

权 利 要 求 书

1. 一种供光谱荧光计使用的探测器设备，用于探测具有荧光团的溶液中的样品所发射的光的存在，包括：

用于将光脉冲照射到所述样品上的装置；

用于探测从具有荧光团的溶液中的所述样品中发射的光的装置，该探测装置包括：

一个光电二极管，它产生一个与所述发射光成比例的发射光信号；和

一个由光吸收介质构成的光学单元腔体，所述光学单元腔体具有样品夹持区、设置在所述照射装置和所述样品夹持区之间的光接收通道和设置在所述样品夹持区和所述光电二极管之间的发送光通道。

2. 如权利要求 1 所述的供光谱荧光计使用的探测器设备，进一步包括：

参考光电二极管，它产生与所述的照射光脉冲成比例的参考光信号；以及

其中所述光学单元腔体进一步包括设置在所述照射装置和所述参考光电二极管之间的参考光通道。

3. 如权利要求 2 所述的供光谱荧光计使用的探测器设备，其中

所述的用于探测从具有荧光团的溶液中的所述样品中发射的

光的装置包括一个产生与所述发射光成比例的发射光信号的第二光电二极管；以及

所述光学单元腔体包括设置在所述样品夹持区和所述第二光电二极管之间的第二发射光通道，所述发射光通道和所述第二发射光通道两者基本上与所述光接收通道成 90° 角。

4. 如权利要求 3 所述的供光谱荧光计使用的探测器设备，进一步包括：

用于放大由所述光电二极管产生的所述发射光信号的第一装置；

用于放大由所述第二光电二极管所产生的所述发射光信号的第二装置；

用于放大由所述参考光电二极管所产生的所述参考光信号的第三装置，所述第一、第二和第三装置的每一个都设置在固定到所述光学单元上的电路板上。

5. 一种探测从具有荧光团的溶液中的样品所发射的光的存在的光谱荧光计，包括：

用于将光脉冲照射到所述样品上的装置，所述照射装置包括：

一个触发式光源；

一个电容器；

用电能给所述电容器充电的装置；和

触发所述光源的装置，从而将所述电容器与所述光源电连接并产生闪光；

探测自所述样品发射的光的装置；和

计算装置，它用顺序的程序指令控制所述充电装置和所述触

发装置。

6. 如权利要求 5 所述的光谱荧光计,其中所述探测装置包括:
光电探测器,用于产生与所述发射光成比例的电发射的光信号;

放大所述发射光信号的装置;和

将所述发射的光信号连接到所述放大装置的装置;和

其中所述计算装置基于由所述照射装置所发出的所述光脉冲的出现 用另一些程序指令控制所述连接装置。

7. 如权利要求 1 所述的供光谱荧光计用的探测器设备,进一步包括放大由所述光电二极管产生的所述发射光信号的装置,设置的所述的放大装置装在固定到所述光学单元上的电路板上。

8. 如权利要求 7 所述的供光谱荧光计用的探测器设备,其中所述光学单元腔体包括多个平直的外表面侧面,并且将所述电路板设置在第一个平的外表面上,所述第一个平的外表面最接近所述光电二极管。

9. 如权利要求 4 所述的供光谱荧光计用的探测器设备,其中所述光学单元腔体有多个平的外表面侧面,并将所述电路板分成分别包括所述第一、第二和第三放大装置的第一、第二和第三电路板部分,并且其中将所述第一、第二和第三电路板部分分别固定到最靠近所述的光电二极管、所述第二光电二极管和所述参考光电二极管的平坦外表面。

10. 如权利要求 4 所述的供光谱荧光计用的探测器设备,其中所述探测器进一步包括:

将所述第一和第二放大装置的输出相加以获得一个和输出信

号的装置;和

放大所述和输出信号的装置。

11. 如权利要求 4 所述的供光谱荧光计用的探测器设备, 其中所述第一、第二和第三放大装置的每一个都包括一个运算放大器。

12. 如权利要求 11 所述的供光谱荧光计用的探测器设备, 其中所述第一和第二放大装置的所述运算放大器有基本上相同的电性能。

13. 如权利要求 1 所述的供光谱荧光计用的探测器设备, 其中所述光学单元腔体有多个平坦的外表面, 这些平的外表面确定了大小约为 4cm^3 的长方形状。

14. 如权利要求 1 所述的供光谱荧光计用的探测器设备, 其中所述光接收通道大约为 10mm 。

15. 如权利要求 1 所述的供光谱荧光计用的探测器设备, 其中所述发射光通道大约为 10mm 。

16. 如权利要求 2 所述的供光谱荧光计用的探测器设备, 其中所述参考光通道大于 10mm 。

17. 如权利要求 5 所述的光谱荧光计, 其中所述计算装置是一个微控制器。

18. 如权利要求 5 所述的光谱荧光计, 其中所述探测由所述样品发射的光的装置产生一个输入给所述计算装置的光发射信号, 而所述计算装置进一步包括归一化所述光发射信号的装置。

19. 如权利要求 18 所述的光谱荧光计, 其中:

所述计算装置通过多次触发所述触发装置来控制所述触发

装置,从而产生多次闪光和多个光发射信号,每一个所述多个光发射信号都被输入到所述计算装置,并由所述计算装置归一化;以及其中

所述计算装置还包括比较所述多个归一化光发射信号的程序指令。

20. 如权利要求 19 所述的光谱荧光计,其中所述进行比较的程序指令在所述的比较中使用最初形成的灵敏度限值范围。

21. 如权利要求 5 所述的光谱荧光计,进一步包括形成输出显示方式的装置。

22. 如权利要求 21 所述的光谱荧光计,其中所述输出显示方式包括原始荧光值、浓度以及单元计数之一。

23. 一种使用光谱荧光计探测样品中某一分子结构的方法,包括下列步骤:

产生包含所述样品和溴化 3,8—二氨基—5—乙基—6—苯基菲啉的溶液;

响应计算装置的充电信号用电能给电容器充电;

响应来自计算装置的触发信号将所述电容器电连接到光源,从而产生光脉冲;

给所述光脉冲定向以照射到所述溶液上并产生发射光;

给所述发射光定向以照射到一个固态探测器上并由此产生与所述发射成比例的发射光信号;和

用所述发射光信号确定在所述样品中存在的所述某一分子结构的量。

说 明 书

固态光谱荧光计和使用该荧光计的方法

本发明涉及一种光谱荧光计。

光谱荧光计被用于探测样品中某些分子结构的存在。更具体地说,在有包含荧光团的溶液的情况下,已知某些分子结构可以与荧光团相互作用,以便吸收特定波长的入射光并发射具有不同波长的光。测量因样品中存在感兴趣的分子结构而产生的以荧光波长发射的光能够确定样品中感兴趣的分子结构量。

例如,使用溴化 3,8—二氨基—5—乙基—6—苯基菲啉翁(Et-Br)作为荧光团以便借助于其插入核酸链来探测核酸的存在。对包含感兴趣的样品的溶液照射波长为 520 毫微米的单色光。通过测量以 600 毫微米的波长发射的光量确定样品中核酸的浓度。

尽管光谱荧光计为大家所知道已经有许多年,但光谱荧光计一般体积大、易损,并且异常昂贵。这有许多原因。一个原因是光谱荧光计一般需要一个非常大的稳态光源。这样的光源产生大量的热量,这就要求光源离样品的距离相当大。此外,这些光源一般需要机械式斩波器和复杂的导光装置。例如,可参照美国专利 US3832555 和 US4531834。

另外,为了有广阔的商业应用范围,光谱荧光计的探测器必须可适用于广泛使用的荧光团染料。此外,在光谱荧光计中由光源产生

的电噪声 通常较高。这些因素使固态探测器不能在光谱荧光计中使用。在过去, *Hofer Scientific* 提出了一种固态探测器光谱荧光计, 但是该光谱荧光计由于要求在红外波长探测故仅能测量 *Hoechst* 染料。因而不能用该光谱荧光计探测可见光谱的波长。并且, 在使用 *Hoechst* 染料时也破坏了样品本身。

本发明的目的是提供一种对不需要的噪声具有高的抗扰性的固态光谱荧光计。

本发明的另一目的是提供一种使用触发式光源的固态光谱荧光计。

本发明的光谱荧光计的另一个目的是提供一种需要低功率光源的固态光谱荧光计。

提供一种用市场上买得到的荧光团能探测可见光谱的光的固态光谱荧光计是本发明的又一目的。

本发明的另一目的是提供一种体积小并且容易使用的光谱荧光计。

为了实现上面列举的本发明的目的, 最好使用触发式氙闪光灯管。为了能用电容器存储器供电, 将氙闪光灯管与一个匹配的电阻性负载并联, 电阻性负载延长氙闪光灯管的寿命并且延长光脉冲自身的持续时间。

另外, 根据本发明的光谱荧光计使用一个光学单元, 该光学单元具有将氙闪光灯管放在离一对信号探测器和一个参考探测器一定距离处的结构。这些元件彼此隔开的关系实际上有助于在光谱荧光计中使用固态探测器。

根据本发明的光谱荧光计还在除实际探测部分的闪光周期之外

的所有时间内提供对探测器放大器的电隔离。这有利于提高光谱荧光探测系统的抗噪声性能。

还有根据本发明的固态光谱荧光计最好使用微控制器以控制氙闪光灯管的闪光时间和对探测器放大器电路的电隔离的时间。

所以，上述的固态光谱荧光计最好允许使用以可见光谱能探测的通常可得到的荧光团来探测样品中的分子结构。

通过阅读下面参照附图的优选实施例的描述可理解本发明的这些和其他优点，其中：

图 1 是根据本发明的光谱荧光计的方框图；

图 2 是根据本发明的光学单元的透视图；

图 3 是根据本发明的光学单元的左视图；

图 4 是根据本发明的光学单元的右视图；

图 5 是沿图 3 所示光学单元的线 A—A 的剖面图；

图 5A 是图 5 所示的光学单元的一部分的另一实施例的剖面图；

图 6 是沿图 3 所示光学单元的线 B—B 的剖面图；

图 7 是沿图 3 所示光学单元的线 C—C 的剖面图；

图 8 是沿图 3 所示的光学单元的线 D—D 的剖面图；

图 9 是与根据本发明的光谱荧光计的左信号探测器一道使用的初始放大电路；

图 10 是与根据本发明光谱荧光计的右信号探测器一道使用的初始放大电路；

图 11 是与根据本发明光谱荧光计的参考信号探测器一道使用的初始放大电路；

图 12 是根据本发明的光谱荧光计的信号调节电路；

图 13 是根据本发明的在光谱荧光计中所用的电源电路；

图 14 是由根据本发明的光谱荧光计所使用的接口电路；

图 15 是根据本发明的与光谱荧光计一起使用的微控制器电路；

图 16 提供了描述根据本发明的由微控制器控制的光谱荧光计操作的流程图；

图 17 描述了根据本发明的使用光谱荧光计的用户可得到的各种显示选择。

图 18 描述了当使用本发明的光谱荧光计时在一个闪光循环期间的采样结果。

图 1 是根据本发明的光谱荧光计 10 的方框图。

光谱荧光计 10 的主要部件包括光学单元 12，光学单元 12 包括氙闪光灯 14、左信号探测器电路 16、左信号探测器 17、右信号探测器电路 18、右信号探测器 19、参考探测器电路 20 和参考信号探测器 21。由位于电源电路 22 中的存贮电容器所存贮的电荷给氙闪光灯提供电源，电源电路 22 也给散热扇 24 提供电源使散热扇 24 工作。

信号调节电路 26 接收来自左信号探测器电路 16、右信号探测器电路 18 和参考探测器电路 20 的探测信号。信号调节电路 26 对探测到的信号和探测到的参考信号进行放大、整形和求和，并且将探测到的信号和探测到的参考信号传送给微控制器电路 28。接口电路 30 在电源电路 22、微控制器电路 28 和信号调节电路 26 之间传送信号，下面对此还将进行描述。

在显示器 32 上显示由操作光谱荧光计 10 所得到的分析结果，显示器 32 可以是显示数字值的 LED 显示器或者是提供图形显示

的监视器。键盘 34 允许输入工作模式、初始状态和以后将叙述的各种灵敏度参数。可使用不同的功能键或多功能上/下键,这种多功能上/下键允许重复使用该上/下键进行多种输入并且该多功能上/下键是软件编程的。

图 2 描述了光学单元 12。光学单元 12 包括一个机加工成的单元腔体 36,该机加工成的单元腔体 36 最好由黑色酚醛树脂或不透明黑色阳极氧化铝制成。单元腔体 36 的外层尺寸为大约 4cm^3 并且将单元腔体 36 安装在将氙闪光灯与单元腔体 36 屏蔽起来的阳极氧化的黑色铝板 38 上,以后所描述的除外。单元腔体 36 还备有允许试管 40 插入的开口,试管 40 将装入荧光团溶液中感兴趣的样品。单元腔体 36 还具有用于左信号探测器 17、右信号探测器 19、参考信号探测器 21 和吸光介质 42 的开口。

闪光灯夹持器 44 支撑氙闪光灯 14 并由 Corian(一种丙烯酸/氢氧化铝化合物)制成。安装在光学单元 12 中的探测器 17、19 和 21 分别与左信号探测器电路 16、右信号探测器电路 18 和参考探测器电路 20 电连接。将每一探测器电路 16、18 和 20 都直接装在设在光学单元 12 中的对应探测器的上面。这样放置使所探测的信号在初始放大之前必须通过的电通道长度最短,下面对此将要描述。

图 3—8 是光学单元 12 的各个剖面图。如图 3 所示,虚线表示在光学单元 12 中形成的用于插入探测器 17、19 和 21,以及试管 40 的开口。更进一步地,通过这些开口为需要的光传输路径提供光通道。

在图 5(图 3 的 A—A 剖面图)中可更清楚地看到,在氙闪光灯 14 和试管 40 之间的开口是一个宽 3mm 、高 7mm 的长方形开口 46。

另一种方形口 46 是以长方形开口 46 的图案设置的大约 10 个直径为 0.7mm 的孔 47, 如图 5A 所示。尽管加工这样分布的孔比较困难, 但这样的分布能较好地使自氙闪光灯 14 发出的光聚焦到试管 40 内的样品上。

氙闪光灯 14 和试管之间的距离为 10mm 。在氙闪光灯 14 和试管 40 之间的光路中设置了一个干涉滤光片 54。

设置一个开口 48 使自氙闪光灯 14 产生的光直接传送到参考探测器 21。开口 48 的直径为 0.35mm , 并且在氙闪光灯 14 和参考探测器 21 之间的距离 (35mm) 的大约 $3/4$ 部分上维持该直径。开口 48 的直径小于开口 46 的直径有助于减少自氙闪光灯 14 发送到探测器 21 的光量。这有助于使实际到达每一探测器 17、19 和 21 的光量均衡。

图 6 更清楚描述了直接设置在试管 40 后面的吸光介质 42。这有助于保证从氙闪光灯发出并通过试管 40 的光不被反射, 并且随后由探测器 17 和 19 来探测。这有助于保证探测器 17 和 18 仅仅探测荧光。图 6 还描述了位于参考探测器 21 附近的为了适当安置参考探测器 21 所需的较大直径的开口 48。图 6 还描述了将中性密度参考滤光器 52 放置在探测器 21 的正前方的氙闪光灯 14 和探测器 21 之间。这进一步有助于使实际到达每一探测器 17、19 和 21 的光量均衡。

图 7 和图 8 用于描述光学单元 12 的光特性。由图 7 可以看出, 试管 40 包含溶液中要分析的样品, 并且试管 40 介于每一探测器 17 和 19 之间的中间位置。尽管能使用不同尺寸或形状的试管 40, 但试管 40 的外径最好大约为 10mm 。在试管 40 的外径与每一探测器 17

和 19 之间的优选距离为 10mm。

高带通发射滤波器 56 和 58 设置在每一探测器 17 和 19 的前方。这些滤波器滤掉低于感兴趣的波长以下的那些波长。如果用溴化 3,8-氨基-5-乙基-6-苯基菲啉(*EtBr*)作为荧光团,每一滤波器 56 优选为允许波长为 590nm 以上的光通过同时实际上阻挡波长短于 550nm 的所有光通过的 OR570 滤波器。用 O 形环 60 和 62 将高带通发射滤波器 56 和 58 的每一个都固定在不透光的结构中。在一将探测器 17 和 19 插入光学单元 12 中就将每一对 O 形环 60 和 62 压紧。

图 8 描述了从氙闪光灯 14 发射的光击中装在试管 40 中的样品溶液上的光路 64。光路 66 和 68 分别表示由探测器 17 和 19 所探测的荧光的光路,它们与光路 64 最好成 90°角。

图 9 描述了在图 1 中以方框形式出现的并且在图 2 中以电路板形式出现的左信号探测器电路 16。探测器 17 最好是西门子的 BPX16 型光电二极管,因为西门子的 BPX61 型光电二极管是非常灵敏的,在使用时不需加偏压。运算放大器 80 对探测器 17 所探测的信号进行初始放大。图 9 中所示的各电容器和电阻器提供了适当的偏压和波形整形。

图 10 描述了与前面参考图 9 所述的左传感器板 16 相同的右信号探测器电路。探测器 18 又是西门子的 BPX61 型光电二极管并且使用时也不需加偏压。应注意选用电性能匹配的探测器 17 和 19。

图 11 描述了参考探测器电路 20,该参考探测器电路 20 也采用西门子的 BPX61 型光电二极管作为探测器 21,并且使用时也不需要加偏压。由运算放大器 84 放大所探测的信号。伴随运算放大器 84

的整形和消噪电路与探测器 17 和 19 所用的电路相同,这样能得到最佳性能。

图 11 也描述了分别从探测器 17 和 19 探测到的经过一次放大的信号以及从探测器 21 的探测到的经过一次放大的信号都输出给图 12 所示的信号调节电路 26。

在由禁止(*DISABLE*)脉冲确定的时间周期内每一探测到的信号都通过触发开关 86,下面将作描述。将由左信号探测器 16 和右信号探测器 18 所探测的并经过一次放大的信号在节点 88 处相加,并接着由运算放大器 90 和 92 进行两次放大。相应的电阻器和电容器也有助于建立抗干扰性和进行适当的整形。

类似地,由运算放大器 94 和 96 对参考探测器信号进行两次放大。同样的消噪和整形电路与运算放大器 94 和 96 相连。从运算放大器 92 输出的探测信号 100 和从运算放大器 96 输出的参考信号 102 都被输入到后面将要叙述的图 15 中的微控制电路 28。

图 13 描述了用于给图 1 所示的氙闪光灯 14 和散热扇 24 提供电源的电源 22。电源 22 用电容器 104 中存储的电荷给氙闪光灯供电。用电阻 106 延长 氙闪光灯管脉冲的持续时间并且通过减小加在氙闪光灯本身两端的电压延长氙闪光灯管的寿命。在操作中,由于电阻容 106 的存在则在 240 伏时触发电容器 104 并且在脉冲持续时间积分时得到一个 30000 瓦、600nm 的脉冲。

输入到电容器充电电路 108 的充电信号使电容器 104 开始充电。值得注意的是,使用具有 15 伏额定齐纳电压的一组匹配的齐纳二极管可使电容器 104 的充电稳定。

当电容器 104 充满电时,电容器 104 在线 110 上产生一个可变

的电容(VCAP)信号,然后将该 VCAP 信号输进微控制器电路 28,并且按下文所述使用。

当电容器 104 充满电时,氙闪光灯 14 准备开启。一接收到沿线 112 传送的启动信号,可控硅整流器 114 开始导通。这将使变换器的变压器 116 接通氙闪光灯 14。因而,存储在电容器 104 中的电荷给氙闪光灯 14 供电,由此产生的光将照射如图 2 所示的试管 40 中的样品溶液和参考探测器 21。

在图 13 中还描述了一个过压保护器,具体地说是一个变阻器 118,该变阻器 118 可消除给电容器 104 充电时所用的电压中的电涌。

电源电路 22 使用分级电源结构获得直流电源。从线 120 输入的交流电在节点 122 产生一个正 24 伏的直流电压,并且用二极管和平滑电容器在节点 124 产生一个负 24 伏的直流电压。用三端正电压调节器 26 得到一个正 12 伏的直流电压以便在线 128 上得到正 12 伏的直流电压。然后将该正 12 伏的直流电压输入给两个不同的三端弱电流 5 伏正直流调节器 130 和 132 以获得 VCC 直流电压和正 5 伏直流电压。类似地,将线 124 的负 24 伏电压输入给一个三端弱电流 5 伏负直流调节器 134 以获得负 5 伏直流电压。

图 14 是在图 13 所示的电源电路 22 和图 15 所示的微控制器电路 28 之间的接口电路 30。VCAP 和 AC 信号直接从电源电路 22 传送到微控制器电路 28。然而,首先用上放大器 140 放大从微控制器电路 28 接收的启动(FIRE)信号。然后将该启动信号提供给电源电路 22 以点亮前面所述的氙闪光灯 14。将充电(CHARGE)信号从微控制器电路 28 输入给触发器 142。触发器 142 在其输出端保持一个

按照充电信号电平对应的信号,直到微控制器电路 28 响应前面所述的 *VCAP* 信号的输入产生另一充电信号为止。这就保证了在启动氙闪光灯 14 之前使图 113 的电容器充满电。

如图 14 所述,经由运算放大器 140 放大的启动信号也用作禁止信号输入给信号调节电路 26。如前面所述,当图 12 的开关 86 处于常开位置时,禁止信号有效地将探测器 17、19 和 21 与信号调节电路 26 相连。这就在电容器充电期间和开始点亮闪光灯时保护了光探测器 17、19 和 21 以及相应放大电路 16、18 和 20 和 26。

氙闪光灯 14 在对用于获得探测器采样值的脉冲持续时间积分时发出大约 30,000 瓦。尽管氙脉冲有许多不同的峰值和谷值,但在可见光范围内有强大输出的氙发射光谱是较宽的。因而通过触发电容器 104 并使用由电阻器 106 提供的匹配的电阻性负载,能在至少 0.5 赫兹的所希望的频率激励和启动氙闪光灯 14。

图 15 示出了微控制器电路 28,该微控制器电路包括一个优选为 *Motorola* 68HC11 的微控制器 150。当然,也可选用其他使用独立存储器的微控制器或微处理器。给微控制器 150 的输入信号包括由交流电源引出的并通过所示电阻器输入给双极晶体管基极的在线 152 的零交叉 (*ZERO CROSS*) 信号。零交叉信号提供一个由微控制器 150 使用的零交叉参考值以便使氙闪光灯 14 的启动与交流周期网路 (*cycle line*) 频率同步。使氙闪光灯管的启动与交流周期网路频率同步能有效地消除 60 赫兹周期的噪声,这是因为这种同步实现了一种每次启动氙闪光灯 14 都能以完全相同方式工作的电路。*VCAP* 信号、以及探测到的参考信号 102 和探测到的信号 100 也输入给微控制器 150。微控制器 150 的输出线 156 与图 1 所示的显示

器 32 相连。类似地, 用线 158 将键盘 34 连接到该微控制器上。

微控制器 150 也输出一个根据氙闪光灯 14 和相应电路产生的热量控制多速风扇的速度的风扇速度 (*FAN SPEED*) 信号。在启动氙闪光灯 14 时认为这种热量是由微控制器 150 产生的。所以在初次闪光之后并直到最后闪光出现后某一时间周期为止可以将多速风扇调节到高速设定位置。

现在将参照图 16 的流程图更详细描述根据本发明的并采用上述优选结构的光谱荧光计 10 的操作, 该流程图给出了使微控制器 150 按顺序的程序指令工作所需的顺序步骤, 对于每一步, 程序指令都将控制如上所述和如下所述的光谱荧光计的操作。

在起始操作步骤 200, 用户将光谱荧光计 10 设置到所希望的操作方式、所希望的输出显示方式以及所希望的灵敏度传感特性。

对于操作方式的类型, 参见图 17。为了合适地设置光谱荧光计 10, 必须首先测试放置样品的溶液。因而, 获得一个零电平。按下“插入每毫升零微克”键的任一键将使光谱荧光计对设有样品的溶液进行测试, 并且用得到的结果作为校准值, 下面将要描述。然后将该零电平测试的结果存储在图 15 上所示的微控制器 150 的暂时存储器中。

在根据本发明第一次设置光谱荧光计 10 的期间, 还需要进行对应于第二操作方式的第二次测试。在该测试方式中, 将在感兴趣样品中查找分子结构的纯样品掺入溶液中并进行分析。如果按下图 17 所示的“插入 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ STD”输入键, 则开始这项测试。在结束该测试时, 得到一组纯的校准结果。使用零校准结果和纯校准结果建立感兴趣的分子结构浓度与由探测器 17 和 19 所探测的荧光输出的

强度之间的线性关系。

在进行这两次初始测试方式以后，就能测试感兴趣的样品以确定在具有未知分子结构量的样品中该分子结构的量。如果按下图 17 所示的“插入未知”输入键就开始该第三次测试。

应注意到，使光谱荧光计 10 正确初始化所需要的两次初始测试方式仅需进行一次，直到想要复位该初始状态为止。控制器 150 也将这些校准值存储在暂时存储器中并且在每一顺序分析未知样品的期间使用这些校准值。

由用户在图 16 的步骤 200 设置的第二初始状态涉及所希望的显示输出类型。再次参见图 17。三个竖直中的每一列都表示所希望输出的类型。左边的一列表示希望提供感兴趣的分子结构的浓度的输出。中间一列表示希望的单元计数方式。右边一列表示想要的原始荧光值。可使用该值进行用户所需要的原始数据计算。

在步骤 200 设置的第三初始状态涉及要进行的顺序探测的灵敏度。更具体地说，由于氙闪光灯输出强度是变化的，所以最好是在某些情况下仅使用当获得非常相似强度的氙闪光灯脉冲时所获得的探测值。因而，用户将设置“Y”值，该值是对应原始荧光值的容许漂移的在 0 和 10 之间的一个整数，如下面所述。该“Y”值表示因氙闪光灯强度的变化、样品浊度变化以及电噪声和光噪声而引起的容许漂移。还设置了表示氙闪光灯脉冲的“X”值，该 X 值因而代表用户希望进行、并一起取平均以得到平均原始荧光值的探测。在接下来的操作中用该原始荧光值根据用户所选择的输出显示方式来确定在该样品中的分子结构的浓度或数量单元(number cells)。

在设置这三个初始状态之后，在步骤 202 按下开始键便启动光

谱荧光计的操作。然后发生下面的步骤。

在步骤 204, 图 15 的微控制器 150 输出 *CHARGE* 信号, 由在图 13 中所示的电容器充电电路 108 使用该 *CHARGE* 信号给电容器 104 充电。接着在步骤 206, 微控制器 150 等待沿线 110 产生的用于指示电容器充满电的 *VCAP* 信号。一旦充满了电, 微控制器 150 产生另一 *CHARGE* 信号以改变图 14 的触发器的状态, 从而结束电容器 104 的充电。

在步骤 208, 微控制器 150 等待探测在图 15 中所示的线 152 上出现的零交叉信号。一旦微控制器 150 探测到零交叉信号, 微控制器 150 就产生启动信号, 然后将启动信号输出并用于触发图 13 所示的可控硅整流器 114。这将引起触发氙闪光灯 14 并产生光脉冲。在实际启动氙闪光灯之前, 启动信号和前面参照图 14 所述的放大后的所谓禁止信号使图 9、10 和 11 分别所示的探测器电路 16、18 和 20 的每一个都与图 12 所述的信号调节电路 26 相连。这些探测器电路的连接允许在闪光脉冲结果出现前开始对探测器的值采样, 这样就可以建立一个基线, 其作用如下文所述。

所以, 在步骤 214, 沿线 800 产生了一个表示放大、相加和再次放大的荧光信号的模拟信号, 并且沿线 102 出现了一个以类似方式形成的模拟参考信号。微控制器 150 输入这些模拟信号以获得每一信号的 16 个不同的采样值。已经确定, 前面所述的具有氙闪光的 244 微秒窗口提供了最好的结果。

在已进行采样的时间期间, 一旦经过 244 微秒窗口, 就进入步骤 216, 并且微控制器 15 停止产生启动信号。这使如图 1 所示的探测器电路 16、18 和 20 的每一个有效地与信号调节电路 26 断开。

然后执行步骤 218，微控制器 150 进行减法操作并且从信号和参考采样值中减去基线以获得归一化采样信号值和归一化参考值。然后将这些归一化采样值的每一个都取平均以得到单一归一化信号值和单一归一化参考值。

在确定这些归一化值之后，进入步骤 220，将最后得到的归一化参考值与在先归一化参考值进行比较。如果最后得到的归一化参考值与在先归一化参考值之间的差超出前面在步骤 200 中描述的“Y”灵敏度限值，则在下面的加法步骤 222 中不使用该归一化参考值和相应的归一化信号值。在下一步，将在“Y”灵敏度限值内的归一化参考值的总数（为一个整数）与初始状态“X”值相比以确定是否存在所需要的在预定灵敏度限值内的“X”数值归一化值的。

如果在步骤 222 确定了不存在足够多的采样值，微控制器 150 返回到步骤 204 并对电容器 104 充电以便获得另一组读数。当然，需要重复步骤 204 至少“X”次。已经确定，与氙闪光灯 14 的六次闪光相对应的 X 等于 6 可提供一个非常有效的最终归一化值。

如果在步骤 222 的归一化值的数值与 X 值相同，则在步骤 224 对各归一化信号值一起取平均以获得如下面的表 1 所定义的一个“值(VALUE)”。在步骤 226，以某种形式在图 1 所示的显示器 32 上显示这个最终的“值”(VALUE)。根据所希望的输出特性，需要进行数学运算以将最终“值”转换成浓度或单元计数。在下面的表 1 中列出了获得适当显示输出所需的数学运算。

表 1

荧光

原始值 = Value

浓度

低=对应 0 μ g/ml 的 Value

高=对应 50 μ g/ml 的 Value

$m=500/(\text{高一低})$

$b=0-m*\text{低}$

以 ng 为单位的采样值= $m*Value+b$

初始值=(以 ng 为单位的采样值)/采样体积

单元计数

低=对应 0 μ g/ml 的 Value

高=对应 50 μ g/ml 的 Value

$m=500/(\text{高一低})$

$b=0-m*\text{低}$

以 ng 为单位的采样值= $m*Value+b$

变性的脱氧核糖核酸=以 ng 为单位的采样值 * 2

总数#单元=
$$\frac{\text{变性的脱氧核糖核酸} * 1000}{\text{pg/dna/单元}}$$

尽管本发明优选地涉及如上所述的光谱荧光计,但进行某些修改后许多有益的特征同样也能用在光度计中。参见图 3,用宽频谱的探测器代替光吸收介质 42 就能实现一个光度计。该宽频谱的探测器可包括多个单独的探测器,每一个探测器都能探测一个感兴趣的频率。放大每一探测到的信号并输进微控制器 150 中,微控制器然后数字化每一采样值,并且对于每一感兴趣的波长进行前面所述的归一化和灵敏度比较之后,输出并显示对应于每一感兴趣的波长的值。在构成一个光度计时,多个单独探测器取代前面参照光谱荧光

计 10 所述的探测器 17 和 19。

尽管结合目前认为是最实用和优选的实施例描述了本发明，但当然不应将本发明限制于该公开的实施例，而相反地，本发明应覆盖包含在所附权利要求的精神和范围内的各种改进和等效装置。

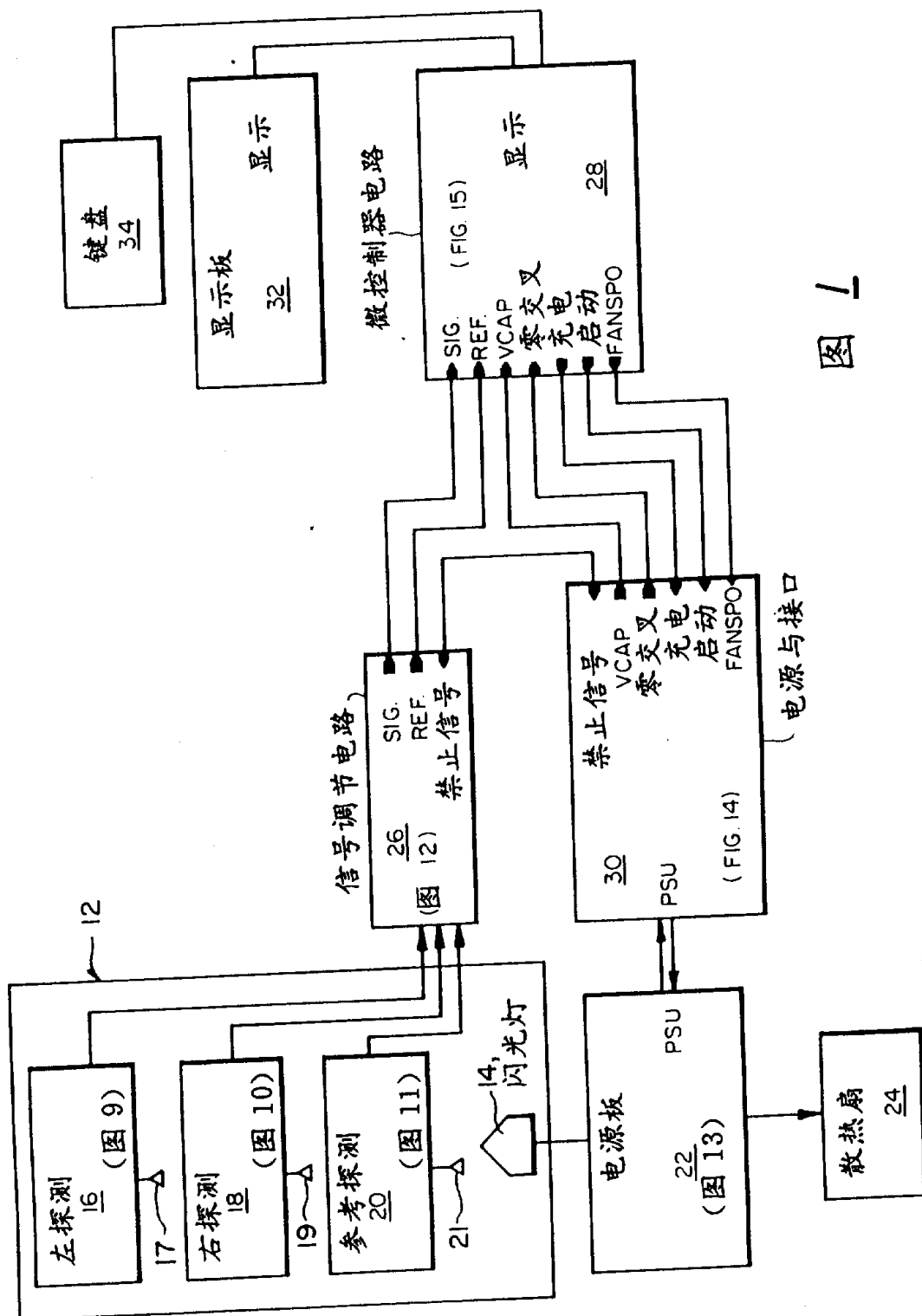
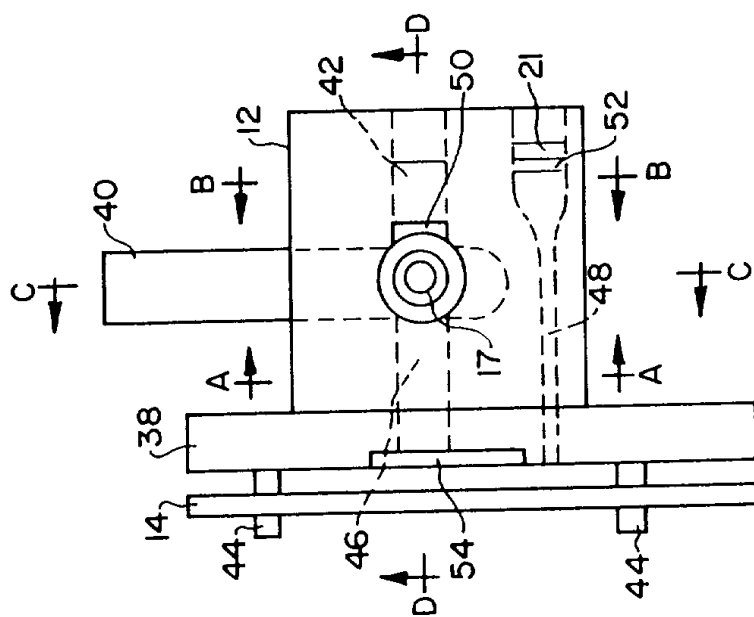
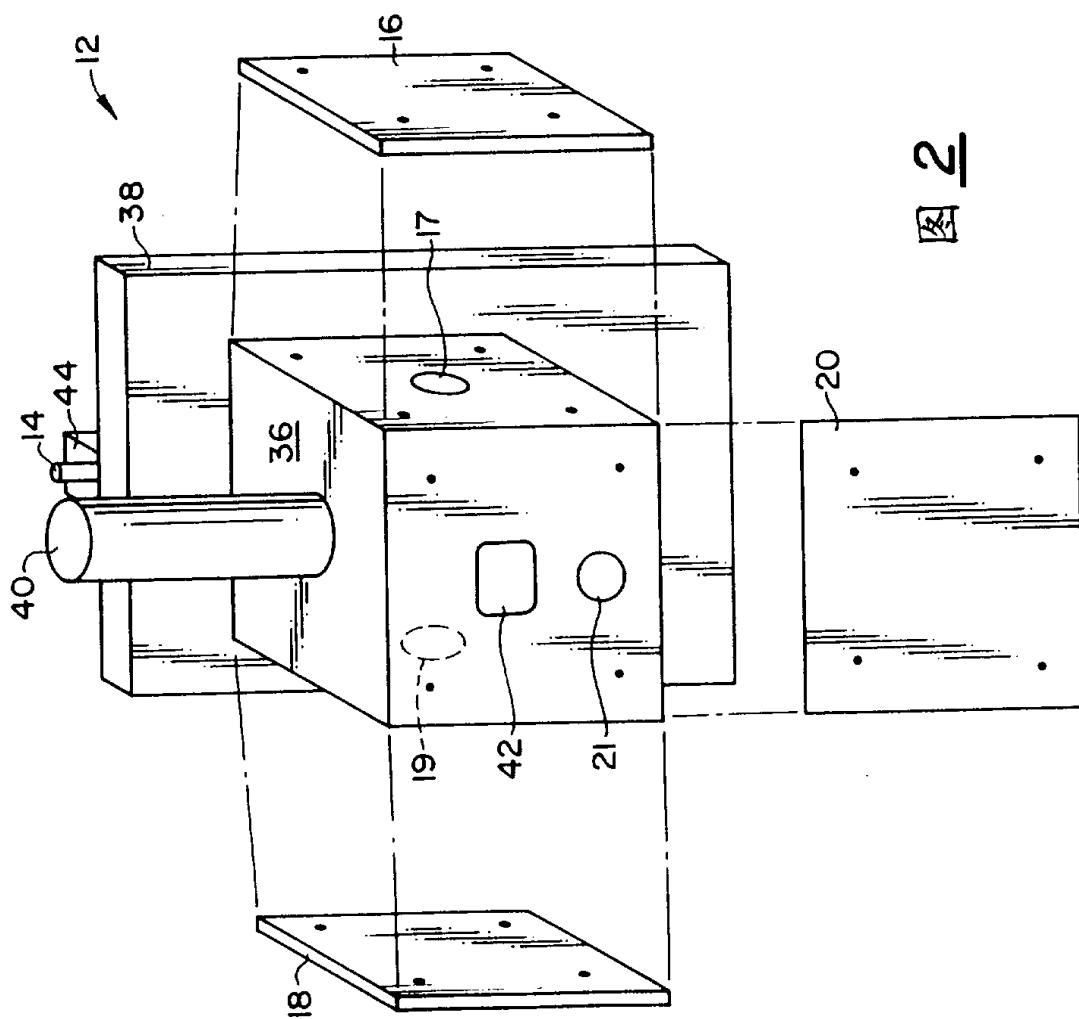


图 1



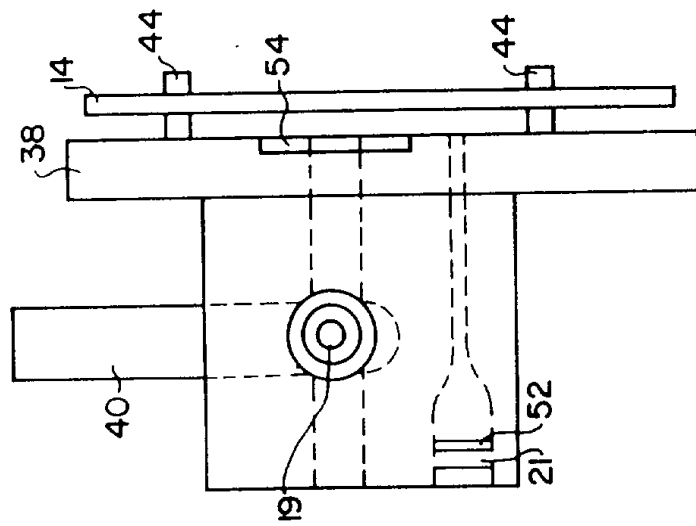


图 4

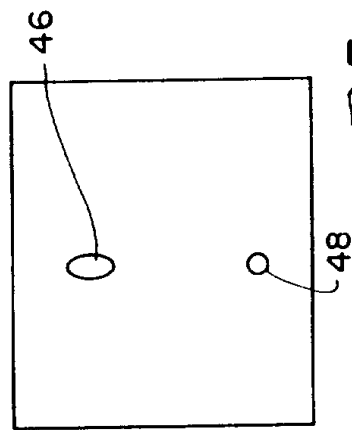


图 5

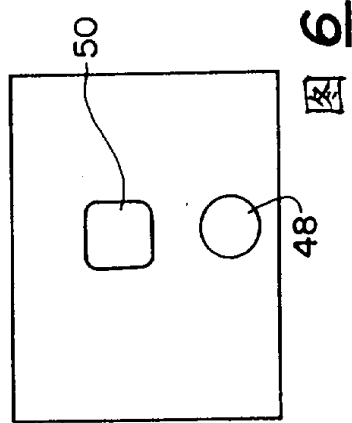


图 6

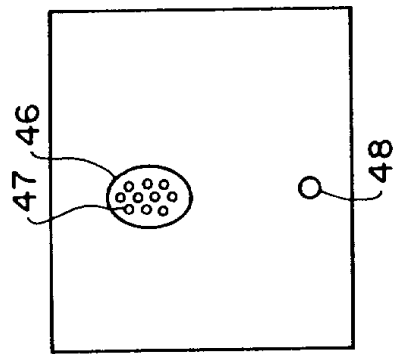


图 5A

图 7

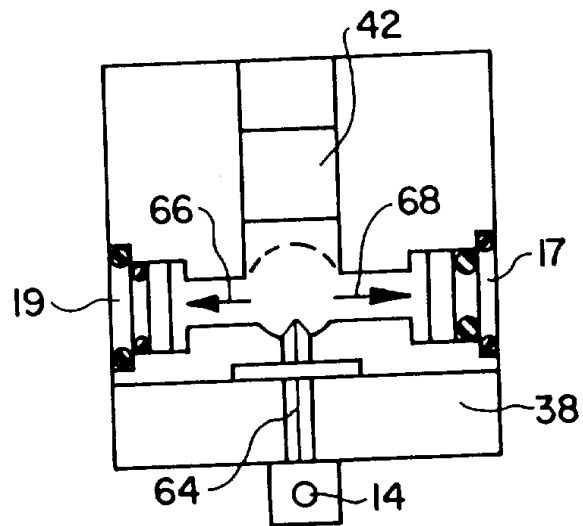
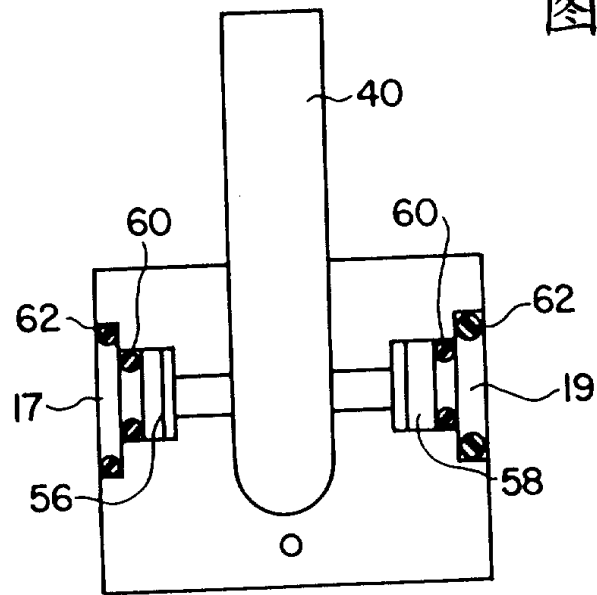


图 8

图 9

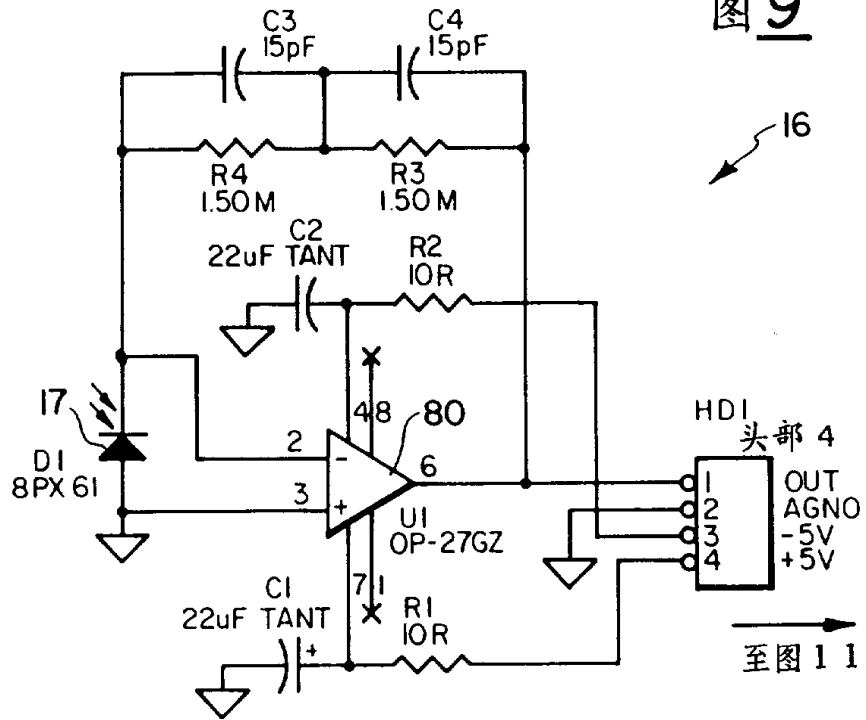
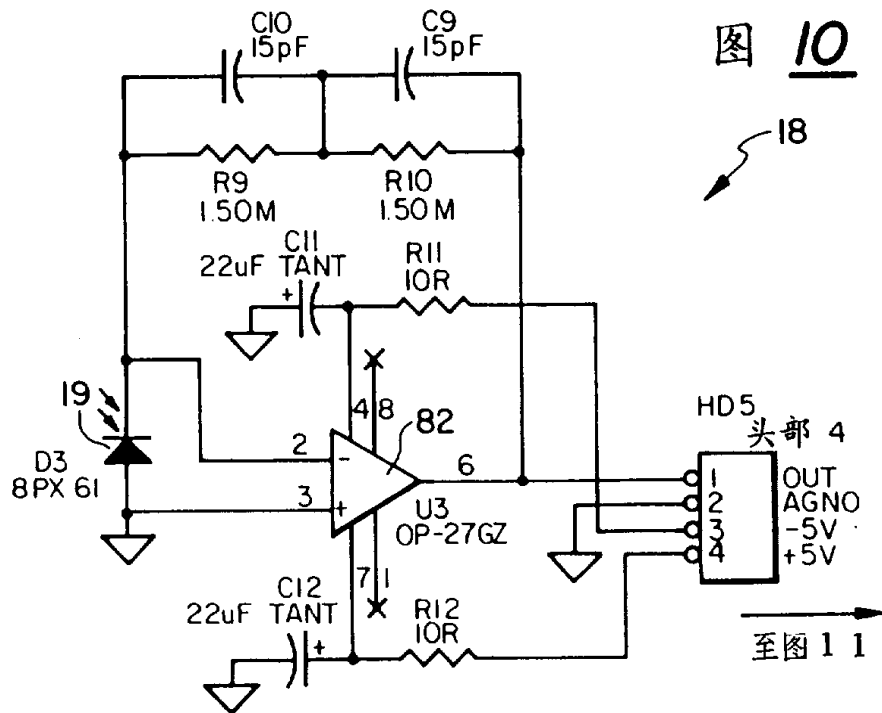


图 10



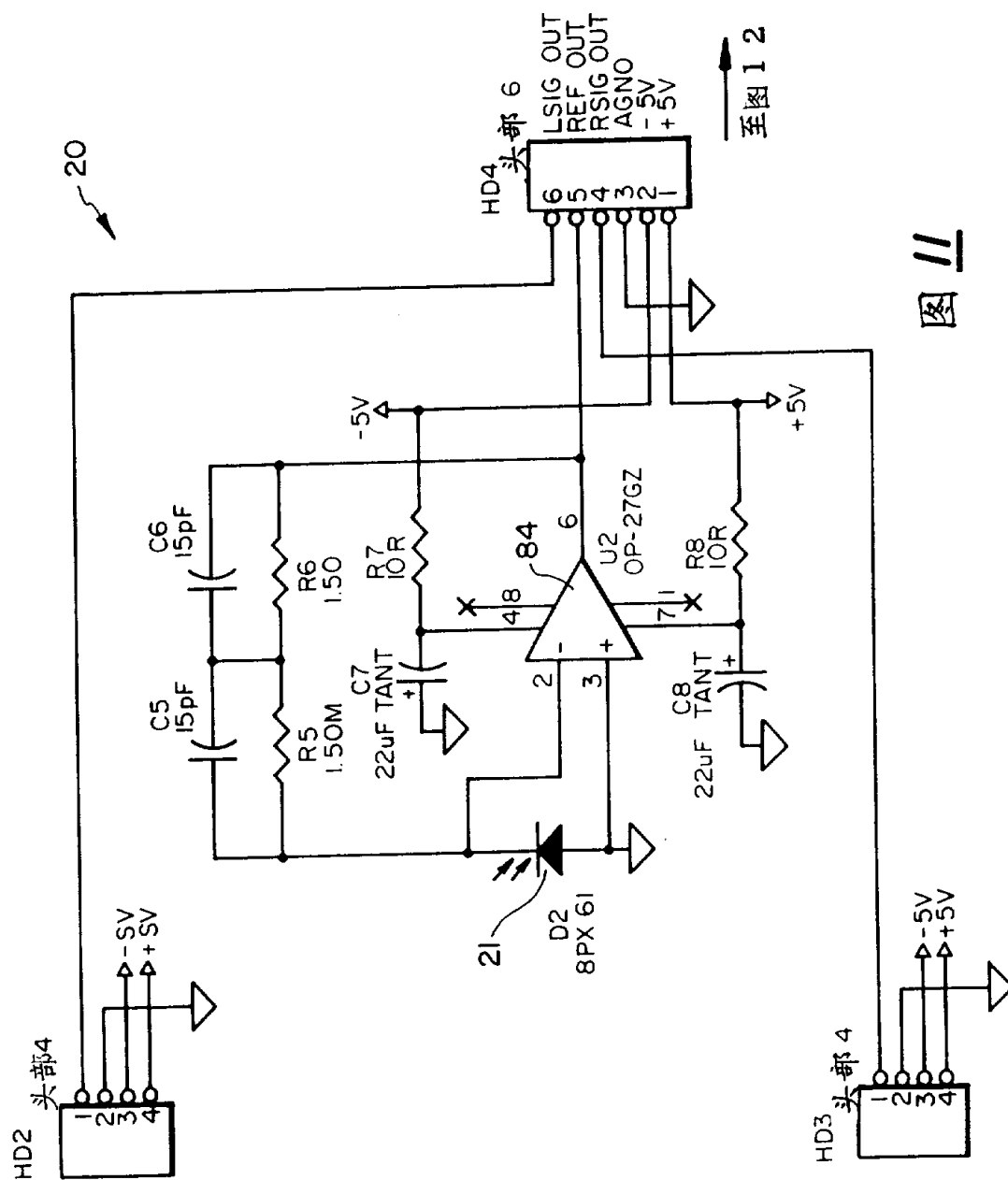


图 11

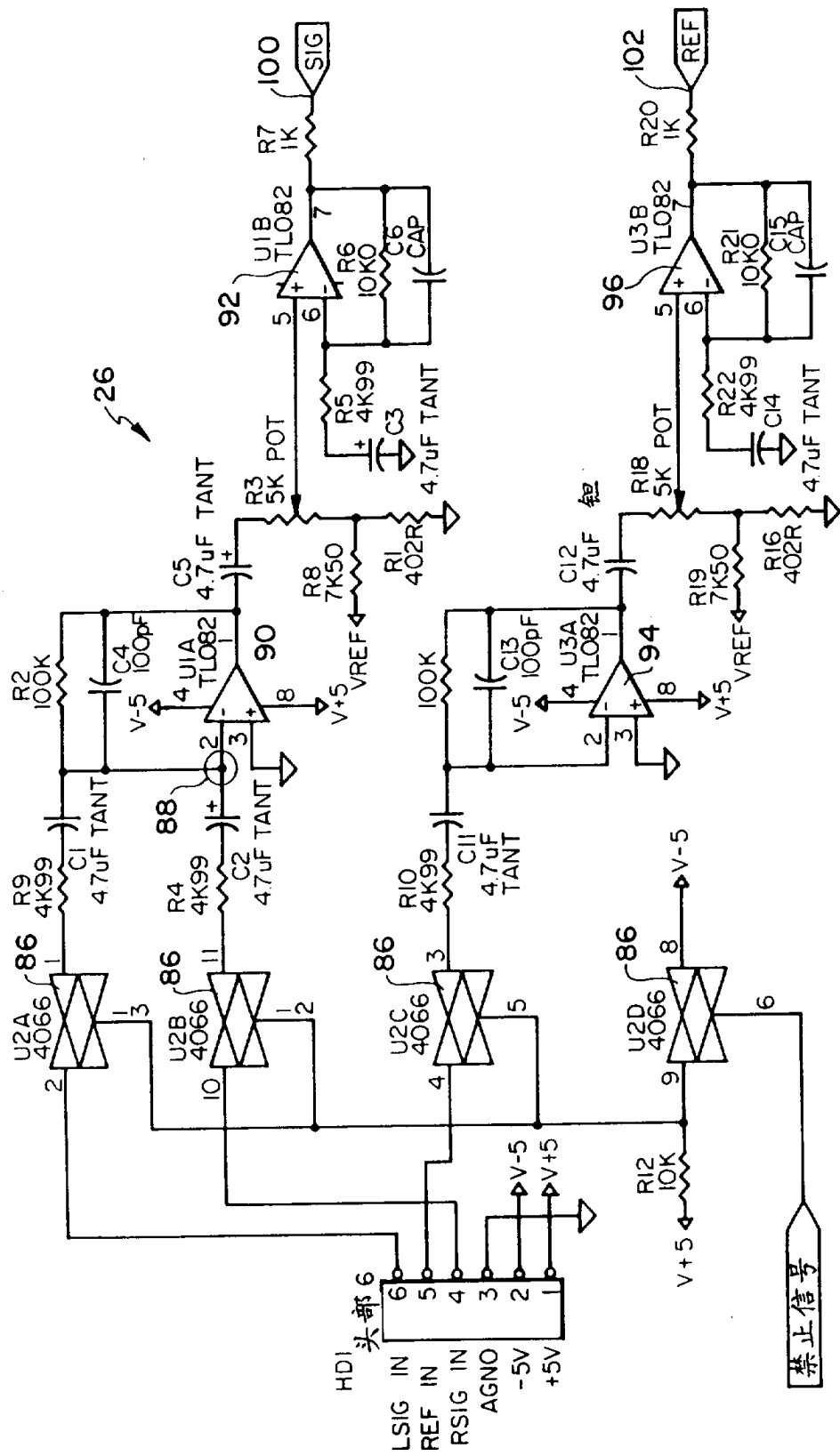
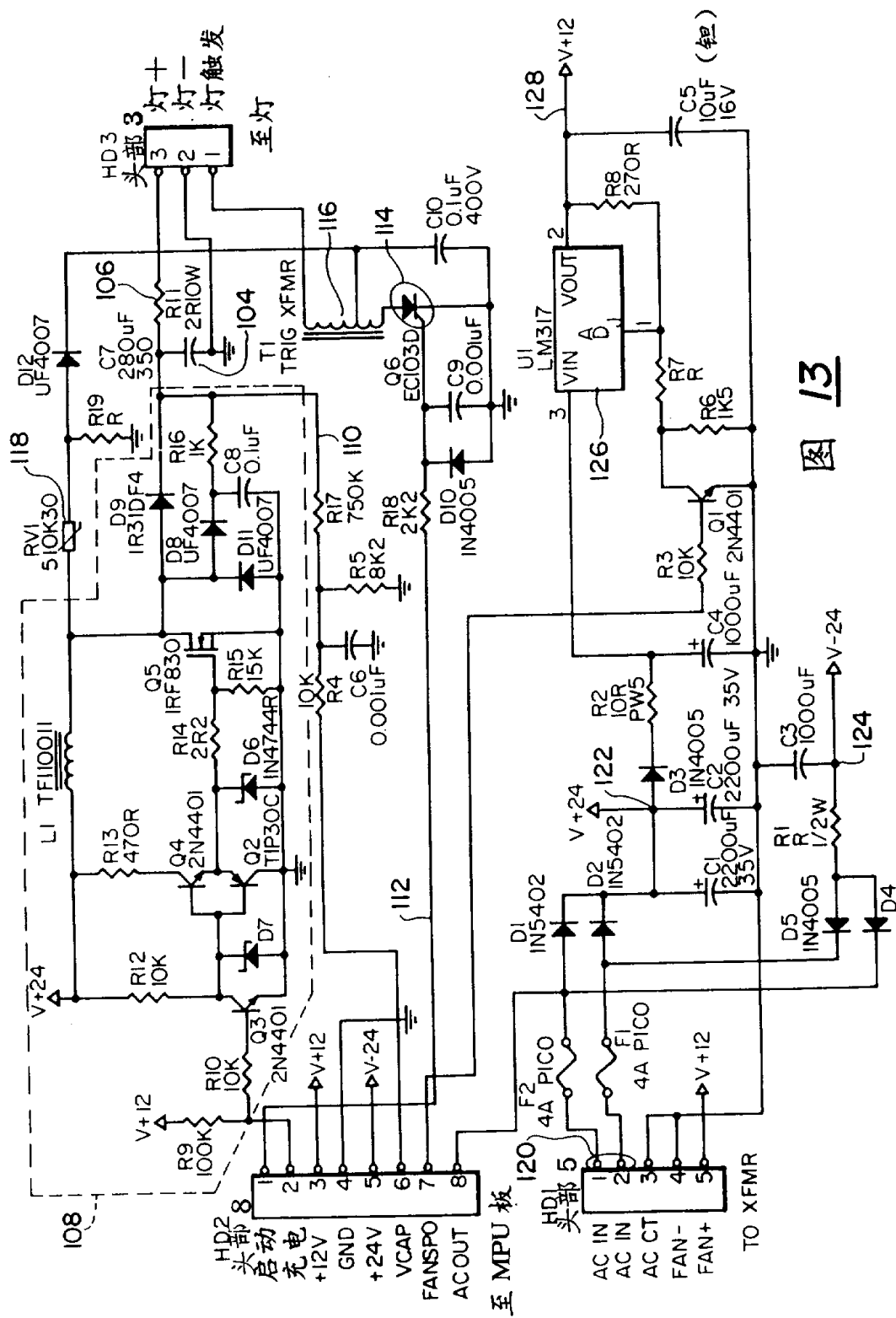
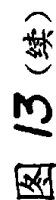


图 12





- 9 -

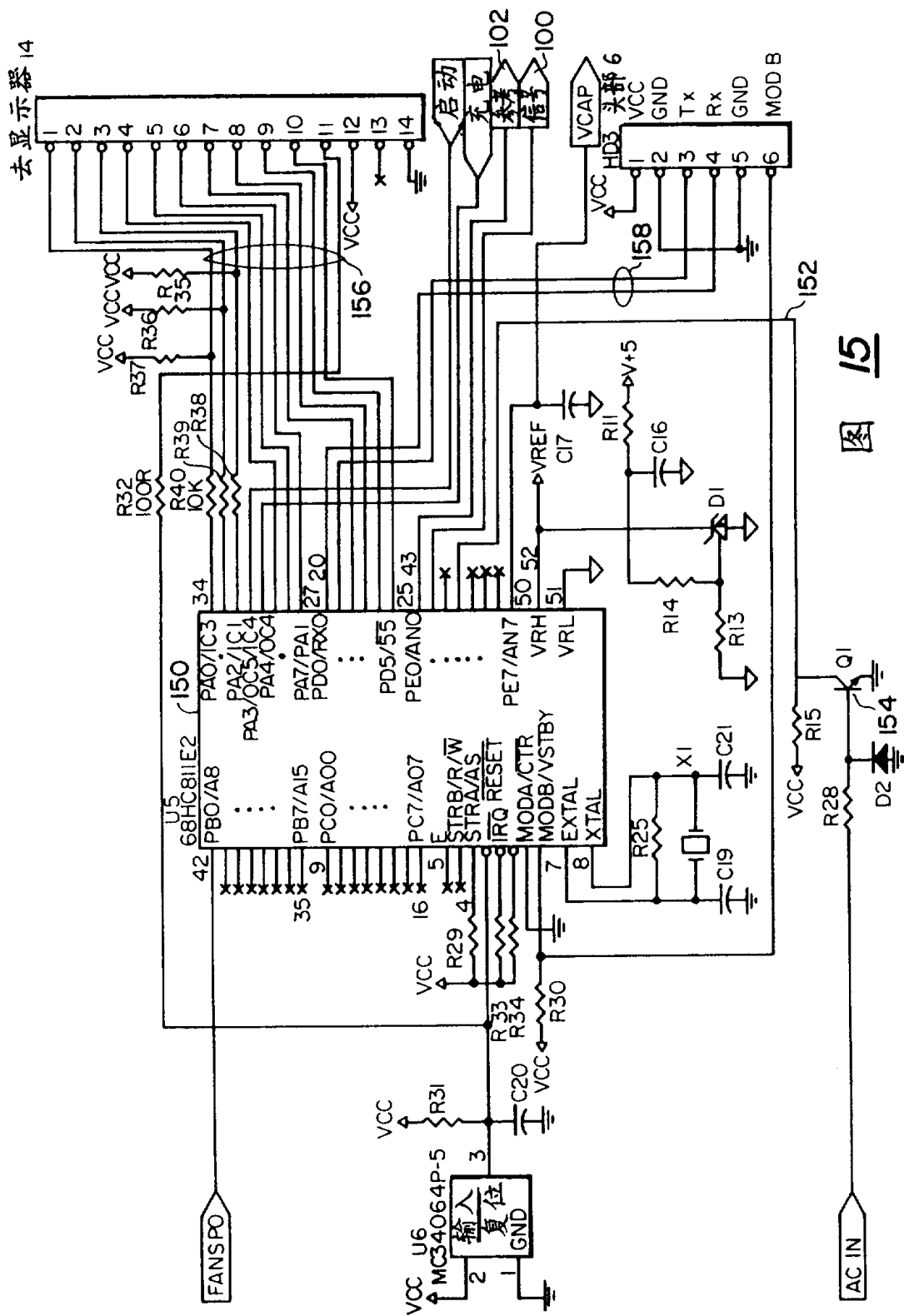


图 16

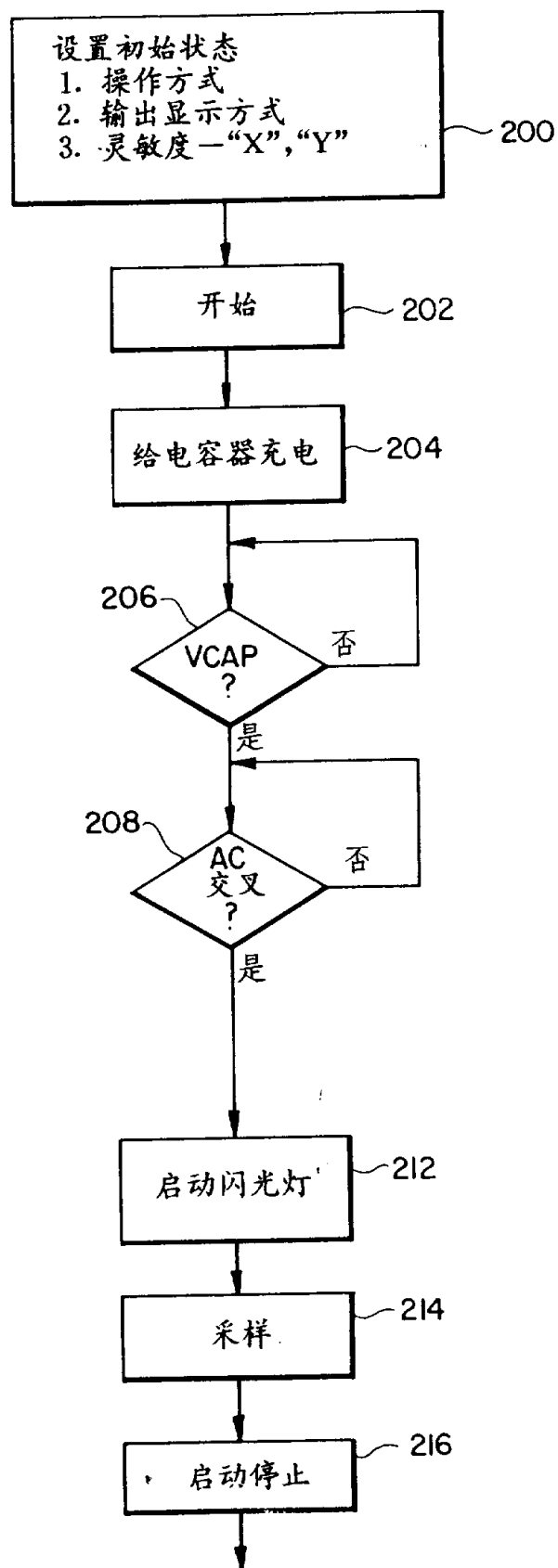


图 16

(续)

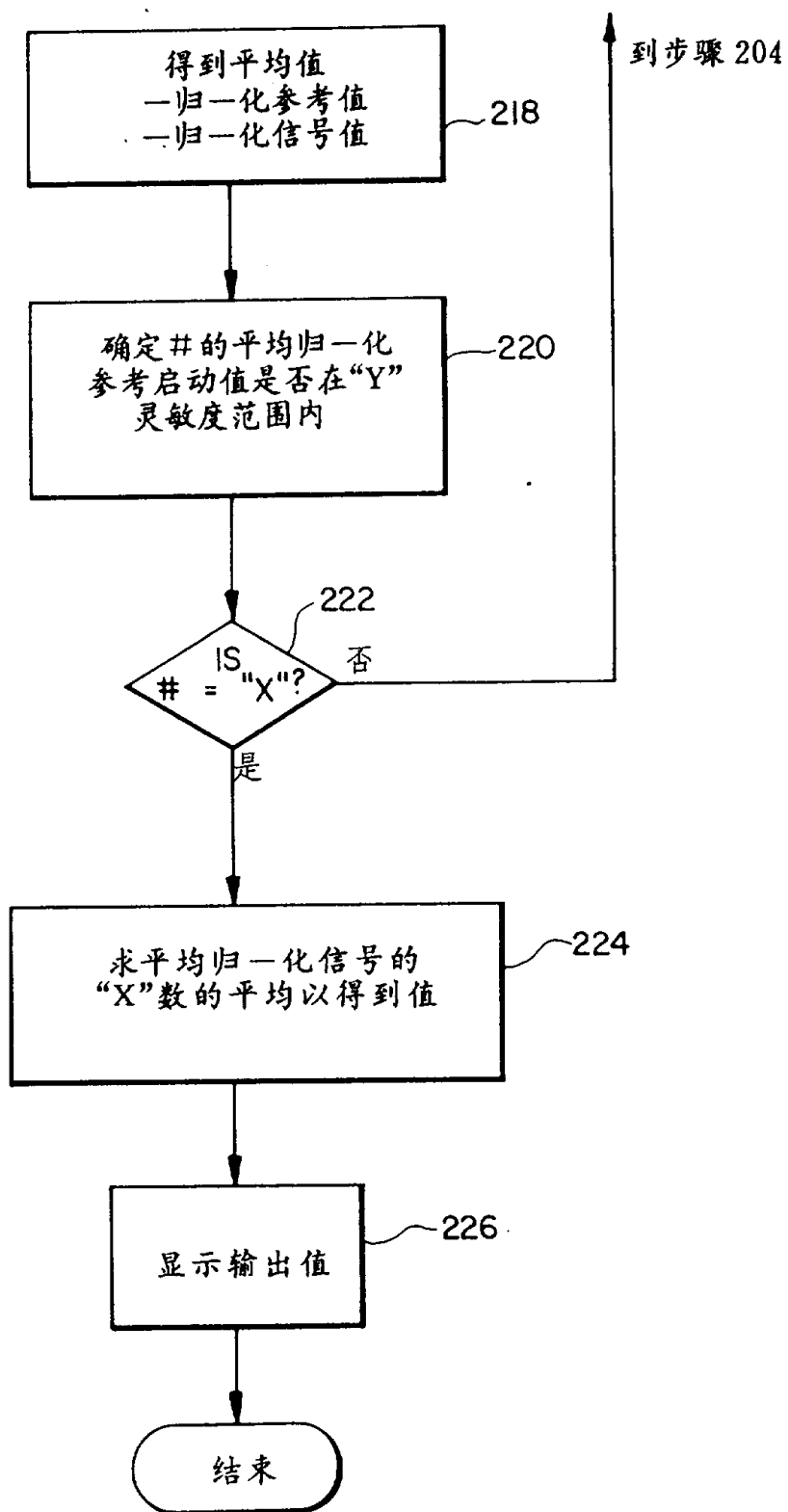


图 17

泰勒研究结果 浓度值	泰勒研究结果 单元计数值	泰勒研究结果 荧光值
在试管中加入 不定量体积 10 μ l	PG DNA 单元? 14 pg	插入未知量 按下输入键
按下插入 0 ug/ml STD 输入键	按下插入 0 ug/ml STD 输入键	原始值: 846
按下插入 50 ug/ml STD 输入键	按下插入 50 ug/ml STD 输入键	
按下插入未知输入键	按下插入未知输入键	
846 = 499 ng 初始值: 50.0 ug/ml	846 = 500 ng DNA 71371 个单元	

图 18

