·技术进展·

单转盘共聚焦显微技术的进展及趋势展望

乔良[1] 任伟[1,2] 王刚[1] 梁谦禧[1,2] 李美琪[1,2] 席鹏[1,2] 王文熠[1*]

（1.北京艾锐精仪科技有限公司，北京100086；2.北京大学未来技术学院，北京100871）

【摘要】 本文首先对荧光共聚焦中的点扫描共聚焦与转盘共聚焦进行了对比，前者采用单点激发单点探测的串行成像方式，成像速度慢；后者采用多点激发多点探测的并行成像方式，成像速度快。接下来分析了双转盘共聚焦系统存在的问题，如微透镜盘和微针孔盘必须精确对准、视野受二向色镜大小限制、成像质量受限、盘片系统加重导致转速受限、盘片系统需要精密配准等。基于这些问题，开发出了无天花板的单转盘共聚焦系统，其具有多色、快速、易用、稳定等特色，通过分辨率测试等对其性能进行了分析，其光学分辨率在*xy*方向可达230 nm，在*z*轴方向可达470 nm。最后，从分辨率和穿透深度、光漂白和光毒性、信噪比、成像速率、系统复杂性、成像视野等方面对3种技术的性能进行对比分析。比较显示，单转盘技术在成像视野、成像速率、光毒性和系统复杂性等方面均优于点扫描和双转盘技术，使其在生物医学研究中展现出突出的应用价值。

【关键词】 转盘；点扫描；针孔阵列；微透镜

【中图分类号】 TH74 【文献标识码】 A 【DOI】 10.11876/mimt202504003

Advances and prospects of single–spinning–disk confocal microscopy

Qiao Liang[1], Ren Wei[1,2], Wang Gang[1], Liang Qianxi[1,2], Li Meiqi[1,2], Xi Peng[1,2], Wang Wenyi[1]*

(1. Airy Technologies Co., Ltd., Beijing 100086, China;

2. College of Future Technology, Peking University, Beijing 100871, China)

【Abstract】 This paper first compares point scanning confocal microscopy with spinning disk confocal microscopy in fluorescence confocal microscopy. The former is a serial imaging with single point excitation–detection and has a slower speed; the latter is a parallel imaging with multi–point excitation–detection, which is fast. Furthermore, by comparing the technical principles of single–disk and dual–disk confocal focusing, the limited pinhole size, spacing, and distance between the two disks caused by the micro lens disk in the dual–disk setup were revealed, resulting in limited field–of–view, imaging quality, rotation speed, and the need for precise registration of the disk system. The technical characteristics of ceiling–less single disk confocal system were explained, including multi–color, fast (fast rotation speed, large field–of–view), easy–to–use (high optical quality, customizable pinhole size and spacing), stabilization (high stability, low cost), and its performance was demonstrated through resolution testing (*xy* direction resolution 230 nm, *z* direction resolution 470 nm). Finally, the characteristics of the three technologies in terms of resolution and penetration depth, photobleaching and phototoxicity, signal–to–noise ratio, imaging rate, system complexity and imaging field of view were compared. The comparison showed that the single–disk technology outperforms the point scanning and dual–disk technologies in terms of imaging field of view, imaging rate, phototoxicity and system complexity, thus demonstrating its outstanding application value in biomedical research.

【Key Words】 Spinning disk; Point scanning; Pinhole array; Micro–lens

荧光共聚焦显微（confocal microscopy）成像技术结合了荧光标记技术和共聚焦扫描原理[1]，能够提供高分辨率、高对比度的细胞和组织的二维和三维图像，广泛应用于神经生物学、细胞生物学、发育生物学、遗传生物学、微生物学、组织病理学、肿瘤学、免疫学、高内涵药物研发、材料科学等领域的研究[2]。它通过照明点、样品点、探测点三者的共轭[3]，有效去除离焦信号，接收样品共轭点的信号来达到对样品的三维扫描成像。因其成像效果等效于将样品减薄（仅在激发焦点上的信号

基金项目：国家自然科学基金（62025501，62335008）；国家重点研发计划（2022YFC3401100）

第一作者：乔良，男，硕士研究生，研究方向：超分辨显微成像

通信作者：王文熠，男，本科，研究方向：超分辨显微镜

能够被探测到），去除了离焦后荧光散射带来的模糊，故而被称为“光学层切”[4]。

共聚焦显微镜根据其扫描方式的不同，主要分为点扫描共聚焦[5]、单转盘共聚焦和双转盘共聚焦[6]3种类型，它们在成像速度、分辨率、光毒性和应用场景等方面各有优缺点：点扫描共聚焦虽然分辨率高，但受限于机械扫描速度（通常仅 1 ~ 10 fps），难以捕捉快速动态过程，而转盘共聚焦虽然速度更快，但信噪比和分辨率仍低于单点扫描；在转盘共聚焦中，单转盘共聚焦显微镜成像速度快、调节难度低、成本低，但需要功率更高的激光器，双转盘共聚焦显微镜只需要较低的激光功率，但调节难度高、成本高。随着激光器技术的不断发展，从早期光纤激光的千瓦突破到固体激光的功率跃升，再到超短脉冲激光的峰值功率革命，激光的功率问题已经不再是转盘技术的瓶颈，并且高功率激光器的价格并不昂贵，远低于双转盘微透镜阵列加工难度带来的成本。

因此，本文从荧光共聚焦技术的核心成像原理入手，阐述了点扫描与转盘共聚焦在串行与并行扫描方式上的根本区别；分析了点扫描技术在成像速度上的局限性及其物理根源，以及双转盘共聚焦系统因微透镜阵列引入而在视野、色差、转速和维护性方面面临的问题；探讨了基于“第一性原理”开发的单转盘共聚焦技术如何通过简化光学路径、优化照明系统与自由定制针孔参数，实现在成像速度、多色性、视野、分辨率和系统稳定性上的全面突破，并将其与另两种技术在多维度性能上进行了系统对比，以期为广大研究人员在选择共聚焦显微技术时提供一个清晰、全面的参考，并展现单转盘共聚焦技术在活细胞动态成像等前沿生物医学研究领域的巨大应用潜力和价值。

1 荧光共聚焦技术原理

图 1 展示了点扫描共聚焦与转盘共聚焦的技术原理。点扫描共聚焦采用单点激发单点探测的方式，由于只能探测一个点的信息，因此激发焦点需要与样品有相对位移，才能对样品上不同的点进行扫描，这可以通过检流计（galvanometer）来实现，而激发焦点与探测针孔的共轭成像关系，又要求探测针孔随着激发焦点的移动而同步移动，否则就探测不到荧光信号。因此，点扫描共聚焦通常通过反扫描技术来实现两者的同步，即在激发焦点通过检流计扫描后，返回的荧光信号再次打在检流计上，这样就实现了与入射光束同光路。利用 45° 放置的二向色镜，可以将荧光信号反射到另一方向，同时放置固定共聚焦针孔，在探测器上就能够得到通过针孔后的荧光信号。与此类似的一种设计是将激发针孔与探测针孔合二为一，这种结构同样能够有效满足共聚焦成像所必需的激发与探测光路共轭关系。图像采集过程中，首先采用单点激光束依次扫描样品，通过针孔检测器收集来自焦点平面的信号，排除非焦平面的荧光干扰，形成高分辨率的二维图像，再通过改变焦点平面位置，实现三维重建。由于点扫描共聚焦每次只需要探测一个单点，因此其探测器一般选用灵敏度高的光电倍增管（photomultiplier tube, PMT）或雪崩光电二极管（avalanche photo–diode, APD）。点扫描共聚焦可以归类为串行成像[7]。

转盘共聚焦采用多点激发多点探测的方式，在物镜像平面上放置一个带有多个针孔的旋转盘，但由于非针孔区域无法透光，因此增加一个与针孔盘共轭的微透镜盘，该微透镜盘可以让非针孔区域的光斑汇聚到针孔位置，从而能够极大地提高激光的利用率。使用激光光源覆盖多个针孔，转盘旋转时就能实现多点同步扫描，并且每个针孔后面都有一个探测器收集信号，或使用面阵相机进行整体成像。转盘共聚焦可以归类为并行成像[8]。

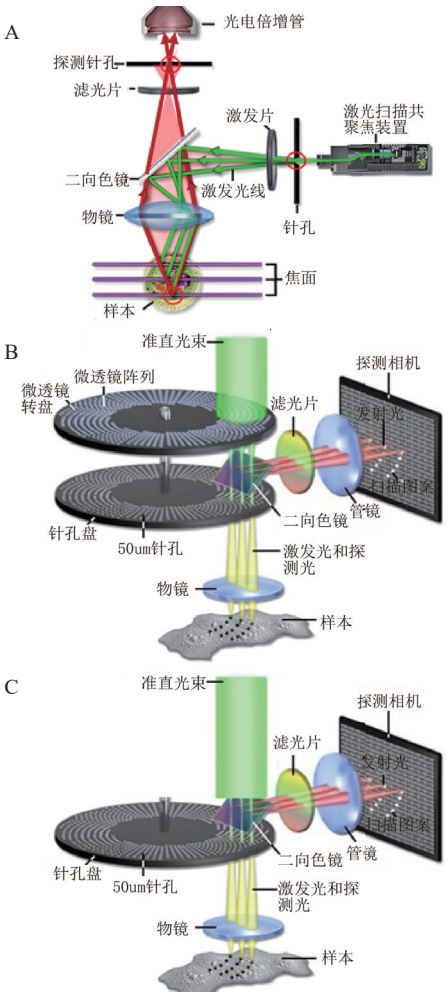


图 1 3 种共聚焦扫描显微成像系统[9] A 为点扫描共聚焦；B 为双转盘共聚焦；C 为单转盘共聚焦

2 双转盘共聚焦的局限性和单转盘共聚焦系统的技术创新与性能突破

2005年，日本横河电机公司推出双转盘共聚焦专利[10]。双转盘共聚焦的核心思想是，为了增加激光通过Nipkow针孔盘的效率，可以同样设置一个微透镜阵列（micro-lens array, MLA），让每一个微透镜与每一个微针孔一一对应，从而实现激发光的有效耦合。这样，将二向色镜夹在微透镜盘和微针孔盘中间时，微针孔盘既充当了激发针孔，又充当了探测针孔，从而实现了共聚焦过程，后续可以用透镜组联合二维探测器对针孔盘进行成像，由此实现了高速扫描。但是，由于微透镜盘与微针孔盘必须严格一一对应，致使双转盘共聚焦存在以下几点问题。

（1）视野受二向色镜大小的限制：由图1B可见，双转盘共聚焦的二向色镜尺寸有限，因此其成像视野受到限制。

（2）成像质量受限：由于双转盘共聚焦使用了单透镜组成的微透镜阵列，而不同颜色通过针孔的焦距不同，因此存在较大的色差，所以为了使不同激发波长的通光效率一致，就需要针孔不能太小，这就制约了双转盘的成像分辨率。进一步地，二向色镜的波片厚度也加深了色差问题。由于光学玻璃厚度越厚，其可以达到的平整度就越高，所以当二向色镜的波片变厚时，不同的激光聚焦会因波长变化而变化，进一步放大了色差，这就导致双转盘共聚焦只能采用较薄的二向色镜，造成其探测荧光的平面度变差。

（3）盘片系统加重，转速受限：由于电机的负载和转速成反比，负载加重时，转速就需要降低，而转速决定了转盘共聚焦的扫描速度。同时，由于微透镜的大小不可随意调整，因此一旦选择了一种微透镜，下面对应的微针孔的最小间距就等于微透镜的直径，这就进一步制约了针对不同样品调整微透镜联合微针孔系统的可能性。

（4）盘片系统需要精密配准，一旦失配，需返厂维修：由于上面的微透镜盘和下面的微针孔盘需要在整个盘片范围内精确对准，这就需要多维度精准匹配。一旦两者失配，则原先的完美过孔就变为部分过孔，或者完全不能过孔。由于调节方法复杂，需要返厂进行装调，不仅费时费力，维修费用往往也非常高。

在此基础上，我们按照“第一性原理”对转盘共聚焦进行了剖析，开发了无天花板的单转盘共聚焦系统。我们发现，双转盘共聚焦的所有限制，均是由于引入了微透镜盘导致的，而微透镜盘唯一的好处是能够将激光有效地引导耦合进入微针孔盘。这层微透镜盘，犹如“透明天花板”，限制了转盘共聚焦的系统性能。本课题组开发的无天花板的单转盘共聚焦系统具有如下特色。

（1）多色性：由于只有物理的微针孔盘，不同颜色的过孔效率仅受占空比制约，因此可以保证不同波长的激发效率的均一性。

（2）快速性：①由于只有一层针孔盘，其物理重量比起双转盘结构降低了70%，因此转速可以大幅提升；②二向色镜可以做得更大，不受微透镜盘的制约，因此成像的视野更大。

（3）易用性：①二向色镜可以更厚，带来更高的光学质量，让荧光成像的分辨率更高；②由于没有微透镜阵列的制约，微针孔盘可以自由定制针孔大小和间距，如针对需要更高分辨率的场景可以缩小针孔大小，针对弱荧光信号可以增加针孔大小，针对厚组织成像可以增大间距从而减少背景，针对需要高速扫描的场景可以让针孔间距变小，从而加速扫描；③在双转盘共聚焦中，为了增加过孔效率，需要采用单模光纤耦合，而单模光纤在光束放大后，呈现高斯分布，使得视野照明不均匀；取消微透镜阵列后，在两个方面做了优化，一是使用多模光纤照明既能使激光耦合效率提升也能使平场性提升，二是采用自研的激光匀光系统，可以让照明光强在整个视野保持均一性。

（4）稳定性：①由于没有顶部微透镜盘，因此永远不会失配，系统稳定性高、更耐用；②由于只有单个转盘，系统造价更低，节约用户投入。

3 3种共聚焦显微镜性能对比分析

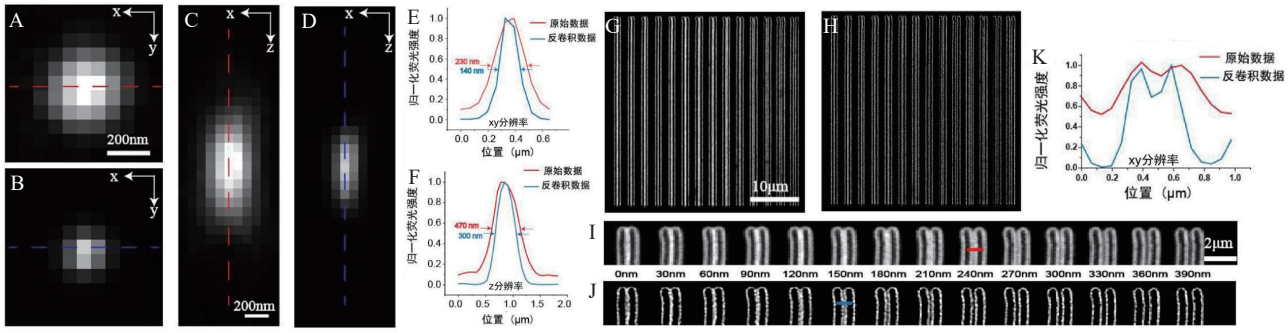
3.1 分辨率和穿透深度

在分辨率方面，点扫描共聚焦和转盘共聚焦均受到针孔大小的限制，针孔越小，则分辨率越好。通常，点扫描共聚焦的分辨率由于无需考虑周边像素的影响，其*xy*方向极限分辨率可达200 nm，*z*轴极限分辨率在500 nm左右，能提供高质量的三维图像，适用于对固定细胞和组织的精细结构进行详细分析。

在双转盘共聚焦中，由于针孔的大小不能自由调节，导致其分辨率相对略低，尤其在*z*轴方向，由于转盘上针孔之间的串扰，会导致*z*轴分辨率下降。

本课题组开发的单转盘共聚焦系统由于针孔大小、间距不受微透镜盘的影响，因此能够自由地设置，可兼容不同散射系数的样本。采用488 nm激光的激光器，分别利用ArgoLight公司的ArgoSIM分辨

率测试板和 40 nm荧光小球在尼康 100倍（数值孔径 1.49）物镜下进行了成像测试，转盘的盘片选择 50:250时，通过分析 ArgoSIM分辨率测试板两条线的间距测得荧光小球 *xy*方向的分辨率为 230 nm，然后沿 *z* 轴方向扫描荧光小球，扫描间距为 100 nm，通过测量 *z* 轴方向小球荧光强度分布的半高宽得到 *z* 轴方向分辨率为 470 nm，经过多分辨率分析（multi–resolution analysis, MRA）反卷积后测得荧光小球 *xy* 方向的分辨率为 140 nm，*z* 轴方向分辨率为 300 nm，如图 2所示。



注：MRA为多分辨率分析。

图 2 单转盘共聚焦分辨率测试 A、B为 40 nm荧光小球 *xy* 方向成像结果和MRA反卷积成像结果；C、D为40 nm荧光小球 *xz* 方向成像结果和MRA反卷积成像结果；E、F为荧光小球单点光强的分布图，红色曲线展示了 *xy* 方向的分辨率为230 nm，*z* 轴方向的分辨率为470 nm，蓝色曲线展示了MRA反卷积后 *xy* 方向的分辨率为140 nm，*z* 轴方向的分辨率为300 nm；G–J为ArgoSIM分辨率测试板成像结果；K为分别取宽场和MRA反卷积后ArgoSIM分辨率测试区域的第9条（240 nm间距）和第6条（150 nm间距）的光强分布

3.2 光漂白和光毒性

点扫描共聚焦需要较高功率的激光光源，且长时间照射样品容易导致样品的光漂白和光毒性，对活细胞的生理状态和细胞活性可能产生较大影响，不适合长时间观察活细胞。

在转盘共聚焦中，无论是双转盘还是单转盘，其光漂白特性均受到样品上的激光强度限制。由于多点并行扫描减少了单个点的曝光时间，降低了对样品的光漂白和光毒性，使活细胞能够在更自然的状态下成像，更适合活细胞的长时间观察。

需要注意的是，虽然双转盘共聚焦利用微透镜阵列让更多的激光进入系统，但由于双转盘共聚焦使用的激光强度较低，导致它和单转盘照射到样品上的激光强度是一样的；在激发与探测方面，两者除了激发光进入针孔的方式与效率不一致以外，在激发光到样品、样品荧光到针孔阵列、针孔阵列到探测器 3个方面均完全一致。这一点从图 1可以看出来。

3.3 信噪比

点扫描共聚焦的信噪比较高，因为它使用单点照明和单点探测的方式，不存在多点并行激发带来的串扰问题，因此其背景噪声较低，能获得清晰的图像，尤其在厚组织的情况下表现较好。

双转盘共聚焦由于针孔盘不可自行设计，其针孔之间的串扰信噪比相对稍低。双转盘共聚焦的针孔设置按照“直径:间距”标示，典型的有 25:250、40:250、50:250等[11]，第 1个数字代表针孔直径，第 2个数字代表针孔间距，单位为微米。由于针孔间距和微透镜阵列的间距必须一致，因此它也同时代表了一般微透镜直径为250 μm。

通过针对不同的散射样品采用不同间距的针孔配置，单转盘共聚焦可以在牺牲一定成像速度的前提下，通过增大针孔间距来实现较高的信噪比。当需要提升分辨率时，由于单转盘共聚焦没有色差，可以通过缩小针孔来得到更高的分辨率。而双转盘共聚焦缩小针孔后，会造成不同波长过孔效率不一致，导致照明功率降低。这是单转盘共聚焦相对双转盘共聚焦的一个明显优势。

3.4 成像速率

在点扫描共聚焦中，由于成像是串行，当我们需要按照帧率为 1 fps的速度进行 1 000 × 1 000（*x* 方向 1 000个像素，*y* 方向 1 000行）的图像采集时[12]：①垂直同步信号控制 *y* 轴扫描，完成全部 1 000行扫描需要 1 s，其频率等于帧率（1 Hz）；②水平同步信号控制 *x* 轴扫描，完成一行 1 000个像素的扫描并返回需要 1/1 000 s，其频率为帧率乘以行数（1 000 Hz）；③像素时钟控制每个像素点的曝光时间，为 $1/10^6$ s，频率为帧率乘以总像素数（10^6 Hz）。

由于 *x* 轴扫描通常由检流计实现，其速度受限（最

高约1 000 Hz），导致成像速度较慢（通常约1 fps），提升速度需改用更快的扫描器件（如共振镜或多面镜），因此，点扫描共聚焦难以满足活细胞快速动态过程的观测需求。

转盘共聚焦采用针孔阵列实现并行成像。激发与探测针孔一一对应，并以阿基米德螺线排列于转盘上，转动时实现均匀扫描。该设计需平衡针孔大小和间距：间距过小会导致串扰，丧失光学层切能力；间距过大则退化为单点扫描，无法提速。得益于多焦点同步扫描，转盘共聚焦可实现每秒数十至数千帧的成像速度，能更好地捕捉活细胞内的动态过程[13]，适合对快速变化的生物事件进行实时成像和长时间观察[14]。

在探测器方面，点扫描共聚焦通常使用PMT进行信号采集，其灵敏度高，但量子效率较低，且动态范围有限。转盘共聚焦由于可以使用面阵相机如背照式科研级互补金属氧化物半导体传感器（scentific complementary metal-oxide-semiconductor, sCMOS），具有较高的量子效率和较低的噪声，能够提高信号采集效率和图像质量，同时成本相对较低。如图3所示，PMT的量子效率低于背照式sCMOS，而点扫描共聚焦和单转盘共聚焦在成像速度上会有数量级上的差距，对于点扫描共聚焦显微镜，在视野512×512像素的情况下，成像速度通常是30 fps，而对于单转盘共聚焦显微镜，采用超高速相机采集3 200×800像素的视野下，能够达到2 000 fps。

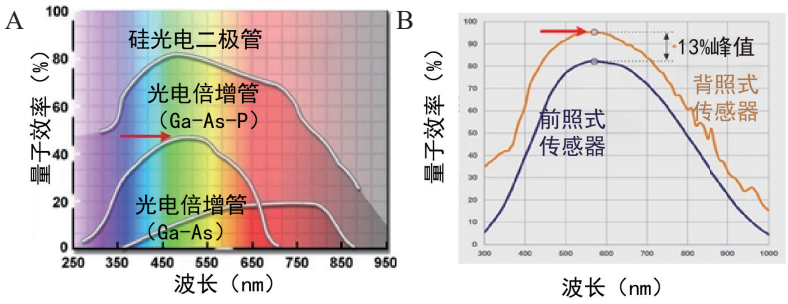


图3 点扫描共聚焦与转盘共聚焦的探测器量子效率对比[15] A为光电倍增管量子效率与波长关系；B为科研级互补金属氧化物半导体传感器量子效率与波长关系

3.5 系统复杂性

点扫描共聚焦需要精确的机械扫描装置和复杂的光学系统来实现单点激光的精确扫描和信号检测。由于其只需要处理一个点发出的信号，因此在时间寿命成像、光谱自由调节等方面，能够拓展荧光寿命成像显微镜（fluorescence lifetime imaging microscopy, FLIM）[16]、拉曼[17]、可调光谱探测等功能，丰富用户的使用，但是点扫描共聚焦的设备成本较高，维护也相对复杂。

双转盘共聚焦由于需要将所有的微透镜与微针孔进行一一配准，因此其双转盘单元非常复杂，设备成本较高，这也造成了微针孔阵列只有固定的几种，且针孔大小相对较大，无法根据用户的样品进行优化。由于转盘失配需要返厂，其后期维护成本相对较高。

单转盘共聚焦系统结构相对前两者更为简单，且能够获得更大的成像视野，并且可以自由设计微针孔大小与间距。其安装和操作较为方便，设备成本和维护成本相对较低。它的成本主要在于，由于针孔直径小、间距大，导致通光效率较低，需要采用大功率激光进行弥补。因此，单转盘共聚焦在使用大功率激光器的情况下，激光过针孔后，照射到样品的功率能够保证与双转盘是一致的。基于3种共聚焦系统的各项性能对比，可以看出单转盘共聚焦系统的技术优势，如表1所示。

4 总结

本文对荧光共聚焦中的点扫描共聚焦和转盘共聚焦的两类代表性技术即双转盘共聚焦与单转盘共聚焦进行了对比。点扫描共聚焦采用单点激发单点探测的串行成像方式，成像速度较慢，不适合长时间观察快速动态变化的活细胞过程；而转盘共聚焦采用多点激发多点探测的并行成像方式，成像速度快，可捕捉活细胞内的动态过程。本文还分析了双转盘共聚焦系统存在的问题，如微透镜盘和微针孔盘必须精确对准、视野受二向色镜大小限制、成像质量受限、盘片系统加重导致转速受限、盘片系统需要精密配准等。基于这些问题，开发出了无天花板的单转盘共聚焦系统，其具有多色、快速、易用、稳定等特色，包括不同波长激发效率均一、转速快、视野大、光学质量高、可根据不同需求定制针孔大小和间距、系统稳定性高、成本低等诸多优势，并通过分辨率测试等对性能进行了分析，如

表 1 3种共聚焦系统各项性能对比

参数	点扫描共聚焦系统	双转盘共聚焦系统	单转盘共聚焦系统
分辨率	最高 （针孔可调至最小，光学切片能力强）	较高 （为了平衡各种物镜和补偿微透镜阵列带来的色差，针孔的尺寸不能做得太小，且盘片更换难度大）	较高 （单转盘针孔可自由更换，替换简单）
穿透深度	较深 （小针孔限制散射光收集）	较深 （双转盘平衡信噪比和穿透能力）	最深 （单转盘针孔设计灵活，可以收集更多散射光）
光漂白	最严重 （激光功率集中照射一个区域）	较轻 （并行扫描降低单点光强）	最轻 （相同曝光时间内能够更快速扫描，减少持续光照时间）
光毒性	最高 （长时间局部照射）	较低 （分散照射）	最低 （快速成像减少曝光）
信噪比	最优 （严格的光学切片抑制背景）	较高 （双转盘抑制杂散光）	较高 （与双转盘相同孔间距的情况下抑制杂散光效果相同）
成像速率	最慢 （逐点扫描）	较快 （双转盘下无法高速旋转）	最快 （单个转盘可以高速旋转）
系统复杂性	复杂 （需精密扫描部件和针孔调节，调节难度高）	较复杂 （双转盘对齐和维护要求高，调节难度高）	简单 （机械结构更简洁，系统调节难度低）
成像视野	中等 （成像视野需要平衡成像速度）	中等 （成像视野受二向色镜尺寸的限制）	最大 （成像视野不受限制）

光学分辨率在*xy*方向可达230 nm，在*z*轴方向可达470 nm，计算分辨率在*xy*方向可达140 nm，在*z*轴方向可达300 nm。本文还对点扫描共聚焦、双转盘共聚焦和单转盘共聚焦在分辨率和穿透深度等方面的性能进行了对比分析。综合比较显示，单转盘技术在成像视野、成像速率、光毒性和系统复杂性等方面均优于点扫描和双转盘技术，使其在生物医学研究中展现出突出的应用价值。

[参 考 文 献]

[1] Elliott A D. Confocal microscopy: principles and modern practices [J]. Current Protocols in Cytometry, 2020, 92(1): e68.

[2] Schueder F, Lara-Gutiérrez J, Beliveau B J, et al. Multiplexed 3D super-resolution imaging of whole cells using spinning disk confocal microscopy and DNA-PAINT [J]. Nature Communications, 2017, 8: 2090.

[3] 李怡霏, 何木斌, 吴天翔, 等. 近红外二区共聚焦显微技术的进展及应用（特邀）[J]. 红外与激光工程, 2022, 51(11): 20220494.

[4] Pawley J B. Handbook of biological confocal microscopy [M]. 3rd ed. New York: Springer, 2006.

[5] Wang D, Chen Y, Wang Y, et al. Comparison of line-scanned and point-scanned dual-axis confocal microscope performance [J]. Optics Letters, 2013, 38(24): 5280-5283.

[6] George N. Spinning disk vs. laser-scanning confocal microscopes [EB/OL]. [2025-05-28]. https://www.photonics.com/Articles/Spinning_Disk_vs_Laser-Scanning_Confocal/a20129.

[7] Xi P, Rajwa B, Jones J T, et al. The design and construction of a cost-efficient confocal laser scanning microscope [J]. American Journal of Physics, 2007, 75(3): 203-207.

[8] Stehbens S, Pemble H, Murrow L, et al. Imaging intracellular protein dynamics by spinning disk confocal microscopy [J]. Methods in Enzymology, 2012, 504: 293-313.

[9] Toomre D K, Langhorst M F, Davidson M W. Introduction to spinning disk confocal microscopy [EB/OL]. [2025-05-28]. https://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/spinningdisk/introduction.html.

[10] Mikuriya K, Yoshida T, Kei T. Confocal microscope: US7400446B2 [P]. 2008-07-15.

[11] iScopeCalc: mobile microscope calculator [EB/OL]. [2025-05-28]. https://www.iscopecalc.com/.

[12] Xi P, Liu Y, Ren Q, et al. Scanning and image reconstruction techniques in confocal laser scanning microscopy [M]//Laser scanning, theory and Applications. Rijeka: IntechOpen, 2011.

[13] Shimozawa T, Yamagata K, Kondo T, et al. Improving spinning disk confocal microscopy by preventing pinhole cross-talk for intravital imaging [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(9): 3399-3404.

[14] Nelson M, Ledoux J, Taylor M, et al. Spinning disk confocal microscopy of calcium signalling in blood vessel walls [J]. Microscopy and Analysis (Americas Ed.), 2010, 24(2): 5-8.

[15] Spring K R, Davidson M W. Concepts in digital imaging technology: electronic imaging detectors [EB/OL]. [2025-05-28]. http://hamamatsu.magnet.fsu.edu/articles/digitalimagingdetectors.html.

[16] Richards M, Shirakawa Y, Badr F, et al. A multiplexed confocal FLIM microscope with 4-taps time-gated imager [C]// Proceedings Volume 11245, Three-Dimensional and Multidimensional Microscopy: Image Acquisition and Processing XXVII. San Francisco: SPIE, 2020: 61-65.

[17] Cui H, Zhao W, Wang Y, et al. Improving spatial resolution of confocal Raman microscopy by super-resolution image restoration [J]. Opt Express, 2016, 24(10): 10767-10776.