



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115917315 A

(43) 申请公布日 2023. 04. 04

(21) 申请号 202180047574.2

(22) 申请日 2021.04.08

(30) 优先权数据

63/020,367 2020.05.05 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.01.03

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/026338 2021.04.08

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2021/225736 EN 2021.11.11

(71) 申请人 贝克顿·迪金森公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 什列亚斯·巴班 皮特·马赫

(74) 专利代理机构 北京柏杉松知识产权代理事

务所(普通合伙) 11413

专利代理师 王贺达 谢攀

(51) Int.Cl.

G01N 33/48 (2006.01)

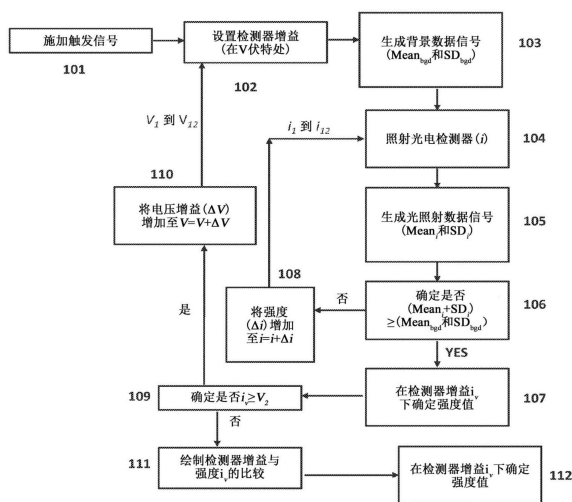
权利要求书2页 说明书44页 附图8页

(54) 发明名称

用于确定流式细胞仪中检测器增益的方法

(57) 摘要

本公开的各方面包括用于调节光检测系统中的光电二极管的灵敏度的方法。根据某些实施例的方法包括:在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号、用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。还描述了具有光源和光检测系统的系统(例如,颗粒分析器),该光检测系统包括用于实践主题方法的光电检测器。还提供了非暂时性计算机可读存储介质。



1. 一种用于调节颗粒分析器的光检测系统中的光电检测器的灵敏度的方法,所述方法包括:

在多个检测器增益下确定来自所述光电检测器的背景数据信号;

用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器;

在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自所述光电检测器的数据信号;和

将所述光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,所述最低光照射强度生成能够从背景数据信号解析的数据信号。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中,确定所述背景数据信号包括在每个检测器增益下向所述光电检测器施加触发信号。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中,利用函数生成器向所述光电检测器施加所述触发信号。

4. 根据权利要求2至3中任一项所述的方法,其中,以脉冲间隔向所述光电检测器施加所述触发信号。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中,每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的触发脉冲。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中,在每个检测器增益下施加的每个触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。

7. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中,以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射所述光电检测器。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中,在每个检测器增益下用光源在增加的光强度下照射所述光电检测器。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中,所述方法还包括在每个检测器增益下确定具有可解析的数据信号的最低光照射强度。

10. 一种系统,包括:

光源;

光检测系统,其包括光电检测器;和

处理器,其包括可操作地耦合到所述处理器的存储器,其中,所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器:

在多个检测器增益下确定来自所述光电检测器的背景数据信号;

用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器;

在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自所述光电检测器的数据信号;和

将所述光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,所述最低光照射强度生成能够从背景数据信号解析的数据信号。

11. 根据权利要求10所述的系统,其中,所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器向所述光电检测器施加触发信号。

12. 根据权利要求10至11中任一项所述的系统,其中,所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使所述处理器以脉冲间隔向所述光电检测器施加触发信号,

其中,每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的触发脉冲,并且

其中,每个触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。

13.根据权利要求10至12中任一项所述的系统,其中,所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使所述处理器以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射所述光电检测器。

14.根据权利要求12至13中任一项所述的系统,其中,所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使所述处理器在每个检测器增益下确定具有可解析的数据信号的最低光照射强度。

15.一种非暂时性计算机可读存储介质,包括存储在其上的用于调节颗粒分析器的光检测系统中的光电检测器的灵敏度的指令,所述指令包括:

在多个检测器增益下确定来自所述光电检测器的背景数据信号的算法;

用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器的算法;

在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自所述光电检测器的数据信号的算法;和

将所述光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的算法,所述最低光照射强度生成能够从背景数据信号解析的数据信号。

## 用于确定流式细胞仪中检测器增益的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 根据35 U.S.C. §119(e), 本申请要求于2020年5月5日提交的美国临时专利申请 Serial No.63/020,367的优先权;其公开内容通过引用并入本文。

### 背景技术

[0003] 例如当样本用于疾病或医疗状况的诊断时,光检测通常用于表征样本(例如,生物样本)的成分。当样本被照射时,光能够被样本散射、透射通过样本以及由样本发射(例如,由荧光发射)。样本成分的变化,如形态、吸收率和荧光标签的存在,可能导致样本散射、透射或发射的光发生变化。这些变化能够用于表征和识别样本中成分的存在。为了量化这些变化,光被收集并引导到检测器的表面。

[0004] 一种利用光检测来表征样本中成分的技术是流式细胞术。使用从检测到的光生成的数据,能够记录成分的分布,并且其中可以对期望的材料进行分选。流式细胞仪通常包括用于容纳流体样本(例如,血液样本)的样本储存器和包含鞘液的鞘储存器。流式细胞仪将流体样本中的颗粒(包括细胞)作为细胞流运输到流动池(flow cell),同时将鞘液引导到流动池。在流动池内,围绕细胞流形成液体鞘,以在细胞流上赋予基本均匀的速度。流动池以流体动力学方式聚焦流内的细胞,以通过流动池中光源的中心。来自光源的光能够被检测为散射,或由透射光谱法检测,或者能够被样本中的一种或更多种成分吸收并以发光的形式重新发射。

### 发明内容

[0005] 本公开的各方面包括用于调节光检测系统中的光电二极管的灵敏度的方法。根据某些实施例的方法包括:在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号、用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号,以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。还描述了具有光源和光检测系统的系统(例如,颗粒分析器),该光检测系统包括用于实践主题方法的光电检测器。还提供了非暂时性计算机可读存储介质。

[0006] 在实践主题方法时,在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景信号。在某些实施例中,方法包括在光电检测器的工作电压范围内确定来自光电检测器的背景信号,例如在光电检测器的整个工作电压范围内确定光电检测器的背景数据信号。在一些实施例中,背景信号通过在每个检测器增益下将触发信号施加到光电检测器来确定。在某些情况下,利用函数生成器向光电检测器施加触发信号。在每个检测器增益下,以脉冲间隔向光电检测器施加触发信号,例如其中每个脉冲间隔包括施加具有预定的持续时间的触发脉冲。在某些实施例中,每个施加的触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。在其他实施例中,每个触发信号的触发脉冲具有不同的持续时间。

[0007] 本公开的方法包括在每个检测器增益下用多个不同强度的光源照射光电检测器。

在一些实施例中,在每个检测器增益下用增加的光强度照射光电检测器。在某些实施例中,以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射光电检测器,例如其中每个脉冲间隔包括在预定的持续时间内具有恒定光强度的光照射脉冲。在一些情况下,光照射脉冲在每个检测器增益下与施加的触发脉冲具有相同的持续时间。在一些实施例中,光源是连续波光源。在一些情况下,光源是发光二极管。在某些情况下,光源是窄带宽光源,例如发射具有波长跨度为20nm或更小的光的光源。

[0008] 在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号。在一些实施例中,在每个检测器增益下,将针对多个光强度生成的数据信号与背景数据信号进行比较。在一些实施例中,方法包括确定最低光照射强度,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,方法包括确定最低光照射强度,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号的最低光照射强度。在一些实施例中,方法包括将光电检测器(例如,颗粒分析器的光检测系统中的一个或多个光电检测器)调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0009] 在一些实施例中,方法包括通过照射流动流中的颗粒来确定光电检测器(例如,颗粒分析器中的光电检测器)的一个或多个参数,其中颗粒包括一个或多个荧光团。在一些情况下,颗粒是珠粒(例如聚苯乙烯珠)。在一些情况下,用于确定光电检测器的参数的方法包括:在第一预定时间间隔内以第一强度和在第一预定时间间隔内以第二强度照射具有包含一个或多个荧光团的颗粒的流动流、用具有光源的光电检测器检测来自流动流的光,在第一照射强度下生成来自光电检测器的数据信号,并在第二照射强度下生成来自光电检测器的数据信号,以及基于在第一强度和第二强度下生成的数据信号确定光电检测器的一个或多个参数。在一些情况下,方法包括确定第一照射强度和第二照射强度下的颗粒的平均荧光强度。在一些情况下,方法包括确定第一照射强度和第二照射强度下的平均荧光强度的方差。在一些情况下,方法包括确定第一照射强度和第二照射强度下的统计光电子(SPE)。在某些情况下,方法还包括基于统计光电子和所确定的荧光团的平均荧光强度来计算颗粒上每个荧光团的光电检测器的检测器效率( $Q_{det}$ )。在某些实施例中,方法包括确定用于光电检测器的每个检测器通道的检测器效率。在一些实施例中,方法还包括确定每个光电检测器的背景信号。在一些实施例中,方法还包括确定来自每个光电检测器的电子噪声。在某些实施例中,方法还包括确定光电检测器的检测极限。在一些实施例中,方法还包括确定一个或多个光电检测器的检测器光敏性。在某些实施例中,确定光电检测器的检测器光敏性包括为光电检测器设置初始检测器增益。

[0010] 本公开的各方面还包括具有光源的系统(例如,颗粒分析器)和包括光电检测器的光检测系统。在一些实施例中,光检测系统包括多个光电检测器,例如2个或多个光电检测器、例如5个或多个光电检测器、例如10个或多个光电检测器、例如25个或多个光电检测器、例如50个或多个光电检测器、例如100个或多个光电检测器并且包括1000个或多个光电检测器。在一些实施例中,光检测系统包括多个放大器,其中每个放大器与至少一个光电检测器电通信,例如2个或多个放大器、例如5个或多个放大器、例如10个或多个放大器、例如25个或多个放大器、例如50个或多个放大器、例如100个或多个放大器并且包括1000个或多个放大器。在某些实施例中,光检测系统包括光电检测器阵

列。在一些情况下,光检测系统包括具有N个光电检测器的光电检测器阵列和具有M个放大器的放大器部件,其中N是4到10000的整数、M是4到1000的整数。在某些情况下,阵列中光电检测器的数量与放大器的数量相同(即,N等于M)。在其他情况下,阵列中光电检测器的数量大于放大器的数量(即,N大于M)。但在其他情况下,阵列中光电检测器的数量小于放大器的数量(即,N小于M)。

[0011] 在一些实施例中,系统还包括处理器,该处理器具有可操作地耦合到处理器的存储器,其中存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,该指令使得处理器在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号、用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号,并将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,系统是颗粒分析器。在某些情况下,颗粒分析器包括在流式细胞仪中,例如这里描述的一个或多个光电检测器被定位成检测来自流动流中颗粒的光。

[0012] 在实施例中,该系统包括存储器,该存储器具有存储在其上的指令,该指令在由处理器执行指令时,使处理器在多个检测器增益下生成来自光电检测器的背景数据信号。在一些实施例中,该存储器包括在光电检测器的工作电压范围内确定来自光电检测器的背景数据信号的指令,例如其中在光电检测器的整个工作电压范围内确定光电检测器的背景数据信号。在一些情况下,存储器包括在每个检测器增益下向光电检测器施加触发信号的指令。在某些情况下,系统包括用于向光电检测器施加触发信号的函数生成器。在一些实施例中,存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使处理器以脉冲间隔向光电检测器施加触发信号,例如其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的施加的触发脉冲。在某些实施例中,存储器包括用于施加多个触发信号的指令,每个触发信号具有相同的持续时间触发脉冲。在其他实施例中,存储器包括用于施加多个触发信号的指令,每个触发信号具有不同的持续时间触发脉冲。

[0013] 本公开的系统包括在每个检测器增益下用于以多个不同强度照射光电检测器的光源。在一些实施例中,光源是连续波光源。在一些情况下,光源是发光二极管。在某些情况下,光源是窄带宽光源,例如发射具有波长跨度为20nm或更小的光的光源。在一些实施例中,存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使处理器随着在每个检测器增益下的光强度的增加照射光电检测器。在一些情况下,存储器包括以脉冲间隔用光源在每个不同光源处照射光电检测器的指令,例如其中每个脉冲间隔包括在预定的持续时间内具有恒定光强度的光照射脉冲。在某些实施例中,存储器包括在每个检测器增益下用与施加的触发脉冲具有相同持续时间的光照射脉冲照射光电检测器的指令。

[0014] 在一些实施例中,系统包括存储器,该存储器包括存储在其上的指令,该指令在由处理器执行时,使处理器在每个检测器增益下针对所述多个光强度生成数据信号。在一些实施例中,存储器包括在每个检测器增益下将针对多个光强度生成的数据信号与背景数据信号进行比较的指令。在一些情况下,存储器包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,存储器包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,存储器包括将光检测系统

中的一个或多个光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的指令,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0015] 本公开的各方面也包括用于调节光检测系统中的光电二极管的灵敏度的非暂时性计算机可读存储介质。在实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号的算法、用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器的算法、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号的算法,以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的算法,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0016] 在实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于在多个检测器增益下从光电检测器生成背景数据信号的算法。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于在光电检测器的工作电压范围内确定来自光电检测器的背景数据信号的算法,例如其中非暂时性计算机可读存储介质包括用于在光电检测器的整个工作电压范围内确定光电检测器的背景数据信号的算法。在一些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括在每个检测器增益下向光电检测器施加触发信号的算法。在某些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括利用函数生成器向光电检测器施加触发信号的算法。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括以脉冲间隔向光电检测器施加触发信号的算法,例如其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的施加的触发脉冲。在某些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于施加多个触发信号的算法,每个触发信号具有相同的持续时间触发脉冲。在其他实施例中,存储器包括用于施加多个触发信号的算法,每个触发信号具有不同的持续时间触发脉冲。

[0017] 在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于在每个检测器增益下用增加的光强度照射所述光电检测器的算法。在一些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括用于用光源以脉冲间隔在每个不同光源处照射光电检测器的算法,例如其中每个脉冲间隔包括在预定的持续时间内具有恒定光强度的光照射脉冲。在某些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于在每个检测器增益下用与施加的触发脉冲具有相同持续时间的光照射脉冲照射光电检测器的算法。

[0018] 在一些实施例中,本公开的非暂时性计算机可读存储介质用于在每个检测器增益下生成针对多个光强度的数据信号的算法。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质用于在每个检测器增益下,将针对多个光强度的生成的数据信号与背景数据信号进行比较的算法。在一些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括确定最低光照射强度的算法,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括确定最低光照射强度的算法,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括将光检测系统中的一个或多个光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的算法,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0019] 在某些实施例中,本公开的各方面还包括具有一个或多个荧光团的多光谱颗粒(例如,珠粒),用于实践一种或更多种主题方法。根据一些实施例的多光谱颗粒包括一个或多个荧光团,例如2个或多个、例如3个或多个、例如5个或多个并且包括10个或更

多个荧光团。在一些情况下,感兴趣的颗粒包括单峰多荧光团珠粒,其提供跨越所有光源波长(例如,跨越系统的所有LED或激光器)和跨越光电检测器的检测波长的明亮光电检测器信号。

### 附图说明

[0020] 当结合附图阅读时,从下面的详细描述可以最好地理解本发明。附图中包括以下图:

[0021] 图1描绘了调节根据某些实施例的光电检测器的检测器增益的流程图。

[0022] 图2描绘了设置根据某些实施例的光电检测器的初始检测器增益的图表。

[0023] 图3描绘了根据某些实施例的分选控制系统的一个示例的功能框图。

[0024] 图4A描绘了根据某些实施例的用于基于计算的样本分析和颗粒表征的颗粒分析系统的功能框图。图4B描绘了根据某些实施例的流式细胞仪。

[0025] 图5A描绘了根据某些实施例的颗粒分选器系统的示意图。

[0026] 图5B描绘了根据某些实施例的颗粒分选器系统的示意图。

[0027] 图6描绘了根据某些实施例的计算系统的框图。

### 具体实施方式

[0028] 本公开的各方面包括用于调节光检测系统中的光电二极管的灵敏度的方法。根据某些实施例的方法包括在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号、用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号,以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。还描述了具有光源和光检测系统的系统(例如,颗粒分析器),该光检测系统包括用于实践主题方法的光电检测器。还提供了非暂时性计算机可读存储介质。

[0029] 在更详细地描述本发明之前,应当理解,本发明不限于所描述的特定实施例,因为这样当然会有所不同。还应当理解,由于本发明的范围将仅由所附权利要求书限制,这里使用的术语仅用于描述特定实施例的目的,而不旨在限制。

[0030] 在提供了值范围的情况下,应当理解,除非上下文另有明确规定,否则在该范围的上限和下限与该范围内的任何其他所述或介入值之间的每一介入值(至下限单位的十分之一)都包含在本发明内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在较小范围内,并且也包括在本发明内,但受所述范围内任何特别排除的限制的限制。在所述范围包括一个或两个极限的情况下,排除那些包括的限制之一或两个的范围也包括在本发明中。

[0031] 本文给出了某些范围,其数值前面具有术语“大约”。术语“大约”在本文中用于为其后面的确切数字以及接近或近似于该术语后面的数字提供文字支持。在确定数字是否接近或近似于具体列举的数字时,该接近或近似的未列举的数字可以是在该数字呈现的上下文中该数字提供了该具体列举的数字的实质等效的数字。

[0032] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同。尽管在本发明的实践或测试中也能够使用与本文描述的方法和材料类似或等效的任何方法和材料,但现在描述了代表性的说明性方法和材料。



[0033] 如同每个单独的出版物或专利都被明确和单独地指示以引用的形式并入本文,并且通过引用并入本文以公开和描述与引用出版物相关的方法和/或材料,本说明书中引用的所有出版物和专利均以引用的方式并入本文。任何出版物的引用均为了其在申请日之前的公开,并且不应被解释为承认本发明无权凭借现有发明提前发布。此外,所提供的出版日期可能不同于实际出版日期,可能需要独立确认。

[0034] 应当注意,除非上下文另有明确说明,否则在本文和所附权利要求中使用的单数形式“一”、“一个”、“所述”等包括多个所表示的对象。另外应当注意,可以起草权利要求书以排除任何可选元素。因此,本声明旨在作为在陈述权利要求要素或使用“否定”限制时使用“单独”、“仅”等排他性术语的先行依据。

[0035] 如本领域技术人员在阅读本公开后将显而易见的,在不脱离本发明的范围或精神的情况下,本文描述和说明的各个实施例中的每一个都具有分立的部件和特征,这些部件和特征可以容易地与其他几个实施例中任何一个的特征分离或组合。按照所述事件的顺序或逻辑上可能的任何其他顺序,能够执行任何所述方法。

[0036] 尽管为了语法上的流动性和功能性解释,已经或将描述该装置和方法,但应明确理解,除非根据35U.S.C.§112明文规定,否则权利要求不应被解释为以任何方式受到“装置”或“步骤”限制的限制,但应根据司法等同原则赋予权利要求所提供定义的全部含义和等同,如果权利要求是根据35U.S.C.§112明文规定的,则应根据35U.S.C.§112赋予其全部法定等同。

[0037] 如上文所总结的,本公开提供了用于调节光检测系统中的光电检测器的灵敏度的方法。在进一步描述本公开的实施例中,首先更详细地描述以下方法:在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号、用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。接下来,还描述了系统,其包括光源和具有用于实践主题方法的光电检测器的光检测系统。还描述了非暂时性计算机可读存储介质。

[0038] 用于调节光检测系统中光电检测器的灵敏度的方法

[0039] 本公开的各方面包括用于调节光检测系统中(例如,流式细胞仪的颗粒分析器中)光电检测器的灵敏度的方法。在一些实施例中,所述方法包括确定光检测系统中的光电检测器的最优的检测器增益,例如提供用于检测能够从光电检测器的背景信号中解析出的最低强度光信号的检测器增益。在某些实施例中,主题方法提供了增加的信噪比,例如其中光电检测器的信噪比增加5%或更多,例如10%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括99%或更多。在某些情况下,主题方法将光电检测器的信噪比增加2倍或更多,例如3倍或更多、例如4倍或更多、例如5倍或更多并且包括10倍或更多。在其他实施例中,主题方法提供了检测器输出与检测器输入之比的增加,例如从光电检测器输出的电流与由光电检测器检测到的光生成的电流之比。在一些实施例中,主题方法将来自一个或多个光电检测器的输出(例如,检测器信号幅度)增加5%或更多,例如10%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括99%或更多。在某些情况下,主题方法将检测器输出增加2倍或更多,例如3倍或更多、例如4倍或更多、例如5倍或更多并且包括10倍或更多。在某些实施例中,本公开的方法足以将

强度检测和定量的范围扩大2倍或更大,例如3倍或更大、例如5倍或更大、例如10倍或更大、例如25倍或更大、例如50倍或更大并且包括100倍或更大。

[0040] 在实践主题方法时,在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景信号。术语“背景”在本文中以其常规意义用于指来自光电检测器的基线电子信号(例如,来自光电检测器的工作电子部件或光检测系统的光学部件的电子信号)。在某些情况下,背景信号包括存在于光检测系统中的电子信号,例如由光源或系统的其他电子子部件生成的那些信号。在其他实施例中,背景信号包括由系统部件的振动或热效应生成的电子信号。但在其他实施例中,背景信号包括光学信号,例如来自系统中的照射源(例如,来自流式细胞仪中存在的一个或更多个激光器)的光。在实施例中,背景信号是在施加于光电检测器的一个或更多个不同的检测器增益设置下确定的,例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个并且包括在250个或更多个的不同的检测器增益设置下确定光电检测器的背景信号。在某些实施例中,在光电检测器的工作电压范围内确定背景信号。例如,可以在光电检测器的2个或更多个电压上确定背景信号,例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个并且包括在光电检测器的250个不同的工作电压上确定光电检测器的背景信号。在某些实施例中,在光电检测器的整个工作电压范围内确定光电检测器的背景数据信号。

[0041] 在一些实施例中,方法包括在每个检测器增益设置下从背景数据信号确定光电检测器的一个或更多个噪声参数,例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个,并且包括在每个检测器增益设置下从背景数据信号确定250个或更多个光电检测器的噪声参数。在一些实施例中,方法包括在每个检测器增益下从背景数据信号确定光电检测器的噪声参数的均值。在某些情况下,方法包括在每个检测器增益下确定光电检测器的噪声参数的均值和标准偏差值。

[0042] 在一些实施例中,在每个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号包括向光电检测器施加触发信号。在一些情况下,触发信号是模拟由光电检测器颗粒(例如,流动流中的颗粒)检测到的光的电波形。例如,触发信号可以是正弦波形、方波形、三角波形或锯齿形波形。触发信号可以通过任何方便的协议(例如利用函数生成器或函数生成器集成电路)施加到光电检测器。在每个检测器增益设置下,可以施加一个或更多个触发信号,例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个、例如500个或更多个、例如1000个或更多个并且包括在每个检测器增益设置下施加例如10000个或更多个触发信号。

[0043] 在一些实施例中,以脉冲间隔在每个检测器增益设置下施加触发信号。在一些情

况下,每个触发信号包括被施加两个或更多个离散时间间隔的触发脉冲。术语“离散时间间隔”在本文中以其常规意义被用于指在预定的持续时间内施加触发信号,随后为未施加触发信号的时间段,随后为在离散时间间隔内施加的后续触发信号。在一些实施例中,每个触发脉冲的离散时间间隔为0.00001ms或更多,例如0.0001ms或更多、例如0.001ms或更多、例如0.01ms或更多、例如0.1ms或更多、例如0.5ms或更多、例如1.0ms或更多、例如5ms或更多、例如10ms或更多、例如20ms或更多、例如30ms或更多、例如40ms或更多、例如50ms或更多、例如60ms或更多、例如70ms或更多、例如80ms或更多、例如90ms或更多并且包括100ms或更多。在一些实施例中,每个施加的触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。在其他实施例中,每个施加的触发信号的触发脉冲具有不同的持续时间。

[0044] 每个触发信号的脉冲速率可以变化,并且可以以例如每0.001毫秒、每0.01毫秒、每0.1毫秒、每1毫秒、每10毫秒、每100毫秒并且包括每1000毫秒的频率施加到系统,或某个其他间隔的频率施加到系统。在一些实施例中,所施加的触发信号的脉冲速率可以具有0.00001kHz或更高的频率,例如0.00005kHz或更高、例如0.0001kHz或更高、例如0.0005kHz或更高、例如0.001kHz或更高、例如0.005kHz或更高、例如0.01kHz或更高、例如0.05kHz或更高、例如0.1kHz或更高、例如0.5kHz或更高、例如1kHz或更高、例如5kHz或更高、例如10kHz或更高、例如25kHz或更高、例如50kHz或更高、例如100kHz或更高、例如150kHz或更高、例如200kHz或更高、例如250kHz或更高、例如500kHz或更高并且包括以1000kHz或更高的频率施加触发信号。

[0045] 在实践主题方法时,方法还包括在每个检测器增益下用多个不同强度的光源照射光电检测器。光源可以是任何方便的光源并且可以包括激光和非激光光源。在某些实施例中,光源是非激光光源,例如发射特定波长或窄波长范围的窄带光源。在一些情况下,窄带光源发射具有窄波长范围的光,例如50nm或更小,例如40nm或更小、例如30nm或更小、例如25nm或更小、例如20nm或更小、例如15nm或更小、例如10nm或更小、例如5nm或更小、例如2nm或更小并且包括发射特定波长的光(即单色光)的光源。可以采用任何方便的窄带光源协议,例如窄波长LED。

[0046] 在其他实施例中,光源是宽带光源,例如耦合到一个或更多个光学带通滤波器、衍射光栅、单色仪或其任何组合的宽带光源。在一些情况下,宽带光源发射具有宽波长范围的光,例如,跨度为50nm或更大、例如100nm或更大、例如150nm或更大、例如200nm或更大、例如250nm或更大、例如300nm或更大、例如350nm或更大、例如400nm或更大并且包括跨度为500nm或更大。例如,一个合适的宽带光源发射波长为200nm至1500nm的光。合适的宽带光源的另一示例包括发射波长为400nm至1000nm的光的光源。可以采用任何方便的宽带光源协议,例如卤素灯、氙弧灯、氙弧灯、稳定的光纤耦合的宽带光源、具有连续光谱的宽带LED、超发光发光二极管、半导体发光二极管、宽光谱LED白光光源、多LED集成白光光源,以及其他宽带光源或其任何组合。在某些实施例中,光源包括红外LED的阵列。

[0047] 在某些实施例中,光源是激光器,例如连续波激光器。例如,激光器可以是二极管激光器,例如紫外二极管激光器、可见二极管激光器和近红外二极管激光器。在其他实施例中,激光器可以是氦氖(HeNe)激光器。在一些情况下,激光器是气体激光器,例如氦氖激光器、氩激光器、氙激光器、氙激光器、氮激光器、CO<sub>2</sub>激光器、CO激光器、氩氟(ArF)准分子激光器、氪氟(KrF)准分子激光器、氙氟(XeCl)准分子激光或氙氟(XeF)准分子激光器或其组合。

在其他情况下,主题系统包括染料激光器,例如二苯乙烯、香豆素或罗丹明激光器。但在其他情况下,感兴趣的激光器包括金属蒸气激光器,例如氦镉(HeCd)激光器、氦汞(HeHg)激光器、氦硒(HeSe)激光器、氦银(HeAg)激光器,镱激光器、氖铜(NeCu)激光器、铜激光器或金激光器及其组合。在另一些情况下,主题系统包括固态激光器,例如红宝石激光器、Nd:YAG激光器、NdCrYAG激光器,Er:YAG激光器、Nd:YLF激光器、Nd:YVO<sub>4</sub>激光器、Nd:YCa<sub>4</sub>O(BO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>激光器、Nd:YCOB激光器、钛蓝宝石激光器、铥YAG激光器、镱YAG激光器、Yb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>激光器或铈掺杂激光器及其组合。

[0048] 在一些实施例中,光源是窄带宽光源。在一些情况下,光源输出特定波长,该特定波长为200nm至1500nm,例如250nm至1250nm、例如300nm至1000nm、例如350nm至900nm并且包括400nm至800nm。在某些实施例中,连续波光源发射具有波长为365nm、385nm、405nm、460nm、490nm、525nm、550nm、580nm、635nm、660nm、740nm、770nm或850nm的光。

[0049] 光源可以从任何合适的距离照射光电检测器,例如0.001mm或更大的距离处、例如0.005mm或更大、例如0.01mm或更大、例如0.05mm或更大、例如0.1mm或更大、例如0.5mm或更大、例如1mm或更大、例如5mm或更大、例如10mm或更大、例如25mm或更大并且包括100mm或更大的距离。此外,光电检测器的照射可以是任何合适的角度,例如10°至90°、例如15°至85°、例如20°至80°、例如25°至75°并且包括30°至60°,例如90°的角度。

[0050] 在某些实施例中,光源是连续波光源。术语“连续波光源”在本文中以其常规意义用于指提供不间断光通量并保持光电检测器的照射而几乎没有非期望的光强度变化的光源。在一些实施例中,连续光源发射非脉冲或非频闪照射。在某些实施例中,连续光源提供基本恒定的发射光强度。例如,连续光源可以在照射时间间隔期间提供发射的光强度,该时间间隔变化10%或更少,例如9%或更少、例如8%或更少、例如7%或更少、例如6%或更少、例如5%或更少、例如4%或更少、例如3%或更少、例如2%或更少、例如1%或更少、例如0.5%或更少、例如0.1%或更少、例如0.01%或更少、例如0.001%或更少、例如0.0001%或更少、例如0.00001%或更少并且包括在照射的时间间隔期间发射的光强度变化0.000001%或更少的情况。光输出的强度可以用任何方便的协议来测量,包括但不限于扫描狭缝轮廓仪、电荷耦合器件(CCD,例如增强型电荷耦合器件,ICCD)、定位传感器、功率传感器(例如热电堆功率传感器)、光功率传感器、能量计、数字激光光度计、激光二极管检测器,以及其他类型的光电检测器。

[0051] 在一些实施例中,方法包括用光源照射光电检测器以两个或更多个离散时间间隔。在一些情况下,用光源照射光电检测器一段预定的持续时间,随后光源的强度改变(例如,增加)一段时间,并且随后为后续离散时间间隔或照射。在一些实施例中,方法包括以0.1ms或更长的离散时间间隔照射光电检测器,例如0.5ms或更长、例如1.0ms或更长、例如5ms或更长、例如10ms或更长、例如20ms或更长、例如30ms或更长、例如40ms或更长、例如50ms或更长、例如60ms或更长、例如70ms或更长、例如80ms或更长、例如90ms或更长并且包括100ms或更长。在某些实施例中,用于照射光电检测器的每个预定的时间间隔是相同的持续时间。例如,根据主题方法的每个预定的时间间隔可以是50ms。在其他实施例中,每个预定的时间间隔均不同。在某些实施例中,所述方法包括用光源在多个离散时间间隔上以多个强度照射光电检测器,例如3个或更多个离散时间间隔、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个

或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如75个或更多个，并且包括在每个检测器增益设置下从背景数据信号确定100个或更多个光电检测器的噪声参数。

[0052] 在一些实施例中，多个时间间隔中的每一个都是相同的持续时间。在其他实施例中，多个时间间隔中的每一个都是不同的持续时间。仍在其他实施例中，一些时间间隔可以是相同的持续时间，而一些时间间隔可能是不同的持续时间。

[0053] 在一些实施例中，由光源照射的强度在每个预定时间间隔的持续时间内基本恒定，例如照射强度变化10%或更少、例如9%或更少、例如8%或更少、例如7%或更少、例如6%或更少、例如5%或更少、例如4%或更少、例如3%或更少、例如2%或更少、例如1%或更少、例如0.5%或更少、例如0.1%或更少、例如0.01%或更少、例如0.001%或更少、例如0.0001%或更少、例如0.00001%或更少并且包括光源的照射强度在预定时间间隔的持续时间内变化0.000001%或更小的情况。

[0054] 在实践主题方法时，光源的强度在每个离散照射间隔后改变。在一些实施例中，由光源照射的强度增加。在其他实施例中，光源的强度增加。用于照射光电检测器的光的强度可以在每个后续时间间隔内改变5%或更多，例如10%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括100%或更多。在某些情况下，光的强度变化1.5倍或更多，例如2倍或更多、例如3倍或更多、例如4倍或更多并且包括5倍或更多。在一些实施例中，在每个检测器增益下以增加的光强度的光源照射光电检测器。在一些情况下，方法包括增加每个后续时间间隔的光强度，例如通过将每个后续时间段的光强度增加5%或更多，例如10%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括100%或更多。在其他实施例中，方法包括将每个后续时间间隔的光强度增加1.5倍或更多，例如2倍或更多、例如3倍或更多、例如4倍或更多并且包括5倍或更多。

[0055] 在一些情况下，方法包括在强度改变时（例如，在光强度增加时）保持光源对光电检测器的照射。在其他情况下，方法包括在改变光源的强度的持续时间内停止光源对光电检测器的照射（例如，通过关闭光源或通过例如用斩波器、束阑等阻挡光源）。如下文更详细描述，能够使用任何方便的协议来提供间歇照射，例如用于打开和关闭光源的电子开关，例如计算机控制并基于数据信号（例如，接收或输入的数据信号）触发的开关。在一些实施例中，用于改变光源的强度的时间间隔可以是0.001ms或更多，例如0.005ms或更多、例如0.01ms或更多、例如0.05ms或更多、例如0.1ms或更多、例如0.5ms或更多、例如1ms或更多、例如2ms或更多、例如3ms或更多、例如4ms或更多、例如5ms或更多、例如6ms或更多、例如7ms或更多、例如8ms或更多、例如9ms或更多并且包括10ms或更多。例如，用光源照射光电检测器的每个预定的时间间隔之间的时间段可以是0.001ms至25ms，例如0.005ms至20ms、例如0.01ms至15ms、例如0.05ms至10ms并且包括0.1ms至5ms。

[0056] 在一些实施例中，在施加触发信号的同时照射光电检测器（如上所述）。每个光照射脉冲的持续时间可以是施加的触发脉冲的10%或更多，例如15%或更多、例如20%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多、例如95%或更多、例如96%或更多、例如97%或更多、例如98%或更多、例如99%或更多、例如99.5%或更多、例如99.7%或更多并且包括其中每个光照射脉冲的持续时间是在每个检测器增益下所施加的触发脉冲持续时间的99.9%或更多。在某些情况下，每个光照射脉冲在每个检测器

增益下与施加的触发脉冲具有相同的持续时间。在其他情况下,光照射脉冲的持续时间大于每个施加的触发脉冲的持续时间,例如其中光照射脉冲持续时间比每个施加的触发器脉冲持续时间大5%或更多,例如10%或更多、例如15%或更多、例如20%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多、例如95%或更多、例如1.5倍或更多、例如2倍或更多、例如3倍或更多、例如4倍或更多,例如5倍或更多并且包括其中光照射脉冲的持续时间比每个施加的触发脉冲的持续时间大10倍或更多。

[0057] 根据某些实施例,本公开的方法还包括用光电检测器检测光。用于实践主题方法的光电检测器可以是任何方便的光检测协议,包括但不限于光传感器或光电检测器,例如有源像素传感器 (APSs)、象限光电二极管、图像传感器、电荷耦合器件 (CCDs)、增强型电荷耦合器件 (ICCDs)、发光二极管、光子计数器、辐射热计、热电检测器、光敏电阻、光伏电池、光电二极管、光电倍增管、光电晶体管、量子点光电导体或光电二极管及其组合,以及其他光电检测器。在某些实施例中,光电检测器是光电倍增管,例如每个区域具有的有效检测面积为 $0.01\text{cm}^2$ 至 $10\text{cm}^2$ ,例如 $0.05\text{cm}^2$ 至 $9\text{cm}^2$ 、例如 $0.1\text{cm}^2$ 至 $8\text{cm}^2$ 、例如 $0.5\text{cm}^2$ 至 $7\text{cm}^2$ 并且包括 $1\text{cm}^2$ 至 $5\text{cm}^2$ 的光电倍增管。

[0058] 在实施例中,光可以由光电检测器在一个或更多个波长下测量,例如在2个或更多个波长下、例如在5个或更多个不同波长下、例如在10个或更多个不同波长下、例如在25个或更多个不同波长下、例如在50个或更多个不同波长下、例如在300个或更多个不同波长下并且包括测量在400个或更多个不同波长下的光。在一些实施例中,方法包括测量波长的范围(例如,200nm至1500nm)上的光。例如,方法可以包括在200nm至1500nm的波长范围中的一个或更多个上收集光的光谱。但在其他实施例中,方法包括测量一个或更多个特定波长的光。例如,可以在450nm、518nm、519nm、561nm、578nm、605nm、607nm、625nm、650nm、660nm、667nm、670nm、668nm、695nm、710nm、723nm、780nm、785nm、647nm、617nm及其任意组合中的一个或更多个处测量光。

[0059] 可以连续地或以离散间隔测量光。在一些情况下,感兴趣的检测器被配置为连续地测量光。在其他情况下,感兴趣的检测器被配置为以离散间隔进行测量,例如每0.001毫秒、每0.01毫秒、每0.1毫秒、每1毫秒、每隔10毫秒、每100毫秒,并且包括每1000毫秒,或某个其他间隔测量光。

[0060] 可以在每个离散时间间隔期间对来自光源的光进行一次或更多次测量,例如2次或更多次、例如3次或更多次、例如5次或更多次并且包括10次或更多次。在一些实施例中,方法包括在每个检测器增益设置下针对多个光强度生成来自所述光电检测器的一个或更多个数据信号,例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个并且包括在每个检测器增益设置下的250个或更多个数据信号。在一些实施例中,方法包括在每个检测器增益下确定来自光电检测器的光照射数据信号的均值。在某些情况下,方法包括在每个检测器增益下确定来自光电检测器的光照射数据信号的均值和标准偏差值。

[0061] 在一些实施例中,方法包括对来自光电检测器的数据信号进行积分。在一些实施例中,对来自光电检测器的数据信号进行积分包括在每个离散的照射间隔的持续时间的

10%或更多,例如15%或更多、例如20%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括在每个离散照射间隔的持续时间的99%上对数据信号进行积分。在一些实施例中,根据主题方法,来自光电检测器的数据信号在每个离散时间间隔的全部照射持续时间内被积分。

[0062] 在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号。在一些实施例中,在每个检测器增益下,将针对多个光强度的生成的数据信号与背景数据信号进行比较。在一些实施例中,方法包括确定最低光照射强度,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,确定最低光照射强度,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成与背景数据信号相差一个或更多个标准偏差的可解析的数据信号,例如与背景数据信号相差2个或更多个标准偏差、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个并且包括其中确定最低光照射强度,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成与背景数据信号相差10个或更多标准偏差的可解析的数据信号。在某些实施例中,方法包括生成最低强度光照射的数据曲线,该最低强度光照射在每个检测器增益设置下生成与背景数据信号相差一个或更多个标准偏差的可解析的数据信号。

[0063] 在某些情况下,方法包括确定最低光照射强度,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,方法包括将光电检测器(例如,颗粒分析器的光检测系统中的一个或更多个光电检测器)调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些实施例中,基于生成可从背景数据信号解析的数据信号的最低光照射强度来调节一个光电检测器可以是完全自动化的,使得所做的调节几乎不需要人工干预或由用户的手动输入。

[0064] 图1描述了根据某些实施例的用于调节光电检测器的检测器增益的流程图。在步骤101,向流式细胞仪施加触发信号。以具有预定脉冲速率和脉冲宽度的脉冲间隔施加触发信号。在步骤102,设置光电检测器的检测器增益,并且在步骤103,在设置的检测器增益下向系统施加触发信号以生成背景数据信号。在设置的检测器增益下针对每个背景数据信号生成平均背景数据信号和标准偏差。在步骤104,在每个检测器增益下用预定的强度照射光电检测器。以脉冲间隔(例如,以与施加的触发信号相同的脉冲速率和脉冲宽度)照射光电检测器。在步骤105,针对每个数据信号生成平均光照射数据信号和标准偏差。在步骤106,评估光照射数据信号以确定数据信号是否可从背景数据信号解析。在步骤106,将光照射数据信号的均值与背景数据信号的均值进行比较。如果光照射数据信号的均值不大于或等于背景数据信号的均值,则在步骤108,在检测器增益设置下将光源的强度增加到更高的光强度。在光照射数据信号的均值大于或等于背景数据信号的均值的情况下,在步骤107,确定检测器增益下的光强度值。如果光强度的数据信号大于检测器增益电压设置,则在步骤110,增加检测器增益设置电压。在步骤107确定的强度小于检测器增益电压设置的情况下,在步骤111,将光数据信号的强度绘制成与检测器增益的比较。基于检测器增益和光照射强度的图表,在步骤112,确定用于光电检测器的检测器增益设置。在某些情况下,系统被配置为自动地将光电检测器调节到所确定的最低光照射强度,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0065] 在一些实施例中,方法包括例如通过照射流动流中的颗粒来确定光电检测器(例如,颗粒分析器中的光电检测器)的一个或多个参数,其中颗粒包括一个或多个荧光团。在一些情况下,颗粒是珠粒(例如聚苯乙烯珠粒),如下文更详细描述。在一些情况下,如下所述的主题方法提供用于确定光电检测器的参数,所述参数包括每个光电检测器的指定相对荧光单位(例如ABD单位)、一个或多个光电检测器的鲁棒变化系数(rCV)、每个光电检测器最大和最小线性、rCV相对于基线的相对变化、检测器增益相对于基线的相对变化和光电检测器的成像规格,如RF功率或轴向光损耗。

[0066] 在一些情况下,确定光电检测器的参数的方法包括:在第一预定时间间隔内以第一强度和在第二预定时间间隔内以第二强度照射具有包含一个或多个荧光团的颗粒的流动流、用具有光源的光电检测器检测来自流动流的光、在第一照射强度下生成来自光电检测器的数据信号,并在第二照射强度下生成来自光电检测器的数据信号,以及基于在第一强度和第二强度下生成的数据信号确定光电检测器的一个或多个参数。

[0067] 在一些实施例中,方法包括确定第一照射强度和第二照射强度下的颗粒的平均荧光强度(M)。在一些情况下,方法包括确定第一照射强度和第二照射强度下的平均荧光强度(V(M))的方差。在某些情况下,方法包括确定光电检测器的%rCV(鲁棒变化系数)。在某些实施例中,根据以下公式计算方差的线性拟合:

$$[0068] \quad V(M) = c_1 M + c_0 = \frac{1}{Q_{led}} M + \frac{B_{led}}{Q_{led}^2}$$

[0069] 其中 $Q_{led}$ 由 $1/c_1$ 给出并且是每单位平均荧光强度(M)的统计光电子(即SPE/MFI)。在某些实施例中,绘制方差以根据以下公式确定方差的线性拟合:

$$[0070] \quad y = C_1 X + C_0$$

[0071] 在实施例中,可以针对多个不同的照射强度来确定平均荧光强度和方差,例如2个或多个照射强度、例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个、例如9个或多个、例如10个或多个并且包括15个或多个的不同照射强度。

[0072] 在一些实施例中,方法包括确定统计光电(SPE)一个或多个照射强度(例如至少在第一照射强度和第二照射强度下)。在某些情况下,方法还包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来计算每个颗粒的光电检测器的检测器效率( $Q_{det}$ )。在某些实施例中,方法包括确定光电检测器的一个或多个检测器通道的检测器效率,例如2个或多个、例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个、例如9个或多个、例如10个或多个、例如12个或多个、例如16个或多个、例如20个或多个、例如24个或多个、例如36个或多个、例如48个或多个、例如72个或多个并且包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来确定光电检测器的96个或多个检测器通道的检测器效率。在某些情况下,方法包括基于统计光电子和确定的每个颗粒的平均荧光强度来确定用于每个颗粒的光电检测器的所有检测器通道的检测器效率。在某些实施例中,光电检测器的检测器效率根据以下公式确定:

$$[0073] \quad Q_{sys} = \frac{SPE}{MFI} \times \frac{MFI}{ABD} = \frac{SPE}{ABD}$$

[0074] 其中SPE是统计光电子,MFI是平均荧光强度,ABD是每个颗粒批次每个通道的单



位。

[0075] 在某些实施例中,方法还包括确定一个或多个光电检测器的背景信号。在某些情况下,背景信号是在一个或多个照射强度下确定的,例如2个或多个、例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个、例如9个或多个、例如10个或多个并且包括10个或更多的不同照射强度。在一些情况下,在所有施加的照射强度下确定背景信号。背景信号同样能够在光电检测器的一个或多个检测器通道中确定,例如在2个或多个中确定,例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个,例如9个或多个、例如10个或多个、例如12个或多个、例如16个或多个、例如20个或多个、例如24个或多个、例如36个或多个、例如48个或多个、例如72个或多个并且包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来确定光电检测器的96个或多个检测器通道的检测器效率。在一些情况下,背景信号基于统计光电子和光电检测器的检测器效率确定。在某些情况下,背景信号根据以下公式确定:

$$[0076] \quad B_{SD} = B_{SD,MFI} \times Q_{led}$$

$$[0077] \quad B_{bga} = B_{SD}^2$$

[0078] 在一些实施例中,方法还包括确定一个或多个光电检测器的电子噪声。在某些情况下,光电检测器的电子噪声是在一个或多个照射强度下确定的,例如2个或多个、例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个、例如9个或多个、例如10个或多个并且包括10个或多个不同照射强度。在一些情况下,在所有施加的照射强度下确定光电检测器的电子噪声。电子噪声同样能够在光电检测器的一个或多个检测器通道中确定,例如在2个或多个中确定,例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个,例如9个或多个、例如10个或多个、例如12个或多个、例如16个或多个、例如20个或多个、例如24个或多个、例如36个或多个、例如48个或多个、例如72个或多个并且包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来确定光电检测器的96个或多个检测器通道的检测器效率。在一些情况下,电子噪声基于统计光电子和光电检测器的检测器效率确定。在某些情况下,电子噪声根据以下公式确定:

$$[0079] \quad EN_{SD} = EN_{SD,MFI} \times Q_{led}$$

$$[0080] \quad EN = EN_{SD}^2$$

[0081] 在一些实施例中,方法还包括确定一个或多个光电检测器的检测的极限。在一些情况下,光电检测器的检测的极限在光电检测器的一个或多个检测器通道中确定,例如在2个或多个中确定,例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个,例如9个或多个、例如10个或多个、例如12个或多个、例如16个或多个、例如20个或多个、例如24个或多个、例如36个或多个、例如48个或多个、例如72个或多个并且包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来确定光电检测器的96个或多个检测器通道的检测器效率。在某些情况下,每个光电检测器的检测极限根据以下公式确定:

$$[0082] \quad 2+2SD=4(1+B_{SD})$$

[0083] 在一些实施例中,方法还包括确定一个或多个光电检测器的检测器光敏性。在某些实施例中,确定光电检测器的检测器光敏性包括为光电检测器设置初始检测器增益。在某些情况下,方法包括用光源(如上文详细描述)在多个不同的光强度下照射光电检测器、在光电检测器的一个或多个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号,并确定在每个检测器增益下可从背景数据信号解析的数据信号的最低光照射强度。在某些情况下,方法包括确定在每个检测器增益下生成与背景数据信号相差两个标准偏差的数据信号的最低光照射强度。在某些情况下,方法包括将检测器增益设置为当根据光强度绘制时生成可从背景数据信号解析的数据信号的最低光照射强度趋于平稳的增益。图2描绘了根据某些实施例的用于设置光电检测器的初始检测器增益的图表。如图2所示,对于两个不同的荧光团(例如,如下面更详细地描述的,与颗粒稳定相关联的荧光团),根据光(例如,LED)照射强度绘制光电检测器的检测器增益。在设置光电检测器的初始检测器增益时,检测器增益被确定,其中生成可从背景数据信号解析的数据信号的最低光照射强度趋于平稳,在图2中约为575伏。

[0084] 用于调节光电检测器的灵敏度的系统

[0085] 如上文所总结,本公开的各方面还包括具有光源的系统(例如,颗粒分析器)和包括光电检测器的光检测系统。在某些实施例中,主题系统被配置为确定光电检测器的最优的检测器增益,例如提供用于检测能够从光电检测器的背景信号中解析出的最低强度光信号的检测器增益。根据某些实施例的系统包括光源、具有光电检测器和处理器的光检测系统(例如,定位在颗粒分析器的外壳中),该处理器具有可操作地耦合到处理器的存储器,其中存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,该指令使得处理器在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号、用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号,以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0086] 在实施例中,系统被配置为在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景信号。在某些实施例中,系统被配置为在一个或多个不同的检测器增益设置下确定背景信号,例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个并且包括在250个或更多个不同的检测器增益设置下确定光电检测器的背景信号。在某些实施例中,系统被配置为在光电检测器的工作电压范围内确定背景信号。例如,系统可以被配置为在光电检测器的2个或更多个电压上确定背景信号,例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个并且包括在光电检测器的250个不同的工作电压上确定光电检测器的背景信号。在某些实施例中,感兴趣的系统被配置为在光电检测器的整个工作电压范围内确定光电检测器的背景数据信号。

[0087] 在某些实施例中,系统包括触发信号生成器,例如生成模拟由光电检测器颗粒(例如,流中的颗粒)检测到的光的电波形的生成器。在某些情况下,触发信号生成器生成正弦

波形、方波形、三角波形或锯齿形波形中的一个或多个。在某些实施例中，系统包括函数生成器或函数生成器集成电路。在一些情况下，函数生成器被配置为在每个检测器增益设置下施加一个或多个触发信号，例如2个或多个、例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个、例如9个或多个、例如10个或多个、例如15个或多个、例如20个或多个、例如25个或多个、例如50个或多个、例如100个或多个、例如500个或多个、例如1000个或多个并且包括在每个检测器增益设置下施加例如10000个或多个触发信号。

[0088] 在一些实施例中，系统包括可操作地耦合到处理器的存储器，其中存储器包括存储在其上的指令，所述指令在由处理器执行时，使处理器以脉冲间隔向光电检测器施加触发信号。在一些情况下，由函数生成器施加的每个触发信号包括施加两个或多个离散时间间隔的触发脉冲。在一些实施例中，每个触发脉冲的离散时间间隔为0.00001ms或更多，例如0.0001ms或更多、例如0.001ms或更多、例如0.01ms或更多、例如0.1ms或更多、例如0.5ms或更多、例如1.0ms或更多、例如5ms或更多、例如10ms或更多、例如20ms或更多、例如30ms或更多、例如40ms或更多、例如50ms或更多、例如60ms或更多、例如70ms或更多、例如80ms或更多、例如90ms或更多并且包括100ms或更多。在一些实施例中，函数生成器被配置为施加具有相同持续时间的触发脉冲的触发信号。在其他实施例中，函数生成器被配置为施加具有不同持续时间的触发脉冲的触发信号。

[0089] 在一些实施例中，函数生成器被配置为向具有变化的脉冲速率的系统施加触发信号，例如以每0.001毫秒、每0.01毫秒、每0.1毫秒、每1毫秒、每隔10毫秒、每100毫秒并且包括每1000毫秒，或某个其他间隔的频率变化。在一些实施例中，所施加的触发信号的脉冲速率可以具有0.00001kHz或更高的频率，例如0.00005kHz或更高、例如0.0001kHz或更高、例如0.0005kHz或更高、例如0.001kHz或更高、例如0.005kHz或更高、例如0.01kHz或更高、例如0.05kHz或更高、例如0.1kHz或更高、例如0.5kHz或更高、例如1kHz或更高、例如5kHz或更高、例如10kHz或更高、例如25kHz或更高、例如50kHz或更高、例如100kHz或更高、例如150kHz或更高、例如200kHz或更高、例如250kHz或更高、例如500kHz或更高，并且其中函数生成器被配置为以1000kHz或更高的频率施加触发信号。

[0090] 在一些实施例中，系统包括可操作地耦合到处理器的存储器，其中存储器包括存储在其上的指令，这些指令在由处理器执行时，使处理器确定光电检测器的一个或多个噪声参数，例如2个或多个、例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个、例如9个或多个、例如10个或多个、例如15个或多个、例如20个或多个、例如25个或多个、例如50个或多个、例如100个或多个并且包括在每个检测器增益设置下从背景数据信号确定250个或多个光电检测器的噪声参数。在一些实施例中，存储器包括存储在其上的指令，该指令在由处理器执行时，在每个检测器增益下从背景数据信号确定光电检测器的噪声参数的均值。在某些情况下，存储器包括在每个检测器增益下确定光电检测器的噪声参数的均值和标准偏差值的指令。

[0091] 在实施例中，系统包括光源，所述光源用于在每个检测器增益设置下以多个不同强度照射光检测系统的光电检测器。光源可以是任何方便的光源，并且可以包括激光和非激光光源。在某些实施例中，光源是非激光光源，例如发射特定波长或窄波长范围的窄带光

源。在一些情况下,窄带光源发射具有窄波长范围的光,例如50nm或更小,例如40nm或更小、例如30nm或更小、例如25nm或更小、例如20nm或更小、例如15nm或更小、例如10nm或更小、例如5nm或更小、例如2nm或更小并且包括发射特定波长的光(即单色光)的光源。可以采用任何方便的窄带光源协议,例如窄波长LED。

[0092] 在其他实施例中,光源是宽带光源,例如耦合到一个或更多个光学带通滤波器、衍射光栅、单色仪或其任何组合的宽带光源。在一些情况下,宽带光源发射具有宽波长范围的光,例如,跨度为50nm或更大、例如100nm或更大、例如150nm或更大、例如200nm或更大、例如250nm或更大、例如300nm或更大、例如350nm或更大、例如400nm或更大并且包括跨度为500nm或更大。例如,一个合适的宽带光源发射波长为200nm至1500nm的光。合适的宽带光源的另一示例包括发射波长为400nm至1000nm的光的光源。可以采用任何方便的宽带光源协议,例如卤素灯、氙弧灯、氙弧灯、稳定的光纤耦合的宽带光源、具有连续光谱的宽带LED、超发光发光二极管、半导体发光二极管、宽光谱LED白光源、多LED集成白光源,以及其他宽带光源或其任何组合。在某些实施例中,光源包括红外LED的阵列。

[0093] 在某些实施例中,光源是激光器,例如连续波激光器。例如,激光器可以是二极管激光器,例如紫外二极管激光器、可见二极管激光器和近红外二极管激光器。在其他实施例中,激光器可以是氦氖(HeNe)激光器。在一些情况下,激光器是气体激光器,例如氦氖激光器、氩激光器、氙激光器、氙激光器、氮激光器、CO<sub>2</sub>激光器、CO激光器、氩氟(ArF)准分子激光器、氪氟(KrF)准分子激光器、氙氯(XeCl)准分子激光或氙氟(XeF)准分子激光器或其组合。在其他情况下,主题系统包括染料激光器,例如二苯乙烯、香豆素或罗丹明激光器。但在其他情况下,感兴趣的激光器包括金属蒸气激光器,例如氦镉(HeCd)激光器、氦汞(HeHg)激光器、氦硒(HeSe)激光器、氦银(HeAg)激光器、镱激光器、氖铜(NeCu)激光器、铜激光器或金激光器及其组合。在另一些情况下,主题系统包括固态激光器,例如红宝石激光器、Nd:YAG激光器、NdCrYAG激光器,Er:YAG激光器、Nd:YLF激光器、Nd:YVO<sub>4</sub>激光器、Nd:YCa<sub>4</sub>O(BO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>激光器、Nd:YCOB激光器、钛蓝宝石激光器、铥YAG激光器、镱YAG激光器、Yb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>激光器或铈掺杂激光器及其组合。

[0094] 在一些实施例中,光源是窄带光源。在一些情况下,光源输出特定波长,该特定波长为200nm至1500nm,例如250nm至1250nm、例如300nm至1000nm、例如350nm至900nm并且包括400nm至800nm。在某些实施例中,连续波光源发射具有波长为365nm、385nm、405nm、460nm、490nm、525nm、550nm、580nm、635nm、660nm、740nm、770nm或850nm的光。

[0095] 光源可以以任何合适的距离定位,例如0.001mm或更大的距离处、例如0.005mm或更大、例如0.01mm或更大、例如0.05mm或更大、例如0.1mm或更大、例如0.5mm或更大、例如1mm或更大、例如5mm或更大、例如10mm或更多的距离、例如25mm或更大并且包括100mm或更大的距离。此外,光源可以以任何合适的角度定位,例如10°至90°、例如15°至85°、例如20°至80°、例如25°至75°并且包括30°至60°,例如90°的角度。

[0096] 在某些实施例中,光源是连续波光源。在一些实施例中,连续光源发射非脉冲或非频闪照射。在某些实施例中,连续光源提供基本恒定的发射光强度。例如,连续光源可以在照射时间间隔期间提供发射的光强度,该时间间隔变化10%或更少,例如9%或更少、例如8%或更少、例如7%或更少、例如6%或更少、例如5%或更少、例如4%或更少、例如3%或更少、例如2%或更少、例如1%或更少、例如0.5%或更少、例如0.1%或更少、例如0.01%或更

少、例如0.001%或更少、例如0.0001%或更少、例如0.00001%或更少并且包括在照射的时间间隔期间发射的光强度变化0.000001%或更少的情况。光输出的强度可以用任何方便的协议来测量,包括但不限于扫描狭缝轮廓仪、电荷耦合器件(CCD,例如增强型电荷耦合器件,ICCD)、定位传感器、功率传感器(例如热电堆功率传感器)、光功率传感器、能量计、数字激光光度计、激光二极管检测器,以及其他类型的光电检测器。

[0097] 在一些实施例中,系统包括可操作地耦合到处理器的存储器,其中存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得所述处理器用所述光源照射所述光电检测器两个或更多个离散时间间隔。在一些情况下,存储器包括指令,所述指令用于用光源照射预定的持续时间,随后光源的强度改变(例如,增加)一段时间,并且随后为后续离散时间间隔或照射。在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于包括以0.1ms或更长的离散时间间隔照射光电检测器,例如0.5ms或更长、例如1.0ms或更长、例如5ms或更长、例如10ms或更长、例如20ms或更长、例如30ms或更长、例如40ms或更长、例如50ms或更长、例如60ms或更长、例如70ms或更长、例如80ms或更长、例如90ms或更长并且包括100ms或更长。在某些实施例中,存储器包括指令:用于照射光电检测器的每个预定的时间间隔是相同的持续时间。在其他实施例中,存储器包括指令:用于照射光电检测器的每个预定的时间间隔是不同的持续时间。

[0098] 在某些实施例中,所述存储器包括指令,所述指令用于用光源在多个离散时间间隔上以多个强度照射光电检测器,例如3个或更多个离散时间间隔、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如75个或更多个并且包括在每个检测器增益设置下背景数据信号确定100个或更多个光电检测器的噪声参数。在一些实施例中,多个时间间隔中的每一个都是相同的持续时间。在其他实施例中,多个时间间隔中的每一个都是不同的持续时间。仍在其他实施例中,一些时间间隔可以是相同的持续时间,而一些时间间隔可能是不同的持续时间。

[0099] 在一些实施例中,存储器包括指令,以用光源以在每个预定时间间隔的持续时间内基本恒定的强度照射光电检测器,例如照射强度变化10%或更少、例如9%或更少、例如8%或更少、例如7%或更少、例如6%或更少、例如5%或更少、例如4%或更少、例如3%或更少、例如2%或更少、例如1%或更少、例如0.5%或更少、例如0.1%或更少、例如0.01%或更少、例如0.001%或更少、例如0.0001%或更少、例如0.00001%或更少并且包括光源的照射强度在预定时间间隔的持续时间内变化0.000001%或更小的情况。

[0100] 在一些实施例中,存储器包括用于在每个离散照射间隔之后改变光源的强度的指令。在一些实施例中,存储器包括用于在每个离散照射间隔之后增加由光源照射的强度的指令。在其他实施例中,存储器包括用于在每个离散照射间隔之后减小由光源照射的强度的指令。用于照射光电检测器的光的强度可以在每个后续时间间隔内改变5%或更多,例如10%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括100%或更多。在某些情况下,光的强度变化1.5倍或更多,例如2倍或更多、例如3倍或更多、例如4倍或更多并且包括5倍或更多。在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于在每个检测器增益下以增加的光强度的光源照射光电检测器。在一些情况下,存储器包括指令,所述指令用于增加每个后续时间间隔的光强度,例如通过将每个后续时间段的光强

度增加5%或更多,例如10%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括100%或更多。在其他实施例中,存储器包括指令,所述指令用于将每个后续时间间隔的光强度增加1.5倍或更多,例如2倍或更多、例如3倍或更多、例如4倍或更多并且包括5倍或更多。

[0101] 在一些情况下,存储器包括指令,所述指令用于在强度改变时(例如,在光强度增加时)保持光源对光电检测器的照射。在其他情况下,存储器包括指令,所述指令用于在改变光源的强度的持续时间内停止光源对光电检测器的照射(例如,通过关闭光源或通过例如用斩波器、束阑等阻挡光源)。在某些实施例中,系统包括用于打开和关闭光源的电子开关,例如由计算机控制并基于数据信号(例如,接收或输入的数据信号)触发的开关。在一些实施例中,用于改变光源的强度的时间间隔可以是0.001ms或更多、例如0.005ms或更多、例如0.01ms或更多、例如0.05ms或更多、例如0.1ms或更多、例如0.5ms或更多、例如1ms或更多、例如2ms或更多、例如3ms或更多、例如4ms或更多、例如5ms或更多、例如6ms或更多、例如7ms或更多、例如8ms或更多、例如9ms或更多并且包括10ms或更多。例如,用光源照射光电检测器的每个预定时间间隔之间的时间段可以是0.001ms至25ms,例如0.005ms至20ms、例如0.01ms至15ms、例如0.05ms至10ms并且包括0.1ms至5ms。

[0102] 在一些实施例中,系统包括存储器,所述存储器具有存储在其上的指令的存储器,所述指令在由处理器执行时,该指令使得处理器在施加触发信号(如上所述)的同时用光源(例如用函数生成器)照射光电检测器。所述存储器包括指令:每个光照射脉冲的持续时间可以是施加的触发脉冲的10%或更多,例如15%或更多、例如20%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多、例如95%或更多、例如96%或更多、例如97%或更多、例如98%或更多、例如99%或更多、例如99.5%或更多、例如99.7%或更多并且包括其中每个光照射脉冲的持续时间是在每个检测器增益下所施加的触发脉冲持续时间的99.9%或更多。在某些情况下,所述存储器包括指令:每个光照射脉冲在每个检测器增益下与施加的触发脉冲具有相同的持续时间。在其他情况下,存储器包括指令:每个光照射脉冲的持续时间大于每个施加的触发脉冲的持续时间,例如其中光照射脉冲持续时间比每个施加的触发器脉冲持续时间大5%或更多,例如10%或更多、例如15%或更多、例如20%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多、例如95%或更多、例如1.5倍或更多、例如2倍或更多、例如3倍或更多、例如4倍或更多,例如5倍或更多并且包括其中光照射脉冲的持续时间比每个施加的触发脉冲的持续时间大10倍或更多。

[0103] 在实施例中,系统包括具有一个或更多个光电检测器的光检测系统。在一些实施例中,光电检测器是雪崩式光电二极管。在某些实施例中,光检测系统包括多个光电检测器,例如光电检测器阵列。在这些实施例中,光电检测器阵列可以包括4个或更多个光电检测器,例如10个或更多个光电检测器、例如25个或更多个光电检测器、例如50个或更多个光电检测器、例如100个或更多个光电检测器、例如250个或更多个光电检测器、例如500个或更多个光电检测器、例如750个或更多个光电检测器并且包括1000个或更多个光电检测器。

[0104] 光电检测器可以根据需要以任何几何构造布置,其中感兴趣的布置包括但不限于正方形构造、矩形构造、梯形构造、三角形构造、六角形构造、七边形构造、八角形构造、九边形构造、十边形构造和十二边形构造,圆形构造、椭圆形构造以及不规则图案化构造。光电

检测器阵列中的光电检测器可以相对于另一个(如X-Z平面中所指)以 $10^{\circ}$ 至 $180^{\circ}$ ,例如 $15^{\circ}$ 至 $170^{\circ}$ 、例如 $20^{\circ}$ 至 $160^{\circ}$ 、例如 $25^{\circ}$ 至 $150^{\circ}$ 、例如 $30^{\circ}$ 至 $120^{\circ}$ 并且包括 $45^{\circ}$ 至 $90^{\circ}$ 的角度定向。光电二极管阵列可以是任何合适的形状,并且可以是直线形状,例如正方形、矩形、梯形、三角形、六边形等,曲线形状,例如圆形、椭圆形,以及不规则形状,例如耦合到平面顶部的抛物线底部。在某些实施例中,光电检测器阵列具有矩形有源表面。

[0105] 阵列中的每个光电检测器可以具有宽度为 $5\mu\text{m}$ 至 $250\mu\text{m}$ ,例如 $10\mu\text{m}$ 至 $225\mu\text{m}$ 、例如 $15\mu\text{m}$ 至 $200\mu\text{m}$ 、例如 $20\mu\text{m}$ 至 $175\mu\text{m}$ 、例如 $25\mu\text{m}$ 至 $150\mu\text{m}$ 、例如 $30\mu\text{m}$ 至 $125\mu\text{m}$ 并且包括 $50\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 的有源表面,长度为 $5\mu\text{m}$ 至 $250\mu\text{m}$ ,例如 $10\mu\text{m}$ 至 $225\mu\text{m}$ 、例如 $15\mu\text{m}$ 至 $200\mu\text{m}$ 、例如 $20\mu\text{m}$ 至 $175\mu\text{m}$ 、例如 $25\mu\text{m}$ 至 $150\mu\text{m}$ 、例如 $30\mu\text{m}$ 至 $125\mu\text{m}$ 并且包括 $50\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ ,其中阵列中的每个光电检测器的表面积为 $25\mu\text{m}^2$ 至 $10000\mu\text{m}^2$ ,例如 $50\mu\text{m}^2$ 至 $9000\mu\text{m}^2$ ,例如 $75\mu\text{m}^2$ 至 $8000\mu\text{m}^2$ ,例如 $100\mu\text{m}^2$ 至 $7000\mu\text{m}^2$ ,例如 $150\mu\text{m}^2$ 至 $6000\mu\text{m}^2$ 并且包括 $200\mu\text{m}^2$ 至 $5000\mu\text{m}^2$ 。

[0106] 光电检测器阵列的尺寸可以根据光量和强度、光电检测器的数量和期望的灵敏度而变化,并且可以具有 $0.01\text{mm}$ 至 $100\text{mm}$ 的长度,例如 $0.05\text{mm}$ 至 $90\text{mm}$ 、例如 $0.1\text{mm}$ 至 $80\text{mm}$ 、例如 $0.5\text{mm}$ 至 $70\text{mm}$ 、例如 $1\text{mm}$ 至 $60\text{mm}$ 、例如 $2\text{mm}$ 至 $50\text{mm}$ 、例如 $3\text{mm}$ 至 $40\text{mm}$ 、例如 $4\text{mm}$ 至 $30\text{mm}$ 并且包括 $5\text{mm}$ 至 $25\text{mm}$ 。光电二极管阵列的宽度也可以变化,其宽度为 $0.01\text{mm}$ 至 $100\text{mm}$ ,例如 $0.05\text{mm}$ 至 $90\text{mm}$ 、例如 $0.1\text{mm}$ 至 $80\text{mm}$ 、例如 $0.5\text{mm}$ 至 $70\text{mm}$ 、例如 $1\text{mm}$ 至 $60\text{mm}$ 、例如 $2\text{mm}$ 至 $50\text{mm}$ 、例如 $3\text{mm}$ 至 $40\text{mm}$ 、例如 $4\text{mm}$ 至 $30\text{mm}$ 并且包括 $5\text{mm}$ 至 $25\text{mm}$ 。光电二极管阵列的有源表面可以为 $0.1\text{mm}^2$ 至 $10000\text{mm}^2$ ,例如 $0.5\text{mm}^2$ 至 $5000\text{mm}^2$ 、例如 $1\text{mm}^2$ 至 $1000\text{mm}^2$ 、例如 $5\text{mm}^2$ 至 $500\text{mm}^2$ 并且包括 $10\text{mm}^2$ 至 $100\text{mm}^2$ 。

[0107] 感兴趣的光电检测器被配置为测量在一个或多个波长(例如,在2个或多个波长)下收集的光,例如,在5个或多个不同波长下,例如光的10个或多个不同波长下、例如15个或多个、例如25个或多个、例如50个或多个、例如100个或多个、例如200个或多个、例如300个或多个、例如400个或多个、例如500个或多个、例如1000个或多个、例如1500个或多个、例如2500个或多个并且包括光的5000个或多个不同波长。在某些实施例中,光电二极管被配置为测量光的光谱,例如其中光的光谱包括跨度为 $50\text{nm}$ 或更大的波长、例如 $100\text{nm}$ 或更大、例如 $200\text{nm}$ 或更大、例如 $300\text{nm}$ 或更大、例如 $400\text{nm}$ 或更大、例如 $500$ 或更大、例如 $600$ 或更大、例如 $700\text{nm}$ 或更大、例如 $800\text{nm}$ 或更大、例如 $900\text{nm}$ 或更大、例如 $1000\text{nm}$ 或更大并且包括 $1500\text{nm}$ 或更大。例如,光电二极管被配置为测量 $200\text{nm}$ 至 $1500\text{nm}$ 范围内的光,例如 $400\text{nm}$ 至 $1100\text{nm}$ 。

[0108] 光检测系统被配置为连续地或以离散的间隔测量光。在某些情况下,感兴趣的光电检测器被配置为连续地测量收集的光。在其他情况下,光监测系统被配置为以离散间隔进行测量,例如每 $0.001$ 毫秒、每 $0.01$ 毫秒、每 $0.1$ 毫秒、每 $1$ 毫秒、每隔 $10$ 毫秒、每 $100$ 毫秒并且包括每 $1000$ 毫秒,或某个其他间隔测量光。

[0109] 在某些实施例中,光检测系统还包括放大器部件。在实施例中,放大器部件被配置为响应于检测到的光放大来自光电检测器的输出信号。在一些实施例中,放大器部件包括电流-电压转换器,例如跨阻抗放大器。在其他实施例中,放大器部件包括运算放大器电路,例如求和放大器。在实施例中,来自光电检测器的输出电流被转换为电压,并且在某些情况下,与求和放大器组合并传播到处理器用于输出数据信号。

[0110] 在一些实施例中,系统被配置为将光电检测器调节到最优检测器增益。在一些实

施例中,系统被配置为将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,系统包括处理器系统,还包括处理器,该处理器具有可操作地耦合到处理器的存储器,其中存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,该指令使得处理器在每个检测器增益设置下针对多个光强度生成来自光电检测器的一个或更多个数据信号,例如2个或更多个数据信号、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如15个或更多个、例如20个或更多个、例如25个或更多个、例如50个或更多个、例如100个或更多个并且包括在每个检测器增益设置下的250个或更多个数据信号。在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于在每个检测器增益下确定来自光电检测器的光照射数据信号的均值。在某些情况下,方法包括在每个检测器增益下确定来自光电检测器的光照射数据信号的均值和标准偏差值。

[0111] 在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于对来自光电检测器的数据信号进行积分。在一些实施例中,对来自光电检测器的数据信号进行积分包括在每个离散的照射间隔的持续时间的10%或更多,例如15%或更多、例如20%或更多、例如25%或更多、例如50%或更多、例如75%或更多、例如90%或更多并且包括在每个离散照射间隔的持续时间的99%上对数据信号进行积分。在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于在照射的每个离散时间间隔的全部持续时间内积分来自光电检测器的数据信号。

[0112] 系统被配置为在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号。在一些实施例中,系统包括存储器,存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得所述处理器在每个检测器增益下将针对所述多个光强度生成的数据信号与所述背景数据信号进行比较。在一些实施例中,存储器包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,存储器包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成与背景数据信号相差一个或更多个标准偏差的可解析的数据信号,例如与背景数据信号相差2个或更多个标准偏差、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个并且包括其中确定的最低光照射强度,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成与背景数据信号相差10个或更多个标准偏差的可解析的数据信号。在某些实施例中,存储器包括生成最低强度光照射的数据曲线的指令,该最低强度光照射在每个检测器增益设置下生成与背景数据信号相差一个或更多个标准偏差的可解析的数据信号。

[0113] 在某些情况下,存储器包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,系统被配置为将光检测系统的光电检测器中的一个或更多个调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些实施例中,系统是自动化的,使得这些调节在几乎没有人干预或由用户手动输入的情况下进行。

[0114] 在一些实施例中,系统包括具有可操作地耦合到处理器的存储器的处理器,其中,所述存储器包括存储在其上的指令,该指令在由处理器执行时,使处理器确定一个或更多



个光电检测器的参数,其中存储器包括指令以照射流动流中的颗粒,其中所述颗粒(例如,如下所述的多光谱珠粒)包含一个或更多个荧光团。在某些情况下,存储器包括指令,该指令在由处理器执行时,使处理器确定光电检测器的参数,所述参数包括每个光电检测器的指定相对荧光单位(例如ABD单位)、一个或更多个光电检测器的鲁棒变化系数(rCV)、每个光电检测器最大和最小线性、rCV相对于基线的相对变化、检测器增益相对于基线的相对变化和光电检测器的成像规格,如RF功率或轴向光损耗。

[0115] 在一些情况下,存储器包括用于确定光电检测器的参数的指令,所述指令包括:在第一预定时间间隔内以第一强度和在第二预定时间间隔内以第二强度照射具有包含一个或更多个荧光团的颗粒的流动流、用具有光源的光电检测器检测来自流动流的光、在第一照射强度下生成来自光电检测器的数据信号,并在第二照射强度下生成来自光电检测器的数据信号,以及基于在第一强度和第二强度下生成的数据信号确定光电检测器的一个或更多个参数。

[0116] 在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于确定第一照射强度和第二照射强度下的颗粒的平均荧光强度(M)。在某些情况下,存储器包括指令,所述指令用于确定第一照射强度和第二照射强度下的平均荧光强度(V(M))的方差。在某些情况下,存储器包括指令,所述指令用于确定光电检测器的%rCV(鲁棒变化系数)。在某些实施例中,存储器包括指令,当处理器执行该指令时,该指令使过程根据以下公式计算方差的线性拟合:

$$[0117] \quad V(M) = c_1 M + c_0 = \frac{1}{Q_{led}} M + \frac{B_{led}}{Q_{led}^2}$$

[0118] 其中 $Q_{led}$ 由 $1/c_1$ 给出并且是每单位平均荧光强度(M)的统计光电子(即SPE/MFI)。在某些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于绘制方差以根据以下公式确定方差的线性拟合:

$$[0119] \quad y = C_1 X + C_0$$

[0120] 在实施例中,可以针对多个不同的照射强度来确定平均荧光强度和方差,例如2个或更多个照射强度、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个并且包括15个或更多个不同照射强度。

[0121] 在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于确定统计光电(SPE)一个或更多个照射强度(例如至少在第一照射强度和第二照射强度)。在某些情况下,存储器包括指令,所述指令用于包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来计算每个颗粒的光电检测器的检测器效率( $Q_{det}$ )。在某些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于确定光电检测器的一个或更多个检测器通道的检测器效率,例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如12个或更多个、例如16个或更多个、例如20个或更多个、例如24个或更多个、例如36个或更多个、例如48个或更多个、例如72个或更多个并且包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来确定光电检测器的96个或更多个检测器通道的检测器效率。在某些情况下,存储器包括指令,所述指令用于基于统计光电子和确定的每个颗粒的平均荧光强度来确定用于每个颗粒的光电检测器的所有检测器通道的检测器效率。在某些实施例中,存储器包括指令,当处理器执行该指令时,使得所

述处理器确定根据以下公式确定的检测器效率：

$$[0122] \quad Q_{\text{sys}} = \frac{SPE}{MFI} \times \frac{MFI}{ABD} = \frac{SPE}{ABD}$$

[0123] 其中SPE是统计光电子，MFI是平均荧光强度，ABD是每个颗粒批次每个通道的单位。

[0124] 在某些实施例中，存储器包括指令，所述指令用于确定一个或多个光电检测器的背景信号。在某些情况下，背景信号是在一个或多个照射强度下确定的，例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个并且包括10个或更多个的不同照射强度。在一些情况下，存储器包括指令，以在所有施加的照射强度下确定背景信号。在一些实施例中，存储器包括指令，所述指令用于确定光电检测器的一个或多个检测器通道中的背景信号，例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个，例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如12个或更多个、例如16个或更多个、例如20个或更多个、例如24个或更多个、例如36个或更多个、例如48个或更多个、例如72个或更多个并且包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来确定光电检测器的96个或更多个检测器通道的检测器效率。在某些情况下，存储器包括指令，所述指令用于确定光电检测器的所有检测器通道中的背景信号。在一些情况下，存储器包括指令，所述指令在由处理器执行时，这些指令使得处理器基于统计光电子和光电检测器的检测器效率来确定背景信号。在某些情况下，存储器包括用于根据以下公式确定背景信号的指令：

$$[0125] \quad B_{SD} = B_{SD,MFI} \times Q_{led}$$

$$[0126] \quad B_{bgd} = B_{SD}^2$$

[0127] 在一些实施例中，存储器包括指令，所述指令用于确定一个或多个光电检测器的电子噪声。在某些情况下，光电检测器的电子噪声是在一个或多个照射强度下确定的，例如2个或更多个、例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个、例如9个或更多个、例如10个或更多个并且包括10个或更多个的不同照射强度。在一些情况下，在所有施加的照射强度下确定光电检测器的电子噪声。电子噪声同样能够在光电检测器的一个或多个检测器通道中确定，例如在2个或更多个中确定，例如3个或更多个、例如4个或更多个、例如5个或更多个、例如6个或更多个、例如7个或更多个、例如8个或更多个，例如9个或更多个、例如10个或更多个、例如12个或更多个、例如16个或更多个、例如20个或更多个、例如24个或更多个、例如36个或更多个、例如48个或更多个、例如72个或更多个并且包括确定光电检测器的96个或更多个检测器通道中的电子噪声。在某些情况下，存储器包括指令，所述指令用于确定光电检测器的所有检测器通道中的电子噪声。在一些情况下，存储器包括指令，所述指令基于统计光电子和光电检测器的检测器效率，用于确定电子噪声。在某些情况下，存储器包括用于根据以下公式确定电子噪声的指令：

$$[0128] \quad EN_{SD} = EN_{SD,MFI} \times Q_{led}$$

$$[0129] \quad EN = EN_{SD}^2$$

[0130] 在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于确定一个或多个光电检测器的检测的极限。在一些情况下,存储器包括指令,所述指令用于确定光电检测器的一个或多个检测器通道中的光电检测器的检测的极限,例如2个或多个、例如3个或多个、例如4个或多个、例如5个或多个、例如6个或多个、例如7个或多个、例如8个或多个、例如9个或多个、例如10个或多个、例如12个或多个、例如16个或多个、例如20个或多个、例如24个或多个、例如36个或多个、例如48个或多个、例如72个或多个并且包括基于统计光电子和所确定的颗粒的平均荧光强度来确定光电检测器的96个或多个检测器通道的检测器效率。在某些情况下,存储器包括指令,所述指令用于确定光电检测器的所有检测器通道中的检测的极限。在一些情况下,存储器包括指令,所述指令用于根据以下公式确定每个光电检测器的检测的极限:

$$[0131] \quad 2+2SD=4(1+B_{SD})$$

[0132] 在一些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于确定一个或多个光电检测器的检测器光敏性。在某些实施例中,存储器包括指令,所述指令用于为光电检测器设置初始检测器增益。在一些情况下,存储器包括:用光源(如上文详细介绍的)在多个不同的光强度下照射光电检测器的指令、在光电检测器的一个或多个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号的指令以及确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,存储器包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成与背景数据信号相差两个标准偏差的数据信号。在某些情况下,存储器包括用于将检测器增益设置为当根据光强度绘制时生成可从背景数据信号解析的数据信号的最低光照射强度趋于稳定的增益的指令。

[0133] 在某些实施例中,具有如上所述的具有可调节检测器增益设置的一个或多个光电检测器的光检测系统是颗粒分析器(例如颗粒分选器)的一部分或位于颗粒分析器中。在某些实施例中,主题系统是流式细胞术系统,其包括光电二极管和放大器部件,作为光检测系统的一部分,用于检测流中样本发出的光。合适的流式细胞术系统可以包括但不限于 Ormerod (ed.), *Flow Cytometry: A Practical Approach*, Oxford Univ. Press (1997); Jaroszeski et al. (eds.), *Flow Cytometry Protocols, Methods in Molecular Biology No. 91*, Humana Press (1997); *Practical Flow Cytometry*, 3rd ed., Wiley-Liss (1995); Virgo, et al. (2012) *Ann Clin Biochem*. Jan; 49 (pt 1): 17-28; Linden, et al., *Semin Throm Hemost*. 2004 Oct; 30 (5): 502-11; Alison, et al. *J Pathol*, 2010 Dec; 222 (4): 335-344; and Herbig, et al. (2007) *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 24 (3): 203-255; 中所述内容,其公开内容通过引用并入本文。在某些情况下,感兴趣的流式细胞术系统包括 BD Biosciences FACSCanto™ II 流式细胞仪、BD Accuri™ 流式细胞仪、BD Biosciences FACSCelesta™ 流式细胞仪、BD-Biosciences FACSLyric™ 流式细胞仪、BD-Biosciences FACSVerser™ 流式细胞仪、BD-Bioscience FACSSymphony™ 流式细胞仪、BD Biosciences LSRFortessa™ X-20 流式细胞仪和 BD Biosciences FACSCalibur™ 细胞分选器、BD Biosciences FACSCount™ 细胞分选器、BD bioscience FACSLyric™ 细胞分选器和 BD 生物科学 Via™ 细胞分选器 BD Biosciences Influx™ 细胞分选器、BD Biosciences Jazz™ 细胞分选器、BD Biosciences Aria™ 细胞分选器和 BD 生物科学 FACSMelody™ 细胞分

选器等。

[0134] 在一些实施例中,主题颗粒分析器系统是流式细胞术系统,如美国专利号 U.S.Patent No.10,006,852;9,952,076;9,933,341;9,784,661;9,726,527;9,453,789;9,200,334;9,097,640;9,095,494;9,092,034;8,975,595;8,753,573;8,233,146;8,140,300;7,544,326;7,201,875;7,129,505;6,821,740;6,813,017;6,809,804;6,372,506;5,700,692;5,643,796;5,627,040;5,620,842;5,602,039;中所述,其公开内容通过其引用并入本文。

[0135] 在某些实施例中,主题系统是具有激发模块的流式细胞系统,该激发模块使用射频复用激发来生成多个频移光束。在某些情况下,主题系统是美国专利号9,423,353和9,784,661和U.S.Patent Publication Nos.2017/0133857和2017/0350803中所述的流式细胞术系统,其公开内容通过引用并入本文。

[0136] 在一些实施例中,主题系统是配置为使用封闭的颗粒分选模块对颗粒进行分选的颗粒分选系统,例如2017年3月28日提交的美国专利公开号2017/0299493中所述的那些系统,其公开内容通过引用并入本文。在某些实施例中,使用具有多个分选决策单元的分选决策模块对样本的颗粒(例如,细胞)进行分选,例如2019年2月8日提交的美国临时专利申请号62/803,264中所述的分选决策单元,其公开内容通过引用并入本文。在一些实施例中,如2017年3月28日提交的美国专利公开号2017/0299493中所述,用于分选样本成分的方法包括使用具有偏转板的颗粒分选模块分选颗粒(例如,生物样本中的细胞),其公开内容通过引用并入本文。

[0137] 图3示出了用于分析和显示生物事件的颗粒分析器控制系统(例如分析控制器300)的一个示例的功能框图。分析控制器300能够被配置为实现用于控制生物事件的图形显示的各种过程。

[0138] 颗粒分析器或分选系统302能够被配置为获取生物事件数据。例如,流式细胞仪能够生成流式细胞事件数据。颗粒分析器302能够被配置为向分析控制器300提供生物事件数据。能够在颗粒分析器或分选系统302与分析控制器300之间包括数据通信信道。生物事件数据能够经由数据通信信道提供给分析控制器300。

[0139] 分析控制器300能够被配置为从颗粒分析器或分选系统302接收生物事件数据。从颗粒分析器或分选系统302接收的生物事件数据能够包括流式细胞事件数据。分析控制器300能够被配置为向显示设备306提供包括生物事件数据的第一图表的图形显示。分析控制器300还能够被配置为将感兴趣区域渲染为由显示设备306示出的生物事件数据群周围的门(gate),例如,覆盖在第一图表上。在一些实施例中,门能够是在单个参数直方图或双变量图表上绘制的一个或更多个感兴趣图形区域的逻辑组合。在一些实施例中,显示器可用于显示颗粒参数或饱和和检测器数据。

[0140] 分析控制器300还能够被配置为与门外的生物事件数据中的其他事件不同地在显示设备306上显示门内的生物事件数据。例如,分析控制器300能够被配置为将包含在门内的生物事件数据的颜色呈现为不同于门外的生物事件数据的颜色。显示设备306能够被实现为监视器、平板电脑、智能手机或被配置为呈现图形界面的其他电子设备。

[0141] 分析控制器300能够被配置为从第一输入设备接收识别门的门选择信号。例如,第一输入设备能够被实现为鼠标310。鼠标310能够向分析控制器300发起门选择信号,识别要

在显示设备306上显示或经由显示设备306操纵的门(例如,当光标位于期望门处时,通过点击期望门上或点击期望门中)。在一些实施方式中,第一设备能够被实现为键盘308或用于向分析控制器300提供输入信号的其他装置,例如触摸屏、触控笔、光学检测器或语音识别系统。一些输入设备能够包括多个输入功能。在这样的实施方式中,输入功能中的每个均能够被认为是输入设备。例如,如图3所示,鼠标310能够包括鼠标右键和鼠标左键,鼠标右键和鼠标左键中的每个都能够生成触发事件。

[0142] 触发事件能够使分析控制器300改变显示数据的方式(数据的哪些部分被实际显示在显示设备306上),和/或向另外的处理提供输入(例如选择感兴趣的群体进行颗粒分选)。

[0143] 在一些实施例中,分析控制器300能够被配置为检测何时由鼠标310发起门选择。分析控制器500还能够被配置为自动修改图表可视化以促进设门控过程(gating process)。修改能够基于由分析控制器300接收的生物事件数据的特定分布。

[0144] 分析控制器300能够连接到存储设备304。存储设备304能够被配置为从分析控制器300接收并存储生物事件数据。存储设备304还能够被配置为从分析控制器300接收并存储流式细胞事件数据。存储设备304还能够被配置为允许分析控制器300检索生物事件数据(例如流式细胞事件数据)。

[0145] 显示设备306能够被配置为从分析控制器300接收显示数据。显示数据能够包括生物事件数据的图表和勾画图表部分的门。显示设备306还能够被配置为根据从分析控制器300接收的输入以及来自颗粒分析器302、存储设备304、键盘308和/或鼠标310的输入来改变所呈现的信息。

[0146] 在一些实施方式中,分析控制器300能够生成用户界面以接收用于分选的示例事件。例如,用户界面能够包括用于接收示例事件或示例图像的控件。示例事件或图像或示例门能够在收集样本的事件数据之前或基于样本的一部分的初始事件集来提供。

[0147] 在一些实施例中,感兴趣系统包括可用于分析和表征颗粒的颗粒分析系统,无论是否将颗粒物理分选到收集容器中。图4A示出了颗粒分析系统的示例的功能框图。在一些实施例中,颗粒分析系统401是流系统。例如,图4A所示的颗粒分析系统401能够被配置为全部或部分地执行本文所述的方法。颗粒分析系统401包括流体系统(fluidics system)402。流体系统402能够包括或耦合样本管405和样本管内的移动流体柱,其中样本的颗粒403(如细胞)沿公共样本路径409移动。

[0148] 颗粒分析系统401包括检测系统404,检测系统404被配置为当每个颗粒沿公共样本路径通过一个或更多个检测站时收集来自每个颗粒的信号。检测站408通常是指公共样本路径的监测区域407。在一些实施方式中,检测能够包括在颗粒403穿过监测区域407时检测光或颗粒403的一个或更多个其他特性。在图4A中,示出了具有一个监测区域407的一个检测站408。颗粒分析系统401的一些实施方式能够包括多个检测站。此外,一些检测站能够监测多于一个区域。

[0149] 为每个信号分配信号值,以针对每个颗粒形成数据点。如上所述,该数据能够被称为事件数据。数据点能够是包括针对颗粒测量的各个特性的值的多维数据点。检测系统404被配置为在第一时间间隔内收集一系列这样的数据点。

[0150] 颗粒分析系统401也能够包括控制系统306。控制系统406能够包括一个或更多个

处理器、幅度控制电路和/或频率控制电路。所示的控制系统能够在操作上与流体系统402相关联。控制系统能够被配置为基于泊松分布和由检测系统404在第一时间间隔期间收集的数据点的数量为第一时间间隔的至少一部分生成计算信号频率。控制系统406能够还被配置为基于第一时间间隔的这一部分中的数据点的数量来生成实验信号频率。附加地,控制系统406能够将实验信号频率与计算信号频率或预定信号频率进行比较。

[0151] 图4B示出了根据本发明的说明性实施例的用于流式细胞术的系统400。系统400包括流式细胞仪410、控制器/处理器490和存储器495。流式细胞仪410包括一个或更多个激励激光器415a-415c、聚焦透镜420、流动室425、前向散射检测器430、侧向散射检测器435、荧光收集透镜440、一个或更多个分束器445a-445g、一个或者更多个带通滤波器450a-450e、一个或更多个长通(“LP”)滤波器455a-455b和一个或更多个荧光检测器460a-460f。

[0152] 激励激光器115a-c发射激光束形式的光。在图4B的示例系统中,从激励激光器415a-415c发射的激光束的波长分别为488nm、633nm和325nm。激光束首先被引导通过分束器445a和445b中的一个或更多个。分束器445a透射488nm的光并反射633nm的光。分束器445b透射UV光(波长为10至400nm的光)并反射488nm和633nm的光。

[0153] 然后,激光束被引导到聚焦透镜420,该聚焦透镜将光束聚焦到流动室425内流体流的样本颗粒所位于的部分上。流动室是流体系统的一部分,其将流中的颗粒(通常一次一个)引导至聚焦的激光束以供询问(interrogation)。流动室能够包括台式细胞仪中的流动池或空气流式(stream-in-air)细胞仪中的喷嘴尖端。

[0154] 来自激光束的光通过衍射、折射、反射、散射和吸收与样本中的颗粒相互作用,根据颗粒的特性(例如其大小、内部结构以及附接至颗粒或自然存在于颗粒上或颗粒中的一种或更多种荧光分子的存在)以各种不同波长重新发射。荧光发射以及衍射光、折射光、反射光和散射光可以通过分束器445a-445g、带通滤波器450a-450e、长通滤波器455a-455b和荧光收集透镜440中的一个或更多个发送至前向散射探测器430、侧向散射探测器435中的一个或更多个以及一个或更多个荧光探测器460a-460f。

[0155] 荧光收集透镜440收集从颗粒-激光束相互作用发射的光,并朝向一个或更多个分束器和滤波器发送该光。带通滤波器(例如带通滤波器450a-450e)允许窄范围的波长通过滤波器。例如,带通滤波器450a是510/20滤波器。第一个数字表示光谱带的中心。第二个数字提供了光谱带的范围。因此,510/20滤波器在光谱带中心的每一侧延伸10nm,或从500nm延伸到520nm。短通滤波器透射波长等于或短于指定波长的光。长通滤波器(例如长通滤波器455a-455b)透射波长等于或长于指定波长的光。例如,670nm长通滤波器的长通滤波器455a透射等于或长于670nm的光。通常选择滤波器以优化检测器对特定荧光染料的特异性。滤波器能够被配置为使得透射到检测器的光的光谱带接近荧光染料的发射峰。

[0156] 分束器将不同波长的光沿不同方向引导。分束器能够通过诸如短通和长通的滤波器特性来表征。例如,分束器445g是620SP分束器,这意味着分束器445g透射波长为620nm或更短的光,并沿不同方向反射波长长于620nm的光。在一个实施例中,分束器445a-445g能够包括光学镜,例如分色镜。

[0157] 前向散射检测器430被定位成稍微轴偏离穿过流动池的直射光束,并被配置成检测衍射光,主要沿前向方向上穿过或围绕颗粒传播的激励光。前向散射检测器检测到的光的强度取决于颗粒的整体大小。前向散射检测器能够包括光电二极管。侧向散射检测器435

被配置为检测来自颗粒表面和内部结构的折射光和反射光,并且倾向于随着结构的颗粒复杂性的增加而增加。来自与颗粒相关联的荧光分子的荧光发射能够由一个或更多个荧光检测器460a-460f检测。侧面散射检测器435和荧光检测器能够包括光电倍增管。在前向散射检测器430、侧向散射检测器435和荧光检测器处检测到的信号能够由检测器转换成电子信号(电压)。该数据能够提供有关样本的信息。

[0158] 本领域技术人员将认识到,根据本发明的实施例的流式细胞仪不限于图4B所描绘的流式细胞仪而能够包括本领域已知的任何流式细胞仪。例如,流式细胞仪能够具有任意数量的各种波长和各种不同配置的激光器、分束器、滤波器和检测器。

[0159] 在运行中,细胞仪运行由控制器/处理器490控制,并且来自检测器的测量数据能够存储在存储器495中并由控制器/处理器490处理。尽管未明确示出,但控制器/处理器190耦合到检测器以从其接收输出信号,并且还可以耦合到流式细胞仪400的电气和机电部件以控制激光器、流体流动参数等。也可以在系统中提供输入/输出(I/O)能力497。存储器495、控制器/处理器490和I/O 497可以完全作为流式细胞仪410的集成部分提供。在这样的实施例中,显示器还可以形成用于向细胞仪400的用户呈现实验数据的I/O能力497的一部分。替代地,存储器495和控制器/处理器490以及I/O能力中的一些或全部可以是一个或更多个外部设备(例如通用计算机)的一部分。在一些实施例中,存储器495和控制器/处理器490中的一些或全部能够与细胞仪410进行无线或有线通信。控制器/处理器490连同存储器495和I/O 497能够被配置为执行与流式细胞仪实验的准备和分析相关的各种功能。

[0160] 图4B所示的系统包括六个不同的检测器,这些检测器检测在如由从流动池425到每个检测器的光束路径中的滤波器和/或分离器的配置所定义的六个不同波长带(这里可以称为给定检测器的“滤波窗”)中的荧光。用于流式细胞仪实验的不同荧光分子将以其自身的特征波长带发射光。用于实验的特定荧光标签及其相关联的荧光发射带可以被选择为大体上与检测器的滤波窗一致。然而,随着提供更多的检测器并使用更多的标签,滤波窗和荧光发射光谱之间的完美对应是不可能的。一般来说,尽管特定荧光分子的发射光谱的峰可能位于一个特定检测器的滤波窗内,但该标签的一些发射光谱也将与一个或更多个其他检测器的滤波窗重叠。这可以称为溢出。I/O 497能够被配置为接收关于流式细胞仪实验的数据,该流式细胞仪实验具有一组荧光标签和具有多个标记的多个细胞群,每个细胞群具有多个标记的子集。I/O 497还能够被配置为接收将一个或更多个标记分配给一个或更多个细胞群的生物数据、标记密度数据、发射光谱数据、将标签分配给一个或更多个标记的数据以及细胞仪配置数据。流式细胞仪实验数据(例如标签光谱特性和流式细胞仪配置数据)也能够存储在存储器495中。控制器/处理器490能够被配置为评估标签对标记的一个或更多个分配。

[0161] 在一些实施例中,感兴趣的系统包括颗粒分选系统。图5A是根据本文呈现的一个实施例的颗粒分选系统500(例如颗粒分选器或分选系统302)的示意图。在一些实施例中,颗粒分选系统500是细胞分选系统。如图5A所示,液滴形成换能器502(例如,压电振荡器)耦合到流体导管501,该流体导管能够耦合到、能够包括或能够是喷嘴503。在流体导管501内,鞘流体504流体动力学地将包括颗粒509的样本流体606聚焦到移动的流体柱508(例如,流)中。在移动的流体柱508内,颗粒509(例如,细胞)以单行排列,以穿过由照射源512(例如,激光器)照射的监测区域511(例如,激光流相交的地方)。液滴形成换能器502的振动导致移动



的流体柱508破裂成多个液滴510,其中一些液滴含有颗粒609。

[0162] 在运行中,检测站514(例如,事件检测器)识别感兴趣的颗粒(或感兴趣的细胞)何时穿过监测区域511。检测站514馈入定时电路(timing circuit)528,该定时电路又馈入闪充电路(flash charge circuit)530。在由定时液滴延迟( $\Delta t$ )通知的液滴中断点,能够向移动的流体柱508施加闪充,使得感兴趣的液滴携带电荷。感兴趣的液滴能够包括一个或更多个待分选的颗粒或细胞。然后,能够通过激活偏转板(未示出)将带电的液滴偏转到容器(例如收集管或多孔或微孔样本板)中来对带电的液滴进行分选,其中孔或微孔能够与特定感兴趣的液滴相关联。如图5A所示,液滴能够收集在排放容器538中。

[0163] 检测系统516(例如,液滴边界检测器)用于在感兴趣的颗粒通过监测区域511时自动确定液滴驱动信号的相位。在美国专利No.7,679,039中描述了示例性的液滴边界探测器,其全部内容通过引用并入本文。检测系统516允许仪器准确地计算每个检测到的颗粒在液滴中的位置。检测系统516能够馈入幅度信号520和/或相位518信号,该信号(经由放大器522)又馈入幅度控制电路526和/或频率控制电路524。幅度控制电路526和/或频率控制电路524又控制液滴形成换能器502。幅度控制电路526和/或频率控制电路524能够包括在控制系统中。

[0164] 在一些实施方式中,分选电子设备(例如,检测系统516、检测站514和处理器540)能够与存储器耦合,该存储器被配置为存储检测到的事件和基于其的分选决策。分选决策能够包括在颗粒的事件数据中。在一些实施方式中,检测系统516和检测站514能够被实现为单个检测单元或通信耦合,使得事件测量能够由检测系统516或检测站514中的一个收集并提供给非收集元件。

[0165] 图5B是根据本文呈现的一个实施例的颗粒分选器系统的示意图。图5B所示的颗粒分选系统500包括偏转板552和554。电荷能够通过倒钩中(in a barb)的流充电线施加。这生成了包含用于分析的颗粒510的液滴流510。能够用一个或更多个光源(例如激光器)照射颗粒以生成光散射和荧光信息。例如通过分选电子设备或其他检测系统(图5B中未示出)来分析颗粒的信息。偏转板552和554能够被独立地控制以吸引或排斥带电的液滴,以朝向目的收集容器(例如,572、574、576或578中的一个)引导液滴。如图5B所示,偏转板552和554能够被控制为沿第一路径562朝向容器574或沿第二路径568朝向容器578引导颗粒。如果颗粒是不感兴趣的(例如,在指定的分选范围内不显示散射或照明信息),偏转板可以允许颗粒继续沿流动路径564。这种不带电的液滴可以例如经由抽吸器570进入废物容器。

[0166] 能够包括分选电子设备,以启动测量的收集、接收颗粒的荧光信号以及确定如何调节偏转板以使颗粒分选。图5B所示实施例的示例实施方式包括由Becton, Dickinson and Company (Franklin Lakes, NJ) 商业提供的BD FACSAria™系列流式细胞仪。

[0167] 计算机控制系统

[0168] 本公开的各方面还包括计算机控制系统,其中系统还包括用于完全自动化或部分自动化的一个或更多个计算机。在一些实施例中,系统包括具有计算机可读存储介质的计算机,该计算机可读存储介质具有在其上存储的计算机程序,其中计算机程序在加载到计算机上时包括:在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号的指令;用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器的指令;在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号的指令;以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的



检测器增益的指令,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0169] 在一些实施例中,计算机程序包括用于以在光电检测器的工作电压范围内确定来自光电检测器的背景数据信号的指令,例如其中计算机程序包括用于在光电检测器的整个工作电压范围内确定背景数据信号的指令。在一些情况下,计算机程序包括在每个检测器增益下向光电检测器施加触发信号的指令。在某些情况下,计算机程序包括利用函数生成器向光电检测器施加触发信号的指令。在一些实施例中,计算机程序包括以脉冲间隔向光电检测器施加触发信号的指令,例如其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的施加的触发脉冲。在某些实施例中,计算机程序包括用于施加多个触发信号的指令,每个触发信号具有相同的持续时间触发脉冲。在其他实施例中,计算机程序包括用于施加多个触发信号的指令,每个触发信号具有不同的持续时间触发脉冲。

[0170] 在一些实施例中,计算机程序包括用于在每个检测器增益下用增加的光强度照射所述光电检测器的指令。在一些情况下,计算机程序包括用于用光源以脉冲间隔在每个不同光源处照射光电检测器的指令,例如其中每个脉冲间隔包括在预定的持续时间内具有恒定光强度的光照射脉冲。在某些实施例中,计算机程序包括用于在每个检测器增益下用与施加的触发脉冲具有相同持续时间的光照射脉冲照射光电检测器的指令。

[0171] 在一些实施例中,计算机程序包括用于在每个检测器增益下为光强度生成多个数据信号的指令。在一些实施例中,计算机程序包括在每个检测器增益下将针对多个光强度生成的数据信号与背景数据信号进行比较的指令。在一些情况下,计算机程序包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,计算机程序包括确定最低光照射强度的指令,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,计算机程序包括将光检测系统中的一个或多个光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的指令,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0172] 在实施例中,系统包括输入模块,处理模块和输出模块。主题系统可以包括硬件部件和软件部件,其中硬件部件可以采取一个或多个平台的形式(例如服务器的形式),使得功能性元件,即执行系统的特定任务(例如管理信息的输入和输出、处理信息等)的系统的那些元件可以通过在由系统表示的一个或多个计算机平台上并且跨一个或多个计算机平台执行软件应用来执行。

[0173] 系统可以包括显示器和操作员输入设备。操作员输入设备可以是例如键盘、鼠标等。处理模块包括处理器,该处理器可以访问存储器,该存储器具有在其上存储的用于执行主题方法的步骤的指令。处理模块可以包括操作系统、图形用户界面(GUI)控制器、系统存储器、存储器存储设备和输入输出控制器、高速缓冲存储器、数据备份单元以及许多其他设备。处理器可以是市售处理器,也可以是已经或将要可用的其他处理器之一。处理器以众所周知的方式执行操作系统和操作系统与固件和硬件的接口,并便于处理器协调和执行各种计算机程序的功能,这些计算机程序可以用本领域已知的各种编程语言(例如Java、Perl、C++、其他高级或低级语言,以及它们的组合)编写。操作系统(通常与处理器协作)协调并执行计算机的其他部件的功能。操作系统还根据已知技术提供调度、输入输出控制、文件和数据管理、存储器管理以及通信控制和相关服务。处理器可以是任何合适的模拟或数字系统。

在一些实施例中,处理器包括模拟电子器件,该模拟电子器件允许用户基于第一光信号和第二光信号将光源与流动流手动地对齐。在一些实施例中,处理器包括提供反馈控制(例如负反馈控制)的模拟电子器件。

[0174] 系统存储器可以是各种已知或未来的存储器存储设备中的任何一种。示例包括任何常用的随机存取存储器(RAM)、磁介质(例如常驻(resident)硬盘或磁带)、光学介质(例如读写光盘)、闪存设备或其他存储器存储设备。存储器存储设备可以是各种已知的或未来的设备中的任何一种,包括光盘驱动器、磁带驱动器、可移动硬盘驱动器或软盘驱动器。这种类型的存储器存储设备通常从程序存储介质(未示出)读取和/或向程序存储介质写入,例如,分别为光盘、磁带、可移动硬盘或软盘。这些程序存储介质中的任何一种或现在使用或将来可能开发的其他程序存储介质都可以被认为是计算机程序产品。应当理解,这些程序存储介质通常存储计算机软件程序和/或数据。计算机软件程序(也称为计算机控制逻辑)通常存储在系统存储器和/或与存储器存储设备结合使用的程序存储设备中。

[0175] 在一些实施例中,描述了计算机程序产品,包括其中存储有控制逻辑(计算机软件程序,包括程序代码)的计算机可用介质。控制逻辑在由计算机处理器执行时使处理器执行本文描述的功能。在其他实施例中,一些功能主要使用例如硬件状态机在硬件中实现。实现硬件状态机以执行本文所述的功能对于相关领域的技术人员来说将是显而易见的。

[0176] 存储器可以是处理器能够在其中存储和检索数据的任何合适的设备,例如磁、光或固态存储设备(包括磁盘或光盘或磁带或RAM,或任何其他合适的设备,无论是固定的还是便携式的)。处理器可以包括通用数字微处理器,该通用微处理器从携带必要程序代码的计算机可读介质适当编程。编程能够通过通信信道远程提供给处理器,或者预先保存在计算机程序产品中,例如使用与存储器连接的那些设备的任一个的一些其他便携式或固定计算机可读存储介质或存储器。例如,磁盘或光盘可以携带编制程序,并且能够由磁盘写入器/读取器读取。本发明的系统还包括编程(例如,用于实践上述方法的计算机程序产品、算法形式的编程)。根据本发明的编程能够记录在计算机可读介质上(例如记录在能够由计算机直接读取和访问的任何介质上)。此类介质包括但不限于:磁存储介质,如软盘、硬盘存储介质和磁带;光存储介质,如CD-ROM;电存储介质,如RAM和ROM;便携式闪存驱动器;以及这些类别的混合,例如磁/光存储介质。

[0177] 处理器还可以访问通信信道以与远程位置的用户通信。远程位置是指用户不直接与系统接触,并将输入信息从外部设备(例如连接到广域网(WAN)、电话网络、卫星网络或任何其他合适的通信信道的计算机,包括移动电话(即智能手机))中继到输入管理器。

[0178] 在一些实施例中,根据本公开的系统可以被配置为包括通信接口。在一些实施例中,通信接口包括用于与网络和/或另一设备通信的接收器和/或发射器。通信接口能够被配置用于有线或无线通信,包括但不限于射频(RF)通信(例如,射频识别(RFID))、Zigbee通信协议、WiFi、红外、无线通用串行总线(USB)、超宽带(UWB)、Bluetooth®通信协议和蜂窝通信(例如码分多址(CDMA)或全球移动通信系统(GSM))。

[0179] 在一个实施例中,通信接口被配置为包括一个或更多个通信端口,例如物理端口或接口(如USB端口、RS-232端口或任何其他合适的电气连接端口),以允许主题系统与其他外部设备(例如配置用于类似的补充数据通信的计算机终端(例如,在医生办公室或医院环境中))之间的数据通信。

[0180] 在一个实施例中,通信接口被配置用于红外通信、Bluetooth®通信或任何其他合适的无线通信协议,以使主题系统能够与其他设备(例如计算机终端和/或网络、支持通信的移动电话、个人数字助手,或者用户可以结合使用的任何其他通信设备)通信。

[0181] 在一个实施例中,通信接口被配置为提供连接,该连接通过蜂窝电话网络、短消息服务(SMS)、连接到互联网的局域网(LAN)上的个人计算机(PC)的无线连接或在WiFi热点处的与互联网的WiFi连接,利用互联网协议(IP)进行数据传输。

[0182] 在一个实施例中,主题系统被配置为通过通信接口(例如,使用诸如802.11或Bluetooth®RF协议或IrDA红外协议的通用标准)与服务器设备无线通信。服务器设备可以是另一个便携式设备,例如智能电话、个人数字助手(PDA)或笔记本电脑;或大型设备,例如台式电脑、电器等。在一些实施例中,服务器设备具有显示器(例如液晶显示器(LCD))以及输入设备(例如按钮、键盘、鼠标或触摸屏)。

[0183] 在一些实施例中,通信接口被配置为使用上述通信协议和/或机制中的一个或更多个与网络或服务器设备自动或半自动地传送存储在主题系统中(例如存储在可选数据存储单元中)的数据。

[0184] 输出控制器可以包括用于向用户(无论是人还是机器,无论是本地的还是远程的)呈现信息的所有已知显示设备中的任何一种的控制器。如果显示设备之一提供了视觉信息,则该信息通常可以逻辑上和/或物理上被组织为图片元素的阵列。图形用户界面(GUI)控制器可以包括用于在系统与用户之间提供图形输入和输出界面以及用于处理用户输入的所有已知或未来软件程序中的任何一种。计算机的功能元件可以经由系统总线彼此通信。这些通信中的一些可以在替代实施例中使用网络或其他类型的远程通信来实现。根据已知技术,输出管理器还可以例如通过互联网、电话或卫星网络向远程位置的用户提供由处理模块生成的信息。输出管理器对数据的呈现可以根据各种已知技术来实现。作为一些示例,数据可以包括SQL、HTML或XML文档、电子邮件或其他文件,或其他形式的数据。数据可以包括互联网URL地址,使得用户可以从远程源检索附加的SQL、HTML、XML或其他文档或数据。主题系统中存在的一个或更多个平台可以是任何类型的已知计算机平台或将要开发的类型,尽管它们通常将是计算机的一类(通常称为服务器)。然而,它们也可以是大型计算机、工作站或其他计算机类型。它们可以通过任何已知或未来类型的线缆或包括无线系统的其他通信系统连接,无论是联网的还是以其他方式。它们可以是同地的,也可以在物理上分开。可能取决于所选择的计算机平台的类型和/或品牌,可以在任何计算机平台上采用各种操作系统。适当的操作系统包括Windows NT®、Windows XP、Windows 7、Windows 8、iOS、Sun Solaris、Linux、OS/400、Compaq Tru64 Unix、SGI IRIX、Siemens Reliant Unix等。

[0185] 图6描绘了根据某些实施例的示例计算设备600的总体架构。图6中描述的计算设备600的总体架构包括计算机硬件和软件部件的布置。计算设备600可以包括比图6所示的元件更多(或更少)的元件。然而,为了提供有利的公开,没有必要示出所有这些通常常规的元件。如图所示,计算设备600包括处理单元610、网络接口620、计算机可读介质驱动器630、输入/输出设备接口640、显示器650和输入设备660,所有这些都可以通过通信总线彼此通信。网络接口620可以提供与一个或更多个网络或计算系统的连接性。因此,处理单元610可以经由网络从其他计算系统或服务接收信息和指令。处理单元610还可以与存储器670通信,并且还可以经由输入/输出设备接口640为可选显示器650提供输出信息。输入/输出设

备接口640还可以接受来自可选输入设备660(例如键盘、鼠标、数字笔、麦克风、触摸屏、手势识别系统、语音识别系统、游戏手柄、加速度计、陀螺仪或其他输入设备)的输入。

[0186] 存储器670可以包含处理单元610执行以实现一个或多个实施例的计算机程序指令(在一些实施例中被分组为模块或部件)。存储器670通常包括RAM、ROM和/或其他永久性、辅助性或非暂时性计算机可读介质。存储器670可以存储操作系统672,该操作系统提供计算机程序指令以供处理单元610在计算设备600的一般管理和操作中使用。存储器670还可以包括用于实现本公开的方面的计算机程序指令和其他信息。

[0187] 用于调节光检测系统中光电检测器的灵敏度的非暂时性计算机可读存储介质

[0188] 本公开的各方面还包括具有用于实践主题方法的指令的非暂时性计算机可读存储介质。可以在用于系统的完全自动化或部分自动化的一台或更多台计算机上使用计算机可读存储介质,以实践实践本文所述的方法。在某些实施例中,根据本文描述的方法的指令能够以“编程”的形式被编码到计算机可读介质上,其中本文使用的术语“计算机可读介质”是指参与向计算机提供指令和数据以供执行和处理的任何非暂时性存储介质。合适的非暂时性存储介质的示例包括软盘、硬盘、光盘、磁光盘、CD-ROM、CD-R、磁带、非暂时性存储卡、ROM、DVD-ROM、蓝光光盘、固态磁盘和网络附加存储(NAS),无论这些设备是在计算机内部还是外部。包含信息的文件能够“存储”在计算机可读介质上,其中“存储”是指记录信息,使得其可以由计算机以后访问和检索。本文描述的计算机实现的方法能够以任意数量的计算机编程语言中的一种或更多种编写的编程来执行。例如,这些语言包括Java(Sun Microsystems, Inc., Santa Clara, CA)、Visual Basic(Microsoft Corp., Redmond, WA)和C++(AT&T Corp., Bedminster, NJ)以及许多其他语言。

[0189] 在一些实施例中,感兴趣的计算机可读存储介质包括存储在其上的计算机程序,其中计算机程序在加载到计算机上时包括指令,这些指令具有在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号的算法、用光源在多个不同的光强度下照射光电检测器的算法、在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号的算法以及将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的算法,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0190] 在一些实施例中,感兴趣的计算机可读存储介质包括存储在其上的计算机程序,其中计算机程序在加载到计算机上时包括指令,所述指令具有用于在多个检测器增益下从光电检测器生成背景数据信号的算法。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于以在光电检测器的工作电压范围内确定来自光电检测器的背景数据信号的算法,例如其中非暂时性计算机可读存储介质包括用于在光电检测器的整个工作电压范围内确定背景数据信号的算法。在一些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括在每个检测器增益下向光电检测器施加触发信号的算法。在某些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括利用函数生成器向光电检测器施加触发信号的算法。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括以脉冲间隔向光电检测器施加触发信号的算法,例如其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的施加的触发脉冲。在某些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括施加多个触发信号的算法,每个触发信号具有相同的持续时间触发脉冲。在其他实施例中,存储器包括施加多个触发信号的算法,每个触发信号具有不同的持续时间触发脉冲。

[0191] 在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括算法用于在每个检测器增益下用增加的光强度照射所述光电检测器的算法。在一些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括用于用光源以脉冲间隔在每个不同光源处照射光电检测器的算法,例如其中每个脉冲间隔包括在预定的持续时间内具有恒定光强度的光照射脉冲。在某些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于在每个检测器增益下用与施加的触发脉冲具有相同持续时间的光照射脉冲照射光电检测器的算法。

[0192] 在一些实施例中,本公开的非暂时性计算机可读存储介质包括用于在每个检测器增益下生成针对多个光强度的数据信号的算法。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括用于在每个检测器增益下,将针对多个光强度的生成的数据信号与背景数据信号进行比较的算法。在一些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括确定最低光照射强度的算法,该最低光照射强度在每个检测器增益下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在某些情况下,非暂时性计算机可读存储介质包括确定最低光照射强度的算法,该最低光照射强度在光电检测器的最低检测器增益设置下生成可从背景数据信号解析的数据信号。在一些实施例中,非暂时性计算机可读存储介质包括将光检测系统中的一个或多个光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的算法,该最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0193] 非暂时性计算机可读存储介质可用于具有显示器和操作员输入设备的一个或多个计算机系统。操作员输入设备可以是例如键盘、鼠标,或类似物。处理模块包括处理器,其可以访问其上存储有用于执行主题方法的步骤的指令的存储器。处理模块可以包括操作系统、图形用户界面(GUI)控制器、系统存储器、存储器存储设备和输入输出控制器、高速缓冲存储器、数据备份单元以及许多其他设备。处理器可以是市售处理器,也可以是已经或将要可用的其他处理器之一。如本领域已知的,处理器以众所周知的方式执行操作系统和操作系统与固件和硬件的接口,并便于处理器协调和执行各种计算机程序的功能,这些计算机程序可以用各种编程语言编写,例如Java、Perl、C++、其他高级或低级语言,以及它们的组合。操作系统通常与处理器协作,协调并执行计算机的其他部件的功能。操作系统还根据已知技术提供调度、输入输出控制、文件和数据管理、存储器管理、通信控制和相关服务。

[0194] 多光谱荧光颗粒

[0195] 如上所述,本公开的各方面还包括具有一个或多个荧光团的颗粒(例如,珠粒),用于实践本文所述的某些方法。根据某些实施例,感兴趣的颗粒可以包括单峰多荧光团珠粒,其提供跨越所有光源波长(例如,跨越系统的所有LEDs或激光器)和跨越光电检测器的检测波长的明亮光电检测器信号。

[0196] 在实施例中,主题颗粒被配制(例如,在流体组合中)以用于在由如上所述的光源照射的流动流中流动。每个颗粒可以具有一种或更多种不同类型的荧光团,例如2种或更多种、或3种或更多种、或4种或更多种、或5种或更多种、或6种或更多种、或7种或更多种、或8种或更多种、或9种或更多种、或10种或更多种、或11种或更多种、或12种或更多种、或13种或更多种、或14种或更多种、或15种或更多种、或16种或更多种、或17种或更多种、或18种或更多种、或19种或更多种、或20种或更多种、或25种或更多种、或30种或更多种、或35种或更多种、或40种或更多种、或45种或更多种、50种或更多种不同类型的荧光团。例如,每个颗粒可以包括2种、或3种、或4种、或5种、或6种、或7种、或8种、或9种、或10种、或11种、或12种、或

13种、或14种、或15种、或16种、或17种、或18种、或19种、或20种不同类型的荧光团。

[0197] 在实施例中,每个荧光团稳定地与颗粒相关联。稳定关联是指荧光团不容易从颗粒中解离以与液体介质(例如水性介质)接触。在一些实施例中,一个或更多个荧光团与颗粒共价偶联。在其他实施例中,一个或更多个荧光团与颗粒物理关联(即非共价偶联)。在其他实施例中,一个或更多个荧光团共价共轭于颗粒,并且一个或更多个荧光团与颗粒物理关联。

[0198] 在一些实施例中,每个颗粒包括2种或更多种不同类型的荧光团。如果任何两个荧光团在分子式、激发最大值和发射最大值中的一个或更多个方面彼此不同,则认为它们是区别不同的。因此,不同或区别的荧光团可以在化学组成或荧光团的一种或更多种性质方面彼此不同。例如,不同的荧光体可能因激发最大值和发射最大值中的至少一个而彼此不同。在某些情况下,不同的荧光团因其激发最大值而彼此不同。在某些情况下,不同的荧光团因其发射最大值而彼此不同。在某些情况下,不同的荧光团因其激发最大值和发射最大值两者而彼此不同。这样,在包括第一和第二荧光团的实施例中,第一和第二荧光团可以通过激发最大值和发射最大值中的至少一个彼此不同。例如,第一和第二荧光团可以在激发最大值、发射最大值或激发和发射最大值两者上彼此不同。如果给定的一组荧光团在激发或发射最大值方面彼此不同,则可以认为它们是不同的,其中这种差异的大小在某些情况下为5nm或更大,例如10nm或更大,包括15nm或更大,其中在一些情况下,差异的大小为5至400nm,例如10至200nm,包括15至100nm,例如25至50nm。

[0199] 根据某些实施例,感兴趣的荧光团具有100nm至800nm,例如150nm至750nm、例如200nm至700nm、例如250nm至650nm、例如300nm至600nm并且包括400nm至500nm的激发最大值。根据某些实施例,感兴趣的荧光团具有400nm至1000nm,例如450nm至950nm、例如500nm至900nm、例如550nm至850nm并且包括600nm至800nm的发射最大值。在某些情况下,荧光团是发光染料,例如峰值发射波长为200nm或更大、例如250nm或更大、例如300nm或更大、例如350nm或更大、例如400nm或更大、例如450nm或更大、例如500nm或更大、例如550nm或更大、例如600nm或更大、例如650nm或更大、例如700nm或更大、例如750nm或更大、例如800nm或更大、例如850nm或更大、例如900nm或更大、例如950nm或更大、例如1000nm或更大并且包括峰值发射波长为1050nm或更大的荧光染料。例如,荧光团可以是峰值发射波长为200nm至1200nm,例如300nm至1100nm、例如400nm至1000nm、例如500nm至900nm的荧光染料并且包括峰值发射波长为600nm至800nm的荧光染料。在某些实施例中,主题多光谱颗粒通过激光提供稳定的激发,所述激光以349nm(UV激光)、488nm(蓝色激光)、532nm(Nd:YAG固态激光)、640nm(红色激光)和405nm(紫色激光)或约349nm的波长照射。在某些情况下,主题的多光谱颗粒在全光谱检测波段(例如350nm至850nm)上提供光源的稳定激发。

[0200] 感兴趣的荧光团可以包括但不限于,博迪皮染料、香豆素染料、罗丹明染料、吖啶染料、葱醌染料、芳基甲烷染料、二芳基甲烷染料、含叶绿素染料、三芳基甲烷染料、偶氮染料、重氮染料、硝基染料、亚硝基染料、酞菁染料、花青染料、不对称花青染料,欧霍丁染料、藏红染料、吖达明、吖啶酚染料、氟染料、恶嗪染料、恶脞染料、噻嗪染料、噻唑染料、黄嘌呤染料、芴染料、焦宁染料、氟染料、若丹明染料、菲啶染料、方烷、二苯甲酮、邻苯二甲酸方烷、萘、香豆素、恶二唑、葱、茈、吖啶、芳基亚胺,或四吡咯及其组合。在某些实施例中,缀合物可以包括两种或更多种染料,例如选自博迪皮染料、香豆素染料、罗丹明染料、吖啶染料、葱醌

染料、芳基甲烷染料、二芳基甲烷染料、含叶绿素染料、三芳基甲烷染料、偶氮染料、重氮染料、硝基染料、亚硝基染料、酞菁染料、花青染料、不对称花青染料、欧霍丁染料、藏红染料、吲达明、吲哚酚染料、氟染料、恶嗪染料、恶脞染料、噻嗪染料、噻唑染料、黄嘌呤染料、苋染料、焦宁染料、氟染料、若丹明染料、菲啉染料、方烷、二苯甲酮、邻苯二甲酸方烷、萘、香豆素、恶二唑、葱、茈、吡啶、芳基亚胺,或四吡咯及其组合的两种或更多种染料。

[0201] 在某些实施例中,感兴趣的荧光团可以包括但不限于异硫氰酸荧光素 (FITC)、藻红蛋白 (PE) 染料、皮昔叶绿素蛋白花青染料 (例如 PerCP-Cy5.5)、藻蓝蛋白花青 (PE-Cy7) 染料 (PE-Cy 7)、异藻蓝蛋白 (APC) 染料 (例如 APC-R700)、异卵蓝蛋白花蓝染料 (例如, APC-Cy7)、香豆素染料 (例如 V450 或 V500)。在某些情况下,荧光团可以包括一种或更多种 1,4-双(邻甲基苯乙烯基)-苯(双MSB 1,4-二[2-(2-甲基苯基)乙烯基]-苯)、C510染料、C6染料、尼罗红染料、T614染料 (例如, N-[7-(甲磺酰胺基)-4-氧代-6-苯氧基苯并噻唑-3-基]甲酰胺)、LDS 821染料 ((2-(6-(对二甲氨基苯基)-2,4-新戊烯-1,3,5-己三烯基)-3-乙基苯并噻唑鎓高氯酸盐)、mFluor染料 (例如 mFluor 红染料如 mFluor780NS)。

[0202] 颗粒可以是用于如上所述的光源照射的任何方便的形状。在一些情况下,颗粒是一种固体载体,其形状或配置为圆盘、球体、卵形、立方体、块状、锥形等,以及不规则形状。在一些情况下,颗粒的质量可以变化为 0.01mg 至 20mg,例如 0.05mg 至 19.5mg、例如 0.1mg 至 19mg、例如 0.5mg 至 18.5mg、例如 1mg 至 18mg、例如 1.5mg 至 17.5mg、例如 2mg 至 15mg 并且包括 3mg 至 10mg。颗粒的表面积可以为 0.01mm<sup>2</sup> 或更大,例如 0.05mm<sup>2</sup> 或更大、例如 0.1mm<sup>2</sup> 或更大、例如 0.5mm<sup>2</sup> 或更大、例如 1mm<sup>2</sup> 或更大,例如 1.5mm<sup>2</sup> 或更大、例如 2mm<sup>2</sup> 或更大、例如 2.5mm<sup>2</sup> 或更大,例如 3mm<sup>2</sup> 或更大、例如 3.5mm<sup>2</sup> 或更大、例如 4mm<sup>2</sup> 或更大、例如 4.5mm<sup>2</sup> 或更大并且包括 5mm<sup>2</sup> 或更大 (例如使用 Vertex 系统或等效物确定)。

[0203] 根据需要,颗粒的尺寸可以变化,其中在一些情况下,颗粒具有的最长尺寸为 0.01mm 至 10mm,例如 0.05mm 至 9.5mm、例如 0.1mm 至 9mm、例如 0.5mm 至 8.5mm、例如 1mm 至 8mm、例如 1.5mm 至 7.5mm、例如 2mm 至 7mm、例如 2.5mm 至 6.5mm 并且包括 3mm 至 6mm。在某些情况下,颗粒的最短尺寸为 0.01mm 至 5mm,例如 0.05mm 至 4.5mm、例如 0.1mm 至 4mm、例如 0.5mm 至 3.5mm 并且包括 1mm 至 3mm。

[0204] 在某些情况下,感兴趣的颗粒是多孔的,例如颗粒的孔隙度为 5 $\mu$ -100 $\mu$ ,例如 10 $\mu$ -90 $\mu$ 、例如 15 $\mu$ -85 $\mu$ 、例如 20 $\mu$ -80 $\mu$ 、例如 25 $\mu$ -75 $\mu$  并且包括 30 $\mu$ -70 $\mu$ ,如 50 $\mu$ ,如使用毛细管流量计或等效物测定的。

[0205] 颗粒可以由任何方便的材料形成。在一些实施例中,感兴趣的是具有低或无自荧光的颗粒,例如珠粒。合适的材料包括但不限于玻璃材料 (例如硅酸盐)、陶瓷材料 (例如磷酸钙)、金属材料 and 聚合物材料等,例如聚乙烯、聚丙烯、聚四氟乙烯、聚氟乙烯,及类似物。在某些情况下,颗粒由固体载体形成,例如美国公布申请出版物号 9,797,899 中所述的多孔基质,其公开内容通过引用并入本文。因此,颗粒的表面积可以是任何合适的大孔或微孔基材,其中合适的大孔和微孔基材包括但不限于陶瓷基质、熔块 (例如烧结玻璃)、聚合物基质以及金属有机聚合物基质。在一些实施例中,多孔基质是熔块。术语“熔块”在本文中以其常规意义用于指由烧结粒状固体如玻璃形成的多孔组合物。根据用于制备熔块的烧结颗粒的类型,熔块可能具有不同的化学成分,其中可能使用的熔块包括但不限于铝硅酸盐、三氧化硼、硼磷硅玻璃、硼硅酸盐玻璃、陶瓷釉、钴玻璃、蔓越莓玻璃、氟磷酸盐玻璃、氟硅酸盐玻



璃、熔石英、二氧化锆、金属和硫化物嵌入硼硅酸盐、铅玻璃、磷酸盐玻璃、五氧化二磷玻璃、磷硅酸盐玻璃、硅酸钾、钠钙玻璃、六偏磷酸钠玻璃、硅酸钠、碲酸盐玻璃、铀玻璃、微镜煤及其组合。在一些实施例中，多孔基质为玻璃熔块，如硼硅酸盐、铝硅酸盐、氟硅酸盐、硅酸钾或硼磷硅玻璃熔块。

[0206] 在一些实施例中，颗粒是由多孔有机聚合物形成的。感兴趣的多孔有机聚合物根据样本体积、样本中的成分以及检测试剂的不同而不同，可能包括但不限于多孔聚乙烯、聚丙烯、聚四氟乙烯 (PTFE)、聚偏氟乙烯 (PVDF)、醋酸乙烯酯 (EVA)、聚碳酸酯、聚碳酸酯合金、聚氨酯、聚醚砜、共聚物及其组合。例如，感兴趣的多孔聚合物包括均聚物、聚合体和由苯乙烯等单体单元组成的共聚物、乙烯基苯乙烯、 $\alpha$ -甲基苯乙烯、乙烯基甲苯和乙烯基乙苯等单烯烃丙炔单体；(甲基)丙烯酸酯类如(甲基)丙烯酸甲酯、(甲基)丙烯酸乙酯、(甲基)丙烯酸丁酯、(甲基)丙烯酸异丁酯、(甲基)丙烯酸异癸酯、(甲基)丙烯酸2-乙基己酯、(甲基)丙烯酸十二酯、(甲基)丙烯酸十八酯、(甲基)丙烯酸环己酯、(甲基)丙烯酸苄酯等；含氯单体如氯乙烯、偏二氯乙烯、氯甲基苯乙烯等；丙烯腈类化合物，如丙烯腈和甲基丙烯腈；以及乙酸乙烯酯、丙酸乙烯酯、正十八烷基丙烯酰胺、乙烯、丙烯和丁烷及其组合。

[0207] 在一些实施例中，颗粒是由金属有机聚合物基质形成的，例如具有骨架结构的有机聚合物基质，其中含有金属如铝、钡、铈、钙、铬、铜、铟、锆、铁、铅、锂、磷、钾、硅、钽、锡、钛、钒、锌或锆。在一些实例中，多孔金属有机基质是有机硅氧烷聚合物，包括但不限于三甲氧基硅烷、二甲基二甲氧基硅烷、正硅酸乙酯、甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷、双(三乙氧基硅基)乙烷、双(三乙氧基硅基)丁烷、双(三乙氧基硅基)戊烷、双(三乙氧基硅基)己烷、双(三乙氧基硅基)庚烷、双(三乙氧基硅基)辛烷及其组合。

[0208] 套件

[0209] 本公开的各方面还包括套件，其中套件包括本文描述的光检测系统的部件的一个或多个。在一些实施例中，套件包括光电检测器和用于主题系统的编程，例如以计算机可读介质(例如，闪存驱动器、USB存储器、光盘、DVD、蓝光光盘等)的形式，或用于从互联网网络协议或云服务器下载编程的指令。在一些实施例中，套件包括触发器信号生成器，如函数生成器或函数生成器集成电路。套件还可以包括光学调节部件，例如透镜、反射镜、滤波器、光纤、波长分离器、针孔、狭缝、准直协议及其组合。

[0210] 套件可能还包括用于实践主题方法的指令。这些指令可能以多种形式存在于主题套件中，其中一种或更多种形式可能存在于套件中。这些指令可以呈现的一种形式是在合适的介质或基底上打印信息，例如，在套件的包装中、在包装插入物，及类似物中打印信息的一张或多张纸。但这些指令的另一种形式是已记录了信息的计算机可读介质，例如软盘、光盘(CD)、便携式闪存驱动器，及类似物。但可能存在的这些指令的另一种形式是网站地址，该网站地址可以通过互联网访问被移除的站点的信息。

[0211] 实用性

[0212] 主题方法、系统和计算机系统可用于需要校准或优化光电检测器的各种应用中(例如在颗粒分析器中)。主题方法和系统还可用于光电检测器，用于分析和分选流体介质(例如生物样本)中样本中的颗粒成分。本公开还可用于流式细胞术，其中期望提供在细胞分选期间具有改进的细胞分选精度、增强的颗粒收集、降低的能量消耗、有颗粒充电效率、更精确的颗粒充电和增强的颗粒偏转的流式细胞仪。在实施例中，本公开减少了在使用流



式细胞仪进行样本分析期间对用户输入或手动调节的需要。在某些实施例中，主题方法和系统提供了完全自动化的协议，使得在使用期间对流式细胞仪的调节几乎不需要人工输入。

[0213] 本文描述的主题物的各方面(包括实施例)可以单独或与一个或多个其他方面或实施例有益地结合。在不限制描述的情况下，下面提供了编号为1-111的本公开的某些非限制性的方面。如本领域技术人员在阅读本公开后将显而易见的，每个单独编号的方面可以与前面或后面单独编号的任何方面一起使用或组合。这旨在为所有这些方面的组合提供支持，并且不限于以下明确提供的方面的组合：

[0214] 1、一种用于调节颗粒分析器的光检测系统中的光电检测器的灵敏度的方法，所述方法包括：

[0215] 在多个检测器增益下确定来自所述光电检测器的背景数据信号；

[0216] 用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器；

[0217] 在每个检测器增益下，针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号；和

[0218] 将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益，所述最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0219] 2、根据1所述的方法，其中，确定所述背景数据信号包括向所述光电检测器施加触发信号。

[0220] 3、根据2所述的方法，其中，在每个检测器增益下向光电检测器施加触发信号。

[0221] 4、根据2至3中任一项所述的方法，其中利用函数生成器向光电检测器施加触发信号。

[0222] 5、根据2至4中任一项所述的方法，其中以脉冲间隔向所述光电检测器施加触发信号。

[0223] 6、根据5所述的方法，其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的触发脉冲。

[0224] 7、根据6所述的方法，其中在每个检测器增益下施加的每个触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。

[0225] 8、根据1至7中任一项所述的方法，其中以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射光电检测器。

[0226] 9、根据8所述的方法，其中每个照射脉冲间隔包括具有预定的持续时间的光照射脉冲。

[0227] 10、根据9所述的方法，其中每个光照射脉冲的持续时间与在每个检测器增益下施加的触发信号的触发脉冲的持续长度相同。

[0228] 11、根据1至10中任一项所述的方法，其中在每个检测器增益下用光源在增加的光强度下照射光电检测器。

[0229] 12、根据11所述的方法，其中所述光源的强度以预定的增量增加。

[0230] 13、根据11至12中任一项所述的方法，其中所述方法还包括在每个检测器增益下确定具有可解析的数据信号的最低光照射强度。

[0231] 14、根据1至13中任一项所述的方法，其中所述光源是连续波光源。

[0232] 15、根据14所述的方法，其中所述连续波光源是发光二极管。

[0233] 16、根据14至15中任一项所述的方法，其中所述光源是窄带宽光源。

- [0234] 17、根据16所述的方法,其中所述光源发射包括跨度为20nm或更小的波长的光。
- [0235] 18、根据1至17中任一项所述的方法,其中所述颗粒分析器包括在流式细胞仪中。
- [0236] 19、根据1至18中任一项所述的方法,其中所述光电检测器位于所述颗粒分析器中,以检测来自流动流中颗粒的光。
- [0237] 20、根据1至19中任一项所述的方法,其中所述光电检测器包括光电二极管。
- [0238] 21、根据20所述的方法,其中所述光电检测器还包括放大器。
- [0239] 22、根据21所述的方法,其中所述放大器是跨阻抗放大器。
- [0240] 23、一种方法,包括:
- [0241] 在多个检测器增益下确定来自光电检测器的背景数据信号;
- [0242] 用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器;
- [0243] 在每个检测器增益下,针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号;和
- [0244] 将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,所述最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。
- [0245] 24、根据23所述的方法,其中确定所述背景数据信号包括向所述光电检测器施加触发信号。
- [0246] 25、根据24所述的方法,其中在每个检测器增益下向光电检测器施加触发信号。
- [0247] 26、根据24-25中任一项所述的方法,其中利用函数生成器向光电检测器施加触发信号。
- [0248] 27、根据24至26中任一项所述的方法,其中以脉冲间隔向所述光电检测器施加触发信号。
- [0249] 28、根据27所述的方法,其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的触发脉冲。
- [0250] 29、根据28所述的方法,其中在每个检测器增益下施加的每个触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。
- [0251] 30、根据23至29中任一项所述的方法,其中以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射光电检测器。
- [0252] 31、根据30所述的方法,其中每个照射脉冲间隔包括具有预定的持续时间的光照射脉冲。
- [0253] 32、根据31所述的方法,其中每个光照射脉冲的持续时间与在每个检测器增益下施加的触发信号的触发脉冲的持续长度相同。
- [0254] 33、根据23至32中任一项所述的方法,其中在每个检测器增益下用光源在增加的光强度下照射光电检测器。
- [0255] 34、根据33所述的方法,其中所述光源的强度以预定的增量增加。
- [0256] 35、根据33至34中任一项所述的方法,其中所述方法还包括在每个检测器增益下确定具有可解析的数据信号的最低光照射强度。
- [0257] 36、根据23至25中任一项所述的方法,其中所述光源是连续波光源。
- [0258] 37、根据36所述的方法,其中所述连续波光源是发光二极管。
- [0259] 38、根据36至37中任一项所述的方法,其中所述光源是窄带宽光源。
- [0260] 39、根据38所述的方法,其中所述光源发射包括跨度为20nm或更小的波长的光。
- [0261] 40、根据20至37中任一项所述的方法,其中所述光电检测器位于流式细胞仪中。

- [0262] 41、根据40所述的方法,其中所述流式细胞仪包括用于在流中传播颗粒的流动池。
- [0263] 42、根据23至41中任一项所述的方法,其中所述光电检测器包括光电二极管。
- [0264] 43、根据42所述的方法,其中所述光电检测器还包括放大器。
- [0265] 44、根据43所述的方法,其中所述放大器是跨阻抗放大器。
- [0266] 45、一种颗粒分析器,包括:
- [0267] 光源;
- [0268] 光检测系统,其位于所述颗粒分析器的壳体中,所述光检测系统包括光电检测器;  
和
- [0269] 处理器,其包括可操作地耦合到所述处理器的存储器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器:
- [0270] 在多个检测器增益下确定来自所述光电检测器的背景数据信号;
- [0271] 用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器;
- [0272] 在每个检测器增益下,针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号;和
- [0273] 将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,所述最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。
- [0274] 46、根据45所述的颗粒分析器,其中所述颗粒分析器并入流式细胞仪中。
- [0275] 47、根据45至46中任一项所述的颗粒分析器,其中所述光电检测器位于所述颗粒分析器中,以检测来自流动流中颗粒的光。
- [0276] 48、根据45至47所述的颗粒分析器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器向所述光电检测器施加触发信号。
- [0277] 49、根据48所述的颗粒分析器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器向所述光电检测器施加触发信号。
- [0278] 50、根据48至49中任一项所述的颗粒分析器,其中所述颗粒分析器还包括函数生成器,所述函数生成器被配置为在每个检测器增益下向所述光电检测器施加所述触发信号。
- [0279] 51、根据45至50中任一项所述的颗粒分析器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得处理器以脉冲间隔向所述光电检测器施加触发信号。
- [0280] 52、根据51所述的颗粒分析器,其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的触发脉冲。
- [0281] 53、根据52所述的颗粒分析器,其中每个触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。
- [0282] 54、根据45至53中任一项所述的颗粒分析器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得所述处理器以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射所述光电检测器。
- [0283] 55、根据54所述的颗粒分析器,其中每个照射脉冲间隔包括具有预定的持续时间的光照射脉冲。
- [0284] 56、根据55所述的颗粒分析器,其中每个光照射脉冲的持续时间与在每个检测器增益下施加的触发信号的触发脉冲的持续长度相同。

[0285] 57、根据45至56中任一项所述的颗粒分析器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得所述处理器在每个检测器增益下以增加的光强度用所述光源照射所述光电检测器。

[0286] 58、根据57所述的颗粒分析器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器以预定的增量增加所述光源的强度。

[0287] 59、根据57至58中任一项所述的颗粒分析器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得所述处理器在每个检测器增益下确定具有可解析的数据信号的最低光照射强度。

[0288] 60、根据45至59中任一项所述的颗粒分析器,其中所述光源是连续波光源。

[0289] 61、根据60所述的颗粒分析器,其中所述连续波光源是发光二极管。

[0290] 62、根据60至61中任一项所述的颗粒分析器,其中所述光源是窄带宽光源。

[0291] 63、根据62所述的颗粒分析器,其中所述光源发射包括跨度为20nm或更小的波长的光。

[0292] 64、根据45至63中任一项所述的颗粒分析器,其中所述颗粒分析器包括在流式细胞仪中。

[0293] 65、根据45至64中任一项所述的颗粒分析器,其中所述光电检测器包括光电二极管。

[0294] 66、根据65所述的颗粒分析器,其中所述光电检测器还包括放大器。

[0295] 67、根据66所述的颗粒分析器,其中所述放大器是跨阻抗放大器。

[0296] 68、一种系统,包括:

[0297] 光源;

[0298] 光检测系统,包括光电检测器;和

[0299] 处理器,包括可操作地耦合到所述处理器的存储器,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器:

[0300] 在多个检测器增益下确定来自所述光电检测器的背景数据信号;

[0301] 用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器;

[0302] 在每个检测器增益下,针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号;和

[0303] 将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益,所述最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0304] 69、根据68所述的系统,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器向所述光电检测器施加触发信号。

[0305] 70、根据69所述的系统,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器在每个检测器增益下向所述光电检测器施加触发信号。

[0306] 71、根据69至70中任一项所述的系统,其中所述系统还包括函数生成器,所述函数生成器被配置为在每个检测器增益下向所述光电检测器施加所述触发信号。

[0307] 72、根据68至71中任一项所述的系统,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使处理器以脉冲间隔向所述光电检测器施加触发信号。

[0308] 73、根据72所述的系统,其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的触发脉冲。

[0309] 74、根据73所述的系统,其中每个触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。

[0310] 75、根据68至74中任一项所述的系统,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得所述处理器以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射所述光电检测器。

[0311] 76、根据75所述的系统,其中每个照射脉冲间隔包括具有预定的持续时间的光照射脉冲。

[0312] 77、根据75所述的系统,其中每个光照射脉冲的持续时间与在每个检测器增益下施加的触发信号的触发脉冲的持续长度相同。

[0313] 78、根据68至77中任一项所述的系统,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使得所述处理器在每个检测器增益下以增加的光强度用所述光源照射所述光电检测器。

[0314] 79、根据78所述的系统,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由所述处理器执行时,使所述处理器以预定的增量增加所述光源的强度。

[0315] 80、根据78至79中任一项所述的系统,其中所述存储器包括存储在其上的指令,所述指令在由处理器执行时,使所述处理器确定最低光照射强度,该最低光照射强度在每个检测器增益下具有可解析的数据信号。

[0316] 81、根据68至80中任一项所述的系统,其中所述光源是连续波光源。

[0317] 82、根据81所述的系统,其中所述连续波光源是发光二极管。

[0318] 83、根据80至82中任一项所述的系统,其中所述光源是窄带宽光源。

[0319] 84、根据83所述的系统,其中所述光源发射包括跨度为20nm或更小的波长的光。

[0320] 85、根据68至84中任一项所述的系统,其中所述光电检测器包括光电二极管。

[0321] 86、根据85所述的系统,其中所述光电检测器还包括放大器。

[0322] 87、根据86所述的系统,其中所述放大器是跨阻抗放大器。

[0323] 88、根据68至87中任一项所述的系统,其中所述光电检测器位于流式细胞仪中。

[0324] 89、根据88所述的系统,其中所述流式细胞仪包括用于在流中传播颗粒的流动池。

[0325] 90、根据89所述的系统,其中所述光电检测器被定位以检测来自所述流动流中的颗粒的光。

[0326] 91、一种非暂时性计算机可读存储介质,包括存储在其上的用于调节颗粒分析器的光检测系统中的光电检测器的灵敏度的指令,所述指令包括:

[0327] 在多个检测器增益下确定来自所述光电检测器的背景数据信号的算法;

[0328] 用光源在多个不同的光强度下照射所述光电检测器的算法;

[0329] 在每个检测器增益下针对多个光强度生成来自光电检测器的数据信号的算法;和

[0330] 将光电检测器调节到与最低光照射强度相对应的检测器增益的算法,所述最低光照射强度生成可从背景数据信号解析的数据信号。

[0331] 92、根据声明91所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括向所述光电检测器施加触发信号的算法。

[0332] 93、根据声明92所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括在每个检测器增益下向所述光电检测器施加触发信号的算法。

[0333] 94、根据92至93中任一项所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括利用函数生成器向所述光电检测器施加触发信号的算法。

[0334] 95、根据92至94中任一项所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括以脉冲间隔向所述光电检测器施加触发信号的算法。

[0335] 96、根据声明95所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中每个脉冲间隔包括具有预定的持续时间的触发脉冲。

[0336] 97、根据声明96所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中在每个检测器增益下施加的每个触发信号的触发脉冲具有相同的持续时间。

[0337] 98、根据91至97中任一项所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括以脉冲间隔用光源在每个不同的光强度下照射光电检测器的算法。

[0338] 99、根据98所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中每个照射脉冲间隔包括具有预定的持续时间的光照射脉冲。

[0339] 100、根据99所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中每个光照射脉冲的持续时间与在每个检测器增益下施加的触发信号的触发脉冲的持续长度相同。

[0340] 101、根据91至100中任一项所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括用于在每个检测器增益下以增加的光强度用光源照射光电检测器的算法。

[0341] 102、根据101所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括用于以预定的增量增加光源的强度的算法。

[0342] 103、根据101至102中任一项所述的非暂时性计算机可读存储介质,其中所述非暂时性计算机可读存储介质包括用于在每个检测器增益下确定具有可解析数据信号的最低光照射强度的算法。

[0343] 104、一种套件,包括:

[0344] 光电检测器;以及

[0345] 函数生成器,其被配置为向所述光电检测器施加触发信号。

[0346] 105、根据104所述的套件,其中所述函数生成器是函数生成器集成电路。

[0347] 106、根据104至105中任一项所述的套件,还包括光源。

[0348] 107、根据106所述的套件,其中所述光源是连续波光源。

[0349] 108、根据106至107中任一项所述的套件,其中所述光源是窄带宽光源。

[0350] 109、根据104至108中任一项所述的套件,其中所述光电检测器包括光电二极管。

[0351] 110、根据109所述的套件,其中所述套件还包括放大器。

[0352] 111、根据110所述的套件,其中所述放大器是跨阻抗放大器。

[0353] 尽管为了清楚理解的目的,已经通过图示和示例的方式对上述发明进行了一些详细描述,但是根据本发明的教导,对于本领域普通技术人员来说显而易见的是,在不脱离所附权利要求的精神或范围的情况下,可以对其进行某些改变和修改。

[0354] 因此,前面仅说明了本发明的原理。应当理解,本领域技术人员将能够设计各种装置,这些装置尽管本文没有明确描述或示出,但体现了本发明的原理,并且包括在本发明的精神和范围内。此外,本文列举的所有示例和条件语言主要旨在帮助读者理解本发明的原理和发明人对本领域的进一步发展所贡献的概念,并且应理解为不限于这些具体列举的示例和条件。此外,本文中引用本发明的原理、方面和实施例以及其具体示例的所有陈述旨

在涵盖其结构和功能等效物。此外,预期此类等效物包括当前已知的等效物和未来开发的等效物(即,无论结构如何,所开发的执行相同功能的任何元件)。此外,本文所公开的任何内容均不旨在贡献给公众,无论这种公开是否在权利要求书中明确记载。

[0355] 因此,本发明的范围不旨在限于本文所示和描述的示例性实施例。相反,本发明的范围和精神由所附权利要求书体现。在权利要求书中,35 U.S.C. §112(f) 或35 U.S.C. §112(6) 被明确定义为仅当权利要求书的此类限制开始引用确切短语“用于…的装置”或确切短语“用于…的步骤”时,才援引权利要求中的限制;如果在权利要求中的限制中没有使用这样的确切短语,则不援引35 U.S.C. §112(f) 或35 U.S.C. §112(6)。

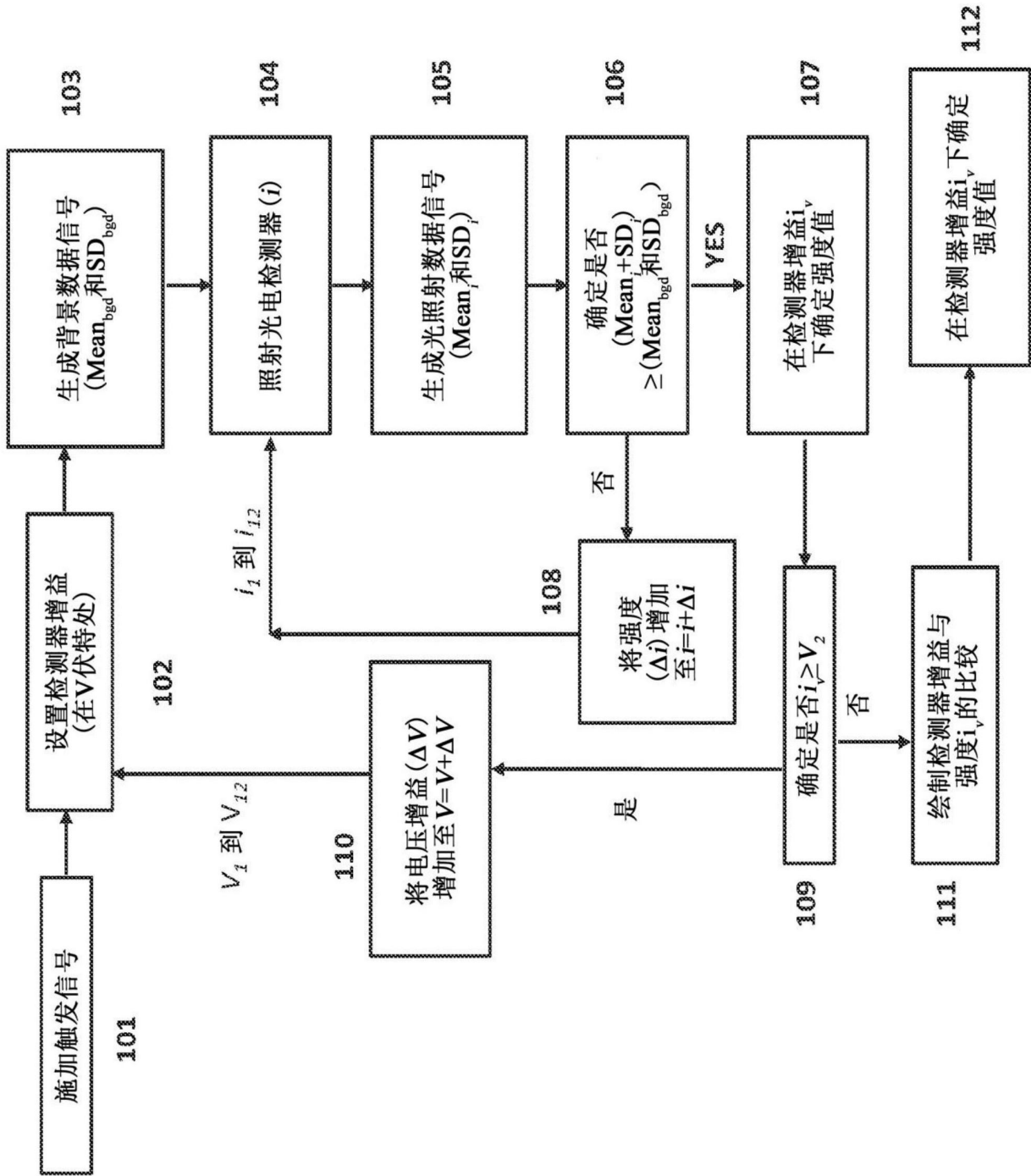


图1



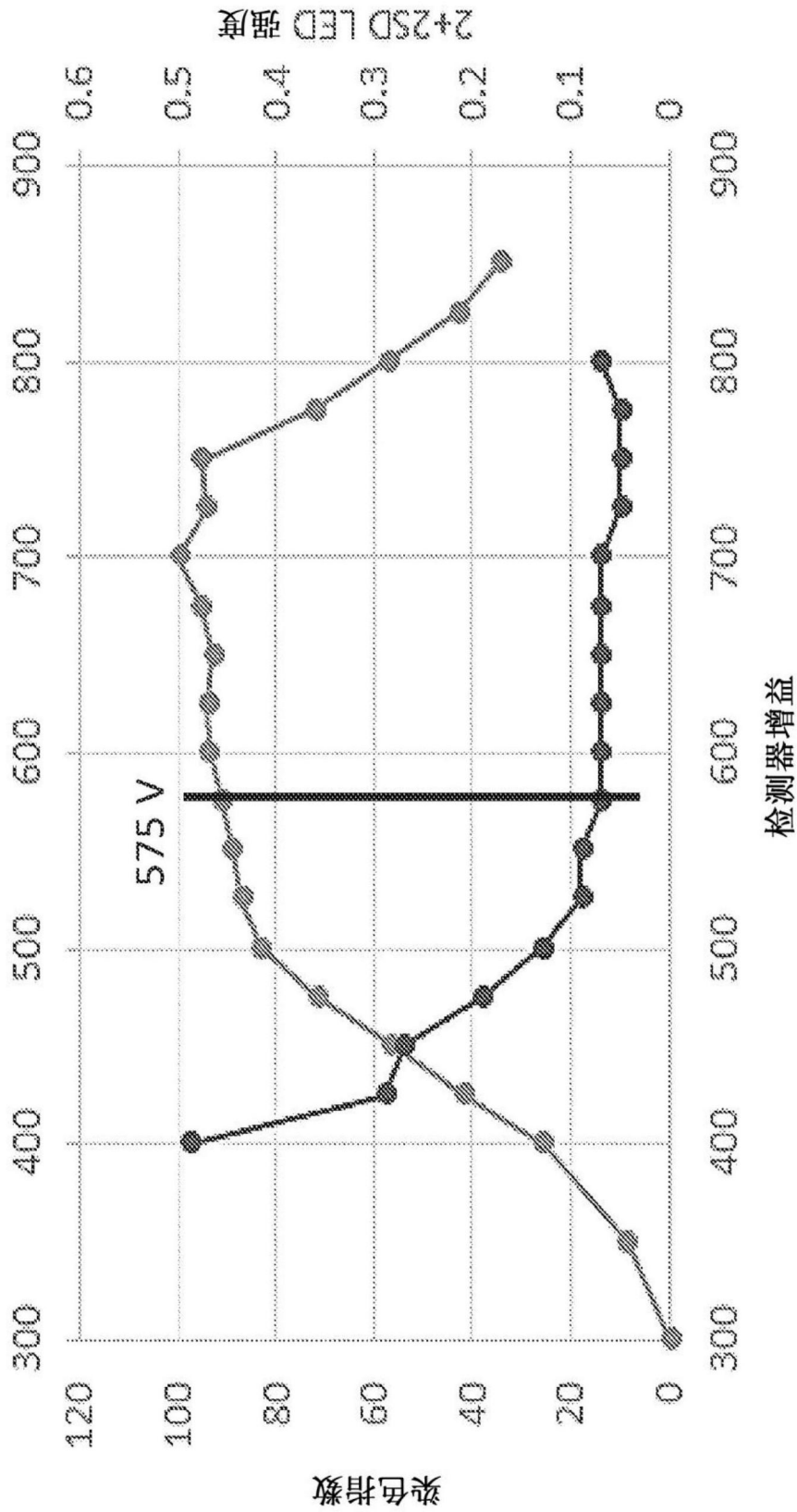


图2

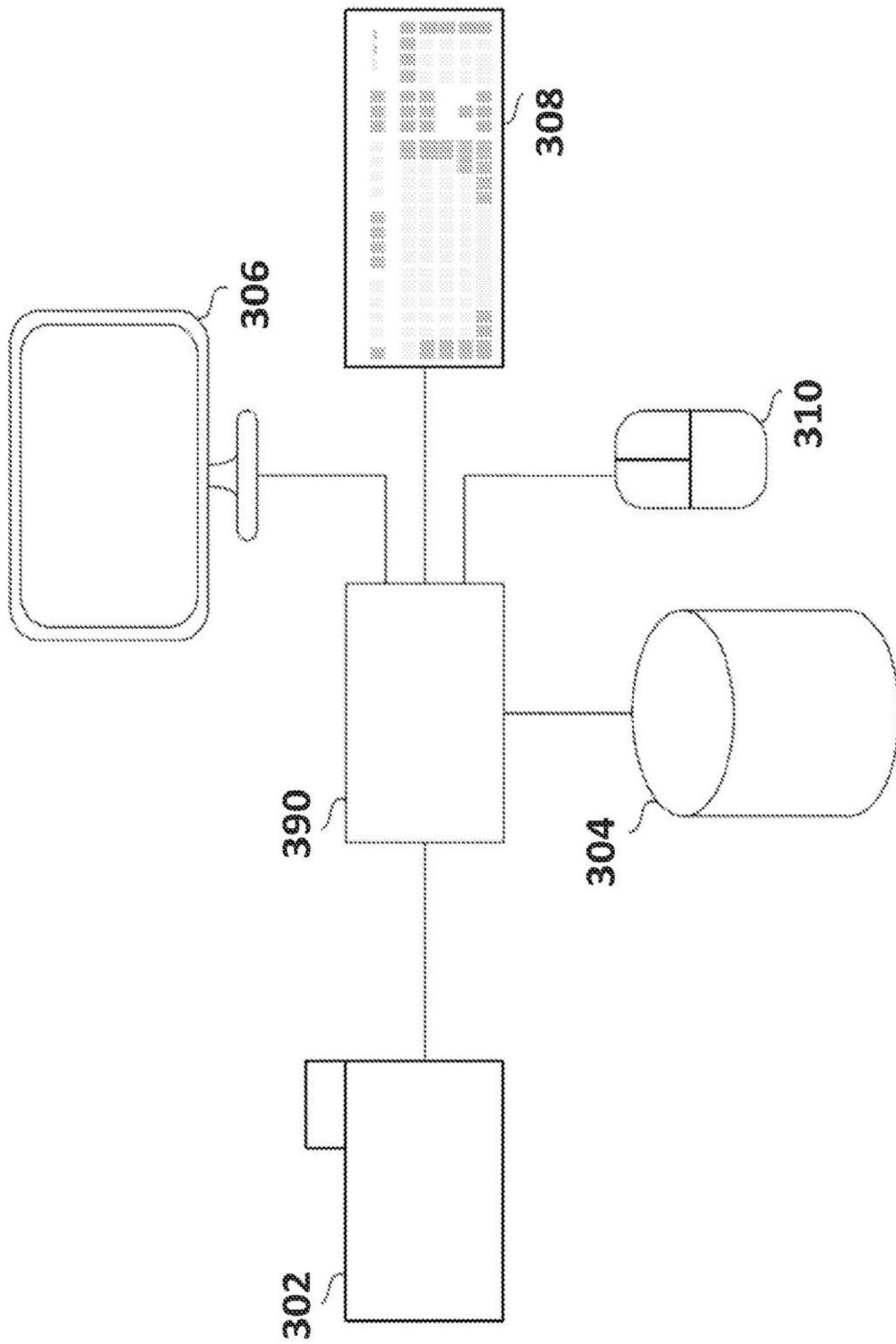


图3

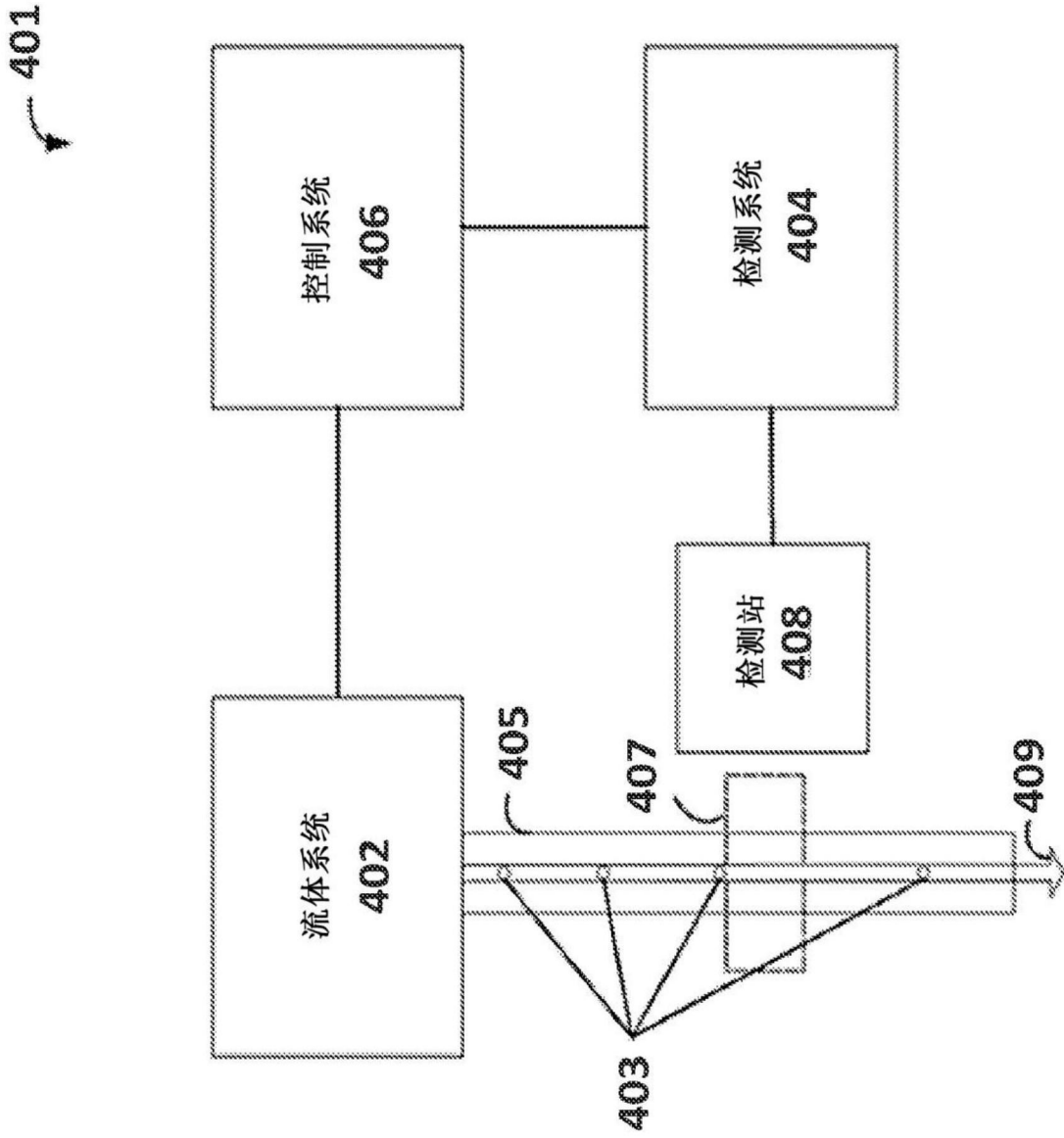


图4A

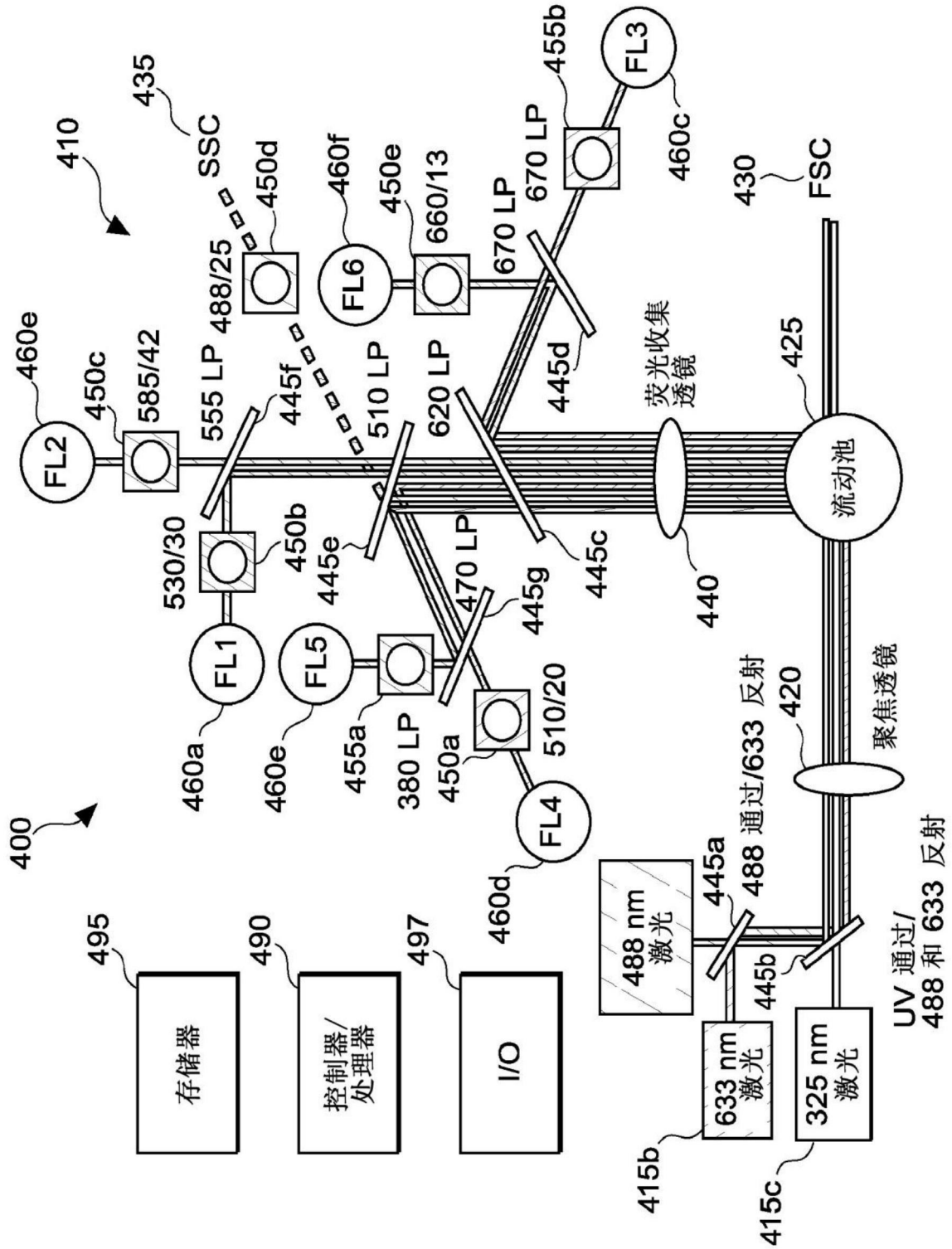


图4B

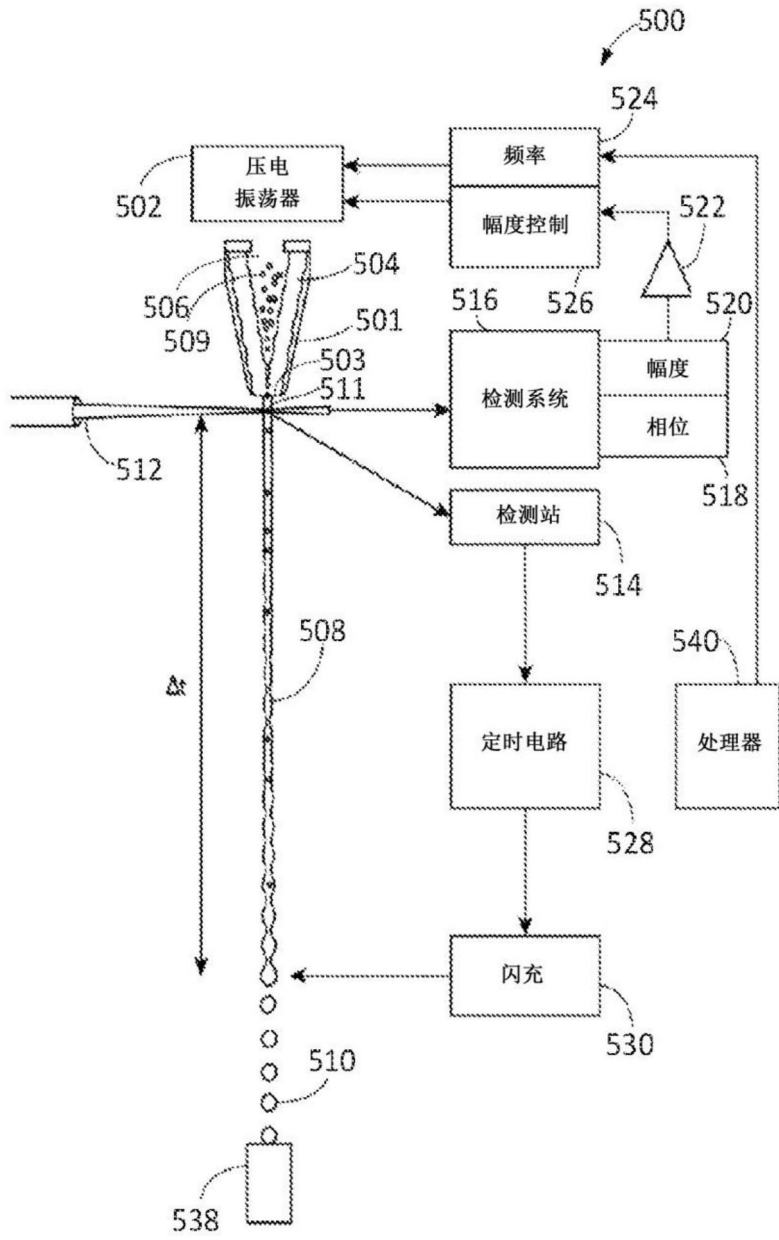


图5A

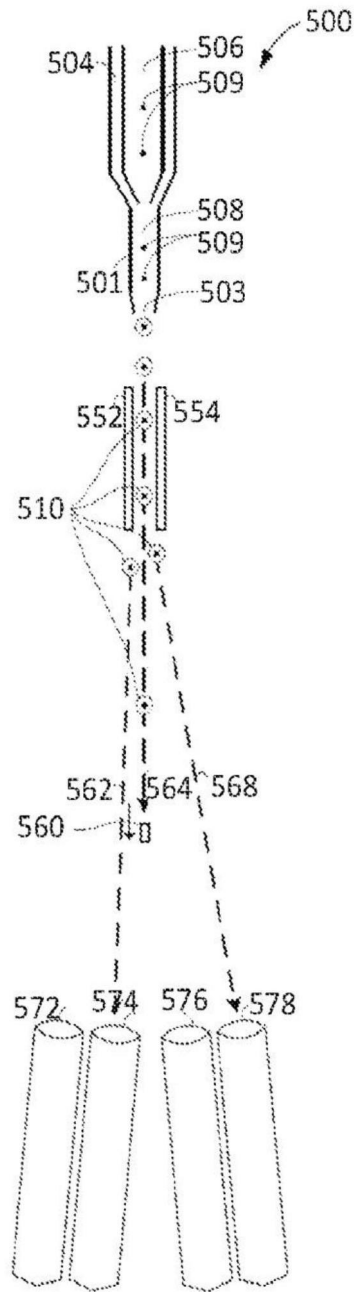


图5B

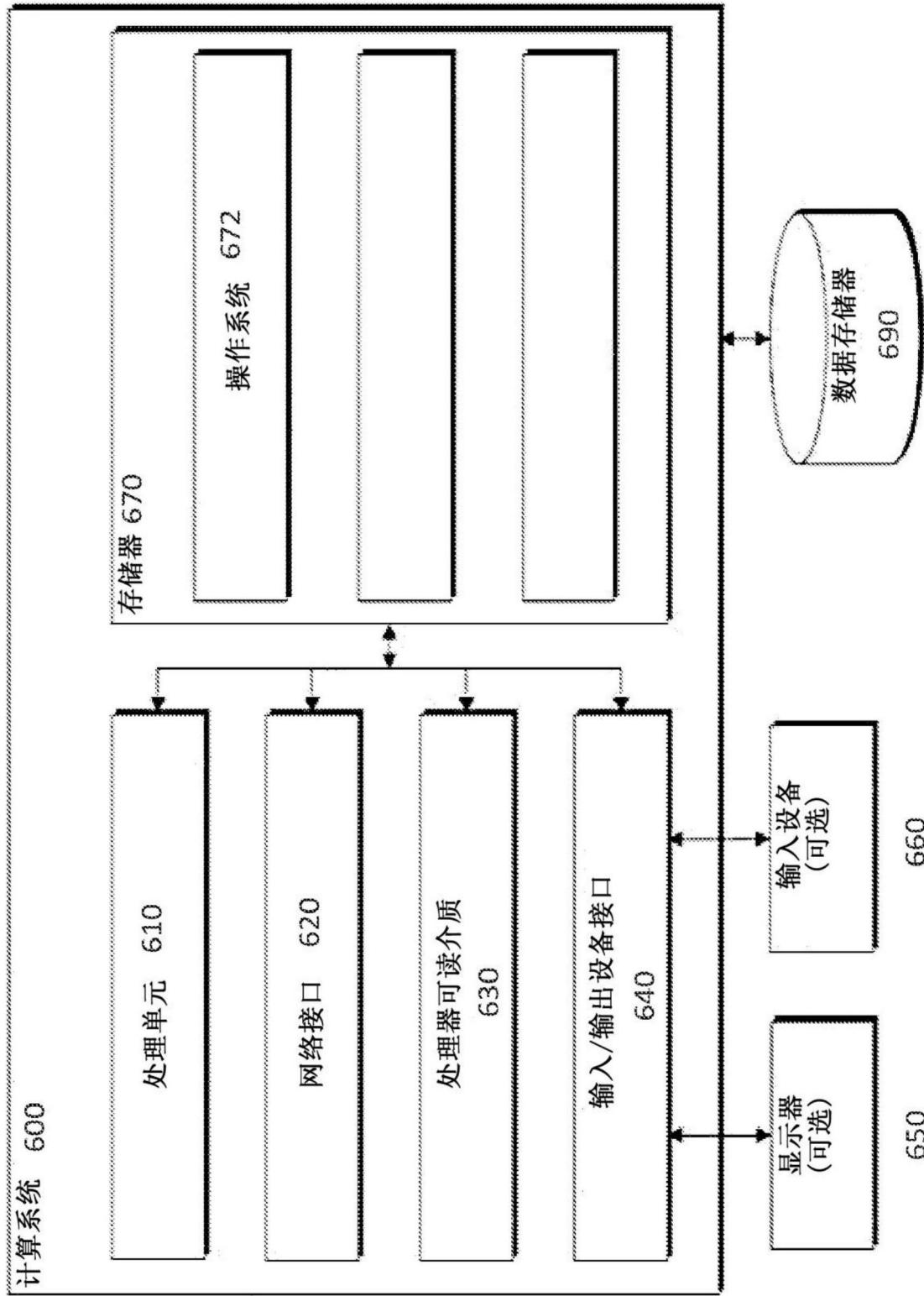


图6