



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102591100 B

(45) 授权公告日 2015. 09. 02

(21) 申请号 201210071161. 0

CN 1641397 A, 2005. 07. 20,

(22) 申请日 2012. 03. 16

US 2007/0253733 A1, 2007. 11. 01,

JP 3709238 B2, 2005. 10. 26,

(73) 专利权人 盛司潼

审查员 赵晓娟

地址 518057 广东省深圳市南山区高新区科
技中二路软件园二期 11 栋 4 楼北 402
室

(72) 发明人 盛司潼

(51) Int. Cl.

G03B 13/36(2006. 01)

G02B 7/36(2006. 01)

G01N 21/64(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101460953 A, 2009. 06. 17,

CN 1330775 A, 2002. 01. 09,

CN 1867851 A, 2006. 11. 22,

CN 1191983 A, 1998. 09. 02,

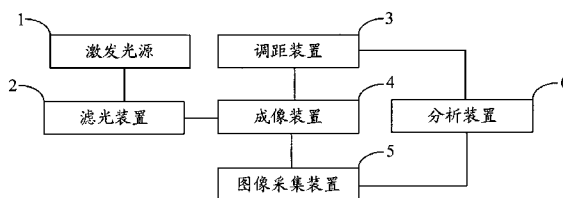
权利要求书2页 说明书11页 附图4页

(54) 发明名称

一种测序采图设备的自动聚焦系统及其方法

(57) 摘要

本发明涉及光学成像领域, 提供了一种测序采图设备的自动聚焦系统及其方法。所述系统包括: 图像采集装置、成像装置、滤光装置、激发光源、调距装置和分析装置。所述方法包括以下步骤: A. 激发光源发出的激发光通过滤光装置到达测序反应腔, 成像装置成像后, 图像采集装置采集成像装置所成的图像, 得一张图像; B. 调距装置调距, 重复步骤 A, 得多张图像; C. 分析装置过滤多张图像的干扰信号, 利用信号分布曲线对采集的多张图像进行自动聚焦分析, 得最佳聚焦距离; D. 分析装置控制调距装置调节测序反应腔和成像装置之间的距离到最佳聚焦距离。上述系统和方法, 使得测序采图设备聚焦更加精确。



1. 一种测序采图设备的自动聚焦系统,其特征在於,包括图像采集装置、成像装置、滤光装置、激发光源、调距装置和分析装置;

所述激发光源,位于滤光装置的一侧,用于提供激发光;

所述滤光装置,位于成像装置的一侧,用于滤除激发光源发出的激发光中的干扰光,滤除干扰光的激发光达到测序反应腔;

所述调距装置,位于成像装置的一侧,用于调节测序反应腔和成像装置之间的距离;

所述成像装置,用于对测序反应腔进行成像;

所述图像采集装置,位于成像装置的一侧,用于通过成像装置采集图像;

所述分析装置,与调距装置和图像采集装置连接,用于控制调距装置运行,并固定过滤时的步长和阈值,利用多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 过滤图像采集装置获得的多张图像的干扰信号,得有用信号,然后利用图像评价函数,对有用信号进行评价,得每张过滤后的图像的信号值,对多张过滤后的图像的信号值进行拟合,得一条信号分布曲线;然后改变过滤时的步长或阈值,重复上述过滤、评价和拟合过程,获得多条信号分布曲线,再通过筛选获得最佳信号分布曲线,最佳信号分布曲线最高点对应的一张图像被采集时的位置为最佳聚焦距离;

所述多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 为:

$$f(x, y) = |g(x + step, y) + g(x - step, y) + g(x, y + step) + g(x, y - step) - 4g(x, y)| \text{ 或}$$

$$f(x, y) = |g(x + step, y) + g(x - step, y) + g(x + \frac{\sqrt{2}}{2} step, y + \frac{\sqrt{2}}{2} step) + g(x - \frac{\sqrt{2}}{2} step, y + \frac{\sqrt{2}}{2} step) +$$

$$g(x, y + step) + g(x, y - step) + g(x - \frac{\sqrt{2}}{2} step, y - \frac{\sqrt{2}}{2} step) + g(x + \frac{\sqrt{2}}{2} step, y - \frac{\sqrt{2}}{2} step) - 8g(x, y)|;$$

所述 $g(x, y)$ 表示在图像的点在 (x, y) 处的图像灰度值,所述 step 表示步长;

当 $f(x, y) \geq Y$, 为有用信号,保留该点的信号;当 $f(x, y) < Y$, 为干扰信号,将干扰信号滤除;

所述步长为自然数 1, 2, 3 或 4; 上述阈值 Y 为 $R+mL$, 所述 m 为自然数, 所述 R 与 L 均为整数。

2. 根据权利要求 1 所述的测序采图设备的自动聚焦系统,其特征在於,所述滤光装置包括多个具有滤光作用的滤光片。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的测序采图装置的自动聚焦系统,其特征在於,所述图像采集装置能将图像像素转换成数字信号,并存储该数字信号。

4. 一种基于权利要求 1 所述的测序采图设备的自动聚焦系统进行自动聚焦的方法,其特征在於,包括以下步骤:

A. 激发光源发出的激发光通过滤光装置到达测序反应腔,成像装置成像后,图像采集装置采集成像装置所成的图像,得一张图像;

B. 调距装置调距,重复步骤 A,得多张图像;

C. 分析装置过滤多张图像的干扰信号,利用信号分布曲线对采集的多张图像进行自动

聚焦分析,得最佳聚焦距离;

D. 分析装置控制调距装置调节测序反应腔和成像装置之间的距离到最佳聚焦距离;
所述步骤 C 包括以下步骤:

C1. 分析装置过滤图像的干扰信号;

C2. 分析装置拟合多条信号分布曲线;

C3. 分析装置筛选信号分布曲线,得最佳信号分布曲线;

C4. 最佳信号分布曲线最高点对应一张图像的信号值,采集该图像时的位置即为最佳聚焦距离;

所述步骤 C1、C2 具体为:

C11. 固定过滤时的步长和阈值,分析装置利用多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$, 过滤多张图像的干扰信号,得有用信号;

C12. 分析装置利用图像评价函数,对有用信号进行评价,得每张过滤后的图像的信号值;

C13. 对多张图像过滤后的图像的信号值进行拟合曲线,得一条信号分布曲线;

C14. 改变过滤时的步长或阈值,重复步骤 C11 至 C13,得多条信号分布曲线。

5. 根据权利要求 4 所述的测序采图设备的自动聚焦的方法,其特征在于,所述步骤 B 包括以下步骤:

B1. 调距装置以爬行长度 C_r 移动测序反应腔和 / 或成像装置,调节测序反应腔与成像装置之间的距离,也即调节焦距;

B2. 在每个焦距处利用图像采集装置采集测序反应腔内的图像;

B3. 得多张图像。

6. 根据权利要求 4 所述的测序采图设备的自动聚焦的方法,其特征在于,所述步骤 C12 中,所述图像评价函数为 $F(x, y) = \sum_x^M \sum_y^N f(x, y)$ 。

7. 根据权利要求 4 所述的测序采图设备的自动聚焦的方法,其特征在于,所述步骤 C3 包括以下步骤:

C31. 分析装置验证信号分布曲线是否符合正态分布;

C32. 分析装置利用曲线评价函数,对符合正态分布的信号分布曲线进行评价;

C33. 得最佳信号分布曲线。

8. 根据权利要求 7 所述的测序采图设备的自动聚焦的方法,其特征在于,所述曲线评价函数为 $Q(s) = k_1 * b(s) + k_2 * c(s)$; 所述 $b(s)$ 为信号分布曲线的单峰性评价值; $c(s)$ 为信号分布曲线的单调性评价值; 所述 k_1 和 k_2 为常数,分别表示信号分布曲线的单峰性和单调性的权重。

一种测序采图设备的自动聚焦系统及其方法

技术领域

[0001] 本发明涉及光学成像领域,更具体地说,涉及一种测序采图设备的自动聚焦系统及其方法。

背景技术

[0002] 测序采图设备用于对测序反应腔内的图像进行采集,便于后续的数据分析与处理。

[0003] 一种现有技术中,测序采图设备的自动聚焦系统包括:显微镜、照相机和光源。该光源发出的光通过显微镜直接照射至测序反应腔内,照相机通过显微镜采集测序反应腔内的图像,其中,测序反应腔用于固定待测样品并提供发生测序反应场所。在本技术方案中光源发出的光直接射到测序反应腔内,光源发出的光未经过过滤,其中的干扰光会激发测序反应腔内的样品,使样品发出多种光,从而使采集的图像模糊不清,影响后续的数据分析与处理;同时,该方案的自动聚焦需通过肉眼来确定图像是否清晰,进而确认聚焦是否成功,一方面由于人眼的误差,造成聚焦失败,另一方面浪费了人力资源。

[0004] 另一种现有技术中,测序采图设备的自动聚焦的方法为:通过移动镜头,采集多张图像,对采集到的每张图像进行清晰度评价;图像清晰度评价函数为

$$Y_L = \frac{1}{MN} \sum_{x=1}^{N-1} \sum_{y=1}^{M-1} (|v(x, y) - v(x, y-1)| + |v(x, y) - v(x-1, y)|)$$

通过清晰度评价函数,评价出在

哪个焦距点图像最清晰,图像最清晰的点所在的焦距点即为最佳聚焦点;然后,镜头伸缩到最佳聚焦点进行拍图。

[0005] 上述测序采图设备的自动聚焦的方法中,采集的图像会有多个干扰信号,在清晰度评价时,干扰信号也参与了图像清晰度评价,最终使得图像清晰度评价值不准确,从而导致自动聚焦点不是最佳聚焦点。同时,该方案中的图像清晰度评价函数采用的是两点聚焦评价方式,即,只取两点对信号进行评价,使得信号评价的误差大,评价结果不准确,从而导致自动聚焦评价得到的最佳聚焦点并非为真正的最佳聚焦点,从而导致自动聚焦失败。

[0006] 因此,需要一种能够实现精确聚焦的自动聚焦系统和自动聚焦方法。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种测序采图设备的自动聚焦系统及其方法,旨在解决现有技术自动聚焦不精确导致自动聚焦失败的问题。

[0008] 为了实现发明目的,测序采图设备的自动聚焦系统包括:包括激发光源、滤光装置、调距装置、成像装置、图像采集装置和分析装置。其中,所述激发光源,位于滤光装置的一侧,用于提供激发光;所述滤光装置,位于成像装置的一侧,用于滤除激发光源发出的激发光中的干扰光,滤除干扰光的激发光达到测序反应腔;所述调距装置,位于成像装置的一侧,用于调节测序反应腔和成像装置之间的距离;所述成像装置,用于对测序反应腔进行成像;所述图像采集装置,位于成像装置的一侧,用于通过成像装置采集图像;所述分析装

置,与调距装置和图像采集装置连接,用于控制调距装置运行,并用于分析图像的清晰度,得最佳聚焦距离。

[0009] 其中,所述调距装置可以通过调节成像装置,或调节调节测序反应腔,或同时调节成像装置和测序反应腔来实现对成像装置和测序反应腔之间距离的调节。

[0010] 其中,所述滤光装置包括多个具有滤光作用的滤光片。该滤光片能够过滤不同波长的光,允许特定波长的光通过。

[0011] 优选的,上述滤光装置有 4 个滤光片。

[0012] 其中,所述的激发光源发出的激发光能够激发测序反应腔中携带标记物的样品发光。

[0013] 优选的,所述激发光源发出的激发光为激光。

[0014] 优选的,所述激发光源为汞灯。

[0015] 其中,所述的激发光源发出的激发光能够激发测序反应腔中携带标记物的样品发光。

[0016] 当需要采集图像时,激发光源发出激发光,通过滤光装置滤除不需要的激发光后,留下特定波长的激发光到达测序反应腔,测序反应腔内携带标记物的样品接收到激发光后,便发出荧光。此时,分析装置控制调距装置调节成像装置或者测序反应腔,成像装置对测序反应腔内的图像进行成像,图像采集装置采集测序反应腔内的图像。

[0017] 其中,每次自动聚焦时,图像采集的位置不限;但在同一次自动聚焦时,图像采集装置在采集用作自动聚焦分析的多张图像时,对测序反应腔的同一位置采集图像;在自动聚焦完毕后,图像采集装置可以对自动聚焦的平面内任意位置进行图像采集。

[0018] 其中,所述图像采图装置能将图像像素转换成数字信号,并存储该数字信号。该装置为任意能将图像像素转换成数字信号的图像采集装置。

[0019] 优选的,所述图像采集装置还能存储转换后的数字信号。

[0020] 优选的,所述图像采集装置为 CCD (Charge-coupled Device, 电荷耦合元件)。

[0021] 为了更好的实现发明的目的,本发明提供了基于上述任一种测序采图设备的自动聚焦系统进行自动聚焦的方法,包括:步骤 A. 激发光源发出的激发光通过滤光装置到达测序反应腔,成像装置成像后,图像采集装置采集成像装置所成的图像,得一张图像;步骤 B. 调距装置调距,重复步骤 A,得多张图像;步骤 C. 分析装置过滤多张图像的干扰信号,利用信号分布曲线对采集的多张图像进行自动聚焦分析,得最佳聚焦距离;步骤 D. 分析装置控制调距装置调节测序反应腔和成像装置之间的距离到最佳聚焦距离。

[0022] 其中,调距装置调节成像装置,使成像装置在距测序反应腔的不同距离处,对测序反应腔的同一采图位置进行成像,图像采图装置通过成像装置采图。每调距一次,图像采图装置采集一张图像,得多张图像。

[0023] 其中,所述步骤 B 包括:步骤 B1. 调距装置以爬行长度 C_r 移动测序反应腔和 / 或成像装置,调节测序反应腔与成像装置之间的距离,也即调节焦距;步骤 B2. 在每个焦距处利用图像采集装置采集测序反应腔内的图像;步骤 B3. 得多张图像。

[0024] 优选的, C_r 的取值范围为: $0.2 \mu\text{m} \leq C_r \leq 2 \mu\text{m}$ 。

[0025] 进一步优选的, C_r 的取值为 $1.0 \mu\text{m}$ 。

[0026] 其中,所述步骤 C 包括:步骤 C1. 分析装置过滤图像的干扰信号;步骤 C2. 分析

装置拟合多条信号分布曲线；步骤 C3. 分析装置筛选信号分布曲线，得最佳信号分布曲线；
C4. 最佳信号分布曲线最高点对应一张图像的信号值，采集该图像时的位置即为最佳聚焦距离。

[0027] 其中，所述步骤 C1 包括：步骤 C11. 分析装置利用多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ ，过滤图像的干扰信号，得有用信号；步骤 C12. 分析装置利用图像评价函数，对有用信号进行评价，得每张过滤后的图像的信号值。

[0028] 优选的，上述步骤 C12 中的图像评价函数为 $F(x, y) = \sum_x^M \sum_y^N f(x, y)$ 。

[0029] 其中，所述步骤 C11 中，所述多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 可采用不同的步长或不同的阈值滤除干扰信号。

[0030] 优选的，多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 为：

[0031] $f(x, y) = |g(x+s, y) + g(x-s, y) + g(x, y+s) + g(x, y-s) - 4g(x, y)|$ 。

[0032] 优选的，多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 为：

[0033] $f(x, y) = |g(x+s, y) + g(x-s, y) + g(x + \frac{\sqrt{2}}{2}s, y + \frac{\sqrt{2}}{2}s) + g(x - \frac{\sqrt{2}}{2}s, y + \frac{\sqrt{2}}{2}s) +$

[0034] $g(x, y+s) + g(x, y-s) + g(x - \frac{\sqrt{2}}{2}s, y - \frac{\sqrt{2}}{2}s) + g(x + \frac{\sqrt{2}}{2}s, y - \frac{\sqrt{2}}{2}s) - 8g(x, y)|$ 。

[0035] 其中， $g(x, y)$ 表示在图像的点 (x, y) 处，图像的灰度值。 s 表示步长。

[0036] 当 $f(x, y) \geq Y$ ，为有用信号，保留该点的信号；当 $f(x, y) < Y$ ，为干扰信号，将干扰信号滤除。

[0037] 上述步长 s 不限，阈值 Y 不限。

[0038] 优选的，上述步长为自然数 1, 2, 3, 4。优选的，上述阈值 Y 为 $R+mL$ (m 为自然数， R 与 L 均为整数)。

[0039] 其中，在对图像进行信号评价时，同一张图像，利用多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 对信号进行过滤，取的步长不同或阈值不同，得不同的信号值。

[0040] 其中，上述步骤 C2 中，对步骤 C1 中的多张图像利用相同步长和相同阈值过滤，得在相同步长和相同阈值下的多张图像的信号值，对多张图像的信号值进行拟合曲线，得一条信号分布曲线。

[0041] 其中，上述步骤 C2 中，改变步骤 C1 中的步长或阈值，对多张图像进行过滤，得多张图像的信号值，对多张图像的信号值进行拟合，得多条信号分布曲线。

[0042] 在对图像进行过滤时，对采用相同步长和相同阈值的多张图像进行过滤，得到的信号值进行拟合，得一条信号分布曲线。改变步长或者改变阈值，均可得到每张图像的在不同步长或不同阈值下的信号值，对多张图像在相同步长和相同阈值下的信号值进行拟合，得信号分布曲线。也即采用相同步长和相同阈值对多张图像进行过滤后拟合，得一条信号分布曲线；采用不同步长或不同阈值对多张图像进行过滤后拟合，得多条信号分布曲线。

[0043] 其中，上述步骤 C3 包括：步骤 C31. 分析装置验证信号分布曲线是否符合正态分布；步骤 C32. 分析装置利用曲线评价函数，对符合正态分布的信号分布曲线进行评价；步骤 C33. 得最佳信号分布曲线。

[0044] 其中，曲线评价函数优选为 $Q(s) = k_1 * b(s) + k_2 * c(s)$ 。其中， $b(s)$ 为信号分布曲

线的单峰性的评价值, $c(s)$ 为信号分布曲线的单调性的评价值, k_1 和 k_2 为常数, 分别为表示信号分布曲线的单峰性和单调性的权重。

[0045] 其中, $Q(s)$ 最大时对应的信号分布曲线为最佳信号分布曲线。

[0046] 最佳信号分布曲线的最高点对应一张图像的信号值, 采集该图像时的位置即为最佳聚焦距离, 分析装置控制调距装置测序反应腔和成像装置之间的距离到最佳聚焦距离。

[0047] 由上可知, 本发明的测序采图设备的自动聚焦系统通过对激发光源过滤, 得到纯净的激发光, 利用纯净的激发光激发携带标记物的样品, 使得样品发出单色光, 从而采集到清晰的图像; 另外, 分析装置控制调距装置调焦, 避免了人工调焦的误差, 实现了系统的精确自动聚焦。同时, 本发明的测序采图设备的自动聚焦的方法采用图像信号过滤、多点聚焦评价, 使得自动聚焦更精确。

附图说明

[0048] 图 1 是本发明一个实施例中测序采图设备的自动聚焦系统的结构示意图;

[0049] 图 2 是本发明另一个实施例中测序采图设备的自动聚焦系统的结构示意图;

[0050] 图 3 是本发明一个实施例中滤光装置的结构示意图;

[0051] 图 4 是本发明另一个实施例中滤光装置的结构示意图;

[0052] 图 5 是本发明一个实施例中测序采图设备的自动聚焦的方法流程图;

[0053] 图 6 是本发明一个实施例中采集图像的方法流程图;

[0054] 图 7 是本发明一个实施例中对图像进行聚焦分析的方法流程图;

[0055] 图 8 是本发明一个实施例中过滤图像中干扰信号的方法流程图;

[0056] 图 9 是本发明一个实施例中筛选最佳信号分布曲线的方法流程图;

[0057] 图 10 是本发明一实施例中信号评价曲线图;

[0058] 图 11 是本发明另一实施例中信号评价曲线图。

具体实施方式

[0059] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白, 以下结合附图及实施例, 对本发明进行进一步详细说明。

[0060] 图 1 示出了本发明一实施例中测序采图设备的自动聚焦系统的结构示意图, 该系统包括: 激发光源 1、滤光装置 2、调距装置 3、成像装置 4 和图像采集装置 5。其中:

[0061] (1) 激发光源 1, 位于滤光装置 2 的一侧, 用于提供激发光。

[0062] 所述激发光源为能够激发荧光物质发光的激发光。该激发光源为一个或多个。优选的, 汞灯光源或激光。

[0063] (2) 滤光装置 2, 位于成像装置 4 的一侧, 用于滤除激发光源 1 发出的激发光中的干扰光, 滤除干扰光的激发光达到测序反应腔。

[0064] 所述滤光装置为能够允许特定波长的光通过的装置, 其他波长的光不能通过, 除此之外无特殊限制。优选的, 该滤光装置为滤光片。

[0065] (3) 调距装置 3, 位于成像装置 4 的一侧, 用于调节测序反应腔和成像装置之间的距离。

[0066] 所述调节装置可以为任意可以在三维空间上移动的装置, 比如由电机、丝杆、导

轨、编码器组成能在三维空间上移动的装置。

[0067] (4) 成像装置 4,用于对测序反应腔进行成像。

[0068] 所述成像装置为将近处的微小物体成一放大的像。对此成像装置无特殊限制,市场上销售的均适用于本发明中。优选的,该成像装置为显微镜或放大镜。

[0069] (5) 图像采集装置 5,位于成像装置 4 的一侧,用于通过成像装置 4 采集图像。

[0070] 所述图像采集装置将采集图像的图像像素转化为数字信号,并存储在图像采集装置中。优选的,图像采集装置为 CCD、CMOS 摄像机中的任意一种。

[0071] (6) 分析装置 6,与调距装置 3 和图像采集装置 5 连接,用于控制调距装置 3 运行,并用于分析图像的清晰度,得最佳聚焦距离。

[0072] 所述分析装置能够实现对数据的分析和处理,并发出相应的指令。优选为芯片或单片机与外围电路组成的装置,或者个人计算机。所述分析装置和图像采集装置传输数字信号,优选的,所述装置通过 RS232 或 USB 接口进行信号传输。

[0073] 本实施例中的测序反应腔为核酸测序装置中用来固定样品,进行测出反应的部件。目前市场上销售的核酸测序装置均有该部件,对此部件无具体限制,凡是核酸测序装置中的测序反应腔均适用于本实施例。

[0074] 在本实施例中,调距装置 3 调节成像装置 4,使成像装置 4 移动。在自动聚焦时,分析装置 6 控制调距装置 3 调节成像装置 4,每调节一次成像装置 4,图像采集装置 5 对测序反应腔采集一张图像。当采集到多张图像时,分析装置 6 对采集的图像的清晰度进行分析,从而得到自动聚焦的最佳聚焦距离;同时,分析装置 6 控制调距装置 3 调节成像装置 4 使之与测序反应腔的距离为最佳聚焦距离,图像采集装置 5 采集图像。所述的激发光源发出的激发光能够激发测序反应腔中携带标记物的样品发光。

[0075] 本实施例中,测序采图设备的自动聚焦系统采集图像的过程如下:激发光源 1 发出激发光,通过滤光装置 2 滤除激发光中的干扰光,留下特定波长的激发光到达测序反应腔,测序反应腔内携带标记物的样品接收到激发光后,便发出荧光。分析装置 6 控制调距装置 3 调节成像装置 4,使测序反应腔与成像装置 4 的距离根据采集图像的需要变化。此时,成像装置 4 对测序反应腔内的图像进行成像,图像采集装置 5 通过成像装置 4 采集测序反应腔内的图像,分析装置 6 对图像进行分析,得出最佳聚焦距离,然后,分析装置 6 控制调距装置 3 调节测序反应腔和成像装置 4 之间的距离到最佳聚焦距离。

[0076] 本实施例的技术方案通过过滤激发光中的干扰光,使得测序反应腔中接收的激发光为纯净的激发光,从而使得样品发出单色光,为后续自动聚焦图像分析提供了可靠的保证,从而使得自动聚焦更精确,最终使图像采集装置拍摄的图像更清晰;另外,本实施例的技术方案通过分析装置控制调距装置自动调距,避免了人眼调焦的误差造成自动聚焦不精确,也大大节约了人力资源;同时,分析装置对图像的清晰度进行分析,从而得出最佳聚焦距离,也即最佳聚焦位置,从而进一步保证了自动聚焦的精确性。

[0077] 基于上一实施例,本发明提出另一实施例,如图 2 所示。该系统包括:激发光源 1、滤光装置 2、调距装置 3、成像装置 4、图像采集装置 5、分析装置 6 和测序反应腔 7。其中:

[0078] (1) 激发光源 1,位于滤光装置 2 的一侧,用于提供激发光。

[0079] (2) 滤光装置 2,位于成像装置 4 的一侧,用于滤除激发光源发出的激发光中的干扰光,滤除干扰光的激发光达到采取区域。

[0080] (3) 调距装置 3, 位于成像装置 4 的一侧, 用于调节测序反应腔和成像装置 4 之间的距离。

[0081] (4) 成像装置 4, 用于对测序反应腔 7 进行成像。

[0082] (5) 图像采集装置 5, 位于成像装置 4 的一侧, 用于通过成像装置 4 采集图像。

[0083] (6) 分析装置 6, 与调距装置 3 和图像采集装置 5 连接, 用于控制调距装置 3 运行, 并用于分析图像的清晰度, 得最佳聚焦距离。

[0084] (7) 测序反应腔 7, 位于成像装置 4 的一侧, 用于固定待测样品并提供发生测序反应的场所。

[0085] 本实施例中的测序反应腔为核酸测序装置中用来固定样品, 进行测出反应的部件。目前市场上销售的核酸测序装置均有该部件, 对此部件无具体限制, 凡是核酸测序装置中的测序反应腔均适用于本实施例。优选的, 本测序反应腔为三层结构构成的测序反应腔。该测序反应腔可以单通道测序反应腔, 也可以是多通道测序反应腔。

[0086] 在本实施例中, 调距装置 3 调节成像装置 4 和测序反应腔 7, 使成像装置和测序反应腔移动。分析装置 6 分析图像采集装置 5 采集的图像, 得最佳聚焦距离, 然后分析装置控制调距装置 4 调节测序反应腔和成像装置之间的距离到最佳聚焦距离, 测序反应腔 7 为采图区域, 图像采集装置 5 采集测序反应腔 7 内的图像, 得图像。

[0087] 在本实施例中, 测序采图设备的自动聚焦系统需要采集图像时, 激发光源 1 发出激发光, 通过滤光装置 2 过滤掉干扰光后, 留下特定波长的激发光到达测序反应腔, 测序反应腔内携带标记物的样品接收到激发光后, 便发出荧光。分析装置 6 控制调距装置 3 调节成像装置 4 和测序反应腔 7, 使测序反应腔 7 与成像装置 4 之间的距离根据采集图像的需要不断变化。此时, 成像装置 4 对测序反应腔 7 内的图像进行成像, 图像采集装置 5 通过成像装置 4 采集测序反应腔内 6 的图像, 得图像。

[0088] 本实施例中, 滤光装置滤除干扰光, 分析装置控制调距装置调节测序反应腔和成像装置之间的距离, 使得图像采集装置采集到清晰的图像, 从而保证采集到图像数据更可靠, 最终使得分析装置分析的图像数据更可靠, 使得最佳聚焦距离更精确, 也即实现了精确的自动聚焦。另外, 调距装置同时调节成像装置和测序反应腔来调节焦距, 使得调焦更精确, 从而使得自动聚焦更准确。

[0089] 本发明的滤光装置包括多个滤光片。

[0090] 图 3 示出了本发明一个实施例中滤光装置的结构示意图, 在本实施例中, 滤光装置 2 包括两个滤光片 21 和一个挡光板 22。其中: (1) 滤光片 21, 用于过滤干扰光; (2) 挡光板 22, 用于逆转光路, 使激发光到达测序反应腔。2 个滤光片 21 分别允许红光和蓝光通过。根据所需的某种波长的光转动滤光装置 2, 干扰光经过滤光装置 2 后, 被滤除, 留下特定波长的激发光通过滤光装置 2。当激发光通过滤光片 21 后, 光线到达挡光板 22, 挡光板 22 将光反射到测序反应腔。

[0091] 图 4 示出了本发明另一个实施例中滤光装置的结构示意图, 在本实施例中, 滤光装置 2 包括四个滤光片 21, 一个挡光板 22。其中: (1) 滤光片 21, 用于过滤干扰光; (2) 挡光板 22, 用于逆转光路, 使激发光到达测序反应腔。四个滤光片分别允许红光、黄光、蓝光和绿光通过。根据所需的某种波长的光转动滤光装置 2, 干扰光经过滤光装置 2 后, 被滤除, 留下特定波长的激发光通过滤光装置 2。当激发光通过滤光片 21 后, 光线到达挡光板 22, 挡

光板 22 将光反射到测序反应腔。

[0092] 本实施例的技术方案中的滤光装置具有多个滤光片,使得根据需要随意选择需要的特定波长的激发光,实现了不同波长的激发光间的随意切换,更适用。

[0093] 图 3 和图 4 所示的实施例中的滤光片滤除了激发光源发出的激发光中的干扰光,滤除干扰光的激发光达到采取区域,使得测序反应腔内携带标记物的样品接收到所需的特定波长的激发光后,发出荧光,而无其他干扰光,从而使得成像装置清晰的成像,图像采集装置采集到精确的采集图像。

[0094] 上述滤光装置根据需要过滤去激发光源发出的激发光的干扰光,有效的防止了干扰光对采集的图像的影响,使得分析装置后续的分析的图像数据更可靠,保证了自动聚焦的精确性,实现了测序装置精确的自动聚焦。

[0095] 基于上述实施例,图 5 示出了本发明一实施例中测序采图设备的自动聚焦的方法流程图,该方法包括:

[0096] S1. 激发光源发出的激发光通过滤光装置到达测序反应腔,成像装置成像后,图像采集装置采集成像装置所成的图像,得一张图像。

[0097] 所述激发光为激发光源所发出,该激发光源为能够激发荧光物质发光的激发光。该激发光源为一个或多个。优选的,汞灯光源或激光。

[0098] 所述滤光装置用于滤除激发光源 1 发出的激发光中的干扰光,滤除干扰光的激发光达到测序反应腔。该滤光装置为能够允许特定波长的光通过的装置,其他波长的光不能通过,除此之外无特殊限制。优选的,该滤光装置为滤光片。

[0099] 所述成像装置用于对测序反应腔进行成像。该成像装置为将近处的微小物体成一放大的像。对此成像装置无特殊限制,市场上销售的均适用于本发明中。优选的,该成像装置为显微镜或放大镜。

[0100] 所述图像采集装置将采集图像的图像像素转化为数字信号,并存储在图像采集装置中。优选的,图像采集装置为 CCD、CMOS 摄像机中的任意一种。

[0101] S2. 调距装置调距,重复步骤 S1,得多张图像。

[0102] 所述调距装置用于调节测序反应腔和成像装置之间的距离。该调节装置可以为任意可以在三维空间上移动的装置,比如由电机、丝杆、导轨、编码器组成能在三维空间上移动的装置。

[0103] S3. 分析装置过滤干扰信号,利用信号分布曲线对采集的多张图像进行自动聚焦分析,得最佳聚焦距离。

[0104] 所述分析装置用于控制调距装置 3 运行,并用于分析图像的清晰度,得最佳聚焦距离。该分析装置能够实现对数据的分析和处理,并发出相应的指令。优选为芯片或单片机与外围电路组成的装置,或者个人计算机。

[0105] S4. 分析装置控制调距装置调节测序反应腔和成像装置之间的距离到最佳聚焦距离。

[0106] 在本实施例中,用激发光源发出的激发光照射测序反应腔,激发光经滤光装置后,干扰光被滤除,只有特定波长的光通过滤光装置,特定波长的光照射测序反应腔,测序反应腔中的样品发光,成像装置对测序反应腔成像,图像采集装置采集图像。调距装置调节测序反应腔和成像装置之间的距离,再在距离测序反应腔不同位置,对测序反应腔的同一位置

进行采图。测序反应腔或成像装置移动一次,图像采集装置采集测序反应腔内的一张图像,测序反应腔内采集图像的位置固定不变。

[0107] 本实施例中,所述步骤 S2 中,调距装置调节成像装置,使成像装置在距测序反应腔的不同距离处,对测序反应腔的同一采图位置进行成像,采图装置通过成像装置采图。每调距一次,采图装置采集一张图像,得多张图像。

[0108] 本实施例的技术方案通过过滤干扰信号,保证了参与后续图像评价的数据更准确可靠;利用信号分布曲线对图像进行自动聚焦分析,使得分析更可靠,从而实现了精确的自动聚焦。

[0109] 图 6 示出了本发明一实施例中采集图像的方法流程图,该方法包括:S21. 调距装置以爬行长度 Cr 移动测序反应腔和 / 或成像装置,调节测序反应腔与成像装置之间的距离,也即调节焦距;S22. 在每个焦距处利用图像采集装置采集测序反应腔内的图像;S23. 得多张图像。在本实施例中,以测序反应腔或成像装置所在的位置为原点,移动测序反应腔或成像装置。在步骤 S21 中,每调节移动测序反应腔和 / 或成像装置一次,测序反应腔和成像装置之间的距离或缩短或增加 Cr 。

[0110] 在本实施例中,如果移动测序反应腔,则以测序反应腔所在的位置为原点,第一次移动后,测序反应腔距离原点为 $-Cr$,第二次移动后,测序反应腔距离原点为 Cr ;第三次移动后,测序反应腔距离原点为 $-2Cr$,第四次移动后,测序反应腔距离原点为 $2Cr$;……;第 $2n-1$ 次移动后,测序反应腔距离原点为 $-nCr$,第 $2n$ 次移动后,测序反应腔距离原点为 nCr 。其中, n 为自然数。如果移动成像装置,则以成像装置所在的位置为原点,第一次移动后,成像装置距离原点为 $-Cr$,第二次移动后,成像装置距离原点为 Cr ;第三次移动后,成像装置距离原点为 $-2Cr$,第四次移动后,成像装置距离原点为 $2Cr$;……;第 $2n-1$ 次移动后,成像装置距离原点为 $-nCr$,第 $2n$ 次移动后,成像装置距离原点为 nCr 。其中, n 为自然数。如果移动成像装置和测序反应腔,则以成像装置所在的位置为原点,成像装置和测序反应腔以相反的方向移动,每次移动成像装置和测序反应腔之间的距离增加或者缩小 Cr 。

[0111] Cr 为爬行长度,也即移动距离, Cr 的值不限。

[0112] 优选的, Cr 的值为: $0.2 \mu\text{m} \leq Cr \leq 2.0 \mu\text{m}$ 。

[0113] 更优选的, Cr 的值为 $1.0 \mu\text{m}$ 。

[0114] 在本实施例中,步骤 S22 中,针对测序反应腔的同一个位置进行采集图像。也即,每移动测序反应腔或成像装置一次,针对测序反应腔内的同一位置采集一张图像;多次移动测序反应腔或成像装置,就可得到多张图像。

[0115] 其中,所采集的图像的数量不限。

[0116] 优选的,采集的图像的数量在 20 到 100 张之间。

[0117] 更优选的,采集的图像的数量为 60 张。

[0118] 本实施例的技术方案通过调距装置调节测序反应腔和成像装置之间的距离,避免了人工调距的误差,另外,同时控制两个或者一个装置移动来调节距离,使得移动更精确,从而使得自动聚焦更精确;同时,利用调距装置边调距边采图,采集到多张图像,用于后续的分析,从而保证了后续分析得到的自动聚焦的聚焦位置更可靠。

[0119] 图 7 示出了本发明一实施例中对采集的图像进行聚焦分析的方法流程图,该方法包括:S31. 分析装置过滤图像的干扰信号;S32. 分析装置拟合多条信号分布曲线;S33. 分

析装置筛选信号分布曲线,得最佳信号分布曲线;S34. 最佳信号分布曲线最高点对应一张图像的信号值,采集该图像时的位置即为最佳聚焦距离。

[0120] 在本实施例中,图像采集装置采集 p 张图像,将采集的 p 张图像进行过滤,对过滤后的信号进行拟合,每条拟合的信号分布曲线的形状由 P 张图像的信号值决定。

[0121] 本实施例的技术方案能够实现过滤图像干扰信号,从而使得后续采用的数据更可靠;同时,对采集的多张图像进行分析,拟合多条信号分析曲线,选出最佳的信号分布曲线,使得对图像的评价更准确,从而保证了成功实现自动聚焦。

[0122] 图 8 示出了本发明一实施例中过滤图像干扰信号的方法流程图,该方法包括:S311. 分析装置利用多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$,过滤图像的干扰信号,得有用信号;S312. 分析装置利用图像评价函数,对有用信号进行评价,得每张过滤后的图像的信号值。

[0123] 在本实施例中,过滤图像的干扰信号的方法优选为:当 $f(x, y) \geq \text{Low}$,为有用信号,保留有用信号;当 $f(x, y) < \text{Low}$,该信号为干扰信号,滤除该信号。其中,Low 为阈值,Low 值任意。优选的,Low 的取值优选在: $2000 \leq \text{Low} \leq 4000$,Low 为自然数。进一步优选的,Low 的取值为: $\text{Low} = 2000 + 500m$, ($m = 1, 2, 3, 4$)。

[0124] 分析装置利用 $f(x, y)$,通过多点聚焦的方式过滤图像的干扰信号。

[0125] 针对多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 本发明提出一实施例。多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 为:

$$[0126] \quad f(x, y) = |g(x+\text{step}, y) + g(x-\text{step}, y) + g(x, y+\text{step}) + g(x, y-\text{step}) - 4g(x, y)|$$

[0127] 在本实施例中, $g(x, y)$ 表示在图像的点在 (x, y) 处的图像灰度值。Step 表示步长。Step 的取值不限。优选的,Step 的取值为: $1 \leq \text{Step} \leq 4$,Step 为自然数。更优选的,Step 的取 2。

[0128] 针对多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 本发明提出另一实施例。多点聚焦过滤函数 $f(x, y)$ 为:

[0129]

$$f(x, y) = |g(x+\text{step}, y) + g(x-\text{step}, y) + g(x + \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}, y + \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}) + g(x - \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}, y + \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}) +$$

$$[0130] \quad g(x, y + \text{step}) + g(x, y - \text{step}) + g(x - \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}, y - \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}) + g(x + \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}, y - \frac{\sqrt{2}}{2}\text{step}) - 8g(x, y)|$$

[0131] 其中, $g(x, y)$ 表示在图像的点在 (x, y) 处的图像灰度值。Step 表示步长。Step 的取值不限。优选的,Step 的取 1、2、3、4 中的任意值。更优选的,Step 的取值为 2。

[0132] 本实施例的技术方案通过多点聚焦过滤函数,以某点为中心,计算某点与周围点的灰度值差值,计算整个图像的灰度差值,根据图像的灰度差值,准确的得出图像的清晰度。

[0133] 针对图像评价函数,本发明提出一实施例,图像评价函数为:

$$F(x, y) = \sum_x \sum_y^N f(x, y) \quad \text{其中, } f(x, y) \text{ 为滤除干扰信号后的过滤函数。}$$

[0134] 固定步长和阈值,步骤 S320:对多张图像进行信号评价,每张图像得一信号值。对所得信号值在二维空间进行拟合曲线,得一条信号分布曲线。改变步长或阈值,重复步骤 S320,得多条信号分布曲线。

[0135] 图 9 示出了本发明一实施例中筛选最佳信号分布曲线的方法流程图,该方法包括:S331. 分析装置验证信号分布曲线是否符合正态分布;S332. 分析装置利用曲线评价函数,对符合正态分布的信号分布曲线进行评价;S333. 得最佳信号分布曲线。

[0136] 在本实施例中,曲线评价函数为: $Q(s) = k1*b(s)+k2*c(s)$,其中, $b(s)$ 为曲线单峰性的评价值, $c(s)$ 为曲线单调性的评价值, $k1$ 和 $k2$ 为常数,分别为表示信号分布曲线的单峰性和单调性的权重。

[0137] 在本实施例中,利用上述曲线评价函数对符合正态分布的信号分布曲线进行评价, $Q(s)$ 最大时,该信号分布曲线即为步骤 S333 中最佳信号分布曲线。

[0138] 信号分布曲线的单峰性和曲线的单调性的好坏直接影响到自动聚焦的好坏,本实施例的技术方案充分利用曲线单峰性和单调性,评判曲线,从而可以得到可靠的最佳信号分布曲线,由此得到最佳的自动聚焦位置。

[0139] 本发明给出关于 $b(s)$ 和 $c(s)$ 的值的评价值的一实施例, $b(s) = \sum_M^n \frac{F_{\max}}{F_i * |D_i|}$,

$c(s) = C \frac{F_{i+1}}{F_i}$ F_{\max} 为信号分布曲线上的最大值, F_i 为信号分布曲线上某个点上的值, D_i 为该点到最大值点 F_{\max} 的距离。

[0140] 变换步长或阈值,可得多条信号评价曲线,利用曲线评价函数,评价多条信号曲线,得最佳信号评价曲线。

[0141] 图 10 示出了本发明一实施例中信号评价曲线图。图 10 中,图 A、图 B、图 C 的步长均为 1,阈值从左到右逐渐增大,其中,图 A 的阈值为 0,图 B 的阈值为 2500,图 C 的阈值为 3000。利用曲线评价函数对图 A、图 B、图 C 中的信号评价曲线进行评价。步骤 S231. 验证信号分布曲线是否符合正态分布;可得图 B 和图 C 符合正态分布。步骤 S232. 利用曲线评价函数 $Q(s) = k1*b(s)+k2*c(s)$,对符合正态分布的信号分布曲线进行评价;图 B 的 $Q(s)$ 大于图 C 的 $Q(s)$ 。S33. 得最佳信号分布曲线为图 B 中的曲线。

[0142] 在本实施例中,图 B 中的曲线为最佳信号分布曲线,图 B 中的曲线的最高点对应的图像的位置为最佳采图位置,也即最佳聚焦点。

[0143] 图 11 示出了本发明另一实施例中信号评价曲线图。图 11 中,图 A 中信号评价曲线的步长为 1,阈值为 1500;图 B 中信号评价曲线的步长为 2,阈值为 2500;图 C 中信号评价曲线的步长为 3,阈值为 500。利用曲线评价函数对图 A、图 B、图 C 中的信号评价曲线进行评价。步骤 S331. 验证信号分布曲线是否符合正态分布;可得图 B 和图 C 符合正态分布。步骤 S332. 利用曲线评价函数 $Q(s) = k1*b(s)+k2*c(s)$,对符合正态分布的信号分布曲线进行评价,得曲线评价值;曲线评价值图 B 的大于图 C。S333. 得最佳信号分布曲线为图 B 中的曲线。

[0144] 在本实施例中,图 B 中的曲线为最佳信号分布曲线,图 B 中的曲线的最高点对应的图像的位置为最佳采图位置,也即最佳聚焦点。

[0145] 应当说明的是,本发明的结构典型的应用不限于测序采图设备的自动聚焦系统,在其他类似的装置或系统中的应用也应属于本发明的保护范围内。本发明的典型的自动聚焦方法的应用不限于测序采图设备,在其他设备中的自动聚焦也应属于本发明的包括范围。

[0146] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

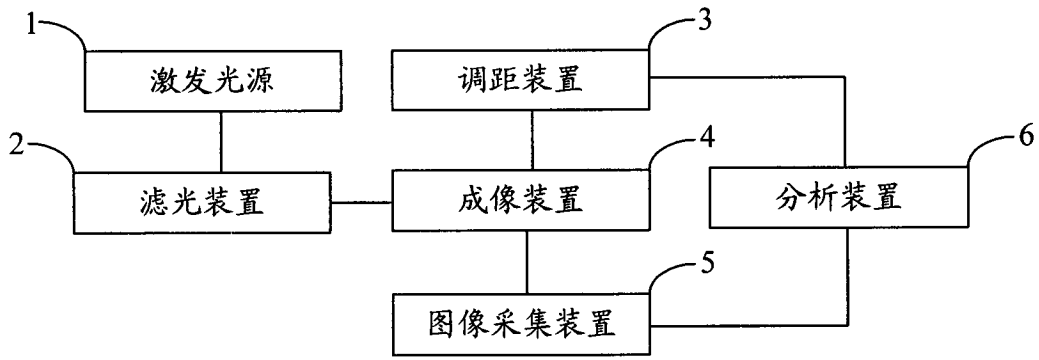


图 1

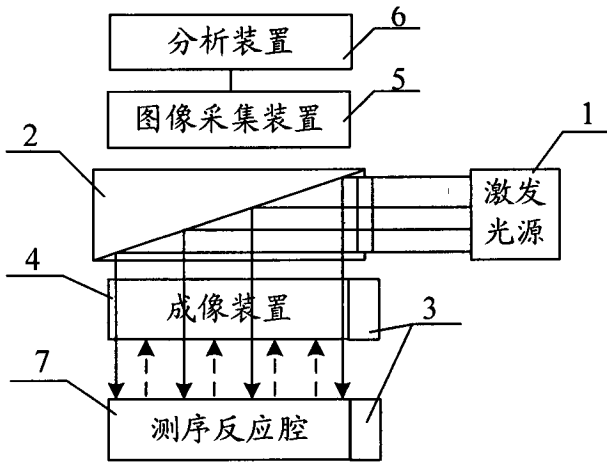


图 2

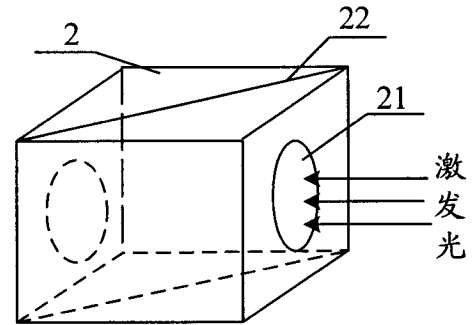


图 3

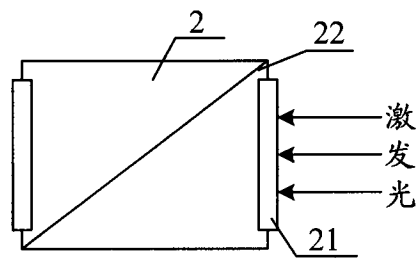


图 4

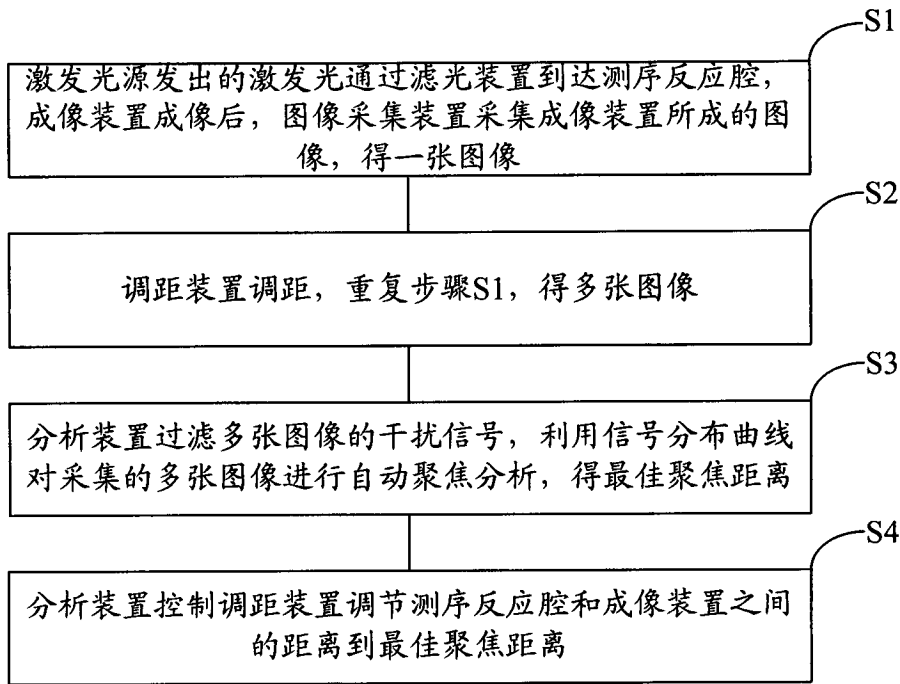


图 5

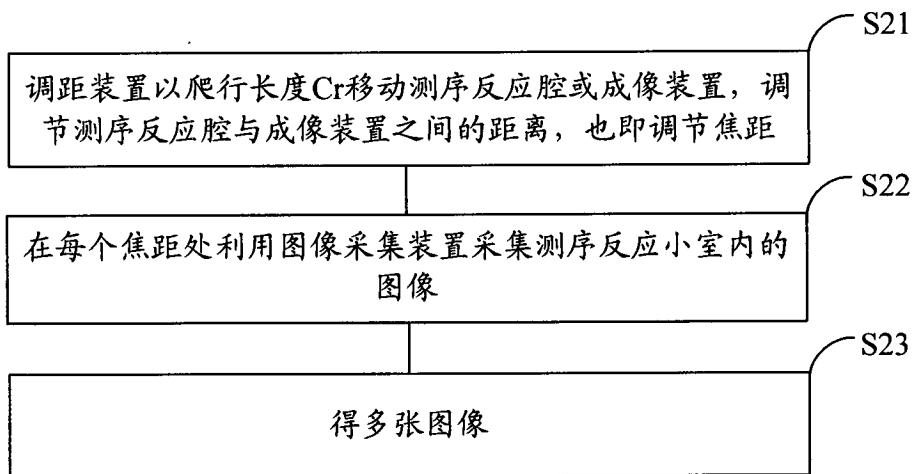


图 6

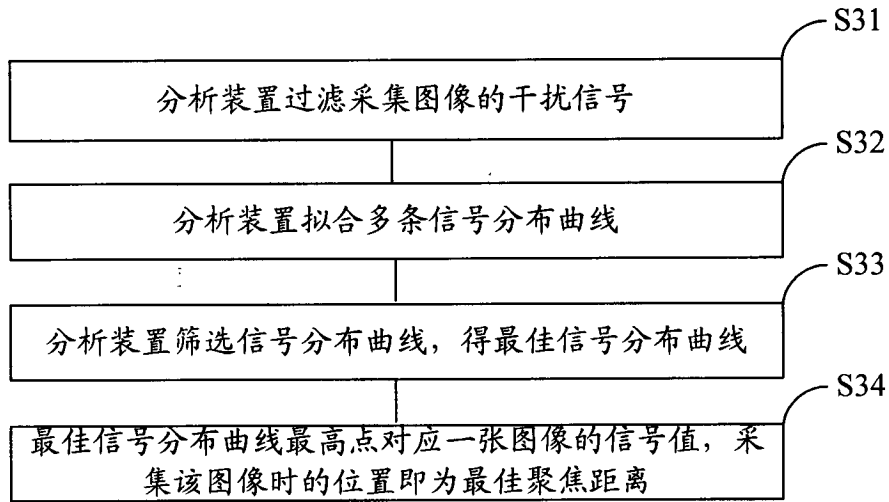


图 7

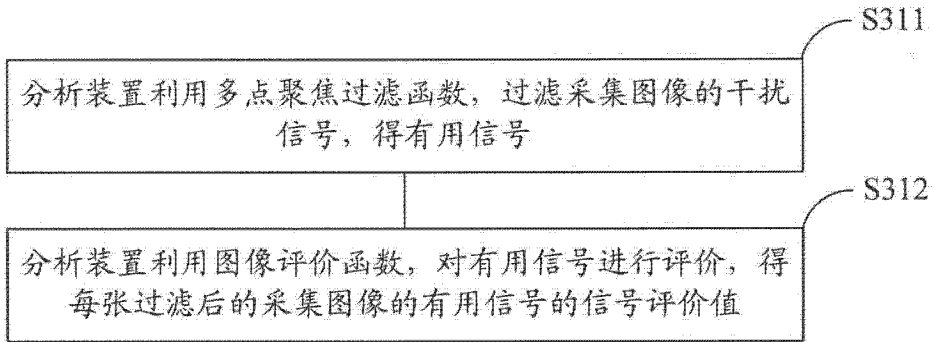


图 8

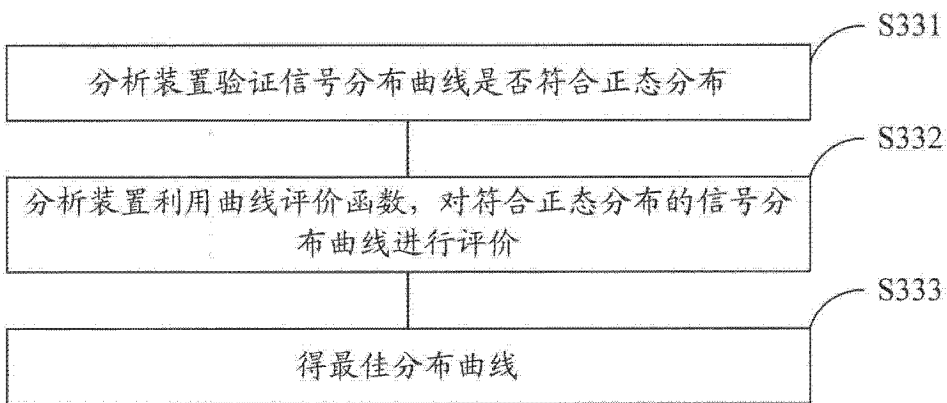


图 9

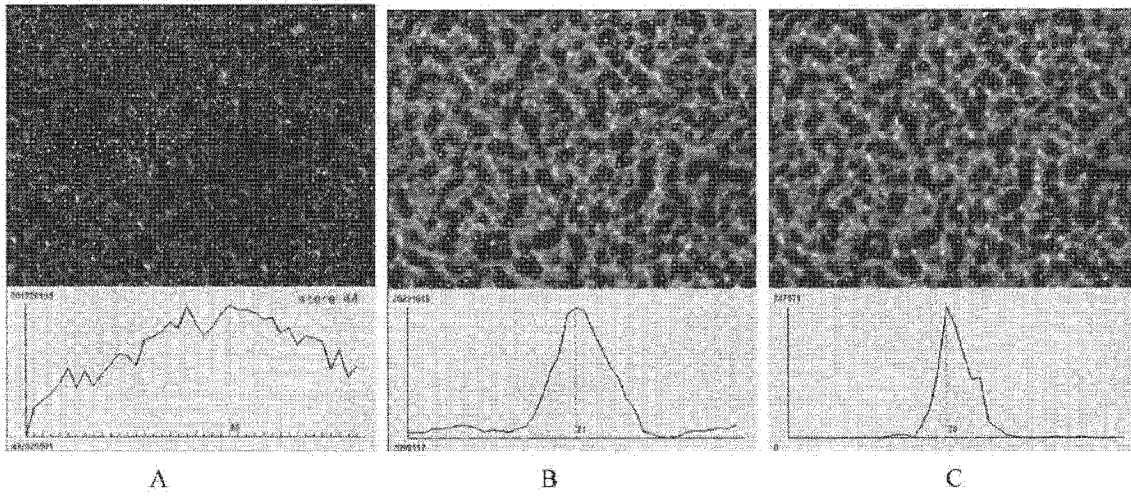


图 10

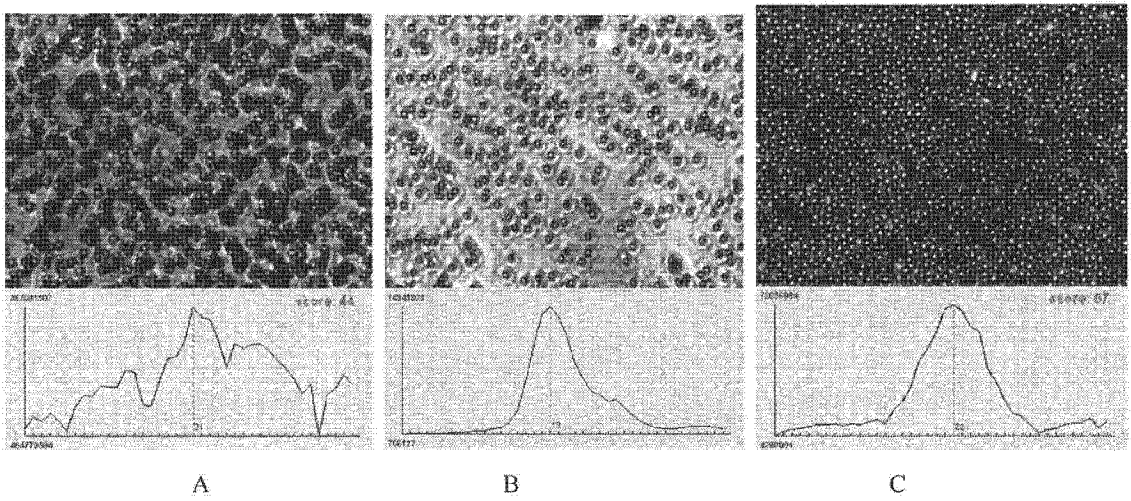


图 11