



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103743897 A

(43) 申请公布日 2014. 04. 23

(21) 申请号 201410045888. 0

(22) 申请日 2014. 02. 08

(71) 申请人 于方治

地址 201104 上海市闵行区罗秀路 1980 弄  
35 号 902 室

(72) 发明人 于方治

(74) 专利代理机构 上海科盛知识产权代理有限  
公司 31225

代理人 杨元焱

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006. 01)

G01N 21/64(2006. 01)

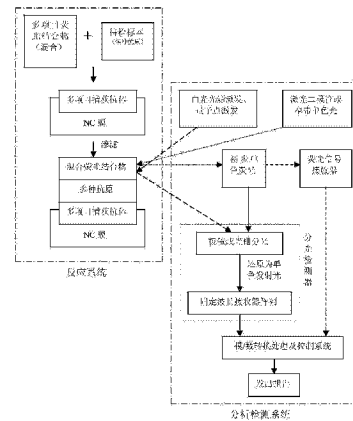
权利要求书2页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法

(57) 摘要

一种基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法,是建立一个多项目混合荧光免疫反应体系和反应后分光检测体系,用不同的荧光染料分别制备荧光结合物,混合在固相载体上反应,利用不同的荧光染料具有特定的、不同的激发光波长与发射光波长的性质,在检测时通过将某一荧光染料的激发光波长与其发射光波长对应的信号接收器联动,连续、逐一进行荧光免疫反应后的分光分析,实现对各项目的分别测定。本发明可以将多个检测项目组合在一起,一次完成,可有效地增加检测通量,提高检验效率。



1. 一种基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法,其特征在于:建立多项目混合荧光免疫反应体系和相应的检测体系,根据荧光染料分别具有特定的激发光波长与发射光波长的性质,在检测体系中通过将某一荧光染料激发光波长与其相应的发射光波长对应的信号接收器联动,逐一、连续进行分析,从而实现分别检测;

所述多项目混合荧光免疫反应体系的建立包括以下步骤:

(1) 确定项目组合数  $N$ , 选定  $N+1$  种激发光波长不同的荧光染料, 其中一种荧光染料固定用于试剂内参照;

(2) 根据项目组合, 选择相应的配对抗体, 即捕获抗体和标记抗体; 并在 (1) 所述选定的荧光染料的范围内选择荧光染料, 取标记抗体分别制备荧光结合物, 混合成混合荧光结合物;

(3) 将针对不同被检测物的多项目捕获抗体混合、混匀后, 包被于固相载体上;

(4) 另选一对抗原抗体作为内参照物, 将抗原用步骤 (1) 所述用于试剂内参照的荧光染料, 制备荧光结合物, 加入步骤 (2) 所述混合荧光结合物中, 其抗体与步骤 (3) 所述捕获抗体混合后包被于步骤 (3) 所述固相载体上;

(5) 将待检样本与上述包含内参照物的混合荧光结合物先后或同时滴加在上述固相载体上进行荧光免疫反应, 反应结束后去除游离荧光结合物, 即为待检的反应区;

所述检测体系的建立包括以下步骤:

(a) 根据步骤 (1) 选定的  $N+1$  种荧光染料的激发光波长, 确定激发光源;

(b) 根据步骤 (1) 选定的  $N+1$  种荧光染料的发射光波长定制固定波长分光检测器, 在分光光路上与各荧光染料相应的发射光波长处分别设置信号接收器, 组成信号接收器阵列, 用于分别接收各选定的荧光染料的发射光信号;

将上述步骤 (5) 所述反应区置于激发光的照射区域, 用激发光源照射, 将发射光聚焦, 直接或经分光检测器检测, 所得发射光信号经模 / 数转换、计算机软件处理, 最终给出检测结果。

2. 根据权利要求 1 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法, 其特征在于: 所述多项目混合荧光免疫反应体系是指用于包括单项测定在内的 1 项以上的测试的反应体系, 最大的组合项目数为步骤 (1) 所述的组合项目数  $N$ 。

3. 根据权利要求 1 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法, 其特征在于: 步骤 (1) 中所述荧光染料包括异硫氰酸荧光素、异硫氰酸罗丹明、6-羧基荧光素酰胺酯、荧光烷衍生物类、1,8-萘二酰亚胺类、香豆素类、镧系元素螯合物、量子点或包裹荧光染料的纳米颗粒。

4. 根据权利要求 1 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法, 其特征在于: 步骤 (3) 和步骤 (5) 中所述固相载体包括硝酸纤维膜、尼龙膜、聚苯乙烯片或胶乳颗粒、纳米二氧化硅颗粒、磁性微粒、特殊处理的玻璃表面或玻璃微珠。

5. 根据权利要求 1 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法, 其特征在于: 所述分别检测的方法, 包括常规发射光强分析法、时间分辨荧光分析法中的一种或两种的组合。

6. 根据权利要求 1 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法, 其特征在于: 步骤 (a) 中所述激发光源包括激光二极管、单色 LED 管、窄带滤光片与连续白光光源的组

合、连续白光光源或者特定的激发光。

7. 根据权利要求 1 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法,其特征在於:所述信号接收器可以是高敏光电管,或是光导纤维导引至光电倍增管,或是实时影像记录仪。

8. 根据权利要求 1 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法,其特征在於:步骤 (5) 中所述荧光免疫反应包括双抗体夹心法、双抗原夹心法、抗原抗体结合竞争抑制法或间接免疫法。

9. 根据权利要求 6 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法,其特征在於:所述连续白光光源包括卤素灯、氙弧灯或白光 LED。

10. 根据权利要求 6 所述的基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法,其特征在於:所述特定的激发光是指量子点的激发光,以粒径不同的量子点为荧光染料,可在同一波长激发光的作用下,发出不同波长的发射光。

## 基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物医药检测技术,特别涉及一种基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法。

### 背景技术

[0002] 免疫标记技术是将某种可微量或超微量测定的物质(如放射性核素、荧光染料、酶等)作为示踪物标记于抗体或抗原上制成标记物,利用抗原-抗体特异性反应原理,建立相应的反应体系,以检测标记物的有无或含量来间接反映样品中待检抗原或抗体的有无或量的多少。

[0003] 荧光免疫技术属于标记免疫技术的一种。是以荧光染料为示踪物标记抗体或抗原,利用抗原抗体反应的原理,实现定性或定量分析的技术。应用上主要分两大类:免疫组织化学(包括流式细胞术)和荧光免疫测定。免疫组织化学主要应用荧光染料标记抗体,与组织或细胞中的抗原结合,在专用显微镜下观察经激发光激发的荧光,对相应的抗原进行定性或/和定位,也称为荧光抗体技术;或与混合细胞成分作用,利用流式细胞仪进行细胞的分类研究。

[0004] 荧光免疫测定是用荧光染料标记抗体或抗原,利用抗原抗体反应的特异性和荧光染料的检测灵敏度,对生物材料(血液、尿液等体液或组织提取液、细胞培养液等)中水溶性成分进行定性或定量测定。

[0005] 近年来,免疫金斑点渗滤法和免疫层析法得到了迅速的发展和应用,其中也包括了荧光法。其基本原理就是将第一抗体(也称捕获抗体)标记在硝酸纤维素(NC)膜上或其它固相载体的表面上,成为固相抗体,然后将待检标本与标记了第二抗体的胶体金或标记了荧光染料的第二抗体(荧光结合物)先后或同时与捕获抗体作用,在NC膜上相应区域就形成了反应条带,如果是胶体金就形成肉眼可见的红色条带,如果是荧光结合物,则需在专用仪器内读取荧光强度,根据胶体金条带的深浅或荧光强度得出定性或定量的结果。这两种方法,操作简便,反应快捷,被列入POCT(Point Of Care Test)范畴,受到广泛的关注。

[0006] 一般而言,上述方法一个试验只能检测一个项目。以免疫层析法为例,每个测试条只能检测一个项目,比如肌钙蛋白I(TnI)测试条,只能检测血清TnI浓度,如果想同时检测肌红蛋白和肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)的浓度,只有在同一个测试条上3个相邻的位置上分别标记3种相应的捕获抗体,成为所谓的“3合1”(3 in 1)测试条。目前,这种组合测试条仅是个例,“层析”条的有限空间限制了更多项目的组合及其应用。

[0007] 荧光染料研究随着荧光标记技术的广泛应用取得了飞跃的进步。时间分辨荧光分析法的展开、双光子的应用和量子点的研究开拓了荧光染料发展的新的领域。在传统的荧光染料领域也取得了令人瞩目的进展。例如仅Alexa Fluor系列荧光染料其发射光谱从近紫外到近红外有约20种之多,这就为制备具有不同发射光谱的荧光结合物提供了范围广泛的选择可能。

[0008] 每种荧光染料均有其特定的激发光波长和相应的发射光波长。获取激发光的途径

主要是：连续白光光源加窄带滤光片获取所需单色光；激光二极管和单色 LED 光源。得益于科技进步和制作工艺的发展，在这些领域都取得了迅速的发展。从近紫外到近红外光波段，可以制备出任意波长的窄带滤光片；在激光领域，可以定制近紫外到近红外光波段内任意波长的激光二极管。这样就可以用不同波长的激光二极管组合成激发光源；也可以用连续白光光源，如卤素灯或氙灯与适用的滤光片组合以获取激发光源；同时，LED 单色光源的研发及其功率的提高，其作为激发光源应用的前景值得期待。

[0009] 在生物化学定量测定中，常利用反应中形成的特征性发色基团在特定吸收光谱吸光度的改变实现定量分析。目前广泛使用的自动化生化分析仪中均利用棱镜或光栅逐一对反应杯的透射光进行分光，在计算机的控制下，测定各个反应杯的特定吸收光谱吸光度的改变而实现大量样本的快速检测，这一技术俗称为“后分光技术”。其要点在于，将混合光通过棱镜或光栅解析还原成“单色光”，在特征光谱的位置设置光电转换元件（如光电管）固定接受此处的光强度变化，系列的光电管形成一个阵列，可以根据使用者的指令，捕捉特定波长处的光电信息，从而滤除无关杂色光的干扰，进而对特定发色基团作出精密的定性或定量分析。

## 发明内容

[0010] 本发明的目的，就在于提供一种基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法。

[0011] 本发明的目的是这样实现的：一种基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法是，建立多项目混合荧光免疫反应体系和相应的检测体系，根据荧光染料分别具有特定的激发光波长与发射光波长的性质，在检测体系中通过将某一荧光染料激发光波长与其相应的发射光波长对应的信号接收器联动，逐一、连续进行分析，从而实现分别检测；

[0012] 所述多项目混合荧光免疫反应体系的建立包括以下步骤：

[0013] (1) 确定项目组合数  $N$ ，选定  $N+1$  种激发光波长不同的荧光染料，其中一种荧光染料固定用于试剂内参照；

[0014] (2) 根据项目组合，选择相应的配对抗体，即捕获抗体和标记抗体；并在 (1) 所述选定的荧光染料的范围内选择荧光染料，取标记抗体分别制备荧光结合物，混合成混合荧光结合物；

[0015] (3) 将针对不同被检测物的多项目捕获抗体混合、混匀后，包被于固相载体上；

[0016] (4) 另选一对抗原抗体作为内参照物，将抗原用步骤 (1) 所述用于试剂内参照的荧光染料，制备荧光结合物，加入步骤 (2) 所述混合荧光结合物中，其抗体与步骤 (3) 所述捕获抗体混合后包被于步骤 (3) 所述固相载体上；

[0017] (5) 将待检样本与上述包含内参照物的混合荧光结合物先后或同时滴加在上述固相载体上进行荧光免疫反应，反应结束后去除游离荧光结合物，即为待检的反应区；

[0018] 所述检测体系的建立包括以下步骤：

[0019] (a) 根据步骤 (1) 选定的  $N+1$  种荧光染料的激发光波长，确定激发光源；

[0020] (b) 根据步骤 (1) 选定的  $N+1$  种荧光染料的发射光波长定制固定波长分光检测器，在分光光路上与各荧光染料相应的发射光波长处分别设置信号接收器，组成信号接收器阵列，用于分别接收各选定的荧光染料的发射光信号；

[0021] 将上述步骤 (5) 所述反应区置于激发光的照射区域，用激发光源照射，将发射光

聚焦,直接或经分光检测器检测,所得发射光信号经模 / 数转换、计算机软件处理,最终给出检测结果。

[0022] 所述多项目混合荧光免疫反应体系是指用于包括单项测定在内的 1 项以上的测试的反应体系,最大的组合项目数为步骤 (1) 所述的组合项目数 N。

[0023] 步骤 (1) 中所述荧光染料包括异硫氰酸荧光素、异硫氰酸罗丹明、6- 羧基荧光素酰胺酯、荧光烷衍生物类、1,8- 萘二酰亚胺类、香豆素类、镧系元素螯合物、量子点或包裹荧光染料的纳米颗粒。

[0024] 步骤 (3) 和步骤 (5) 中所述固相载体包括硝酸纤维膜、尼龙膜、聚苯乙烯片或胶乳颗粒、纳米二氧化硅颗粒、磁性微粒、特殊处理的玻璃表面或玻璃微珠。

[0025] 所述分别检测的方法,包括常规发射光强分析法、时间分辨荧光分析法中的一种或两种的组合。

[0026] 步骤 (a) 中所述激发光源包括激光二极管、单色 LED 管、窄带滤光片与连续白光光源的组合、连续白光光源或者特定的激发光。

[0027] 所述信号接收器可以是高敏光电管,或是光导纤维导引至光电倍增管,或是实时影像记录仪。

[0028] 步骤 (5) 中所述荧光免疫反应包括双抗体夹心法、双抗原夹心法、抗原抗体结合竞争抑制法或间接免疫法。

[0029] 所述连续白光光源包括卤素灯、氙弧灯或白光 LED。

[0030] 所述特定的激发光是指量子点的激发光,以粒径不同的量子点为荧光染料,可在同一波长激发光的作用下,发出不同波长的发射光。

[0031] 内参照为仪器内设固定必检通道;即每种组合的每次测试都自动进行内参照测试;软件的数据处理是分别以该通道的光强为参比得出各项目相对光强,依据同法制备各自的校准曲线,作为定性或定量的依据。

[0032] 根据目前的资料,常用荧光染料的激发 / 发射光谱分布于从近紫外到近红外的广泛波段内,因而可供选择的荧光染料具有很大的范围,也就是说,可供组合的检测项目数将完全可以满足绝大多数情况下的检测要求。

[0033] 对于荧光染料来说,其激发光波长与发射光波长是固定的、特征性的,因而,某一激发光波长必须与其发射光波长对应的信号接收器(光电管等)联动,当某一波长激发光照射反应区时,与其对应的信号接收器同时启动,接收和输出信号。

[0034] 内参照的设置是基于两个方面的要求,对反应条自身有效性的监督和检测数据的处理;各项目光强与内参照物光强的比值是最终报告的基础;内参照的测定占用仪器内设固定通道,无需操作者的指令自动完成;也因此,尽管对每个项目组合而言可以选择不同的抗原-抗体对作为内参照,而实际上所有的项目组合可以使用相同的内参照。

[0035] 在不同单色激发光作用下,反应区内不同检测对象的荧光结合物分别发出不同波长的荧光,杂色光的产生应极少;在预定项目组合数较少的情况下,杂色光干扰可以忽略不计,可以无需分光检测,利用光电转换元件如光电管,直接接收发射光信号,完成检测,这样,可以简化仪器的结构。

[0036] 上述单色荧光可能会混以不同成分的杂光,特别是组合项目多、激发光谱接近,激发光谱相邻的荧光结合物可能受到影响而产生干扰,这时,将“单色光”聚焦,引入棱镜或光

栅进行分光,在各荧光染料特征发射光谱处接收光强信号,即可最大限度地排除杂光的干扰,对各检测对象做出精密的定性或定量的分析。

[0037] 单一激发光源,如连续白光光源照射反应区时,荧光结合物会同时被激发,形成混合光束,在预订项目组合较少,各发射光谱在峰值处的重叠可以忽略不计时,将其引入分光检测器,可以无需单色光激发器,完成测试,此一设计,可以避免激光二极管或 LED 管因电源、环境温度等外部因素导致的光谱漂移对检测结果的影响,激发光源结构较为简单。

[0038] 量子点荧光是一个特殊的情况,其激发光为一特定波长单色光,荧光的发射波长取决于量子点的大小,因而,用量子点为荧光染料时,可利用特定单色光为激发光源,经分光检测器实现分别检测。

[0039] 本发明可以将多个检测项目组合在一起,一次完成,可有效地增加检测通量,减少样本消耗,降低检测成本,提高检验效率,对现有的荧光免疫检测技术是一个突破。

### 附图说明

[0040] 图 1 是采用激光二极管(包括 LED 管)作为激发光源的示意图。

[0041] 图 2 是强光源加平面旋转的单色滤光片获得激发光的示意图。

[0042] 图 3 是强光源加环形旋转的单色滤光片获得激发光的示意图。

[0043] 图 4 是反应区激发荧光直接检测示意图。

[0044] 图 5 是分光检测荧光发射光的示意图。

[0045] 图 6 是本发明的方法原理框图。

### 具体实施方式

[0046] 1. 激发光源的确定

[0047] 1.1 确定未来可能需要使用的荧光染料的种类,例如,未来可能要使用 5 种荧光染料为① Alexa Fluor 488、② Alexa Fluor 546、③ Alexa Fluor 610、④ Alexa Fluor 660、⑤ Alexa Fluor 750,另加 Alexa Fluor 350 作为内参照荧光染料。其激发波长/发射波长分别为 499nm/519nm、561nm/572nm、610nm/629nm、663nm/691nm、752nm/776nm 和 346nm/442nm。定制波长分别是 499nm、561nm、610nm、663nm、752nm 和 346nm 的激光二极管(或 LED 管),作为激发光源。

[0048] 1.2 定制这 6 种波长的窄带滤光片,与连续白色光源,组成激发光源,用以激发反应区内荧光结合物。

[0049] 1.3 以连续白光光源为激发光源,或其它单一光源为激发光源(以量子点为荧光染料时);采取这一激发光方式,检测通道设置须以发射光波长为依据,也即选定荧光染料时,发射光谱不得重叠。

[0050] 应用时,可根据实际需求,在上述激发光源中三取其一。

[0051] 2. 发射光信号接收器

[0052] 2.1 直接接受反应区经激发光激发的发射光信号,这些信号分别经模/数转换、计算机软件处理,包括校准曲线的建立,最终给出检测结果。如此构成一个完整的检测系统。

[0053] 2.2 检测系统设置与荧光染料匹配的检测通道,如以 1.1 所举例的 5 种荧光染料,则设①、②、③、④、⑤通道和内参照通道。并令激发光发射/发射光接收联动。设以①为检

测 Alexa Fluor 546 通道,则选择①通道,即启动 499nm 激发光,519nm 接收器同时工作,此即为联动。操作者根据不同的项目组合选择通道,给出指令,仪器则按程序接收和处理指定通道的信号。

[0054] 内参照为仪器内设固定必检通道:即每种组合的每次测试都自动进行内参照测试;软件的数据处理是分别以该通道的光强为参比得出各项目相对光强,依据同法制备的各自的校准曲线,作出定性或定量的报告。

[0055] 3. 定制分光检测器

[0056] 3.1 定制棱镜或光栅分光检测器,具备与所选定的荧光染料发射波长位置相应的信号接受器阵列。以 1.1 所举例的 6 种荧光染料,则须具备 519nm、572nm、629nm、691nm、776nm 和 442nm 固定波长信号接收器。它们接收经分光剔除杂色光干扰的“单色光”信号,这些信号分别经模/数转换、计算机软件处理,包括校准曲线的建立,最终给出检测结果。如此构成一个完整的更为精密的检测系统。

[0057] 3.2 如 2.2 所述设置仪器检测通道和参比通道。

[0058] 4. 以上 1.1、1.2 和 2;或 1.1、1.2 和 3;或 1.3 和 3 构成激发/接收分析系统,为以下各种实施方式所通用。

[0059] 4.1 免疫渗滤法

[0060] 4.1.1 设计适当的测试项目组合,如甲胎蛋白 (AFP)、癌胚抗原 (CEA) 和糖类抗原 50 (CA50) 组成肿瘤标志物三项,选择相应的配对抗体。将各自的捕获抗体和兔 IgG (内参照试剂) 以适当的浓度混合,标记在 NC 膜的表面;NC 膜下垫置吸水材料,如多层滤纸,制成反应板,备用。

[0061] 4.1.2 在上述检测系统已设定的固定发射波长的 5 种荧光染料中选择 3 种,如①、③、⑤,分别标记与上述捕获抗体配对的抗体,制备荧光结合物。另取羊抗兔 IgG 标记以 Alexa Fluor 350 (内参照试剂),将这些荧光结合物以适当的浓度混合,备用。

[0062] 上述内参照试剂,即兔 IgG-荧光标记羊抗兔 IgG 系统在各种项目组合和各种方法中通用而且必用。以下各种实施方法中均包含此系统,不再特别记述。

[0063] 4.1.3 将定量待检标本加在 NC 膜上,待渗滤后,加上定量混合荧光结合物,待渗滤完全;或预先将标本与混合荧光结合物按比例混匀后,定量加到 NC 膜上,待渗滤完全。

[0064] 4.1.4 滴加中性缓冲溶液,以求更充分滤除未结合(游离)的荧光结合物。

[0065] 4.1.5 将反应板置于检测装置下,操作者选择①、③、⑤通道,给出指令,进行检测。得出一组 AFP、CEA、CA50 的检测结果。

[0066] 4.2 免疫层析法

[0067] 4.2.1 设计适当的测试项目组合,如免疫渗滤法的肿瘤标志物三项,选择相应的配对抗体。将各自的捕获抗体以适当的浓度混合,吸附于 NC 膜上,真空干燥。

[0068] 4.2.2 在上述检测系统已设定的 5 种固定发射波长的荧光染料中选择 3 种,如②、③、⑤,分别标记与上述捕获抗体配对的抗体,制备荧光结合物,以适当的浓度混合,喷涂在玻璃纤维垫上,真空干燥。

[0069] 4.2.3 将吸水垫、上述 NC 膜、玻璃纤维垫和样品垫依次黏贴在不干胶垫片上,切条,制成免疫层析试验条带,备用。

[0070] 4.2.4 将定量待检标本滴加于样品垫上,待检标本因毛细作用形成侧向液流,流经

玻璃纤维垫时,溶解并带动荧光结合物流过 NC 膜上的捕获抗体带,完成反应,未结合物随液流继续前行,为吸水垫所容留。

[0071] 4.2.5 将反应完全的条带置于检测装置下,选择②、③、⑤通道,给出指令,进行测试。得出标本的 AFP、CEA 和 CA50 的定量结果。

[0072] 4.3 常规微孔板荧光免疫检测法

[0073] 4.3.1 设计适当的测试项目组合,如免疫渗滤法的肿瘤标志物三项,选择相应的配对抗体。将各自的捕获抗体以适当的浓度混合,吸附于微孔中。洗去未结合物,拍干备用。

[0074] 4.3.2 在上述检测系统已设定的 5 种固定发射波长的荧光染料中选择 3 种,如②、③、④分别标记与上述捕获抗体配对的抗体,制备荧光结合物,以适当的浓度混合,备用。

[0075] 4.3.3 将定量待检标本加入微孔,温育固定时间后,洗去未结合物,拍干;

[0076] 4.3.4 将定量荧光结合物混合物加入微孔,温育固定时间后,洗去未结合物,拍干;

[0077] 上述 4.3.3 和 4.3.4 操作可并为一步进行。

[0078] 4.3.5 将微孔置于检测装置下,选择②、③、④通道,给出指令,进行测试。得出标本的 AFP、CEA 和 CA50 的定量结果。

[0079] 4.4 上述 3 种检测方式中同一种项目组合应用了 3 种荧光染料的不同组合,意在说明,在选定的荧光染料范围内,允许任意挑选、组合使用。

[0080] 如图 1 所示,不同波长的激光二极管(或 LED 管)1 围绕反应区 5 并以此为共同的“聚焦”点,形成对称的倒锥形排列。在二极管阵列与反应区之间有一旋转的遮光板 2,上面开有一个孔 3,它经过每个二极管发出的光路,这样可以连续获得所需的单色激发光,同时保证在任一个时点只有一束激光可以投照到反应区 5。通过电路控制,使阵列中的二极管相继开关,在任一时点只有一个二极管处于开启状态,即在任一时点只有一个二极管发光时,可以取消遮光板的设置。

[0081] 如图 2 所示,单色激发光的获取,可以采用连续白光光源 6 经窄带滤光片 8 实现。在旋转的滤光板 7 上,沿圆周对称镶嵌排列所选定的窄带滤光片,置于光源与反应区 5 之间,这样可以连续获得所需的单色激发光,同时保证在任一时点只有一种单色光投照在反应区上。

[0082] 如图 3 所示,窄带滤光片 8 可以排列镶嵌在滤光环 9 上。光源 6 置于滤光环内。滤光环旋转,可以连续获得所需的单色激发光,同时保证在任一时点只有一种单色光投照在反应区上。

[0083] 如图 1、图 2、图 3 所示,激发光与反应区平面形成一个夹角。此角度的合理取值,应由实验确定。

[0084] 如图 4 所示,在杂色光的干扰可忽略不计时,反应区 5 经单色激发光激发的荧光经聚焦系统 10 直接由接收器 11 接收信号。

[0085] 如图 5 所示,反应区 5 由单色激发光激发所产生的发射光(包括多少不一的杂色光)经聚焦系统 10 被引入棱镜(或光栅)12 分光,形成单色光束 13,分别由接收器阵列 14 接收和输出。

[0086] 图 6 是本发明的方法原理框图,混合免疫荧光反应在反应区形成反应产物的混合(混合的荧光结合物存在其中);混合的荧光结合物经单色激发光激发可直接测量,或经后

分光的进一步过滤、解析、还原,从而实现多个检验项目同时(多通道)分析检测。

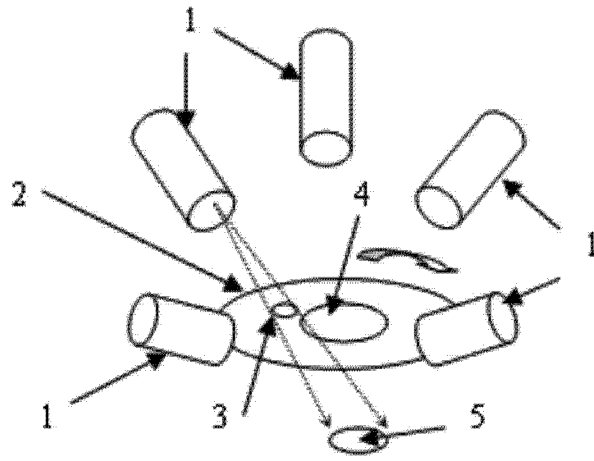


图 1

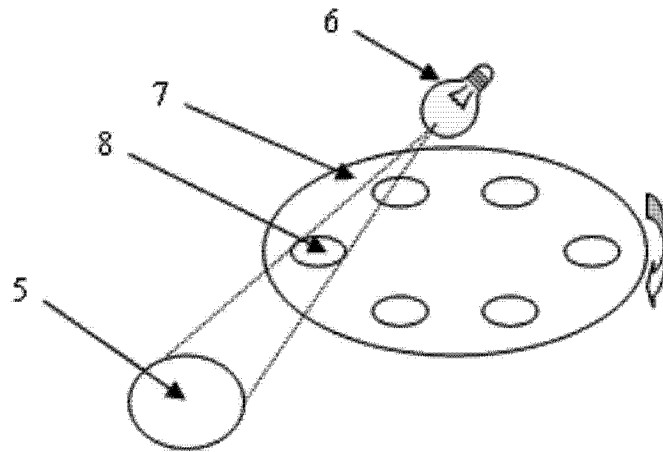


图 2

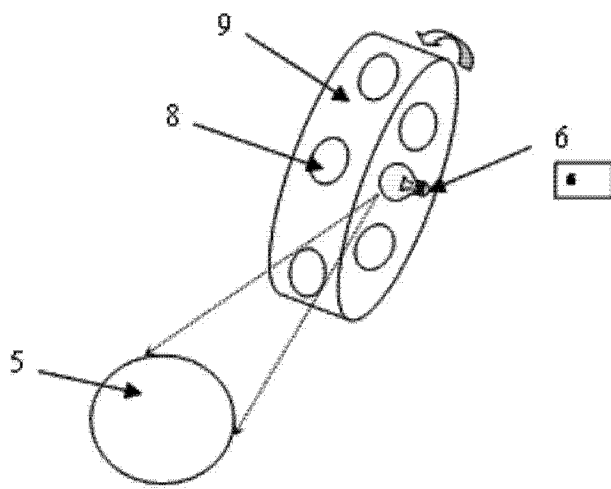


图 3

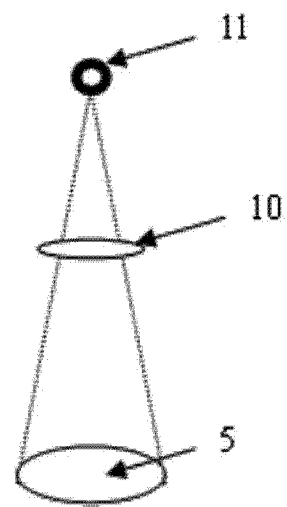


图 4

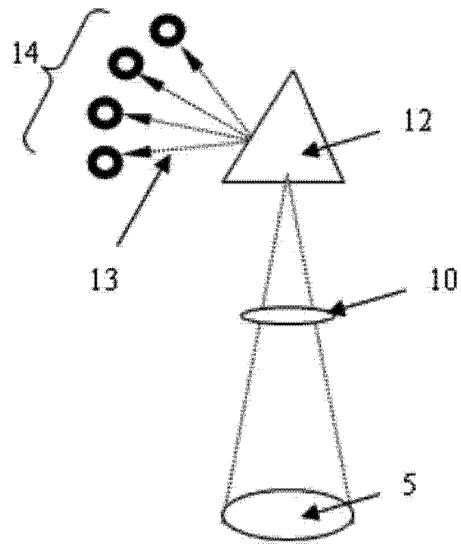


图 5

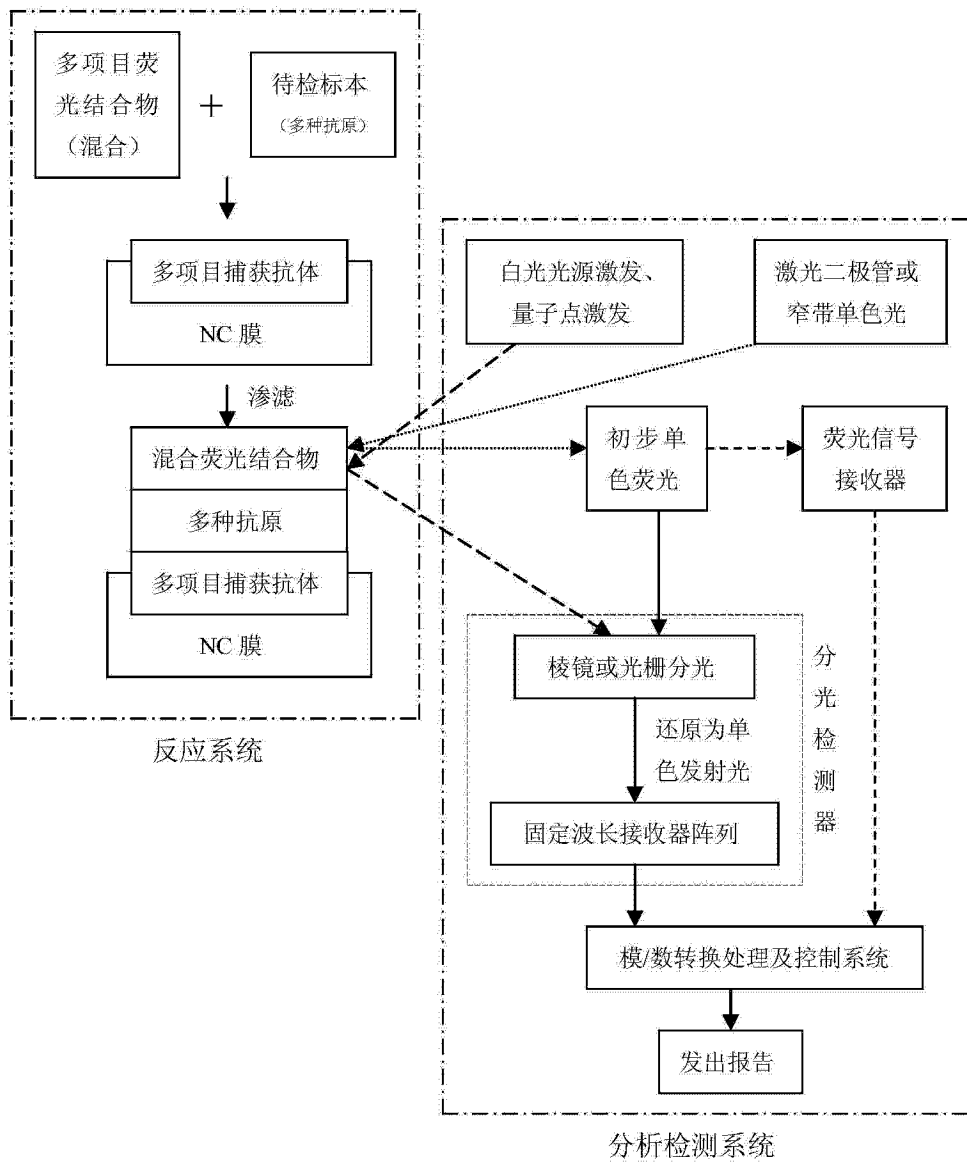


图 6

专利名称(译)	基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103743897A</a>	公开(公告)日	2014-04-23
申请号	CN201410045888.0	申请日	2014-02-08
[标]发明人	于方治		
发明人	于方治		
IPC分类号	G01N33/533 G01N21/64		
CPC分类号	G01N33/582 G01N21/6486		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>	<a href="#">SIPO</a>	

摘要(译)

一种基于多项目混合荧光免疫反应的分光分析法，是建立一个多项目混合荧光免疫反应体系和反应后分光检测体系，用不同的荧光染料分别制备荧光结合物，混合在固相载体上反应，利用不同的荧光染料具有特定的、不同的激发光波长与发射光波长的性质，在检测时通过将某一荧光染料的激发光波长与其发射光波长对应的信号接收器联动，连续、逐一进行荧光免疫反应后的分光分析，实现对各项目的分别测定。本发明可以将多个检测项目组合在一起，一次完成，可有效地增加检测通量，提高检验效率。

