器和消色差四分之一波片,用于调制两或三束激发光的偏振状态,并将两或三束激发光调制为偏振方向均垂直于光轴连线的线偏振光;

所述掩模板,用于去掉两或三束激发光以外的由空间光调制器产生的高频杂散光。

10. 根据权利要求1所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述显微放大模块包括二向色镜、第二透镜组和物镜,

所述二向色镜,用于透射所述激发光调制模块调制后的激发光;

所述第二透镜组,用于将透射后的激发光汇聚到所述物镜的后焦面处;

所述物镜,用于将汇聚后的激发光变为两束或三束准直光,并利用两束或三束准直光干涉后产生结构光场照明样品,激发出的所述样品的荧光信号被物镜收集,使所述荧光信号再依次经过所述第二透镜组和所述二向色镜后输送至所述多焦面成像模块。

11. 根据权利要求1至10任一项所述的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,其特征在于,所述增焦分光组件和所述荧光探测器之间设置有一50:50分光镜,所述分光镜用于将一荧光信号平均分为两路,再将经平分后的每一路所述荧光信号分别输送给两个荧光探测器,实现两个所述荧光探测器的多焦面图像的同时探测。

一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统

技术领域

[0001] 本发明属于显微镜技术领域,具体涉及一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统。

背景技术

[0002] 超分辨率荧光显微成像技术可以突破衍射极限观察更加微小的样品结构,因此获得了极大的关注和广泛的应用。结构光照明超分辨显微成像技术(Structure Illumination Microscope,简称SIM技术)是超分辨率荧光显微成像技术的一种,它利用周期分布的条纹状激发光照明样品,在荧光信号激发过程中,照明条纹和样品本身的空间频率发生混频,使得样品中的高频信息被调制到低频区域,进而能够被光学系统所探测,最终利用衍射受限的荧光图像重建出突破衍射极限的清晰图像。由于成像过程是在整个二维平面/三维空间同时操作完成,因此具有成像速度快,光毒性小的优点,被广泛的应用于生物活体样本成像。

[0003] 然而,使用SIM技术进行三维超分辨率成像(3D-SIM)时,由于物镜的景深有限,只能让样品沿物镜光轴方向移动,对样品各平面依次成像,而通常样品的机械运动速度较慢,因此3D-SIM成像速度远低于二维SIM成像,并且随着样本厚度的增加成像速度逐渐减慢。由于3D-SIM中使用三维结构光场照明样品,样品的不同层面都被照亮,因此,如果可以实现多个层面荧光信号同时进行采集,则可在不移动样品的情况下完成信号采集,大大提高成像速度。但是由于显微镜自身技术特点,不同焦面的荧光图像通常混在一起,需要特殊设计的成像结构进行成像。

发明内容

[0004] 针对上述现有技术存在的不足之处,本发明提供了一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统。

[0005] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:

[0006] 一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,包括激发光调制模块、显微放大模块和多焦面成像模块,

[0007] 所述激发光调制模块,用于将所述激发光调制到指定状态后,发送给所述显微放大模块;

[0008] 所述显微放大模块,用于利用调制后的所述激发光照亮样品,对所述样品进行显微观察,并将收集到的所述样品的荧光信号输送给所述多焦面成像模块;

[0009] 所述多焦面成像模块,包括增焦分光组件和荧光探测器,所述增焦分光组件用于将所述荧光信号均分为不同传播方向和聚焦程度的多束信号光,进而使所述多束信号光在所述荧光探测器靶面的不同位置形成不同焦面的图像,实现多焦面图像的同时探测。

[0010] 进一步的,所述增焦分光组件包括至少一组分光组件,所述分光组件包括两个分光棱镜和两个反射镜;

[0011] 一所述分光棱镜,用于将所述显微放大模块输送的荧光信号或另一所述分光组件的两个反射镜输送的一束信号光,均分为不同传播方向和聚焦程度的两束信号光;

[0012] 所述两个反射镜,用于分别反射均分后的两束信号光,使所述的两束信号光分别输送至另一所述分光棱镜上;

[0013] 另一所述分光棱镜,用于将反射后的两束信号光均分为具有不同传播方向和聚焦程度的四束信号光,并使所述四束信号光分别输送至所述荧光探测器靶面的不同位置或再一所述分光组件的两个反射镜上。

[0014] 进一步的,所述显微放大模块和所述增焦分光组件之间设置有第一透镜,所述第一透镜用于汇聚所述显微放大模块输出的荧光信号。

[0015] 进一步的,所述增焦分光组件包括反射式衍射元件和第二透镜,

[0016] 所述反射式衍射元件,用于将所述显微放大模块输出的荧光信号反射为多束传播方向和聚焦程度不同的信号光;

[0017] 所述第二透镜,用于将经所述反射式衍射元件分出的多束信号光分别汇聚,使汇聚后的所述多束信号光在所述荧光探测器的靶面的不同位置进行成像,进而实现多焦面同时成像。

[0018] 进一步的,所述反射式衍射元件为反射式光栅、数字微镜器件(DMD)或反射式液晶空间光调制器(SLM)中的一种。

[0019] 进一步的,所述增焦分光组件包括一反射镜、透射式衍射元件、色差补偿光栅、色差补偿晶体和第三透镜,

[0020] 一所述反射镜,用于将所述显微放大模块输出的荧光信号反射到所述透射式衍射元件上;

[0021] 所述透射式衍射元件,用于将经反射后的荧光信号分为多束波长和传播方向不同的光信号;

[0022] 所述色差补偿光栅和色差补偿晶体,用于对经分出的多束光信号的色差进行补偿;

[0023] 所述第三透镜,用于将经色差补偿后的多束信号光分别汇聚,使汇聚后的所述多束信号光在所述荧光探测器的靶面的不同位置进行成像,进而实现多焦面同时成像。

[0024] 进一步的,所述透射式衍射元件为透射式光栅或衍射晶体或透射式液晶空间光调制器。

[0025] 进一步的,所述激发光调制模块包括激发光发生组件、第一透镜组、偏振分束器、消色差半波片、空间光调制器和第四透镜,

[0026] 所述第一透镜组,用于将激发光发生组件产生的初始激发光进行扩束;

[0027] 所述偏振分束器,用于对经扩束后的初始激发光分束,将经分束后得到的激发光依次发送至所述消色差半波片和空间光调制器;

[0028] 所述空间光调制器,用于将从所述消色差半波片接收到的激发光进行调制,并将调制后的激发光分为两或三束后,再依次将所述两或三束激发光发送给所述消色差半波片和偏振分束器;

[0029] 所述第四透镜,用于将依次经过所述消色差半波片和偏振分束器的两或三束激发光汇聚成光轴平行的两束或三束聚焦激发光,并将两或三束激发光发送给所述显微放大模

块。

[0030] 进一步的,所述激发光调制模块还包括依次设置在所述第四透镜和显微放大模块之间的偏振调制器、消色差四分之一波片和掩膜板,

[0031] 所述偏振调制器和消色差四分之一波片,用于调制两或三束激发光的偏振状态,并将两或三束激发光调制为偏振方向均垂直于光轴连线的线偏振光;

[0032] 所述掩膜板,用于去掉两或三束激发光以外的由空间光调制器产生的高频杂散光。

[0033] 进一步的,所述显微放大模块包括二向色镜、第二透镜组和物镜,

[0034] 所述二向色镜,用于透射所述激发光调制模块调制后的激发光;

[0035] 所述第二透镜组,用于将透射后的激发光汇聚到所述物镜的后焦面处;

[0036] 所述物镜,用于将汇聚后的激发光变为两束或三束准直光,并利用两束或三束准直光干涉后产生结构光场照明样品,激发出的所述样品的荧光信号被物镜收集,使所述荧光信号再依次经过所述第二透镜组和所述二向色镜后输送至所述多焦面成像模块。

[0037] 进一步的,所述增焦分光组件和所述荧光探测器之间设置有一50:50分光镜,所述分光镜用于将一荧光信号平均分为两路,再将经平分后的每一路所述荧光信号分别输送给两个荧光探测器,实现两个所述荧光探测器的多焦面图像的同时探测。

[0038] 本发明提供一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,包括激发光调制模块、显微放大模块和多焦面成像模块,其中,多焦面成像模块包括增焦分光组件和荧光探测器,增焦分光组件用于将荧光信号均分为不同传播方向和聚焦程度的多束信号光,从而使多束信号光在荧光探测器靶面的不同位置形成不同焦面的图像,实现多焦面图像的同时探测,获得物体的三维结构信息。相对传统结构光照明三维超分辨率成像,此系统无需移动样品,因此成像速度大大提升,为活体样本三维结构的研究提供有力的技术手段。

附图说明

[0039] 图1为本发明示例性实施例1的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统的光路图;

[0040] 图2为本发明示例性实施例2的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统的光路图;

[0041] 图3为本发明示例性实施例3的一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统的光路图。

[0042] 图中:1-激发光调制模块,101-多色级联光源,102-声光可调滤光器,103-第七反射镜,104-第一透镜组,105-空间光调制器,106-消色差半波片,107-偏振分束器,108-第四透镜,109-偏振调制器,110-消色差四分之一波片,111-掩膜板;

[0043] 2-显微放大模块,201-二向色镜,202-第二透镜组,203-物镜;

[0044] 3-多焦面成像模块,301-第一透镜,302-第一分光棱镜,303-第一反射镜,304-第二反射镜,305-第二分光棱镜,306-第三反射镜,307-第四反射镜,308-第三分光棱镜,309-第五反射镜,310-第六反射镜,311-第四分光棱镜,312-第一荧光探测器,313-第一荧光探测器的不同焦面分布图,314-第二荧光探测器,315-第二荧光探测器的不同焦面分布图,316-反射式衍射元件,317-第二透镜,318-50:50分光镜,319-第三荧光探测器,320-第三荧

光探测器的不同焦面分布图,321-第四荧光探测器,322-第四荧光探测器的不同焦面分布图,323-第八反射镜,324-透射式衍射元件,325-色差补偿光栅,326-色差补偿晶体,327-第三透镜,328-第五荧光探测器,329-第五荧光探测器的不同焦面分布图;

[0045] 4-样品。

具体实施方式

[0046] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0047] 实施例1

[0048] 参见图1,一种结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统,包括激发光调制模块1、显微放大模块2和多焦面成像模块3,激发光调制模块1用于将激发光调制到指定状态后,发送给显微放大模块2;显微放大模块2用于利用调制后的激发光照亮样品4,对样品4进行显微观察,并将收集到的样品4的荧光信号输送给多焦面成像模块3;多焦面成像模块3包括增焦分光组件和荧光探测器,增焦分光组件用于将荧光信号均分为不同传播方向和聚焦程度的多束信号光,进而使多束信号光在荧光探测器靶面的不同位置形成不同焦面的图像,实现多焦面图像的同时探测。

[0049] 作为一优选实施方式,增焦分光组件包括至少一组分光组件,分光组件包括两个光棱镜和两个反射镜;一分光棱镜用于将显微放大模块2输送的荧光信号或另一分光组件的两个反射镜输送的一束信号光,均分为不同传播方向和聚焦程度的两束信号光;两个反射镜用于分别反射均分后的两束信号光,使两束信号光分别输送至另一分光棱镜上;另一分光棱镜用于将反射后的两束信号光均分为具有不同传播方向和聚焦程度的四束信号光,并使四束信号光分别输送至荧光探测器靶面的不同位置或再一分光组件的两个反射镜上。

[0050] 在本实施例中,增焦分光组件包括三组分光组件,分别为第一分光组件、第二分光组件和第三分光组件,第一分光组件包括第一分光棱镜302、第一反射镜303、第二反射镜304和第二分光棱镜305,第二分光组件包括第二分光棱镜305、第三反射镜306、第四反射镜307和第三分光棱镜308,第三分光组件包括第三分光棱镜308、第五反射镜309、第六反射镜310和第四分光棱镜311,显微放大模块2输送的荧光信号被第一分光棱镜302均分为不同传播方向和聚焦程度的两束信号,即为透射光和反射光,两束信号光分别经第一反射镜303和第二反射镜304反射后,发送至第二分光棱镜305,并在第二分光棱镜305处分为四束;四束信号光再分别经过第三反射镜306和第四反射镜307反射后,发送至第三分光棱镜308,并在第三分光棱镜308处分为八束信号光;八束信号光最后经过第五反射镜309和第六反射镜310反射后,发送至第四分光棱镜311,并在第四分光棱镜311处分为16束信号光,第四分光棱镜311将16束信号光输送至第一荧光探测器312和第二荧光探测器314。由于任意一束信号光经过分光棱镜产生的反射光和透射光到达下一个分光棱镜时,反射光和透射光的光程不同,入射位置也不重合,则最终16束信号光分别到达第一荧光探测器312和第二荧光探测器314靶面的不同位置进行成像,每个图像对应不同焦面,进而实现多焦面同时成像。

[0051] 其中,增加或减少多焦面成像模块3中分光组件的数量即可增减焦面总数,最终焦

面数量为2的N次方(N为分光棱镜的数量)。

[0052] 进一步的,显微放大模块2和增焦分光组件之间设置有第一透镜301,第一透镜301用于汇聚显微放大模块2输出的荧光信号。

[0053] 作为一优选实施方式,激发光调制模块1包括激发光发生组件、第一透镜组、偏振分束器、消色差半波片、空间光调制器和第四透镜,激发光发生组件包括多色级联光源101,声光可调滤光器102和第七反射镜103,声光可调滤光器102用于选通多色级联光源101产生的激发光,第七反射镜103用于将经选通后的激发光反射到第一透镜组104;第一透镜组104用于将激发光发生组件产生的初始激发光进行扩束;偏振分束器107用于对经扩束后的初始激发光分束,将经分束后得到的激发光依次发送至消色差半波片106和空间光调制器105;空间光调制器105用于将从消色差半波片106接收到的激发光进行调制,并将调制后的激发光分为两或三束后,再依次将两或三束激发光发送给消色差半波片106和偏振分束器107;第四透镜108用于将依次经过消色差半波片106和偏振分束器107的两或三束激发光汇聚成光轴平行的两束或三束聚焦激发光,并将平行的两或三束激发光发送给显微放大模块2。

[0054] 进一步的,激发光调制模块1还包括依次设置在第四透镜108和显微放大模块2之间的偏振调制器109、消色差四分之一波片110和掩模板111,偏振调制器109和消色差四分之一波片110,用于调制光轴平行的两或三束激发光的偏振状态,并将光轴平行的两或三束激发光调制为偏振方向均垂直于光轴连线的线偏振光;掩模板111用于去掉两或三束激发光以外的由空间光调制器105产生的高频杂散光。

[0055] 作为一优选实施方式,显微放大模块2包括二向色镜201、第二透镜组202和物镜203,二向色镜201用于透射激发光调制模块1调制后的激发光;第二透镜组202用于将透射后的激发光汇聚到物镜203的后焦面处;物镜203用于将汇聚后的激发光变为两束或三束准直光,并利用两束或三束准直光干涉后产生结构光场照明样品4后,激发出的样品4的荧光信号被物镜203收集,接着使荧光信号依次经过第二透镜组202和二向色镜201后输送至多焦面成像模块3。

[0056] 本实施例中具体光路搭建方式为:

[0057] 多色级联光源101产生的激发光依次经声光可调滤光器102、第七反射镜103、第一透镜组104,偏振分束器107和消色差半波片106后,经过空间光调制器105调制并反射,将一束激发光变成两束或三束,再次经过消色差半波片106和偏振分束器107并被第四透镜108汇聚,然后经偏振调制器109和消色差四分之一波片110调制为特定偏振方向的线偏振光,最后经过掩模板111滤除杂散光;两束或三束激发光透过二向色镜201并被第二透镜组202汇聚在物镜203的后焦面处,形成两个或三个聚焦光斑,并经过物镜203后产生两束或三束准直光,准直光干涉形成三维明暗分布的结构光场照明样品4,样品4被激发出的荧光信号经过物镜203收集并被二向色镜201反射;反射后的荧光信号经过第一透镜301汇聚后,分别经过第一分光棱镜302分为透射光和反射光,然后两束信号光又分别经过第一反射镜303、第一反射镜304、第二分光棱镜305后分为四束信号光,接着经过第三反射镜306、第四反射镜307、第三分光棱镜308后分为八束信号光,最后经过第五反射镜309、第六反射镜310、第四分光棱镜311后分为16束信号光,最终16束信号光分别到第一荧光探测器312和第二荧光探测器314的不同位置,其中,第一荧光探测器的不同焦面分布图313,第二荧光探测器的不

同焦面分布图315,实现多焦面的同时成像。

[0058] 本实例使用分光棱镜做分光元件,荧光信号损失少。此外,通过增减多焦面成像模块3中分光棱镜的数量即可调整焦面总数,最终焦面总数为2的N次方(N为分光棱镜的数量)。

[0059] 实施例2

[0060] 参照实施例1,本实施例提供的结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统与之不同之处在于,参见图2,增焦分光组件包括反射式衍射元件316和第二透镜317,反射式衍射元件316用于将显微放大模块2输出的荧光信号反射为多束传播方向和聚焦程度不同的信号光;第二透镜317用于将经反射式衍射元件316分出的多束信号光分别汇聚,使汇聚后的多束信号光在第三荧光探测器319靶面的不同位置进行成像,成像深度也各不相同,进而实现多焦面同时成像。

[0061] 进一步的,反射式衍射元件为反射式光栅、数字微镜器件(DMD)或反射式液晶空间光调制器(SLM)中的一种。

[0062] 作为一优选实施方式,增焦分光组件和荧光探测器之间设置有一50:50分光镜,分光镜用于将一荧光信号平均分为两路,再将经平分后的每一路荧光信号分别输送给两个荧光探测器,实现两个荧光探测器的多焦面图像的同时探测。在本实施例中,在第二透镜317和第三荧光探测器319之间设置有分光镜318,分光镜318将经第二透镜317汇聚的九束信号光平均分为两路,再将经平分后的每路荧光信号分别输送给第三荧光探测器319和第四荧光探测器321,其中,两个荧光探测器到50:50分光镜的距离不同,实现第三荧光探测器319和第四荧光探测器321的18个焦面图像的同时探测,因此,通过在增焦分光组件和荧光探测器之间设置分光镜,相较于没有分光镜时,探测焦面的总数倍增。

[0063] 其中,调节反射式衍射元件316的图样,即可增减反射光束的数量以及最终焦面总数,最终焦面数为 $M \times N^2$ (不加入50比50分光镜318只使用一个探测器时 $M=1$,使用两个探测器时 $M=2$,N为大于等于3的奇数)。

[0064] 本实施例中具体光路搭建方式为:

[0065] 多色级联光源101产生的激发光依次经声光可调滤光器102、第七反射镜103、第一透镜组104,偏振分束器107和消色差半波片106后,经过空间光调制器105调制并反射,将一束激发光变成两束或三束,两束或三束激发光再次经过消色差半波片106和偏振分束器107并被第四透镜108汇聚,然后经偏振调制器109和消色差四分之一波片110调制为特定偏振方向的线偏振光,最后经过掩模板111滤除杂散光;两束或三束激发光透过二向色镜201并被第二透镜组202汇聚在物镜203的后焦面处,形成两个或三个聚焦光斑,并经过物镜203后产生两束或三束准直光,准直光干涉形成三维明暗分布的结构光场照明样品4,样品4被激发出的荧光信号经过物镜203收集并被二向色镜201反射;反射后的荧光信号被反射式衍射元件316反射成多种取向且汇聚程度各不相同的信号光,然后经第二透镜317汇聚和50:50分光镜318分光后分别到达第三荧光探测器319和第四荧光探测器321,最终实现多个不同焦面的信号光分别到两个第三荧光探测器319和第四荧光探测器321的不同位置,其中,第三荧光探测器的不同焦面分布图320,第四荧光探测器的不同焦面分布图322,实现多焦面的同时成像。

[0066] 本实例可改变反射式衍射元件316的图样,从而调节最终焦面总数,并且可以改变

反射式衍射元件316的图样修正色差和物镜的轴向像差。

[0067] 参见图3

[0068] 参照实施例1,本实施例提供的结构光照明多焦面三维超分辨率成像系统与之不同之处在于,参见图3,增焦分光组件包括第八反射镜323、透射式衍射元件324、色差补偿光栅325、色差补偿晶体326和第三透镜327:第八反射镜323用于将显微放大模块2输出的荧光信号反射到透射式衍射元件324上;透射式衍射元件324用于将经反射后的荧光信号分为多束波长和传播方向不同的荧光信号;色差补偿光栅325和色差补偿晶体326用于对经分出的多束光信号的色差进行补偿;第三透镜327用于将经色差补偿后的多束信号光分别汇聚,使汇聚后的多束信号光在第五荧光探测器328的靶面成像。

[0069] 进一步的,透射式衍射元件324为透射式光栅或衍射晶体或透射式液晶空间光调制器。

[0070] 本实施例中具体光路搭建方式为:

[0071] 多色级联光源101产生的激发光依次经声光可调滤光器102、第七反射镜103、第一透镜组104,偏振分束器107和消色差半波片106后,经过空间光调制器105调制并反射,将一束激发光变成两束或三束,两束或三束激发光再次经过消色差半波片106和偏振分束器107并被第四透镜108汇聚,然后经偏振调制器109和消色差四分之一波片110调制为特定偏振方向的线偏振光,最后经过掩模板111滤除杂散光;两束或三束激发光透过二向色镜201并被第二透镜组202汇聚在物镜203的后焦面处,形成两个或三个聚焦光斑,并经过物镜203后产生两束或三束准直光,准直光干涉形成三维明暗分布的结构光场照明样品4,样品4被激发出的荧光信号经过物镜203收集并被二向色镜201反射;显微放大模块2收集的荧光信号被第八反射镜323反射,然后被透射式衍射元件324分为多束,各个光束分别经过色差补偿光栅325和色差补偿晶体326的不同区域修正荧光信号的色差,最后荧光信号被第三透镜327汇聚并成像在第五荧光探测器328上,第五荧光探测器的不同焦面分布图329,最终多个不同焦面的信号光分别到两个探测器的不同位置,实现多焦面同时成像。

[0072] 本实例可以改变透射式衍射元件324的图样,从而增减最终焦面总数,并且可以通过调节透射式衍射元件324的图样补偿物镜的轴向像差,此外还可借助色差补偿光栅325和色差补偿晶体326修正和不同荧光波长的色差。

[0073] 本发明仅以上述实施例进行说明,各部件的结构、设置位置及其连接都是可以有所变化的,在本发明技术方案的基础上,凡根据本发明原理对个别部件进行的改进和等同变换,均不应排除在本发明的保护范围之外。

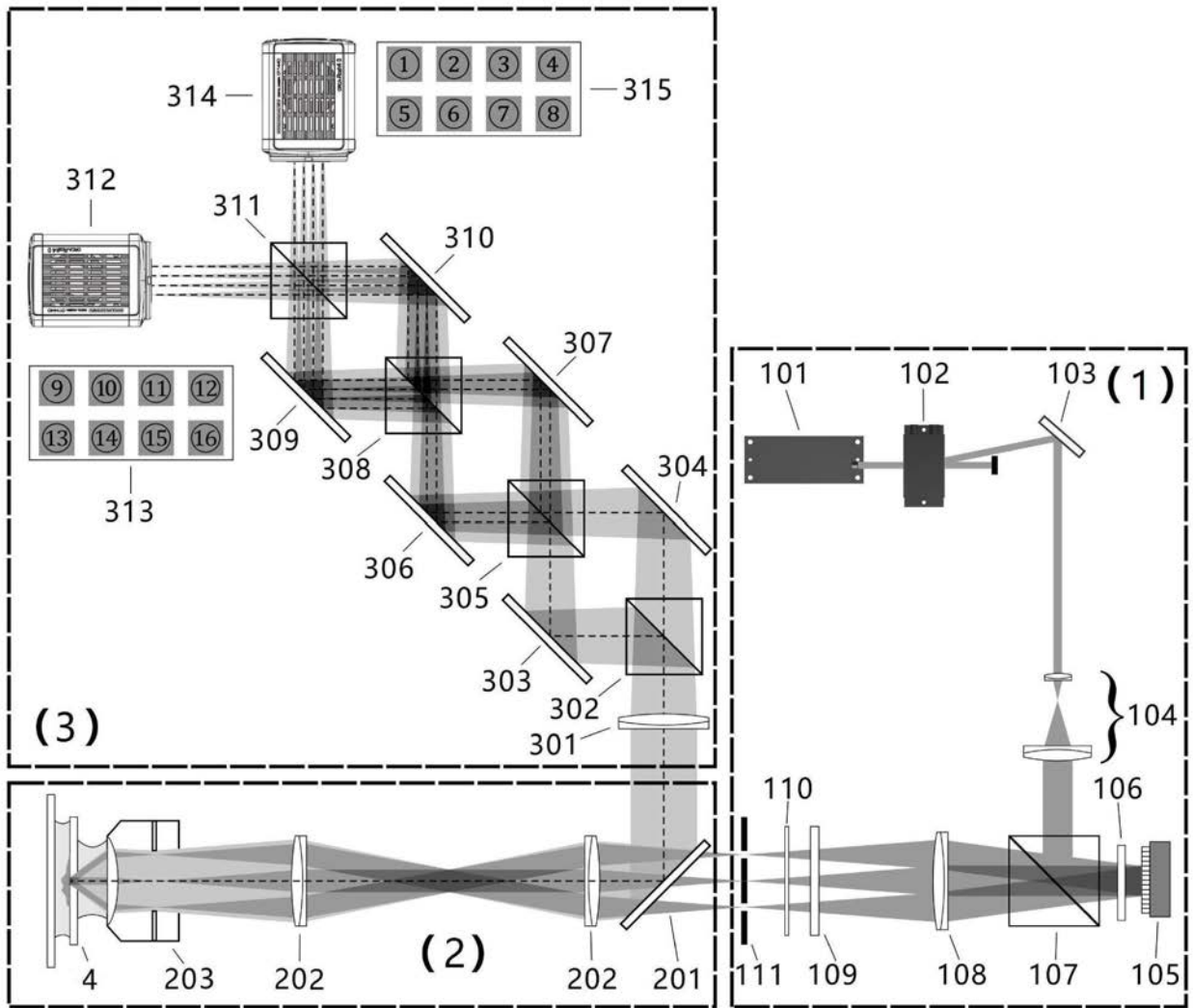


图1

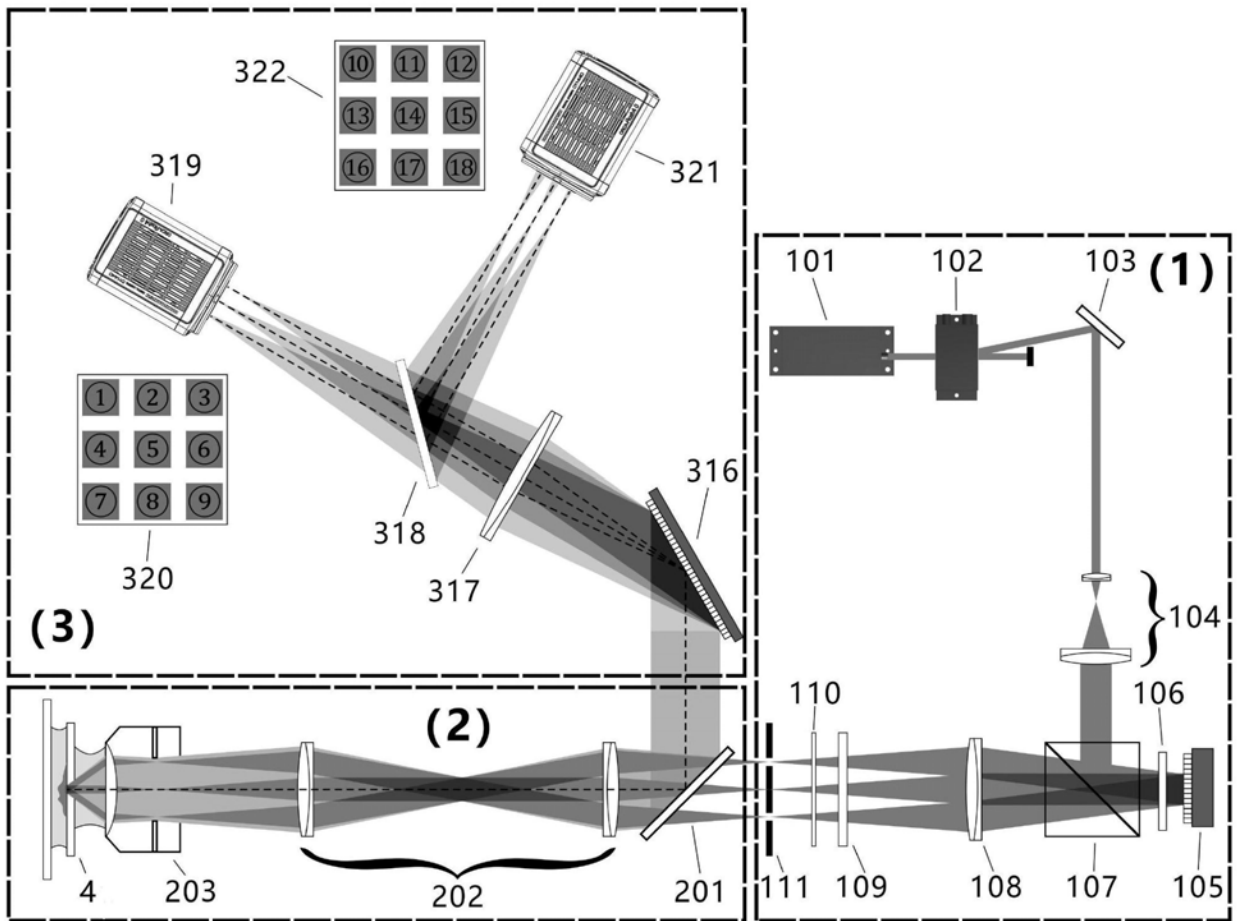


图2

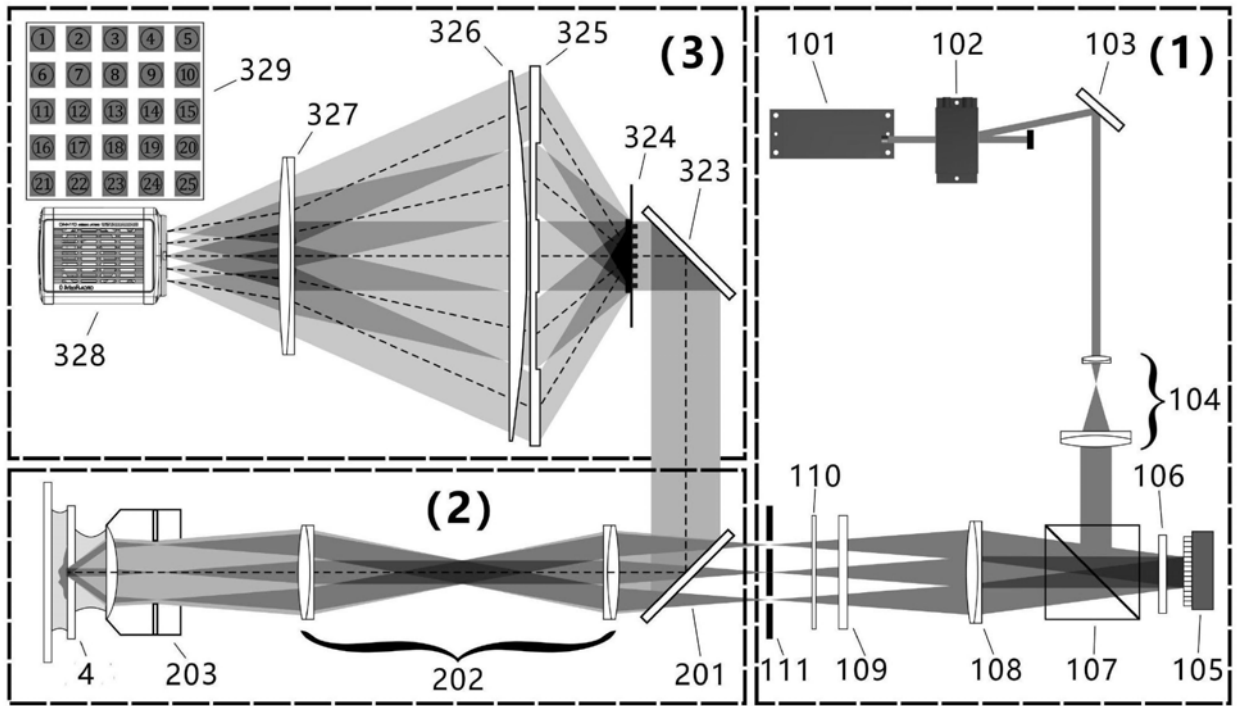


图3