

共焦激光扫描显微镜的研制*

李爱民 陶纯堪 刘明 陈龙岗 张慎 孙淑香 李连贵

(南京理工大学光学系, 南京, 210014)

摘要: 利用共焦和扫描原理, 研制出共焦激光扫描显微镜样机。

关键词: 扫描显微镜 共焦成像 激光三维传感

Development of confocal laser scanning microscope

*Li Aimin, Tao Chunkan, Liu Ming, Chen Longgang
Zhang Shen, Sun Shuxiang, Li Liangui*

(Department of Optics, Nanjing University of Science and Technology)

Abstract: By using the confocal and scanning principles, a prototype of confocal laser scanning microscope is developed.

Key words: scanning microscope confocal imaging laser 3-D sensing

一、引言

共焦激光扫描显微镜(CLSM)是光学显微观察领域的重要进展。与传统光学显微观察相比,它不仅具有高的平面分辨率,而且实现高分辨率的纵深观察,并使光学显微观察数字化,便于在计算机上进行图象处理,从而在半导体工业、材料科学、生物学和医学领域有重要的应用

* 国家自然科学基金资助。

3 李万平. 钝体稳燃器回流区的湍流结构与粒子动态特性. 北京, 中国工程热物理学会第八届年会燃烧学学术会议论文集, 1992

4 谭浩强. C语言程序设计. 北京: 清华大学出版社, 1990

作者简介: 刘贵苏, 男, 1970年2月生. 硕士. 现从事煤燃烧两相流动测试及数值计算方面的研究。

收稿日期: 1993-09-30 收到修改稿日期: 1994-03-15

价值。本文借鉴国外发展 CLSM 的经验,从我国当前国情和现实条件出发,研制出结构简单、造价较低的 CLSM 样机。

二、原理与关键技术

系统原理如图 1 所示。准直激光束经分束器 BS 和物镜 L_1 在物体表面聚焦。在共焦情况下,反射光再经 L_1 ,BS 和透镜 L_2 无阻拦地通过小孔光阑 P,被光电探测器 D 接收。如果物点不在与小孔光阑 P 对应的共焦面上,则其反射光的能量只有很少一部分能通过小孔 P 被探测器

D 接收。通过 (x,y) 平面内的二维扫描,可得物体一层图象。通过沿光轴方向不同层的扫描,可得多个断层图象,实现物体形貌的三维信息的采集,最后通过计算机处理,得到物体的断层图象和三维图象。在 CLSM 中,关键技术是扫描系统、电子系统硬件与软件(用于扫描驱动、数据采集、处理和图象显示)、保证共焦成像的调节装置。

扫描方式可分为光束扫描和目标扫描^[1]。本文采用目标扫描方式,即聚焦在被测物上的激光束保持不动,物体作扫描式地移动。该方法的优点是

轴线平直,光路恒定,图象失真小,对物镜的轴外象差不作要求。扫描拖动来源是步进电机。通过特殊的传动设计,在保持同步扫描的条件下,隔离振动源,以消除电机对扫描平台的振动影响。这样的扫描方式和系统,使得整个 CLSM 结构简单、造价低,而性能又得到一定的保证。

电子系统的硬件把光电探测器接收的信号进行放大检波,并经 A/D 转换送入计算机进行处理。同时,计算机通过脉冲分配驱动器控制步进电机,实现物体平面扫描。计算机软件由 C 语言和汇编语言混合编制。汇编语言用于控制步进电机及采集、存储数据。C 语言用于图象处理和显示。

保证共焦成像的调节装置有二部分。一是扫描平台的上下调节,由此实现物体的纵深扫描;二是小孔光阑位置的调整,它由三维精密调节装置完成。

三、实验结果与讨论

CLSM 样机如图 2 所示,光源是波长为 633nm 的 He-Ne 激光,扫描间距为 $0.5\mu\text{m}$,采集象点 256×256 。图 3 是线宽为 $1\mu\text{m}$ 的光栅的成像结果,使用数值孔径为 0.65 的 40 倍物镜。

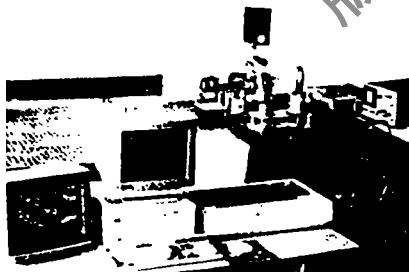


Fig. 2 The prototype of CLSM

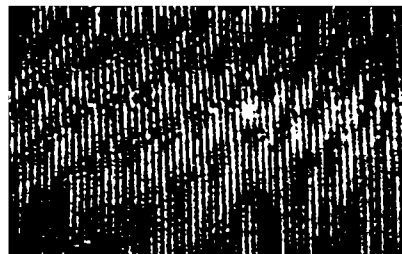


Fig. 3 The image of grating

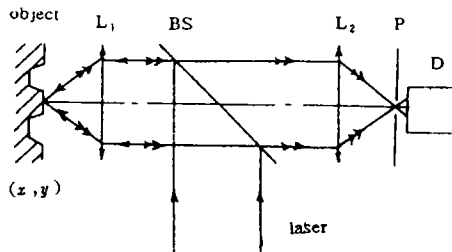


Fig. 1 The principle of CLSM
 L_1, L_2 —lens BS—beam splitter
 P—pinhole D—detector

图4是集成电路芯片共焦分层成像的结果。由于芯片样品的分辨率不高,这里使用数值孔径为0.1的4倍显微物镜。为了明显看出各层成像结果的不同,使用的相对深度差异较大。



Fig. 4 Confocal images of an integrated circuit

a—relative depth $0\mu\text{m}$ b—relative depth $75\mu\text{m}$ c—relative depth $150\mu\text{m}$

测试结果表明,本文提出的 CLSM 样机在技术指标上已达到一定要求。由于其结构简单,造价较低,这对满足国内较多单位的科研与生产需要极为有利。下一步的工作将是使样机进一步系统化,提高扫描速度和精度,使仪器早日走向实用化。

参 考 文 献

- 1 Wilson T, Sheppard C. Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy. London: Academic Press Inc., 1984:173

作者简介:李爱民,男,1964年8月出生。副教授。SPIE/COS会员。现从事信息光学的教学与研究工作。

陶纯堪,男,1938年8月出生。教授,博士生导师。SPIE/COS和OSA会员。现从事信息光学的教学与研究工作。

刘 明,男,1969年12月出生。助教。现从事光电技术的教学与研究工作。

收稿日期:1994-01-15

· 简 讯 ·

二极管泵浦红外激光器有用于干扰的潜力

华盛顿的海军研究实验室(NRL)的科研人员研制的一种二极管泵浦的 Ho, Tm : YAG 激光器,在 $2.09\mu\text{m}$ 波长时,产生 40W 的平均功率,多模光束品质良好。这种由 Borry Feldman 和 NRL 的同事研制的 Q 开关系统,据报道可产生固态室温系统的最高平均红外功率。每 50ns 脉冲大约产生 22mJ,效率为 2.9%。在 120Hz 重复频率的 16 脉冲串发射中,该样机可用于干扰红外导导弹。Ho, Tm : YAG 晶体的泵浦源由加州圣何塞的 SDL 设计,采用三带叠置式 84 只 785nm 波长激光二极管泵浦。

Feldman 说,“机载干扰表演方案将在 1994 年仲夏完成并检测”。用参量振荡把 $2\mu\text{m}$ 输出功率转换为 $3\sim 5\mu\text{m}$ 范围的计划正在考虑中。有效的闪光灯泵浦的激光器系统可以产生 40W 的平均功率,但是以前的二极管泵浦 $2\mu\text{m}$ 激光仅产生 10~15W 的平均功率。

译自 L F World, 1994;30(6):11 於祖兰 译 巩马理 校