



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101825570 B

(45) 授权公告日 2012. 11. 14

(21) 申请号 201010165974. 7

(22) 申请日 2010. 05. 07

(73) 专利权人 中国医学科学院生物医学工程研究所

地址 300192 天津市南开区白堤路 236 号

(72) 发明人 李迎新 杨久敏 常津

(74) 专利代理机构 天津市三利专利商标代理有限公司 12107

代理人 闫俊芬

(51) Int. Cl.

G01N 21/64 (2006. 01)

G01N 33/53 (2006. 01)

(56) 对比文件

EP 1200848 A1, 2002. 05. 02,

WO 2008119184 A1, 2008. 10. 09,

US 6781690 B2, 2004. 08. 24,

CN 1445712 A, 2003. 10. 01,

牟颖等. 荧光编码微球一流式细胞和生化分析技术及其最新发展. 《生命科学仪器》. (第 01

期),

王石泉等. 量子点-聚苯乙烯复合微球的制备及荧光光谱的研究. 《胶体与聚合物》. 2006, (第 04 期),

审查员 刘文颖

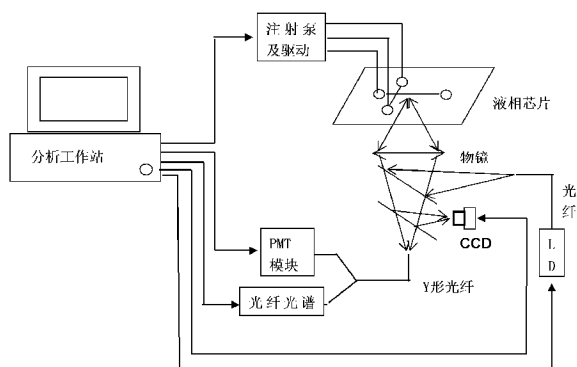
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 2 页

(54) 发明名称

量子点编码荧光免疫分析仪

(57) 摘要

本发明公开了一种量子点编码荧光免疫分析仪。本发明分析仪包括分析工作站、液相芯片、微流控流路控制装置、荧光激发光源、光学成像装置、荧光信号检测装置和编码微球图像定位与联体容错检测装置。本发明采用光纤光谱仪作为荧光检测器件,可以同时检测编码微球被激发后产生的荧光的波长和强度信息,可以对多颜色编码微球进行定量检测,并实现多颜色编码的解码,操作起来更加简便。



1. 一种量子点编码荧光免疫分析仪,其特征是,所述分析仪包括分析工作站、液相芯片、微流控流路控制装置、荧光激发光源、光学成像装置、荧光信号检测装置和编码微球图像定位与联体容错检测装置;

所述分析工作站为含有分析与控制程序的计算机,分析工作站分别连接微流控流路控制装置、荧光激发光源、荧光信号检测装置和编码微球图像定位与联体容错检测装置;

所述液相芯片由基片和盖片组成,基片表面设置两个缓冲池、样品池和废液池,连接两个缓冲池的液槽与连接样品池和废液池的液槽呈十字状交叉;

所述微流控流路控制装置包括注射泵、缓冲液注射器、样品液注射器、泵管和通讯接口,注射泵通过泵管分别与缓冲液注射器和样品液注射器连接,缓冲液注射器分别连接两个缓冲池,样品液注射器连接样品池;注射泵通过通讯接口与分析工作站通讯连接;

所述荧光激发光源为半导体激光器;

所述荧光信号检测装置包括编码微球解码装置和抗体标记物微光检测装置,编码微球解码装置为光纤光谱仪,抗体标记物微光检测装置为侧窗光电倍增管;

所述光学成像装置包括载物台、镜筒、物镜、激光半透半反镜、荧光半透半反镜、滤波片和 Y 型光纤,液相芯片下方依次为载物台和镜筒;镜筒内依次设置激光半透半反镜、荧光半透半反镜、滤波片和 Y 型光纤;物镜位于液相芯片与激光半透半反镜之间;镜筒与 Y 型光纤的输入端连接,Y 型光纤的两个输出端分别连接光纤光谱仪和侧窗光电倍增管;

所述编码微球图像定位与联体容错检测装置为 CCD 摄像头,CCD 摄像头与液相芯片相邻设置。

## 量子点编码荧光免疫分析仪

### 技术领域

[0001] 本发明涉及纳米技术、液相生物芯片技术、微光检测电技术、激光技术、生物免疫标记技术、计算机技术等为一体的生物医学工程技术领域，具体的说，是一种量子点编码荧光免疫分析仪。

### 背景技术

[0002] 量子点荧光标记技术的发展突飞猛进，成为一种新型荧光标记物。量子点和传统有机常规荧光剂相比，具有特殊的光学特性：①量子点具有很宽激发光谱和较窄发射光谱。量子点的激发光谱连续且宽，其荧光可以被波长小于其量子限域峰的任意光源所激发。同时，量子点的发射光谱很窄且呈对称的高斯分布，光谱宽在 20 ~ 40nm 之间，并且通过改变量子点的尺度或者改变量子点内核的组分可以来调节量子点的发射光谱的波长。②量子点具有较大的斯托克斯位移。激发光的波长和发射光峰值的波长之间差异大，能够避免发射谱与激发谱的重叠。③量子点具有强抗光漂白能力。在长时间照射下，量子点的荧光强度没有任何衰减。④量子点具有较长的荧光寿命。量子点的荧光寿命可持续长达数 10ns。当光激发数纳秒以后，大多数的自发荧光背景已经衰减，而量子点荧光仍然存在，此时即可获得无背景干扰的荧光信号。量子点这种新型纳米材料的独特光学特性，为细胞和生物大分子的标识提供了一种强大工具，使荧光编码技术能够得到实际应用。

[0003] 量子点编码微球是依据量子点荧光标记技术制备的，现阶段对其检测分析，一般是通过 Luminex 的荧光液相芯片系统、流式细胞仪 (Flow Cytometry, FCM) 或激光共聚焦扫描显微镜 (laser scanning confocal microscope, LSCM) 来进行的。但是不管是 Luminex、FCM 还是 LSCM，其检测的信息均是荧光通过滤色片后被光电倍增管检测的荧光强度，不带有荧光的任何波长信息，不能通过这些设备对多颜色编码微球进行定量检测，且不易实现多颜色编码微球的解码。为此，必须有专门的检测设备对单个编码微球进行检测分析。

### 发明内容

[0004] 本发明就是针对现有的量子点编码微球分析系统存在的缺陷，采用光纤光谱仪作为荧光检测器件，可以同时检测编码微球被激发后产生的荧光的波长和强度信息，可以对多颜色编码微球进行定量检测，并实现多颜色编码的解码，操作起来更加简便。

[0005] 本发明量子点编码荧光免疫分析仪，通过下述技术方案予以实现，所述分析仪包括分析工作站、液相芯片、微流控流路控制装置、荧光激发光源、光学成像装置、荧光信号检测装置和编码微球图像定位与联体容错检测装置；

[0006] 所述分析工作站为含有分析与控制程序的计算机，分析工作站分别连接微流控流路控制装置、荧光激发光源、荧光信号检测装置和编码微球图像定位与联体容错检测装置；

[0007] 所述液相芯片由基片和盖片组成，基片表面设置两个缓冲池、样品池和废液池，连接两个缓冲池的液槽与连接样品池和废液池的液槽呈十字状交叉；

[0008] 所述微流控流路控制装置包括注射泵、缓冲液注射器、样品液注射器、泵管和通讯接口,注射泵通过泵管分别与缓冲液注射器和样品液注射器连接,缓冲液注射器分别连接两个缓冲池,样品液注射器连接样品池;注射泵通过通讯接口与分析工作站通讯连接;

[0009] 所述荧光激发光源为半导体激光器;

[0010] 所述光学成像装置包括载物台、镜筒、物镜、激光半透半反镜、荧光半透半反镜、滤波片和光纤,液相芯片下方依次为载物台和镜筒,镜筒内依次设置激光半透半反镜、荧光半透半反镜、滤波片和光纤;

[0011] 所述荧光信号检测装置包括编码微球解码装置和抗体标记物微光检测装置,编码微球解码装置为光纤光谱仪,抗体标记物微光检测装置为侧窗光电倍增管;

[0012] 所述编码微球图像定位与联体容错检测装置为 CCD 摄像头,CCD 摄像头与液相芯片相邻。

[0013] 本发明融合了纳米技术、液相生物芯片技术、微光监测电技术、激光技术、生物免疫标记技术、计算机技术等,整合了分析工作站、微流控流路控制装置、液相芯片、荧光激发光源、光学成像装置、荧光信号检测装置、编码微球图像定位与联体容错检测装置等一体的量子点编码荧光免疫分析仪。本发明创造可以同时检测编码微球被激发后产生的荧光的波长和强度信息,可以对多颜色编码微球进行定量检测,并实现多颜色编码的解码,使得检测与分析结果更加精确,操作起来更加简便。

#### 附图说明

[0014] 图 1 是本发明结构框图;

[0015] 图 2 是本发明液相芯片结构示意图;

[0016] 图 3 是本发明分析工作站内分析与控制程序流程图。

#### 具体实施方式

[0017] 下面结合附图对本发明做进一步描述。

[0018] 如图 1 所示,本发明主要由分析工作站、微流控流路控制装置、液相芯片、荧光激发光源、光学成像装置、荧光信号检测装置、编码微球图像定位与联体容错检测装置等七个部分组成,分析工作站分别连接微流控流路控制装置、荧光激发光源、荧光信号检测装置和编码微球图像定位与联体容错检测装置。

[0019] 分析工作站包括计算机及其分析与控制程序一台,其配置为:CPU 2G 以上,使用双核及以上 CPU 最佳;内存 1G 以上,2G 最佳;显卡显存 128M,512M 最佳;屏幕 17 英寸。工作站操作系统为:Windows XP、Windows 2000 或 Windows 2003,建议 Windows Server 2003R2;数据库为 Microsoft SQL Server 2000;分析与控制软件由 Visual C++6.0 编写,主要完成量子点编码微球的编码信息录入数据库及编码信息提取、流路的上位机控制、光谱信息的采集与分析、编码微球荧光图像的采集与分析、检测信息的分析计算与得出诊断结果。

[0020] 液相芯片:尺寸:20mm×50mm,基片为石英玻璃,盖片为 PDMS,有较好的光学特性。该芯片是编码微球的检测平台。如图 2 所示,连接两个缓冲池的液槽与连接样品池和废液池的液槽呈十字状交叉。缓冲液和样品液流经待检区域后通过液槽进入废液池,当废液(缓冲液和样品液的混合液)充满废液池后,将通过乳胶管注入到废液杯中。

[0021] 微流控流路控制装置包括注射泵、注射器、泵管和通讯接口等,泵管和通讯接口,注射泵通过泵管分别与缓冲液注射器和样品液注射器连接,缓冲液注射器分别连接两个缓冲池,样品液注射器连接样品池;注射泵通过通讯接口与分析工作站通讯连接。注射泵为美国 KD Scientific 的 KD200 注射泵系统,参数为:注射器容量 10 $\mu$ L-140mL,流速 0.001 $\mu$ L/h-145mL/min,耐压 90N,每步前移长度 0.165 $\mu$ m,准确度 $\leq$ 1%,重现性 $\leq$ 0.1%,KD200 注射泵通过本机 RS232C 与 RS232/USB 转换器,实现与工作站的连接通讯。RS232/USB 转换器为深圳方兴盛通实业有限公司生产,与计算机 USB 口相连。注射器为上海高鸽工贸有限公司出产,泵管为  $\Phi$ 1 乳胶管。

[0022] 荧光激发光源为 405nm 半导体激光器 LD,参数为:激光输出中心波长 405nm $\pm$ 5nm;光纤输出功率 0-160mW;光纤长度 1m,外护套 3mmPVC,600 $\mu$ m 内芯;接头 SMA905。

[0023] 光学成像装置包括载物台、镜筒、物镜、激光半透半反镜、荧光半透半反镜、光纤、滤波片等,液相芯片下方依次为载物台和镜筒,镜筒内依次设置激光半透半反镜、荧光半透半反镜、滤波片和光纤,主要作用是对被激发出荧光的微球的放大成像。其具体参数或生产厂家为:载物台和镜筒为重庆奥特光学的 MJ100;物镜 40X;Y 型光纤 600 $\mu$ m 内芯,3mmPVC 外护套;滤波片为 430nm 高通滤波片和 440nm-460nm 带通滤波片,0.01%背景光透过率。

[0024] 荧光信号检测装置包括编码微球解码装置和抗体标记物微光检测装置。编码微球解码装置为荷兰 Avantes B.V. 公司出品的 AvaSpec-2048-USB2 型光纤光谱仪,范围 400nm-950nm,分辨率为 0.7nm,杂散光 $<$ 0.1%,采样速度为 1.1ms/每次扫描,数据传输速度 1.8ms/每次扫描;抗体标记物微光检测装置为北京滨松光子技术股份有限公司出产的 R105UH 型侧窗光电倍增管 (PMT),光谱响应范围 300nm-650nm,最大响应波长 400nm,阴极最小有效尺寸 24mm $\times$ 8mm,阳极脉冲上升时间 2.2ns,电子渡越时间 22ns,转换特性 (25 $^{\circ}$ C、1000Vdc 时)为 30 $\mu$ A/Lm。

[0025] 编码微球图像定位与联体容错检测装置为天津西格光电科技有限公司出产的 RZ300CCD 摄像头,130 万 CMOS 像素,像素尺寸 5.2 $\mu$ m $\times$ 5.2 $\mu$ m,光谱响应 400nm $\sim$ 1000nm,分辨率 1280 $\times$ 1024,传输速率 12f/s@1280 $\times$ 1024,灵敏 1.8V/lux-sec@550nm,图像输出 USB2.0、480Mb/s。

[0026] 其中,光纤光谱仪、光电倍增管 PMT、CCD 摄像头、半导体激光器 LD 均通过 USB 线与分析工作站连接。KD200 注射泵通过本机 RS232C 与 RS232/USB 转换器连接,RS232/USB 转换器和工作站 USB 口连接。光纤光谱仪、PMT 通过 Y 型光纤接收荧光,Y 型光纤通过 SMA905 接口与镜筒,LD 通过光纤输出 405nm 激光。注射泵通过乳胶管向液相芯片注射缓冲液和样品液。

[0027] 应用本装置时,启动系统工作站,进入分析与控制程序,程序流程图如 3 所示,具体步骤如下:程序启动 CCD 摄像头和注射泵上与两个缓冲液池相连接的注射器的推进装置,以推动注射器将缓冲液注入液相芯片的缓冲池。待缓冲液在液相芯片中形成稳定鞘流后,启动注射泵上和样品池相连接的注射器的推进装置,载有编码微球的样品液作为芯液被缓慢注入液相芯片的样品池。此时,启动半导体激光器、光纤光谱仪和 PMT。半导体激光器发射的 405nm 激光,经过激光半透半反镜后,被物镜聚焦到液相芯片的芯液待检区域,用来激发编码微球的荧光。当芯液中有微球通过待检区域时,微球中的量子点被激光激发从而产生带有编码信息的荧光,这些荧光通过物镜和荧光半透半反镜,聚焦到 Y 型光纤的端

面,再经过 Y 光纤传输和分配,分别进入光纤光谱仪和 PMT,光纤光谱仪检测到编码的荧光光谱,PMT 检测标记物的荧光强度。在此过程中,CCD 摄像头实时监测液相芯片的芯液待检区域,如果微球图像为二连体或其他无效监测时,将此时光纤光谱仪和 PMT 采集信息设置为无效。如果采集信息有效,控制分析软件从采集的荧光光谱数据中提取峰位置和峰高,判断编码信息,根据 PMT 采集标记量子点的光强数据是否过阈值,判断诊断的阴性阳性。

[0028] 本发明创造主要应用于生物医学检验和临床检验等领域,适合于对量子点编码微球标识的生物大分子与细胞进行检测,特别适用于量子点编码微球标识的肿瘤标记物的检测,应用于癌症的早期诊断、病毒的检测等。

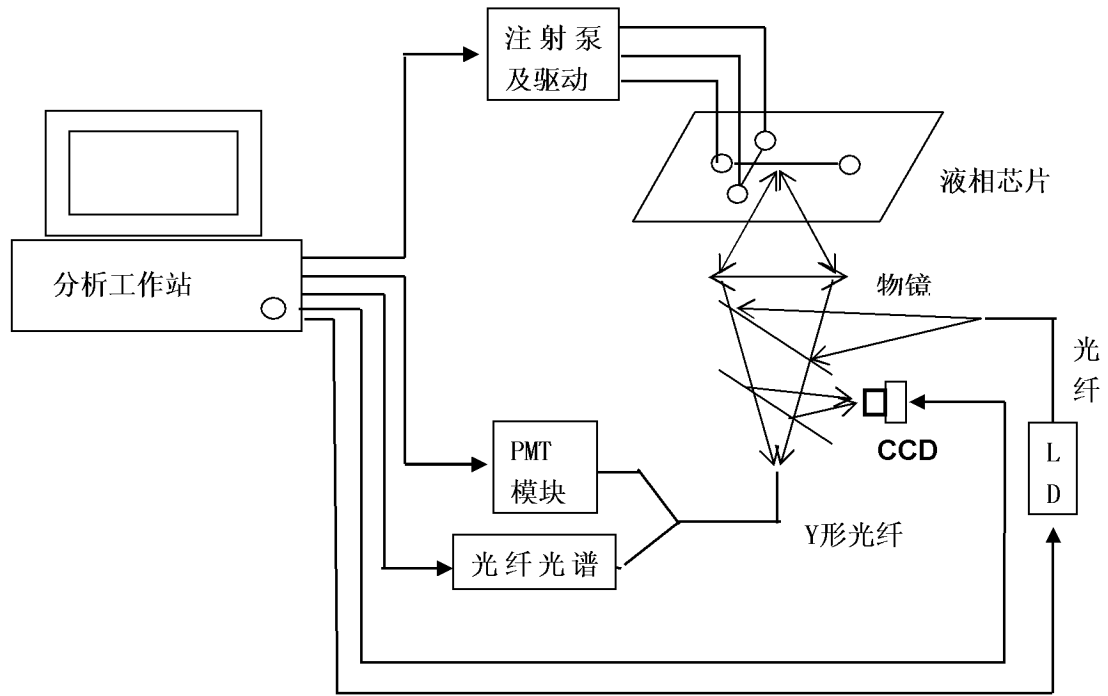


图 1

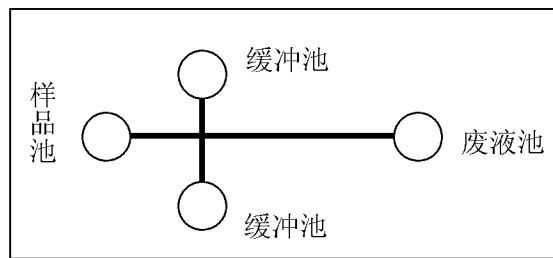


图 2

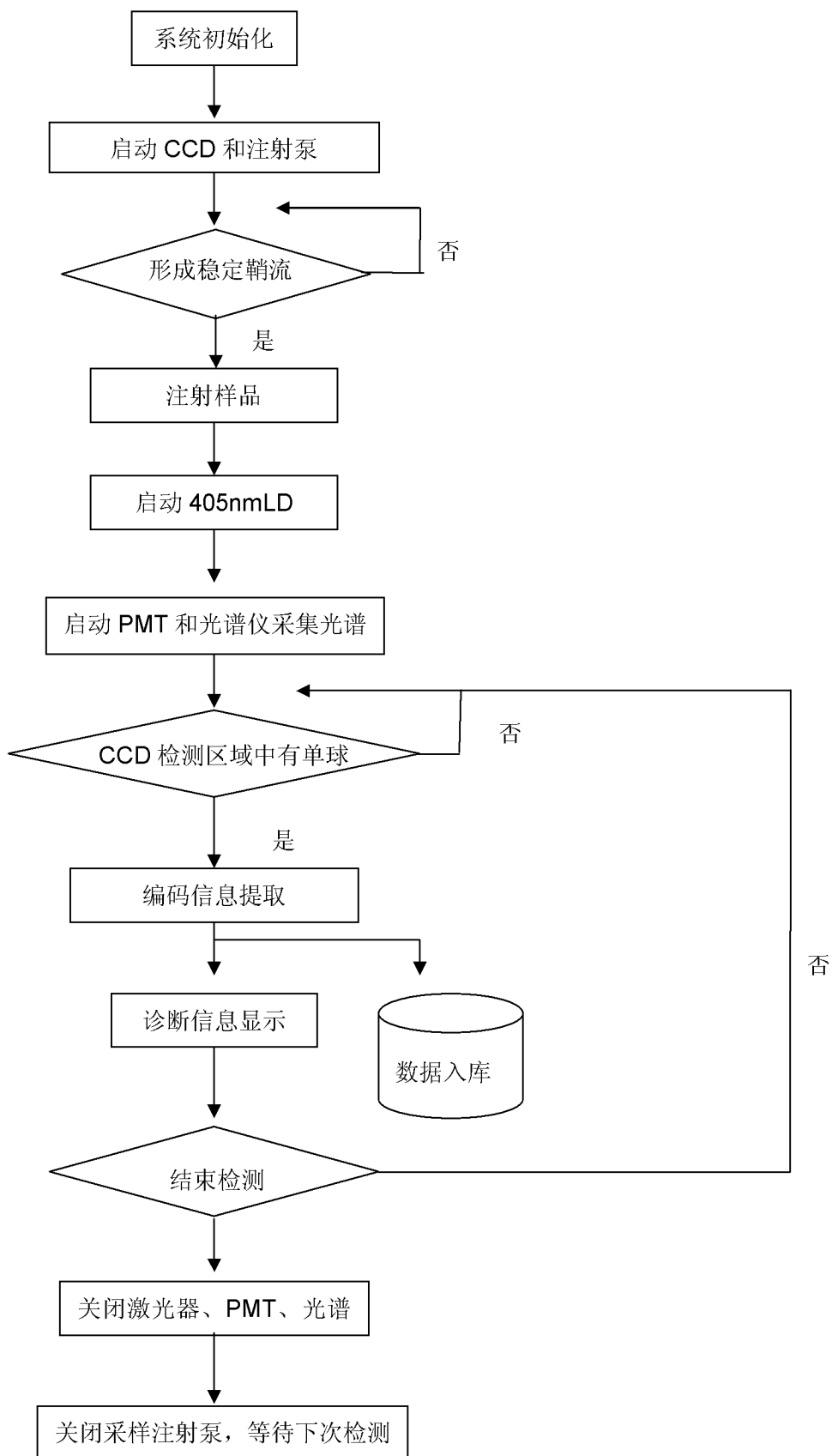


图 3

专利名称(译)	量子点编码荧光免疫分析仪		
公开(公告)号	<a href="#">CN101825570B</a>	公开(公告)日	2012-11-14
申请号	CN201010165974.7	申请日	2010-05-07
[标]申请(专利权)人(译)	中国医学科学院生物医学工程研究所		
申请(专利权)人(译)	中国医学科学院生物医学工程研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国医学科学院生物医学工程研究所		
[标]发明人	李迎新 杨久敏 常津		
发明人	李迎新 杨久敏 常津		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/53		
审查员(译)	刘文颖		
其他公开文献	CN101825570A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种量子点编码荧光免疫分析仪。本发明分析仪包括分析工作站、液相芯片、微流控流路控制装置、荧光激发光源、光学成像装置、荧光信号检测装置和编码微球图像定位与联体容错检测装置。本发明采用光纤光谱仪作为荧光检测器件，可以同时检测编码微球被激发后产生的荧光的波长和强度信息，可以对多颜色编码微球进行定量检测，并实现多颜色编码的解码，操作起来更加简便。

