·技术进展·

非干涉定量相位成像与光强衍射层析：理论、方法与仪器

束业峰[1,2] 周宁[1,2] 孙佳嵩[1,2] 范瑶[1,2] 韦峰[3,4] 张晓磊[3,4] 左超[1,2,3,4*]

［1.南京理工大学电子工程与光电技术学院，智能计算成像实验室，南京210094；
2.江苏省视觉传感与智能感知重点实验室，南京210094；3.南京理工大学智能计算成像研究院，南京210019；
4.锆石光电（苏州）有限公司，苏州210026］

【摘要】 光学显微镜是推动生命科学持续发展的核心工具。无标记相位成像利用折射率作为内源性对比机制，能够避免荧光标记带来的光毒性与光漂白，正日益成为解析细胞结构与动力学的重要途径。自1932年泽尼克发明相衬显微镜以来，相位成像技术已由二维定性观察迈向三维定量解析，其中数字全息显微和光学衍射层析是两项具有代表性的里程碑方法。然而，这类干涉式技术对高相干光源和复杂干涉光路的依赖，在系统稳定性、成像噪声控制与工程化应用方面存在根本性瓶颈，因而始终未能在生命科学实验室中取代相衬显微镜的普遍地位。近年来，计算光学定量相位成像技术的发展与光强衍射层析技术的兴起，突破了传统干涉测量的固有限制，标志着无标记定量相位成像进入了全新的发展阶段。在此背景下，本团队依托十余年的理论积累与方法创新，将先进的计算成像框架与工程化设计深度融合，率先在国际上研制出新一代基于光强衍射层析的无标记显微成像仪器。该仪器兼具高分辨率、高稳定性与高通量，能够在无标记条件下实现对活细胞结构与动态过程的长期、定量和多尺度观测。本文系统梳理了无标记相位成像的发展脉络，重点总结了本团队在计算光学成像与仪器研发方面的最新进展，并展望其在疾病机理解析、药物筛选、临床诊断以及未来科学仪器体系中的广阔前景。

【关键词】 无标记成像；计算光学显微成像；定量相位成像；光学衍射层析；相位恢复

【中图分类号】 TH74 【文献标识码】 A 【DOI】 10.11876/mimt202504004

Non-interferometric quantitative phase imaging and intensity diffraction tomography: theory, methods, and instruments

Shu Yefeng[1,2], *Zhou Ning*[1,2], *Sun Jiasong*[1,2], *Fan Yao*[1,2], *Wei Feng*[3,4], *Zhang Xiaolei*[3,4], *Zuo Chao*[1,2,3,4*]

［*1.Smart Computational Imaging Laboratory, School of Electronic and Optical Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Visual Sensing & Intelligent Perception, Nanjing 210094, China; 3.Smart Computational Imaging Research Institute, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210019, China; 4.Zircon Optoelectronics (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou 210026, China*］

【Abstract】 Optical microscopes are core tools driving the continuous development of life sciences. Label-free phase imaging, which utilizes refractive index as an endogenous contrast mechanism, avoids phototoxicity and photobleaching caused by fluorescent labeling, and is increasingly becoming a crucial approach for analyzing cellular structures and dynamics. Since Zernike invented the phase-contrast microscope in 1932, phase imaging technology has advanced from two-dimensional qualitative observation to three-dimensional quantitative analysis, with digital holographic microscopy and optical diffraction tomography being two representative milestone methods. However, the reliance of such interferometric techniques on highly coherent light sources and complex interference optical paths leads to fundamental bottlenecks in terms of system stability, imaging noise control,

基金项目：国家自然科学基金（62227818，62361136588，62305162，U21B2033）；国家重点研发计划（2022YFA1205002，2024YFE0101300，2024YFF0505603，2024YFF0505600）；江苏省科技计划生物医药竞争类项目（BE2022847）；江苏省科技计划重点国别产业技术研发合作项目（BZ2022039）；中央高校科研专项资助项目（30923010206）；中央高校基础科研业务费专项资金资助项目（2023102001，2024202002）；等离子体物理全国重点实验室项目（JCKYS2024212804）；江苏省光谱成像与智能感知重点实验室开放基金（JSGP202105，JSGP202201，JSGPCXZNGZ202401）

第一作者：束业峰，男，博士研究生，研究方向：计算光学显微成像

通信作者：左超，男，博士研究生，教授，研究方向：计算光学成像与光信息处理技术

and engineering applications. As a result, they have not yet replaced phase–contrast microscopes in terms of widespread use in life science laboratories. In recent years, the development of computational optical quantitative phase imaging technology and the rise of intensity diffraction tomography have broken through the inherent limitations of traditional interferometry, marking the entry of label–free quantitative phase imaging into a new stage of development. Against this backdrop, relying on more than a decade of theoretical accumulation and methodological innovation, our team has deeply integrated advanced computational imaging frameworks with engineering design, and taken the lead in developing a new generation of label–free microscopic imaging instruments based on intensity diffraction tomography internationally. This instrument combines high resolution, high stability, and high throughput, enabling long–term, quantitative, and multi–scale observation of living cell structures and dynamic processes under label–free conditions. This paper systematically reviews the development history of label–free phase imaging, focuses on summarizing the latest progress of our team in computational optical imaging and instrument development, and looks forward to its broad prospects in disease mechanism analysis, drug screening, clinical diagnosis, and the future scientific instrument system.

【Key words】 Label–free imaging; Computational optical microscopy; Quantitative phase imaging; Optical diffraction tomography; Phase retrieval

自 17世纪列文虎克发明单透镜显微镜以来，光学显微技术历经数次革新，以分辨率与成像质量的指数级提升推动人类对微观世界的认知边界持续拓展。在生命科学研究中，光学显微技术已成为解析亚细胞结构、追踪生命动态过程的核心工具。20世纪发展的荧光显微镜[1]、激光共聚焦显微镜[2–3]与双光子荧光显微镜[4]，通过光学切片与深层组织穿透能力，实现了活细胞三维动态观测；光片显微镜[5–6]则通过正交照明模式进一步降低了对样品的光损伤，为胚胎发育等长时程观测提供可能。值得注意的是，2006年前后兴起的超分辨成像技术[7–10]绕开了阿贝衍射极限的理论禁锢。受激发射损耗显微镜（stimulated emission depletion microscopy, STED）[11]、光敏定位显微镜（photoactivated localization microscopy, PALM）[12]与随机光学重建显微镜（stochastic optical reconstruction microscopy, STORM）[13]等技术，通过荧光分子定位或非线性光学调控，将空间分辨率推进至纳米量级（<50 nm）。

细胞作为生命活动的基本单元，其内部三维结构解析是生物医学研究的核心命题之一。然而，传统明场显微技术因生物细胞在可见光波段的弱吸收特性，难以直接获取高对比度图像。现有解决方案主要依赖化学染色或荧光标记，即通过特异性结合染料与细胞组分或细胞器，利用光强差异或荧光信号实现成像。尽管荧光显微技术已实现从二维宽场到三维超分辨的跨越[14]，但仍然存在许多固有局限：荧光染色需经历多步操作进行前期准备，且标记物可能干扰细胞代谢与信号传导[15]；激发光诱导的光漂白与光毒性，导致长时程动态观测难以实现，而荧光基团的光稳定性差异进一步限制了成像时间窗口[16]；对于小分子代谢物、脂类等缺乏特异性标记位点的组分，荧光标记仅能反映部分生物分子分布，无法呈现细胞整体的物质分布图谱。

为了弥补传统荧光标记的固有局限，无标记相位成像作为另一种更加便捷且无光毒性、光漂白的显微技术应运而生。折射率作为一种物质固有属性，可作为内源性染料反映细胞的组分分布[17–18]。生物细胞的折射率分布（1.33 ~ 1.58）与其组分浓度具有严格的定量关系，如细胞质的折射率一般在1.35 ~ 1.37，细胞核为1.39。当照明光透过细胞时，其内部的折射率分布能够改变入射光场的波前相位变化，而通过将透射光的相位变化转化为光学图像，则可以实现对透明样品的可视化与分析。1932年泽尼克发明的相衬显微镜作为最具代表性的相位成像技术，得到了生物学家们的广泛青睐，于1953年获得了诺贝尔物理学奖并被作为显微镜的标配技术沿用至今[19]。然而，尽管这项技术足够便捷，长久以来却仅能实现对细胞二维的定性观察。通过对光场相位信息的定量测量与细胞结构的三维解析，定量相位成像[20–23]与光学衍射层析[24–27]技术为下一代无标记显微成像技术的发展指明了方向。作为定量相位成像技术的代表，数字全息显微镜通过对透过样品的物光进行干涉调制与算法解调，能够实现对光场相位信息的定量获取，从而真实地刻画出以折射率累计量分布为物理基础的细胞轮廓信息。进而，数字全息显微镜可以与计算机断层扫描（computational tomography, CT）的思想相结合，实

现光学衍射层析成像，揭示各种细胞器在细胞内部的空间分布情况。其通过改变对样品的光照角度，使物光携带关于样品的不同三维空间频率信息，再通过对每个角度下复振幅进行重建，利用光学衍射层析定理实现三维折射率重建。时至今日，尽管科研工作者已经针对定量相位成像仪器的研发开展了大量基础性研究与工程化尝试，但是该类技术仍然远没有达到和取代相衬显微镜在生物实验室中的地位。究其原因，在于目前相位信息的定量获取依赖于干涉测量原理，成像光路的实现离不开复杂的干涉光路与高相干性激光光源。受此影响，无论是成像信噪比还是抗干扰能力，均难以满足稳定仪器化实现的技术要求，也因此未能实现广泛接受与应用[28-29]。

为克服干涉测量的固有局限，从光强直接恢复相位为实现高信噪比、高稳定性、低系统复杂度的定量相位与衍射层析成像开辟了另一条途径。对相位恢复问题的研究可追溯至1972年，Gerchberg与Saxton提出了电子显微成像的Gerchberg–Saxton（GS）算法[30]，其基本原理是若已知待测光波场在像平面与远场衍射平面的光强分布，则可通过衍射计算迭代求解光场波前相位。基于“以光强为约束，迭代恢复相位”的思想，Fienup于1978年提出叠层成像（ptychography）技术[31]，其通过扫描获取样品不同孔径区域的远场衍射图，并基于GS迭代算法利用光场数值传播在物平面与相机平面间建立映射，结合全部衍射数据逐步迭代更新各子孔径区域的复振幅，从而实现相位重建。该技术最初为解决电子束、X射线及极紫外成像系统中缺乏成像透镜的问题而提出，现已在上述领域得到广泛应用[32-34]。光强传输方程（transport of intensity equation, TIE）是另一类非迭代的非干涉相位恢复方法，由Teague于1983年在傍轴近似下从亥姆霍兹方程推导得到[35]，其在已知光强轴向微分及光强分布的情况下，可通过数值求解直接获取相位信息；1984年，该技术在显微成像中的应用可能性首次被探讨[36]。10余年来，相位恢复技术在光学显微镜上的应用再次成为研究热点，为实现与发展非干涉定量相位成像奠定了技术基础。除了光强传输方程外，傅里叶叠层成像（Fourier ptychographic microscopy, FPM）[37-38]与差分相衬成像（differentiable phase contrast, DPC）[39-40]是另外两种典型的非干涉定量相位成像技术。这两项技术仅需将原有的显微光源替换为可编程发光二极管（light emitting diode, LED）阵列即可完成系统搭建，有效地提升了成像稳定性并抑制了散斑噪声，并通过相干或部分相干的照明模式扫描高效地完成非干涉合成孔径，实现分辨率与成像通量的提升。通过与光学衍射层析理论的结合，该类技术还可被拓展以实现三维折射率层析成像。此外，非干涉相位恢复技术还为光学显微镜带来了更多性能与维度的提升，包括对成像系统参数误差的校正[41-44]与抗干扰[45-46]、光学像差的自适应恢复与补偿[47-48]、成像景深扩展[49-50]、抗散射层析成像[51-52]等。种种迹象表明，非干涉相位恢复技术有望突破干涉测量的诸多限制，推动定量相位成像与光学衍射层析成为继泽尼克相衬显微镜之后的下一代无标记显微成像技术，为其推广与通用化提供有力支撑。

本文总结了无标记相位成像技术自泽尼克相衬成像问世以来至今的发展趋势，重点综述了本团队10余年来在计算光学相位成像领域开展的系列工作。基于这些研究基础，本团队研发了基于非干涉定量相位与衍射层析成像的新一代无标记活细胞成像仪器，本文详细介绍了该工程化成果的基本原理、硬件结构和生物实验结果。最后，文章对无标记三维衍射层析技术与仪器的未来发展进行了总结与展望，并归纳了仪器研发中亟待解决的科学问题。

1 无标记相位成像技术发展趋势

1.1 定性相衬成像：从不可见到可见

泽尼克于1932年发明相衬显微镜的初衷是提升透明物体在显微镜下的成像衬度（图1A）[19]。当光穿过细胞等透明物体时，其振幅几乎不发生改变，而人眼和相机仅对光强信息敏感，因此传统明场显微镜难以对细胞尤其是细胞内部细微结构进行高清晰度的直接观测。尽管透明样品无法显著改变光的振幅，却能通过其折射率分布调制透射光的相位波前，从而反映细胞的形态特征。泽尼克发明的相衬显微镜首次通过将光场相位信息转化为高

对比度的光强变化，实现了透明细胞的无标记直接观测。该技术通过频谱面的空间滤波与相移操作，改变物光中直透光与衍射光的相位差，使相移后的直透光与衍射光在像平面发生干涉，从而在光强分布中产生相位衬度。在显微镜中实现相衬成像时，只需在物镜频谱面安装环形相板以调制光场直透分量，并配合环形照明光路，即可便捷地将其集成为显微镜的标配成像模态（图 1B）。这种物镜集成式设计使得以相衬[53]、微分干涉相差[54]为代表的无标记成像技术成为生物显微镜的标准配置，作为荧光显微成像的重要补充，提供细胞整体的轮廓与形貌信息（图 1C、图 1D、图 1E）。

然而，相衬显微技术的成像强度与相位分布之间缺乏线性对应关系，这一固有特性使其仅能实现定性对比度增强，而无法对样品物理厚度与折射率系数所决定的相位信息进行量化解析，为细胞定量测量带来显著挑战。此外，相衬成像伴随的“光晕”与“阴影”伪影会显著增加后续图像分析的复杂度[55]，如细胞计数、细胞分割等关键处理流程均受其影响。尽管相衬显微技术在活细胞成像中已广泛应用，但其仍局限于二维定性观测，无法提供细胞干质量、三维高度等关键定量参数。相较于荧光显微技术 10 年在三维层析、超分辨成像领域的突破性进展及商业化仪器的普及，作为当前主流的无标记成像技术，相衬显微技术的发展已明显滞后。为满足生物医学研究对多维度、定量化成像的迫切需求，研发更为先进的定量相位与衍射层析显微仪器已成为领域内重要的发展方向。

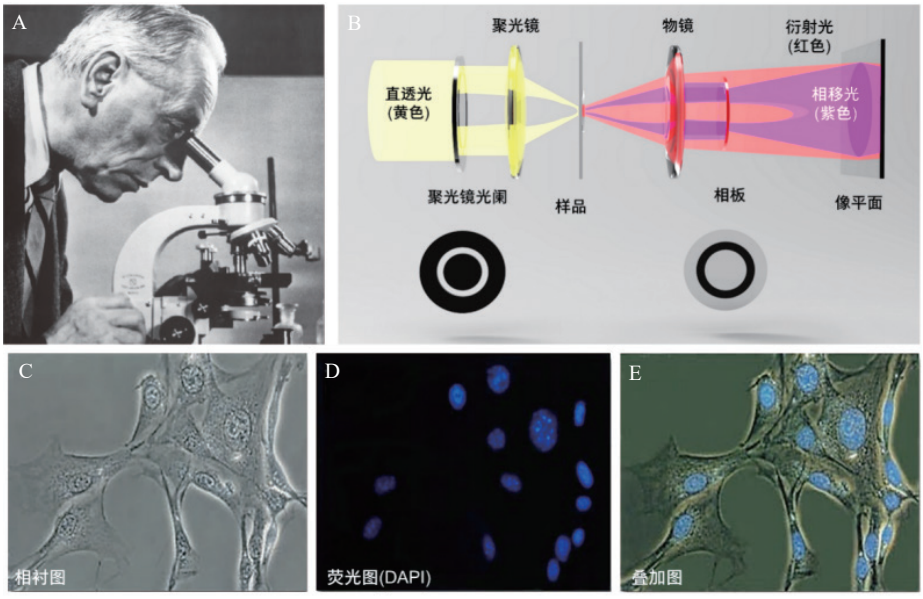


图 1 相衬显微镜原理 A 为泽尼克与其发明的相衬显微镜照片[56]；B 为相衬显微镜光路图；C 为 NIH3T3 细胞的相衬图像；D 为 DAPI 标记的 NIH3T3 细胞核的荧光图像；E 为 NIH3T3 细胞相衬图像与荧光图像二者的叠加[57]

1.2 数字全息术与衍射层析：从二维定性到三维定量

数字全息显微镜[58]作为继相衬显微镜之后的第 2 代无标记显微成像方法，能够测量出由样品引起的光场相位变化，实现更加准确表征细胞结构的定量相位成像，从而弥补了相衬显微镜缺乏定量性的缺陷。数字全息显微镜对光场信息的定量记录能力，最早可以追溯到伽柏的全息摄影术[59]。全息摄影通过额外引入参考光，与物光在全息干板上进行干涉从而形成全息图，全息图作为信息记录的媒介能够完整记录下物光光场的波前信息。当光再次照射上全息干板时由于全息图发生衍射，原先被记录下的物光得到再现并还原出物体的三维形貌。二十世纪八九十年代，计算机技术与电荷耦合器件探测器的发展使数字全息与数字全息显微镜得以实现。马赫–泽德干涉仪（Mach–Zehnder interferometer）作为透射式数字全息显微镜最常见的实现光路[24]，将一束激光通过分光棱镜平均分为两路，使其中一路光穿过样品，而另一路光作为参考光在相同的光程下与物光在像平面发生干涉，形成干涉图案并被相机记录下来。为了实现对干涉条

纹的解调与相位重建，通常需要两路光到达成像平面时具有一定夹角使条纹图频谱中的正负一级谱与零级谱分开，即离轴数字全息术（图2A）[60-62]。所拍摄的全息图可通过傅里叶变换和滤波提取样品的复振幅信息，并配合相位解包裹和去像差算法实现定量相位重建（图2B）[63]。

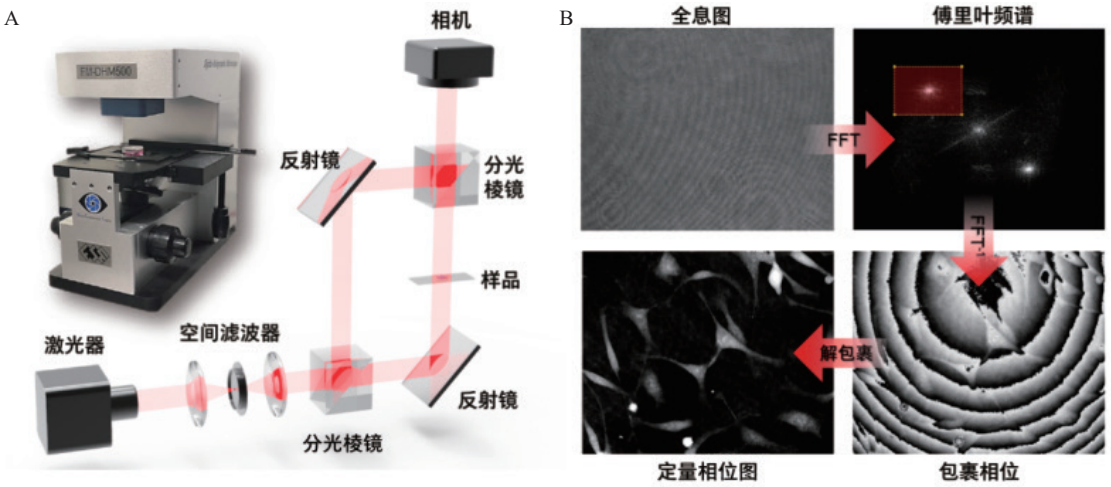


图2 数字全息显微镜原理A为基于马赫－泽德结构的离轴数字全息显微镜光路；B为数字记录与数字重建基本原理

值得注意的是，数字全息显微镜获取的相位信息虽然是定量的，但是仅能反映样品的二维轮廓信息，实质上是其折射率沿光轴方向的积分而并非真实的三维折射率分布。通过与CT技术相结合，数字全息术能够进一步从二维相位测量技术升级为三维折射率成像方法[24-26]。这项技术基于光学衍射层析理论并且以数字全息作为复振幅测量的方式，因此被称为数字全息衍射层析，可以被视为数字全息显微镜之后的第3代无标记成像技术。在数字全息衍射层析成像中，物光光路的照明光需要从不同的角度穿过样品以获取其对应空间频率范围内的信息，而这通常需要检流式扫描振镜[24]、数字微镜器件[64-65]和空间光调制器[66]作为照明角度调控器件被加入到成像光路中，分别通过机械旋转和投影图案对照明角度进行控制（图3）。此外，对样品本身进行旋转可以等效地实现角度扫描的信息获取[67-69]，并且相比照明角度扫描可以获取更大的角度扫描范围以实现更好的三维重建频谱覆盖和低频恢复，但是需要光镊等复杂器件操控样品，并且无法作用于贴壁生长的细胞。基于傅里叶衍射层析定理[26]，每个照明角度下从样品出射的散射场复振幅在三维频域空间内对应一个埃瓦德球壳，因此对散射光场的复振幅信息进行恢复并与频域拼接合成即可实现基于可见光的显微层析成像。衍射层析成像可以定量获得细胞内各组分的空间折射率分布，这对于细胞显微观察、结构信息的提取以及动力学行为研究具有重要意义[70]。

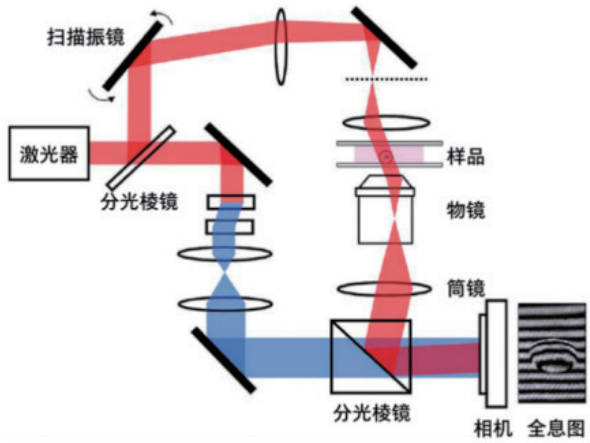


图3 基于离轴数字全息和振镜扫描的数字全息衍射层析显微镜光路[24]

然而，数字全息显微镜和数字全息衍射层析技术的发展并没有成功继承无标记相衬显微镜在生命科学界的地位，带来预计的革命性成果与技术变革，究其原因是基于干涉的相位测量方法所固有的技术瓶颈。首先，数字全息显微镜依赖高相干性的激光光源，而激光成像所伴生的散斑噪声会使得细胞中一些细微结构产生的微小相位变化被淹没，从而严重限制了显微成像的灵敏度与分辨率。其次，干涉测量需要额外搭建参考光光路，提高了系统复杂度并且降低了其稳定性，使成像过程极易受到环

境扰动的影响，极其依赖专业的光学隔震平台。研究者们采用了不同策略来克服全息衍射层析成像所遇到的问题[67]。其中最直接的做法是采用更低时间相干性的光源进行干涉测量[66]，这样可以有效地平均掉成像系统中杂散光反射和干涉形成的条纹伪影和散斑噪声。但是由于相干长度的降低，造成在一定视场范围下形成的对比度达标的干涉条纹需要干涉光路中更加严格的光程差匹配，这就将难度转嫁到了系统搭建与稳定性维持上，因此并不能全面地提升全息衍射层析成像性能。另一类做法是构建共路的干涉测量光路。例如，用衍射光栅将物光的零级分量在频谱面上分离并进行空间滤波，以离轴的方式与其余衍射光进行干涉并测量出其相位[71-73]（图 4A）。此外，还可以通过剪切干涉的方式实现干涉测量[74-75]（图 4B）。由于发生干涉的光束是共路传播的，因此较短的光程差允许共路干涉光路使用宽谱甚至白光光源进行成像，能够避免相干光源散斑噪声的影响[76-77]。共路干涉的结构相比于双光束干涉能实现更好的稳定性。但是这种做法从原理上来看仍然基于干涉测量的思想，需要在光路中加入衍射光栅和空间光调制器等需要准确校准的光学器件，从系统构建的便捷程度和稳定性的角度考虑仍然有较大的提升空间。

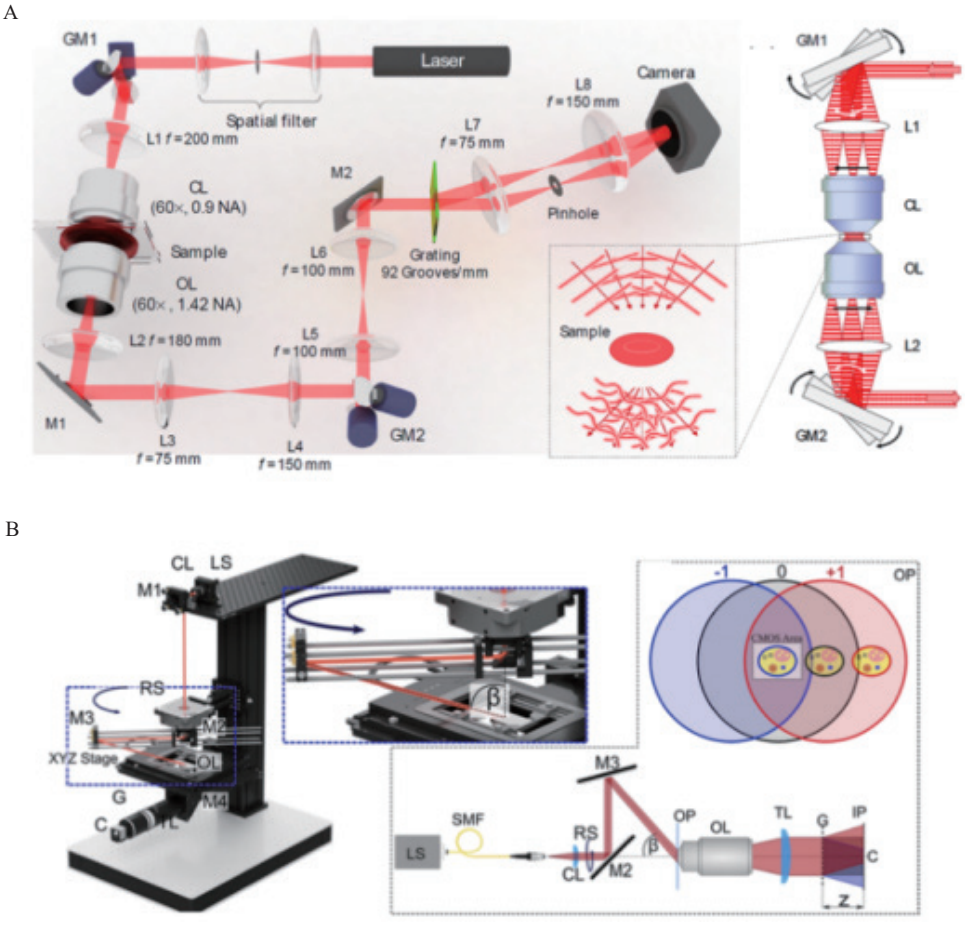


图 4 基于共路干涉的数字全息衍射层析显微镜 A 为频谱滤波式共路干涉衍射层析[73]；B 为剪切干涉式共路干涉衍射层析[74]

1.3 相位恢复与光强衍射层析：从干涉相干成像到非干涉部分相干成像

数字全息术是相位测量的直接手段，但干涉条纹并非唯一将相位信息编码于光强的调制方式。日常生活中，相位变化映射于光强的现象普遍存在，如夜空中星光的闪烁、雨天车窗玻璃造成的视野扭曲、晴天泳池底部的明暗干涉纹路，这些常见的光学现象表明，干涉测量并非定量相位成像唯一的实现路径。通过精确建立相位到光强衬度的正向模型并设计合理的反演算法，可在无干涉装置的条

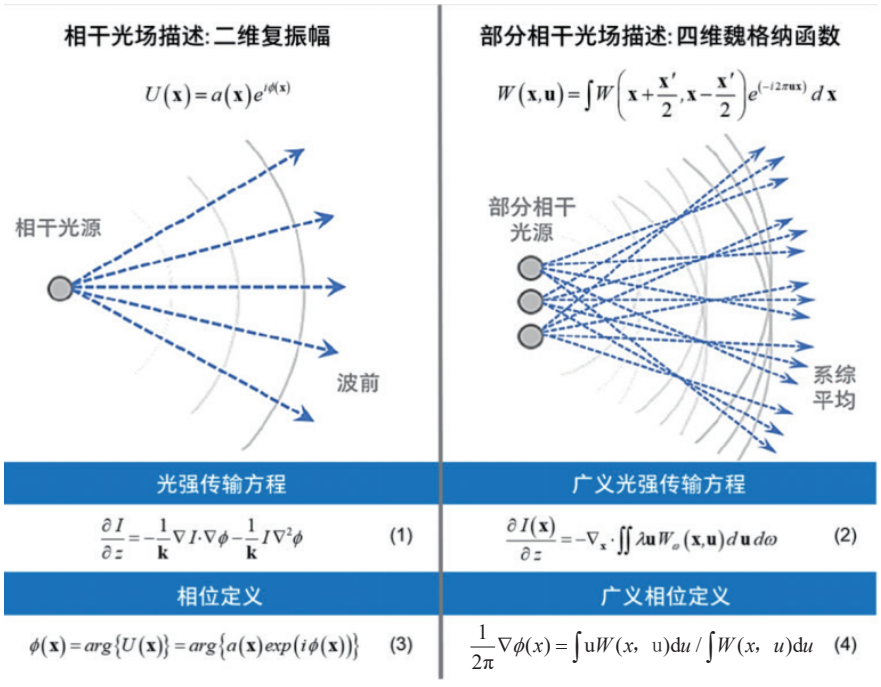
件下实现相位信息的定量重建，这类技术被称为相位恢复[78-84]。

如前所述，经典相位恢复算法分为迭代法（如GS迭代[85]）与直接法（如光强传输方程[86-87]）两大类。这类算法通常假设照明光为单色相干光，此时传统标量衍射理论可有效描述光场在自由空间的传输及任意平面的复振幅分布。然而，对于具有随机涨落的部分相干光场，其分布无法通过二维复振幅函数完整描述，且缺乏明确适定的相位定义，导致经典相位恢复理论难以直接迁移至部分相干场景。部分相干照明可为光学显微镜带来成像分辨率、光通量等多方面增益，但该领域理论的不完善导致相干性难以被精准纳入正向成像模型并进行优化设计，限制了非干涉相位成像精度与性能的进一步提升。以解决上述难题为起点，本团队10余年来在国际上率先开展计算光学相位成像系列研究，围绕部分相干光场下相位广义定义[88]、相位传递函数（phase transfer function, PTF）[87-89]、空间带宽积（space-bandwidth product, SBP）提升[90-92]以及光强衍射层析[93-94]等理论与技术开展攻关，形成了非干涉定量相位与衍射层析成像创新理论与方法，为第4代无标记显微成像技术与仪器研发开辟了道路。

1.3.1 部分相干光强传输与广义相位定义

基于相空间光学理论，本团队建立了部分相干光场下的广义光强传输方程，给出了部分相干光场广义相位的严格定义。传统的光强传输方程如图5中式（1）所示，在相干情况下，光强 I 沿 z 轴的微分可以被表示为与相位 ϕ 的梯度与曲率相关的两项之和，其中 $\mathbf{k}$ 是波矢常数。然而在部分相干的光场则需要四维的魏格纳函数 $W_\omega(\mathbf{x},\mathbf{u})$ 对其传播与衍射特性进行描述[95]。此时，部分相干光强的轴向微分可以通过魏格纳分布函数在空、频域的积分进行表述，如图5中式（2）所示，而相位的定义也不再是相干光场复振幅的幅角，如图5中式（3）所示，而是通过将其梯度表示为魏格纳分布函数的一阶条件空间频率矩进行广义定义，如图5中式（4）所示，从而将光强传输方程的适定性从完全相干光波场拓展到了任意相干态的光波场[88]。基于无界空间中的坡印廷定理，在非齐次Neumann边界条件下方程解的存在性和唯一性得到证明[96]，克服了长期以来光强传输方程难以获得精确解的理论难题[97]，为定量相位成像从干涉走向非干涉，实现部分相干照明下的准确相位恢复奠定了理论基础。

1.3.2 相位传递函数与非相干衍射极限



注：相干光场可通过复振幅直接表示，部分相干光场需要通过四维魏格纳函数进行定义；式（1）为相干光场下光强传输方程；式（2）为部分相干光场下广义光强传输方程；式（3）为相干光场下相位定义，为复振幅幅角；式（4）为部分相干光场下广义相位定义，为魏格纳分布函数 $W(\mathbf{x},\mathbf{u})$ 的一阶条件空间频率矩。

图5 相干光场与部分相干光场[87]

用部分相干照明进行定量相位成像的核心优势在于不同方向照明波矢自带的合成孔径效应所引起的成像分辨率提升[98]。然而，经典傅里叶光学通过光学传递函数理论仅对相干与非相干成像两种情况展开讨论[99]，缺乏对处于中间态的部分相干成像的建模，对于具有复透过率物体的相位分量在光强中产生的响应也缺乏对应描述。尽管非相干成像分辨率能够被提升至相干衍射极限的2倍，但由于此时成像系统退化为光强的线性空不变系统，无法被用于相位成像。针对上述问题，本团队发展了部分相干光学传递函数理论[87]，揭示了弱物体近似下相位传递函数作为光学传递函数的虚部所到达的成像分辨率与相位衬度在传统照明方式下相互制约的关系：非相干照明能达到2倍于相干衍射极限的分辨率，但无法实现相位的有效传递（图6A）；相干照明下可获取相位衬度但分辨率受限（图6B）[89]。基于此，我们通过使用环形照明孔径保证了相位传递函数幅值与截止频率同时达到最优（图6C），将光强传输定量相位成像的分辨率从传统理论方法下的相干衍射极限拓展到了非相干衍射极限[89,100]。

1.3.3 叠层重建与空间带宽积延拓

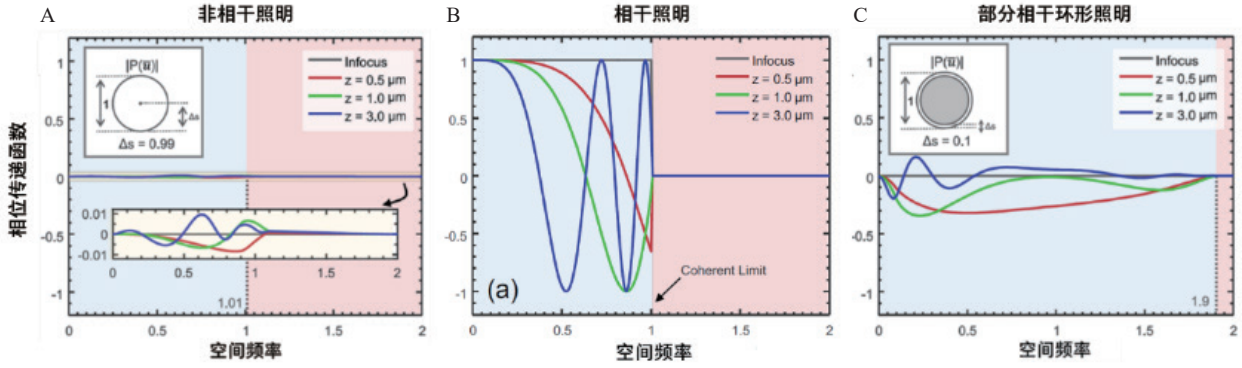


图6 不同相干态下的光强传输相位传递函数[89] A为非相干照明；B为相干照明；C为部分相干环形照明

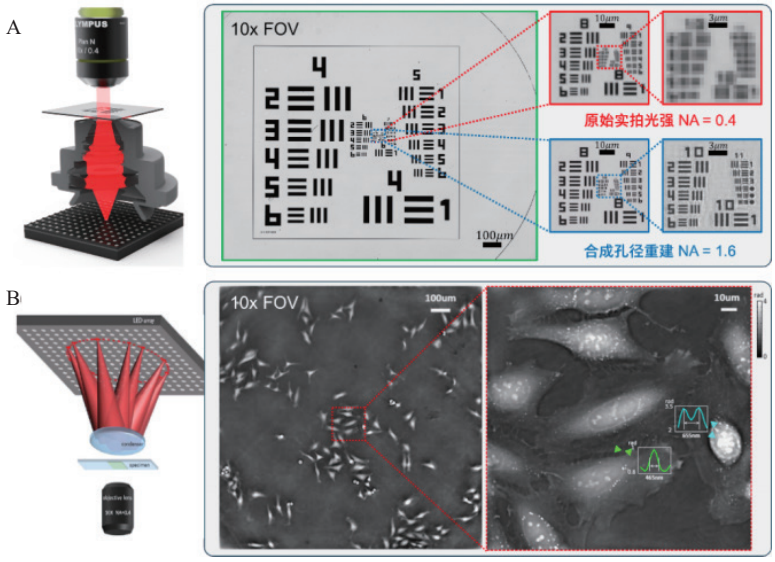
从光学传递函数的角度来看，光场在空间中的传播会导致成像系统传函产生虚部分量，这解释了光强传输定量相位成像中衬度的来源。非对称照明则是另一种通过打破系统径向对称性产生复数分布光学传递函数的调制方式，所对应的技术包括差分相衬[39]与傅里叶叠层成像[37]。基于倾斜照明所带来的分辨率增益[90,92]，我们构建了基于高数值孔径可编程聚光镜的傅里叶叠层显微系统，利用油浸聚光镜提供的大角度照明扫描，在10倍物镜的大视场下实现了等效数值孔径1.6的超分辨、高通量定量相位成像（图7A）[90]。此外，通过对非对称照明下系统相位传递函数的严格推导，我们揭示了物镜匹配照明是实现准确定量相位恢复的先决条件，这种照明方式可以实现明场范围内最高效的频谱覆盖与分辨率提升，基于此可以通过环形照明实现高速傅里叶叠层定量相位成像（图7B）[91]。利用环形照明下所采集光强信息的冗余性，我们进而可以对样品相位与系统像差进行同时表征，实现了长时程下抗环境干扰的高通量定量相位成像[47]。

1.3.4 从非干涉定量相位成像到光强衍射层析

光强传输方程与傅里叶叠层成像支撑了非干涉定量相位显微镜的研发，却未能直接实现三维折射率层析。事实上，这两种技术所采集的原始光强本身包含了对厚样品的三维信息。对于光强传输方程，可转而通过对样品进行更加密集的逐层轴向扫描，将二维面传输拓展为三维体传输，实现对样品的三维体信息扫描。傅里叶叠层成像所采用的照明扫描与全息衍射层析相比，只是缺少了参考光路实现对散射光场的直接干涉测量，而每个照明角度下的光强图均包含了所对应三维频谱空间中埃瓦德球壳上的频率信息。在这样的想法下，本团队延续了相位恢复的思想，继续将先前的非干涉定量相位成像技术升级为光强传输衍射层析（transport of intensity diffraction tomography, TIDT）[93]与傅里叶叠层衍射层析（Fourier ptychographic diffraction tomography, FPDT）（图8）[94]。区别于依赖干涉测量的全息衍射层析技术，本团队所提出的非干涉无标记三维显微成像技术，摒弃了“先相位测量，再

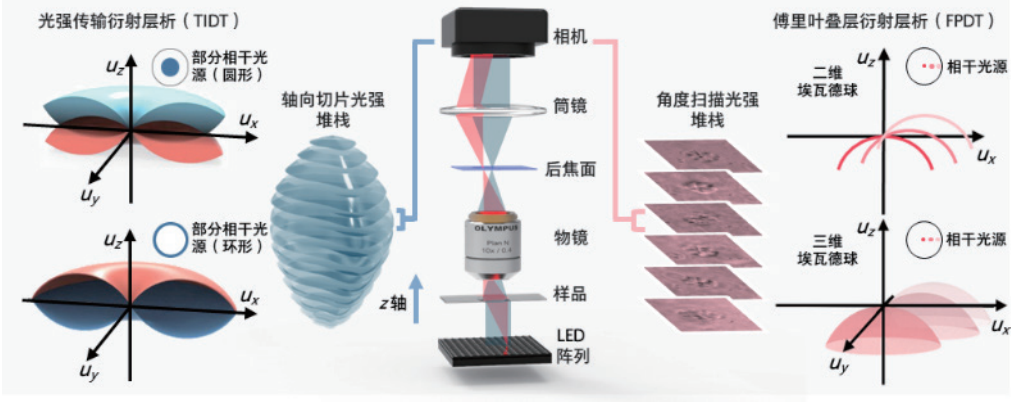
三维重建”的做法，转而直接从光强中恢复出三维折射率分布，因而我们将这类技术统称为光强衍射层析（intensity diffraction tomography, IDT）。

在一阶波恩近似下，显微镜对厚样品的轴向



注：USAF为美国空军（United States Air Force）。

图7 傅里叶叠层成像实验结果A为基于高数值孔径可编程聚光镜的计算显微成像技术对USAF分辨率测试板的大视场高分辨成像结果（合成数值孔径1.6）[90]；B为基于环形照明的高速傅里叶叠层成像技术对未染色HeLa细胞的动态定量相位成像结果（合成数值孔径0.8）[91]



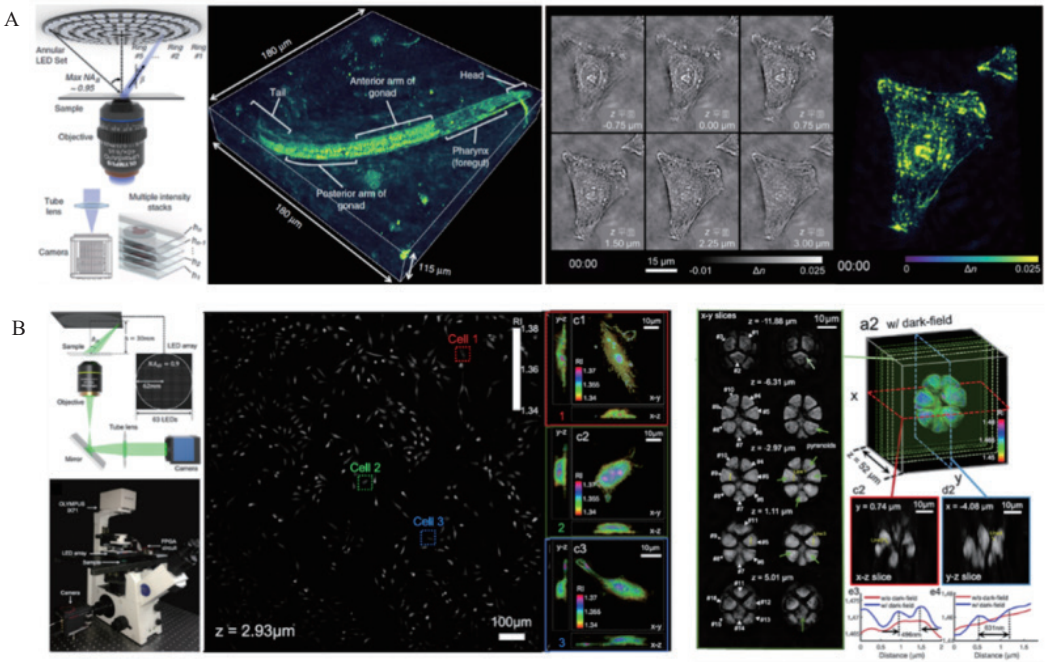
注：TIDT为光强传输衍射层析；FPDT为傅里叶叠层衍射层析。

图8 TIDT与FPDT原始图像采集[98]

扫描成像过程可以通过三维传递函数实现精确表征[87]，并基于此通过一步反卷积对折射率分布进行反向重建，从而实现TIDT成像。我们延续了部分相干的照明方式实现三维成像中对物体三维散射势频谱的并行化覆盖，并进一步对光源图案进行优化设计以取得更好的横、轴向分辨率以及成像衬度[101]，实现了横向分辨率为206 nm、轴向分辨率为520 nm的无标记三维成像（图9A）[93]。值得注意的是，TIDT的三维传函是未进行逐层扫描时二维传函在轴向的拉伸展开，能够巧妙规避匹配照明条件和克喇末–克勒尼希（Kramers–Kronig）理论对照明角度的严格要求[102–103]，尤其适用于高倍油浸物镜下的三维折射率层析成像。

FPDT[94,104]作为FPM在三维成像下的扩展，原先不同照明角度下孔径之间的交叠被拓展为三维埃瓦德球壳的交叠，交叠所产生的冗余信息可以在相位恢复思想下通过迭代实现三维折射率重建，这种迭代相位恢复技术允许我们采用高数值孔径暗场照明实现衍射层析成像通量的拓展，在10倍物镜的大视野下，实现了横向分辨率为390 nm、轴向分

辨率为 899 nm、景深范围为 ~20 μm的高通量、无标记三维衍射层析成像（图 9B）[94]。此外，成像过程可以在弱物体近似下进一步简化，通过计算不同聚焦深度下的相位传递函数实现对折射率信息逐层的反卷积重建，从而避免迭代运算以减少运算时间[105-106]。值得注意的是，该方法通常适用于贴壁细胞等满足近似条件的情况，在强散射样品例如胚胎、类器官下则存在精度降低的问题。相比于全息衍射层析成像，FPDT同样通过照明角度扫描获取原始图像，区别仅在于无需干涉光路实现对散射光场的全息测量，因此仅需要使用低相干性的低成本LED光源，并通过阵列集成实现照明角度扫描。LED阵列除了可以免除散斑噪声，相比于振镜等扫描器件还具有高稳定、低成本和易集成等优势，更容易实现仪器转化与应用。



注：TIDT为光强传输衍射层析；FPDT为傅里叶叠层衍射层析。

图 9 TIDT[93]与FPDT[94]实验结果 A为TIDT实验装置图和对线虫、COS-7细胞等样品的实验结果；B为FPDT实验装置图和对HeLa细胞、实球藻等样品的实验结果

2 非干涉三维衍射层析仪器研制与应用

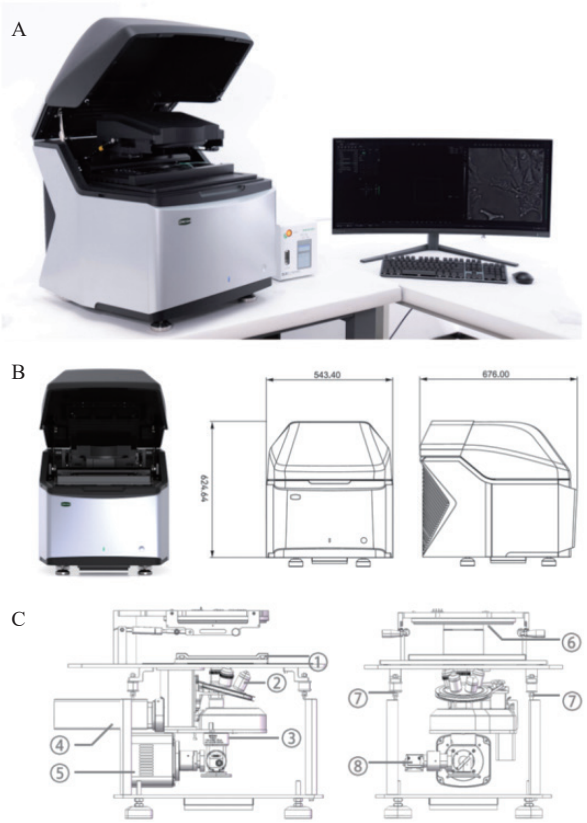
2.1 研发历程

本团队自2015年起着手研发新一代计算光学显微镜仪器，首次实现了数字全息显微、光强传输方程、差分相衬显微、无透镜片上全息和傅里叶叠层显微等新型计算光学成像技术从“概念原理”到“核心仪器”的工程化实践，研制出世界上首台非干涉、多模态定量相位显微镜。该新型定量相位显微镜基于计算光学显微成像技术，命名为SCscope（Smart Computational Microscope）。到2020年，已经形成包括数字全息显微镜、无透镜计算光学显微镜、小型化多模态计算光学显微镜在内的系列仪器[107]。近5年来，随着本团队在光强衍射层析技术上的探索不断深入，我们进而开展了非干涉三维衍射层析仪器的研发工作，于2024年正式推出了以光强衍射层析技术为核心的无标记活细胞显微仪器（以下简称仪器）。

2.2 仪器硬件组成

2024年本团队研发了以IDT技术为核心，集光学成像、全自动机械控制、可编程照明调控与定量重建算法于一体的无标记活细胞显微成像仪器。仪器的主体成像光路是一套由显微物镜与筒镜组成的4f系统，与传统倒置明场显微镜一致。照明装置使用一块由96颗 × 96颗LED灯所组成的可编程阵列代替传统显微镜中的卤素灯光源，用于实现显微镜的照明图案调控与角度扫描。除了明场成像光路，仪器还配备有荧光激发模块，可与无标记成像实现双模态共定位成像，弥补无标记成像所缺乏的对

细胞器特异性标记成像的功能。在机械结构方面，仪器配备的*XY*载物位移平台、*Z*轴位移台及物镜转轮，均可以通过软件平台实现自动化控制。仪器内置了光学隔震组件，因此使用时无需放置在光学隔震平台上，可直接适应生物实验室的使用场景。此外，系统载物台上可集成活细胞培养装置，可以实现长时程的培养观测。仪器采用箱式一体化设计（图10），整体结构紧凑，外形尺寸为676.00 mm×543.40 mm×624.64 mm，在实验室中无需较大的放置空间，同时箱式结构可有效避免环境光对成像的影响，无需在专业的暗室环境中使用。



注：sCMOS为科研级互补金属氧化物半导体；LED为发光二极管。

图10 无标记活细胞显微成像系统 A为外观实物图；B为仪器工业设计图纸；C为仪器内部构造，包括：①*XY*电动位移载物台，②物镜与物镜转轮，③筒镜，④荧光成像光源，⑤sCMOS相机，⑥LED阵列光源，⑦减震模块，⑧彩色工业相机

2.3 光强衍射层析成像原理

用于实现三维衍射层析成像的基本理论模型是Wolf[108]于1969年提出的标量衍射层析理论。假设一单色平面波入射一个在三维空间$\mathbf{x}=(x,y,z)$中折射率分布为$n(\mathbf{x})$的样品，环境介质折射率常数为n_m，此时一个关键物理量散射势$f(\mathbf{x})$可被定义为：

$$f(\mathbf{x})=k_0^2\left[n(\mathbf{x})^2-n_m^2\right] \tag{1}$$

其中，$k_0=\frac{2\pi}{\lambda}$，是自由空间波矢常数。当照明光$U_{\text{in}}(\mathbf{x})$入射样品时，所产生的物光总场$U(\mathbf{x})$可分为被物体散射的部分$U_s(\mathbf{x})$和未被散射的部分$U_{\text{in}}(\mathbf{x})$，而散射场$U_s(\mathbf{x})$服从以下非齐次波动方程：

$$\left(\nabla^2+k_m^2\right)U_s(\mathbf{x})=f(\mathbf{x})U(\mathbf{x}) \tag{2}$$

其中，$k_m=k_0 n_m$，是介质中的波矢常数。利用格林函数法，散射场的解可以表示为：

$$U_s(\mathbf{x})=\left[f(\mathbf{x})U(\mathbf{x})\right]\otimes G(\mathbf{x}) \tag{3}$$

其中，$G(\mathbf{x})$是周围介质中的三维格林函数即出射球面波，被表示为$G(\mathbf{x})=\mathrm{e}^{\frac{ik_m|\mathbf{x}|}{4\pi|\mathbf{x}|}}$，$\otimes$是三维卷积符号。虽然式（3）给出了散射场与物体散射势之间的线性关系，但由于式（3）两边都依赖于测量数据，所以直接求逆仍然颇具挑战。然而，如果假设光在物体内只散射一次，即可得到一阶散射场$U_{s1}(\mathbf{x})$与物体散射势之间的新线性关系：

$$U_{s1}(\mathbf{x})=\left[f(\mathbf{x})U_{\text{in}}(\mathbf{x})\right]\otimes G(\mathbf{x}) \tag{4}$$

该公式表明，物体的一阶散射场是构成物体的所有点源散射场的叠加，即格林函数与物体函数和入射场的乘积的卷积。对式（4）两边进行傅里叶变换，并假设透射几何（忽略背向散射），可以得到以下关系，即傅里叶衍射定理。该定理将检测平面$(z=z_D)$处的一阶散射场域傅里叶空间的散射势联系起来：

$$f(\mathbf{k}-\mathbf{k}_i)=-\frac{\exp(-ik_z z_D)}{\pi}U_{s1}(\mathbf{k}_{\mathbf{T}};z=z_D)$$
$$P(\mathbf{k}_{\mathbf{T}})\delta\left(k_z-\sqrt{k_m^2-|\mathbf{k}_{\mathbf{T}}|^2}\right) \tag{5}$$

其中，i 是虚数单位，$\mathbf{k}_i$ 是平面波的三维波矢。$f(\mathbf{k})$ 和 $U_{s1}(\mathbf{k}_T;z=z_D)$ 分别是 $f(\mathbf{x})$ 和 $U_{s1}(\mathbf{x}_T;z=z_D)$ 的三维和二维傅里叶变换。式（5）中的指数项 $\exp(-ik_z z_D)$ 可以解释为相干复场的角谱传播核，它说明了 z 方向上的坐标偏移。注意，如果在名义“聚焦”平面（$z=0$）进行测量，这个指数项会自动消失。由于三维空间频率向量 $\mathbf{k}=(\mathbf{k}_T,k_z)$ 在约束条件 $k_z=\sqrt{k_m^2-|\mathbf{k}_T|^2}$ 下位于埃瓦德球上，所以由 $U_{s1}(\mathbf{k}_T)$ 定义的信息，直接与三维傅里叶空间中半径为 k_T、位移量为 $-k_i$ 的特定半球面相关（图 11B）。因此，二维平面傅里叶频谱被投影到一个半球面上。通过改变照明的入射角，产生的一阶散射场可以关联物体三维傅里叶频谱的不同区域，同时通过成像系统的信息也会收到成像系统的孔径限制，最终可以覆盖 $\hat{f}(\mathbf{k})$ 的一部分（符号 ^ 表示二维/三维傅里叶域中的信号频谱），从而能够重建三维样品的散射势。

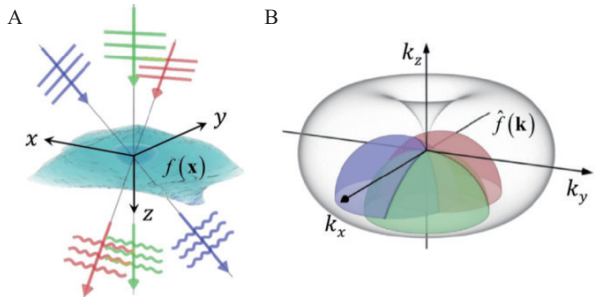


图 11 光学衍射层析定理[94] A 为样品在被不同角度照明光照射后形成的散射场；B 为每个照明角度下的散射场对应三维频谱空间中的一个半球壳

显然，为了对式（5）中的散射势 $f(\mathbf{x})$ 进行求解，要求一阶散射场 $U_{s1}(\mathbf{x}_T)$ 是可测量的量。考虑到通常所测量细胞样品的弱散射性，可忽略光穿过细胞时所产生的高阶散射光，此时散射光全部由一阶光场组成，即一阶波恩近似：

$$U_{s1}(\mathbf{x}_T)=U_s(\mathbf{x}_T)=U(\mathbf{x}_T)-U_{\text{in}}(\mathbf{x}_T) \qquad (6)$$

将式（6）代入式（5），即完成了光学衍射层析从散射势 $f(\mathbf{x})$ 到出射光场 $U(\mathbf{x})$ 的正向建模。复振幅 $U(\mathbf{x})$ 在不使用干涉测量方法的情况下无法直接获得，借鉴傅里叶叠层成像和相位恢复算法的思想，我们将所拍摄的多角度照明光强图作为约束，对所重构的样品进行迭代更新与估计，当迭代算法收敛时即可实现对样品折射率分布的逆问题求解。该方法称为傅里叶叠层衍射层析术（FPDT），其对散射势 $f(\mathbf{x})$ 的求解过程可概括为如下非线性数学优化问题：

$$\hat{f}(\mathbf{x})=\min_{f(\mathbf{x})}\sum_i\left\|I_i(\mathbf{x})-\left|\delta(\mathbf{k}_i)-\frac{\pi}{e^{ik_z}}f(\mathbf{k}-\mathbf{k}_i)P(\mathbf{k}_T)\right.\right.$$
$$\left.\left.\delta\left(k_z-\sqrt{k_m^2-|\mathbf{k}_T|^2}\right)\right|^2\right\|_2^2+R(f(\mathbf{k})) \qquad (7)$$

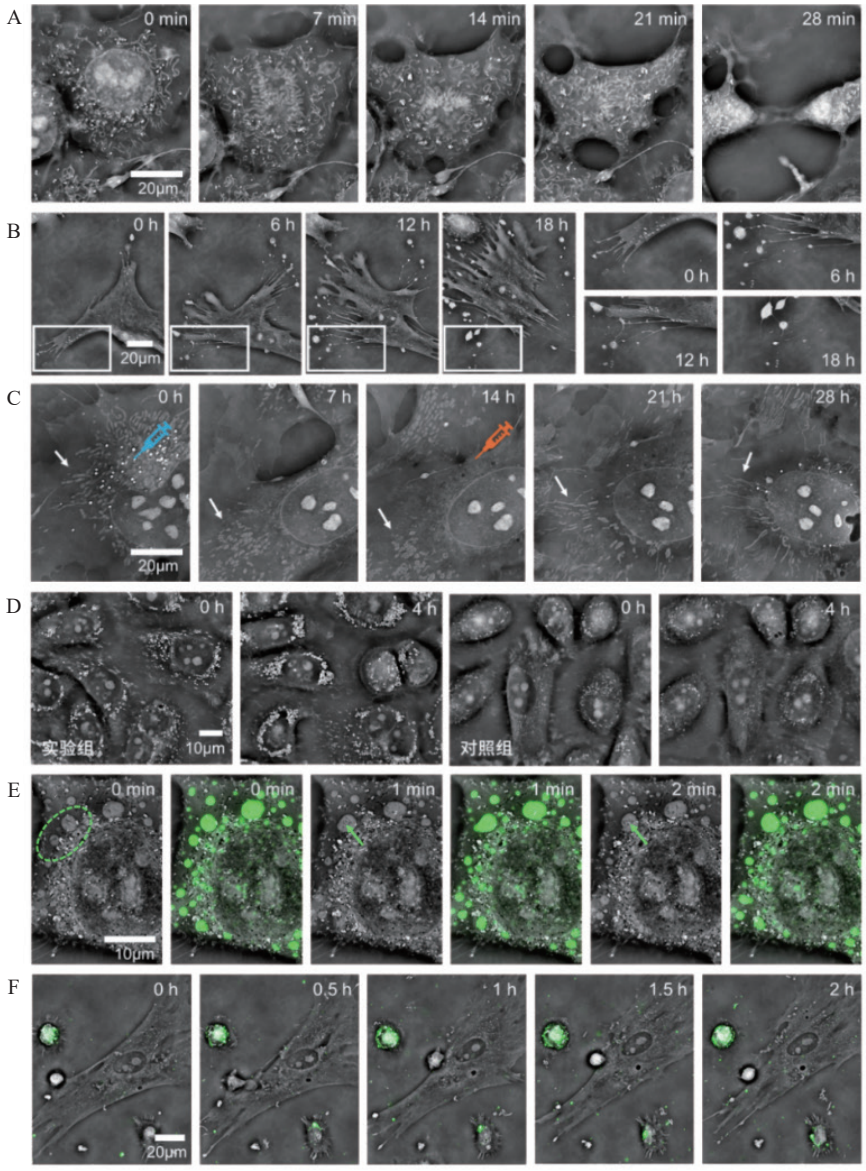
其中，i 表示角度扫描所获取光强图的序号。等号右边的目标函数由两部分组成，第 1 项是用于施加光强约束的数据保真项，目的是准确估计出 $f(\mathbf{x})$，使正向生成的倾斜照明光强图与实拍光强图 $I_i(\mathbf{x})$ 相吻合。第 2 项 $R(f(\mathbf{k}))$ 是正则化项，可采用 L1 或 L2 范数正则化和全变分正则化等，目的是对样品施加稀疏性先验以加速算法收敛，并通过先验信息填补三维频谱缺失的信息，以及抑制成像噪声[109]。为了节省内存和计算量，通常采用增量梯度法的方式求解式（7），即每次只使用单个照明下的图像更新对应三维频域中半球壳上的频谱，经过多轮迭代后直至收敛。具体的算法流程与更新公式可参考文献［94］。

2.4 生物实验结果

IDT 成像技术因其无需激光光源及干涉装置，相较于数字全息层析成像具有更高的稳定性和信噪比，尤其适用于高质量活细胞观测。该仪器应用于活细胞生物实验，成功实现了对细胞内部结构如线粒体、细胞核、染色体、脂滴等细胞器的清晰成像，这对监测细胞自发或在外部干预下的生理变化至关重要。图 12A 和图 12B 展示了该仪器分别对有丝分裂（COS-7 细胞）和细胞迁移（人子宫内膜基质细胞）过程的高分辨率成像。凭借无散斑噪声的高灵敏度成像，仪器能够通过折射率差异清晰分辨细胞核结构如核膜、染色质和染色体，并依据这些关键结构的变化判断细胞分裂的不同阶段。细胞迁移过程中，仪器精确记录了细胞形态学变化，包括收缩丝与迁移体的形成以及由此产生的相位差异。

在细胞与药物交互实验中，仪器能够捕捉药物对细胞器形态的影响。图12C展示了肾小管上皮细胞在药物作用后所引发的线粒体形态学变化。在成像过程中，首先在皿中加入了化疗药物顺铂（cisplatin, CDDP），在0～14 h内可观测到线粒体逐渐由长条状转变为碎片状，这是由于脊损伤导致的膨胀。在14 h，继续向皿中加入了抗肾毒性药物，可观测到线粒体形态逐步恢复为常态的长条状。图12D中，油酸处理的人肝细胞显示脂滴体积显著增大，表明细胞在油酸的作用下摄取了大量脂质，脂滴发生了形态学变化。该技术通过无标记、长时程监测，精准捕捉细胞器形态演变，验证了与药理学预期一致的细胞生理响应。

此外，IDT成像技术还可作为荧光成像的辅助手段，有效避免了荧光激发引起的光毒性与光漂白。图12E展示了该技术在液–液相分离（liquid–liquid phase separation, LLPS）研究中的应用，从形态学中可观察到相位结果与荧光成像接近一致，初步验证了无标记成像可作为荧光成像的补充成像模态进行使用。图12F展示了树突细胞吞噬大肠杆菌荧光颗粒的过程，仪器在无需细胞标记的情况下实现了该过程的全景式记录。这种非侵入性、多尺度、全景成像特性为复杂生物过程研究提供了技术优势，兼具深度与广度。



注：CDDP为顺铂。

图12 仪器活细胞生物实验结果 A为观察COS–7细胞有丝分裂；B为观察人子宫内膜基质细胞迁移过程和迁移体的形成；C为化疗药物CDDP和抗肾毒性药物与肾上皮细胞互作研究；D为人肝细胞在经过油酸处理后脂质摄取过程；E为用荧光和折射率双模态成像开展人骨肉瘤细胞相分离研究；F为观察树突细胞吞噬大肠杆菌荧光颗粒的过程

3 总结与展望

光学显微镜作为支撑生命科学发展的精密计量仪器，其400余年发展历程中，多项关键技术斩获诺贝尔奖。自二十世纪六十年代绿色荧光蛋白发现（2008年获诺贝尔化学奖）以来，荧光标记显微成像技术实现了从二维宽场到三维共聚焦/双光子成像，再到荧光超分辨（2014年获诺贝尔化学奖）的跨越式发展。与之相对，无标记显微成像技术自1932年相衬成像（1953年获诺贝尔物理学奖）之后，近百年来未再有接续性重大突破。尽管定量相位成像被业界视为继超分辨率荧光显微技术之后的“下一代细胞成像重大进展”[12]，其向三维升级的光学衍射层析成像亦被寄予厚望，但干涉测量固有的系统复杂性、稳定性瓶颈及散斑噪声，使其难以复刻相衬显微镜的广泛成功，始终未能作为通用仪器在生物实验室普及。计算光学定量相位成像与IDT技术的兴起，标志着无标记显微成像进入全新时代：相干性与干涉测量不再是定量相位成像及光学衍射层析的必要前提。2016年，德国蔡司公司将计算光学显微镜纳入新一代研发计划，明确了重点研究非干涉定量相位显微技术，多家光学巨头亦相继布局计算显微领域。非干涉式相位成像仪器的工程化应用，推动无标记显微技术迎来第4次跨越式革新，有望弥合其与荧光标记技术的代际差距，形成二者并驾齐驱、互补共进的发展格局。

当前，三维衍射层析技术及仪器研发面对前沿生物学课题与成像需求，仍存在若干科学问题亟待解决。针对类器官、胚胎等强散射样品，现有基于一阶Born近似与Rytov近似的光学衍射层析方法，面临精度下降与成像深度受限的挑战[110–113]，需建立更精确的多层多次散射正向模型及逆问题快速求解算法以提升成像性能。此外，现有衍射层析技术因照明探测角度受限，存在埃瓦德球内频谱缺失锥问题，导致样品轴向分辨率降低与低频测量精度下降[114]；尽管结合压缩感知思想可在算法层面一定程度上弥补此类信息缺失[115–116]，但物理性补偿方案在显微仪器中的实现仍属空白。最后，针对细胞及细胞器高速运动的场景，用于提升三维成像时空通量的新机理与新方法仍亟待探索[117–119]。

[参 考 文 献]

[1] Giloh H, Sedat J W. Fluorescence microscopy: reduced photobleaching of rhodamine and fluorescein protein conjugates by n–propyl gallate [J]. Science, 1982, 217(4566): 1252–1255.

[2] Webb R H. Confocal optical microscopy [J]. Reports on Progress in Physics, 1996, 59(3): 427.

[3] Nwaneshiudu A, Kuschal C, Sakamoto F H, et al. Introduction to confocal microscopy [J]. Journal of Investigative Dermatology, 2012, 132(12): 1–5.

[4] Zipfel W R, Williams R M, Webb W W. Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences [J]. Nature Biotechnology, 2003, 21: 1369–1377.

[5] Zhang J, Qiao W, Jin R, et al. Optical sectioning methods in three–dimensional bioimaging [J]. Light: Science & Applications, 2025, 14: 11.

[6] Olarte O E, Andilla J, Gualda E J, et al. Light–sheet microscopy: a tutorial [J]. Advances in Optics and Photonics, 2018, 10(1): 111–179.

[7] 赵唯淞,黄园园,韩镇谦,等.超分辨荧光显微镜中的解卷积技术及应用（特邀）[J].中国激光, 2024, 51(1): 290–305.

[8] 卫奥尼,秦成兵,董帅,等.超分辨荧光显微成像的若干研究进展 [J].激光与光电子学进展, 2023, 60(11): 149–172.

[9] Schermelleh L, Ferrand A, Huser T, et al. Super–resolution microscopy demystified [J]. Nature Cell Biology, 2019, 21: 72–84.

[10] Qiao C, Li D, Liu Y, et al. Rationalized deep learning super–resolution microscopy for sustained live imaging of rapid subcellular processes [J]. Nature Biotechnology, 2023, 41: 367–377.

[11] Hell S W, Wichmann J. Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated–emission–depletion fluorescence microscopy [J]. Optics Letters, 1994, 19(11): 780–782.

[12] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, et al. Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution [J]. Science, 2006, 313(5793): 1642–1645.

[13] Rust M J, Bates M, Zhuang X. Sub–diffraction–limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM) [J]. Nature Methods, 2006, 3: 793–796.

[14] Stephens D J, Allan V J. Light microscopy techniques for live cell imaging [J]. Science, 2003, 300(5616): 82–86.

[15] Evanko D. Label–free microscopy [J]. Nature Methods, 2010, 7: 36.

[16] Zangle T A, Teitell M A. Live–cell mass profiling: an emerging approach in quantitative biophysics [J]. Nature Methods, 2014, 11: 1221–1228.

[17] 杨泽文,张璐,吕宁,等.生物折射率三维无标记定量成像研究进展 [J].中国激光, 2022, 49(5): 83–107.

［18］穆书奇,董大山,施可彬.无标记光学成像技术［J］.激光与光电子学进展, 2022, 59(12): 1–21.
［19］Zernike F. How I discovered phase contrast［J］. Science, 1955, 121(3141): 345–349.
［20］Park Y K, Depeursinge C, Popescu G. Quantitative phase imaging in biomedicine［J］. Nature Photonics, 2018, 12: 578–589.
［21］Huang Z, Cao L. Quantitative phase imaging based on holography: trends and new perspectives［J］. Light: Science & Applications, 2024, 13: 145.
［22］黄郑重,曹良才.数字全息与定量相位成像：进展与展望（特邀）［J］.光子学报, 2024, 53(9): 1–27.
［23］闵俊伟,郜鹏,但旦,等.高精度定量相位显微成像方法研究［J］.光学学报, 2024, 44(2): 24–35.
［24］Sung Y, Choi W, Fang–Yen C, et al. Optical diffraction tomography for high resolution live cell imaging［J］. Optics Express, 2009, 17(1): 266–277.
［25］ Kim K, Yoon J, Shin S, et al. Optical diffraction tomography techniques for the study of cell pathophysiology［J］. Journal of Biomedical Photonics & Engineering, 2016, 2(2): 1–16.
［26］ Gbur G, Wolf E. Relation between computed tomography and diffraction tomography［J］. Journal of the Optical Society of America A, 2001, 18(9): 2132–2137.
［27］刘雅坤,肖文,车蕾平,等.基于数字全息显微层析的癌细胞空泡化成像研究［J］.中国激光, 2022, 49(20): 146–156.
［28］Bianco V, Memmolo P, Leo M, et al. Strategies for reducing speckle noise in digital holography［J］. Light: Science & Applications, 2018, 7: 48.
［29］牛瑞,田爱玲,王大森,等.数字全息测量系统的散斑噪声抑制［J］.激光与光电子学进展, 2022, 59(16): 76–82.
［30］Gerchberg R W, Saxton W O. A practical algorithm for the determination of phase from image and diffraction plane pictures［J］. Optik, 1972, 35(2): 237–246.
［31］Fienup J R. Reconstruction of an object from the modulus of its Fourier transform［J］. Optics Letters, 1978, 3(1): 27–29.
［32］Pfeiffer F. X–ray ptychography［J］. Nature Photonics, 2018, 12: 9–17.
［33］Jiang Y, Chen Z, Han Y, et al. Electron ptychography of 2D materials to deep sub–ångström resolution［J］. Nature, 2018, 559: 343–349.
［34］Chen Z, Jiang Y, Shao Y T, et al. Electron ptychography achieves atomic–resolution limits set by lattice vibrations［J］. Science, 2021, 372(6544): 826–831.
［35］Teague M R. Deterministic phase retrieval: a Green’s function solution［J］. Journal of the Optical Society of America, 1983, 73(11): 1434–1441.
［36］Streibl N. Phase imaging by the transport equation of intensity［J］. Optics Communications, 1984, 49(1): 6–10.
［37］Zheng G, Horstmeyer R, Yang C. Wide–field, high–resolution Fourier ptychographic microscopy［J］. Nature Photonics, 2013, 7: 739–745.
［38］Xu F, Wu Z, Tan C, et al. Fourier ptychographic microscopy 10 years on: a review［J］. Cells, 2024, 13(4): 324.
［39］Tian L, Waller L. Quantitative differential phase contrast imaging in an LED array microscope［J］. Optics Express, 2015, 23(9): 11394–11403.
［40］Fan Y, Sun J, Chen Q, et al. Optimal illumination scheme for isotropic quantitative differential phase contrast microscopy［J］. Photonics Research, 2019, 7(8): 890–904.
［41］Sun J, Chen Q, Zhang Y, et al. Efficient positional misalignment correction method for Fourier ptychographic microscopy［J］. Biomedical Optics Express, 2016, 7(4): 1336–1350.
［42］Tian L, Wang J, Waller L. 3D differential phase–contrast microscopy with computational illumination using an LED array［J］. Optics Letters, 2014, 39(5): 1326–1329.
［43］Chen M, Tian L, Waller L. 3D differential phase contrast microscopy［J］. Biomedical Optics Express, 2016, 7(10): 3940–3950.
［44］Zhu Y, Sun M, Wu P, et al. Space–based correction method for LED array misalignment in Fourier ptychographic microscopy［J］. Optics Communications, 2022, 514: 128163.
［45］Zhang S, Wang A, Xu J, et al. FPM–WSI: Fourier ptychographic whole slide imaging via feature–domain backdiffraction［J］. Optica, 2024, 11(5): 634–646.
［46］Chen N, Wu Y, Tan C, et al. Uncertainty–aware Fourier ptychography［J］. Light: Science & Applications, 2025, 14: 236.
［47］Ou X, Zheng G, Yang C. Embedded pupil function recovery for Fourier ptychographic microscopy［J］. Optics Express, 2014, 22(5): 4960–4972.
［48］Shu Y, Sun J, Lyu J, et al. Adaptive optical quantitative phase imaging based on annular illumination Fourier ptychographic microscopy［J］. PhotoniX, 2022, 3: 24.
［49］Zhang S, Zhou G, Zheng C, et al. Fast digital refocusing and depth of field extended Fourier ptychography microscopy［J］. Biomedical Optics Express, 2021, 12(9): 5544–5558.
［50］Claveau R, Manescu P, Elmi M, et al. Digital refocusing and extended depth of field reconstruction in Fourier ptychographic microscopy［J］. Biomedical Optics Express, 2020, 11(1): 215–226.
［51］Horstmeyer R, Chung J, Ou X, et al. Diffraction tomography with Fourier ptychography［J］. Optica, 2016, 3(8): 827–835.
［52］Chowdhury S, Chen M, Eckert R, et al. High–resolution 3D refractive index microscopy of multiple–scattering samples from intensity images［J］. Optica, 2019, 6(9): 1211–1219.
［53］Burch C R, Stock J P P. Phase–contrast microscopy［J］. Journal of Scientific Instruments, 1942, 19(5): 71.
［54］陈峻堂.微分干涉相衬显微术［J］.光学仪器, 1984, 6(1): 1.
［55］Yin Z, Kanade T, Chen M. Understanding the phase contrast optics to restore artifact–free microscopy images for segmentation［J］. Medical Image Analysis, 2012, 16(5): 1047–1062.
［56］Friedlander J, Smith G W. Notes on engineering health, August

2023: notes on seeing biology［EB/OL］.(2023–08–31)［2025–06–05］. https://www.digitalisventures.com/blog/notes–on–engineering–health–august–2023–notes–on–seeing–biology.
［57］Abramowitz M, Davidson M W. Fluorescence microscopy errors［EB/OL］.［2025–06–05］. https://evidentscientific.com/en/microscope–resource/knowledge–hub/photomicrography/fluorescenceerrors.
［58］Javidi B, Carnicer A, Anand A, et al. Roadmap on digital holography［Invited］［J］. Optics Express, 2021, 29(22): 35078–35118.
［59］Gabor D. Holography, 1948–1971［J］. Science, 1972, 177(4046): 299–313.
［60］Cuche E, Marquet P, Depeursinge C. Spatial filtering for zero–order and twin–image elimination in digital off–axis holography［J］. Applied Optics, 2000, 39(23): 4070–4075.
［61］Gao P, Yuan C. Resolution enhancement of digital holographic microscopy via synthetic aperture: a review［J］. Light: Advanced Manufacturing, 2022, 3(1): 105–120.
［62］Li Z, Shu Y, Lu L, et al. Fourier holo–ptychographic microscopy: a hybrid digital holography–Fourier ptychography approach to synthetic–aperture quantitative phase microscopy［J］. ACS Photonics, 2025, 12(6): 2965–2971.
［63］Zuo C, Chen Q, Qu W, et al. Phase aberration compensation in digital holographic microscopy based on principal component analysis［J］. Optics Letters, 2013, 38(10): 1724–1726.
［64］Lee K R, Kim K, Kim G, et al. Time–multiplexed structured illumination using a DMD for optical diffraction tomography［J］. Optics Letters, 2017, 42(5): 999–1002.
［65］Jin D, Zhou R, Yaqoob Z, et al. Dynamic spatial filtering using a digital micromirror device for high–speed optical diffraction tomography［J］. Optics Express, 2018, 26(1): 428–437.
［66］Park C, Lee K R, Baek Y, et al. Low–coherence optical diffraction tomography using a ferroelectric liquid crystal spatial light modulator［J］. Optics Express, 2020, 28(26): 39649–39659.
［67］王阳,张美玲,王宇,等.部分相干光照明的数字全息显微技术及应用［J］.激光与光电子学进展, 2021, 58(18): 141–156.
［68］Lee M, Kim K, Oh J, et al. Isotropically resolved label–free tomographic imaging based on tomographic moulds for optical trapping［J］. Light: Science & Applications, 2021, 10: 102.
［69］Simon B, Debailleul M, Houkal M, et al. Tomographic diffractive microscopy with isotropic resolution［J］. Optica, 2017, 4(4): 460–463.
［70］Dong D, Huang X, Li L, et al. Super–resolution fluorescence–assisted diffraction computational tomography reveals the three–dimensional landscape of the cellular organelle interactome［J］. Light: Science & Applications, 2020, 9: 11.
［71］Popescu G, Ikeda T, Dasari R R, et al. Diffraction phase microscopy for quantifying cell structure and dynamics［J］. Optics Letters, 2006, 31(6): 775–777.
［72］Kim Y, Shim H, Kim K, et al. Common–path diffraction optical tomography for investigation of three–dimensional structures and dynamics of biological cells［J］. Optics Express, 2014, 22(9): 10398–10407.
［73］Jin D, Zhou R, Yaqoob Z, et al. Dynamic spatial filtering using a digital micromirror device for high–speed optical diffraction tomography［J］. Optics Express, 2018, 26(1): 428–437.
［74］Zdańkowski P, Winnik J, Patorski K, et al. Common–path intrinsically achromatic optical diffraction tomography［J］. Biomedical Optics Express, 2021, 12(7): 4219–4234.
［75］Kim K, Yaqoob Z, Lee K R, et al. Diffraction optical tomography using a quantitative phase imaging unit［J］. Optics Letters, 2014, 39(24): 6935–6938.
［76］Bhaduri B, Pham H, Mir M, et al. Diffraction phase microscopy with white light［J］. Optics Letters, 2012, 37(6): 1094–1096.
［77］Kim T, Zhou R, Mir M, et al. White–light diffraction tomography of unlabelled live cells［J］. Nature Photonics, 2014, 8: 256–263.
［78］Shechtman Y, Eldar Y C, Cohen O, et al. Phase retrieval with application to optical imaging: a contemporary overview［J］. IEEE Signal Processing Magazine, 2015, 32(3): 87–109.
［79］魏金文,李儒佳,吴佳琛,等.相位恢复波前重构技术的发展与应用（特邀）［J］.激光与光电子学进展, 2024, 61(2): 1–17.
［80］田璇,费舒全,李润泽,等.人工智能定量相位成像：从物理到算法再到物理（内封面文章·特邀）［J］.红外与激光工程, 2025, 54(2): 191–215.
［81］Gonsalves R A. Phase retrieval and diversity in adaptive optics［J］. Optical Engineering, 1982, 21(5): 215829.
［82］Putkunz C T, D’Alfonso A J, Morgan A J, et al. Atom–scale ptychographic electron diffractive imaging of boron nitride cones［J］. Physical Review Letters, 2012, 108: 073901.
［83］Chang X, Bian L, Zhang J. Large–scale phase retrieval［J］. eLight, 2021, 1: 4.
［84］Yang G, Dong B, Gu B, et al. Gerchberg–Saxton and Yang–Gu algorithms for phase retrieval in a nonunitary transform system: a comparison［J］. Applied Optics, 1994, 33(2): 209–218.
［85］Zalevsky Z, Mendlovic D, Dorsch R G. Gerchberg–Saxton algorithm applied in the fractional Fourier or the Fresnel domain［J］. Optics Letters, 1996, 21(12): 842–844.
［86］Gureyev T E, Nugent K A. Rapid quantitative phase imaging using the transport of intensity equation［J］. Optics Communications, 1997, 133(1–6): 339–346.
［87］Zuo C, Li J, Sun J, et al. Transport of intensity equation: a tutorial［J］. Optics and Lasers in Engineering, 2020, 135: 106187.
［88］Zuo C, Chen Q, Tian L, et al. Transport of intensity phase retrieval and computational imaging for partially coherent fields: the phase space perspective［J］. Optics and Lasers in Engineering, 2015, 71: 20–32.
［89］Zuo C, Sun J, Li J, et al. High–resolution transport–of–intensity quantitative phase microscopy with annular

illumination［J］. Scientific Reports, 2017, 7: 7654.
［90］Sun J, Zuo C, Zhang L, et al. Resolution–enhanced Fourier ptychographic microscopy based on high–numerical–aperture illuminations［J］. Scientific Reports, 2017, 7: 1187.
［91］Sun J, Zuo C, Zhang J, et al. High–speed Fourier ptychographic microscopy based on programmable annular illuminations［J］. Scientific Reports, 2018, 8: 7669.
［92］Lu L, Li J, Shu Y, et al. Hybrid brightfield and darkfield transport of intensity approach for high–throughput quantitative phase microscopy［J］. Advanced Photonics, 2022, 4(5): 056002.
［93］Li J, Zhou N, Sun J, et al. Transport of intensity diffraction tomography with non–interferometric synthetic aperture for three–dimensional label–free microscopy［J］. Light: Science & Applications, 2022, 11: 154.
［94］Zuo C, Sun J, Li J, et al. Wide–field high–resolution 3D microscopy with Fourier ptychographic diffraction tomography［J］. Optics and Lasers in Engineering, 2020, 128: 106003.
［95］Goodman J W. Statistical optics［M］. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2015.
［96］Zuo C, Chen Q, Li H, et al. Boundary–artifact–free phase retrieval with the transport of intensity equation II: applications to microlens characterization［J］. Optics Express, 2014, 22(15): 18310–18324.
［97］Zhang J, Chen Q, Sun J, et al. On a universal solution to the transport–of–intensity equation［J］. Optics Letters, 2020, 45(13): 3649–3652.
［98］左超,陈钱.分辨率、超分辨率与空间带宽积拓展：从计算光学成像角度的一些思考［J］.中国光学（中英文）, 2022, 15(6): 1105–1166.
［99］Goodman J W. Introduction to Fourier optics［M］. 3rd ed. Greenwood Village: Roberts and Company Publishers, 2005.
［100］Li J, Chen Q, Sun J, et al. Optimal illumination pattern for transport–of–intensity quantitative phase microscopy［J］. Optics Express, 2018, 26(21): 27599–27614.
［101］Li J, Zhou N, Bai Z, et al. Optimization analysis of partially coherent illumination for refractive index tomographic microscopy［J］. Optics and Lasers in Engineering, 2021, 143: 106624.
［102］ Baek Y S, Park Y K. Intensity–based holographic imaging via space–domain Kramers–Kronig relations［J］. Nature Photonics, 2021, 15: 354–360.
［103］Zhou S, Li J, Sun J, et al. Transport–of–intensity Fourier ptychographic diffraction tomography: defying the matched illumination condition［J］. Optica, 2022, 9(12): 1362–1373.
［104］Horstmeyer R, Chung J, Ou X, et al. Diffraction tomography with Fourier ptychography［J］. Optica, 2016, 3(8): 827–835.
［105］Li J, Matlock A, Li Y, et al. High–speed in vitro intensity diffraction tomography［J］. Advanced Photonics, 2019, 1(6): 066004.
［106］Zhou N, Zhang R, Xu W, et al. High–speed high–resolution transport of intensity diffraction tomography with Bi–plane parallel detection［J］. Laser & Photonics Reviews, 2024, 18(11): 2400387.
［107］Fan Y, Li J, Lu L, et al. Smart computational light microscopes (SCLMs) of smart computational imaging laboratory (SCILab)［J］. PhotoniX, 2021, 2: 19.
［108］Wolf E. Three–dimensional structure determination of semi–transparent objects from holographic data［J］. Optics Communications, 1969, 1(4): 153–156.
［109］Lim J W, Lee K R, Jin K H, et al. Comparative study of iterative reconstruction algorithms for missing cone problems in optical diffraction tomography［J］. Optics Express, 2015, 23(13): 16933–16948.
［110］Chen M, Ren D, Liu H Y, et al. Multi–layer Born multiple–scattering model for 3D phase microscopy［J］. Optica, 2020, 7(5): 394–403.
［111］Matlock A, Zhu J, Tian L. Multiple–scattering simulator–trained neural network for intensity diffraction tomography［J］. Optics Express, 2023, 31(3): 4094–4107.
［112］Yang D, Zhang S, Zheng C, et al. Refractive index tomography with a physics–based optical neural network［J］. Biomedical Optics Express, 2023, 14(11): 5886–5903.
［113］Yasuhiko O, Takeuchi K. In–silico clearing approach for deep refractive index tomography by partial reconstruction and wave–backpropagation［J］. Light: Science & Applications, 2023, 12: 101.
［114］Zhou N, Sun J, Zhang R, et al. Quasi–isotropic high–resolution Fourier ptychographic diffraction tomography with opposite illuminations［J］. ACS Photonics, 2023, 10(8): 2461–2466.
［115］Lim J W, Lee K R, Jin K H, et al. Comparative study of iterative reconstruction algorithms for missing cone problems in optical diffraction tomography［J］. Optics Express, 2015, 23(13): 16933–16948.
［116］Gao Y, Cao L. Iterative projection meets sparsity regularization: towards practical single–shot quantitative phase imaging with in–line holography［J］. Light: Advanced Manufacturing, 2023, 4(1): 37–53.
［117］Zhou S, Li J, Sun J, et al. Accelerated Fourier ptychographic diffraction tomography with sparse annular LED illuminations［J］. Journal of Biophotonics, 2022, 15(3): e202100272.
［118］Gao Y, Cao L. Motion–resolved, reference–free holographic imaging via spatiotemporally regularized inversion［J］. Optica, 2024, 11(1): 32–41.
［119］Shu Y, Sun J, Fan Y, et al. Diagonal illumination scheme for Fourier ptychographic microscopy: resolution doubling and aliasing minimization［J］. Journal of the Optical Society of America A, 2024, 41(11): C62–C71.