

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810033602.1

[51] Int. Cl.
G01N 21/64 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008年7月30日

[11] 公开号 CN 101231244A

[22] 申请日 2008.2.15
[21] 申请号 200810033602.1
[71] 申请人 中国科学院上海微系统与信息技术研究所
地址 200050 上海市长宁区长宁路 865 号
共同申请人 宁波瑞芯生物科技有限公司
[72] 发明人 金庆辉 廖锡昌 张宏莲 赵建龙
唐向荣

[74] 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司
代理人 潘振甦

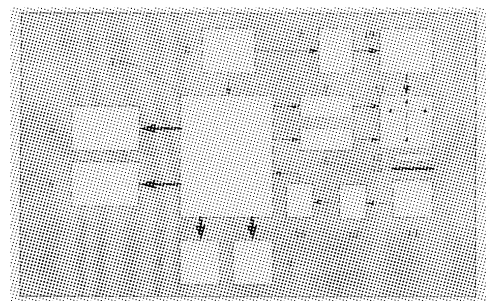
权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 3 页

[54] 发明名称

高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪

[57] 摘要

本发明涉及一种高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的微流控生化分析仪是由微流控分析和控制模块、发光二极管光斑转换和荧光收集模块和触摸屏液晶显示控制模块三部分组成，设置发光二极管稳流驱动电路控制发光二极管光源稳定性，采用柱面镜等透镜组件将LED发散光源转换为线光源利于光斑与微通道对准，采用荧光收集透镜、滤光片和针孔等进行荧光信号高效采集和降低背景光，程控高压直流电源的工作顺序和时间自动控制微流控生化分析过程，并由液晶触摸屏实现检测过程的控制、数据显示处理和打印输出。本发明采用高功率LED诱导荧光检测方法结合微流控分析技术，降低了仪器的体积和重量，以及降低成本。



1、一种高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的微流控生化分析仪是由微流控分析和控制模块、发光二极管光斑转换和荧光收集模块和触摸屏液晶显示控制模块三部分组成，设置发光二极管稳流驱动电路控制发光二极管光源稳定性，采用柱面镜等透镜组件将LED发散光源转换为线光源利于光斑与微通道对准，采用荧光收集透镜、滤光片和针孔等进行荧光信号高效采集和降低背景光，程控高压直流电源的工作顺序和时间自动控制微流控生化分析过程，并由液晶触摸屏实现检测过程的控制、数据显示处理和打印输出。

2、按权利要求1所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的微流控分析和控制模块是由微流控芯片、芯片台和高压直流电源组成，其中，微流控芯片选择石英或聚二甲基硅氧烷作为基片材料；芯片台按照芯片的标准尺寸进行设计和制造，放置、定位和取下微流控芯片；选择铂金属丝作为高压直流电源的电极连接，电极集成在一块电路板上，通过插拔方式与生化分析仪连接或分离。

3、按权利要求2所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的高压直流电源选用集成模块式电源，通过EMCO公司的Q系列高压电源模块将低压转换成高压。

4、按权利要求2或3所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述高压直流模块为毛细管电泳芯片提供进样和分离电压，用继电器实现进样高压和分离高压之间的切换。

5、按权利要求1所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的发光二极管光斑转换和荧光收集模块由发光二极管光源、发光二极管驱动电路、准直透镜、柱面镜、半反半透镜、聚焦和荧光收集透镜、滤光片、限光针孔和光电倍增管依次光学连接组成；其中，发光二极管选用波长为470nm的高功率蓝光为光源，发光二极管发出的光经准直透镜和柱面镜转换成线光源，经聚焦后与微流控芯片中的微管道垂直交叉，线

光源向上垂直会聚在微流控芯片的管道上并激发其中的荧光物质，激发出的荧光由物镜收集，由半反半透镜发射，再经过带通滤波片和针孔滤除背景光，最后由光电倍增管将荧光信号转换为电信号。

6、按权利要求 5 所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的蓝光光源的波谱范围为 460nm~490nm；所述的准直透镜为 Fraen 公司的 FHS-HNB1 系列；发光二极管和 FHS-HNB1 透镜均固定在铝基板上，使经过透镜的光线发散角减少到 6 度，再经过准直透镜和聚焦透镜光线聚焦成微小光斑。

7、按权利要求 5 所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于由柱面镜、半反半透镜、滤波片、透镜、光电倍增管及相应的支架组成光学元件模块封闭在一个暗盒中，在暗盒上方制作一个光滑的金属平台作为芯片台，出射狭缝嵌入这一平台上。

8、按权利要求 5 所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于聚焦后的光斑尺寸为 80 微米宽、3 毫米长。

9、按权利要求 1 所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的触摸屏液晶显示和控制模块是由低压电源模块、主控制电路板、液晶显示屏、触摸屏、打印机和 USB 存储接口芯片依次连接；主控制上集成 D/A 转换电路和 A/D 采集电路，通过 D/A 转换电路输出两路 0—5V 的电压分别控制进样电压和分离电压；输出 0—1V 的电压调节 PMT 的灵敏度。

10、按权利要求 9 所述的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于 USB 存储接口芯片通过 I²C 总线与单片机进行通信，通过 USB 接口将数据送至存储设备中。

高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪

技术领域

本发明涉及一种发光二极管（Light Emitting Diode, LED）诱导荧光检测微流控生化分析仪，可对多种生化样本（如 DNA、蛋白质、毒品等）进行自动检测和分析，属分析检验仪器技术领域。

背景技术

现代科学仪器已经被一些发达国家作为信息的源头和基础纳入其未来发展的战略重点，分析仪器是其中重要的组成部分之一。基于以微机电系统（MEMS）为基础的微全分析系统（Micro Total Analysis Systems, μ TAS）的生化分析仪器是发展的重要前沿领域。微全分析系统或称芯片实验室（Lab-on-a-Chip, LOC）是一个跨学科的新领域，其目标是通过微机电加工、计算机、电子学、分析化学、材料科学、医学和生物学等多交叉学科实现生化分析，系统地完成从试样处理到检测的全过程，用来对 DNA、蛋白质等生物样品进行分析。这样不仅减少了实验试剂和样品用量，而且其实验装置体积小而轻便、易于控制，并可现场进行采样和分析。应用于生物医学领域的微机电系统通常称为生物微机电系统（Bio-MEMS），应用 Bio-MEMS 技术不仅可以对现有的生命科学及医疗仪器进行改进和完善，而且可以创造出新的分析操作手段，极大地推动生物工程技术和医疗事业的发展。

微流控分析仪器是芯片实验室研究中的重要内容，目前，它主要应用于生命科学，在多肽、蛋白质、核酸等生物大分子的分离分析上发挥着极其重要的作用，同时微流控芯片的应用也涉及到食品化学、药物化学、医学、环境科学、法医学等领域。国外一些大的厂家如美国 Micronics 公司、美国 Nanogen 公司、加拿大 Micralyne 公司都在大力进行商品化仪器的开发研究。美国 Agilent 公司于 2001 年推出了 Agilent 2100 生化分析仪，该仪器主要用于 PCR

产物、蛋白质等的分离分析；中国科学院大连化学物理研究所开发了紫外吸收检测微流控芯片分析仪用于核酸和药物成分分析；中国科学院上海微系统所与信息技术研究所开发了一套四色激光诱导荧光检测系统用于核酸的快速分离和分析，可以实现寡核苷酸的单碱基分辨和大片段 DNA 的有效分离。

在微流控分析仪器中，荧光检测是最常用的一种检测方法，具有灵敏度高的优点，而激光诱导荧光检测也是目前灵敏度最高的检测手段之一。在激光诱导荧光检测系统中，气体激光器（如 Ar^+ ，He-Ne 激光器）应用比较普遍，但气体激光器存在体积大、功耗大、成本高、与微型化仪器难以匹配等缺点。半导体泵浦固体激光器是一种较新型的激光光源，但仍存在体积较大和价格昂贵等不足。近几年，随着发光二极管技术的日益成熟，高功率（瓦级）、短波长（470nm 左右）、单色性及稳定性良好的 LED 已在市场上出现。这类型号的 LED 已能够满足生化分析中荧光激发的要求，同时相比较于激光器来说，LED 具有成本低（几元人民币），体积小（厘米见方）、使用寿命长（5 万小时）的优点，适合于小型化、便携式现场检测生化分析仪的要求，将在生化分析领域发挥重要作用。

发明内容

本发明的目的是基于 LED 诱导荧光结合微流控分析技术构建一种集成化便携式生化分析仪，实现对多种生化样本的自动化检测和分析。该生化分析仪采用 LED 作为激发光源，其成本更低、体积更小、便于携带、操作简单，检测灵敏度与激光诱导荧光检测相当，同时采用微流控分析技术，使之具有快速高效的优点。

本发明所要解决的技术关键是 LED 光源稳定性控制、光束准直对准以及微流控分析过程的自动控制。

本发明所阐述的生化分析仪采用模块化设计，主要由三个部分组成：微流控分析和控制模块、LED 光斑转换及荧光采集模块、触摸屏液晶显示和控制模块。

设置发光二极管稳流驱动电路控制发光二极管光源稳定性，采用柱面镜等

透镜组件将LED发散光源转换为线光源利于光斑与微通道对准，采用荧光收集透镜、滤光片和针孔等进行荧光信号高效采集和降低背景光，程控高压直流电源的工作顺序和时间自动控制微流控生化分析过程，并由液晶触摸屏实现检测过程的控制、数据显示处理和打印输出。

下面分别介绍这三个部分：

第一部分，微流控分析和控制模块，主要是由微流控芯片、安置和定位微流控芯片的芯片台和对微流控芯片供电的高压直流电源等组成。其中，微流控芯片选择石英或聚二甲基硅氧烷（PDMS）作为基片材料，采用微加工工艺制作完成。芯片台按照芯片的标准尺寸进行设计和制造，可以很好地放置、定位和取下微流控芯片。选择铂金属丝作为高压直流电源电极连接，电极集成在一块电路板上，可以通过插拔方式与生化分析仪连接或分离，方便电极布局的调整。为了满足集成化和便携式的要求，生化分析仪的高压直流电源选用集成模块式电源。通过 EMCO 公司 Q 系列高压直流电源模块将低压转换为高压，高压直流电源模块为毛细管电泳芯片提供进样和分离高压，利用继电器工作实现进样高压与分离高压之间的切换。

第二部分，LED 光斑转换及荧光采集模块，主要由 LED 光源、LED 驱动电路、准直透镜 Fraen、柱面透镜、半反半透镜、聚焦和荧光收集透镜、滤光片、限光针孔和光电倍增管等组成。根据待检荧光染料和检测所需的灵敏度要求选择合适波长和功率的 LED 光源激发荧光。设计的 LED 驱动电路和散热装置为 LED 工作提供稳定的电流，使 LED 光源稳定以满足高灵敏度检测的要求。根据 LED 发出的光束特性设计和配置准直透镜、柱面透镜等透镜组件实现发散光斑转换为线光斑并与微管道垂直交叉，满足聚焦、对准和激发荧光的要求，这有利于提高仪器的分离度。激发出的荧光由物镜收集，再经过带通滤波片和限光针孔滤去背景光，最后由高灵敏度的光电倍增管（PhotoMultiplier Tube, PMT）将荧光信号转换为电信号。整个光学元件模块封闭在一个暗盒中，在暗盒上面制作了一个光滑的金属平台作为芯片台，易于操作。

第三部分，触摸屏液晶显示和控制模块，主要由低压电源模块、主控制电路板、液晶显示屏、触摸屏、打印机和 USB 存储接口芯片等部分依此连接组成。高性能的低压直流电源提供稳定且纹波系数小的电压，以满足 LED 光源和 PMT 检测的要求，使生化分析仪能够达到高灵敏度检测。主控制板上集成了 D/A 转换电路和 A/D 采集电路。通过 D/A 转换电路，输出两路 0~5V 的电压分别控制进样电压和分离电压，输出 0~1V 的电压调节 PMT 的灵敏度。LED 诱导激发的荧光通过系列光学器件后，经 PMT 输出电流信号。所述的电流信号通过 I/V 电路转换为电压信号，该电压信号再经低通滤波电路滤除噪声，然后通过后置放大电路放大，最后通过 A/D 转换得到数字信号。单片机对数字信号进行处理，并以图形的形式将结果显示在液晶上。单片机通过 SPI 串口与液晶显示屏和触摸屏进行通信，可在液晶显示屏上显示菜单和检测结果图形，通过触摸屏可设定参数进行检测。单片机通过 I²C 总线与 USB 接口芯片进行通信，通过 USB 接口可将数据传送至存储设备中。通过微型打印机可将检测结果图形打印出来。软件程序控制系统的有序工作，系统软件设计包括单片机的初始化、PMT 信号采集程序、可调高压的控制程序、结果存储和打印程序、液晶显示屏和触摸屏的驱动程序以及菜单和结果显示的程序等。

本发明阐述的生化分析仪的性能特点：

本发明的检测装置选用波长为 470nm 的高功率蓝光 LED 为光源，能激发多种荧光试剂，从而扩大可检测样品的种类。LED 的发射光经过透镜准直，柱面镜光斑转换再经透镜聚焦后，垂直照射到微流控芯片的微管道上，该线光源激发微管道中的荧光物质产生荧光，经荧光收集透镜充分收集，经过滤光片和针孔消除本体光及焦点外的杂散光，由光电倍增管接收转换为电信号，该信号由数据采集卡接收后并处理，确定待测样品的种类和含量，最后将结果曲线图显示在液晶屏上。本发明的生化分析仪由触摸屏和液晶提供人机交互平台，用户可以编辑实验所需参数，实时显示样品信号的电泳图形、处理和存储，以及打印输出。

本发明的生化分析仪中的 LED 发散光束经系列透镜和柱面镜等光学组件转换为满足检测要求的线光源，该光源取自光束能量最大的中心区域，能减小光束能量被削弱的影响，线性光源与芯片上的微管道垂直交叉，有利于光斑与微管道的对准，也避免直接用光束照射管道上引起的信号重叠，在实际使用中，可以直接通过肉眼观察，将芯片上的微管道放置在狭缝出光口即可，也省去了利用三维可动平台进行仔细对准的过程。同时激发产生的荧光由透镜充分收集，收集效率高，杂散光采用针孔消除，大大提高了检测灵敏度。

本发明阐述的微流控生化分析仪的优点是：采用高功率 LED 诱导荧光检测方法结合微流控分析技术，大大减少了仪器的体积和重量，也大大减少了制造成本，同时微流控分析具有快速、高效等优点，适合于制造形成便携式仪器，用于现场检测和床边检测（POCT）。

附图说明

图 1 为本发明提供的高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪的工作原理框图。

图 2 为本发明提供的光路系统模块示意图。

图 3 为本发明提供的液晶显示屏工作界面示意图。图 3-1 主菜单界面，图 3-2 “检测”界面，图 3-3 检测结果显示界面。

图中 1.主控制电路板、2.低压电源模块、3.触摸屏、4.液晶屏、5.打印机、6.USB 接口存储器、7.1000V 高压直流电源模块、8.5000V 高压直流电源模块、9.LED 驱动电路、10.LED 光源模块、11.微流控芯片、12.透镜、13.带通滤波片、14.光电倍增管（PMT）、15.低通滤波电路、16.放大电路、17.铝基板、18.发光二极管、19.准直（Fraen）透镜、20 柱面镜、21 半反半透镜、22.聚焦及荧光收集透镜、23.微流控芯片台、24.滤光片、25.聚焦透镜、26.限光针孔、27.光路密闭外壳。

具体实施方式

下面结合具体实施例详细阐述本发明的实施过程：

第一部分，微流控分析和控制模块。其中，微流控芯片 11 选择优质石英玻璃或聚二甲基硅氧烷（PDMS）聚合物作为基片材料，采用微加工工艺制作完成，主要包括光刻、显影和键合等工艺。利用车床和冲孔装置制作了芯片台，选择铂金属丝作为高压电源电极连接。生化分析仪的低压电源模块 2 由 Victor 公司的 AC/DC 和 DC/DC 构成，输出 12V 直流电压。低压电源模块 2 为主控制电路板 1、LED 驱动模块 9 和光电倍增管 14 提供 12V 直流电压。两个高压电源模块：最高输出 1000V 的高压直流电源模块 7 (EMCO, Q10-5) 和最高输出 5000V 的高压直流电源模块 8 (EMCO, Q50-5)，前者用于样品进样，后者用于样品分离。主控制电路板 1 通过两路 D/A 输出 0~5V 电压，分别调控 1000V 高压直流电源 7 和 5000V 高压直流电源 8。

第二部分，LED 光斑转换及荧光采集模块。光源采用波长为 470nm 的蓝光 LED18 (LUXEON Rebel 系列)，波谱范围为 460~490nm。Fraen 公司 FHS-HNB1 系列的透镜 1 用以减少 LED 发散，使其达到 6 度左右。Zetex 半导体公司的 ZXLD1350 芯片作为 LED 驱动芯片，LED 驱动电路 9 可为 LED 提供稳定的工作电流，使 LED 发出的光更加稳定。发光二极管 LED18 固定在铝基板 17 上，这样可以更快地散热，不影响 LED 的发光性能。FHS 系列透镜 19 也固定在铝基板 17 上，这样经过透镜的光线的发散角减小到 6 度。LED 光再经柱面镜 20 转换成线光源、半反半透镜 21，聚焦和荧光收集透镜 22 后聚焦在芯片台 23 上微流控芯片 11 的微管道上，激发产生的荧光经 22 收集，21 反射，滤光片 24、透镜 25 和针孔 26 聚焦并滤去杂散光，由光电倍增管 14 收集并转换为电信号。整个光学元件采用同心柱设置和固定，由光路密闭外壳封闭形成一个暗盒。在暗盒上面制作了一个光滑的金属平台作为芯片台。

其中，发光二极管选用波长为 470nm 的高功率蓝光为光源，蓝光光源的波谱范围为 460nm—490nm，发光二极管和 FHS-HNB 系列透镜均固定在铝基板上，使经过透镜的光线发散角减少到 6 度，再经过准直透镜和聚焦透镜光线聚焦成微小光斑。聚焦后的光斑尺寸为 80 微米宽，3 毫米长。

第三部分，触摸屏液晶显示和控制模块。主控制电路 1 通过 3 路 D/A 输出，分别调节控制 1000V 高压电源 7、5000V 高压电源 8 的输出电压和光电倍增管 14 的灵敏度。光电倍增管 14 采集荧光信号并将其转换成电信号，对检测区域的荧光信号强度进行实时采集。从 PMT 出来的电信号比较微弱，首先经过低通滤波电路 15 滤出背景噪声，然后经放大电路 16 将信号放大，最后信号进入主控制电路 1 的 A/D 通道。单片机对 A/D 转换的数字信号进行处理，最后可将图形结果显示在液晶屏 4 上。触摸屏 3 提供人机交互方式，可以设置生化分析仪器使用的各种检测参数。样品检测的数据结果以曲线的形式在液晶 4 上实时图形化显示，可以让检测人员检测整个样品的电泳分析过程。用户界面中的图像检测窗口可以随时实时的监控微管道中样品的分离情况：各电极的电压值，进样时间、分离时间和剩余时间，便于掌控整个实验过程的每一步，以确定电泳条件的有效性。通过触摸屏上的“打印”可将结果图形通过打印机 5 打印出来，通过“存储”可将数据存储到 U 盘或移动存储设备 6 中。系统软件设计包括单片机初始化、A/D 和 D/A 程序、打印存储程序、触摸屏液晶显示程序、USB 驱动、液晶驱动和触摸屏驱动。

各模块完成后，将各模块组合连成整个系统。组装时考虑下列几个因素：

- 1) LED 光源位置的布局；
- 2) 光学元件的布局；
- 3) 光电倍增管的使用特性，尽量避免背景光的影响；
- 4) 各个模块布局合理，仪器结构紧凑，仪器更加微型化。

仪器在使用过程中，操作人员只需将装有样品的芯片放入检测区，然后设置参数即可。

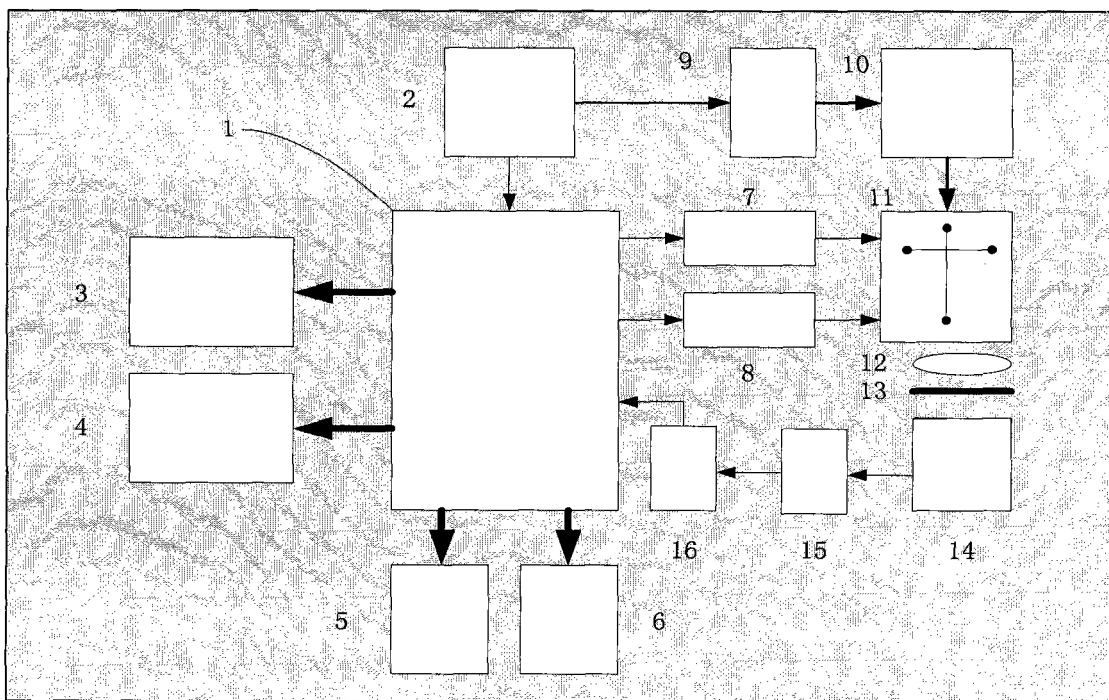


图 1

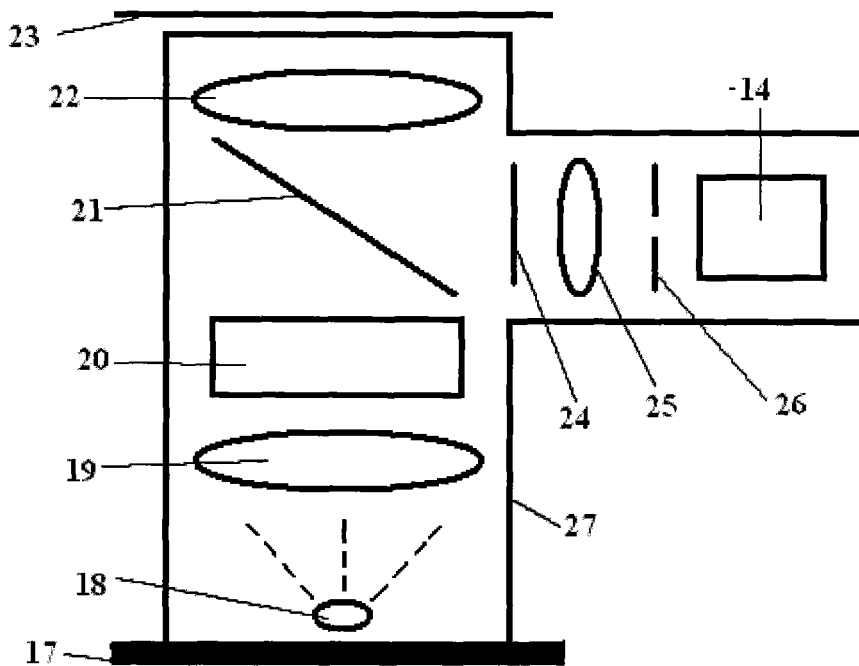
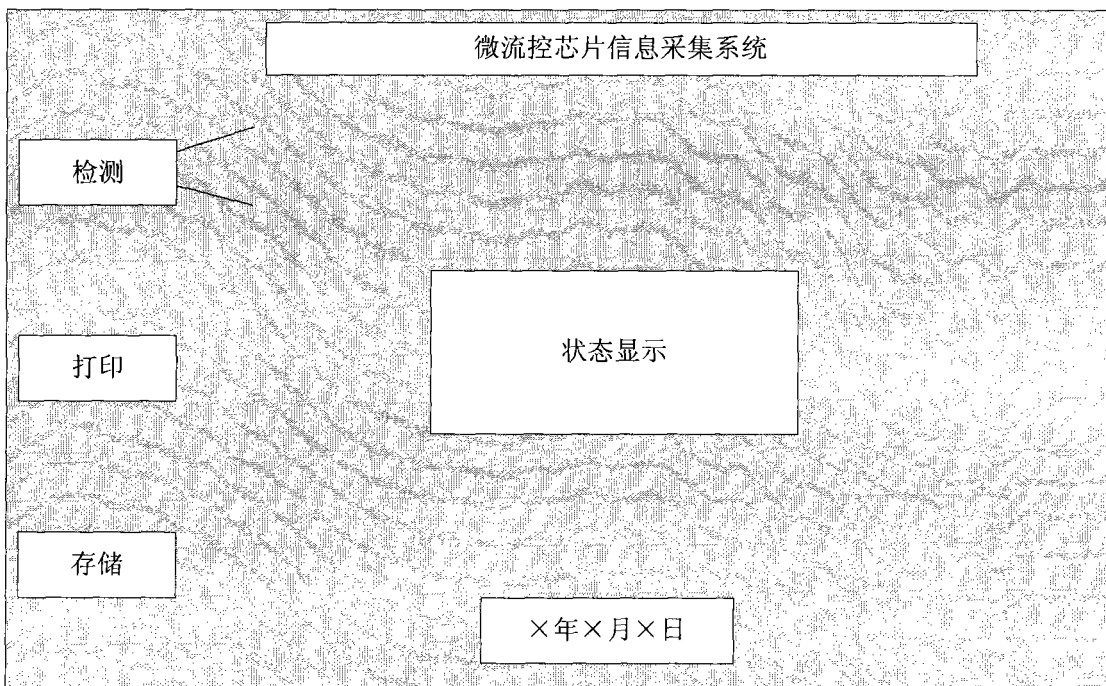
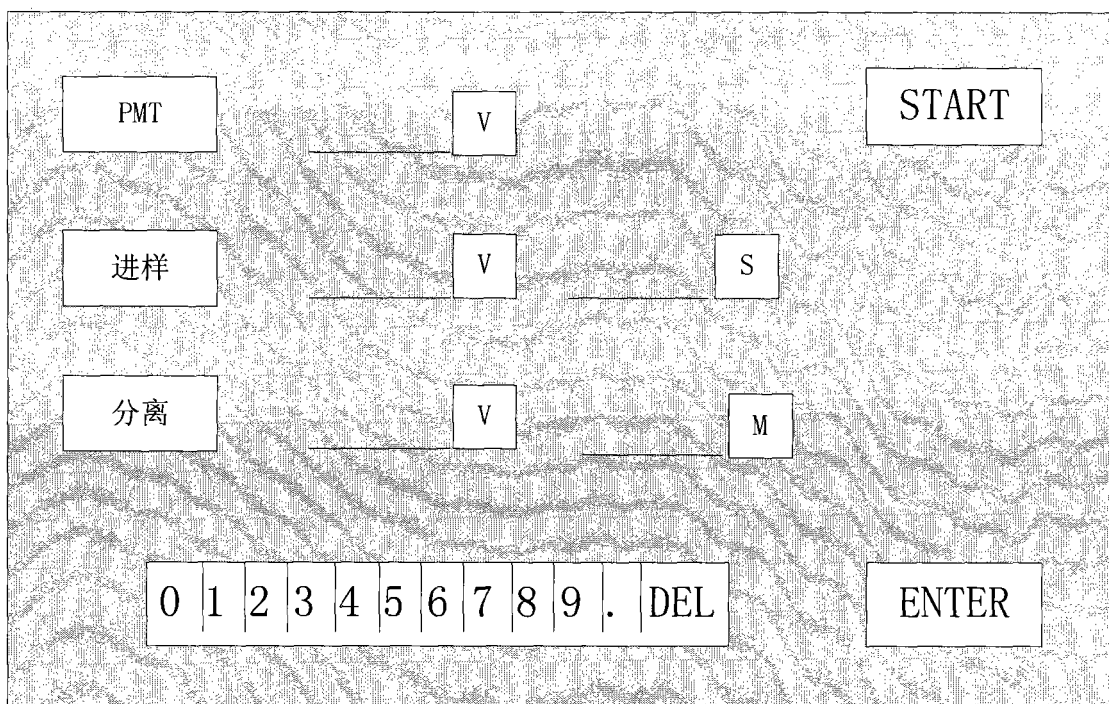


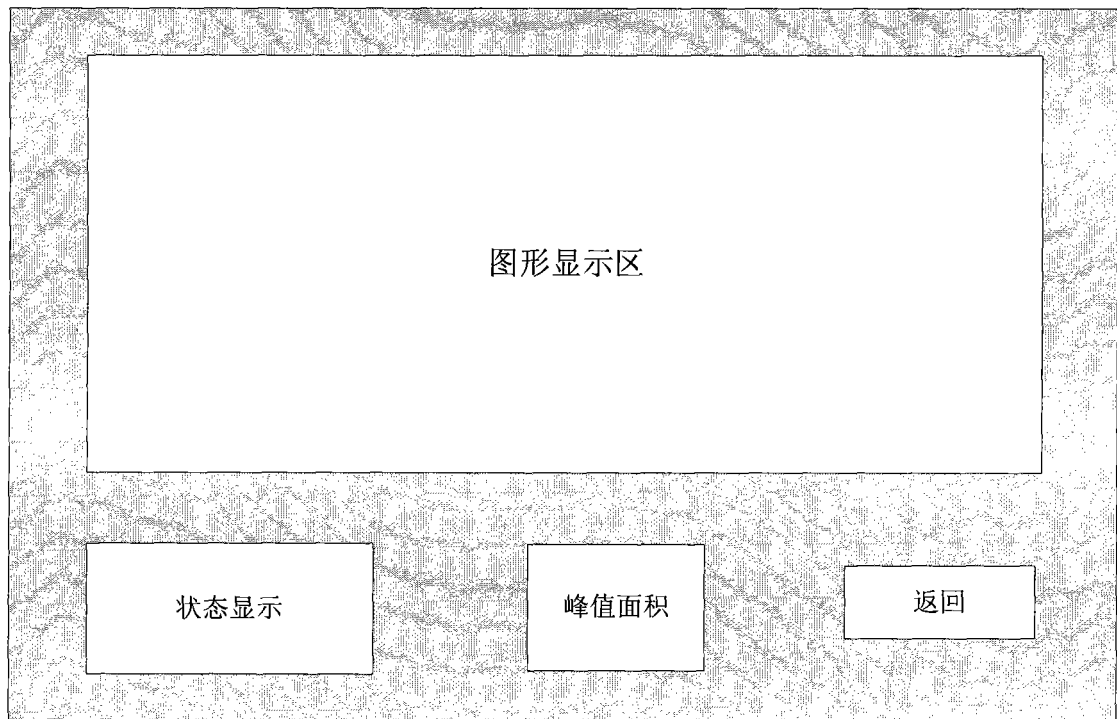
图 2



3-1



3-2



3-3

图 3

专利名称(译)	高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪		
公开(公告)号	CN101231244A	公开(公告)日	2008-07-30
申请号	CN200810033602.1	申请日	2008-02-15
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院上海微系统与信息技术研究所 宁波瑞芯生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	中国科学院上海微系统与信息技术研究所 宁波瑞芯生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院上海微系统与信息技术研究所 宁波瑞芯生物科技有限公司		
[标]发明人	金庆辉 廖锡昌 张宏莲 赵建龙 唐向荣		
发明人	金庆辉 廖锡昌 张宏莲 赵建龙 唐向荣		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/53 G01N33/00		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种高功率发光二极管诱导荧光检测微流控生化分析仪，其特征在于所述的微流控生化分析仪是由微流控分析和控制模块、发光二极管光斑转换和荧光收集模块和触摸屏液晶显示控制模块三部分组成，设置发光二极管稳流驱动电路控制发光二极管光源稳定性，采用柱面镜等透镜组件将LED发散光源转换为线光源利于光斑与微通道对准，采用荧光收集透镜、滤光片和针孔等进行荧光信号高效采集和降低背景光，程控高压直流电源的工作顺序和时间自动控制微流控生化分析过程，并由液晶触摸屏实现检测过程的控制、数据显示处理和打印输出。本发明采用高功率LED诱导荧光检测方法结合微流控分析技术，降低了仪器的体积和重量，以及降低成本。

