



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104560698 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 29

(21) 申请号 201510047485. 4

(22) 申请日 2015. 01. 30

(71) 申请人 中国科学院苏州生物医学工程技术  
研究所

地址 215163 江苏省苏州市高新区科技城科  
灵路 88 号

(72) 发明人 黎海文 毛永青 周武平 刘聪  
张涛 蒋克明 张志强

(74) 专利代理机构 北京科亿知识产权代理事务  
所(普通合伙) 11350

代理人 汤东风

(51) Int. Cl.

C12M 1/34(2006. 01)

G01N 21/64(2006. 01)

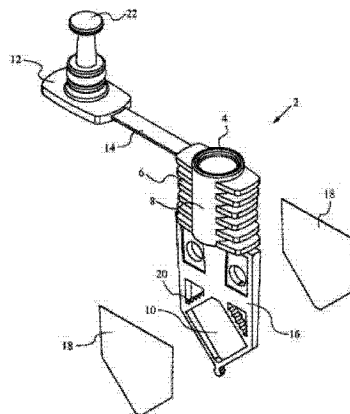
权利要求书2页 说明书7页 附图6页

(54) 发明名称

一种 PCR 激发探测系统

(57) 摘要

本发明公开了一种荧光定量 PCR 激光探测系统,包括:反应室(2),反应室(2)包括一个用来放置反应物的反应腔(10),反应室(2)的两侧具有壁(18),所述壁(18)为腔室(10)提供了光学窗口从而使反应物被检测,所述腔室(10)的两侧分别设置有光激发组件(46)和光探测组件(48),且所述光激发组件(46)发出光照射在反应腔(10)中的反应物上后发出荧光,荧光被光探测组件(48)的光学窗口接收并探测得到荧光强度,所述光激发组件(46)和光探测组件(48)的夹角为 $90^{\circ}$ 。



1. 一种荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,包括:反应室(2),反应室(2)包括一个用来放置反应物的反应腔(10),反应室(2)的两侧具有壁(18),所述壁(18)为腔室(10)提供了光学窗口从而使得反应物被检测,所述腔室(10)的两侧分别设置有光激发组件(46)和光探测组件(48),且所述光激发组件(46)发出光照射在反应腔(10)中的反应物上后发出荧光,荧光被光探测组件(48)的光学窗口接收并探测得到荧光强度,所述光激发组件(46)和光探测组件(48)的夹角为 $90^{\circ}$ 。

2. 根据权利要求1所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,所述反应室(2)还有个刚性构架(16),以限定腔室(10)的外围,所述刚性构架(16)和反应腔(10)为薄片状形状,且与加热模块接触;所述反应室(2)还具有—进样口(4),其通过通道(8)与反应腔(10)相通;此外,还设有盖子(12),与反应室(2)结合在一起,它包括一个塞子(22),所述塞子(22)通过连接带(14)与反应室(2)连接在一起,且所述塞子(22)插入通道(8)并密封所述腔室(10)。

3. 根据权利要求1或2所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,所述光激发组件(46)具体包括:—个壳子(219),所述壳子(219)包括:上部(220A),中部(220B)和下部(220C),且上部(220A)和下部(220C)通过螺丝结合在一起,然后插在中部(220B)上;

所述下部(220C)上有一个光学窗口(235),放置—个柱透镜来汇聚光线,从而使得光线到达腔室(10),在光学窗口上放置—个透镜来会聚光;

此外,光学组件46也包括4种光源,分别是第一光源(100A),第二光源(100B),第三光源(100C)和第四光源(100D),以提供激发光束。

4. 根据权利要求3所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,所述第一光源(100A),第二光源(100B),第三光源(100C)和第四光源(100D)是激光,灯泡或者—个 LED 或者—组定向的 LED。

5. 根据权利要求3所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,所述四个光源为第一组绿色 LED(100A),第二组绿色 LED(100B),第三组蓝色 LED(100C),第四组绿色 LED(100D),且连接电源导线(201),所述四个光源安装在光学电路板(50)上,光学电路板粘附在壳子部件(220B)的后面,以使得光源在壳子中固定,所述光学电路板(50)又与主 PCB 板相连。

6. 根据权利要求3-5任一所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,所述壳子部件(219)中,光学部件(46)还包括—滤光系统,以过滤光束,使得到达腔室(10)的光束的波段相互分离;所述组件(46)中还设有滤光片和二向色镜,以用来为腔室(10)中的反应物提供不同波段的光。

7. 根据权利要求5所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,所述底部的壳子部件(220C)还有壁(202),以给激发光提供独立的通道,减少 LED 之间的串扰,所述壁(202)上具有插槽。

8. 根据权利要求1所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在於,所述光激发组件(46)中,具体包括:

593nm 低通滤光片(203),且放置在绿色 LED(100A)前方,—组 555nm 低通滤光片(204)放置在绿色 LED(100B)前方,—组 495nm 低通滤光片(205)放置在蓝色 LED(100C)前方,—组 527nm 的低通滤光片(206)放置在绿色 LED(100D)前方;透镜 207 被放置在每组滤光片

的前方来准直过滤的光束。

9. 根据权利要求 8 所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在于,所述光学组件(46) 还包括一个 495nm 的低通二向色镜 (208),一个 527nm 的低通二向色镜,一个 555nm 的高通二向色镜 (211) 和一个 593nm 的高通二向色镜 (212),这些二向色镜和平面镜(208-212) 与滤光片 (203-206) 成 30°, 激发光组件 46 发射 4 种不同波长的激发光束到腔室 (10);

当绿色 LED100A 被接通时,光束通过一组 593nm 低通滤光片 (203) 进行滤光,然后透镜(207) 对光线进行准直,光束到达 593nm 高通二向色镜 (212) 时,低于 593nm 的光反射到达 555nm 高通二向色镜,在 555-593nm 间的光透过 (211),到达 527nm 低通二向色镜,经反射到达光学窗口处的柱透镜 (215),经会聚照射到反应腔室 (10) 上;其中,555-593nm 的波段与 ROX 染料的峰值波段相匹配,绿色 LED(100B) 处理后的光与 TAMRA 的峰值波段相匹配,蓝色 LED(100C) 处理后的光与 FAM 染料的峰值波段相匹配,绿色 LED(100D) 处理后的光与 TET 峰值波段相匹配。

10. 根据权利要求 1 所述的荧光定量 PCR 激光探测系统,其特征在于,所述光探测组件(48) 具有一壳子 (221),所述壳子 (221) 具有上部壳子 (234A) 和下部壳子 (234B) 两部分,且两者互补配套;

所述下部壳子 (234B) 有一个光学窗口 (237),放置一个柱透镜 (232) 或玻璃片或者塑料片,用于会聚光线,使得从腔室 (10) 中出射的光能够被探测器接收到;

所述光学组件 48 还包括 4 个探测器,分别为第一探测器 (102A),第二探测器 (102B),第三探测器 (102C) 和第四探测器 (102D),用于探测从腔室 (10) 并被光学窗口 (237) 接收到的发射光线;

第一探测器 (102A),第二探测器 (102B),第三探测器 (102C) 和第四探测器 (102D) 固定在下部壳子 (234B) 的凹槽中的,一端与导线 (245) 相连,电源通过导线来供电给探测器。

## 一种 PCR 激发探测系统

### 技术领域

[0001] 本发明属于一种一体式 PCR 激发探测系统。本发明涉及全血 PCR 仪,特别是涉及其光路检测模块。

### 背景技术

[0002] 有许多这方面的生物化学反应的专利是用来控制反应物的温度的,使混合物的温度快速的变换以及目标的分析探测。这样的热转换化学反应专利可能包括有机、无机、生物化学、分子反应等。比如热化学反应包括核酸扩增,热循环放大,例如聚合酶链式反应,连接酶链式反应,自持序列复制,酶动力学研究,均匀的配体结合试验和更多的要复杂温度变换的生物机械研究。

[0003] 对于生物化学分析,一个优先的检测技术是光学探测,通常使用荧光。对于配体结合试验,荧光偏振、分辨荧光和光学吸收是经常使用的。荧光物质也经常使用在聚合酶链式反应中。

[0004] 那些传统的设备有一些缺点。首先,这些传统的设备不能实时地光学检测或者不能对化学反应进行连续光学监测。比如,一个高功率激光器通过光纤顺序地激发每个反应部位并捕获荧光。由于所有的反应部位是由单激光顺序激发的,并且由一个光谱仪或者光电倍增管探测的,所以同时监测每个反应点是不可能的。

[0005] 一些用更新的工艺的设备要求实时光学监控已经实现了。比如说,有这样一个设备,它使用模块化方法来实现 PCR 热循环和光学分析。每个化学反应在它自己的硅套管中进行的,并且每个硅套管有它自己独立的激发光源和探测器。使用一个 LED 和固态探测器来实现实时检测。这个仪器每个模块只有一个光源和一个探测器,所以多通道检测是不可能的。

[0006] 还有一个设备,它包括一个带步进机的圆形转盘,其最多可容纳 24 种样品并且每个样品放置在一个光学部件上。在试验中,样品放置在由转盘固定的毛细管中,每个样品通过毛细管顶端的照射进行检测。光线由一个透镜在毛细管另一端收集并聚焦起来。从毛细管一端发出的光线通过一个或者多个滤光片并被光电二极管探测器探测。虽然这个设备允许在一个样品反应中进行多通道的探测,但其有一些缺点。首先,激发光和出射光在反应物中通过的长度相对较短,并且用的是同样的路径。这可能会导致从样品出来的荧光会较弱,从而导致光学探测强度不够。第二,该设备只提供一个波段范围的光。不同的荧光染料有不同的激发波段,所以这个设备不能为多种染料提供激发光束。第三,使用二向色镜可能会减弱光强。每个二向色镜减弱的光强为原来的一半。因此,该方案可能由于光强太弱而无法探测。

[0007] 还有一个系统,该系统包括一个电磁辐射光源,一面对准以接收滤光后的光,一个移动镜子的扫描器,一个用来滤光的滤光轮。毛细管柱中含有荧光标记的样品分开放在电泳介质中。

[0008] 在试验中,激光发出一个激发光到镜子上,反射光反射到透镜使光线聚焦,然后照

射到毛细管阵列的第一根毛细管样品上,荧光透过滤光轮的第一个滤光片然后被探测到。然后马达转动使得滤光轮旋转第二个滤光片上,第二片滤光片透过第二种荧光并且被探测器探测。这样的步骤不断的重复,可以进行多种荧光的检测。虽然这个系统允许在同一样品中探测多种荧光,但也有一些缺点。那些移动的部分通常会引起一些损耗与误差,也会导致保养起来麻烦。

## 发明内容

[0009] 本发明所要解决的技术问题是提供一种荧光定量 PCR 激光探测系统。

[0010] 本发明解决上述技术问题所采取的技术方案如下:

[0011] 一种荧光定量 PCR 激光探测系统,包括:反应室(2),反应室(2)包括一个用来放置反应物的反应腔(10),反应室(2)的两侧具有壁(18),所述壁(18)为腔室(10)提供了光学窗口从而使得反应物被检测,所述腔室(10)的两侧分别设置有光激发组件(46)和光探测组件(48),且所述光激发组件(46)发出光照射在反应腔(10)中的反应物上后发出荧光,荧光被光探测组件(48)的光学窗口接收并探测得到荧光强度,所述光激发组件(46)和光探测组件(48)的夹角为 $90^{\circ}$ 。

[0012] 进一步地,优选的是,所述反应室(2)还有个刚性构架(16),以限定腔室(10)的外围,所述刚性构架(16)和反应腔(10)为薄片状形状,且与加热模块接触;所述反应室(2)还具有一进样口(4),其通过通道(8)与反应腔(10)相通;此外,还设有盖子(12),与反应室(2)结合在一起,它包括一个塞子(22),所述塞子(22)通过连接带(14)与反应室(2)连接在一起,且所述塞子(22)插入通道(8)并密封所述腔室(10)。

[0013] 进一步地,优选的是,所述光激发组件(46)具体包括:一个壳子(219),所述壳子(219)包括:上部(220A),中部(220B)和下部(220C),且上部(220A)和下部(220C)通过螺丝结合在一起,然后插在中部(220B)上;

[0014] 所述下部(220C)上有一个光学窗口(235),放置一个柱透镜来汇聚光线,从而使得光线到达腔室(10),在光学窗口上放置了一个透镜来会聚光;

[0015] 此外,光学组件46也包括4种光源,分别是第一光源(100A),第二光源(100B),第三光源(100C)和第四光源(100D),以提供激发光束。

[0016] 进一步地,优选的是,所述第一光源(100A),第二光源(100B),第三光源(100C)和第四光源(100D)是激光,灯泡或者一个LED或者一组定向的LED。

[0017] 进一步地,优选的是,所述四个光源为第一组绿色LED(100A),第二组绿色LED(100B),第三组蓝色LED(100C),第四组绿色LED(100D),且连接电源导线(201),所述四个光源安装在光学电路板(50)上,光学电路板粘附在壳子部件(220B)的后面,以使得光源在壳子中固定,所述光学电路板(50)又与主PCB板相连。

[0018] 进一步地,优选的是,所述壳子部件(219)中,光学部件(46)还包括一滤光系统,以过滤光束,使得到达腔室(10)的光束的波段相互分离;所述组件(46)中还设有滤光片和二向色镜,以用来为腔室(10)中的反应物提供不同波段的光。

[0019] 进一步地,优选的是,所述底部的壳子部件(220C)还有壁(202),以给激发光提供独立的通道,减少LED之间的串扰,所述壁(202)上具有插槽。

[0020] 进一步地,优选的是,所述光激发组件(46)中,具体包括:

[0021] 593nm 低通滤光片 (203), 且放置在绿色 LED(100A) 前方, 一组 555nm 低通滤光片 (204) 放置在绿色 LED(100B) 前方, 一组 495nm 低通滤光片 (205) 放置在蓝色 LED(100C) 前方, 一组 527nm 的低通滤光片 (206) 放置在绿色 LED(100D) 前方; 透镜 207 被放置在每组滤光片的前方来准直过滤的光束。

[0022] 进一步地, 优选的是, 所述光学组件 (46) 还包括一个 495nm 的低通二向色镜 (208), 一个 527nm 的低通二向色镜, 一个 555nm 的高通二向色镜 (211) 和一个 593nm 的高通二向色镜 (212), 这些二向色镜和平面镜 (208-212) 与滤光片 (203-206) 成  $30^\circ$ , 激发光组件 46 发射 4 种不同波长的激发光束到腔室 (10);

[0023] 当绿色 LED100A 被接通时, 光束通过一组 593nm 低通滤光片 (203) 进行滤光, 然后透镜 (207) 对光线进行准直, 光束到达 593nm 高通二向色镜 (212) 时, 低于 593nm 的光反射到达 555nm 高通二向色镜, 在 555-593nm 间的光透过 (211), 到达 527nm 低通二向色镜, 经反射到达光学窗口处的柱透镜 (215), 经会聚照射到反应腔室 (10) 上; 其中, 555-593nm 的波段与 ROX 染料的峰值波段相匹配, 绿色 LED(100B) 处理后的光与 TAMRA 的峰值波段相匹配, 蓝色 LED(100C) 处理后的光与 FAM 染料的峰值波段相匹配, 绿色 LED(100D) 处理后的光与 TET 峰值波段相匹配。

[0024] 进一步地, 优选的是, 所述光探测组件 (48) 具有一壳子 (221), 所述壳子 (221) 具有上部壳子 (234A) 和下部壳子 (234B) 两部分, 且两者互补配套;

[0025] 所述下部壳子 (234B) 有一个光学窗口 (237), 放置一个柱透镜 (232) 或玻璃片或者塑料片, 用于会聚光线, 使得从腔室 (10) 中出射的光能够被探测器接收到;

[0026] 所述光学组件 48 还包括 4 个探测器, 分别为第一探测器 (102A), 第二探测器 (102B), 第三探测器 (102C) 和第四探测器 (102D), 用于探测从腔室 (10) 并被光学窗口 (237) 接收到的发射光线;

[0027] 第一探测器 (102A), 第二探测器 (102B), 第三探测器 (102C) 和第四探测器 (102D) 固定在下部壳子 (234B) 的凹槽中的, 一端与导线 (245) 相连, 电源通过导线来供电给探测器。

[0028] 本发明采取了上述方案以后, 能够为每一种荧光染料提供了一个激发光波段, 并且每个波段是相互独立的。多个激发波长确保了试剂中的多个分析物有不同的荧光对应。而且, 这个发明不用像转盘或者滤光轮一样移动部件就能允许同时、实时探测试剂中的多个分析物。因为它不用移动任何部件, 所以现在发明的系统损耗和保养要求都很低, 可靠性更高。

[0029] 此外, 该发明还利用反应物的快速准确的温度变化克服了现有技术的缺点。这种严格的温度控制抑制了副反应的发生, 比如形成不必要的气泡以及在一定温度下的降解组件, 这些都会影响到光学探测分析。因此, 该系统适用于敏感的生物化学反应, 比如聚合酶链式反应, 连接酶链反应, 自主序列反应, 酶动力学研究, 均匀的配体结合试验和更多的要复杂温度变换的生物机械研究。

[0030] 本发明的其它特征和优点将在随后的说明书中阐述, 并且, 部分地从说明书中变得显而易见, 或者通过实施本发明而了解。本发明的目的和其他优点可通过在所写的说明书、权利要求书、以及附图中所特别指出的结构来实现和获得。

## 附图说明

[0031] 下面结合附图对本发明进行详细的描述,以使得本发明的上述优点更加明确。其中,

[0032] 图 1 是显示了本发明中的反应容器的部分分解透视图,图中,反应室侧壁被移除,显示了内部的腔室。

[0033] 图 2A 呈现的是 4 种热反应中典型荧光染料的激发和发射谱;

[0034] 图 2B 呈现的是 4 种热反应中典型荧光染料的激发和发射谱;

[0035] 图 2C 显示的是过滤不同的绿色和蓝色 LED 的输出影响,从而来提供不同的激发波长;

[0036] 图 2D 显示的是滤光后的激发光照射到染料上产生的荧光的波长范围;

[0037] 图 3 是光激发组件的平面示意图。

[0038] 图 4 是光激发组件的立体示意图。

[0039] 图 5 是光探测组件的平面示意图。

[0040] 图 6 是光探测组件的立体示意图;

[0041] 图 7 是本发明荧光定量 PCR 激光探测系统的整体结构示意图。

## 具体实施方式

[0042] 以下将结合附图及实施例来详细说明本发明的实施方式,借此对本发明如何应用技术手段来解决技术问题,并达成技术效果的实现过程能充分理解并据以实施。需要说明的是,只要不构成冲突,本发明中的各个实施例以及各实施例中的各个特征可以相互结合,所形成的技术方案均在本发明的保护范围之内。

[0043] 聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction),简称 PCR,是一种分子生物学技术,用于放大特定的 DNA 片段。其中,荧光定量 PCR (PCR) 是一种在 DNA 扩增反应中,以荧光化学物质测每次聚合酶链式反应 (PCR) 循环后产物总量的方法。

[0044] 如图 1-图 7 所示,图 1 为反应室 2 的部分分解透视图。反应室 2 包括一个用来放置反应物的反应腔 10。经设计,反应室 2 对于反应物有极好的热传递和光学视图。其薄片的形状使得其与加热模块的接触面积很大,温度变化速度快,反应室 2 的壁 18 为腔室 10 提供了光学窗口从而使得所有的反应物能够被检测。另外,反应室 2 还有个刚性构架 16 来限定腔室 10 的外围。部件 2 还包括手握处 6 以及进样口 4。部件 12 为反应器 2 的盖子,它包括一个塞子 22,当插入通道 8 时会使得腔室 10 密封。

[0045] 图 2A 和 2B 显示的是 4 种荧光染料的激发和发射光谱。这些染料是标准的和 TaqMan® 探针使用的荧光染料。它们的缩略词也是大家熟知的:FAM, TET, TAMRA 和 ROX。虽然该方案的参考是四种荧光染料,但我们应该知道,当前的发明没有被这几种染料所限制,该系统也有可能使用其他的荧光染料。技术上,荧光染料和反应物的化学反应是大家所熟知的,不用进一步地讨论了。

[0046] 如图 2A 所示,4 种荧光染料的激发光谱都是底部宽,顶部窄的。如图 2B 所示,相应的,其所对应的发射光谱也是底部宽,顶部窄。其中有一个很严重的问题,在不管是激发光谱还是发射光谱中,这些荧光染料都有很大的重叠。这个重叠的特点使得当在使用多种荧光染料进行检测时,很难区分荧光信号是来自哪种荧光染料的。

[0047] 根据上述的发明,多光源被用来提供荧光染料多个波段的激发光。每种光源提供与一种荧光染料峰值段波长相匹配的激发光。在该方案中,光源是蓝色和绿色的 LED。图 2C 展示的是过滤不同的绿色和蓝色 LED 的输出的影响,从而来提供不同的相互分离的激发光。一般的蓝色和绿色的 LED 在 480nm 到 530nm 间有大量的重叠。通过滤光片和二向色镜的光学设计,蓝色 LED 过滤后的光在大约 450nm 到 495nm 之间,与 FAM 染料相匹配。绿色 LED 第一个滤光后的波段在 495 到 527nm 之间,与 TET 染料匹配,第二个滤光后的波段在 527 到 555nm 之间,与 TAMRA 染料匹配,第三个滤光后的波段在 555 到 593nm 之间,与 ROX 相匹配。

[0048] 图 2D 显示的是滤光后的激发光照射到染料上产生的荧光的波长范围。如前面 2B 中所示,滤光前荧光的发射谱有相当大的重叠,使得进行多种荧光染料检测时比较困难。在滤光后,这些荧光染料的发射光谱基本没有重叠,检测起来也很方便。

[0049] 图 3 是光激发组件 46 的平面示意图。光激发组件 46 是紧挨着反应室 2 放置的,是为了提供激发光,使得激发光照射到腔室 10 中的反应物上。图 4 是光激发组件 46 的立体图。如图 3 和 4,光激发组件 46 包括一个壳子 219 来放置装配的各种组件。在该方案中,壳子 219 是由 220A,220B,220C 几个部分组成的。上部 220A 和下部 220C 通过螺丝结合在一起,然后插在 220B 上。该方案中,部件 219 是多个部分组成的,而另一个方案中,部件 219 是一个整体来放置光学系统。

[0050] 壳子下部 220C 上有个光学窗口 235,在那里会放置一个柱透镜来汇聚光线,从而使得光线到达腔室 10。大体上说,光学窗口 235 是光激发组件 46 的一个开口来使激发光通过照射到腔室 10 上。该方案中,在光学窗口上放置了一个透镜来会聚光。

[0051] 光学组件 46 也包括 4 种光源,优先选择的是 LED,4 个光源分别编号是 100A,100B,100C 和 100D,这些光源是提供激发光束的。大体上讲,每个光源可能是激光,灯泡或者一个 LED。在该方案中,我们选择的是一组定向的 LED。并且,如图 3 和图 4 所示,这四个光源优先选择以第一组绿色 LED100A,第二组绿色 LED100B,第三组蓝色 LED100C,第四组绿色 LED100D 的排列方式放置。连接着电源的导线 201 是为这些 LED 供电的(电源没有在图中显示)。LED 被安装在光学电路板 50 上,电路板粘附在壳子部件 220B 的后面使得 LED 在壳子中固定的更好。光学电路板 50 与主要的 PCB 板相连。

[0052] 在壳子部件 219 中,光学光激发组件 46 还包括一套滤光系统和一些透镜来过滤和改变光束,使得到达腔室 10 的光束的波段是相互分离的。如图 4 所示,底部的壳子部件 220C 还有壁 202,它的作用是给激发光提供独立的通道,减少 LED 之间的串扰。这些壁优先选择有插槽,从而使得镜片可以方便的固定在上面。该方案中就是由插槽的壁。

[0053] 组件 46 中那些滤光片和二向色镜是用来为腔室 10 中的反应物提供任何需要的波段的光的。因此,组件 46 与荧光一起使用的。现在要说组件 46 一个特殊的方案,该组件提供的光是与 FAM, TAMRA, TET 和 ROX 的峰值波长相符合的。

[0054] 在这个方案中,一组 593nm 低通滤光片 203 放置在绿色 LED100A 前方,一组 555nm 低通滤光片 204 放置在绿色 LED100B 前方,一组 495nm 低通滤光片 205 放置在蓝色 LED100C 前方,一组 527nm 的低通滤光片 206 放置在绿色 LED100D 前方。虽然该方案中使用双滤光片达到两次过滤的效果,在另外的方案中,也可能是只有一个滤光片。另外,透镜 207 被放置在每组滤光片的前方来准直过滤的光束。光学组件 46 还包括一个 495nm 的低通二向色镜 208,一个 527nm 的低通二向色镜,一个 555nm 的高通二向色镜 211 和一个 593nm 的高



通二向色镜 212。这些二向色镜和平面镜 208-212 与滤光片 203-206 成  $30^\circ$ 。

[0055] 激发光组件 46 发射 4 种不同波长的激发光束到腔室 10。当那组绿色 LED100A 被接通时, 光束通过一组 593nm 低通滤光片 203 进行滤光, 然后透镜 207 对光线进行准直, 光束到达 593nm 高通二向色镜 212 时, 低于 593nm 的光反射到达 555nm 高通二向色镜, 在 555-593nm 间的光透过 211, 到达 527nm 低通二向色镜, 经反射到达光学窗口处的柱透镜 215, 经会聚照射到反应腔室 10 上。其中, 555-593nm 的波段与 ROX 染料的峰值波段相匹配。

[0056] 另外 3 组光路也是同样的原理, 其中, 绿色 LED100B 处理后的光与 TAMRA 的峰值波段相匹配, 蓝色 LED100C 处理后的光与 FAM 染料的峰值波段相匹配, 绿色 LED100D 处理后的光与 TET 峰值波段相匹配。在试验中, LED100A-100D 是分别被点亮的, 以激发不同的荧光染料发出荧光, 从而可以检测出其对应的不同的荧光强度。

[0057] 图 5 是光探测组件 48 的平面示意图。图 6 是它的立体示意图。组件 48 紧挨着反应室 2 放置, 可以很好地接收到反应室处的光线。与光激发组件类似, 部件 48 也有个壳子 221 来放置各种组件。壳子 221 我们选择的是由上部 234A 和下部 234B 两部分组成, 这两部分是互补的配套件, 可以很好的装配在一起。

[0058] 下部分的壳子 234B 有一个光学窗口 237, 这个光学窗口是用来放置一个柱透镜 232, 柱透镜主要是用来会聚光线, 使得从腔室 10 中出射的光能够被探测器接收到。简单来说, 光学窗口是用来准直光线使得探测器能够接收到信号。有的光学窗口是一个玻璃片或者塑料片, 而该方案中选择的是一个柱透镜。

[0059] 光学组件 48 还包括 4 个探测器 102A, 102B, 102C 和 102D 来探测从腔室 10 并被光学窗口 237 接收到的发射光线。每个探测器可能是倍增管, CCD, SMOS, 光电二极管等等。该方案中, 我们选择的是 PIN 光电二极管探测器。探测器 102A, 102B, 102C 和 102D 是被很好地固定在下部壳子 234B 的凹槽中的。这些探测器的一端与导线 245 相连, 电源通过导线来供电给探测器。

[0060] 壳子 221 中还有放置着一套滤光片和二向色镜来分离从腔室 10 中出来的发射光, 使得不同波长的光进入到各个对应的探测器中。如图 6 所示, 下部分壳子 234B 内有一些壁 247, 这是为了给每个探测器创造独立的探测通道。这些壁上都有些凹槽, 可以很好的固定镜片与组件。

[0061] 那些光学组件 48 中的滤光片是为了挡掉从腔室 10 来的不符合波长范围的光。因此光学组件 48 是和荧光一起使用的。组件 48 中一个特殊的方案就是探测 FAM, TAMRA, TET, ROX 的峰值的波长。

[0062] 在该方案中, 滤光片包括一个放置在第一个探测器 102A 前面的 515nm 的肖特玻璃滤光片 222A, 一个放置在第二个探测器 102B 前面的 550nm 的肖特玻璃滤光片 222B, 一个放置在第三个探测器 102C 前面的 570nm 的肖特玻璃滤光片 222C, 一个放置在第四个探测器 102D 前面的 620nm 的肖特玻璃滤光片 222D。这些滤光片都是肖特玻璃中有的。光学组件 48 还包括放置在第一个探测器 102A 前面的一组 505nm 高通滤光片 223, 一组放置在第二个探测器前面的 537nm 的高通滤光片 224, 一组放置在第三个探测器 102C 前面的 565nm 高通滤光片 225 和一组放置在第四个探测器 102D 前面的 605nm 高通滤光片 226。透镜 242 放在每个探测通道的高通滤光片和带通滤光片之间, 主要用来准直和会聚光线。光学组件 48 还包括一个 605nm 低通二向色镜 227, 一面平面镜 228, 一个 565nm 高通二向色镜 229, 一个

537nm 低通二向色镜 230 和一个 505nm 低通二向色镜 231。这些二向色镜与高通滤光片是成  $30^\circ$  夹角的。如图 6 所示,探测组件 48 还有一个光阑 238 放置在探测器与带通滤光片之间,另一个光阑 240 放置在带通滤光片和准直透镜中间,它们的主要作用是为了消除杂散光。

[0063] 如图 5 所示,发射光线通过透镜 232 的准直会聚和二向色镜的偏转后,与 FAM 峰值波段相符的 505 到 537nm 的光分别依次经过二向色镜 229, 230, 231 和滤光片 223, 然后经过透镜准直,最后经过带通滤光片 222A, 然后被探测器 102A 检测到。同理,537 到 565nm 的光(与 TET 染料峰值波段相符)经过二向色镜 229, 230 和滤光片 224, 然后经过透镜 242, 最后经过滤光片 222B 后被探测器 102B 检测到。而 565 到 605nm 的光(与 TAMRA 染料的峰值波段相符)在经过二向色镜 229, 227 和滤光片 225, 然后经过透镜 242 最后经过带通滤光片 222C 后被探测器 102C 检测到。超过 605nm 的光(与 ROX 染料的峰值波段相符)在经过二向色镜 229, 227, 平面镜 228 和滤光片 226, 然后经过透镜 242 最后经过带通滤光片 222D 后被探测器 102D 检测到。

[0064] 图 7 是整体的平面结构示意图。2 为反应室,46 为光激发组件,48 为光探测组件,如图所示,光激发与探测组件 46 与 48 紧挨着反应室 2,光激发组件 46 发出光照射在反应室 2 中的反应物上后发出荧光,荧光被探测组件 48 的光学窗口接收并探测得到荧光强度。其中激发与探测组件的夹角为  $90^\circ$ , 3 者的结构非常紧密。该结构可以尽量避免激发光直接进入光探测组件中,减少对探测结果的影响。

[0065] 本发明采取了上述方案以后,能够为每一种荧光染料提供了一个激发光波段,并且每个波段是相互独立的。多个激发波长确保了试剂中的多个分析物有不同的荧光对应。而且,这个发明不用像转盘或者滤光轮一样移动部件就能允许同时、实时探测试剂中的多个分析物。因为它不用移动任何部件,所以现在发明的系统损耗和保养要求都很低,可靠性更高。

[0066] 此外,该发明还利用反应物的快速准确的温度变化克服了现有技术的缺点。这种严格的温度控制抑制了副反应的发生,比如形成不必要的气泡以及在一定温度下的降解组件,这些都会影响到光学探测分析。因此,该系统适用于敏感的生物化学反应,比如聚合酶链式反应,连接酶链反应,自主序列反应,酶动力学研究,均匀的配体结合试验和更多的要复杂温度变换的生物机械研究。

[0067] 最后应说明的是:以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,对于本领域的技术人员来说,其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

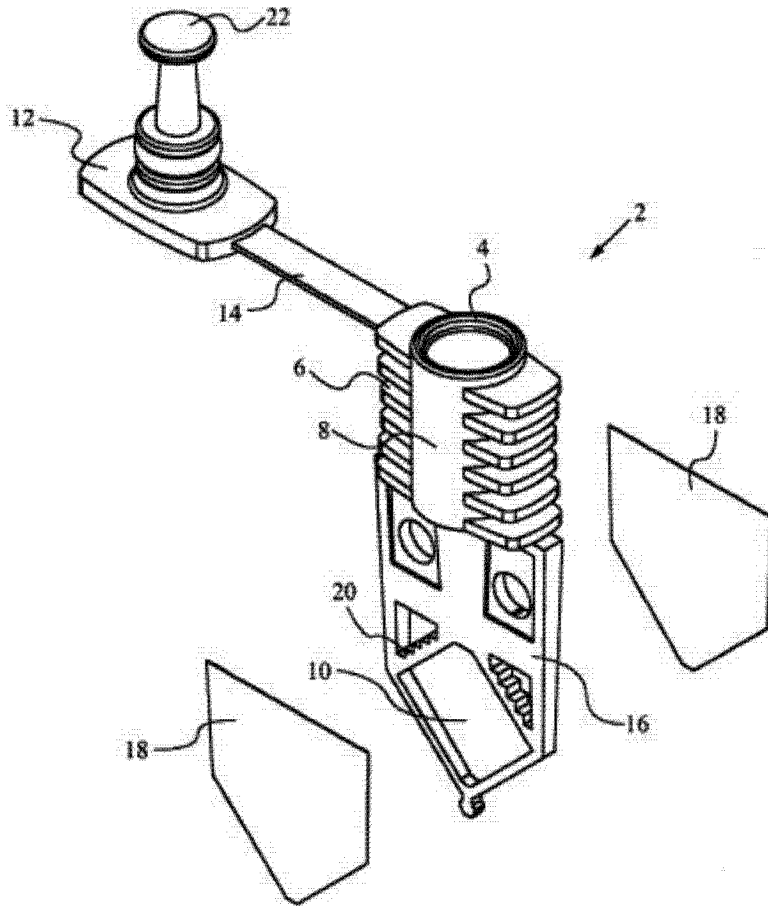


图 1

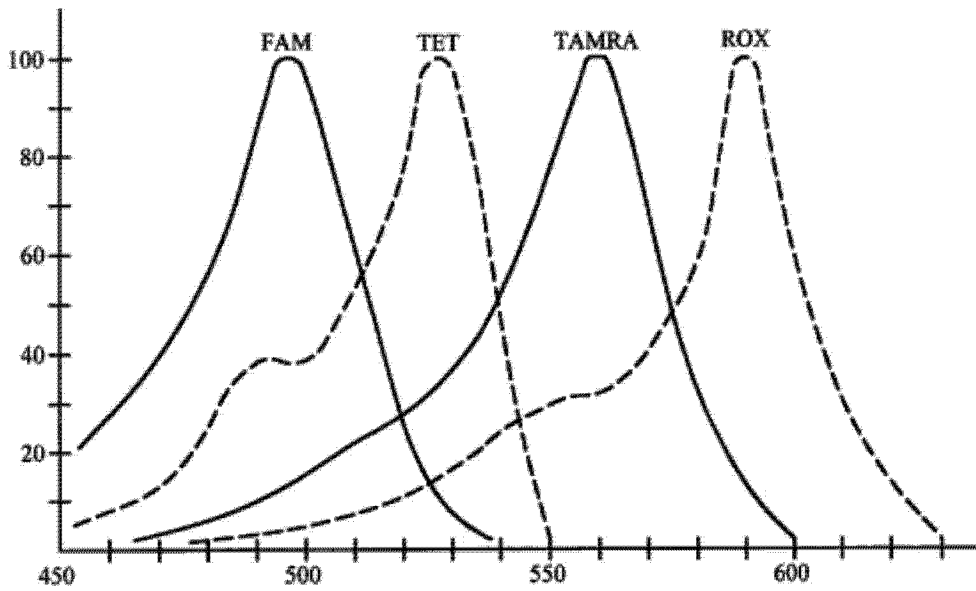


图 2A

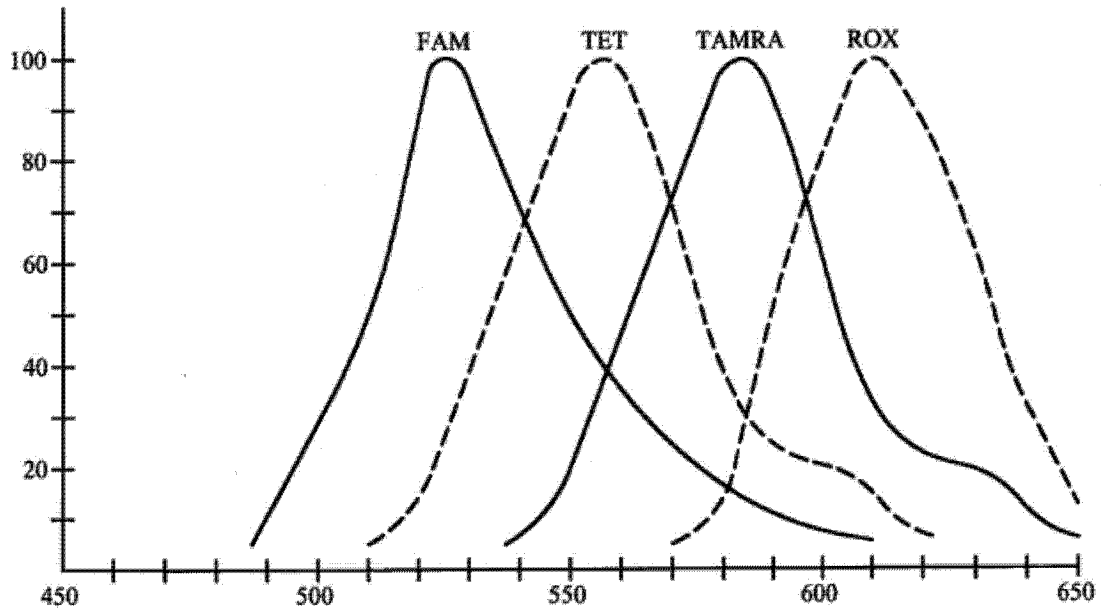


图 2B

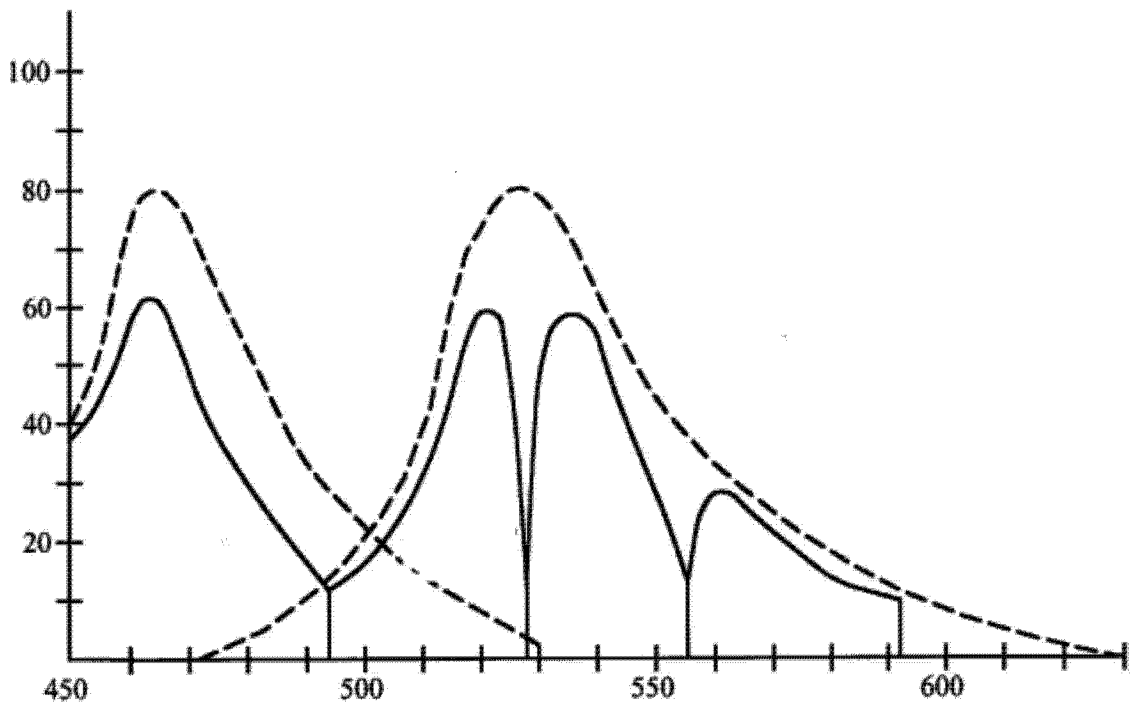


图 2C

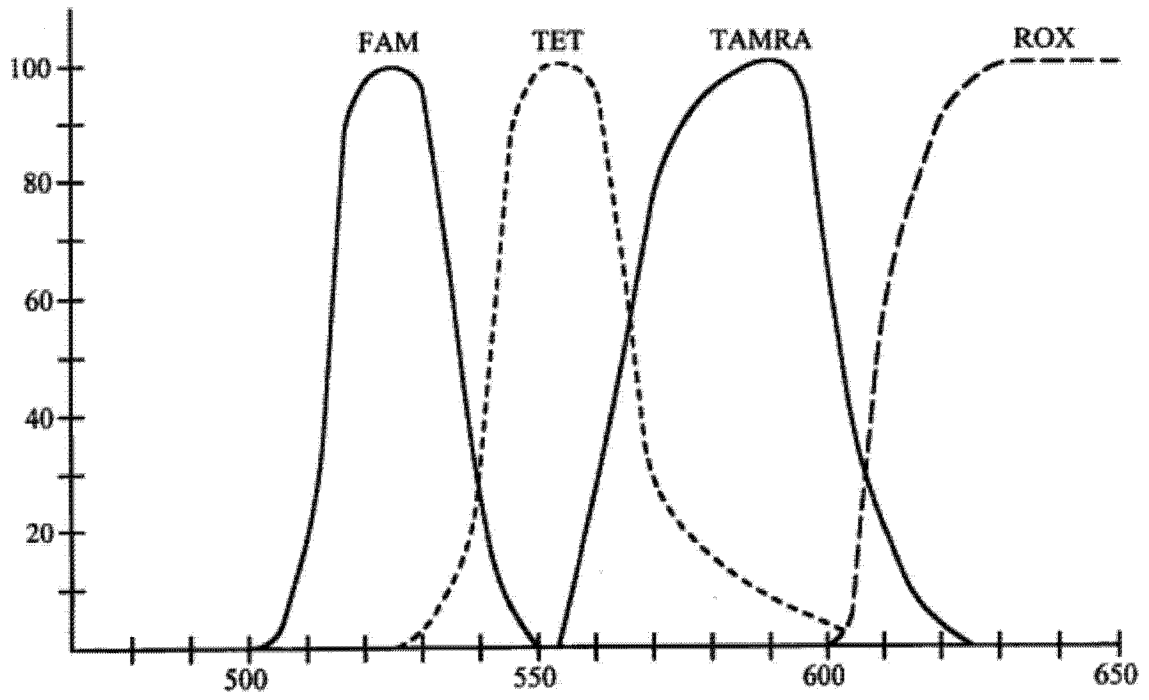


图 2D

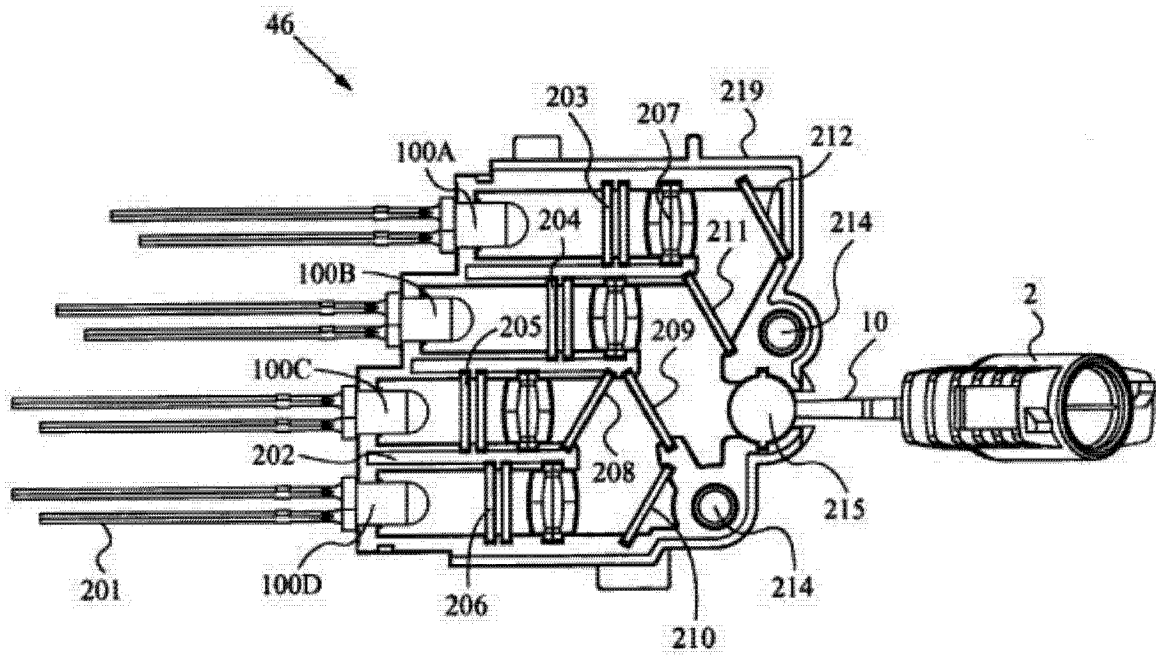


图 3

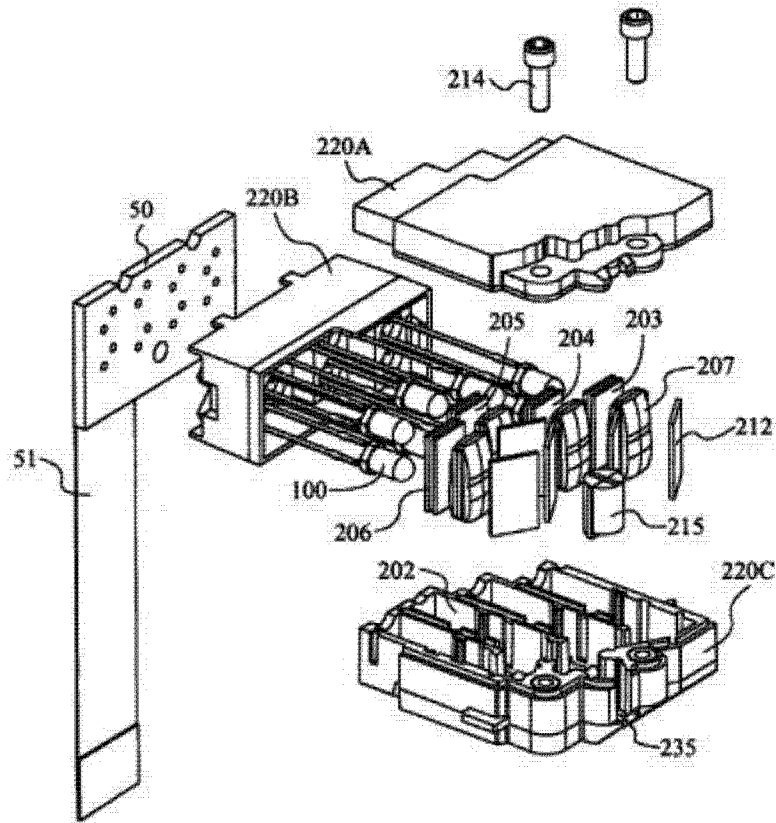


图 4

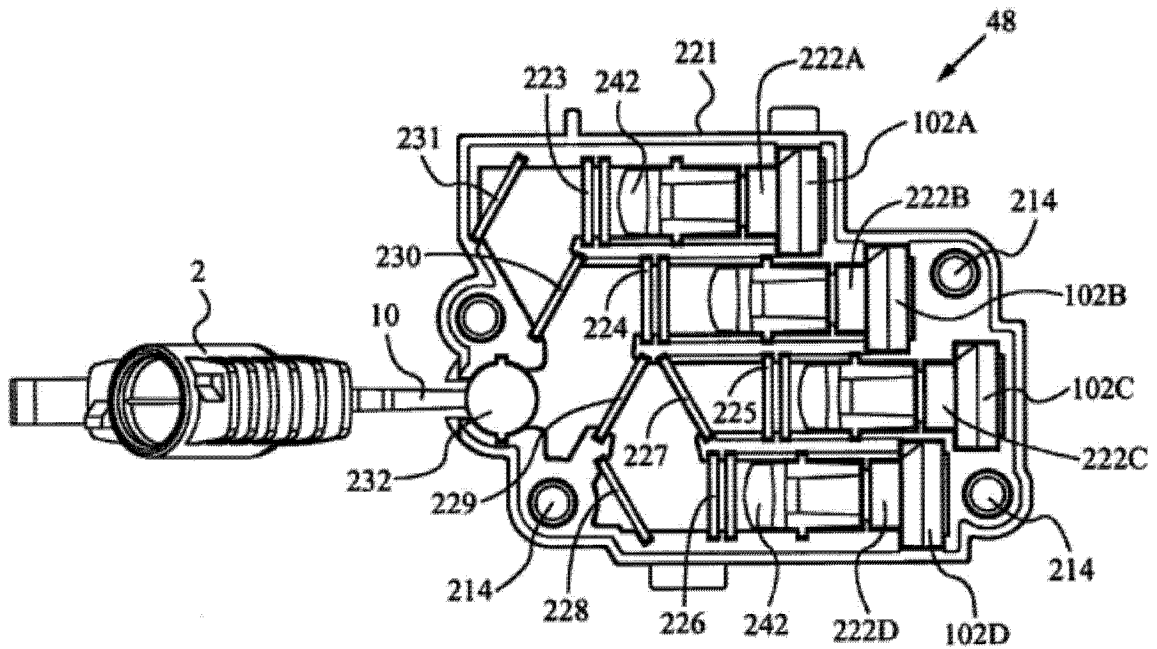


图 5

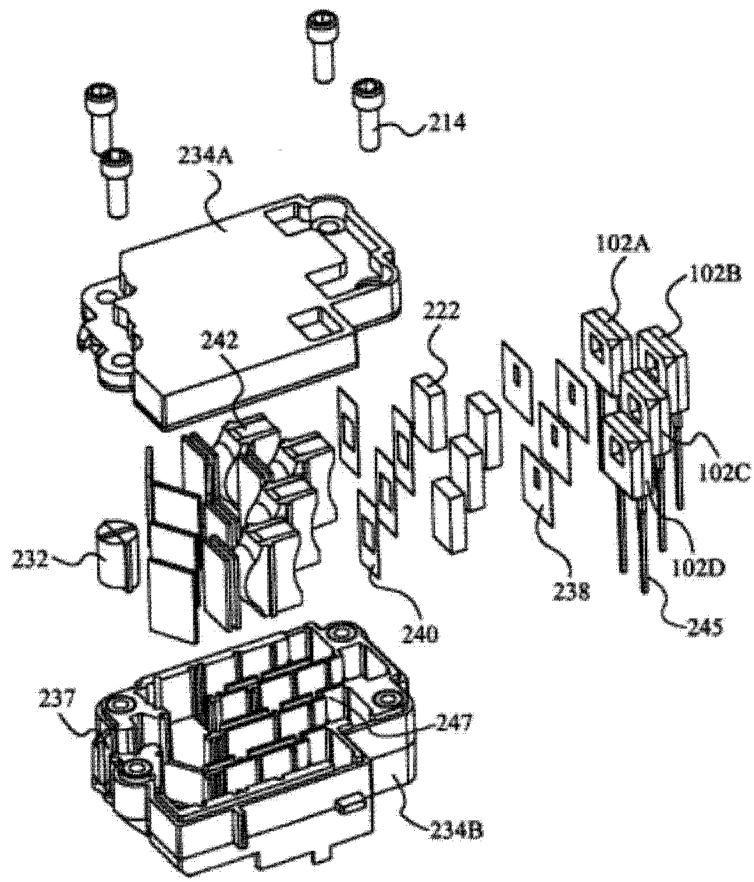


图 6

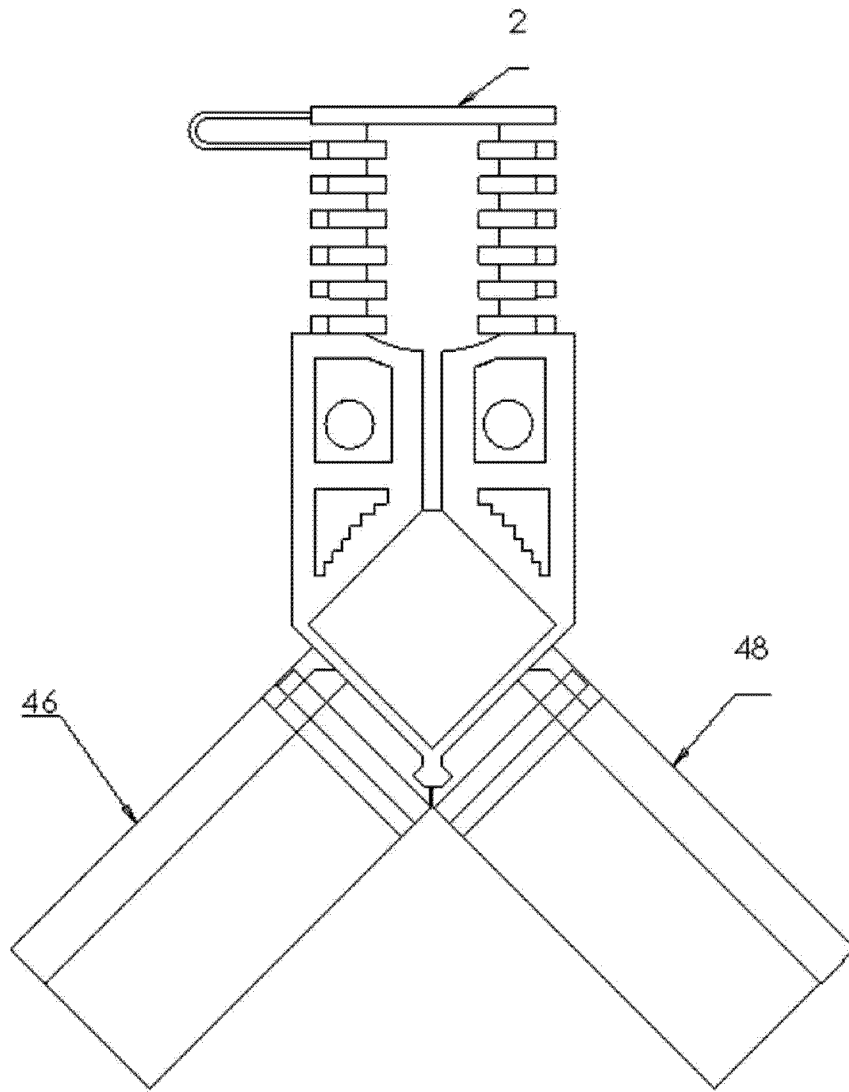


图 7