

文章编号 1004-924X(2024)16-2455-09

双波段 LED 照明的基因测序荧光显微系统设计

刘美辰^{1,2}, 孟庆宇^{1*}, 张洪文¹, 王克军¹, 李云辉¹, 王思琦^{1,2}, 王江南^{1,2}

(1. 中国科学院 长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033;

2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 荧光显微成像系统是基因测序仪的关键模块之一, 为了确保基因测序的准确性, 荧光成像系统要能够实现高分辨率, 高质量成像。为满足对基因测序仪小型化, 低成本, 高分辨率的需求, 本文设计了一种基于窄带 LED 照明的双波段基因测序荧光显微成像系统。首先, 根据荧光显微成像的基本原理, 利用临界照明原理设计基于 LED 的照明系统, 通过仿真分析优化照明均匀性, 并利用分束镜完成高分辨率、高成像质量的成像系统设计。通过设计方案完成了样机研制, 并验证了成像性能。根据测试结果显示, 所设计的显微系统 XY 方向分辨率为 $0.8\ \mu\text{m}$, 照明均匀性优于 80%, 满足高分辨率成像要求。相较其他系统而言, 该系统整机具有小型化, 低成本的特点, 满足基因测序需求, 在发展小型化基因测序仪领域具有重要应用前景。

关键词: 基因测序; LED 照明; 荧光成像; 光学系统

中图分类号: TP394.1; TH691.9 **文献标识码:** A **doi:** 10.37188/OPE.20243216.2455

Design of gene sequencing fluorescence microscopic system with dual-band LED illumination

LIU Meichen^{1,2}, MENG Qingyu^{1*}, ZHANG Hongwen¹, WANG Kejun¹, LI Yunhui¹,
WANG Siqi^{1,2}, WANG Jiangnan^{1,2}

(1. Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences,
Changchun 130033, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

* Corresponding author, E-mail: mengqy@ciomp.ac.cn

Abstract: The fluorescence microscopy imaging system is one of the key modules of the gene sequencer. In order to ensure the accuracy of gene sequencing, the fluorescence imaging system must be able to achieve high resolution and high-quality imaging. To meet the requirements of miniaturization, low cost, and high resolution for gene sequencers, this paper designed a dual band gene sequencing fluorescence microscopy imaging system based on narrowband LED illumination. Firstly, based on the basic principle of fluorescence microscopy imaging, an LED based illumination system was designed using the critical illumination principle. The illumination uniformity was optimized through simulation analysis, and a high-resolution and high imaging quality imaging system was designed using a beam splitter. The prototype development was completed through the design scheme, and the imaging performance was verified. According to

收稿日期: 2024-02-29; 修订日期: 2024-04-12.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No. 62375264); 中国科学院青年创新促进会优秀会员 (No. Y2023061)

the test results, the designed microscopy system has a resolution of $0.8\ \mu\text{m}$ in the XY direction. The illumination uniformity is better than 80%, meeting the requirements of high-resolution imaging. Compared with other systems, this system has the characteristics of miniaturization and low cost, meeting the needs of gene sequencing, and has important application prospects in the development of miniaturized gene sequencers.

Key words: gene Sequencing; LED illumination; fluorescence imaging; optical system

1 引言

由于基因测序仪对基因测序具有高效性、准确性的优点,已经成为获取生物信息的有力工具。荧光显微成像是基因测序的核心技术之一^[1-5],该技术通过特定波长的照明光照射后,激发出不同的荧光物质,这些荧光物质发出的荧光波长不同,将荧光分离出来用于成像,便能实现生物信息的可视化,因此该技术成为一种精准定位疾病的方法^[6]。基因测序仪目前被广泛应用于人类健康、疾病防治、药物研究、生物工程等领域^[7]。

基因测序是对生物芯片中基因片段的四种碱基进行荧光成像,并通过图像识别、数据分析等手段得到其基因序列的过程^[8],为了确保基因测序的准确性,高成像质量的成像系统起到尤为关键的作用。通常采用荧光染色剂对碱基进行标记实现对四种碱基的区分,利用不同波段的激发光照射,激发出不同波段的荧光,每种荧光信号对应一种或几种碱基,最后将所得图像进行数据分析对比,确定基因序列中的碱基位置,完成对基因片段中碱基序列的测定^[9]。

关于基因测序荧光显微成像光学系统设计,国内外学者已开展广泛研究并取得一定成果。2011年,美国CG公司研制了一款高通量基因测序仪^[10],系统采用自主研发的显微物镜,该显微物镜的信息通量高,工作波段为490~712 nm,数值孔径达到1.0,物方视场为1.3 mm,显微物镜直径约160 mm,长度超过500 mm,整机系统的占地面积超过3 m²,研制成本高昂,由于该基因测序仪的性价比比较低,其使用也受到了限制。基因测序仪发展至今,出现了分辨率更高的单光子基因测序仪^[11]和双光子基因测

序仪等,但这些基因测序仪受到微小扰动会对检测结果有较大影响,因此还处于完善阶段,并未大量投产。目前研究基因测序成像光学系统的公司有很多,较为知名的有美国公司Illumina, ThermoFisher, 瑞士公司Roche和我国华大智造公司。荧光显微成像光学系统在高通量成像、成像能量集中度等方面实现了突破^[12-13],可以大幅度提高显微成像系统的信息通量。然而,这些系统通常体积过大、造价高昂,缺少能够在科研实验与寻常病理检测时快速筛查基因片段的小型化设备。

在此背景下,本文设计了一种双波段LED照明的基因测序荧光显微系统,采用罗丹明作为荧光分子探针,窄带红光LED光源及窄带绿光LED光源作为荧光的激发光源,设计光学结构与机械结构,制作样机并通过实验测试验证了系统的性能。本文实现了照明均匀性优于80%,系统分辨率约为 $0.8\ \mu\text{m}$ 的高成像质量、高成像分辨率的荧光显微系统设计。结果表明该系统可以针对生物芯片进行实时准确荧光成像,可以有效进行基因测序,满足对小型化基因测序系统的需求。

2 系统设计及其工作原理

2.1 系统总体设计

双波段基因测序荧光显微成像系统分为照明系统和成像系统,系统整体主要由LED光源,分束镜,镜筒透镜,显微物镜及CMOS相机等组成。系统原理图如图1所示。

系统的具体工作流程为:系统通过软件控制两个光源在同一位置先后发光完成成像,照明光源发出的光经激发滤光片及扩束镜整形,由分束

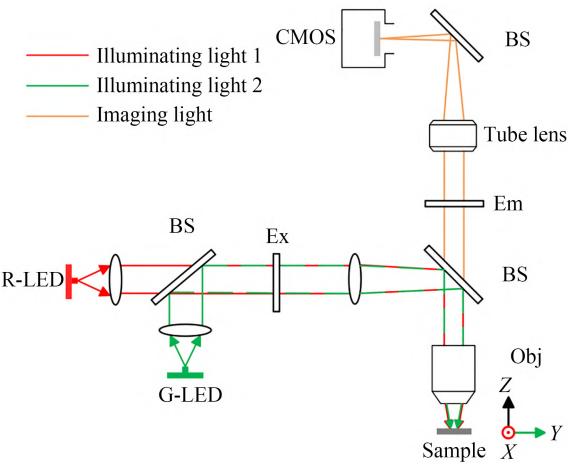


图 1 双波段基因测序荧光显微成像系统原理图
Fig. 1 Optical path of dual-band gene sequencing fluorescence microscopic imaging system

镜反射进入物镜后照亮生物芯片,激发可以基因测序的荧光信号。被激发的荧光经成像透镜聚焦于 CMOS 相机靶面,实现信息采集。通过系统在短时间内对生物芯片进行扫描成像,即可获取被荧光标记的碱基位置,再通过 CMOS 相机获取图像,最终经图像处理和数据对比即可得到生物芯片中被标记的基因序列。

基因测序荧光显微系统的系统放大倍率、系统分辨率及成像范围会影响系统性能。成像范围太小会导致基因测序仪的信息通量低,影响测序效率。被荧光探针标记的碱基需要微米级分辨率才能进行准确清晰成像,成像目标直径大多为 4~9 μm,根据抽样定理,系统在 XY 方向的系统分辨率必须高于 2 μm。

显微物镜选用无限远平场复消色差物镜,参数为数值孔径 NA=0.45、放大倍率为 10×、焦距 f=20 mm,制造商用于计算物镜放大倍率的镜筒透镜的焦距为 200 mm,该系统所采用的镜筒透镜焦距为 200 mm。根据瑞利判据,显微物镜的空间分辨力为 0.61λ/NA,其中,λ 为成像波长^[14],由瑞利判据判断,该系统的光学分辨率约为 0.8 μm。图像传感器选用像素为 2 000 万、分辨率为 5 472 pixel×3 648 pixel、像元尺寸为 2.4 μm×2.4 μm 的黑白 COMS 相机。将生物芯片安装在电控平移台上,由显微系统配合电控平移台实现快速扫描成像,将得到的矩形图像进行拼接,即

可得到整张生物芯片的完整生物信息。根据图像传感器,显微物镜等参数进行计算,其照明范围需达到 1.31 mm×0.88 mm。系统的有效放大率可表示为:

$$M_e = M_o \times \frac{f_t}{f'_t}, \tag{1}$$

其中: M_e 为系统的有效放大倍数, M_o 为物镜放大倍率, f_t 为本文系统所使用的镜筒透镜焦距, f'_t 为该系统所使用的显微物镜设计的镜筒透镜焦距, $f'_t=200$ mm,通过计算可得出该系统的放大率为 10 倍。根据奈奎斯特采样定理,必须对信号每个周期采样 2 个点以上,才能完整恢复该信号,因此相机的图像分辨率=2×像素尺寸/物镜放大倍数=0.48 μm。荧光显微系统的分辨率由显微物镜分辨率和相机分辨率共同决定,并受限于分辨率相对较差的部分,因此该系统在 XY 方向的分辨率为 0.8 μm,满足初始系统设计对分辨率的要求。本文设计的荧光显微系统设计要求如表 1 所示。

表 1 系统设计指标	
Tab. 1 Specification of the optical system	
Parameter	Specifications
Resolution/pixel	5 472×3 648
Pixel size/μm ²	2.4×2.4
Excitation wavelength/nm	525, 620
Fluorescence wavelength/nm	570, 680
Imaging range/mm	1.31×0.88
Systemic resolution/μm	≤2

本文设计的系统要实现小型化,低成本的特点,所以设计的过程中,在保证性能指标的前提下,应尽量采用高性价比的元件,还需考虑系统结构的布局。

2.2 光源和滤光片的选择

基因测序荧光显微系统需要采用具有高照明功率、高照明均匀性和窄光谱带宽特点的照明光源,以满足对高激发光光子密度的要求。基因测序荧光显微系统的物方视场通常比其他显微系统而言更大,根据系统的工作特点,系统需要快速激发荧光用于成像,因此必须使用高功率照

明光源。此外,照明不均匀会使图像产生额外的噪声,对成像造成干扰,由于在系统光路中同时存在不同波段的光,因此选用窄光谱带宽的激发光源更易于分光。

在基因测序仪的成像系统设计中,照明光源多使用氙灯,卤素灯,半导体激光器等,但以上几种照明光源打开后需要预热,再次使用时需要等待光源完全冷却,否则将会影响光源的使用寿命,影响系统正常工作。且荧光物质受到激发光的长时间照射会促进激发态分子与其他分子相互作用、引起碰撞,进而导致荧光淬灭。基于以上原因,本文设计的基因测序系统选用LED光源代替传统光源进行照明,LED便捷、小巧、方便操作,可以很好地满足设计需求。

经过对多种LED的选择对比,最终照明光源选择朗明纳斯垂直结构的红光芯片及绿光芯片。系统所需的激发波长为525 nm及620 nm,红光LED的主波长为620 nm,绿光LED的主波长为527 nm。LED芯片的发光面积为 $3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ 。G-LED峰值带宽为35 nm,R-LED峰值带宽为20 nm,具有较好的单色性,光功率分别可达5.5 W和6.6 W,激发出的荧光强度能够达到测序要求。

罗丹明(Rhodamine Dyes)是一种邻苯二酚类荧光生物染色剂,因其具有强荧光量子产率、大摩尔消光系数、稳定性和水溶性好等优点,被广泛用于生物医学、材料、环境等多个领域。罗丹明染色剂激发荧光物质的特定激发波长为525 nm以及620 nm,荧光物质所发荧光的发射波长为570 nm及680 nm,各种波长的激发光及荧光彼此之间带宽相差较大,便于在系统中使用滤光片进行分光,不会造成信号之间的串扰。在该系统中选择带通滤光片对激发波长和激发后所产生的荧光波长进行分离效果最优。最终所选择的滤光片分别为:激发滤光片(中心波长1为534 nm,带宽为36 nm;中心波长2为635 nm,带宽为31 nm)、出射滤光片(中心波长1为577 nm,带宽为24 nm;中心波长2为690 nm,带宽为50 nm)。滤光片在波长450~750 nm处的透过率分布如图2所示。

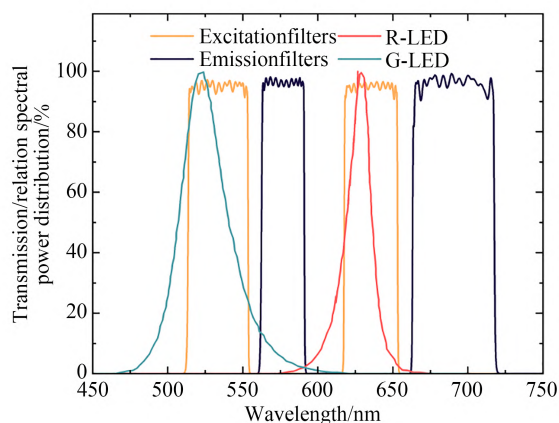


图2 R-LED与G-LED的光谱分布和滤光片在不同波长下的透过率

Fig. 2 Relation spectral power distribution of R-LED and G-LED and transmission of filter at different wavelengths

2.3 LED照明系统设计

照明系统需要具备照明功率高,照明均匀性高,所用光源的光谱带宽窄的特点。基因测序荧光显微系统要求照明系统能够在极短时间内激发出足够光强的荧光强度,且照明应尽量均匀满足成像信噪比的要求。为了方便分离系统中同时存在的几种不同波长的光,本文选用光谱带宽窄的LED光源进行照明。

525 nm的绿光光源及620 nm的红光光源发出的光经过非球面透镜扩束后,由二向色镜分光,使R-LED发出的激发光透射,G-LED发出的激发光反射,两束光经过激发滤光片时只允许用于激发荧光物质的特定波长的光通过,并由显微物镜会聚光束后均匀照亮生物芯片上 $1.31\text{ mm} \times 0.88\text{ mm}$ 大小区域,使该区域生物芯片中的荧光物质发出比LED光源波长更长的荧光。荧光光束和照明光束在到达截止滤光片时,照明光被截止,仅荧光光束通过,并最终在CMOS相机上成像。

为实现高分辨照明,本文设计的照明系统采用落射式临界照明方法。落射式照明可以实现较大视场照明,更适用于基因测序荧光成像显微镜。柯勒照明相较临界照明而言,虽然可以更好地实现均匀照明,但光路结构更为复杂,会增大系统的体积,不符合系统小型化的特点,因此该系统采用临界照明方式。临界照明的光路结构

简单,构成“光瞳对光瞳、视场对视场”的光学结构,可以充分利用照明光强,更适合高功率光源的照明系统。设计荧光系统落射式临界照明光路,并在软件中建立非序列模型,对像面光斑进行模拟,设置光源参数进行光线追迹。

根据以上设计思路设计照明系统光路,由于系统中的两个光源的照明原理完全相同,因此仿真时设置同一光源分别发出 525 nm 和 620 nm 波长的光进行仿真模拟。非序列模式下的照明光学系统的光路图如图 3 所示,并分析照明均匀性,仿真结果如图 4 所示,该荧光成像系统的照明均

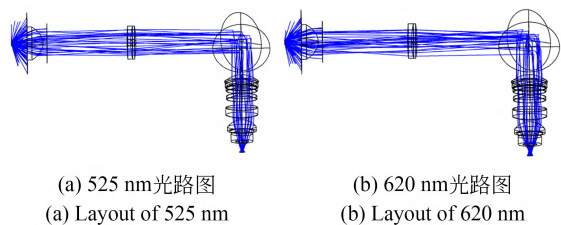


图 3 照明光学系统光路图
Fig. 3 Layout of the illuminating optical system

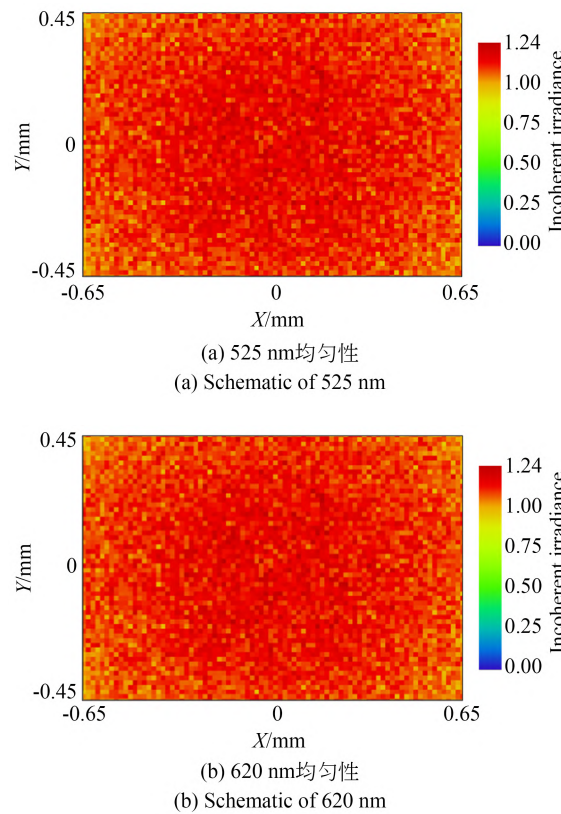


图 4 照明均匀性
Fig. 4 Schematic of the illumination system simulation

匀性优于 80%。

2.4 荧光显微成像系统设计

为减少荧光能量损耗,成像系统的结构应该尽量简单,减少衍射元件的使用数量。成像系统主要由分光镜、物镜、镜筒透镜和黑白 CMOS 相机组成。

根据无限远光学系统的设计原理,进入镜筒透镜中的荧光应为平行光束,再由镜筒透镜成中间像。相比普通光学系统而言,无限远光学系统在调整物镜与镜筒透镜之间的距离时,系统成像的倍率不发生改变^[15],这样的结构更容易实现系统布局的紧凑性。

成像系统中主要的光学元件有显微物镜、镜筒透镜和滤光片。为了方便对光路的像质进行优化,建模时省去了若干块用于折转光路的反射镜,成像区域应当充满黑白 CMOS 相机的靶面。成像光学系统的光路图如图 5 所示。

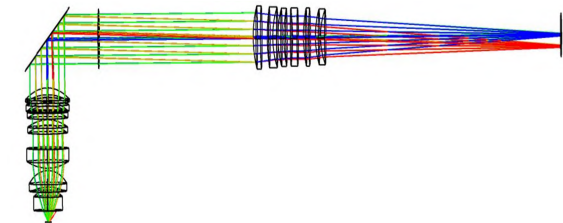


图 5 成像光学系统光路图
Fig. 5 Layout of the imaging optical system

3 光机结构设计

3.1 LED 散热结构设计

在照明系统部分,必须确保固定 LED 的部分使用绝缘材料,以防系统发生短路,造成不必要的损失。由于在 LED 工作时,需要进行能量的转化,除了一部分被转化为光能外,还有大部分能量被转换成热能,从而导致机械部分温度升高,影响系统的工作稳定性,因此需要设计散热结构来保护系统的正常工作。散热结构在 LED 照明光源工作时不能产生振动和噪音,若使用风冷散热或其他主动散热方法,都会产生振动和噪音;而水冷散热,液氮散热等方法成本过高,不适用于该系统。经过分析,最终决定采用非金属材料制作的散热器结构进行散热。散热结构如图 6 所示。

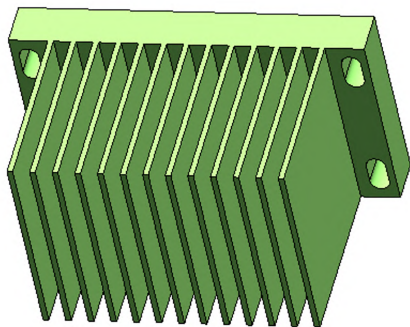


图 6 散热器结构

Fig. 6 Structure of radiator

3.2 滤光片组机械结构设计

滤光片组是荧光显微系统机械结构中的主要组成部分。其中激发滤光片用于使特定波长的激发光通过用于照明,出射滤光片则用于过滤杂散光。在激发滤光片和二向色镜的作用下,照明光中只留下激发光,其他波长的光被截止,激发光通过显微物镜照射到生物芯片上实现照明并激发荧光,因此在工作时需要确保系统中不出现光线遮挡现象。由于滤光片较薄,需要使用恰当的结构装卡,避免在测试或使用,在挪动系统的过程中对其造成损坏,影响系统工作。

为了方便装调时更好地对准光轴,在滤光片模块下添加垫片来调整元件高度。通过点胶方式将滤光片嵌入基座的凹槽中,且需要保证二向色镜能精准反射光束,激发滤光片与出射滤光片在固定时需要确认方向,否则会影响光线传播,最后通过螺钉固定放置滤光片的部分。荧光显微镜滤光片模块设计如图 7 所示。

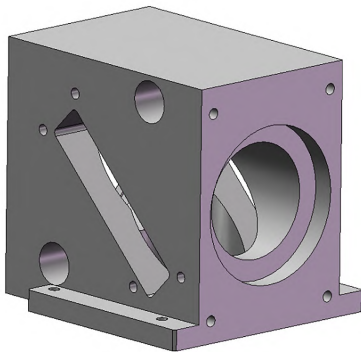
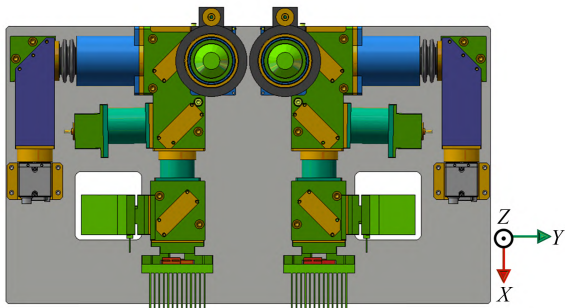


图 7 滤光片模块结构

Fig. 7 Structure of the optical filters

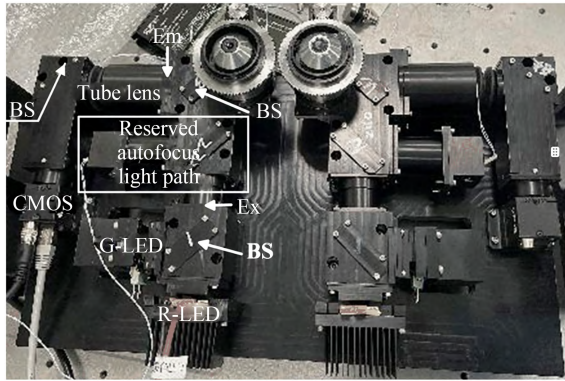
3.3 整机结构设计

光机结构设计应该尽量减小整机质量与尺寸,保证各部分光学元件不会离轴。为提高系统工作效率,样机系统采用对称式设计,左右两侧各为一套完整的系统。与原理图相比,考虑到系统的实用性与空间布局的紧凑性,显微物镜处使用了多块反射镜对显微物镜进行了光路折转;并在设计样机的机械结构时,为检焦系统预留了系统接口。样机的机械结构如图 8 所示。



(a) 整体光机结构三维图

(a) 3D model of system mechanical structure



(b) 整机安装完成

(b) Complete machine installation

图 8 整机结构

Fig. 8 Structure of radiator

4 测 试

双波段基因测序荧光显微成像系统的机械零件生产完成后,需要进行染黑,再将光学元件等进行安装,部分元件需要基于定心仪等设备进行精密装调,完成搭建装调的整机系统如图 9 所示。

将装调好的整机与计算机,供电器等连接并

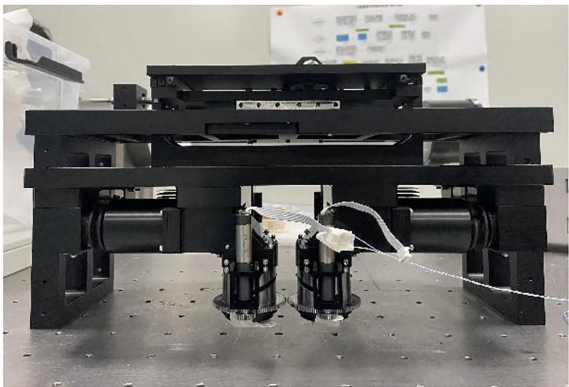
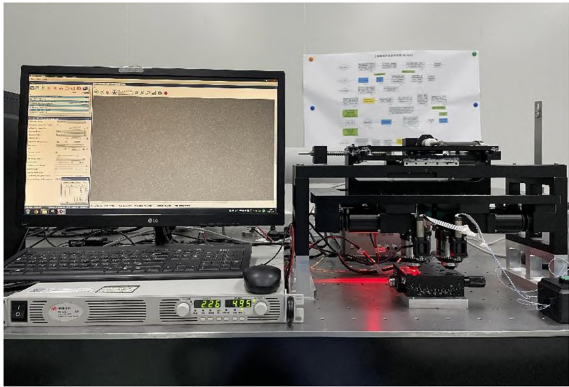


图9 整机系统
Fig. 9 Complete machine system

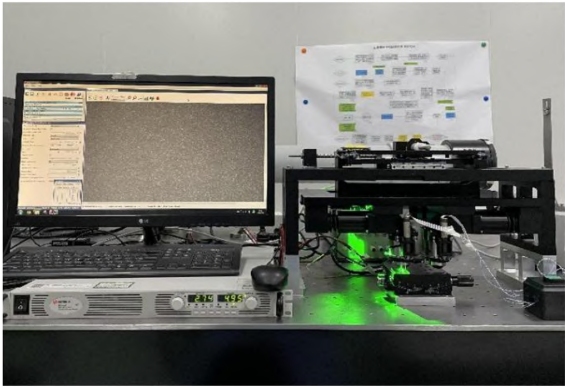
进行性能测试。利用该系统对杭州易速微控基因技术有限公司的生物芯片进行成像测试。测

试时需要将生物芯片放入平移台上,通过平移台配合系统快速照明成像实现对整块芯片的成像过程,通过计算机控制照明光源在同一区域快速曝光,测试过程如图10所示。

图像传感器拍摄的测试结果如图11所示,测试结果显示,系统照明均匀,可对生物芯片实现清晰精准成像,拍摄图像像质良好,满足测序需求。根据对照明均匀性的仿真结果显示,仿真图像的四角照明均匀性相对较差,于是将测试所得图像分为四个边角与中心区域五部分,对图像的照明均匀性进行验证,测试的图像像素数为 $5\,472\text{ pixel}\times 3\,648\text{ pixel}$,分别对图像四个边角及中心区域进行采样,采样示意图如图12所示,每个部分取 $1\,800\text{ pixel}\times 1\,200\text{ pixel}$ 区域,分别获取

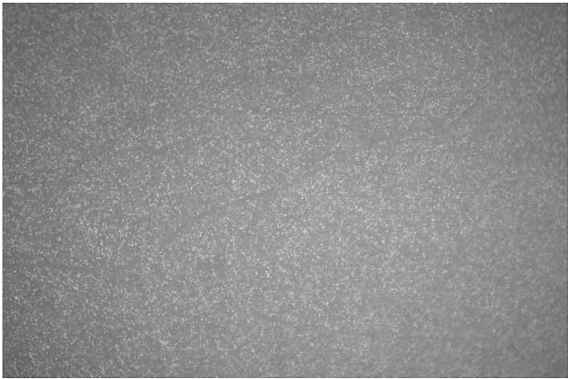


(a) 红光测试
(a) R-LED testing

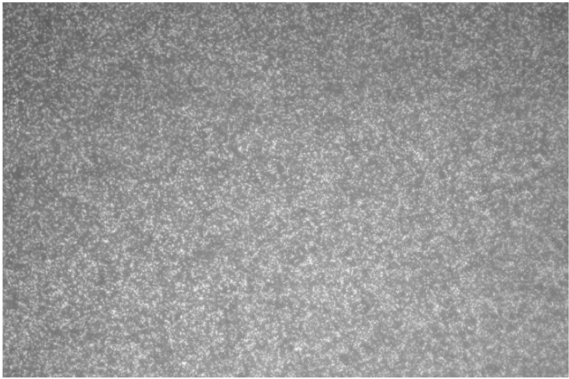


(b) 绿光测试
(b) G-LED testing

图10 成像测试
Fig. 10 Imaging test



(a) 红光测试结果
(a) R-LED test result



(b) 绿光测试结果
(b) G-LED test result

图11 测试结果
Fig. 11 Result of testing



图 12 采样示意图

Fig. 12 Schematic diagram of sampling

每一部分的平均灰度值。通过计算,所得红光图像的均匀性达到 83%,绿光图像的均匀性达到 82%,与仿真数据基本达到一致。

5 结 论

随着精准医疗的概念越来越深入人心,基因

疾病精准定位成为医疗生物领域的焦点问题,而基因测序的发展为基因疾病精准诊断提供了方便,因此基因测序成为生物工程、医药科学等领域的研究热点,基因测序仪也应运而生。本文设计并研制了一款具备小型化、低成本、高分辨率、高质量成像特点的双波段基因测序荧光显微成像系统。照明系统采用落射式临界照明,照明均匀性可达 80% 以上,成像系统进行了良好的分光设计,系统分辨率达 $0.8\ \mu\text{m}$ 。系统的结构相对简单,在设计时尽可能减少了光学元件的使用数量,所应用的光学元件无特殊定制产品,满足系统的低成本需求。在光机结构部分,考虑到光源的散热问题及系统紧凑性问题,在设计时进行了严格约束,最后搭建完成的样机外包络尺寸约为 $54\ \text{mm} \times 28\ \text{mm} \times 32\ \text{mm}$,通过样机集成和性能验证实验的结果显示,本文设计的基因测序荧光显微成像系统性能稳定,功能良好,满足对基因测序的需求。

参考文献:

- [1] RYAN S L, PEDEN J F, KINGSBURY Z, *et al.* Whole genome sequencing provides comprehensive genetic testing in childhood B-cell acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Leukemia*, 2023, 37: 518-528.
- [2] FEI Y Y, LANDRY J P, SUN Y S, *et al.* A novel high-throughput scanning microscope for label-free detection of protein and small-molecule chemical microarrays[J]. *The Review of Scientific Instruments*, 2008, 79(1): 013708.
- [3] ORTH A, CROZIER K B. High throughput multi-channel fluorescence microscopy with microlens arrays[J]. *Optics Express*, 2014, 22(15): 18101-18112.
- [4] 周蒙. 用于高通量筛选的细胞成像系统研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
ZHOU H. *Study on Cell Imaging System for Qualcomm Screening*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011. (in Chinese)
- [5] WERLEY C A, CHIEN M P, COHEN A E. Ultrawidefield microscope for high-speed fluorescence imaging and targeted optogenetic stimulation[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(12): 5794.
- [6] 张鑫. 高通量基因测序荧光显微成像光学系统研究[D]. 长春: 中国科学院大学(中国科学院长春光学精密机械与物理研究所), 2018.
ZHANG X. *Study on Optical System of Fluorescence Microscopic Imaging for Qualcomm Quantity Gene Sequencing*[D]. Changchun: Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, 2018. (in Chinese)
- [7] JACKO G, SIVAKANTHAN A, OBEYSEKERA M, *et al.* Next generation sequencing to identify iron status and individualise blood donors' experience[J]. *Blood Transfusion*, 2023, 21(6): 463-471.
- [8] 梁倩, 陈龙超, 王谷丰. 单通道基因测序装置、方法、电子设备及存储介质: 中国, CN115948237A[P]. 2023-04-11.
LIANG Q, CHEN L C, WANG G F. Single-channel gene sequencing devices, methods, electronic devices, and storage media: China, CN115948237A[P]. 2023-04-11.
- [9] 陈龙超, 梁倩, 王谷丰. 基因测序光学系统及基因测序光学系统测序方法: CN116426371A[P]. 2023-07-14.
CHEN L C, LIANG Q, WANG G F. Gene sequencing optical system and gene sequencing optical

- system sequencing method: China, CN115948237A [P]. 2023-04-11.
- [10] KIRILL SOBOLEV, ADEL JOOBEUR, CRAIG UHRICH, *et al.* Advanced optical design for DNA sequencing systems [J]. *Proc. of SPIE*, 2011, 8128:812809.
- [11] 郑焦. 单分子基因测序仪成像系统设计与振动分析[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2019.
ZHENG J. *Design and Vibration Analysis of Imaging System of Single Molecule Gene Sequencer* [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2019. (in Chinese)
- [12] 吴琼. 面阵扫描式基因生物成像仪光学系统设计[D]. 长春: 长春理工大学, 2023.
WU Q. *Optical System Design of Area Array Scanning Gene Biological Imager* [D]. Chang-
- hun: Changchun University of Science and Technology, 2023. (in Chinese)
- [13] 孙志远, 李婉玉. 基因测序系统中动态因素对能量集中度的影响[J]. 光学学报, 2019, 39(9): 0911003.
SUN Z Y, LI W Y. Effects of dynamic factors on ensquared energy in gene sequencing system [J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(9): 0911003. (in Chinese)
- [14] BORN M, WOLF E. *Principles of Optics* [M]. Cambridge University Press. 1999.
- [15] RYU J M, OH J H, JO J H. Unified analytic calculation method for zoom loci of zoom lens systems with a finite object distance[J]. *Journal of the Optical Society of Korea*, 2014, 18(2): 134-145.

作者简介:



刘美辰(2000—),女,吉林通化人,硕士研究生,2022年于东北石油大学获得学士学位。主要从事基因测序显微成像光学系统方面的研究。E-mail:liumeichen22@mails.ucas.ac.cn

通讯作者:



孟庆宇(1986—),男,吉林长春人,博士,副研究员,博士生导师。主要从事光学系统设计理论与设计方法方面的研究。E-mail:mengqy@ciomp.ac.cn