

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2014 年 12 月 24 日 (24.12.2014)



(10) 国际公布号
WO 2014/201590 A1

- (51) 国际专利分类号:
G01N 21/64 (2006.01) *A61B 5/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2013/000726
- (22) 国际申请日: 2013 年 6 月 21 日 (21.06.2013)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (71) 申请人: 清华大学 (TSINGHUA UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 B209, Beijing 100084 (CN)。
- (72) 发明人: 及
- (71) 申请人: 白净 (BAI, Jing) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 B209, Beijing 100084 (CN)。左思敏 (ZUO, Simin) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 B209, Beijing 100084 (CN)。刘飞 (LIU, Fei) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 B209, Beijing 100084 (CN)。何耘 (HE, Yun) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 B209, Beijing 100084 (CN)。曹良才 (CAO, Liangcai) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 B209, Beijing 100084 (CN)。

(74) 代理人: 北京纪凯知识产权代理有限公司 (JEEKAI & PARTNERS); 中国北京市西城区宣武门西大街甲 129 号金隅大厦 602 室, Beijing 100031 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

[见续页]

(54) Title: HOLOGRAPHIC FLUORESCENT MOLECULAR IMAGING SYSTEM AND METHOD

(54) 发明名称: 一种全息荧光分子成像系统和方法

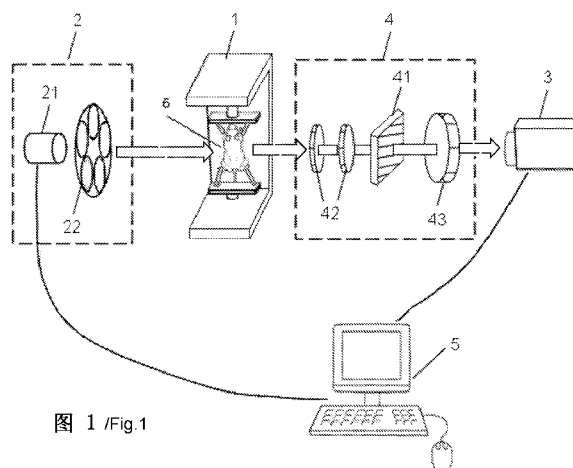


图 1 /Fig.1

(57) Abstract: A holographic fluorescent molecular imaging system and a method. The system comprises a experiment platform (1) used for placing an object to be imaged, an exciting light lighting unit (2) disposed on one side of the experiment platform, a CCD detecting apparatus (3) disposed on the other side of the experiment platform, and a computer (5) connected to the exciting light lighting unit (2) and the CCD detecting apparatus (3). A holographic fluorescence filtering unit (4) is disposed between the experiment platform (1) and the CCD detecting apparatus (3). The system uses the holographic fluorescence filtering unit (4) as a spatial filtering and spectrum filtering device, so that the CCD detecting apparatus (3) can simultaneously and directly obtain a spatial distribution image and rich multispectral fluorescence information of a two-dimensional or three-dimensional fluorescence indicator, and therefore, a complicated image reconstruction algorithm and time-consuming complicated scanning are not needed.

(57) 摘要:

[见续页]



WO 2014/201590 A1



本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

一种全息荧光分子成像系统及方法，该系统包括一用来放置待成像物体的实验平台（1），一设置于所述实验平台一侧的激发光照明单元（2），一设置于所述实验平台另一侧的 CCD 检测装置（3），以及一连接所述激发光照明单元（2）和 CCD 检测装置（3）的计算机（5），在所述实验平台（1）和 CCD 检测装置（3）之间设置有一个全息荧光滤波单元（4）。该系统采用全息荧光滤波单元（4）作为空间滤波和光谱滤波器件，从而使得 CCD 检测装置（3）可以同时直接获得二维或三维的荧光标记物的空间分布影像和丰富的多光谱荧光信息，因而不需要复杂的图像重建算法和耗时的复杂扫描。

一种全息荧光分子成像系统及方法

技术领域

5 本发明涉及一种荧光分子成像系统及方法，特别是关于一种利用全息光栅来作为空间滤波和/或光谱滤波器的全息荧光分子成像系统及方法。

背景技术

10 荧光分子成像技术是近年发展迅速的一种新兴的分子成像技术，在肿瘤检测、药物研发和疾病诊断等领域有着广阔的应用前景。荧光分子成像技术是利用荧光标记物标记小动物体内的特定分子或细胞，采用合适波段和强度的激发光照射被标记的小动物时，小动物体内的荧光标记物受到激发从而发出荧光，通过采用一定的装置检测产生的荧光强度，就可以获得组织内部荧光光学特性的分布图像，从而可以从分子和细胞水平上对正常或异常的生物过程进行空间和时间上的视觉描述。荧光分子成像技术是一种高灵敏度、无电离辐射、非侵入式和低成本的成像方式。

15 但是，现有的荧光分子成像系统的荧光滤波多采用普通光学滤光片、液晶可调谐滤波器（LCTF）等光谱色散滤波器件，单次信号采集只能获得二维、单光谱的荧光标记物的信息。这使得当系统需要重建出立体的、多光谱的荧光图像时，就必须进行多次扫描且采用复杂的图像重建算法，因此导致现有的荧光分子成像系统耗时长、时间分辨率差、光谱波段少。而在实际应用中，常常需要实现快速的荧光信号的空间、光谱、时间信号的采集，尤其是针对一些快速的、动态变化的药物代谢和多荧光标记物的成像分析，现有的荧光分子成像系统不能满足要求。

发明内容

25 针对上述问题，本发明的目的是提供一种全息荧光分子成像系统及方法，以实现快速的二维或三维空间重建和光谱特性重建。

为实现上述目的，本发明采取以下技术方案：一种全息荧光分子成像系统，该系统包括一用来放置待成像物体的实验平台，一设置于所述实验平台一侧的激发光照明单元，一设置于所述实验平台另一侧的 CCD 检测装置，以及一连接所述激发光照明单元和 CCD 检测装置的计算机，其特征在于，在所述实验平台和 CCD 检测装置之间设置有一全息荧光滤波单元。在一个优选的实施例中，所述全息荧光滤波单元采用全息光栅作为核心光学器件。在一个优选的实施例中，根据具体实验条件，在所述全息光栅的前后两侧分别间隔设置一聚焦镜组件和一成像透镜。

在一个优选的实施例中，所述激发光照明单元包括激发光源和滤光片轮。

在一个优选的实施例中，所述实验平台为 360° 旋转实验台。

一种采用上述系统的全息荧光分子成像方法，其包括以下步骤：

步骤 1，将待成像物体放置在实验平台上；

5 步骤 2，激发光照明单元发射的激发光传播并照射待成像物体，产生的荧光信号经过全息荧光滤波单元，实现空间滤波和/或光谱滤波；

步骤 3，CCD 检测装置同时直接获得二维或者三维的荧光标记物分布影像和丰富的多光谱荧光信息，并将其发送到计算机进行数据处理。

10 在一个优选的实施例中，所述全息荧光滤波单元采用全息光栅作为核心光学器件。

在进行步骤 2 时，根据具体实验条件，确定并选择所需要的全息光栅，以及在所述全息光栅的前后两侧分别间隔设置一聚焦镜组件和一成像透镜。

在一个优选的实施例中，该成像方法采用透射式荧光成像或反射式荧光成像。

15 本发明由于采取以上技术方案，其具有以下优点：本发明在小动物实验平台和 CCD 检测装置之间设置一全息荧光滤波单元作为空间滤波和光谱滤波器件，从而使得 CCD 检测装置可以同时直接获得三维的荧光标记物空间分布影像和丰富的多光谱荧光信息，因而不需要复杂的图像重建算法和耗时的复杂扫描。

附图说明

20 以下结合附图来对本发明进行详细的描绘。然而应当理解，附图的提供仅为了更好地理解本发明，它们不应该理解成对本发明的限制。

图 1 是本发明的结构框示意图。

具体实施方式

25 下面结合附图和实施例对本发明进行详细的描述。

图 1 显示了本发明的全息荧光分子成像系统，该系统包括小动物实验平台 1，设置于小动物实验平台 1 一侧的激发光照明单元 2，设置于小动物实验平台 1 另一侧的 CCD 检测装置 3，设置于 CCD 检测装置 3 和小动物实验平台 1 之间的全息荧光滤波单元 4，以及分别与激发光照明单元 2 和 CCD 检测装置 3 连接的计算机 5。

30 本发明与现有的荧光分子成像系统的区别在于用全息荧光滤波单元 4 代替普通荧光滤光片来作为荧光分子成像系统的荧光空间和光谱滤波器件。在本实施例中，全息荧光滤波单元 4 是一组以全息光栅 41 为核心的光学组件。同时还可以根据具

体实验条件，在全息光栅 41 的前后两侧分别设置有一聚焦镜组件 42 和一成像透镜 43，其中聚焦镜组件 42 包含若干聚焦镜。

在一个优选的实施例中，激发光照明单元 2 包括激发光源 21 和滤光片轮 22，其中滤光片轮 22 用以控制激发光源 21 的激发光波长。

5 在一个优选实施例中，小动物实验平台 1 可以是一个 360° 旋转实验台。

根据上述各实施例中提供的全息荧光分子成像系统，本发明还提出了一种全息荧光分子成像方法，其包括以下步骤：

步骤 1，将待成像物体 6 放置在小动物实验平台 1 上。

10 步骤 2，根据实验目的、实验动物和荧光标记物等具体实验条件，确定并选择所需要的全息光栅 41。例如进行多光谱荧光分子成像实验时，需要同时对多个波长 ($\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$) 的荧光信号进行成像，此时可以选用具有 n 个光谱区分段的全息多光谱色散器件作为全息光栅 41，对多光谱荧光影像实现一次多通道分离和快速成像。

15 步骤 3，激发光源 21 发射的激发光通过滤光片轮 22，传播并照射待成像物体 6，产生的荧光信号经过全息荧光滤波单元 4 的空间滤波和/或光谱滤波，实现荧光信号的空间分解和/或光谱分解。

步骤 4，CCD 检测装置 3 同时直接获得二维或三维的荧光标记物空间分布影像和丰富的多光谱荧光信息，并将其发送到计算机 4 进行数据处理，因而不需要复杂的图像重建算法和耗时的复杂扫描。

20 在一个优选的实施例中，荧光成像方式既可以是透射式荧光成像，也可以是反射式荧光成像。其中，反射式荧光分子成像是指在同一表面上对荧光进行激发和检测，透射式荧光分子成像则是在不同表面上对荧光进行激发和检测。

25 上述各实施例仅用于对本发明的目的、技术方案和有益效果进行了进一步详细说明，并不用于限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内，所做的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权利要求

1、一种全息荧光分子成像系统，该系统包括一用来放置待成像物体的实验平台，一设置于所述实验平台一侧的激发光照明单元，一设置于所述实验平台另一侧的 CCD 检测装置，以及一连接所述激发光照明单元和 CCD 检测装置的计算机，其特征在于，在所述实验平台和 CCD 检测装置之间设置有一全息荧光滤波单元。

2、如权利要求 1 所述的一种全息荧光分子成像系统，其特征在于，所述全息荧光滤波单元采用全息光栅作为核心光学器件。

3、如权利要求 2 所述的一种全息荧光分子成像系统，其特征在于，根据具体实验条件，在所述全息光栅的前后两侧分别间隔设置一聚焦镜组件和一成像透镜。

4、如权利要求 1 到 3 任一项所述的一种全息荧光分子成像系统，其特征在于，所述激发光照明单元包括激发光源和滤光片轮。

5、如权利要求 1 到 4 任一项所述的一种全息荧光分子成像系统，其特征在于，所述实验平台为 360° 旋转实验台。

6、一种采用如权利要求 1 到 5 任一项所述系统的全息荧光分子成像方法，其包括以下步骤：

步骤 1，将待成像物体放置在实验平台上；

步骤 2，激发光照明单元发射的激发光传播并照射待成像物体，产生的荧光信号经过全息荧光滤波单元，实现空间滤波和/或光谱滤波；

步骤 3，CCD 检测装置同时直接获得二维或者三维的荧光标记物分布影像和丰富的多光谱荧光信息，并将其发送到计算机进行数据处理。

7、如权利要求 6 所述的全息荧光分子成像方法，其特征在于，所述全息荧光滤波单元采用全息光栅作为核心光学器件。

8、如权利要求 7 所述的全息荧光分子成像方法，其特征在于，在进行步骤 2 时，根据具体实验条件，确定并选择所需要的全息光栅，以及在所述全息光栅的前后两侧分别间隔设置一聚焦镜组件和一成像透镜。

9、如权利要求 6 到 8 任一项所述的全息荧光分子成像方法，其特征在于，该成像方法采用透射式荧光成像或反射式荧光成像。

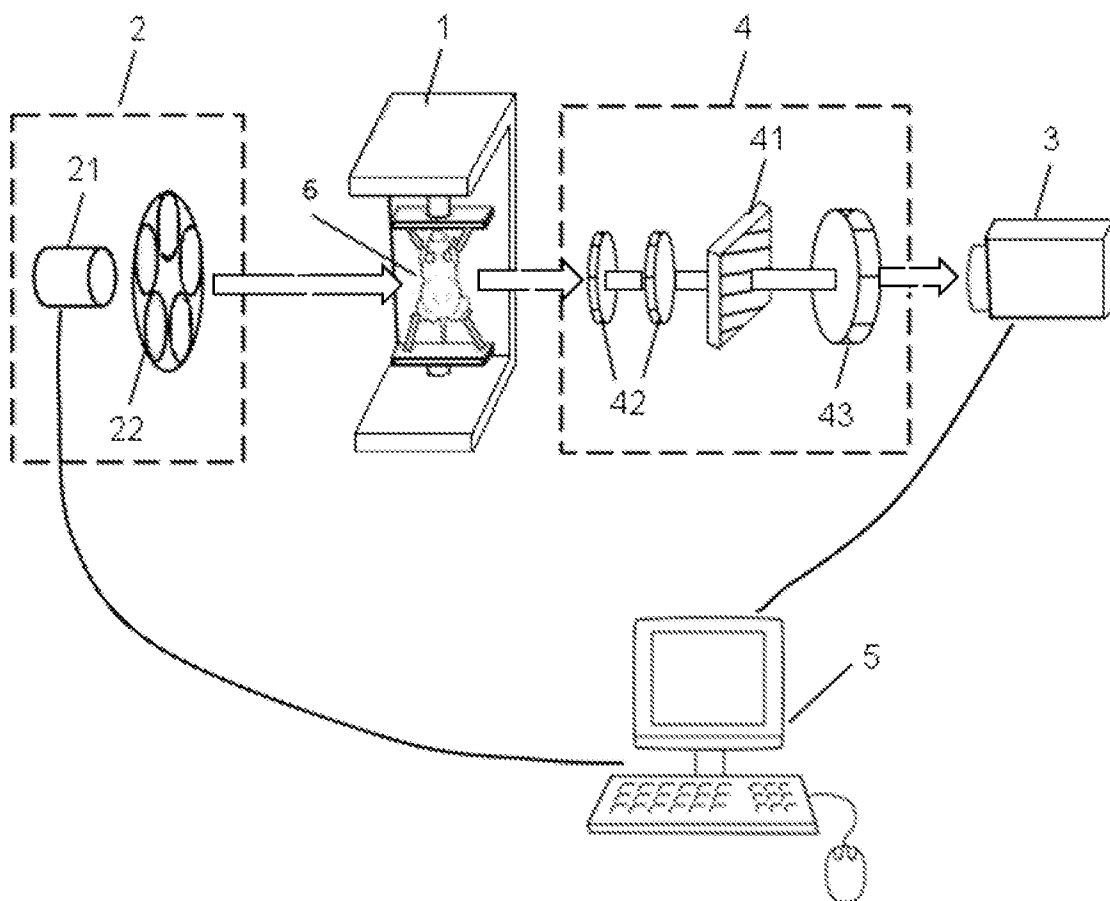


图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2013/000726

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: G01N 21/-; A61B 5/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, WPI, EPODOC, CNKI: hologra+, fulor+, grating?, raster?, tsinghua university, univ qinghua, image

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 100593389 C (TSINGHUA UNIVERSITY) 10 March 2010 (10.03.2010) description, page 3, line 31 to page 5, line 30 and figures 1 and 2	1-9
Y	US 2010/0078575 A1 (REILLY Michael T. et al.) 01 April 2010 (01.04.2010) description, paragraph [0036] and claim 11	1-9
Y	CN 101396262 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 01 April 2009 (01.04.2009) description, page 7, lines 3-8, page 10, lines 3-5 and figures 4	1-9
E	CN 103284696 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 11 September 2013 (11.09.2013) claims 1-9	1-9
A	CN 201311517 Y (NATIONAL INSTITUTE OF METROLOGY, P.R.C.) 16 September 2009 (16.09.2009) the whole document	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 28 February 2014 (28.02.2014)	Date of mailing of the international search report 20 March 2014 (20.03.2014)
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer SUN, Yuhan Telephone No. (86-10) 62413515

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2013/000726

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 100593389 C	10.03.2010	CN 101365377 A	11.02.2009
		US 2009/0018451 A1	15.01.2009
		WO 2009/006758 A1	15.01.2009
US 2010/0078575 A1	01.04.2010	US 8368897 B2	05.02.2013
		US 2013/0169954 A1	04.07.2013
		US 8526001 B2	03.09.2013
CN 101396262 A	01.04.2009	CN 101396262 B	23.06.2010
CN 103284696 A	11.09.2013	None	
CN 201311517 Y	16.09.2009	None	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/000726

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 21/64 (2006.01) i

A61B 5/00 (2006.01) n

A. 主题的分类		
见附加页		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
IPC: G01N 21/-; A61B 5/-		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNPAT, WPI, EPODOC, CNKI; 全息, 荧光, 像, 光栅, hologra+, fulor+, grating?, raster?, 清华大学, Tsinghua University, UNIV QINGHUA		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 100593389 C (清华大学) 10. 3 月 2010 (10.03.2010) 说明书第 3 页第 31 行至第 5 页第 30 行、图 1-2	1-9
Y	US 2010/0078575 A1 (REILLY Michael T. 等) 01. 4 月 2010 (01.04.2010) 说明书第[0036]段、权利要求 11	1-9
Y	CN 101396262 A (清华大学) 01. 4 月 2009 (01.04.2009) 说明书第 7 页第 3-8 行, 第 10 页第 3-5 行、图 4	1-9
E	CN 103284696 A (清华大学) 11. 9 月 2013 (11.09.2013) 权利要求 1-9	1-9
A	CN 201311517 Y (中国计量科学研究院) 16. 9 月 2009 (16.09.2009) 全文	1-9
☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件
国际检索实际完成的日期 28. 2 月 2014 (28.02.2014)		国际检索报告邮寄日期 20.3 月 2014 (20.03.2014)
ISA/CN 的名称和邮寄地址: 中华人民共和国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号: (86-10)62019451		授权官员 孙玉晗 电话号码: (86-10) 62413515

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2013/000726

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN 100593389 C	10.03.2010	CN 101365377 A	11.02.2009
		US 2009/0018451 A1	15.01.2009
		WO 2009/006758 A1	15.01.2009
US 2010/0078575 A1	01.04.2010	US 8368897 B2	05.02.2013
		US 2013/0169954 A1	04.07.2013
		US 8526001 B2	03.09.2013
CN 101396262 A	01.04.2009	CN 101396262 B	23.06.2010
CN 103284696 A	11.09.2013	无	
CN 201311517 Y	16.09.2009	无	

续: A. 主题的分类

G01N 21/64 (2006.01) i

A61B 5/00 (2006.01) n