



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107667310 B

(45) 授权公告日 2021.01.01

(21) 申请号 201680032373.4

(22) 申请日 2016.05.10

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107667310 A

(43) 申请公布日 2018.02.06

(30) 优先权数据
62/169,675 2015.06.02 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.12.01

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/031570 2016.05.10

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/195927 EN 2016.12.08

(73) 专利权人 生命技术公司
地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 S·莱特勒 P·博伊斯克腾
A·甘德森 L·莱斯特姆 (续)

(74) 专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270

代理人 康艳青 姚开丽

(51) Int.Cl.

G02B 21/00 (2006.01) (续)

(56) 对比文件

CN 101201537 A, 2008.06.18

CN 101144910 A, 2008.03.19

JP H01201135 A, 1989.08.14

US 3960449 A, 1976.06.01

JP 2008541144 A, 2008.11.20

US 2014098369 A1, 2014.04.10

JP 2015084062 A, 2015.04.30

CN 101543054 A, 2009.09.23

US 2005280830 A1, 2005.12.22

US 2010308234 A1, 2010.12.09

US 6307635 B1, 2001.10.23

US 2005082494 A1, 2005.04.21

CN 104285175 A, 2015.01.14

CN 104597590 A, 2015.05.06

Rainer Heintzmann et, al. High-resolution image reconstruction in fluorescence microscopy with patterned excitation.《Applied Optics》.2006, (续)

审查员 宋钦剑

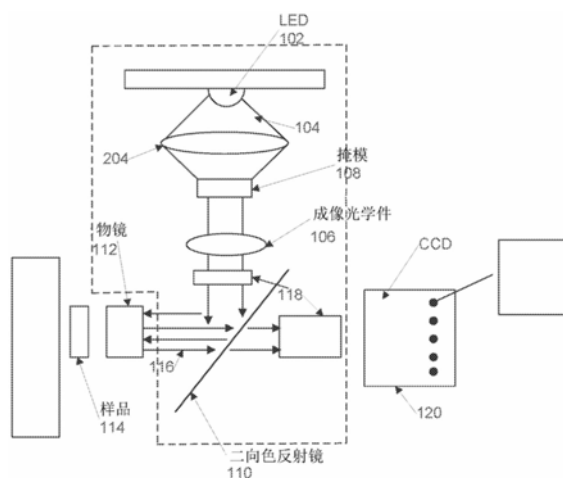
权利要求书1页 说明书10页 附图12页

(54) 发明名称

荧光成像系统

(57) 摘要

一种用于校准成像系统的方法,其包括:使用激发光经由针孔掩模照明样品;使用传感器俘获所述样品的图像;将所述图像转换为数据;在处理模块中:使用所述针孔掩模中的针孔的已知间隔对所述数据进行滤波以获得对应于所述间隔的数据,使用阈值来识别其余数据的足够明亮以与针孔相关联的区,计算所述区的质心,以及将所述针孔掩模的已知图案拟合到所述区以便识别所述数据的最佳拟合;以及在存储媒体中存储所述最佳拟合数据以供用于后续共焦俘获例程。



[转续页]

[接上页]

(72) 发明人 C·格内穆

(51) Int.Cl.

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 21/27 (2006.01)

(56) 对比文件

吴美瑞等. 结构光照明荧光显微镜突破衍射极限的原理和在生命科学中的应用.《激光与光电子学进展》.2015,

1. 一种荧光成像系统,其包括:
照明源,其被配置成使用激发光经由针孔掩模照明样品;
平移设备,其被配置成将所述针孔掩模或所述样品移动到第一位置;
传感器,其被配置成俘获在所述第一位置处的所述样品的图像且将所述图像转换为数据;
图像处理模块,其被配置成:
使用所述针孔掩模中的针孔的已知间隔对从所述图像转换的所述数据进行滤波以获得对应于所述间隔的经滤波数据,
使用阈值来识别经滤波数据的足够明亮以与针孔相关联的区,
计算所述区的质心,
将所述针孔掩模的已知图案拟合到所述区以便识别对于所述针孔的所述位置的所述经滤波数据的最佳拟合数据;
存储媒体,其被配置成存储所述最佳拟合数据;以及
控制模块,其被配置成控制所述照明源和所述平移设备以便获得所述样品的多个图像以供用于后续共焦俘获例程。
2. 根据权利要求1所述的系统,其中所述图像处理模块进一步被配置成增强从所述图像转换的所述数据。
3. 根据权利要求2所述的系统,其中增强从所述图像转换的所述数据包括提高从所述图像转换的所述数据的清晰度和对比度。
4. 根据权利要求1所述的系统,其中对从所述图像转换的所述数据进行滤波包括将从所述图像转换的所述数据变换到频域且将带通滤波器应用于通过所述变换而被变换的数据。
5. 根据权利要求1所述的系统,其中所述图像处理模块进一步被配置成移除噪声且考量所述经滤波数据中的亮度变化。
6. 根据权利要求5所述的系统,其中所述图像处理模块进一步被配置成仅保留超过亮度阈值的经滤波数据。
7. 根据权利要求6所述的系统,其中所述图像处理模块进一步被配置成应用直方图分组技术来识别超过所述亮度阈值的经滤波数据。
8. 根据权利要求1所述的系统,其中所述图像处理模块进一步被配置成将旋转、标度和补偿因数中的至少一个在迭代过程中应用于成对的质心以辅助识别所述最佳拟合数据。
9. 根据权利要求1所述的系统,其中所述图像处理模块进一步被配置成通过处理与所述针孔的所述位置相关联的数据而忽略不与所述针孔的所述位置相关联的数据来使用用于所述针孔的所述位置的所述最佳拟合数据以获得所述样品的共焦复合图像。
10. 根据权利要求1所述的系统,其中所述传感器包括电荷耦合装置CCD或互补金属氧化物半导体CMOS装置。
11. 根据权利要求1所述的系统,其中所述图像处理模块进一步被配置成使用所述多个图像和所述最佳拟合数据生成复合共焦图像。
12. 根据权利要求1所述的系统,其中所述针孔掩模为矩形、正方形或圆筒形掩模。

荧光成像系统

[0001] 本申请案主张2015年6月2日申请的第62/169,675号美国申请案的优先权,所述美国申请案的公开内容以全文引用的方式并入本文中。

技术领域

[0002] 本文所述的实施例涉及荧光成像,且更确切地说,涉及在发射路径中没有针孔掩模的情况下在荧光成像系统中生成复合共焦图像。

背景技术

[0003] 荧光显微镜为用以替代反射和吸收或除了反射和吸收之外还使用荧光来研究有机或无机物质的性质的光学显微镜。荧光显微镜是基于以下现象:在用特定波长的光辐照时,某些材料发射可检测为可见光的能量。样品可以在其天然形式下发荧光(如叶绿素),或其可以用荧光斑点加以处理。

[0004] 在此项技术中众所周知的基本宽视场荧光显微镜包含光源和对应于匹配荧光斑点的波长的若干滤光片。提供激发滤光片用于选择来自光源的光的激发波长,且二色性分束器反射来自光源的光以对试样进行照明。照明光利用发射滤光片与弱得多的所发射荧光分离。荧光区域可以在显微镜中观察到,且以高对比度对照暗背景照射出来。

[0005] 结构化照明成像系统使用与上文所描述的宽视场成像系统大同小异的原理,关键是在任何一个时间对样品的仅一部分进行照明。激发光的大部分被阻断,同时未阻断照明的图案扫过整个样品,使得样品的每个区域接收大致相等的激发光。通常,在此过程中以离散间隔俘获多个图像,且通过图像处理算法生成单个完全照明的图像,所述图像处理算法分析离散输入图像以建构对应输出图像。此输出图像优于使用简单宽视场成像技术俘获的图像,因为从样品的离焦区域搜集的光减少,从而导致改善的信噪比、较高的侧向和轴向空间分辨率,或两者。

[0006] 共焦成像系统为一种类型的结构化照明系统。共焦成像系统可以用来改善信噪比或增大光学分辨率。在共焦成像系统中,物镜仅对样品的处于焦点处的薄部分进行成像,从而拒绝来自聚焦平面上方及下方的所有光。这与更基本的宽视场成像形成对比,在宽视场成像中,离焦元素仍然显现为图像中的显著元素。

[0007] 常规共焦系统可以不严谨地划分为单点共焦和多点共焦系统。在单点共焦系统中,用来激发染料的照明通过针孔到样品上,接着来自样品的荧光发射通过另一针孔到光电检测器中。针孔大小和光学件经设计以接受仅从样品的处于焦点的薄切片发射的那些光子返回的光。

[0008] 所述技术仅可以对一个点进行成像。因此,射束或样品必须以二维形式来回扫描以建构单个2D共焦图像。此种常规系统中的射束通常在固定样品上扫描,这需要将非常快速、非常准确的反射镜同步到光电检测器。

[0009] 在多点共焦系统中,操作原理与以上相同,但并行地对多个点进行成像。通常,具有针孔图案的圆盘自旋,使得照明在曝光期间扫过视场。实例自旋圆盘共焦成像系统说明

于图7中。

[0010] 如可在图7中看出,来自光源的光802入射于包含多个聚焦透镜806的第一圆盘804上,所述聚焦透镜将光聚焦到包含于第二圆盘808中的针孔掩模810上。通过针孔掩模810的光802接着经由物镜812聚焦到试样814上。光802由荧光团吸收,使得所述荧光团发出光816,所述光816向后通过物镜812和针孔掩模810且入射于反射镜818上。反射镜818将发射光816例如经由光学件820反射到传感器822上,在所述传感器处可以检测到所述光。

[0011] 例如图7中所说明的系统的系统可以比单点系统更快地俘获图像,但此类系统还需要在针孔与检测器之间的更复杂同步。

[0012] 此种常规荧光成像系统的另一问题是光漂白。在此种系统中,检视样品使得样品随时间推移而变得较暗淡。称为光漂白的此效果为激发光能量缓慢损坏染料的分子且因此降低其荧光响应的结果。此效果仅在样品的已曝露于激发光的区域中明显,且基于曝露的持续时间和强度而变化。因此,有可能样品的一个区域非常暗淡(被极大地光漂白),而另一区域非常明亮(根本未被光漂白),即使在样品的生物学上不存在看得出的差异。

[0013] 在结构化照明应用中,此效果可能会引起定性和定量问题。结构化照明的基本概念是一次仅照明样品的一小部分,接着利用图像处理软件将样品的多个被部分照亮的视图组合成一个完全照亮视图。此利用光和光学件的某些特性来俘获利用标准宽视场照明原本是不可能的图像。样品通常被过度照明,以使得在任何一个时间,比仅样品区域的子集更大的区域接收光。这引起可能尚未成像的样品区域中的光漂白,以使得在对其进行成像时,视在亮度小于在过程中已被较早成像的此区域的原本亮度。在组合图像时,这可能在定量分析中引起强的人为周期性趋势且在定性分析中引起视觉上明显的图案。

[0014] 存在克服此问题的若干常规方式。首先,可以随着俘获过程进展改变俘获设定,以便补偿归因于光漂白的较低亮度。但此方法需要系统的所有元件对于若干变量非常好地量化,且可能需要对于个别样品进行校准。第二,可以在后处理中调整个别图像的亮度以补偿减小的亮度。第三,更聚焦的照明源(例如激光器)可以防止引起额外光漂白的许多过度照明。

发明内容

[0015] 本文公开用于校准荧光成像系统的系统和方法,以使得所述系统可以用来在发射路径中没有针孔掩模的情况下生成结构化照明图像。

[0016] 根据一个方面,一种用于校准成像系统的方法包括:使用激发光经由针孔掩模照明样品;使用传感器俘获所述样品的图像;将所述图像转换为数据;在处理模块中:使用所述针孔掩模中的针孔的已知间隔对所述数据进行滤波以获得对应于所述间隔的数据,使用阈值来识别其余数据的足够明亮以与针孔相关联的区,计算所述区的质心,以及将所述针孔掩模的已知图案拟合到所述区以便识别所述数据的最佳拟合;以及在存储媒体中存储所述最佳拟合数据以供用于后续共焦俘获例程。

[0017] 根据另一方面,一种荧光成像系统包括:照明源,其被配置成使用激发光经由针孔掩模照明样品;平移设备,其被配置成将所述针孔掩模或所述样品移动到第一位置;传感器,其被配置成俘获在所述第一位置处的所述样品的图像且将所述图像转换为数据;图像处理模块,其被配置成:使用所述针孔掩模中的针孔的已知间隔对所述数据进行滤波以获

得对应于所述间隔的数据,使用阈值来识别其余数据的足够明亮以与针孔相关联的区,计算所述区的质心,将所述针孔掩模的已知图案拟合到所述区以便识别所述数据的最佳拟合;存储媒体,其被配置成存储所述最佳拟合数据;以及控制模块,其被配置成使用所述最佳拟合数据来控制所述照明源和所述平移设备以便获得所述样品的多个图像以供用于后续共焦俘获例程。

[0018] 根据另一方面,一种用于俘获在荧光成像系统中获得的复合共焦图像的方法包括:使用激发光经由针孔掩模照明样品;使用平移设备将所述针孔掩模或所述样品移动到第一位置;俘获所述第一位置处的所述样品的图像;将所述图像转换为数据;在图像处理模块中:使用所述针孔掩模中的针孔的已知间隔对所述数据进行滤波以获得对应于所述间隔的数据,使用阈值来识别其余数据的足够明亮以与针孔相关联的区,计算所述区的质心,将所述针孔掩模的已知图案拟合到所述区以便识别所述数据的最佳拟合;在存储媒体中存储所述最佳拟合数据;以及在控制模块中,使用所述最佳拟合数据来控制所述照明源和所述平移设备以便获得所述样品的多个图像以供用于后续共焦俘获例程。

[0019] 下文在标题为“具体实施方式”的部分中描述这些和其它特征、方面和实施例。

附图说明

[0020] 结合附图描述特征、方面和实施例,在附图中:

[0021] 图1为图示根据一个实施例配置的实例荧光成像系统的图;

[0022] 图2为图示图1的组件中的至少一些的光立方体实施方案的实例实施例的图;

[0023] 图3为图示根据一个实施例的用于消除例如由使用图1的系统俘获的图像中的光漂白而产生的周期性伪影的周期性伪影的实例过程的流程图;

[0024] 图4为图示根据一个实施例的用于控制图1的照明系统的操作的实例控制系统的图;

[0025] 图5为图示根据一个实施例的可以用于图1的系统,且明确地说,用于图2的光立方体实施方案中的实例针孔掩模的图;

[0026] 图6A图示实例宽视场图像俘获;

[0027] 图6B图示对应针孔图像俘获;

[0028] 图6C和6D图示光栅扫描式共焦图像俘获;

[0029] 图6E和6F图示根据图的过程执行的随机扫描式图像俘获;

[0030] 图7为图示常规自旋圆盘共焦成像系统的图;

[0031] 图8为图示可以结合本文所描述的各种实施例使用的实例有线或无线系统的框图;

[0032] 图9为图示根据一个实施例的可以与图1的系统,且明确地说,与图2的光立方体一起使用的实例平移设备的图;

[0033] 图10为图示根据一个实施例的用于校准图1的系统以便消除对于发射路径针孔掩模的需要的实例方法的图;

[0034] 图11A示出用于图像的针孔的所确定位置;以及

[0035] 图11B示出图像的一部分的特写,其中所确定位置覆叠有原始数据。

具体实施方式

[0036] 在本文中所描述的实施例中,公开用于产生结构化照明图像的系统和方法。将理解,所描述的实施例仅作为实例。此外,诸图为说明性的,且希望辅助描述所公开的系统和方法。因此,诸图可能不包括描绘完整系统所需要的所有组件、电路、元件等。因此,诸图和随附公开内容不应被视为将实施例限于某些配置,且不应被视为排除在所公开配置中包含进一步组件等或包含进一步配置。

[0037] 如上文所指出,结构化照明系统具有优于常规宽视场系统的某些优点。共焦成像系统为一种类型的结构化照明系统。共焦成像系统可以用来增大光学分辨率和对比度,且使得能够从一系列所获得图像重构三维结构。在共焦成像系统中,物镜仅对样品的处于焦点处的薄部分进行成像,从而拒绝来自聚焦平面上方及下方的所有光。这与更基本的宽视场成像形成对比,在宽视场成像中,离焦元素仍然显现为图像中的显著元素。

[0038] 常规共焦系统可以不严谨地划分为单点共焦和多点共焦系统。在单点共焦系统中,用来激发染料的照明通过针孔到样品上,接着来自样品的荧光发射通过另一针孔到光电检测器中,即,其实质上为单像素相机。针孔大小和光学件经设计以接受仅从样品的处于焦点的薄切片发射的那些光子返回的光。

[0039] 所述技术一次仅可以对一个点,即图像的一个像素,进行成像。因此,射束或样品必须以二维形式来回扫描以建构单个2D共焦图像。此种常规系统中的射束通常在固定样品上扫描,这需要将非常快速、非常准确的反射镜同步到光电检测器。

[0040] 在多点共焦系统中,操作原理与以上相同,但并行地对多个点进行成像。通常,具有针孔图案的圆盘自旋,使得照明在曝光期间扫过视场。实例自旋圆盘共焦成像系统说明于图7中。

[0041] 如可在图7中看出,来自光源的光802入射于包含多个聚焦透镜806的第一圆盘804上,所述聚焦透镜将光聚焦到包含于第二圆盘808中的针孔掩模810上。通过针孔掩模810的光802接着经由物镜812聚焦到试样814上。光802由荧光团吸收,使得所述荧光团发出光816,所述光816向后通过物镜812和针孔掩模810且入射于反射镜818上。反射镜818将发射光816例如经由光学件820反射到传感器822上,在所述传感器处可以检测到所述光。

[0042] 例如图7中所说明的系统的系统可以比单点系统更快地俘获图像,但此类系统还需要在针孔与检测器之间的更复杂同步。

[0043] 图1为图示根据本文中所描述的系统和方法配置的荧光成像系统100的实例实施例的图。如可看出,系统100包括被配置成产生照明光104的光源104。源102可以取决于实施方案而例如为发光二极管(LED)或激光器。针孔光学件106可以接着将光102聚焦到针孔掩模108上。通过掩模108的光入射于例如二向色反射镜的反射镜110上,其例如经由物镜光学件112将光引导到样品114上。光104由荧光团吸收,使得所述荧光团发出光116,所述光116向后通过物镜112和反射镜110到传感器120上。滤光片118可以在发射入射于传感器120上之前对发射进行滤光。

[0044] 应注意,在某些实施例中,系统100可以如在常规系统中那样在光发射路径116中包含针孔掩模;然而,如下文详细阐释,在其它实施例中,可以消除发射路径针孔掩模。

[0045] 传感器120可以是例如电荷耦合装置(CCD)或CMOS装置。另外,针孔掩模可以包括可以由坐标系统限定的窗口的可预测图案,例如矩形、正方形或圆筒形坐标系统。因此,掩

模可以在x-y平面上移动,例如,与在圆盘上旋转形成对比。但是,如果使用圆筒形坐标系,那么掩模仍然可以自旋。图5为图示根据一个实施例的实例掩模500的图。如可看出,掩模500可以包括多个针孔掩模,例如掩模501和502。

[0046] 如图2中所示,光源102、成像光学件106、掩模108、反射镜110和滤光片118可以包含于非常紧凑的光立方体200中。光立方体还可以包含可以被配置成与控制系统通信且控制光立方体200的各种方面的电路板220。因此,图5的掩模500可以被配置成插入到光立方体200中。

[0047] 如上文所指出,经由例如基于圆盘的光栅扫描系统的常规系统俘获的图像可能包含周期性视觉假影,例如由光漂白造成的那些视觉假影。尽管用于减少这些伪影的常规方法可以是有帮助的,但系统100可以被配置成通过每次以随机次序俘获个别部分照明图像而减少此种伪影效果。

[0048] 图3为图示用于消除例如由光漂白产生的周期性伪影的周期性伪影的实例过程的流程图。首先,在步骤305中,例如在控制系统400上运行的图像控制模块402可以确定掩模106必须位于的不同物理位置,以便恰当地建构完整照明复合图像。通常,一旦确定这些位置,系统400将接着经由平移控制模块406控制平移台以线性方式移动,即,其将以某个次序移动经过每个位置且俘获图像。控制模块402通常还将确定每个位置的俘获设定,且控制照明控制408以便使用所述俘获设定俘获图像。

[0049] 但在图3的实施例中,控制模块402使得平移台在步骤310中以随机次序前进到所述位置中的每一个,且俘获图像。另外,控制模块402可以被配置成使得每次以相同俘获设定俘获每个图像。这允许更快的个别俘获,因为相机或传感器和照明控制并不需要与控制系统400通信以在每个俘获之前确认新设定。

[0050] 一旦已在步骤310中俘获图像,就可以使用图像处理模块404来在步骤315中生成复合共焦图像。图像处理模块404可以接着被配置成区分信号与背景信息,且在步骤320中测量俘获过程的离散步骤处的信号强度的减小。可以接着在步骤325中将例如已经建模以匹配以实验方式观察到的光漂白行为的曲线(即,随时间而变的相对亮度)的模型拟合到数据点。从所述曲线,可以在步骤330中调整序列中除第一图像之外的所有图像的亮度,以消除光漂白的视在效果中的一些。

[0051] 应注意,可以在将模型应用于图像且调整各个数据点的亮度之前或之后生成复合图像。

[0052] 还应主意,将图3的过程严格地应用于所有图像可能在计算上密集,且在某些情况下将花费过长时间(给定当前处理能力约束)。因此,在某些实施例中,模型的应用(步骤325)可应用于仅少数图像。可以接着执行基于应用于少数图像而对其余图像的亮度进行近似校正,如任选步骤335所示。举例来说,模型可应用于次序的开始、中间和结束处的图像,且接着指数衰减可以拟合到这些点。这一经修改过程可以导致相对快速地获取质量良好的图像。

[0053] 图4为图示用于控制照明系统100的操作的实例控制系统400的图。如可看出,系统400包括图像授权装置(image authority)412。图像授权装置412可以包括实施本文中所描述的系统和方法的某些部分所需要的所有资源。因此,授权装置412可以包括那些部分所需要的所有硬件和软件资源,包含一个或多个处理器,包含任何信号处理器、数字共处理器、

微控制器,等,一个或多个服务器、一个或多个路由器、一个或多个终端、一个或多个计算机,包含台式计算机或便携式计算机,以及执行本文中所描述的系统和方法的那些部分或方面所需要的所有API、程序、软件模块等。因此,例如本文中所描述的那些模块的模块可以包括执行指定功能所需要的硬件和软件资源。

[0054] 具体来说,授权装置412可以包括被配置成控制系统100的操作且处理由其获得的数据的各种模块。如图4中所示,这些模块可以包含图像控制模块402,所述图像控制模块可以被配置成例如经由平移控制模块406控制系统100中的平移台。控制模块402还可以被配置成经由照明控制模块408控制照明。

[0055] 授权装置410还可以包括被配置成处理由传感器120获得的图像数据的处理模块404。

[0056] 应注意,平移控制模块406和照明控制模块408中的一些或全部可以驻留在系统100内,例如驻留在光立方体200或立方体200介接到的平移台内。

[0057] 图6A和6B图示实例宽视场图像俘获和对应针孔图像俘获。如可在图6C和6D中看出,光栅扫描式共焦图像可以提供改善的分辨率和对比度;然而,如图6E和6F中所示,图3的随机扫描式图像俘获过程可以较少的时间且以较少处理资源提供甚至更好的分辨率和对比度。

[0058] 如上文所描述,本文中所描述的系统为多点共焦系统。替代自旋圆盘,如图7中所示,可以在如图5中所示的小(例如,玻璃)载片上印刷针孔的图案。此载片可以固持在激发光源102的前方,例如,如在图2的光立方体配置中。掩模使用小平移台四处移动,所述平移台将掩模定位在适当位置以在每次俘获之前对样品的不同部分进行照明。

[0059] 图9为图示根据一个实施例的平移设备900的实例配置的图,其包含多个平移台902a、902b和902c以及尖端/倾斜调整机构904。如可看出,平移台902和尖端/倾斜调整机构904可以例如在控制模块402和平移控制406的控制下移动且定位掩模108。除了光立方体200之外,此类型的平移设备900也提供简单且紧凑的解决方案,其允许将若干不同针孔图案,例如501和502,印刷于每个载片上。这允许更大灵活性,向用户给出速度与质量之间的选择。

[0060] 此外,如上文所指出,在某些实施例中,本文中所描述的系统和方法可以被配置成消除对于发射路径上的针孔掩模的需要。实际上,本文中所描述的系统和方法可以被配置成使用例如CCD或CMOS装置等高分辨率传感器120来几乎掩蔽返回的图像,仅记录图像的“良好”区中的数据。为使系统100知晓良好数据的位置,针孔108相对于传感器120的位置必须为已知的。此通过在共焦俘获例程开始时取得校准图像且使用图像处理(例如,在处理模块404内)来确定针孔阵列108相对于传感器120的位置来实现。以此方式,系统至少部分地为自校准式的,且可以容许图像到图像系统定位(例如光立方体200的位置)的小误差而不显著损失图像质量。

[0061] 本质上,识别针孔,即图11A的图像中的明亮斑点,且接着处理来自这些位置的数据以生成共焦图像,而忽略在这些区外部的数据。可以用来建立针孔阵列相对于相机传感器的位置的过程具有若干离散步骤,如图10中所示。首先,在步骤1005中,可以获得掩模中的针孔的图像。接着,在步骤1010中,可以使用各种图像处理技术来增强掩模的图像以使其更适合于定量分析。因为针孔的间隔是例如处理模块404已知的量,因此可以使用傅立叶变

换来在步骤1015中将数据移动到频域中,其中可以使用带通滤波器来在步骤1020中找出与所述间隔对应的数据。

[0062] 接着可以在步骤1025中移除噪声且考量跨越图像的亮度变化。例如,且开口技术可以用于步骤1025中。接着可以在步骤1030中选择最亮数据。举例来说,直方图分格技术可以用来仅保留此数据中的最亮者。此时,可以在步骤1035中定位增强图像中的针孔。举例来说,可以应用阈值算法,其识别足够明亮以被认为是针孔的信号区。接着可以计算这些区的质心,并存储以供在下一步骤中使用。

[0063] 接下来,在步骤1040中,已知掩模图案可以拟合到观察到的数据,由此使掩模位置与传感器相关。举例来说,可以使用随机样本一致性(RANSAC)方法来同时对两个质心对已知掩模图案应用并测试多种旋转、标度和补偿因数。此迭代过程可以并行化以允许在数秒或更短时间内测试数百种可能性。一旦确定了最佳拟合,就存储掩模图案以供用于后续共焦俘获例程。

[0064] 因为图10的整个过程可以在大约数秒内完成,因此在例如消费者级计算机上运行时,在每个共焦俘获之前运行此校准是有可能且可行的。另外,因为多个针孔同时成像,因此系统100可以俘获高分辨率图像而没有原本在单点系统上可能招致的时间损失。再者,与自旋圆盘系统相比,平移掩模方法消除了模糊和振动问题,因为针孔在图像俘获期间是静止的。

[0065] 图11A图示针对覆叠有所确定针孔的图像所俘获的数据,其中针孔位置是使用图10的过程确定。图11B图示所确定针孔的特写,其中原始数据在右侧。

[0066] 图8为图示可以结合本文所描述的各种实施例使用的实例有线或无线系统550的框图。举例来说,系统550可以用作上文所描述的机制或过程中的一个或多个或与其结合使用,且可以表示系统100或400、对应服务器和/或本文中所描述的其它装置的组件。系统550可以是以下中的一个或多个的组合:服务器或任何常规个人计算机,或能够进行有线或无线数据通信的任何其它具备处理器的装置。还可以使用其它计算机系统和/或架构,如所属领域的技术人员将显而易见的。

[0067] 系统550优选地包含一个或多个处理器,例如处理器560。可以提供额外处理器,例如用以管理输入/输出的辅助处理器、用以执行浮点数学运算的辅助处理器、具有的架构适合于快速执行信号处理算法的专用微处理器(例如,数字信号处理器)、主要处理系统下属的受控处理器(例如,后端处理器)、用于双或多处理器系统的额外微处理器或控制器,或共处理器。此种辅助处理器可以是离散处理器,或可以与处理器560集成。可以与系统550一起使用的处理器的实例包含但不限于 **Pentium®** 处理器、**Core i7®** 处理器和 **Xeon®** 处理器,所有这些处理器都可以购自加利福尼亚圣克拉拉的英特尔公司。

[0068] 处理器560优选地连接到通信总线555。通信总线555可以包含用于促进系统550的存储装置与其它外围组件之间的信息传送的数据信道。通信总线555进一步可以提供用于与处理器560通信的一组信号,包含数据总线、地址总线和控制总线(未示出)。通信总线555可以包括任何标准或非标准总线架构,例如符合工业标准架构(ISA)、扩充工业标准架构(EISA)、微信道架构(MCA)、外围组件互连(PCI)本地总线或由电气电子工程师学会(IEEE)颁布的标准(包含IEEE 488通用接口总线(GPIB)、IEEE 696/S-100,等等)的总线架构。

[0069] 系统550优选地包含主存储器565,且还可以包含辅助存储器570。主存储器565提

供用于在处理器560上执行的程序的指令和数据(例如上文所论述函数和/或模块中的一个或多个)的存储。应理解,存储于存储器中且由处理器560执行的程序可以根据任何合适语言,包括但不限于C/C++、Java、JavaScript、Perl、Visual Basic、.NET等等,来撰写和/或编译。主存储器565通常为基于半导体的存储器,例如动态随机存取存储器(DRAM)和/或静态随机存取存储器(SRAM)。其它基于半导体的存储器类型包含例如同步动态随机存取存储器(SDRAM)、Rambus动态随机存取存储器(RDRAM)、铁电随机存取存储器(FRAM)等等,包含只读存储器(ROM)。

[0070] 辅助存储器570可以任选地包含内部存储器575和/或可移除式媒体580,例如软盘驱动器、磁带驱动器、压缩光盘(CD)驱动器、数字多功能光盘(DVD)驱动器、其它光盘驱动器、闪存存储器驱动器,等。可移除式媒体580以众所周知的方式读取和/或写入。可移除式存储媒体580可以是例如软盘、磁带、CD、DVD、SD卡,等。

[0071] 可移除式存储媒体580为在其上存储有计算机可执行代码(即,软件)和/或数据的非暂时性计算机可读媒体。存储于可移除式存储媒体580上的计算机软件或数据读取到系统550中以由处理器560执行。

[0072] 在替代实施例中,辅助存储器570可以包含用于允许计算机程序或其它数据或指令加载到系统550中的其它类似构件。此种构件可以包含例如外部存储媒体595和接口590。外部存储媒体595的实例可以包含外部硬盘驱动器或外部光盘驱动器,或和外部磁光驱动器。

[0073] 辅助存储器570的其它实例可以包含基于半导体的存储器,例如可编程只读存储器(PROM)、可擦除可编程只读存储器(EPROM)、电可擦除只读存储器(EEPROM),或闪存存储器(类似于EEPROM的面向块的存储器)。还包含任何其它可移除式存储媒体580和通信接口590,其允许软件和数据从外部媒体595传送到系统550。

[0074] 系统550可以包含通信接口590。通信接口590允许软件和数据在系统550与外部装置(例如打印机)、网络或信息源之间传送。举例来说,计算机软件或可执行代码可以从网络服务器经由通信接口590传送到系统550。通信接口590的实例包含内置网络适配器、网络接口卡(NIC)、个人计算机存储卡国际协会(PCMCIA)网卡、卡总线网络适配器、无线网络适配器、通用串行总线(USB)网络适配器、调制解调器、网络接口卡(NIC)、无线数据卡、通信端口、红外线接口、IEEE1394火线,或能够将系统550与网络或另一计算装置介接的任何其它装置。

[0075] 通信接口590优选地实施行业颁布的协议标准,例如以太网IEEE802标准、光纤通道、数字订户线(DSL)、异步数字订户线(ADSL)、帧中继、非同步传送模式(ATM)、集成式数字服务网络(ISDN)、个人通信服务(PCS)、传输控制协议/互联网协议(TCP/IP)、串行线因特网协议/点对点协议(SLIP/PPP)等等,但还可以实施定制或非标准接口协议。

[0076] 经由通信接口590传送的软件和数据大体呈电信号605的形式。这些信号605优选地经由通信信道600提供到通信接口590。在一个实施例中,通信信道600可以是有线或无线网络或任何多种其它通信链路。通信信道600载运信号605,且可以使用多种有线或无线通信构件实施,包含金属线或缆线、光纤、常规电话线、蜂窝式电话链路、无线数据通信链路、射频(“RF”)链路或红外线链路,仅仅举几例。

[0077] 计算机可执行代码(即,计算机程序或软件)存储在主存储器565和/或辅助存储器

570中。计算机程序还可以经由通信接口590接收且存储在主存储器565和/或辅助存储器570中。此种计算机程序在执行时使得系统550能够执行如先前所描述的本发明的各种功能。

[0078] 在此描述中,术语“计算机可读媒体”用以指用来将计算机可执行代码(例如,软件和计算机程序)提供到系统550的任何非暂时性计算机可读存储媒体。这些媒体的实例包含主存储器565、辅助存储器570(包含内部存储器575、可移除式媒体580和外部存储媒体595)和以通信方式与通信接口590耦合的任何外围装置(包含网络信息服务器或其它网络装置)。这些非暂时性计算机可读媒体为用于将可执行代码、编程指令和软件提供到系统550的构件。

[0079] 在使用软件实施的实施例中,软件可以存储在计算机可读媒体上且借助于可移除式媒体580、I/O接口585或通信接口590加载到系统550中。在此类实施例中,软件以电通信信号605的形式加载到系统550中。在由处理器560执行时,软件优选地使得处理器560执行本文中先前所描述的发明性特征和功能。

[0080] 在一实施例中,I/O接口585提供系统550的一或多个组件与一个或多个输入和/或输出装置之间的接口。实例输入装置包含但不限于键盘、触摸屏或其它触敏式装置、生物计量感测装置、计算机滑鼠、轨迹球、基于笔的指向装置,等等。输出装置的实例包含但不限于阴极射线管(CRT)、等离子显示器、发光二极管(LED)显示器、液晶显示器(LCD)、打印机、真空荧光显示器(VFD)、表面传导电子发射显示器(SED)、场发射显示器(FED),等等。

[0081] 系统550还包含促进经由语音和经由数据网络的无线通信的任选无线通信组件。所述无线通信组件包括天线系统610、无线电系统615和基带系统620。在系统550中,射频(RF)信号在无线电系统615的管理下由天线系统610经由空气发射和接收。

[0082] 在一个实施例中,天线系统610可以包括一个或多个天线和一个或多个多路复用器(未示出),所述多路复用器执行切换功能以向天线系统610提供发射和接收信号路径。在接收路径中,所接收RF信号可以从多路复用器耦合到低噪声放大器(未示出),所述低噪声放大器放大所接收RF信号且将经放大信号发送到无线电系统615。

[0083] 在替代实施例中,无线电系统615可以包括被配置成经由各种频率通信的一个或多个无线电。在一个实施例中,无线电系统615可以将解调器(未示出)和调制器(未示出)组合在一个集成电路(IC)中。解调器与调制器也可以是单独的组件。在传入路径中,解调器剔除RF载波信号,从而使基带接收音频信号,所述音频信号从无线电系统615发送到基带系统620。

[0084] 如果所接收信号含有音频信息,则基带系统620对信号进行解码且将其转换为模拟信号。接着,放大所述信号且将其发送到扬声器。基带系统620还从麦克风接收模拟音频信号。这些模拟音频信号转换为数字信号,且由基带系统620编码。基带系统620还对数字信号进行译码以供发射,且生成路由到无线电系统615的调制器部分的基带发射音频信号。调制器混合基带发射音频信号与RF载波信号,从而生成路由到天线系统且可以通过功率放大器(未示出)的RF发射信号。功率放大器放大RF发射信号且将其路由到天线系统610,在所述天线系统处,信号被切换到天线端口用于发射。

[0085] 基带系统620还以通信方式与处理器560耦合。中央处理单元560能存取数据存储区域565和570。中央处理单元560优选地被配置成执行可以存储于存储器565或辅助存储器

570中的指令(即,计算机程序或软件)。计算机程序还可以从基带处理器610接收且存储在数据存储区域565或辅助存储器570中,或在接收到之后即刻执行。此种计算机程序在执行时使得系统550能够执行如先前所描述的本发明的各种功能。举例来说,数据存储区域565可以包含各种软件模块(未示出)。

[0086] 各种实施例还可以例如使用例如专用集成电路(ASIC)或现场可编程门阵列(FPGA)的组件来主要在硬件中实施。实施能够执行本文所描述的功能的硬件状态机也是所属领域的技术人员将显而易见的。各种实施例还可以使用硬件与软件两者的组合来实施。

[0087] 此外,所属领域的技术人员将了解,结合上述图和本文公开的实施例描述的各种说明性逻辑块、模块、电路和方法步骤常常可以实施为电子硬件、计算机软件,或两者的组合。为清晰地说明硬件与软件的此可互换性,上文已大体就其功能性来描述了各种说明性组件、块、模块、电路和步骤。此功能性是实施为硬件还是软件取决于特定应用和外加于整个系统的设计约束。所属领域的技术人员可以针对每一特定应用以不同方式来实施所描述的功能性,但此种实施决策不应被解释为会引起脱离本发明的范围。此外,模块、块、电路或步骤内的功能的分组是为了易于描述。特定功能或步骤可以从一个模块、块或电路移到另一个。

[0088] 此外,结合本文公开的实施例描述的各种说明性逻辑块、模块、功能和方法可以利用通用处理器、数字信号处理器(DSP)、ASIC、FPGA或其它可编程逻辑装置、离散门或晶体管逻辑、离散硬件组件或经设计以执行本文中所描述的功能的其任何组合来实施或执行。通用处理器可以是微处理器,但在替代方案中,处理器可以是任何处理器、控制器、微控制器或状态机。处理器还可以实施为计算装置的组合,例如DSP与微处理器的组合、多个微处理器、与DSP核心结合的一个或多个微处理器,或任何其它此类配置。

[0089] 此外,结合本文公开的实施例描述的方法或算法的步骤可以直接体现于硬件、由处理器执行的软件模块或两者的组合中。软件模块可以驻留在RAM存储器、闪存存储器、ROM存储器、EPROM存储器、EEPROM存储器、寄存器、硬盘、可移除式磁盘、CD-ROM或任何其它形式的存储媒体(包含网络存储媒体)中。示范性存储媒体可以耦合到处理器,使得处理器可以从存储媒体读取信息和将信息写入到存储媒体。在替代方案中,存储媒体可以与处理器成整体。处理器和存储媒体还可以驻留在ASIC中。

[0090] 本文中所描述的软件组件中的任一个可以采用多种形式。举例来说,组件可以是独立软件包,或其可以是作为“工具”并入到较大软件产品中的软件包。其可以从例如网站的网络下载,作为独立产品或作为用于安装在现有软件应用程序中的外接封装。其还可以用作客户端-服务器软件应用程序、网络允用软件应用程序和/或移动应用程序。

[0091] 尽管上文已描述某些实施例,但将理解,所描述的实施例仅作为实例。因此,本文中所描述的系统和方法不应限于基于所描述实施例。实际上,本文中所描述的系统和方法在结合以上描述和附图采用时仅应根据所附权利要求加以限制。

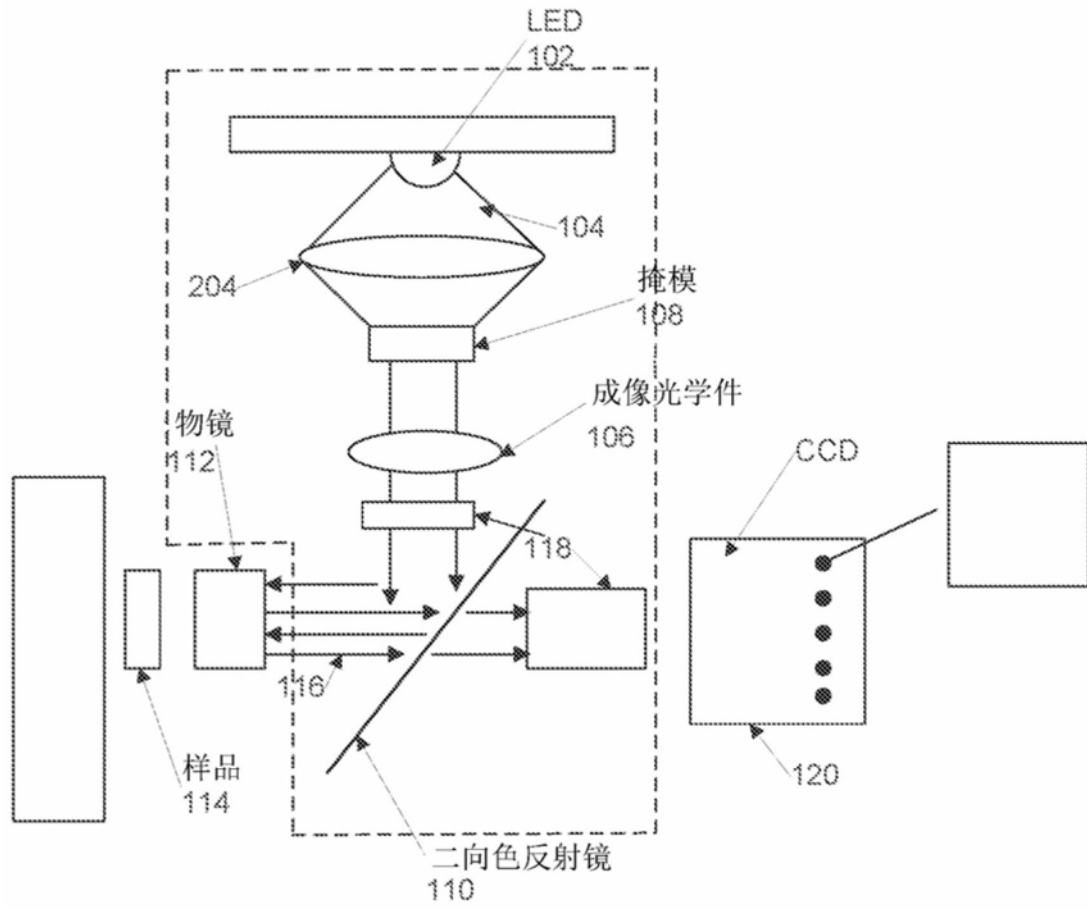


图1

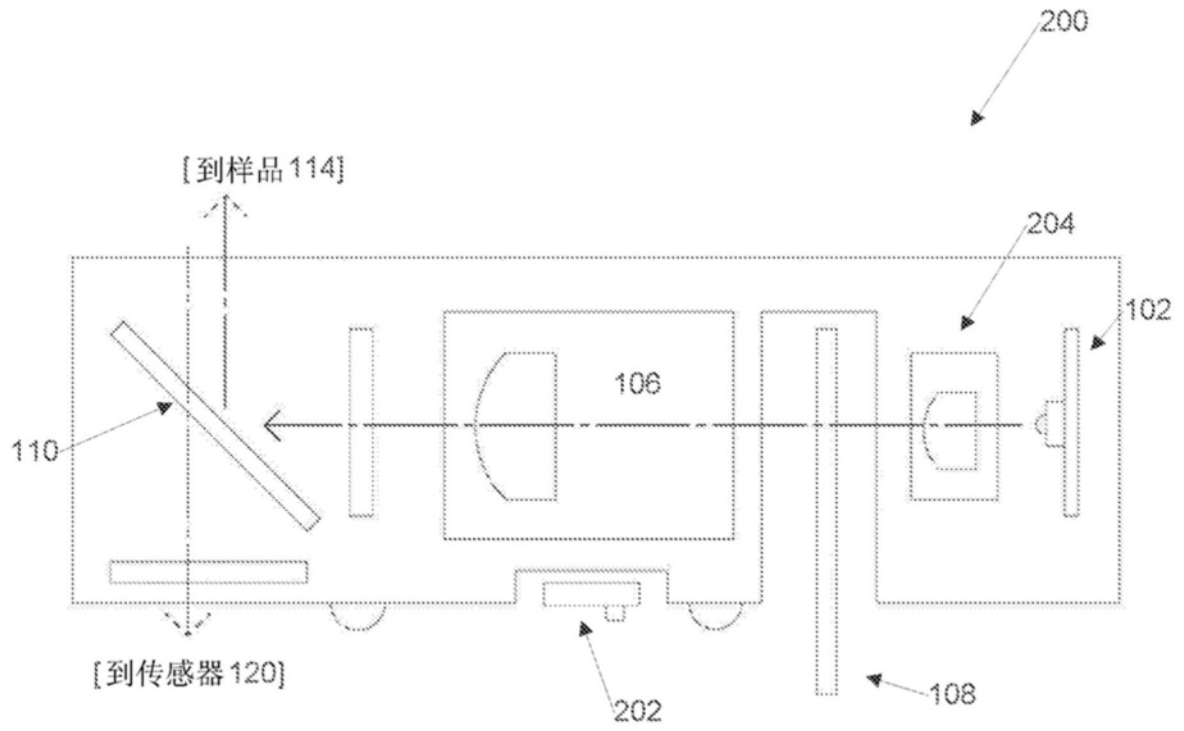


图2

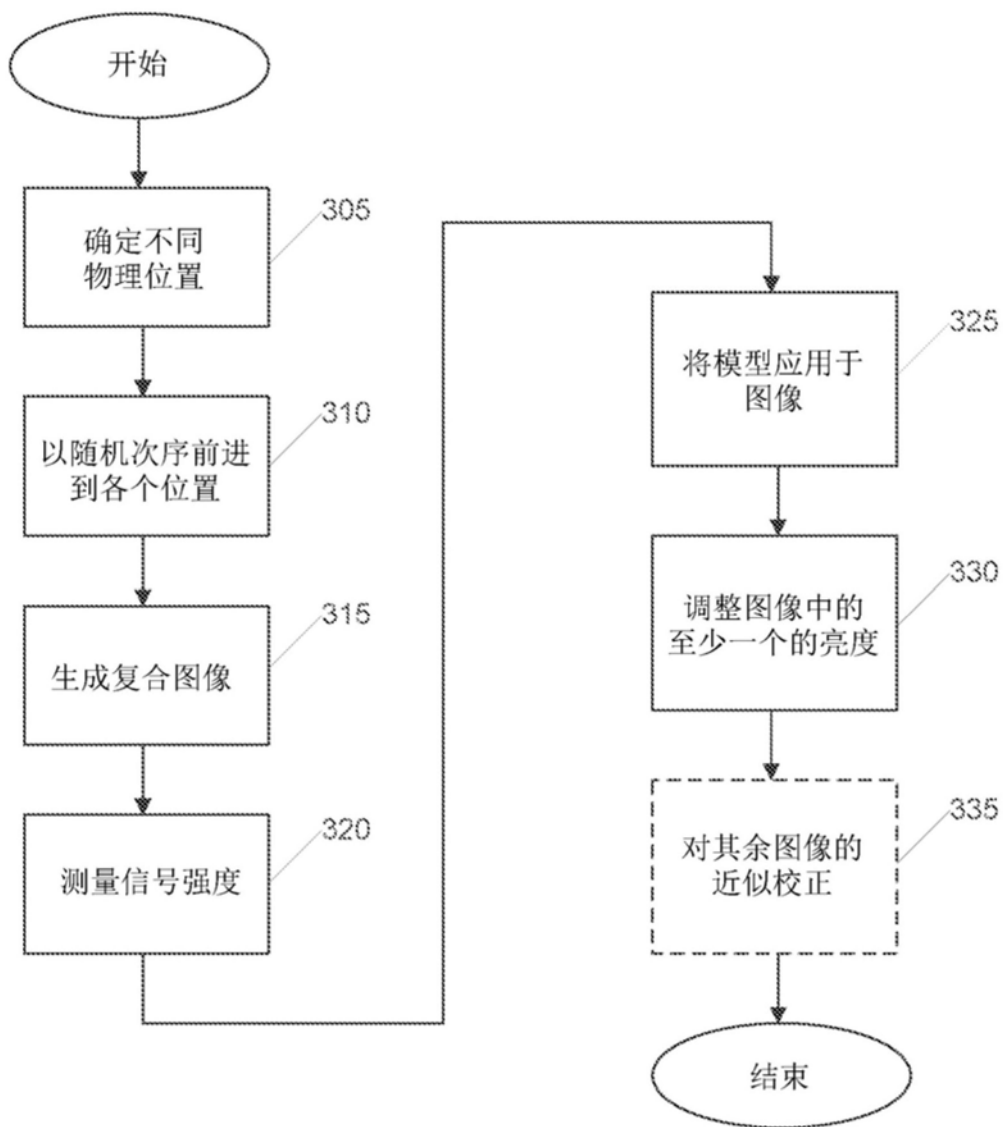


图3

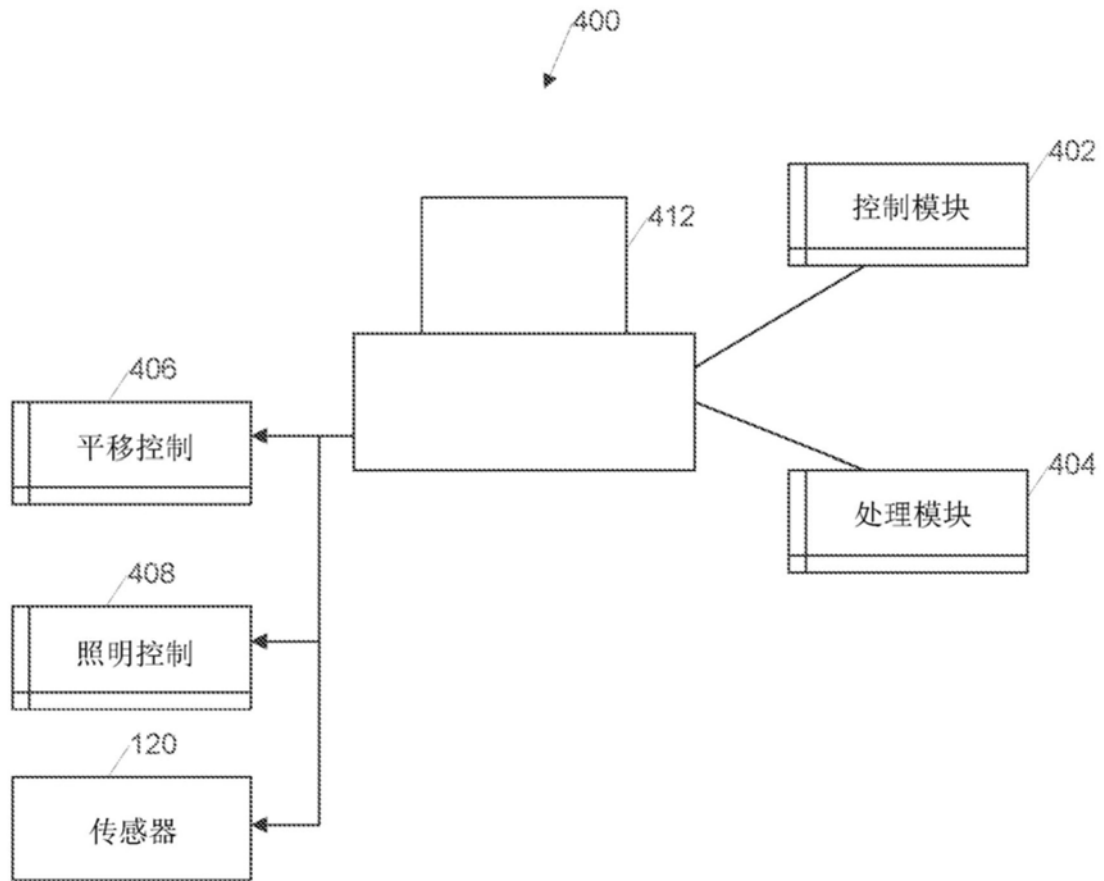


图4

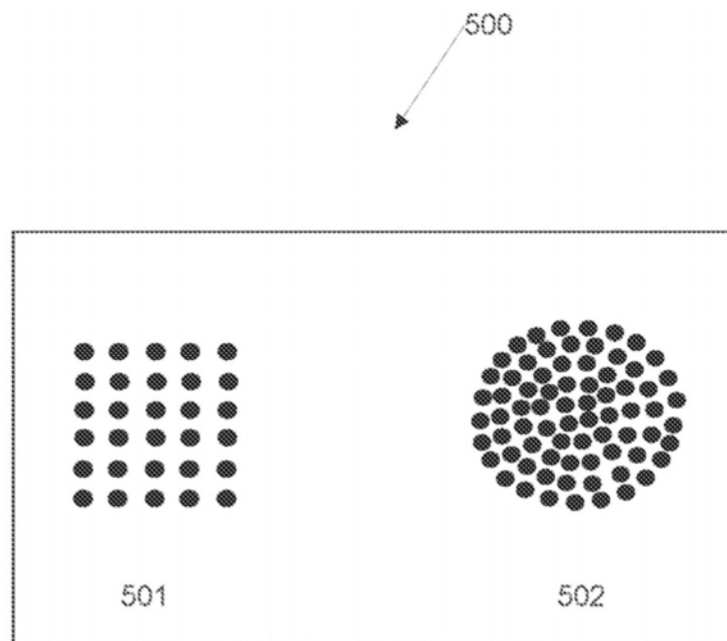


图5

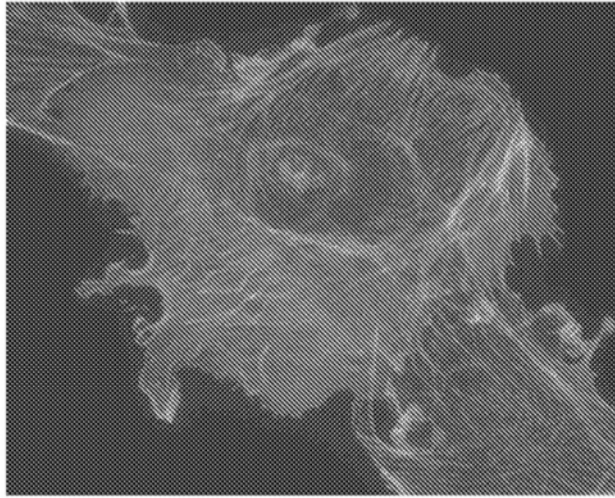


图6A



图6B

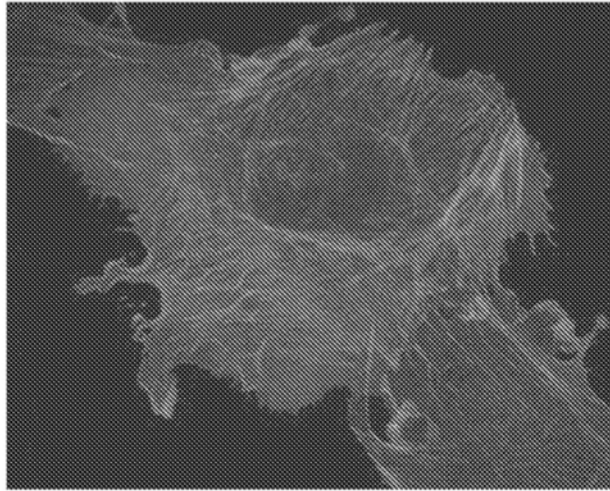


图6C



图6D

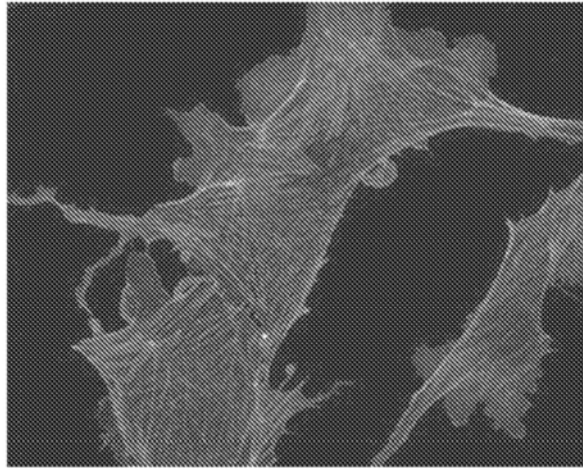


图6E

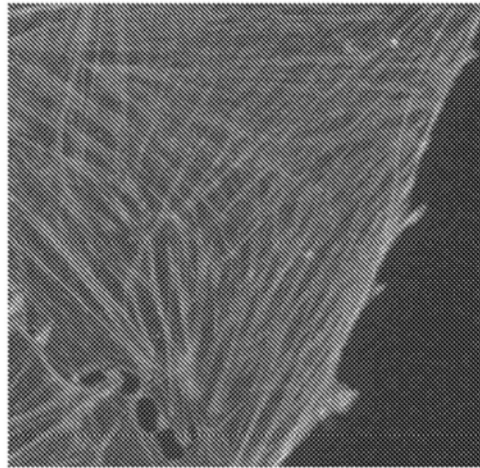


图6F

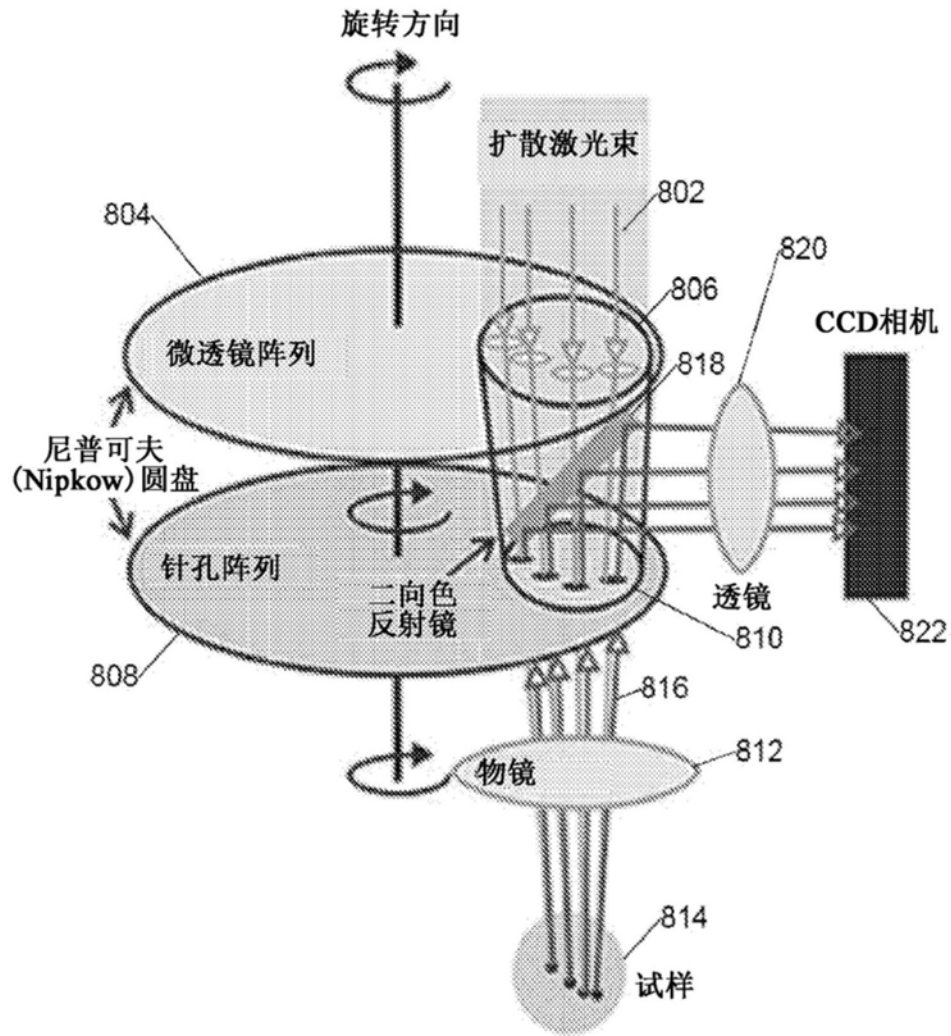


图7

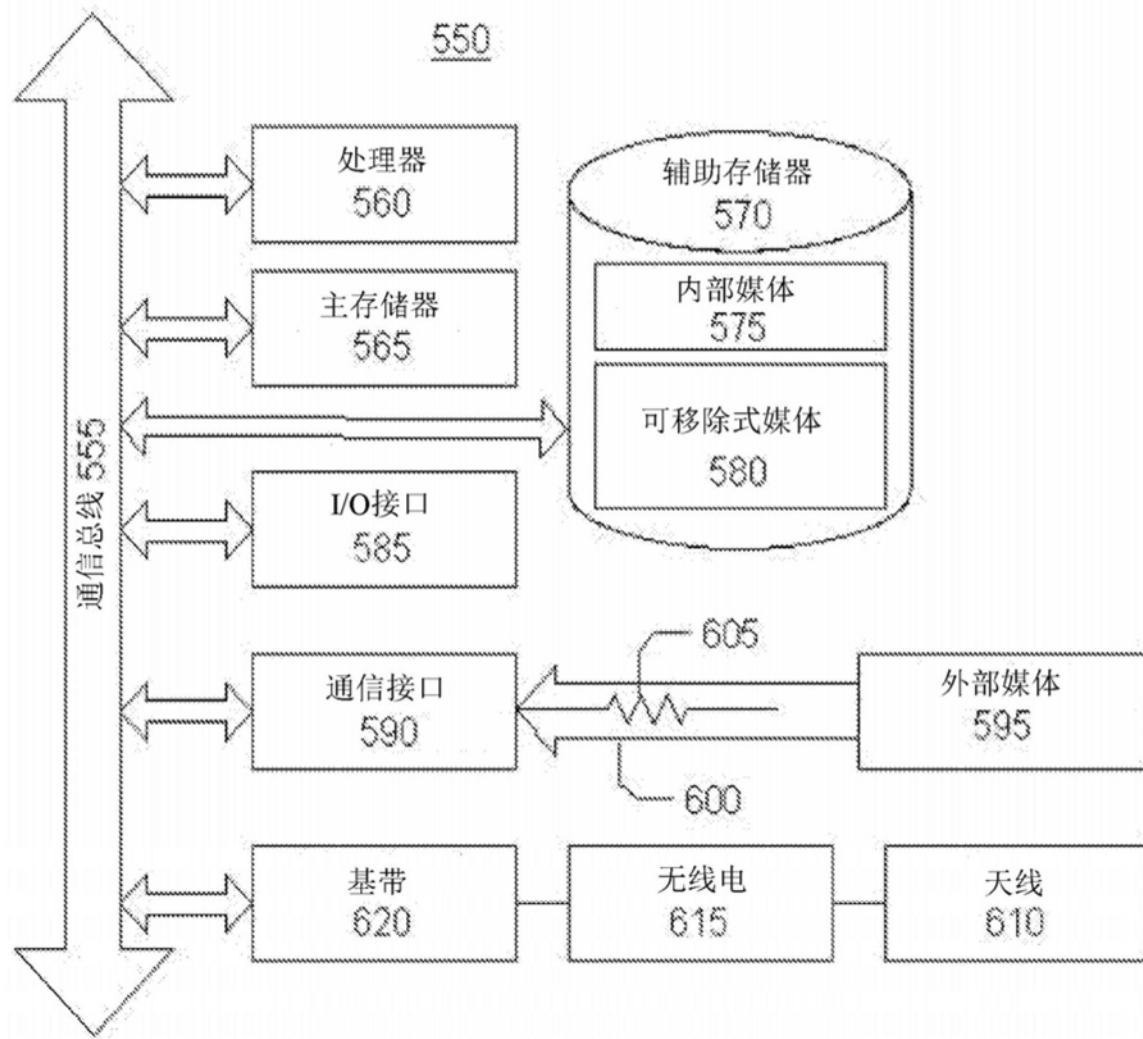


图8

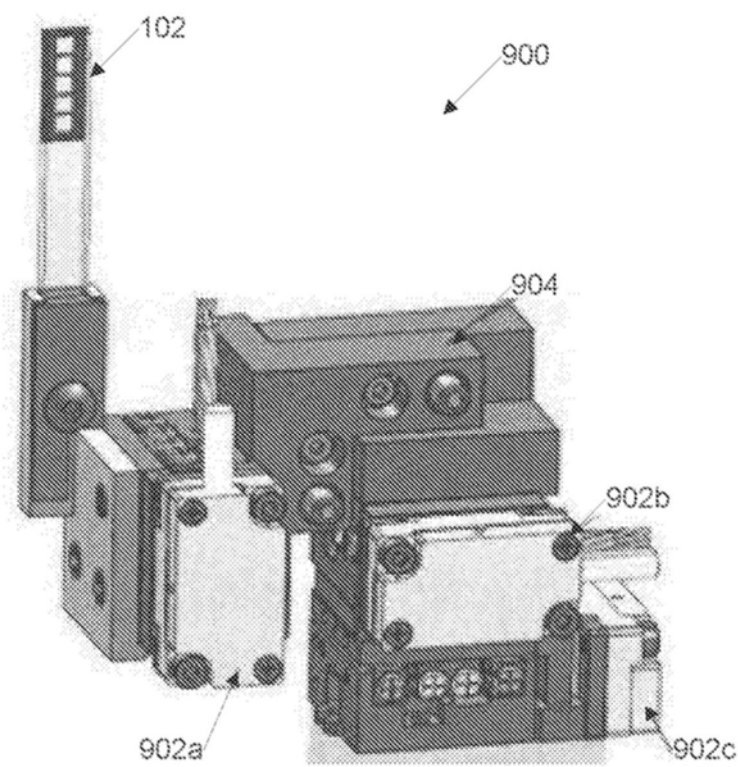


图9

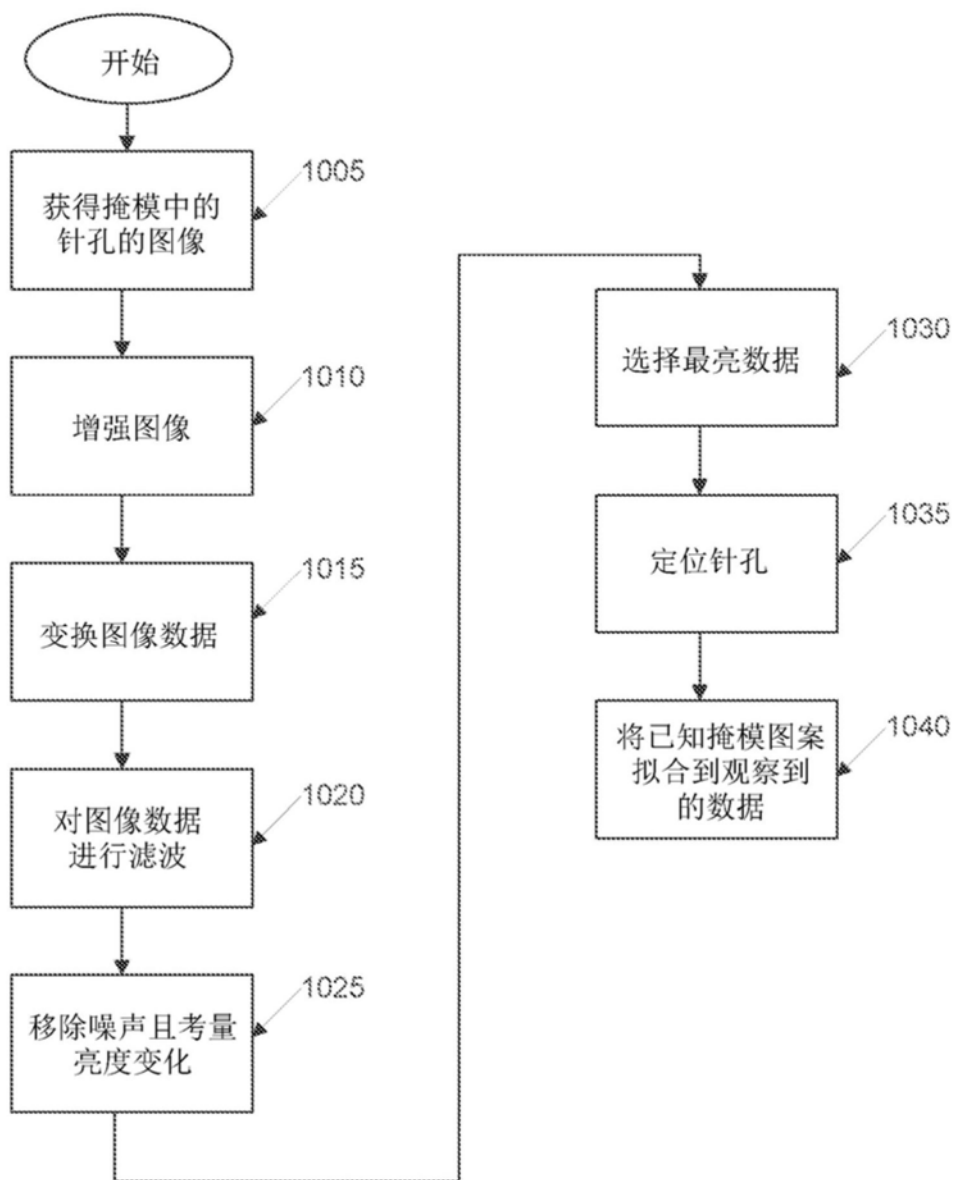


图10



图11A

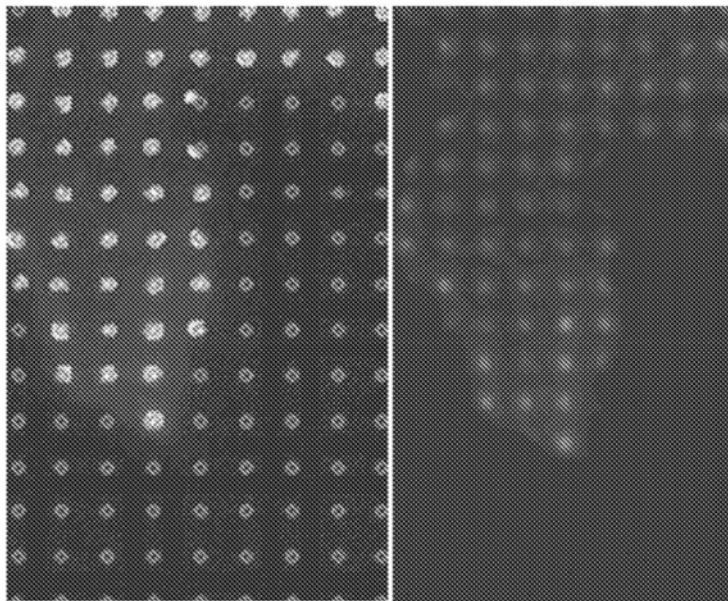


图11B