



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106018796 B

(45)授权公告日 2017. 10. 13

(21)申请号 201610526097.9

G01N 21/64(2006.01)

(22)申请日 2016.07.05

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

CN 205786658 U, 2016.12.07, 权利要求1-5.

申请公布号 CN 106018796 A

CN 201917521 U, 2011.08.03, 全文.

(43)申请公布日 2016.10.12

CN 204008471 U, 2014.12.10, 全文.

(73)专利权人 扬州千代科技有限公司

US 2003008314 A1, 2003.01.09, 全文.

地址 225000 江苏省扬州市广陵产业园科技创业园C3幢

审查员 周洋

(72)发明人 詹爱军 闫文龙 王为敏 黄彬庚 徐广青 单磊

(74)专利代理机构 扬州市苏为知识产权代理事务所(普通合伙) 32283

代理人 周全

(51)Int. Cl.

G01N 33/558(2006.01)

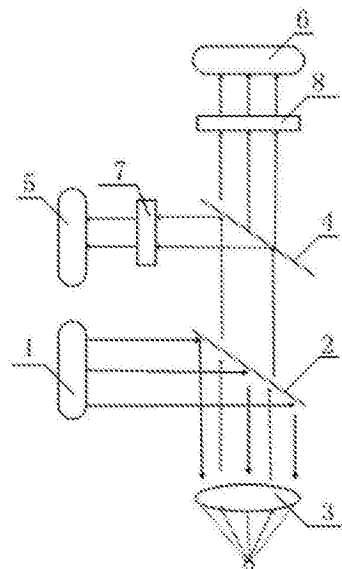
权利要求书2页 说明书5页 附图4页

(54)发明名称

一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统及其检测方法

(57)摘要

基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统。提供了一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统及其检测方法。包括紫外/可见分光光度计、信息采集单元和与之相连的信息处理分析单元,所述紫外/可见分光光度计用于确定目标检测物的最佳激发波长;所述信息采集单元用于对检测试纸条表面的目标检测物进行光学扫描;所述信息处理分析单元用于对所述的电信号进行处理分析,从而输出检测结果。本发明在使用过程中,检测试纸条上的目标检测物发出的荧光经二分镜分为两个频段的光,再将两个频段的光的光强进行归一化处理,从而消除检测底物对两个波段的干扰,然后通过所述目标检测物发出的荧光的光强得到目标检测物的浓度信息。



1. 一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统,包括紫外/可见分光光度计、信息采集单元和与之相连的信息处理分析单元,

所述紫外/可见分光光度计用于确定目标检测物的最佳激发波长;

所述信息采集单元用于对检测试纸条表面的目标检测物进行光学扫描,其向目标检测物投射出射光束,以接收试纸的反射荧光,并将所述反射荧光转换为电信号;

所述信息处理分析单元用于对所述的电信号进行处理分析,从而输出检测结果,其特征在于,

所述信息采集单元包括激发光源(1)、半透半反镜(2)、透镜(3)、二分镜(4)、以及用于检测接收到的荧光的光强的第一传感器(5)及第二传感器(6);

激发光源(1)发出的平行光依次经半透半反镜(2)反射及透镜(3)后照射到检测试纸条表面的目标检测物上,目标检测物激发出来的荧光经半透半反镜(2)透射后再经二分镜(4)反射及透射,其中,二分镜(4)反射出来的荧光照射到第一传感器(5)的光敏面上,二分镜(4)透射出来的荧光照射到第二传感器(6)的光敏面上,第一传感器(5)的输出端及第二传感器(6)的输出端均与所述信息处理分析单元的输入端相连接。

2. 根据权利要求1所述的一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统,其特征在于,所述二分镜(4)反射出来的荧光经第一滤光片(7)照射到所述第一传感器(5)的光敏面上。

3. 根据权利要求1所述的一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统,其特征在于,所述二分镜(4)透射出来的荧光经第二滤光片(8)照射到所述第二传感器(6)的光敏面上。

4. 根据权利要求1所述的一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统,其特征在于,所述激发光源(1)发出的平行光入射到所述半透半反镜(2)后反射到透镜(3)上,其中所述半透半反镜(2)入射的平行光与反射的平行光之间的夹角为 $45^{\circ}\sim 135^{\circ}$ 。

5. 根据权利要求1所述的一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统,其特征在于,所述的信息处理分析单元采用单片机。

6. 如权利要求1所述的一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统的检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

1)、确定荧光光谱的激发波长:利用紫外/可见分光光度计测定目标检测物在 $280\sim 760\text{nm}$ 的吸收曲线,找到目标检测物最强特征吸收峰对应峰位,即为被测样品的最佳激发波长;

2)、将目标检测物添加到检测试纸条上;

3)、根据步骤1)的测试结果,激发光源(1)发出被测样品的最佳激发波长平行光光束依次经半透半反镜(2)反射及透镜(3)聚焦后,在透镜(3)焦点处照射到检测试纸条上,试纸条上的目标检测物受激发后,发射多频段的荧光光束,该光束经过透镜(3)后,成为平行光透射到上方的二分镜(4),二分镜(4)将两个频段光束分成两个方向光束,分别为荧光一和荧光二;

4)、荧光一经过第一滤光片(7)滤光后,由第一传感器(5)将光信号转换为电信号得到主峰的检测光强,输出到单片机上;

5)、荧光二经过第二滤光片(8)滤光后,由第二传感器(6)将光信号转换为电信号得到

次峰的检测光强,输出到单片机上;

6)、将两个荧光检测得到的光强值进行归一化计算,得到检测光强,再代入标定好的线性方程中计算目标检测物浓度值,归一化算法表达式如下:

$$A = \alpha T_1 + \beta T_2$$

其中,A为测量光强的归一化后计算值,T1与T2为主峰与次峰的测量光强值, $\alpha + \beta = 1$; α 与 β 参数是根据光谱图的强度比例关系确定的。

一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于检疫检测技术领域,涉及一种免疫层析检测系统及方法,具体涉及一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统及其检测方法。

背景技术

[0002] 荧光免疫层析技术因其操作简便、快速,且具有很高的特异性和灵敏性,必然将取代胶体金免疫层析技术,而推广到CRP、HCG、心肌损伤、艾滋病等疾病的临床检测以及抗生素、瘦肉精、三聚氰胺等食品安全检测领域。

[0003] 荧光试纸条不仅在临床医学应用有应用价值,在民用医疗健康保障领域将有更为广阔的市场,其具有以下几大优势:1) 价格低廉,试纸条生产成本较低,作为日常健康检测易耗品,不会给使用者增加太大的经济负担;2) 操作简便,易学易懂,对使用者的专业技能水平及文化程度要求不高,非常适宜于民用市场;3) 检测快速,短时间内就可以拿到检测结果,无需等待;4) 适用指标广,可应用于多种抗原与抗体载体,并检测灵敏度高;5) 可应用于进行量化连续监控与个性化健康保障。

[0004] 由于荧光免疫层析技术需求的快速发展,对荧光检测精度及灵敏度提出了更高的要求。目前,荧光免疫层析检测过程中最大的干扰源,就是检测样品中底物的荧光干扰,由于干扰底物与目标检测物同样存在于检测样品中,而且干扰底物的荧光主峰与目标检测物的主峰接近,从而检测仪器无法辨别区分干扰底物与目标检测物。现阶段的发展起来的各种光源调制方法,可以消除背景磁场及背景不同源光谱的影响,但是有的干扰底物受同源激发光源照射,荧光调制频率与检测物的频率一致,所以无法通过光源调制方法消除底物荧光干扰。近期又发展了时间分辨荧光技术(如中国专利“一种利用时间分辨荧光光谱表征物质磁效应的方法和装置”),试图通过荧光衰减时间控制,区分长衰减荧光周期或短衰减荧光周期目标检测物和底物,从而消除底物荧光影响。但是,在全血的测试项目中,血红蛋白等底物荧光衰减周期与镧系稀土元素的衰减周期相接近,都是几百微妙级别,所以时间分辨荧光技术也难以解决底物荧光干扰,然而在检测目标检测物的浓度过程中,需要通过荧光的强度来获取目标检测物的浓度,因此现有的荧光免疫层析技术不能准确的获取目标检测物的浓度。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于克服上述现有技术的缺点,提供了一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统及其检测方法,该系统及方法能够有效的消除底物荧光的干扰,并且能够准确获取目标检测物的浓度信息。

[0006] 本发明的技术方案为:

[0007] 一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统,包括紫外/可见分光光度计、信息采集单元和与之相连的信息处理分析单元,

- [0008] 所述紫外/可见分光光度计用于确定目标检测物的最佳激发波长；
- [0009] 所述信息采集单元用于对检测试纸条表面的目标检测物进行光学扫描,其向目标检测物投射出射光束,以接收试纸的反射荧光,并将所述反射荧光转换为电信号；
- [0010] 所述信息处理分析单元用于对所述的电信号进行处理分析,从而输出检测结果,
- [0011] 所述信息采集单元包括激发光源(1)、半透半反镜(2)、透镜(3)、二分镜(4)、以及用于检测接收到的荧光的光强的第一传感器(5)及第二传感器(6)；
- [0012] 激发光源(1)发出的平行光依次经半透半反镜(2)反射及透镜(3)后照射到检测试纸条表面的目标检测物上,目标检测物激发出来的荧光经半透半反镜(2)透射后再经二分镜(4)反射及透射,其中,二分镜(4)反射出来的荧光照射到第一传感器(5)的光敏面上,二分镜(4)透射出来的荧光照射到第二传感器(6)的光敏面上,第一传感器(5)的输出端及第二传感器(6)的输出端均与所述信息处理分析单元的输入端相连接。
- [0013] 所述二分镜(4)反射出来的荧光经第一滤光片(7)照射到所述第一传感器(5)的光敏面上。
- [0014] 所述二分镜(4)透射出来的荧光经第二滤光片(8)照射到所述第二传感器(6)的光敏面上。
- [0015] 所述激发光源(1)发出的平行光入射到所述半透半反镜(2)后反射到透镜(3)上,其中所述半透半反镜(2)入射的平行光与反射的平行光之间的夹角为 $45\sim 135^\circ$ 。
- [0016] 所述的信息处理分析单元采用单片机。
- [0017] 一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统的检测方法,包括以下步骤:
- [0018] 1)、确定荧光光谱的激发波长:利用紫外/可见分光光度计测定目标检测物在 $280\sim 760\text{nm}$ 的吸收曲线,找到目标检测物最强特征吸收峰对应峰位,即为被测样品的最佳激发波长；
- [0019] 2)、将目标检测物添加到检测试纸条上；
- [0020] 3)、根据步骤1)的测试结果,激发光源(1)发出被测样品的最佳激发波长平行光光谱依次经半透半反镜(2)反射及透镜(3)聚焦后,在透镜(3)焦点处照射到检测试纸条上,试纸条上的目标检测物受激发后,发射多频段的荧光光谱,该光谱经过透镜(3)后,成为平行光透射到上方的二分镜(4),二分镜(4)将两个频段光谱分成两个方向光谱,分别为荧光一和荧光二；
- [0021] 4)、荧光一经过第一滤光片(7)滤光后,由第一传感器(5)将光信号转换为电信号得到主峰的检测光强,输出到单片机上；
- [0022] 5)、荧光二经过第二滤光片(8)滤光后,由第二传感器(6)将光信号转换为电信号得到次峰的检测光强,输出到单片机上；
- [0023] 6)、将两个光谱检测得到的光强值进行归一化计算,得到检测光强,再代入标定好的线性方程中计算目标检测物浓度值,归一化算法表达式如下:
- [0024] $A=\alpha T_1+\beta T_2$
- [0025] 其中,A为测量光强的归一化后计算值, T_1 与 T_2 为主峰与次峰的测量光强值, $\alpha+\beta=1$; α 与 β 参数是根据光谱图的强度比例关系确定的。
- [0026] 本发明具有以下有益效果:本发明在使用过程中,检测试纸条上的目标检测物发

出的荧光经二分镜分为两个频段的光,第一传感器及第二传感器分别检测所述两个频段的光的光强,再将两个频段的光的光强进行归一化处理,从而得到目标检测物发出的荧光的光强,从而消除检测底物对两个波段的干扰,然后通过所述目标检测物发出的荧光的光强得到目标检测物的浓度信息,从而有效的提高检测到的浓度信息的精度和速度。

附图说明

[0027] 图1是本发明的原理结构图,

[0028] 图2是本发明的工作流程,

[0029] 图3是本发明实施例中的光谱图,

[0030] 图4是本发明实施例中标定曲线图,

[0031] 图5是本发明实施例中前六组数据的标定曲线和方程,

[0032] 图6是本发明实施例中后六组数据的标定曲线和方程;

[0033] 图中1是激发光源、2是半透半反镜、3是透镜、4是二分镜、5是第一传感器、6是第二传感器、7是第一滤光片、8是第二滤光片。

具体实施方式

[0034] 下面结合附图对本发明做进一步详细描述。

[0035] 如图1所示,本发明的一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统,包括紫外/可见分光光度计、信息采集单元和与之相连的信息处理分析单元,

[0036] 所述紫外/可见分光光度计用于确定目标检测物的最佳激发波长(利用紫外/可见分光光度计测定目标检测物在280-760nm的吸收曲线,找到目标检测物最强特征吸收峰对应峰位,即为被测样品的最佳激发波长);

[0037] 所述信息采集单元用于对检测试纸条表面的目标检测物进行光学扫描,其向目标检测物投射出射光束,以接收试纸的反射荧光,并将所述反射荧光转换为电信号;

[0038] 所述信息处理分析单元用于对所述的电信号进行处理分析,从而输出检测结果;所述信息采集单元包括激发光源1、半透半反镜2、透镜3、二分镜4、以及用于检测接收到的荧光的光强的第一传感器5及第二传感器6;

[0039] 激发光源1发出的平行光依次经半透半反镜2反射及透镜3后照射到检测试纸条表面的目标检测物上,目标检测物激发出来的荧光经半透半反镜2透射后再经二分镜4反射及透射,其中,二分镜4反射出来的荧光照射到第一传感器5的光敏面上,二分镜4透射出来的荧光照射到第二传感器6的光敏面上,第一传感器5的输出端及第二传感器6的输出端均与所述信息处理分析单元的输入端相连接。

[0040] 为了得到更纯净的荧光,所述二分镜4反射出来的荧光经第一滤光片7照射到所述第一传感器5的光敏面上;所述二分镜4透射出来的荧光经第二滤光片8照射到所述第二传感器6的光敏面上。

[0041] 所述激发光源1发出的平行光入射到所述半透半反镜2后反射到透镜3上,其中所述半透半反镜2入射的平行光与反射的平行光之间的夹角为 $45\sim 135^\circ$,优选为 90° 。

[0042] 所述的信息处理分析单元采用单片机。

[0043] 图2是本发明的一种基于单频激发双频接收原理的免疫层析检测系统的检测方

法,包括以下步骤:

[0044] 1)、确定荧光光谱的激发波长:利用紫外/可见分光光度计测定目标检测物在280~760nm的吸收曲线,找到目标检测物最强特征吸收峰对应峰位,即为被测样品的最佳激发波长;

[0045] 2)、将目标检测物添加到检测试纸条上;

[0046] 3)、根据步骤1)的测试结果,激发光源1发出被测样品的最佳激发波长平行光光谱依次经半透半反镜2反射及透镜3聚焦后,在透镜3焦点处照射到检测试纸条上,试纸条上的目标检测物受激发后,发射多频段的荧光光谱,该光谱经过透镜3后,成为平行光透射到上方的二分镜4,二分镜4将两个频段光谱分成两个方向光谱,分别为荧光一和荧光二;

[0047] 4)、荧光一经过第一滤光片7滤光后,由第一传感器5将光信号转换为电信号得到主峰的检测光强,输出到单片机上;

[0048] 5)、荧光二经过第二滤光片8滤光后,由第二传感器6将光信号转换为电信号得到次峰的检测光强,输出到单片机上;

[0049] 6)、将两个光谱检测得到的光强值进行归一化计算,消除检测底物对其中某个波段的特定干扰,得到检测光强,再代入标定好的线性方程中计算目标检测物浓度值,归一化算法表达式如下:

$$[0050] \quad A = \alpha T_1 + \beta T_2$$

[0051] 其中,A为测量光强的归一化后计算值, T_1 与 T_2 为主峰与次峰的测量光强值, $\alpha + \beta = 1$; α 与 β 参数是根据光谱图的强度比例关系确定的。

[0052] 下面结合具体实施例,对本发明做详细说明。

[0053] 采用镧系稀土元素铈的金属螯合物合成荧光微球,作为浓度检测的荧光标记物,如图3所示,该荧光标记物激发光源的峰值位置为345nm位置左右,该荧光标记物发射波段的峰值位置有两处,一处为615nm的主峰位置,另一处为590nm的次峰位置,主峰位置光强与次峰位置光强强度比约为4:1关系;

[0054] 假设615nm测量的光强为 T_1 ,而590nm测量的光强为 T_2 ,则计算归一化后的光强值为: $A = 0.8 * T_1 + 0.2 * T_2$;因为4:1关系,所以 α 与 β 参数取值为0.8与0.2;得到的A值后可以分段线性标定,标定过程为:

[0055] ①将已知浓度铈的金属螯合物标准样品按比例稀释成一系列梯度,得到11组已知浓度 C_0 的标准样品(如表1所示);

[0056] ②每个标准样品通过本发明的检测系统进行检测,得到它们的 T_{10} 和 T_{20} 值,并代入公式 $A = \alpha T_1 + \beta T_2$,得到归一化后的光强值 A_0 (结果如表1所示);

[0057] ③将归一化后的光强值 A_0 与浓度值 C_0 一一对应,得到标准曲线和线性方程(如图4、5、6所示,图4、5、6中横坐标是光强度值,纵坐标是浓度值,图5是前六组浓度值C和光强度值A之间的函数关系图,此时浓度值C和光强度值A成指数关系: $C = 6.406e^{0.004A}$,图6是后六组浓度值C和光强度值A之间的函数关系图,此时浓度值C和光强度值A成对数关系: $C = 137.01 \ln(A) - 781.2$;

[0058] 表1标准样品的初始浓度值和归一化后的光强度值

[0059]

C_0 (ng/ mL)	$T1_0$	$T2_0$	A_0
10	250	62.5	100
15	500	125	200
25	750	187.5	300
40	1000	250	400
60	1250	312.5	500
90	1500	375	600
120	1750	437.5	700
140	2000	500	800
152	2250	562.5	900
165	2500	625	1000
175	2750	687.5	1100

[0060] 检测目标检测物:将目标检测物添加到检测试纸条上,开启本发明的检测系统,检测得到 $T1=425$ 、 $T2=106$,归一化后得到对应的光强值 $A=0.8*425+0.2*106=361.2$,该值处在图5所示范围内,因此将该光强值A代入图5的线性方程 $C=6.406e^{0.004A}$ 中计算样品的浓度值,结果约为27.17ng/mL。

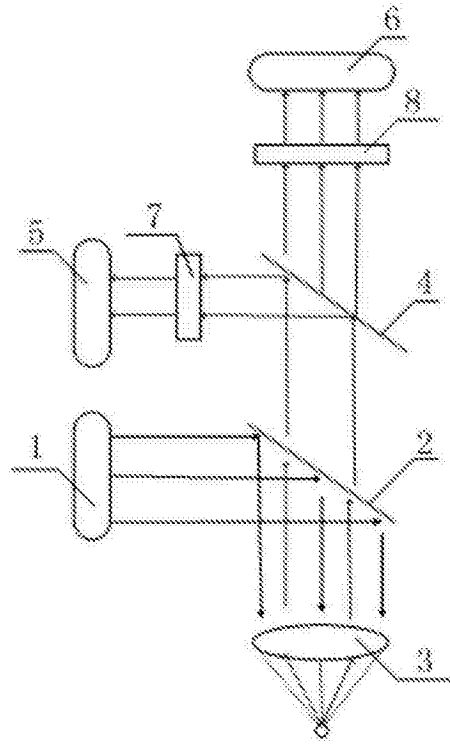


图1

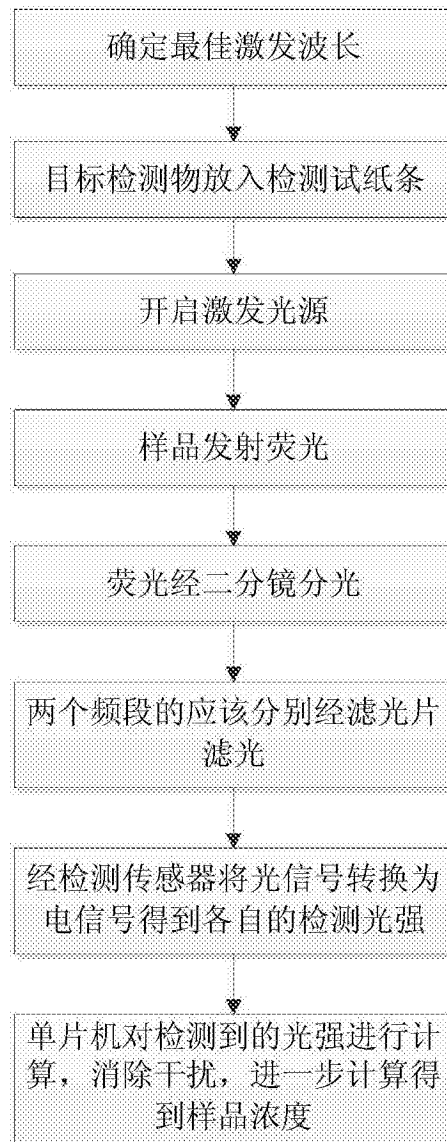


图2

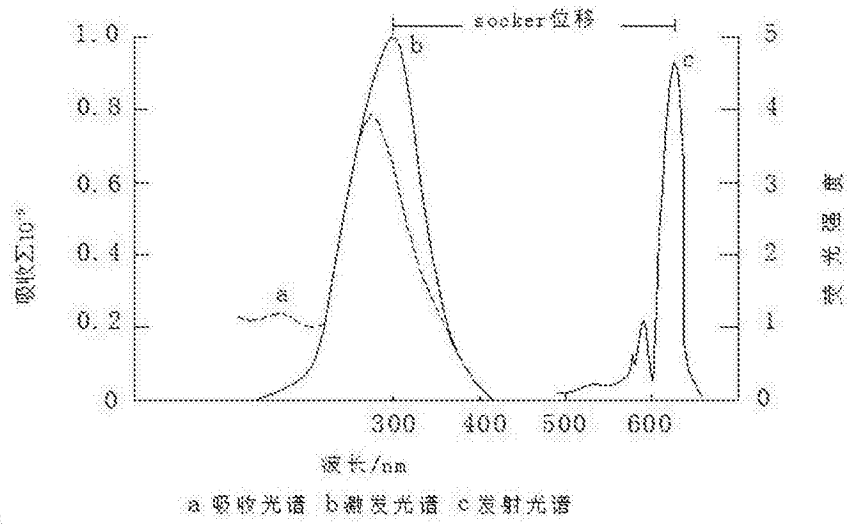


图3

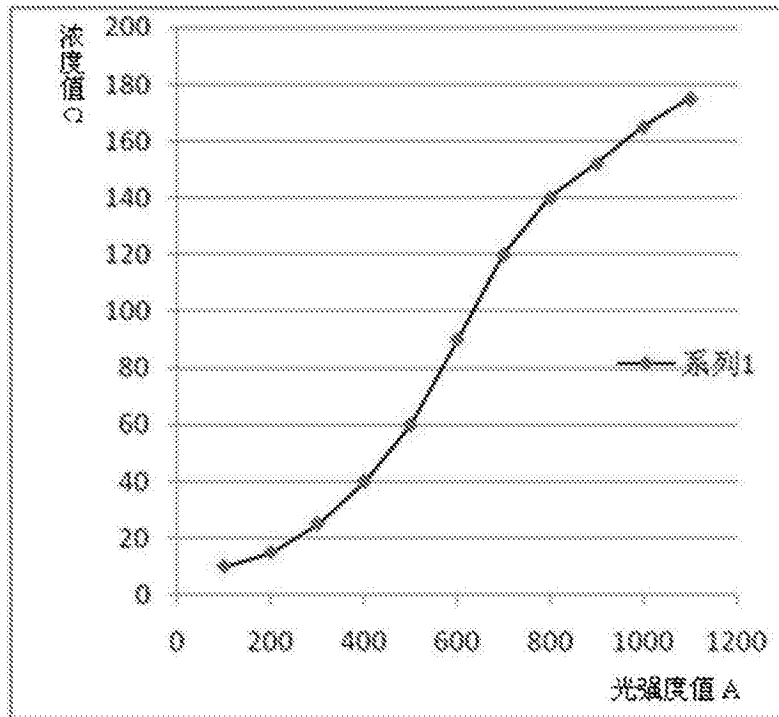


图4

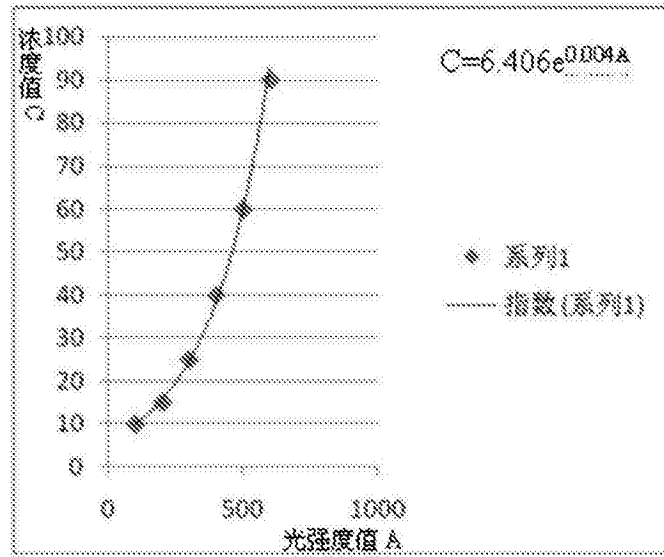


图5

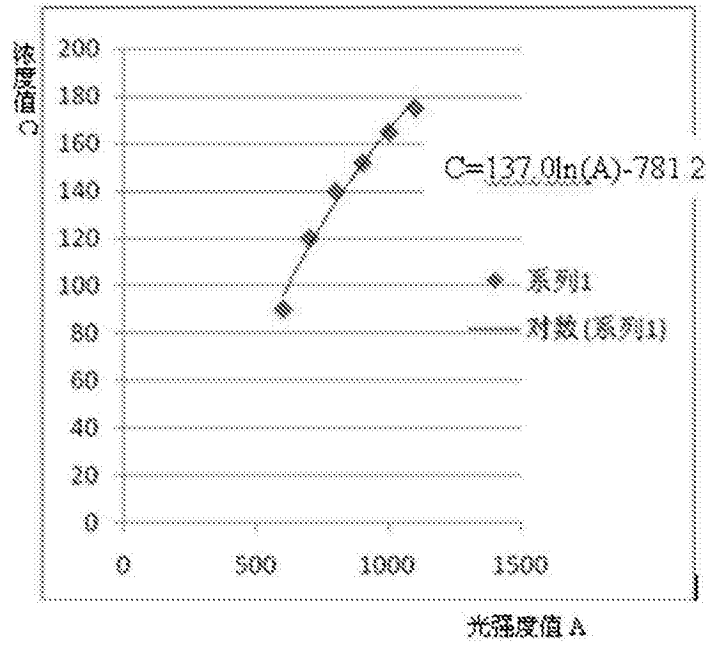


图6