



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103728446 B

(45) 授权公告日 2016. 02. 24

(21) 申请号 201310694918. 6

(22) 申请日 2013. 12. 11

(73) 专利权人 天津大学

地址 300072 天津市南开区卫津路 92 号

(72) 发明人 高峰 万文博 李峰辉 赵会娟

(74) 专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代理事务所 12201

代理人 程毓英

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 21/64(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102327111 A, 2012. 01. 25,

CN 103201614 A, 2013. 07. 10,

US 2003/0206688 A1, 2003. 11. 06,

WO 88/07670 A2, 1988. 10. 06,

R. P. Ekins 等. The development of high sensitivity pulsed light, time-resolved fluoroimmunoassays. 《Pure & Appl. Chem.》. 1985, 第 57 卷 (第 3 期),

李峰辉. 基于多通道标刻光子计数技术的时间分辨荧光免疫分析系统研究. 《万方数据》. 2013,

覃东利 等. 时间相关单光子计数法测量生物组织光学参数. 《医疗卫生装备》. 2007, 第 28 卷 (第 4 期),

审查员 苗君叶

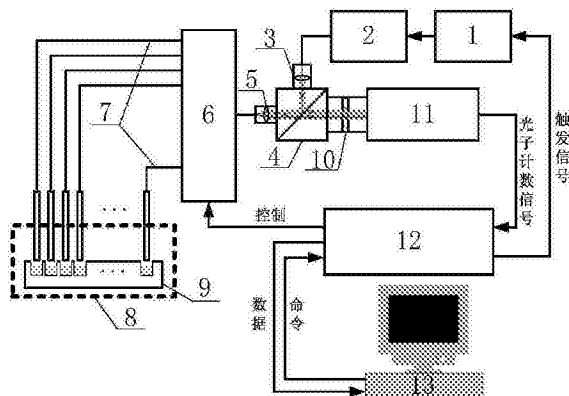
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

光子计数型多通道时间分辨荧光免疫分析系统及计数方法

(57) 摘要

本发明属于荧光免疫分析技术领域, 涉及一种光子计数型多通道时间分辨荧光免疫分析系统, 包括光源模块、检测模块以及时间标刻光子计数分析/控制模块。本发明同时涉及上述系统采用的计数方法: 脉冲光激发待测样品, 样品受激发产生的荧光信号送入 PMT 光子计数头后输出的脉冲信号的计数方法如下: 将激发脉冲光的周期作为计数周期, 将每个计数周期划分为多个宽度相同的时间间隔, 在每个计数周期里, 将该周期的激发光脉冲发送之后检测到的每个光子累加至相应的时窗所对应的存储器中, 亦即利用时窗所在区间标刻每个光子在该脉冲周期中的位置, 多个周期的计数之后, 将上述存储器中的数据传入上位计算机中。本发明的多通道时间分辨荧光免疫分析系统, 造价低廉, 且有很高的灵敏度。



CN 103728446 B

1. 一种光子计数型多通道时间分辨荧光免疫分析系统,包括光源模块、检测模块以及时间标刻光子计数分析/控制模块;

所述光源模块包括 LED(2) 以及调制器(1);

所述检测模块包括第一光纤准直器(3)、光波分复用器(4)、第二光纤准直器(5)、光开关(6)、光纤探头(7)、暗箱(8)、多孔样品板(9)、滤光片(10)以及 PMT 光子计数头(11),多孔样品板(9)置于暗箱(8)内,光纤探头为多根,每根探头穿过暗箱上的孔,然后悬空置于多孔样品板的相对应的每个孔的上方;

所述时间标刻光子计数分析/控制模块包括控制器(12)及上位计算机(13);

控制器(12)在接收到上位计算机(13)的命令后,产生触发脉冲的电信号发送给调制器,调制器产生的调制信号控制 LED 发出激发光脉冲;

LED(2)发出的激发光脉冲依次经过第一光纤准直器(3)、光波分复用器(4)、第二光纤准直器(5)及光开关(6)的选通的测量通道后输出至某根光纤探头(7);

多孔样品板(9)中样品受激发产生的荧光信号由光纤探头(7)接收后,经由光开关(6)按原路返回至光波分复用器(4),再经过滤光片(10)滤光后被送入 PMT 光子计数头(11),PMT 光子计数头(11)输出的信号被送入控制器(12),控制器(12)将计数结果传入上位计算机(13);

其中,LED(2)的中心波长为 365nm,经调制后的激发光脉冲半峰宽为 50 μ s,并通过耦合光纤实现激发光脉冲的输出;所述光波分复用器(4)的中部固定有截止波长为 505nm 的二向色镜,对 365nm 激发光反射率大于 95%,对 610nm 荧光透射率大于 97%;所述第一光纤准直器(3)于 405nm 处具有最大透过率,第二光纤准直器(5)于 350 ~ 700nm 波长区间反射率小于 1%。

2. 根据权利要求 1 所述的时间分辨荧光免疫分析系统,其特征在于,所述 PMT 光子计数头(11)应当至少具有 70ns 的光脉冲分辨率以及 $1.5 \times 10^6 \text{s}^{-1}$ 的线性光子计数范围,且能够确保将探测到的光子脉冲信号以 TTL 电平信号输出。

3. 根据权利要求 1 所述的时间分辨荧光免疫分析系统,其特征在于,所述光纤探头(7)使用芯径为 500 μ m,数值孔径为 0.37 的石英光纤,且光纤探头探测端具有直径为 3mm 的金属包覆。

4. 根据权利要求 1 所述的时间分辨荧光免疫分析系统,其特征在于,所述滤光片(10)采用截止波长为 510nm 的长通滤光片。

5. 权利要求 1 所述的系统采用的计数方法,其特征在于,脉冲光激发待测样品,样品受激发产生的荧光信号送入 PMT 光子计数头后输出的脉冲信号的计数方法如下:将激发光脉冲的周期作为计数周期,将每个计数周期划分为多个宽度相同的时间间隔,称为“时窗”,且将该时间间隔称为“时窗宽度”,存储时采用与时窗个数相同的存储器;在每个计数周期里,将该周期的激发光脉冲发送之后检测到的每个光子累加至相应的时窗所对应的存储器中,亦即利用时窗所在区间标刻每个光子在该周期中的位置,多个周期的计数之后,将上述存储器中的数据传入上位计算机中,对所测得的光子数时间扩展曲线的某个特定区间进行积分以及非线性最小二乘拟合,以分别获得荧光强度和荧光寿命。

6. 根据权利要求 5 所述的计数方法,其特征在于,对所述的 PMT 光子计数头输出的脉冲信号计数的方法分为三部分:初始化过程、光子计数过程、数据分析过程,其中:

初始化过程:通过上位计算机将测量参数发送至控制器中;测量参数包括时窗个数,时钟计数器的计数阈值和激发光脉冲数,控制器根据所设定测量参数,分配与时窗个数相同的存储器;

光子计数过程:该过程共有 5 个步骤,具体如下:

①当控制器产生触发脉冲的电信号时,将该脉冲信号的下降沿作为新计数周期的计数同步信号,此时将时钟计数器与预累加器清零,并将存储地址复位到首个时窗对应的存储器位置;

②时钟计数器开始计数,并启动预累加器,对 PMT 探测到的荧光信号进行光子脉冲触发的异步预累加,在预累加器的计数过程中,同步读取当前存储地址下存储器数据;

③当时钟计数器到达所设定的计数阈值时,认为到达所需的时窗宽度,此时将从存储器中读取的数据与预累加器中的计数结果相加,将相加得到的结果写入当前存储地址以更新该当前存储地址的光子计数值;存储地址加 1,切换到下一时窗存储位置,产生时窗切换信号,并将预累加器及时钟计数器清零;

④重复步骤②③直到该激发光脉冲的单计数周期中所设定数目的时窗均计数完毕;此时单周期测量结束;

⑤重复步骤①②③④,进行多周期重复测量,直至完成所设定激发脉冲数的周期的测量;

数据分析过程:将上述存储器中的数据传入上位计算机(13)中,对所测得的光子数时间扩展曲线的某个特定区间进行积分以及非线性最小二乘拟合,以分别获得荧光强度和荧光寿命。

光子计数型多通道时间分辨荧光免疫分析及计数方法

技术领域

[0001] 本发明属于荧光免疫分析技术领域,具体涉及一种荧光免疫分析系统。

背景技术

[0002] 时间分辨荧光免疫分析 (Time-resolved Fluoroimmunoassay, TRFIA) 技术在生物大分子的发光分析研究中已被证明是一种行之有效的工具,其使用三价稀土离子及其螯合物作为长寿命荧光示踪剂,对抗原、抗体、核酸探针等物质进行标记。待免疫反应发生后,根据稀土离子螯合物的荧光光谱特性,利用时间分辨荧光检测系统,通过延迟测量,降低本底荧光的影响,测定免疫反应最终产物的荧光强度和寿命,以实现高信噪比的发光分析。将待测物质的荧光强度与浓度 - 荧光强度标准曲线进行对比,判断反应体系中待分析物的浓度,从而达到定量分析的目的。

[0003] 现有的时间分辨荧光免疫检测仪 (专利 CN201194014Y) 使用自由空间光路传输方式实现荧光免疫检测,该测量系统本质上为透镜与反射镜的组合,该光学系统设计与加工具有一定难度,且系统装配过程中对光路同轴度等参数的要求较高,不利于系统的整体测试与调整。光源采用经过滤波的全谱脉冲激发光,该脉冲的重复频率不可调整,不利于测量具有不同荧光寿命的待测物质。除此之外,其顺序多通道检测能力的通过现有的机械扫描方式实现,因此测量速度慢、便携性差。专利 CN202599954U 使用机械传动装置实现数据的多路采集,由于机械装置的限制,难以适应仪器小型化的发展趋势。

[0004] 目前,应用于微弱组织体出射光高时间分辨率测量的技术主要有同步扫描相机方法 (D. A. Boas, "Hand book of biomedical optics," American, CRC Press, 2010) 和时间相关单光子计数法 (W. Becker, "Advanced time-correlated single photon counting techniques," Berlin :Springer, 2005)。这两种方法都能实现皮秒乃至飞秒量级的时间分辨率,但是成本十分昂贵,难以真正投入临床使用。在具体的应用中,TRFIA 使用具有长寿命的荧光物质,因此对时间分辨率要求相对较低,可以采用分辨率在微秒级别的时间分辨光子计数技术 (时间标刻光子计数法) 进行测量。

[0005] 本发明将从测量系统的改进以及准确对探测到的微弱光信号进行单光子计数分析这两个方面着眼,致力于解决现有时间分辨荧光免疫检测系统所存在的问题。其具体内容包括一种非机械传动模式的多通道时间分辨荧光免疫分析系统,以及适用于该系统的一种异步光子预累加、同步数据存储模式的时间标刻光子计数分析方法。

发明内容

[0006] 本发明的目的之一在于提供一种多通道时间分辨荧光免疫分析系统,目的之二在于提出一种用于多通道时间分辨荧光免疫分析系统的时间标刻光子计数分析方法。

[0007] 本发明解决两个技术问题的解决方案如下:

[0008] 一种光子计数型多通道时间分辨荧光免疫分析系统,包括光源模块、检测模块以及时间标刻光子计数分析 / 控制模块;

[0009] 所述光源模块包括 LED (2) 以及调制器(1)；

[0010] 所述检测模块包括第一光纤准直器(3)、光波分复用器(4)、第二光纤准直器(5)、光开关(6)、光纤探头(7)、暗箱(8)、多孔样品板(9)、滤光片(10) 以及 PMT 光子计数头(11), 多孔样品板(9) 置于暗箱(8) 内, 光纤探头为多根, 每根探头穿过暗箱上的孔, 然后悬空置于多孔样品板的相对应的每个孔的上方；

[0011] 所述时间标刻光子计数分析 / 控制模块包括控制器(12) 及上位计算机(13)；

[0012] 控制器(12) 在接收到上位计算机(13) 的命令后, 产生触发脉冲的电信号发送给调制器, 调制器产生的调制信号控制 LED 发出激发光脉冲；

[0013] LED 发出的激发光脉冲依次经过第一光纤准直器(3)、光波分复用器(4)、第二光纤准直器(5) 及光开关(6) 的选通的测量通道后输出至某根光纤探头(7)；

[0014] 多孔样品板(8) 中样品受激发产生的荧光信号由光纤探头(7) 接收后, 经由光开关(6) 按原路返回至光波分复用器(4), 再经过滤光后被送入 PMT 光子计数头(11), PMT 光子计数头(11) 输出的信号被送入控制器(12), 控制器(12) 将计数结果传入上位计算机(13)。

[0015] 上述系统采用的计数方法如下: 脉冲光激发待测样品, 样品受激发产生的荧光信号送入 PMT 光子计数头后输出的脉冲信号的计数方法如下: 将激发脉冲光的周期作为计数周期, 将每个计数周期划分为多个宽度相同的时间间隔, 称为“时窗”, 且将该时间间隔称为“时窗宽度”, 存储时采用与时窗个数相同的存储器; 在每个计数周期里, 将该周期的激发光脉冲发送之后检测到的每个光子累加至相应的时窗所对应的存储器中, 亦即利用时窗所在区间标刻每个光子在该脉冲周期中的位置, 多个周期的计数之后, 将上述存储器中的数据传入上位计算机中, 对所测得的光子数时间扩展曲线的某个特定区间进行积分以及非线性最小二乘拟合, 以分别获得荧光强度和荧光寿命；

[0016] 针对所述的 PMT 光子计数头输出的脉冲信号进行计数的方法主要分为三部分: 初始化过程、光子计数过程、数据分析过程, 其中:

[0017] 初始化过程: 通过上位计算机将测量参数发送至控制器中; 测量参数包括时窗个数; 时钟计数器的计数阈值; 激发光脉冲数, 控制器根据所设定测量参数, 分配与时窗个数相同的存储器;

[0018] 光子计数过程: 该过程共有 5 个步骤, 具体如下:

[0019] ①当控制器产生触发脉冲的电信号时, 将该脉冲信号的下降沿作为新计数周期的计数同步信号, 此时将时钟计数器与预累加器清零, 并将存储地址复位到首个时窗对应的存储器位置;

[0020] ②时钟计数器开始计数, 并启动预累加器, 对 PMT 探测到的荧光信号进行光子脉冲触发的异步预累加, 在预累加器的计数过程中, 同步读取当前存储地址下存储器数据;

[0021] ③当时钟计数器到达所设定的计数阈值时, 认为到达所需的时窗宽度, 此时将从存储器中读取的数据与预累加器中的计数结果相加, 将相加得到的结果写入当前存储地址以更新该存储位置的光子计数值; 存储地址加 1, 切换到下一时窗存储位置, 产生时窗切换信号, 并将预累加器及时钟计数器清零;

[0022] ④重复步骤②③直到该激发光脉冲的单计数周期中所设定数目的时窗均计数完毕; 此时单周期测量结束;

[0023] ⑤重复步骤①②③④,进行多周期重复测量,直至完成所设定激发脉冲数的周期的测量;

[0024] 数据分析过程:将上述存储器中的数据传入上位计算机(13)中,对所测得的光子数时间扩展曲线的某个特定区间进行积分以及非线性最小二乘拟合,以分别获得荧光强度和荧光寿命。

[0025] 本发明的有益效果如下:

[0026] (1) 本发明采用光纤光路实现光信号的传输,易于装配与调整,且能够有效地避免了外部杂散光信号的干扰;

[0027] (2) 本发明所使用的光源模块为带有调制器的窄光谱 LED,调制器接收触发脉冲以控制 LED 产生相应光脉冲,并通过设定自身的调制电流改变光脉冲的光强。该光源模块成本相对于脉冲激光器较为低廉,且易于按照特定测量物质产生所需周期、半峰宽以及光强的光脉冲;

[0028] (3) 本发明使用光开关以实现特定通道探测光纤的选通,且利用同一个探测器探测荧光强度,以实现多通道数据采集。结构可有效避免机械传动装置,利于探测装置的小型化发展;

[0029] (4) 本发明设计的多通道时间分辨荧光免疫分析系统造价低廉,且不受激发光强度、样品猝灭和荧光染料的分布浓度等许多因素的影响,具有很高的灵敏度;

[0030] (5) 本发明采用异步预累加计数、同步累加存储的方式实现单光子计数。该方式能有效避免普通计数模式中由于同步时钟信号的限制而导致的光子的遗漏现象;

[0031] (6) 本发明可以自由设定时窗的时间宽度。由于时窗宽度可以自由设定,因此在测量中可以通过改变时窗宽度以实现不同时间尺度和范围的测量,使测量可以覆盖非常宽的时间区间,以实现对不同待测物质产生的荧光信号进行精确测量;

[0032] (7) 本发明所能达到的时间分辨率由所使用的 PMT 光子计数头的脉冲对的分辨率决定,随着探测器制造技术的发展,本发明光子计数方法能够获得更高的时间分辨能力。

附图说明

[0033] 图 1:时间分辨荧光免疫分析系统结构示意图;

[0034] 图 2:时间标刻光子计数器原理框图;

[0035] 图 3:时间标刻光子计数器工作流程图。

具体实施方式

[0036] 下面结合附图和实施例对本发明进行说明。

[0037] 一、多通道时间分辨荧光免疫分析系统框图如图 1 所示,包括光源模块、检测模块以及时间标刻光子计数分析/控制模块,下面对各个部分进行详细介绍:

[0038] 1. 光源模块包括窄光谱 LED2 以及调制器 1;

[0039] (1) 其中发光二极管 LED2 输出波长为 365nm 的激发光。

[0040] (2) 调制器 1 用于对 LED2 进行调制以产生脉冲激发光。控制器 12 按照实际需要产生特定脉冲宽度及占空比的触发信号。工作于触发模式下的调制器在接收到该信号后,控制 LED 产生相应脉宽的光脉冲,并通过设定调制器的调制电流的大小以控制该光脉冲的

光强。与此同时,将该触发脉冲视为计数同步信号,作为时间分辨光子计数模块中每个计数周期开始时的标志信号。

[0041] 2. 检测模块包括光纤准直器 3、光波分复用器 4、光纤准直器 5、光开关 6、光纤探头 7、暗箱 8、多孔样品板 9、滤光片 10 以及 PMT(光电倍增管)光子计数头 11,多孔样品板 9 置于暗箱 8 内,光纤探头为多根,每根探头穿过暗箱上的孔,然后悬空置于多孔样品板的一个对应的孔的上方;根据测量物质(三价铈离子)的发射光谱特性,选取截止波长为 510nm 的长通滤光片。

[0042] LED2 中心波长为 365nm,典型输出功率为 4.1mW,经调制后的激发光脉冲半峰宽为 50 μ s,并通过耦合光纤实现激发光脉冲的输出;所述光波分复用器 4 选用截止波长为 505nm 的二向色镜,对 365nm 激发光反射率大于 95%,对 610nm 荧光透射率大于 97%;所述第一光纤准直器 3 于 405nm 处具有最大透过率,第二光纤准直器 5 于 350~700nm 波长区间反射率小于 1%;所述 PMT 光子计数头 11 应当至少具有 70ns 的光脉冲分辨率以及 $1.5 \times 10^6 \text{s}^{-1}$ 的线性光子计数范围,并且应当包括幅度甄别-比较电路,以确保探测到的光子脉冲信号以 TTL 电平信号输出;所述光纤探头 7 使用芯径为 500 μ m,数值孔径为 0.37 的石英光纤,且该光纤探头探测端具有直径为 3mm 的金属包覆;所述光开关 6 为 $1 \times N$ ($N=16,32,48,64,96$) 路光开关(芯径:500 μ m、数值孔径:0.37),与其配套使用 N 孔暗箱 8 及 N 孔样品板 9;所述滤光片 10 在实际使用时可按照所探测标记物更换滤光片。

[0043] 3. 时间标刻光子计数分析/控制模块包括控制器 12 及上位计算机 13;所述控制器 12 使用 FPGA(现场可编程门阵列)实现。

[0044] 4. 系统的连接关系描述如下:

[0045] (1) 控制器 12 在接收到上位计算机 13 的命令后,产生触发脉冲的电信号发送给调制器,调制器产生的调制信号控制 LED 发出激发光脉冲;

[0046] (2) LED 发出的激发光脉冲依次经过第一光纤准直器 3、光波分复用器 4、第二光纤准直器 5 及光开关 6 的选通的测量通道后输出至某根光纤探头;

[0047] (3) 多孔样品板 8 中样品受激发产生的荧光信号由光纤探头 7 接收后,经由光开关 6 按原路返回至光波分复用器 4,再经过滤光后被送入 PMT 光子计数头 11, PMT 光子计数头 11 输出的信号被送入控制器 12,控制器 12 将计数结果传入上位计算机 13。

[0048] 二、多通道时间分辨荧光免疫分析系统系统的主要工作过程可以分为四部分:调制过程、激发过程、探测过程、分析过程。

[0049] 1. 调制过程:上位计算机 13 发出命令,控制器 12 在接收到该命令后发出特定周期的触发脉冲信号。将该信号输入调制器 1 用以调制 LED2,产生特定周期的脉冲光信号。此时通过设定调制器 1 的调制电流,将脉冲光的光强调整至所需强度。

[0050] 2. 激发过程:将经过调制的脉冲光作为激发光,通过光纤将其传输至光纤准直器 3。经过准直的激发光经由光波分复用器 4 传输至光纤准直器 5,选通光开关 6 中的某路探测通道,经由相对应的某路光纤探头 7,激发置于暗箱 8 的多孔样品板 9 中相应某孔的试剂,产生荧光信号。

[0051] 3. 探测过程:置于多孔样品板 9 的试剂在经过激发后产生荧光信号,该信号经由与激发过程相同的某个光纤探头传入光开关 6 中,经由光纤准直器 5 传入光波分复用器 4,经过滤光片 10 滤除杂散光的干扰后由 PMT 光子计数头 11 接收。

[0052] 4. 分析过程 :由 PMT 光子计数头 11 输出的荧光信号为离散的电脉冲信号,通过控制器 12 对其进行计数。计数完毕后将数据传输至上位计算机 13 中进行数据处理并显示。

[0053] 三、使用与系统相适应的时间标刻光子计数分析方法,该计数方法主要分为三部分 :初始化过程、光子计数过程、数据分析过程。

[0054] 1. 初始化过程 :通过上位计算机 13 将测量参数发送至控制器 12 中。测量参数包括测量通道、时窗数目、时窗宽度和激发脉冲数。测量通道是指光开关 6 的选通通道,用于选通光纤探头 7 中的某一特定光纤,从而完成多孔样品板 9 中某一特定样品的测量 ;时窗数目是在一个计数周期内划分的时窗的个数 ;时窗宽度是指每个时窗的时间宽度,该参数表现为时钟计数器的计数阈值 ;激发脉冲数是指用于测量的激发脉冲的个数。根据所设定测量参数,分配与时窗个数相同的存储器。

[0055] 2. 光子计数过程 :该过程是由控制器 12 实现的,所使用的时间标刻光子计数器的原理框图如图 2 所示,其主要任务是完成对荧光信号的记录,具体包括光子计数以及存储地址控制。

[0056] 若每次检测到 PMT 脉冲信号都对当前时窗的数据进行一次读 - 累加 - 写操作,则会遗漏读写过程中到来的光子脉冲,从而影响计数器的光子计数率。

[0057] 为了克服上述问题,所设计时间标刻光子计数器采用异步光子预累加,同步数据存储以完成单光子计数。

[0058] 光子计数方法共有 5 个步骤,其工作流程如图 3 所示,具体说明如下 :

[0059] ①当控制器 12 发出触发脉冲信号时,将该脉冲信号的下降沿作为新计数周期的计数同步信号。此时将时钟计数器与预累加器清零,并将存储地址复位到首个时窗对应的存储器位置。

[0060] ②时钟计数器开始计数,并启动预累加器,对 PMT 探测到的荧光信号进行光子脉冲触发的异步预累加。在预累加器的计数过程中,同步读取当前存储地址下存储器数据。

[0061] ③当时钟计数器到达所设定的计数阈值时,认为到达所需的时窗宽度,此时将从存储器中读取的数据与预累加器中的计数结果相加,将相加得到的结果写入当前存储地址以更新该存储位置的光子计数值。存储地址加 1,切换到下一时窗存储位置,产生时窗切换信号,并将预累加器及时钟计数器清零。

[0062] ④重复步骤②③直到该激发光脉冲的单计数周期中所设定数目的时窗均计数完毕。此时单周期测量结束。

[0063] ⑤重复步骤①②③④,进行多周期重复测量,直至完成所设定激发脉冲数的周期的测量。

[0064] 3. 数据分析过程 :通过 USB 设备将上述存储器中的数据传入上位计算机 13 中处理并显示。处理包括对所测得的光子数时间扩展曲线的某个特定区间(如 $400 \sim 800 \mu s$)进行积分以及非线性最小二乘拟合,以分别获得荧光强度和荧光寿命。

[0065] 实施例一

[0066] 基于光子计数模式的多通道时间分辨荧光免疫分析系统具体实施步骤如下 :

[0067] ①将待测试剂样本置于多孔样品板,将其放入测量暗箱中并进行遮光处理,开始进行时间分辨荧光免疫分析测量。

[0068] ②测量参数设置。打开计算机软件控制界面,确认计算机与的正常通信后进行测

量参数的设置,并将参数发送到计数器模块,计数器模块根据接收到的参数确定时窗的宽度以及测量时间。将光开关切换至第一测量通道。

[0069] ③荧光信号的测量。用户通过上位计算机控制界面对时间标刻光子计数分析/控制器发送开始计数命令,计数器开始工作。在每个计数周期的开始,调制器接收到时间标刻光子计数分析/控制器发出的触发信号,调制LED发出激发光脉冲,该激发光脉冲通过本发明所设计的测量系统入射到待测试剂表面,激发待测试剂产生荧光信号由PMT接收。与此同时,将该触发脉冲的下降沿作为计数同步信号。当时间标刻光子计数器接收到该计数同步信号时,时窗存储器地址复位,时钟计数器清零后开始工作。每个时窗内,预累加器对PMT光子计数头发出的电脉冲进行异步计数,并同步读取当前存储器中数据。在时钟计数器计数达到预设时窗宽度时,将累加结果与所读取数据求和并写入当前存储位置。所有时窗都完成计数后,标志着该计数周期的结束,此时判断是否达到设定的测量时间,若未达到测量时间,则开始等待接收下一个计数同步信号以开始新的计数周期。当达到所设定测量时间后,计数器停止工作。

[0070] ④测量数据发送。计数器停止工作后,用户通过计算机控制界面发送数据传送命令,将计数器内部存储器的测量数据传送至计算机,处理数据,显示并存储测量结果。

[0071] ⑤多通道测量。由上位计算机控制界面发出命令,切换光开关至下一测量通道,重复步骤③④,直至所有测量通道测量完毕。

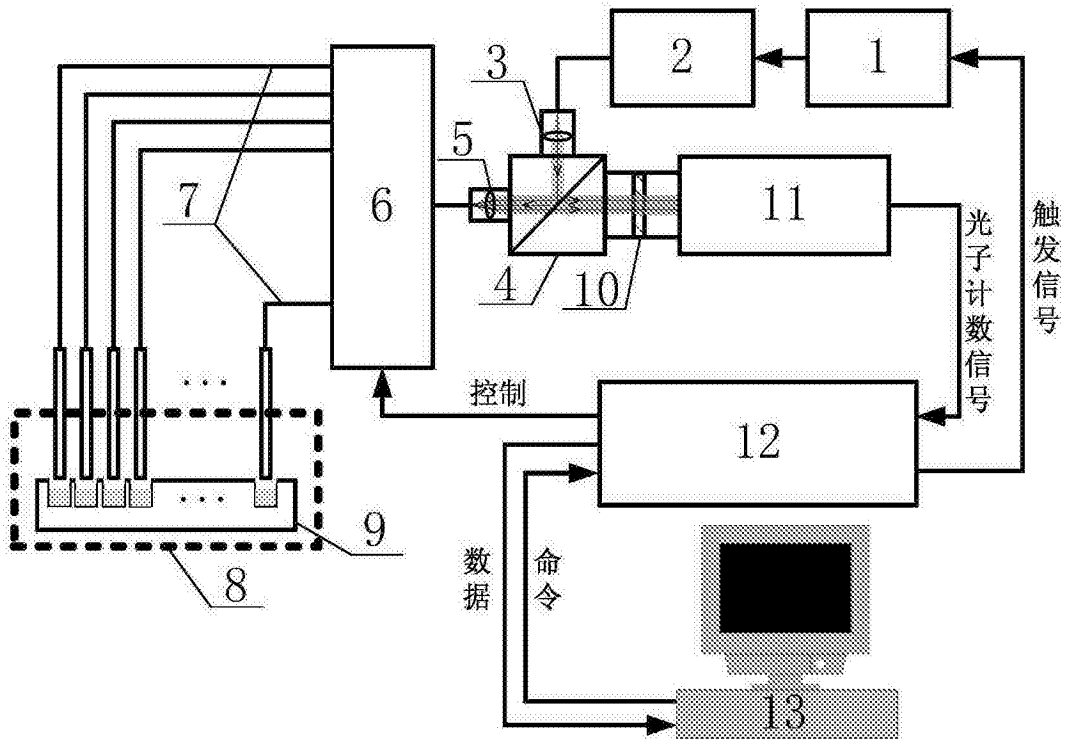


图 1

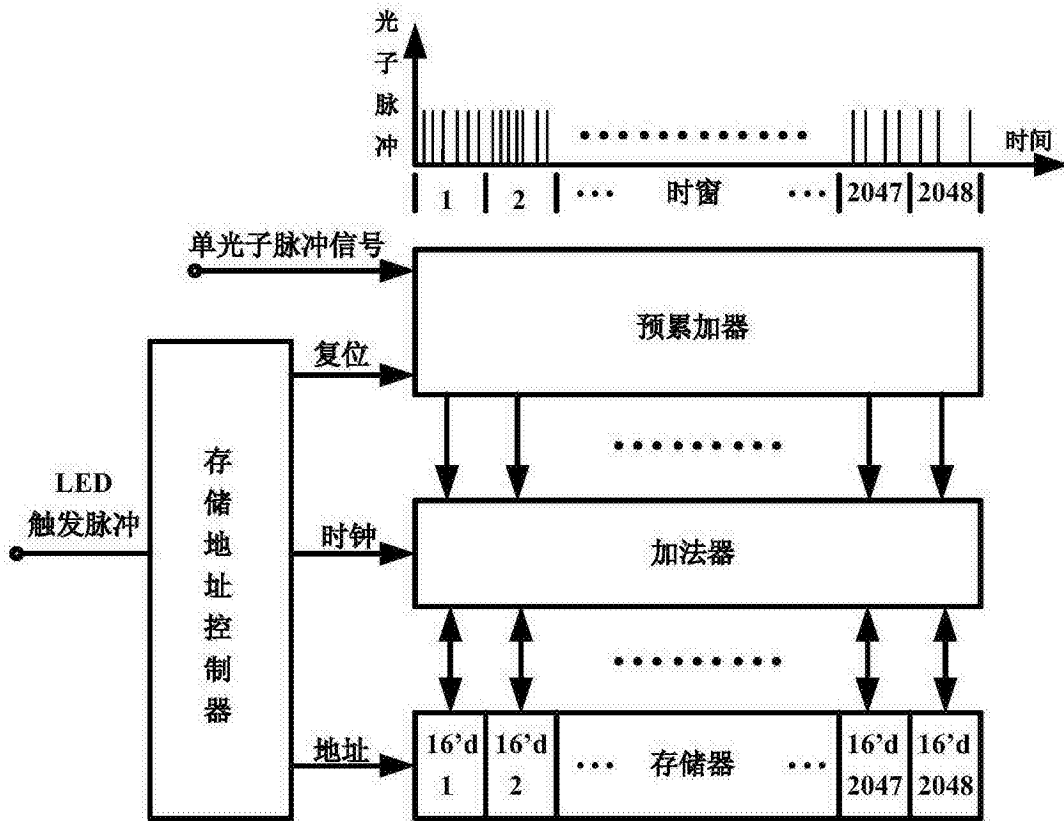


图 2

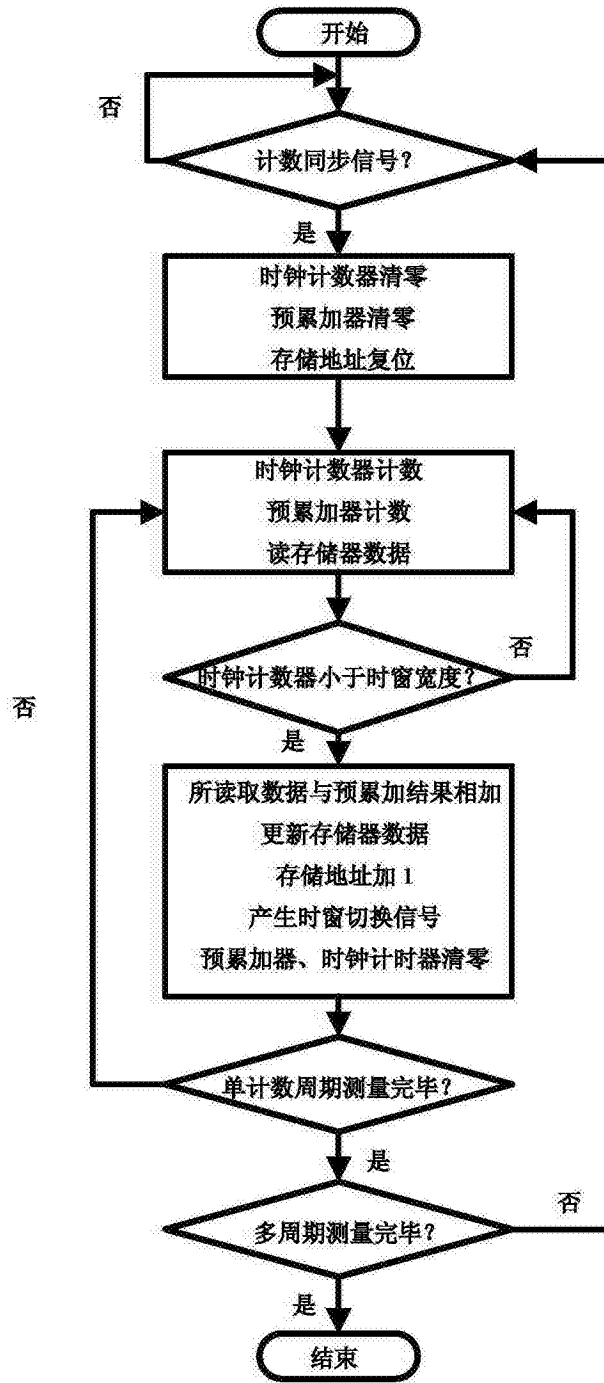


图 3

专利名称(译)	光子计数型多通道时间分辨荧光免疫分析及计数方法		
公开(公告)号	CN103728446B	公开(公告)日	2016-02-24
申请号	CN201310694918.6	申请日	2013-12-11
[标]申请(专利权)人(译)	天津大学		
申请(专利权)人(译)	天津大学		
当前申请(专利权)人(译)	天津大学		
[标]发明人	高峰 万文博 李峰辉 赵会娟		
发明人	高峰 万文博 李峰辉 赵会娟		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/64		
CPC分类号	G01N21/6408 G01N33/582		
其他公开文献	CN103728446A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于荧光免疫分析技术领域，涉及一种光子计数型多通道时间分辨荧光免疫分析系统，包括光源模块、检测模块以及时间标刻光子计数分析/控制模块。本发明同时涉及上述系统采用的计数方法：脉冲光激发待测样品，样品受激发产生的荧光信号送入PMT光子计数头后输出的脉冲信号的计数方法如下：将激发脉冲光的周期作为计数周期，将每个计数周期划分为多个宽度相同的时间间隔，在每个计数周期里，将该周期的激发光脉冲发送之后检测到的每个光子累加至相应的时窗所对应的存储器中，亦即利用时窗所在区间标刻每个光子在该脉冲周期中的位置，多个周期的计数之后，将上述存储器中的数据传入上位计算机中。本发明的多通道时间分辨荧光免疫分析系统，造价低廉，且有很高的灵敏度。

