

多功能灵敏固相时间分辨荧光免疫分析仪设计

宋克非, 张佩杰

(中国科学院长春光学精密机械与物理研究所 长春 130033)

摘要: 针对固相时间分辨荧光光谱的测量, 设计出一种全新的固相时间分辨荧光免疫分析系统。使用氮分子激光器作为激发光源, 采用积分球和单色仪相结合的荧光收集结构, 使杂散光对样品荧光的影响降到最低; 用光电倍增管进行光电转换, 在 500 ~ 700 nm 范围实现了高分辨荧光光谱测量; 利用数字方式实现取样积分功能, 提高了系统的信噪比。系统可实现荧光寿命、时间分辨荧光光谱、物质浓度的自动测量, 仪器的检测灵敏度可达 10^{-12} mol/L, 线性范围为 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ mol/L, 稳定性相对误差小于 3%, 荧光光谱分辨为 0.5 nm。

关键词: 固相时间分辨; 荧光免疫分析系统; 光栅单色仪; 积分球

中图分类号: TP216 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 510.20

Design of a new solid-phase time-resolved fluorescence immunoassay analyzer

Song Kefei, Zhang Peijie

(Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics (CIOMP),
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: A new solid-phase time-resolved fluorescence immunoassay analysis system has been designed for solid-phase time-resolved fluorescence spectroscopy measurements. The device uses nitrogen molecular laser as the excitation light source and employs integrating sphere combined with grating monochromator as the fluorescence collecting subsystem to minimize the influences of stray light on the sample fluorescence. Photomultiplier tube is used to convert the sampled optic signal to electronic signal and high resolution measurements of fluorescence spectrum in the range of 500 ~ 700 nm are implemented. The converted electrical signals are sampled and integrated digitally with a single chip micro-computer, which improves the signal to noise ratio of the received signal. The instrument can complete fluorescence lifetime measurement, time-resolved fluorescence spectroscopy measurement and substance concentration measurement. Experimental results show that the measurement sensitivity is up to 10^{-12} mol/L, linearity range is $10^{-12} \sim 10^{-9}$ mol/L, relative stability error is less than 3% and the measurement resolution is 0.5 nm.

Key words: solid-phase time-resolved; fluorescence immunoassay analysis system; grating monochromator; integrating sphere

1 引 言

时间分辨荧光免疫分析 (time-resolved fluorescence immunoassay, TRFIA) 技术是 20 世纪 80 年代发展起来的一项新型非放射性免疫分析技术。与传统的荧光免疫分

析方法不同, 时间分辨荧光免疫分析技术^[1-2]具有灵敏度高、标记物制备简单、稳定性好、标准曲线线性范围宽、分析速度快、特异性强等优点, 因此深受生物、医学研究工作者的青睐, 成为最有发展前途的超微量分析技术^[3-4]。TRFIA 理论^[5]自提出以来, 迄今已发展为两大独立体系, 分别是解离增强体系 (液相 TRFIA) 和固相时间分辨荧光

免疫分析(固相 TRFIA)。液相 TRFIA 系统对标记的配体必须加入增强液解离增强,将稀土元素从配体上解离下来,同另一种螯合剂形成发光螯合物,再进行荧光信号检测。液相 TRFIA 荧光信号由于没有空间特异性,另外由于进行了解离增强过程,操作工序复杂,引入了稀土外源污染,分析的准确度降低^[6]。为了克服液相 TRFIA 体系的不足,1988 年加拿大 Diamandis 等人建立了固相 TRFIA 体系^[7-8]。它以 4,7-二氯磺基苯-1,10 菲啉-2,9 二羧酸(BCPDA)为螯合剂,制备稀土标记免疫复合物,由于 BCPDA 分子结构具有增强荧光作用,无需加入增强液,可直接检测稀土标记免疫复合物的荧光。目前,固相 TRFIA 体系尚不完善,关键技术问题,如弱反射荧光信号检测、检测样品池技术、螯合剂稳定性等还需要进一步的解决。

我国 TRFIA 的研究和临床工作发展相对较晚,从 20 世纪 90 年代开始,北京大学、原子能科学院、清华大学和长春应化所等医疗单位和科研院所也合成过多种螯合物和专用试剂,并对样品池、标记物等关键技术进行了研究。潘利华等人^[9]通过 BCPDA 标记乙肝抗体 IgG 实验研究了 BCPDA 标记蛋白质的方法,获得了较高标记比、又保持相对高生物活性的标记物。

为了满足对固相 TRFIA 检测设备的需求,本文研制了多功能灵敏固相时间分辨荧光免疫分析系统,用高能量激光作为激发光源,采用反射式的荧光收集方式,用光电倍增管作为荧光检测器件,数据采集系统采用数字取样积分方法,解决了弱荧光信号难于检测的问题,实现了荧光寿命测量、时间分辨荧光光谱测量及物质浓度的测量。

2 工作原理及系统结构

时间分辨荧光原理是以镧系元素作为荧光标记物,利用这类物质有长荧光寿命的特点,延长荧光时间,在短寿命的自然本底荧光完全衰退后再进行测定,所得的信号即为长寿命镧合物的荧光,从而有效地消除非特异性本底荧光的干扰,大大提高信噪比。利用增强液的作用使荧光信号增强使镧离子很容易解离出来,采用脉冲光源,短时照射物品后,以电子设备控制采样延迟时间,等非特异本底荧光衰退后,再测定样品发出的长寿命荧光。用时间分辨荧光免疫分析仪测定荧光物质发射荧光的强度,根据检测到荧光强度和相对标准样品荧光强度比值,建立标准样品荧光强度和样品浓度关系的标准曲线,在标准曲线上计算分析分析物的物质浓度,达到定量分析的目的^[10-12]。

液相 TRFIA 与固相 TRFIA 时间分辨荧光免疫检测都是通过寻求一种中间物,使镧离子与待测物质细胞 CEA 按照一定的比例结合,通过测量镧离子的荧光发光强度,就可以实现荧光强度和镧离子浓度的标定,继而可实现荧光强度和待测物质 CEA 浓度之间的标定,实现物质的浓度检测。

2.1 系统结构

固相时间分辨荧光免疫分析系统由激发光源、激发光光学系统、样品、单色仪、探测器、信号处理系统、计算机测控及通信应用软件等几部分组成。系统的组成结构框图如图 1 所示。

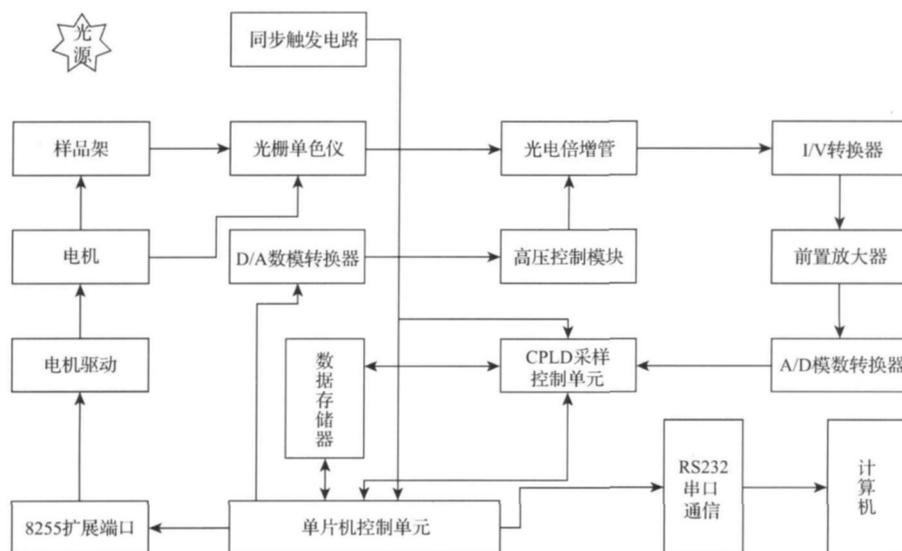


图 1 固相时间分辨荧光免疫分析系统组成框图

Fig. 1 System structure of the solid-phase time-resolved fluorescence immunoassay analyze

2.2 激发光学系统

固相时间分辨荧光免疫分析系统的样品为固相, 荧光强度较解离增强体系较弱, 普通的氙灯作为激发光源不能满足检测系统的需要, 而激光器的能量高、稳定性好、单色性好, 可以保证荧光成分更单一^[13]。所以, NL100 氮分子激光器作为激发光源。NL100 氮分子激光波长为 337.1 nm, 光斑尺寸 3 mm × 7 mm, 光发散角为 5 × 8 mrad。

对于固相测量需用反射式的荧光收集方式, 高效的激发光学系统采用积分球结构, 其结构如图 2 所示。

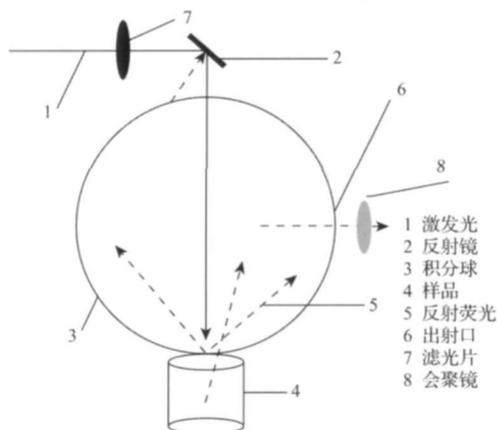


图 2 激发光学系统结构示意图

Fig. 2 Structure of the inspiring optical system

激光器发出的激光经前截止滤光片 (340 nm ± 10 nm) 滤除背景杂光, 经透镜及 45° 反射镜将光会聚到样品上, 使光斑直径小于 6 mm, 样品激发的荧光散射到积分球内。积分球开有 3 个孔, 分别是激光入孔、激光-样品的出孔、荧光-光谱仪出孔。在积分球的出口位置得到均匀的样品荧光。积分球内壁喷镀硫酸钡, 其集光效率在 90% 以上。

会聚镜由 4 片透镜和 1 块滤光片组成, 它能将积分球内的光最大限度地聚集到光栅单色仪入射狭缝。狭缝宽度的大小直接影响仪器的分辨率和能量, 狭缝宽度窄, 仪器分辨率高, 但进入仪器能量低; 反之, 狭缝宽度较宽, 进入仪器能量高, 而仪器分辨率下降。为了使仪器适用于不同的应用条件, 单色仪出、入狭缝设计了宽度调节装置, 狭缝宽度可以调节成 5 个不同的宽度值。

为了最大程度地降低仪器的杂散光, 在聚光镜后面装有 1 块截止滤光片, 使小于 450 nm 的光不能进入光栅单色仪。光谱仪采用凹面全息光栅作为色散元件, 反射面少, 聚光效率高, 杂散光小。

单色仪光栅采用闪耀光栅, 转动光栅, 可以使各种波长光依次从出缝射出。波长扫描原理依据光栅衍射方程计算:

$$\lambda = \frac{2d}{m} \cos \varphi \cdot \sin \theta \quad (1)$$

式中: α 为入射角 β 为衍射角, λ 为波长 d 为光栅常数, m 为光栅衍射级次 φ 为入射光与衍射光夹角之半 θ 为光栅从零级位置算起光栅转动角度。

步进电机转动带动螺杆转动, 螺杆转动带动螺母移动, 螺母移动推动紧靠在螺母上的杠杆转动, 从而带动与杠杆刚性连接的光栅转动, 实现波长扫描。步进电机转动由计算机控制实现。该仪器光谱扫描可以从 500 ~ 700 nm 范围内的扫描, 光谱分辨率为 0.5 nm。仪器起始光谱位置定位由两级霍尔元件实现 (初定位和精定位), 定位精度高, 波长重复性好, 定位精度及波长重复性均优于 ±0.5 nm。

样品架能同时放置 4 个样品, 由步进电机控制, 采用霍尔元件定位, 可放置固体样品、液体样品。

固相时间分辨荧光免疫分析系统选用光电倍增管作为荧光检测器件。它的作用是将受激产生的微弱的荧光信号转变为相应的电信号, 它具有极高的灵敏度, 时间响应在 ns 量级^[14-15]。光电倍增管选用日本滨松公司 R928-102 侧窗光电倍增管作为光电转换器件, 其光谱响应范围较宽, 在 400 ~ 700 nm 光谱灵敏度高, 以铯和钨为主的标记物, 其发射荧光波长在 545 nm 和 615 nm 位置附近, 满足使用要求。

2.3 信号采集与处理

计算机控制系统主要功能是将样品受激发产生的微弱荧光信号进行波长选择, 将弱的荧光信号转变为放大后的电信号, 经采样与模数转换, 由 CPLD 存储到外部的数据存储区中。单片机读取数据分析处理后传输给计算机, 根据计算机传递来的指令信息, 设定采样测量的延迟时间、采样时间、采样频率等参数, 实现对荧光信号的去噪和提取。采集得到的数据传输给计算机, 通过算法处理进一步去噪, 完成相应的功能测量。

信号采集与处理采用数字取样积分器完成信号的提取和处理, 利用很窄的与待测信号同步的取样脉冲信号对伴有噪声的待测信号逐点取样, 对每一个取样点作积分平均, 并利用噪声和待测信号的非相关性, 通过 RC 积分电路对取出的样品信号进行同步累积, 达到取样平均的目的。

令随机噪声方均根值为 ρ , 信号为 S , 则一次采样测量, 其信噪比 SNR 可表示为:

$$(SNR) = S/\rho \quad (2)$$

经过 m 次积累后的信噪比为:

$$(SNR)_m = \frac{mS}{\sqrt{m\rho^2}} = \frac{\sqrt{m}S}{\rho} = \sqrt{m}(SNR) \quad (3)$$

信噪比改善:

$$SNIR = (SNR)_m / (SNR) = \sqrt{m} \quad (4)$$

从式(3)可知,信噪比改善与重复累积采样次数的平方根成正比。取样次数越多,信噪比改善越好。研制的数字取样积分器采样次数在 1~8 192 范围内任意设置,信噪比改善最大为 90。免疫分析系统所检测的荧光信号的寿命范围在十几个微秒到几十个毫秒之间,如果仅仅采用单一的采样频率,难免产生频谱遗落或者数据冗余,故将寿命范围划分为 11 个区间,依据荧光寿命范围选择不同的采样频率、同步延时时间及采样脉宽等,以得到精确的荧光寿命。

2.4 系统工作原理

固相时间分辨荧光免疫分析系统的工作过程包括样品的标记、特异荧光的产生、荧光发光波长的选择、荧光信号的检测、信号采集存储与处理、数据报告和结果分析等步骤。

固相时间分辨荧光免疫分析系统的整个测试测量过程在微处理器控制下自动完成。开机后微处理器首先进行系统的归零工作,此时光电倍增管的高压调到 0 V,单色仪的前、后狭缝宽度调节为 0.1 mm。将待测样品放置在样品池中,关闭样品盒,在计算机应用程序软件选择任务并设置测试参数后,就可以开始测量。计算机控制系统自动完成样品池的弹入,前后狭缝宽度调节,光电倍增管高压设置,单色仪扫描波长选择,控制电子学硬件系统完成荧光信号的采集与存储,读取处理后传输给计算机,计算机应用程序软件接收数据处理后,在应用程序界面上显示测量结果。

3 系统性能测试和数据分析

固相时间分辨荧光免疫分析系统的性能测试主要包括时间分辨荧光光谱测量、荧光寿命测量、物质浓度测量、稳定性测量和灵敏度测量五个方面。

3.1 时间分辨荧光光谱测量

对待测样品进行时间分辨荧光光谱测量,首先要估计待测样品荧光寿命的大致范围,并根据估计寿命范围选择合适的采样频率。寿命范围可由标记物来确定,如钬标记的样品荧光寿命范围在 600 μs 左右,铽标记的样品荧光寿命在 3~4 ms。在寿命范围内,合理地选择采样延迟时间,减小短寿命的杂质荧光和激光干扰对荧光信号测量产生的干扰,同时不至于使延迟时间后荧光信号强度衰减到过小。采样时间的选择要尽可能长,但要兼顾采样时间内荧光信号强度要足够大。逐渐升高光电倍增管高压值(0~1 100 V),直至荧光强度达到满意效果。

如图 3 所示,对 Eu 标记的钬含量 4% 的固相螯合剂 Y₂(Mo₄)₃ 进行时间分辨荧光光谱的测量,光谱扫描范围在 580~650 nm,光栅单色仪前后狭缝宽度均为 1 mm,光

电倍增管高压 700 V,采样延迟时间和采样时间均为 200 μs,采样频率为 375 kHz。测量结果如图 4 所示。

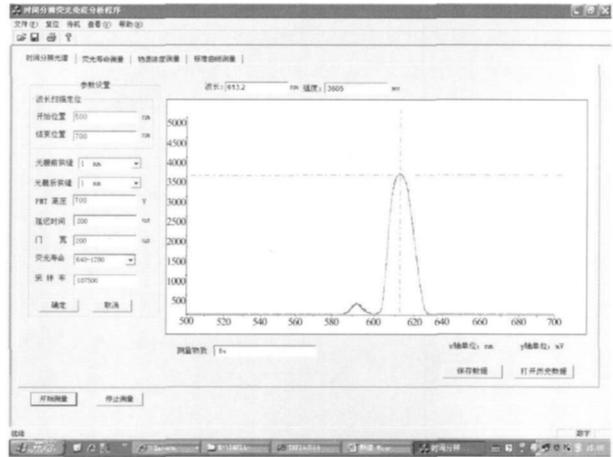


图 3 Eu 标记的钬含量 4% 的 Y₂(Mo₄)₃ 时间分辨荧光光谱图

Fig. 3 Time-resolved fluorescence spectrum of solid-phase chelate Y₂(Mo₄)₃ labeled with 4% Eu

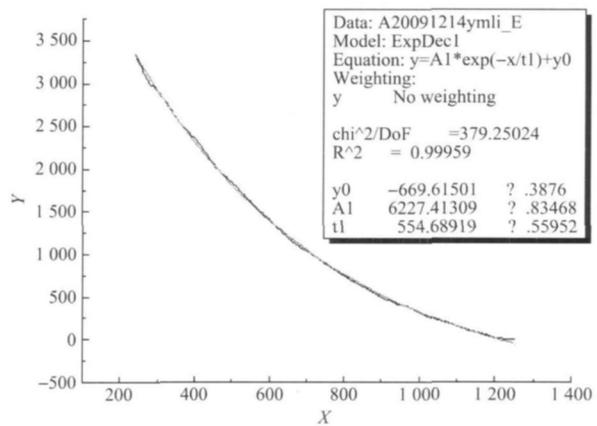


图 4 Eu 标记钬含量 4% 的 Y₂(Mo₄)₃ 的荧光寿命曲线

Fig. 4 Fluorescence lifetime curve of solid-phase chelate Y₂(Mo₄)₃ labeled with 4% Eu

从测量结果可知, Eu 标记的钬含量 4% 的固相螯合剂 Y₂(Mo₄)₃ 发射波长为 613.2 nm,相关资料测量结果为 613.0 nm,测量相对偏差为:

$$\delta = \frac{(613.2 \pm 0.5) - 613.0}{613.0} < 0.2\% \quad (5)$$

分别对 Eu 标记液相 P8 螯合物和 Tb 标记液相 P8 螯合物进行了时间分辨荧光光谱的测量,测量结果分别为 (613.2 ± 0.2) nm、(545.2 ± 0.2) nm。从测试数据可以看出,固相时间分辨荧光免疫分析系统波长扫描的稳定性很好,重复性很高。测得的荧光发射波长与相关文献的数据吻合。

3.2 荧光寿命测量

在测得的时间分辨荧光光谱图中,确定样品荧光的发射波长,在发射波长位置,依据寿命范围确定的采样频率,系统将自动在 3 倍寿命范围区间内对荧光信号进行采集。光电倍增管高压的选取遵照时间分辨荧光光谱测量高压选取为准。

对 Eu 标记钕含量 4% 的固相螯合剂 $Y_2(Mo_4)_3$ 进行了荧光寿命测量,光栅单色仪光谱扫描波长选择为 613.2 nm,荧光寿命选择为 1 280 ~ 2 560 μs ,采样频率为 93.750 kHz,光电倍增管高压选择为 700 V。测量寿命曲线如图 5 所示。

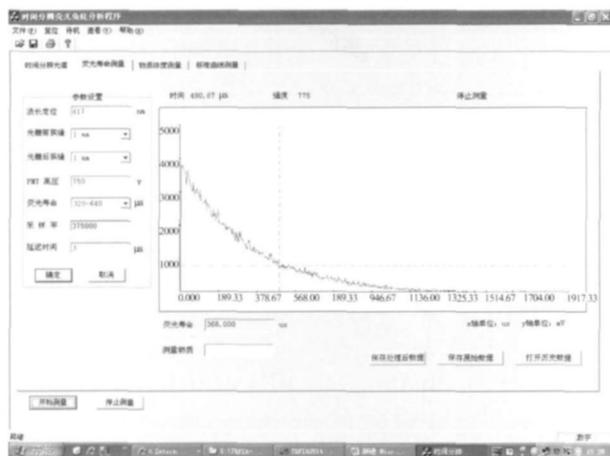


图 5 荧光寿命显示界面

Fig. 5 Graphical user interface of fluorescence lifetime experiment

测得 Eu 标记的钕含量 4% 的固相螯合剂 $Y_2(Mo_4)_3$ 荧光寿命为 $(544.7 \pm 0.6) \mu s$,经大量统计分析 Eu 标记的钕含量 4% 的固相螯合剂 $Y_2(Mo_4)_3$ 荧光寿命约为 $(530.0 \pm 0.1) \mu s$,测量相对偏差为:

$$\frac{544.6 - 530.0}{530.0} \times 100\% = 2.7\% < 3\% \quad (6)$$

可见该仪器测量具有很高的准确性。荧光寿命演示界面如图 5 所示。

3.3 物质浓度测量

物质浓度测量是在荧光光谱与寿命测量的基础上进行的。在待测样品浓度的估计范围内配制标准样品,对配制的标样进行荧光强度测量。选择合适的测量条件,确定标样物质浓度和荧光强度的标准曲线。测量待测样品的荧光发光强度,在已测得的标准曲线上计算样品的物质浓度,完成物质浓度测量。

对钕标记的液相螯合剂 P8 进行了物质浓度检测。首先进行标准曲线测量,配制标准样品,分别为 S1 ($1.0 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$)、S2 ($2.0 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$)、S3 ($3.0 \times$

10^{-12} mol/L)、S4 ($4.0 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$)、S5 ($5.0 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$) 和 S6 (0 mol/L) 共 6 种样品。设置测量参数,光栅单色仪扫描波长为 613 nm,光栅单色仪前后狭缝均为 1 mm,光电倍增管高压 900 V,采样延迟时间和采样时间均为 200 μs ,采样频率为 375 kHz,测得标样物质浓度的标准曲线如图 6 所示。进行曲线拟合,测得信号电压值 Y 与物质浓度 X 满足方程 $Y = (6.6 \times 10^{11}) X - 0.340$,拟合相关系数为 0.999 2。

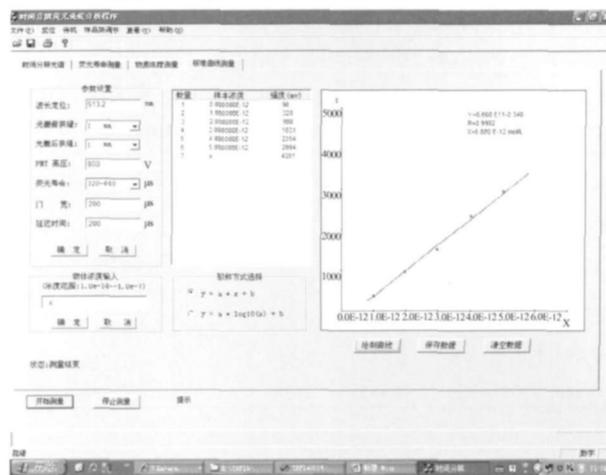


图 6 钕标记的液相螯合剂 P8 物质浓度检测图

Fig. 6 Concentration measurement of liquid-phase chelate labeled by Eu

测量待测物质荧光强度,根据标准曲线方程即可计算出待测物质浓度。待测样品 S7 浓度为 $7.0 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$ 。测得信号强度 $Y = 4.201 \text{ V}$,计算得到物质浓度 $X = 6.88 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$,与真实值比较,相对误差为:

$$\frac{(7.0 - 6.88) \times 10^{-12}}{7.0 \times 10^{-12}} = 1.7\%$$

结果表明,测量结果在误差允许范围内。

3.4 稳定性和灵敏度测量

为了对固相时间分辨荧光免疫分析系统的稳定性和灵敏度进行测试,对 Eu³⁺ 标记的螯合物 P8 进行了检测。试验所用 Eu³⁺ 标记的螯合物 P8 有较好的线性曲线和荧光稳定性,能检测最大浓度范围为 10^{-12} mol/L 。

测试样品为 S1 ~ S6,在样品荧光的发光波长 613.2 nm 位置处对 6 种样品进行测量,每种样品测量 10 次,荧光强度取平均值,测量数据如表 1、2 所示。对数据进行拟合,得到的方程为 $Y = 6.6 \times 10^{11} X - 0.340$,相关系数 $R = 0.999 2$ 。结果表明,物质浓度范围变换不超过一个数量级时,样品荧光强度与样品的浓度成正比,即荧光激发强度恒定,可以通过测量荧光强度来测定被测样品的浓度。

为了检测仪器的稳定性,对样品 S3 进行 20 次测试,

将测量的结果代入式(7):

$$CV = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{20} (V_i - \bar{V})^2 / 19}}{\bar{V}} \times 100\% = 1.2\% \quad (7)$$

$CV < 2.5\%$ 这说明系统具有较好的测量稳定性。

计算样品 S1、S6 的测量荧光强度值 \bar{V}_1 和 \bar{V}_6 的相对误差:

$$\delta = \frac{\bar{V}_1 - \bar{V}_6}{\bar{V}_1} \times 100\% = 69.4\% \quad (8)$$

相对误差 $\delta > 10\%$ 。可见固相时间分辨荧光光谱仪的检测灵敏度可达 10^{-12} mol/L。

表 1 不同狭缝宽度与对应的光谱分辨率

Table 1 Different widths of slit and the corresponding spectrum resolution

狭缝宽度/mm	光谱分辨率/nm	狭缝宽度/mm	光谱分辨率/nm
0.1	0.5	2	10
0.5	2.5	4	20
1	5		

表 2 不同浓度物质荧光强度值

Table 2 Fluorescence Intensity of tested substance with different concentrations

浓度/(mol · L ⁻¹)	序号										平均/mV
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0.000 000E - 12	98	99	101	101	97	99	95	97	98	95	98
1.000 000E - 12	324	325	321	317	316	319	315	323	320	320	320
2.000 000E - 12	984	970	987	978	976	990	973	982	980	982	980
3.000 000E - 12	1 630	1 645	1 629	1 648	1 621	1 615	1 649	1 622	1 631	1 632	1 632
4.000 000E - 12	2 355	2 329	2 337	2 340	2 364	2 359	2 345	2 347	2 354	2 371	2 350
5.000 000E - 12	2 985	2 960	2 989	2 994	2 984	2 973	2 985	2 960	2 994	2 975	2 980

4 结 论

多功能固相时间分辨荧光免疫分析系统采用以计算机为上位机的多层控制-数据采集系统,提高了设备的自动化水平,实现了荧光寿命、时间分辨荧光光谱、物质浓度的自动测量。信号处理部分采用数字取样积分方法提高信噪比,采样时间、采样门宽以及采样频率可调,方便灵活,便捷实用。实验结果表明,该仪器取得了较高的性能指标,同时可兼顾固相和液相样品检测,是免疫分析较理想的仪器之一。

致 谢

多功能固相时间分辨荧光免疫分析系统研制是与潘丽华和巢志诚研究员合作完成的,参加研制工作的还有李俊玲、王云磊、张未来等,在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] PETERSSON K, SIITARI H, HEMMILA I, et al. Time-resolved fluoroimmunoassay of human chorionic gonadotropin[J]. Clinical Chemistry, 1983, 29: 60-64.
- [2] SONIE E, KOJOLA H. Time resolved fluorometer for lanthanide chelates: A new generation on nonisotopic immunoassays[J]. Clinical Chemistry, 1983, 29: 65-68.
- [3] 任冰强, 黄立华, 黄惠杰. 基于免疫层析技术的时间分辨荧光免疫分析仪研究[J]. 仪器仪表学报, 2009, 30

(6): 1330-1335.

REN B Q, HUANG L H, HUANG H J. Time-resolved fluorometer based on immunochrom atography [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2009, 30 (6): 1330-1335.

- [4] 沈健, 林德球, 徐杰. 时间分辨荧光免疫分析技术研究现状及进展[J]. 生命科学, 2004, 16(1): 55-59.
SHEN J, LIN D Q, XU J. Present situation and progress of time-resolved fluoroimmunoassay [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2004, 16(1): 55-59.
- [5] OINI E, EMMILA I. Fluoroimmunoassay: Present status and key problems [J]. Clinical Chemistry, 1979, 25: 353-361.
- [6] 李振甲, 陈泮藻. 时间分辨荧光分析技术与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 1996: 21-26.
LI ZH J, CHEN B Z. Technology and application of time-resolved fluoroimmunoassay [M]. Beijing: science Press, 1996: 21-26.
- [7] DIAMANDIS E P, MORTON R C. Time-resolved fluorescence using a europium chelate of 4,7-bis-chlorosulphophenyl-1,10-phenanthroline-2,9-dicarboxylic acid (BCPDA): Labeling procedures and applications in immunoassay [J]. Immunol Methods, 1988(112): 43-52.
- [8] EVANGELISTA R A, POLLAK A, ALLORE B. Immunoassay with time-resolved fluorescence spectroscopy: Principles and applications [J]. Clin. Biochem., 1988 (21): 173-178.
- [9] 潘利华, 周誓红, 孙文伟, 等. 固相时间分辨荧光免疫

- 标记技术研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(12): 1601-1604.
- PAN L H, ZHOU SH H, SUN W W, et al. Study of Solid-phase time-resolved fluorescence label immunoassay [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis December, 2004, 24(12): 1601-1604.
- [10] 王冬生, 王桂梅, 王玉田, 等. 基于稀土荧光材料的光纤温度传感器[J]. 仪器仪表学报, 2007, 28(4增刊): 123-127.
- WANG D SH, WANG G M, WANG Y T, et al. Fiber temperature sensor based on rare earth fluorescence material [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2007, 28(4Suppl.): 123-127.
- [11] 赵友全, 魏红艳, 李丹, 等. 叶绿素荧光检测技术及仪器的研究[J]. 仪器仪表学报, 2010, 31(6): 1342-1346.
- ZHAO Y Q, WEI H Y, LI D, et al. Research on the technique and instrument of chlorophyll fluorescence measurement [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2010, 31(6): 1342-1346.
- [12] 吴健民. 临床化学自动化免疫分析[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 225-244, 79-100.
- WU J M. Clinical chemistry automated immunoassay [M]. Beijing: Science Press, 2000: 225-244, 79-100.
- [13] 谢绍安. 激光技术在生物学中的研究领域及应用前景[J]. 激光与光电子学进展, 1997(10): 10-13.
- XIE SH AN. Prospects of laser technology in the areas of research in biology and application [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 1997(10): 10-13.
- [14] 邱健, 杨冠玲, 何振江, 等. 基于紫外荧光法的大气 SO₂ 气体浓度分析仪[J]. 仪器仪表学报, 2008, 29(1): 174-178.
- QIU J, YANG G L, HE ZH J, et al. Atmospheric SO₂ concentration analyzer based on ultra-violet fluorescence [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2008, 29(1): 174-178.
- [15] 司马伟昌, 张玉钧, 王志刚, 等. 多波长 LED 阵列光源叶绿素荧光探测仪电路的单片机实现[J]. 仪器仪表学报, 2007, 28(10): 1820-1825.
- SIMA W CH, ZHANG Y J, WANG ZH G, et al. MCU realization of chlorophyll fluorometer circuit based on multi-wavelength LED array [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2007, 28(10): 1820-1825.

作者简介



宋克非, 1998 年于中国科学院长春光学精密机械与物理研究所获得硕士学位, 现为中国科学院长春光学精密机械与物理研究所研究员, 主要研究方向为微弱信号检测技术研究及光电测量仪器的开发。
E-mail: songkf@ciomp.ac.cn

Song Kefei received master degree in 1998 from Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics (CIOMP), Chinese Academy of Sciences. Now she is a research fellow in CIOMP. Her research direction is focused on technology of weak signal detection and development of photoelectric measurement instrument.



张佩杰, 2010 年于吉林大学获得博士学位, 现为中国科学院长春光学精密机械与物理研究所助理研究员, 主要研究方向为微弱信号检测技术研究及电机伺服系统设计。
E-mail: zhangpj@ciomp.ac.cn

Zhang Peijie received doctor degree in 2010 from Jilin University. Now he is a research assistant in CIOMP. His research is focused on technology of weak signal detection and development of electrical motor servo control system.