

DOI: 10.19650/j.cnki.cjsi.J2107713

快速并行激光显微切割方法*

黄彩虹^{1,2}, 谢佳豪², 易定容², 康玉思³, 庄凤江¹

(1. 华侨大学信息科学与工程学院 厦门 361021; 2. 华侨大学机电及自动化学院 厦门 361021;
3. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所 长春 130031)

摘要: 针对传统激光显微切割采用单激光焦点与工件相对运动形成加工轨迹,存在切割效率低、切割轨迹首尾不易闭合等局限性,提出基于数字微镜器件的无机械运动激光显微切割方法。通过调控数字微镜阵列,对激光光束的振幅进行调控,配合光路设计在样品区域得到任意的光场强度分布,实现强度近乎相同的面投影并行切割。阐述了关键参数设计、模拟仿真、系统搭建过程。先对聚酯薄膜进行直线、空心圆环、空心矩形等多种图案的切割,再对冷冻切片的细胞组织进行切割。实验表明,通过一次投影并行切割可设计的图案化结构,目标图形准确,切割效率高。在20×物镜下,最小切割线宽达到亚微米,最小圆环直径小于单细胞直径。该方法可为提高激光显微切割系统的效率和精度提供新思路和新方向。

关键词: 激光显微切割; 数字微镜器件; 激光加工

中图分类号: TH741 文献标识码: A 国家标准学科分类代码: 460.4099

A rapid parallel laser microdissection method

Huang Caihong^{1,2}, Xie Jiahao², Yi Dingrong², Kang Yusi³, Zhuang Fengjiang¹

(1. College of Information Science and Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;
2. College of Mechanical Engineering and Automation, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;
3. Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130031, China)

Abstract: With regard to the traditional laser microdissection using the relative motion between the single laser focus and the workpiece, there are limitations in forming the machining trajectory, such as the low cutting efficiency and the difficulty in closing the cutting trajectory. To address these issues, a laser microdissection method based on digital micromirror device without mechanical movement is proposed. By adjusting the digital micromirror array, the amplitude of the laser beam can be adjusted, and the arbitrary light field intensity distribution can be obtained in the sample area with the optical path design. In this way, the parallel cutting of plane projection is realized with almost the same intensity. Meanwhile, the process of key parameter design, simulation, and system construction is described. Specifically, the polyester film is first cut with various patterns such as straight line, hollow ring and hollow rectangle. Then, the frozen section of cell tissue is cut. Experiments show that, by one projection, designable patterned structures can be cut in parallel with accurate target graphics and high cutting efficiency. Under the 20× objective lens, the minimum cutting line width reaches sub-micron, and the minimum ring diameter is smaller than the single cell diameter. This method can provide new ideas and new directions for improving the efficiency and accuracy of the laser microdissection system.

Keywords: laser microdissection; digital micromirror device; laser processing

0 引言

成像观察下选择特定的生物组织,聚焦激光束沿着所规划的组织周边切割一周,实现组织分离,获取高纯度细胞组织的方法^[1]。

激光显微切割(laser microdissection, LMD)是在显微

目前,国际上常用的激光显微切割系统有以下4种:

收稿日期: 2021-04-05 Received Date: 2021-04-05

* 基金项目: 福建省自然科学基金(2020J02005)、福建省教育厅科研课题(JAT170033)项目资助

德国 Leica 公司的 Leica AS LMD 系统、瑞士 MMI 公司的 Cellcut、德国 Zeiss 公司的 PALM、美国 ThermoFisher 公司销售的 ArcturusXT。现有激光显微切割方法是利用光学元件聚焦激光束,然后通过载物台或者扫描振镜的机械运动,让单激光焦点沿着特定轨迹运动实现切屑或者材料熔融气化,从而实现细胞组织分离。这种逐点扫描的切割方法,需要辅以轨迹规划、坐标校正及控制算法,大大降低了切割效率。激光显微切割的轨迹往往需要匹配各种不同复杂细胞簇结构的自然边界、甚至精细的单细胞边界,机械运动受二维运动平台各主轴回转精度、重复定位精度限制,在进行复杂图形或者高精度切割时,容易产生切割轨迹首尾不闭合、需要重复切割的现象。这对于生物材料,尤其是对活性生物细胞的提取无疑是不可取的。与此同时,激光显微切割技术,目前面临着提高切割效率和提高切割精度的两大挑战。一方面,如果用户选择的细胞类型在感兴趣的组织中非常稀有,则需要解剖成千上万,甚至数十万的细胞,以获得足够的材料用于进一步分析。目前,高通量单细胞分离技术依然是基因测序等领域的重要需求。在每个细胞读取一次基因的前提下,无论是从理论上还是实验上,测序尽可能多的细胞依然是目前最优的方案^[2]。现有 LMD 技术目前还存在分离通量较低的不足。另一方面,细胞内精细结构如细胞核、线粒体、内质网、高尔基体、溶酶体、细胞凸起等细胞器也逐渐成为生物医学的研究及实验对象。随着科技的进步,亚细胞器分离的需求已经开始显现^[3-4]。但现有 LMD 技术,激光切割的线宽通常在微米级,微米级线宽限制了单细胞显微切割的精度,有污染相邻细胞的潜在风险^[5]。综合以上分析,传统的采用单焦点与工件相对运动形成加工轨迹的激光显微切割方法,难以满足高通量和高精度单细胞分离发展趋势的需求^[6]。

基于空间光调制器的并行处理激光加工,通过把单个焦点调制成强度近乎相同的多焦点,将单光束调制成多光束或者面投影光束进行并行加工,可以克服逐点扫描法效率低、激光加工精度受限于运动扫描系统的定位精度等问题。目前,已广泛应用到超快激光加工中,并被证明增加了超短脉冲激光处理的吞吐量和效率。在超快激光并行加工应用中,常见的空间光调制器有液晶空间光调制器(liquid crystal spatial light modulator, LC-SLM)以及数字微镜器件(digital micromirror device, DMD)。LC-SLM 的基本工作原理,是沿晶体非常轴偏振的光的相位变化可以通过液晶材料的可变折射率来精确控制,借此实现对光束的相位、偏振态、振幅等的一维或二维的实时空间调制。近年来,由 LC-SLM 产生的多光束的并行处理已被广泛应用到超快激光加工中的多焦点平行加工、二维面加工、三维体加工等不同领域。实现了多圆形波导光斑的激光并行加工^[7]、二维图案的阵列打印^[8]、多种微结构的三维加工

等^[9-10]。而 DMD 是一种快速数字开关反射镜阵列,由集成在存储芯片上的数百万个微米平方大小的铝制反射镜排列而成,每个像素的反射镜可以单独控制,从而改变出射光的路径。DMD 目前已被广泛应用于无掩模光刻领域^[11],获得了微米、亚微米线宽的特征尺寸^[12-13],并且实现了微透镜阵列的加工^[14]、微弹簧、微支架、微孔等多种 3D 微结构的加工^[15]。以上基于 DMD 的超快加工,大多采用汞灯、紫外波段 LED 灯等非相干光源,或者飞秒激光光源,对激光的匀化设计、相干光源引起的衍射及消衍射方法讨论较少。同时,光刻是将几何掩膜图形转移到涂有光刻胶的硅片表面的工艺过程。其工艺参数、工艺过程与在薄膜及生物组织上的切割不同。激光显微切割,大多选择加工过程中热影响区小的紫外纳秒激光光源,通过聚焦后的紫外激光能量在空间高度集中,形成较高的功率密度,诱导聚酯薄膜、石蜡包埋组织切片、冷冻组织切片等材料的分子键断裂和原子电离完成切割。基于 DMD 的并行激光显微切割方法及实验,目前还未见报道。

本文提出基于 DMD 的并行激光显微切割方法,用于提高激光显微切割的效率和精度。选择紫外纳秒激光光源,利用 DMD 作为空间光调制器,通过模型分析、参数设计、系统仿真、平台搭建等过程,构建并行激光显微切割系统。对聚酯薄膜和生物组织切片进行了多种图形结构、激光单次写入、一次切割成型的实验验证。同时,介绍了利用远心光学设计中的透镜组直接消除相干光衍射的方法,并展示了相关实验结果。

1 物理模型、参数设计及原理仿真

1.1 DMD 衍射模型

DMD 是一种反射式电寻址空间光调制器,由许多小型铝制反射镜构成。相对于表面法线,器件的每个反射镜可以切换到 +12° 或 -12°,分别对应于开或关状态^[16]。开态微镜的反射光束进入后续的加工光路。当与激光光源一起使用时,DMD 是周期性间隔的二维阵列,其衍射效应不能被忽略。我们从分析数字微镜器件的反射函数开始,DMD 反射及衍射示意图如图 1 所示^[14],图 1(a)是微镜无翻转状态,图 1(b)是翻转状态下的微镜。

DMD 实际上是二维有序反射光栅,微镜像素的衍射特性类似于矩形孔的衍射特性^[17-18]。其结构示意图如图 1(c)所示。DMD 所在平面为 $\xi - O - \eta$,DMD 的横向、纵向长度分别为 L_ξ, L_η ,单个微镜的边长为 a ,微镜间距为 d ,当平面垂直入射 DMD 时,单个微镜的反射率函数可以用矩形函数表示,衍射光场 $U(\xi, \eta)$ 满足^[19]:

$$U(\xi, \eta) = \left[\text{rect}\left(\frac{\xi}{a}, \frac{\eta}{a}\right) \otimes \text{comb}\left(\frac{\xi}{d}, \frac{\eta}{d}\right) \right] \text{rect}\left(\frac{\xi}{L_\xi}, \frac{\eta}{L_\eta}\right) \quad (1)$$

式中: \otimes 表示卷积; $rect\left(\frac{\xi}{a}, \frac{\eta}{a}\right)$ 表示单个微镜的孔径函数; $comb\left(\frac{\xi}{d}, \frac{\eta}{d}\right)$ 表示对微镜的周期复制。假设 DMD 入射光的光强分布 $I_i(x, y)$ 振幅为 $U_i(\xi, \eta)$, 初相位为 0。经 DMD 调制后, 与 DMD 相距 l 时的夫琅和费衍射光场 $K(x, y)$ 满足:

$$K(x, y) = \frac{\exp(ikl)}{ikl} \iint U(\xi, \eta) \exp\left\{\frac{i\pi}{\lambda} [(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2]\right\} d\xi d\eta = \left[a^2 d^2 \frac{\exp(ikl)}{ikl} \exp\left(\frac{i\pi}{\lambda} x^2\right) \exp\left(\frac{i\pi}{\lambda} y^2\right) P(x, y) \right] \otimes F\left[rect\left(\frac{\xi}{L_\xi}, \frac{\eta}{L_\eta}\right) \exp\left(\frac{i\pi}{\lambda} \xi^2\right) \exp\left(\frac{i\pi}{\lambda} \eta^2\right) \right] \quad (2)$$

式中: F 表示傅里叶变换; $P(x, y)$ 是一个二维周期函数, 满足:

$$P(x, y) = sinc\left(\frac{ax}{\lambda}, \frac{ay}{\lambda}\right) comb\left(\frac{dx}{\lambda}, \frac{dy}{\lambda}\right) \quad (3)$$

式中: $sinc\left(\frac{ax}{\lambda}, \frac{ay}{\lambda}\right)$ 决定了光斑的幅值强度, 而 $comb\left(\frac{dx}{\lambda}, \frac{dy}{\lambda}\right)$ 决定了光斑的复制周期。最大光强的斑点是在 $(x, y) = (0, 0)$ 处, 随着级次的增大, 衍射光斑强度逐渐减弱。随着 DMD 的单片微镜孔径 a 以及微镜间距 d 的改变, 其衍射光场的分布也会随着改变。用 Python 编程语言, 绘制出 DMD 投影图案为矩形时的衍射仿真示意图, 如图 1(d) 所示。

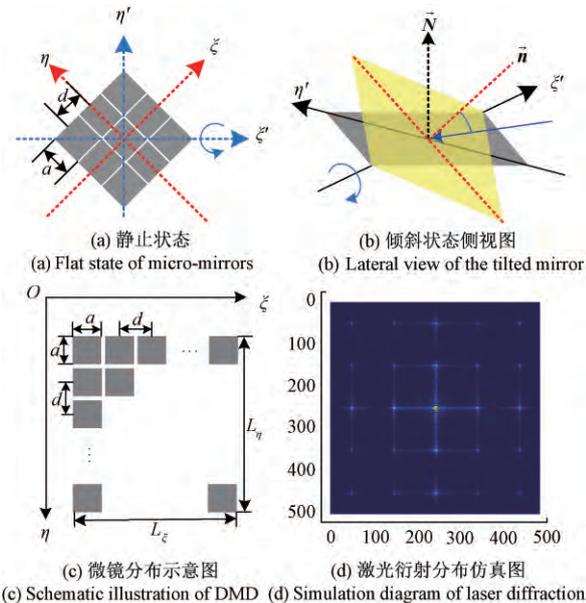


图 1 DMD 衍射特性分析

Fig. 1 Schematic diagrams of diffraction analysis of DMD

1.2 激光匀化设计

由于激光器直接输出光斑的强度满足高斯分布, 不同位置照明光强不均匀^[20]。本系统利用微透镜阵列均化器来实现激光光斑的匀化^[21]。匀化系统原理图如图 2 所示。系统主要由两部分组成: 将入射光束分成大量细光束的双列微透镜阵列和使各子光束在目标面上叠加的积分透镜。由微透镜阵列组成的匀化系统, 成像面的正方形光束的边长大小可由式(4)获得^[22]:

$$D_H = \frac{pf_c}{f_1 f_2} (f_1 + f_2 - d_{12}) = p \frac{f_c}{f_2} \quad (4)$$

第一和第二微透镜阵列的距离 $d_{12} = f_2$ 的前提下, 方形光束的大小可以由 3 个参数定义: 透镜阵列中各子阵列的间距大小阵列 p 、第二透镜阵列的焦距 f_2 和傅里叶透镜的焦距 f_c 。同时, 光束均化器应保持其与像平面的距离。本系统的 DMD 的封装尺寸为 $14 \times 10.5 \text{ mm}^2$, 设计 $D_H = 5 \text{ mm}$ 。

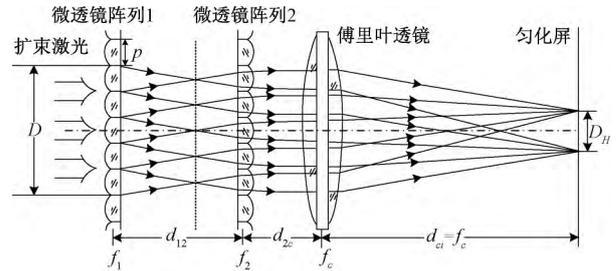


图 2 微透镜阵列匀化系统原理图

Fig. 2 Schematic diagram of homogenizing system based on microlens array

除了光强均匀性, 光斑的发散角是影响后续光学设计的另一重要因素。整个光斑的发散角半角可以由式(5)计算^[21], 系统取 $\theta_{divp} = 0.01 \text{ rad}$ 。

$$\theta_{divp} = \max \left| \frac{p}{f_2} \left(\frac{d_{2c}}{f_c} - 1 \right) - \frac{p}{f_c} \left(\frac{1}{2} + n \right) \right|, \quad n = \left[0, \frac{N-1}{2} \right] \quad (5)$$

1.3 精缩投影参数设计与分析

根据系统的应用要求, 将 DMD 配置在与加工对象共轭的位置上, 物镜和管镜组件是整个 DMD 投影系统的核心部件, 直接影响后面的刻蚀精度。该系统管镜组件等效焦距 $f_1 = 1000 \text{ mm}$, 高紫外透过率物镜等效焦距 $f_2 = 10 \text{ mm}$, 如图 3 所示。根据几何光学理论, 刻蚀线的线宽与 DMD 图案线宽之间的比例关系:

$$W_{(\mu\text{m})} = \frac{nd_0}{f_1 f_2} \quad (6)$$

式中: n 是像素数; d_0 是忽略微镜间隙的一个微镜像素大小即 $13.68 \mu\text{m}$; f_1 是管镜组件的等效焦距; f_2 是物镜的

焦距。基于该理论,设计刻蚀系统的缩小比例是 1:100。DMD 上图像周期为 2 个像素时,由式(6)可得,精缩后周期为 274 nm。根据瑞利判据,成像光学系统的分辨率与其数值孔径 NA 、照明光波长 λ 的关系为:

$$R = 0.61 \frac{\lambda}{NA} \tag{7}$$

在本实验系统中,物镜 $NA = 0.75$,相干光照明下的理论分辨率 $R = 283 \text{ nm}$ 。因此,当 DMD 一个周期中包含两个微镜时,照明光斑大小接近理论衍射极限。但实际分辨率还与工艺参数有关。

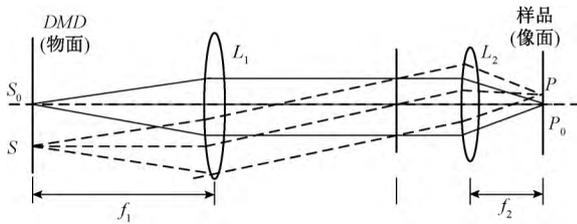


图 3 基于几何光学的 DMD 投影模型

Fig. 3 Geometric optics-based the model of DMD project system

1.4 光学仿真

基于 Codev 和 lighttools 光学仿真软件,对系统进行了光学仿真,以确保系统参数的合理性。对微透镜阵列光束匀化系统仿真得到的目标平面处光强分布如图 4(a) 所示,实现了均匀性为 91.89% 的均匀光斑。仿真获取到物方艾里斑两点的间距为 $0.3 \mu\text{m}$,与该波长下的光学衍射极限基本吻合。

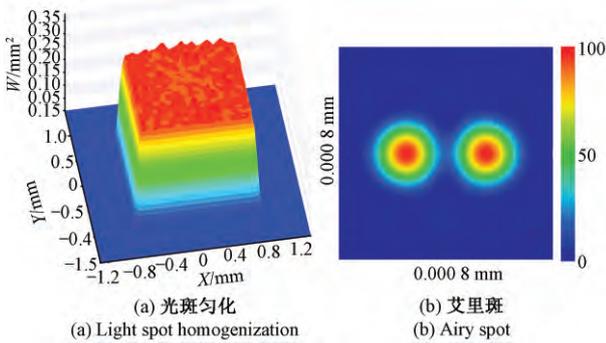


图 4 匀化系统及光学分辨率仿真结果

Fig. 4 Simulation results of homogenization system and optical resolution system

2 实验及分析

2.1 实验系统

实验系统示意图如图 5 所示。采用固体激光器 (349 nm, 单脉冲 120 μJ , 1 000 Hz, Spectra-Physics) 作为光源。首先,采用开普勒扩束法将激光扩束后送入微透

镜阵列,进行光斑匀化,匀化成直径为 5 mm 的激光光斑。使用全内反射 (total internal reflection, TIR) 棱镜来补偿 DMD 微镜的 12° 旋转角,并将 DMD 旋转到 45° 以确保 DMD 反射的光平行于后续的光轴。然后,通过计算机控制 DMD 上的数字微镜阵列,使其产生期望的多二维图案。按照双远心光学设计,设计 DMD 输出到物镜之间的中继透镜组。DMD 输出的激光光斑经管镜组、二向色镜到达紫外物镜 (CFI S Fluor 20x),并聚焦在样品上。相机用于对系统进行成像采集。

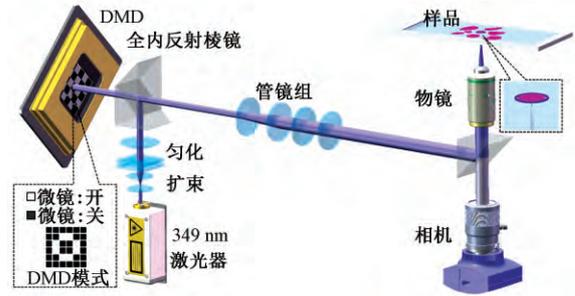


图 5 实验系统示意图

Fig. 5 Schematic diagram of the experimental system

2.2 消衍射实验

DMD 是周期性间隔的 2D 阵列,它与相干光一起使用时,必须考虑衍射的影响。根据 1.1 小节对衍射模型和特性的分析,我们可以发现二维衍射光栅具有以下的特性:衍射第 0 阶的位置仅取决于入射角,并随着入射角的变化而移动,而其他阶次与映射空间中的第 0 阶间距固定。间距和投影屏幕到 DMD 的距离 L 、波长 λ 、光栅间距 d 有关。基于该特性,我们直接利用双远心光路上的中继透镜来消除系统衍射。首先将平行于主光轴的光照射到双凹透镜上,激光光斑和衍射级间的间距被同时放大,然后仅保留零级衍射光斑进入后续的光路,后续的透镜再将零级光斑压缩。这样的光学设计,使得衍射的消除比针孔滤波法更具有普适性。实验效果如图 6 所示。图 6(a) 是 DMD 投影圆形图案时输出衍射图像的下半部分图像,图 6(b) 是经双凹透镜扩大后的衍射图像,图 6(c) 是被保留的进入物镜的激光光斑图像,即仅保留零级衍射进入物镜。实现了衍射的完全消除。

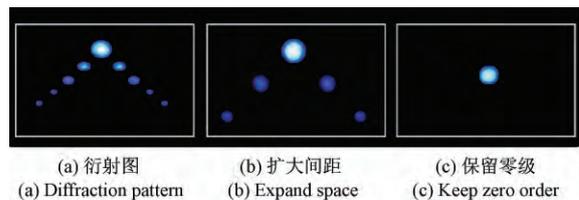


图 6 消除衍射实验结果

Fig. 6 Experimental results of eliminating diffraction phenomenon

2.3 激光显微切割实验

激光显微切割需要将生物组织材料的组织学切片结合到生化惰性的特定膜片上。作为热塑性饱和聚酯的一员——聚对苯二甲酸乙二酯 (polyethylene terephthalate, PET) 薄膜, 具有透明性好, 机械性能优良、良好的耐化学药品性、热稳定性高等优点。在激光

显微切割领域广泛用作生物组织的承载薄膜^[5], 激光通常作用于显微镜载玻片上的目标组织与薄膜, 然后将二者一起分离。为验证快速并行切割方法的可行性, 首先对 PET 薄膜进行并行切割实验, 该薄膜理论厚度为 $1.4 \mu\text{m}$ 。切割的聚酯薄膜实验结果如图 7(a)、(b) 所示。

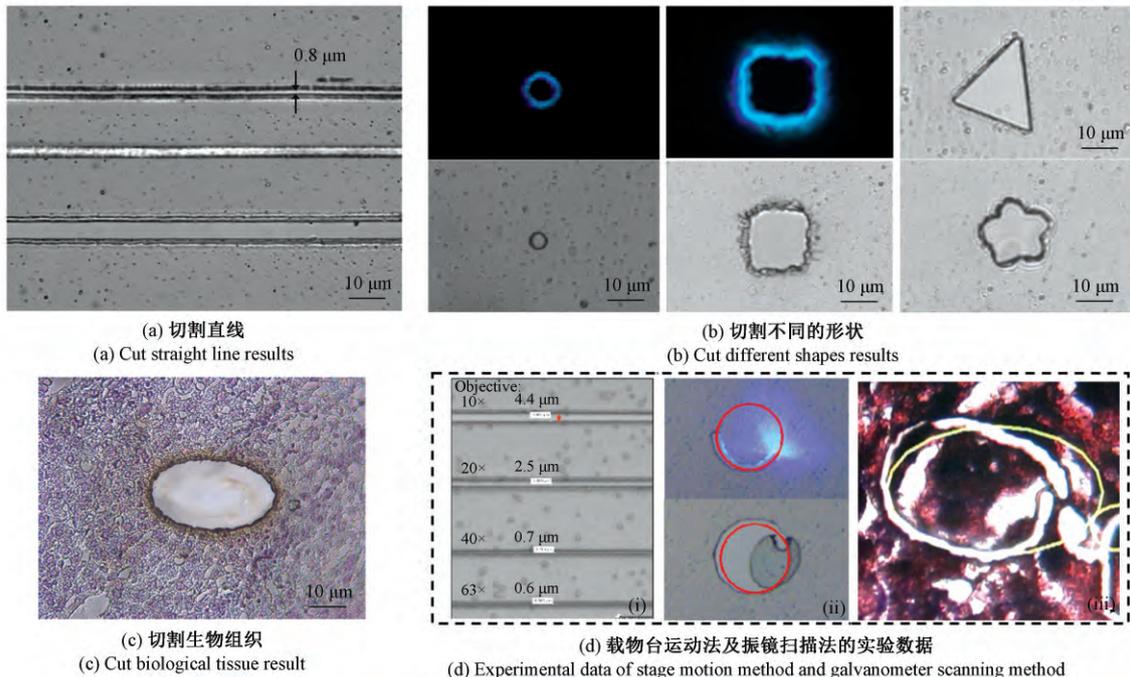


图 7 快速并行激光显微切割实验结果及比较实验数据

Fig. 7 Experimental results and comparative experimental data of fast parallel laser microdissection

如图 7(a), 设计由不同像素数组成的 DMD 直线图形对 PET 薄膜进行切割。随着 DMD 像素个数由 35、15 降至 6, 切割后的特征线宽从 $4.7 \mu\text{m}$ 、 $2.1 \mu\text{m}$ 减少到 $0.8 \mu\text{m}$, 达到亚微米尺度, 同时切割结果与精缩理论值基本一致。通过计算机调控 DMD 上数百万个微镜阵列的翻转角度, 可以快速形成各种图形的投影模式。图 7(b) 展示了空心的圆环、矩形、三角形、五角星形二维面投影方式下, 对 PET 薄膜的切割结果。每个图案是一次曝光, 即将 DMD 调制的聚焦激光束面投影到样品, 像一个光学印记一样实现对样品一次成型的切割。实验结果表明, 受到聚合物材料特性、功率密度及切割时间的影响, 部分切割边缘有熔融现象, 其余部分均具有平坦的表面。不同形状的切割结果图形准确, 满足设计值。该并行切割方法具有不同直线、曲线的切割能力, 可以很好的匹配不同的切割曲线要求。切割边缘的一致性较好, 无明显离焦现象, 验证了切割过程的快速性。如图 7(b), 所切割圆环的直径为 $3.7 \mu\text{m}$, 而哺乳动物单细胞的直径大于 $10 \mu\text{m}$, 验证了该方法的精度达到切割亚细胞尺度的需求。

生物组织的样品制作需要经过固定、脱水、包埋、切片、粘片、贴片、染色、盖片等多个过程。通过调控 DMD 产生椭圆形的形状, 提高激光能量, 对厚度接近 $4 \mu\text{m}$ 的生物组织切片, 进行并行激光显微切割, 实验结果如图 7(c) 所示。实验结果表明, 该系统具备对生物组织的切割能力。通过一次成型的并行切割方式, 切割曲线自然闭合, 无需设计复杂的算法对载物台或者振镜进行控制, 具有实现方法简单, 切割效率高, 切割精度高的特点。

为进一步研究并行激光显微切割方法的优势, 与单焦点激光显微切割方法进行实验比较。传统的聚焦激光光斑为单焦点, 然后与样品相对运动形成加工轨迹的实验结果如图 7(d) 所示。图 7(d) 中 (i) 图是文献 [23] 针对 PALM 激光显微切割系统, 采用载物台运动方式, 在不同物镜下切割直线的常规结果。虽然文献中未提及物镜的数值孔径, 以及系统所能达到的最优线宽, 但并行激光显微切割的实验结果依然明显具有灵活控制线宽、可以达到亚微米切割精度的优势。图 7(d) 中 (ii) 图是在

LMD 7 激光显微切割系统上利用振镜的扫描方式,光斑沿着所设计的轨迹进行运动,实现圆形闭环轨迹切割的实验结果,系统需要逐点切割,且对控制算法的要求较高,对于切割面积小、圆形度要求高的场合将增加控制难度,还可能引起切不断,样品未脱落的现象。图 7(d)中(iii)图是基于载物台的运动进行闭合圆环的切割,出现了切割轨迹未正常闭合,切割组织未脱落,需要重复切割的现象。通过实验数据的对比,证明并行激光显微切割方法能有效克服现有激光显微切割方法的局限性,可以减少重复切割率,提高切割效率和切割精度。

3 结 论

针对传统的采用聚焦激光光斑为单激光焦点与工件相对运动形成加工轨迹的激光显微切割方法,存在难以兼顾高精度加工与高通量加工、切割时可能存在切割线过宽、切割轨迹首尾不闭合的局限性,提出基于 DMD 的无机械运动快速并行激光显微切割方法。首先,通过模型分析、计算仿真及实验验证了一种消除相干光衍射的方法。同时,通过选择 DMD 微镜单元构成匹配目标的环形、矩形等闭合轨迹,结合投影精缩设计,将轨迹缩小在透镜的焦平面上形成强度均匀的二维自由曲线切割轨迹,实现一次成型的快速并行激光显微切割。在 PET 薄膜和生物组织上进行了实验验证,在 20x 物镜下,最小切割线宽达到了亚微米,最小切割圆环直径小于单细胞直径,通过更换更高数值孔径的紫外物镜组,相信可以获得更高的分辨率。DMD 产生的环形闭合激光轨迹也有效解决轨迹首尾分离的问题,通过选择微镜单元的翻转状态可以形成任意的二维自由切割轨迹,这将更容易匹配各种细胞簇的自然边界。目前该系统设计主要用于切割直径小于 50 μm 的样本区域,特别是亚细胞范围的样本区域,对于大面积的宏观切割,依然需要采用高精度载物台来实现大尺度切割轨迹。结合 DMD 产生激光切割线的方式,可以实现大尺度范围二维自由切割的首尾闭合问题。后续,通过对系统的软件及硬件进一步深化,该方法将有望在激光显微切割领域实现低成本、灵活、高精度、高通量的应用,并实现产业化。

参考文献

- [1] 黄彩虹,易定容,金福江,等. 单细胞分离方法及仪器研究进展 [J]. 仪器仪表学报, 2020, 41(5): 140-153.
- [2] HUANG C H, YING D R, JIN F J, et al. Progress on single cell isolation methods and instruments [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2020, 41(5): 140-153.
- [3] ZHANG M J, NTRANOS V, TSE D. Determining sequencing depth in a single-cell RNA-seq experiment [J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 774.
- [4] KUZMIN A N, LEVCHENKO S M, PLISS A, et al. Molecular profiling of single organelles for quantitative analysis of cellular heterogeneity [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 6512.
- [5] ZHANG P, HAN X, YAO J, et al. High-throughput isolation of cell protrusions with single-cell precision for profiling subcellular gene expression [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, 58(39): 13700-13705.
- [6] DATTA S, MALHOTRA L, DICKERSON R, et al. Laser capture microdissection: Big data from small samples [J]. Histology & Histopathology, 2015, 30(11): 1255.
- [7] LIM L H I, YANG D. High-precision XY stage motion control of industrial microscope [J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2018, 66(3): 1984-1992.
- [8] LI Z Z, LI X Y, YU F, et al. Circular cross section waveguides processed by multi-foci-shaped femtosecond pulses [J]. Optics Letters, 2021, 46(3): 520-523.
- [9] LI J, TANG Y, KUANG Z, et al. Multi imaging-based beam shaping for ultrafast laser-material processing using spatial light modulators [J]. Optics and Lasers in Engineering, 2019, 112: 59-67.
- [10] PAN D, XU B, LIU S, et al. Amplitude-phase optimized long depth of focus femtosecond axilens beam for single-exposure fabrication of high-aspect-ratio microstructures [J]. Optics Letters, 2020, 45(9): 2584-2587.
- [11] ZANDRINI T, SHAN O, PARODI V, et al. Multi-foci laser microfabrication of 3D polymeric scaffolds for stem cell expansion in regenerative medicine [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 11761.
- [12] KE J Z, GAO Y Q, LI F. Maskless lithography based on DMD [J]. Key Engineering Materials, 2013, 552: 207-213.
- [13] 陆锦洪,谢向生,张培晴,等. 基于数字微镜器件亚微米制备技术研究 [J]. 光子学报, 2010, 39(4): 600-604.
- [14] LU J H, XIE X SH, ZHANG P Q, et al. Research on submicron fabrication technology based on digital micromirror device [J]. Acta Photonica Sinica, 2010, 39(4): 600-604.
- [15] YU H L, YUAN Y Z, XIAN Z D, et al. Multi-scale structure patterning by digital-mask projective lithography with an alterable projective scaling system [J]. Aip Advances, 2018, 8(6): 065317.
- [16] XIANG Y D, YU X R, LEI G, et al. Microscopic

- lithography with pixelate diffraction of a digital micro-mirror device for micro-lens fabrication. [J]. Applied Optics, 2014, 53(24): 5307-5314.
- [15] LEE M P, COOPER G J T, HINKLEY T, et al. Development of a 3D printer using scanning projection stereolithography [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 9875.
- [16] 余卿, 叶瑞芳, 范伟. 基于数字微镜器件实现共焦测量的结构光参数 [J]. 光学 精密工程, 2015, 23(5): 1272-1278.
YU Q, YE R F, FAN W. Parameters of structured lights of DMD used in confocal measurement [J]. Optics and Precision Engineering, 2015, 23(5): 1272-1278.
- [17] XIONG Z, LIU H, TAN X, et al. Diffraction analysis of digital micromirror device in maskless photolithography system [J]. Journal of Micro/Nanolithography, MEMS, and MOEMS, 2014, 13(4): 043016.
- [18] QING, HAN, JIAN, et al. Diffraction analysis for digital micromirror device scene projectors in the long-wave infrared [J]. Optical Engineering, 2016, 55 (8): 085105.
- [19] 季冬, 宋佳文, 周皓, 等. 基于单片数字微镜器件的三维彩色全息投影技术 [J]. 激光与光电子学进展, 2015, 52(8): 130-136.
JI D, SONG J W, ZHOU H, et al. Three-dimensional color holographic projection system using single digital micromirror device [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2015, 52(8): 130-136.
- [20] 孟晓辰, 祝连庆, 刘超, 等. 基于 ZEMAX 的流式细胞仪光束整形系统研究 [J]. 仪器仪表学报, 2015, 36(7): 1666-1672.
MENG X CH, ZHU L Q, LIU CH, et al. Study on flow cytometry's beam shaping system based on ZEMAX [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2015, 36(7): 1666-1672.
- [21] 雷呈强, 汪岳峰, 殷智勇, 等. 基于微透镜阵列的半导体激光器堆栈匀化系统 [J]. 中国激光, 2015, 42(5): 58-65.
LEI CH Q, WANG Y F, YIN ZH Y, et al. Homogenization system for diode laser stack beams based on microlens array [J]. Chinese Journal of Lasers, 2015, 42(5): 58-65.
- [22] SEUNGJIN H, TAESHIN K, JONGMIN L, et al. Design of square-shaped beam homogenizer for petawatt-class Ti: Sapphire amplifier [J]. Optics Express, 2017, 25(9): 9511-9520.
- [23] BURGEMEISTER R. Laser microdissection from carl zeiss: An alternative method in (live) cell sampling [EB/OL]. (2008) [2021-8-5]. https://www.ecopa.eu/wp-content/uploads/esi_2008_renate-burgemeister.pdf.

作者简介



黄彩虹, 于 2001 年获得福州大学学士学位, 于 2005 年获得福州大学硕士学位, 现为华侨大学讲师、博士研究生, 主要研究方向为智能检测、机器视觉、先进光学仪器研究。

E-mail: nchou@hqu.edu.cn

Huang Caihong received her B. Sc. degree and M. Sc. degree both from Fuzhou University in 2001 and 2005, respectively. She is currently a lecturer and a Ph. D. candidate at Huaqiao University. Her main research interests include intelligent detection, machine vision and advanced optical instruments.



易定容(通信作者), 于 1990 年获得国防科技大学学士学位, 2002 年获得加拿大麦吉尔大学博士学位。现为华侨大学教授, 主要研究方向为宏观 3D 视觉、微观 3D 形貌、多光谱病理检测方法及仪器化研究、先进光学仪器研究。

E-mail: yidr@hqu.edu.cn

Yi Dingrong (Corresponding author) received her B. Sc. degree from National University of Defense Technology in 1990, and received her Ph. D. degree from McGill University in 2002. She is currently a professor at Huaqiao University. Her main research interests include 3D vision, microscopic 3D shape reconstruction, multispectral disease detection and advanced optical Instrument.