

文章编号: 1002-1582(2025)04-0424-08

大视场 dPCR 检测系统中的荧光 LED 照明设计

金旭东, 张磬瀚, 严言, 郑继红*, 韦晓孝, 万新军

(1. 上海理工大学 光电信息与计算机学院, 上海 200093)

(2. 上海理工大学 上海市现代光学系统重点实验室, 上海 200093)

摘 要: 数字聚合酶链式反应 (dPCR) 是一种能实现绝对定量检测的分子生物学技术。传统的 dPCR 荧光检测系统在检测通量、检测速度、系统体积以及成本之间难以达到合理平衡。特别是传统照明系统设计在照射面积、均匀性、体积和开关响应速度方面存在限制, 影响设备的整体性能及应用。为此, 本文设计了一种基于匀光设计 LED 激发优化的便携式 dPCR 大视场荧光检测系统, 旨在在不牺牲检测速度与通量的前提下, 缩小系统体积并降低成本。系统通过高集成度的环形 LED 光源排布, 实现了 $18\text{mm} \times 18\text{mm}$ 全视场范围内三种荧光通道 (FAM、HEX、ROX) 的均匀照明, 实际照明均匀度超过 90%, 并支持三通道快速开关切换。相比于传统的照明模块, LED 匀光激发照明在小型化、低成本以及高集成度方面具有优势, 适应于多种荧光检测应用场景, 促进 dPCR 技术未来的发展。

关 键 词: 应用光学; 数字 PCR; 微流控芯片; 光学设计; 荧光显微镜

中图分类号: TH742

文献标识码: A

Design of the fluorescent LED illumination in a Wide-field dPCR detection system

JING Xudong, ZHANG Qinhan, YAN Yan, ZHENG Jihong*, WEI Xiaoxiao, WAN Xinjun

(1. School of Optical-Electrical and Computer Engineering, University of Shanghai for

Science and Technology, Shanghai 200093, China)

(2. Shanghai Key Lab of Modern Optical System, University of Shanghai for

Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: Digital Polymerase Chain Reaction (dPCR) is a molecular biology technique that enables absolute quantification. However, conventional dPCR fluorescence detection systems face challenges in achieving an optimal balance among detection throughput, speed, system size, and cost. In particular, traditional illumination system designs are constrained by limitations in illumination area, uniformity, volume, and switching response, which affect the overall performance and applicability of the equipment. To address these issues, this study proposes a portable dPCR fluorescence detection system optimized for large-field imaging based on an LED excitation design with uniform illumination. This system aims to reduce size and costs without compromising detection speed and throughput. Utilizing a high-integration ring-shaped LED light source arrangement, the system achieves uniform illumination across an $18\text{ mm} \times 18\text{ mm}$ field of view for three fluorescence channels (FAM, HEX, ROX), with actual illumination uniformity exceeding 90%, and supports rapid three-channel switching. Compared with traditional illumination modules, the LED-based uniform excitation illumination offers advantages in minia-

收稿日期: 2024-11-19; 收到修改稿日期: 2025-02-27

基金项目: 上海市优秀学术/技术带头人计划 (22XD1401000)

作者简介: 金旭东 (2000—), 男, 硕士研究生, 从事光学系统设计研究。2240122624@qq.com

郑继红 (1975—), 女, 教授, 博士, 从事光学系统、电光器件、PDLC 材料和信息光学等方面的研究。

* 通讯作者: jihongzheng@sina.com

turization, cost-efficiency, and integration, making it suitable for various fluorescence detection applications and advancing the future development of dPCR technology.

Keywords: applied optics; digital PCR technology; microfluidic chip; optical design; fluorescence microscopy

0 引言

数字聚合酶链式反应(dPCR)^[1]是一种新兴的分子生物学技术,近年来在核酸检测领域引起了广泛关注。dPCR将样品分割成数千个微小反应单元,实现对所有反应单元中目标核酸分子的阳性与阴性结果的绝对定量^[2,3]。这种高精度的检测方法在临床诊断^[4]、微生物检测^[5,6]、基因突变^[7,8]和食品安全^[9]等领域展现出广泛的应用潜力。

dPCR的另一个显著优势是其高通量检测能力。dPCR通过微流控技术^[10-12],制成在极小的反应体积内实现大量核酸检测的芯片^[13,14]。微流控芯片能够同时完成数千乃至数百万个独立的PCR反应,提高核酸检测的效率和准确性^[15,16]。然后利用泊松分布统计阳性反应单元比例,实现核酸的绝对定量,无需依赖标准曲线^[17]。

为了提高检测效率和准确率,目前dPCR芯片可集成超过20000个反应皿,支持3通道以上荧光素,还可能采用多层结构^[18]。芯片靶面尺寸增大,需要进行多次图像拼接^[19],如果光照不均匀会引入拼接误差,降低检测准确性,并延长检测时间^[20]。光照均匀度还会影响后续的亮暗点识别(见图1),导致过亮和过暗区对比度低,难以区分,进而引发“假阳性”或“假阴性”结果^[21]。即使通过后期图像处理,也难以完全保证检测的准确性,并会影响检测时间。

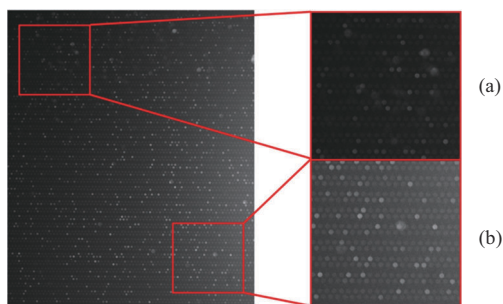


图1 光照不均匀情况下的基因芯片图

随着dPCR技术的发展,市面上已出现多种dPCR检测平台。然而,这些现有平台在使用过程中存在诸多不便。许多平台集成度低,体积庞大,导致其便携性差,操作复杂,难以适应实验室外的检测需求。此外,为了激发足够强度的荧光信号,这些平台通常配备高功率光源,进一步增大了系统体积。因此,当前急需开发一种高集成度、

便携化的dPCR检测系统,以适应更加多样化的应用场景。

关于dPCR荧光检测系统的便携化以及集成化,国内外学者已开展了广泛研究并取得一定成果。浙江大学研发了一款基于智能手机的手持式数字PCR系统^[22],将激发光源放置于芯片两侧,使用智能手机收集荧光信号,符合便携化设计,但是其检测通道只有一种,无法实现多通道检测。而且光源置于芯片两侧限制了检测靶面,最多仅有4096个反应皿,检测效率不高。中国科学院研发了一款高通量基因测序荧光显微成像光学系统{张鑫,2018 #91},研究了激光照明落射式明场和暗场照明,达到95%的均匀度,但是照明光路采用匀光棒和二向色镜实现多通道分光,难免造成体积上的增大。中国科学院^[24]后续还设计了一款双波段LED显微系统,具有0.8 μm 的高分辨率和双通道检测,可实现对1.31mm $\times$ 0.88mm的一次性成像。国外韩国翰林大学研发一款紧凑型相机荧光检测器^[25],采用菲涅尔透镜和单颗LED,减小了系统体积,但单颗LED照明面积及强度不够,仅能测量25个试管,检测效率低。对于小型化的荧光照模块,也展开了相应的研究,如山东师范大学^[26]设计了一款小型检测光源,采用双侧斜入式的激光二极管作为照明光源,与样品呈45°角照射于被测物上。季华实验室^[27]就研制了一款LED集成激发立方体的新型荧光显微镜光源,将LED、滤光片、菲涅尔透镜和分光镜集成到一个小型的滤光立方体。对于微流控芯片,也有了相当程度的发展,如中国科学院^[28]发明了振荡微滴生成技术,相比传统微流控有着更简便的操作与更低的消耗品成本。中欧技术研究所^[29]通过测量微流控芯片内部液体的温度分布,优化芯片的设计与PCR效率。

为了优化dPCR检测技术,提出了一种采用匀光LED激发优化的便携式dPCR大视场荧光检测设计。该设计实现了18mm $\times$ 18mm芯片范围内6 μm 分辨率的成像效果。照明光源采用多颗LED灯珠组成多角度照明的方法,实现高均匀性和大照明面积。同时通过开关不同的灯珠实现电控多通道检测。此外,相较于传统荧光检测系统,本系统省去了庞大的二向色镜,避免了二向色镜造

成的像散，降低了体积和制造成本。实验结果表明，本文制备的LED照明激发光源在FAM、HEX和ROX三种波段上均能实现高均匀度（超过90%）的照明，提升了系统的便携性和集成性。

1 大视场dPCR检测系统设计

1.1 大视场荧光成像系统需求

本文所检测的dPCR基因芯片的结构信息如图2所示，该芯片的有效检测区域为18×28mm，包含约2万个直径为100μm的反应腔室。每个腔室的横向间距为60μm，纵向间距为120μm。根据具体应用需求，该dPCR基因芯片具有三种荧光素，分别对应FAM、HEX、ROX通道。这三种荧光素的激发光中心波长分别为470nm、525nm、

571nm，相应产生的荧光中心波长分别为525nm、564nm、614nm。

1.2 系统结构设计

如图3（a）所示^[30]，传统大视场dPCR检测系统的工作原理是：光源经过激发滤光片和二向色镜反射后，经物镜照射在基因芯片上。基因芯片在激发光的作用下发出荧光，荧光信号通过物镜采集后，再经发射滤光片和二向色镜传递至成像透镜，最后成像于CMOS传感器。然而，该系统中的光源光束受到物镜的影响，光能损耗较大，无法充分激发荧光，导致需要较长的曝光时间，从而影响检测效率^[31]。本课题前期通过将物镜与成像透镜一体化，并将照明模块位置下移（图3（b））^[32]，优化了光能利用率，但系统体积仍较大且多通道检测需要更换光源与滤光片。

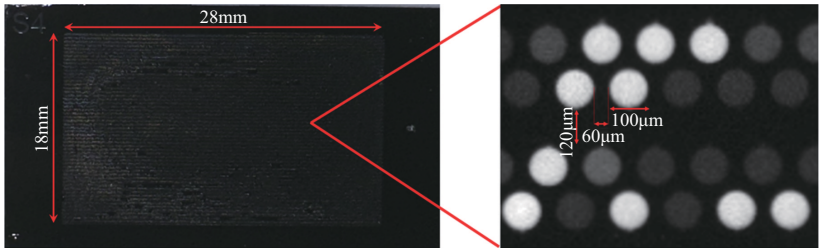


图2 基因芯片示意图

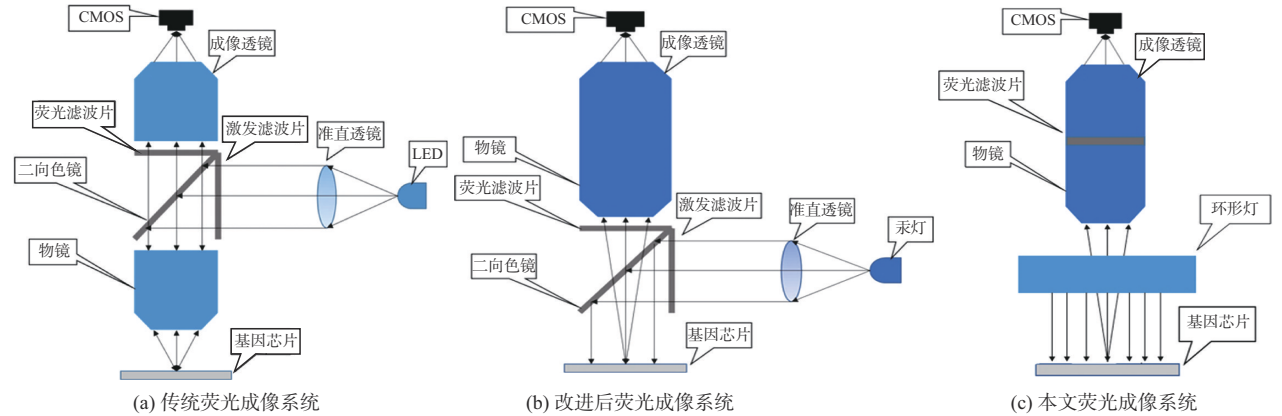


图3 荧光成像光路

为进一步减小系统体积，实现便携式、集成式设计，本文对荧光成像光路做了进一步优化。采用体积更小的LED环形灯代替了原本较大的照明模块，光路由环形灯直接照射至基因芯片，无需经过二向色镜，进一步减少了光能损耗且精简了照明模块的体积，如图3（c）所示。环形灯由多种波长LED组成，使用时可以随时切换检测通道，实现了便携化、集成化。

1.3 大视场荧光显微成像系统

本系统采用课题组前期开发的大视场荧光显微成像镜头，其结构图如图4所示，基本参数表如

表1所示^[33]。其18mm×18mm的视场与6.96μm分辨率可满足基因芯片检测需求。

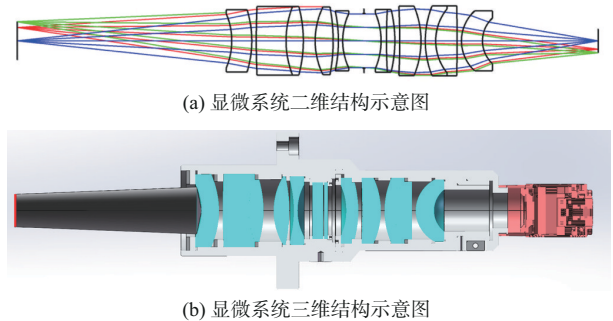


图4 显微系统设计图

表1 PCR荧光检测显微系统光学设计参数

参数	数值
透镜数量	11
系统总长/mm	180.52
焦距/mm	56.41
工作波长	FAM,HEX,ROX
视场角/(°)	±5.10695
分辨率/ μm	6.96
近轴放大率/x	-0.625
数值孔径(NA)	0.106
MTF@70lp/mm	>0.7

传统荧光成像光路设计无法摆脱二向色镜对像质的影响,当二向色镜的厚度大于0.22mm时^[32],二向色镜对系统成像质量影响较大,其分辨率下降严重无法分辨出两个反应皿的间隙。LED匀光照明系统可彻底解决该问题。

2 dPCR荧光成像系统的LED匀光照明设计

2.1 LED照明方案设计

dPCR荧光成像系统的光源需要具备高均匀度、高光强及窄带宽的特性,以确保成像质量。首先,光源必须实现均匀照射整个检测芯片表面,以确保采集图像的一致性。其次,为实现高效检测,光源需在极短时间内激发出足够强度的荧光。此外,在检测过程中激发光与荧光会同时存在,因此必须确保二者完全分离且互不干扰。为此,照明系统应采用窄带光源,并配合滤光片进行波长的控制和分离。

传统照明光源通常采用汞灯或激光,但这类光源体积较大、成本较高、预热时间长,且无法实现即开即用,操作上有诸多不便。相比之下,LED光源具有体积小、寿命长、响应快、成本低以及波长选择灵活等优点。

本文设计的照明系统,采用窄带LED光源作为激发光源。为避免激发光与荧光的串扰,窄带LED发出的光需要经过激发滤光片过滤所需波长以外的光线。激发滤光片对光线的入射角度有一定要求,大角度的光线无法被有效过滤,且随着入射角度的增大,滤光片的通过带宽会向短波方向偏移。其入射角对波长的影响由以下公式决定

$$\lambda_{\theta} = \lambda_0 \sqrt{1 - \left(\frac{n_0}{n_{\text{eff}}} \sin \theta \right)^2} \quad (1)$$

式中, λ_{θ} 是入射角 θ 下所对应的波长, λ_0 是正入射时对应的波长; n_0 是入射介质的折射率, n_{eff} 是滤光片的折射率。本文光线从空气中入射, $n_0=1$,

滤光片为玻璃材质, $n_{\text{eff}}=1.5$ 。当入射角为 15° 时,透射波长的变化不大,仅偏移1.5%,在允许范围内。因此,窄带LED需要增加准直结构,目前主流LED准直方式包括球面镜组、自由曲面透镜和TIR透镜。滤光片对入射角度的要求在 15° 左右,考虑到体积和成本,选择TIR透镜作为窄带LED的准直模块。其准直效果及结构如图5所示。

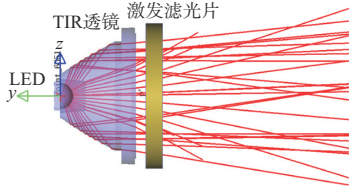


图5 TIR透镜准直的单光源结构示意图

为实现高强度以及高均匀性照明,本文采用落射式临界照明配合多角度环形照明,激发光由多个窄带LED发出,直接照射在基因芯片上。与传统荧光检测设备采用二向色镜、匀光组件的科勒照明不同,本文采用的落射式临界照明方案通过精简光路结构,显著降低了系统体积与制造成本。临界照明的高光能利用率可充分满足荧光检测对激发光强的要求。通过环形多角度光源排布设计,从不同方向对靶面叠加照射,实现光强叠加补偿,最终达到满足检测需求的照明均匀性。

传统复眼透镜照明系统将入射光分散成无数个点光源,形成十分均匀的光斑,但其结构较大且对加工精度要求高,如图6(a)所示。环形多角度照明无需增加额外结构,体积更小且成本更低,虽然均匀度不及复眼透镜,但仍能满足高分辨照明,如图6(b)所示。

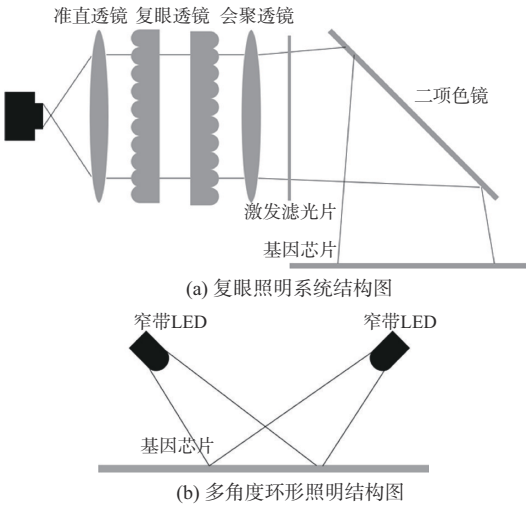


图6 照明结构示意图

2.2 光源和滤光片参数选择

照明光源选用3535型号的窄带LED,尺寸为 $3.5\text{mm} \times 3.5\text{mm}$,半波宽均在40nm左右,功率为3w,

主波长分别是463nm、521nm、570nm。系统所需荧光通道为FAM、HEX、ROX，其对应的激发波长范围为450~490nm、515~535nm、560~590nm。根据以上数据显示，所选择的LED指标基本符合设计要求。

图7为所选窄带LED模拟及实测的窄带LED光谱范围以及所对应理想激发发光波长和荧光波长，窄带LED会有小部分波长与荧光波长重叠。如果不用滤光片过滤或者激发滤光片参数选择不恰当就会造成激发光和荧光信号产生串扰，产生图8中全亮的结果。为避免这种情况，激发滤光片与发射滤光片需要将激发光和荧光完全分离开。本文所选的带通滤光片参数见表2。由于荧光信号较为微弱，如果滤光片的截止深度不足，会导致激发光的光强过滤不足，影响采集图像对比度，选择滤光片的截止深度需要达到OD6。此外，滤光片的透过率均选择在80%以上。

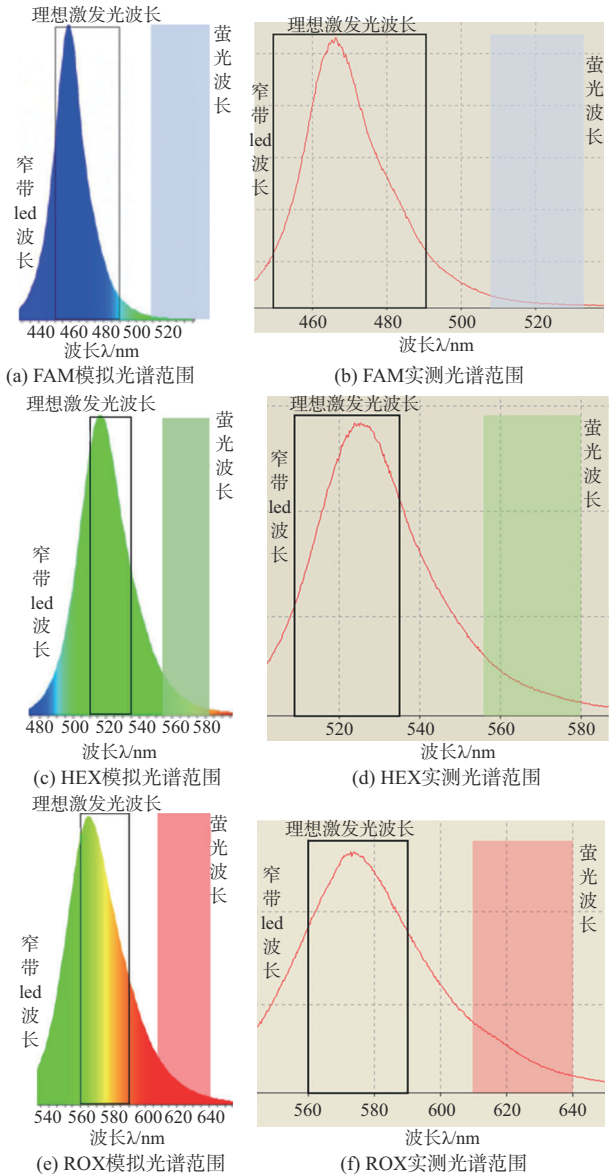


图7 窄带LED波长与发射滤光片带宽示意图

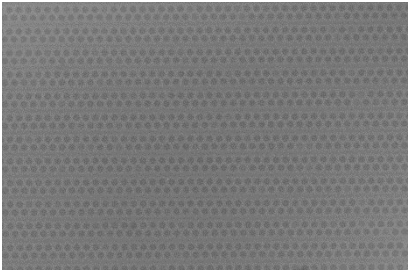


图8 窄带LED不加激发滤光片拍摄结果图

表2 激发滤光片与发射滤光片参数

通道	激发滤光片 波长λ/nm	带宽/nm	发射滤光片 波长λ/nm	带宽/nm
FAM	470	30	525	20
HEX	525	20	565	20
ROX	569	20	616	20

2.3 LED照明系统设计

在照明系统设计中，由于灯珠体积小，可近似视为点光源。首先确定环形光源的安装半径：显微成像镜头半径为25mm，结合外壳结构件所需预留的30mm安装空间以及设计余量，最终将环形光源布置于距靶面中心半径70mm的圆周上，确保与镜头之间的安全间距。其次，确定环形光源的工作距离：显微成像镜头的工作距离为100.7mm，为适配加工装配误差，环形光源需要预留±10mm的垂直调节空间，故其高度限制在40~60mm范围内。

LED光源遵循朗伯体辐射模型，其光强分布满足

$$I(\theta)=I(0)\cos\theta \tag{2}$$

式中， $I(\theta)$ 为在角度 θ 时的辐射强度， $I(0)$ 为 $\theta=0^\circ$ 时的辐射强度，若LED正对靶面中心会导致中心区域光强过高；而倾角过大($\theta>50^\circ$)则会导致中心光强过低，这两种情况都会影响光照均匀性。因此，将LED与法线的倾角限制在 30° 与 50° 区间以平衡光场分布。

通过LightTools非序列光线追迹仿真，以均匀性为优化目标，对光源高度与倾角进行优化，最终确定最优参数为：安装半径70mm、工作距离47mm、倾角 47° 。针对LED数量选择，仿真结果表明，当单波长LED数量 ≥ 7 时，均匀度提升幅度趋缓。综合考虑3W大功率灯珠的散热需求，确定每通道使用7颗LED，总功率21W。

根据上述设计思路，本文设计的光源由多个图5中的照明模块组成环形光源。为满足系统覆盖 $18\text{mm}\times 18\text{mm}$ 区域的需求，选用准直角为 15° 、孔径为16mm的TIR透镜。对应的滤光片选择波段适配的窄带滤光片，直径16mm。环形光源包括3种

波段，每个波段由 7 个 LED 模块组成，总计 21 个 LED 模块。LED 照明系统的模型光路图以及实物图如图 9 所示。照明均匀性的分析结果如图 10 所示，三种波长的照明均匀性均可达到 95% 以上。

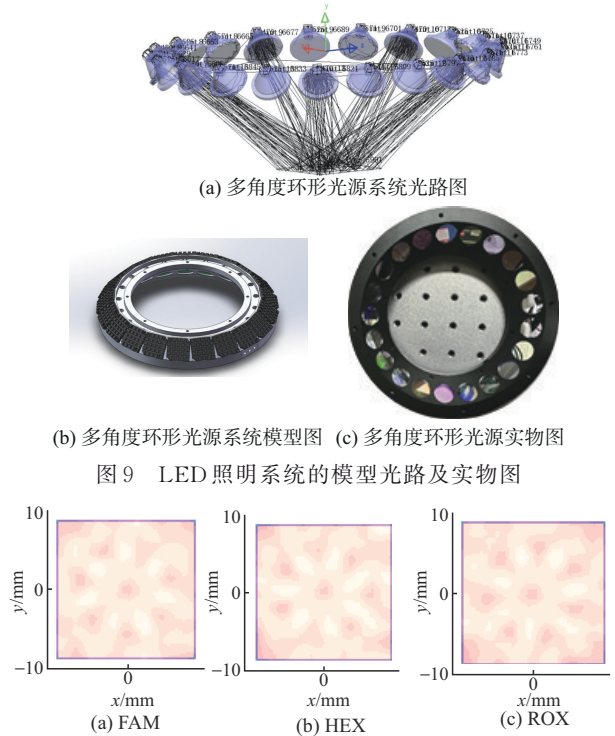


图 10 照明均匀性

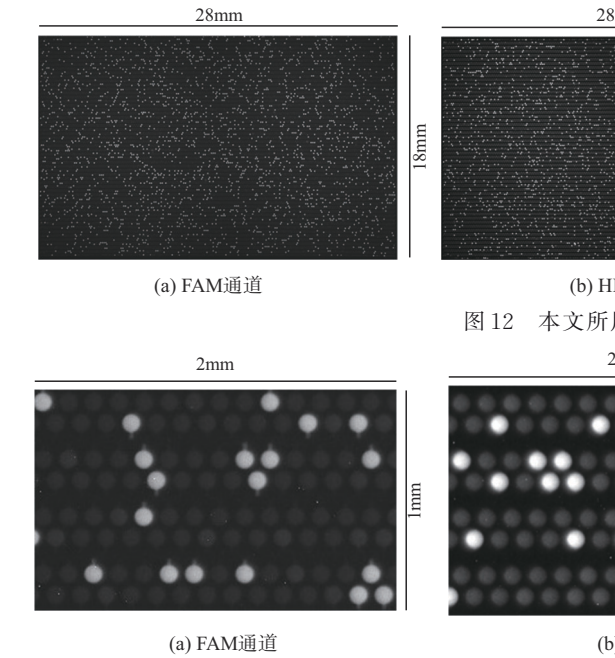


图 13 本文所用系统三通道拍摄局部放大图

为验证图像的照明均匀性，将拍摄图像划分为九个区域，如图 14 所示。以 HEX 通道为例，将 HEX 通道的检测图平均分成九份，获取每个分区的像素灰度值，并计算得到其分区的平均灰度值。三通道每个分区的平均灰度值如表 3 所示。本文使

3 实验结果与分析

基于上述理论分析与仿真，本文进行了实验系统设计加工与构建，系统的整体仿真以及加工实物图如图 11 所示。

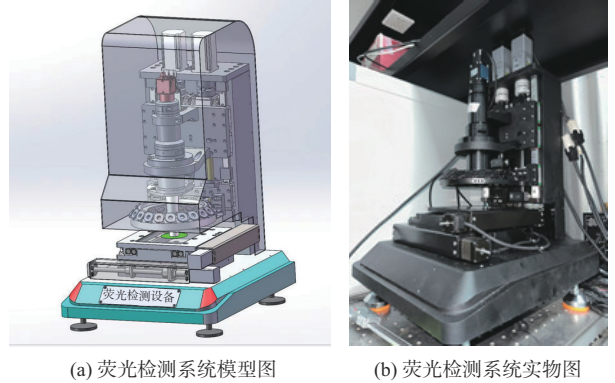


图 11 荧光检测系统结构图

采用大恒图像的 MER2-503-23GM 工业相机对基因芯片进行图像采集，结果如图 12 所示，经过两次拍摄以及拼接后采集到完整的 18mm×28mm 芯片图，荧光信号成功激发并且亮度均匀。图 13 为所截取的 1mm×2mm 尺寸的局部放大图，图像分辨率高，对比度好，可以清晰分辨亮暗反应区，以便进一步图像处理。

用变异系数计算均匀度^[34]，其计算公式表示为

$$\text{变异系数 (CV)} = \frac{\sigma}{\mu} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{均匀度} = 1 - \text{CV} \quad (4)$$

式中 σ 为标准差； μ 为均值；相比其他计算方式，

变异系数通过标准差与均值的比值反应整体离散度，避免某个分区阳性亮点过多或过少导致数据出现误差。计算结果表明，FAM通道的均匀度为93.20%，HEX通道的均匀度为90.47%，ROX通道的均匀度为92.38%，与仿真数据基本达到一致。

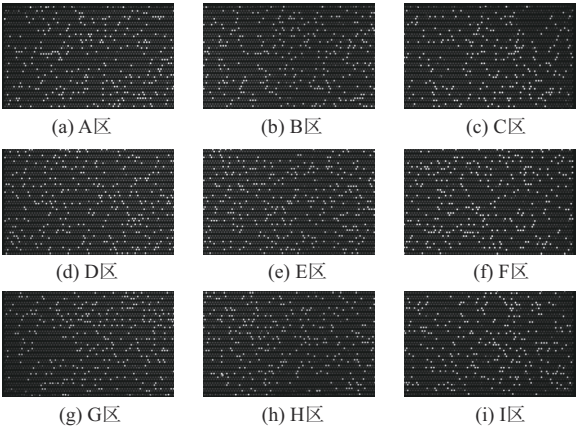


图 14 HEX通道九分区示意图

表 3 三通道九分区平均灰度值

分区	FAM	HEX	ROX
A	35.311	37.456	33.146
B	36.490	35.711	33.224
C	35.729	31.649	35.236
D	37.875	40.781	38.113
E	38.802	40.809	38.650
F	39.559	37.148	41.725
G	32.247	33.451	33.495
H	32.869	33.709	34.948
I	33.751	31.008	36.085

4 结 论

本文针对大视场dPCR荧光LED照明系统进行了优化，使其具有小型化、高分辨、高均匀和低成本等优点。照明系统采用落射式多角度环形LED光源，模拟结果显示其照明均匀度可达95%，实际测试也可达到90%以上的均匀度。此外，本照明系统无需定制额外的特殊光学元件，对加工精度要求较低，结构相对简单，从而满足了系统低成本和小型化的需要。在通道切换方面，仅需通过LED的开关即可在1秒内实现光源的切换。本检测系统能在2~3秒内对完整的基因芯片进行二次成像，通过优化检测算法可在10秒内完成检测与分析。

未来的工作将进一步优化系统的检测流程，

通过电控转盘实现发射滤光片的快速切换，以配合光源通道的自由切换，满足多通道同步检测的需求。此外，将进一步优化图像拼接和识别算法，结合基于神经网络的亮点反应皿识别计数^[35, 36]。本系统可以通过更换不同的成像透镜和LED光源波段，实现更高效的荧光信号检测与分析，灵活适应不同的生物医学应用环境中^[37, 38]。

参考文献:

[1] Vogelstein B, Kinzler K W. Digital PCR[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1999, 96(16):9236—9241.

[2] Bartlett J M S, Stirling D. A short history of the polymerase chain reaction[J]. Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ), 2003, 226:3—6.

[3] Quan P L, Sauzade M, Brouzes E. dPCR: A technology review[J]. Sensors, 2018, 18(4):1271.

[4] Taylor S C, Laperriere G, Germain H. Droplet digital PCR versus qPCR for gene expression analysis with low abundant targets: From variable nonsense to publication quality data[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1):2409.

[5] Ren M S, Lin H, Chen S J, et al. Detection of pseudorabies virus by duplex droplet digital PCR assay [J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2018, 30(1):105—112.

[6] Niu M C, Cao W J, Wang Y C, et al. Droplet-based transcriptome profiling of individual synapses [J]. Nature Biotechnology, 2023, 41(9):1332.

[7] Takeshita T, Iwase H. dPCR mutational analyses in cell-free DNA: A comparison with tissues[J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1909:105—118.

[8] Yi K, Wang X, Filippov S K, Zhang H. Emerging ctDNA detection strategies in clinical cancer theranostics [J]. Smart Medicine, 2023, 2(4):e20230031.

[9] Chin N A, Salihah N T, Shivanand P, Ahmed M U. Recent trends and developments of PCR-based methods for the detection of food-borne Salmonella bacteria and Norovirus[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 59 (12): 4570—4582.

[10] Ottesen E A, Hong J W, Quake S R, Leadbetter J R. Microfluidic digital PCR enables multigene analysis of individual environmental bacteria[J]. Science, 2006, 314(5804):1464—1467.

[11] Morneau D. Droplet-based microfluidics[J]. Nature Reviews Methods Primers, 2023, 3(1):32

[12] Zhang P F, Abate A R. High-definition single-cell printing: Cell-by-cell fabrication of biological structures[J]. Advanced Materials, 2020, 32(52):e2005346.

[13] Beer N R, Wheeler E K, Lee-Houghton L, et al. On-chip single-copy real-time reverse-transcription PCR in isolated picoliter droplets[J]. Analytical Chemistry, 2008, 80 (6): 1854—1858.

[14] Clark I C, Mudvari P, Thaploo S, et al. HIV silencing and cell survival signatures in infected T cell reservoirs[J]. Nature, 2023, 614(7947):318—325.

- [15] Sun A C, Steyer D J, Allen A R, et al. A droplet microfluidic platform for high-throughput photochemical reaction discovery [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1):6202.
- [16] Jacobs B K, Goetghebeur E, Clement L. Impact of variance components on reliability of absolute quantification using digital PCR [J]. *BMC Bioinformatics*, 2014, 15(1):283.
- [17] Sidstedt M, Romsos EL, Hedell R, et al. Accurate digital polymerase chain reaction quantification of challenging samples applying inhibitor-tolerant DNA polymerases[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(3):1642—1649.
- [18] 鲍猛, 张馨瀚, 郑继红, 等. 基于波前编码的大像面荧光显微成像系统景深延拓研究[J]. *光学技术*, 2024, 50(04):411—418.
Bao Meng, Zhang Qinghan, Zheng Jihong, et al. [J]. Continuation of the depth of field of large-area fluorescence microscopic imaging system based on wavefront coding [J]. *Optical technology*, 2024, 50(04):411—418.
- [19] 朱天赞, 郑继红, 孙刘杰, 等. 基于图像拼接的高通量数字PCR荧光基因芯片读取系统的设计[J]. *光学技术*, 2019, 45(01):107—111.
Zhu Tianyun, Zheng Jihong, Sun Liujie, et al. Design of high throughput digital PCR fluorescent gene chip detection system based on image mosaic[J]. *Optical technology*, 2019, 45(1):107—111.
- [20] 李斌, 唐金龙, 于文豪, 等. 拼接误差对拼接镜成像质量的影响[J]. *激光与光电子学进展*, 2017, 54(07):185—194.
Li, Bin, Tang, Jinlong, Yu, Wenhao, et al. Effects of Stitching Errors on the Imaging Quality of Stitched Mirrors [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2017, 54(07):185—194.
- [21] Zhou S, Gou T, Hu J, et al. A highly integrated real-time digital PCR device for accurate DNA quantitative analysis [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 128:151—158.
- [22] 苟彤. 基于智能手机的手持式数字PCR系统开发及其应用研究[D], 浙江大学, 2019.
Gou Tong. Development and application research of a handheld digital PCR system based on smartphones [D], Zhejiang University, 2019.
- [23] 张鑫. 高通量基因测序荧光显微成像光学系统研究[D]. 中国科学院大学, 2018.
Zhang Xin. Research on optical system for fluorescence microscopy imaging in High-throughput gene sequencing[D], University of Chinese Academy of Sciences 2018.
- [24] 刘美辰, 孟庆宇, 张洪文, 等. 双波段LED照明的基因测序荧光显微系统设计[J]. *光学精密工程*, 2024, 32(16):2455—2463.
Liu M, Meng Q, Zhang H, et al. Design of gene sequencing fluorescence microscopic system with dual-band LED illumination [J]. *Opt Precis Eng (China)*, 2024, 32(16):2455—2463.
- [25] Koo S B N, Kim Y S, Park C Y, Lee D J. Compact camera fluorescence detector for parallel-light lens-based real-time PCR system[J]. *Sensors*, 2022, 22(21):8575.
- [26] 于岩峰. 基于免疫荧光定量检测系统的研究及激光光源优化[D]; 山东师范大学, 2024.
Yu Yanfeng. Research of immunofluorescence-based quantitative detection system and optimization of Laser source[D]. Shandong Normal University, 2024.
- [27] Zi J, Bi H. Fluorescence microscope light source based on integrated LED [J]. *Light: Science & Applications*, 2023, 12(1):224.
- [28] Li C, Kang N, Ye S, et al. All-in-one OsciDrop digital PCR system for automated and highly multiplexed molecular diagnostics [J]. *Advanced Science*, 2024, 11(21):e2309557.
- [29] Gaňová M, Wang X, Yan Z, et al. Temperature non-uniformity detection on dPCR chips and temperature sensor calibration [J]. *RSC Advances*, 2022, 12(4):2375—2382.
- [30] 陈诚, 郑继红, 万新军, 等. 应用于dPCR基因芯片的荧光精缩无限远物镜设计[J]. *光学技术*, 2019, 45(05):518—525.
Chen Cheng, Zheng Jihong, Wan Xinjun, et al. Design of fluorescent Infinite-distance contraction objective for dPCR gene chip. *Optical Technique*, 2019, 45(5):518—525.
- [31] 谢欣茹, 杨波, 潘帅, 等. 多通道PCR荧光检测仪的光学系统设计[J]. *光学技术*, 2019, 45(05):531—4+640.
Xie Xinru, Yang Bo, Pan Shuai, et al. Optical system design of multichannel PCR fluorescence detector (Article) [J]. *Guangxue Jishu/Optical Technique*, 2019, 45(5):531—534, 640.
- [32] 王子程, 郑继红, 万新军, 等. 应用于dPCR的大视场荧光显微检测系统的设计 [J]. *光学技术*, 2021, 47(01):1—5+22.
Wang Zicheng, Zheng Jihong, Wan Xinjun, et al. Design of fluorescence microscopy detection system with wide field of view for dPCR[J]. *Optical Technique*, 2021, 47(1):6.
- [33] 徐振超, 张馨瀚, 郑继红, 等. 大视场dPCR芯片荧光检测系统的设计与优化[J]. *光学技术*, 2023, 49(04):502—507.
Xu Zhenchao, Zhang Qinghan, Zheng Jihong, et al. Design and optimization of fluorescence detection system for Large-Field-of-view dPCR chip[J]. *Optical Technique*, 2023, 49(04):502—507.
- [34] Poojar P, Oiyee I E, Aggarwal K, et al. Repeatability of image quality in very low-field MRI[J]. *NMR in Biomedicine*, 2024, 37(10): e5198.
- [35] Liu H, Nan L, Chen F, et al. Functions and applications of artificial intelligence in droplet microfluidics[J]. *Lab on a Chip*, 2023, 23(11):2497—2513.
- [36] Gardner K, Uddin M M, Tran L, et al. Deep learning detector for high precision monitoring of cell encapsulation statistics in microfluidic droplets[J]. *Lab on a Chip*, 2022, 22(21):4067—4080.
- [37] Nan L, Zhang H D, Weitz D A, Shum H C. Development and future of droplet microfluidics[J]. *Lab on a Chip*, 2024, 24(5):1135—1153.
- [38] Hess D, Dockalova V, Kokkonen P, et al. Exploring mechanism of enzyme catalysis by on-chip transient kinetics coupled with global data analysis and molecular modeling[J]. *Chem*, 2021, 7(4):1066—1079.