



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103620476 A

(43) 申请公布日 2014. 03. 05

(21) 申请号 201280032291. 1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 06. 27

G02B 21/36 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/503, 072 2011. 06. 30 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 12. 27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/SE2012/050720 2012. 06. 27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/002720 EN 2013. 01. 03

(71) 申请人 通用电气医疗集团生物科学公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 P. A. 福米乔夫 W. 布拉

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 姜甜 汤春龙

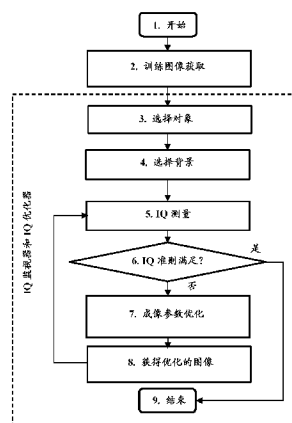
权利要求书2页 说明书10页 附图14页

(54) 发明名称

生物成像的图像质量优化

(57) 摘要

用于生物成像的显微镜系统,包括图像质量优化器,所述图像质量优化器用于优化生物样本的图像的图像质量,以使用户能够从功能上定义的优化模式的列表中选择优化模式,以及其中该系统布置成基于从用户选择或系统自动选择的生物样本的图像中的一个或多个生物参考对象(BRO)导出的至少一个图像质量参数自动设置一个或多个图像获取参数,以实现所选择的优化模式的最优成像。



1. 用于生物成像的显微镜系统,包括图像质量优化器,所述图像质量优化器用于优化生物样本的图像的图像质量,以使用户能够从功能上定义的优化模式的列表中选择优化模式,以及其中所述系统布置成基于从所述用户选择或所述系统自动选择的所述生物样本的所述图像中的一个或多个生物参考对象(BRO)导出的至少一个图像质量参数自动设置一个或多个图像获取参数,以实现所选择的优化模式的最优成像。

2. 如权利要求1所述的显微镜系统,其中所述功能上定义的优化模式包括如下项的其中一个或多个项:

最佳图像质量;

快速获取;

低漂白;以及

3D成像。

3. 如权利要求1或2所述的显微镜系统,其中所述图像质量参数是如下项的其中一个或多个项:

所述BRO和所述背景之间的相对信号;

所述相对信号与所述背景之间的信号背景比(SBR);以及

所述相对信号与所述背景噪声之间的信噪比。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的显微镜系统,其包括用于监视生物样本图像的图像质量的图像质量监视系统,所述图像质量监视系统包括:

生物对象选择装置,其布置成让所述系统的用户在所述生物样本的所述图像中选择一个或多个生物参考对象(BRO);

图像质量评估装置,其布置成将所述一个或多个BRO的图像像素的信号电平与图像背景信号电平比较来计算所述生物样本的所述图像的一个或多个图像质量参数;以及

其中所述质量优化器使用所述一个或多个图像质量参数来优化所述图像质量。

5. 如权利要求4所述的显微镜系统,其包括背景选择装置,所述背景选择装置布置成让所述系统的用户在所述生物样本的显示图像中选择一个或多个背景参考区域(BRR),以及其中所述系统布置成使用所述一个或多个BRR的图像像素的信号电平作为所述图像背景信号电平以用于计算所述一个或多个图像质量参数。

6. 如权利要求4所述的显微镜系统,其布置成自动地在所述生物样本的显示图像中选择一个或多个背景参考区域(BRR),并布置成使用所述一个或多个BRR的图像像素的信号电平作为所述图像背景信号电平以用于计算所述一个或多个图像质量参数。

7. 如权利要求6所述的显微镜系统,其布置成通过查找具有最低信号电平的图像像素来选择BRR。

8. 如权利要求4至7中任一项所述的显微镜系统,其中所述生物对象选择装置布置成让所述用户通过在所述生物样本的显示图像中标记一个或多个关注区域(ROI)来选择所述一个或多个BRO。

9. 如权利要求4至8中任一项所述的显微镜系统,其中所述系统布置成基于所述用户选择的所述BRO/BRR的表征特征自动地在所述图像中或在后续图像中检测并选择附加BRO和/或BRR,然后使用它们来计算所述图像质量参数。

10. 如权利要求4至9中任一项所述的显微镜系统,其中所述系统布置成基于所述样

本的横向移位在所述图像或后续图像中自动地重新查找 BRO 和 / 或 BRR。

11. 如权利要求 1 至 10 中任一项所述的显微镜系统,其中所述系统是荧光显微镜,其包括激发光源和布置成对准从所述生物样本发射的荧光的检测器。

12. 如权利要求 11 所述的显微镜系统,其中所述系统是共焦显微镜,或具有可变共焦针孔的线共焦显微镜。

13. 用于优化来自用于生物成像的显微镜系统的生物样本的图像的图像质量的方法,从功能上定义的优化模式的列表中选择优化模式,

从用户选择或自动选择的所述生物样本的图像中的一个或多个生物参考对象(BRO)导出至少一个图像质量参数,以及

基于优化模型,设置一个或多个图像获取参数以实现所选择的优化模式的最优成像。

生物成像的图像质量优化

技术领域

[0001] 本发明涉及用于生物成像的显微镜系统,具体来说,涉及一种显微镜系统,其包括用于优化生物样本的图像的图像质量的系统。

背景技术

[0002] 一般地,在研究样本上的小关注区域时,研究人员常常采用荧光显微镜来观察样本。显微镜可以是常规宽视野结构光或共焦显微镜。此类显微镜的光学构造典型地包括光源、照射光学元件、光束偏转器、物镜、样本保持器、滤光器单元、成像光学元件、检测器和系统控制单元。从光源发射的光在通过照射光学元件和物镜之后照射样本上的关注区域。显微镜物镜形成物体的能够通过目镜观察到的放大图像,或在数字显微镜的情况中,由检测器捕获放大图像并将其发送到计算机来进行现场观察、数据存储和进一步分析。

[0003] 在广视野显微镜中,与任何标准显微镜中一样,使用常规广视野策略来对目标成像,并收集荧光发射。一般地,以适合波长的激发光照射荧光剂染色或标记的样本,并使用发射光获取图像;使用滤光器和/或分色镜将激发光与发射光分离。

[0004] 共焦显微镜利用专门的光学系统来进行成像。在这种最简单的系统中,将相关荧光团的激发波长下操作的激光聚焦于样本上的一个点;同时,将来自此照射点的荧光发射成像到小面积检测器上。通过设在检测器前方的小针孔阻止从样本的所有其他区域发射的任何光,该小针孔透射发自照射光点的光。以光栅图样在样本上扫描激发光点和检测器以形成完整的图像。本领域技术人员所公知的,有多种策略用于提高和优化速度和吞吐量(throughput)。

[0005] 线共焦显微镜是共焦显微镜的一种修改,其中荧光激发源是激光光束;然而,只是将光束聚焦在样本上的窄线上,而非单个点上。然后通过作为空间滤光器的窄缝将荧光发射成像在光学检测器上。从样本的任何其他区域发射的光保持离焦,并因此被窄缝阻挡。为了形成二维图像,在样本上扫描该线,同时读取线照相机。此系统能够使用适合的光学布置扩充为同时使用若干个激光器和若干个照相机。

[0006] US 7,335,898 中披露了一种类型的线共焦显微镜,其通过引用并入本文,其中光学检测器是以轧制线快门(rolling line shutter)模式操作的二维传感器元件,由此可以省略机械窄缝,并可以简化整体系统设计。

[0007] 随着上述类型的显微镜系统进一步发展和新技术的发明,此类系统的用户越来越可能通过为大量图像获取参数选择最适合的值来获得更好的图像。因为用于生物成像的显微镜系统的大多数用户是生物研究人员,而非高级光学领域中的专家,所以需要这样的工具,该工具帮助他们优化图像获取参数以便从图像中获取尽可能多的信息。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于提供一种用于生物成像的新显微镜系统,其克服了现有技术的一个或多个缺点。这通过如独立权利要求中定义的用于生物成像的显微镜系统来实现。

[0009] 这种用于生物成像的显微镜系统的一个优点在于,它布置成通过用户协助或完全自动化的过程提供针对特定生物成像情况的图像质量优化,并且其中将优化的图像质量参数与正在成像的生物样本直接相关联。

[0010] 根据一个实施例,提供一种用于生物成像的显微镜系统,包括用于优化生物样本的图像的图像质量的图像质量优化器,以使用户能够从功能上定义的优化模式的列表中选择优化模式,以及其中该系统布置成基于从用户选择或系统自动选择的生物样本的图像中的一个或多个生物参考对象(BRO)导出的至少一个图像质量参数自动设置一个或多个图像获取参数,以实现所选择的优化模式的最优成像。

[0011] 功能上定义的优化模式可以包括如下项的其中一个或多个项:

- 最佳图像质量;
- 快速获取;
- 低漂白(bleaching);以及
- 3D 成像。

[0012] 图像质量参数可以是如下项的其中一个或多个项:

- BRO 和背景之间的相对信号;
- 相对信号与背景之间的信号背景比(SBR);以及
- 相对信号与背景噪声之间的信噪比。

[0013] 根据一个实施例,该显微镜系统包括用于监视生物样本图像的图像质量的图像质量监视系统,所述图像质量监视系统包括:

- 生物对象选择装置,其布置成让系统的用户在生物样本的图像中选择一个或多个生物参考对象(BRO);

- 图像质量评估装置,其布置成将一个或多个 BRO 的图像像素的信号电平与图像背景信号电平比较来计算生物样本的图像的一个或多个图像质量参数;以及

- 其中所述质量优化器使用所述一个或多个图像质量参数来优化图像质量。

[0014] 该显微镜系统还可以包括背景选择装置,所述背景选择装置布置成让系统的用户在生物样本的显示图像中选择一个或多个背景参考区域(BRR),以及其中该系统布置成使用一个或多个 BRR 的图像像素的信号电平作为图像背景信号电平以用于计算一个或多个图像质量参数。

[0015] 该显微镜系统还可以布置成自动地在生物样本的显示图像中选择一个或多个背景参考区域(BRR),并布置成使用一个或多个 BRR 的图像像素的信号电平作为图像背景信号电平以用于计算一个或多个图像质量参数。该显微镜系统还可以布置成通过查找具有最低信号电平的图像像素来选择 BRR。

[0016] 该生物对象选择装置还可以布置成让用户通过在生物样本的显示图像中标记一个或多个关注区域(ROI)来选择一个或多个 BRO。该显微镜系统还可以布置成基于用户选择的 BRO/BRR 的表征特征自动地在图像中或在后续图像中检测并选择附加 BRO 和 / 或 BRR,然后使用它们来计算图像质量参数。该显微镜系统还可以布置成基于样本的横向移位图像或后续图像中自动地重新查找 BRO 和 / 或 BRR。

[0017] 根据一个实施例,该显微镜系统可以是荧光显微镜,其包括激发光源和布置成对准从生物样本发射的荧光的检测器。该显微镜系统还可以是共焦显微镜或具有可变共焦针

孔的线共焦显微镜。

[0018] 根据一个实施例,提供一种用于优化来自用于生物成像的显微镜系统的生物样本的图像的图像质量的方法,从功能上定义的优化模式的列表中选择优化模式,从用户选择或自动选择的生物样本的图像中的一个或多个生物参考对象(BRO)导出至少一个图像质量参数,以及基于优化模型,设置一个或多个图像获取参数以实现所选择的优化模式的最优成像。

[0019] 从下文给出的详细描述将显见到本发明的进一步可应用范围。但是,应该理解,说明本发明的优选实施例时进行的详细描述和特定示例仅通过举例方式给出。本领域技术人员依据下文的详细描述将显见到本发明的精神和范围内的多种更改和修改。

附图说明

[0020] 图 1 是根据本发明的显微镜系统的示意框图。

[0021] 图 2 是用于计算图像质量参数的关键参数的示意图说明。

[0022] 图 3 示出生物样本的图像的一示例。

[0023] 图 4 是图像质量参数的图形表示的一示例。

[0024] 图 5-14 以示意图形式示出根据本发明的图像质量优化方法的示例。

具体实施方式

[0025] 本发明的实施例参考附图来进行描述,其中相似的组件以相同的数字标识。这些实施例的描述是示范性的,且不应限制本发明的范围。

[0026] 图 1 示出典型的数字荧光显微镜系统的基本组件的框图。此自动数字显微镜系统 100 包括如下组件:光源 101、照射光学元件 102、光束折叠光学元件 105 (可选)、物镜 107、用于保持样本 109 的样本保持器 111、载物台 113、成像光学元件 115、光学检测器 117 和系统控制单元 121。该系统可以包括共焦广视野显微镜中常见的其他组件。下文段落更详细地描述这些和其他组件。对于多个组件,有多个潜在的实施例。一般地,优选实施例取决于目标应用。

[0027] 光源 101 可以是灯、激光器、多个激光器、发光二极管(LED)、多个 LED 或生成光束的领域中的普通技术人员公知的任何类型的光源。光束通过如下装置送达:光源 101、照射光学元件 102、光束折叠光学元件 105 和物镜 107,以便照射样本 109。样本 109 可以是活体生物材料/有机体、生物细胞、非生物样本等。照射光学元件 102 可以包括任何光学元件或能够提供样本 109 的期望照射的元件的组合。根据一个实施例,该显微镜系统是点扫描共焦显微镜。根据一个实施例,该显微镜系统是线扫描共焦显微镜,其中该照明光学元件包括线形成元件,如鲍威尔透镜等。光束折叠光学元件 105 是典型扫描镜或分光镜,具体视显微镜类型而定。从样本 109 发射的发射光被物镜 107 收集,然后由成像光学元件 115 在光学检测器 117 上形成样本 109 的图像。光学检测器 117 可以是本领域普通技术人员所利用的电荷耦合装置(CCD)、互补金属氧化物半导体(CMOS)图像检测器或任何 2D 阵列光学检测器。根据一个实施例,该显微镜系统可以是包括点检测器(如 PMT 等)的点扫描共焦显微镜。光学检测器 117 可选地由通信链路电连接或无线连接到系统控制单元 121。再有,可以有两个、三个或更多个光学检测器 117 用于替代光学检测器 117。样本保持器 111 布置成保持一

个或多个样本 109,其可以是典型的微量滴定板、显微镜载玻片、小片(chip)、玻璃板、培养皿、烧瓶或任何类型的样本保持器。

[0028] 显微镜系统 100 可以称为能够利用光学检测器 117 捕获置于载物台 113 上的样本 109 或任何类型的物体的图像的图像传送装置、成像装置或成像系统。再有,显微镜系统 100 还可以是例如位于新泽西皮斯卡塔韦的 GE Healthcare 公司制造的 IN Cell 分析仪 2000 或 6000。显微镜系统 100 可以是典型的共焦显微镜、荧光显微镜、落射荧光显微镜、相差显微镜、微分干涉相差显微镜或本领域普通技术人员公知的任何类型的显微镜。在另一个实施例中,显微镜系统 100 可以是能够快速检测、分析生物有机体等并提供其图像的典型高吞吐量和高含量亚细胞成像分析装置。再有,显微镜系统 100 可以是自动化细胞和亚细胞成像系统。

[0029] 系统控制单元 121 可以称为图像接收装置或图像检测装置。系统控制单元 121 可以是物理上与显微镜系统集成的专用控制系统、通过通信链路连接到显微镜系统的外部单元或具有集成到该系统和一些外部的某种功能性的其任何组合。系统控制单元 121 作为典型的计算机、其能够从光学检测器 117 接收样本 109 的图像,然后系统控制单元 121 能够利用图像处理软件程序、算法或公式来显示、保存或处理图像。

[0030] 系统控制单元 121 包括与常规计算机、膝上型计算机、上网本或平板电脑关联的典型组件。系统控制单元 121 由通信链路连接到该显微镜系统以用于从例如光学检测器 117 读取数据,以及控制该显微镜系统的组件以执行图像获取的操作等。系统控制单元 121 包括能够显示样本 109 的图像的图形用户界面(GUI)130 和用于用户交互的输入装置(如键盘和指向装置等)。

[0031] 根据一个实施例,用于生物成像的本显微镜系统包括图像质量(IQ)监视系统 135,图像质量(IQ)监视系统 135 用于监视生物样本的图像 137 的图像质量。IQ 监视系统 135 布置成通过呈示图像质量参数来协助用户判断图像的相对质量,这些图像质量参数与关注的特定生物对象直接相关且其参数易于被解释并指示如何提高图像质量。为了实现此目的,IQ 监视系统 135 包括生物对象选择装置 140 和图像质量评估装置 142,生物对象选择装置 140 布置成让系统的用户在生物样本的图像 137 中选择一个或多个生物参考对象(BRO)145,图像质量评估装置 142 布置成将一个或多个 BRO 145 的图像像素的信号电平与图像背景信号电平比较以计算生物样本 109 的图像 137 的一个或多个图像质量参数。然后将这些图像质量参数呈示给用户作为针对生物样本的图像 137 中的 BRO 的图像质量的指示。

[0032] 正如已经提到的,呈示给用户的图像质量参数应该与关注的特定生物对象直接相关,且易于被解释并指示如何通过更改显微镜系统的成像设置来提高图像质量。为了根据本发明提供图像质量参数,可以评估和使用图 2 所示的如下参数来计算适于作为图像质量参数的参数:

- 图像偏移量例如是由图像获取软件应用于图像中所有像素的固定偏移量值。

[0033] • 暗噪声电平是表示由于光学检测器 117 中暗电流、读出噪声和其他噪声的累积导致图像中所有像素的强度偏移量的测量。

[0034] • 照相机偏离是表示给定曝光时间的图像偏移量和暗噪声电平定义的暗图像的强度的测量。照相机偏离例如可以在开始图像获取之前测量,并且存储其值以用于进一步

图像分析。

- [0035] • 对象像素是用于计算对象强度的每个 BRO 内的像素。
- [0036] • 背景像素是用于计算背景强度和噪声的每个背景 ROI 内的像素。
- [0037] • BRO 绝对信号是表示给定对象 ROI 的对象像素的强度减照相机偏离的测量。
- [0038] • BRO 绝对背景是表示给定背景 ROI 的背景像素的强度减照相机偏离的测量。
- [0039] • ROI 背景噪声是表示给定背景 ROI 的所有“背景”像素的噪声的测量,如标准偏差。
- [0040] • 绝对信号是所有 BRO 绝对信号的强度的测量,如平均强度。
- [0041] • 绝对背景是所有 ROI 绝对背景的强度的测量,如平均强度。
- [0042] • 图像噪声是表示所有 ROI 背景噪声值的值的测量(它可以是例如背景区域的所有标准偏差的平均值)。
- [0043] 根据一个实施例,基于上述参数计算并呈现给用户的图像质量参数为如下项的其中一个或多个项:
 - BRO 和背景之间的相对信号,
 - 相对信号与背景之间的信号背景比(SBR),以及
 - 相对信号与背景噪声之间的信噪比(SNR)。

[0044] 根据一个实施例,生物对象选择装置 140 与系统控制单元 121 的 GUI 130 集成和与之配合来实现,以使用户能够在 GUI 环境中通过例如指针工具、矩形、椭圆或任意形状区域选择工具等来以图形方式标记和选择 BRO。生物对象选择装置 140 可以采用多种方式来实现在,但是它用户友好且直观是重要的。根据一个实施例,生物对象选择装置 140 布置成让用户通过在生物样本的显示图像中标记关注区域(ROI) 141 来选择一个或多个 BRO。IQ 监视系统 135 可以布置成将整个 ROI 141 作为 BRO 来处理,但是可以布置成通过例如识别具有高信号电平的像素来自动地识别关注区域边界内的个体 BRO 145。在图 3 中,示出为右下方 ROI 141 包含两个 BRO 145,这可以由 IQ 监视系统 135 通过例如基于所记录的强度等分割来自动识别。

[0045] 根据一个实施例,生物对象选择装置 140 包括如下项的其中一个或多个项:

- 矩形选择工具,允许用户在图像上选择矩形 ROI。用户能够调整要选择的每个 ROI 的尺寸、纵横比、角度(旋转)和 XY 位置。

- 椭圆选择工具,允许用户在图像上选择圆形或椭圆形 ROI。用户能够调整要选择的每个 ROI 的尺寸、纵横比、角度和 XY 位置。

- 箭头选择工具,其布置成基于其局部背景强度自动地对对象进行分段。

[0048] 根据一个实施例,箭头选择工具是单步工具,其中用户只需使用箭头指针选择 BRO 内的位置,由此工具自动选择背景电平并对 BRO 进行分段。或者,箭头选择工具是两步工具,其中首先指引用户使用箭头指针选择 BRO 外指示 BRO 周围的背景电平的位置,然后选择 BRO 内的位置,由此工具布置成使用用户指示的背景电平自动地对 BRO 进行分段。

[0049] 根据一个实施例,图像质量评估装置 142 布置成作为对象像素对强度在所定义的范围内的像素计数。缺省对象强度值可以是 BRO 内最亮像素的 Max=100%、Min=90%。这些值可以是用户可配置的,以使用户能够为每个特定成像情况设置适合的。

[0050] 图 3 示出生物样本的图像的一示例,其中已使用生物对象选择装置 140 的矩形选

择工具选择了 5 个 BRO 141。如图 3 所示,所选择的 ROI 清晰且直观地被 GUI 显示。而且,根据上文识别的对象像素 156 在图像中逐个像素地被标记。

[0051] 根据一个实施例,IQ 监视系统 135 包括背景选择装置 147,背景选择装置 147 布置成让系统的用户在生物样本的显示图像中选择一个或多个背景参考区域(BRR)155,以及其中该系统布置成使用一个或多个 BRR 的图像像素的信号电平作为图像背景信号电平以用于计算一个或多个图像质量参数。或者,IQ 监视系统 135 布置成通过例如查找具有最低信号电平的图像像素选择 BRR 以在生物样本的显示图像中自动地选择一个或多个背景参考区域(BRR)155。背景选择装置 147 优选地以与生物对象选择装置 140 相似的方式实现,并且不进行更详细地描述。在图 3 披露的图像中,指示两个 BRR 155。或者,可以由适合的算法自动地选择背景参考区域,该适合的算法能够通过例如从整体 FOV 选择暗像素的底部 % 来识别具有最低强度值等的图像像素。

[0052] 用户可以在使用 BRO 选择工具和 BRR 选择工具时调整样本的位置。一个实施例将兼有地调整图像上的 BRO 和 BRR 的位置以补偿显微镜 XY 载物台产生的横向样本移位。

[0053] 为了进一步支持显微镜系统 100 的用户,可以相对于参考值来呈示计算的图像质量参数,这些参考值综合方式,如以纤维长度排列图等指示改进图像质量的潜力,正如图 4 中以示意图所示。根据一个实施例,所述参考值是相对于特定 BRO 类预定的,其中该系统布置成让用户从不同 BRO 类的一个范围选择适合的 BRO 类。BRO 类可以例如基于特定测定设置的历史图像质量数据、生物样本类型等,并且可以包括有关针对所述特定 BRO 类相对于一个或多个测量的质量参数预期的图像质量参数的相对信息。

[0054] 根据一个实施例,可以通过例如如下方式实现测量的 IQ 参数的可视参考点,如图 4 所示:显示每个参数的“最佳”、“可接受”和“低”范围的信号、SNR 和 SBR 的图形条。可以将“最佳”、“可接受”和“低”范围以颜色编码。缺省设置分别是“绿色”、“黄色”和“红色”。每个参数的“最佳”、“可接受”和“低”范围还可以是用户可配置的。正如所提到的,每个参数的“最佳”、“可接受”和“低”范围的配置可以基于用户选择的目标类型而定。每个目标可以是生物样本的用户定义的类型,如“DAPI 染色细胞核”、“FYVE 测定 FITC 染色”、“Zfish GFP 心脏”等。

[0055] 可以例如从列出当前定义的目标的下拉菜单中提供目标的选择。

[0056] 在某些应用中,IQ 监视器显示可以具有不同的缺省目标设置。对于缺省目标设置,可以预先配置 IQ 监视器范围(例如,参见图 4)。缺省信噪比范围可以是对应于“低”为 1-10,对应于“可接受”为 10-100 以及对应于“最佳”为 >100,等等。

[0057] 根据又一个实施例,该系统布置成基于用户选择的 BRO/BRR 的表征特征自动地在图像中或在后续图像中检测并选择附加 BRO 和 / 或 BRR,然后使用它们来计算图像质量参数。利用系统基于其图像分析能力自动识别附加 BRO 和 BRR 的能力,能够获得图像质量参数的在统计上更好的值。在后续图像中自动检测附加 BRO/BBR 使得用户能够例如在相似样本的自动化筛选测定期间将图像质量参数配准以确保图像状态和质量在整个检测中是一致性的。

[0058] 图像优化器

在一个实施例中,除了提供有关图像质量的用户反馈外,还可以使用图像质量参数,通过使用 IQ 参数作为图像质量优化器 150 的输入参数来自动地或使用用户辅助方案优化图

像质量。根据一个实施例,用于生物成像的该显微镜系统包括图像质量优化器 150,图像质量优化器 150 用于优化生物样本的图像的图像质量,以使用户能够从功能上定义的优化模式的列表中选择优化模式,以及其中该系统布置成基于从用户选择或系统自动选择的生物样本的图像中的一个或多个生物参考对象(BRO)导出的至少一个图像质量参数自动设置一个或多个图像获取参数,以实现所选择的优化模式的最优成像。

[0059] 根据一个实施例,功能上定义的优化模式包括如下项的其中一个或多个项:

最佳图像质量,
快速获取 / 最佳吞吐量,
低漂白,以及
3D 成像。

[0060] 图 5 示出优化图像质量的方法的一个实施例的示意图,该方法包括如下步骤:

1. 开始

- 将样本载入成像器中

2. 训练图像获取

- 仪器可能处于“手动”或处于“IQ 向导”模式,“IQ 向导”模式就要执行的步骤向用户提供向导类型指引
- 使用 IQ 优化器功能性相对于仪器上运行的测定,以表示方式选择视场(FOV)位置和聚焦平面位置以用于对样本成像。

[0061] 在新工具栏或菜单中,使用 GUI 或从保存的预设设置列表选择图像获取参数,如上文披露的功能上定义的优化模式 ad 和 / 或测定特定的设置,如“单层细胞的细胞核”、“暗 GFP 样本”等。图像获取参数可以是放大倍数、曝光时间、照射通路和功率、检测器模态和成像模式(例如,共焦系统中的共焦模式)或影响图像质量的任何其他参数。

[0062] 3. 选择对象

- 使用生物对象选择装置 140 提供 BRO 以用于根据上文详细论述的 IQ 监视器实施例提供图像质量参数。

[0063] 4. 选择背景(可选的 - 可以是自动的)

- 在此步骤中,根据上文详细论述的 IQ 监视器实施例估算表征图像噪声和背景电平的图像参数。

[0064] 5. IQ 测量

- 此步骤包括例如根据上文详细论述的 IQ 监视器实施例来确定指示图像质量的参数。如:
 - * SNR
 - * SBR
 - * 饱和 - 是 / 否
- 根据一个实施例,可以基于一个或多个阈值来对 IQ 参数评级,以提供图像质量的相对指示,例如,低、中、高。

[0065] 6. 是否满足 IQ 准则?

此步骤包括根据功能上定义的优化模式和 / 或测定特定的设置来确定当前图像质量

是否满足图像质量的一个或多个预定准则。此确定可以由用户或通过自动判断算法来执行。

[0066] 根据一个实施例,该确定包括自动判断,以及该系统可以例如布置成执行预定次数优化迭代。

[0067] 7. 成像参数优化

- 此步骤包括通过例如使用一个或多个优化模型来改善 IQ 参数来计算新设置,以确定图像获取参数的至少其中之一的更新设置。此类优化模式与正在使用的成像系统的类型高度相关,并且可以基于分析参数以及经验和统计推导的参数来开发优化模型。

[0068] • 在手动模式中,可以针对建议的更改显示预测的 IQ 参数

- 将新图像获取设置发送到成像器

8. 获取优化的图像以便在步骤 5-6 中进行评估。

[0069] • 使用更新设置获取优化的图像

9. 结束

- 在步骤 6 中确定图像质量的预定准则得以满足之后,获取具有优化的图像质量的图像,并且可以保存该图像并在后续分析步骤中进行分析等。而且,可以将得到优化的图像质量的最终图像获取参数作为预设参数来保存,该预设参数用于相似样本的后续图像获取中。可以将最终图像获取参数作为协议的一部分来保存。

[0070] 在下文中,将参考共焦显微镜系统,如位于新泽西皮斯卡塔韦的 GE Healthcare 公司制造的 IN Ce11 分析仪 6000,在图 6 至图 9 中更详细地呈示图 5 的 IQ 优化方法的步骤的详情,但是这些通用原理可应用于其他类型的共焦显微镜。US7335898 中披露了此类系统的基本原理。

[0071] 图 6 以示意图形式更详细地披露训练图像获取的步骤,其中:

可以采用如下模式获取训练图像:

- 手动模式

- IQ 向导模式,其将指引用户完成 IQ 优化过程的所有步骤,可以由用户通过以下方式来选择如曝光时间、激光器通路/波长、激光器功率、硬件自动对焦(HWAF)设置,软件自动对焦(SWAF)设置、CMOS 检测器模态、增益和共焦模式的图像获取参数:

- 直接使用 GUI;

- 从保存的预设,预设可通过成像预设工具栏、菜单或其他适合的方式访问

能够作为预设参数保存的参数可以是:

- 用户定义的预设名称

- 曝光时间

- 激光器通路/波长

- 激光器功率

- CMOS 检测器增益

- 照相机合并(binning)系数,即 1x1、2x2 等...

- 共焦模式(IN Ce11 6000,例如线扫描模式和线共焦模式,和共焦针孔的宽度)

- 物镜类型和放大系数

- 发射滤光器

为了进一步帮助用户使用工具栏或菜单选择成像预设参数,可以根据特定仪器设置来限制可供用户用于选择的成像预设选择的数量,如可以仅显示与当前激光器波长和物镜相关的预设

- 用户还能够删除、保存和盖写预设

图 7 和图 8 分别以示意图形式更详细地披露选择对象和选择背景的步骤。上文参考图 1-4 详细地披露了 IQ 测量的步骤,以及其基本概念是

目标:

- 选择和量化驱动图像获取参数的选择的关键 IQ 参数
- 简化成像优化的工作流程
- 通过自动化将人为误差减到最小

可优化的关键 IQ 参数可以是:

- BRO 和背景之间的相对信号;
- 相对信号与背景之间的信号背景比(SBR),以及
- 相对信号与背景噪声之间的信噪比(SNR)。

[0072] 图 9 以示意图形式更详细地披露成像参数优化的步骤,其中:

可以优化 IQ 参数来实现:

- 最佳吞吐量
- 最佳图像质量
- 低漂白
- 3D 切片(sectioning)

正如所提到的,计算用于图像质量优化的新设置可以基于优化模型来进行。根据与按上文呈示优化共焦显微镜相关的一个实施例,优化模型基于模型假定的范围,正如先前提到的,该模型假定的范围取决于系统和特定的实现而定。在此情况中模型假定的示例是:

- 信号电平与相对激光器功率成正比
- 信号电平与相对曝光时间增加成正比,信号电平与照相机增益信号电平增加成正比
- 信号电平与照相机或图像合并系数成比例地增加
- 信号电平和背景电平随共焦针孔宽度的减小而减小

所述优化模型还包括一个或多个判断系数,如:

- 激光器功率是要调整的优选参数,因为它的增加有助于实现最高吞吐量。

[0073] • 作为优选,可以使用较低照相机增益,因为如果样本是 bright,则这样能够获得最佳可能 SNR 的图像。应该使用较高的照相机增益,除非样本非常暗,在满激光器功率和最大曝光下,绝对信号无法达到最佳范围。

[0074] • 非共焦开孔模式是优选模式。仅在 $SBR < 0.3$ 的情况下,即如果相对信号远小于绝对背景的情况下,才应使用线共焦模式。

[0075] 正如所提到的,可以针对各包含不同优化模型的不同成像模式来优化 IQ 参数。下文段落中,以示意图形式披露最佳吞吐量、最佳图像、3D 切片模式的优化模型的示例:

最佳吞吐量模式

- 将曝光保持尽可能地短
- 增加激光器功率以在饱和以下将设置最大化

- 高灵敏度模式(高照相机增益)是缺省,仅对亮样本情况,切换到高动态范围模式(低照相机增益)

- 线扫描模式(非共焦开孔模式)是缺省,仅在(1) $SBR < 0.3$ 和(相对信号 > 500)的情况下才切换到线共焦

最佳图像模式

- 激光器功率是要调整的优选参数,因为它的增加有助于实现最高吞吐量。

[0076] • 高动态模式是优选,因为这能获得具有最佳可能的 SNR 的图像。应该使用高动态模式,除非样本非常暗,并且在满激光器功率和最大曝光下,绝对信号无法达到最佳范围。

[0077] • 线扫描模式是优选模式。仅在 $SBR < 0.3$ 的情况下,即如果相对信号远小于绝对背景的情况下,才应使用线共焦模式

3D 成像模式

- 线共焦模式是缺省,使用窄初始共焦针孔设置(例如,1 AU)
- 将曝光保持尽可能地短
- 增加激光器功率以在饱和以下将设置最大化
- 高灵敏度模式是缺省,仅对亮样本情况,切换到高动态范围模式

图 10 以图形方式图示能够以线扫描(非共焦或开孔)和线共焦模式操作的线共焦显微镜系统的选择准则的示例。

[0078] 图 11-14 示出包括最佳吞吐量的优化模型的示例不同情况的示意图,其中:

先决条件:

在入口上,信号是非饱和的但是可检测到。

[0079] 考虑如下情况:

情况 1:信号是非饱和的但是太强(接近饱和)(图 11)

情况 2:信号是可接受但是噪声太高(图 12)

情况 3:信号是可检测到但是太弱(图 13)

步骤 1 中单独地考虑这些情况。在完成步骤 1 之后,获取一组参数 $lp, gain, rsw, exp$ 。此组参数将得到信号和噪声将是可接受的图像。

[0080] 步骤 2 (图 14) 目的在于精细调谐步骤 1 中计算的参数以满足当前优化模式的特定需求。在我们在此考虑的最佳吞吐量的情况中,主要目标是将曝光时间减到最小。步骤 2 中执行的操作假定是要将信号和噪声电平保持不变或至少保持在特定接受准则内。

[0081] 对于其他优化模式,可以开发类似的算法。还可以预测其他使用情况,如入口的信号饱和 / 或入口的信号不可接受时的情况。

[0082] 本发明的当前优选实施例参考附图来进行描述,其中相似的组件以相同的数字标识。这些优选实施例的描述是示范性的,且不应限制本发明的范围。

[0083] 虽然本发明在上文中依据特定实施例来进行描述,但是在不背离所附权利要求中阐述的本发明精神和范围的前提下,正如本领域技术人员将显见到的,可以实施本发明的多种修改和变化。

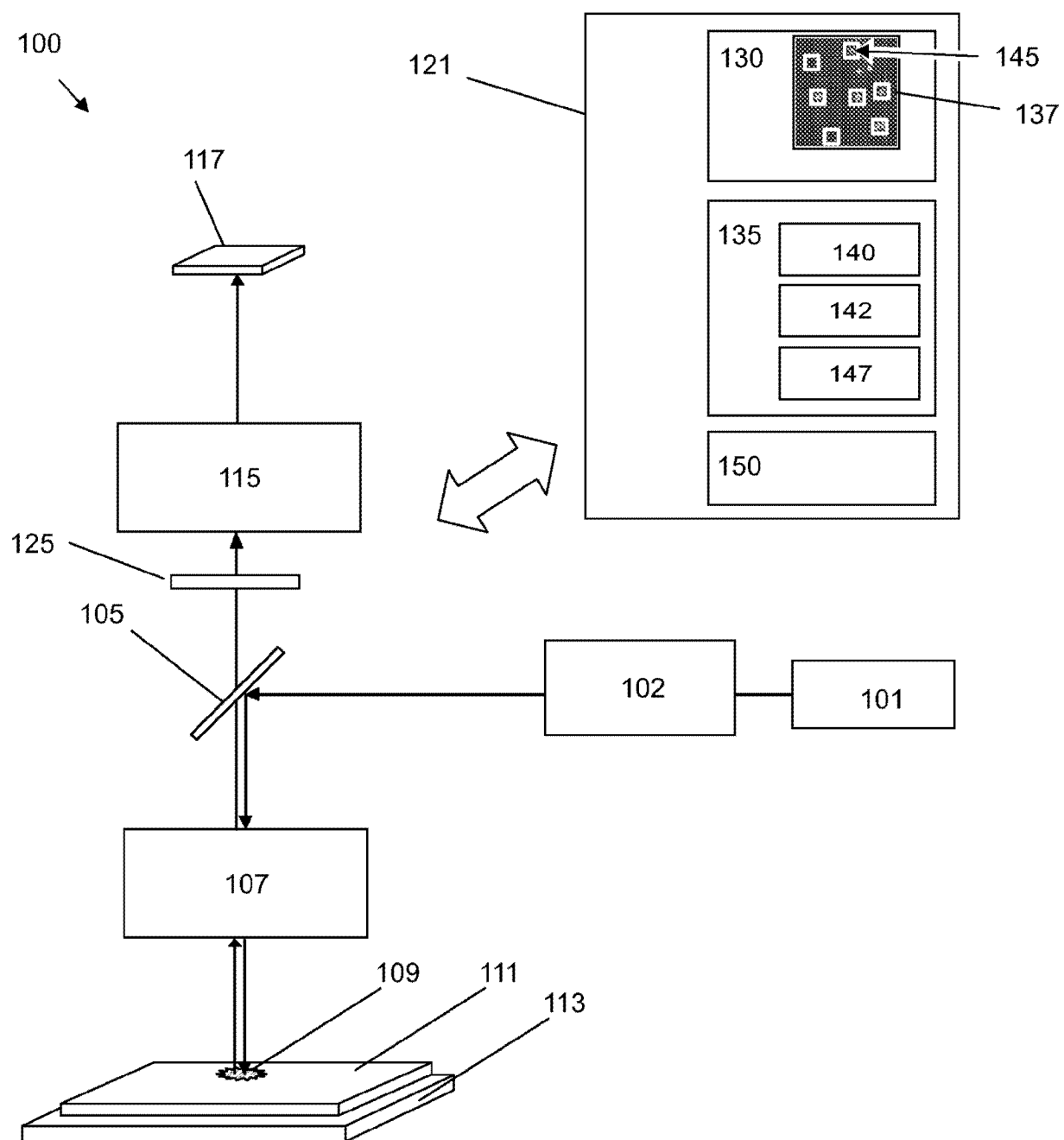


图 1

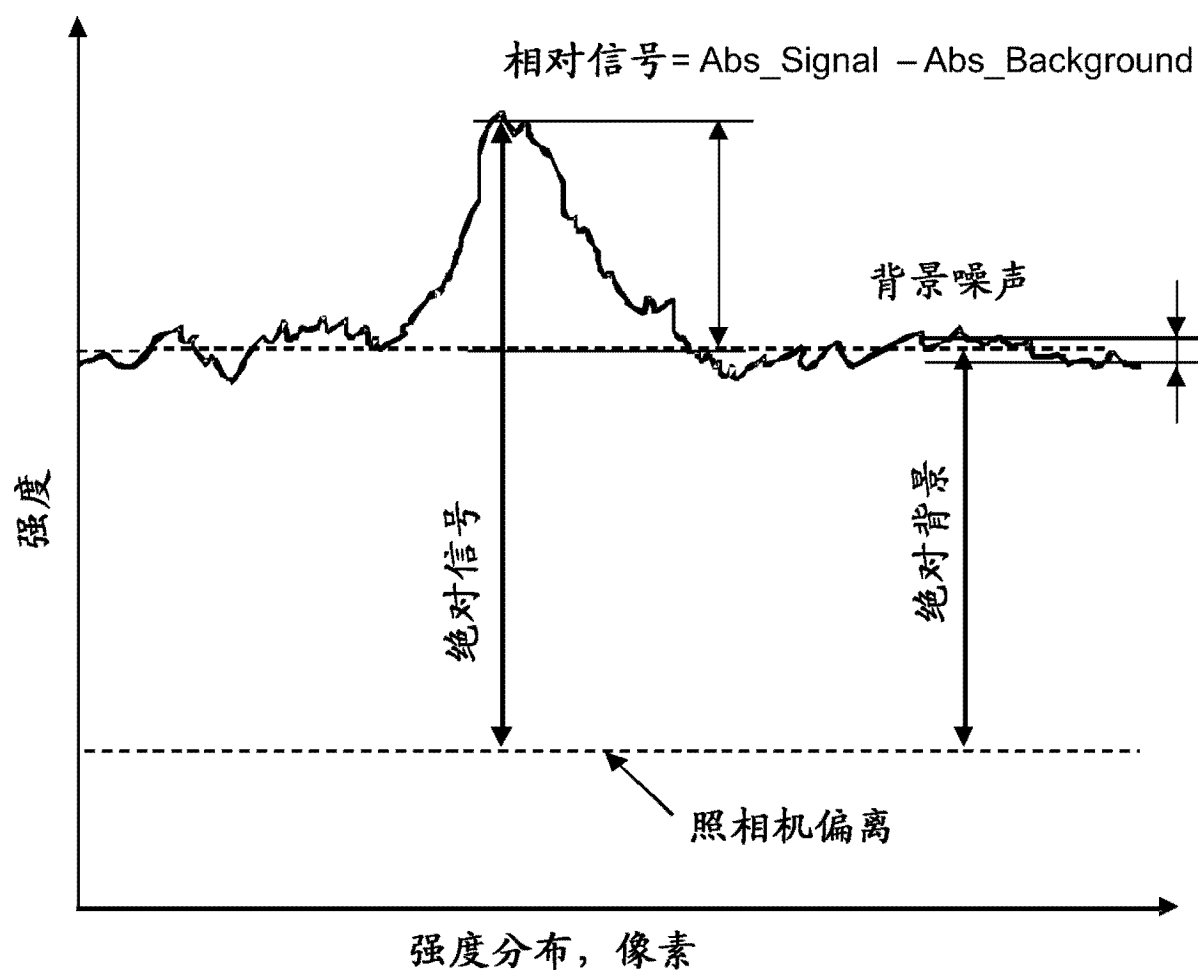


图 2

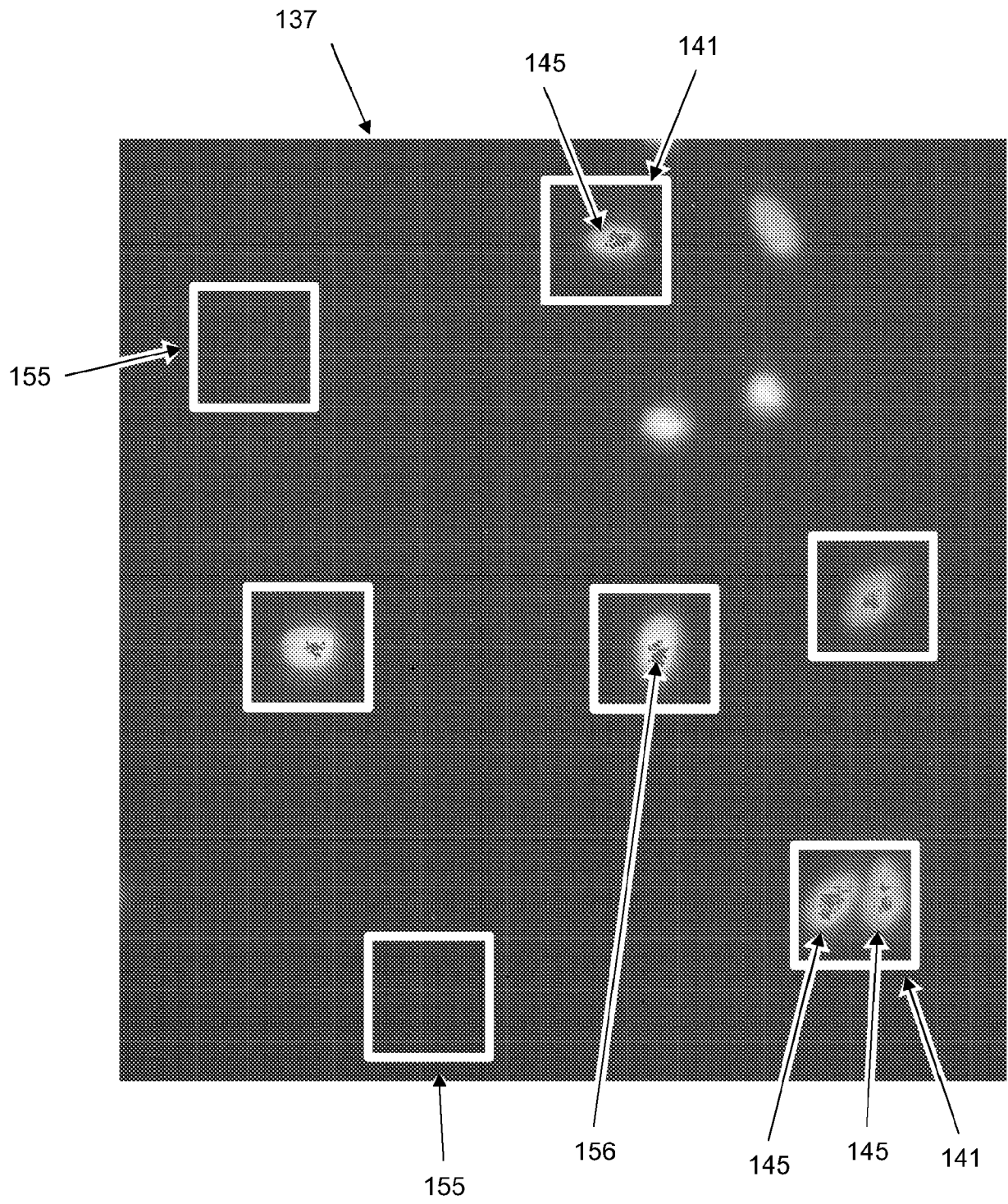


图 3

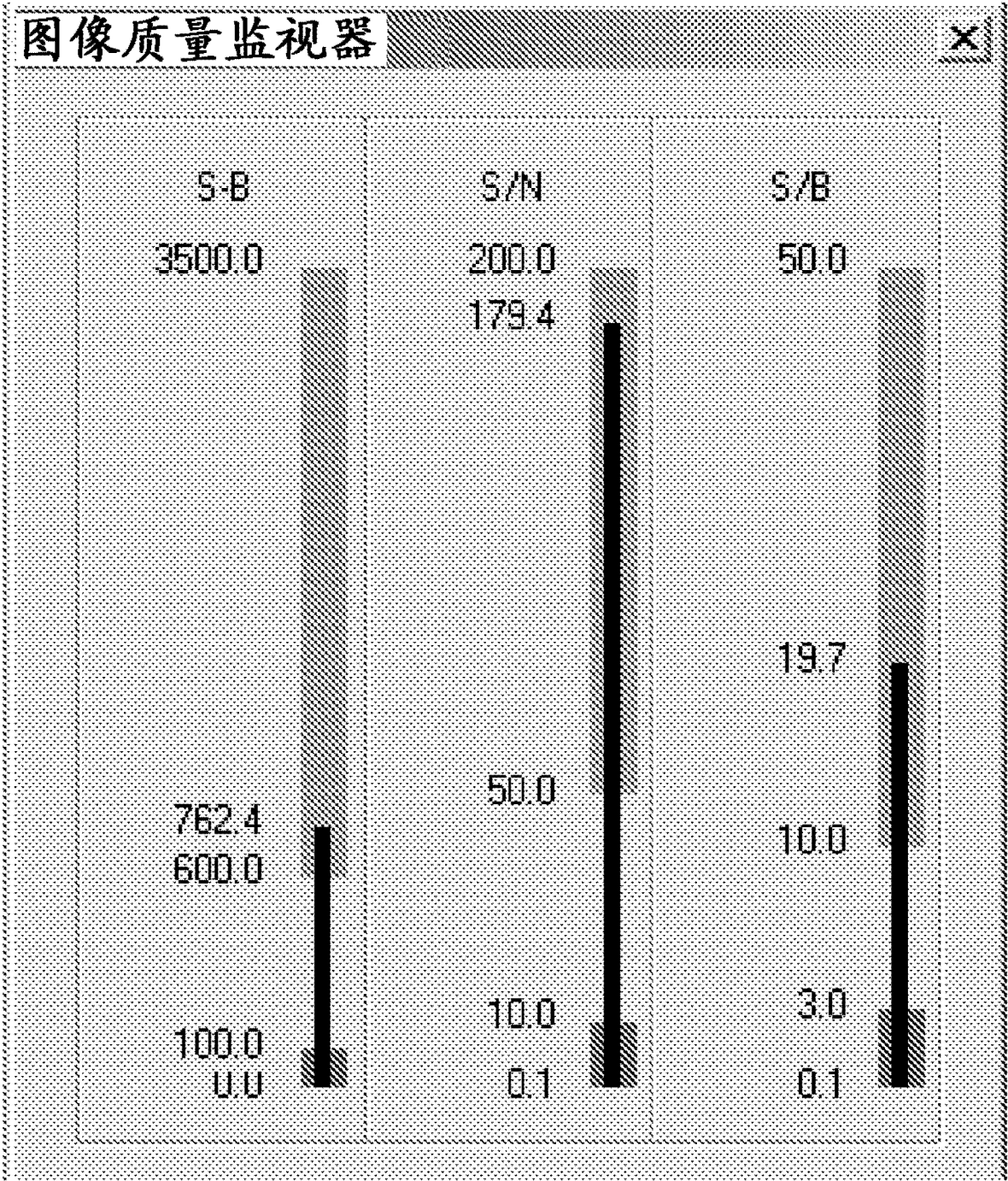


图 4

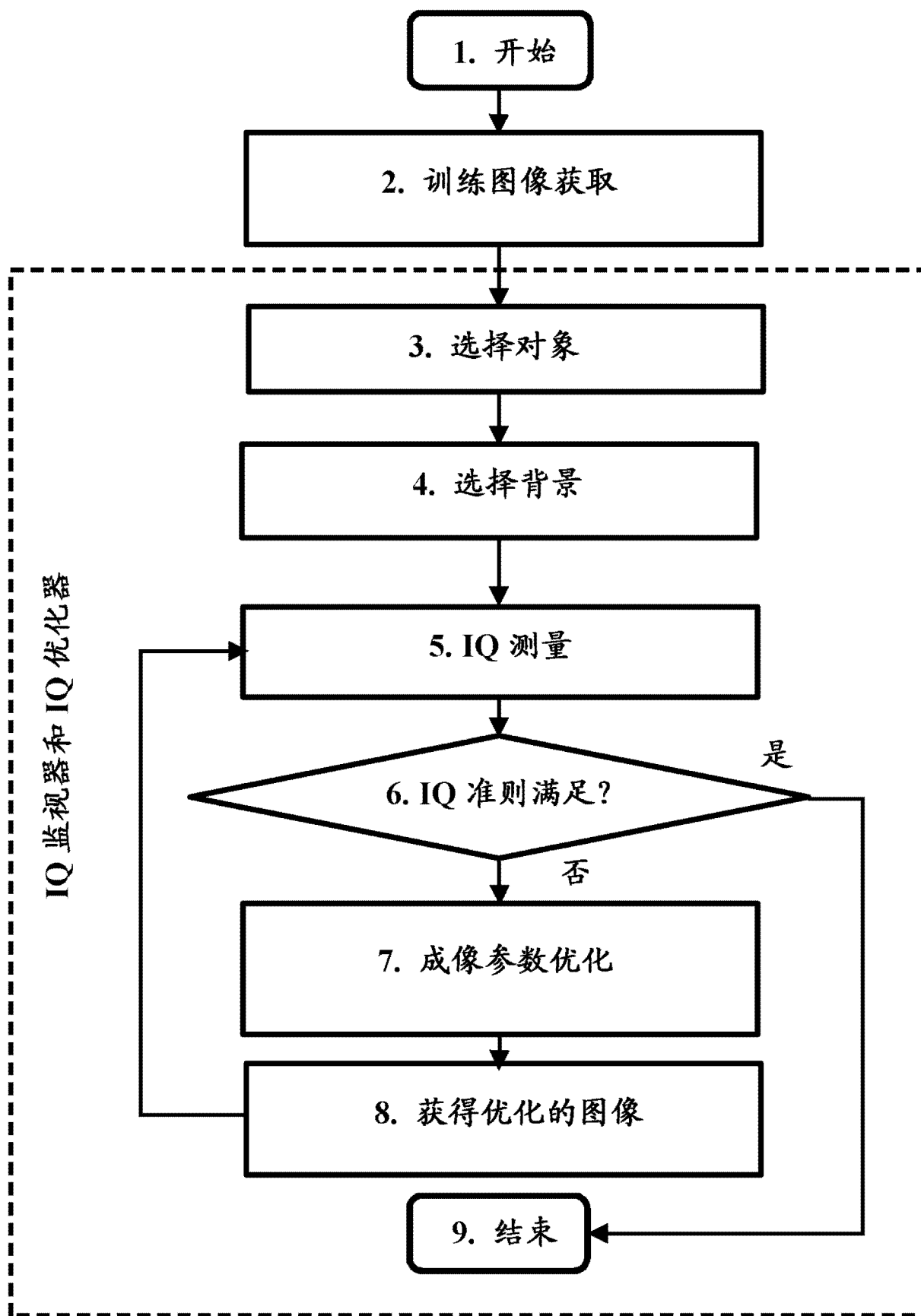


图 5

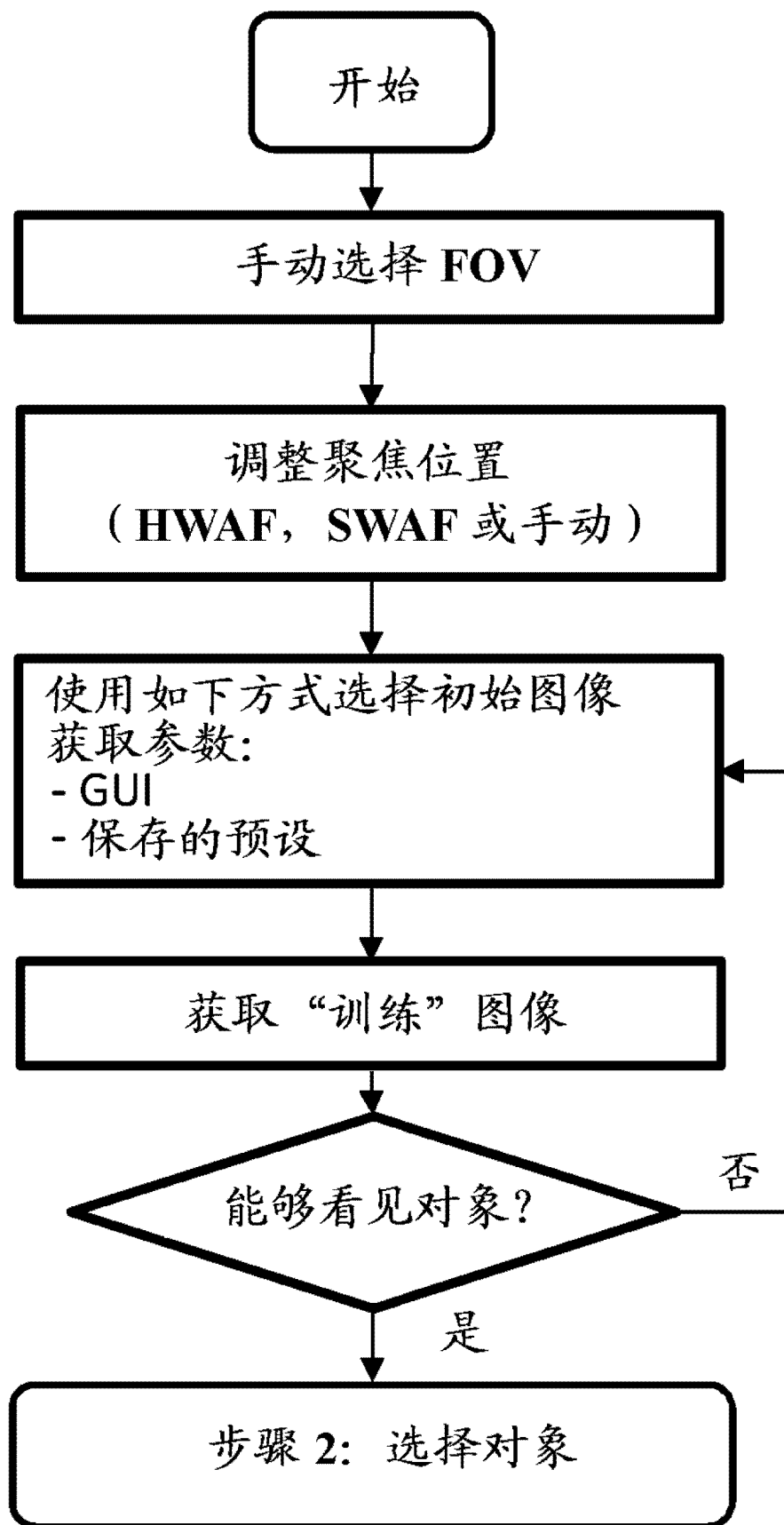


图 6

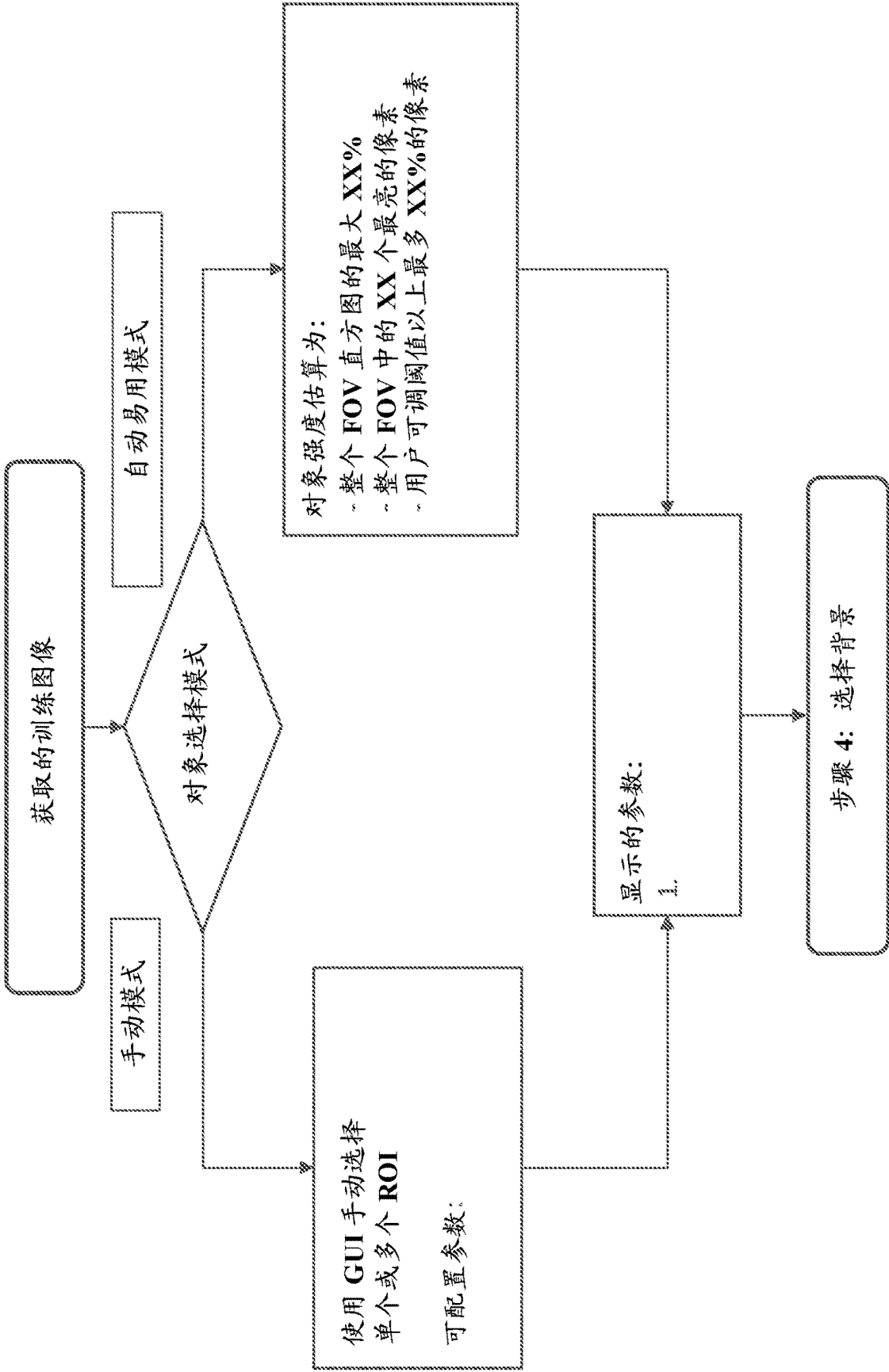


图 7

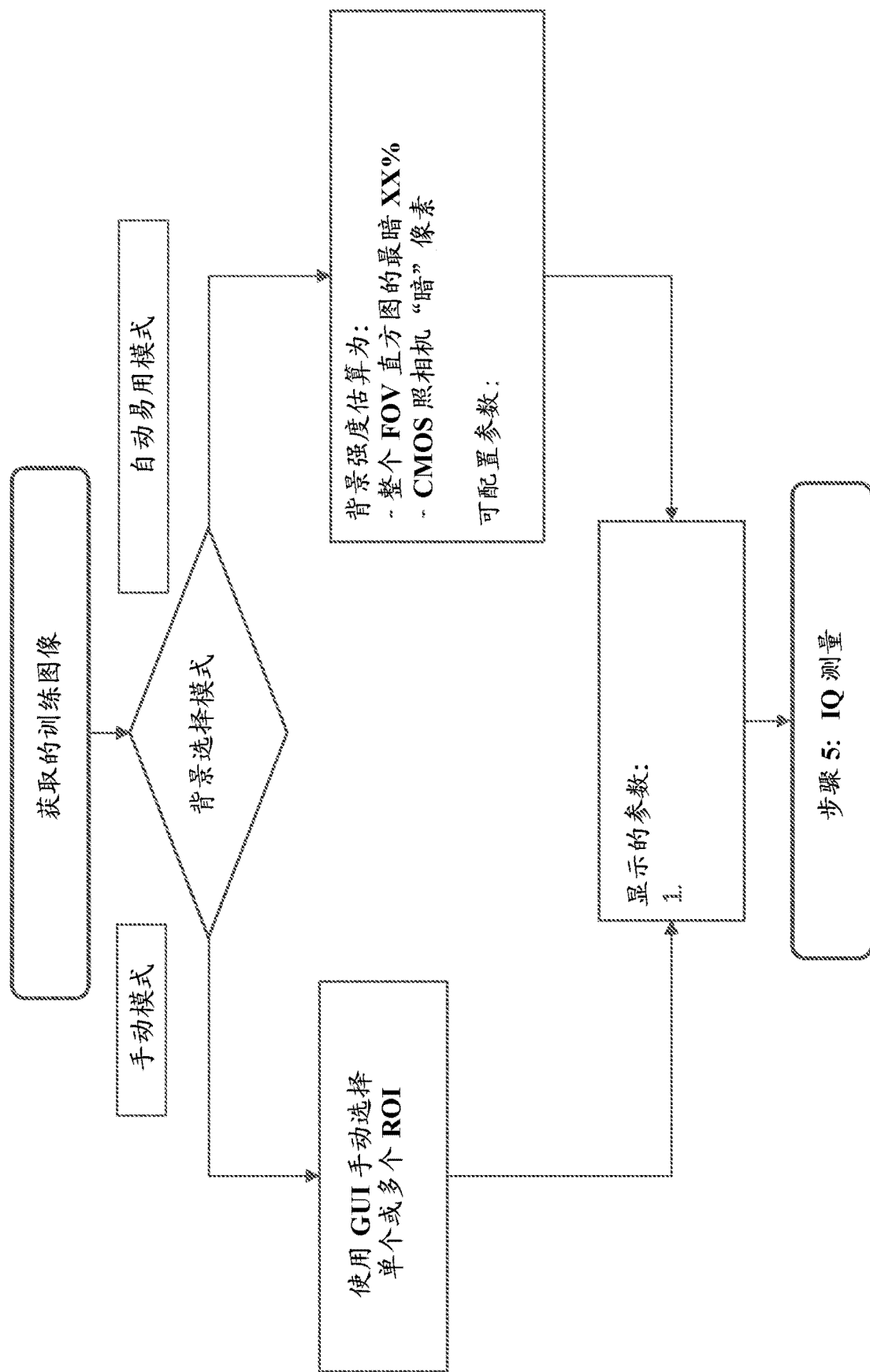


图 8

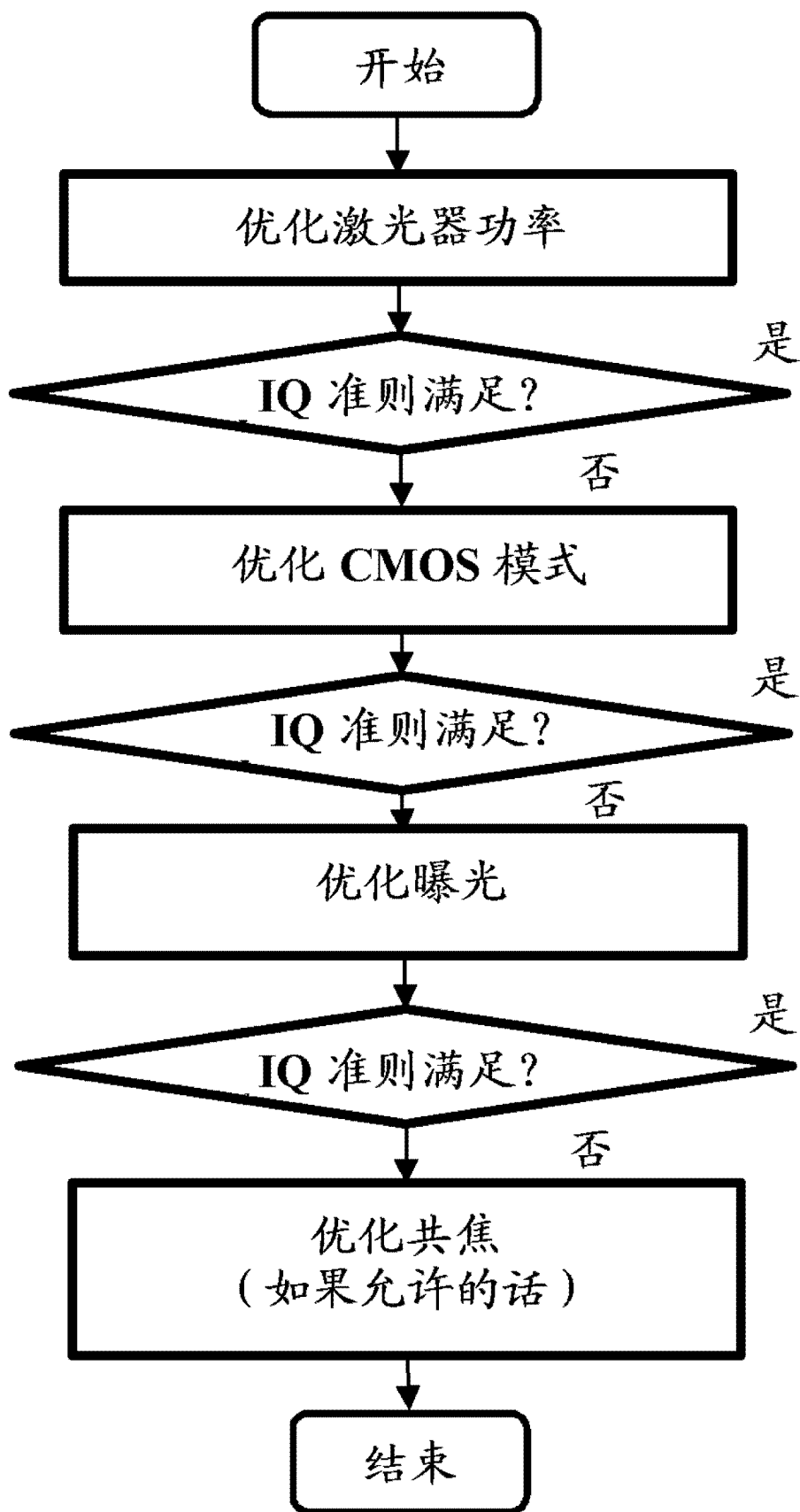
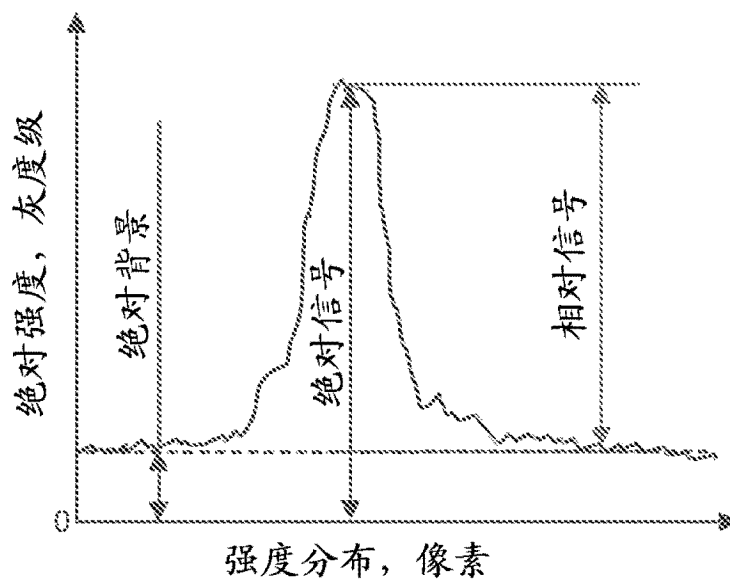


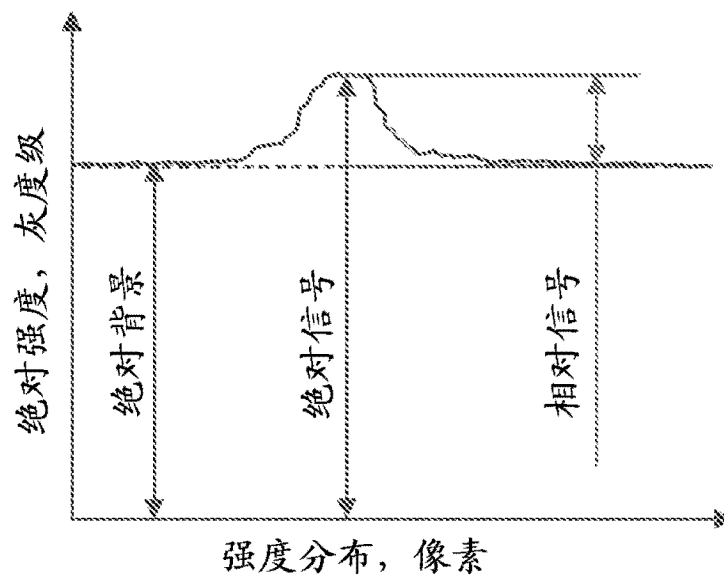
图 9



$$SBR = \text{Rel_Signal} / \text{Abs_Backgr}$$

选择共焦模式的准则:

- ◆ **SBR > 0.3** - 线扫描模式
- ◆ **SBR < 0.3** - 线共焦模式



$$SBR = \text{Rel_Signal} / \text{Abs_Backgr}$$

图 10

主预测算法：步骤 1，情况 1

优化模式：最佳吞吐量

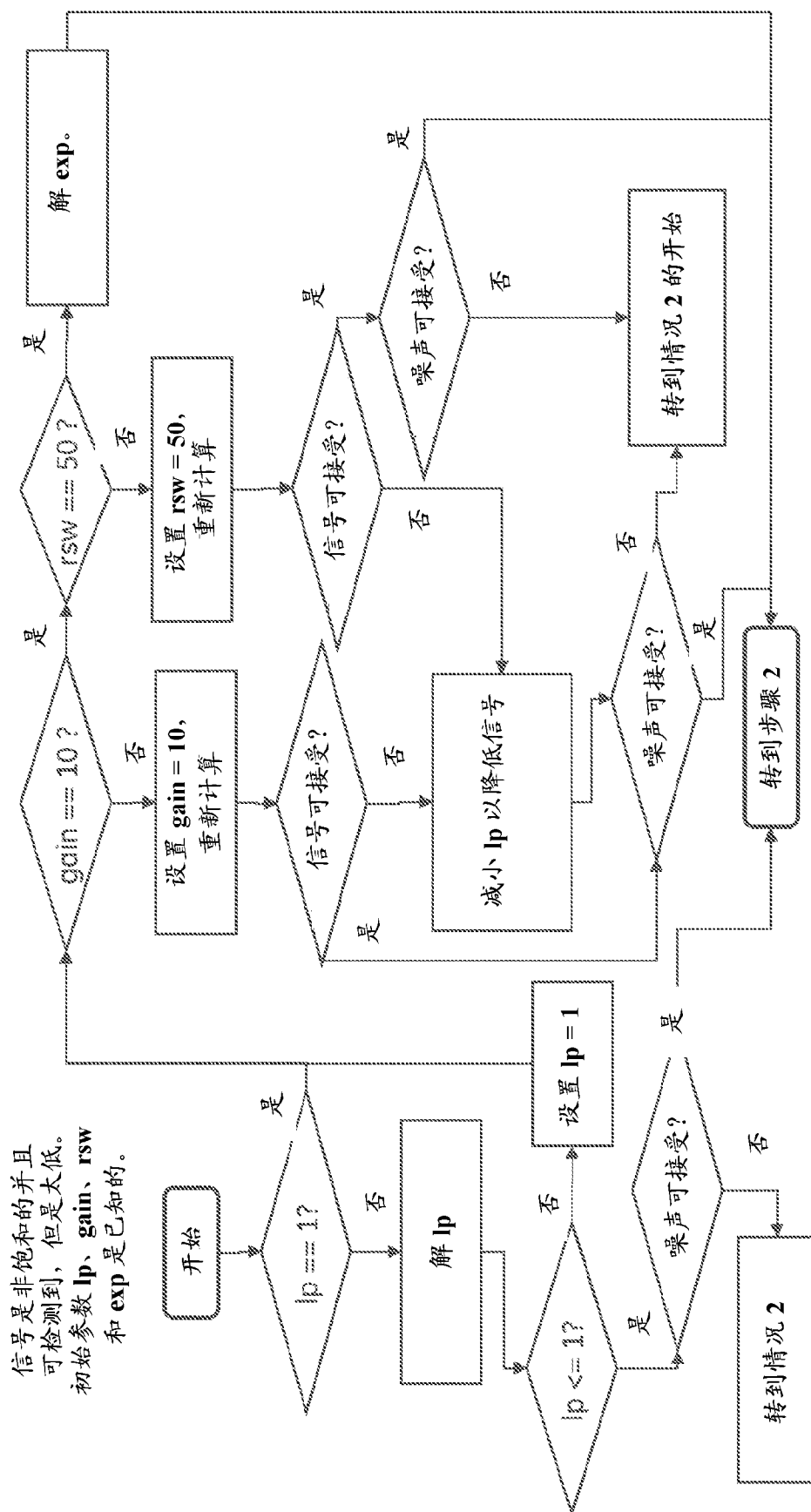


图 11

主预测算法：步骤 1，情况 2

优化模式：最佳吞吐量

信号良好但是噪声太高。

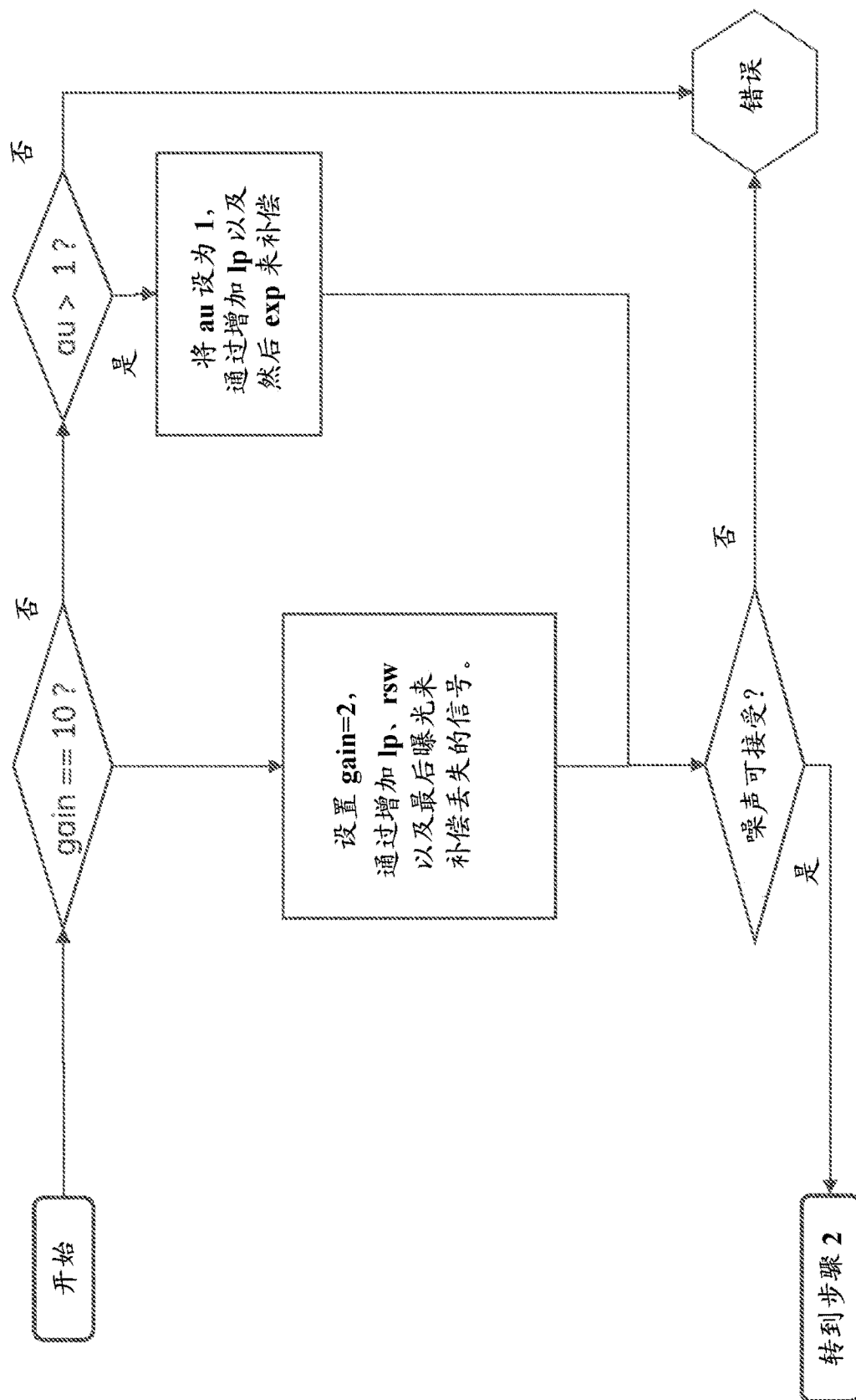


图 12

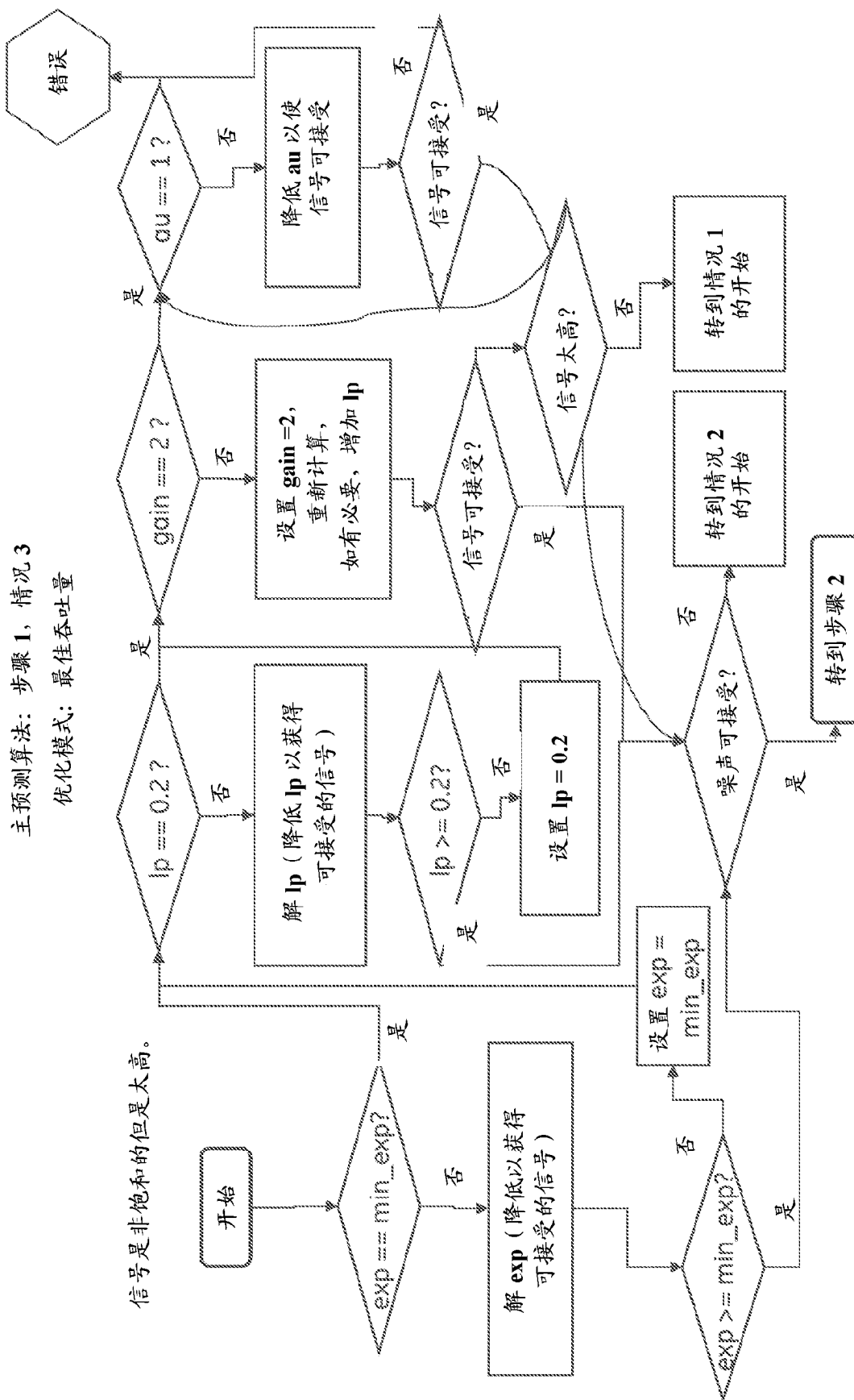


图 13

主预测算法：步骤 2

优化模式：最佳吞吐量

在此步骤中，信号和噪声测量是可接受的。
优化参数以与模式要求匹配。
主要目标：将曝光减到最小。

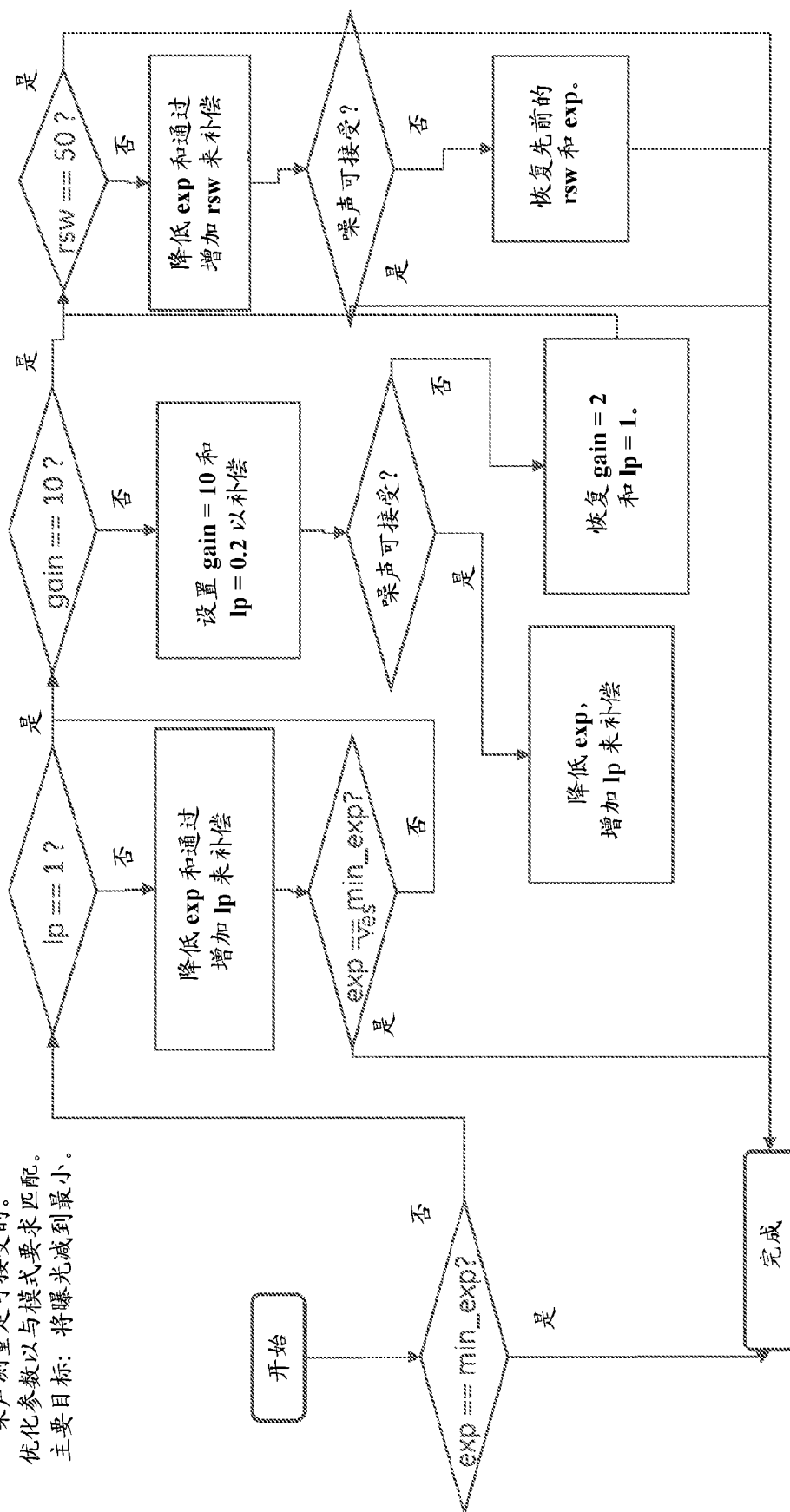


图 14