

(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
2020 年 6 月 18 日 (18.06.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/119226 A1

(51) 国际专利分类号:
C12M 1/34 (2006.01) *G02B 27/10* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/109045

(22) 国际申请日: 2019 年 9 月 29 日 (29.09.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201811516793.7 2018 年 12 月 12 日 (12.12.2018) CN
201822089550.1 2018 年 12 月 12 日 (12.12.2018) CN

(71) 申请人: 深圳市真迈生物科技有限公司
(**GENEMIND BIOSCIENCES COMPANY LIMITED**)
[CN/CN]; 中国广东省深圳市罗湖区清水河街道清水河一路 116 号深业进元大厦 2 座 5 楼、6 楼, Guangdong 518001 (CN)。

(72) 发明人: 齐继芳 (**QI, Jifang**); 中国广东省深圳市罗湖区清水河街道清水河一路 116 号深业进元大厦 2 座 5 楼、6 楼, Guangdong 518001 (CN)。周志良 (**ZHOU, Zhiliang**); 中国广东省深圳市罗湖区清水河街道清水河一路 116 号深业进元大厦 2 座 5 楼、6 楼, Guangdong 518001 (CN)。姜泽飞 (**JIANG, Zefei**); 中国广东省深圳市罗湖区清水河街道清水河一路 116 号深业进元大厦 2 座 5 楼、6 楼, Guangdong 518001 (CN)。颜钦 (**YAN, Qin**); 中国广东省深圳市罗湖区清水河街道清水河一路 116 号深业进元大厦 2 座 5 楼、6 楼, Guangdong 518001 (CN)。

(74) 代理人: 深圳鼎合诚知识产权代理有限公司 (**DHC IP ATTORNEYS**); 中国广东省深圳市福田区金田路与福华路交汇处现代商务大厦 1810, Guangdong 518048 (CN)。

(54) **Title:** OPTICAL SYSTEM, METHOD FOR CALIBRATING OPTICAL SYSTEM, AND SEQUENCING SYSTEM

(54) 发明名称: 光学系统、调校光学系统的方法和测序系统

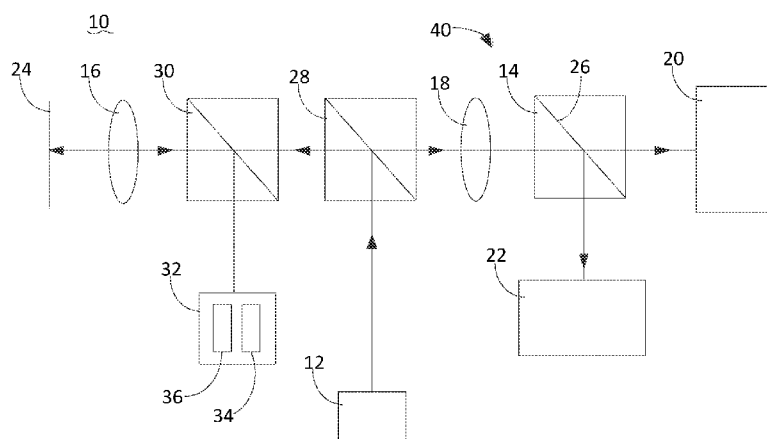


图 1

(57) **Abstract:** An optical system, a method for calibrating the optical system, and a sequencing system, the optical system comprising a first light source (12), a first lens (16), a first optical splitter (14), a second lens (18), a first camera (20), and a second camera (22), the first lens (16) being used for receiving a first light beam from the first light source (12) and collimating the first light beam to be incident on a sample (24), and being used for receiving a light beam from the sample (24) and collimating the light beam, the second lens (18) being used for focusing the collimated light beam from the first lens (16) onto the first camera (20) and the second camera (22), the first optical splitter (14) being used for splitting the focused light beam from the second lens (18) into a second light beam and a third light beam, the first camera (20) being used for receiving the second light beam, and the second camera (22) being used for receiving the third light beam. The optical system is based on a split optical path design, and comprises the light beam being split after passing through the second lens, enabling the total length of the optical path of the optical system to be shortened and the required

(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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, 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, ST, 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)。

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

space reduced, being conducive to miniaturisation of the optical system.

(57) 摘要: 一种光学系统、调校光学系统的方法和测序系统, 光学系统包括第一光源(12)、第一透镜(16)、第一分光器(14)、第二透镜(18)、第一相机(20)和第二相机(22), 第一透镜(16)用于接收来自第一光源(12)的第一光束并使第一光束准直入射至样品(24)上, 以及用于接收来自样品(24)的光束并使光束准直, 第二透镜(18)用于将来自第一透镜(16)的准直光束聚焦至第一相机(20)和第二相机(22), 第一分光器(14)用于将来自第二透镜(18)的聚焦光束分为第二光束和第三光束, 第一相机(20)用于接收第二光束, 第二相机(22)用于接收第三光束。光学系统, 基于分光光路设计, 包括使光束通过第二透镜后, 再经过分光器, 这样能够使光学系统的总光路长度变短、所需空间减小, 有利于光学系统的小型化。

光学系统、调校光学系统的方法和测序系统

技术领域

本发明涉及光学检测技术领域，特别涉及一种光学系统、一种调校光学系统的方法和一种测序系统。

背景技术

光学成像系统能够实现亚微米级的分辨率，是研究样本的一种有力工具。例如，在生物样品检测领域中，使用一些光学可检测基团/化合物/结构来标记待检测的生物分子，并且用光学成像系统来采集来自这些标记的信号，以实现待检测生物分子的定位或检测。

在基于光学成像进行核酸序列测定的平台，例如基于边合成边测序原理的测序平台，一般是利用加入带有光学可检测标记例如荧光分子的核苷酸修饰物，在使该核苷酸修饰物结合到模板（待测核酸序列）后，通过激发荧光分子发光，来确定模板相应位置的碱基类型，以此实现测序。该类测序平台希望其包含的光学成像系统能够占用空间小、不易受其它部件的影响且能够与其它关联组件紧密配合，实现稳定、连续且快速的信号采集，输出清晰的图像。设计搭建出能够实现上述目标的光学成像系统，有待解决或改进。

发明内容

本发明提供一种用于基因测序的光学系统、调校光学系统的方法和测序系统。

本发明实施方式的一种光学系统，包括第一光源、第一透镜和分光模组，所述分光模组包括第一分光器、第二透镜、第一相机和第二相机，所述第一透镜用于接收来自所述第一光源的第一光束并使该第一光束准直入射至样品上，以及用于接收来自所述样品的光束并使该光束准直，所述第二透镜用于将来自所述第一透镜的准直光束聚焦至所述第一相机和所述第二相机，所述第一分光器用于将来自所述第二透镜的聚焦光束分为第二光束和第三光束，所述第一相机用于接收所述第二光束，所述第二相机用于接收所述第三光束。

上述光学系统，基于上述分光光路设计，包括使光束通过第二透镜后，再经过分光器，这样能够使光学系统的总光路长度变短、所需空间减小，有利于光学系统的小型化。

通常地，样品上带有光学可检测标记，例如带有一种或多种荧光分子标记。激光是常用的荧光激发光源。多种荧光分子标记可被激光激发发出不同波长的荧光。

发明人还搭建设计了另一种光学系统，采用在显微镜平行光路中（即物镜、筒镜之间）进行分光，如图 15 所示，荧光在显微镜平行光路中进行分光，即荧光经物镜（透镜）后准直，经分光器 90 分束形成多个分光光路，在各分光光路中各光束经过筒镜 93 或 94 聚焦到相机 91 或 92

发明人对比测试发现，相较于后者，包含了在会聚光路中进行分光的分光光路的光学系统，总光路长度小、所需空间小包括所需光学元件较少，利于光学系统的小型化，利于该光学系统的工业化。

本发明实施方式的一种测序系统，包括平台和上述任一实施方式的光学系统，所述平台用于承载样品。上述对本发明任一实施方式中的光学系统的技术特征和优点的描述，也适用于本实施方式的测序系统，在此不再赘述。

本发明实施方式提供一种调校光学系统的方法，所述光学系统包括分光模组，所述分光模组包括第二透镜、第一分光器、第一相机和第二相机，所述第二透镜、所述第一分光器和所述第一相机沿所述第二透镜的光轴依次布置，所述方法包括：利用平行光管发射准

直光束至所述第二透镜，所述平行光管包括分划板，所述分划板包括一个或多个图案，所述准直光束经过所述第二透镜会聚至所述第一分光器，并经过所述第一分光器分为第二光束和第三光束，所述第一相机接收所述第二光束，获得所述图案的第一图像，所述第二相机接收所述第三光束，获取所述图案的第二图像；调节所述第一相机和/或所述第二相机的角度和/或位置，以使所述第一图像和所述第二图像的对比度一致。该调校光学系统的方法，将分光模组作为整个光学系统的一个模组单独调试，可降低整机调试空间上的限制，能简单方便地实现多个相机与光轴的垂直，实现包含分光光路的光学系统的调校。

本发明实施例的附加方面和优点将在下面的描述中部分给出，部分将从下面的描述中变得明显，或通过本发明的实践了解到。

附图说明

本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解，其中：

图 1 是本发明实施方式的光学系统的结构示意图；

图 2 是本发明实施方式的第一光源的结构示意图；

图 3 是本发明实施方式的光学系统的另一结构示意图；

图 4 是本发明实施方式的第二光源的结构示意图；

图 5 是本发明实施方式的光学系统在不包含第一分光器时的成像光束的光斑尺寸仿真结果示意图；

图 6 是本发明实施方式的光学系统在包含第一分光器的成像光束的光斑的尺寸仿真结果示意图；

图 7 是本发明实施方式的光学系统在引入补偿镜片的成像光束的光斑的尺寸仿真结果示意图；

图 8 是本发明实施方式的光学系统的部分立体示意图；

图 9 是图 8 的光学系统的主视图；

图 10 是图 8 的光学系统的俯视图；

图 11 是本发明实施方式的分光模组在调试时的结构示意图；

图 12 是本发明实施方式的平行光管的结构示意图；

图 13 是本发明实施方式的分辨率线对分划板的图案示意图；

图 14 是本发明实施方式的分光模组在调试时的另一结构示意图；

图 15 是相关技术的光学系统的结构示意图；

图 16 是本发明实施方式的测序系统的立体示意图。

具体实施例

下面详细描述本发明的实施例，所述实施例的示例在附图中示出，其中自始至终相同或类似的标号表示相同或类似的元件或具有相同或类似功能的元件。下面通过参考附图描述的实施例是示例性的，仅用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

在本发明的描述中，术语“第一”、“第二”仅用于描述目的，而不能理解为指示或暗示相对重要性、顺序或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此，限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括一个或者更多个所述特征。在本发明的描述中，除非另有限定，“多个”的含义是两个或两个以上，除非另有明确具体的限定。

在本发明的描述中，除非另有限定，术语“安装”、“相连”、“连接”应做广义理解，例如，可以是固定连接，也可以是可拆卸连接，或一体地连接；可以是机械连接，也可以是电连接或可以相互通讯；可以是直接相连，也可以通过中间媒介间接

相连，可以是两个元件内部的连通或两个元件的相互作用关系。对于本领域的普通技术人员而言，可以根据具体情况理解上述术语在本发明中的具体含义。

请参阅图 1，本发明实施方式的一种光学系统 10，包括第一光源 12、第一透镜 16 和分光模组 40，分光模组 40 包括第一分光器 14、第二透镜 18、第一相机 20 和第二相机 22。第一透镜 16 用于接收来自第一光源 12 的第一光束并使该光束准直入射至样品 24 上，以及用于接收来自样品 24 的光束并使该光束准直。第二透镜 18 用于将来自第一透镜 16 的准直光束聚焦至第一相机 20 和第二相机 22。第一分光器 14 用于将来自第二透镜 18 的聚焦光束分为第二光束和第三光束。第一相机 20 用于接收第二光束。第二相机 22 用于接收第三光束。

上述光学系统 10，由于第二透镜 18 将光聚焦后，再由分光器 14 分成第二光束和第三光束，这样可减少光学元件的使用、分光光路长度小，使得光学系统的总光路长度变短，有利于光学系统 10 的小型化，利于工业化。

具体地，样品 24 可为待测核酸样本，待测核酸样本可放置在反应装置内，如芯片内。第一光源 12 可为激光光源。在一个示例中，芯片包含基底，基底上设有通道，基底上设有玻璃，在利用该光学系统的测序系统进行测序时，在一定条件下，待测核酸、酶、带荧光标记的核苷酸试剂或溶液等混合于通道中发生反应，然后第一光源 12 发射激光经第一透镜 16 入射至芯片特定视野，该视野的荧光基团被激发发出荧光，荧光经第一透镜 16 和第二透镜 18 聚焦到达第一分光器 14，第一分光器 14 将该荧光会聚光束分成第二光束和第三光束，第一相机 20 接收第二光束，第二相机 22 接收第三光束，分别采集得该视野的第一图像和第二图像。

在一个例子中，请结合图 2，第一光源 12 可包括第一发光器 13 和第三透镜 15，所述第一光束为所述第一发光器 13 发出的光束经过所述第三透镜 15 后的准直光束，所述第一光束经第四透镜 17 聚焦到第一透镜 16 的后焦面、进而经过所述第一透镜 16 准直入射至所述样品 40 上。在一个示例中，第一光源 12 还包括光纤耦合器，例如单模光线耦合器。具体地，光学系统 10 为全内反射光学系统，经过所述第一透镜 16 的准直光束（平行光束）以大于临界角入射至芯片表面，发生全内反射，在芯片玻璃的下表面产生消逝场（消逝波）。该消逝场中的荧光分子被激发发出的荧光被第一透镜 16 接收。

在第一光源 16 发射的光束激发样品 24 的荧光基团发光时，第一透镜 16 接收的来自样品 24 的光束是样品 24 发出的光束。

第一相机 20 和第二相机 22 的图像传感器可采用 CCD 或 CMOS。较佳地，第一相机 20 和第二相机 22 所采用的图像传感器的类型相同，例如，均为 CCD 或均为 CMOS。第一分光器 14 可为二向色镜。

在图示的实施方式中，第二光束为第一分光器 14 的透射光束，第三光束为第一分光器 14 的反射光束。

在某些实施方式中，第一相机 20 与第二相机 22 呈 90 度或 270 度设置。如此，便于在有限空间内将第一相机 20 和第二相机 22 多个相机配置到该光学系统中。具体地，在图 1 所示的方位中，第一分光器 14 具有第一反射面 26，第一反射面 26 与水平面的夹角成 45 度，沿水平方向入射至第一反射面 26 的一部分光束被反射转向 90 度到达第二相机 22，而沿水平方向入射至第一反射面 26 的另一部分光束穿过第一反射面 26 并入射至第一相机 20。在图 1 和图 3 中，第一相机 20 与第二相机 22 沿顺时针呈 90 度设置，沿逆时针呈 270 度设置。在一个示例中，样品带有两种荧光标记，例如为 Cy3 和 Atto647N，该两种荧光分子的发射光波段分别为 550-620nm 和 650-750nm（波峰分别大约为 564nm 和 670nm）；第一分光器 14 为二向色镜，该二向色镜对波长 550-620nm 的光具有较高的透射率，对 650nm 以上的光具有较高的反射率。

所称的带荧光标记的核苷酸试剂包括 A、T、C 和 G 四种类型核苷酸试剂，不同种核苷

酸试剂可分别盛放于不同容器中。在一个示例中，四种核苷酸带有同一种荧光标记，在 DNA 测序时，每轮测序反应包括四次碱基延伸反应，四次碱基延伸反应分别为依次加入该四种核苷酸以及获得相应的图像。

在一个示例中，四种核苷酸两两分别带有第一荧光标记和第二荧光标记，第一荧光标记和第二荧光标记可被激发发出不同的荧光，利用该四种核苷酸进行双色测序，每轮测序反应包括两次碱基延伸反应，在利用包含该光学系统 10 的测序系统进行测序时，在一定条件下，待测核酸、酶以及带第一荧光标记和第二荧光标记的两种核苷酸试剂或溶液等混合于通道中发生反应，第一光源 12 同时发射第一激光和第二激光经第一透镜 16 入射至芯片特定视野，该视野的第一荧光标记和第二荧光标记分别被第一激光和第二激光激发发出第一荧光和第二荧光，该第一荧光和第二荧光经第一透镜 16 和第二透镜 18 会聚至第一分光器 14（二向色镜），该二向色镜分开会聚的第一荧光和第二荧光，第一荧光聚焦到第一相机 20 像面，第二荧光聚焦到第二相机 22 像面，由此，分别获得该视野的第一荧光和第二荧光形成的第一图像和第二图像。基于核苷酸加入顺序和不同轮测序反应的第一图像和第二图像信息，实现碱基识别/测序。

在另一个示例中，四种核苷酸分别带荧光标记 a、荧光标记 b、双荧光标记 a-b 以及不带标记，荧光标记 a 和荧光标记 b 可被激发发出不同的荧光，利用该四种核苷酸进行四色测序，每轮测序反应包括一次碱基延伸反应，在利用包含该光学系统 10 的测序系统进行测序时，在一定条件下，待测核酸、酶以及上述四种核苷酸试剂或溶液等混合于通道中发生反应，第一光源 12 同时发射第一激光和第二激光经第一透镜 16 入射至芯片特定视野，该视野的荧光标记分别被第一激光和第二激光激发发出荧光，该荧光经第一透镜 16 和第二透镜 18 会聚至第一分光器 14（二向色镜），该二向色镜将该荧光分为来自荧光标记 a 的荧光和自荧光标记 b 的荧光，来自荧光标记 a 的荧光聚焦到第一相机 20 像面，来自荧光标记 b 的荧光聚焦到第二相机 22 像面，由此，分别获得得该视野的第一图像和第二图像。通过不同轮测序反应的第一图像和第二图像以及合并同一轮测序反应的第一图像和第二图像的信息，实现碱基识别/测序。

在某些实施方式中，第一透镜 16 包含一个或多个透镜，和第二透镜 18 包含一个或多个透镜。具体地，在显微镜系统中，第一透镜 16 的一个或多个透镜构成了物镜；第二透镜 18 的一个或多个透镜构成了筒镜（tube lens）。在其它实施方式中，第一透镜 16 包含一个或多个透镜，或第二透镜 18 包含一个或多个透镜。

在某些实施方式中，光学系统 10 包括第二分光器 28，第二分光器 28 用于接收来自第一光源 12 的第一光束并使该第一光束转向至第一透镜 16，使得该第一光束并入到第一透镜光轴所在的光路（成像光路）中。如此，第二分光器 28 的设置可使得第一光源 12 位于第一透镜 16 的光轴所在光路外，能够使该光学系统 10 的各元件紧凑合理的设置，利于该光学系统 10 的小型化，利于工业应用。

具体地，第二分光器 28 用于使该第一光束转 90 度角。如此，便于配置第一光源 12 的位置包括其包含的元件的相对位置。

在某些实施方式中，光学系统 10 包括第三分光器 30 和自动对焦模组 32。自动对焦模组 32 用于发出第四光束，以及用于接收被样品 40 反射回的第四光束，第三分光器 30 用于接收第四光束并使该第四光束转向至第一透镜 16，还用于接收被样品 40 反射回的第四光束并使该第四光束转向至自动对焦模组 32。如此，可利用自动对焦模组 32 实现对焦，实现利用该光学系统 10 进行图像采集。

具体地，自动对焦模组 32 包括第二光源 34 和接收器 36，第二光源 34 用于发射第四光束至第三分光器 30，接收器 36 用于接收第一透镜 16 准直后的第四光束。在一个例子中，第二光源 34 可以是红外光源。接收器 36 可为光电二极管。在进行对焦时，第二光源 34 发射第四光束，经第三分光器 30 转向至第一透镜 16，第四光束经第一透镜 16 会聚至样品

24。样品 24 反射回的第四光束经过第一透镜准直入射至第三分光器 30。此时，通过确定接收器 36 接收到的由样品 24 反射回的第四光束的信息的变化，可移动承载样品的平台使样品 24 靠近或远离第一透镜 16，由此实现对焦。

在一个示例中，接收器 36 包括传感器，例如二维 PSD 传感器，第二光源 34 包括 LED 光源和位于 LED 光源前的掩膜；LED 光源发出的光照射到掩膜上得到特定图案的光斑，该特定图案的光斑经第三分光器 30 转至第一透镜 16 会聚到样品 24 上，经样品 24 反射回的该光斑最后到达传感器；该自动对焦模组 32 还包括信号处理模块，该传感器连接该信号处理模块，通过该信号处理模块后得到该光斑的信息。进一步地，该自动对焦模组 32 还包括信号输出模块，用于输出光斑信息的变化，以使承载样品的平台带动样品移动到成像光路（例如荧光光路）的物面。

在某些实施方式中，请结合图 4，第二光源 34 包括第二发光器 35 和第五透镜 37，第四光束为第二发光器 38 发出的光束经过第五透镜后 37 的准直光束，被样品 40 反射回的第四光束经第五透镜 37 会聚至接收器 36。

在某些实施方式中，请结合图 3，第二光束为来自第二透镜 18 的聚焦光束透射经过第一分光器 14 的光束，光学系统 10 包括补偿镜片 38，补偿镜片 38 位于第一分光器 14 和第一相机 20 之间，补偿镜片 38 用于补偿第二光束带来的像散。

具体地，在一些示例中，利用软件（例如 Zemax）对第二透镜 18 的聚焦光束进行成像仿真时发现，对比第二透镜 18 后不引入和引入第一分光器 14 即聚焦后不进行分光和进行分光，成像仿真结果分别如图 5 和图 6 所示，可以看出，来自相同视场的光束经过第二透镜 18 和第一分光器 14 后形成的光斑（弥散斑）和只经过第二透镜 18 形成的光斑（弥散斑），像散明显增大。例如，图 6 中坐标（0，0）、（0，3.250）和（0，6.500）处的光斑尺寸均大于图 5 中相应坐标处的光斑尺寸。可以利用 RMS 半径（RMS RADIUS，均平方根半径）来衡量光斑的大小，来定量的反映某光学系统实际成像的光斑大小。均平方根半径是一个重要的半径参数，它是弥散斑各个点坐标，参考中心点，进行的坐标平方和后，除以点数量，然后开方的值，这个值的半径可以反映一个典型的弥散斑的大小，以定量的反映这个系统实际的斑点大小。另外，GEO RADIUS（GEO 半径）表示弥散斑的直径。明显可看出，来自相同视场的光束聚焦形成的光斑，图 6 的较图 5 的弥散，RMS 半径较大。

基于此，在一些示例中，发明人引入补偿镜片 38 于第二透镜 18 和第一相机之间的任意位置，希望能补偿光束透射后成像造成的像散。在引入补偿镜片 38 后，请结合图 7，来自相同视场的光束形成的光斑，图 7 的光斑尺寸明显小于图 6 的光斑尺寸，并且从 RMS 半径来看，在相同坐标处，图 7 的光斑尺寸接近甚至小于图 5 的光斑尺寸。

补偿镜片 38 可采用平行平板或二向色镜。在图 8-10 的实施方式中，补偿镜片 38 采用二向色镜。补偿镜片 38 与一平面 P 的夹角 T 成 45 度，第一分光器 14 与平面 P 垂直，平面 P 由第二光束的光轴 A 和第三光束的光轴 B 共同限定。

本发明实施方式还提供一种调校光学系统的方法，请结合图 11，光学系统包括分光模组 40，分光模组 40 包括第二透镜 18、第一分光器 14、第一相机 20 和第二相机 22，第二透镜 18、第一分光器 14 和第一相机 20 沿第二透镜 18 的光轴依次布置，方法包括：利用平行光管 50 发射准直光束至第二透镜 18，平行光管 50 包括分划板 42，分划板 42 包括一个或多个图案，准直光束经过第二透镜 18 会聚至第一分光器 14，并经过第一分光器 14 分为第二光束和第三光束，第一相机 20 接收第二光束，获得图案的第一图像，第二相机 22 接收第三光束，获取图案的第二图像；调节第一相机 20 和/或第二相机 22 的角度和/或位置，以使第一图像和第二图像的对比度一致。

该调校光学系统的方法，将分光模组 40 作为整个光学系统 10 的一个模组单独调试，可降低整机调试空间上的限制，能简单方便地实现多个相机与光轴的垂直，利于快速地实现包含分光光路的光学系统的调校。

具体地，在本实施方式中，请结合图 12，平行光管 50 还包括第三光源 52、毛玻璃 54 和物镜 56，第三光源 52、毛玻璃 54、分划板 42 和物镜 56 依次排列，第三光源 52 发射的光束依次经毛玻璃 54、分划板 42 和物镜 56 出射至第二透镜 18。平行光管 50 发射的准直光束为平行光束，平行光束经过第二透镜 18 入射至第一分光器 14 分成第二光束和第三光束。

在本实施方式中，第一相机 20 获取的分划板 42 的图案的第一图像对比度和第二相机 22 获取的分划板 42 的图案的第二图像对比度一致，即说明第一相机 20 的图像传感器的平面与第二透镜 18 的光轴垂直，第二相机 22 的图像传感器的平面与分光光路的光轴垂直。

在本实施方式中，分划板 42 为发明人设计定制的分辨率线对分划板，请结合图 13，该分辨率线对分划板包括分布位置不同的 5 个图案 A1-A5，第一相机 20 获取的分划板 42 的图案 A1-A5 的图像与第二相机 22 获取的该分划板 42 的图案 A1-A5 的图像，相应的图像的对比度一致时，则可确定第一相机 20 的图像传感器的平面与第二透镜 18 的光轴垂直，第二相机 22 的图像传感器的平面与经过第一分光器 14 反射的光束的光轴垂直，符合用于序列测定图像采集的要求。

在某些实施方式中，图案的多个像的 MTF 值（MTF 值是 Modulation Transfer Function 值，调制传递函数值）相同即判定该些图像的对比度一致。在一些示例中，两个或多个 MTF 值差异小于 10%、较佳地小于 5%，判定该些 MTF 值相同。具体地，在第一图像和第二图像中，图案 A1-A5 的像的 MTF 值分别为 0.80、0.80，0.80、0.78，0.80、0.78，0.80、0.80 以及 0.80、0.80，由此判定第一图像和第二图像的对比度一致，该光学系统 10 调校完成。MTF 值越接近 1，说明光学系统 10 的性能越优异。

在某些实施方式中，分划板 40 带有多个图案，如图 13 所示，第一图像和第二图像的大小分别为 5 个图案 A1-A5 的像形成的圆的大小，设计该光学系统 10 时，要求第一图像和/或第二图像的大小不小于实际利用该光学系统 10 进行成像所要求的图像的大小的百分四十。如此，利用该光学系统 10 进行成像时，利于获得高质量的图像，符合序列测定的要求。

具体地，第一图像的大小可指多个图案的像分布在第一相机 20 上所形成的图像的大小。第二图像的大小可指多个图案的像分布在第二相机 22 上所形成的图像的大小。较佳地，第一图像和/或第二图像的大小不小于实际利用该光学系统进行成像所得的图像的大小的百分五十。

在某些实施方式中，请结合图 14，分光模组 40 还包括补偿镜片 38，补偿镜片 38 位于第一分光器 14 和第一相机 20 之间，第一相机 20 接收经过补偿镜片 38 的第二光束，获得第一图像。如此，第一图像的成像效果好。

请参阅图 16，本发明实施方式提供一种测序系统 100，包括平台 116 和光学系统 10，平台用于承载样品 40，光学系统 10 为上述任一实施方式中的光学系统 10。

上述测序系统 100，由于包含具有上述任一技术特征和优点的光学系统 10，结构紧凑，利于小型化、工业化。

具体地，在本实施方式中，平台 116 是可移动的。平台 116 可带动样品 40 相对于光学系统运动，例如沿垂直于第一透镜 16 的光轴方向运动、或沿平行于第一透镜 16 的光轴方向运动，或沿倾斜于第一透镜 16 的光轴方向运动，以使得样品 40 的不同位置位于第一透镜 16 的正下方，使得能够利用包含该光学系统 10 的测序系统 100 实现对样品 40 的图像采集，进而实现序列测定。

可以理解，本发明实施方式的测序系统 100 可包括上述任一实施方式的光学系统 10。

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“某些实施例”、“示意性实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合实施例或示例

描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不一定指的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任何的一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。

- 5 尽管已经示出和描述了本发明的实施例，本领域的普通技术人员可以理解：在不脱离本发明的原理和宗旨的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变型，本发明的范围由权利要求及其等同物限定。

权 利 要 求

1. 一种光学系统, 其特征在于, 包括第一光源、第一透镜和分光模组, 所述分光模组包括第一分光器、第二透镜、第一相机和第二相机,

所述第一透镜用于接收来自所述第一光源的第一光束并使该第一光束准直入射至样品上, 以及用于接收来自所述样品的光束并使该光束准直,

所述第二透镜用于将来自所述第一透镜的准直光束聚焦至所述第一相机和所述第二相机,

所述第一分光器用于将来自所述第二透镜的聚焦光束分为第二光束和第三光束,

所述第一相机用于接收所述第二光束,

所述第二相机用于接收所述第三光束。

2. 根据权利要求 1 所述的光学系统, 其特征在于, 所述第一光源包括第一发光器和第三透镜, 所述光学系统包括第四透镜, 所述第一光束为所述第一发光器发出的光束经过所述第三透镜后的准直光束, 所述第一光束经过所述第四透镜聚焦到所述第一透镜的后焦面、进而经过所述第一透镜准直入射至所述样品上。

3. 根据权利要求 1 所述的光学系统, 其特征在于, 所述光学系统包括第二分光器, 所述第二分光器用于接收来自所述第一光源的所述第一光束并使该第一光束转向至所述第一透镜。

4. 根据权利要求 1 或 3 所述的光学系统, 其特征在于, 所述光学系统包括第三分光器和自动对焦模组,

所述自动对焦模组用于发出第四光束, 以及用于接收被所述样品反射回的第四光束,

所述第三分光器用于接收所述第四光束并使该第四光束转向至所述第一透镜, 还用于接收所述被样品反射回的第四光束并使该第四光束转向至所述自动对焦模组。

5. 根据权利要求 4 所述的光学系统, 其特征在于, 所述自动对焦模组包括第二光源和接收器, 所述第二光源用于发射所述第四光束至所述第三分光器, 所述接收器用于接收所述被样品反射回的第四光束。

6. 根据权利要求 4 或 5 所述的光学系统, 其特征在于, 所述第四光束经过所述第一透镜会聚到所述样品上;

所述被样品反射回的第四光束经过所述第一透镜准直入射至所述第三分光器。

7. 根据权利要求 5 所述的光学系统, 其特征在于, 所述第二光源包括第二发光器和第五透镜, 所述第四光束为所述第二发光器发出的光束经过所述第五透镜后的准直光束, 所述被样品反射回的第四光束经所述第五透镜会聚至所述接收器。

8. 根据权利要求 1-7 任一项所述的光学系统, 其特征在于, 所述第一透镜包含一个或多个透镜, 和/或所述第二透镜包含一个或多个透镜。

9. 根据权利要求 1-8 任一项所述的光学系统, 其特征在于, 所述第一相机与所述第二相机呈 90 度或 270 度设置。

10. 根据权利要求 3 所述的光学系统, 其特征在于, 所述第二分光器用于使该第一光束转 90 度角。

11. 根据权利要求 1 所述的光学系统, 其特征在于, 所述第二光束为来自所述第二透镜的聚焦光束透射经过所述第一分光器的光束, 所述光学系统包括补偿镜片, 所述补偿镜片位于所述第一分光器和所述第一相机之间, 所述补偿镜片用于补偿所述第二光束带来的像散。

12. 根据权利要求 11 所述的光学系统, 其特征在于, 所述补偿镜片与一平面的夹角成 45 度, 所述第一分光器与所述平面垂直, 所述平面由所述第二光束的光轴和所述第三

光束的光轴共同限定。

13. 一种测序系统，其特征在于，包括平台和权利要求 1-12 任一项所述的光学系统，所述平台用于承载样品。

5 14. 一种调校光学系统的方法，其特征在于，所述光学系统包括分光模组，所述分光模组包括第二透镜、第一分光器、第一相机和第二相机，所述第二透镜、所述第一分光器和所述第一相机沿所述第二透镜的光轴依次布置，所述方法包括：

利用平行光管发射准直光束至所述第二透镜，所述平行光管包括分划板，所述分划板包括一个或多个图案，

10 所述准直光束经过所述第二透镜会聚至所述第一分光器，并经过所述第一分光器分为第二光束和第三光束，所述第一相机接收所述第二光束，获得所述图案的第一图像，

所述第二相机接收所述第三光束，获取所述图案的第二图像；

调节所述第一相机和/或所述第二相机的角度和/或位置，以使所述第一图像和所述第二图像的对比度一致。

15 15. 根据权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述分划板带有多个图案，所述第一图像和/或所述第二图像的大小不小于利用所述光学系统进行成像所得的图像的大小的百分四十。

16. 根据权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述分光模组还包括补偿镜片，所述补偿镜片位于所述第一分光器和所述第一相机之间，所述第一相机接收经过所述补偿镜片的第二光束，获得所述第一图像。

20 17. 根据权利要求 16 所述的方法，其特征在于，所述补偿镜片与一平面的夹角成 45 度，所述第一分光器与所述平面垂直，所述平面由所述第二光束的光轴和所述第三光束的光轴共同限定。

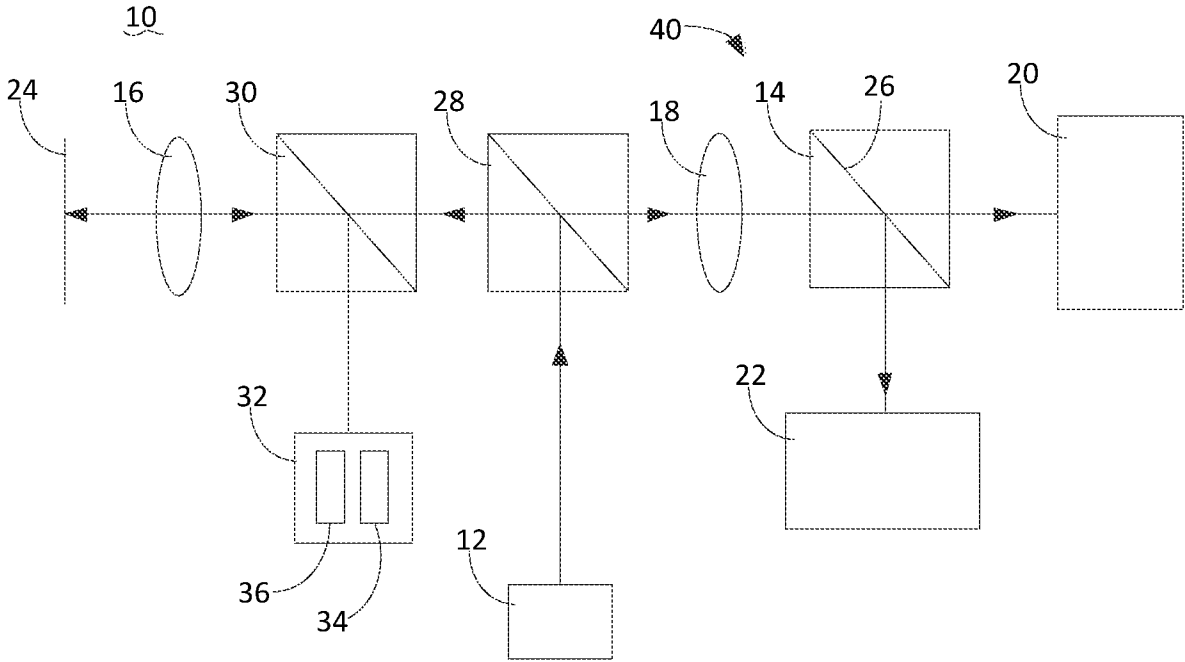


图 1

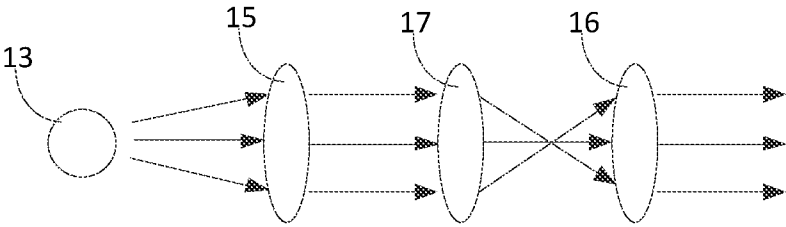


图 2

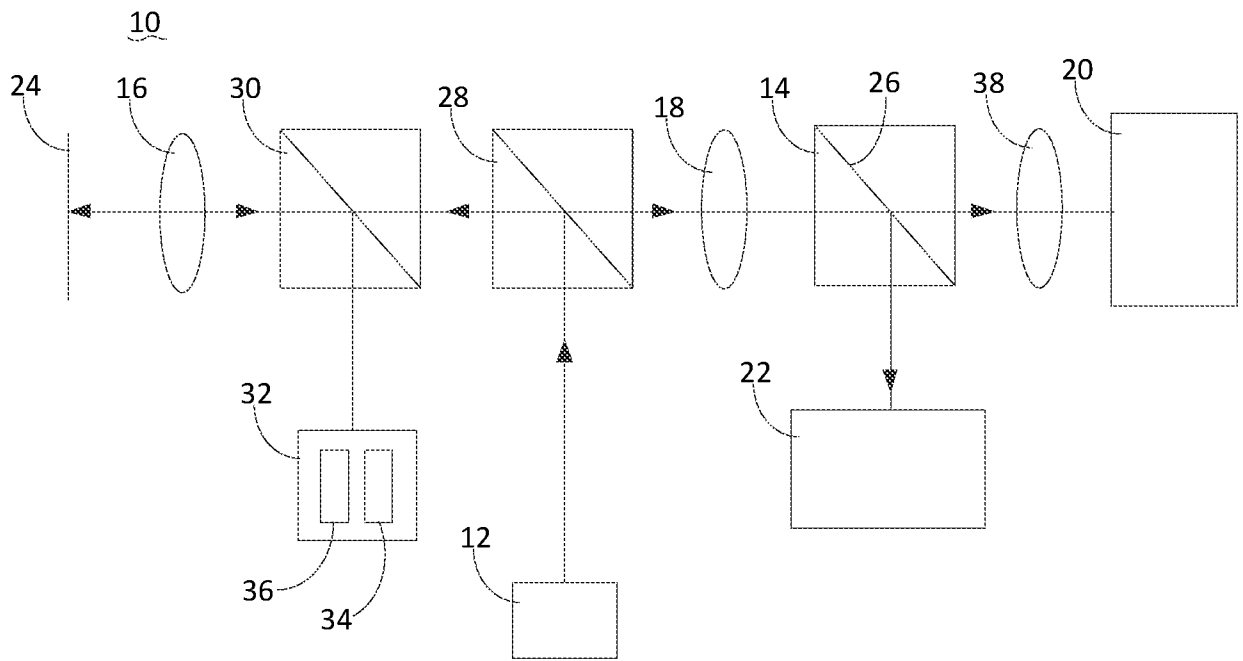


图 3

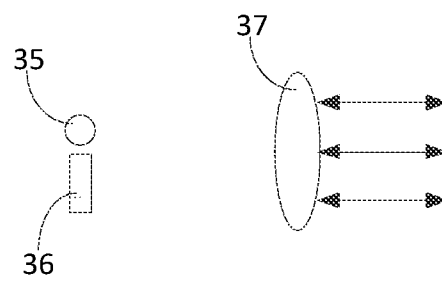


图 4

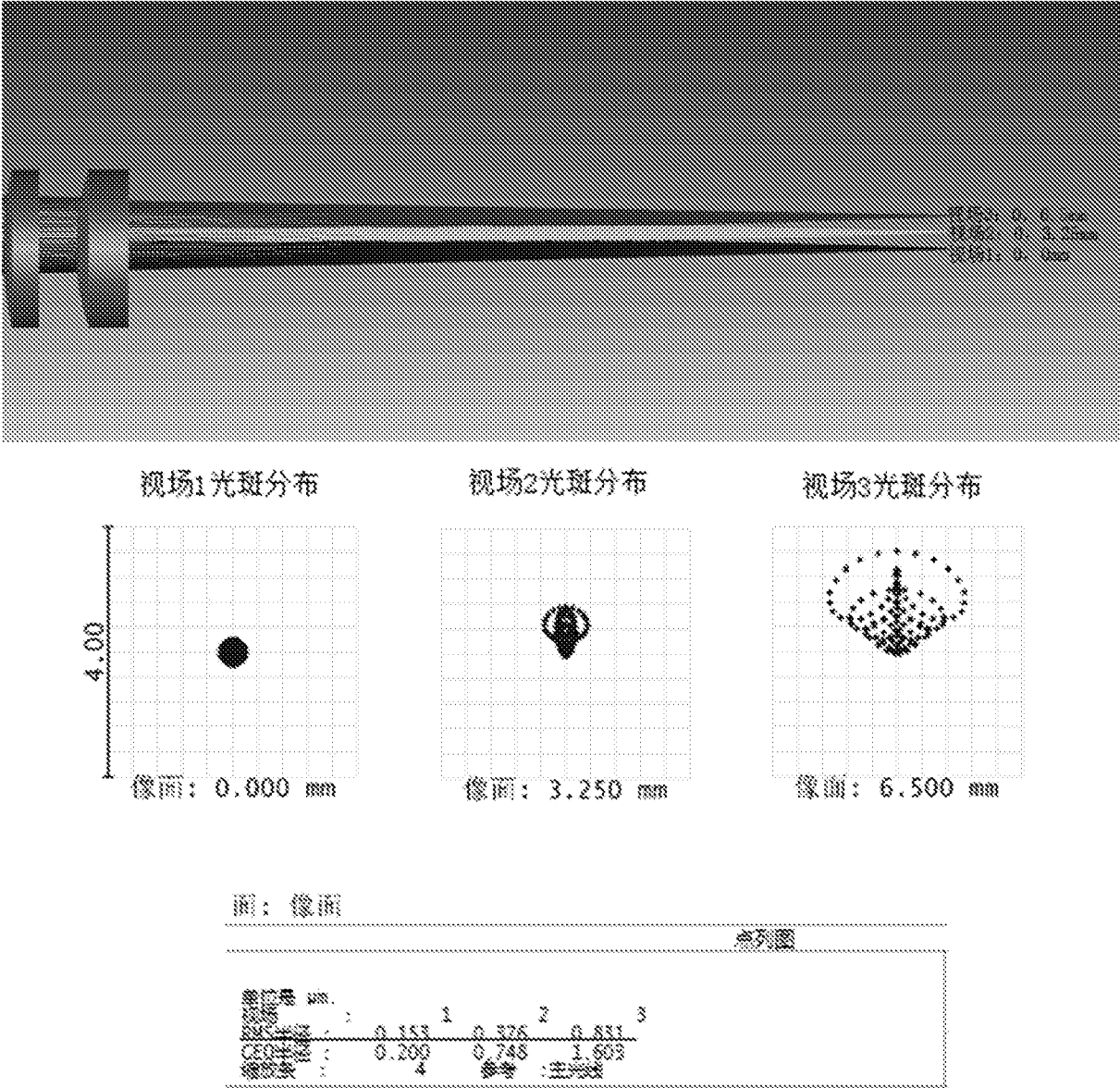
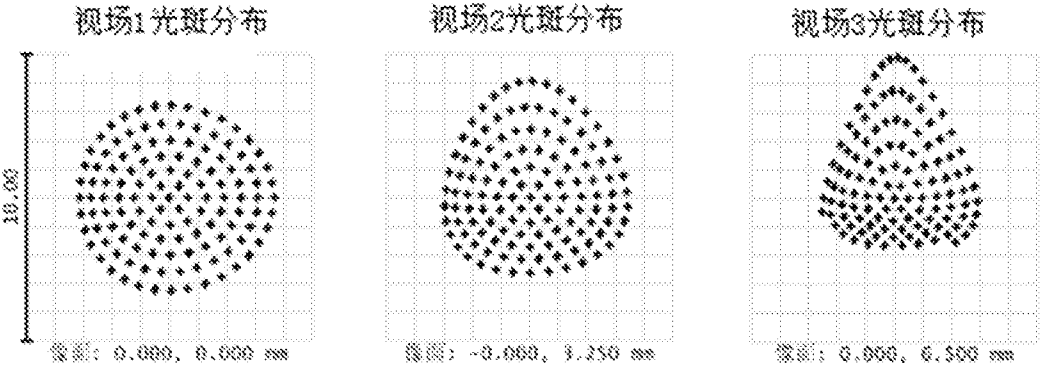
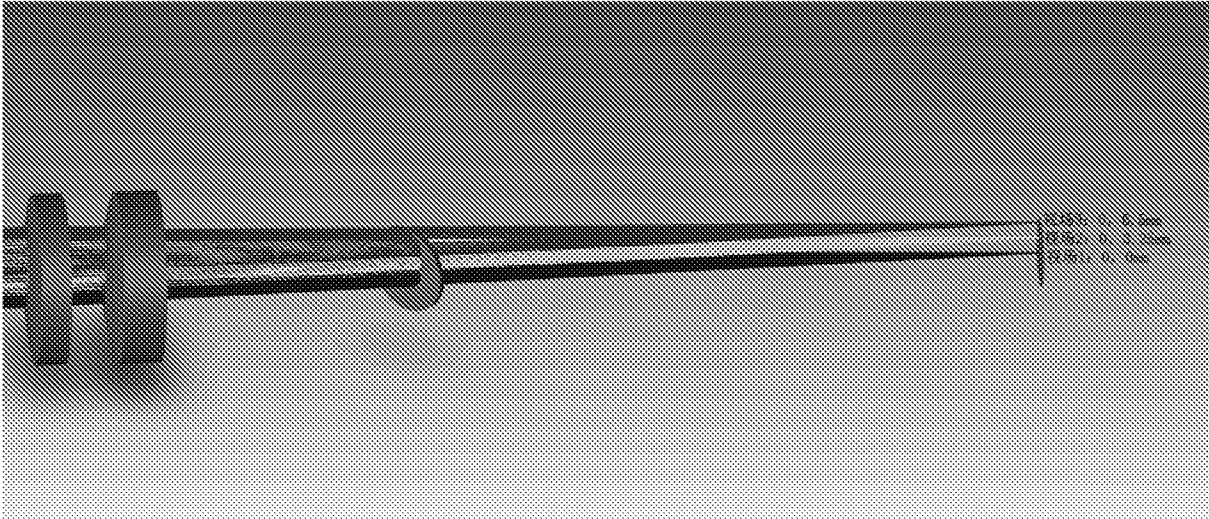


图 5



面: 像面				点列图	
2018/11/28					
单位是 μm .					
视场	:	1	2	3	
RMS半径	:	2.530	2.504	2.401	
GEO半径	:	3.636	4.065	4.917	
缩放条	:	10	参考	主光线	

图 6

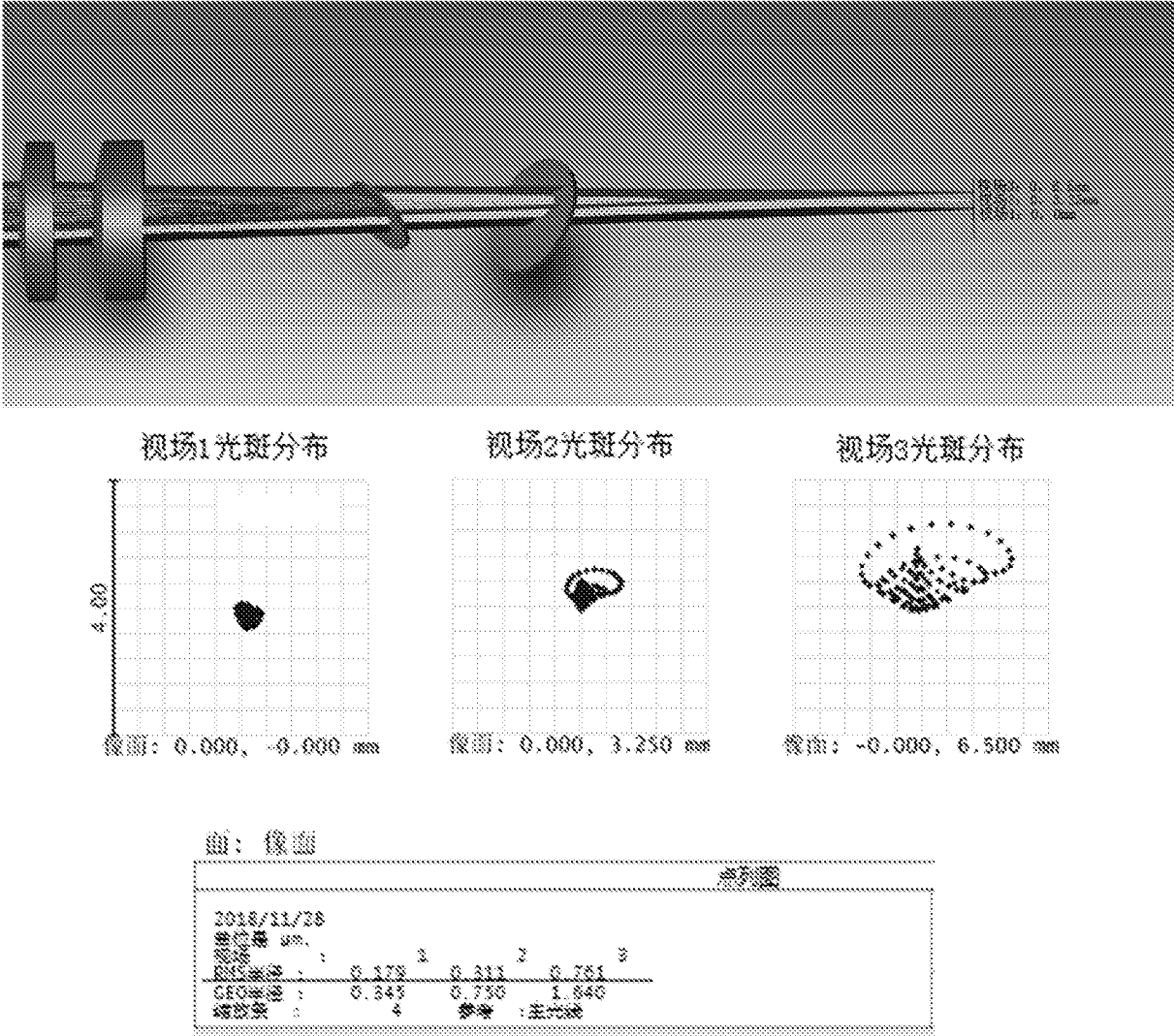


图 7

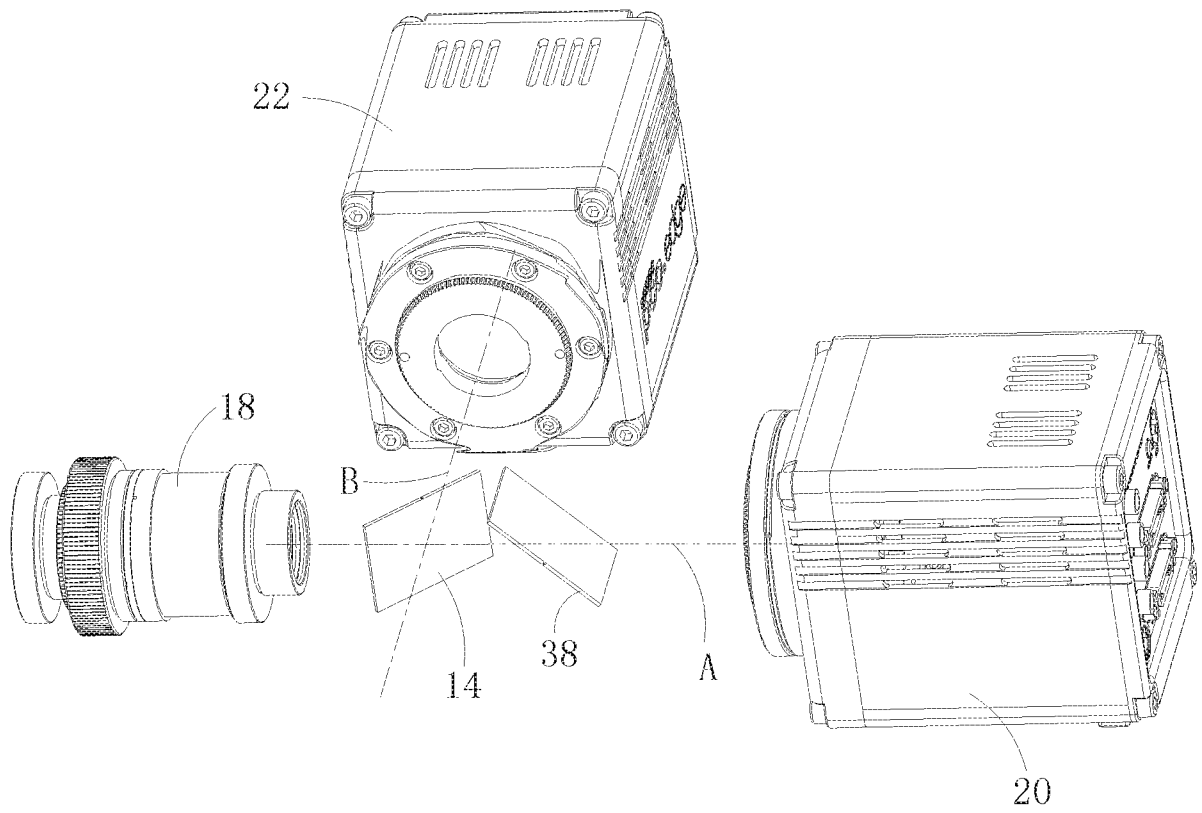


图 8

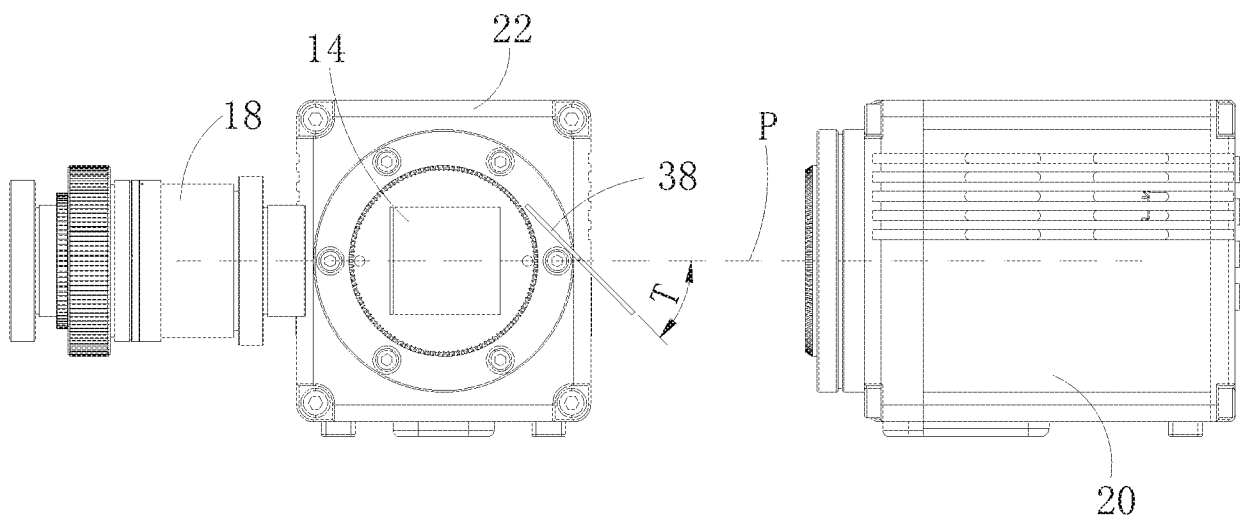


图 9

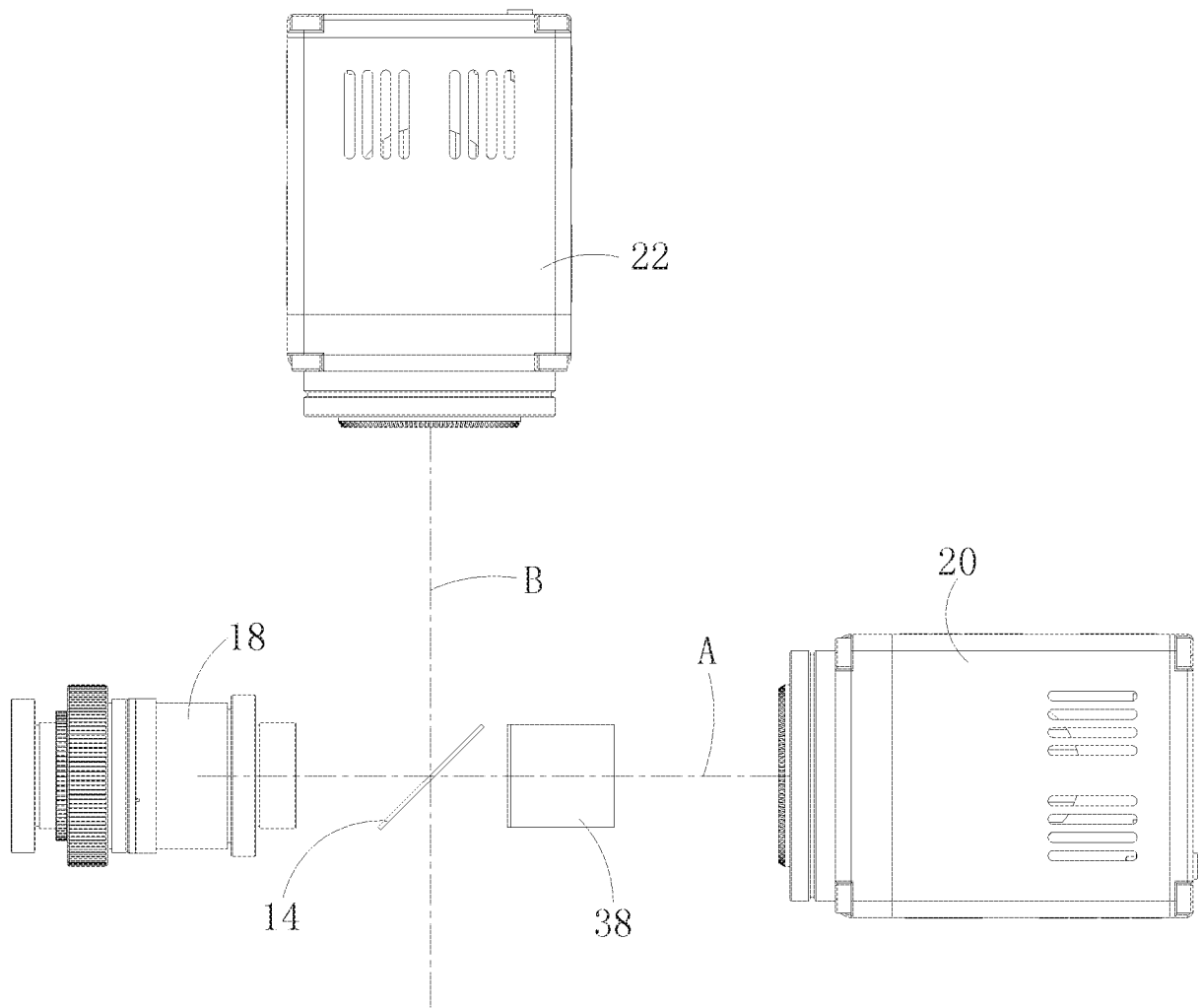


图 10

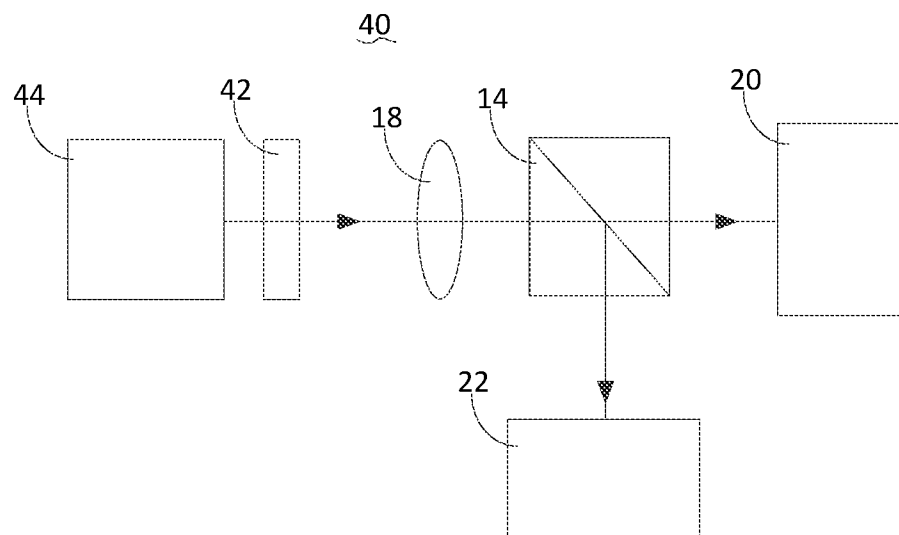


图 11



图 12

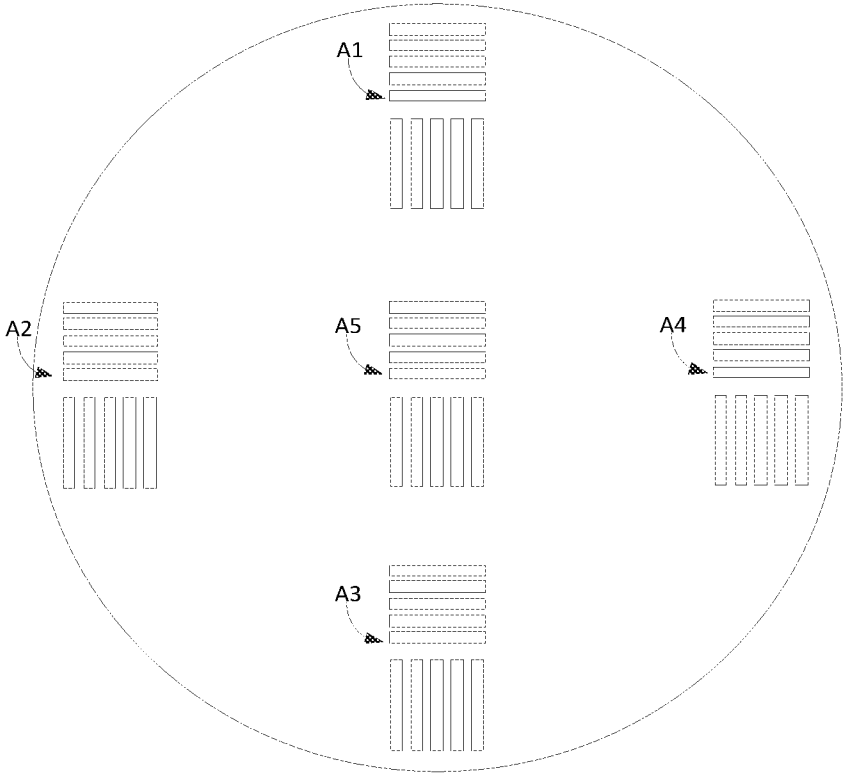


图 13

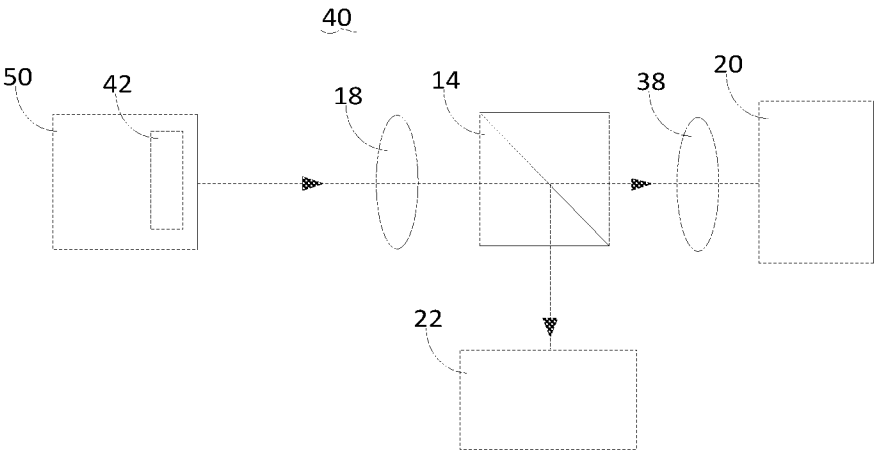


图 14

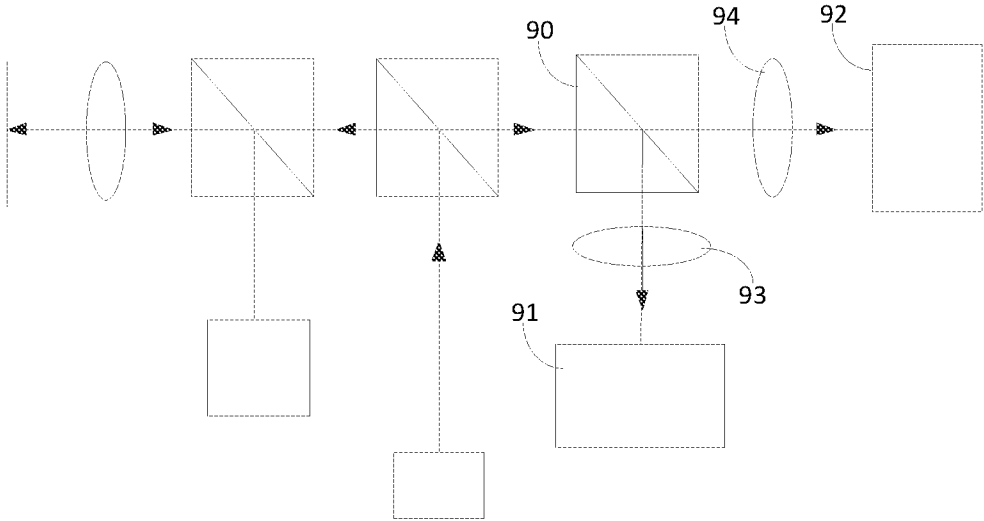


图 15

100

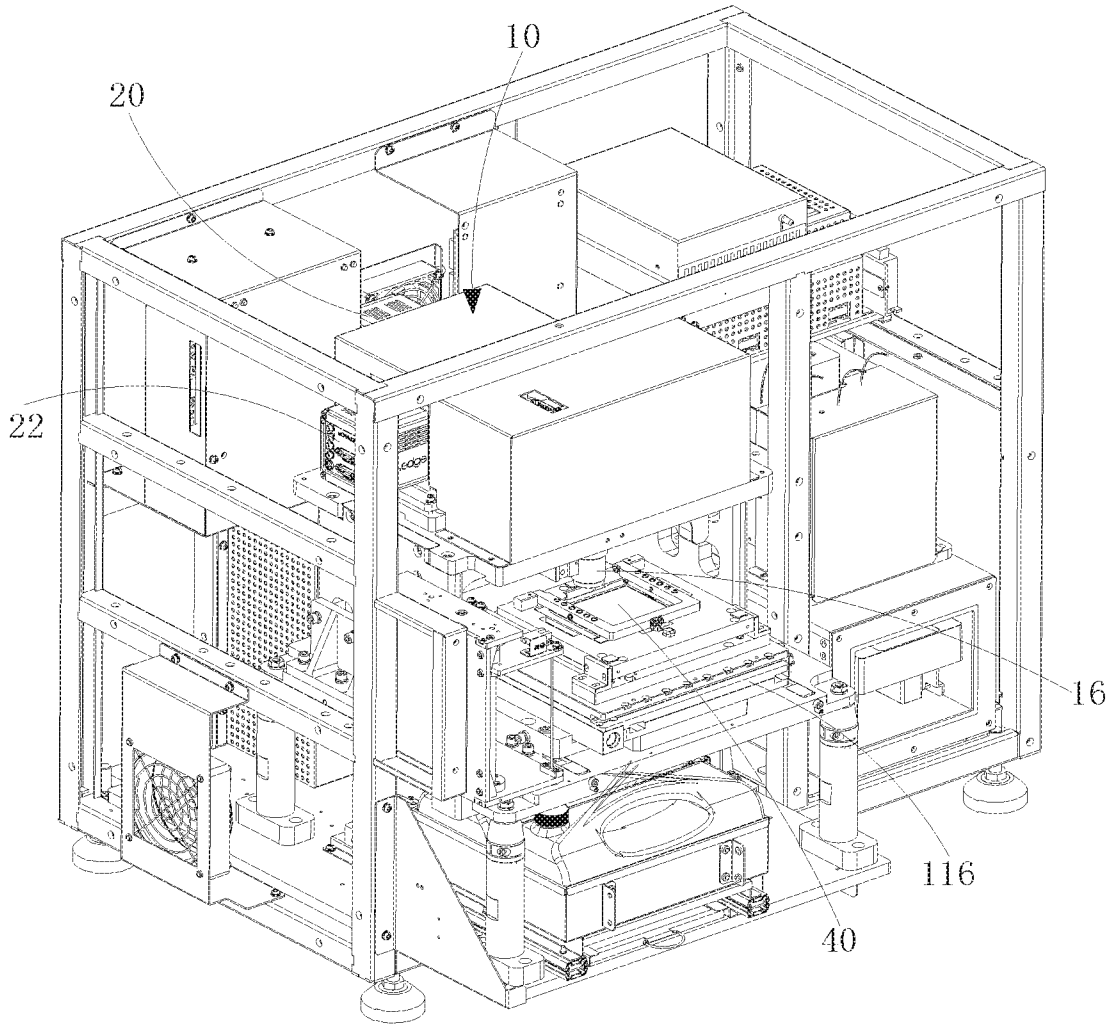


图 16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/109045

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 1/34(2006.01)i; G02B 27/10(2006.01)i

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)

C12M, G02B27

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)

CNABS, VEN, CNTXT, CNKI, WOTXT, USTXT, EPTXT: 测序, 荧光, 分光, 分束, 相机, CCD, 探测, sequenc+, fluores+, split+, camera?, CCD?, detect+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	CN 209759461 U (GENEMIND BIOSCIENCES CO., LTD.) 10 December 2019 (2019-12-10) description, paragraphs 32-65, and figures 1-16	1-17
X	CN 105371757 A (XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY) 02 March 2016 (2016-03-02) description, paragraphs 24-28, and figure 1	1-17
X	CN 106460034 A (GNOTHIS HOLDING AG) 22 February 2017 (2017-02-22) description, paragraphs 129-164, and figure 4	1-17
X	CN 108286936 A (BEIJING INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 17 July 2018 (2018-07-17) description, paragraphs 40-60, and figures 1-4	1-17
X	CN 104293648 A (HAN'S LASER TECHNOLOGY CO., LTD.) 21 January 2015 (2015-01-21) description, paragraphs 35-70, and figure 1	1-17
A	WO 2004048936 A2 (UNIV UTAH RES FOUND et al.) 10 June 2004 (2004-06-10) entire document	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“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)

“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

“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

“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

“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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

09 January 2019

Date of mailing of the international search report

31 December 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/109045

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	209759461	U	10 December 2019	None			
CN	105371757	A	02 March 2016	None			
CN	106460034	A	22 February 2017	WO	2015104245	A1	16 July 2015
				JP	2017504039	A	02 February 2017
				US	2016326581	A1	10 November 2016
				EP	3092314	A1	16 November 2016
CN	108286936	A	17 July 2018	None			
CN	104293648	A	21 January 2015	CN	104293648	B	24 August 2016
WO	2004048936	A2	10 June 2004	JP	2006511792	A	06 April 2006
				JP	4824312	B2	30 November 2011
				EP	1576351	A2	21 September 2005
				US	2006134397	A1	22 June 2006
				EP	1576351	A4	23 June 2010
				AU	2003293015	A1	18 June 2004
				US	7682688	B2	23 March 2010
				WO	2004048936	A3	17 November 2005

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/109045

A. 主题的分类 C12M 1/34(2006.01)i; G02B 27/10(2006.01)i 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) C12M, G02B27 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)) CNABS, VEN, CNTXT, CNKI, WOTXT, USTXT, EPTXT: 测序, 荧光, 分光, 分束, 相机, CCD, 探测, sequenc+, fluo- res+, split+, camera?, CCD?, detect+																							
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>E</td> <td>CN 209759461 U (深圳市真迈生物科技有限公司) 2019年 12月 10日 (2019 - 12 - 10) 说明书第32-65段、附图1-16</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 105371757 A (西安交通大学) 2016年 3月 2日 (2016 - 03 - 02) 说明书第24-28段、附图1</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 106460034 A (格诺特斯控股股份公司) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 说明书第129-164段、附图4</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 108286936 A (北京理工大学) 2018年 7月 17日 (2018 - 07 - 17) 说明书第40-60段、附图1-4</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 104293648 A (深圳市大族激光科技股份有限公司) 2015年 1月 21日 (2015 - 01 - 21) 说明书第35-70段、附图1</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2004048936 A2 (UNIV UTAH RES FOUND等) 2004年 6月 10日 (2004 - 06 - 10) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	E	CN 209759461 U (深圳市真迈生物科技有限公司) 2019年 12月 10日 (2019 - 12 - 10) 说明书第32-65段、附图1-16	1-17	X	CN 105371757 A (西安交通大学) 2016年 3月 2日 (2016 - 03 - 02) 说明书第24-28段、附图1	1-17	X	CN 106460034 A (格诺特斯控股股份公司) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 说明书第129-164段、附图4	1-17	X	CN 108286936 A (北京理工大学) 2018年 7月 17日 (2018 - 07 - 17) 说明书第40-60段、附图1-4	1-17	X	CN 104293648 A (深圳市大族激光科技股份有限公司) 2015年 1月 21日 (2015 - 01 - 21) 说明书第35-70段、附图1	1-17	A	WO 2004048936 A2 (UNIV UTAH RES FOUND等) 2004年 6月 10日 (2004 - 06 - 10) 全文	1-17
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
E	CN 209759461 U (深圳市真迈生物科技有限公司) 2019年 12月 10日 (2019 - 12 - 10) 说明书第32-65段、附图1-16	1-17																					
X	CN 105371757 A (西安交通大学) 2016年 3月 2日 (2016 - 03 - 02) 说明书第24-28段、附图1	1-17																					
X	CN 106460034 A (格诺特斯控股股份公司) 2017年 2月 22日 (2017 - 02 - 22) 说明书第129-164段、附图4	1-17																					
X	CN 108286936 A (北京理工大学) 2018年 7月 17日 (2018 - 07 - 17) 说明书第40-60段、附图1-4	1-17																					
X	CN 104293648 A (深圳市大族激光科技股份有限公司) 2015年 1月 21日 (2015 - 01 - 21) 说明书第35-70段、附图1	1-17																					
A	WO 2004048936 A2 (UNIV UTAH RES FOUND等) 2004年 6月 10日 (2004 - 06 - 10) 全文	1-17																					
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																							
<table border="0"> <tr> <td> * 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 </td> <td> “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 </td> </tr> </table>			* 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																			
* 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 2019年 1月 9日		国际检索报告邮寄日期 2019年 12月 31日																					
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 李洁 电话号码 (86-10)62085764																					

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/109045

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	209759461	U	2019年 12月 10日	无			
CN	105371757	A	2016年 3月 2日	无			
CN	106460034	A	2017年 2月 22日	WO	2015104245	A1	2015年 7月 16日
				JP	2017504039	A	2017年 2月 2日
				US	2016326581	A1	2016年 11月 10日
				EP	3092314	A1	2016年 11月 16日
CN	108286936	A	2018年 7月 17日	无			
CN	104293648	A	2015年 1月 21日	CN	104293648	B	2016年 8月 24日
WO	2004048936	A2	2004年 6月 10日	JP	2006511792	A	2006年 4月 6日
				JP	4824312	B2	2011年 11月 30日
				EP	1576351	A2	2005年 9月 21日
				US	2006134397	A1	2006年 6月 22日
				EP	1576351	A4	2010年 6月 23日
				AU	2003293015	A1	2004年 6月 18日
				US	7682688	B2	2010年 3月 23日
				WO	2004048936	A3	2005年 11月 17日