

一种激发荧光强度均匀校正方法

申请号：[201110064845.3](#)

申请日：2011-03-17

申请(专利权)人 [中国科学院自动化研究所](#)
地址 100190 北京市海淀区中关村东路95号
发明(设计)人 [田捷](#) [薛贞文](#) [杨鑫](#) [秦承虎](#)
主分类号 [A61B5/00\(2006.01\)I](#)
分类号 [A61B5/00\(2006.01\)I](#)
公开(公告)号 102172324A
公开(公告)日 2011-09-07
专利代理机构 [中科专利商标代理有限责任公司](#) 11021
代理人 [梁爱荣](#)



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102172324 B

(45) 授权公告日 2012. 11. 21

(21) 申请号 201110064845. 3

审查员 杨德智

(22) 申请日 2011. 03. 17

(73) 专利权人 中国科学院自动化研究所
地址 100190 北京市海淀区中关村东路 95 号

(72) 发明人 田捷 薛贞文 杨鑫 秦承虎

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021
代理人 梁爱荣

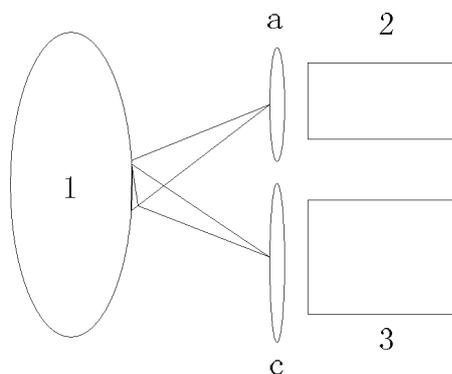
(51) Int. Cl.
A61B 5/00(2006. 01)

(56) 对比文件
CN 201754202 U, 2011. 03. 02, 全文.
CN 101750750 A, 2010. 06. 23, 全文.
JP 特开 2006-308556 A, 2006. 11. 09, 全文.

权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

(54) 发明名称
一种激发荧光强度均匀校正方法

(57) 摘要
本发明涉及一种激发荧光强度均匀校正方法,所述方法的技术方案如下:利用光谱曲线相同的两片激发滤光片,一片放在激发光源出口,另一片放在 CCD 探测器前,经激发光照射物体时探测器获得第一图像;将放在 CCD 探测器前的滤光片换成发射滤光片,经激发光照射物体时探测器获得第二图像。接下来将第二图像中像素值除以第一图像中相应像素值获得中间校正图像。对中间校正图像进行归一化和取整处理得到最终校正图像。经过激发荧光强度均匀校正后的图像修正了受激发的物体表面接收激发光强度不均匀所带来的误差,因此能更真实地反映受激发的荧光图像。



1. 一种激发荧光强度均匀校正方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

步骤 S1:将第一激发滤光片放在激发荧光源出口,将第二激发滤光片放在 CCD 探测器前,经激发荧光照射物体时探测器获得第一图像;第一激发滤光片和第二激发滤光片为带通滤光片,带通滤光片中心波长为 488nm、半峰全宽为 20nm、透过率 > 90%;

步骤 S2:第一激发滤光片仍放在激发荧光源出口,移除放在 CCD 探测器前的第二激发滤光片,在 CCD 探测器前放置发射滤光片,经激发荧光照射物体时探测器获得第二图像;发射滤光片为带通滤光片,中心波长为 525nm、半峰全宽为 20nm、透过率 > 90%;

步骤 S3:将第二图像中的所有像素值除以第一图像中对应像素值,获得中间校正图像;

步骤 S4:对中间校正图像进行归一化和取整处理得到最终校正图像。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述第一激发滤光片和第二激发滤光片具有相同的光谱曲线。

一种激发荧光强度均匀校正方法

技术领域

[0001] 本发明涉及到一种激发荧光强度均匀校正方法,在激发荧光成像技术中有很好的应用前景。

背景技术

[0002] 分子影像是应用影像学方法,对活体状态下的生物过程进行细胞和分子水平的定性和定量研究。分子影像融合了分子生物化学、数据处理、纳米技术、图像处理等现代科学的前沿技术,具有高特异性、高灵敏度和超高图像分辨率。传统医学影像诊断显示的是分子改变的最终效应,而分子影像学则着眼于细胞或分子水平的生理和病理变化,不仅可以提高临床诊治疾病的水平,更重要的是有望在分子细胞水平发现疾病,真正达到早期诊断和早期治疗。在进入实际应用后,分子影像学必将能为临床诊断提供更加准确的定性、定位、定量信息。目前,分子影像已成为当前科学研究的热点。

[0003] 激发荧光成像(Fluorescence Molecular Imaging)是近年来发展起来的一种新型的分子、基因表达的分析检测技术,并且越来越得到人们的重视。激发荧光成像的快速发展一方面得益于人们在荧光蛋白、染料、分子探针等方面取得的成果,这使得人们能够对基因表达、蛋白质功能、蛋白质之间的交互、细胞生命活动等问题进行在体的、非侵入式的研究;另一方面,成像理论与方法的不断改进也使得通过对激发荧光的研究能够更加准确地进行生物在体研究。

[0004] 激发荧光成像的原理可以描述为:当外源光照射到带有荧光团的生物组织上时,荧光团吸收光能使得电子跃迁到了激发态,电子从激发态回到基态的过程中会释放出荧光,该荧光较吸收的光向红端移动,即发射的荧光比吸收的外源光的能量低,荧光在组织体内传播并有一部分达到体表,从体表发出的荧光被探测器接收到,从而形成荧光图像。一般而言,荧光团发射出的荧光经过组织体散射,光的强度已经很弱,用肉眼很难观测到,因此需要在完全避光的暗箱中进行成像,并且要求探测器的灵敏度要高,通常利用一个低温制冷的高度灵敏的 CCD 相机来探测组织体表的荧光光子,利用 CCD 相机的另一个好处是空间分辨率较高。

[0005] 在激发荧光分子成像中,经过光纤引导的激发光照射在生物体上时照射不均匀,使得激发光在生物组织上的光强不是均匀分布。实际上,生物表面的不规则性及激发光源的扩散性使得均匀照射几乎不可能。由于物体表面受到激发光强度不一致,从而使得获得的荧光图像中的荧光强度分布不能真实反映生物体组织荧光光源物质的相对浓度。

发明内容

[0006] 为了解决公开技术存在的荧光图像中的荧光强度分布不能真实反映生物体组织荧光光源物质的相对浓度的技术问题,本发明的目的是提供一种激发荧光强度均匀校正方法。

[0007] 为达成所述目的,本发明激发荧光强度均匀校正方法的核心思想是利用激发滤光

片获得激发光照射强度在生物体表面的分布,并应用该信息对最终获得的受激发荧光图像进行校正。该方法包括以下步骤:

[0008] 步骤 S1:将第一激发滤光片放在激发光源出口,将第二激发滤光片放在 CCD 探测器前,经激发光照射物体时探测器获得第一图像;

[0009] 步骤 S2:第一激发滤光片仍放在激发光源出口,移除放在 CCD 探测器前的第二激发滤光片,在 CCD 探测器前放置发射滤光片,经激发光照射物体时探测器获得第二图像;

[0010] 步骤 S3:将第二图像中的所有像素值除以第一图像中对应像素值,获得中间校正图像;

[0011] 步骤 S4:对中间校正图像进行归一化和取整处理得到最终校正图像。

[0012] 其中,所述第一激发滤光片和第二激发滤光片具有相同的光谱曲线。

[0013] 本发明的有益效果:本发明通过两片光谱透过曲线完全的激发滤光片,从而获得成像物体表面各处受到激发光照射的强度分布,再通过此图像对获得的荧光图像分布进行修正,从而解决了获取的荧光图像中的强度分布不能反映该处真实的荧光光源的强度大小的问题,使得修正后的图像更具实际意义。

附图说明

[0014] 图 1 是获得第一图像的示意图。

[0015] 图 2 是获得第二图像的示意图。CCD 探测器通过发射滤光片接收生物体产生的激发荧光。

[0016] 图 3 是本发明的图像实例。

具体实施方式

[0017] 下面结合附图详细描述本发明的去除自体荧光干扰的方法。本方法主要包括以下步骤:

[0018] 步骤 S1:如附图 1 所示,在光学元件厂家定制光谱透过曲线相同(误差在 5%之内可接受)的第一激发滤光片 a 和第二激发滤光片 b。在成像对象 1 与激发光源 2 之间放置第一激发滤光片 a,在成像对象 1 与 CCD 探测器 3 之间放置第二激发滤光片 b,第一激发滤光片 a 放在激发光源 2 出口,激发光源 2 的发出的激发光经过第一激发滤光片 a 过滤后,照射到成像对象 1 表面,CCD 探测器 3 通过第二激发滤光片 b 接收生物体表面发射过来的激发光,获得第一图像。CCD 探测器 3 所获得的第一图像反映出激发光在生物体表面的照射强度分布。第一激发滤光片 a 和第二激发滤光片 b 为带通滤光片,带通滤光片中心波长为 488nm、半峰全宽为 20nm、透过率 > 90%。激发光源 2 的功率为 200W、可发出 400-900nm 谱段的光。CCD 探测器 3 为半导体制冷低温 CCD 相机,像素大小为 1024×1024,能完成微弱荧光信号的采集。第一图像反映了物体表面受激发光照射的强度分布,见附图 3a 为第一图像。

[0019] 步骤 S2:如附图 2 示出,在成像对象 1 与 CCD 探测器 3 之间移除第二激发滤光片 b,并将放在 CCD 探测器 3 前的第二激发滤光片 b 换成发射滤光片 c,激发光源 2 的发出的激发光经过第一激发滤光片 a 过滤后,照射到成像对象 1 表面,CCD 探测器 3 通过发射滤光片 c 接收生物体产生的激发荧光,获得第二图像。发射滤光片 c 为带通滤光片,中心波长为

525nm、半峰全宽为 20nm、透过率 > 90%。第二图像见附图 3b。所述移除第二滤光片是采用人工移除。

[0020] 步骤 S3 :将第二图像中像素值除以第一图像中相应像素值,获得中间校正图像 ;

[0021] 步骤 S4 :对中间校正图像经过归一化和取整处理得到最终校正图像,最终校正图像见附图 3c。

[0022] 以上所述,仅为本发明中的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉该技术的人在本发明所揭露的技术范围内,可理解想到的变换或替换,都应涵盖在本发明的权利要求书的保护范围之内。

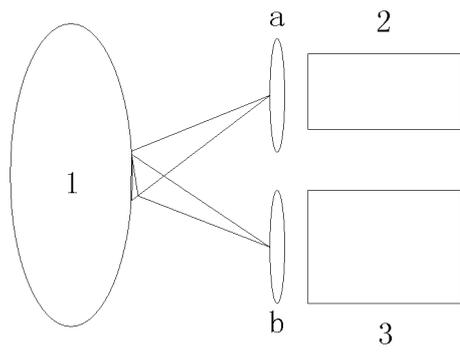


图 1

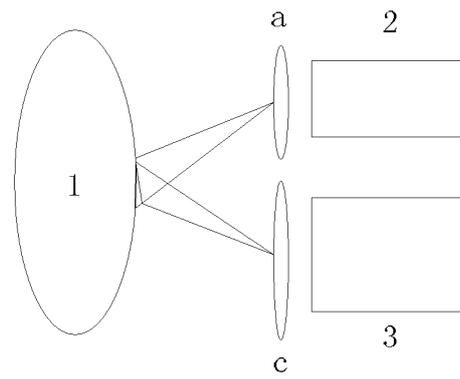


图 2

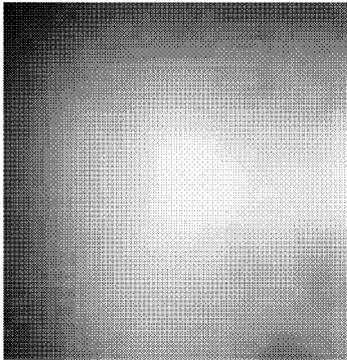


图 3a

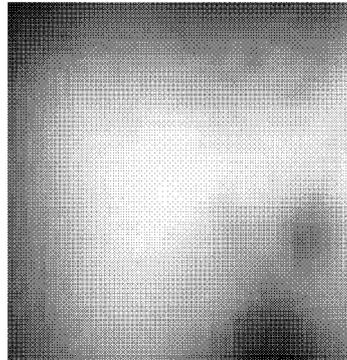


图 3b

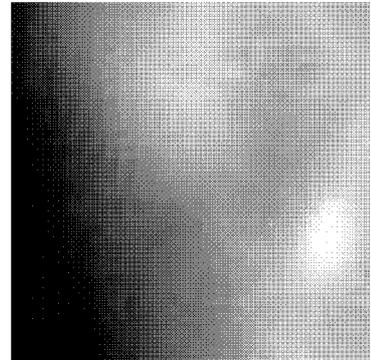


图 3c