(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
2019 年 10 月 24 日 (24.10.2019)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2019/200518 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 15/14 (2006.01) *G02B 27/09* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/083232

(22) 国际申请日: 2018 年 4 月 16 日 (16.04.2018)

(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 园, Beijing 100084 (CN)。

(72) 发明人: 尤 政 (YOU, Zheng); 中 国 北 京 市 海 淀 区 清 华 园, Beijing 100084 (CN)。 赵 精 晶 (ZHAO, Jingjing); 中 国 北 京 市 海 淀 区 清 华 园, Beijing 100084 (CN)。

(74) 代理人: 北 京 清 亦 华 知 识 产 权 代 理 事 务 所 (普 通 合 伙) (TSINGYIHUA INTELLECTUAL PROPERTY LLC); 中国北京市海淀区清华园清华大学照澜院商业楼301室, Beijing 100084 (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, 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。

WO 2019/200518 A1

(54) **Title:** MULTI-LASER BEAM SHAPING SYSTEM AND METHOD FOR FLOW DETECTION

(54) **发明名称**: 用于流式检测的多激光光束整形系统及方法

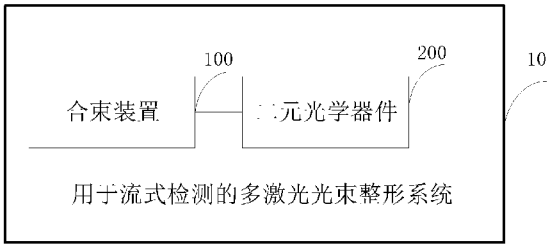


图 1

10 Multi-laser beam shaping system for flow detection
100 Beam combining apparatus
200 Binary optical device

(57) **Abstract:** A multi-laser beam shaping system and method for flow detection. The system comprises: a beam combining apparatus (100) for carrying out beam combination on multiple paths of laser; and a binary optical device (200), wherein the binary optical device (200) has a surface relief structure for shaping multi-color laser or monocolor laser subjected to beam combination and homogenizing same to form a rectangular flat-topped spot, and controlling the size and spatial position of the rectangular flat-topped spot so as to detect a single-cell flow along the center line of a flow channel. A rectangular spot generated by the system has an accurate size, a determined relative position, a clear boundary and a uniform top, thus facilitating improving the stability, resolution, signal-to-noise ratio and detection throughput of flow detection. The binary optical device (200) also can achieve the effect of adding in a focusing lens and simultaneously completes the functions of shaping, homogenizing, positioning and focusing multi-color laser or monocolor laser. In addition, an optical system is greatly simplified and the volume of the system is reduced.

(57) **摘要**: 一种用于流式检测的多激光光束整形系统及方法，其中系统包括：合束装置（100），用于对多路激光进行合束；二元光学器件（200），二元光学器件（200）具有表面浮雕结构，以用于将合束后的多色激光或单色激光整形并均化为矩形平顶光斑，并控制矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流。该系统产生的矩形光斑尺寸精准、相对位置确定、边界清晰、顶部均匀，有利于提升流式检测的稳定性、分辨力、信噪比和检测通量，二元光学器件（200）还能够加入聚焦透镜的作用，同时完成对多色激光或单色激光的整形、匀化、定位和聚焦功能，并且极大地简化光学系统，减小系统体积。

[见续页]

(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)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

用于流式检测的多激光光束整形系统及方法

技术领域

本发明涉及流式细胞检测技术领域，特别涉及一种用于流式检测的多激光光束整形系统及方法。

背景技术

流式细胞仪是能够对细胞群体中每一个细胞的物理和化学信息进行多参数、高通量、并行检测的体外检测仪器，其检测对象除了细胞还包括蛋白、外泌体、核酸、病毒等生物微粒。流式细胞检测中，经过标记的单细胞首先在液流系统中被聚焦在微流道的中心位置，然后逐一被激光照射并发出荧光和散射光，而后这些光信号被收集和分析。在流式细胞仪中，多激光光束整形系统是流式检测的核心技术，其生成的激光光斑直接决定了检测的分辨力、灵敏度、稳定性、信噪比、最高通量等性能指标。

相关技术中心，现有的流式检测多采用椭圆形高斯光斑，这种光斑虽然成型容易，但是在光斑均匀性、分辨力、信噪比和检测一致性方面尚待提升，并且针对每一色激光需要单独进行整形，因而光学器件繁多，不利于提升系统的稳定性。在传统流式检测所用的激光整形系统中，每路激光在二向色镜和反射镜的帮助下汇聚为一路，之后各色激光经过一组光斑整形器件，如两个相互正交的柱透镜，而后被聚焦在流道中央，形成多个相互重叠的椭圆形高斯光斑，进而检测沿流道中线流动的单细胞流。有时，在光路中会添加多个棱镜，从而各色激光生成的光斑沿流道方向分开，防止光斑重叠。可见，传统的激光整形系统需要多个分立的光学器件，因而系统的稳定性较差、调节和安装难度大，同时无法准确地控制生成的椭圆形高斯光斑的尺寸和空间位置。

发明内容

本发明旨在至少在一定程度上解决相关技术中的技术问题之一。

为此，本发明的一个目的在于提出一种用于流式检测的多激光光束整形系统，该系统能够提升流式检测的稳定性、分辨力、信噪比和检测通量。

本发明的另一个目的在于提出一种用于流式检测的多激光光束整形方法。

为达到上述目的，本发明一方面实施例提出了一种用于流式检测的多激光光束整形系统，包括合束装置，用于对多路激光进行合束；二元光学器件，所述二元光学器件具有表面浮雕结构，以用于将合束后的单色或多色激光整形并均化为矩形平顶光斑，并控制所述

矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流。

本发明实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统，通过二元光学器件将合束后的多色激光或单色激光整形并均化为矩形平顶光斑，精准地控制光斑的尺寸和空间位置，从而检测沿流道中线流动的单细胞流，达到提升流式检测的稳定性、分辨力、信噪比和检测通量的目的，并且极大地简化光学系统，减小系统体积。

另外，根据本发明上述实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统还可以具有以下附加的技术特征：

进一步地，在本发明的实施例中，所述二元光学器件基于夫琅禾费衍射原理改变入射光各点处的光程差，以对所述入射光的相位进行调制并输出平面上产生期望的所述矩形平顶光斑，并控制所述矩形平顶光斑的尺寸和空间位置。

进一步地，在本发明的实施例中，用于流式检测的多激光光束整形系统，特征为，其中，输入平面为(x，y)，入射光为 $A(x，y)\exp[i\cdot\theta(x，y)]$，引入的相位为 $\theta_{BOE}(x，y)$，通过二元光学之后的入射光为 $G(x，y)= A(x，y)\exp[i\cdot\theta_{BOE}(x，y)+ i\cdot\theta(x，y)]$，且所述引入的相位 $\theta_{BOE}(x，y)$与所述表面浮雕结构的高度 $h(x，y)$的关系为：$h(x，y)= \lambda/[2\pi(n-1)]\times\theta_{BOE}(x，y)$，其中，$\lambda$ 为激光波长，n 为所述二元光学器件的折射率，以通过迭代算法解算出生成期望光斑 $U(u，v)$的相位调制 $\theta_A(x，y)$，其中(u，v)为输出平面，且引入的相位 $\theta_{BOE}(x,y)$等于相位调制 $\theta_A(x,y)$。

进一步地，在本发明的实施例中，所述二元光学器件还用于光束聚焦，其中，所述引入的相位 $\theta_{BOE}(x,y)$变为所述相位调制 $\theta_A(x,y)$和所述透镜对相位的调制作用 $\theta_f(x,y)$之和，以加入虚拟的聚焦透镜，起到聚焦的作用。

进一步地，在本发明的实施例中，通过增大所述二元光学器件的虚拟透镜的焦距加深光斑的焦深。

进一步地，在本发明的实施例中，所述合束装置包括：多个二向色镜，以对所述多路激光进行反射，以汇聚为单路激光。

进一步地，在本发明的实施例中，所述合束装置包括：波分复用器和准直器，以将多路激光合束为单路激光。

进一步地，在本发明的实施例中，所述二元光学器件为单个或多个，其中，当所述二元光学器件为多个时，每个二元光学器件与每路激光一一对应设置，以对所述每路激光进行单独整形。

进一步地，在本发明的实施例中，用于流式检测的多激光光束整形系统，还包括：聚焦透镜，具体为加入一个真实的聚焦透镜，使二元光学器件不加入聚焦功能，聚焦已经被二元光学器件相位调制后的激光。

为达到上述目的，本发明另一方面实施例提出了一种用于流式检测的多激光光束整形方法，包括以下步骤：对多路激光进行合束；将合束后的多色激光或单色激光整形并均化为矩形平顶光斑；以及控制所述矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流。

本发明实施例的用于流式检测的多激光光束整形方法，通过二元光学器件将合束后的激光整形并均化为矩形平顶光斑，精准地控制光斑的尺寸和空间位置，从而检测沿流道中线流动的单细胞流，达到提升流式检测的稳定性、分辨力、信噪比和检测通量的目的，并且极大地简化该方法对应系统的光学系统，减小系统体积。

本发明附加的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

本发明上述的和/或附加的方面和优点从下面结合附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解，其中：

图 1 为根据本发明实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统的结构示意图；

图 2 为根据本发明一个实施例的多激光光束整形系统的机构示意图；

图 3 为根据本发明一个实施例的输出 30μm×10μm 单矩形平顶光斑的二元光学器件设计示意图；

图 4 为根据本发明一个实施例的输出 30μm×10μm 单矩形平顶光斑的二元光学器件设计及光斑远离零级位置示意图；

图 5 为根据本发明一个实施例的输出尺寸 30μm×10μm 且相距 20μm 的双矩形平顶光斑的二元光学器件设计示意图；

图 6 为根据本发明一个实施例的多激光整形系统中采用同一个二元光学器件对 405nm、488nm、560nm 和 640nm 四激光进行整形、匀化和聚焦，设计输出的示意图；

图 7 为根据本发明一个实施例的多激光整形系统中，采用同一个二元光学器件对 488nm、560nm 和 640nm 三色激光进行整形、匀化和聚焦，设计输出的示意图；

图 8 为根据本发明一个实施例的用于流式检测的多激光整形系统中，采用同一个二元光学器件对 488nm 和 640nm 双色激光进行整形、匀化和聚焦，设计输出的示意图；

图 9 为根据本发明一个实施例的带聚焦透镜的多激光光束整形系统的示意图；

图 10 为根据本发明一个实施例的对各路激光分别进行整形的用于流式检测的多激光光束整形系统示意图；

图 11 为根据本发明一个实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统中各激光被二

元光学器件分别整形后形成不同的矩形平顶光斑的示意图；

图 12 为根据本发明一个实施例的焦距 10mm 时生成的 30μm×10μm 矩形平顶光斑，光斑幅值和均匀性随偏离焦面发生改变的情况的示意图；

图 13 为根据本发明一个实施例的焦距 40mm 时生成的 30μm×10μm 矩形平顶光斑，光斑幅值和均匀性随偏离焦面发生改变的情况的示意图；

图 14 为本发明一个实施例的输出为平顶尺寸 65μm×1μm 的单矩形光斑的二元光学器件设计示意图；

图 15 为本发明一个实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统中 488nm，560nm 和 640nm 激光被二元光学器件分别整形后形成不同的矩形平顶光斑的示意图；和

图 16 为根据本发明实施例的用于流式检测的多激光光束整形方法的流程图。

附图标记说明：

图 2 中，（a）为用于流式检测的多激光光束整形系统由合束装置和二元光学器件组成；（b）为用于流式检测的多激光光束整形系统中采用二向色镜实现多激光合束（c）为用于流式检测的多激光光束整形系统中采用光纤波分复用器和准直器件实现多激光合束；

图 3-5 中，（a）为相位调制；（b）为虚拟透镜的相位分布；（c）为二元光学器件的相位；（d）为输出光斑幅值分布；

图 6-8 中，（a）为靠近零极的单矩形平顶光斑设计；（b）为远离零极的单矩形平顶光斑设计；（c）为双矩形平顶光斑；

图 12 中，（a）为光斑幅值的改变；（b）为光斑幅值均匀性的改变；

图 14 中，（a）为相位调制；（b）为虚拟透镜的相位分布；（c）为二元光学器件的相位；（d）为输出光斑幅值分布。

具体实施方式

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，旨在用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

下面参照附图描述根据本发明实施例提出的用于流式检测的多激光光束整形系统及方法，首先将参照附图描述根据本发明实施例提出的用于流式检测的多激光光束整形系统。

图 1 是根据本发明实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统的结构示意图，如图 1 所示，该用于流式检测的多激光光束整形系统 10 包括：合束装置 100，用于对多路激光进行合束。

在本发明的实施例中，合束装置 100 用于将各色激光合束为一路。其中，合束装置 100 包括：多个二向色镜，以对多路激光进行反射，以汇聚为单路激光。合束装置 100 还包括：波分复用器和准直器，以将多路激光合束为单路激光。

具体而言，在本发明的一个实施例中，如图 2（a）所示，各色激光首先通过上述合束装置 100 被合束为一路。该实施例可以通过不同方法实现多路激光的合束，例如，图 2（b）中的用于流式检测的多激光光束整形系统 10 采用二向色镜，图 2（c）中的用于流式检测的多激光光束整形系统 10 采用的是光纤波分复用器和准直器件。

本发明的用于流式检测的多激光光束整形系统 10 还包括：二元光学器件 200，二元光学器件 200 具有表面浮雕结构，以用于将合束后的多色激光或单色激光整形并均化为矩形平顶光斑，并控制矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流。

在本发明的一个实施例中，二元光学器件 200 基于夫琅禾费衍射原理改变入射光各点处的光程差，以对入射光的相位进行调制并输出平面上产生期望的矩形平顶光斑，并控制矩形平顶光斑的尺寸和空间位置。具体而言，该用于流式检测的多激光光束整形系统 10 的核心是二元光学器件 200，其能够准确控制光斑的尺寸、形状和空间位置。具体而言，输入平面为(x，y)，入射光为 $A(x，y)\exp[i\cdot\theta(x，y)]$，引入的相位为 $\theta_{BOE}(x，y)$，通过二元光学之后的入射光为 $G(x，y)= A(x，y)\exp[i\cdot\theta_{BOE}(x，y)+ i\cdot\theta(x，y)]$，且引入的相位 $\theta_{BOE}(x，y)$ 与表面浮雕结构的高度 h(x，y)的关系为：$h(x，y)= \lambda/[2\pi(n-1)]\times\theta_{BOE}(x，y)$，其中，λ 为激光波长，n 为二元光学器件 200 的折射率，以通过迭代算法解算出生成期望光斑 U(u，v)的相位调制 $\theta_A(x，y)$，其中(u，v)为输出平面，且引入的相位 $\theta_{BOE}(x,y)$等于相位调制 $\theta_A(x,y)$。这样，二元光学器件 200 既能够完成对光斑的整形和匀化。

进一步地，在本发明的实施例 1 中，二元光学器件 200 还用于光束聚焦，起到聚焦透镜的作用。其中，引入的相位 $\theta_{BOE}(x,y)$变为相位调制 $\theta_A(x,y)$和透镜对相位的调制作用 $\theta_f(x,y)$之和，以形成虚拟的聚焦透镜，这样，二元光学器件 200 既能够完成对光斑的整形和匀化又能够实现透镜聚集的功能。具体而言，在具体实施例中，还需要设计二元光学器件 200 的输出光斑形状。设入射光为光束直径 3mm 的单模高斯光束，聚焦透镜的焦距为 10mm。设计三种输出：设计一为 30μm×10μm 的单矩形平顶光斑；设计二仍为 30μm×10μm 的单矩形平顶光斑，但相比设计一其输出光斑更加远离零极位置，既输出平面中(0,0)的位置；设计三为两个 30μm×10μm 且相距 20μm 的双矩形平顶光斑。单矩形光斑的尺寸最小，因而有利于提升单位时间内的最大检测通量。双矩形光斑能够在保证空间分辨率的情况下实现对单个细胞的多次照射并延长照射时间，因而能够实现对单个细胞的实时测速并提高检测的灵敏度和稳定性。设计的二元光学器件 200 的尺寸为 6mm×6mm，台阶单元数量为 256×256 个，设计波长 488nm。图 3-图 5 中的子图（a）是经过设计所得的调制相位 $\theta_A(x,y)$，图 3-

图 5 中的子图（b）是焦距为 10mm 的虚拟透镜的相位分布 $\theta_f(x,y)$，图 3-图 5 中的子图（c）是将两者相结合后得到最终的二元光学器件 200 的相位 $\theta_{BOE}(x,y)$，图 3-图 5 中的子图（d）是二元光学器件 200 的输出光斑。输出光斑的均匀性可由光斑幅值的相对均方根误差表示，图 3-图 5 中的子图（d）中三个光斑的均匀性分别为 2.1%，2.3%和 2.5%，能量效率均大于 85%。由输出光斑可见，二元光学器件 200 能够将激光整形为尺寸精准、边界清晰、位置可控、形状可变的矩形平顶光斑。

进一步地，在本发明的一个实施例中，考察系统的多激光整形效果。流式检测中常用的四种激光波长为 405nm、488nm、560nm 和 640nm，考虑四种输入光波长的组合情况，并以图 3-图 5 中的设计为例。输出光斑的均匀性由光斑幅值的相对均方根误差表示。设计中，各色波长激光的所形成光斑的尺寸与设计波长的所形成光斑的尺寸相比正比于波长，空间位置也是如此。第一种情况下，输入激光分别为 405nm、488nm、560nm 和 640nm，四种激光所形成光斑的的空间位置相重合，如图 6：对于靠近零极的单矩形平顶光斑设计，选取设计波长为 562nm，四种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 2.9%、2.3%、1.9%和 2.3%，各个光斑的空间位置相互重合；对于远离零极的单矩形平顶光斑设计，选取设计波长为 535nm，四种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 3.8%、2.5%、2.3%和 3.2%，各个光斑的空间位置相互分离；对于输出的双矩形平顶光斑，选取设计波长为 569nm，四种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 6.0%、3.8%、2.5%和 5.3%。第二种情况下，输入激光分别为 488nm、560nm 和 640nm，选取二元光学器件 200 的设计波长为 567nm，如图 7：对于靠近零极的单矩形平顶光斑设计，选取设计波长为 580nm，三种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 2.4%、2.0%和 2.2%，各个光斑的空间位置相互重合；对于远离零极的单矩形平顶光斑设计，选取设计波长为 566nm，三种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 2.8%、2.3%和 2.7%，各个光斑的空间位置相互分离；对于输出的双矩形平顶光斑，选取设计波长为 584nm，三种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 5.0%、2.4%和 3.2%。第三种情况下，输入激光分别为 488nm 和 640nm，如图 8：对于靠近零极的单矩形平顶光斑设计，选取设计波长为 593nm，两种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 2.5%和 2.1%，各个光斑的空间位置相互重合；对于远离零极的单矩形平顶光斑设计，选取设计波长为 573nm，两种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 2.9%和 2.6%，各个光斑的空间位置相互分离；对于输出的双矩形平顶光斑，选取设计波长为 573nm，两种入射波长激光所形成的光斑的幅值均匀性分别为 4.2%和 2.5%。第四种情况下，输入激光为 405nm、488nm、560nm 和 640nm 中的某一种，选取二元光学器件 200 的设计波长等于输入波长，以 488nm 波长为例，其输出光斑如图 3-图 5 中的子图（d）所示。

可以理解的是，该实施例说明了本发明用于流式检测的多激光光束整形系统 10，能够同时实现多色或单色激光的整形、匀化和聚焦，形成尺寸精准、边界清晰、位置可控、形状可变的矩形平顶光斑，各个多色激光光斑的各相对位置可以控制为位置重合或不重合，能够在多色激光入射情况下保持优良的光斑均匀性，能够极大地简化流式检测所需的光学系统、提高系统稳定性。

此外，在本发明的实施例 2 中，用于流式检测的多激光光束整形系统 10，如图 9 所示，各色激光被二向色镜反射后汇聚为一路，而后经过二元光学器件 200 被整形、匀化并经过一个聚焦透镜，最终在透镜的焦面上形成所需的矩形平顶光斑。该实施例与实施例 1 类似，区别在于二元光学器件 200 的相位 $\theta_{BOE}(x,y)$仅包含调制相位 $\theta_A(x,y)$，而不再包含虚拟透镜相位 $\theta_f(x,y)$，聚焦功能由一个真实、分立的透镜完成。该实施例中的用于流式检测的多激光光束整形系统 10 等效于实施例 1 中的系统，因而对其整形效果不再累述。

进一步地，在本发明的实施例 3 中，用于流式检测的多激光光束整形系统 10，如图 10 所示，各色激光被二元光学器件 200 分别整形、匀化，而后二向色镜反射后汇聚为一路并经过一个聚焦透镜，最终在透镜的焦面上形成所需的矩形平顶光斑。该系统的特点在于能够对每一路激光分别整形，能够灵活调整每一路激光输出光斑的尺寸、形状和空间位置。输出光斑的均匀性由光斑幅值的相对均方根误差表示。再具体实施例中，二元光学器件 200 为单个或多个，其中，当二元光学器件 200 为多个时，每个二元光学器件 200 与每路激光一一对应设置，以对每路激光进行单独整形。例如图 11（a）所示，对 405nm、488nm、560nm 和 640nm 四路激光整形，入射光为光束直径 3mm 的单模高斯光束，聚焦透镜的焦距为 10mm，设计四个二元光学器件 200，并在焦面上生成四个尺寸均为 30μm×10μm 的、相距 20μm 的矩形平顶光斑，光斑均匀性分别为 3.3%、2.1%、2.0%和 1.9%。例如图 11（b）所示，对 405nm、488nm、560nm 和 640nm 四路激光整形，入射光为光束直径 3mm 的单模高斯光束，聚焦透镜的焦距为 10mm，设计四个二元光学器件 200，并在焦面上生成四个尺寸各不相同的、相距相聚距离各不相同的矩形平顶光斑，光斑尺寸分别为 30μm×5μm、30μm×10μm、40μm×10μm 和 50μm×10μm，相距距离分别为 10μm、20μm 和 30μm，均匀性分别为 2.1%、2.1%、2.2%和 2.0%。例如图 11（c）所示，对 488nm 和 640nm 两路激光整形，入射光为光束直径 3mm 的单模高斯光束，聚焦透镜的焦距为 10mm，设计两个二元光学器件 200，在焦面上将 640nm 激光聚焦为一个位于中心的、30μm×10μm 的矩形平顶光斑，将 488nm 激光聚焦为位于上下两侧的、两个相距 100μm 的 30μm×10μm 矩形平顶光斑，两个光斑的均匀性分别为 2.0%和 1.9%。

该实施例说明了本发明用于流式检测的多激光光束整形系统 10，能够对每一路激光分别整形，能够灵活调整每一路激光输出光斑的尺寸、形状和空间位置，生成具有优异的均

匀性的、相分离的多个矩形平顶光斑。

进一步地，在本发明的实施例 4 中，本发明的用于流式检测的多激光光束整形系统 10 可以通过增大二元光学器件 200 的虚拟透镜的焦距或实体透镜的加深光斑的焦深。具体而言，通过增大系统中二元光学器件 200 虚拟透镜或实体透镜的焦距，能够加深光斑的焦深，从而提升检测的稳定性。入射光为光束直径 3mm、488nm 的单模高斯激光，分别采用焦距 10mm 和 40mm，设计输出均为 30μm×10μm 的矩形平顶光斑，输出光斑的均匀性由光斑幅值的相对均方根误差表示。如图 12 所示，如果以光斑均匀性超过 10%为界，则焦距 10mm 情况下输出光斑的的焦深为±4.5μm，焦深绝对值为 9μm，且在边界上光斑的幅值相比于焦面上光斑的幅值变化小于 3%；如图 13 所示，如果以光斑均匀性超过 10%为界，在焦距 40mm 情况下输出光斑的焦深为±40μm，焦深绝对值大于 80μm，且在边界上光斑的幅值相比于焦面上光斑的幅值变化小于 2%；如图 13 所示，即使以光斑均匀性超过 5%为界，在焦距 40mm 情况下输出光斑的焦深也可达到-13μm ~18μm，焦深绝对值大于 30μm，且在边界上光斑的幅值相比于焦面上光斑的幅值变化小于 0.5%。

进一步地，在本发明的实施例 5 中，为了进一步提高空间分辨率和增加焦深，减小输出光斑平顶的短边长度为 0.9μm、长边长度 65μm，光斑位置偏离零极上方 200μm，焦距为 40mm，取设计波长为 560nm，设计的二元光学器件的相位如图 14 所示，输出光斑的平顶均匀性为 1.1%，如果按照光斑顶部的均匀性超过 5%计算则其焦深可达 110μm。由于光斑平顶短轴尺寸短且焦距长，因而光斑短边方向的能量分布呈现高斯状，按照光强 $1/e^2$ 倍确定的短边总长度为 10μm。如图 15 所示，如果输入激光除了 560nm 还包括 488nm 和 640nm，则光斑平顶的均匀性分别为 1.1%和 1.2%，焦深分别为 84μm 和 126μm，所形成光斑的尺寸与 560nm 波长的所形成光斑的尺寸相比正比于波长。

本发明实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统，通过二元光学器件将合束后的激光整形并均化为矩形平顶光斑，精准地控制光斑的尺寸和空间位置，从而检测沿流道中线流动的单细胞流，达到提升流式检测的稳定性、分辨力、信噪比和检测通量的目的，并且极大地简化光学系统，减小系统体积。

如图 16 所示，本发明一个实施例的用于流式检测的多激光光束整形方法，包括以下步骤：S101，对多路激光进行合束；S102，将合束后的多色激光或单色激光整形并均化为矩形平顶光斑；S103，控制矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流。

本发明实施例的用于流式检测的多激光光束整形方法，通过二元光学器件将合束后的激光整形并均化为矩形平顶光斑，精准地控制光斑的尺寸和空间位置，从而检测沿流道中线流动的单细胞流，达到提升流式检测的稳定性、分辨力、信噪比和检测通量的目的，并

且极大地简化该方法对应的光学系统，减小系统体积。

要说明的是，前述对方法实施例的用于流式检测的多激光光束整形系统解释说明也适用于该实施例的方法，此处不再赘述。

在本发明的描述中，需要理解的是，术语“中心”、“纵向”、“横向”、“长度”、“宽度”、“厚度”、“上”、“下”、“前”、“后”、“左”、“右”、“竖直”、“水平”、“顶”、“底”“内”、“外”、“顺时针”、“逆时针”、“轴向”、“径向”、“周向”等指示的方位或位置关系为基于附图所示的方位或位置关系，仅是为了便于描述本发明和简化描述，而不是指示或暗示所指的装置或元件必须具有特定的方位、以特定的方位构造和操作，因此不能理解为对本发明的限制。

此外，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至少一个该特征。在本发明的描述中，“多个”的含义是至少两个，例如两个，三个等，除非另有明确具体的限定。

在本发明中，除非另有明确的规定和限定，术语“安装”、“相连”、“连接”、“固定”等术语应做广义理解，例如，可以是固定连接，也可以是可拆卸连接，或成一体；可以是机械连接，也可以是电连接；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，除非另有明确的限定。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。

在本发明中，除非另有明确的规定和限定，第一特征在第二特征 “上”或“下”可以是第一和第二特征直接接触，或第一和第二特征通过中间媒介间接接触。而且，第一特征在第二特征“之上”、“上方”和“上面”可是第一特征在第二特征正上方或斜上方，或仅仅表示第一特征水平高度高于第二特征。第一特征在第二特征“之下”、“下方”和“下面”可以是第一特征在第二特征正下方或斜下方，或仅仅表示第一特征水平高度小于第二特征。

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、 “示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该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必须针对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一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例

进行变化、修改、替换和变型。

权利要求书

1、一种用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，包括以下步骤：

合束装置，用于对多路激光进行合束；和

二元光学器件，所述二元光学器件具有表面浮雕结构，以用于将合束后的多色激光或单色激光整形并均化为矩形平顶光斑，并控制所述矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流。

2、根据权利要求 1 所述的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，所述二元光学器件基于夫琅禾费衍射原理改变入射光各点处的光程差，以对所述入射光的相位进行调制并输出平面上产生期望的所述矩形平顶光斑，并控制所述矩形平顶光斑的尺寸和空间位置。

3、根据权利要求 2 所述的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，其中，输入平面为(x，y)，入射光为 A(x，y)exp[i·θ(x，y)]，引入的相位为 θ_{BOE}(x，y)，通过二元光学之后的入射光为 G(x，y)= A(x，y)exp[i·θ_{BOE}(x，y)+ i·θ(x，y)]，且所述引入的相位 θ_{BOE}(x，y)与所述表面浮雕结构的高度 h(x，y)的关系为：h(x，y)= λ/[2π(n-1)]×θ_{BOE}(x，y)，其中，λ为激光波长，n 为所述二元光学器件的折射率，以通过迭代算法解算出生成期望光斑 U(u，v)的相位调制 θ_A(x，y)，其中(u，v)为输出平面，且引入的相位 θ_{BOE}(x,y)等于相位调制 θ_A(x,y)。

4、根据权利要求 3 所述的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，所述二元光学器件还用于光束聚焦，其中，所述引入的相位 θ_{BOE}(x,y)变为所述相位调制 θ_A(x,y)和所述透镜对相位的调制作用 θ_f(x,y)之和，以加入虚拟的聚焦透镜，起到聚焦透镜的作用。

5、根据权利要求 4 所述的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，通过增大所述二元光学器件的虚拟透镜或实体透镜的的焦距加深光斑的焦深。

6、根据权利要求 1 所述的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，所述合束装置包括：多个二向色镜，以对所述多路激光进行反射，以汇聚为单路激光。

7、根据权利要求 1 所述的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，所述合束装置包括：波分复用器和准直器，以将多路激光合束为单路激光。

8、根据权利要求 1 所述的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，所述二元光学器件为单个或多个，其中，当所述二元光学器件为多个时，每个二元光学器件与每路激光一一对应设置，以对所述每路激光进行单独整形。

9 根据权利要求 1 或 8 的用于流式检测的多激光光束整形系统，其特征在于，还包括：

聚焦透镜，具体为加入一个真实的聚焦透镜，使二元光学器件不加入聚焦功能，聚焦已经被二元光学器件相位调制后的激光。

10、一种用于流式检测的多激光光束整形方法，其特征在于，包括以下步骤：

对多路激光进行合束；

将合束后的单色或多色激光整形并均化为矩形平顶光斑；以及

控制所述矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流。

5

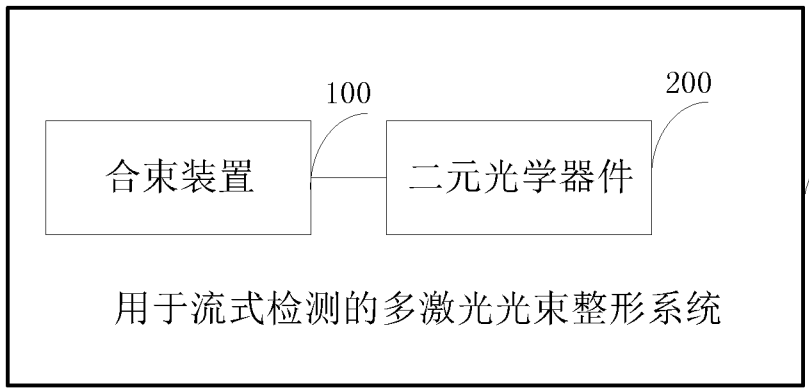
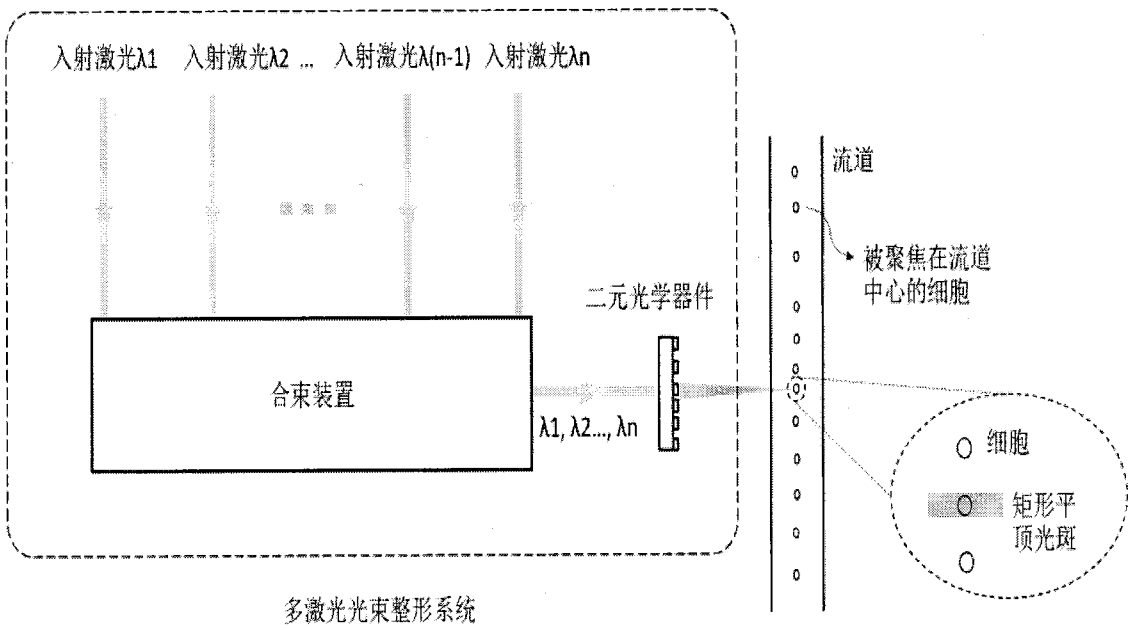
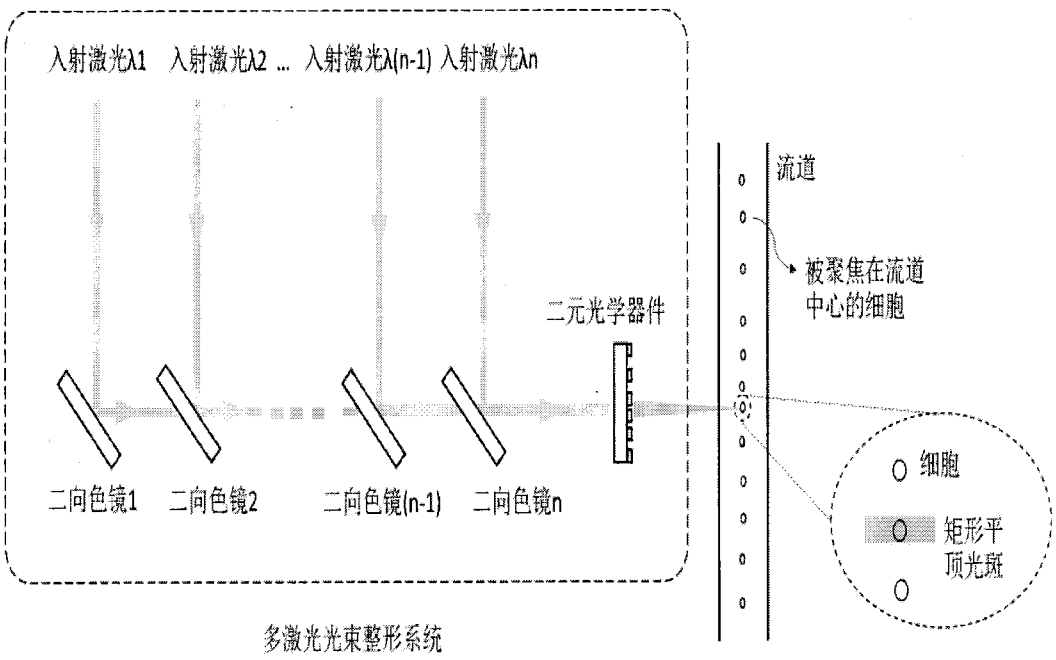

100
200
10
合束装置
二元光学器件
用于流式检测的多激光光束整形系统

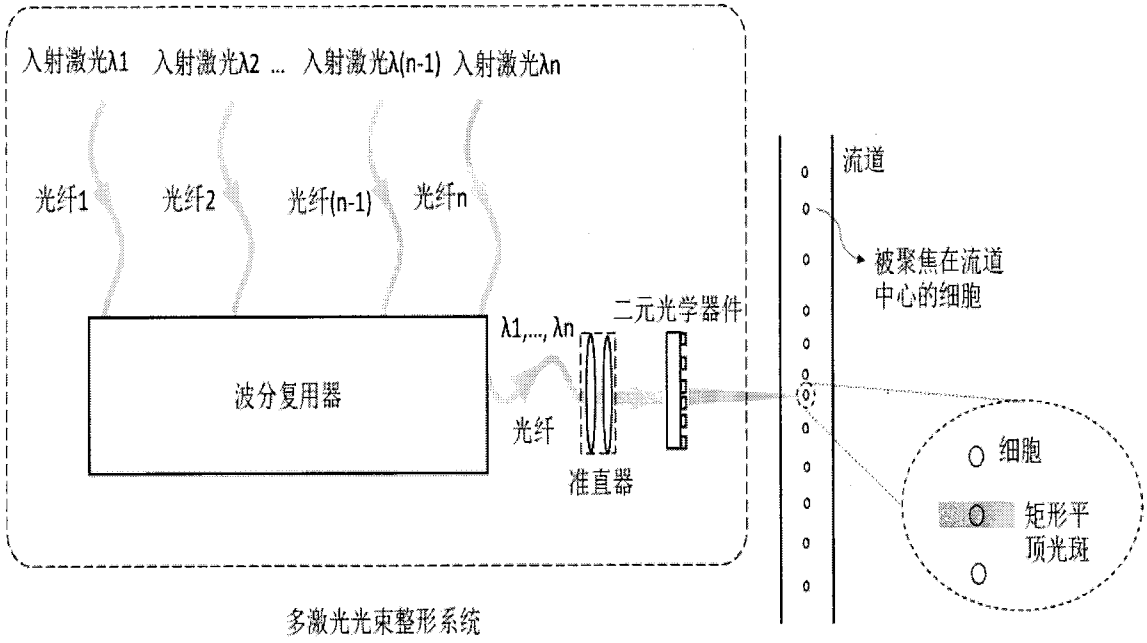
图 1


入射激光λ1 入射激光λ2 ... 入射激光λ(n-1) 入射激光λn
合束装置
二元光学器件
λ1, λ2..., λn
流道
被聚焦在流道中心的细胞
细胞
矩形平顶光斑
多激光光束整形系统

（a）


入射激光λ1 入射激光λ2 ... 入射激光λ(n-1) 入射激光λn
二向色镜1
二向色镜2
二向色镜(n-1)
二向色镜n
二元光学器件
流道
被聚焦在流道中心的细胞
细胞
矩形平顶光斑
多激光光束整形系统

（b）


入射激光λ1
入射激光λ2 ...
入射激光λ(n-1)
入射激光λn
光纤1
光纤2
光纤(n-1)
光纤n
波分复用器
λ1,..., λn
光纤
准直器
二元光学器件
流道
被聚焦在流道中心的细胞
细胞
矩形平顶光斑
多激光光束整形系统

（c）

图 2

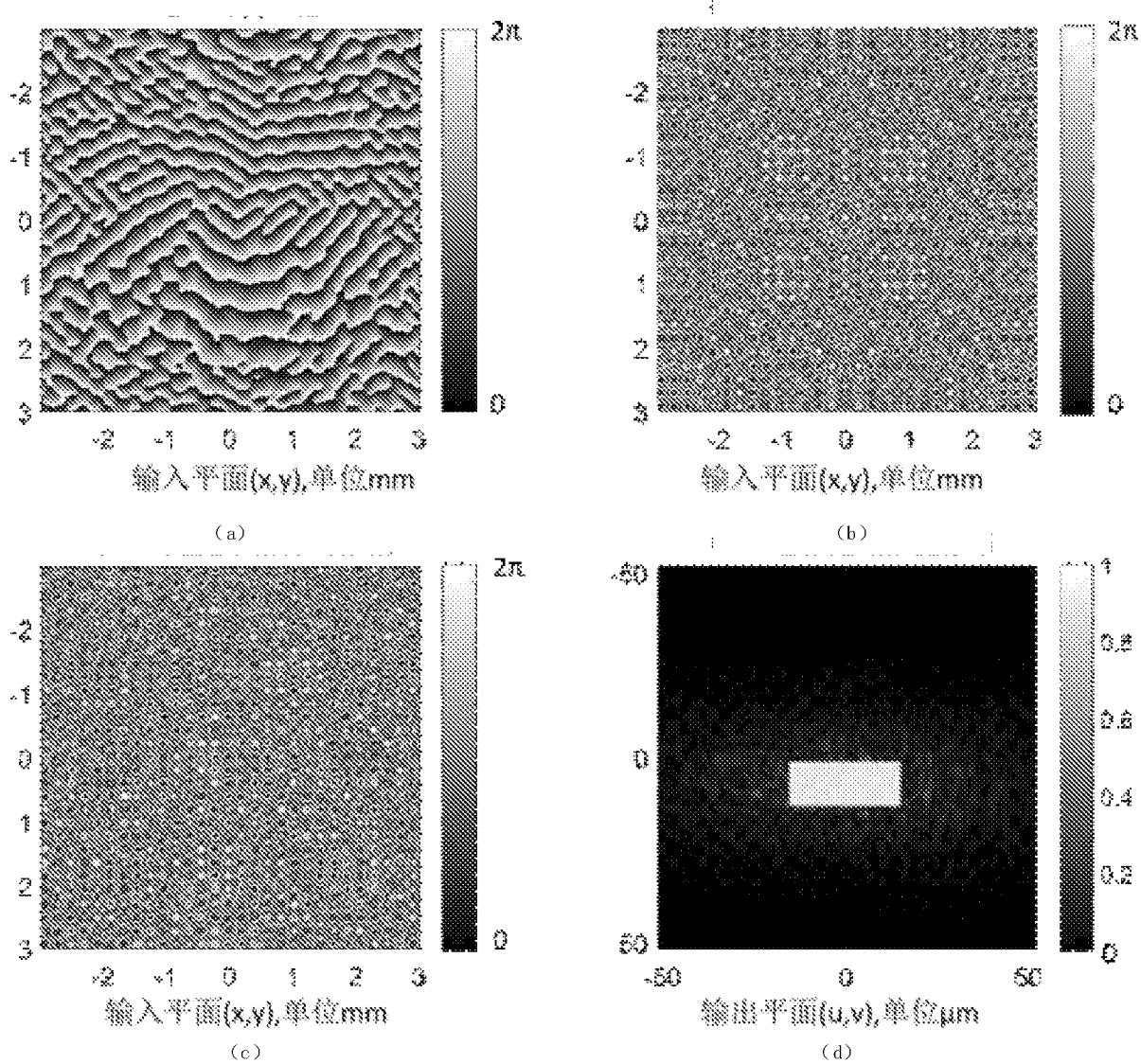

2π
0
输入平面(x,y),单位mm
（a）
2π
0
输入平面(x,y),单位mm
（b）
2π
0
输入平面(x,y),单位mm
（c）
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
输出平面(u,v),单位μm
（d）

图 3

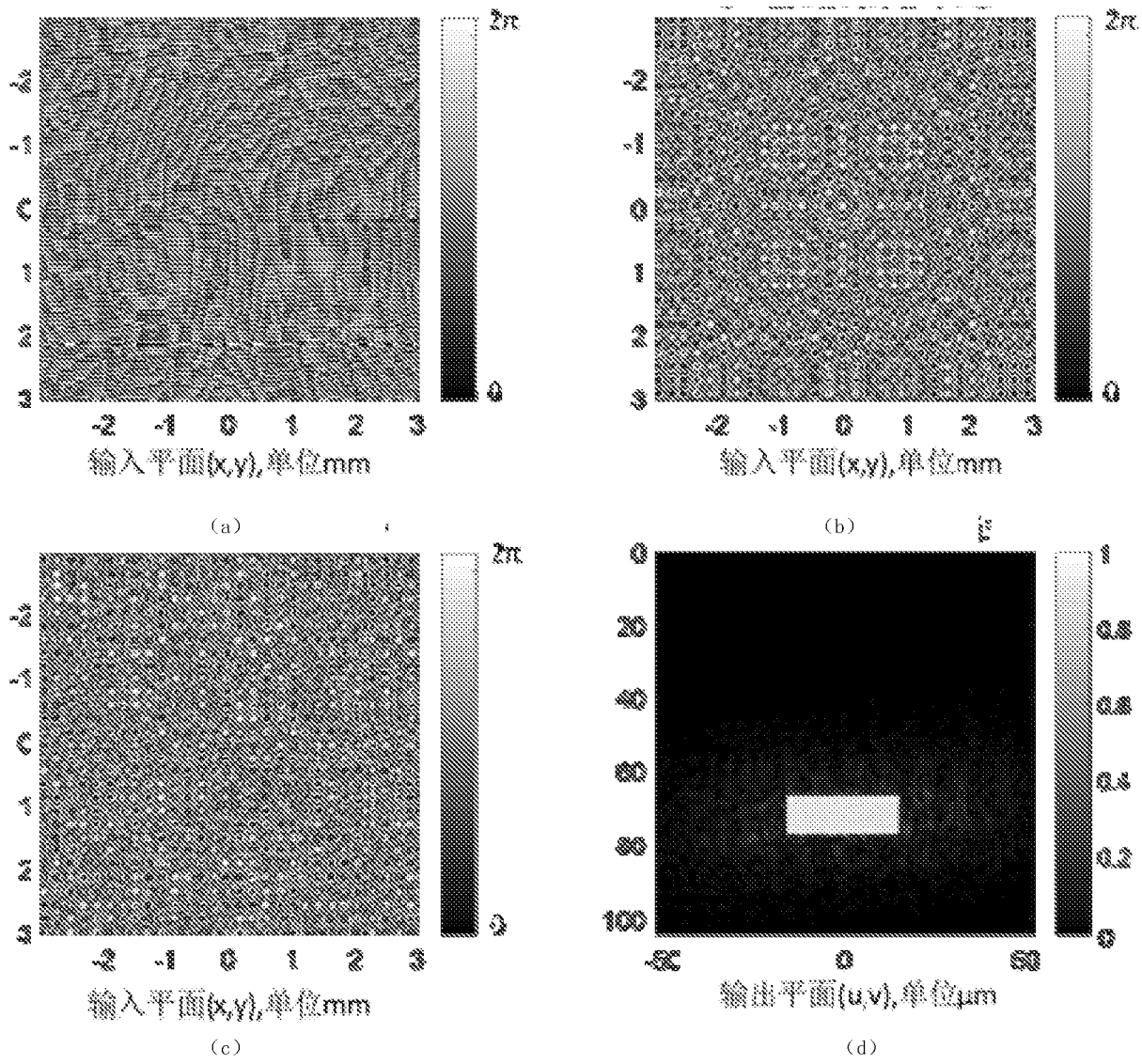

2π
0
-2 -1 0 1 2 3
输入平面(x,y),单位mm
(a)
2π
0
-2 -1 0 1 2 3
输入平面(x,y),单位mm
(b)
2π
0
-2 -1 0 1 2 3
输入平面(x,y),单位mm
(c)
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
20
40
60
80
100
0
50
输出平面(u,v),单位μm
(d)

图 4

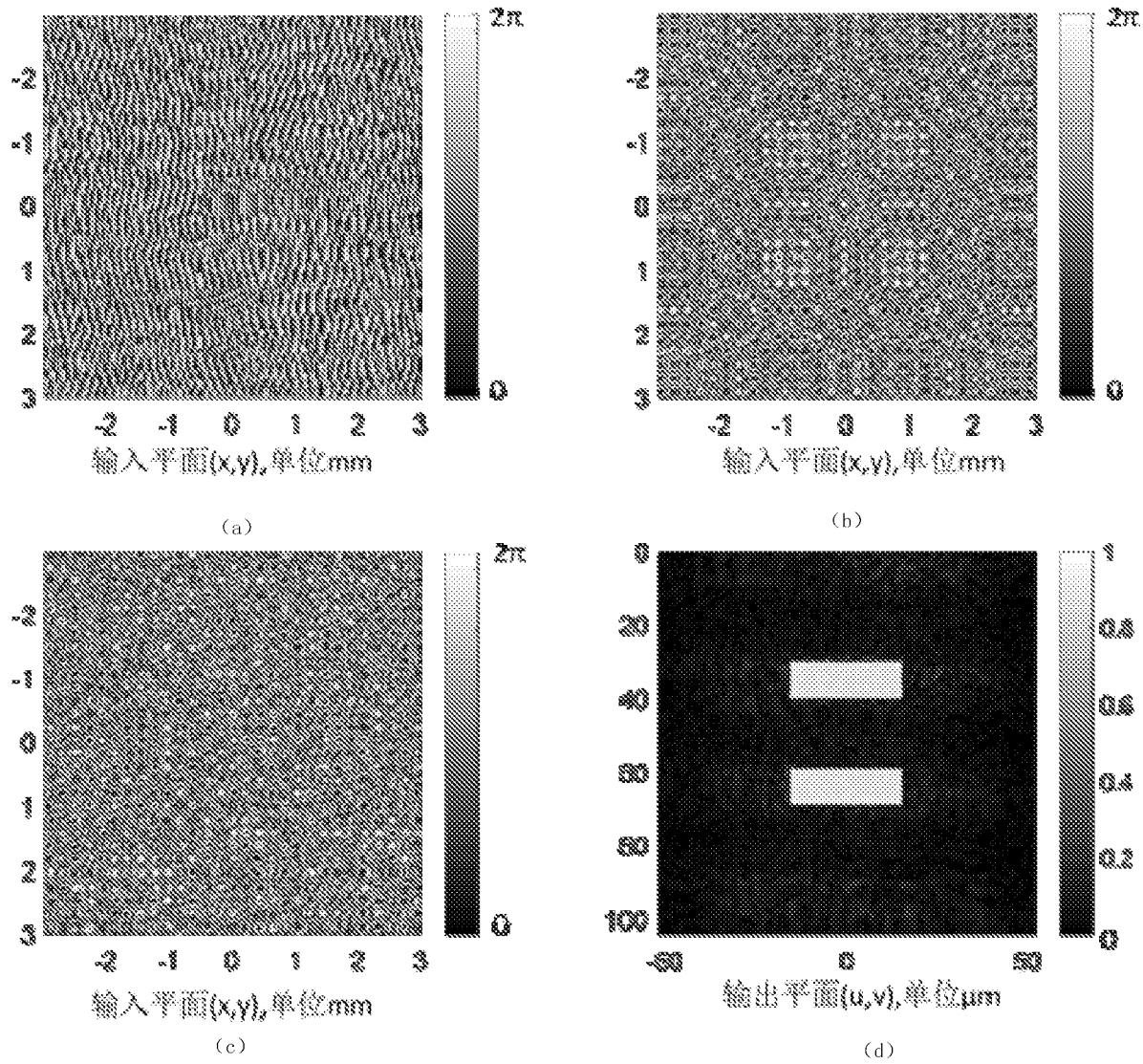
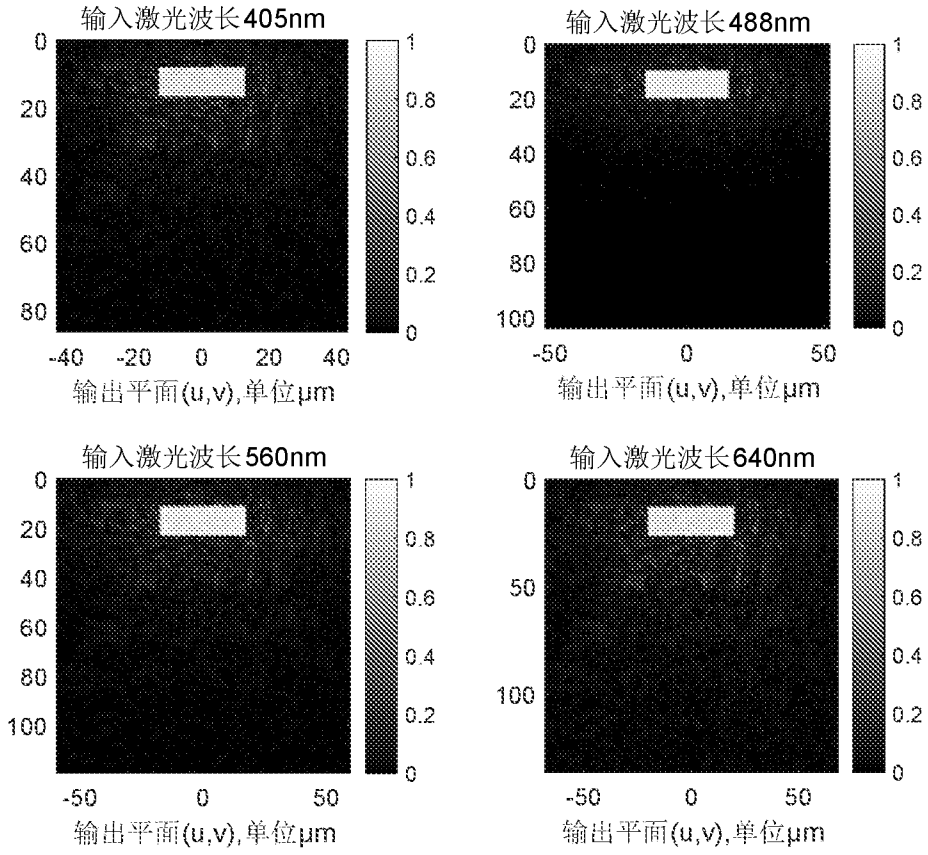
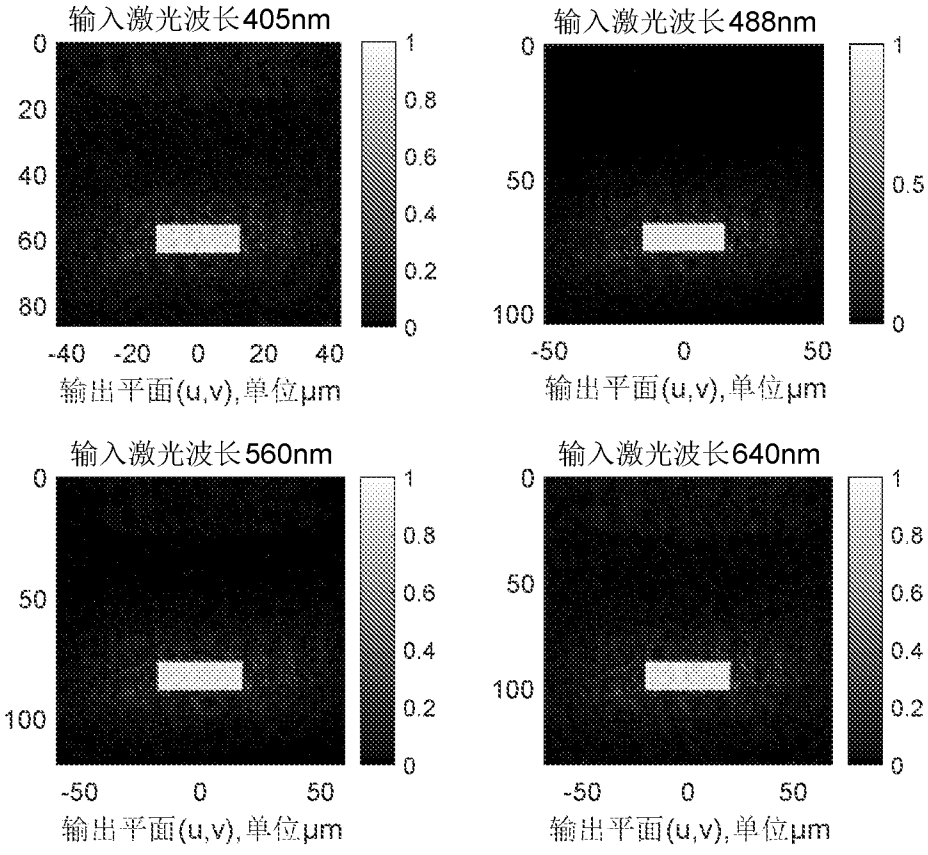

2π
0
-2 -1 0 1 2 3
输入平面(x,y),单位mm
(a)
2π
0
-2 -1 0 1 2 3
输入平面(x,y),单位mm
(b)
2π
0
-2 -1 0 1 2 3
输入平面(x,y),单位mm
(c)
0 20 40 60 80 100
-50 0 50
1 0.8 0.6 0.4 0.2 0
输出平面(u,v),单位μm
(d)

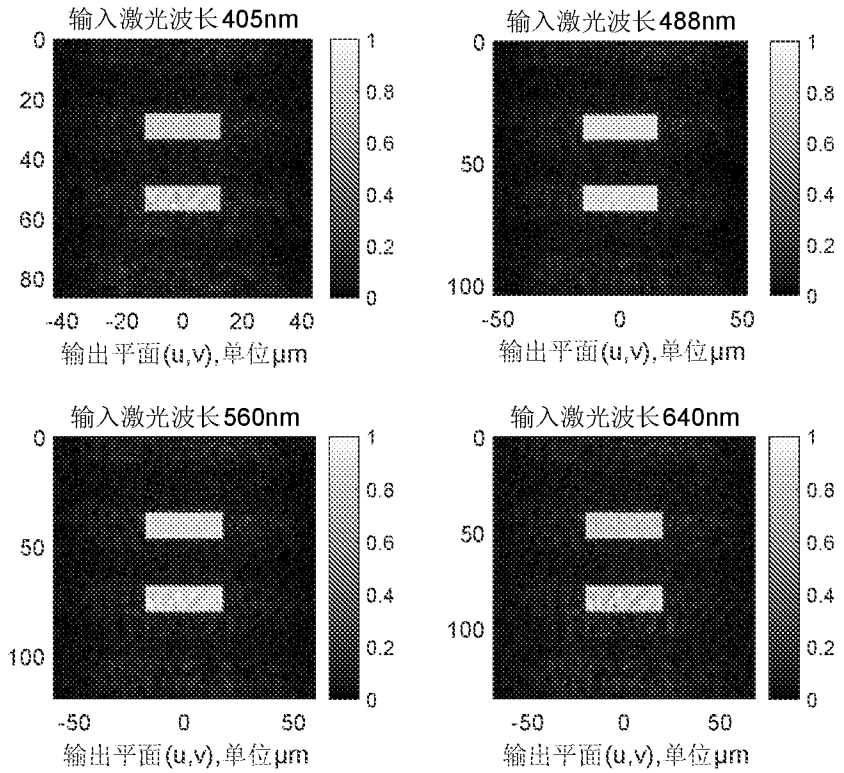
图 5


输入激光波长405nm
输入激光波长488nm
输入激光波长560nm
输入激光波长640nm
输出平面(u,v),单位μm

（a）

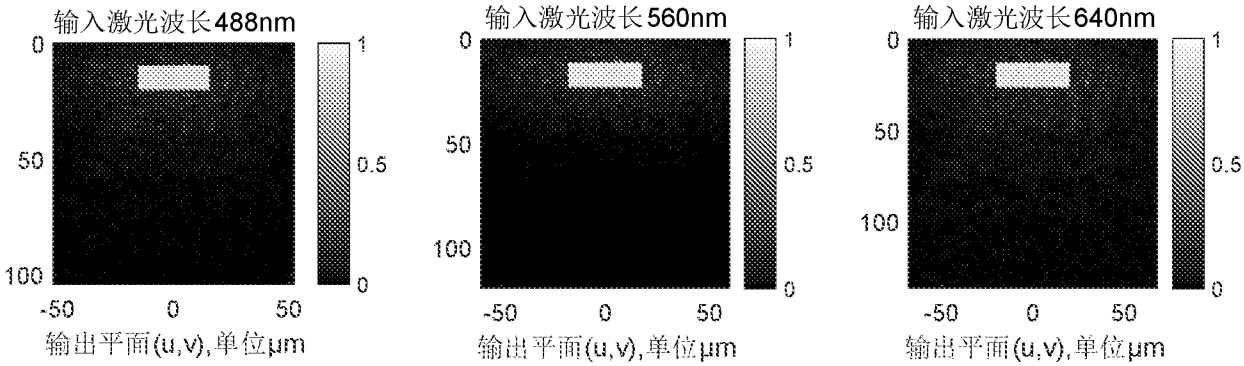

输入激光波长405nm
输入激光波长488nm
输入激光波长560nm
输入激光波长640nm
输出平面(u,v),单位μm

（b）

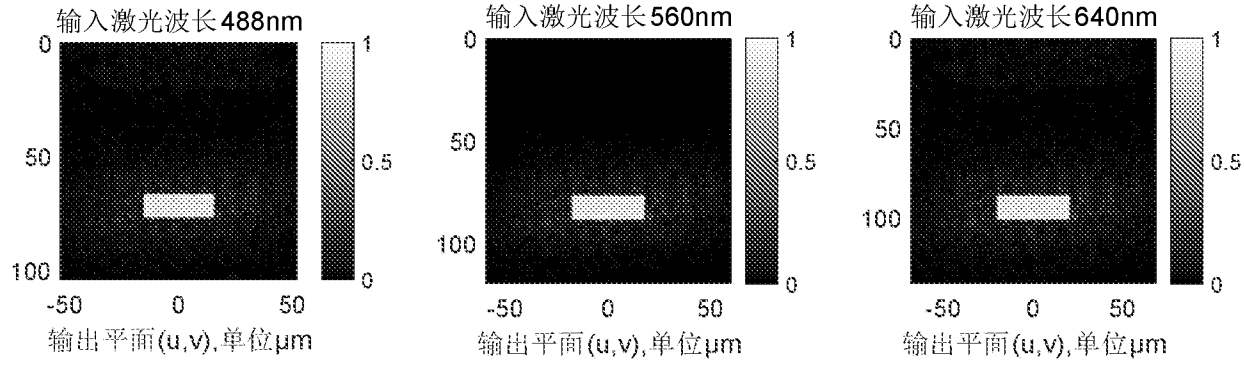

输入激光波长405nm
输入激光波长488nm
输入激光波长560nm
输入激光波长640nm
输出平面(u,v),单位μm

（c）

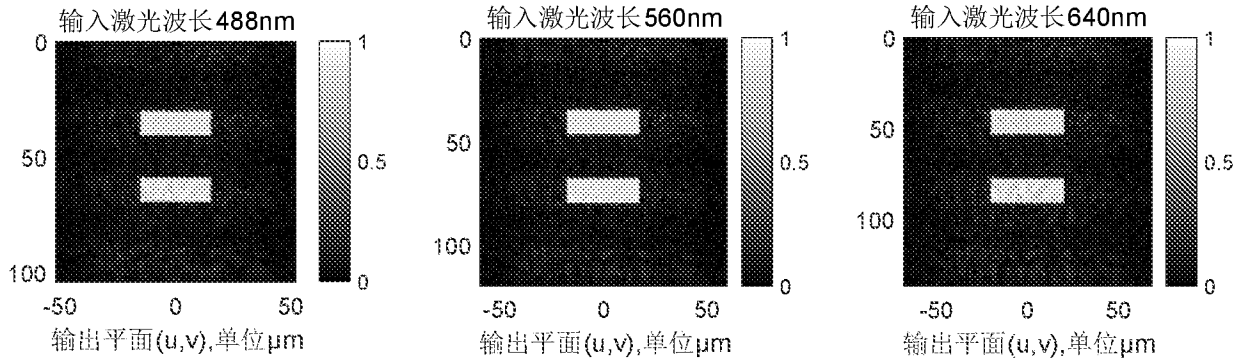
图 6


输入激光波长488nm
输入激光波长560nm
输入激光波长640nm
输出平面(u,v),单位μm

（a）

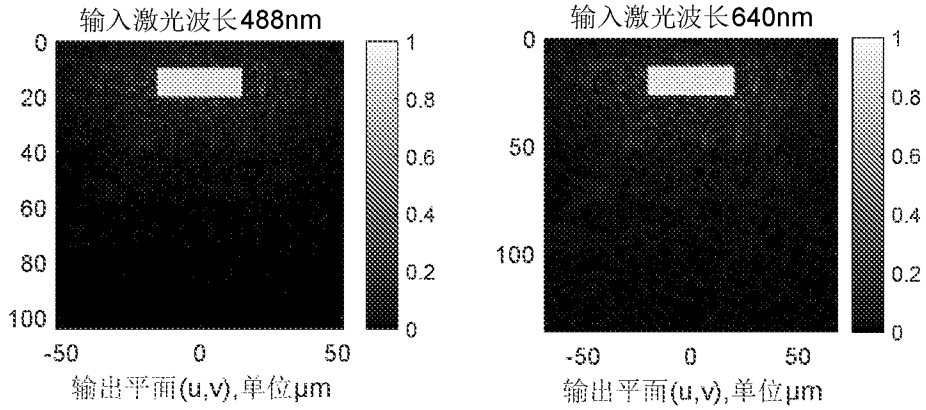

输入激光波长488nm
输入激光波长560nm
输入激光波长640nm
输出平面(u,v),单位μm

（b）

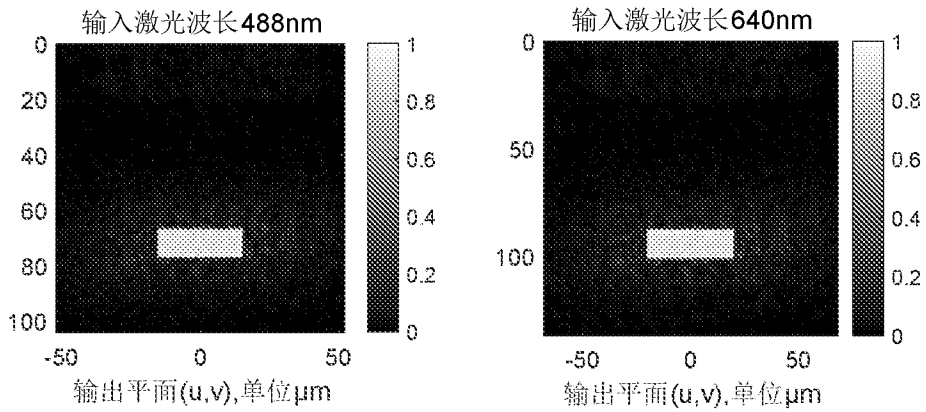

输入激光波长488nm
输入激光波长560nm
输入激光波长640nm
0
50
100
-50
0
50
1
0.5
0
输出平面(u,v),单位μm

（c）

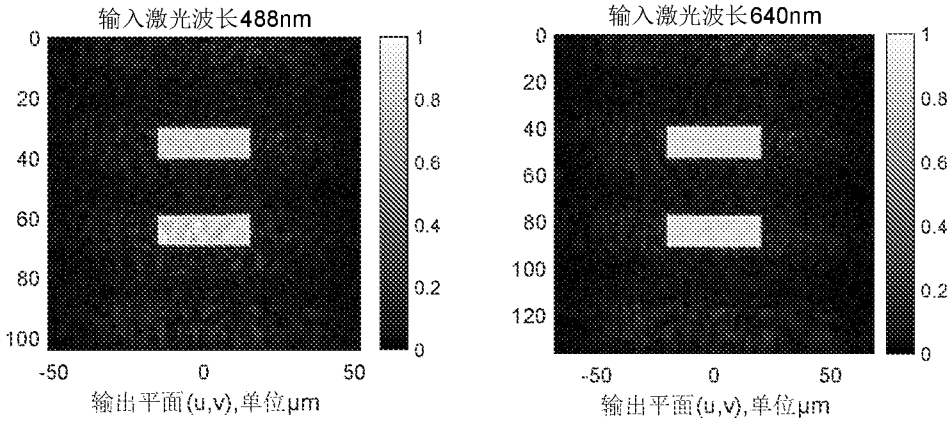
图 7


输入激光波长488nm
输入激光波长640nm
0
20
40
60
80
100
50
-50
0
50
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
输出平面(u,v),单位μm

（a）


输入激光波长488nm
输入激光波长640nm
0
20
40
60
80
100
50
-50
0
50
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
输出平面(u,v),单位μm

（b）


输入激光波长488nm
输入激光波长640nm
输出平面(u,v),单位μm
输出平面(u,v),单位μm

（c）

图 8

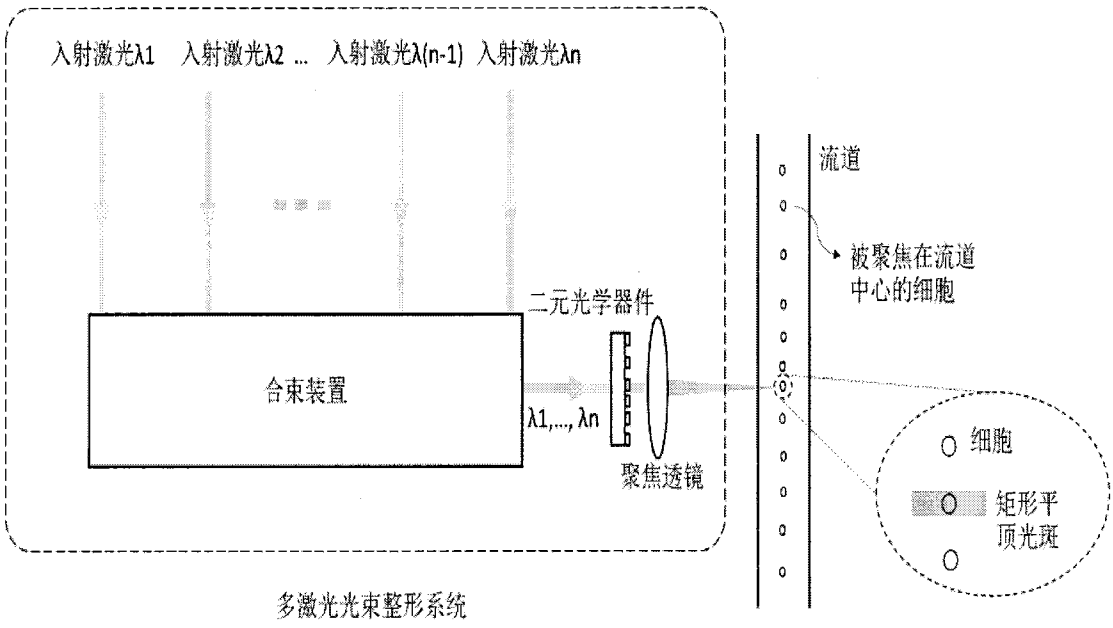

入射激光λ1 入射激光λ2 ... 入射激光λ(n-1) 入射激光λn
二元光学器件
合束装置
λ1,..., λn
聚焦透镜
流道
被聚焦在流道中心的细胞
细胞
矩形平顶光斑
多激光光束整形系统

图 9

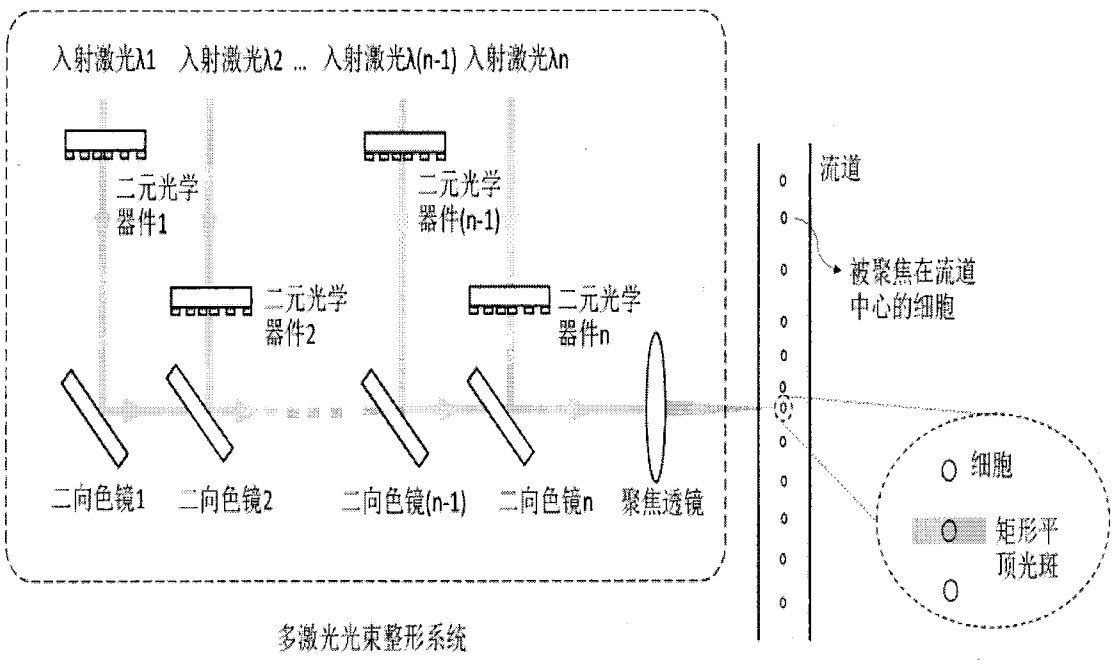
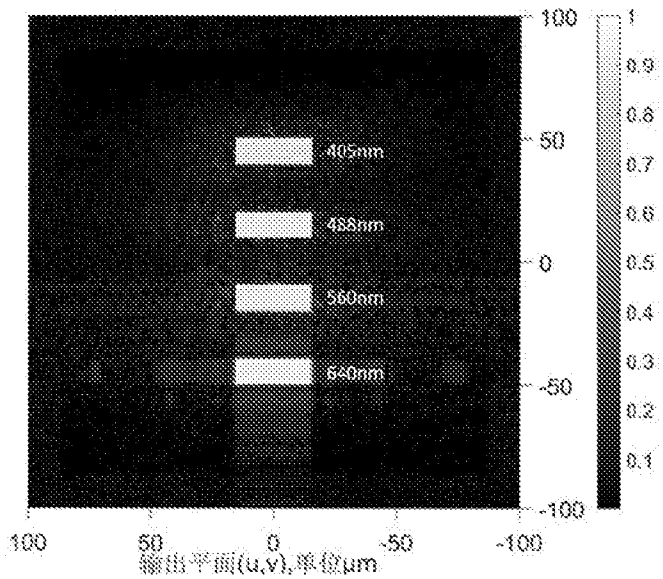
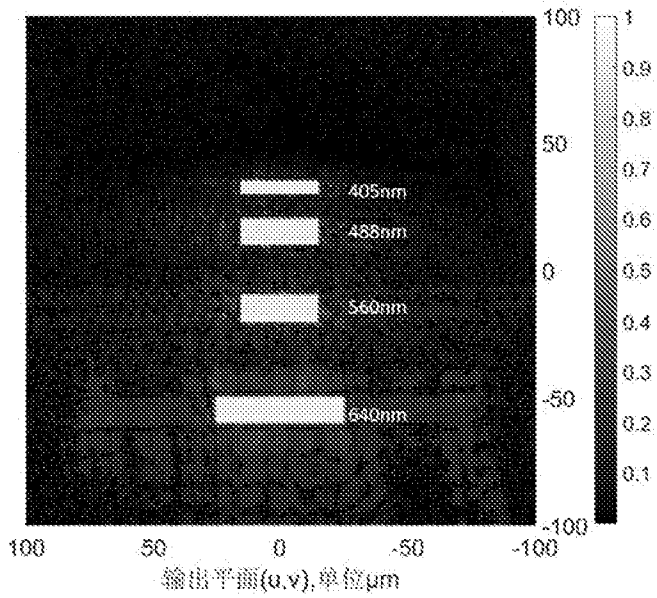

入射激光λ1 入射激光λ2 ... 入射激光λ(n-1) 入射激光λn
二元光学器件1
二元光学器件(n-1)
二元光学器件2
二元光学器件n
二向色镜1
二向色镜2
二向色镜(n-1)
二向色镜n
聚焦透镜
流道
被聚焦在流道中心的细胞
细胞
矩形平顶光斑
多激光光束整形系统

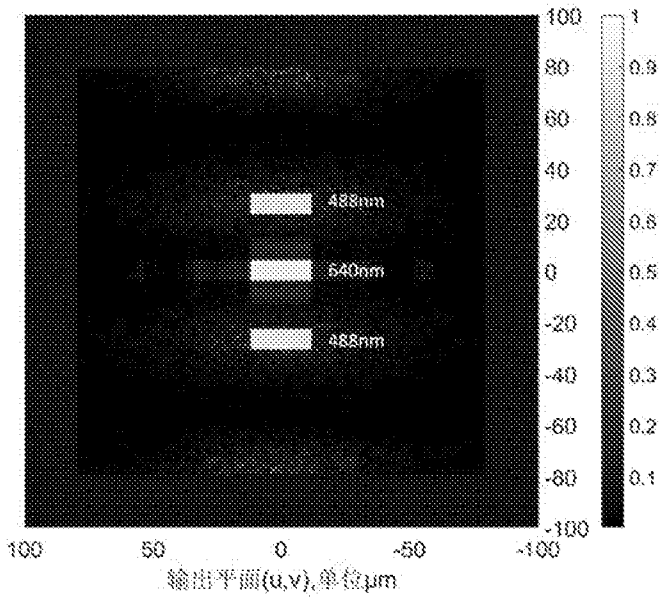
图 10


405nm
488nm
560nm
640nm
100
50
0
-50
-100
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
输出平面(u,v),单位μm

（a）


405nm
488nm
560nm
640nm
100
50
0
-50
-100
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
输出平面(u,v),单位μm

（b）


488nm
640nm
488nm
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
100
50
0
-50
-100
输出平面(u,v),单位μm

（c）

图 11

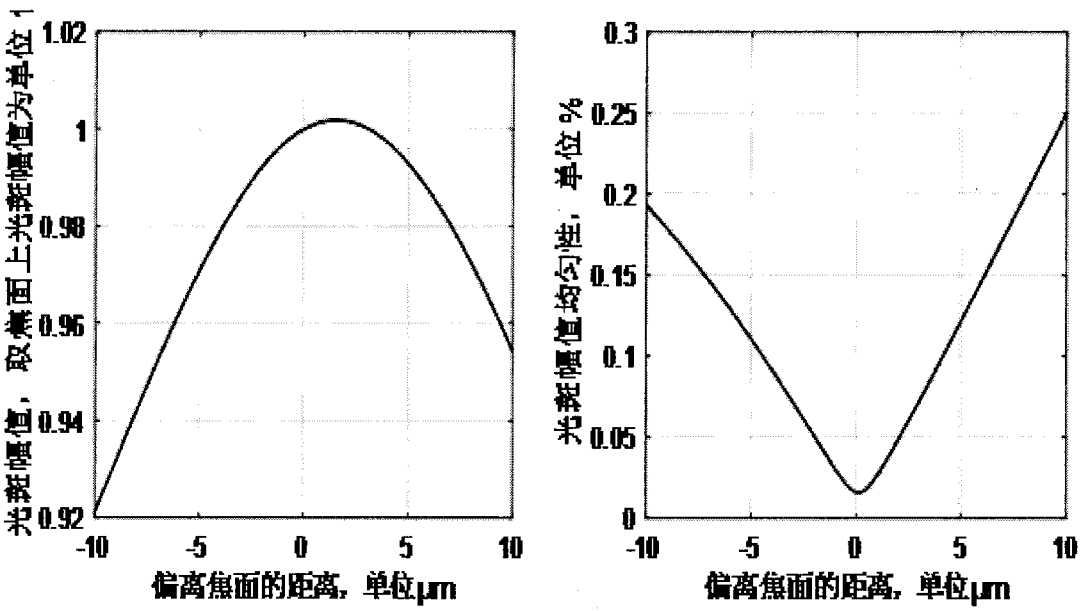
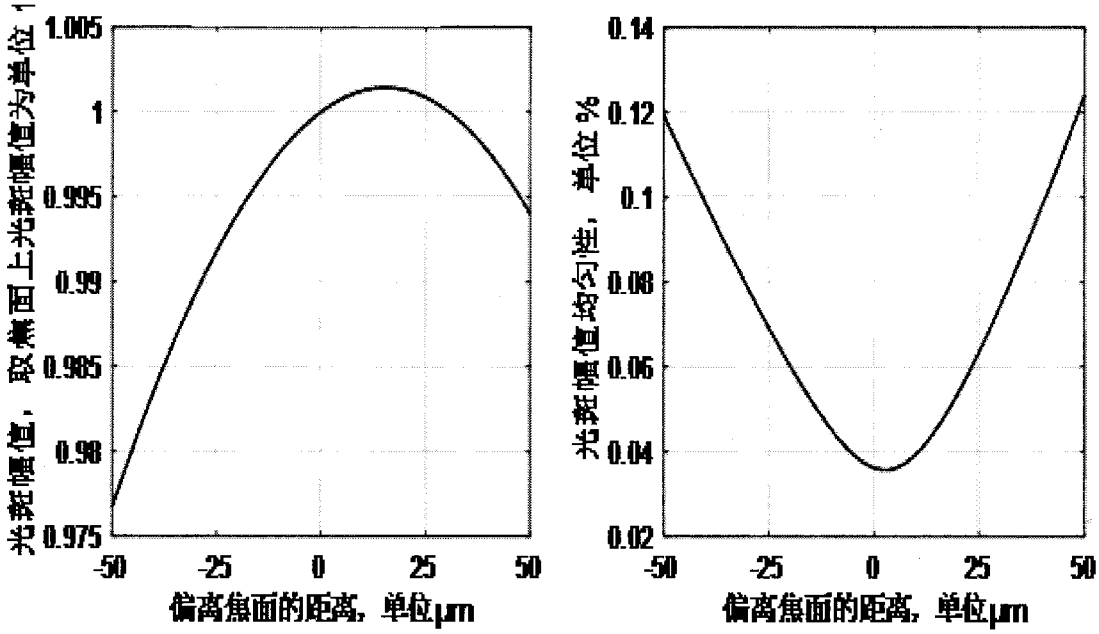

光斑强度值，成像面上光斑强度值为单位 1
1.02
1
0.98
0.96
0.94
0.92
-10
-5
0
5
10
偏离焦面的距离，单位μm
(a)
光斑强度值均匀性，单位 %
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
-10
-5
0
5
10
偏离焦面的距离，单位μm
(b)

图 12


光斑幅值，取焦面上光斑幅值为单位 1
1.005
1
0.995
0.99
0.985
0.98
0.975
-50
-25
0
25
50
偏离焦面的距离，单位μm
光斑幅值均匀性，单位 %
0.14
0.12
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
-50
-25
0
25
50
偏离焦面的距离，单位μm

(a) (b)

图 13

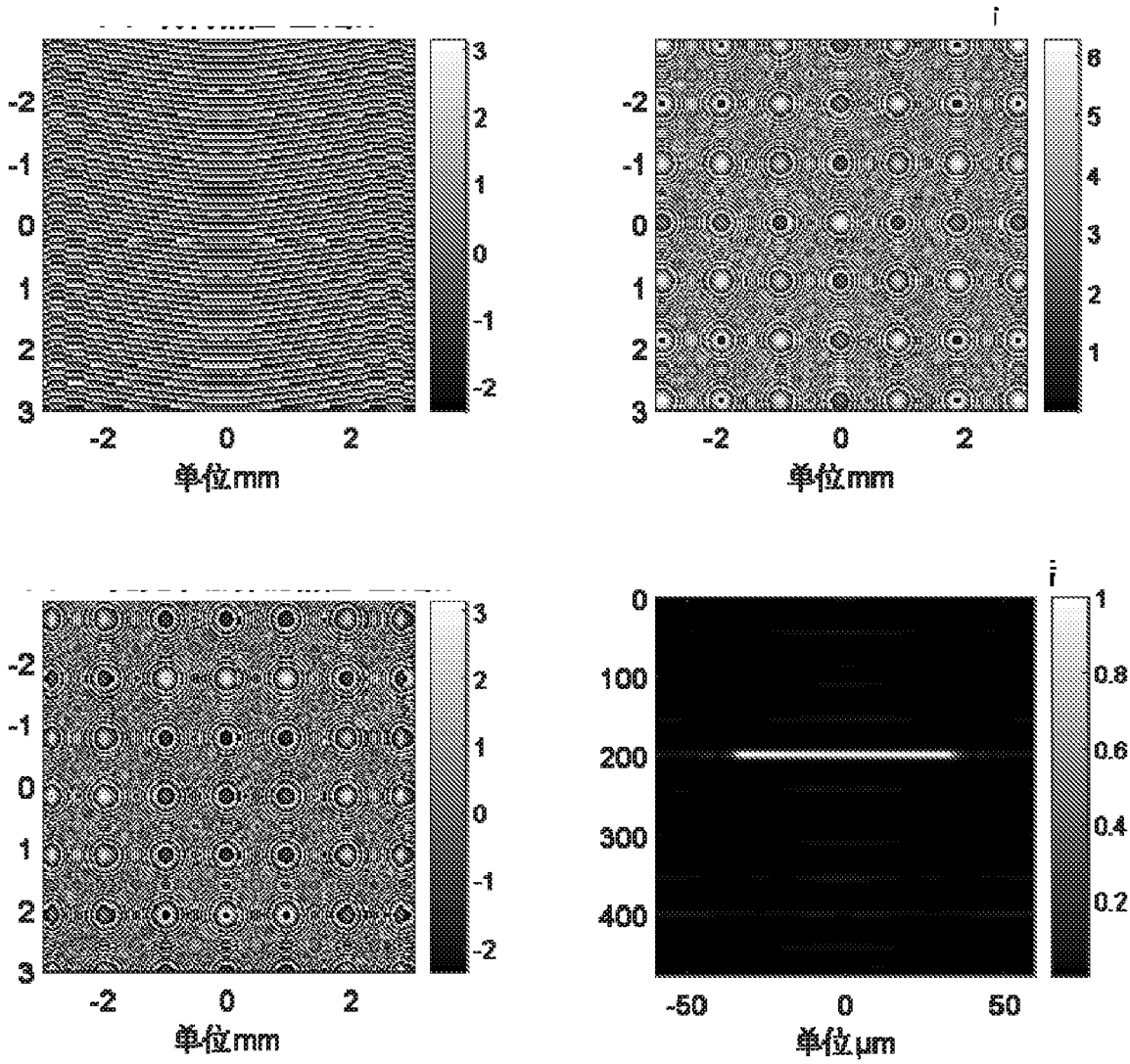

-2
-1
0
1
2
3
-2
0
2
单位mm
3
2
1
0
-1
-2
6
5
4
3
2
1
0
100
200
300
400
-50
0
50
单位μm
0.8
0.6
0.4
0.2

图 14

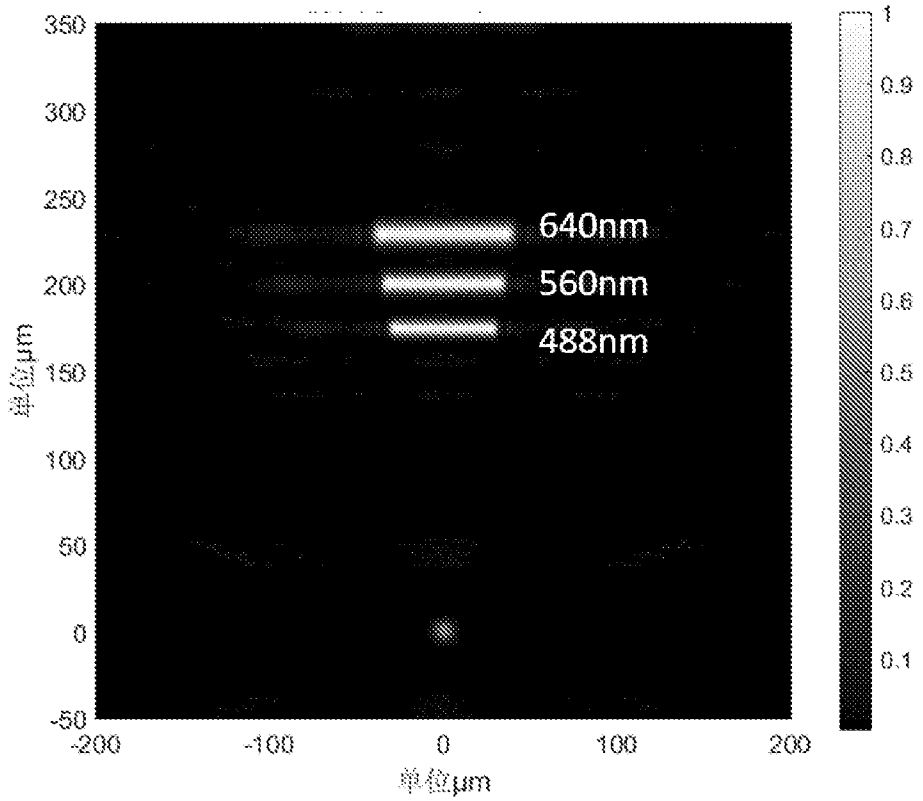

640nm
560nm
488nm
350
300
250
200
150
100
50
0
-50
-200
-100
0
100
200
单位μm
单位μm
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1

图 15

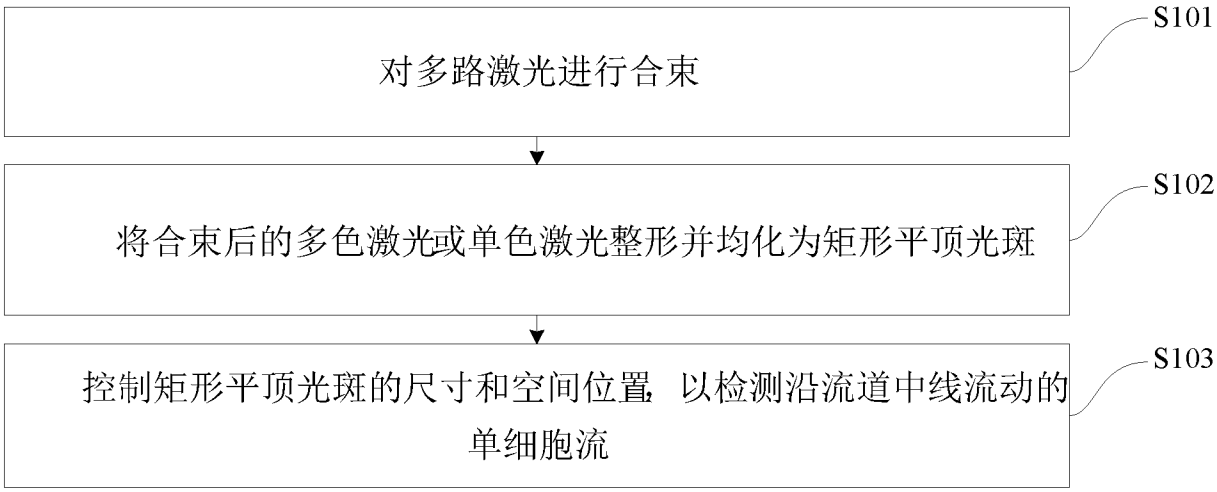

对多路激光进行合束
S101
将合束后的多色激光或单色激光整形并均化为矩形平顶光斑
S102
控制矩形平顶光斑的尺寸和空间位置，以检测沿流道中线流动的单细胞流
S103

图 16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/083232

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 15/14(2006.01)i; G02B 27/09(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)

G01N 15 G02B 27

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, CNKI, ISI: 二元器件, 流式细胞仪, 整形, 衍射,binary optical element, flow cytometry, shap+, diffract+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	CN 108646422 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 12 October 2018 (2018-10-12) claims 1-10	1-10
X	CN 104503101 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 08 April 2015 (2015-04-08) description, paragraphs 0037 and 0038, and figure 4	1-10
A	US 2015077869 A1 (COHERENT INC) 19 March 2015 (2015-03-19) entire document	1-10
A	CN 106383081 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 08 February 2017 (2017-02-08) entire document	1-10
A	CN 105987870 A (CAPITALBIO CORPORATION; TSINGHUA UNIVERSITY) 05 October 2016 (2016-10-05) entire document	1-10

☐ 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	Date of mailing of the international search report
16 January 2019	**30 January 2019**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
State Intellectual Property Office of the P. R. China (ISA/CN) **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088** **China**	
Facsimile No. **(86-10)62019451**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2018/083232

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	108646422	A	12 October 2018	None			
CN	104503101	A	08 April 2015	CN	104503101	B	18 January 2017
US	2015077869	A1	19 March 2015	US	9091803	B2	28 July 2015
				WO	2015041742	A1	26 March 2015
CN	106383081	A	08 February 2017	WO	2018035977	A1	01 March 2018
CN	105987870	A	05 October 2016	US	2016231223	A1	11 August 2016

国际检索报告

国际申请号 PCT/CN2018/083232

A. 主题的分类

G01N 15/14(2006.01)i; G02B 27/09(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)

G01N 15 G02B 27

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, CNKI, ISI, 二元器件，流式细胞仪，整形，衍射,binary optical element, flow cytometry, shap+, diffract+

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
E	CN 108646422 A (清华大学) 2018年 10月 12日 (2018-10-12) 权利要求1-10	1-10
X	CN 104503101 A (清华大学) 2015年 4月 8日 (2015-04-08) 说明书0037-0038段以及附图4	1-10
A	US 2015077869 A1 (COHERENT INC) 2015年 3月 19日 (2015-03-19) 全文	1-10
A	CN 106383081 A (清华大学) 2017年 2月 8日 (2017-02-08) 全文	1-10
A	CN 105987870 A (博奥生物集团有限公司 清华大学) 2016年 10月 5日 (2016-10-05) 全文	1-10

☐ 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	国际检索报告邮寄日期
2019年 1月 16日	2019年 1月 30日

ISA/CN的名称和邮寄地址	受权官员
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	赵晓宇
传真号 (86-10)62019451	电话号码 86-(010)-62084132

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2018/083232

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	108646422	A	2018年 10月 12日	无			
CN	104503101	A	2015年 4月 8日	CN	104503101	B	2017年 1月 18日
US	2015077869	A1	2015年 3月 19日	US	9091803	B2	2015年 7月 28日
				WO	2015041742	A1	2015年 3月 26日
CN	106383081	A	2017年 2月 8日	WO	2018035977	A1	2018年 3月 1日
CN	105987870	A	2016年 10月 5日	US	2016231223	A1	2016年 8月 11日