



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102818886 A

(43) 申请公布日 2012. 12. 12

(21) 申请号 201210310890. 7

(22) 申请日 2012. 08. 28

(71) 申请人 天津市先石光学技术有限公司

地址 300192 天津市南开区时代公寓 A 座
1606 室

(72) 发明人 陈达 李奇峰 徐可欣 李可

(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 21/63(2006. 01)

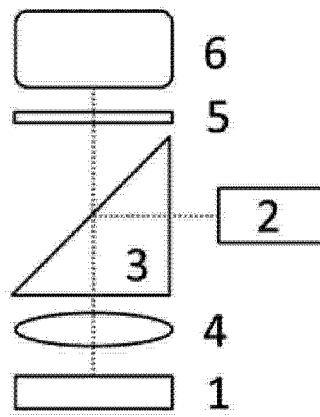
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种小剂量均相激发光免疫检测仪

(57) 摘要

本发明属于均相发光免疫检测技术领域, 涉及一种小剂量均相激发光免疫检测仪, 包括激发光源(2)、可旋转折射棱镜(3)、会聚透镜(4)、滤光片(5)和单光子计数器(6)、xy 二维导轨式移动平台(7)和样品板(1), 按照从上到下的顺序在同一光路上设置了单光子计数器(6)、滤光片(5)、可旋转折射棱镜(3)、会聚透镜(4)和样品板(1); 所述的激发光源(2)设置在可旋转折射棱镜(3)的侧方, 所述的可旋转折射棱镜(3)位于初始位置时, 用于折射激发光源, 遮挡单光子计数器, 位于旋转位置时, 用于遮挡激发光源。本发明具有灵敏度高和准确性好并能够降低样品剂量要求的优点。



1. 一种小剂量均相激发光免疫检测仪,包括激发光源(2)、可旋转折射棱镜(3)、会聚透镜(4)、滤光片(5)和单光子计数器(6)、xy 二维导轨式移动平台(7)和样品板(1),按照从上到下的顺序在同一光路上设置了单光子计数器(6)、滤光片(5)、可旋转折射棱镜(3)、会聚透镜(4)和样品板(1);所述的激发光源(2)设置在可旋转折射棱镜(3)的侧方,所述的可旋转折射棱镜(3)位于初始位置时,用于折射激发光源,遮挡单光子计数器,位于旋转位置时,用于遮挡激发光源;所述的样品板置于 xy 二维导轨式移动平台(7)上。

2. 根据权利要求 1 所述的小剂量均相激发光免疫检测仪,其特征在于,所述的样品板为 96 孔板,在每个孔板处采用嵌入式小碗结构,最大孔体积为 $30 \mu\text{l}$ 。

3. 根据权利要求 1 所述的小剂量均相激发光免疫检测仪,其特征在于,所述的激发光源(2)的激发波长为 680nm。

4. 根据权利要求 1 所述的小剂量均相激发光免疫检测仪,其特征在于,所述滤光片(5)的中心波长:615nm,半高宽:15nm,峰值透过率: $>90\%$ 。

一种小剂量均相激发光免疫检测仪

技术领域

[0001] 本发明属于均相发光免疫检测技术领域,涉及一种均相激发光免疫检测仪。

背景技术

[0002] 均相激发光免疫技术一种基于增强的化学发光的检测技术,结合了荧光和化学发光技术。均相激发光免疫技术利用作为供体和受体的微珠来进行生物分子的检测。供体微珠填充有光敏剂,受体微珠填充有化学发光剂,如果样品中存在待测生物分子,供体微珠和受体微珠会由于抗体抗原的特异性结合而相互接近,从而形成桥式耦合的供体、受体连接结构。均相激发光免疫技术需要有激发光源,其核心原理是利用活性氧产生化学发光,具体来说,在 680nm 的激光照射下,供体微珠上的光敏剂将溶液的氧气转化为更为活跃的单体氧,单体氧在溶液中可扩散 200nm,只有当供体微珠和受体微珠很接近时,单体氧才能扩散到受体微珠时,与其上的化学发光剂发生化学反应,从而激发了一连串的级联反应,最后将能量传递到铕上,再产生 615nm 的光信号。均相激发光免疫技术跟传统的酶联免疫检测相比具有很大的优势,避免了繁琐的洗涤步骤,操作简单;背景很低,灵敏度高;动态范围宽,亲和范围大,抗干扰能力强。均相激发光免疫技术可直接检测血清和体液中的生物分子,因此具有十分广阔的应用前景。

发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种灵敏度高和准确性好并能够降低样品剂量要求的小剂量均相激发光免疫检测仪。本发明的技术方案如下:

[0004] 一种小剂量均相激发光免疫检测仪,包括激发光源 2、可旋转折射棱镜 3、会聚透镜 4、滤光片 5 和单光子计数器 6、xy 二维导轨式移动平台 7 和样品板 1,按照从上到下的顺序在同一光路上设置了单光子计数器 6、滤光片 5、可旋转折射棱镜 3、会聚透镜 4 和样品板 1;所述的激发光源 2 设置在可旋转折射棱镜 3 的侧方,所述的可旋转折射棱镜 3 位于初始位置时,用于折射激发光源,遮挡单光子计数器,位于旋转位置时,用于遮挡激发光源;所述的样品板置于 xy 二维导轨式移动平台 7 上。

[0005] 作为优选实施方式,所述的样品板为 96 孔板,在每个孔板处采用嵌入式小碗结构,最大孔体积为 $30\mu\text{l}$;所述的激发光源 2 的激发波长为 680nm;所述滤光片 5 的中心波长:615nm,半高宽:15nm,峰值透过率: $>90\%$ 。

[0006] 本发明的有益效果是能有效地降低均相激发光免疫检测所需的样品剂量。现有的均相激发光免疫技术,采用标准 96 孔板,样品剂量较大,一般为 $100\text{--}300\mu\text{l}$,试剂价格高昂。与现有技术不同,本发明中样品板采用嵌入式小剂量 96 孔板。嵌入式小剂量 96 孔板运载在 xy 二维导轨式移动平台上,能够实现样品板的 96 孔快速高通量测定。

附图说明

[0007] 图 1 是现有小剂量均相激发光免疫检测仪的光学原理图。

[0008] 图中标号说明 :1. 样品板 ;2. 激光光源 ;3. 可旋转折射棱镜 ;4. 会聚透镜 ;5. 滤光片 ;6. 单光子计数器。

具体实施方式

[0009] 下面结合附图和实施例对本发明进行说明。

[0010] 本发明提出的小剂量均相激发光免疫检测仪,包括光学系统、电子系统、机械系统、样品板 1 及其软件处理系统。光学系统包括 :激发光源 2、可旋转折射棱镜 3、会聚透镜 4、滤光片 5、单光子计数器 6。机械系统包括 xy 二维导轨式移动平台 7。从上到下顺序设置单光子计数器 6、滤光片 5、可旋转折射棱镜 3、会聚透镜 4、样品板 1 ;所述激发光源 2 设置在可旋转折射棱镜 3 侧方,见图 1。

[0011] 嵌入式小剂量 96 孔板以标准 96 孔板作为载板,加入嵌入式小碗结构,其最大孔体积为 $30 \mu\text{l}$,所需混合溶液剂量可低至 $5 \mu\text{l}$ 。

[0012] 本发明采用的激发光源 2 的激发波长为 680nm,功率为 100-150mW,每次照射反应溶液的时间为 100-500ms。滤光片 5 :中心波长 :615nm,半高宽 :15nm,峰值透过率 :>90%。单光子计数器 6 采集荧光累积时间为 1s。xy 二维导轨式移动平台 7,重复定位精度为 $\pm 0.01\text{mm}$,最高速度 $>300\text{mm/s}$ 。

[0013] 当可旋转折射棱镜 3 处于初始位置时,可以折射激发光源,使其照射到样品板 1 中反应孔的溶液中,同时起着遮挡单光子计数器的作用。照射一定时间后,旋转折射棱镜 3 的位置,遮挡住激发光源 2,让荧光进入单光子计数器 6。借助可旋转折射棱镜 3,使得样品发出的特异荧光和激发光在空间和时间上都得以分离,最大程度的消除了激发光对信号的干扰。

[0014] 滤光片 5 的实施,使得只有 615nm 的特异荧光可以进入单光子计数器 6,可以明显截止杂散光,降低自然本底荧光,显著提高了系统的灵敏度。

[0015] 使用时,仪器的工作原理为 :由激发光源 2 发出的 680nm 的连续光源,经可旋转折射棱镜 3 和会聚透镜 4,照射到样品板 1 中反应孔的溶液中,照射一定时间后,可旋转折射棱镜 3 旋转,遮挡住激发光源 2,使得样品发出的荧光经会聚透镜 4 和滤光片 5,照射到单光子计数器 6。单光子计数器 6 将累积 1s 的荧光光子数,经微处理芯片送至计算机软件进行分析处理。

[0016] 以下是小剂量下光学条件的确定。

[0017] 在嵌入式小剂量 96 孔板反应孔中混匀 $2 \mu\text{l}$ 甲胎蛋白 AFP 标准品, $20\text{ng/ml}+2 \mu\text{l}$ 生物素标记抗体 + $2 \mu\text{l}$ 抗体包被受体微球溶液 $10 \mu\text{g/ml}$, 37°C 震荡温育 30min。避光加入 $14 \mu\text{l}$ 供体微球通用液自制,充分混匀,震荡温育 10min。

[0018] 1. 激发光功率的确定 :

[0019] 仪器自动产生激光照射反应孔,激发波长为 680nm,每次照射反应溶液的时间为 160ms。调节激光功率,计算每孔发光光子数,每个剂量做 8 孔重复。

[0020]

激发光功率 mW	5	10	20	50	150	200
光子数	140	440	2470	3910	3960	3810

[0021] 根据上述结果,激发光功率范围确定为 100-150mW。

[0022] 2. 激发光照射时间的确定:

[0023] 仪器自动产生激光照射反应孔,激发波长为 680nm,功率为 120mW。调节激光照射反应溶液的时间,计算每孔发光光子数,每个剂量做 8 孔重复。

[0024]

激发光照射时间 ms	20	50	100	200	500	1500
光子数	1920	2880	3890	3970	3910	3540

[0025] 根据上述结果,激发光功率范围确定为 100-500ms。

[0026] 下面结合实验数据进一步阐述本发明。

[0027] 实验条件:

[0028] 混匀 25 μ l 甲胎蛋白 AFP 标准品,20ng/ml+25 μ l 生物素标记抗体 +25 μ l 抗体包被受体微球溶液 10 μ g/ml,37 $^{\circ}$ C 震荡温育 30min。避光加入 175 μ l 供体微球通用液自制,充分混匀,震荡温育 10min。

[0029] 在反应孔中分别加入不同的混合溶液剂量,50-250 μ l 采用标准 96 孔板 PE 公司,5-30 μ l 采用嵌入式小剂量 96 孔板。

[0030] 实验结果:

[0031] 仪器自动产生激光照射反应孔,激发波长为 680nm,功率为 120mW,每次照射反应溶液的时间为 160ms。计算每孔发光光子数,每个剂量做 8 孔重复。

[0032]

混合溶液剂量	250	200	150	100	50	30	20	10	5
光子数	3710	3760	3750	3650	3580	3920	3910	3950	3940

[0033] 根据上述结果,可以看出发光光子数随混合溶液剂量变化基本不变,小剂量 5-30 μ l 情形下,相比大剂量 50-250 μ l,发光光子数反而有小幅增加,这是因为小剂量采用嵌入式小剂量 96 孔板,使得样品液面提高,增加了系统采集荧光的立体角,从而提高了仪器的荧光采集效率。

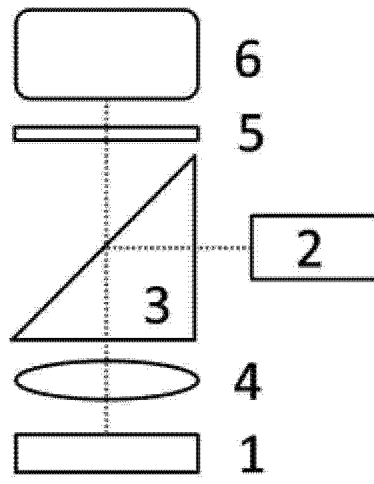


图 1

专利名称(译)	一种小剂量均相激发光免疫检测仪		
公开(公告)号	CN102818886A	公开(公告)日	2012-12-12
申请号	CN201210310890.7	申请日	2012-08-28
[标]申请(专利权)人(译)	天津市先石光学技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	天津市先石光学技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	天津市先石光学技术有限公司		
[标]发明人	陈达 李奇峰 徐可欣 李可		
发明人	陈达 李奇峰 徐可欣 李可		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/63		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于均相发光免疫检测技术领域，涉及一种小剂量均相激发光免疫检测仪，包括激发光源（2）、可旋转折射棱镜（3）、会聚透镜（4）、滤光片（5）和单光子计数器（6）、xy二维导轨式移动平台（7）和样品板（1），按照从上到下的顺序在同一光路上设置了单光子计数器（6）、滤光片（5）、可旋转折射棱镜（3）、会聚透镜（4）和样品板（1）；所述的激发光源（2）设置在可旋转折射棱镜（3）的侧方，所述的可旋转折射棱镜（3）位于初始位置时，用于折射激发光源，遮挡单光子计数器，位于旋转位置时，用于遮挡激发光源。本发明具有灵敏度高和准确性好并能够降低样品剂量要求的优点。

