



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105700156 A

(43) 申请公布日 2016. 06. 22

(21) 申请号 201510952513. 7

(22) 申请日 2015. 12. 16

(30) 优先权数据

62/092, 405 2014. 12. 16 US

(71) 申请人 赛洛米克斯股份有限公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72) 发明人 D·J·范登伯格三世

M·J·托马谢夫斯基 K·R·赫夫利

S·R·奥格

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 侯颖嫒

(51) Int. Cl.

G02B 27/09(2006. 01)

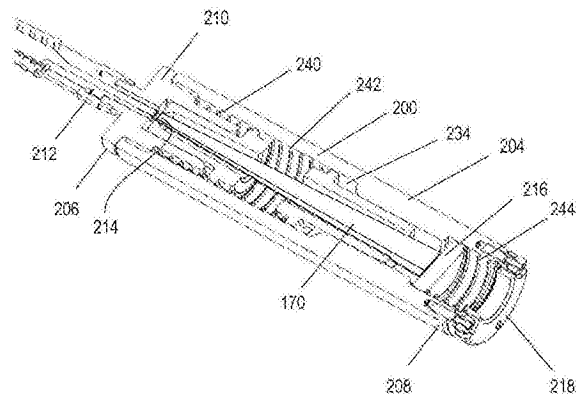
权利要求书2页 说明书15页 附图14页

(54) 发明名称

光学均化器

(57) 摘要

公开了一种光学均化器。一种在光学系统内传递有精确尺寸的均匀的光场的装置和方法。在输入光束散度的较宽范围上并且不管异质性,该装置在UV、可见和NIR波长上同等良好地运行。锥形或外形均化棒在特定尺寸的目标区域创建均匀分布的照明。



1. 一种光学均化器,配置为接收和均化来自具有端面的光学光导的信号,所述光学均化器包括:

适配器,配置为接收所述光学光导;

光学窗口;以及

均化棒,位于所述适配器和所述光学窗口之间,所述均化棒从输入端面纵向延伸到输出端面,所述输出端面的面积比所述输入端面的面积大至少三倍,所述均化棒从所述输出端面到所述输入端面逐渐变细,

其中,配置所述光学均化器使得当光学光导由所述适配器接收时,所述均化棒的输入端面邻接所述光学光导的端面而所述均化棒的输出端面邻接所述光学窗口。

2. 如权利要求 1 所述的光均化器,进一步包括外壳,其中放置所述适配器、所述光学窗口和所述均化棒。

3. 如权利要求 1 所述的光均化器,其特征不在于,所述均化棒的输入端面牢固地压靠所述光学光导的端面而所述均化棒的输出端面牢固地压靠所述光学窗口。

4. 如权利要求 1 所述的光均化器,其特征不在于,所述均化棒的输出端面的面积比所述均化棒的输入端面的面积大至少十一倍。

5. 如权利要求 1 所述的光均化器,其特征不在于,以正方形或矩形的形式来成形所述均化棒的输入和输出端面。

6. 如权利要求 1 所述的光均化器,进一步包括用于定位所述均化棒的装置以将所述均化棒的输入端面对准所述光学光导的端面而所述均化棒的输出端面对准所述光学反射镜。

7. 如权利要求 6 所述的光均化器,其特征不在于,用于定位的装置包括近端滑动件和远端滑动件,两个滑动件都接触所述均化棒。

8. 如权利要求 6 所述的光均化器,

其特征不在于,用于定位的装置包括近端弹簧、中间弹簧和远端弹簧,以及

其中,近端、中间和远端弹簧与近端和远端滑动件协同工作以使所述均化棒的输入端面牢固地压靠所述光学光导的端面而所述均化棒的输出端面牢固地压靠所述光学窗口。

9. 一种高容量成像 (HCI) 系统包括:

工作台,配置为接收多个生物细胞;

激发光源,产生激发光;以及

如权利要求 1 所述的光均化器,

其中,所述光学均化器接收来自所述激发光源的激发光并从中产生被用于对所述工作台处的所述生物细胞成像的均化的激发光。

10. 如权利要求 9 所述的 HCI 系统,其特征不在于,由所述光学均化器接收的所述激发光具有圆形的斑点而均化的激发光具有正方形或矩形的斑点。

11. 如权利要求 10 所述的 HCI 系统,其特征不在于,均化的激发光的斑点尺寸为与所成像的细胞大约相同的尺寸。

12. 如权利要求 9 所述的 HCI 系统,其特征不在于,所述光学均化器在套管内可滑动以将均化的激发光聚焦在所述工作台处。

13. 一种光学激发适配器,具有通过它延伸的光路,所述光学激发适配器包括:

临界照明组件;和

光学均化器,光学地耦合到所述临界照明组件,

其中,所述光学均化器包括均化棒,所述均化棒从输入端面纵向延伸至输出端面,所述均化棒在两个面之间逐渐变细,以及

其中,所述光学激发适配器被适配以使得 (i) 由所述光学均化器接收的激发信号穿过所述均化棒以产生均化的信号以及 (ii) 均化的信号穿过所述临界照明组件以被传递至样本平面作为所述均化棒的经均化的输出面的像。

14. 如权利要求 13 所述的光学激发适配器,其特征在于,所述临界照明组件包括所述光学均化器被插入的套管。

15. 一种光学激发适配器,具有输入和输出,所述光学激发适配器包括:

集光器组件,具有一个或多个集光透镜;

聚光器组件,具有一个或多个聚光透镜;以及

均化棒,所述均化棒从输入端面纵向延伸至输出端面,所述均化棒在两个端面之间逐渐变细,

其中,所述光学激发适配器被适配以使得在所述光学激发适配器的输入处接收的光穿过所述均化棒的输入和输出端面、所述一个或多个集光透镜和所述一个或多个聚光透镜并且在所述输出处离开所述光学激发适配器。

16. 如权利要求 15 所述的光学激发适配器,其特征在于,所述均化棒被置于外壳中,且其中所述光学激发适配器进一步包括所述外壳被接收和固定于其中的套管。

17. 如权利要求 16 所述的光学激发适配器,其特征在于,所述外壳在所述套管中可滑动以聚焦离开所述光学激发适配器的光。

18. 一种组装光学均化器的方法,包括:

将远端定位器、中间弹簧、近端定位器和近端弹簧以此顺序插入外壳的近端中;

将光导适配器固定到所述外壳的近端;

将均化棒、光学窗口和远端弹簧以此顺序插入所述外壳的远端中;以及

将保持盖固定到所述外壳的远端。

19. 如权利要求 18 所述的方法,进一步包括将光导插入所述光导适配器中。

20. 如权利要求 19 所述的方法,其特征在于,在所述光导适配器被固定到所述外壳的近端之前,将所述光导插入所述光导适配器中。

光学均化器

技术领域

[0001] 本申请涉及在光学系统中传播光场的系统、设备和方法。更具体地,本申请涉及从照明源产生输出光场从而使得该输出光场具有均匀的截面照度。

背景技术

[0002] 显微术在过去十年的增长趋势是生物学样本的自动化成像。胜于样本的手动观察,自动化显微术包括样本区域的计算机控制的自动选择与数字成像,实现大量样本的高吞吐量(throughput)成像而无需终端用户输入。

[0003] 当应用于荧光标记的细胞以及获取的图像的自动化定量分析时,自动化成像通常被称为HCI(High-Content Imaging, 高容量成像)。具体地,HCI是基于细胞的筛选法,得到关于细胞成份和过程的时间-空间动态性的详细信息,在基于细胞的筛选的使用中有很重要的作用以用于候选药物的鉴定和确认。由HCI提供的信息通过提供深度生物学信息缓解了药物发现过程中的瓶颈。与此方法相关联的测定使用固定细胞或活细胞,取决于所需的生物学信息。

[0004] HCI一般与标记有荧光探针(诸如荧光配体)和免疫荧光探针的细胞一起使用,该探针取向朝向特定细胞目标、荧光环境的或细胞状态传感器,或细胞所内生表达的荧光蛋白质嵌合体。HCI的益处中的一个是它的多路传输的多光谱能力,多个荧光探针可被检测,每一个荧光探针以不同的颜色发射荧光信号。

[0005] 在荧光分析期间,来自荧光团激发光源的光通常被导向细胞。激发光照明该细胞,这诱发要被该细胞发射的荧光团发射光。发射光被成像和分析以确定关于该细胞的信息。为了实现多个荧光探针的检测,荧光团激发光源可以提供多个带宽的光。

发明内容

[0006] 一种在光学系统内传递有精确尺寸的均匀的光场的装置和方法。在输入光束散度的较宽范围上并且不管异质性,该装置在UV、可见和NIR波长上同等良好地运行。锥形或外形均化棒在特定尺寸的目标区域处创建均匀分布的照明。

[0007] 在一方面,光学均化器包括适配器、光学窗口和均化棒。光学均化器被配置为接收和均化来自具有端面的光学光导的信号。该适配器被配置为接收该光学光导。该均化棒位于适配器和光学窗口之间并且从输入端面纵向延伸至输出端面。输出端面的面积比输入端面的面积至少大三倍。均化棒从输出端面到输入端面逐渐变细。配置光学均化器使得当光学光导由适配器接收时,均化棒的输入端面紧靠光学光导的端面而均化棒的输出端面紧靠光学窗口。

[0008] 光均化器还可包括外壳,其中放置适配器、光学窗口和均化棒。

[0009] 均化棒的输入端面可牢固地压靠到光学光导的端面。均化棒的输出端面可牢固地压靠到光学窗口。

[0010] 均化棒的输出端面可以比均化棒的输入端面的面积大至少十一倍。

[0011] 均化棒的输入和输出端面可各自成形为正方形或长方形的形式。

[0012] 光学均化器可包括定位该均化棒的装置以将该输入端面对准光学光导的端面而该输出端面对准光学反射镜。

[0013] 用于定位的装置还可包括与该均化棒接触的近端滑动件和远端滑动件。

[0014] 用于定位的装置可包括近端弹簧、中间弹簧和远端弹簧,这些弹簧与近端和远端滑动件协同工作以使均化棒的输入端面牢固地压到光学光导的端面而均化棒的输出端面牢固地压到光学窗口。

[0015] 在一方面,大容量成像(HCI)系统包括配置为接受多个生物学细胞的工作台、产生激发光的激发光源、以及光学均化器。光学均化器接收来自激发光源的激发光并从中产生被用于对工作台处的生物细胞成像的均化的激发光。

[0016] 由光学均化器接收的激发光可具有圆形的斑点。均化的激发光可具有正方形或长方形的斑点。

[0017] 均化的激发光的斑点尺寸可以是与被成像的细胞大约相同的尺寸。

[0018] 光学均化器可以是在套管内可滑动的以将均化的激发光聚焦在工作台处。

[0019] 在一方面,光学激发适配器包括临界(critical)照明组件和光学均化器。该光学激发适配器具有延伸穿透它的光学路径。该光学均化器被光学地耦合到该临界照明组件。该光学均化器包括均化棒,从输入端面纵向地延伸至输出端面。该均化棒在两个端面之间逐渐变细。光学激发适配器被适配以使得(i)由光学均化器接收的激发信号穿过均化棒以产生均化的信号以及(ii)该均化的信号穿过临界照明组件以被传递至样本平面作为均化棒的均化的输出面的像。

[0020] 临界照明组件可包括该光学均化器被插入的套管。

[0021] 在一方面,光学激发适配器包括集光器组件、聚光器组件和均化棒。该光学激发适配器具有输入和输出。该集光器组件具有一个或多个集光透镜。该聚光器组件具有一个或多个聚光透镜。均化棒从输入端面纵向地延伸至输出端面。该均化棒在输入与输出端面之间逐渐变细。光学激发适配器被适配以使得在该光学激发适配器的输入处接收的光穿过该均化棒的输入与输出端面、该一个或多个集光透镜和一个或多个聚光透镜并且在输出处离开该光学激发适配器。

[0022] 该均化棒可被置于一外壳中。该光学激发适配器可包括套管,在其内接受和固定该外壳。

[0023] 该外壳可以在该套管内滑动以将离开该光学激发适配器的光聚焦。

[0024] 在一方面,组装光学均化器的方法包括以下步骤:插入远端定位器、中间弹簧、近端定位器和近端弹簧,以此顺序将它们插入外壳的近端中;将光导适配器固定到该外壳的近端;插入均化棒、光学窗口和远端弹簧,以此顺序将它们插入该外壳的远端中;以及将固位盖(retention cap)固定在该外壳的远端。

[0025] 该方法还可包括将光导插入该光导适配器的步骤。

[0026] 在该光导适配器被固定到该外壳的近端之前,该光导可被插入该光导适配器。

[0027] 前述发明内容仅是说明性的且不意在以任何方式作为限制性的;提供本发明内容以便以简化形式介绍将在以下具体实施方式中进一步描述的概念的选择。本发明内容并不意在标识出所要求保护的的主题的关键特征或必要特征,也不意在用作确定所要求保护的

题的范围的辅助。

[0028] 附加特征和优点将在以下描述中阐述,并且从该描述部分地显而易见,或者可通过本文中描述或预想的实施例的实践而获知。借助在所附权利要求中特别指出的仪器和组合,可实现和获得本文中描述的实施例的特征和优点。这些特征以及其他特征将根据以下描述和所附权利要求而变得更显而易见,或者可通过如下文阐述的对本文中描述的或预想的实施例的实践而获知。

附图说明

[0029] 各个实施例将参考附图进行讨论。应该理解到,这些附图仅描绘了典型的实施例从而不能被视为本申请的范围的限制。还应该理解到,这些附图不一定按比例绘制,而且一些元素可能仅仅被简洁明了地绘出。

[0030] 在附图中,相同的数字指示相同的元素。此外,元素的多种情况可各自包括附加到元素数字的字母。例如,特定元素“20”的两个示例可被标记为“20a”和“20b”。在此情况下,元素标记可被使用而没有附加的字母(例如“20”)以总地指该元素的每一个示例;而当元素标记指元素的特定示例时该元素标记将包含附加的字母(例如“20a”)。

[0031] 图 1 是来自圆形光导的一般形状的输出的强度图。

[0032] 图 2 示出呈现高斯分布的光束的照明图。

[0033] 图 3A-3D 是示出多种照明斑点尺寸和相应的像尺寸的结构图。

[0034] 图 4 是示出照明的非均匀分布的样本的图像。

[0035] 图 5A 和 5B 示出结合本文中公开的或预想的特征的均化棒的示例实施例。

[0036] 图 6A-6C 示出光束在多个平面处的强度分布。

[0037] 图 7 是结合本文中公开的或预想的特征的光学均化器的示例实施例的透视图。

[0038] 图 8 是图 7 的光学均化器的截面视图。

[0039] 图 9 和 10 示出组装图 7 的光学均化器的方法的示例实施例。

[0040] 图 11 示出结合本文中公开的或预想的特征的系统示例实施例。

[0041] 图 12 是细胞成像设备的示例实施例的截面视图。

[0042] 图 13 是图 12 的细胞成像设备的简化的截面俯视图。

[0043] 图 14 示出结合本文中公开的或预想的特征的激发适配器的示例实施例。

[0044] 图 15 是图 14 的激发适配器的截面视图。

[0045] 图 16A 和 16B 是样本图像。

[0046] 图 17A 和 17B 是进一步的样本图像。

具体实施方式

[0047] 如在说明书中使用的,以单数出现的词包含其复数对应物,而以复数出现的词包含其单数对应物,除非另外隐含地或明显地理解到或表明。此外,理解到,对于本文中描述的任何给定成分或实施例,针对该成分列出的任何可能的候选或替代方案通常可被单独地使用或者彼此结合使用,除非另外隐含地或明显地理解到或表明。另外,将理解到这种候选或替代方案仅仅是说明性的,不是限制性的,除非另外隐含地或明显地理解到或表明。此外,除非另外指出,说明书和权利要求中使用的表达成份、组分、反应条件等的数字要被理

解为由术语“大约”所修改。

[0048] 因此,除非相反地指出,否则在说明书和所附权利要求中陈述的数值参数是近似值,这些近似值可根据本文中呈现的主题所寻求获得的期望性质而变化。最小程度上,且不尝试限制与权利要求同等物的教义的应用,至少根据所报告的有效数字的数目并且应用普通的舍入技术来解释这些数值参数。尽管陈述本文所示主题的广泛范围的数值范围和参数是近似值,但是在特定示例中所陈述的数值尽可能精确地来报告。然而,任何数值固有地包含必然由它们相应的测试度量中找到的标准差产生的某些误差。

[0049] 此外,如在说明书和所附权利要求中所使用,诸如“顶”、“底”、“左”、“右”、“上”、“下”、“输入”、“输出”之类的方向性术语在此仅被用于指示相对方向且不意在限制说明书或权利要求的范围。

[0050] 在此公开或预想的各实施例可包括或利用专用或通用计算机,该专用或通用计算机包括诸如例如一个或多个处理器的计算机硬件,如在下文更详细地讨论。各实施例还包括用于承载或储存计算机可执行指令和/或数据结构的物理和其他计算机可读介质。这样的计算机可读介质可以是可由通用或专用计算机系统访问的任何可用介质。存储计算机可执行指令的计算机可读介质是物理存储介质。承载计算机可执行指令的计算机可读介质是传输介质。由此,作为示例而非限制,各实施例可包括至少两种显著不同的计算机可读介质:计算机存储介质和传输介质。

[0051] 计算机存储介质包括 RAM、ROM、EEPROM、CD-ROM 或其他光盘存储、磁盘存储或其他磁存储设备、或可用于存储计算机可执行指令或数据结构形式的所需程序代码方法且可由通用或专用计算机访问的任何其他介质。

[0052] “网络”被定义为使得电子数据能够在计算机系统和/或模块和/或其它电子设备之间传输的一个或多个数据链路。当信息通过网络或另一个通信连接(硬连线、无线、或者硬连线和无线的组合)传输或提供给计算机时,该计算机将该连接适当地视为传输介质。传输介质可包括可用于携带计算机可执行指令或数据结构形式的数据或所需程序代码方法且可由通用或专用计算机访问的网络和/或数据链路。上述的组合应当也被包括在计算机可读介质的范围内。

[0053] 此外,在到达各种计算机系统部件之后,计算机可执行指令或数据结构形式的程序代码资料可从传输介质自动传输到计算机存储介质(或反之亦然)。例如,通过网络或数据链路接收到的计算机可执行指令或数据结构可被缓存在网络接口模块(例如,“NIC”)内的 RAM 中,然后最终被传输到计算机系统 RAM 和/或计算机系统处的较不易失性的计算机存储介质。因而,应当理解,计算机存储介质可被包括在还利用(或甚至主要利用)传输介质的计算机系统部件中。

[0054] 计算机可执行指令例如包括使通用计算机、专用计算机、或专用处理设备执行某一功能或某组功能的指令和数据。计算机可执行指令可以是例如二进制代码、诸如汇编语言之类的中间格式指令、或甚至源代码。尽管用结构特征和/或方法动作专用的语言描述了本主题,但可以理解,所附权利要求书中定义的主题不必限于上述特征或动作。更具体而言,上述特征和动作是作为实现权利要求的示例形式而公开的。

[0055] 本领域的技术人员将理解,各实施例可以在具有许多类型的计算机系统配置的网络计算环境中实践,这些计算机系统配置包括个人计算机、台式计算机、膝上型计算机、消

息处理器、手持式设备、多处理器系统、基于微处理器的或可编程消费电子设备、网络 PC、小型计算机、大型计算机、移动电话、PDA、寻呼机、路由器、交换机等等。各实施例可在其中通过网络链接（或者通过硬连线数据链路、无线数据链路，或者通过硬连线和无线数据链路的组合）的本地和远程计算机系统两者都执行任务的分布式系统环境中实施。在分布式系统环境中，程序模块可以位于本地和远程存储器存储设备二者中。用于一个实体的程序模块可位于和 / 或运行在另外的实体数据中心或“在云中”。在此说明书中以及在所附权利要求中，计算机系统还被定义为包括成像系统（例如图 11 中的成像系统 102）。

[0056] 在光学中，诸如例如液体和光纤光导之类的光导被用于传输光束。诸如例如激光、激光二极管、LED 或细丝之类的光源在必要时被准直并被引导到每个光导的输入端中。由于光导的传输特性，光在每个光导的输出端处的强度分布通常具有大致高斯分布。这表示照明在中心处最亮且随着从中心向外移动而下降，如图 1 中示出的强度曲线 150 描绘出。即，在与光入射正交的光导的输出端的平面上，光在中心处的强度达到峰值且随着离开照明的中心移动而减小。图 2 示出具有这种分布的光束 152 的照明图的示例。基于此高斯分布，光束 152 被称为具有特定斑点尺寸（如虚线 154 所示）（即，束宽）。

[0057] 这样的光通常被用于照明目标或样本以用于观察或记录。例如，在标准的临界照明的显微术或仪器系统中，光源被会聚（通常被会聚为通过该系统引导到光导中的准直光束）然后经过物镜或聚光器聚焦到目标上。然后通过通常使用正方形或矩形传感器的基于 CCD 或 CMOS 的相机来采样或记录照射目标。

[0058] 常规照明系统和聚光装置在样本处提供光 156 的圆形斑点，如图 3A-3D 中所示。因为传感器是正方形或矩形的，即使光束的圆形斑点 156 被优化成提供正好覆盖目标 158 需要被记录的数量照明，落在基于 CCD 或 CMOS 的相机所成像的区域外部的许多可用照明光还是被浪费了。例如，如图 3A 和 3B 中的灰色区域所示，当使用正方形传感器时，未使用或浪费大约 35% 的可用照明光，当使用矩形传感器时浪费甚至更多。

[0059] 对于多波长光学系统，透镜必须适应所有使用的波长。因此，传递到目标平面的照明光的最小光斑尺寸必须至少与每个波长所创建的每个最小光斑或光束组合之前的光学装置一样大。这在目标处需要较大的光斑尺寸（如图 3C 与 3D 中所示），甚至导致更多的照明光损失。损失的严重性取决于照明与物镜的特定透镜设计。

[0060] 如果不调节，临界照明系统中的照明光保持光源固有的一般高斯分布，例如，如图 2 所示的光导的输出。从视场的中心到角落的强度的这种变化是显而易见的，影响图像的美学、信噪比、以及覆盖比系统或物镜视场大的目标区域的图像组的空间连贯性。图 4 是由这些标准的临界照明的显微术系统中的一个所记录的实际图像样本 160。由于一般高斯强度分布，图像的中心部分很亮而图像的亮度朝向边缘减小且在角落几乎不存在，这反映了上述问题。

[0061] 均化或均匀地分布照明光的一个标准方法是增加光斑尺寸，从而目标区域仅接收光束的中心附近的更加均匀分布的强度（由虚线指示）。利用高功率激光器，这可通过扩大和使用中心 10% 的光束作为覆盖目标的斑点来实现，放弃了大量的可用光。这需要显著的功率量，因为照明斑点被放大以将光束的较小中心区域应用到取样的区域，所以应用的功率随着放大率增加而显著下降。并且，在目标区域的外部可能有激发荧光团的不期望效果，导致在随后玷污的样本中观察到的光毒性和光漂白。利用非相干源，在整个视场上获得类

似的可接受强度会在光束到达目标平面之前引起 70% 或更多的总体光束功率的损失。此外, 尽管强度在光束的中心 10% 上更加均匀, 强度仍然不是完全均匀的。

[0062] 另一个标准方法是使用非球面聚光透镜。这些透镜可帮助抵消光的空间不均匀性, 由于透镜表面的非球面曲率有助于抵消不规则的强度分布。不幸的是, 诸如 LED 和细丝源之类的很多光源以非常宽的角度发射光, 需要大的非球面透镜以用于光的最佳收集。这些较大的非球面透镜是昂贵的, 波长特定于最佳效果, 而且不易获得。

[0063] 在许多传统临界照明系统中发现的另外的缺陷是源结构保留。即, 收集的光束可能保留来自用于产生光束的光源的结构。当几乎使用任何光源 (包括, 例如准直的或不准直的激光器、LED、细丝或任何其他源) 时, 这都会发生。当光束被重新聚焦到样本平面时, 结构会变得可见。照明可被轻微地散焦以使光源的结构较不明显, 但这可进一步降低目标观察区域的角落处的照明强度。

[0064] 此外, 具有多波长能力的传统照明系统是体积大的系统。对于大多数光源, 例如激光器、激光二极管和 LED, 每种波长由单独的元件产生。来自这些元件的发射必须被捕捉, 然后被合成到单个输出中以用于耦合到外部系统或光学路径。基于源的细丝可引起大量热量, 因此需要空气流动的空间来冷却围绕细丝灯泡的区域。虽然这些照明源可在物理上与主光核心附连或集成, 但它们通常由于灵活的液体或光纤光导的使用而分离。

透镜可被用于将照明光聚焦到光导的端中, 然后设置耦合器以调节在进入点处离开光导到主光学仪器的光束。

[0065] 经由光导将光传输足够的距离 (例如 1-2 米或更大) 可具有显著但不理想的均化效果, 从而当光束离开光导时从光束中大部分地去除了产生光的元件的结构。然而, 如上所述, 离开的光束仍与光导的输入端处的光一样具有相同的圆形形状和近似高斯强度分布。此外, 对于产生广范围波长的源, 必须适应波长的整个范围, 基于现有实际透镜设计限制, 这要求光导具有更大的直径。例如, 对于传播穿过光纤的芯的单个波长, 使用现有技术, 最小芯直径可以是 6 到 10 微米, 但对于多波长, 芯直径必须被相当大地增加到大约 150 到 1500 微米以供实际使用。而且随着光纤尺寸增加, 从目标区域的中心到边缘所观察到的强度差异变得更加明显。

[0066] HCI 系统的用户通常要求朝向它们的视场的角落的最小强度下降 (例如小于大约 15%)。在一些情况下, 此要求甚至可以更高。例如, 在一些情况下, 所观察到的下降必须可忽略不计 (例如小于大约 5%)。HCI 系统满足这些要求会是有挑战的。取决于产生光的主要部件、以及用于将光传递至预期的目标区域的导管或透镜, 每种照明源呈现不同的色散模式。当光学设计者想要传递均匀性但无法精确地知道照明源将如何不规则时, 结构、强度分布和波长中的变化造成了挑战。这使得难以优化目标区域处的照明的均匀性而最大化传输效率。

[0067] 为了解决此问题, 一些较高质量的照明系统使用柯勒 (Koehler) 照明。柯勒照明需要透镜和孔径的特定安排来确保完全散焦的光的斑点被传递到目标区域。尽管柯勒照明产生样本的均匀照明并确保照明源的图像在所得图像中不可见, 它代价很大。例如, 在样本平面产生具有正方形或矩形斑点的柯勒照明需要附加的光学元件, 可显著地增加光学路径长度且相当昂贵。另外, 柯勒照明比临界照明较不稳定, 需要孔径的频繁校准以确保防止光源的图像到达目标。而且再一次, 均匀性伴随着降低的效率。此外, 柯勒照明产生圆形照明

分布,该圆形照明分布由如前所述的 CCD 或者照明光学路径中的孔径所限制。任一方式,由于圆形-正方形/矩形不匹配仍然导致 35%或更大的强度损失。

[0068] 特定几何结构的光传输棒或光管(本文中被称为“均化棒”或简称“棒”)可解决上述问题中的一个或多个。此棒应用全内反射的物理概念以将聚焦到输入端中的光转化为更加均化的输出光,与波长相对无关。多次重叠的全内反射发生在棒内,提供比得上光导所获得的均化作用的效果,而没有中心强度峰值。另外,均化棒比灵活的光导具有较少的损失且需要较小的空间。此棒还比光导或大非球面透镜更加容易地安装和对齐。相对于液体或光纤光导的“高斯式”输出,去除了光中的空间结构而且均化棒的输出具有非常高的空间均匀性。此外,棒的形状可匹配 CCD 或 CMOS 成像器的正方形或矩形形状。

[0069] 图 5 示出根据一个实施例的均化棒 170。均化棒在输入端 172 与输出端 174 之间纵向地延伸,输入端面 176 和相反的输出端面 178 分别位于输入和输出端 172、174。输入和输出端面 176 和 178 彼此具有相似的形状,在此情况下为正方形。也可基于视场的期望形状来使用其他形状,例如矩形。在一个实施例中,形状被选择成匹配记录传感器的形状。为了形成正方形,输入端面由等长度的四个边缘 180(180a-180d) 来限制边界而输出端面 178 由等长度的四个边缘 182(182a-182d) 来限制边界输出端面 178 的边缘 182 的长度比输入端面 176 的边缘 180 的长度大,而在一些情况下大很多。因此,虽然两端面具有相同的形状,它们具有不同的尺寸;输出端面 178 的面积比输入端面 176 的面积大,而在一些情况下大很多。这种尺寸不匹配可提供很多优点,如下所述。如果需要的话,两个端面可具有相同的尺寸;但可能失去尺寸不匹配的很多优点。

[0070] 均化棒 170 进一步包括多个侧面 184(184a-184d),每个侧面在输入和输出端 172 和 174 之间纵向地延伸。每个侧面 184 从输入端面 176 的不同边缘 180 纵向延伸至输出端面 178 的对应边缘 182,且在邻接的侧面之间横向延伸。如此,均化棒 170 是截顶金字塔的形态,具有从输出端 174 到输入端 172 逐渐变细的正方形横截面。

[0071] 均化棒 170 的形状被设计为向正方形视场有效地提供均匀分布的强度。因为棒 170 具有正方形输出端面 178,从中输出的光具有正方形分布,从而下游光学装置可传输聚焦成正方形形状的光而无需进一步操作。这本身使系统的效率增加至少 35%,因为圆形照明光在正方形视场上固有的浪费的光(关于图 3A 和 3C 所讨论的)不再存在。当期望矩形视场时,相应的矩形形状的输出端使系统的效率增加甚至更大的量,如上所述。

[0072] 由于此棒依靠全内反射(TIR),归因于全内反射对于高度发散光束的限制,此棒可引入显著的损失。为了补偿受 TIR 限制的效率,输入端 172 的截面尺寸可被制成能够捕捉输入光的最小尺寸。在一个实施例中,该尺寸对应于输入光纤的尺寸。例如,当使用传统单模光纤作为输入时,输入端面 176 的边缘的长度可在大约 7 微米和大约 10 微米之间,而当使用传统多模光纤作为输入时,边缘 180 的长度可以在大约 80 微米和大约 2000 微米之间。

[0073] 为了进一步增加 TIR 的效率,棒 170 的输出端 174 的截面尺寸可比输入端 172 的尺寸大(即输入端面的面积可大于输出端面的面积),而在一些情况下大很多。这增加了可内部反射的光的数量。在一个实施例中,输出端面的尺寸可与期望视场和/或记录传感器大约相同的尺寸。通过使输出端面的尺寸与要被照明的视场的尺寸平衡,棒下游的透镜可被选择成提供最佳通过量,而不是如传统系统中的基于充满目标区域所需的放大量。这进一步增加系统的效率,并且避免对光的分布加重内在的不规则性。尽管锥形棒(即输出面

比输入面大)的使用降低离开棒 170 的光的数值孔径 (NA),但这可以是有利的,因为较低 NA 光更加易于有效地准直并传递至物镜。

[0074] 均化棒 170 可以如 5mm 那样短和如所需那样长。在一些实施例中,均化棒 170 长度上可在 30mm 与 200mm 之间,优选 40mm 至 100mm。其他长度也是可以的。通常,较长的长度提供较好的均化光但呈现较高的损失,而较短的长度较好地保留总体强度但没有那么均匀。输入端面的每个边缘的长度可以在大约 0.005mm 和大约 15mm 之间,优选大约 1mm 至大约 3mm。因此,输入端面的面积可以在大约 0.000025mm^2 和大约 225mm^2 之间,优选大约 1mm^2 至 9mm^2 。

[0075] 输出端面的每个边缘的长度可以在大约 0.32mm 和大约 32mm 之间,优选大约 1mm 到大约 10mm。因此,输出端面的面积可以在大约 0.1mm^2 和大约 1000mm^2 之间,优选大约 1mm^2 至 100mm^2 。其他面积也是可以的。另外,输出端面的面积可为输入端面的面积的大约 1 倍和大约 1000 倍之间,优选 1 倍到 10 倍。在一个实施例中,输出端面的面积大于输入端面的面积至少 3 倍。在一个实施例中,输出端面的面积大于输入端面的面积至少 11 倍。

[0076] 某些均化棒几何结构可能不提供高效率结果,但每个唯一的系统设计可针对高效率结合特定的锥形、长度和端面尺寸。抛物面或球面的进入与离开表面也可被使用,并且可能减少均化棒的下游透镜。

[0077] 均化棒 170 包含光可穿透又具有高内部反射率的材料。作为示例,可使用玻璃、塑料等。例如,融合的二氧化硅和 N-BK7 是可用于均化棒 170 的两种普通玻璃材料。其他材料也是可以的。如果需要的话,均化棒 170 的侧面 184 可被涂敷反射性材料以防止可能影响照明图案的杂散光进入光学路径,尽管这不是要求的。替代地或结合地,可使用护罩,诸如在下讨论的。但这也不是要求的。

[0078] 当经过输入端面 176 输入圆形光束时,光经过棒 170 纵向地传播到输出端 174,随着它接触侧面 184 在内部反射。作为内反射的结果,发生了棱镜效应,使得所得的离开光束分布(光瞳平面)包含散焦的和分布的(在样本或目标平面)输入光束的多个图像的阵列。

[0079] 图 6A-6C 示出多个反射的示例。图 6A 和 6B 示出光束的强度分布,该光束传播经过并离开临界照明方案中的均化棒 170。如图 6A 所示,当光束在输入端面 176 处进入棒 170 时,它呈现一般高斯分布 190。在传播过棒 170 之后,光经过输出端面 178 离开该棒,呈现图 6B 中所示的分布 192。此外,棒的输出光瞳平面分布包括 3×3 阵列(对于此特定棒几何结构)中的输入光束的多个图像,如图 6B 所示。注意,阵列中的图像中的每个呈现与阵列中的其他图像相似的强度。如此,输出平面分布 192 比输入端面分布 190 示出更加均匀的强度分布并且未呈现相同类型的中心强度峰值。

[0080] 离开的光远离输出端面 178 传播且经由标准的临界照明光学装置传播到位于输出端面远处的样本平面,阵列图像彼此混合和融合在样本平面。在样本平面,光束呈现图 6C 中示出的强度分布 194,匹配输出端面的尺寸和形状。如图所示,样本平面分布 194 不再包括图像的阵列。相反,样本平面分布 194 具有非常高的均匀性,强度级均匀地分布在整个剖面上。另外,棒 170 的尺寸和形状使样本平面处的输出光束具有与输出端面的尺寸和形状匹配的照明斑点尺寸和形状。因此,棒 170 将具有高度非均匀化的强度分布的小的圆形输入光束转化为具有高度均匀化的分布且匹配可用图像区域的较大的正方形输出光束。

[0081] 因此,输出光束可比输入光束提供更加均匀的照明以照明目标且可被优化成将照

明仅提供至需要被记录相机的正方形传感器记录的目标量,导致较大的效率。因此,由原始光源提供的总信号强度可较小,由此需要较低的功率来产生它。

[0082] 如上所指出,均化棒 170 比常规用于均化照明光的其他设备具有较少的损失且需要较少的空间。另外,棒 170 可在数十毫米内获得此效果,而不是数米。在临界照明方案中使用均化棒 170 的均匀输出在样本平面中导致非常高的均匀性,而且照明斑点尺寸和形状匹配棒的输出端面 178。如下反映出,即使输出在光瞳平面(角空间)具有非常低的均匀性,如图 6B 所示,但在样本平面的均匀性是非常高的,如图 6C 所示。

[0083] 为了使均化器棒适当地工作,它必须对准输入光源。在一个实施例中,光源直接地或者通过透镜、反射镜和其他光学设备向棒提供光信号。例如,可通过粘合剂、夹具、连接器或其他固定方法将用作光源的 LED 固定到棒的输入端面以向该棒直接地提供光信号。在另一个示例中,来自 LED 的信号可使用聚光透镜和反射镜以使该 LED 光变成入射在棒的输入端面上。例如以与如前完成的类似的方式可实现将 LED 光聚焦在多模光导的端上。

[0084] 在另一个实施例中,光导被用于将光束运载到棒。图 7-10 示出根据本发明的光学均化器 200,配置为从诸如光纤光缆之类的光导 202 接收输入光束。光学均化器 200 包含中空的通常圆柱形的外壳 204,其中可放置均化棒。外壳 204 从近端 206 纵向延伸至远端 208。光导适配器 210,诸如例如光纤适配器,位于外壳 204 的近端 206。适配器 210 成形为并按尺寸设计为接受和可释放地固定光导。如图 8 中示出,适配器 210 被配置为接受具有光纤 202 的暴露端面 214 的光纤连接器 212。可通过任何期望的附连装置(诸如通过螺纹(threaded)连接、卡销(bayonet)连接、压配连接、粘合剂等)将适配器 21 附连到外壳 204。在所示的实施例中,适配器 210 和外壳 204 具有配合螺纹(未示出)从而使得适配器可被固定到外壳。

[0085] 光学窗口 216 位于外壳 204 的远端。光学窗口 216 为光束可穿过的玻璃或塑料的一般盘状件。为了最佳性能,光学窗口可具有与均化棒 170 相同或相似的折射率。

[0086] 均化棒(诸如上述的均化棒 170)位于外壳 204 内适配器 210 与光学窗口 216 之间,从而当光导连接器 212 被接受到适配器 210 内时,棒 170 的输入和输出端面 176 和 178 分别邻接或直接接触光导端面 214 和光学窗口 216。因此,以与上文所讨论的类似的方式,来自光导 202 的变化强度的圆形光束可经由输入端面 176 进入均化棒 170,并且被转化为更加均匀分布的较大的正方形或矩形光束,该光束经由输出端面 178 离开均化棒 170 并且穿过光学窗口 216。如果需要的话,折射率匹配液可被用在棒 170 的输入和/或输出端以增加输入端面 176 与光导端面 214 之间的以及输出端面 178 与光学窗口 216 之间的效率。外壳 204 可用作均化棒 170 周围的护罩以防止杂散光进入光学路径,可能影响照明图案。如上所述,棒 170 的侧面 184 可替代地或与护罩结合地包括涂层。

[0087] 光学窗口提供了独特的益处。它可被用于在外壳 204 内固定均化棒 170,同时允许来自均化棒的整个输出面的光从中穿过。弹簧等可被用于辅助光学窗口 216 来固定均化棒 170,如在下文中讨论。另外,光学窗口可被用户使用来操纵棒 170 而不直接接触该棒。由直接接触而非故意地转移到棒的任何油或其他材料可不利地影响该棒的性能,由于其反射属性中的变化。因此,能够操纵该棒而没有直接接触可以是非常有益处的。非光学夹具可被用来代替光学窗口 216,但是可能失去使用光学窗口的很多益处。

[0088] 盖 218 位于外壳 204 的远端 208 以将多种部件保持在该外壳内。盖 218 形成通过

它完全延伸的孔径 220 的边界。因此,在穿过光学窗口 216 之后,离开光束可穿过孔径 220 以离开光学均化器 200。可通过任何期望的附连装置(诸如通过螺纹连接、卡销连接、压配连接、粘合剂等)将盖 218 附连到外壳 204。在图示的实施例中,使用螺钉 222 将盖 218 附连到外壳 204。

[0089] 光学均化器 200 进一步包括关于光导 202 定位均化棒的装置。定位该棒的装置可将棒 170 轴向地对准光导连接器 212 和 / 或纵向定位棒 170 从而使得输入端面 176 邻接并压靠光导端面 214。出于上述的目的,棒 170 与光导连接器 212 的轴向对准意味着棒 170 的光轴与光导连接器 212 彼此对准。

[0090] 为了轴向对准棒 170,使用一对定位器 230、232。定位器 230 和 232 分别定位均化棒 170 的输入和输出端 172 和 174 从而使得均化棒 170 的光轴与光导连接器 212 彼此对准,如图 8 所示。定位器 230、232 可通过被分别称为近端定位器 230 和远端定位器 232 来区分。

[0091] 每个定位器按尺寸设计为保持在外壳 204 内的同一轴向位置,而与定位器的纵向运动无关。如此,每个定位器在形状上一般为圆柱形并且被设置在外壳 204 中的对应圆柱形孔 234 内。每个定位器是中空的以允许棒 170 从中穿过。近端和远端定位器 230 和 232 分别接触和固定棒 170 的输入和输出端 172 和 174 以将棒 170 轴向地置于中心。因此,棒 170 可保持与光导连接器 212 轴向地对准。

[0092] 这可通过数个方式来实现。例如,在一个实施例中,使用一个或多个臂。分别在近端定位器和远端定位器的近端和远端:一个和多个臂可朝向棒 170 向内轴向地延伸。该臂按尺寸设计成并被设置成接触棒 170 以将该棒 170 轴向地置于中心。数个臂可针对每个定位器而变化。在另一个实施例中,可使用圆形端壁来代替臂。圆形端壁可在一个或两个定位器上向内轴向地延伸以接触棒 170。在一个实施例中,圆柱形壁本身可接触棒 170。在图示的实施例中,近端定位器 230 采用多个臂,而远端定位器 232 自身使用圆柱形壁。

[0093] 为了轴向地定位棒 170,使用多个弹簧。在图示的实施例中,使用近端弹簧 240、中间弹簧 242 和远端弹簧 244。远端弹簧 244 被设置在光学窗口 216 的远端并且将光学窗口 216 紧紧地推压均化棒 170 的输出端面 178。这种接近力经由均化棒 170 延伸从而使得输入端面 176 推压着光导端面 214。如此,可使用单个远端弹簧 244 而无需其他弹簧,如果需要的话。

[0094] 然而,通常期望光导端面处有最小的接触力以改进与它的光学连接。因此,可期望最小化均化棒 170 与光导 202 之间的接触力而保持较大的力将光学窗口 216 推压棒 170 的输出端面 178。实现此目的一个方式是使用近端和中间弹簧 240 和 242 来吸收由远端弹簧 244 导致的输入力中的一些。在图示的实施例中,以分别在近端和远端定位器 230 和 232 引起回推(pushback)远端力的方式将近端和中间弹簧 240 和 242 设置在外壳 204 中。在一个实施例中,合成的回推远端力近似等于由远端弹簧 244 施加的近端力从而使得棒 170 的输入端面 176 邻接但不推压光导 202 的端面 214。在一个实施例中,合成的回推远端力小于由远端弹簧 244 施加的近端力从而使得棒 170 的输入端面 176 轻微地推压光导 202 的端面 214。

[0095] 定位均化棒 170 的其他方式也是可以的。

[0096] 图 9 和 10 示出根据一个实施例的组装光学均化器 200 的方法。如图 9 所示,远端

定位器 232、中间弹簧 242、近端定位器 230 和近端弹簧 240 以此顺序被插入外壳 204 的近端。然后，例如通过螺纹连接将适配器 210 固定到外壳 204 的近端。如图 10 所示，一旦适配器 210 被固定到外壳 204，均化棒 170、光学窗口 216 和远端弹簧 244 就以此顺序被插入外壳 204 的远端。然后，例如使用螺纹紧固件将保持盖 218 固定到外壳 204 的远端。一旦组装好，光学均化器 200 就准备好经由适配器 210 接收光导 202 的端。在一些实施例中，直到光导已经被接收在适配器 210 中时，才组装光学均化器 200。

[0097] 图 11 示出可使用本文中公开或预想的均化棒和 / 或光学均化器的示例性系统 100。在此系统的中心是定量的高容量细胞成像系统 102，其中扫描和分析生物细胞。示例性细胞成像系统 102 包括但不限于成像设备 104 和计算设备 106。

[0098] 成像设备 104 包括安装在显微镜组件 110 上的工作台外壳 108。工作台外壳 108 被配置为容纳需要用来定位样本板（诸如例如 96-孔板 (96-well plate)）或包含细胞的载玻片的部件，从而显微镜组件 110 可对细胞成像以允许执行细胞的高容量筛选，如本领域技术人员已知。从成像获取的数据的分析和储存可通过成像设备 104 与计算设备 106 结合起来执行。

[0099] 计算设备 106 可被用作系统的控制器以及用于自身或结合成像设备 106 执行成像设备 104 所获取的数据的分析和 / 或储存。计算设备 106 可包括通用或专用的计算机或服务器等（如上所定义的）或任何其他计算机化设备。计算设备 106 可与成像设备 104 直接或经由网络通信，如在本领域中已知。在一些实施例中，计算设备 106 被集成在成像设备 104 内。

[0100] 系统 100 还可包括用户显示设备 112 以显示结果和 / 或系统配置。成像设备 104 和 / 或计算设备 106 可与用户显示设备 112 直接地或间接地通信。

[0101] 通常安排在成像设备 104 中的光学配置在相机上产生细胞的放大图像以记录细胞样本的高分辨率图像。具体地，上文中讨论的配置提供了一种不仅实现如本领域技术人员已知的“宽场”显微术而且实现光学切片能力的系统。这可包括例如在细胞的范围上扫描照明的焦点和焦线的标准共焦显微术。这些能力可与成像算法耦合，辅助提供如由相机记录的所需图像。

[0102] 在一个实施例中，将本文中描述的方法步骤中的一个或多个执行为软件应用。然而，实施例不限于此而且还可在固件、硬件或固件、硬件和 / 或软件的结合中执行方法步骤。此外，方法的步骤可全部或部分存在于成像设备 104、计算设备 106 和 / 或其他计算设备。

[0103] 此系统的设备的操作环境可包含或利用具有一个或多个微处理器和系统存储器的处理系统。根据计算机编程领域技术人员的实践，参考处理系统所执行的操作或指令的行为和符号表示来在下文描述实施例，除非另外指出。这种行为和操作或指令被称为“计算机执行的”、“CPU 执行的”或“处理器执行的”。

[0104] 图 12 和 13 分别示出成像设备 104 的示例性实施例的侧视图和俯视图。图 12 显示内部平台设计的一般横截面侧视图。通常，成像设备 104 集成了需要用来定位包含生物细胞的 HCS 样本板 116 的部件，从而显微镜组件 110 可执行生物细胞的高容量拍摄。

[0105] 工作台外壳 108 包含以与组成显微镜组件 110 的部件在光学上和机械上合作的方式安装的工作台组件 114。工作台组件 114 一般包括可设置 HCS 样本板 116 的工作台，以及

用于选择性地移动该工作台以便观察的工作台定位机制,如在本领域中已知的。

[0106] 在图示的实施例中,显微镜组件 110 容纳可被用于从样品的底部执行样品样本板 116 上的样品的拍摄的倒立的显微镜。该显微镜包括物镜组件 118,其包含如本领域已知的多个物镜以获取样品的放大视图。每个物镜可对应于不同的放大水平。在一个实施例中,包含至少三个标准的物镜。如果需要的话,还可包含额外的物镜。示例标准的物镜可包括 10x/0.4NA、20x/0.45NA 和 40x/0.6NA 光学规格。示例额外的物镜可包括 2x/0.08NA、4x/0.16NA 和 20x/0.7NA 光学规格。也可使用其他放大水平和物镜类型。

[0107] 此显微镜还包括机械地耦合到显微镜物镜组件 118 的聚焦驱动机制 120。物镜组件 118 可经由聚焦驱动机制 120 关于工作台组件 114 上移和下移(即在 z 方向上)以将显微镜物镜组件 118 的物镜中的任一个对准和聚焦在生物细胞上,该生物细胞被设置在样品样本板 116 中。聚焦驱动机制 120 可被配置有步进电机和螺钉/螺母组合,降低消除(anti-backlash)以提供例如低至 0.006- μm /微步的分辨率以支承配置在成像设备 104 中的显微镜物镜。

[0108] 尽管本文中的讨论针对倒立的显微镜配置的使用,要理解的是非倒立的显微镜配置可替代地用于从细胞的上方执行拍摄。此外,尽管本文中讨论的显微镜组件 110 是定制的,当需要时可集成其他的常规显微镜配置,诸如例如,由德国 Goettingen 的卡尔蔡司微成像公司(Carl Zeiss MicroImaging, Inc.)制造的 Axiovert 200M。在一些实施例中,根本不需要显微镜。

[0109] 显微镜组件 104 还包括多种已知的部件,用于产生和记录经由物镜所获得的样品的图像。这些部件可包括,但不限于:

- 图像记录器 122,诸如例如单色 CCD 或 CMOS 相机,
- 荧光团激发源 124,诸如例如包含多个发光二极管(LED)的光引擎,
- 过滤激发和发射光的光学滤光片,诸如例如多位置二向性滤光片轮 128 和多位置发射滤光片轮 130,以及
- 引导激发光和发射光经过显微镜组件的光引导设备,诸如例如特兰(telan)透镜 132、折叠反射镜 134(例如 90 度折叠反射镜)和一个或多个光管。

[0110] 上述部件中的一个或多个通常由计算设备 106 控制来允许自动成像。通常安排在成像设备 104 中的光学配置在图像记录器 122 上产生细胞的放大图像从而可记录细胞样本的高分辨率图像。具体地,上文中讨论的配置提供了一种不仅实现如本领域技术人员已知的“宽场”显微术而且实现光学切片能力的系统。

[0111] 在一个实施例中,特兰透镜 132 是近红外(NIR)增强透镜(例如 Olympus Triplet),其被设计成当与期望的发射波长一起使用经配置的物镜中的任一个时在从蓝到 NIR 的可见光谱的全部范围上增强成像设备 104 的性能,将在下文中讨论。

[0112] 显微镜组件 104 可包括光学均化器(诸如光学均化器 200)以将激发光转化为具有更加均匀分布的照明强度并且具有与所记录视场的形状匹配的形状的激发光束。另外,输出端面的尺寸可被选择成匹配所记录视场的尺寸。

[0113] 为了荧光分析,荧光团激发源 124 产生激发光以用于照射细胞并使细胞诱发荧光团发射光。随着激发光穿过系统,激发光具有呈一般高斯强度的一般圆形。荧光团激发源 124 可以是多 LED 光引擎,其与由二向性滤光片轮 128 和发射滤光片轮 130 提供的经配置的

激发滤光片合作地工作,二向性滤光片轮 128 和发射滤光片轮 130 两者可被计算机驱动以选择期望的滤光片。来自荧光团激发源 124 的激发光可被传递通过光学均化器以将该激发光转化到更加有效的光,例如以上述方式。

[0114] 作为操作的一般方法,荧光团激发源 124 可被自动或手动地定向成提供范围从紫(例如 380nm)到近红外(例如至少 700nm)的多个带宽的光并且被设计成激发荧光团,诸如例如蓝绿荧光蛋白质(CFP)和远红(即近红外)荧光团。

[0115] 使用系统 100,可执行细胞的荧光分析。为了执行此分析,工作台组件 114 首先将样本板 116 移动到位置,其中微孔(micro-well)的期望特定部分或载玻片的特定部分在给定光路中。

[0116] 图 13 的俯视图图示进一步示出显微镜组件 110 内的示例部件的落射荧光路径。如图 12 和 13 示出,根据关于样本板 116 中荧光标记细胞的应用,荧光团激发源 124 发射具有期望的系统波长带宽的光束,该光束由光纤传递系统中继(如图 13 中的大方向箭头 136 示出)。圆形的一般高斯形状的激发光束被光均化器 200 接收并转化(例如以上述方式)为具有均匀分布强度的较大正方形形状的激发光束。

[0117] 使用多种光学装置的照明适配器 138 来引导均化的激发光束,该均化的激发光束沿着激发光路 140(如由包含斜杠的箭头在图 12 和 13 中指示)被进一步引导,直到被设置在多位置二向性滤光片轮 128 中的期望的二向性部件 142(图 13 中示出)所接收为止。针对由荧光团激发光源 124 所提供的特定带宽的波长来设计和自动地软件选择二向性部件 142。二向性部件 142 将均化的激发光束引导到 90 度折叠反射镜 134。此后,如图 12 所示,均化的激发光沿着激发光路 140 经过特兰透镜 132 和物镜组件 118 向上继续至设置在样本板固定器 116 中的细胞。

[0118] 均化的激发光在设置在样本板固定器 116 中的细胞中诱发荧光。诱发的荧光从细胞经由落射荧光布置沿着穿过物镜组件 118 和特兰透镜 132 的路径 144(由图 12 和 13 中的深色箭头示出)返回,直到被 90 度折叠反射镜 134 接收为止。如图 12 中特别示出,折叠反射镜 134 引导诱发的荧光返回到二向性部件 142,允许诱发的荧光沿着例如穿过额外的光学部件的路径 144 继续返回。然后通过安排在发射滤光片轮组件 130 中的配置的滤光片光学地过滤诱发的荧光,而经过滤的诱发荧光经由相机 122 捕捉并记录为图像。由于激发光强度的均匀分布,诱发的荧光在整个图像上表现真实的强度水平。

[0119] 均化棒在临界照明的光学系统中的使用可比常规的临界光学系统提供独特的益处。例如,可获得高达 100%的通过量,具有近乎完美的均匀性。相反,常规的临界照明的设计仅可实现最好 64%效率,且在视场的角落总强度急剧下降。由于高的通过量,LED 系统可被用于共焦照明,而在目标场照明中没有显著的暴露时间或不规则性。另外,尽管一些“顶帽”光学装置目前可用于单个波长,他们不能为常规的宽带解决方案提供期望的效率。正方形光纤目前也是可用的,但在直径上受限。这种尺寸限制要求非常昂贵的和精确的聚焦光学装置以将 UV 和 NIR 光两者有效地传递到光纤的端中。本文中所讨论或预想的实施例克服与宽带照明相关联的这些标准问题,并且可兼容工业标准的光导系统。另外,因为离开均化棒的光不是高度发散的,不需要大的快的光学装置来确保可用光的捕捉和准直。

[0120] 本文中所讨论或预想的实施例也可比常规的基于科勒的系统提供独特的益处而提供类似水平的均化。如上所讨论,常规系统可使用科勒组件来均化光束。在临界照明系

统中提供类似水平的均化（如可使用本文中讨论或预想的均化棒来实现）比基于科勒的系统提供很多优点。最明显的一个是科勒组件可被省略，由此节约大量的钱，尤其因为用于产生科勒照明的集光器和聚光透镜是昂贵的且通常难以获得。另一个优点是导致更加简单的系统。除了由省略科勒组件所获得简化，常规科勒组件通常在使用期间需要经常的孔径校准，而在临界照明系统中不需要该校准。

[0121] 图 14 和 15 示出根据一个实施例的激发适配器 250，集成了均化棒。激发适配器 250 包括临界照明组件 252，从光学均化器 200 接收输出光束。如图 15 所示，临界照明组件 252 包括激光器组件 254，收集输入光束并将其聚焦到小孔径 256 和进一步操纵聚焦光束的聚光器组件 258 上。反射镜组件 260 被设置在激光器组件 254 与聚光器组件 258 之间以当光流过临界照明组件 252 时改变光轴的方向。来自均化的临界照明组件的输出具有非常均匀分布的强度。集光器组件 254 包括位于集光透镜管 264 内的一个或多个集光透镜 262 而聚光器组件 258 包括位于聚光透镜管 268 内的一个或多个聚光透镜 266。

[0122] 为了最大化效率，可选择或设计透镜使得从激发适配器 250 输出的光信号的横截面尺寸基本上等于物镜 / 相机的视场的尺寸。这种系统可提供彻底充满视场的光束而没有任何光由于照射到视场的外部而浪费。但是为了容易制造，横截的光信号尺寸可选择性地大于视场。例如，在一个实施例中，横截的光信号尺寸可大于视场达到 10%。尽管这可允许少量的光信号照射视场的外部，它也允许放松制造容差，改进了可制造性。

[0123] 临界照明组件 252 包括套管形式的输入端口 270 以用于接收和对准光学均化器 200。由于光学均化器 200 在套管 270 中的定位，来自光学均化器 200 的输出光束变成临界照明组件 252 的输入光束。光学均化器 200 轴向滑动进入输入端口 270，允许调节在其中产生的光斑的焦距。因此，可通过在输入端口 270 内纵向移动光学均化器 200 而在样本平面处观察图像来把照明精密地聚焦在样本平面处。一旦光学均化器 200 位于期望的纵向位置处，固定机制就把光学均化器 200 固定在套管 270 中。例如，在图示的实施例中，使用了一对固定螺钉（未示出）。在此组装形式中，临界照明组件 252 将从光学均化器 200 输出的最初均化的信号传输到显微镜，因此传输到图像平面。

[0124] 如上所讨论，常规科勒组件被用于均化光束。然而，在其中使用的激光和聚光透镜必须很大和很厚且具有严格的容差水平以从一般高斯输入信号产生均匀的分布。如此，这些光学元件是昂贵的且可能难以获得。此外，常规科勒组件可能需要孔径的频繁校准，由于极其紧密的容差。

[0125] 相反，临界照明组件 252 的部件可比常规科勒组件小且具有较不严格的容差水平。此外，放松的容差可导致较不频繁的孔径校准。

[0126] 另外，因为离开光均化器 200 的光不是高度发散的，离开光学均化器 200 的光不需要大的快的光学装置以确保所有可用光的捕捉和对准。

[0127] 以类似上文所讨论的方式，与 HCI 系统 100 类似的 HCI 被用于记录细胞所诱发的荧光团发散光。与光学均化器 200 类似的光学均化器被用于产生均化的照明光。在光学均化器中使用的均化棒由 N-BK7 玻璃制成，具有 60mm 的长度，且具有边缘长度分别为 1.5mm 和 5.0mm 的正方形输入和输出端面从而端面面积分别为 2.25mm^2 和 25.0mm^2 。出于比较的目的，利用和不利用系统中安装的光学均化器对细胞成像。如此，激发细胞且使用均化的和伟均化的激发源光束来对诱发的荧光成像。

[0128] 图 16A 和 16B 各自示出使用未均化的和均化的激发光源光束在一个 HCI 时期分别获得的 16 个图像 280 (280a-280p)、282 (282a-282p) 的阵列。每幅图是表示在成像期间成像的 16 个染色组织玻片的 4x4 阵列。图 16A 中示出的 16 个玻片表示与图 16B 中示出相同的 16 个玻片。如图所示,使用均化的激发源光产生的图像 282 比使用未均化的激发源光产生的图像 280 呈现更加均匀分布的光强度。由于均匀的分布,图像 282 的多种特征比图像 280 上的更加突出,尤其在角落处。另外,图像 282 之间的关联的差异和相似点比图像 280 之间的更加容易实现。总之,使用均化的激发源光产生的图像 282 具有较高的质量且呈现更均匀的照明,因此当被分析时可产生更准确的结果。

[0129] 图 17A 和 17B 示出使用未均化的和均化的激发源光束在另一个 HCI 时期分别获得的图像 290、292。再次,使用均化的激发源光产生的图像 292 比使用未均化的激发源光产生的图像 290 呈现更加均匀分布的光强度。再次,由于均匀的分布,图像 292 的多种特征比图像 290 上的更加突出,尤其在角落处。

[0130] 在图 17A 和 17B 中还示出了与每幅图相关联的直方图。使用从图像 290 和 292 分别获得的信息来产生直方图 294 和 296。如在图中示出,突出部 298 在直方图 296 中是明显的而在直方图 294 中缺少。为了这种特定测试,突出部意味着信号和背景的分离。因此,仅当使用均化的激发源光时检测到这种特定条件,重要地,当使用未均化的激发源光时检测不到。

[0131] 尽管上述讨论针对使用具有单个光导的均化棒,应该理解到均化棒也可被用于均化从多个照明源接收的光并且将均匀分布的照明光提供到具有最小修改的紧紧限定的区域。为了接收多个输入,均化棒的输入端面、输出端面和 / 或总尺寸可能需要被增加和 / 或在其他情况下修改。多个输入可被融合到光束中而没有任何损失或当使用常规系统时通常需要的花费。这是可代替依赖于滤光片、透镜和反射镜的实质布置的很多现有融合模块的重要和独特的设计,导致实质系统改进和成本节约。

[0132] 在一个实施例中,例如,两个或多个光纤导管、LED、光导、激光二极管和 / 或白光输入可一律于光均化器连接从而使得任何连接的光源可被用在同一位置,而不管所使用的期望输入。

[0133] 在另一个实施例中,为了仿真多模光纤,每个对应于不同波长的多个 LED 可被直接地或者间接地固定到棒的输入端面以向该棒提供各个频率。

[0134] 在另一个实施例中,多个光纤可被输入到均化棒。如果需要的话,常规光纤连接器可被用于在棒的输入端适当地隔开光纤。

[0135] 要理解到,关于多个实施例所述的特征可以以任意组合来混合和匹配而不脱离本发明的精神和范围。本发明可以以其他特殊形式来实施而不脱离其精神或基本特性。所述的实施例在所有方面要被视作说明性的而不是限制性的。本发明的范围因此由所附权利要求指出而不是通过前面的描述来指出。落在权利要求书的等价物的含义和范围内的所有改变将被包含在权利要求书的范围内。

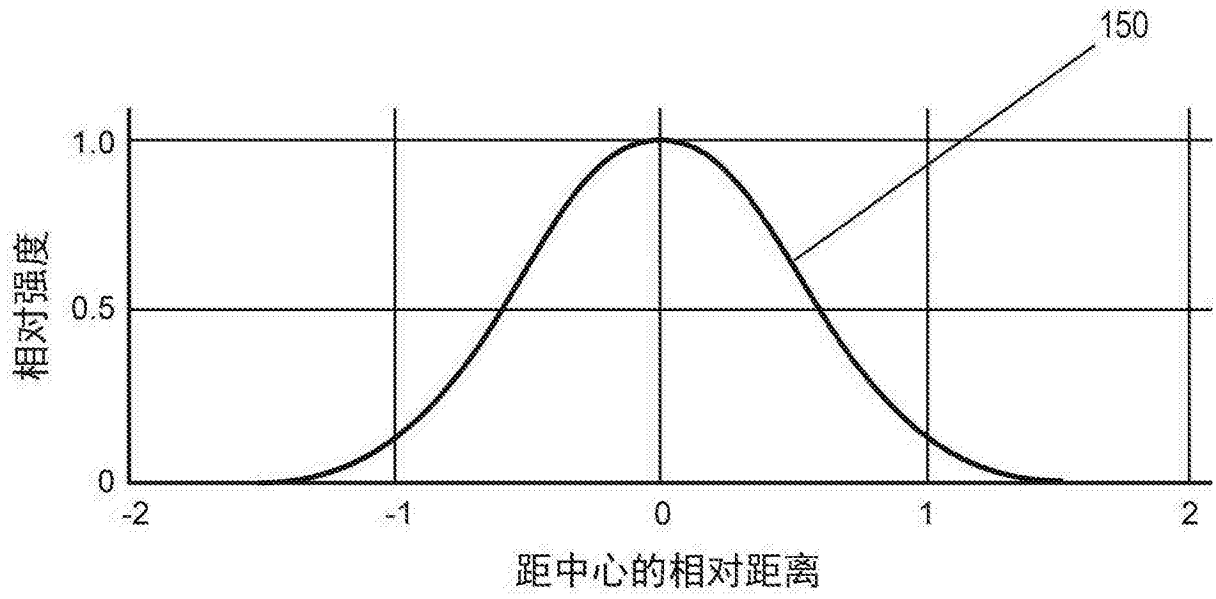


图 1

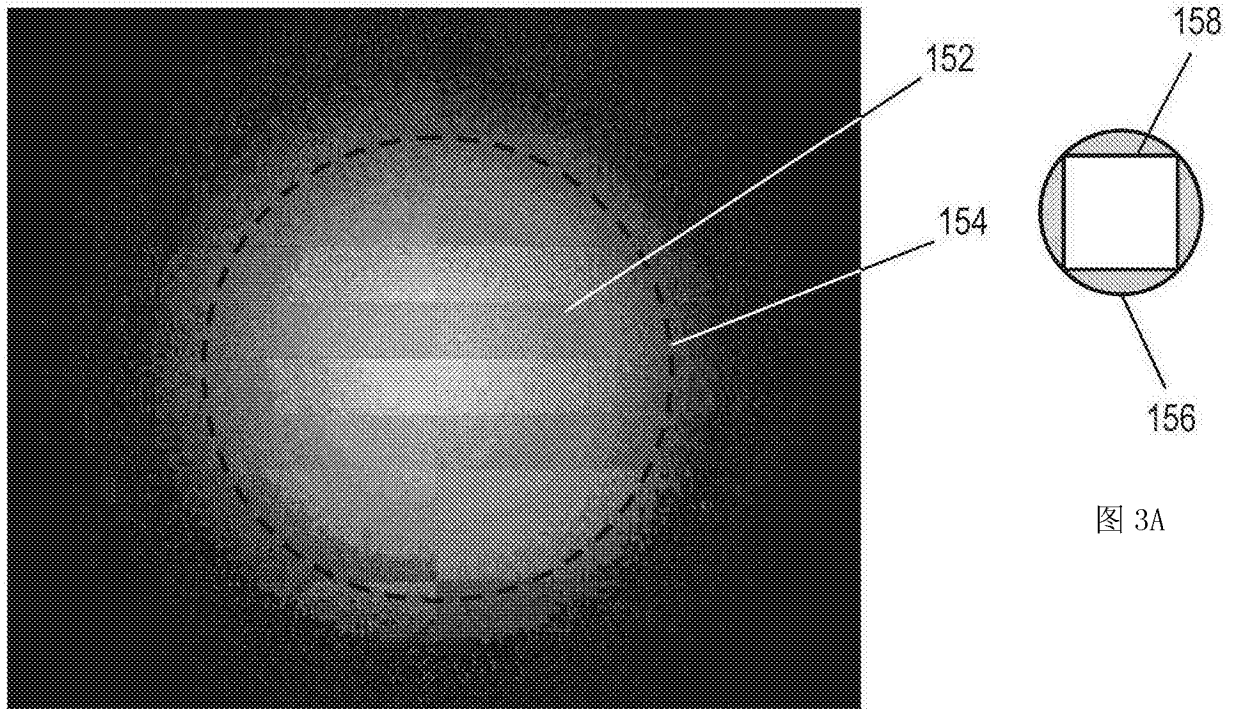


图 3A

图 2

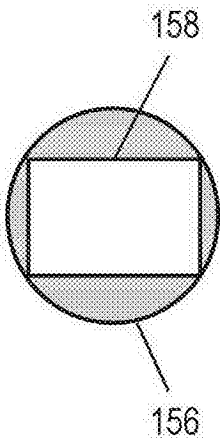


图 3B

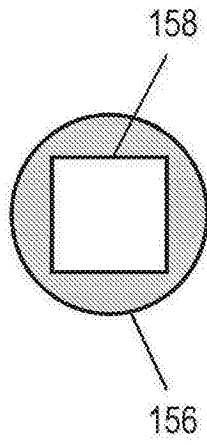


图 3C

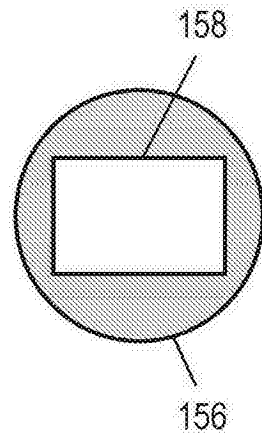


图 3D

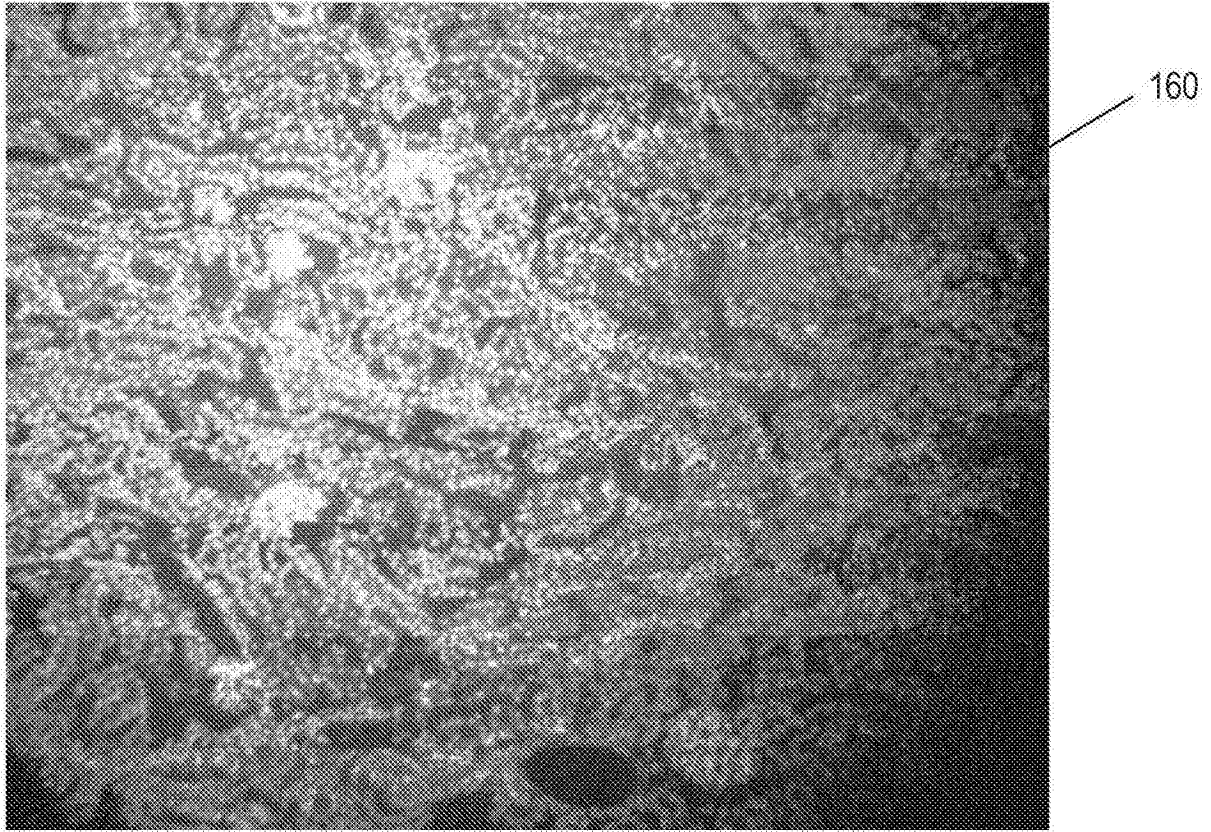


图 4

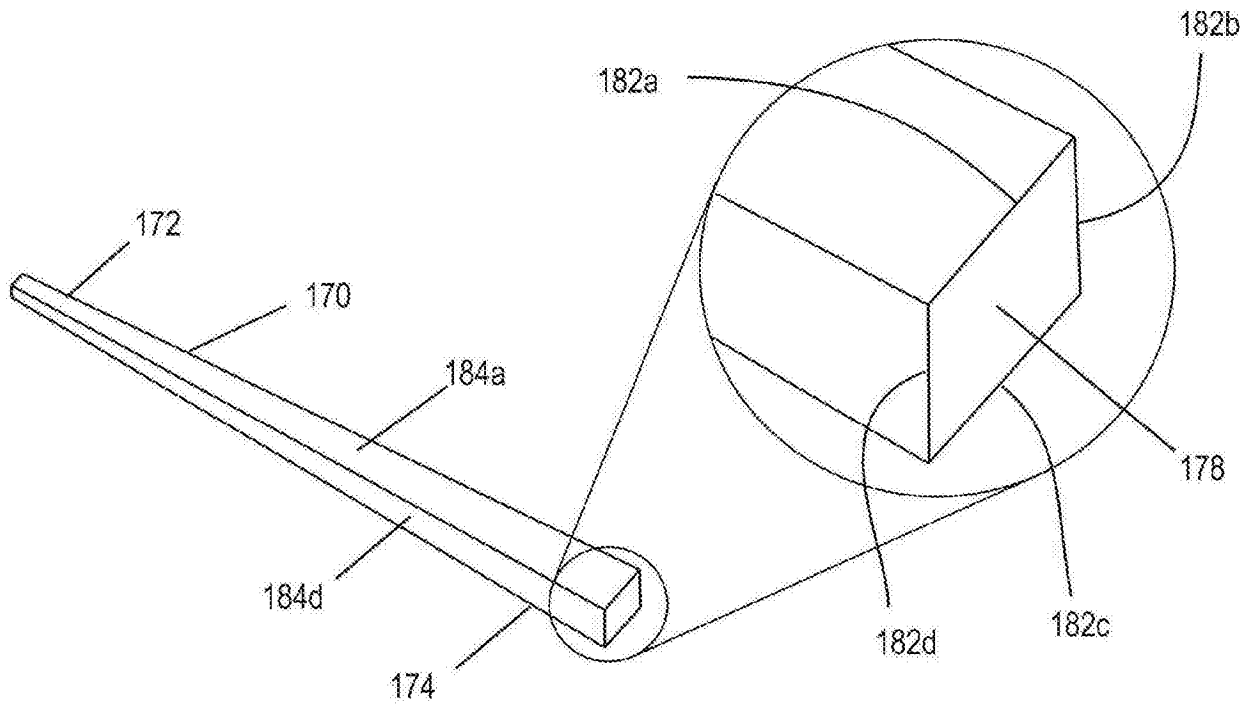


图 5A

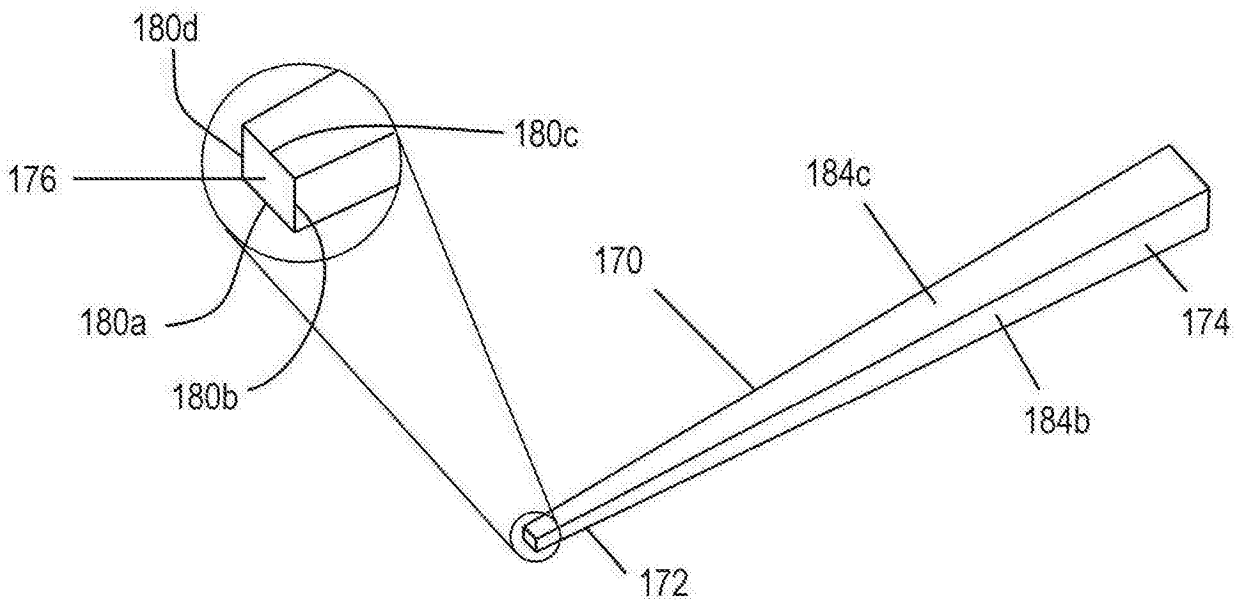


图 5B

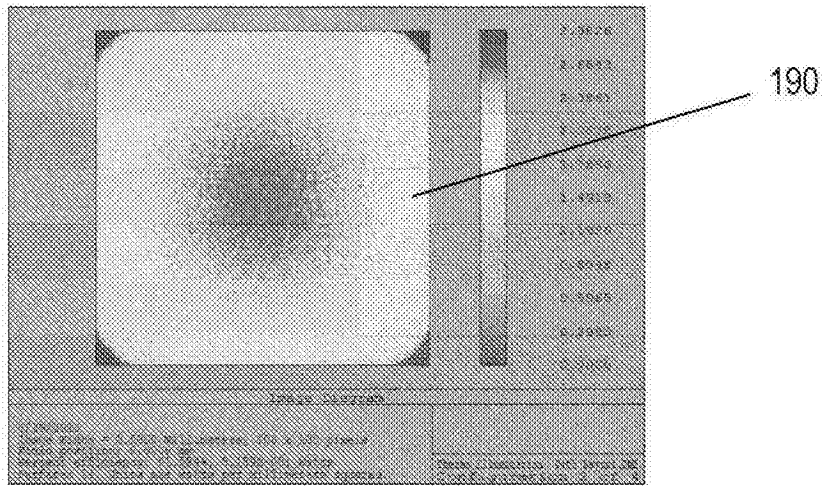


图 6A

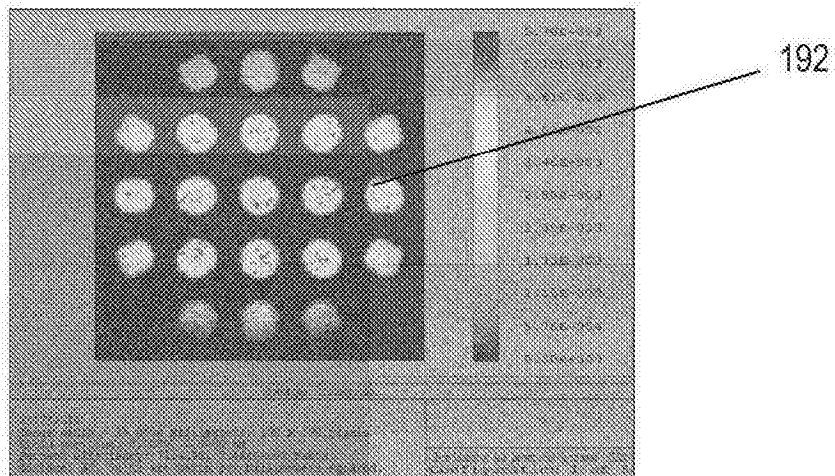


图 6B

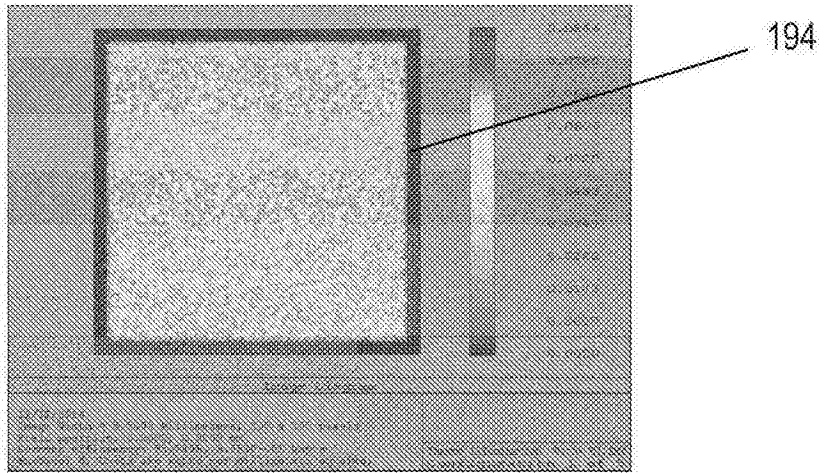


图 6C

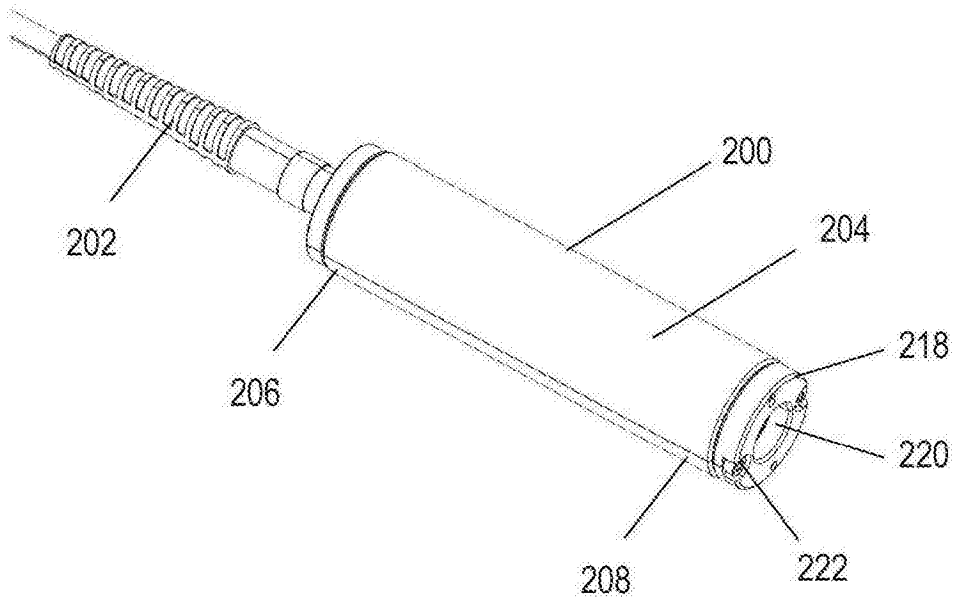


图 7

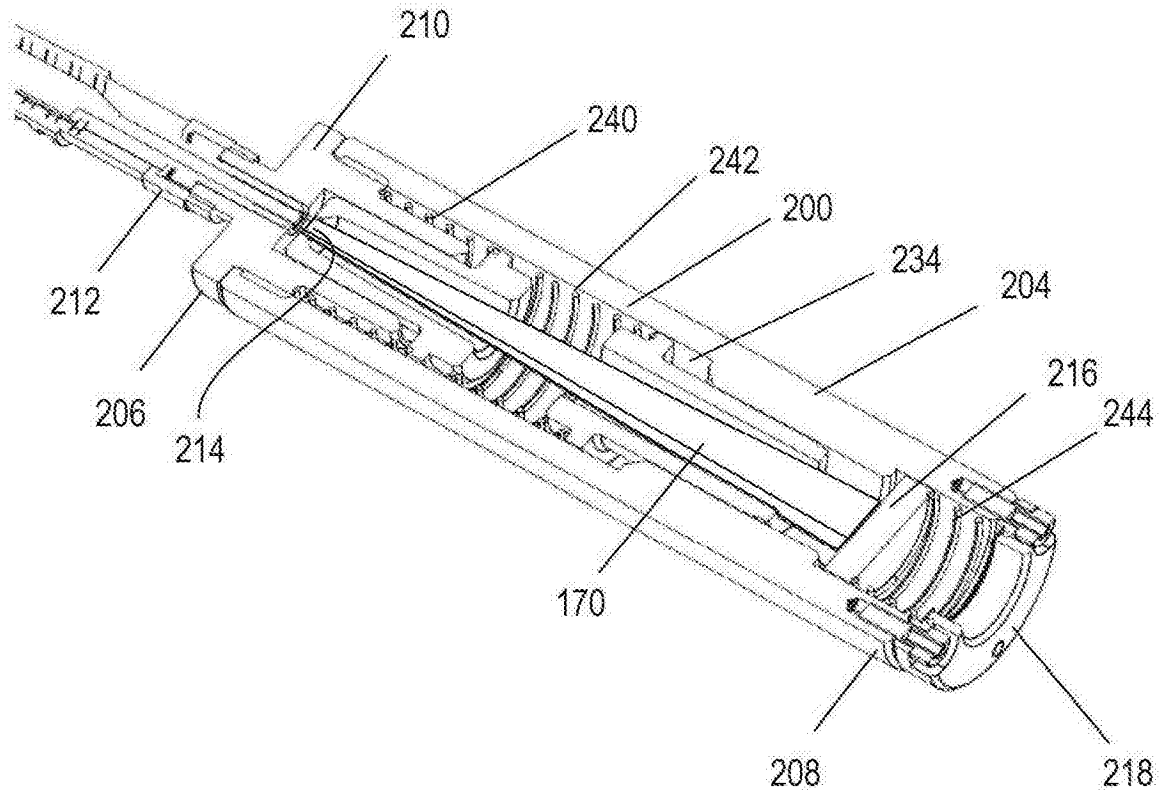


图 8

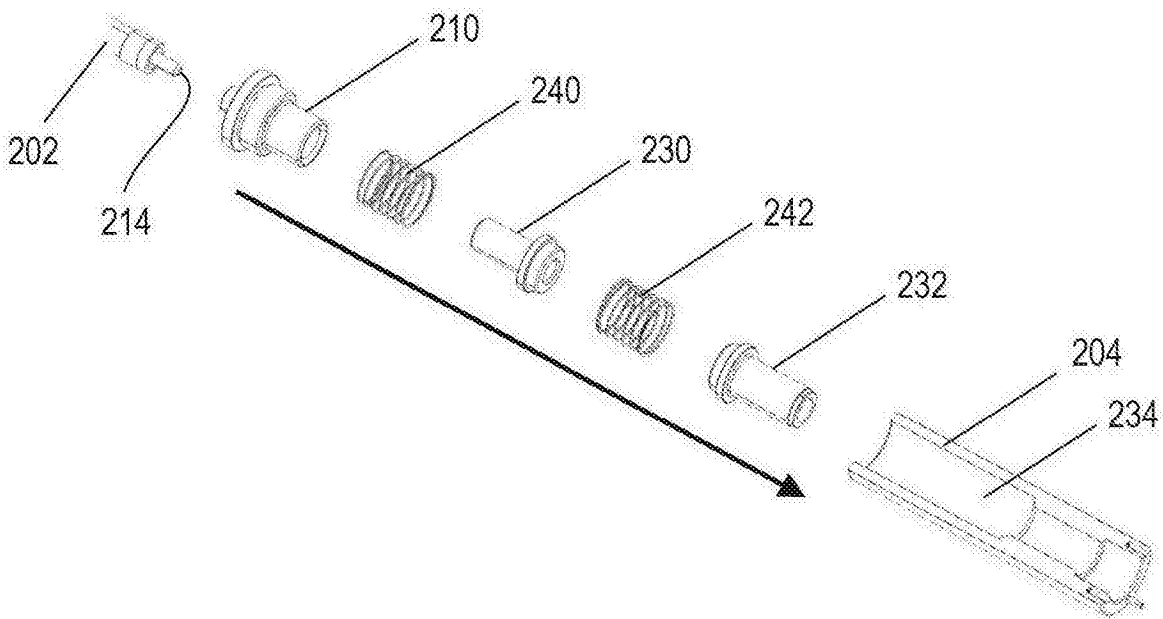


图 9

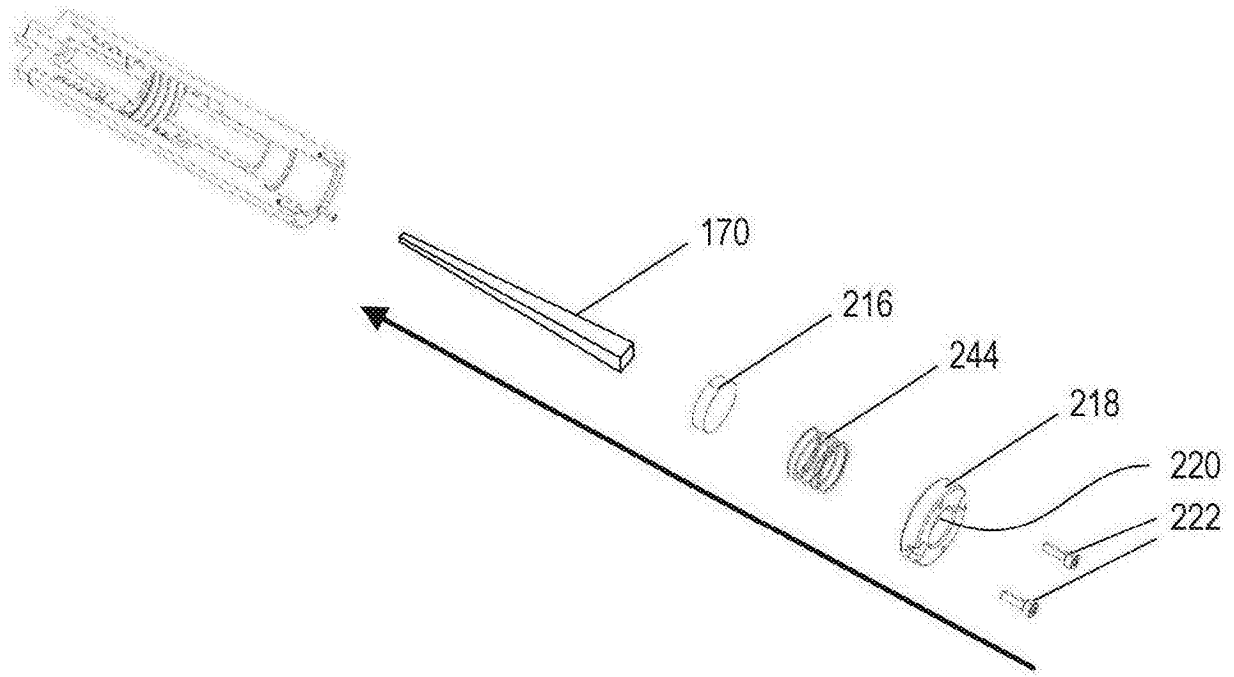


图 10

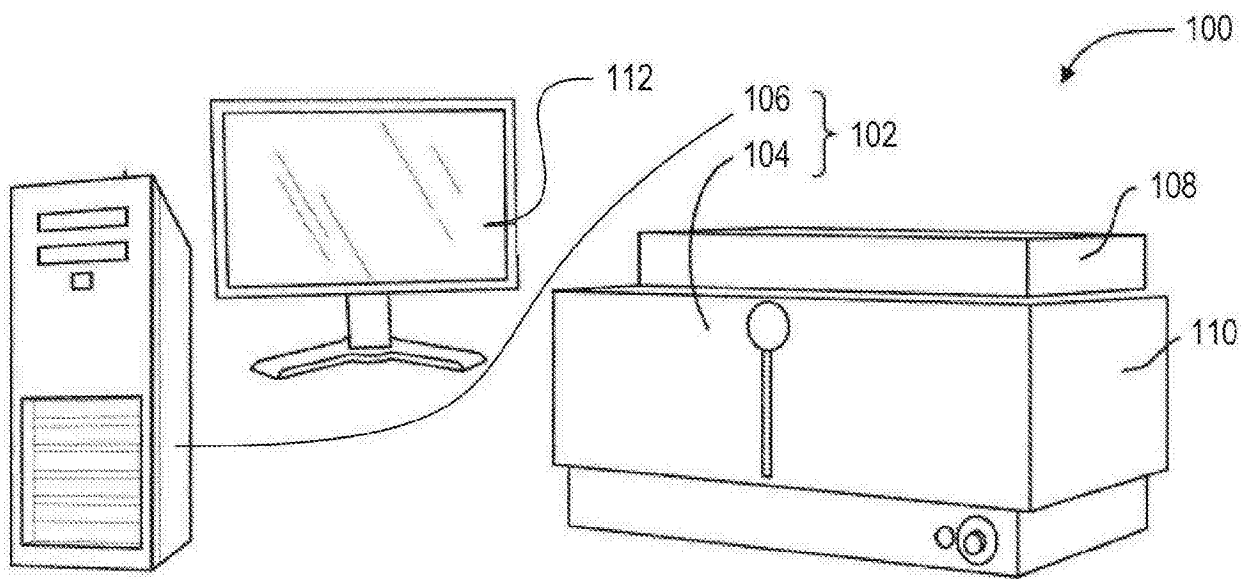


图 11

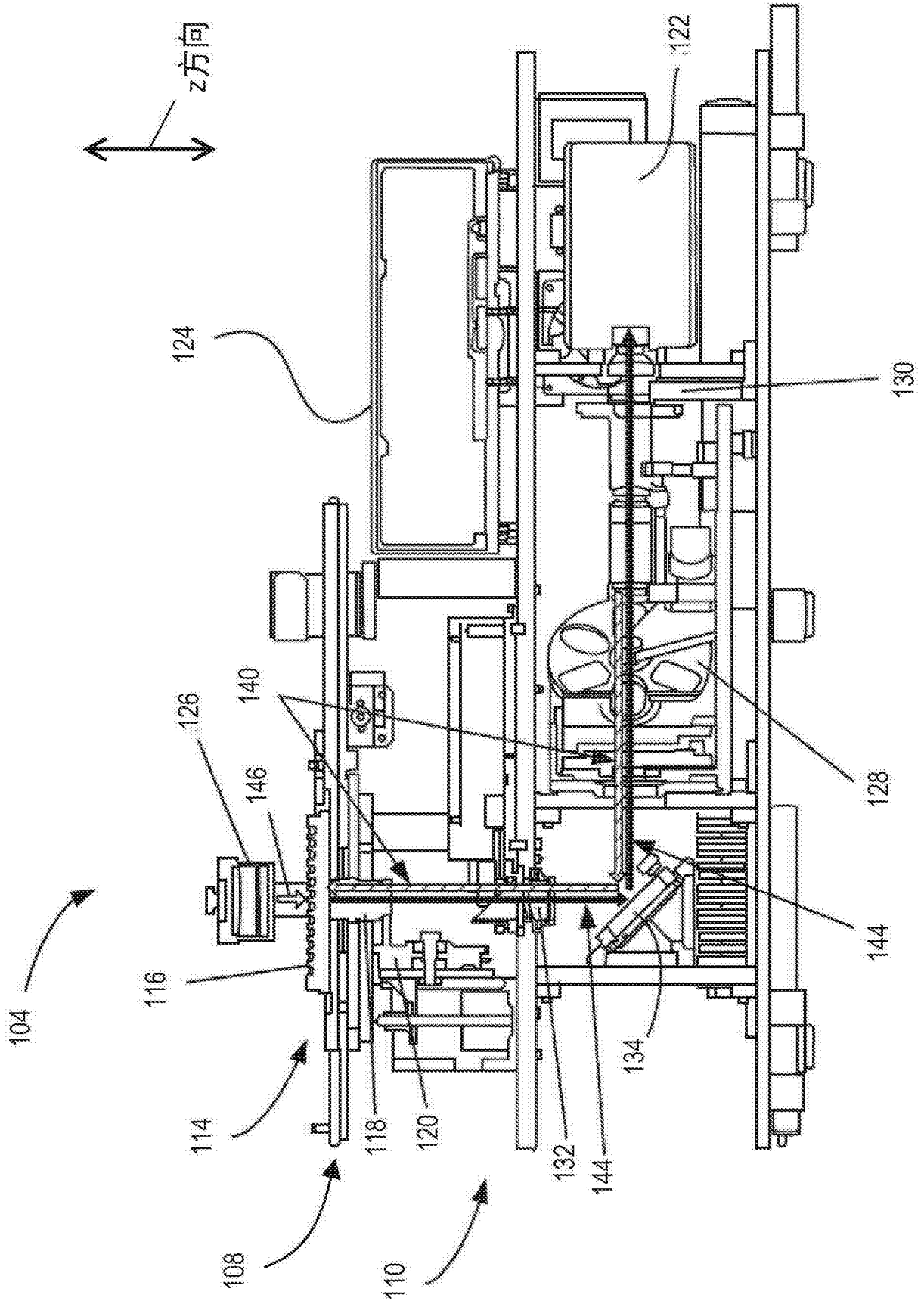


图 12

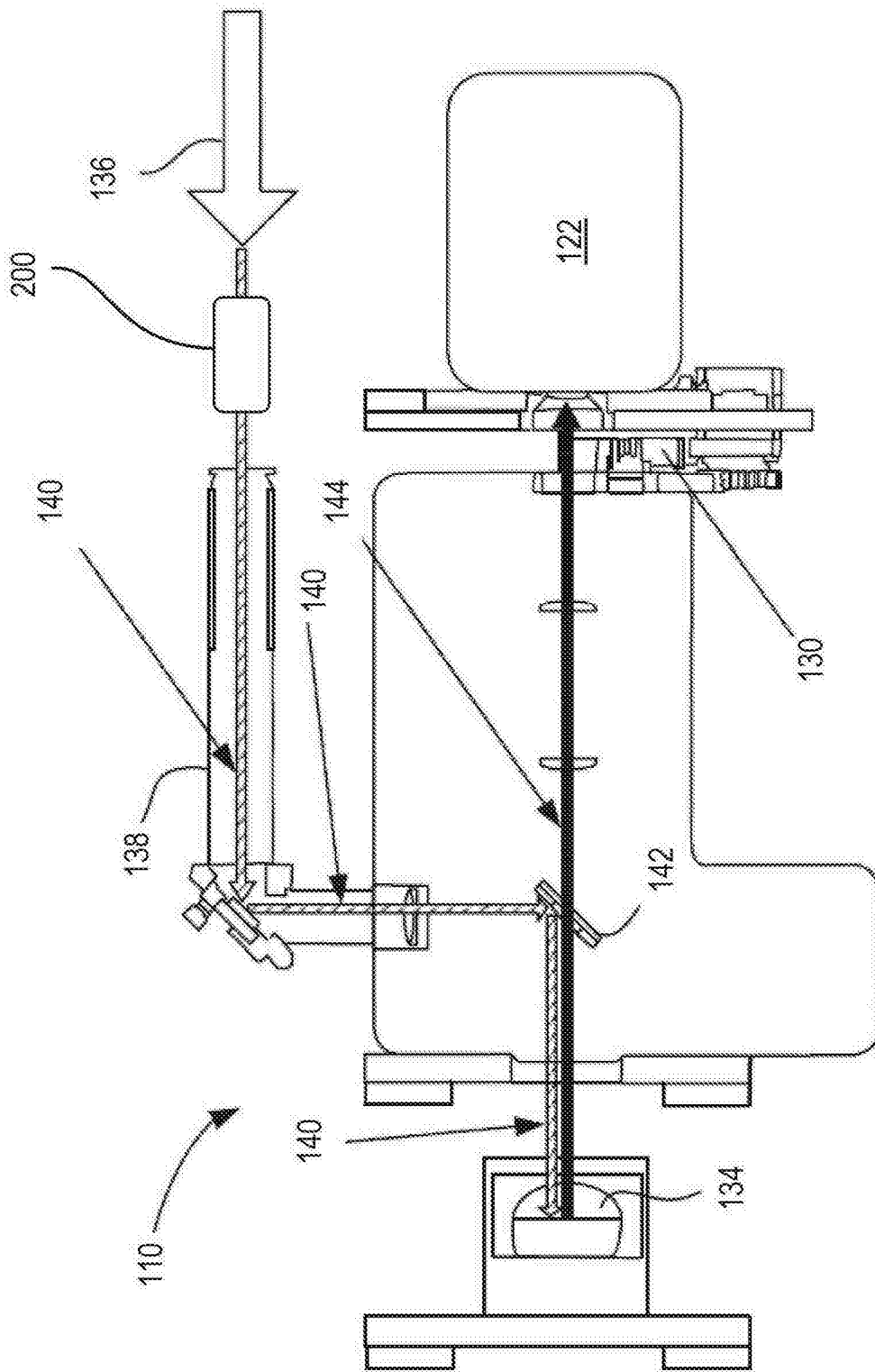


图 13

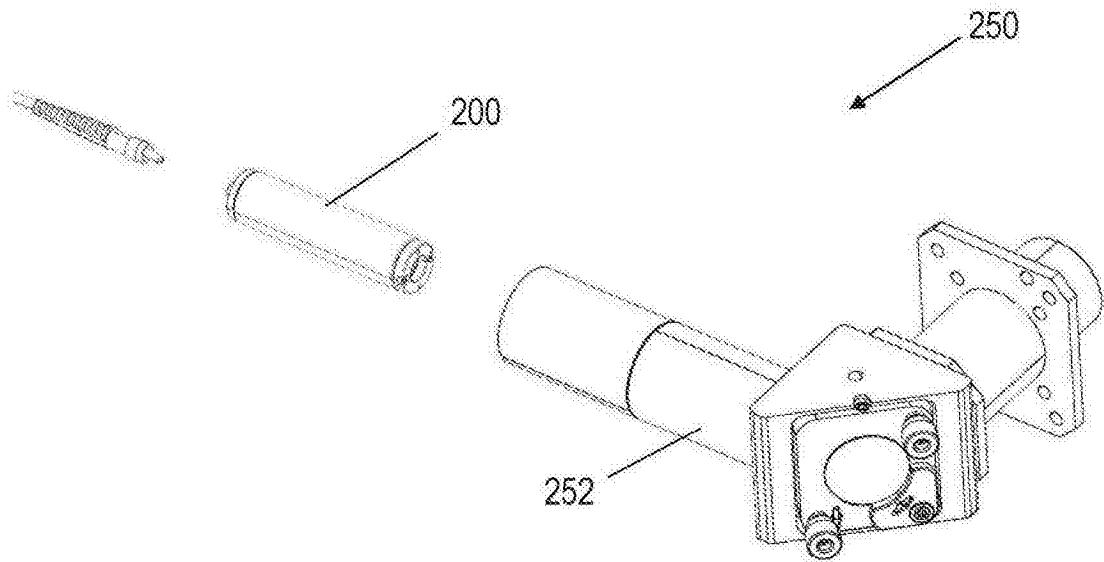


图 14

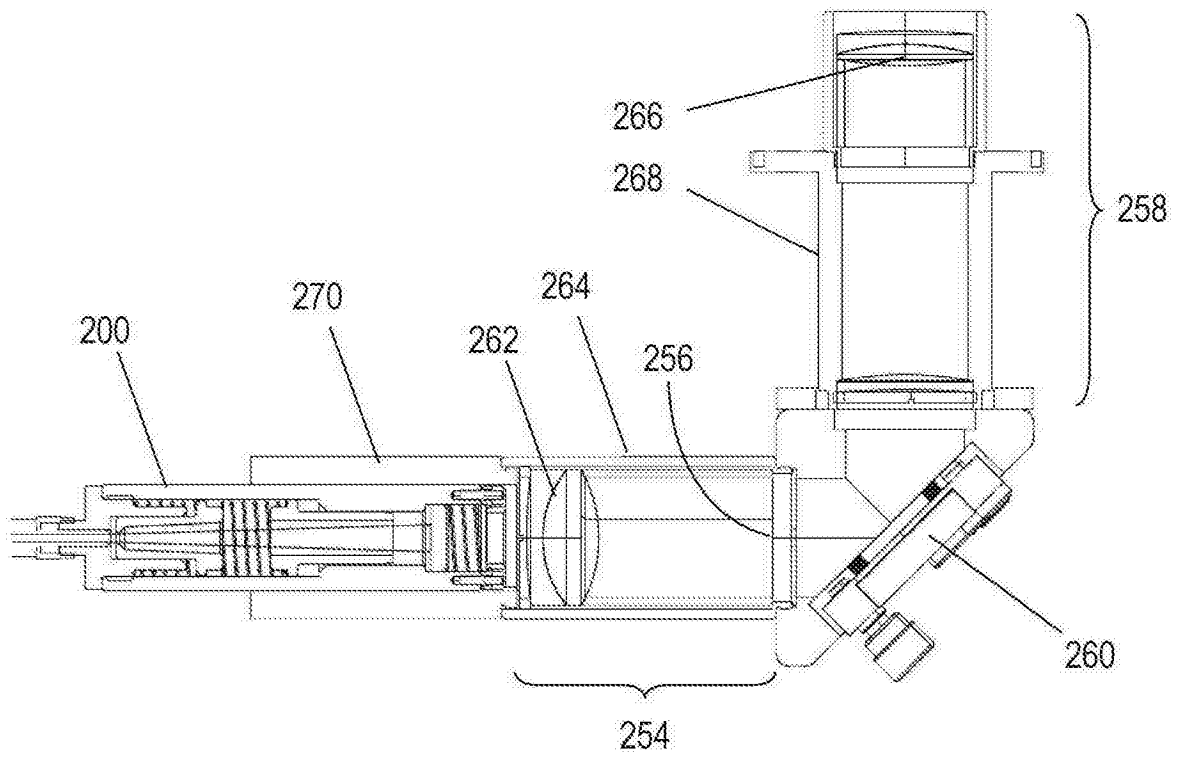


图 15

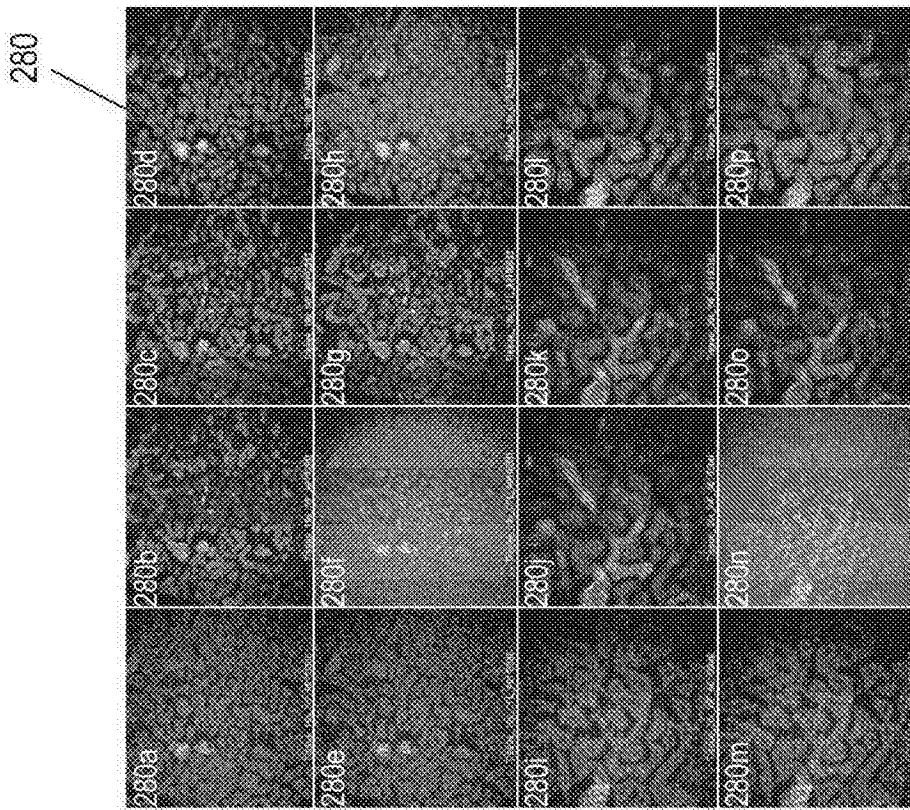


图 16A

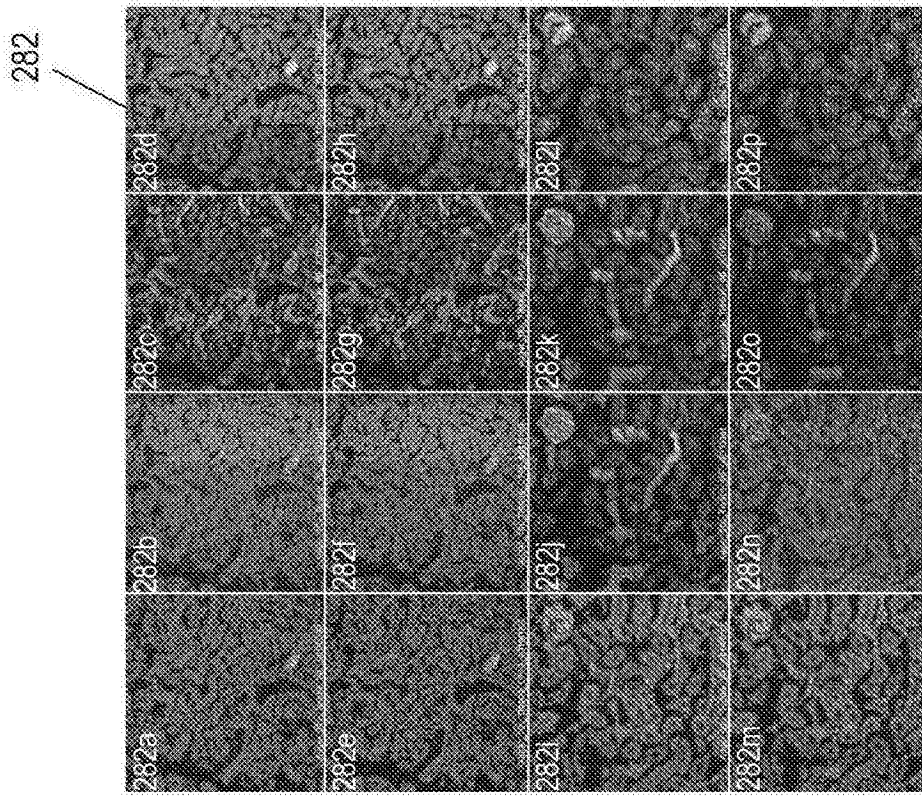


图 16B

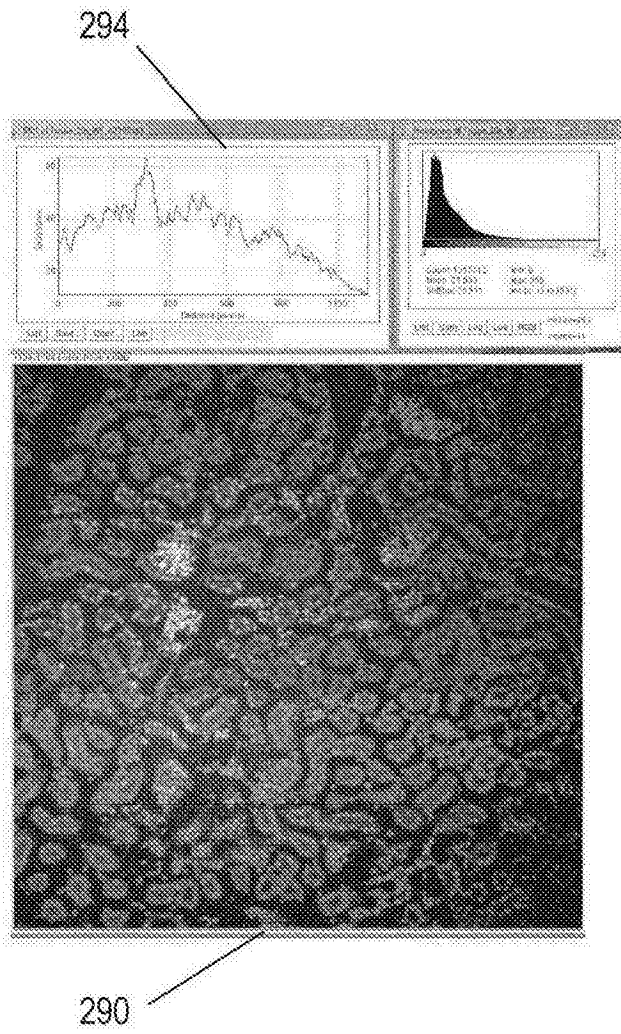


图 17A

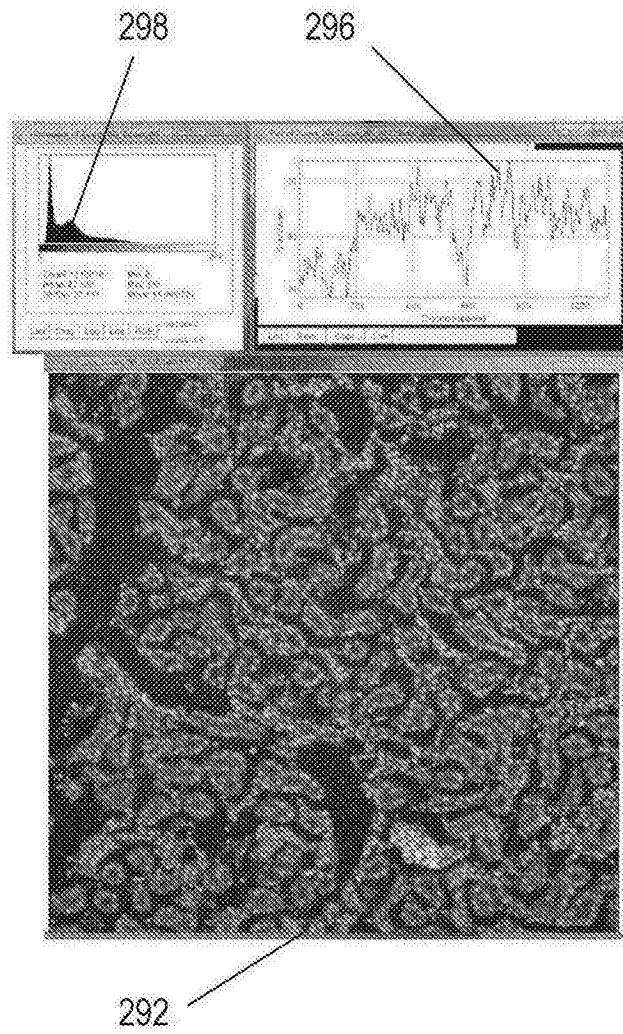


图 17B