



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107850530 A

(43)申请公布日 2018.03.27

(21)申请号 201680025794.4

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(22)申请日 2016.05.04

代理人 周学斌 郑冀之

(30)优先权数据

62/156582 2015.05.04 US

(51)Int.Cl.

G01N 21/00(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.11.03

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2016/080953 2016.05.04

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/177319 EN 2016.11.10

(71)申请人 港大科桥有限公司

地址 中国香港数码港

(72)发明人 谢坚文 黄子维 刘金成 邓轩朗

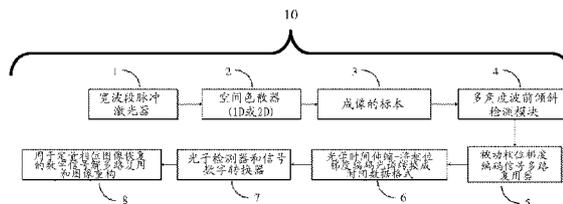
权利要求书2页 说明书14页 附图10页

(54)发明名称

用于定量相位梯度线性调频波长编码的光学成像的装置和方法

(57)摘要

一种用于对样本进行光学成像的装置,包括:宽波段激光器(1);用于对梯度相位对比信息进行光谱编码的空间色散器(2);用于执行被动相位梯度编码信号多路复用的被动相位梯度编码信号多路复用器(5);以及用于执行数字信号解多路复用和针对定量相位图像恢复的图像重构的装置(8)。所述装置可以被提供对单细胞信息的高吞吐量、高内容无标记定量成像。



1. 一种用于对样本进行光学成像的装置,包括:
用于通过使用光源获得关于所述样本的光学信息的装置(1);
用于对梯度相位对比信息进行光谱编码的装置(2);
用于执行被动相位梯度编码信号多路复用的装置(5);以及
用于执行数字信号解多路复用和定量相位图像重构的装置(7,8)。
2. 根据权利要求1所述的装置,其中所述样本是流体流悬浮液中的生物细胞或微粒;或者是固定在固体基质上的组织部分和生物细胞,其由所述装置进行扫描。
3. 根据权利要求2所述的装置,其中所述固体基质是在运动中扫描的机械致动平台,所述运动包括但不限于:
单向线性运动,以及;
自旋运动。
4. 根据权利要求1所述的装置,其中所述光源是宽波段脉冲激光器。
5. 根据权利要求1所述的装置,其中所述光源是宽波段波长扫描激光器。
6. 根据权利要求5所述的装置,其中所述宽波段波长扫描激光器是机械波长扫描源或者是非机械波长扫描源,其包括:
宽波段脉冲激光器;
用于在时间上对脉冲的波长进行线性调频/扫描的色散元件;以及
光学放大器模块。
7. 根据权利要求1所述的装置,其中用于对梯度相位对比信息进行光谱编码的装置是空间色散器,所述空间色散器在1D或2D空间中对光源的波长光谱进行空间色散,以及包括:
用于1D空间色散器的衍射光栅或棱镜;或者
用于2D空间色散器的衍射光栅或棱镜与虚拟成像相位阵列(VIPA)的组合。
8. 根据权利要求1-7中的任一项所述的装置,进一步包括:用于多波前倾斜检测的装置,其利用在光学射束中光谱编码的相位梯度图像信息来进行。
9. 根据权利要求1-7中的任一项所述的装置,进一步包括:用于多波前倾斜检测的装置,其包括进行以下操作的元件:
将光谱编码的光束拆分成 N 个空间分离的光束;
在所述 N 个空间分离的光束中在空间上生成 N 个不同的波前倾斜;
对 N 个波前倾斜的、光谱编码的光信号进行多路复用。
10. 根据权利要求9所述的装置,其中将所述光谱编码的光束拆分成 N 个空间分离的光束是通过分束器、锥形棱镜或锥形反射镜来实现的。
11. 根据权利要求9所述的装置,其中在所述 N 个空间分离的光束中在空间上生成 N 个不同的波前倾斜是通过以下方式来实现的:从 N 个不同取向到光纤中进行角度未对准耦合;或者对光谱编码的射束的任何空间划分;或者通过所述锥体棱镜或锥体反射镜进行射束划分。
12. 根据权利要求1-7中的任一项所述的装置,其中所述用于执行被动相位梯度编码信号多路复用的装置是通过时分多路复用(TDM)、频分多路复用(FDM)和/或码分多路复用(CDM)方案来实现的。
13. 根据权利要求12所述的装置,其中所述TDM是通过使用光学延迟线来实现的,所述

光学延迟线在时间上分离所述 N 个波前倾斜的、光谱编码的光信号,它们包括但不限于:

自由空间延迟线,以及;
光纤延迟线。

14. 根据权利要求12所述的装置,其中所述FDM和CDM是通过被动幅度调制,绕过使用主动声光或电光调制器来实现的,其中所述被动幅度调制可以包括:

空间色散器;以及
静态空间障板。

15. 根据权利要求14所述的装置,其中所述静态空间障板包含印刷/预制的图案,其当空间色散的射束透射经过所述障板或者从所述障板反射时,对所述空间色散的射束实际执行光谱幅度调制。

16. 根据权利要求1-7中的任一项所述的装置,其中在不需要干涉测量方法的情况下,在单个光学射束内操纵所述定量相位图像。

17. 根据权利要求1-7中的任一项所述的装置,其中所述定量相位图像被进一步处理以提取定量形态和纹理参数,其包括但不限于

总尺寸;
总体积;
总干质量,以及;
干质量密度图。

用于定量相位梯度线性调频波长编码的光学成像的装置和方法

背景技术

[0001] 光学显微术是一种利用高时空分辨率以及以几乎非侵入方式使微型对象可视化的有效工具。其效用已经广泛分布于包括工业、基础科学、生物医学应用在内的许多应用中。例如,在基础生命科学研究和临床诊断中涉及到的当前技术水平的生物细胞化验技术已经一直采用光学显微术,以用于对不同细胞类型/阶段进行分类,以及由此剖析相应的细胞功能。

[0002] 生物细胞的功能信息和结构信息可以通常由它们的相关图像对比来推断。虽然外生的荧光标记是在许多细胞生物学应用中使用的普遍的对比剂,但鉴于引入的细胞毒性和光漂白的复杂状态以及费力的标本制备,所述对比剂不总是理想的。相比之下,内生的图像对比(例如,吸收、散射)可以在不需要标记或着色剂以及相关联的费力样本制备程序的情况下在某些应用中用作有效的内在生物标志物(biomarker)。在不同的无标记光学成像模式当中,定量相位对比成像(QPI)具有下述独特性质:不仅非侵入地提供了高图像对比度,而且还基于跨透明细胞或组织对光学相位偏移进行映射而在纳米尺度下对细胞信息进行定量评估。

[0003] 从QPI得出的信息然后可以被用作内在生物标志物以用于细胞标识以及理解对应的生理信息,诸如细胞/组织的疾病状态。这些内在参数,例如生物标本的光学(例如光散射率、光折射率)属性、物理(例如,尺寸、形态)属性以及机械(例如,质量密度、刚度或变形性)属性,现在已经被认为是对于生物化验有价值的、对已充分推举(well-acclaimed)的分子特定信息的补充的表型信息的新维度。尤其是,细胞核的折射率可以用作具有高灵敏度的用于癌细胞的无标记检测的显著的指示符。

[0004] 然而,这种对无数细胞或大面积组织的高信息内容的测量通常要求高吞吐量成像能力,其直接联系到QPI的图像采集速率。类似于其他传统光学成像系统,QPI大多数需要用于图像采集的CCD/CMOS图像传感器这一事实导致了成像灵敏度和速度之间的常见折衷。这些内在参数长久以来被留为未探知的(uncharted),特别是在高吞吐量单细胞分析(即,一种当下流行的工具,其用于揭示复杂的细胞生理机能并且由此通过研究不同的细胞类型、它们的世系中的细胞阶段乃至单细胞精度来理解疾病的发病机理)的情境中。这在受基因多样性和/或表观遗传变异影响的细胞属性现在(即使在相同类型种群内)已知为高度异质时是有挑战的。

[0005] 为了评估细胞间差异,或者为了检测罕见细胞,应当对各个细胞的特性进行编目。更高置信度(confidence)的表征通常伴有可以从每个单细胞测量中提取的渐增的大量参数。这驱使了在开发用于实现高吞吐量和精确单细胞分析的新方法中的蓬勃兴趣,所述方法可以在许多其他应用当中对推进药物发现、畸变干细胞筛选以及罕见癌细胞检测具有深远影响。因此,结合定量单细胞成像在推进单细胞分析方面具有很大价值。但是在相关领域中,更多内容通常以更低吞吐量为代价出现,反之亦然。这通过在向流式细胞术添加成像能力方面的新兴兴趣而得以示范。通过访问细胞的附加空间信息,这些成像流式细胞术仅实

现了比非成像流式细胞术的成像吞吐量慢若干数量级的成像吞吐量(约1000细胞/秒)。

[0006] 基于传统相位对比和微分干涉对比(DIC)显微术所建立的许多相关领域的QPI技术大多数基于干涉测量方法或者全息方法,其要求复杂的机构并且可能对于机械干扰是脆弱的。即使可以在没有外生标记的情况下执行QPI,相关领域的QPI技术由于其速度限制而并不与高吞吐量的基于图像的细胞化验完全兼容。此外,图像采集速率可能在很大程度上被CCD/CMOS图像传感器中的基本速度灵敏度折衷所妨碍,并且这些技术中的相位恢复可能通常是计算密集的,由此阻碍了有效的高速实时定量细胞图像分析。

[0007] 存在一种称为时间伸缩成像的高速成像技术,该技术由于其连续实时地操作的超快成像速度(比传统图像传感器快若干量级)而特别适合于高吞吐量单细胞成像和分析。然而,时间伸缩成像已经主要与明场成像模式相兼容,所述明场成像模式并不适合于输送无标记/未染色的生物细胞和组织的高内容定量图像分析以及高对比度图像质量。QPI已经基于干涉测量法与时间伸缩成像相组合——再一次暗示该实现方式易受机械干扰影响并且不适合长期操作。

发明内容

[0008] 本发明的实施例提供了用于高速单像素定量相位对比光学成像的有利的系统和方法。所述系统和方法可以利用绕过对常规图像传感器及其相关联的速度限制的使用的成像技术。可以通过线性调频波长编码机制以高速(例如,比常规定量相位成像快若干数量级)来采集定量相位图像。可以利用波长扫描激光源和/或光学时间伸缩来实现这样的机制。并且在不需要传统干涉测量方法的情况下通过梯度相位对比编码来恢复定量相位信息。

[0009] 与相关领域明场对等物(例如,光谱编码成像和时间伸缩成像)相比,本发明的系统和方法不仅提供具有更高对比度的高速光学成像,而且还利用信息内容和吞吐量的前所未有的组合提供关于成像对象(例如,生物细胞和组织)的定量信息。

[0010] 在本发明的许多实施例中,可以在不使用干涉测量法的情况下使用QPI。这可以显著减少或者甚至消除对于迭代相位恢复算法的需求(如在基于干涉测量法的定量相位成像中),并且因此降低计算复杂性。相比于干涉测量法,某些实施例不要求用于维持长期机械稳定性的专用光学机构。定量相位图像信息可以被线性调频波长编码并且因此可以在自由空间或波导介质(例如光纤)中传播的单个光学射束内被操作。这在系统设计方面提供了更高灵活性。

[0011] 根据本发明的许多实施例,可以通过时分多路复用(TDM)方案、频分多路复用(FDM)方案和/或码分多路复用(CDM)方案灵活地操纵相位对比信息,上述方案可以使得高速图像采集能够实现。该特征由光纤实现方式来独特地利用,所述光纤实现方式不存在于任何现有的相位对比成像系统中。相比于光纤通信中采用的标准主动多路复用方案,本发明的实施例可以利用完全不同的方法来实施被动多路复用方案,其使得能够实现几乎在任何波长范围中(不仅限于电信波段)对多个相位对比图像的超快多路复用。本发明的系统和方法还可以用于许多其他应用,包括但不限于用于在临床应用中使用的微内窥镜术的定量成像以及用于高吞吐量质量控制的工业应用(诸如超大规模集成(VLSI)半导体器件)中的大容量制造检验。

[0012] 在本发明的许多实施例中可以基于定量相位对比提供高吞吐量的、基于图像的、单细胞分析。定量相位一直有指望作为用于细胞分析的灵敏生物标志物,但是先前尚未在流式细胞术中的领域中得到应用(至少部分地由于缺少与当前流式细胞术相兼容的可用高速定量相位成像技术)。本发明的许多实施例提供了用于单细胞分析的新领域的启用平台。

[0013] 与常规的非成像流式细胞术和成像流式细胞术相比,本发明的至少一个实施例可以提供用于基础生命科学研究以及临床诊断(例如,罕见癌细胞检测)的单细胞信息(例如,细胞体积、质量、折射率、刚度、膜片张力)的高吞吐量(例如,以至少100000细胞/秒的吞吐量)、高内容无标记定量成像(并且因此分析)。再次注意的是,现有成像流式细胞术不能够输送定量相位成像,并且它们的成像速度比本发明的系统和方法的成像速度慢若干数量级。

附图说明

[0014] 通过参考附图将更全面地理解本发明,所述附图仅用于说明的目的:

图1A示出了本发明的设备的示意图。

[0015] 图1B示出了本发明的设备的示意图。

[0016] 图2A示出了在本发明的实施例中所采用的非对称检测取向的示意图。

[0017] 图2B示出了在本发明的实施例中所采用的非对称检测取向的示意图。

[0018] 图2C示出了在本发明的实施例中所采用的非对称检测取向的示意图。

[0019] 图2D示出了在本发明的实施例中所采用的非对称检测取向的示意图。

[0020] 图3A示出了多路复用四个梯度相位对比图像的三个不同方案的示意图。

[0021] 图3B示出了被动调制器的示意图。

[0022] 图4A示出了四个频率调制的图像的傅里叶变换。

[0023] 图4B示出了带通滤波后重构的图像。

[0024] 图4C示出了带通滤波后重构的图像。

[0025] 图4D示出了带通滤波后重构的图像。

[0026] 图4E示出了带通滤波后重构的图像。

[0027] 图5A示出了鼻咽上皮细胞的图像。

[0028] 图5B示出了鼻咽上皮细胞的图像。

[0029] 图5C示出了鼻咽上皮细胞的图像。

[0030] 图5D示出了鼻咽上皮细胞的图像。

[0031] 图6A示出了通过相位对比显微术捕获的鼻咽上皮细胞的图像。

[0032] 图6B示出了通过本发明的方法捕获的经恢复的定量相位图像。

[0033] 图7A示出了椎体棱镜实施方式的透视图。

[0034] 图7B示出了椎体棱镜实施方式的顶视图。

[0035] 图7C示出了光纤准直器(FC)实施方式的侧视图。

[0036] 图7D示出了FC实施方式的顶视图。

[0037] 图8A示出了以2m/s流动的人类软骨细胞的图像。

[0038] 图8B示出了以2m/s流动的人类软骨细胞的图像。

[0039] 图8C示出了以2m/s流动的人类软骨细胞的图像。

- [0040] 图8D示出了以2m/s流动的人类软骨细胞的图像。
- [0041] 图8E示出了通过本发明的方法捕获的人类软骨细胞的经恢复的定量相位图像。
- [0042] 图9A示出了以2m/s流动的两个人类成骨细胞的图像。
- [0043] 图9B示出了以2m/s流动的两个人类乳腺癌瘤的图像。
- [0044] 图10示出了PBMC、THP-1和MCF7的热图。
- [0045] 图11A示出了十个PBMC的四种图像对比的图像。
- [0046] 图11B示出了十个THP-1的四种图像对比的图像。
- [0047] 图11C示出了十个MCF7的四种图像对比的图像。
- [0048] 图12A示出了十个增生软骨细胞的四种图像对比的图像。
- [0049] 图12B示出了十个肥大软骨细胞的四种图像对比的图像。
- [0050] 图12C示出了组合的增生软骨细胞和肥大软骨细胞的热图。

具体实施方式

[0051] 本发明涉及用于高速单像素定量相位对比光学成像的系统和方法。更具体地,本发明被体现在如在图1到图14中出于说明目的而示出的装置、方法和结果中。将理解的是,在不偏离本文所公开的基本概念的情况下,所述装置可以关于配置以及关于零件的细节发生变化,以及所述方法可以关于具体步骤和顺序发生变化。

[0052] 图1A和1B示出了根据本发明的实施例的定量相位成像的示意图。参照图1A,图示了基于光学时间伸缩的实施方式10。参照图1B,图示了基于使用宽波段波长扫描激光器或光学时间伸缩的实施方式11。

[0053] 在实施例10中,光源1可以是诸如脉冲激光器的激光源。可以首先由衍射光学元件(或者1D或2D空间色散器2)以一维(1D)或二维(2D)对光进行空间色散以形成1D或2D光谱浴(spectral shower),其可以被照射到要被成像的样本3(例如,诸如生物细胞和/或组织之类的标本)上。参照空间色散器2,其对于1D空间色散器而言可以通过衍射光栅或棱镜来实现,反之对于2D空间色散器而言可以通过衍射和虚拟成像相位阵列(VIPA)的组合来实施,但是实施例不限于此。这种光谱浴在光谱中的不同空间坐标处对标本信息进行编码。这可以被称作空间到波长的映射(光谱编码)。光谱编码的光学射束穿过多角度波前检测模块4,在其中所述射束首先被拆分到N个单独通道中(例如, $N=4$),并且它们中的每个被编码有N种不同的梯度相位对比。这N个不同的梯度相位对比通道然后由被动相位梯度编码信号多路复用器5来多路复用并且在光学时间伸缩过程6之后被进一步编码(或转换)成时间波形。光学时间伸缩是一种过程,在该过程中将在宽波段光学脉冲中编码的图像信息经由色散光纤中的群速色散(GVD)转换成实时的连续时间数据格式。本质上,相位梯度对比图像数据可以在时间伸缩过程之后在线性调频波长光谱中被时间编码。经编码的信号可以由单像素光子检测器和数字转换器7串行检测。最终步骤是通过随后的数字图像重构8对信号进行解多路复用以及恢复定量相位图像。

[0054] 图1B示出了本发明的示例实施例11。光源9是波长扫描源。波长扫描机构可以基于机械手段(例如,傅里叶域锁模激光器)和非机械手段(例如,通过光学时间伸缩进行的全光学波长扫描)。类似于图1A,波长扫描光束可以首先被衍射光学元件12(或空间色散器)空间散射以形成光谱浴,其可以被照射到要被成像的样本13上。光谱编码的光学射束穿过多角

度波前检测模块14,后面是被动相位梯度编码信号多路复用器15。注意的是,相位梯度对比图像数据是在线性调频波长光谱(或等效地是时间波形)中被时间编码,所述线性调频波长光谱可以由单像素光子检测器和数字转换器16在时间上检测。所得到的定量相位图像由随后的信号解多路复用和数字图像重构器17来恢复。应注意的是,图像采集线扫描速率或帧速率可以是由高速线性调频波长机制能够实现的任何合适的值(诸如在100 kHz到100 MHz范围内的值)。

[0055] 参照多角度波前检测模块4或14,其可以通过在光纤耦合中的小角度未对准,或者通过在光纤耦合之前使用刀刃的部分射束阻塞来实现,但是实施例并不限于此。由于在所有空间坐标处的信息被光谱编码以及在光谱编码成像步骤之后塌缩到单个射束,这样的非对称检测方案类似于纹影成像(Schlieren imaging)的概念。这是一种技术,其中在成像系统的检测路径中被部分阻塞(靠近标本的傅里叶平面)以生成示出了如同阴影效果的微分干涉对比(DIC)的增强图像对比。在数学上,其等同于根据波前倾斜方向(即,光纤耦合方向或部分射束阻塞方向)通过希尔伯特变换(Hilbert transformation)生成不同的相位梯度图像对比。图2A-2D示出了可以根据本发明的实施例采用的四个非对称检测取向($N=4$)的示意图的示例。光谱编码的光学射束可以首先被拆分到 N 个单独通道(例如, $N=4$)中,并且它们中的每个然后通过中继透镜从不同离轴取向被分别耦合到光纤(例如,单模光纤(SMF))中。图2A和2B示出了关于沿着水平面的光纤轴分别来自两个相反取向18和19的成像编码的(光谱编码的)射束A和B的离轴耦合,而图2C和2D示出了关于沿着竖直面的光纤轴分别来自两个相反取向20和21的成像编码的(光谱编码的)射束C和D的离轴耦合。光纤耦合的不同离轴取向可以引起不同的梯度相位对比。这样的梯度相位对比不仅示出了比普通的光谱编码的成像或时间伸缩成像更高的图像对比度,其还可以针对定量相位恢复而被利用。

[0056] 在离轴光纤耦合之后,每个收集的梯度相位对比可以由此被编码成光源(例如,在光学时间伸缩过程之后的扫描源或脉冲激光器)的线性调频波长光谱。本质上,在时间伸缩过程之后,图像数据可以在线性调频波长光谱中被时间编码。在实施例10和11两者中,经编码的信号可以由单像素光子检测器串行检测并且可以被数字化以用于后续数字图像重构。

[0057] 相比于常规相位梯度对比成像技术,本发明的系统和方法可以导致通过使用光纤所获取的梯度相位对比,这在硬件系统设计中提供了高度灵活性。可以在由线性调频波长编码能够实现的高速(例如,高达100 kHz到100 MHz的成像速率)下获取梯度相位对比,所述线性调频波长编码也可以容易地以光纤形式来实现。在光子检测之前,还可以实现同轴光学图像放大来补偿离轴光线耦合损失以及内在光纤损失。光学图像放大并不存在于相关领域中使用的图像传感器技术中。

[0058] 参照图1中示出的被动相位梯度编码信号多路复用器5和15的块,图3A示出了多路复用 N (例如 $N=4$)个梯度相位对比图像的三个不同实施方式。图3A中的顶部方案101图示了时分多路复用(TDM);图3A中的中间方案102图示了频分多路复用(FDM);以及图3A中的底部方案103图示了码分多路复用(CDM)。

[0059] 本文中所述的梯度相位对比编码方法还使得能够实现用于在速度和信号整体性方面的最优图像采集的各种信号多路复用方案。示例包括TDM、FDM和CDM——在电信中采用的公知概念,但是由于缺少图像编码方案而在生物成像领域在很大程度上是未探索的。

[0060] 参照方案101,可以通过以下述方式在各个光纤22中引入不同时间延迟来实现梯

度相位对比图像信号(被标记为A、B、C和D)的TDM,所述方式使得在这些信号当中不存在时间重叠。然后,可以然后由射束组合器23将这些光谱编码的(时间延迟的)梯度对比信号全部耦合到同一光纤中,所述射束组合器23后面是光学时间伸缩(在实施例10中)或者后面直接是光子检测(在实施例11中)。

[0061] 参照方案102,可以由被动幅度调制24在跨不同信号的光谱的不同频率下实现梯度相位对比图像信号的FDM。注意的是,信号可以是时间重叠的。然后,可以通过射束组合器25将这些频率多路复用的、光谱编码的、梯度相位对比信号全部耦合到同一光纤中,所述射束组合器25后面是光学时间伸缩(在实施例10中)或者后面直接是光子检测(在实施例11中)。

[0062] 参照方案103,可以由被动幅度调制26在跨不同信号的光谱的不同图案(码)处实现梯度相位对比图像信号的CDM。注意的是,信号可以在频率和时间二者上重叠。然后,可以然后由射束组合器27将这些编码多路复用的光谱编码的梯度对比信号全部耦合到相同光纤中,所述射束组合器27后面是光学时间伸缩(在实施例10中)或者后面直接是光子检测(在实施例11中)。注意的是,射束组合器23、25和27可以以光纤形式(例如N到1光纤耦合器)来实现或者在自由空间中(例如通过多个分束器)实现,但是实施例不限于此。

[0063] 参照被动调制器24和26,多路复用可以在不使用主动相位或幅度调制器的情况下在被动模式中简单完成。图3B示出了被动幅度调制器的示例实施方式。参照图3A和3B,N个(例如N=4)空间分离射束28(标记为A、B、C和D)(其中的每个已经被编码有样本的不同梯度相位对比空间的信息)可以由空间色散器29进行空间色散。所述空间色散器29可以例如是现成的衍射光栅或VIPA,但是实施例不限于此。这N个射束被空间色散器29空间色散并且形成N个光谱浴射束30,其照射到静态障板上。当空间色散的射束透射经过障板或者从障板反射时,障板上的印刷/预制的图案实际上对该空间色散的射束执行光谱幅度调制。这些射束然后由射束组合器25(对于FDM方案102)和射束组合器27(对于CDM方案103)进行多路复用。可以以四种不同障板图案的方式来设计障板,并且因此N个不同光谱幅度调制分别被施加到四个射束上。该方法可以被应用于FDM方案102和CDM方案103两者。对于FDM,障板上的图案可以本质上是具有预定义空间频率的正弦图案。由于波长到时间的映射,不同射束因此经受不同调制频率。对于CDM,图案可以是任何的任意图案,只要编码图案彼此空间正交,这是对于对码进行解多路复用而言的重要前提。再者,这些编码图案可以被容易地印刷在静态障板上。由于源的线性调频波长性质(例如,通过时间伸缩技术或者通过使用扫描源),光谱调制可以被变换到以超快速率(例如, $\gg 10$ GHz)的时间调制,并且所有步骤可以在不需要或不使用主动电光调制器的情况下被动地执行。

[0064] 某些实施例的调制方法的独特且有利的特征之一是它的被动操作,而不使用电信应用中常见的主动相位调制器或主动幅度调制器。在调制时,N个经调制的射束可以然后被组合。如果光源是扫描源激光器,光子检测器可以被用来检测时间波形(即,四个光谱的叠加)。为了恢复四个图像,需要解多路复用方案。在FDM的情况下,因为四个射束被编码有不同调制频率,所以对所采集的多路复用信号执行傅里叶变换产生四个不同的调制频率边带。具有衍射限制的分辨率的四个图像可以通过对所选择的四个单独频带采取反向傅里叶变换来恢复,其类似于标准解多路复用方案。这在图4A-4E中的实验结果(数字信号处理之后)中图示出。图4A-4E示出了图示多路复用的梯度相位对比编码的图像的FDM的示例的图

像。图4A示出了四个频率调制的图像的总和的傅里叶变换(即,使用FDM方案的多路复用图像),以及图4B-4E示出了在数字带通滤波之后如何重构各个单角度图像。应当注意的是,尽管描述了四个经调制的射束,但这仅用于示例性目的并且不应当被理解为限制性的。这个概念可以被延伸到任何合适数量的射束(例如,两束、三束、五束、六束、七束等)。

[0065] 根据本发明的被动调制操作示出了许多优点。首先,用在电信中的主动调制器(特别是电光调制器)中的常见问题包括定时抖动、电子噪声和热效应;这些问题可以在被动方法中被消除。由于调制器而引起的信号失真是最小限度的并且由此保留了信号整体性。第二,主动调制器通常仅提供了达到约10分贝(dB)的消光比(extinction ratio),特别是在高调制频率范围中(即,在一些可适用情况下 >10 GHz)。相比之下,在被动调制模式中,可以容易地实现高消光比(>40 dB),完全由在薄膜涂层制造铸造厂中例行采用的反射/透射涂层材料所支配。第三,由于被动操作,对于整个系统中的不同仪器(例如,调制器和激光源)不要求同步化,极大简化了实现方式。第四,被动调制概念在电信波段之外是容易可适用的,特别是对于较短近红外(NIR)范围以及甚至是可见范围。在该波长范围内不存在可用的相关领域调制技术(>10 GHz)。本技术独特地使得能够实现前所未有的宽波长跨度中的超快梯度相位对比成像。第五,调制时间分辨率仅基本上由空间色散器(例如,衍射光栅)的光谱分辨率所支配,空间色散器又可以被灵活定制。这极大简化了装置的设计。

[0066] 在许多实施例中,调制带宽可以在 >10 GHz的范围内,其在相关领域中在生物光子学有利的光谱窗口(例如,可见光到NIR——约400 nm到约1000 nm)中并不是容易实现的。这是特别有利于本发明中所呈现的高分辨率梯度相位对比成像的光谱范围。被动调制代表了一种实现这种超快成像能力的实用方法。本发明的系统和方法可以被应用于任何适合的扫描源(例如,具有约1 MHz重复率的那些扫描源)。

[0067] 参照多角度波前检测模块4或14,图7示出了根据本发明的某些实施例的用于多波前倾斜检测($N=4$)的两个不同的简洁实现方法,参照图7A和7B,图示了基于两个椎体棱镜的方法201。采用椎体棱镜32和33来将光谱编码的(图像编码的)射束34空间分离成 $N=4$ 个分区(partition),其中的每个对应于在本发明中要被多路复用和检测的四种不同梯度相位对比。图7B从顶视图示出了将两个经拆分的射束35和36通过光纤准直器耦合到光纤中的耦合方案。参照图7C和7D,图示了用于基于椎体反射镜40的多波前倾斜检测($N=4$)的方法202。采用椎体反射镜40来将光谱编码的(图像编码的)射束37(从顶部)空间分离成 $N=4$ 个分区,其中的每个对应于在本发明中要被多路复用和检测的四种不同梯度相位对比。图7C从侧视图示出了将两个经拆分的射束38和39通过光纤准直器耦合到光纤中的耦合方案。这些是用于多波前倾斜检测的两个实用且简洁的方法(通过使用椎体棱镜、椎体反射镜和多个光纤),并且这些独特的实施方式不能在任何现有的基于相位对比的显微镜系统中采用。

[0068] 可以将本发明的实施例作为超快成像流式细胞术来采用,以用于在流体流或悬浮液中进行高吞吐量单细胞分析(例如,罕见癌细胞检测、用于单细胞转录组的启用平台)。还可以将实施例用于对附着生物标本进行大规模成像(例如,在固态基质或固定组织切片上的生化捕获的细胞)。针对这些标本的应用包括全片成像(WSI)和组织微阵列(TMA),这两者都涉及到用于数字病理的新兴领域的高吞吐量组织学检查。其他应用还可能涉及到用于高容量制造过程(例如,VLSI半导体芯片检查)的定量成像检查。

[0069] 尽管现有的成像流式细胞术基于常规图像传感器技术(例如,CCD/CMOS图像传感

器)捕获图像,但图像采集速率在很大程度上被这些CCD/CMOS传感器中的基本速度灵敏度的折衷所妨碍。结果,成像吞吐量被限制为<1000细胞/秒,其比由本发明实施例所实现的定量相位成像吞吐量(例如,100000细胞/秒或更大)慢若干数量级。而且,不像本发明,现有的流式细胞术不能够恢复定量相位成像信息,所述定量相位成像信息作用于高吞吐量单细胞分析的各个细胞的内在生物标志物。

[0070] 现有的QPI设备也基于常规图像传感器技术(例如,CCD/CMOS图像传感器)来捕获图像;因此,图像采集速率再一次在很大程度上被这些CCD/CMOS传感器中的基本速度灵敏度的折衷所妨碍。相比之下,在本发明的许多实施例中,通过线性调频波长编码机制来采集定量相位信息,所述线性调频波长编码机制促进了以灵活的光纤形式进行高速图像检测。

[0071] 本发明的系统和方法还在时间伸缩成像平台上具有优点。现有的时间伸缩成像平台都不能够传递定量梯度相位信息,所述定量梯度相位信息使得能够在不需要干涉测量法的情况下进行相位恢复。

[0072] 本文中所述的方法和过程可以被体现为代码和/或数据。本文中所描述的软件代码和数据可以被储存在一个或多个计算机可读介质上,所述一个或多个计算机可读介质可以包括能够储存供计算机系统使用的代码和/或数据的任何设备或介质。当计算机系统读取和执行储存在计算机可读介质上的代码和/或数据时,该计算机系统执行被体现为储存在该计算机可读储存介质内的数据结构和代码的方法和过程。

[0073] 本领域技术人员应当理解的是,计算机可读介质包括可以被用于储存信息的可移除和非可移除的结构/设备,诸如:计算机可读指令、数据结构、程序模块和由计算系统/环境所使用的其他数据。计算机可读介质包括但不限于:诸如随机存取存储器(RAM, DRAM, SRAM)之类的易失性存储器;以及诸如闪存、各种只读存储器(ROM、PROM、EPROM、EEPROM)、磁性和铁磁/铁电存储器(MRAM, FeRAM)以及磁性和光学储存设备(硬盘驱动器、磁带、CD、DVD)之类的非易失性存储器;网络设备;或者当下已知或随后发展的能够储存计算机可读信息/数据的其他介质。计算机可读介质不应当被理解或解释成包括任何传播信号。

[0074] 以下是说明了实践发明的过程的示例。这些示例不应当被解释为限制性的。

[0075] 示例1

如本文中所描述的使用系统来执行定量相位恢复。对于 $N=4$,由样本引入的在 x 方向和 y 方向上的局部波前倾斜 $\theta_x(x, y)$ 和 $\theta_y(x, y)$ 可以由简单的代数关系在傍轴近似中进行量化: $\theta_x(x, y) = C(I_1+I_2-I_3-I_4)/I_{total}$, $\theta_y(x, y) = C(I_1-I_2-I_3+I_4)/I_{total}$,其中 I_k 是在不同耦合角度($k = 1, 2, 3, 4$)处捕获的四个原始图像。 I_{total} 是在 (x, y) 处的四个原始图像的总强度。 C 是可以通过系统校准进行评估的常数。相位 $\phi(x, y)$ 通过以下关系来获得:

$\vec{\nabla}_{\phi(x, y)} = \frac{2\pi\vec{\theta}(x, y)}{\lambda}$,其可以由傅里叶积分方法鲁棒地求解(另见例如图2B)。 λ 是平均波

长。这种方法消除了对于迭代相位恢复算法(如在基于干涉测量法的定量相位成像中)的需要,并且因此极大降低了计算复杂性;这对于在无比高的成像速度下的实时数据处理是关键。用于定量相位梯度显微术的相关领域方法具有受典型图像传感器限制的低成像速度(\sim kHz)。

[0076] 图5A-5D、6A、6B、8A-8E和9A-9B示出了原理证明示范的结果。图5A-5D示出了在26 MHz的线扫描速率下利用四个不同光纤耦合角度(见图2A-2D)所捕获的鼻咽上皮细胞的四

个图像(具有不同梯度相位对比)。在约10纳秒(ns)内捕获一个单镜头线扫描,给定约25%的占空比。这些图像然后被用于计算细胞的定量相位,其在图6B中示出。图6A示出通过相位对比显微术捕获的鼻咽上皮细胞,以及图6B示出了利用26 MHz的线扫描速率通过本发明的技术所捕获的同一区域中的经恢复的定量相位图像。图8A-8D示出在11.6 MHz的线扫描速率下利用四个不同光纤耦合角度(见图2A-2D)所捕获的以大约3米每秒流动的人类软骨细胞的图像。再者,在6 ns内捕获一个单镜头线扫描,给定小于25%的占空比。图8E示出了利用11.6 MHz的线扫描速率通过本发明的技术所捕获的同一人类软骨细胞的重构定量相位图像。图9示出了在11.6 MHz的线扫描速率下利用四个不同光纤耦合角度所捕获的以大约3米每秒流动的两个人类成骨细胞(图9A)和两个乳腺癌瘤(图9B)的图像。还示出两个细胞的重构定量相位图像以提供内部细胞内容的关联,它们的高相位值被认为是细胞核或细胞囊泡。

[0077] 参照图5A-5D,示出了在同一视场中但是利用四个不同光纤耦合角度所捕获的鼻咽上皮细胞的四个高对比度图像。所有这些图像类似于由传统DIC显微术拍摄的图像质量,但是它们是利用高达26 MHz的单镜头线扫描速率所捕获的。基于这四个图像,可以从同一样本进一步获得两种不同的对比:一个具有微分(增强)相位梯度对比(两个信号相减)以及同时另一个具有吸收对比(两个信号相加)。这种方法将相位梯度信息与吸收去耦合,导致图像对比度的进一步增强。此外,其有助于提取局部波前倾斜,根据该局部波前倾斜,可以通过前述算法来评估定量相位(另见例如图6A和6B)。

[0078] 参照图6B,与由相位对比显微镜拍摄的图像(图6A)相比,由本技术拍摄的定量相位图像不仅揭示了与相位对比图像一致的细胞特征,其还提供了在常规相位对比图像或DIC图像中缺失的定量相位信息。本技术的定量相位成像速度(26 MHz)比任何现有QPM模式快若干数量级。

[0079] 参照图8A-8D,示出了在微流体通道中以3 m/s流动的同一样本软骨细胞的利用四个不同光纤耦合角度所拍摄的四个高对比度图像。类似于图5A-5D,所有这些图像示出传统DIC显微术的图像质量,但是它们是利用高达26 MHz的单镜头线扫描速率所获得的。图8E示出了通过前述算法获得的同一软骨细胞的重构定量相位图像,该软骨细胞的内部细节被清晰揭示。

[0080] 图9A-9B示出了利用11.6 MHz的线扫描速率所捕获的成骨细胞和乳腺癌瘤(MCF-7)的四个高对比度光纤耦合和重构的定量相位图像。它们中的每个示出了类似于DIC显微术的内部结构的3D外观。对比度增强有助于细胞内容的确定,例如图9B示出了乳腺癌瘤的细胞核。

[0081] 示例2

除了每个单细胞的定量相位图像的恢复外,可以根据定量相位和吸收图像来获得定量细胞参数以及因此获得细胞分析。借助于本发明或其他QPI技术,这些参数可以通过从光学相位导出而非侵入地获得。光学相位直接与透射经过细胞的光的光程长度相关,后者是细胞高度与对相邻物质的折射率差的乘积。常见定量相位参数包括干质量、干质量密度、相位体积以及球度,这些参数已经被示出以在贯穿细胞周期的研究、细胞分类和肿瘤表征方面提供重大价值。这些参数可以根据以下公式得出:

$$\text{干质量: } M = \frac{1}{\alpha} \int_{S_{\text{cell}}} OPL_{\text{cell}}(x, y) dS = \frac{S_{\text{cell}}}{\alpha} \times \overline{OPL_{\text{cell}}}$$

$$\text{干质量表面密度: } \bar{M} = M/S_{\text{cell}}$$

$$\text{相位体积: } V_{\phi} = \int_{S_{\text{cell}}} OPL_{\text{cell}}(x, y) dS$$

$$\text{球度: } \psi = \pi^{\frac{1}{3}} \times \frac{(6 \cdot OPL_{\text{cell}})^{\frac{2}{3}}}{SA_{\phi}}$$

其中 α 是细胞的折射增量,其对于正常细胞来说约为0.18-0.21ml/g, S_{cell} 是投影的细胞面积, OPL_{cell} 是细胞面积上的光程长度差, $\overline{OPL_{\text{cell}}}$ 是平均的 OPL , SA_{ϕ} 是细胞的相位表面面积。

[0082] 图10、11A-11C和12A-12C图示了基于本发明的既用于临床应用又用于基础科学研究的细胞分类和单细胞分析的示例标绘图。图10描绘了分别以~1m/s的速度流动的人类外周血液单核细胞(PBMC)、人类白血病单核细胞(THP1)和乳腺癌瘤(MCF-7)的干质量密度对比细胞体积的热图。每个团簇可以被容易地识别出并且在标绘图中占据其自己的区域。对于三种细胞类型,它们全部都示出类似的干质量密度,其在先前的研究中具有相同范围的值——指示相位值并且因此指示所获得的定量细胞参数是它们实际值的真实反映。将PBMC和THP1进行比较,THP1的团簇的位置由于细胞核尺寸的增加而相比正常白血细胞示出了更大的尺寸。这种发现特别对于提供有成本效益的方式来识别正常血细胞和癌变血细胞来说具有重大价值。用来将THP1与正常血细胞相区分的常规技术包括使用约26种着色试剂,其通常在临床实践中是不利的。将PBMC和MCF7进行比较,可以主要基于体积差来容易地将MCF7与PBMCs分离。这种比较提供了下述证明:获得单细胞的定量相位图像可以递送一种用于癌细胞筛选的更容易、更简单且更有成本效益的方法。在图11A-11C中描绘了利用11.6 MHz的线扫描速率所捕获的三种细胞类型的对应细胞图像。值得注意的是,细胞的这四种不同图像对比(1. 吸收对比,2. x方向的相位梯度对比,3. y方向的相位梯度对比,以及4. 定量相位对比)都是仅通过对利用四个耦合角度所获得的四个高对比度图像(见图5A-5D)进行后处理而同时获得的。

[0083] 参照图12A-12B,示出了10个增生软骨细胞和10个肥大软骨细胞的细胞图像。类似于图11A-11C,细胞图像是利用~1m/s的流速和11.6 MHz线扫描速率而捕获的。每个细胞的四种不同图像对比被同时示出和获得,以帮助将每个细胞的细节可视化。图12C示出了从增生软骨细胞到肥大软骨细胞的转变的热图。可以观察到从增生软骨细胞到肥大软骨细胞的转变的主要趋势——指示这种转变涉及到在干质量密度中的增加的情况下在尺寸上的细胞增大。除了转变趋势外,在左下角的团簇中的点指代细胞的残骸和碎片,其具有不规则形状并且具有非常不同的干质量密度。这种细胞团簇可以被容易地识别出并且被选通(gate)以便以数字方式改善细胞纯度。

[0084] 应当理解的是,本文中所描述的示例和实施例仅出于说明目的并且根据其的各种修改或改变将被建议给本领域的技术人员并且要被包括在本申请的精神和权项以及所附权利要求的范围内。此外,本文中所公开的任何发明或其实施例的任何元素或限制可以与

任何和/或所有其他元素或限制(单独地或以任何组合)或者本文中所公开的任何其他发明或其实施例相组合,并且所有这样的组合是在不对本发明进行限制的情况下由本发明的范围所预料到的。

[0085] 本文中提及或引用的所有专利、专利申请、临时申请以及出版物(包括“参考文献”章节中的那些内容)在它们不与本说明书的明确教导不一致的程度上将其全部内容(包括所有附图和表格)通过引用进行结合。

[0086] 参考文献

涉及流式细胞术:

- Blood and cell analysis using an imaging flow cytometer, US 7925069 B2
- Oil-immersion enhanced imaging flow cytometer, US 7796256 B2
- Detection of circulating tumor cells using imaging flow cytometry, US 8548219 B2
- Imaging flow cytometer, EP 0543514 A2
- Imaging flow cytometer for imaging and analyzing particle components in a liquid sample, US 5444527 A
- Imaging flow cytometer and imaging method having plural optical paths of different magnification power, US 5521699 A
- D. A. Basiji, W. E. Ortyn, L. Liang, V. Venkatachalam, 和 P. Morrissey, “Cellular Image Analysis and Imaging by Flow Cytometry,” Clin Lab Med. 27, 653-670 (2007).
- Sai Siva Gorthi 和 Ethan Schonbrun, “Phase imaging flow cytometry using a focus-stack collecting microscope,” Opt. Lett. 37, 707-709 (2012).
- George, T. C., Basiji, D. A., Hall, B. E., Lynch, D. H., Ortyn, W. E., Perry, D. J., Seo, M. J., Zimmerman, C. A. 和 Morrissey, P. J. (2004), Distinguishing modes of cell death using the ImageStream® multispectral imaging flow cytometer. Cytometry, 59A: 237-245.
- Ata Mahjoubfar, Claire Chen, Kayvan R. Niazi, Shahrooz Rabizadeh 和 Bahram Jalali, “Label-free high-throughput cell screening in flow,” Biomed. Opt. Express 4, 1618-1625 (2013).
- Schonbrun, E., Malka, R., Di Caprio, G., Schaak, D. 和 Higgins, J. M. (2014), Quantitative absorption cytometry for measuring red blood cell hemoglobin mass and volume. Cytometry, 85: 332-338.

[0087] 涉及定量相位对比成像:

- Quantitative phase microscopy for label-free high-contrast cell imaging, US 8693000 B2
- Quantitative phase-imaging systems, US 8248614 B2
- Systems and methods self-referenced quantitative phase microscopy, WO 2013086527 A1
- System and method for Hilbert phase imaging, US 20060291712 A1

- Method for simultaneous amplitude and quantitative phase contrast imaging by numerical reconstruction of digital holograms, US 6262818 B1
- Spatial-domain low-coherence quantitative phase microscopy, US 20130229663 A1
- Quantitative phase-contrast digital holography method for the numerical reconstruction of images, and relevant apparatus, US 20080309944 A1
- Quantitative differential interference contrast (DIC) microscopy and photography based on wavefront sensors, US 8039776 B2
- Spatial light interference microscopy and fourier transform light scattering for cell and tissue characterization, US 8184298 B2
- G. Popescu, T. Ikeda, K. Goda, C. A. Best-Popescu, M. Laposata, S. Manley, R. R. Dasari, K. Badizadegan 和 M. S. Feld, "Optical measurement of cell membrane tension," *Phys. Rev. Lett.* 97, 218101 (2006).
- G. Popescu, K. Badizadegan, R. R. Dasari 和 M. S. Feld, "Observation of dynamic subdomains in red blood cells," *J. Biomed. Opt.* 11, 040503 (2006).
- W. Choi, C. F. Yen, K. Badizadegan, S. Oh, N. Lue, R. R. Dasari 和 M. S. Feld, "Tomographic phase microscopy," *Nat. Methods* 4, 717 (2007).
- L. Yu, S. Mohanty, G. Liu, S. Genc, Z. Chen, M. W. Berns, "Quantitative phase evaluation of dynamic changes on cell membrane during laser microsurgery," *J. Biomed. Opt.* 13, 050508 (2008).
- C. Joo, T. Akkin, B. Cense, B. H. Park 和 J. F. de Boer, "Spectral-domain optical coherence phase microscopy for quantitative phase-contrast imaging," *Opt. Lett.* 30, 2131 (2005).
- T. Yamauchi, H. Iwai, M. Miwa 和 Y. Yamashita, "Low-coherent quantitative phase microscope for nanometer-scale measurement of living cells morphology," *Opt. Express* 16, 12227 (2008).
- P. Wang, R. Bista, R. Bhargava, R. E. Brand 和 Y. Liu, "Spatial-domain low-coherence quantitative phase microscopy for cancer diagnosis," *Opt. Lett.* 35, 2840 (2010).
- T. Ikeda, G. Popescu, R. R. Dasari 和 M. S. Feld, "Hilbert phase microscopy for investigating fast dynamics in transparent systems," *Opt. Lett.* 30, 1165 (2005).
- Y. Park, T. Yamauchi, W. Choi, R. Dasari 和 M. S. Feld, "Spectroscopic phase microscopy for quantifying hemoglobin concentrations in intact red blood cells," *Opt. Lett.* 34, 3668 (2009).
- E. Cuche, F. Bevilacqua 和 C. Depeursinge, "Digital holography for quantitative phase contrast imaging," *Opt. Lett.* 24, 291-293 (1999).
- Florian Charrière, Anca Marian, Frédéric Montfort, Jonas Kuehn, Tristan Colomb, Etienne Cuche, Pierre Marquet 和 Christian Depeursinge, "

Cellrefractive index tomography by digital holographic microscopy," *Opt. Lett.* 31, 178 (2006).

· Natan T. Shaked, Lisa L. Satterwhite, Nenad Bursac 和 Adam Wax, "Whole-cell-analysis of live cardiomyocytes using wide-field interferometric phase microscopy," *Biomed. Opt. Express* 1, 706-719 (2010).

· Pinhas Girshovitz 和 Natan T. Shaked, "Generalized cell morphological parameters based on interferometric phase microscopy and their application to cell life cycle characterization," *Biomed. Opt. Express* 3, 1757-1773 (2012).

P. Marquet, C. Depeursinge 和 P.J. Magistretti, "Exploring Neural Cell Dynamics with Digital Holographic Microscopy," *Annual Review of Biomedical Engineering*, 15, 407 (2013)。

[0088] 涉及时间伸缩成像:

· K. Goda, K. K. Tsia 和 B. Jalali, "Amplified dispersive Fourier-transform imaging for ultrafast displacement sensing and barcode reading," *Appl. Phys. Lett.* 93, 131109 (2008).

· K. Goda, K. K. Tsia 和 B. Jalali, "Serial time-encoded amplified imaging for real-time observation of fast dynamic phenomena," *Nature* 458, 1145 (2009).

· K. K. Tsia, K. Goda, D. Capewell 和 B. Jalali, "Performance of serial time-encoded amplified microscope," *Opt. Express* 18, 10016 (2010).

· B. Jalali, K. Goda, P. Soon-Shiong 和 K. Tsia, "Time-stretch imaging and its applications to high-throughput microscopy and microsurgery," *IEEE Photonics Society Newsletter*, 24, 11 (2010).

· C. Zhang, Y. Qiu, R. Zhu, K. K. Y. Wong 和 K. K. Tsia, "Serial time-encoded amplified microscopy (STEAM) based on a stabilized picosecond supercontinuum source," *Opt. Express* 19, 15810 (2011).

· Y. Qiu, J. Xu, K. K. Y. Wong 和 K. K. Tsia, "Exploiting few mode-fibers for optical time-stretch confocal microscopy in the short near-infrared window," *Opt. Express* 20, 24115-24123 (2012)

· T. T. W. Wong, A. K. S. Lau, K. K. Y. Wong, K. K. Tsia, "Optical time-stretch confocal microscopy at 1 μm ," *Opt. Lett.* 37, 3330 (2012).

· K. Goda, A. Ayazi, D. R. Gossett, J. Sadasivam, C. K. Lonappan, E. Sollier, A. M. Fard, S. C. Hur, J. Adam, C. Murray, C. Wang, N. Brackbill, D. D. Carlo 和 B. Jalali, "High-throughput single-microparticle imaging flow analyzer," *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 11630-11635 (2012).

· Ata Mahjoubfar, Claire Chen, Kayvan R. Niazi, Shahrooz Rabizadeh 和 Bahram Jalali, "Label-free high-throughput cell screening in flow," *Biomed. Opt. Express* 4, 1618-1625 (2013).

· T. T. W. Wong, A. K. S. Lau, K. K. Y. Ho, M. Y. H. Tang, J. D. F.

Robles, X. Wei, A. C. S. Chan, A. H. L. Tang, E. Y. Lam, K. K. Y. Wong, G. C. F. Chan, H. C. Shum 和 K. K. Tsia, "Asymmetric-detection time-stretch optical microscopy (ATOM) for ultrafast high-contrast cellular imaging in flow," Sci. Rep. 4, 3656 (2014).

· Differential interference contrast serial time encoded amplified microscopy, US 20130135529 A1

· Apparatus and method for dispersive Fourier-transform imaging, US 8376218 B2

· Apparatus and method for optically amplified imaging, US 20100141829 A1。

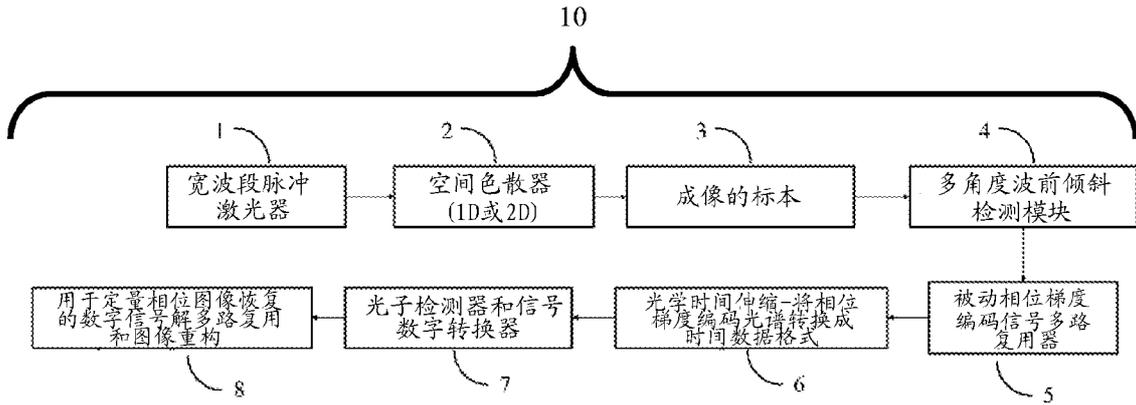


图 1A

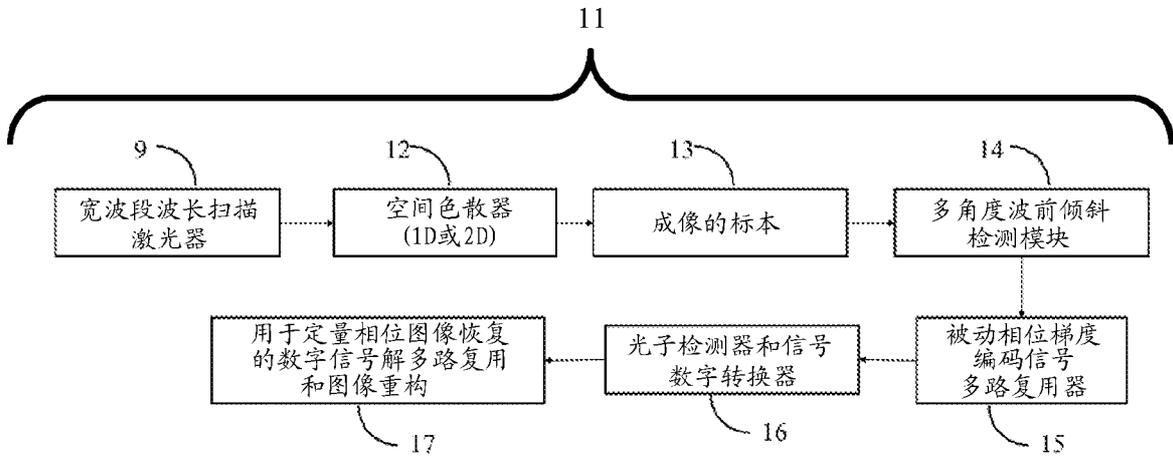


图 1B

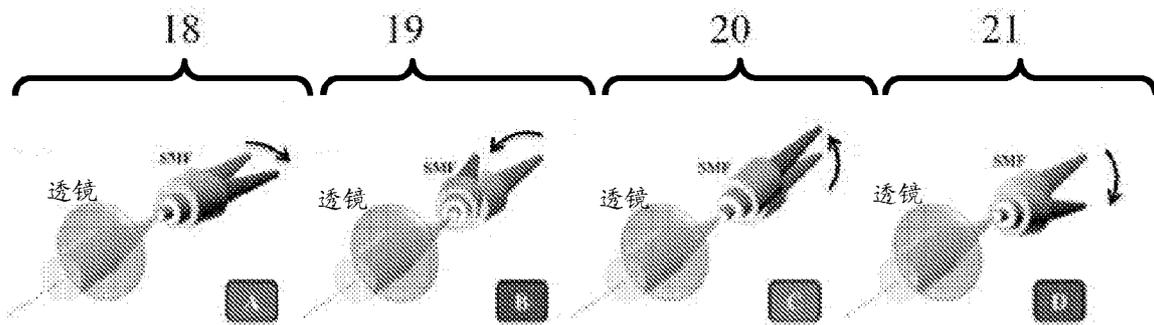


图 2A

图 2B

图 2C

图 2D

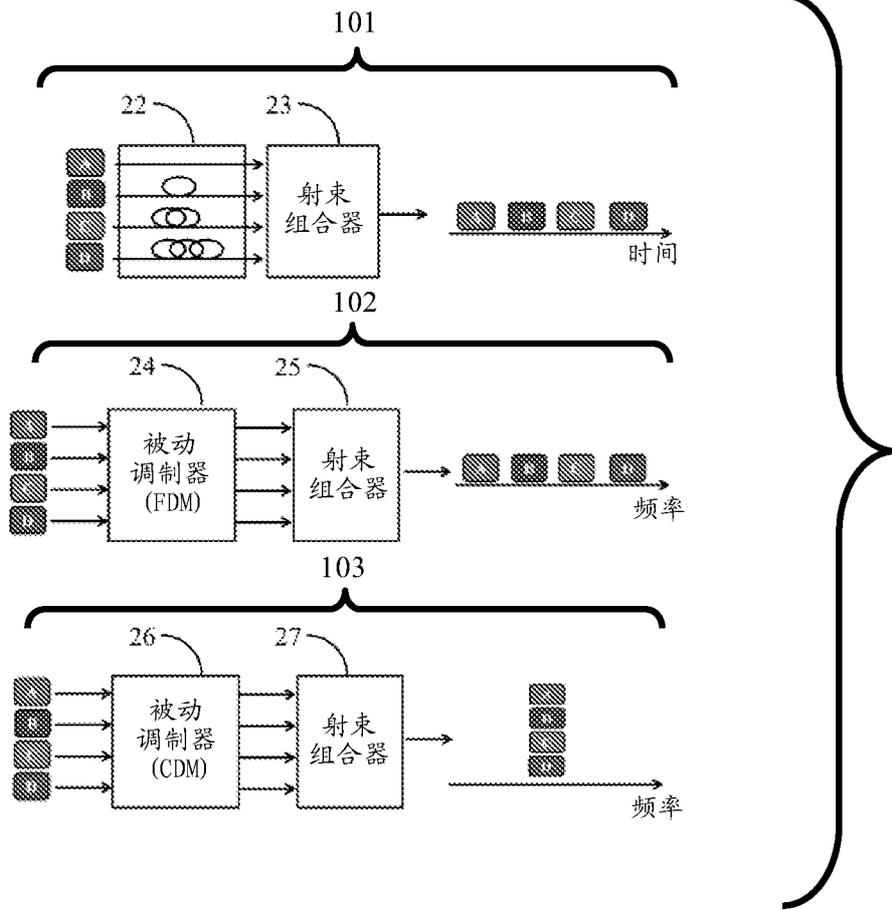


图 3A

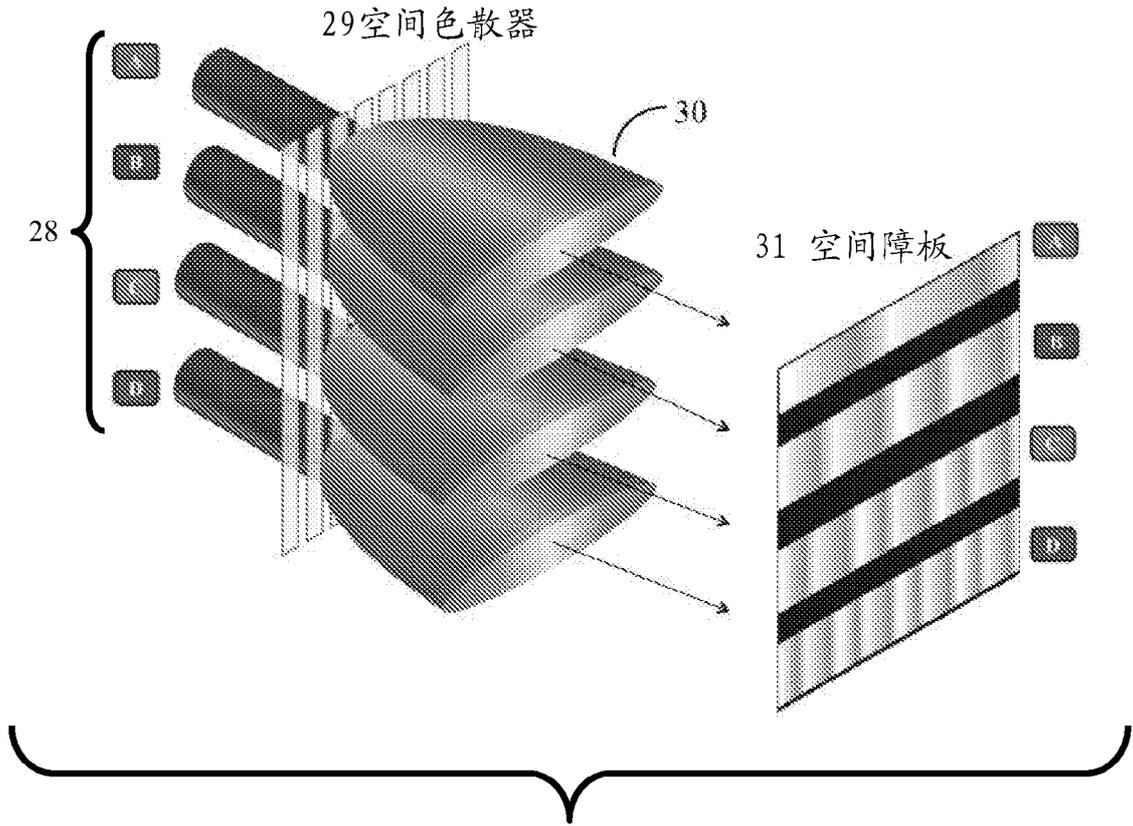


图 3B

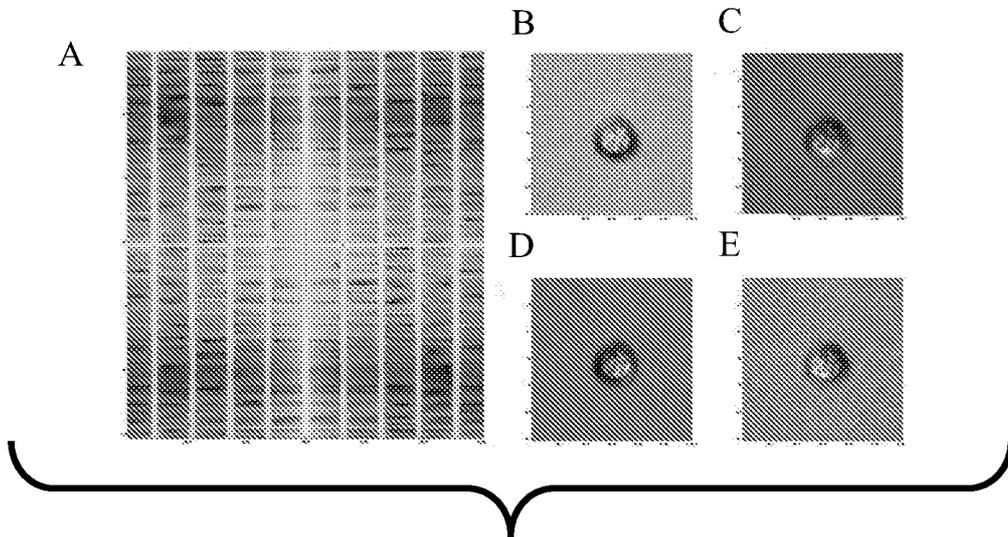


图 4A-E

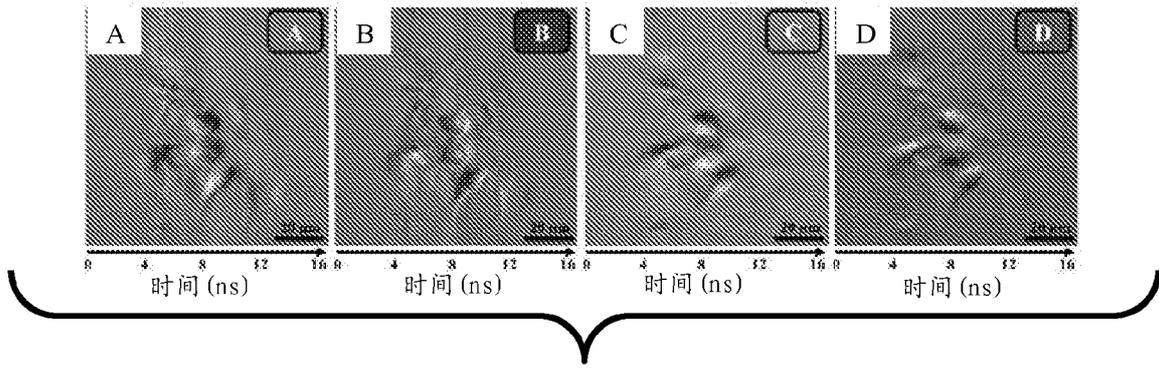


图 5A-D

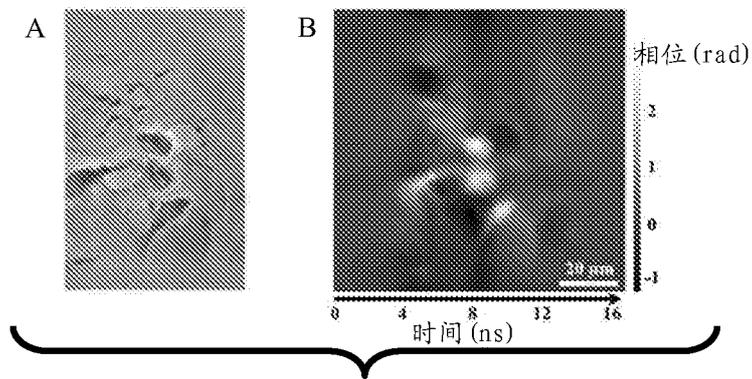


图 6

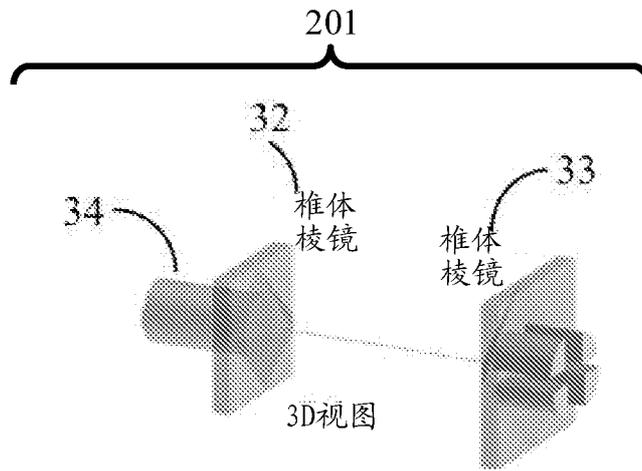


图 7A

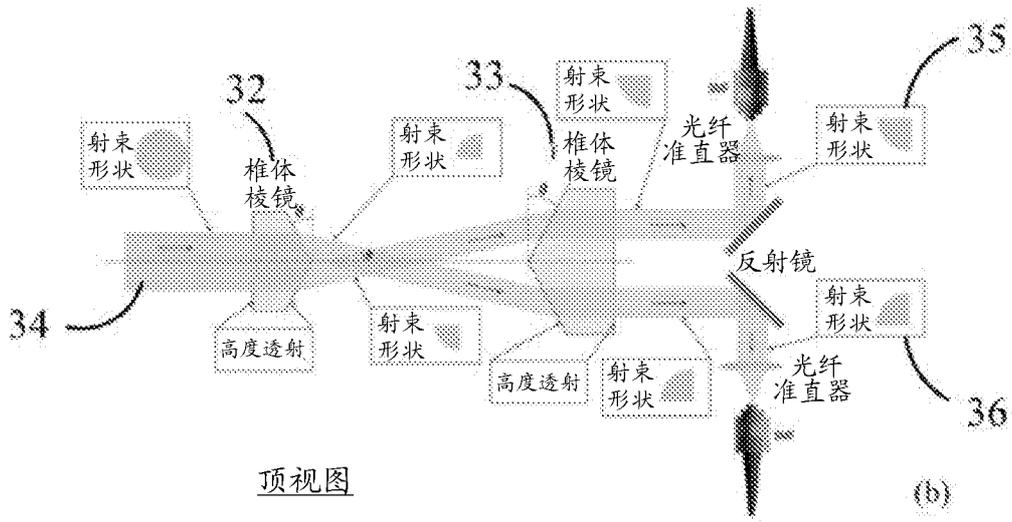


图 7B

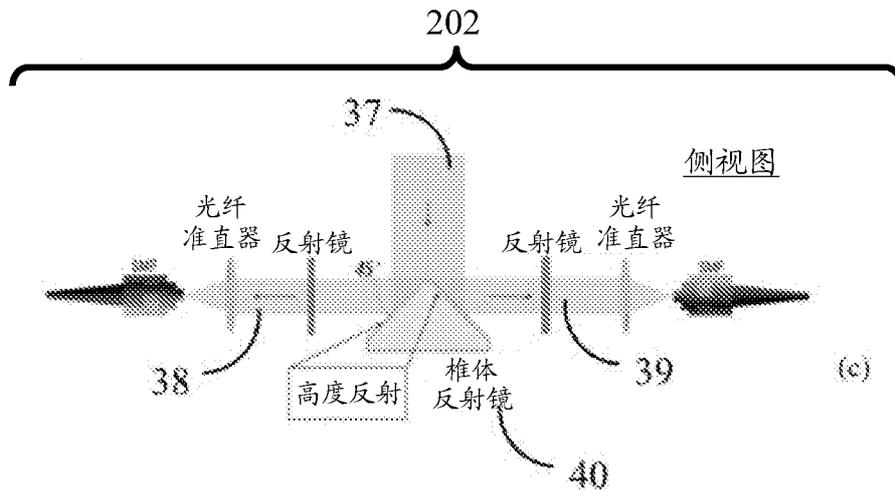


图 7C

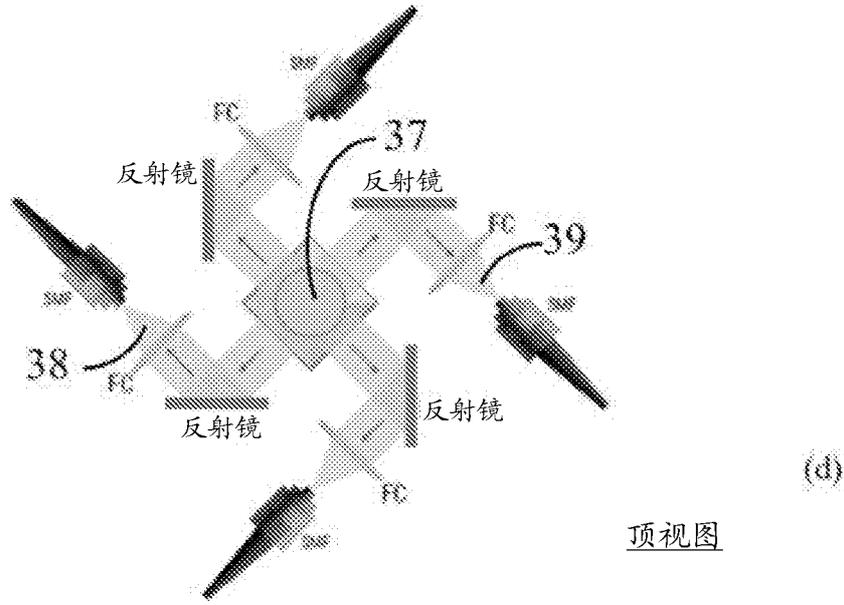


图 7D

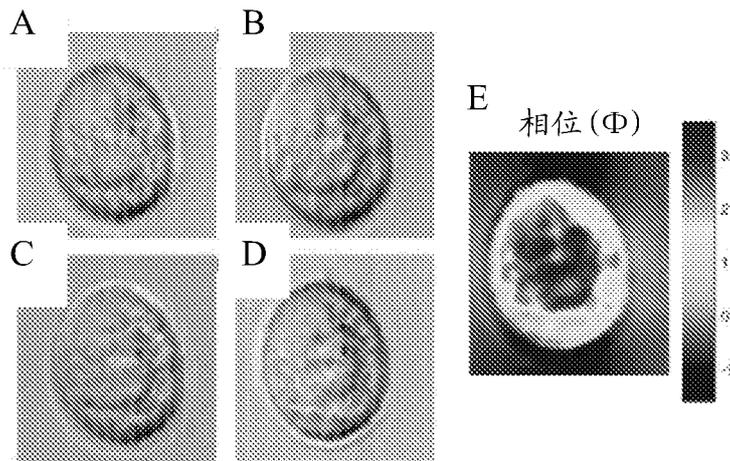


图 8A-E

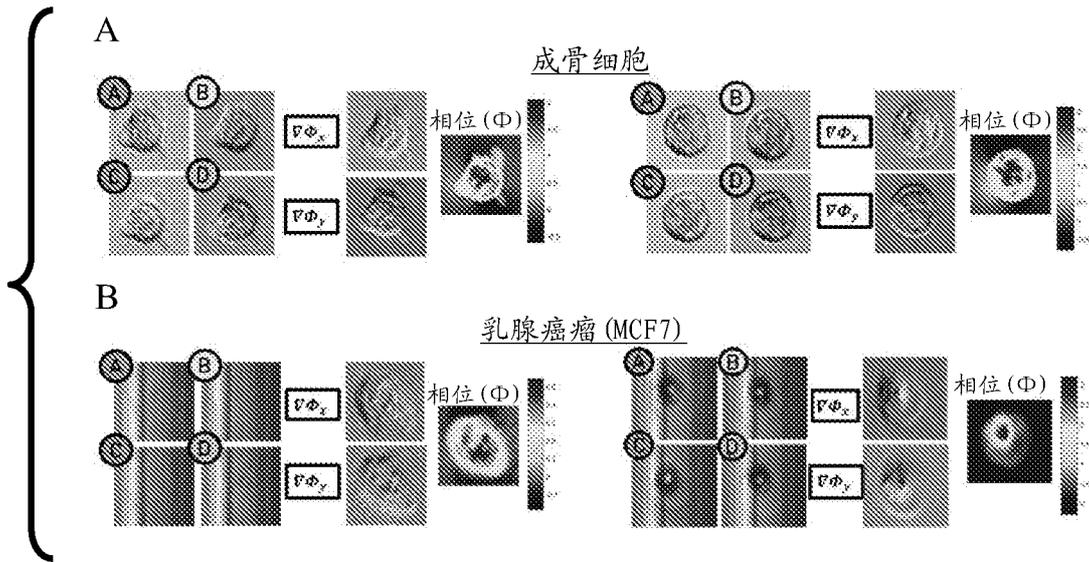


图 9A-B

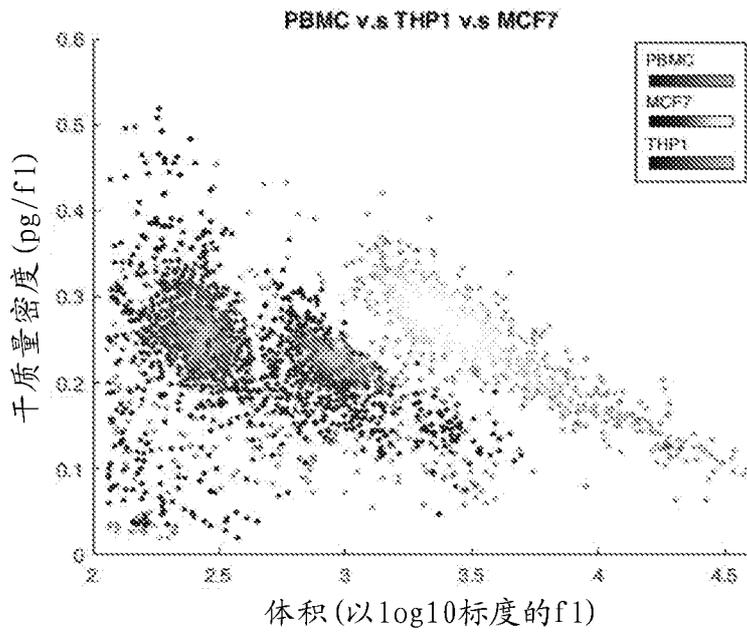


图 10

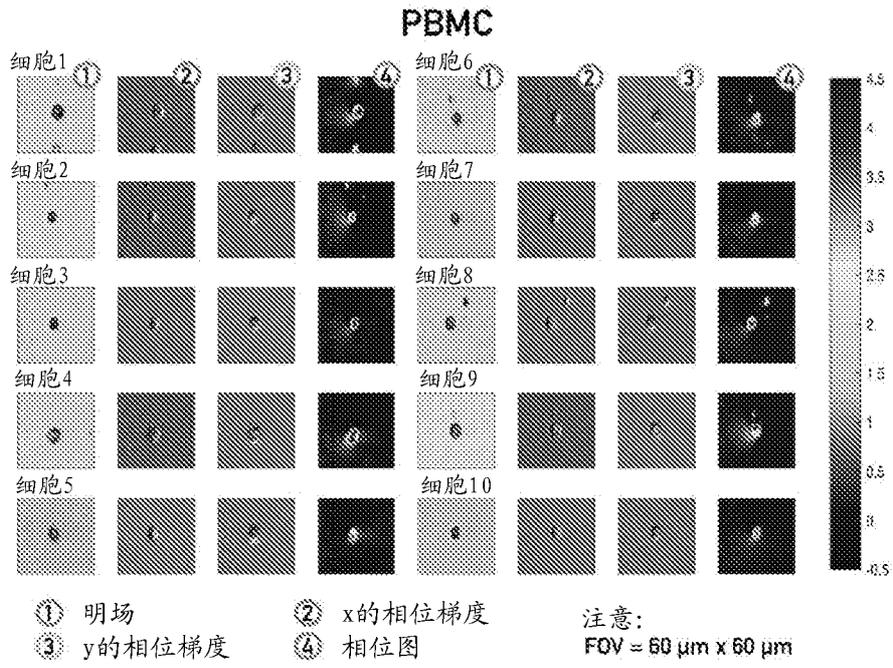


图 11A

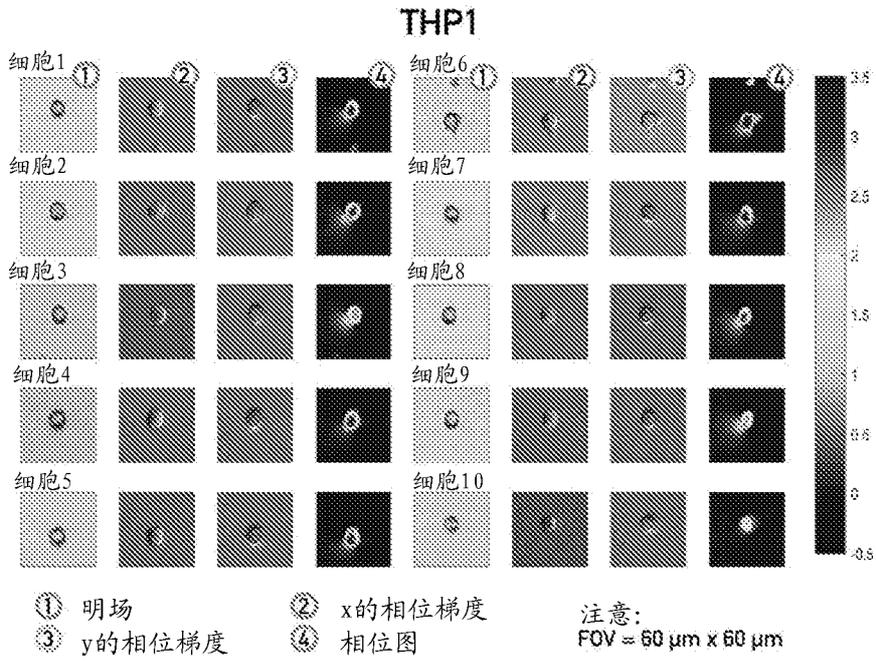


图 11B

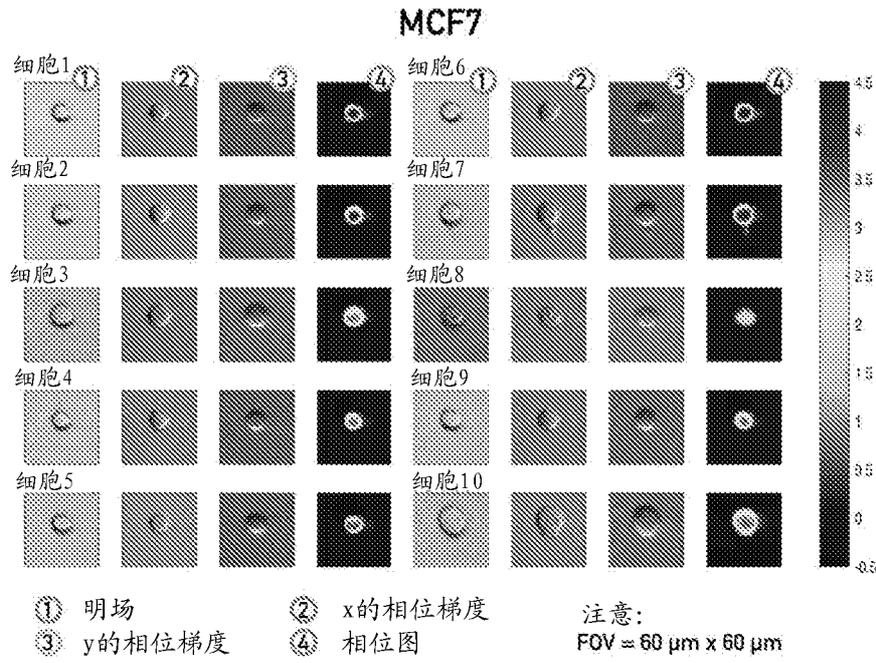


图 11C

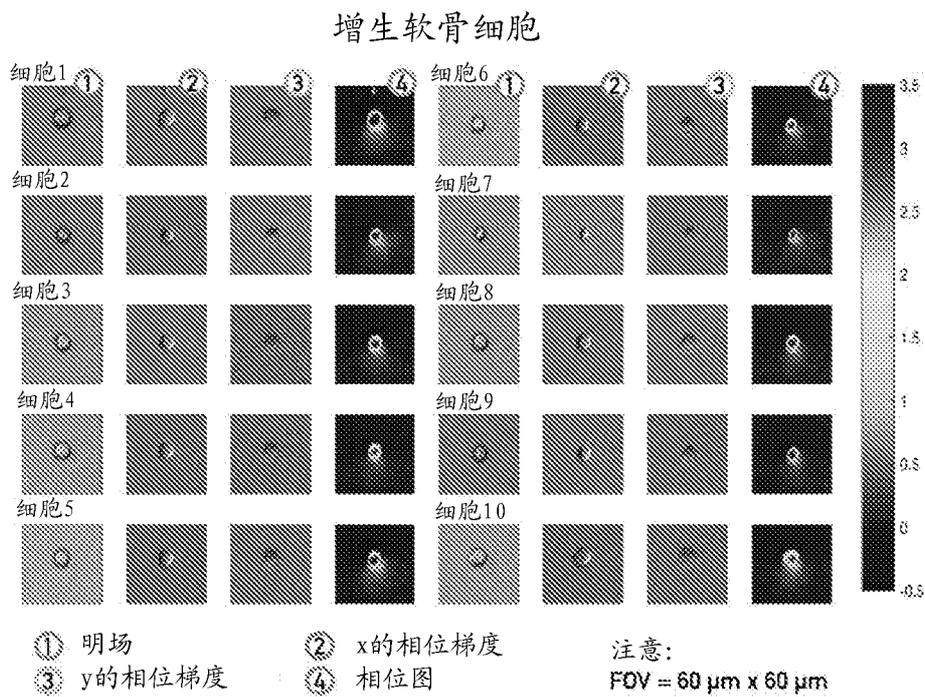


图 12A

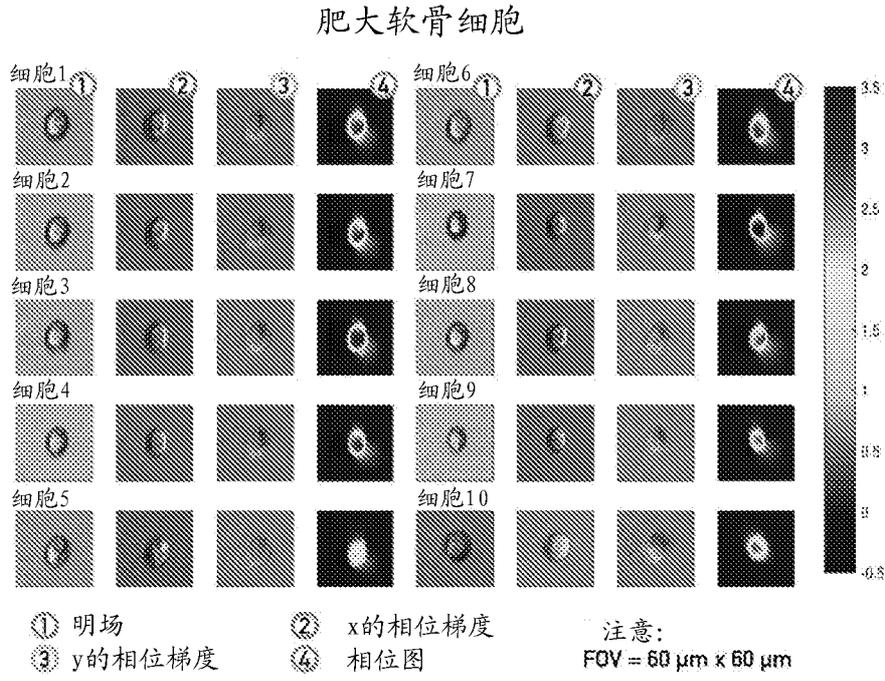


图 12B

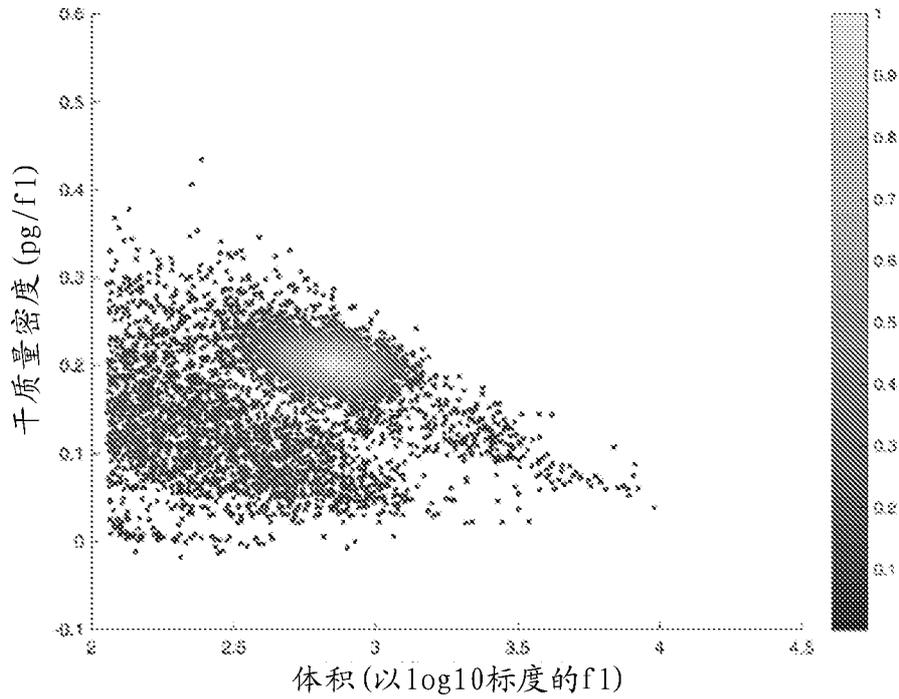


图 12C