

DOI:10.19344/j.cnki.issn1671-5276.2025.04.006

用于视网膜类器官成像的高分辨率光学显微镜系统设计

蔡博凡^{1,2}, 周宏明¹, 杨思朋², 陈豪², 吴鸿源^{1,2}, 余胜东^{1,2}, 周国良³

(1. 温州大学 机电工程学院, 浙江 温州 325000;

2. 国科温州研究院 温州生物材料与工程研究所, 浙江 温州 325000;

3. 丽水职业技术学院, 浙江 丽水 323000)

摘 要:针对视网膜类器官组织结构微小、培养周期长、存活率低的问题,研发一种用于观测视网膜类器官组织的高分辨率光学显微镜系统。提出基于大数值孔径的光学成像方案,运用虚拟样机技术构建显微镜三维机械结构,通过有限元仿真技术改进系统模态,优化力学性能。开发一种自适应有限时间运动和时延估计技术相结合的鲁棒运动控制算法,以抑制机械传动中的复杂非线性摩擦效应对运动精度的影响,实现显微镜的精密运动控制。通过硬件在环实验验证了所提控制器的有效性。搭建高分辨率光学显微镜系统,完成视网膜类器官组织的显微成像研究。

关键词:高分辨率光学显微镜;视网膜类器官;大数值孔径;鲁棒运动控制

中图分类号:TH742 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-5276(2025)04-0037-06

Design of High-Resolution Optical Microscope System for Retinal-like Organs Imaging

CAI Bofan^{1,2}, ZHOU Hongming¹, YANG Sipeng², CHEN Hao², WU Hongyuan^{1,2}, YU Shengdong^{1,2}, ZHOU Guoliang³

(1. College of Mechanical and Electrical Engineering, Wenzhou University, Wenzhou 325000, China;

2. Wenzhou Institute of Biomaterials & Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Wenzhou 325000, China;

3. Lishui Polytechnic, Lishui 323000, China)

Abstract:To address the issues of small size, long cultivation cycle, and low viability of retinal organ tissues, this paper develops a high-resolution optical microscope system for observing retinal organ tissues. An optical imaging scheme based on a large numerical aperture is proposed, the three-dimensional mechanical structure of the microscope is constructed using virtual prototyping technology, the system's mode is improved through finite element simulation, and mechanical performance is optimized. An adaptive finiteimproves-time motion and delay estimation algorithm is developed to suppress the influence of complex nonlinear friction effects in mechanical transmission on motion accuracy, and achieve precise motion control of the microscope. The effectiveness of the proposed controller is verified through hardware-in-the-loop experiments. A high-resolution optical microscope system is established, the microscopic imaging study of retinal organ tissues being completed.

Keywords:high-resolution optical microscope;retinal-like organs;large numerical aperture;robust motion control

0 引言

类器官是生物干细胞在体外特定微环境下,通过自我更新、多向分化和调控得到的细胞培养物,可以模拟人体器官的基本形态、结构或功能,在生物医学研究、药物筛选测试、疾病模型构建等领域得到广泛应用^[1-2]。视网膜类器官模拟了人眼视网膜在时间和空间上的发育过程,解析人眼视网膜的基本发育机制。视网膜类器官尺寸微小、结构复杂、存活率低,通过大数值孔径光学显微成像技术,对视网膜类器官进行清晰成像,在受控环境下监控其发育过程。大数值孔径光学显微

成像技术对物镜定位精度提出了更高要求,物镜运动平台(objective motion carrier, OMC)可用于驱动物镜运动,将焦平面准确定位在视网膜类器官上,实现清晰成像。这就要求 OMC 具有微米级运动精度、毫米级行程范围和能够承载物镜转盘的高负载能力。

在现有的直线运动机构中,压电陶瓷具有纳米级运动精度,但行程有限,通常小于 100 μm ^[3];压电电机具有纳米级运动精度和毫米级行程范围,但是压电电机依靠黏滑原理^[4-5]输出的驱动力不足以平衡物镜转盘的重力,无法满足负载要求;用高分辨率的伺服电机驱动滚珠丝杠副传动,

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31971290);国家重大科研仪器研制项目(61927818);温州市重大科技项目(ZGF2023056)

第一作者简介:蔡博凡(2000—),男,浙江温州人,硕士研究生,研究方向为机械设计、鲁棒控制,626353013@qq.com。

依靠光栅传感器构成反馈控制系统,以满足行程和负载要求。但是滚珠丝杠与螺母的传动间隙是制约高精度传动的瓶颈^[6]。

双螺母预紧是消除滚珠丝杠传动机构内部间隙的常用手段,但是由此导致的非线性摩擦效应又成为高精度传动的不利因素^[7-8]。例如,当光学显微镜进行精细调焦时,OMC 处于高精度、超低速运行状态,非线性摩擦效应对系统的动态和静态性能造成显著影响,导致物镜滑台发生低速爬行现象,引起显著稳态误差或稳定状态下的固定周期振荡^[9]。非线性摩擦效应无法用数学模型准确表达。传统的 PID (proportion integration differentiation) 控制器为线性控制器,无法抑制强非线性扰动对运动精度的影响^[10]。因此,需要设计基于 OMC 动力学模型的非线性鲁棒运动控制器,抑制非线性摩擦效应等扰动对运动精度的影响。

在现有鲁棒控制方法中,滑模控制 (sliding mode control, SMC),又称为滑模变结构控制,凭借其结构简单、响应快速、鲁棒性强、对外部扰动不敏感的特性,得到广泛应用^[11-12]。特别是,近年来随着 FNTSM (fast nonsingular terminal sliding mode) 理论的发展,推动滑模控制器实现有限时间收敛。不管是滑模控制,还是其他控制方法,都需要知道被控对象的名义模型。但是,OMC 动力学模型中的非线性摩擦效应无法建立数学模型。

时延估计 (time delay estimation, TDE)^[13-14] 技术利用系统前一时刻的信息估计当前时刻的系统动态^[15]。为此,本文将 TDE 技术引入到 FNTSM 中,由 TDE 实现非线性摩擦效应的在线估计,避免摩擦力的在线辨识。将 FNTSM 和 TDE 技术相结合,构成 FNTSM-TDE 控制器,实现两者优势互补。TDE 技术适用于估计连续系统、缓慢变化的未知扰动。在滚珠丝杠副传动方向发生变化时,摩擦力方向发生改变,引起非线性摩擦效应的突变,导致 TDE 估计误差被扩大。FNTSM 弥补 TDE 技术估计精度的不足,使系统状态在有限时间内运动到滑模面上实现收敛,达到 OMC 的鲁棒精密运动控制。

1 系统描述

1.1 高分辨率光学显微镜光学系统设计

基于大数值孔径光学显微成像技术,建立视网膜类器官成像的高分辨率光学显微镜的光路系

统,如图 1 所示。光路系统主要包括:LED 灯珠、透镜、反射镜、sCMOS 相机、物镜和 OMC。LED 灯珠发射出可见光,经透镜准直,从上下两个方向均匀照射样本。样本发出的光被物镜收集,再由反射镜反射,经套筒透镜聚焦,在 sCMOS 相机上形成清晰图像并传输到计算机。

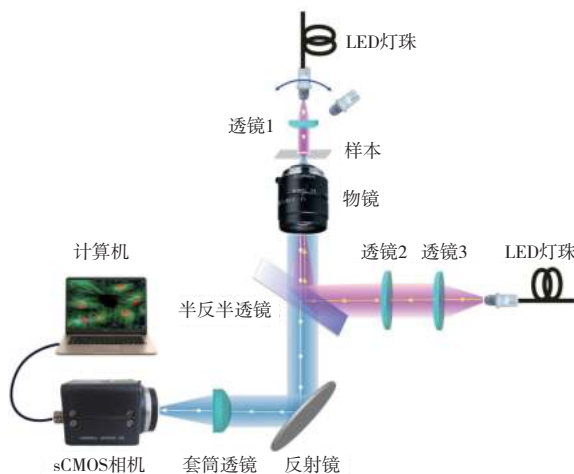


图1 显微镜光路示意图

1.2 OMC 机械结构设计

建立 OMC 的虚拟样机,如图 2 所示。OMC 整体结构紧凑,尺寸为长 140 mm、宽 100 mm、高 40 mm。伺服电机通过联轴器驱动滚珠丝杠副驱动滑台做垂直运动,读数头相对于光栅尺运动,并采集滑台的位置信息。经过预紧消除处理的滚子直线导轨,保证滑台运动的直线度。

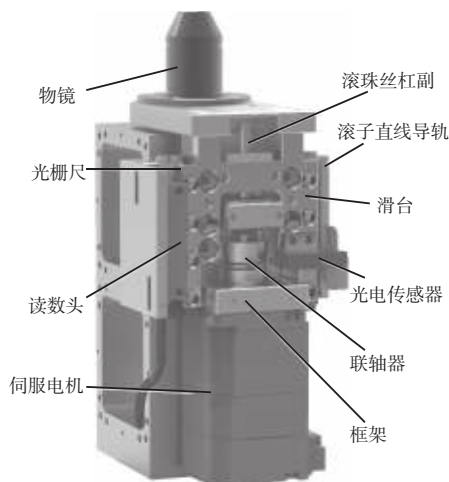


图2 OMC 的虚拟样机设计

在高精密机械传动系统中,若外界激励接近 OMC 的固有频率,导致滑台振动幅值异常增大,严重降低 OMC 的传动精度。为避免共振,在设计

阶段对 OMC 进行有限元模态分析,得到 OMC 的固有频率、振型和阻尼比等,并对共振进行预测和评估,改进材料和机械结构,提高 OMC 的固有频率。经过模态仿真和优化后,得到如图 3 所示的 OMC 6 阶模态云图。根据有限元模态模拟结果显示,OMC 的固有频率为 751.71 Hz,远高于系统工作频率和可能的外部激励(本刊为黑白印刷,相关问题请咨询作者)。

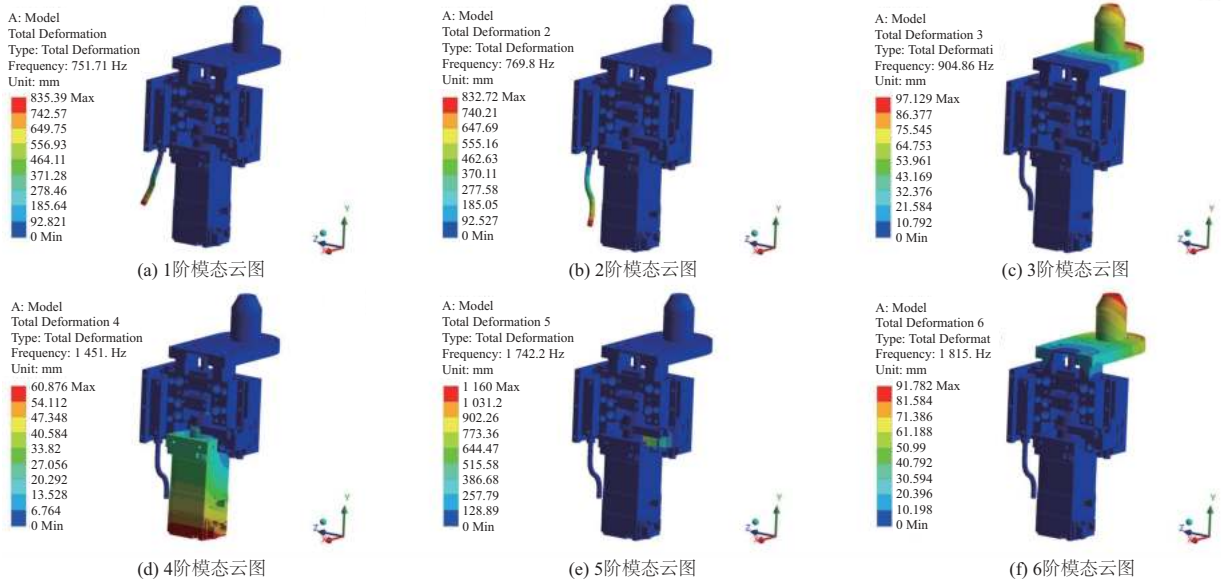


图 3 OMC 6 阶模态云图

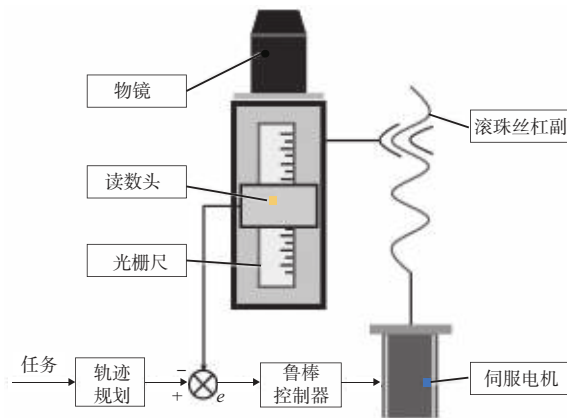


图 4 OMC 机构运动简图

2 控制器设计

2.1 OMC 的动力学模型

根据图 4 的机构运动简图,运用牛顿-欧拉定理,构建 OMC 的动力学模型^[16]:

$$M(z)\ddot{z} + C(z)\dot{z} + G(z) = u + F_f(t) + F_d(t) \quad (1)$$

根据图 2 的虚拟样机设计,建立如图 4 所示的 OMC 机构运动简图。图 4 勾勒出 OMC 机电系统的闭环控制过程。滚珠丝杠副将伺服电机的旋转运动转化为物镜的垂直运动,读数头从光栅尺上读取物镜位置信息并传输给控制器,控制伺服电机的运行。OMC 的目标是,如遇到不可预测的外部干扰或参数变化,控制器依然准确跟踪期望位移,使焦平面定位在视网膜类器官样本上。

式中: z 、 $\dot{z}$ 和 $\ddot{z}$ 分别为广义位置、速度和加速度; $M(z)$ 为质量; $C(z)$ 为向心科里奥利力; $G(z)$ 为重力; $F_f(t)$ 为摩擦力; $F_d(t)$ 为滚珠丝杠内部热变形、传感器噪声和外部环境引起的干扰; u 为控制输入。

引入变量 P 和常数 $\bar{m}$,其关系如下:

$$P = (\bar{m} - m(z))\ddot{z} - C(z)\dot{z} - G(z) + F_f(t) + F_d(t) \quad (2)$$

式中变量 P 是一个复杂的变量,描述了除了 $\bar{m}\ddot{z}$ 之外的所有系统动力学模型,包括刚体动力学、摩擦力和未知干扰,变量 P 可以视为系统的集总未知项。

将式(2)代入式(1)中,OMC 动力学模型简化为

$$\bar{m}\ddot{z} = u + P \quad (3)$$

至此,控制系统设计的目标是,基于 OMC 动力学模型式(3),设计非线性鲁棒运动控制器,准

确跟踪期望轨迹 z_d 。

2.2 控制器设计

将传统的 PD (proportional derivative) 型滑模面扩展为 PID 型滑模面,并引入自适应更新机制,实现滑模面系数的自整定。自适应 PID 型滑模面设计如下:

$$s = \dot{e} + \hat{\lambda}_1 e + \hat{\lambda}_2 \int e dt \quad (4)$$

式中: e 、 $\dot{e}$ 和 $\ddot{e}$ 分别是位移误差、速度误差和加速度误差,分别表示为 $e = z_d - z$, $\dot{e} = \dot{z}_d - \dot{z}$, $\ddot{e} = \ddot{z}_d - \ddot{z}$; $\hat{\lambda}_1$ 和 $\hat{\lambda}_2$ 是具有自适应规则的可变增益。设计自适应律, $\hat{\lambda}_1$ 和 $\hat{\lambda}_2$ 表示如下:

$$\dot{\hat{\lambda}}_1 = -s \cdot s_{ig}(e)^{p_1} \quad (5)$$

$$\dot{\hat{\lambda}}_2 = -s \cdot s_{ig}(\int e dt)^{p_2} \quad (6)$$

为了抑制振荡并实现有限时间收敛,采用 FNTSM 型趋近律:

$$\dot{s} = -k_1 s - k_2 s_{ig}(s)^p \quad (7)$$

控制律设计如下:

$$u = -m\hat{\lambda}_1 \dot{z} - m\hat{\lambda}_2 z + m(\ddot{z}_d + \hat{\lambda}_1 \dot{z}_d + \hat{\lambda}_2 z_d + k_1 s + k_2 s_{ig}(s)^p) - \hat{P} \quad (8)$$

式中 $\hat{P}$ 通过 TDE 技术实现对 P 的在线估计。

$$\hat{P} \approx P_{(t-\eta)} = m \ddot{z}_{(t-\eta)} - u_{(t-\eta)} \quad (9)$$

控制律的完整表达式如下:

$$u_{APIDSMC-TDE} = u_{SMC} + u_{TDE} \quad (10)$$

式中: $u_{SMC} = -m\hat{\lambda}_1 \dot{z} - m\hat{\lambda}_2 z + m(\ddot{z}_d + \hat{\lambda}_1 \dot{z}_d + \hat{\lambda}_2 z_d + k_1 s + k_2 s_{ig}(s)^p)$; $u_{TDE} = -(\ddot{m} \ddot{z}_{(t-\eta)} - u_{(t-\eta)})$ 。

所提控制器包括了自适应 PID 型滑模面、FNTSM 型趋近律的 SMC 和 TDE 技术,因此,将所提控制器简称为 APIDSMC-TDE。

将控制律代入动力学模型式(3)中,得到系统误差动力学方程:

$$\ddot{e} + \hat{\lambda}_1 \dot{e} + \hat{\lambda}_2 e + k_1 s + k_2 s_{ig}(s)^p = \frac{\tilde{P}}{m} \quad (11)$$

式中 $\tilde{P} = P - \hat{P}$ 。

从式(11)可以看出,外部扰动和参数变化等集总未知项不会影响 OMC 的误差动力学,这从一个角度说明了控制器的鲁棒性。

FNTSM 型趋近律中的符号函数在控制律中易引起振荡。边界层技术可以用来避免振荡,使

用饱和函数代替符号函数。

APIDSMC-TDE 的运行需要位移、速度和加速度信号。为保持结构紧凑,OMC 从光栅传感器上获取位移信号。尽管对位移信号进行 1 阶微分、2 阶微分运算,可以得到速度信号、加速度信号。但是,由于光栅传感器的输出信号中包含噪声成分,微分运算会造成噪声信号的急剧放大,发生“微分爆炸”^[17-18]。通过鲁棒精密微分器 (robust exact differentiator, RED)^[19] 可以从位移信号中获取全状态信息,并有效降低噪声信号干扰。图 5 为 APIDSMC-TDE 控制器框图。

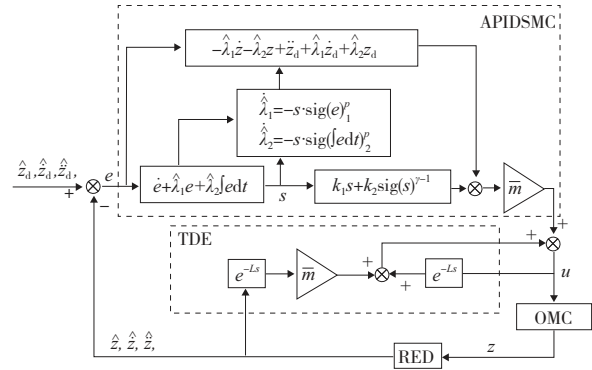


图 5 APIDSMC-TDE 控制器框图

3 硬件在环实验分析

本节通过硬件在环实验,分析 APIDSMC-TDE 的性能。采用方均根误差 (root mean square error, RMSE) 和最大误差 (mean error, ME) 作为评估控制器性能的指标^[20]。

采用宿主机和目标机模式构建 OMC 的硬件在环实验流程,如图 6 所示。采用 xPC Target 作为实时内核,时间步长为 0.1 ms。目标机配置 DOS 操作系统,时钟主频为 3.10 GHz。目标机编译、生成并执行代码,通过以太网输出到 xPC Target 系统。OMC 硬件在环实验的核心电气元件:执行器选用额定功率为 100 W 的三菱伺服电机,型号为 HK-KT13 WJ,驱动器型号为 MR-J5-10A;配置雷尼绍公司生产的 100 nm 分辨率光栅传感器。

将所提控制器和传统的 PID、SMC 进行比较,通过硬件在环实验得到控制器的性能指标,如表 1 所示。APIDSMC-TDE 的 ME 和 RMSE 分别为 4.1 μm 和 1.40 μm ,精度最高,相比 PID 和 SMC 表现出更优性能。

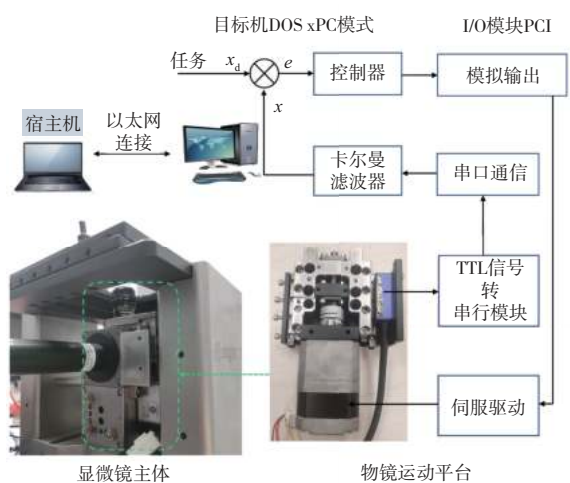


图6 OMC 硬件在环实验流程图

表1 硬件在环实验中的 ME 和 RMSE 性能指标

单位: μm

控制器	误差	
	ME	RMSE
PID	20.9	9.32
SMC	4.7	2.84
APIDSMC-TDE	4.1	1.40

4 视网膜样器官的显微成像实验

课题组研制了如图7所示的高分辨率显微镜,完成硬件结构设计和装配,开发了显微镜控制软件。显微镜的主体部分位于气浮平台上,以隔离环境振动对显微镜的影响。显微镜主体部分采用不锈钢和铝合金制造,铝合金表面做硬质氧化处理,避免材料氧化。光学系统采用普通大功率LED灯珠作为光源。物镜型号 Uplfln10X2, Olympus 公司生产,放大倍数为10倍,数值孔径NA(numerical aperture)为0.3,得到系统的理论光学极限分辨率为 $813 \sim 1\,545\text{ nm}$,满足视网膜类器官的观测要求。成像设备选用PCO公司生产的Edge4.2M型号sCMOS相机,活动像素大小为 $2\,048 \times 2\,048\text{ px}$ 。为方便OMC的手工操作,配置了调焦手轮。显微镜控制软件实现图像的采集、处理和保存等操作。

由于视网膜类器官的发育起点是生物干细胞,生命力脆弱,在高分辨率显微镜下受控培养和监视。经图像处理后的微观成像照片如图8所示,从图8(a)—图8(d)分别展示了OMC在不同位置上采集到的视网膜类器官的显微图像。

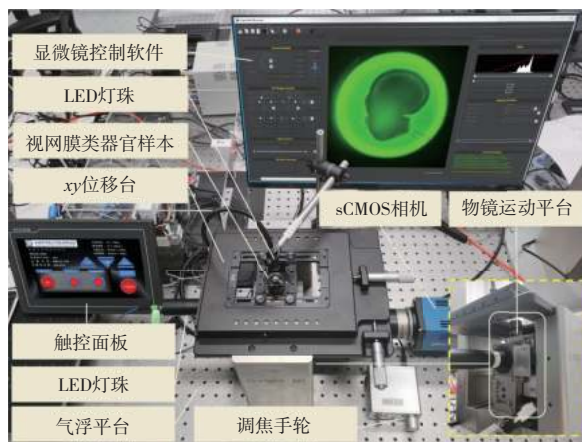


图7 高分辨率显微镜的整体结构图像

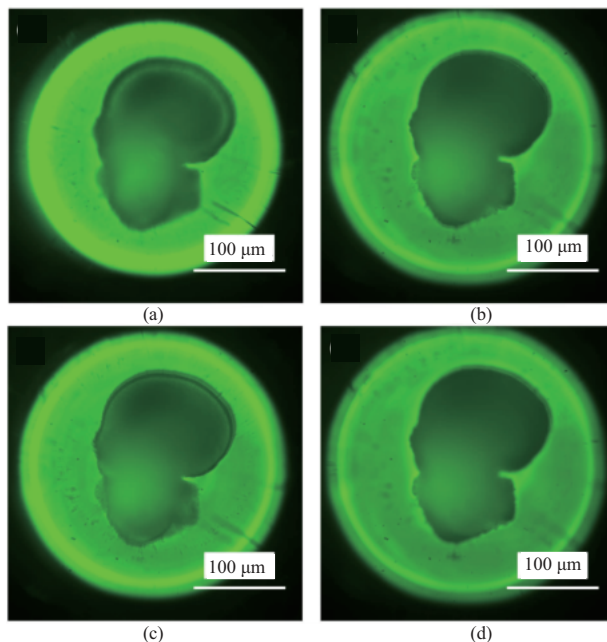


图8 视网膜类器官的显微图像

5 结语

本文开发了一种高分辨率光学显微镜系统。基于大数值孔径的光学成像原理,设计了视网膜类器官成像的高分辨率光学显微镜的光路系统和机械结构。对显微镜的核心运动机构——OMC进行了虚拟样机设计,通过有限元模态分析改进了OMC结构设计和材料选择,优化了OMC的机械性能。设计了APIDSMC-TDE控制策略,实现OMC的鲁棒精密运动控制。该控制策略将自适应PID型滑模面、FNTSM和TDE相结合,实现对期望轨迹的精确跟踪,最大误差小于 $4.1\text{ }\mu\text{m}$ 。搭建了高分辨率光学显微镜,准确控制焦平面位置,实现对视网膜类器官的显微成像。

参考文献:

- [1] TANG X Y, WU S, WANG D, et al. Human organoids in basic research and clinical applications [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 168.
- [2] 薛炅昊, 李志鹏, 赵元立. 血管化脑类器官的技术进展与应用前景 [J]. 协和医学杂志, 2025, 16(2): 277-284.
- [3] YU S D, XIE M Y, WU H T, et al. Design and control of a piezoactuated microfeed mechanism for cell injection [J]. The International Journal of Advanced Manufacturing Technology, 2019, 105(12): 4941-4952.
- [4] XU Z, SUN W X, LI X, et al. A stick-slip piezoelectric actuator with high assembly interchangeability [J]. International Journal of Mechanical Sciences, 2022, 233: 107662.
- [5] 苏子业, 余胜东. 用于压电陶瓷轨迹跟踪的非奇异终端滑模控制 [J]. 压电与声光, 2020, 42(4): 557.
- [6] NGUYEN T L, RO S K, PARK J K. Study of ball screw system preload monitoring during operation based on the motor current and screw-nut vibration [J]. Mechanical Systems and Signal Processing, 2019, 131: 18-32.
- [7] OH K J, CAO L, CHUNG S C. Explicit modeling and investigation of friction torques in double-nut ball screws for the precision design of ball screw feed drives [J]. Tribology International, 2020, 141: 105841.
- [8] 葛磊, 倪豪, 郝云晓, 等. 新型液压回转-机械直线执行器的死区补偿控制 [J]. 机械工程学报, 2024, 60(8): 337-347.
- [9] MA J Y, XIE M Y, CHEN P H, et al. Motion tracking of a piezo-driven cell puncture mechanism using enhanced sliding mode control with neural network [J]. Control Engineering Practice, 2023, 134: 105487.
- [10] 聂卓赟, 徐浩棋, 高志强, 等. 面向扰动抑制的参数调节机制与模糊抗扰 PID 控制方法 [J/OL]. 控制理论与应用, 1-10. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1240.TP.20250312.1022.012.html>.
- [11] 余胜东, 李小鹏, 杨思朋, 等. 基于自适应有限时间控制策略的高分辨率显微镜运动控制 [J]. 中国机械工程, 2024, 35(9): 1688-1697.
- [12] YU S D, WU H Y, KANG S Z, et al. Model-free robust motion control for biological optical microscopy using time-delay estimation with an adaptive RBFNN compensator [J]. ISA Transactions, 2024, 149: 365-372.
- [13] ZHENG G, POLYAKOV A, LEVANT A. Delay estimation via sliding mode for nonlinear time-delay systems [J]. Automatica, 2018, 89: 266-273.
- [14] 宋贤广, 徐为民. 基于时延估计的桥吊双吊具无模型同步控制 [J]. 控制工程, 2025, 32(2): 290-297.
- [15] YU S D, XIE M Y, MA J Y, et al. Precise robust motion tracking of a piezoactuated micropuncture mechanism with sliding mode control [J]. Journal of the Franklin Institute, 2021, 358(8): 4410-4434.
- [16] 马金玉, 余胜东, 康升征, 等. 基于压电作动器驱动的微操作机构设计与运动控制 [J]. 农业机械学报, 2021, 52(9): 417-426.
- [17] 殷春武, 甘婷, 楚天乐, 等. 基于时变终端滑模的任意迭代初态抑制控制 [J]. 控制理论与应用, 2023, 40(6): 1105-1112.
- [18] 杨劲松, 杨紫怡, 袁晓. 理想的分数阶数字微分器系数的解析表示 [J]. 四川大学学报(自然科学版), 2025, 62(2): 425-432.
- [19] YU S D, WU H T, XIE M Y, et al. Precise robust motion control of cell puncture mechanism driven by piezoelectric actuators with fractional-order nonsingular terminal sliding mode control [J]. Bio-Design and Manufacturing, 2020, 3(4): 410-426.
- [20] XIE M Y, YU S D, LIN H P, et al. Improved sliding mode control with time delay estimation for motion tracking of cell puncture mechanism [J]. IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Regular Papers, 2020, 67(9): 3199-3210.

收稿日期: 2023-10-31