



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103140751 A

(43) 申请公布日 2013.06.05

(21) 申请号 201180047234.6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011.09.29

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 33/542 (2006.01)

(30) 优先权数据

2010-222999 2010.09.30 JP

2011-123101 2011.06.01 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013.03.29

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2011/005487 2011.09.29

(87) PCT申请的公布数据

W02012/042880 JA 2012.04.05

(71) 申请人 富士胶片株式会社

地址 日本国东京都

(72) 发明人 木村俊仁

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 贺卫国

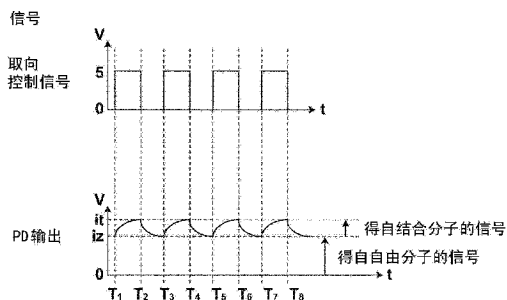
权利要求书2页 说明书24页 附图19页

(54) 发明名称

生物分子检测设备和生物分子检测方法

(57) 摘要

提供一种能够进行高灵敏度测量的生物分子检测设备。将取向控制光束 (117) 的发射方向周期性地转换,以周期性地转换溶液内的结合分子 (15) 的取向方向。抽取并检测从由所述溶液内的荧光分子 (14) 发射的荧光 (123) 抽取的与所述结合分子 (15) 的取向周期同步的成分。从而,可以用简单的构造精确地测量检测对象物质的浓度。



1. 一种生物分子检测设备,所述生物分子检测设备检测由第一复合体发射的荧光和由第二复合体发射的荧光以检测或定量化溶液中存在的检测对象物质,所述第一复合体具有与所述检测对象物质特异性结合的物质和荧光分子,并且所述第二复合体由所述第一复合体与所述检测对象物质结合而成,所述生物分子检测设备包括:

光源,所述光源照射具有特定方向上的线偏振成分并激发所述荧光分子的激发光;

光接收部,所述光接收部检测由所述荧光分子发射的荧光;

取向控制装置,所述取向控制装置用于将在所述溶液内的所述第二复合体的取向周期性地转换;

同步成分抽取装置,所述同步成分抽取装置用于抽取由所述光接收部检测的荧光中与所述第二复合体取向的所述周期同步的成分;以及

计算部,所述计算部基于由所述同步成分抽取装置抽取的所述成分检测或定量化所述检测对象物质。

2. 如权利要求 1 所述的生物分子检测设备,其中:

所述取向控制装置在第一方向上的取向与在第二方向上的取向之间转换所述第二复合体的取向,在所述第一方向上,所述第二复合体具有的所述荧光分子的跃迁矩的方向和所述激发光的所述线偏振成分的振动方向是平行的,并且在所述第二方向上,所述跃迁矩的方向与所述振动方向是垂直的。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的生物分子检测设备,其中:

所述第二复合体取向转换的周期由以下各项决定:所述检测对象物质的分子量和体积中的一个,与所述检测对象物质特异性结合的事物的分子量和体积中的一个,所述荧光分子的分子量和体积中的一个,以及由所述取向控制装置施加的取向控制的强度。

4. 如权利要求 1 至 3 中的任一项所述的生物分子检测设备,其中:

所述取向控制装置配备有取向控制光源,所述取向控制光源照射波长与所述激发光的波长不同的光而使所述第二复合体进行取向。

5. 如权利要求 4 所述的生物分子检测设备,其中:

所述取向控制光源从多个位置向所述溶液照射波长与所述激发光的波长不同的所述光。

6. 如权利要求 4 或 5 所述的生物分子检测设备,所述生物分子检测设备包括:

用于保持所述溶液的溶液保持部,所述溶液保持部至少在其一面具有平面。

7. 如权利要求 6 所述的生物分子检测设备,其中:

所述取向控制光源向穿过所述溶液并从所述溶液保持部的所述平面射出的方向上照射波长与所述激发光的波长不同的所述光,使得波长与所述激发光的波长不同的所述光聚焦在所述溶液与所述平面之间的界面处。

8. 如权利要求 1 至 7 中的任一项所述的生物分子检测设备,其中:

所述光接收部配备对光进行分光的分光装置。

9. 如权利要求 8 所述的生物分子检测设备,其中:

所述分光装置是具有不同特性的多个滤光器;并且

所述光接收部根据所述荧光的波长转换所述多个滤光器。

10. 一种生物分子检测方法,所述生物分子检测方法用于检测由第一复合体发射的荧

光和由第二复合体发射的荧光以检测或定量化溶液中存在的检测对象物质,所述第一复合体具有与所述检测对象物质特异性结合的物质和荧光分子,并且所述第二复合体由所述第一复合体与所述检测对象物质结合而成,所述方法包括:

照射具有特定方向上的线偏振成分并激发所述荧光分子的激发光;

周期性地转换所述溶液内的所述第二复合体的取向的步骤;

检测由所述荧光分子发射的荧光的步骤;

抽取所检测的荧光中与所述第二复合体取向的周期同步的成分的步骤;以及

基于抽取的所述成分检测或定量化所述检测对象物质的步骤。

生物分子检测设备和生物分子检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及检测溶液中的检测对象物质的技术。具体地,本发明涉及一种能够检测样品中的生物分子、病毒、核酸、蛋白质和细菌的生物分子检测设备和生物分子检测方法。

背景技术

[0002] 近年来,正在关注生物分子检测方法,在生物分子检测方法中,医生或技术人员检测关心点处的生物分子,直接获得测量结果,并利用测量结果进行诊断和治疗。生物分子检测方法是用于通过诸如抗原抗体反应的特异性反应的高选择性来选择性地仅检测来自体液(例如,血液、尿液以及汗液)中的检测对象物质的方法。这种生物分子检测方法被尤其广泛地用于检测、检查、定量和分析少量生物分子,诸如病毒、核酸、蛋白质和细菌。

[0003] 放射性免疫测定是一种实际使用的生物分子检测方法。放射性免疫测定采用被同位素标记的抗原或抗体,并检测与标记抗原或标记抗体特异性结合的抗体或抗原的存在。

[0004] 荧光免疫测定是一种不采用放射性物质的生物分子检测方法。已知这样的荧光免疫测定设备,在该荧光免疫测定设备中,抗体被预先固定到反应层(称为固相)上,使测量靶溶液和标记有荧光分子的抗体流动到反应层上,并且观察反应层附近的荧光以测量已经与抗体特异性结合的抗原的浓度(例如,参照专利文献1)。

[0005] 然而,利用固相的荧光免疫测定的问题在于:制备固相的成本较高。存在一种利用荧光偏振方法来确认溶液(称为液相)中的抗原抗体反应的方法作为不采用固相的方法。荧光偏振方法是一种检测由布朗运动变化所引起的荧光偏振度的变化的方法,其中所述布朗运动的变化由于分子与具有荧光标记的分子结合而使得分子尺寸变化而出现。利用荧光偏振方法的生物分子检测方法被公知为一种用于检测样品内的检测对象物质的简单且便利的方法(例如,参照专利文献2)。

[0006] [现有技术文献]

[0007] [专利文献]

[0008] [专利文献1]

[0009] 日本未审查专利公开号 H7-120397

[0010] [专利文献2]

[0011] 日本未审查专利公开号 2008-298743

发明内容

[0012] 然而,传统的荧光偏振方法利用随机的布朗运动变化,因此具有测量灵敏度受到限制的问题。另外,专利文献2中公开的方法要求荧光寿命足够长以受布朗运动变化的影响。然而,荧光寿命受样品内的成分影响。因此,存在在由专利文献2的方法获得的测量结果中将出现波动的情况。

[0013] 考虑到上述情况做出本发明。本发明的一个目的是提供一种能够进行高灵敏度测

量的生物分子检测设备和生物分子检测方法。

[0014] 实现以上目的的本发明的生物分子检测设备是这样的生物分子检测设备,其检测由第一复合体发射的荧光和由第二复合体发射的荧光以检测或定量化溶液中存在的检测对象物质,所述第一复合体具有与所述检测对象物质特异性结合的物质和荧光分子,并且所述第二复合体由所述第一复合体与所述检测对象物质结合而成,所述生物分子检测设备包括:

[0015] 光源,所述光源照射具有特定方向上的线偏振成分并激发所述荧光分子的激发光;

[0016] 光接收部,所述光接收部检测由所述荧光分子发射的荧光;

[0017] 取向控制装置,所述取向控制装置用于将在所述溶液内的所述第二复合体的取向周期性地转换;

[0018] 同步成分抽取装置,所述同步成分抽取装置用于抽取由所述光接收部检测的荧光中与所述第二复合体取向的所述周期同步的成分;以及

[0019] 计算部,所述计算部基于由所述同步成分抽取装置抽取的所述成分检测或定量化所述检测对象物质。

[0020] 对于本发明的生物分子检测设备优选的是采用这样的构造,其中:

[0021] 取向控制装置在第一方向上的取向与在第二方向上的取向之间转换第二复合体的取向,在所述第一方向上,第二复合体具有的荧光分子的跃迁矩的方向和激发光的线偏振成分的振动方向是平行的,在所述第二方向上,所述跃迁矩的方向和所述振动方向是垂直的。

[0022] 对于本发明的生物分子检测设备优选的是采用这样的构造,其中:

[0023] 第二复合体取向转换的周期由检测对象物质的分子量和体积中的一个、与检测对象物质特异性结合的物质分子量和体积中的一个、荧光分子的分子量和体积中的一个,以及由取向控制装置施加的取向控制的强度确定。

[0024] 对于本发明的生物分子检测设备优选的是采用这样的构造,其中:

[0025] 取向控制装置配备有取向控制光源,所述取向控制光源照射波长与所述激发光的波长不同的光而使所述第二复合体进行取向。在这种情况下,对于取向控制光源优选的是从多个位置向所述溶液照射波长与所述激发光的波长不同的光。

[0026] 对于本发明的生物分子检测设备优选的是还包括:

[0027] 用于保持溶液的溶液保持部,所述溶液保持部至少在其一面具有平面。在这种情况下,对于取向控制光源优选的是向穿过所述溶液并从所述溶液保持部的所述平面射出的方向上照射波长与所述激发光的波长不同的所述光,使得波长与所述激发光的波长不同的所述光聚焦在所述溶液与所述平面之间的界面处。

[0028] 对于本发明的生物分子检测设备优选的是采用这样的构造,其中:

[0029] 光接收部配备对光进行分光的分光装置。在这种情况下,优选的是分光装置是具有不同特性的多个滤光器,并且优选的是光接收部根据所述荧光的波长转换所述多个滤光器。

[0030] 本发明的生物分子检测方法是这样的生物分子检测方法,其检测由第一复合体发射的荧光和由第二复合体发射的荧光以检测或定量化溶液中存在的检测对象物质,所述第

一复合体具有与所述检测对象物质特异性结合的物质和荧光分子,并且所述第二复合体由所述第一复合体与所述检测对象物质结合而成,所述方法包括:

- [0031] 照射具有特定方向上的线偏振成分并激发所述荧光分子的激发光;
- [0032] 周期性地转换所述溶液内的所述第二复合体的取向的步骤;
- [0033] 检测由所述荧光分子发射的荧光的步骤;
- [0034] 抽取所检测的荧光中与所述第二复合体取向的周期同步的成分的步骤;以及
- [0035] 基于抽取的所述成分检测或定量化所述检测对象物质的步骤。
- [0036] 本发明能够高灵敏度地检测生物分子。

附图说明

- [0037] 图 1A 是显示根据第一实施方案的生物分子检测设备中的抗原抗体反应的第一示意图。
- [0038] 图 1B 是显示根据第一实施方案的生物分子检测设备中的抗原抗体反应的第二示意图。
- [0039] 图 2A 是显示激发光的振动方向和荧光分子的跃迁矩平行的情况的示意图。
- [0040] 图 2B 是显示激发光的振动方向和荧光分子的跃迁矩垂直的情况的示意图。
- [0041] 图 3A 是显示自由分子(未结合抗原的抗体和荧光分子)的示意图。
- [0042] 图 3B 是显示结合分子(结合抗原的抗体和荧光分子)的示意图。
- [0043] 图 4A 是显示根据第一实施方案的生物分子检测设备的外观的透视图。
- [0044] 图 4B 是显示根据第一实施方案的生物分子检测设备在可打开部打开的状态下的图。
- [0045] 图 5 是显示生物分子检测设备的主要部件的框图。
- [0046] 图 6 是显示由取向控制光源发出的取向控制光束的发射方向的转换的示意平面图。
- [0047] 图 7A 是显示第一取向控制光束发射方向与结合分子的取向方向之间的关系的第一示意图。
- [0048] 图 7B 是显示垂直于图 7A 所示发射方向的第二取向控制光束的发射方向与结合分子的取向方向之间的关系的第一示意图。
- [0049] 图 8 是显示根据第一实施方案的生物分子检测设备的光接收部的详细结构的示意图。
- [0050] 图 9 是示意性地显示从样品的制备到样品的处置的过程的流程图的第一示意图。
- [0051] 图 10A 是显示根据第一实施方案的生物分子检测设备中的取向控制信号和 PD 输出的图。
- [0052] 图 10B 是显示在根据第一实施方案的生物分子检测设备中的锁定放大器输出的图。
- [0053] 图 11A 是显示根据第二实施方案的生物分子检测设备中的抗原抗体反应的第一示意图。
- [0054] 图 11B 是显示根据第二实施方案的生物分子检测设备中的抗原抗体反应的第二示意图。

- [0055] 图 12 是显示根据第二实施方案的生物分子检测设备的主要部件的方框图。
- [0056] 图 13 是显示根据第二实施方案的生物分子检测设备的光接收部的详细结构的示意图。
- [0057] 图 14A 是显示第二实施方案中关于第一检测对象物质的 PD 输出的图。
- [0058] 图 14B 是显示第二实施方案中关于第二检测对象物质的 PD 输出的图。
- [0059] 图 15A 是显示在取向控制光束从第一方向发射的情况下, 荧光分子的跃迁矩与随机偏振激发光的振动方向之间的关系的概念图。
- [0060] 图 15B 是显示在取向控制光束从第二方向发射的情况下, 荧光分子的跃迁矩与随机偏振激发光的振动方向之间的关系的概念图。
- [0061] 图 16A 是显示在取向控制光束从第一方向发射的情况下, 荧光分子的跃迁矩与在两个方向上线偏振的激发光的振动方向之间的关系的概念图。
- [0062] 图 16B 是显示在取向控制光从第二方向发射的情况下, 荧光分子的跃迁矩与在两个方向上线偏振的激发光的振动方向之间的关系的概念图。
- [0063] 图 17A 是显示其中检测与较小频率的取向控制信号同步的荧光成分的实例的图。
- [0064] 图 17B 是示例其中检测与较大频率的取向控制信号同步的荧光成分的实例的图。
- [0065] 图 18A 是用于说明伴随取向控制光束偏振轴变化的结合分子取向变化的第一概念图。
- [0066] 图 18B 是用于说明伴随取向控制光束偏振轴变化的结合分子取向变化的第二概念图。
- [0067] 图 18C 是用于说明伴随取向控制光束偏振轴变化的结合分子取向变化的第三概念图。
- [0068] 图 19 是显示线偏振激光束从试剂杯的底部表面被发射到试剂杯的多个点上的情况的概念图。
- [0069] 图 20 是显示用于使线偏振取向控制光束从预定方向发射到多个点上的取向控制光源的结构的概念图。
- [0070] 图 21 是显示用于使线偏振取向控制光束从预定方向发射到多个点上的光学系统的结构的一个实例的概念图。
- [0071] 图 22 是显示用于使线偏振取向控制光束从预定方向发射到多个点上的光学系统的结构的另一个实例的概念图。
- [0072] 图 23 是显示微透镜阵列的概念图。
- [0073] 图 24 是显示试剂杯的形状的一个实例的概念图。
- [0074] 图 25 是显示聚焦取向控制光束的焦点与试剂杯之间的位置关系的一个实例的概念图。

具体实施方式

[0075] 在下文中, 将参照附图描述本发明的实施方案。各种特异性反应被用于检测生物分子。这里, 以下描述利用抗原与抗体之间的特异性反应并基于由作为标记与抗体结合的荧光分子发射的荧光检测已经与抗体反应的抗原的设备作为实例。

[0076] (第一实施方案)

[0077] 图 1A 和图 1B 是显示根据第一实施方案的生物分子检测设备中的抗原抗体反应的示意图。将参照图 1A 和图 1B 描述液体内的抗原抗体反应。这里,考虑其中将干燥抗体 12 放置在圆柱形试剂杯 10 中的情况。抗体 12 标记有荧光分子 14。

[0078] 在本实施方案中,采用从全血分离的血浆 16 作为样品。将血浆 16 分配到试剂杯 10 中并搅动。在与抗体 12 特异性结合的抗原 18 存在于血浆 16 中的情况下,抗原抗体反应将出现在抗体 12 与抗原 18 之间,并且抗体 12 和抗原 18 将以特异性结合状态存在于血浆 16 中,如图 1B 所示。

[0079] 在本实施方案中,将描述其中采用从全血分离的血浆 16 作为样品的情况,PSA(前列腺特异性抗原)是作为检测对象物质的抗原 18,并且采用抗 PSA 抗体作为与检测对象物质特异性结合的抗体 12。采用 Alexa Fluor568(由 Molecular Probes 制造)作为荧光分子 14。Alexa Fluor568 发射具有 550nm 至 700nm 的范围内的波长,具有在大约 610nm 的峰值的荧光。

[0080] 提供相对于抗原 18 足够大量的抗体 12。因此,抗体 12 的一部分保持在血浆 16 中而没有进行抗原抗体反应。在下文中,将通过抗原抗体反应相互结合的抗体 12、抗原 18 和荧光分子 14 称为结合分子,而将没有进行抗原抗体反应但存在于液体中的抗原 12 和荧光分子 14 称为自由分子。结合分子和自由分子两者都存在于血浆 16 中。要注意的是除了抗原 18 之外的成分存在于血浆 16 中。然而,将除了抗原 18 之外的成分在图 1A 和图 1B 中省略以简化说明。

[0081] 根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备将激发光发射到其中结合分子和自由分子两者都存在的溶液中,因为溶液是液相。接收由荧光分子 14 发出的荧光,并且基于所接收的荧光执行抗原 18 的检测并量化。因此,理想的是仅检测从包括抗原 18 的结合分子发出的荧光。然而,自由分子和结合分子两者都存在于溶液中。因此,当激发光被发射到溶液中时,与自由分子相关联的荧光分子 14 也发出荧光,从而导致产生不必要的荧光成分。因此,根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备计算在整个荧光数据中由与自由分子相关联的荧光分子贡献的荧光。

[0082] 以下参照图 2A 和图 2B 描述通过线偏振激发光实现的荧光分子 14 的激发效率以说明由根据第一实施方案的生物分子检测设备 100 中的结合分子贡献的荧光和由自由分子贡献的荧光的计算原理。

[0083] 图 2A 是显示激发光 19 的振动方向和荧光分子 14 的跃迁矩是平行的情况的示意图。图 2B 是显示激发光 19 的振动方向和荧光分子 14 的跃迁矩是垂直的情况的示意图。这里,描述了荧光分子 14 的纵向方向平行于跃迁矩的取向方向的情况以简化说明。注意,在本说明书中,光的“振动方向”是指电场的振动方向。在光是偏振的情况下,振动方向与偏振方向相同。

[0084] 当吸收光能时荧光分子 14 跃迁至激发态,并且在返回至基态的过程中发射荧光。当吸收光能时荧光分子 14 跃迁至激发态,并且在返回至基态的过程中发射荧光。当荧光分子 14 被线偏振激发光 19 激发时,荧光分子 14 发射荧光,所述荧光在与激发光的偏振方向相同的方向上偏振。由荧光分子 14 发射的荧光的偏振度取决于其旋转运动的速度。即,如果荧光分子 14 没有进行旋转运动,则荧光分子 14 发射在与激发光 19 的振动方向相同的方向上偏振的荧光。当荧光分子 14 进行旋转运动的速度变大时,由荧光分子 14 发射的荧光

的偏振度减小。

[0085] 当将荧光分子 14 激发时, 荧光分子内称作跃迁矩的矢量与激发光 19 相互作用, 其中所述跃迁矩由荧光分子 14 的分子结构确定。跃迁矩在荧光分子 14 内具有独特方向, 并且跃迁矩的方向与激发光 19 的振动方向之间的关系决定荧光分子 14 的激发效率。具体地, 荧光分子 14 选择性地吸收在平行于所述荧光分子 14 的跃迁矩的方向上振动的光。因此, 在激发光 19 在图 2A 和 2B 中所示的图纸的垂直方向上振动并从图纸的左侧朝向右侧传播的同时发射到荧光分子 14 上的情况下, 激发效率在激发光 19 的振动方向平行于荧光分子 14 的跃迁矩的情况下最大 (图 2A), 并且在激发光 19 的振动方向垂直于荧光分子 14 的跃迁矩的情况下变为 0 (图 2B)。跃迁矩的取向根据荧光分子 14 的取向变化, 因此溶液内的荧光分子 14 的取向影响所述荧光分子 14 的激发效率。

[0086] 以下参照图 3A 和 3B 描述溶液内的自由分子和结合分子的运动以考虑溶液内的荧光分子 14 的取向。图 3A 是显示抗体 12 和荧光分子 14 的示意图, 其中所述抗体 12 和所述荧光分子 14 的结合是自由分子。图 3B 是显示抗体 12、抗原 18 和荧光分子 14 的示意图, 其中所述抗体 12、抗原 18 和荧光分子 14 的结合是结合分子。

[0087] 自由分子和结合分子在溶液内无规律地移动 (布朗运动), 并且经受旋转运动以及在溶液内的移动。众所周知, 分子在溶液内的布朗运动受到绝对温度、分子的体积、分子的分子量 (质量)、溶液的粘度等的影响。由于抗原 18 的结合, 结合分子的体积大于自由分子的体积, 并且较不容易在溶液内进行布朗运动。利用自由分子 13 和结合分子 15 在溶液内的布朗运动的差异由布朗运动的变化检测结合分子 15 的技术是已知的。然而, 因为布朗运动是随机的, 检测灵敏度受到限制。

[0088] 根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备利用激光束周期性地将溶液内的结合分子 15 取向, 并且仅检测对应于取向周期的信号, 以计算由结合分子 15 发射的荧光的贡献。

[0089] 当将激光束发射到溶液内的自由分子 13 和结合分子 15 上时, 外力作用在自由分子 13 和结合分子 15 上, 并且其布朗运动被抑制。如果将由激光束施加到结合分子 15 上的外力标记为 F_b , 并且将由激光束施加到自由分子上的外力标记为 F_f , 因为随着存在或不存在抗原 18, 体积和质量不同, 施加至自由分子 13 和结合分子 15 的外力的强度不同, 并且 $F_b > F_f$ 。

[0090] 此外, 自由分子 13 和结合分子 15 在溶液内进行布朗运动的容易程度归因于其体积和分子量上的不同而不同。自由分子 13 具有比结合分子 15 更小的体积和分子量, 并且因此更容易进行布朗运动。如果将取向结合分子 15 需要的力标记为 B_b , 并且将取向自由分子 13 需要的力标记为 B_f , $B_b > B_f$ 。如果 $F_b > B_b$, 那么结合分子 15 将取向, 并且如果 $F_f < B_f$, 自由分子 13 将不取向。

[0091] 根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备仅将结合分子 15 周期性地取向, 并且通过仅检测与该取向周期相对应的信号来计算由结合分子 15 发射的荧光的贡献。确定如溶液的绝对温度、分子的体积、分子的分子量、溶剂的粘度和激光的强度等的因素以使得结合分子 15 将取向而自由分子 13 不取向, 换言之, 使得 $F_b > B_b$ 并且 $F_f < B_f$ 。分子的体积和分子量通常由检测对象物质决定, 并且溶液的粘度通常由样品决定。因此, 根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备通过改变溶液的绝对温度和激光束的强度进行

调节,以获得其中仅结合分子 15 被取向的条件。因为这个原因,根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备具有调节溶液的温度和调节激光束的强度的功能。

[0092] 将描述根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备 100 的构造。图 4A 是显示生物分子检测设备 100 的外观的透视图。显示部 102、用户输入部 104 和可打开部 106 设置在生物分子检测设备 100 的侧表面上。显示部 102 显示测量结果等。用户输入部 104 是设定模式、输入样品数据等的部分。可打开部 106 具有上盖可以打开的构造。当设置样品时,上盖打开,而在测量期间所述上盖关闭。通过采用这种构造,可以防止来自外部的影响测量的光。

[0093] 图 4B 是显示生物分子检测设备 100 处于可打开部 106 打开的状态下的透视图。当可打开部 106 打开时,试剂杯 108 和保持台 110 位于生物分子检测设备 100 内。试剂杯 108 由保持台 110 可移除地保持。试剂杯 108 是里面放置溶液的圆筒形容器。使用者将样品分配到试剂杯 108 中并关闭上盖以执行测量。虽然在附图中未示出,但是生物分子检测设备 100 还配备有试剂槽和分配部。当开始测量时,分配部从试剂槽吸取试剂,并将试剂分配到试剂杯 108 中。

[0094] 图 5 是显示生物分子检测设备 100 的主要部件的功能框图。生物分子检测设备 100 包括:显示部 102、用户输入部 104、试剂杯 108、试剂槽 112、分配部 114、取向控制光源 116、激发光源 118、AOD(声光偏转器)120、FG(函数发生器)122、光接收部 124、放大器 126、锁定放大器 127、A/D 转换部 128、取样时钟生成部 130、CPU132 和分色镜 138。

[0095] 试剂杯 108 是其中使得储存在试剂槽 112 中的试剂和从患者等收集的样品反应的容器。试剂杯 108 可移除地连接于生物分子检测设备 100。试剂杯 108 的容量为大约 120 μ L。

[0096] 试剂槽 112 是其中储存多种类型的试剂的槽。将自由分子 13 储存在试剂槽 112 中作为试剂。

[0097] 分配部 114 由可移动吸液管、吸取器件等构成。分配部 114 根据来自 CPU132 的命令从试剂槽 112 吸取将要用于测量的试剂并且将所吸取的试剂分配至试剂杯 108。

[0098] 取向控制光源 116 向 AOD120 发射取向控制光束 117,并且通过对结合分子施加外力将在试剂杯 108 内的溶液中存在的结合分子取向。在本说明书中,取向控制光源 116 对应于本发明的取向控制装置。例如,采用具有 980nm 的波长和 700mW 的输出的激光束作为取向控制光束 117。取向控制光束 117 是荧光分子 14 不吸收的激光束,并且具有将不影响或破坏荧光分子 14 的染料的强度。取向控制光束 117 具有够照射试剂杯 108 内的全部溶液的宽度。

[0099] 激发光源 118 向试剂杯 108 经由分色镜 138 发射激发荧光分子 14 的激发光 119,所述激发光 119 由设置在激发光源 118 内的偏振元件线偏振。例如,采用具有 532nm 的波长和 10mW 的输出的光作为激发光。

[0100] 分色镜 138 反射具有特定波长的光,并且透射具有其他波长的光。分色镜 138 反射取向控制光束 117 并且透射激发光 119。

[0101] AOD120 利用声光效应以基于输入电压改变所述 AOD120 内部的折射率,从而改变输入到所述 AOD120 的光传播的方向。AOD120 基于根据从 FG(函数发生器)122 输出的电压信号(在下文中,输出到 AOD120 的信号将被称为“取向控制信号”)输入的电压来改变该

AOD120 内部的折射率,以改变取向控制光束 117 传播的方向。换句话说,通过由 FG122 生成的取向控制信号确定取向控制光束 117 传播的方向。AOD120 将取向控制光束 117 传播的方向在照射试剂杯 108 的方向(在图 5 中由箭头 134 指出)和照射分色镜 138 的方向(在图 5 中由箭头 136 指出)之间转换。

[0102] FG122 是能够产生具有各种频率和波形的电压信号的装置。FG122 响应于从 CPU132 接收到的指令将不同的电压信号输出给 AOD120、锁定放大器 127 和采样时钟发生部 130。

[0103] CPU132 指定将被 FG122 输出的取向控制信号,并控制 AOD120 转换取向控制光束 117 传播的方向的时机。

[0104] 光接收部 124 由滤光器、光电二极管等构成。光接收部 124 设置在试剂杯 108 下方。光接收部 124 在试剂杯 108 下方接收由试剂杯 108 内的荧光分子 14 产生的荧光 123,将接收到的荧光信号转换成模拟电信号(模拟荧光数据),并将所述模拟电信号输出给放大器 126。

[0105] 放大器 126 放大从光接收部 124 输出给所述放大器 126 的模拟荧光数据,并将放大后的模拟荧光数据输出至锁定放大器 127。

[0106] 锁定放大器 127 将模拟荧光数据转化为直流频率。将方波从 FG122 输入至锁定放大器 127 作为参考信号。方波具有与从 FG122 输出至取向控制光源 116 的电压信号相同的周期。锁定放大器 127 在从放大器 126 输出的模拟荧光数据中检测等于参考信号的频率成分。具体地,锁定放大器 127 通过同步检波仅将等于参考信号的频率成分转化为直流信号,并且仅将所述直流信号传递通过设置在其中的低通滤波器。锁定放大器 127 将直流信号输出至 A/D 转换部 128。在本说明书中,锁定放大器 127 对应于本发明的同步成分抽取装置。

[0107] 采样时钟发生部 130 基于从 FG122 输出到所述采样时钟发生部 130 的电压信号输入采样时钟,所述采样时钟指定 A/D 转换部 128 将模拟荧光数据采样给 A/D 转换部的时机。

[0108] A/D 转换部 128 基于从采样时钟发生部 130 输出给所述 A/D 转换部 128 的采样时钟对从放大器 126 输出给所述 A/D 转换部 128 的模拟荧光数据进行采样。A/D 转换部 128 将采样的模拟荧光数据转换成数字数据,并将该数字数据输出给 CPU132。

[0109] CPU132 使用从 A/D 转换部 128 输出给所述 CPU132 的数字数据进行计算,并将计算结果输出给显示部 102。另外,CPU132 响应于从用户输入部 104 输入的指令控制取向控制光源 116、激发光源 118、分配部 114 和 FG122 的操作。具体地,CPU132 将 ON/OFF 指令输出给取向控制光源 116 和激发光源 118,将指定要被使用的试剂的指令和开始分配操作的指令输出给分配部 114,以及将指定要被输出的电压信号的波形的指令和输出所述电压信号的指令输出给 FG122。

[0110] 图 6 是生物分子检测设备 100 的内部的示意性平面图,其中显示了由取向控制光源 116 发射的激光束的发射方向的转换。

[0111] 从取向控制光源 116 发射的取向控制光束 117 穿过 AOD120 并进入试剂杯 108。由取向控制光源 116 发射的取向控制光束 117 具有能够使试剂杯 108 内的所有溶液被所述激光束 117 照射到的宽度。

[0112] AOD120 在两个方向之间交替地转换从取向控制光源 116 发射的取向控制光束 117

传播的方向。具体地,在将 5V 取向控制信号输入给 AOD120 的情况下,AOD120 使取向控制光束 117 沿着箭头 134 的方向传播,而在将 0V 取向控制信号输入给 AOD120 的情况下,AOD120 使取向控制光束 117 沿着箭头 136 的方向传播。

[0113] 在箭头 134 的方向上传播的取向控制光束 117 进入试剂杯 108 的侧表面。在箭头 136 的方向上传播的取向控制光束 117 被分色镜 138 反射,沿着垂直于箭头 134 的方向传播,并进入试剂杯 108 的侧表面。如果试剂杯 108 当从上方看时被认为是钟面,则在箭头 134 的方向上传播的取向控制光束 117 从 9 点钟位置进入并朝向 3 点钟位置传播,而在箭头 136 的方向上传播的取向控制光束 117 从 6 点钟位置进入并朝向 12 点钟位置传播。即,在箭头 134 的方向上传播的取向控制光束 117 进入试剂杯 108 的方向与在箭头 136 的方向上传播的取向控制光束 117 进入试剂杯 108 的方向彼此垂直。

[0114] 分色镜 138 仅反射具有取向控制光束 117 的波长的光,并透射具有其它波长的光。从激发光源 118 发射的激发光 119 穿过分色镜 138,沿着与被分色镜 138 反射的取向控制光束 117 相同的方向传播,并进入试剂杯 108 的侧表面。

[0115] 该构造能够使生物分子检测设备 100 通过根据来自 FG122 的取向控制信号的输入控制 AOD120,在彼此相差 90 度的两个方向之间交替地转换激光束进入试剂杯 108 的方向。

[0116] 将遮光板 140 设置在 AOD120 与试剂杯 108 之间,并且将生物分子检测设备 100 构造成使得沿着与由箭头 134 和箭头 136 指示的方向不同的方向传播的激光束不进入试剂杯 108。另外,取向控制光束 117 在沿着箭头 134 的方向和沿着箭头 136 的方向传播的两种情况下都进入圆柱形试剂杯 108 的侧表面。因为试剂杯 108 是圆筒形的,因此即使激光所传播的方向被转换,试剂杯 108 的取向控制光束 117 进入的侧表面的形状也是相同的。

[0117] 以下参照图 7A 和图 7B 描述试剂杯 108 内的荧光分子响应于取向控制光束 117 的发射方向的转换的运动。图 7A 是显示第一取向控制光束 117 发射方向与分子的取向方向之间的关系关系的示意图。图 7B 是显示第二取向控制光束 117 发射方向与分子的取向方向之间的关系关系的示意图。图 7A 和图 7B 是试剂杯 108 的平面图。要注意的是在本说明书中,自由分子和结合分子的“取向方向”表示抗体和荧光分子的取向完成之后抗体和荧光分子被取向的方向。

[0118] 取向控制光束 117 所发射到的试剂杯 108 内的结合分子 15 通过接收取向控制光束 117 的外力而在特定方向上取向。由取向控制光束 117 施加的外力通过激光束撞击结合分子并被散射的反应产生。施加力的方向由激光束传播的方向以及结合分子的取向(荧光分子 14、抗体 12、抗原 18 排列的方向)决定。

[0119] 通常,自由分子和结合分子分散在溶液内,在随机方向上取向。然而,被从图纸的左侧至右侧传播的取向控制光束 117 照射的结合分子 15 从在箭头 134 方向上传播的取向控制光束 117 在旋转方向上受到力,并且在其中由取向控制光束 117 施加的多个旋转方向上的外力在照射取向控制光束 117 的范围内平衡的方向的取向上稳定化,如图 7A 中所示。换言之,在其纵向方向与取向控制光束 117 传播的方向不相同的情况下,结合分子 15 受到外力以在向右或向左的方向上旋转。然而,在结合分子 15 的纵向方向与取向控制光束 117 传播的方向相同的情况下,向右或向左的方向上的外部旋转力平衡,并且因此结合分子 15 全部成为在相同的方向(取向控制光束 117 传播的方向和结合分子 15 的纵向方向平行的方向)上取向。换言之,与全部结合分子 15 相关联的荧

光分子 14 的跃迁距将排列在相同的方向。同时,试剂杯 108 内的自由分子 13 将不取向并且在溶液内进行布朗运动,因为引起布朗运动的力大于由取向控制光束 117 施加的外力。

[0120] 当如图 7B 中所示,取向控制光束 117 传播的方向从图纸的水平方向转换至图纸的垂直方向时,已经朝向图纸的右侧取向的结合分子 15 将受到向左旋转的力。接收从图纸的底部至图纸的顶部传播的取向控制光束 117 的结合分子 15 在与它们被从图纸的左侧至右侧传播的取向控制光束 117 取向的方向垂直的方向上取向,并且稳定化。同样在这种情况下,与全部结合分子 15 相关联的荧光分子 14 的跃迁距将在相同的方向上排列。因为引起布朗运动的力大于由取向控制光束 117 施加的外力,试剂杯 108 内的自由分子 13 不取向,并且在溶液内进行布朗运动。以这种方式,可以通过改变取向控制光束 117 的发射方向而转换溶液内的结合分子 15 的取向方向。

[0121] 在本实施方案中,已经被在箭头 134 的方向上传播的取向控制光束 117 取向的荧光分子 14 的跃迁矩的方向平行于线偏振激发光振动的方向,从而最大化荧光分子 14 的激发效率。同时,已经被在箭头 136 的方向上传播的取向控制光束 117 取向的荧光分子 14 的跃迁矩的方向垂直于线偏振激发光振动的方向,并且荧光分子 14 的激发效率为 0。因此,通过 AOD120 进行的取向控制光束 117 的发射方向的转换使荧光分子 14 相对于线偏振激发光的激发效率在最大值与最小值(不发生激发)之间转换。在输入至 AOD120 的取向控制信号为 5V 的情况下,与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 的激发效率变为最大,并且在输入至 AOD120 的取向控制信号为 0V 的情况下,与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 的激发效率变为最小。

[0122] 接下来,参照图 8,描述光接收部 124 的详细结构。图 8 是显示光接收部 124 的详细结构的示意图。光接收部 124 包括:透镜 142;滤光器 144;偏振元件 146;透镜 148;和 PD(光电二极管)150。光接收部 124 从试剂杯 108 的底侧接收荧光。

[0123] 由试剂杯 108 内的荧光分子 14 发射并且朝向图纸的左侧进入光接收部 124 的荧光 147,以及由荧光分子 14 发射并且朝向图纸的右侧进入光接收部 124 的荧光 149 通过透镜 142 聚焦并准直,之后在通过滤光器 144、偏振元件 146 和透镜 148 之后进入 PD150。应注意,虽然未在图 8 中示出,存在介于荧光 147 与荧光 149 之间的荧光。然而,该荧光的行为可由本领域技术人员预知,并且因此将对其的描述省略。

[0124] 滤光器 144 是带通滤波器,所述带通滤波器使不同于由荧光分子 14 发射的荧光的光截止并防止不同于所述荧光的光(例如,激发光)进入 PD150。

[0125] 偏振元件 146 仅透射在与线偏振激发光 119 的振动方向相同的方向上偏振的光。在试剂杯 108 内散射的激发光和由荧光分子 14 发射的荧光在自由分子和结合分子的取向的方向正在转换的同时,具有不同于激发光的初始振动方向的振动方向,因此不能透射穿过偏振元件 146。

[0126] PD150 由 APD(雪崩光电二极管)构成。PD150 接收由透镜 148 聚焦的荧光,对应于由透镜 148 聚焦的荧光的强度产生电荷,并且将电荷输出至放大器 126。

[0127] 以这种方式,光接收部 124 将由其取向已经转换的荧光分子 14 发射的荧光转换为电荷。此外,光接收部 124 接收来自试剂杯 108 底侧的荧光。因此,光接收部 124 不易于被取向控制光束 117 和激发光 119 影响。在本实施方案中,PD150 接收被透镜 148 聚焦的荧光,产生与荧光的强度相对应的电荷,并将产生的电荷输出给放大器 126。光接收部 124 依

此方式将由取向已经被转换的荧光分子 14 发射的荧光转换成电荷。另外,光接收部 124 接收朝向试剂杯 108 的底侧的荧光。因此,光接收部 124 不太可能受到取向控制光束 117 和激发光 119 的影响。在本说明书中,“取向的转换完成”是指其中在取向控制光束的发射方向的转换之后分子相对于由取向控制光束施加的外力处于稳定状态的状态。

[0128] 接下来,描述测量期间生物分子检测设备 100 的操作。图 9 是示意性地显示从样品的制备到样品的处置的过程的流程图示意图。

[0129] 为了准备测量,首先,将从病人采集的 50 μ L 的全血 156 离心分离以分离血浆 16。分离的血浆 16 在生物分子检测设备 100 的样品设置部中被设置。到此时的步骤由使用者执行。

[0130] 生物分子检测设备 100 将设置在样品设置部 152 中的血浆 16 分配到新试剂杯 108 中,所述新试剂杯 108 库存在试剂杯库存部 160 中。接下来,生物分子检测设备 100 通过移液管 158 吸取在试剂槽 112 中的 PSA 抗体,并将吸取的 PSA 抗体分配到试剂杯 108 中。已经将血浆 16 和 PSA 抗体放到试剂杯 108 中的生物分子检测设备 100 使用内置涡旋搅拌机搅动试剂杯 108,同时保持试剂杯 108 的温度在 37°C 以使抗原抗体反应发生。此后,生物分子检测设备 100 发射激发光、检测荧光并在检测荧光之后将试剂杯 108 处理到内置废料桶 154 中。

[0131] 由 FG122 输出的取向控制信号和由 PD150 输出的 PD 输出的一个实例在图 10A 中示例。由锁定放大器 127 输出的锁定放大器输出的一个实例在图 10B 中示例。这里应注意,PD 输出和锁定放大器输出的图是示意性地示例以便简化描述。

[0132] 在测量之前由 FG122 输出的取向控制信号为 0V。取向控制信号是从 0 至 T(秒)输出 5V 的信号并且从 T 至 2T(秒)输出 0V 信号的具有 2T 周期的方波。在测量之前,取向控制信号为 0V,并且因此将取向控制光束 136 发射至试剂杯 108 上,并且全部结合分子在相同的方向上取向。

[0133] 生物分子检测设备 100 在时间 T1 将取向控制信号转换至 5V,并且向试剂杯 108 发射激发光。其后,当取向控制信号变为 5V 时,AOD120 将取向控制光束 117 传播的方向转换,并且将取向控制光束 117 传播的方向从箭头 136 的方向转换至箭头 134 的方向。伴随取向控制光束 117 传播方向上的转换,其中相对于试剂杯 108 发射取向控制光束 117 的方向也转换 90 度。

[0134] 伴随激光束的发射方向上的转换,结合分子 15 的取向方向也转换。当荧光分子的跃迁距的方向与激发光束 119 的振动方向变得不垂直时,发射荧光 123。在取向转换过程中由与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 发射的大部分荧光是不偏振的,并且因此由偏振元件 146 截除。

[0135] 完成取向上的转换的与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 具有与激发光 119 的振动方向平行的跃迁距,并且因此其激发效率成为最大。由完成取向上的转换的与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 发射的荧光在与激发光的偏振方向相同的方向上偏振,并且因此到达 PD150 而不被偏振元件 146 截除。

[0136] 在将激发光 119 照射到试剂杯 108 上时的时间 T1 的时刻,PD 输出是 i_z 的值。PD 输出 i_z 是包括由与溶液内的一部分自由分子 13 相关联的荧光分子 14 发射的荧光、设备固有的噪音等的值。当取向控制信号为 0V 时与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 未被激发,

并且因此不贡献于 PD 输出。

[0137] 通过到达 PD 的由与结合分子 15(其归因于从 0V 至 5V 改变的取向控制信号已经完成取向上的转换)相关联的荧光分子 14 发射的荧光 123, PD 输出从 i_z 增加。在取向转换的过程中由与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 发射的大部分荧光 123 是不偏振的,并且因此被偏振元件 146 截除。随着已经完成取向上的转换的结合分子 15 的数目增加,PD 输出增加,并且作为当所有结合分子 15 的取向上的转换完成时的值达到饱和。

[0138] 在 5V 的输出持续 T 秒之后,取向控制信号成为 0V。T 秒是大于或至少等于全部结合分子 15 完成取向上转换所需的时间量的时间期间。换言之,T 秒是大于或等于 PD 输出在其值上成为饱和所需的时间量的时间期间。当所有的结合分子 15 完成取向上的转换并且达到时间 T2 时,取向控制信号从 5V 改变至 0V。当取向控制信号从 5V 改变至 0V 时,与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 的跃迁距的方向与激发光 119 的振动方向变得垂直,与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 的激发效率成为 0,并且不再发射荧光 123。因此,PD 输出逐渐地降低直至它成为 i_z 。同样在这种情况下,在取向转换过程中由与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 发射的大部分荧光 123 是不偏振的,并且因此被偏振元件 146 截除。

[0139] 在从时间 T2 经过时间 T 并且取向控制信号在时间 T3 再次成为 5V 时,PD 输出增加并在其值上成为饱和的。这里,将取向控制信号被设定为 0V 的时间期间设定为 T 秒,这与将取向控制信号设定为 5V 的时间期间相同。这是因为在取向控制光束 117 的输出恒定的条件下,完成溶液内结合分子 15 的取向上的转换所需的时间量对于其中将取向控制信号从 0V 改变为 5V 的情况和其中将取向控制信号从 5V 改变至 0V 的情况是大致相同的。

[0140] 在从时间 T3 经过时间 T 并且取向控制信号在时间 T4 变为 0V 之后,PD 输出降低并且成为值 i_z 。应注意取向控制信号的单个周期为 2T。因此, $T_4 - T_3 = T_3 - T_2 = T_2 - T_1 = T$ 。换言之,PD 输出以与取向控制信号相同的方式以周期 2T 周期性地重复在值上的升高和下降。

[0141] 锁定放大器 127 从输入其中的信号中检测与参考信号同步地重复升高和下降的成分。在生物分子检测设备 100 中,将与取向控制信号相同的信号输入至锁定放大器 127 作为参考信号。换言之,锁定放大器 127 检测与来自 PD 输出的取向控制信号同步的成分。PD 输出是在值上以周期 2T 重复升高和下降的周期性信号。由与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 发射的荧光贡献于 PD 输出的所述周期性成分。因此,通过抽取与取向控制信号同步的成分,可以将结合分子 15 的贡献从 PD 输出中抽取。锁定放大器 127 的输出不稳定的输出,其首先重复升高和下降,但是逐渐地收敛至值 S。值 S 是由与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 发射的荧光的总量的 PD 输出。

[0142] CPU132 由锁定放大器输出 S 计算检测对象物质的浓度 C。具体地,根据下面的式(1)计算浓度 C。

$$[0143] \quad C = f(S) \quad (1)$$

[0144] 这里, $f(S)$ 是校准曲线函数。对于要测量的每一项,生物分子检测设备 100 都具有预先准备的不同的校准曲线函数,并将测量值 S 转换成浓度 C。CPU132 将获得的浓度 C 输出给显示部 102。

[0145] 如上所述,根据本发明的第一实施方案的生物分子检测设备 100 具有转换取向控制光束 117 的发射方向从而能够转换溶液内的结合分子 15 的取向方向的构造。结合分子

15 被取向控制光束 117 取向的方向是与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 的跃迁矩平行于线偏振激发光的振动方向的方向, 和与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 的跃迁矩垂直于线偏振激发光的振动方向的方向。换言之, 生物分子检测设备 100 能够在与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 能够被激发光激发的状态和与结合分子 15 相关联的荧光分子 14 不能被激发光激发的状态之间进行转换。

[0146] 锁定放大器 127 从所接收的荧光数据中检测与命令转换取向控制光束 117 的发射方向的取向控制信号同步的成分。因此, 可以计算被取向控制光束 117 取向的与结合分子 15 相关联的荧光分子的贡献, 并且可以用简单的结构精确地测量检测对象物质的浓度。

[0147] 在上述构造中, 生物分子检测设备 100 通过由取向控制光束 117 施加的外力将所有结合分子的取向转换到相同的方向。因此, 与利用随机的布朗运动进行测量的情况相比较, 可以进行具有更高灵敏度的测量。

[0148] 应注意在本实施方案中, 采用 Alexa Fluor568 作为荧光分子。然而, 由本发明所采用的荧光分子不限于 Alexa Fluor568。可以采用任何荧光分子, 条件是它具有跃迁矩, 被激发光激发, 并且发射能够被 PD 检测的光。

[0149] 要注意的是, 第一实施方案被描述为使用抗原抗体反应作为实例的情况。然而, 检测对象物质和与检测对象物质特异性结合的物质组合不局限于上述情况。例如, 本发明可以应用到采用抗原检测抗体的情况、采用特定核酸检测与特定核酸杂交的核酸的情况、采用核酸检测核酸结合蛋白的情况、采用配体检测受体的情况、采用糖类检测凝集素的情况、利用蛋白酶检测的情况、利用高级结构变化的情况等。

[0150] 另外, 适宜的是根据结合分子的体积和分子量、溶液的粘度、溶液的温度等改变取向控制信号被设定为 5V 或 0V 期间的时间段。以结合分子在溶液内旋转的容易度确定在转换取向控制光束 117 的发射方向之后结合分子完成再取向所需的时间量, 其中所述容易度受结合分子的体积和分子量、溶液的粘度、溶液的温度等影响。在结合分子难以在溶液内旋转的情况下, 结合分子完成再取向所需的时间量变得较长。因此, 适宜的是取向控制信号被设定为 5V 或 0V 期间的时间段对于完成再取向来说足够长。适宜的是, 当结合分子的分子量较大时, 取向控制信号被设定为 5V 或 0V 的时间期间较长, 并且当结合分子的分子量较小时, 取向控制信号被设定为 5V 或 0V 的时间期间较短。

[0151] 另外, 第一实施方案采用发射具有 980nm 的波长和 700mW 的输出的激光束作为取向控制光束 117。然而, 作为取向控制光束 117 所采用的激光束不局限于这种激光束。适宜的是根据自由分子和结合分子在溶液内旋转的容易度确定取向控制光束 117 的波长和输出以使得输出光束仅将结合分子取向, 其中所述容易度受自由分子和结合分子的体积、自由分子和结合分子的分子量、溶液的粘度、溶液的绝对温度等影响。

[0152] (第二实施方案)

[0153] 图 11A 和 11B 是显示根据第二实施方案的生物分子检测设备中的抗原抗体反应的示意图。第二实施方案利用两种类型的抗体检测单一溶液内的两种类型的抗原。

[0154] 在下文中, 考虑抗体 22 和抗体 26 放置在试剂杯 20 内的情况。分别将抗体 22 和抗体 26 用荧光分子 24 和荧光分子 28 标记。

[0155] 当将样品 30 放置在试剂杯 20 中并搅拌时, 如果与抗体 22 特异性结合的抗原 32 存在于样品 30 中, 则将在抗体 22 与抗原 32 之间出现抗原抗体反应。类似地, 如果与抗体

26 特异性结合的抗原 34 存在于样品 30 中,则将在抗体 26 与抗原 34 之间出现抗原抗体反应。

[0156] 以与关于第一实施方案描述的方式相同的方式,抗体和抗原的一部分保持在样品溶液内而不进行抗原抗体反应。在下文中,将通过抗原抗体反应相互结合的抗体 22、抗原 32 和荧光分子 24 称为结合分子 1,而将没有进行抗原抗体反应但存在于液体中的抗原 22 和荧光分子 24 称为自由分子 1。进一步地,将通过抗原抗体反应相互结合的抗体 26、抗原 34 和荧光分子 28 称为结合分子 2,而将没有进行抗原抗体反应但存在于液体中的抗体 26 和荧光分子 28 称为自由分子 2。在本实施方案中,作为检测对象物质的抗原 32 和抗原 34 分别是 PSA 和 SCC(鳞状细胞癌)抗原。将与 PSA 特异性结合的 PSA 抗体用作抗体 22,而将与 SCC 特异性结合的 SCC 抗体用作抗体 26。采用由 Molecular Probes 提供的 Alexa Fluor568 作为荧光分子 24,并采用由 Molecular Probes 提供的 Alexa Fluor555 作为荧光分子 28。Alexa Fluor555 发射具有在从 540nm 至 700nm 范围内的波长的荧光,并且最大强度地发射具有大约 570nm 波长的荧光。

[0157] 根据本发明的第二实施方案的生物分子检测设备将激发光发射到里面存在有两种类型的自由分子和两种类型的结合分子的溶液上,并检测或定量目标结合分子。

[0158] 图 12 是显示根据第二实施方案的生物分子检测设备 200 的主要部件的方框图。要注意的是:生物分子检测设备 200 的与第一实施方案的生物分子检测设备 100 的组成元件相同的组成元件由相同的附图标记表示,并且将省略对所述组成元件的详细说明。

[0159] 生物分子检测设备 200 在光接收部 202、分配部 204、试剂槽 206、和 CPU208 的构造上与第一实施方案的生物分子检测设备 100 不同。

[0160] 分配部 204 从在分开的容器中存储多种抗体的试剂槽 206 吸取两种类型的抗体,并将吸取的抗体分配到试剂杯 108 中。

[0161] 光接收部 202 检测由试剂杯 108 内的荧光分子发射的荧光。光接收部 202 被构造响应于来自 CPU208 的指令(S1)分别接收由荧光分子 24 发射的荧光和由荧光分子 28 发射的荧光。

[0162] CPU208 对从 A/D 转换部 128 输出给所述 CPU208 的数字数据进行计算,并将计算结果输出给显示部 102。另外,CPU208 响应于从用户输入部 104 输入的指令控制取向控制光源 116、激发光源 118、分配部 204、FG122 和光接收部 202 的操作。具体地,CPU208 将 ON/OFF 指令输出给取向控制光源 116 和激发光源 118,将指定要被使用的试剂的指令和开始分配操作的指令输出给分配部 204,输出指定要被输出的电压信号的波形的指令和将电压信号输出给 FG122 的指令,以及将转换滤光器的指令输出给光接收部 202。

[0163] 以下参照图 13 详细地描述光接收部 202 的构造。图 13 是显示根据第二实施方案的生物分子检测设备 200 的光接收部 202 的详细结构的示意图。光接收部 202 内的滤光器转换部 210 配备有两种类型的滤光器:滤光器 212 和滤光器 214。两个滤光器是可移动的,并且滤光器转换部 210 被构造能够转换由透镜 142 聚焦并准直的光所穿过的滤光器。

[0164] 由试剂杯 108 内的荧光分子 14 发射并且朝向图纸的左侧进入光接收部 202 的荧光 216,以及由荧光分子 14 发射并且朝向图纸的右侧进入光接收部 202 的荧光 218 通过透镜 142 聚焦并准直,之后在通过滤光器 212 或滤光器 214、偏振元件 146 和透镜 148 之后进入 PD150。应注意,虽然未在图 13 中示出,在荧光 216 与荧光 218 之间存在荧光。然而,这

种荧光的行为可由本领域技术人员预知,并且因此将省略对其的描述。

[0165] 滤光器转换部 210 响应于从 CPU208 输出给所述滤光器转换部 210 的指令转换要被使用的滤光器。在本实施方案中,采用由 Semrock 提供的 SpRed-A 滤光器组的光接收侧滤光器作为滤光器 212。SpRed-A 滤光器组的光接收侧滤光器是透射在从 605nm 至 650nm 范围内的波长的带通滤光器。同时,采用由 Semrock 提供的 SpOr-A 滤光器组的光接收侧滤光器作为滤光器 214。SpOr-A 滤光器组的光接收侧滤光是透射在从 575nm 至 600nm 范围内的波长的带通滤光器。

[0166] 接下来,描述在测量期间生物分子检测设备 200 的操作。生物分子检测设备 200 的测量操作基本上与第一实施方案的生物分子检测设备 100 的测量操作相同,但是在细微点处不同。对于第一实施方案描述了分别检测自由分子和结合分子的原理,因此这里将描述如何分别检测两种类型的结合分子。

[0167] 首先,生物分子检测设备 200 确定将要检测两种类型的结合分子中的哪一种。该确定可以例如经由用户输入部 104 通过使用者输入而根据需要进行。这里,将描述首先检测具有 Alexa Fluor568 作为荧光分子的结合分子 1 的情况。CPU208 输出指示光接收部 202 内的滤光器转换部 210 使用滤光器 212 的指令。滤光器转换部 210 接收来自 CPU208 的该指令,并将滤光器 212 移动到被透镜 142 聚焦并准直的光通过的位置。当取向控制信号被改变到 5V 并且激发光朝向试剂杯 108 发射时,由溶液内的荧光分子 24 和荧光分子 28 发射荧光。由荧光分子 24 和荧光分子 28 发射的荧光被透镜 142 聚焦和准直并进入滤光器 212。滤光器 212 仅透射具有在从 605nm 到 650nm 范围内的波长的光。因此,由荧光分子 24 发射的荧光穿过滤光器 212,而由荧光分子 28 发射的荧光被基本上完全截除。依此方式仅可以检测由荧光分子 24 发射的荧光。

[0168] 以与第一实施方案中相同的方式,通过生物分子检测设备 200 进行取向控制信号数个周期的测量。从检测由荧光分子 24 发射的荧光得到的 PD 输出在图 14A 中示例。这里应注意,图 14A 的图是示意性地示例以便简化计算。PD 输出是具有与取向控制信号的周期相同的周期的信号。虽然未显示在图 14A 中,锁定放大器检测与来自 PD 输出的与取向控制信号的周期同步的成分,并且输出值 S1。

[0169] 接下来,CPU208 从值 S1 计算结合分子 1 的浓度。具体地,以与第一实施方案相同的方式采用校准曲线函数 $f_1(S)$ 以将值 S1 转换成浓度 C1。CPU208 将获得的浓度 C1 输出给显示部 102。

[0170] 接下来,生物分子检测设备 200 进行结合分子 2 的测量。CPU208 输出指示光接收部 202 内的滤光器转换部 210 使用滤光器 214 的指令。滤光器转换部 210 从 CPU208 接收该指令,并将滤光器 214 移动到由透镜 142 聚焦并准直的光通过的位置。滤光器 214 仅透射具有在从 575nm 到 600nm 范围内的波长的光。因此,由荧光分子 24 发射的荧光被滤光器 214 屏蔽掉,而由荧光分子 28 发射的荧光被透射通过所述滤光器 214。依此方式可以仅检测由荧光分子 28 发射的荧光。

[0171] 通过生物分子检测设备 200 进行数个周期的取向控制信号的测量。从检测由荧光分子 28 发射的荧光得到的 PD 输出在图 14B 中示出。这里应注意,图 14B 的图是示意性地示例以便简化计算。PD 输出是具有与取向控制信号的周期相同的周期的信号。

[0172] 测量结合分子 2 时转换取向控制信号的时机与测量结合分子 1 时转换取向控制信

号的时机不同。这是因为结合分子 1、自由分子 1、结合分子 2 以及自由分子 2 的体积和分子量是不同的,并且分子完成取向所需的时间量不同。

[0173] 如图 14A 和图 14B 中所示,PD 输出从上升转换至下降的时机对于其中测量结合分子 1 的情况和其中测量结合分子 2 的情况是相同的。然而,PD 输出的最大值和最小值是不同的。这归因于溶液内结合分子 1 和结合分子 2 的浓度上的不同,以及溶液内自由分子 1 和自由分子 2 的浓度上的不同。

[0174] 接下来,CPU208 由值 S2 计算结合分子 2 的浓度。具体地,采用校准曲线函数 $f_2(S)$ 将值 S2 转换成浓度 C2。CPU208 将获得的浓度 C2 输出给显示部 102。

[0175] 如上所述,除了具有第一实施方案的生物分子检测设备 100 的结构之外,根据本发明的第二实施方案的生物分子检测设备 200 采用两种类型的抗体和荧光分子作为与检测对象物质特异性结合的物质并配备有能够在两种类型的滤光器之间转换的滤光器转换部 210。因此,通过使用对应于与包括检测对象物质的结合分子相关联的荧光分子的滤光器,可以仅检测由与包括检测对象物质的结合分子相关联的荧光分子发射的荧光。因此,可以精确地测量单个样品中所含有的两种类型的检测对象物质的浓度。

[0176] 要注意的是:在本实施方案中采用 Alexa Fluoro568 和 Alexa Fluoro555 作为荧光分子。然而,荧光分子不局限于这些。分别与多个检测对象物质特异性结合的多种物质可以被具有充分不同而能够被滤光器分开的荧光波长的多种类型的荧光分子标记。

[0177] 要注意的是:将本实施方案描述为抗原抗体反应被用作示例的情况。然而,检测对象物质和与检测对象物质特异性结合的物质组合不局限于上述情况。例如,本发明可以应用于采用抗原检测抗体的情况、采用特定核酸检测与特定核酸杂交的核酸的情况、采用核酸检测核酸结合蛋白的情况、采用配体检测受体的情况、采用糖类检测凝集素的情况、利用蛋白酶检测的情况、利用高阶结构变化的情况等。

[0178] 另外,第二实施方案被描述为采用两种类型的检测对象物质的情况。然而,检测对象物质的数量不局限于两种。同时在此情况下,检测对象物质中的每一个都可以通过以下方式被分别检测:采用与多种检测对象物质中的每一个特异性结合的多种物质,用不同类型的荧光分子标记多种特异性结合物质中的每一个,并通过用与每一种类型的荧光分子相对应的多个滤光器分离荧光来检测由每一种类型的荧光分子发射的荧光。

[0179] 要注意的是:当检测对象物质的类型的数量增加时,荧光分子类型的数量增加,将存在由多种类型的荧光分子发射的荧光,并且可能存在仅使用滤光器难以分离荧光的情况。在此情况下,可以增加激发光的类型以有助于分离荧光。荧光分子的光吸收程度取决于激发光的波长,并且每一种类型的荧光分子具有容易吸收的波长带。为此,改变激发光的波长仅使荧光分子的一部分发射荧光,从而有助于使用滤光器分离荧光。另外,通过采用具有较窄通带的带通滤光器可以有助于由目标荧光分子发射的荧光的检测。

[0180] 此外,在本实施方案中的光接收部采用滤光器作为对光进行分光的分光装置。然而,不必使用滤光器对光进行分光。例如,可以由光电二极管仅接收具有特定波长的光,通过使用衍射光栅或棱镜对光进行分光。

[0181] (第一实施方案和第二实施方案的设计变更)

[0182] 要注意的是:本发明的上述实施方案仅是本发明的示例,并且不限制本发明的结构。本发明的生物分子检测设备不局限于上述实施方案,并且各种改变和修改是可以的,只

要所述改变和修改不背离本发明的目的。

[0183] 例如,施加到溶液内的分子的外力不局限于由激光束施加的外力。可以采用磁方法或电方法,只要所述方法将外力施加到引起自由分子和结合分子完成再取向所需的时间量的差异的程度。此外,不必须采用AOD120,只要采用能够在两个方向发射激光束的结构即可。例如,可以采用使用多个取向控制光源的构造,并且取向控制光束的方向可以通过转换所采用的光源而转换。作为另一个备选,结合分子可以通过采用线偏振激光束作为取向控制光束而取向,并且结合分子取向的方向可以通过使用 $\lambda/2$ 波长片或可以通过电信号控制的液晶相位调制器件转换其中激光束线偏振的方向而转换。

[0184] 另外,在上述实施方案中,取向控制光束 117 传播的方向在相互垂直的两个方向之间被转换,即,将与结合分子相关联的荧光分子的跃迁矩定向成与激发光的振动方向平行,和将与结合分子相关联的荧光分子的跃迁矩的方向定向成与激发光的振动方向垂直。然而,不必要使两个方向相互垂直。例如,在定量检测对象物质的情况下,仅需要使取向控制光束传播的两个方向中的一个成为将与结合分子相关联的荧光分子的跃迁矩的方向定向成垂直于激发光的振动方向,即,不能够使该线偏振激发光激发荧光分子的取向。如果荧光分子被取向成使得线偏振激发光不能激发荧光分子,则PD输出将仅变成噪声,这是因为不会发射荧光。当激光束的发射方向被转换到另一个方向时,可以仅接收由与已经完成再取向的自由分子和结合分子相关联的荧光分子发射的荧光。换句话说,可以暂时重置荧光的发射,从而防止接收不必要的荧光以及消除由不必要的荧光造成的噪声。

[0185] 在这种情况下,如果取向控制光束 117 传播的两个方向是垂直的,则自由分子和结合分子完成再取向所需的时间量的差值变成最大,从而产生最高S/N比。同时,如果由取向控制光束 117 传播的两个方向形成的角度为60度,则自由分子和结合分子完成再取向所需的时间量变得较短,并且进行测量所需的时间量也变得较短。依此方式,当由取向控制光束 117 传播的两个方向形成的角度由90度减少时,自由分子和结合分子完成再取向所需的时间量将变得更短,并且进行测量所需的时间量也变得更短。

[0186] 另外,在进行测量以仅确定检测对象物质是否存在于溶液中,即,结合分子是否存在的情况下,仅需要将取向控制光束 117 的发射方向转换到具有产生结合分子完成再取向所需的时间量的差值的角度差的两个方向。即,不必须使两个方向包括使与结合分子相关联的荧光分子的跃迁矩的方向取向以垂直于激发光的振动方向的方向。如果产生结合分子完成再取向所需的时间量的差值,则所述差值将被表示在荧光数据中,因此可以确认结合分子的存在。

[0187] 在以上实施方案中描述了将一个试剂杯设置在生物分子检测设备内的情况。然而,采用一个试剂杯不是必须的,而是可以采用将多个样品设置在其内的多个试剂杯设置在生物分子检测设备中的构造。在这种情况下,如果设备被构造成依次移动试剂杯至测量位置并进行测量,则可以自动测量多个样品。

[0188] 要注意的是上述实施方案被描述为采用被荧光分子标记的抗体的情况。然而,使用已经被荧光分子标记的抗体不是必须的。例如,可以在试剂杯内同时进行抗体和抗原的结合以及抗体和荧光分子的结合。在这种情况下,使用者可以在单独的试剂槽中制备抗体和荧光分子,并且生物分子检测设备可以将抗体、荧光分子和样品分配到试剂杯中,以当进行测量时使反应发生。

[0189] 另外,取向控制光源 116 和激发光源 118 可以构造成可移除的,使得它们可以被适于检测对象物质和荧光分子的类型的那些代替。

[0190] 适宜的是,通过根据检测对象物质、特异性结合物质和荧光分子的分子量或体积,以及由取向控制装置施加的取向控制度获得所有结合分子完成取向所需的时间量并且将所获得的时间量指定为时间间隔的长度,来确定要被转换的取向控制的方向的时间间隔。在这种情况下,在所述分子完成取向之后,取向控制光束不会在相同的方向上发射,从而降低功率消耗。另外,测量不会无关地继续,并且可以缩短测量时间。

[0191] 可以根据 PD 输出或 A/D 转换部的输出获得所有自由分子和所有结合分子完成取向所需的时间量。例如,如果重复多个测量周期,则可以了解输出变饱和和所需的近似时间量。因此,可以计算输出变饱和和所需的时间量的算术平均数,并且可以将计算的时间量指定为预定时间间隔。

[0192] 与分子的取向由磁体等控制的情况相比较,在采用取向控制光束控制分子的取向的情况下避免了复杂机构。为了使用磁体控制分子的取向,例如,分子需要具有磁性,或者需要制备与其取向将被控制的分子结合的磁性分子,并且测量的准备变得复杂。

[0193] 要注意的是:在本发明的上述实施方案中,描述了其中采用从全血分离的血浆作为样品的情况。然而,样品不局限于全血,而是可以采用如尿液和脊髓液的其他体液作为样品,只要检测对象物质分散在所述体液的溶液内即可。

[0194] 应注意本发明的实施方案被描述为其中将结合分子取向并且不将自由分子取向的情况。然而,自由分子不被取向不是必须的。在自由分子也被取向控制光束取向的情况下,自由分子和结合分子的体积和分子量不同,并且因此它们取向的速度将不同。因为该原因,即使在取向控制光束的发射方向转换的情况下,分子完成取向转换所需的时间的量将不同,并且发射荧光的周期也将不同。因此,如果将具有结合分子完成取向转换所需的时间量两倍的参考信号输入至锁定放大器,可以检测由与结合分子相关联的荧光分子发射的荧光成分。

[0195] 本发明的实施方案可以在抗原、抗体和荧光分子分散在溶液内的液相中进行测量,从而与固相测量相比较显示出初步处理简单的优点。此外,抗原和自由分子未固定于固相,并且因此抗原和自由分子可以在溶液内自由地移动,带来比使用固相的测量的过程中的反应更快的反应。

[0196] 此外,本发明的实施方案不像传统的荧光偏振方法中那样检测荧光偏振程度由于布朗运动中的改变而变化。因此,即使荧光寿命受样品内的成分影响,对测量的影响也很小。

[0197] 本发明的实施方案被描述为在单个方向上线偏振的激发光 119 发射到溶液上的情况。即,激发光 119 具有单个偏振面。然而,激发光 119 不是必须具有单个偏振面的线偏振光束。为了获得与由第一实施方案和第二实施方案获得的相同的有益效果,激发光 119 仅需要具有在特定方向上线偏振的至少一个成分。这里,在特定方向上线偏振的光是:荧光分子的跃迁矩与线偏振成分的振动方向之间的关系的变化改变线偏振成分对荧光分子的激发效率的光。例如,如果可以发射随机偏振激发光,并且可以将分析器设置在光接收部的前面,使得仅接收从荧光分子发射的荧光的在特定方向上线偏振的成分。这里,随机偏振光表示振动方向是随机的并且存在在不同方向上振动的多个线偏振成分的光。

[0198] 图 15A 和 15B 是显示在分别发射取向控制光束 136 和取向控制光束 134 的情况下荧光分子 14 的取向方向与随机偏振激发光 230 的振动方向之间的关系的概念图。激发光 230 的振动方向 232a 至 232d 表示光在垂直于激发光 230 传播方向的平面内的振动方向。在图 15A 和图 15B 中,振动方向 232a 至 232d 表示激发光 230 在不同的方向上振动。然而,事实上,除了图 15A 和图 15B 中所示的成分之外,还包括具有不同角度方向的更多成分。一般地,当在溶液内静态的荧光分子被线偏振激发光激发时,荧光分子发射在与激发光的振动方向相同的方向上偏振的荧光。当荧光分子被随机偏振激发光 230 激发时,荧光分子 14 发射随机偏振荧光 234。

[0199] 分析器 236 透射由荧光分子发射的随机偏振荧光 234 的在特定方向上振动的成分,并截除在其它方向上振动的成分。换句话说,只有在特定方向上振动的光通过分析器 236。在图 15A 和图 15B 中,荧光 234 在特定方向上振动的成分是通过分析器 236 的唯一成分。因此,通过分析器 236 的荧光 234 的振动方向仅是振动方向 232a。荧光 234 中包含的在振动方向 232a 振动的成分通过被在振动方向 232a 线偏振的激发光 230 的成分激发而发射。因此,只有由被在振动方向 232a 上线偏振的激发光 230 成分激发的荧光分子 14 发射的荧光 234 的成分到达光电二极管 238。通过采用这种构造,即使采用随机偏振光作为激发光 230,也可以相对于在特定方向上振动的光进行与由第一实施方案进行的测量相同的测量。要注意的是:荧光 234 的在特定方向上振动并被分析器 236 透射的成分不局限于在这里所述的方向上振动的成分。在任意方向上振动的成分都可以被分析器 236 透射,只要伴随着荧光分子 14 的取向方向的改变,荧光分子 14 的激发效率产生差异即可。

[0200] 另外,图 15A 和图 15B 显示了对于所有振动方向来说振幅是恒定的示例。然而,对于所有振动方向来说振幅是恒定不是必须的。由光电二极管 238 接收到的随机偏振荧光 234 的成分仅是在特定方向上振动的成分,因此在其它方向上振动的成分被截除。

[0201] 如图 15A 所示,当取向控制信号为 0V 时,被取向控制光束 136 取向的荧光分子 14 的跃迁矩的方向垂直于透射通过分析器 236 的的成分的振动方向 232a。在这种情况下,荧光分子 14 相对于激发光 230 的在振动方向 232a 上振动的成分的激发效率最小。因此,由荧光分子 14 发射的荧光 234 的通过分析器 236 并到达光电二极管 238 的的成分的强度在这种情况下也最小。

[0202] 相反,如图 15B 所示,当取向控制信号是 5V 时,被取向控制光束 134 取向的荧光分子 14 的跃迁矩的方向平行于透射穿过分析器 236 的的成分的振动方向 232a。在这种情况下,荧光分子 14 相对于激发光 230 的在振动方向 232a 上振动的成分的激发效率最大。因此,由荧光分子 14 发射的荧光 234 的通过分析器 236 并到达光电二极管 238 的的成分的强度在这种情况下也最大。

[0203] 在同样采取这种构造的情况下,当取向控制信号从 0V 转换到 5V 时,荧光分子 14 的取向方向将改变,并且荧光分子 14 的跃迁矩的方向和透射穿过分析器 236 的光的振动方向逐渐变成平行。伴随这种逐渐接近平行,荧光分子 14 相对于激发光 230 的在能够透射穿过分析器 236 的方向上振动的成分的激发效率增加。激发效率的增加使得由荧光分子 14 发射的荧光 234 的在能够透射穿过分析器 236 的方向上振动的成分的强度增加。即,由光电二极管 238 检测到的荧光的强度以与第一实施方案相同的方式逐渐增加。为此,即使在采用上述构造的情况下,表示当取向控制信号从 0V 转换到 5V 时光电二极管 238 的输出随

着时间变化的图具有与图 10A 的图相同的形状。即,同样在这种情况下,可以相对于表示光电二极管 238 输出的图,通过进行与第一实施方案中进行的计算相同的计算,测量检测对象物质的浓度。

[0204] 作为进一步的可选方式,可以采用由在相互垂直的两个方向上线偏振的两种成分构成的激发光 240,如图 16A 和图 16B 的概念图中所示。激发光 240 仅具有两种成分,所述两种成分在垂直于激发光 240 传播方向的平面内在振动方向 242a 和 242b 上线偏振。即,振动方向 242a 和振动方向 242b 相互垂直。被激发光 240 激发的荧光分子 14 发射具有在与激发光 240 的振动方向相同的振动方向上振动的成分的荧光 244。即,荧光 244 具有在振动方向 242 和 242b 上线偏振的两种成分。

[0205] 图 16A 是显示取向控制信号为 0V 的情况的概念图。当取向控制信号为 0V 时,发射取向控制光束 136。取向控制光束 136 照射的荧光分子 14 取向,使得所述荧光分子 14 的跃迁矩与振动方向 242b 相同。即,当取向控制信号为 0V 时,荧光分子的跃迁矩和激发光 240 的一个成分的振动方向 242b 平行。

[0206] 偏振分束器 246 透射荧光 244 中在振动方向 242a 上振动的线偏振成分 244a,并反射荧光 244 的在振动方向 242b 上振动的线偏振成分 244b。穿过偏振分束器 246 的线偏振成分 244a 到达光电二极管 248。偏振分束器 246 反射的线偏振成分 244b 到达光电二极管 250。

[0207] 图 16B 是显示取向控制信号为 5V 的情况的概念图。当取向控制信号为 5V 时,发射取向控制光束 134。取向控制光束 134 照射的荧光分子 14 取向,使得所述荧光分子 14 的跃迁矩与振动方向 242a 相同。即,当取向控制信号为 5V 时,荧光分子的跃迁矩和激发光 240 的成分中的另一个的振动方向 242a 平行。

[0208] 以下集中描述荧光 244 的穿过偏振分束器 246 的线偏振成分 244a。在这种情况下,激发光 240 的成分中的一个的振动方向 242a 与荧光分子 14 的跃迁矩的方向之间的关系与在第一实施方案的情况下是相同的。光电二极管 248 的输出的时间变化类似于相对于第一实施方案所述的图 10A 的曲线图表示的时间变化。即,伴随着取向控制光束的发射方向的转换,结合分子的取向方向开始变化,并且光电二极管 248 的输出增加。光电二极管 248 的输出在结合分子的再取向完成之后的时刻点达到最大。在保持 5V 电压持续 T 秒之后,将取向控制信号重置到 0V。当取向控制信号从 5V 转换到 0V 时,结合分子取向的方向再次转换,并且光电二极管 248 的输出降低。

[0209] 同时,以下集中描述荧光 244 的被偏振分束器 246 反射的线偏振成分 244b。在这种情况下,激发光 240 的成分中的另一个的振动方向 242b 和荧光分子 14 的跃迁矩的方向是平行的。因此,荧光分子 14 相对于激发光 240 的另一个成分的激发效率直到取向控制光束的发射方向转换之前都是最大的。即,荧光 244 的线偏振成分 244b 的强度直到取向控制光束的发射方向转换之前都是最大的,因此,接收荧光 244 被偏振分束器 246 反射的线偏振成分 244b 的光电二极管 250 的输出直到该时间也是最大的。伴随着取向控制光束的发射方向的转换,自由分子的取向方向开始变化,并且光电二极管 250 的输出降低。光电二极管 250 的输出在所有结合分子的再取向完成之后变成最小。保持 5V 电压持续 T 秒之后,将取向控制信号重置到 0V。当取向控制信号从 5V 转换到 0V 时,结合分子取向的方向再次转换,并且光电二极管 250 的输出增加。这是因为激发光 240 的另一个成分的振动方向 242b 和

荧光分子 14 的跃迁矩的方向返回到平行状态。

[0210] 采用光电二极管 248 的输出和光电二极管 250 的输出将所接收的光数据归一化。通过依此方式将两个光电二极管的输出归一化,可以减小自由分子和结合分子的浓度的波动和光学系统的激发功率的波动的影响。

[0211] 之后,从归一化的所接受的光数据计算结合分子的浓度。

[0212] 本发明的实施方案基于饱和荧光强度值获得结合分子的浓度。然而,不是必须以这种方式获得结合分子的浓度。例如,可以采用其中取向控制光束的发射方向在取向控制光束的发射方向转换之后在荧光强度成为饱和之前返回至转换之前的发射方向的高频进行锁定检测。

[0213] 图 17A 是示例其中取向控制信号是 5V 的过程的期间足够长以使得荧光强度成为饱和的取向控制信号的输出的图。图 17B 是示例其中取向控制信号是 5V 的过程的期间足够短以使得荧光强度未成为饱和的取向控制信号的输出的图。在图 17A 中,取向控制信号的周期 t_1 足够长,并且在取向控制信号是 5V 的时间的期间足够长。因此,将所有的结合分子取向,荧光强度成为最大,并且锁定放大器的输出成为最大值 i_1 。同时,在图 17B 中,取向控制信号的周期 t_2 短,并且在所有结合分子取向之前取向控制信号成为 0V。因此,荧光强度未达到理论最大值,并且锁定放大器的输出为 i_2 。

[0214] 在本发明的实施方案中,对于每个发射方向取向控制光源的数目不限于一个。可以提供多个取向控制光源,并且多个取向控制光束可以在相同的方向上发射。

[0215] 在通过改变发射取向控制光束的方向来控制荧光分子的跃迁矩的方向的光学系统中,可以设置从特定方向同时朝向多个点发射取向控制光束的多个光学系统以加宽取向控制光束的照射范围,以便避免在将取向控制光束聚焦至窄的范围内的情况下取向控制光束可以照射的范围将变小的问题。多个光学系统可以具有多个光路,至少在激光束进入试剂杯之前的阶段。例如,如果设置三个也包括光源的光学系统,外力施加光束从所有三个外力施加光源发射,并且外力施加光束可以从特定方向照射试剂杯三个点。作为另一个实例,即使仅设置单个光源,也可以通过采用二维激光阵列、微透镜阵列等将单个外力施加光束分支,并且可以将外力施加光束发射至对应于分支的数目的多个点上。在这种情况下,取向控制光束可以同时发射至多个点上,并且荧光分子的跃迁矩可以在多个位置旋转。

[0216] 本发明的实施方案被描述为荧光分子的跃迁矩的方向通过转换激光束发射的方向来控制的情况。然而,用于控制荧光分子的跃迁矩的方向的方法不局限于这种构造。例如,可以利用荧光分子的跃迁矩跟踪线偏振光的振动方向的现象,通过控制线偏振激光束的振动方向来控制荧光分子的跃迁矩的方向。

[0217] 以下描述用于通过控制线偏振激光束的振动方向控制荧光分子的跃迁矩的方向的方法的示例。采用在单个方向上被线偏振的激光束,并且将激光束的偏振轴旋转以控制结合分子的取向,从而控制荧光分子的跃迁矩的方向。可以通过采用 $\lambda/2$ 波长片控制线偏振激光束的偏振轴。 $\lambda/2$ 波长片是用于使光的两个垂直成分之间的光程差为所述光的波长的一半的相移片,并且用于使光的偏振轴旋转。在平行于 $\lambda/2$ 波长片的光轴方向的方向上被线偏振的光以保持不变的方式穿过所述波长片,而在与 $\lambda/2$ 波长片的光轴方向形成 45 度角的方向上被线偏振的光在其偏振轴旋转 90 度的状态下被透射。即,通过相对于线偏振激光束转换 $\lambda/2$ 波长片的角度,能够进行激光束以保持不变的方式穿过 $\lambda/2$ 波长片的情

况与激光束在其偏振轴旋转 90 度的状态下被透射的情况之间的转换。即,采用 $\lambda/2$ 波长片通过旋转线偏振激光束的偏振轴,使结合分子可以在两个方向上被取向。

[0218] 在通过控制线偏振激光束的振动方向来控制荧光分子的跃迁矩的方向的情况下,取向控制光束在垂直于其传播方向的平面内具有任意横截面形状。例如,考虑发射具有偏振轴 352 的线偏振取向控制光束 350 的情况,如图 18A 所示。在这种情况下,激光束 250 在垂直于其传播方向的方向上具有大致矩形横截面形状。考虑位于取向控制光束 350 的中心处的结合分子 354 和位于取向控制光束 350 的周边部分处的结合分子 356 的矩。

[0219] 如图 18B 中所示,当取向控制光束 350 旋转时,偏振轴 352 旋转。位于旋转轴(偏振轴 352 的旋转中心)上的结合分子 354 立即跟踪偏振轴 352 的旋转,并且旋转。同时,位于取向控制光束 350 的周边部分处的结合分子 356 不能立即跟踪偏振轴 352 的旋转,并且变得与所述偏振轴 352 分离。经过一段时间以后,结合分子 356 也被吸入到取向控制光束 350 中,并且开始跟踪偏振轴 352 旋转的旋转。在取向控制光束 350 的偏振轴 352 从图 18A 的偏振轴 352 旋转 90 度的情况下,如图 18C 所示,结合分子 354 的再取向与偏振轴 352 的旋转的完成同时完成。同时,因为结合分子 356 不能立即跟踪偏振轴 352 的旋转,因此在完成偏振轴 352 的旋转之后的一段时间之后完成结合分子 356 的再取向。即,位于旋转轴上的结合分子 354 的移动是与取向控制光束 350 的偏振轴 352 的旋转同步的旋转。然而,位于取向控制光束 350 的周边部分处的结合分子 356 的移动是绕着旋转轴的旋转,其不与取向控制光束 350 的偏振轴 352 的旋转同步。

[0220] 存在不能跟踪取向控制光束 350 的偏振轴 352 的旋转的结合分子的存在影响测量的情况。为了减小这种影响,优选的是取向控制光束从预定方向同时进入多个点。例如,如图 19 所示(试剂杯 108 的平面图),可以采取其中与九个点 360a 至 360i 相对应的九个取向控制光束进入试剂杯 108 的构造。通过采用这种构造,位于取向控制光束的偏振轴的中心处的结合分子的数量将增加,从而减小对测量的上述影响。要注意的是:虽然这里描述了取向控制光束进入九个点的实例,但是取向控制光束进入的点的数量不局限于九个,而是可以比九个多或比九个少。理想的是取向控制光束聚焦得越窄,激光束进入越多数量的点。因此,可以使结合分子与取向控制光束的旋转同步地旋转。因此,可以降低荧光强度的突然变化,并且可以改善作为表示相对散布的指标的变化系数。

[0221] 图 20 中显示了使激光束从预定方向同时进入多个点的取向控制光源 402 的结构。取向控制光源 402 是 3×3 的二维激光阵列。取向控制光源 402 的九个发光点 404a 至 404i 发射光。发光点具有 $1 \mu\text{m}$ 的高度和 $100 \mu\text{m}$ 的宽度。发光点之间的距离大约为 $100 \mu\text{m}$ 。

[0222] 图 21 中显示了采用图 20 的取向控制光源 402 的光学系统的一个实例。要注意的是:用于激光束和激发光的光学系统以外的结构元件在图 21 中被省略。

[0223] 从取向控制光源 402 输出的线偏振取向控制光束 422 穿过准直透镜 406 并在焦点处变成准直光束。已经穿过准直透镜 406 的取向控制光束 422 穿过扩束器 408 和 410,然后进入 $\lambda/2$ 波长片 412。已经穿过扩束器 408 和 410 的取向控制光束 422 散开以变成具有特定放大率的准直光束。 $\lambda/2$ 波长片在可旋转台上,并且被构造成是可旋转的。这种构造能够使取向控制光束 422 的振动方向旋转。已经穿过 $\lambda/2$ 波长片的取向控制光束 422 被分色镜 418 反射,被透镜 420 聚焦,穿过试剂杯 108 的底部表面进入试剂杯 108,并向上传播。

[0224] 从光源 414 输出的激发光 424 穿过透镜 426 并被分色镜 416 反射。已经被分色镜

416 反射的激发光 424 穿过分色镜 418, 被透镜 420 聚焦, 穿过试剂杯 108 的底部表面进入试剂杯 108, 并向上传播。

[0225] 如果在图 21 中所示的光学系统中, 准直透镜 406 的焦距被设定为 3.1mm, 并且透镜 420 的焦距被设定为 4mm, 则放大率为 1.29x。因此, 取向控制光束 422 的尺寸大约为 $1.3\ \mu\text{m} \times 130\ \mu\text{m}$, 且在试剂杯 108 的底部表面处具有大约 $129\ \mu\text{m}$ 的间距。

[0226] 以下参照图 22 描述使激光束从预定方向同时进入多个点的光学系统的另一实例。要注意的是: 用于取向控制光束和激发光的光学系统以外的结构元件在图 22 中被省略。另外, 与图 21 中所示的结构元件相同的结构元件由相同的附图标记表示, 并且省略所述结构元件的详细说明。

[0227] 在图 22 中所示的光学系统中, 取向控制光源 116 与第一实施方案的取向控制光源相同。取向控制光束 432 穿过准直透镜 406、扩束器 408 和 410, 并进入微透镜阵列 428。如图 23 所示, 微透镜阵列 428 具有以网格形状阵列的多个微透镜 428a。穿过微透镜阵列 428 的取向控制光束 432 变成具有不同焦点的多个光束, 如同由多个光源发射的光。取向控制光束 432 被针孔阵列 430 聚焦, 被分色镜 418 反射, 由透镜 420 聚焦, 穿过试剂杯 108 的底部表面进入试剂杯 108, 并向上传播。可以依此方式也通过采用微透镜阵列使取向控制光束从预定方向同时进入多个点。

[0228] 另外, 在上述实施方案中, 试剂杯具有圆筒形形状。然而, 试剂杯的形状不是必须为圆筒形。例如, 可以采用被成形为矩形柱并且其中具有矩形柱状溶液部的试剂杯 432, 如图 24 所示。具有矩形柱状溶液部的试剂杯 432 尤其适于在取向控制光束传播方向上由该光束施加的压力被用于将结合分子压在试剂杯 432 内壁表面上的情况。这是在结合分子的质量较轻的情况下出现的, 由在取向控制光束施加的压力下结合分子移动通过溶液所引起的现象。在这种情况下, 如果溶液保持部是矩形柱, 则自由分子和结合分子在被压在溶液与试剂杯 432 之间的界面上的同时被取向。在界面是平面并且由取向控制光束施加的压力在垂直于所述界面的方向上操作的情况下, 结合分子将不会因在平行于界面的方向上移动而移动出取向控制光束的照射范围。

[0229] 另外, 在将结合分子压在试剂杯 432 内壁表面上的情况下, 通过设定取向控制光束的焦点的位置可以使分子更加容易地被取向。图 25 是显示聚焦的取向控制光束的焦点与试剂杯之间的位置关系的图。取向控制光束 434 进入透镜 436 并在血浆 16 与侧壁 432b (侧壁 432b 的内表面) 之间的界面处被聚焦在焦点 434a。取向控制光束 434 的强度在焦点 434a 的位置处最大, 因此可以以大量的压力挤压结合分子。因此, 如果取向控制光束 434 以图 25 所示的方式被发射, 则在将结合分子压在侧壁 432b 的内表面上的同时, 结合分子可以被更加有效地取向。同时在这种情况下, 可以通过旋转线偏振取向控制光束 434 的振动方向而在焦点 434a 的位置处改变结合分子的取向方向。

[0230] 要注意的是: 溶液保持部形成为矩形柱不是必须的, 并且溶液保持部仅需要具有至少一个平面。如果取向控制光束被发射使得该光束聚焦在该平面上的焦点处, 则结合分子将不会因在平行于平面的方向上移动而移动出取向控制光束的照射范围, 并且将在被压在该平面上的同时被取向。

[0231] [工业应用领域]

[0232] 本发明的生物分子检测设备和生物分子检测方法可以应用在通过利用检测对象

物质和与检测对象物质特异性结合的物质之间的相互作用来检测或定量检测对象物质的设备中。

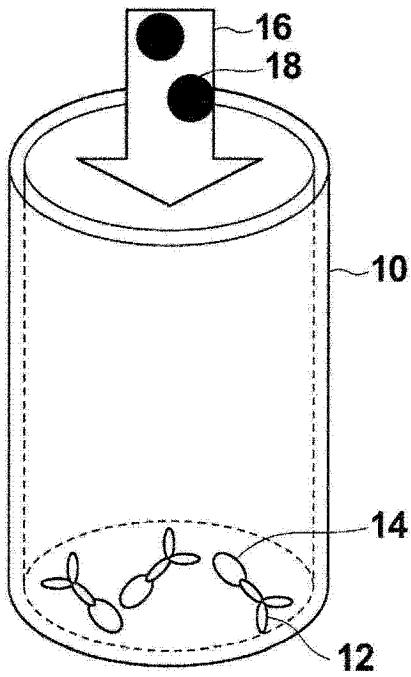


图 1A

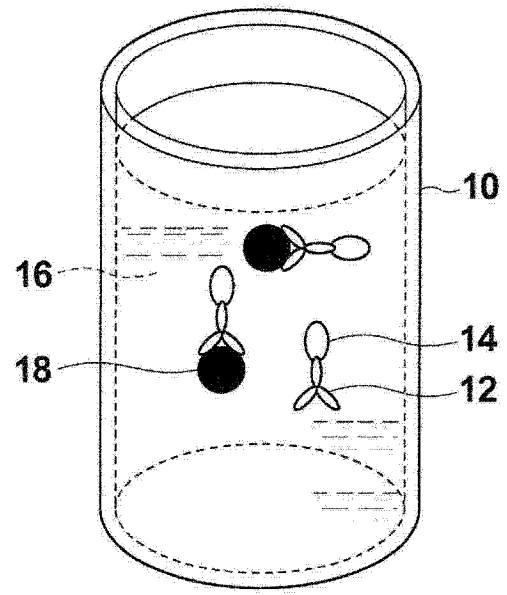


图 1B

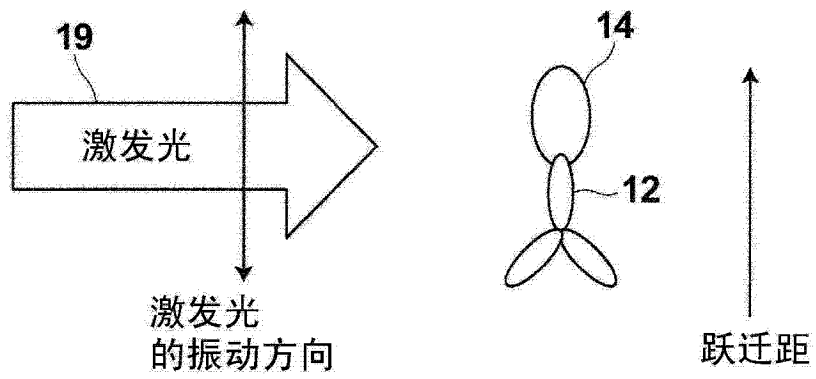


图 2A

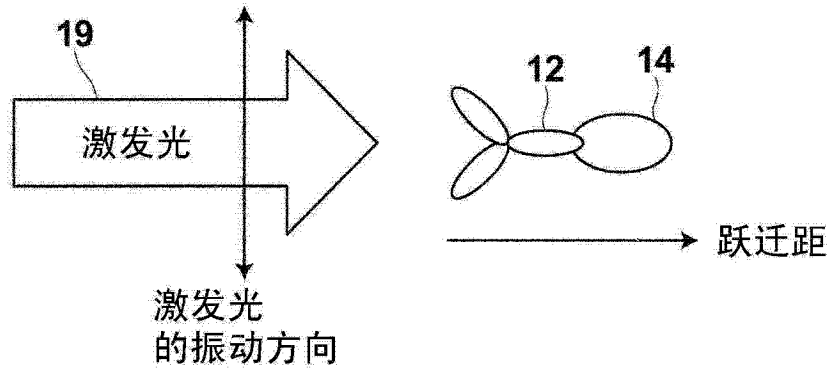


图 2B

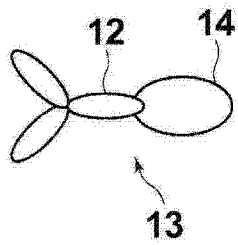


图 3A

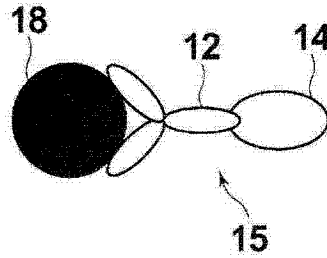


图 3B

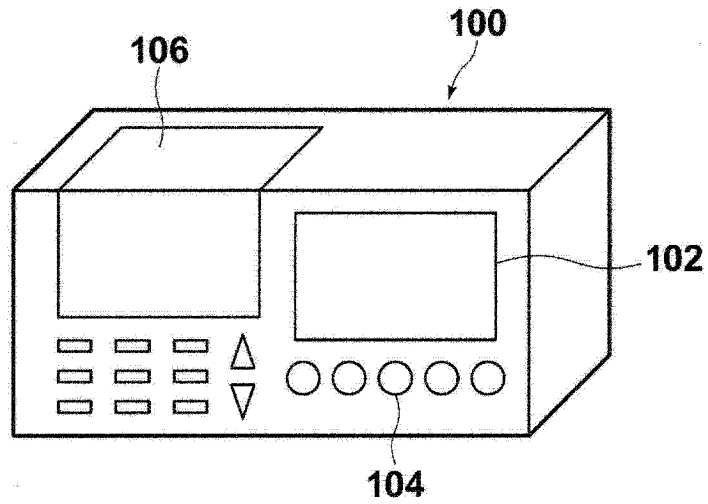


图 4A

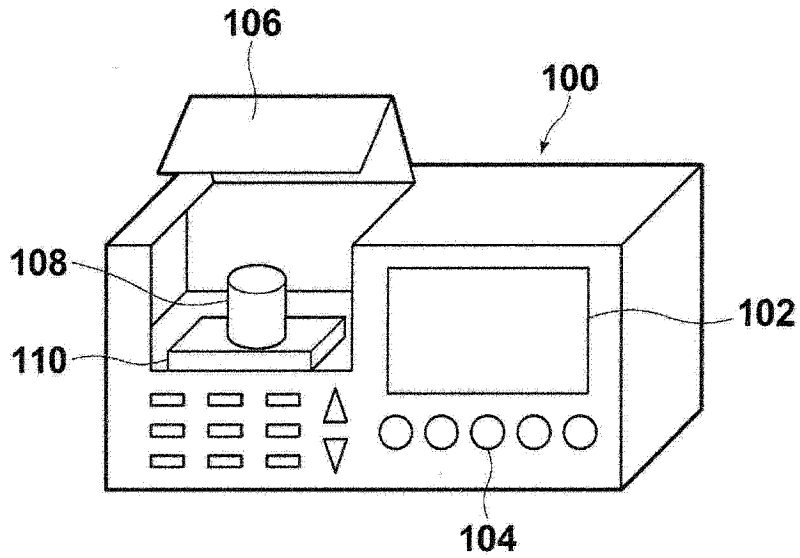


图 4B

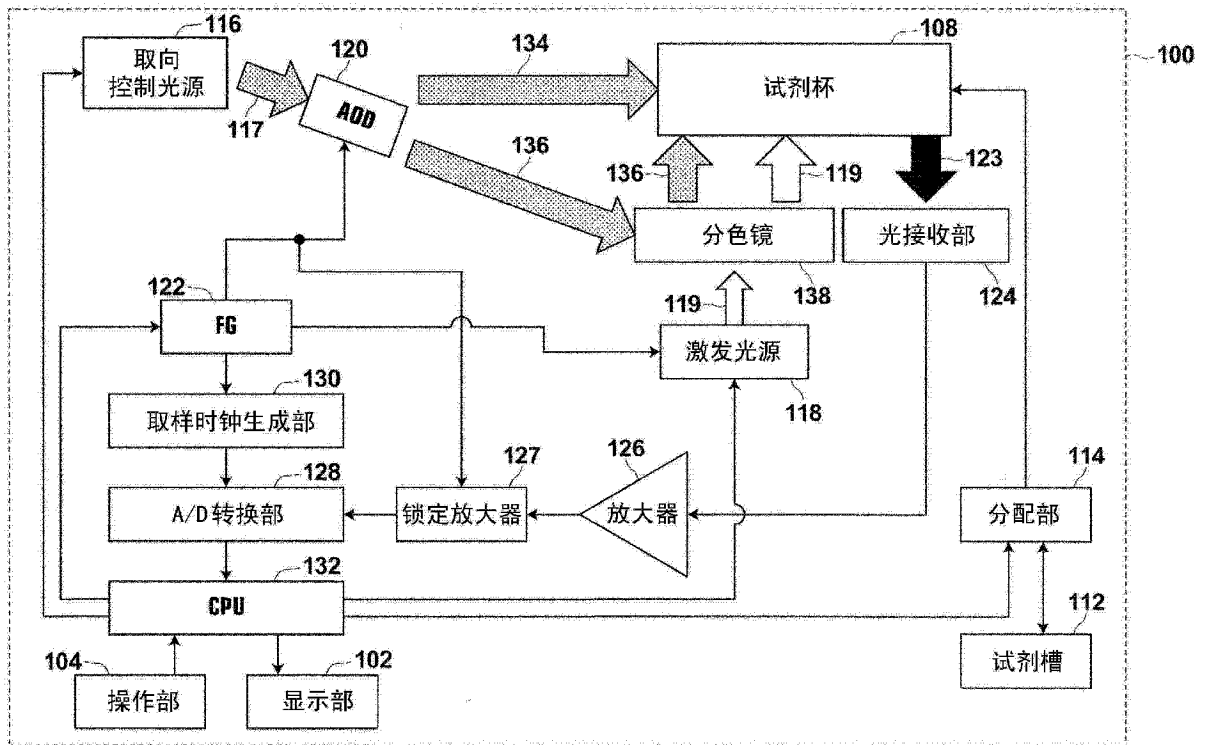


图 5

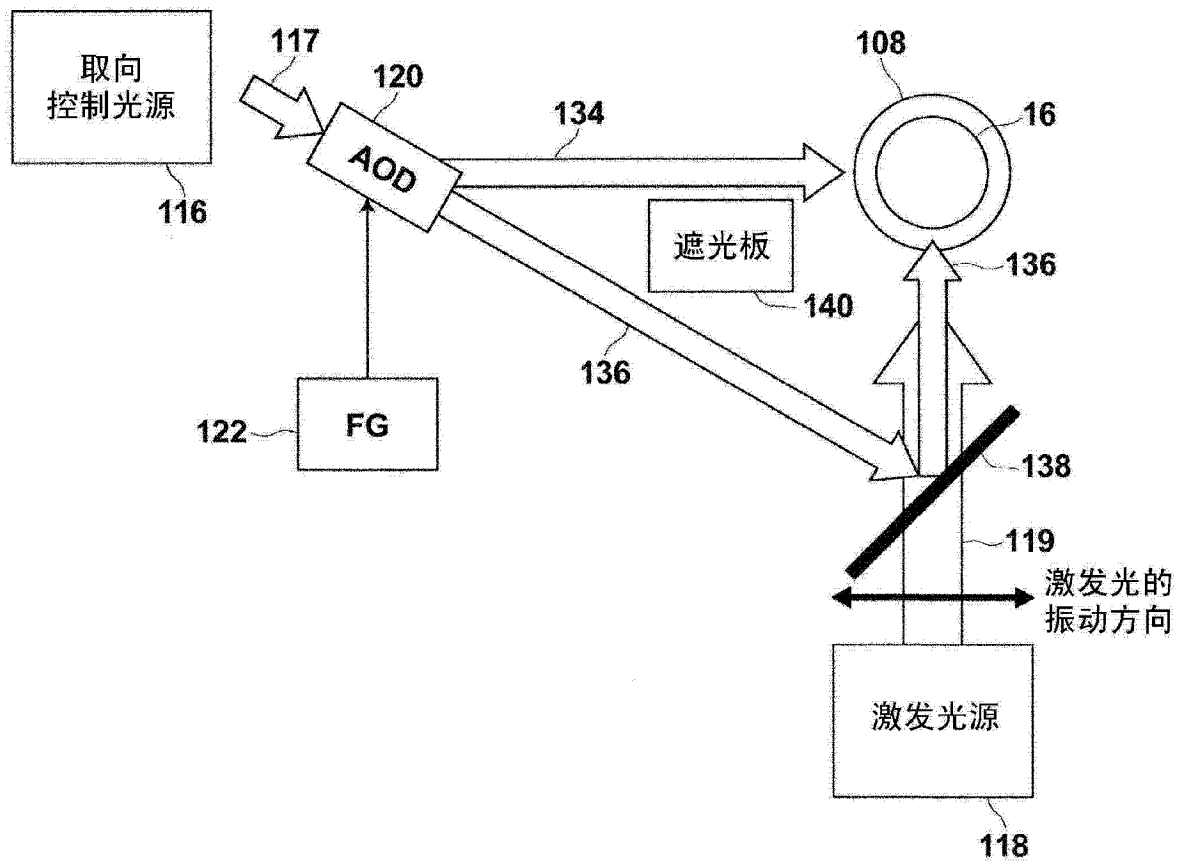


图 6

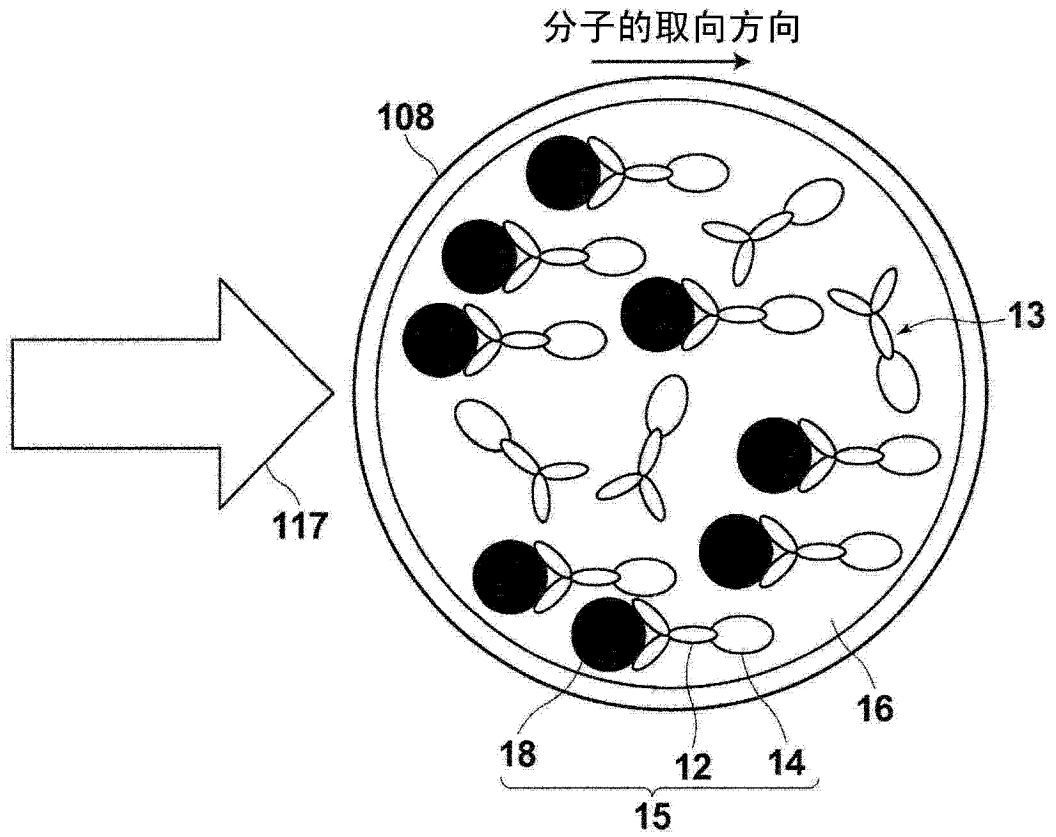


图 7A

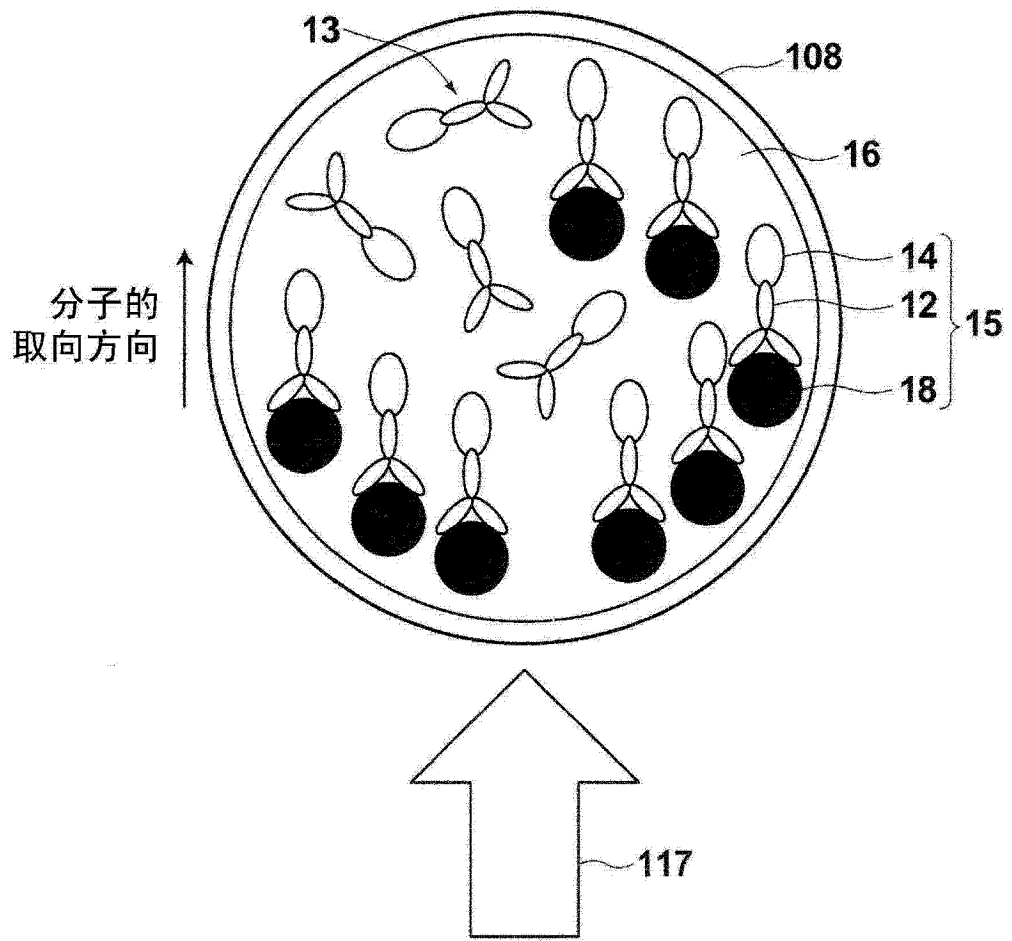


图 7B

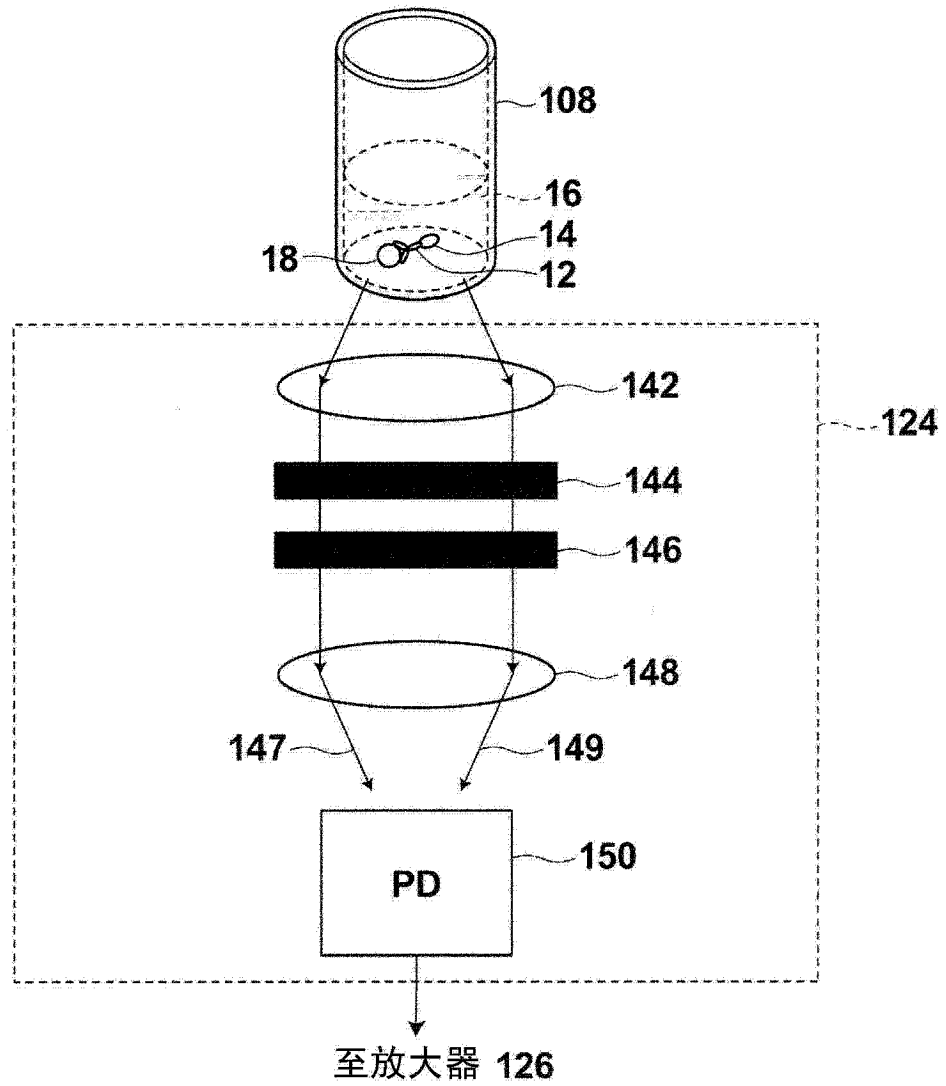


图 8

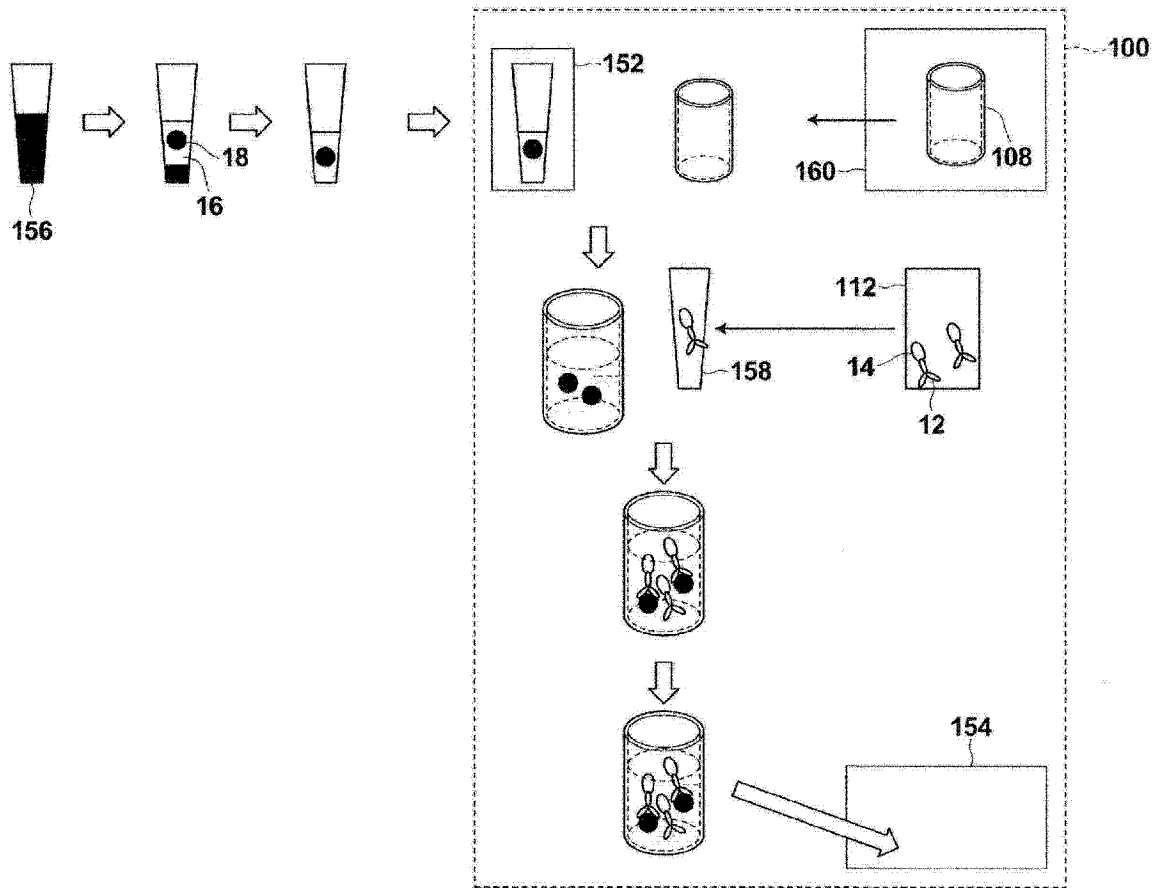


图 9

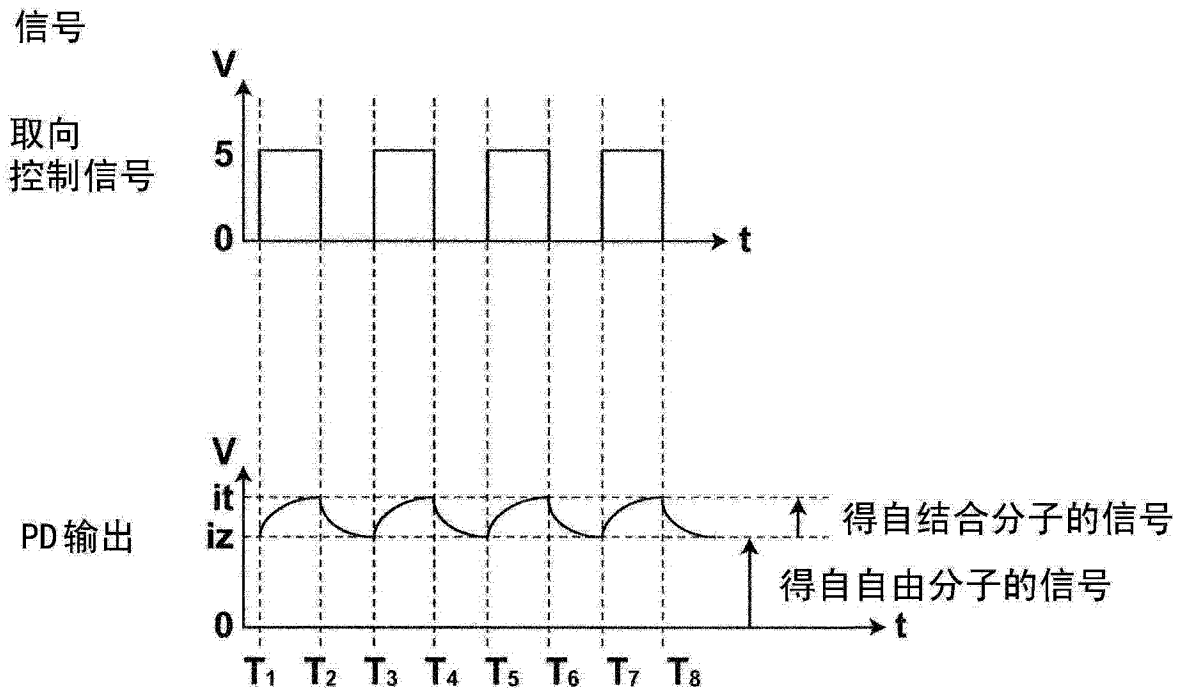


图 10A

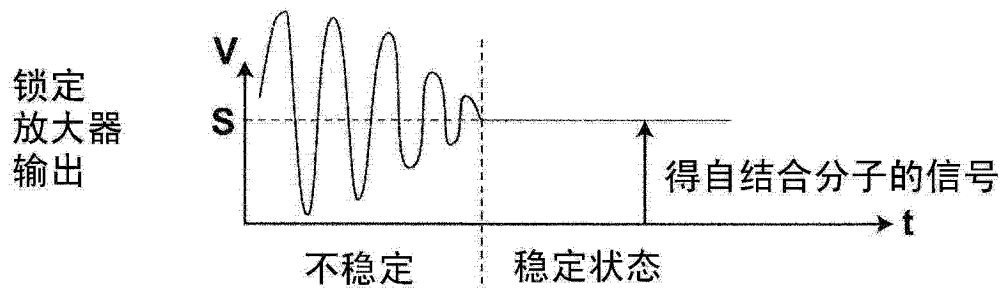


图 10B

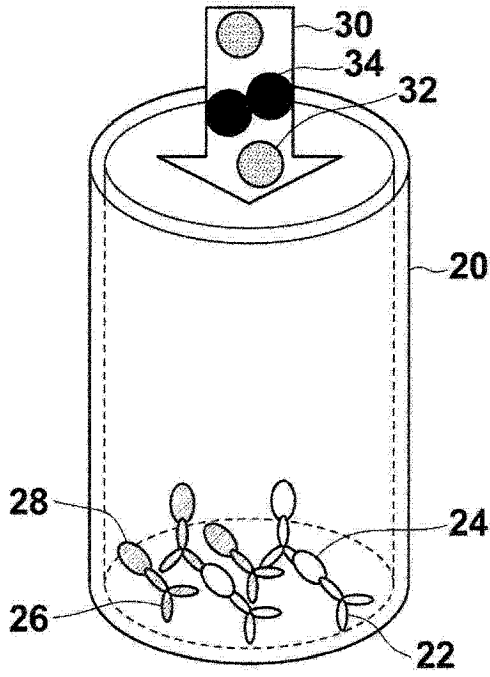


图 11A

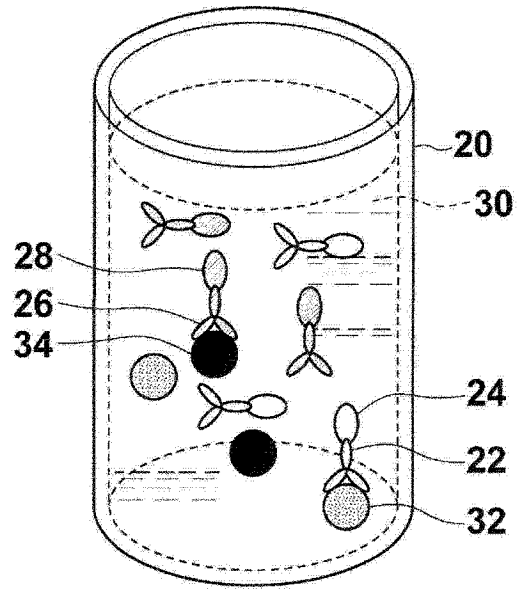


图 11B

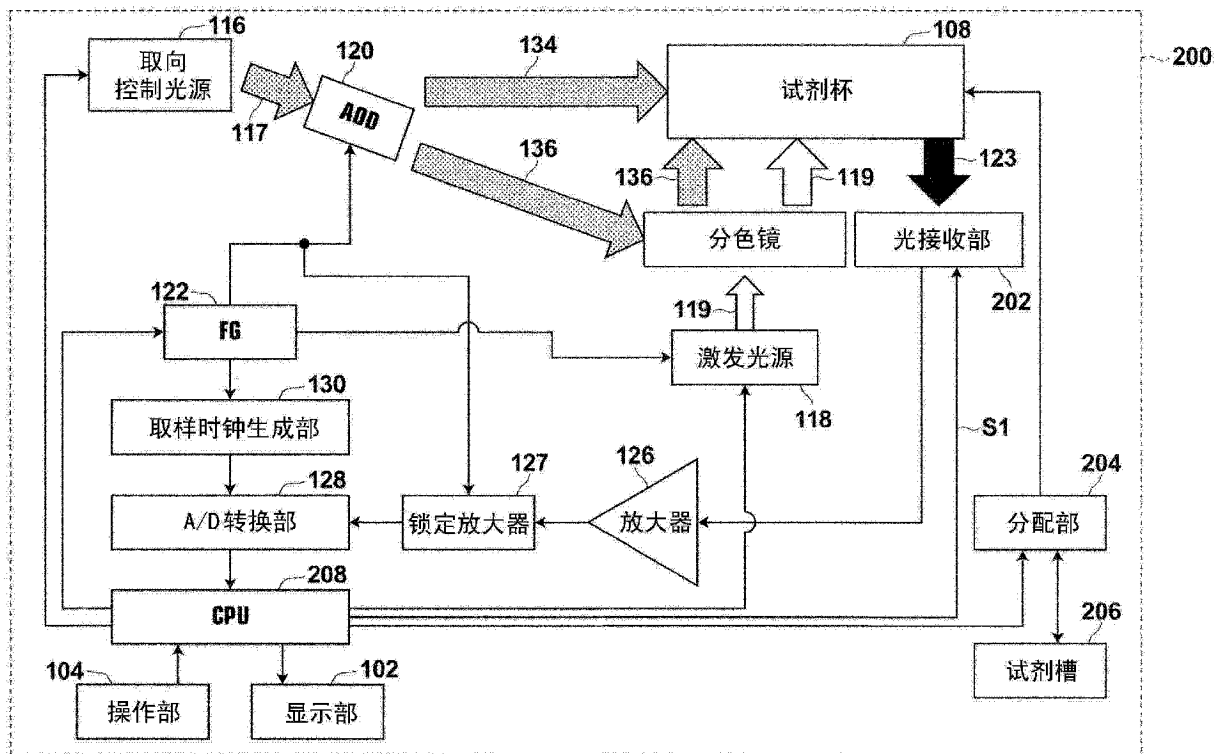


图 12

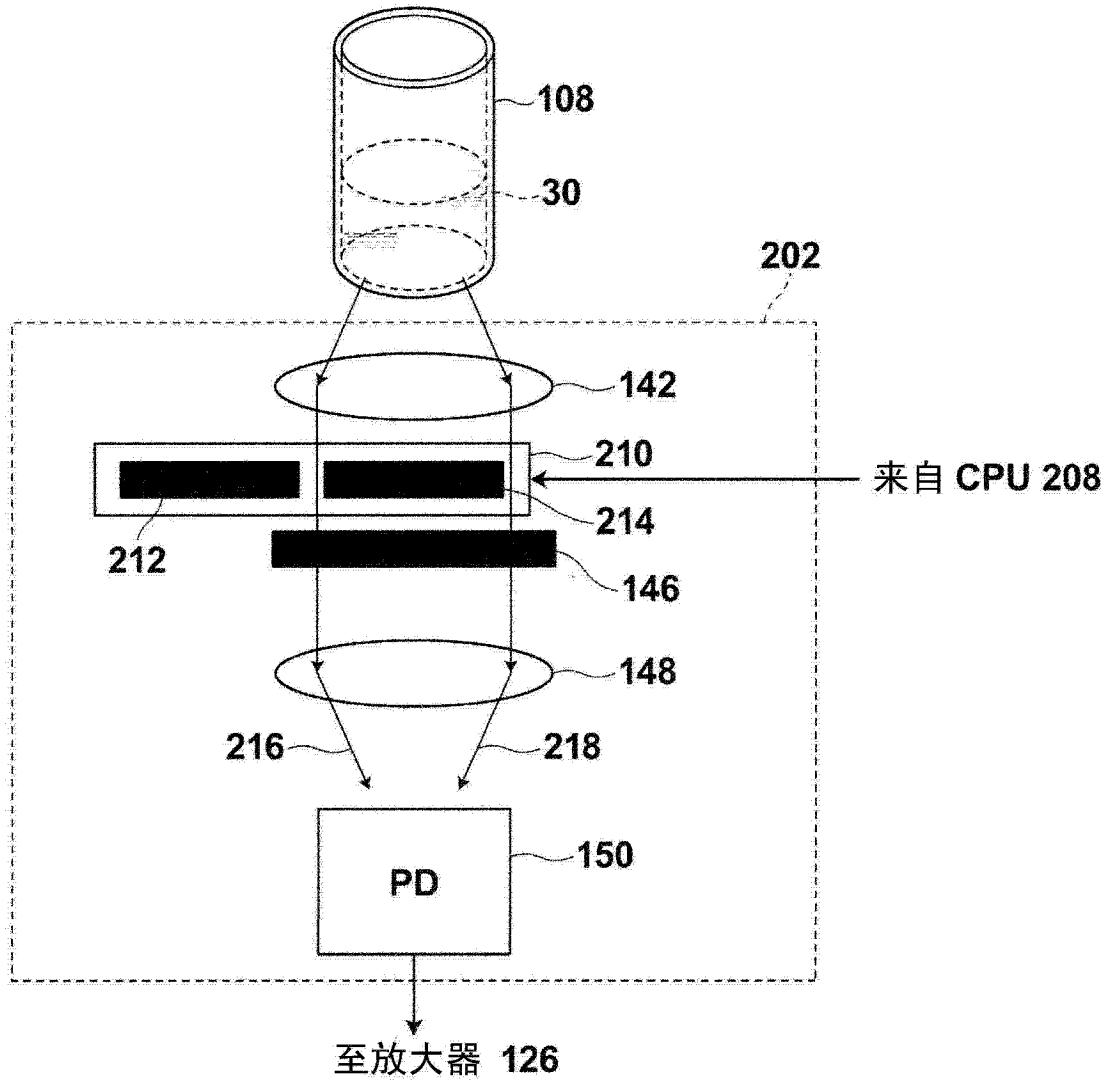


图 13

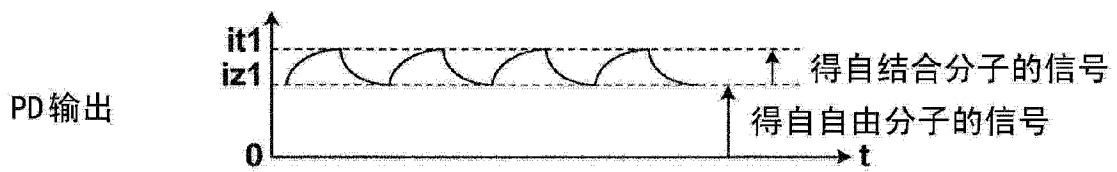


图 14A

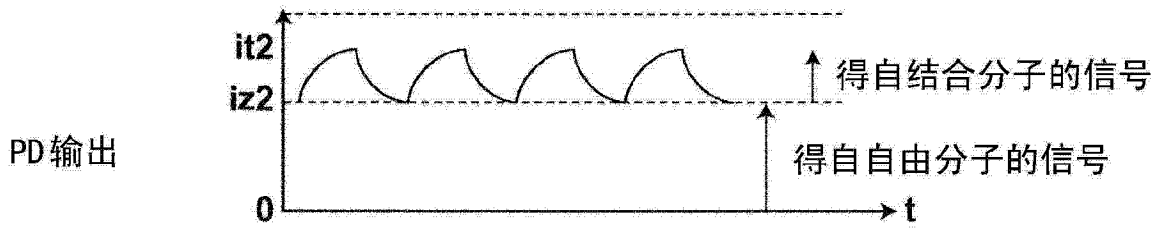


图 14B

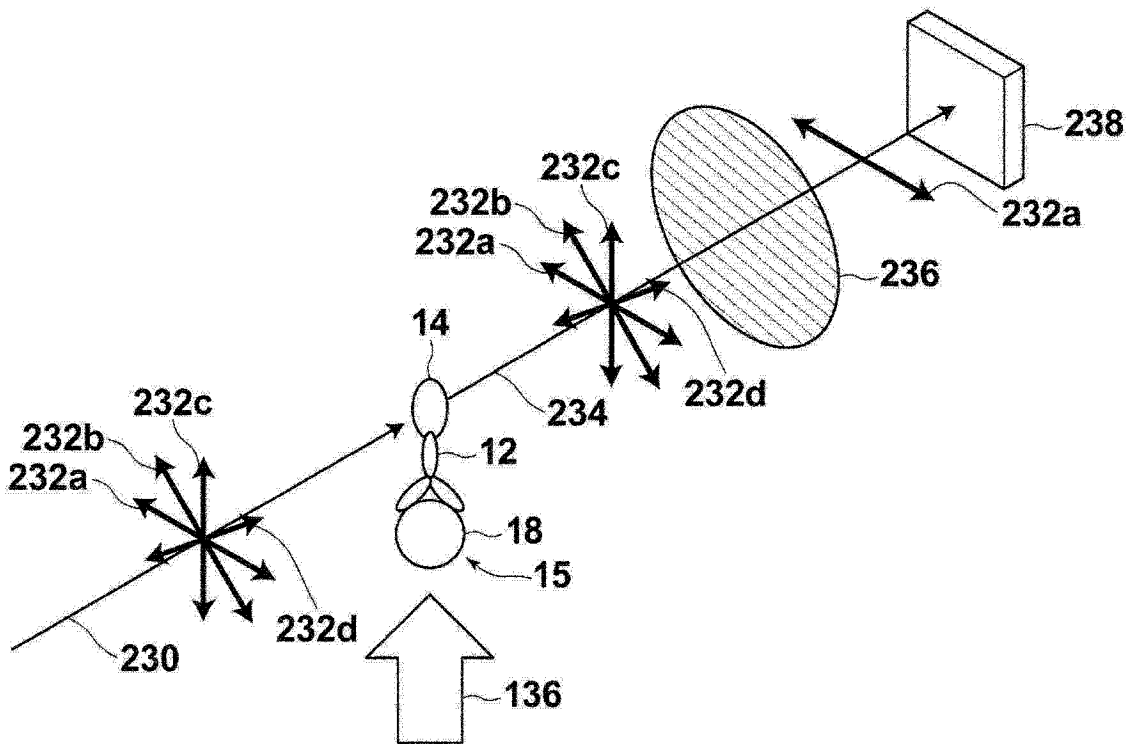


图 15A

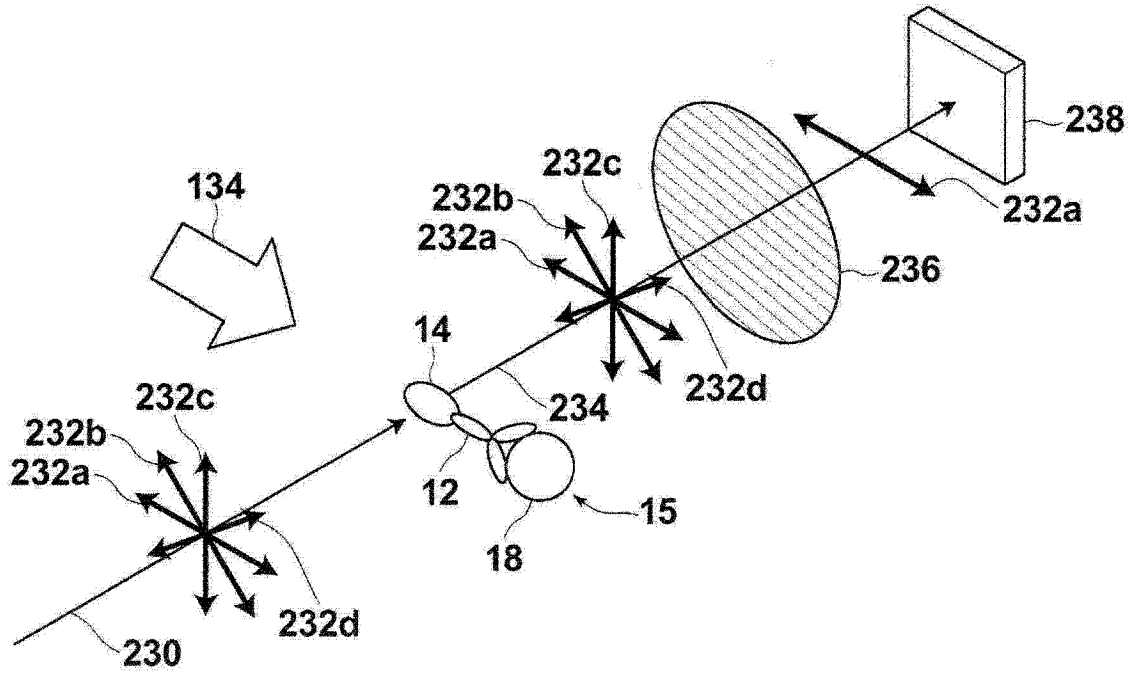


图 15B



图 16A

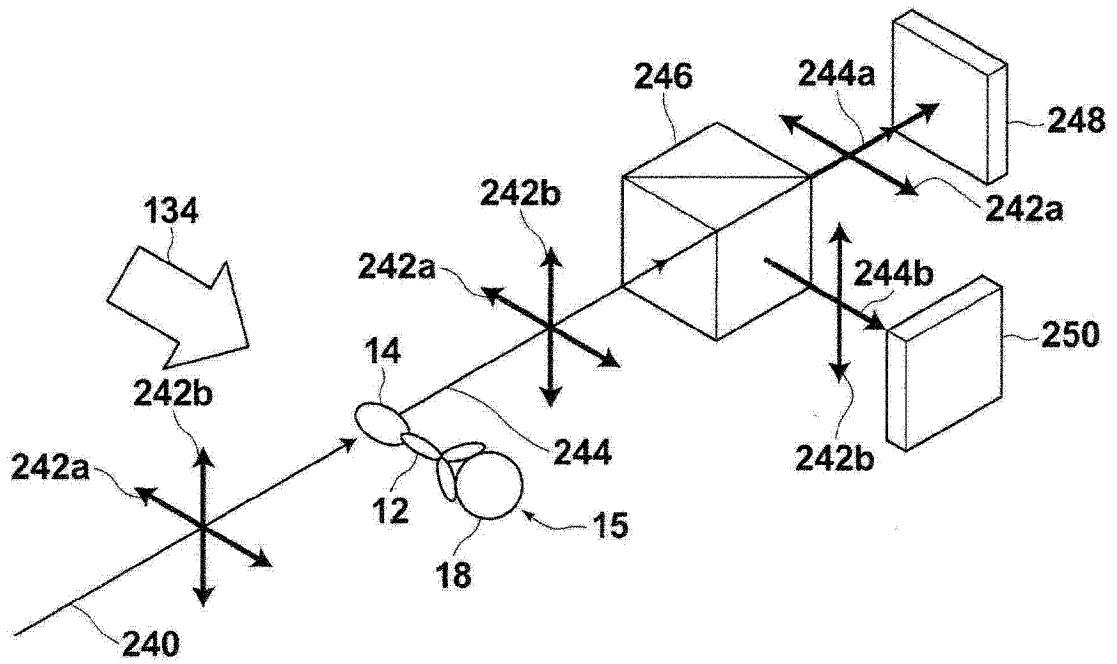


图 16B

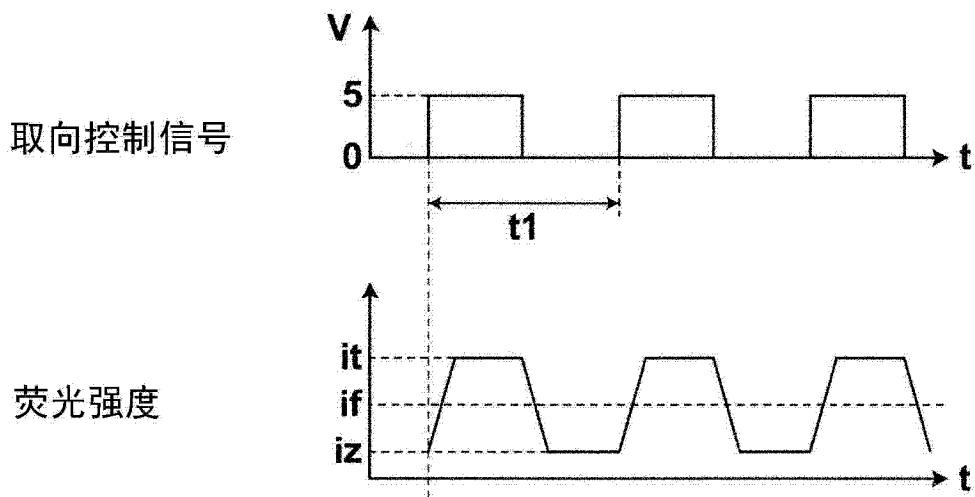


图 17A

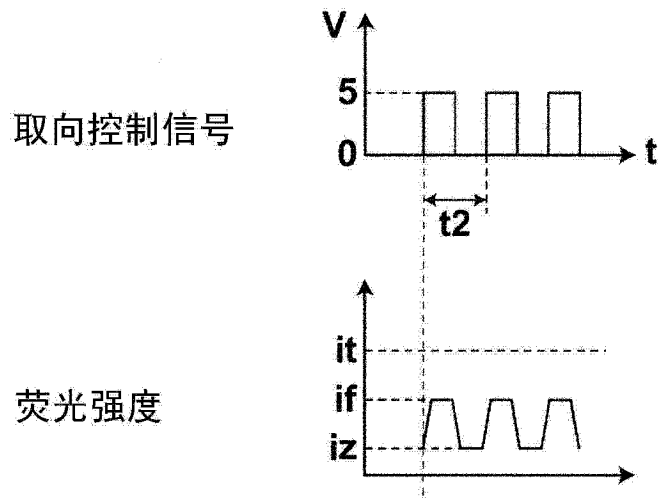


图 17B

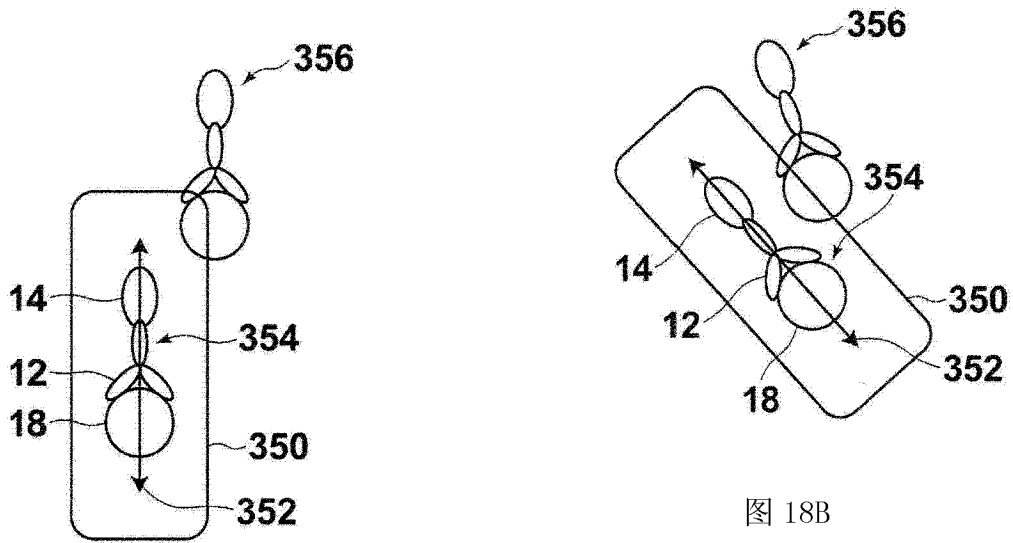


图 18A

图 18B

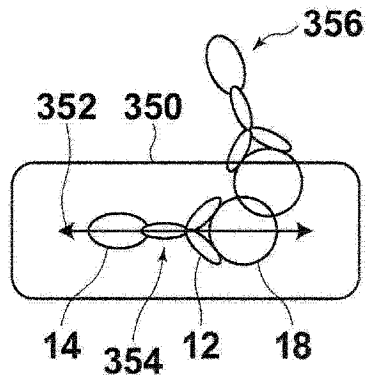


图 18C

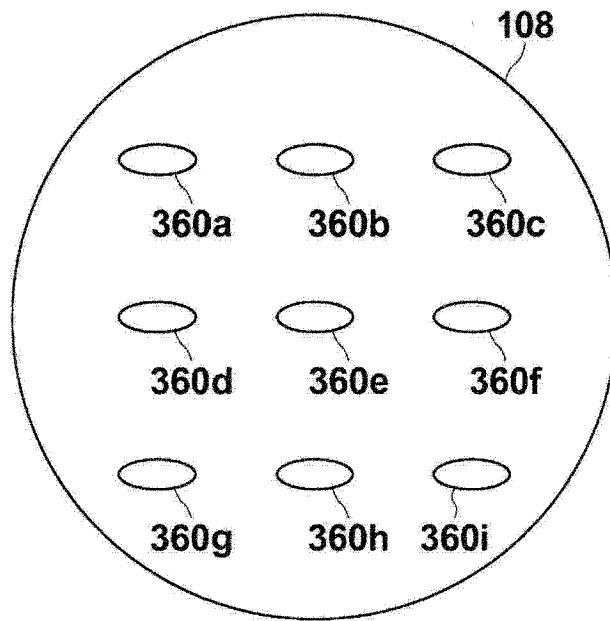


图 19

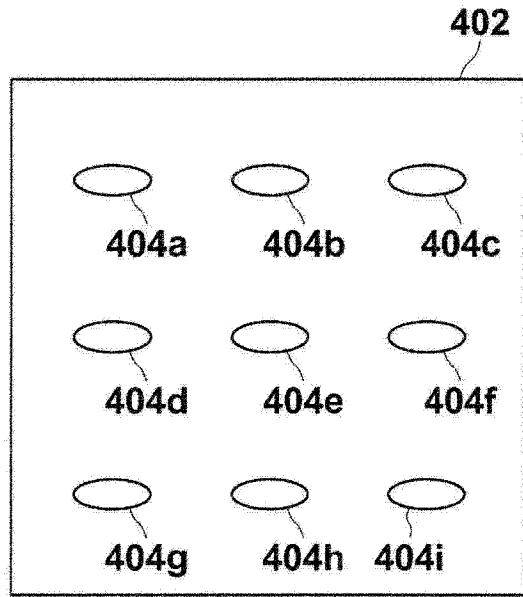


图 20

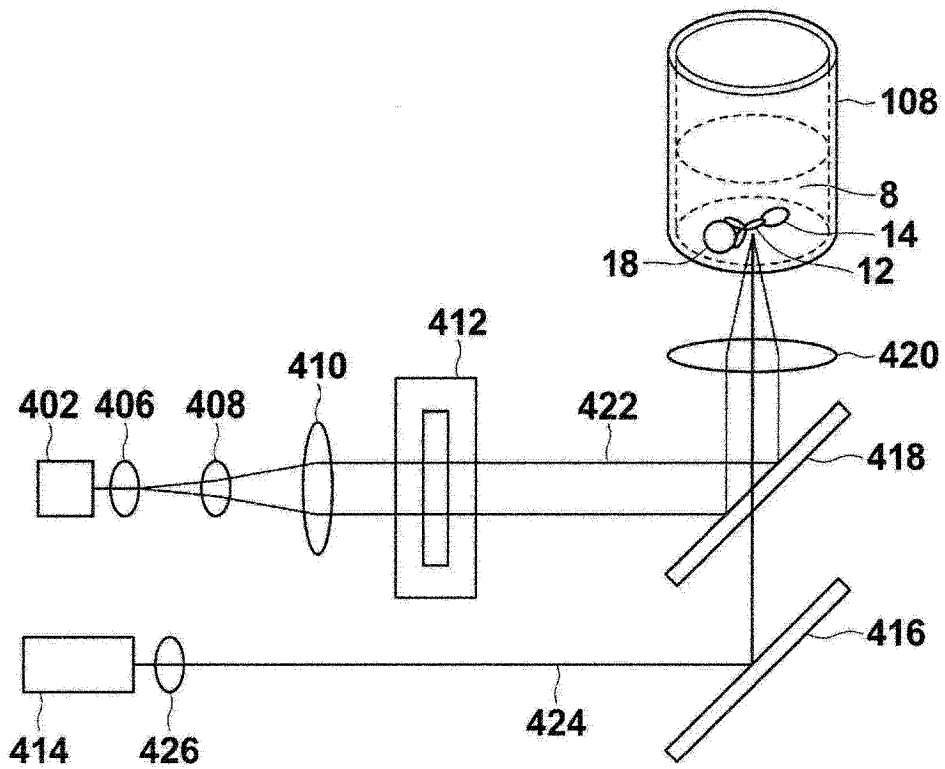


图 21

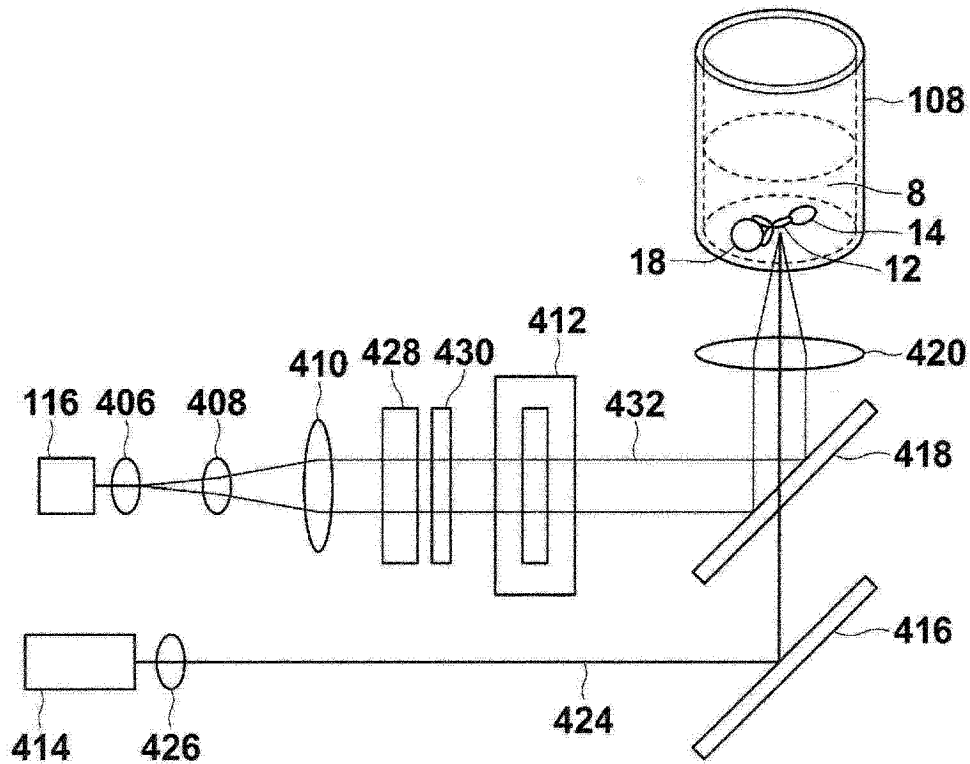


图 22

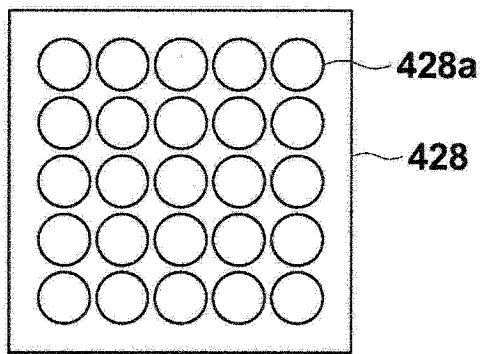


图 23

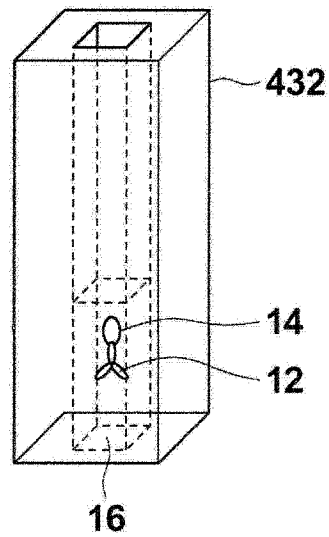


图 24

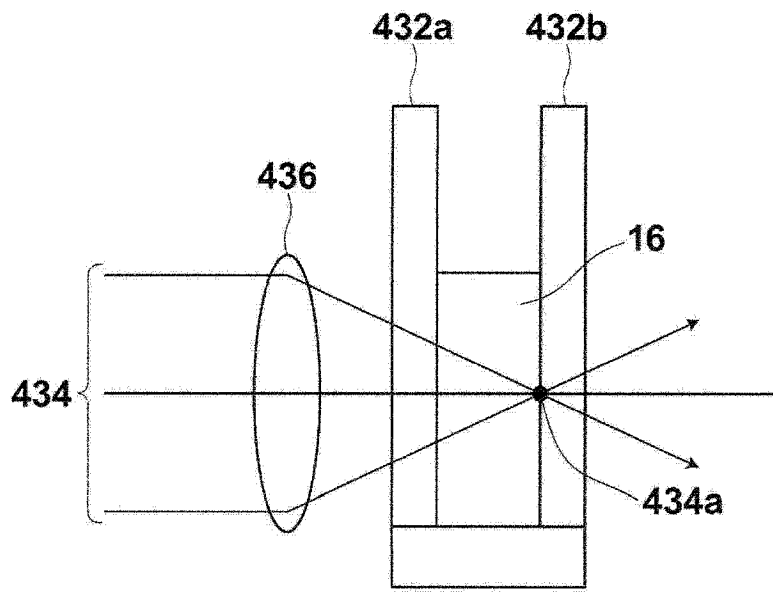


图 25