



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105861293 B

(45)授权公告日 2017. 11. 07

(21)申请号 201610209150.2

(22)申请日 2016.04.06

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105861293 A

(43)申请公布日 2016.08.17

(73)专利权人 深圳市瀚海基因生物科技有限公司

地址 518000 广东省深圳市南山区西丽街
道西丽大学城笃学路9号国家超级计
算深圳中心科研楼10楼

(72)发明人 颜钦 姜泽飞 郑焦 吴平
周志良 葛良进

(74)专利代理机构 广州三环专利商标代理有限
公司 44202

代理人 郝传鑫 熊永强

(51)Int.Cl.

C12M 1/34(2006.01)

C12M 1/36(2006.01)

(56)对比文件

CN 205576142 U, 2016.09.14, 权利要求1-18.

CN 105112290 A, 2015.12.02, 全文.

CN 105199949 A, 2015.12.30, 全文.

CN 105241853 A, 2016.01.13, 全文.

US 2005227231 A1, 2005.10.13, 全文.

审查员 穆飞航

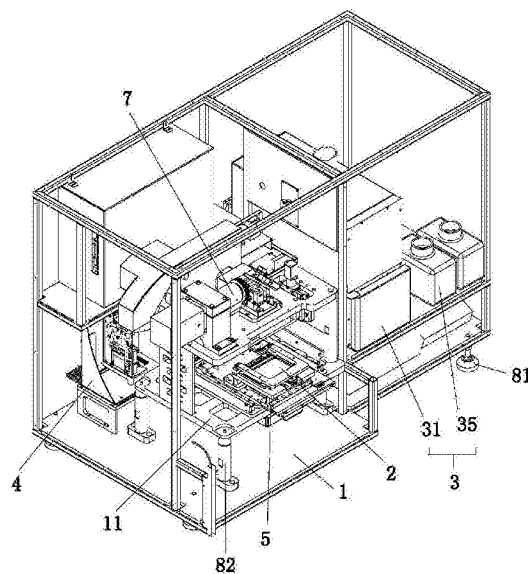
权利要求书3页 说明书12页 附图9页

(54)发明名称

单分子基因测序仪

(57)摘要

本发明公开了一种单分子基因测序仪,属于基因测序领域的技术方案,其包括机座,所述机座上设有夹装平台、试剂存放装置、流体控制装置、移动平台和全反射显微镜;所述夹装平台上设有基因测序芯片;所述试剂存放装置用于存放基因测序试剂;所述流体控制装置用于将所述基因测序试剂从所述试剂存放装置内抽送至所述基因测序芯片;所述移动平台用于带动所述夹装平台移向和移离所述全反射显微镜下方;所述全反射显微镜用于检测所述基因测序芯片内的样品的基因序列;此方案没有建库流程,没有PCR,操作简单便捷,降低测序成本,是一种非常适用于临床应用的诊疗手段。



1. 一种单分子基因测序仪,包括机座,所述机座上设有夹装平台、试剂存放装置、流体控制装置和移动平台;

所述夹装平台上设有基因测序芯片;

所述试剂存放装置用于存放基因测序试剂;

所述流体控制装置用于将所述基因测序试剂从所述试剂存放装置内抽送至所述基因测序芯片;

其特征在于,所述机座上还设有全反射显微镜,所述移动平台设于所述全反射显微镜下方,所述夹装平台设于所述移动平台上,所述移动平台用于带动所述基因测序芯片移向和移离所述全反射显微镜下方;

所述全反射显微镜包括激光发射机构、显微物镜、滤光片组、自动对焦装置、导向机构、探测相机和计算机;

所述激光发射机构用于将两种波长不同的激光射至所述滤光片组;

所述滤光片组包括第一双带通滤光片、第二双带通滤光片和第一二向色镜;

所述第一双带通滤光片用于将所述激光滤光后射至所述第一二向色镜;

所述第一二向色镜用于将所述激光反射至所述显微物镜;

所述显微物镜用于将所述激光以入射角大于临界角的状态聚焦在所述基因测序芯片上,以此激发所述基因测序芯片内的样品产生荧光;

所述荧光依次穿过所述显微物镜、第一二向色镜和第二双带通滤光片,所述第二双带通滤光片用于将所述荧光滤光后射至所述导向机构;

所述导向机构用于将所述荧光转射至所述探测相机,所述探测相机用于对所述荧光进行图像信息采集、并将所述图像信息送至所述计算机,以使所述计算机能够根据所述图像信息测出所述基因测序芯片内的样品的基因序列;

所述自动对焦装置用于发射红外光至所述导向机构,所述导向机构将所述红外光转射至所述第二双带通滤光片,所述红外光依次穿过所述第二双带通滤光片、第一二向色镜和显微物镜后射至所述基因测序芯片、并按原路返回射至所述自动对焦装置,以此使得所述自动对焦装置能够对所述基因测序芯片内的样品进行连续对焦;

所述基因测序芯片上设有基因测序通道。

2. 根据权利要求1所述的单分子基因测序仪,其特征在于,所述第二双带通滤光片与所述显微物镜的镜面平行相对设置,所述第一二向色镜以倾斜 45° 的方式设置于所述第二双带通滤光片与所述显微物镜之间;所述第一二向色镜与所述显微物镜相对的镜面还与所述第一双带通滤光片相对,所述第一二向色镜与所述第一双带通滤光片相对面之间的夹角为 45° 。

3. 根据权利要求2所述的单分子基因测序仪,其特征在于,所述激光发射机构包括第一激光发射器、第二激光发射器、第二二向色镜和第一反射镜;

所述第一激光发射器用于发射第一种波长的激光至所述第二二向色镜,以使所述第一种波长的激光穿过所述第二二向色镜射至所述第一双带通滤光片;

所述第二激光发射器用于发射第二种波长的激光至所述第一反射镜,所述第一反射镜用于将所述第二种波长的激光反射至所述第二二向色镜,以使所述第二二向色镜将所述第二种波长的激光反射至所述第一双带通滤光片。

4. 根据权利要求3所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片正对布置,以使所述第一种波长的激光能够垂直射入所述第一双带通滤光片;

所述第二二向色镜以倾斜 45° 的方式设置于所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片之间,所述第一反射镜的镜面与所述第二二向色镜的镜面平行相对,且所述第一反射镜的镜面相对于所述第二激光发射器的发射端呈 45° 的倾斜布置。

5. 根据权利要求2所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述激光发射机构包括第一激光发射器、第二激光发射器和第二二向色镜;

所述第一激光发射器用于发射第一种波长的激光至所述第二二向色镜,以使所述第一种波长的激光穿过所述第二二向色镜射至所述第一双带通滤光片;

所述第二激光发射器用于发射第二种波长的激光至所述第二二向色镜,以使所述第二二向色镜将所述第二种波长的激光反射至所述第一双带通滤光片。

6. 根据权利要求5所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片正对布置,以使所述第一种波长的激光能够垂直射入所述第一双带通滤光片;

所述第二二向色镜以倾斜 45° 的方式设置于所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片之间;所述第二二向色镜与所述第一双带通滤光片相对的一面还与所述第二激光发射器的发射端呈 45° 的倾斜相对。

7. 根据权利要求2所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述导向机构包括第三二向色镜和第二反射镜;

所述第三二向色镜用于将所述红外光反射至所述第二双带通滤光片、以及将从所述基因测序芯片反射回来的所述红外光反射至所述自动对焦装置;

所述荧光穿过所述第三二向色镜射至所述第二反射镜,所述第二反射镜用于将所述荧光反射至所述探测相机。

8. 根据权利要求7所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述第三二向色镜的一面与所述第二双带通滤光片、自动对焦装置相对,所述第三二向色镜相对于所述第二双带通滤光片、自动对焦装置的收发端呈 45° 倾斜布置;

所述第二反射镜与所述第三二向色镜的另一面平行相对布置,所述第二反射镜相对于所述探测相机的采集端呈 45° 倾斜布置。

9. 根据权利要求2所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述导向机构包括第三二向色镜;

所述第三二向色镜用于将所述红外光反射至所述第二双带通滤光片、以及将从所述基因测序芯片反射回来的所述红外光反射至所述自动对焦装置;

所述荧光穿过所述第三二向色镜射至所述探测相机。

10. 根据权利要求9所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述第三二向色镜的一面与所述第二双带通滤光片、自动对焦装置相对、另一面与所述探测相机相对,所述第三二向色镜相对于所述第二双带通滤光片、自动对焦装置的收发端、探测相机的采集端呈 45° 倾斜布置。

11. 根据权利要求1所述的单分子基因测序仪,其特征在于,

所述夹装平台包括平台底座、温控芯片和用于对所述基因测序芯片进行定位固定的夹装框；

所述平台底座的上表面设有用于安装所述基因测序芯片的安装区，所述温控芯片安装在所述安装区内，所述基因测序芯片安装在所述温控芯片上方；

所述夹装框与所述平台底座转轴联接，以使所述夹装框能够翻向和翻离所述平台底座。

12. 根据权利要求11所述的单分子基因测序仪，其特征在于，所述安装区的两侧均设有试剂导流孔，所述试剂导流孔的下端口与所述流体控制装置接通、上端口与所述基因测序芯片接通。

13. 根据权利要求11所述的单分子基因测序仪，其特征在于，

所述平台底座在所述安装区的两侧各设有一个转轴台；

所述夹装框包括两条夹装边和一条定位边，所述两条夹装边的一端分别与所述定位边的两端垂直相连接，所述两条夹装边的另一端分别与所述转轴台转轴联接，以使所述夹装框翻向所述平台底座时，所述夹装框能围绕在所述安装区的周边。

14. 根据权利要求13所述的单分子基因测序仪，其特征在于，

所述定位边上设有锁扣，所述平台底座在与所述锁扣位置对应处设有锁台，所述锁台上设有解锁按钮；

所述锁扣用于插入所述锁台内，以此实现夹装框与平台底座之间的锁合定位；

所述解锁按钮用于解除所述锁台对所述夹装框的固定。

15. 根据权利要求1所述的单分子基因测序仪，其特征在于，所述机座底部设有多个第一减震脚垫。

16. 根据权利要求15所述的单分子基因测序仪，其特征在于，所述机座上还设有支架，所述全反射显微镜和所述移动平台安装在所述支架上，所述支架底部设有多个第二减震脚垫，所述第二减震脚垫支撑在所述机座上。

17. 根据权利要求1所述的单分子基因测序仪，其特征在于，所述试剂存放装置包括冷藏储存室，所述冷藏储存室内设有冷藏试剂瓶和电动升降机构，所述电动升降机构设于所述冷藏试剂瓶的上方，所述电动升降机构上设有与所述流体控制装置接通的第一穿刺针，所述电动升降机构用于带动所述第一穿刺针插入和离开所述冷藏试剂瓶。

18. 根据权利要求17所述的单分子基因测序仪，其特征在于，所述试剂存放装置还包括常温储存室，所述常温储存室内设有常温试剂瓶和手动升降机构，所述手动升降机构设于所述常温试剂瓶的上方，所述手动升降机构上设有第二穿刺针，所述手动升降机构用于带动所述第二穿刺针插入和离开所述常温试剂瓶。

单分子基因测序仪

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基因测序设备,特别涉及一种单分子基因测序仪。

背景技术

[0002] 随着基因测序技术的不断发展,第二代高通量测序技术已经广泛地应用于各研究领域,但随着应用的推广,二代测序的不足之处也日益凸显。例如,需要文库构建,过程不但复杂而且耗时过长;需要进行PCR扩增,容易产生偏好性,造成原始基因比例的失真;测序读长较短,对后续的序列拼接和组装等生物信息学分析带来困难。因此第三代单分子测序技术应运而生,其采用单分子读取技术,有着更高的灵敏度和更快的数据读取速度,同时不需要PCR(Polymerase Chain Reaction)扩增,保证检测样本的真实信息,同时进一步降低了测序成本。其中,PCR又叫聚合酶链式反应,聚合酶链式反应是一种用于放大扩增特定的DNA片段的分子生物学技术,它可看作是生物体外的特殊DNA复制,PCR的最大特点,是能将微量的DNA大幅增加。

[0003] 目前单分子测序技术有单分子实时合成测序技术和纳米孔测序技术。其中,单分子实时合成测序技术具有测序读长长的优势,但其基因测序芯片的制作工艺和测序技术路线限制了其测序通量无法达到很高的水平。另一种纳米孔测序技术则由于检测的电信号为纳安到皮安级别的极其微弱的信号,同时其基因测序芯片的纳米孔制作难度很大,目前测序错误率很高,无法达到大批量芯片生产并进行大量测序的水平。

[0004] 综上所述,提供一种高效、低成本的测序设备尤为重要。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种单分子基因测序仪,以解决现有技术效率低、成本高的问题。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种单分子基因测序仪,包括机座,所述机座上设有夹装平台、试剂存放装置、流体控制装置和移动平台;

[0007] 所述夹装平台上设有基因测序芯片;

[0008] 所述试剂存放装置用于存放基因测序试剂;

[0009] 所述流体控制装置用于将所述基因测序试剂从所述试剂存放装置内抽送至所述基因测序芯片;

[0010] 所述机座上还设有全反射显微镜,所述移动平台设于所述全反射显微镜下方,所述夹装平台设于所述移动平台上,所述移动平台用于带动所述夹装平台移向和移离所述全反射显微镜下方;

[0011] 所述全反射显微镜包括激光发射机构、显微物镜、滤光片组、自动对焦装置、导向机构、探测相机和计算机;

[0012] 所述激光发射机构用于将两种波长不同的激光射至所述滤光片组;

[0013] 所述滤光片组包括第一双带通滤光片、第二双带通滤光片和第一二向色镜;

- [0014] 所述第一双带通滤光片用于将所述激光滤光后射至所述第一二向色镜；
- [0015] 所述第一二向色镜用于将所述激光反射至所述显微物镜；
- [0016] 所述显微物镜用于将所述激光以入射角大于临界角的状态聚焦在所述基因测序芯片上,以此激发所述基因测序芯片内的样品产生荧光；
- [0017] 所述荧光依次穿过所述显微物镜、第一二向色镜和第二双带通滤光片,所述第二双带通滤光片用于将所述荧光滤光后射至所述导向机构；
- [0018] 所述导向机构用于将所述荧光转射至所述探测相机,所述探测相机用于对所述荧光进行图像信息采集、并将所述图像信息送至所述计算机,以使所述计算机能够根据所述图像信息测出所述基因测序芯片内的样品的基因序列；
- [0019] 所述自动对焦装置用于发射红外光至所述导向机构,所述导向机构将所述红外光转射至所述第二双带通滤光片,所述红外光依次穿过所述第二双带通滤光片、第一二向色镜和显微物镜后射至所述基因测序芯片、并按原路返回射至所述自动对焦装置,以此使得所述自动对焦装置能够对所述基因测序芯片内的样品进行连续对焦。
- [0020] 优选的,所述第二双带通滤光片与所述显微物镜的镜面平行相对设置,所述第一二向色镜以倾斜 45° 的方式设置于所述第二双带通滤光片与所述显微物镜之间;所述第一二向色镜与所述显微物镜相对的镜面还与所述第一双带通滤光片相对,所述第一二向色镜与所述第一双带通滤光片相对面之间的夹角为 45° 。
- [0021] 优选的,所述激光发射机构包括第一激光发射器、第二激光发射器、第二二向色镜和第一反射镜；
- [0022] 所述第一激光发射器用于发射第一种波长的激光至所述第二二向色镜,以使所述第一种波长的激光穿过所述第二二向色镜射至所述第一双带通滤光片；
- [0023] 所述第二激光发射器用于发射第二种波长的激光至所述第一反射镜,所述第一反射镜用于将所述第二种波长的激光反射至所述第二二向色镜,以使所述第二二向色镜将所述第二种波长的激光反射至所述第一双带通滤光片。
- [0024] 优选的,所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片正对布置,以使所述第一种波长的激光能够垂直射入所述第一双带通滤光片；
- [0025] 所述第二二向色镜以倾斜 45° 的方式设置于所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片之间,所述第一反射镜的镜面与所述第二二向色镜的镜面平行相对,且所述第一反射镜的镜面相对于所述第二激光发射器的发射端呈 45° 的倾斜布置。
- [0026] 优选的,所述激光发射机构包括第一激光发射器、第二激光发射器和第二二向色镜；
- [0027] 所述第一激光发射器用于发射第一种波长的激光至所述第二二向色镜,以使所述第一种波长的激光穿过所述第二二向色镜射至所述第一双带通滤光片；
- [0028] 所述第二激光发射器用于发射第二种波长的激光至所述第二二向色镜,以使所述第二二向色镜将所述第二种波长的激光反射至所述第一双带通滤光片。
- [0029] 优选的,所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片正对布置,以使所述第一种波长的激光能够垂直射入所述第一双带通滤光片；
- [0030] 所述第二二向色镜以倾斜 45° 的方式设置于所述第一激光发射器的发射端与所述第一双带通滤光片之间;所述第二二向色镜与所述第一双带通滤光片相对的一面还与所述

第二激光发射器的发射端呈45°的倾斜相对。

[0031] 优选的,所述导向机构包括第三二向色镜和第二反射镜;

[0032] 所述第三二向色镜用于将所述红外光反射至所述第二双带通滤光片、以及将从所述基因测序芯片反射回来的所述红外光反射至所述自动对焦装置;

[0033] 所述荧光穿过所述第三二向色镜射至所述第二反射镜,所述第二反射镜用于将所述荧光反射至所述探测相机。

[0034] 优选的,所述第三二向色镜的一面与所述第二双带通滤光片、自动对焦装置相对,所述第三二向色镜相对于所述第二双带通滤光片、自动对焦装置的收发端呈45°倾斜布置;

[0035] 所述第二反射镜与所述第三二向色镜的另一面平行相对布置,所述第二反射镜相对于所述探测相机的采集端呈45°倾斜布置。

[0036] 优选的,所述导向机构包括第三二向色镜;

[0037] 所述第三二向色镜用于将所述红外光反射至所述第二双带通滤光片、以及将从所述基因测序芯片反射回来的所述红外光反射至所述自动对焦装置;

[0038] 所述荧光穿过所述第三二向色镜射至所述探测相机。

[0039] 优选的,所述第三二向色镜的一面与所述第二双带通滤光片、自动对焦装置相对、另一面与所述探测相机相对,所述第三二向色镜相对于所述第二双带通滤光片、自动对焦装置的收发端、探测相机的采集端呈45°倾斜布置。

[0040] 优选的,所述夹装平台包括平台底座、温控芯片和用于对所述基因测序芯片进行定位固定的夹装框;

[0041] 所述平台底座的上表面设有用于安装所述基因测序芯片的安装区,所述温控芯片安装在所述安装区内,所述基因测序芯片安装在所述温控芯片上方;

[0042] 所述夹装框与所述平台底座转轴联接,以使所述夹装框能够翻向和翻离所述平台底座。

[0043] 优选的,所述安装区的两侧均设有试剂导流孔,所述试剂导流孔的下端口与所述流体控制装置接通、上端口与所述基因测序芯片接通。

[0044] 优选的,所述平台底座在所述安装区的两侧各设有一个转轴台;

[0045] 所述夹装框包括两条夹装边和一条定位边,所述两条夹装边的一端分别与所述定位边的两端垂直相连接,所述两条夹装边的另一端分别与所述转轴台转轴联接,以使所述夹装框翻向所述平台底座时,所述夹装框能围绕在所述安装区的周边。

[0046] 优选的,所述定位边上设有锁扣,所述平台底座在与所述锁扣位置对应处设有锁台,所述锁台上设有解锁按钮;

[0047] 所述锁扣用于插入所述锁台内,以此实现夹装框与平台底座之间的锁合定位;

[0048] 所述解锁按钮用于解除所述锁台对所述夹装框的固定。

[0049] 优选的,所述机座底部设有多个第一减震脚垫。

[0050] 优选的,所述机座上还设有支架,所述全反射显微镜和所述移动平台安装在所述支架上,所述支架底部设有多个第二减震脚垫,所述第二减震脚垫支撑在所述机座上。

[0051] 优选的,所述试剂存放装置包括冷藏储存室,所述冷藏储存室内设有冷藏试剂瓶和电动升降机构,所述电动升降机构设于所述冷藏试剂瓶的上方,所述电动升降机构上设

有与所述流体控制装置接通的第一穿刺针,所述电动升降机构用于带动所述第一穿刺针插入和离开所述冷藏试剂瓶。

[0052] 优选的,所述试剂存放装置还包括常温储存室,所述常温储存室内设有常温试剂瓶和手动升降机构,所述手动升降机构设于所述常温试剂瓶的上方,所述手动升降机构上设有第二穿刺针,所述手动升降机构用于带动所述第二穿刺针插入和离开所述常温试剂瓶。

[0053] 本发明的有益效果如下:

[0054] 本发明采用的是单分子荧光测序技术,基于全内反射荧光显微成像技术,采用边合成边测序的测序原理,对DNA分子片段进行直接测序,没有建库流程,没有PCR,操作简单便捷,降低测序成本,是一种非常适用于临床应用的诊疗手段。

附图说明

[0055] 为了更清楚地说明本发明的技术方案,下面将对实施方式中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0056] 图1是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的结构示意图;

[0057] 图2是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的全反射显微镜的结构示意图;

[0058] 图3是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的激光发射机构第二种实施方式的结构示意图;

[0059] 图4是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的导向机构第二种实施方式的结构示意图;

[0060] 图5是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪使用浸油时的示意图;

[0061] 图6是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台未安装基因测序芯片时的打开状态示意图;

[0062] 图7是图6的A部分放大示意图;

[0063] 图8是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台未安装基因测序芯片时的关闭状态示意图;

[0064] 图9是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台安装基因测序芯片后的打开状态示意图;

[0065] 图10是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台安装基因测序芯片后的关闭状态示意图;

[0066] 图11是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台的侧视剖视示意图;

[0067] 图12是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的基因测序芯片结构示意图;

[0068] 图13是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台移离显微物镜的状态示意图;

[0069] 图14是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台移向显微物镜的状态示意图;

[0070] 图15是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的夹装平台试剂存放装置的结构示意图；

[0071] 图16是本发明优选实施例提供的单分子基因测序仪的流体控制装置结构示意图。

[0072] 附图标记如下：

[0073] 1、机座；11、支架；

[0074] 2、夹装平台；21、平台底座；211、安装区；212、试剂导流孔；213、转轴台；214、锁台；215、解锁按钮；22、温控芯片；23、夹装框；231、夹装边；232、定位边；233、锁扣；234、凸台；24、扭簧；

[0075] 3、试剂存放装置；31、冷藏储存室；32、冷藏试剂瓶；33、电动升降机构；34、第一穿刺针；35、常温储存室；36、常温试剂瓶；37、手动升降机构；38、第二穿刺针；

[0076] 4、流体控制装置；41、多通阀；411、试剂抽取口；412、出液口；42、第一三通阀；421、吸液口；422、第一分流口；423、第二分流口；43、驱动组件；431、第一注射泵；432、第二注射泵；433、第二三通阀；434、第三三通阀；435、第一废液瓶；436、第二废液瓶；

[0077] 5、移动平台；

[0078] 6、基因测序芯片；61、定位孔；62、第一基因测序通道；63、第二基因测序通道；

[0079] 7、全反射显微镜；71、激光发射机构；711、第一激光发射器；712、第二激光发射器；713、第二二向色镜；714、第一反射镜；72、显微物镜；73、滤光片组；731、第一双带通滤光片；732、第二双带通滤光片；733、第一二向色镜；74、自动对焦装置；75、导向机构；751、第三二向色镜；752、第二反射镜；76、探测相机；77、计算机；78、筒镜；

[0080] 81、第一减震脚垫；82、第二减震脚垫；

[0081] 9、浸油。

具体实施方式

[0082] 下面将结合本发明实施方式中的附图，对本发明实施方式中的技术方案进行清楚、完整地描述。

[0083] 从图1至16可知，本发明所述的单分子基因测序仪包括机座1，所述机座1上设有夹装平台2、试剂存放装置3、流体控制装置4和移动平台5；所述夹装平台2上设有基因测序芯片6；所述试剂存放装置3用于存放基因测序试剂；所述流体控制装置4用于将所述基因测序试剂从所述试剂存放装置3内抽送至所述基因测序芯片6；所述机座1上还设有全反射显微镜7，所述移动平台5设于所述全反射显微镜7下方，所述夹装平台2设于所述移动平台5上，所述移动平台5用于带动所述夹装平台2移向和移离所述全反射显微镜7下方；所述全反射显微镜7包括激光发射机构71、显微物镜72、滤光片组73、自动对焦装置74、导向机构75、探测相机76和计算机77；所述激光发射机构71用于将两种波长不同的激光射至所述滤光片组73；所述滤光片组73包括第一双带通滤光片731、第二双带通滤光片732和第一二向色镜733；所述第一双带通滤光片731用于将所述激光滤光后射至所述第一二向色镜733；所述第一二向色镜733用于将所述激光反射至所述显微物镜72；所述显微物镜72用于将所述激光以入射角大于临界角的状态聚焦在所述基因测序芯片6上，以此激发所述基因测序芯片6内的样品产生荧光；所述荧光依次穿过所述显微物镜72、第一二向色镜733和第二双带通滤光片732，所述第二双带通滤光片732用于将所述荧光滤光后射至所述导向机构75；所述导

向机构75用于将所述荧光转射至所述探测相机76,所述探测相机76用于对所述荧光进行图像信息采集、并将所述图像信息送至所述计算机77,以使所述计算机77能够根据所述图像信息测出所述基因测序芯片6内的样品的基因序列;所述自动对焦装置74用于发射红外光至所述导向机构75,所述导向机构75将所述红外光转射至所述第二双带通滤光片732,所述红外光依次穿过所述第二双带通滤光片732、第一二向色镜733和显微物镜72后射至所述基因测序芯片6、并按原路返回射至所述自动对焦装置74,以此使得所述自动对焦装置74能够对所述基因测序芯片6内的样品进行连续对焦。

[0084] 本发明采用的是单分子荧光测序技术,基于全内反射荧光显微成像技术,采用边合成边测序的测序原理,对DNA分子片段进行直接测序,没有建库流程,没有PCR,操作简单便捷,降低测序成本,是一种非常适用于临床应用的诊疗手段。

[0085] 更进一步的,如图2所示,所述第二双带通滤光片732与所述显微物镜72的镜面平行相对设置,所述第一二向色镜733以倾斜 45° 的方式设置于所述第二双带通滤光片732与所述显微物镜72之间;所述第一二向色镜733与所述显微物镜72相对的镜面还与所述第一双带通滤光片731相对,所述第一二向色镜733与所述第一双带通滤光片731相对面之间的夹角为 45° 。

[0086] 以图2为参考,此时所述显微物镜72置于上方水平布置;所述第一二向色镜733置于显微物镜72的下方,第一二向色镜733的上表面相对于显微物镜72为 45° 的倾斜布置;所述第二双带通滤光片732设于所述第一二向色镜733的下方,第二双带通滤光片732与显微物镜72相互平行,且第一二向色镜733的下表面相对于第二双带通滤光片732为 45° 的倾斜布置;所述第一双带通滤光片731设于第一二向色镜733左侧,第一双带通滤光片731与第一二向色镜733的上表面之间的夹角为 45° ,即第一双带通滤光片731与显微物镜72、第二双带通滤光片732为相互垂直的关系。通过这种设置方式,便能确保垂直穿过第一双带通滤光片731的激光能够垂直反射至显微物镜72上,以此保证显微物镜72能够将该激光以入射角大于临界角的状态聚焦在基因测序芯片6上,以此激发基因测序芯片6内的样品产生荧光。

[0087] 更进一步的,所述激光发射机构的第一种实施方式如图2所示,所述激光发射机构71包括第一激光发射器711、第二激光发射器712、第二二向色镜713和第一反射镜714;所述第一激光发射器711用于发射第一种波长的激光至所述第二二向色镜713,以使所述第一种波长的激光穿过所述第二二向色镜713射至所述第一双带通滤光片731;所述第二激光发射器712用于发射第二种波长的激光至所述第一反射镜714,所述第一反射镜714用于将所述第二种波长的激光反射至所述第二二向色镜713,以使所述第二二向色镜713将所述第二种波长的激光反射至所述第一双带通滤光片731。

[0088] 在实际生产中,可以将第一激光发射器711、第二激光发射器712发射的激光直接射至第二二向色镜713,然后由第二二向色镜713将两种激光转射至第一双带通滤光片731;但这种方案将使得第一激光发射器711、第二激光发射器712分别置于横、纵两个方向,从而导致整机布置不统一,占用空间;所以增设第一反射镜714后便能解决此问题,因为此时即使第一激光发射器711、第二激光发射器712以相同方式布置,通过第二二向色镜713和第一反射镜714的相互配合也能将两种激光射至第一双带通滤光片731。

[0089] 更进一步的,如图2所示,所述第一激光发射器711的发射端与所述第一双带通滤光片731正对布置,以使所述第一种波长的激光能够垂直射入所述第一双带通滤光片731;

所述第二二向色镜713以倾斜45°的方式设置于所述第一激光发射器711的发射端与所述第一双带通滤光片731之间,所述第一反射镜714的镜面与所述第二二向色镜713的镜面平行相对,且所述第一反射镜714的镜面相对于所述第二激光发射器712的发射端呈45°的倾斜布置。

[0090] 以图2为参考,此时第一激光发射器711置于左侧,第一双带通滤光片731置于第一激光发射器711的右侧;所述第二二向色镜713设于第一激光发射器711与第一双带通滤光片731之间,该第二二向色镜713的上表面相对于第一激光发射器711的发射端呈45°倾斜布置、下表面相对于第一双带通滤光片731呈45°倾斜布置;所述第一反射镜714设于第二二向色镜713下方,第一反射镜714与第二二向色镜713的下表面平行相对;所述第二激光发射器712设于第一激光发射器711的下方,即也置于第一反射镜714的左侧,该第一反射镜714的镜面相对于第二激光发射器712的发射端呈45°的倾斜布置。通过这种设置方式,第一激光发射器711发出的第一种波长的激光便能垂直穿过第一双带通滤光片731,而第二激光发射器712发出的第二中波长的激光经过两次反射后也能垂直穿过第一双带通滤光片731。

[0091] 更进一步的,所述激光发射机构的第二种实施方式如图3所示,所述激光发射机构71包括第一激光发射器711、第二激光发射器712和第二二向色镜713;所述第一激光发射器711用于发射第一种波长的激光至所述第二二向色镜713,以使所述第一种波长的激光穿过所述第二二向色镜713射至所述第一双带通滤光片731;所述第二激光发射器712用于发射第二种波长的激光至所述第二二向色镜713,以使所述第二二向色镜713将所述第二种波长的激光反射至所述第一双带通滤光片731。

[0092] 如上所述,此种实现方式会增加设备的占用空间,但是由于省去第一反射镜714,从而节省了成本,也属于实际生产中的一种可选方案。

[0093] 更进一步的,如图3所示,所述第一激光发射器711的发射端与所述第一双带通滤光片731正对布置,以使所述第一种波长的激光能够垂直射入所述第一双带通滤光片731;所述第二二向色镜713以倾斜45°的方式设置于所述第一激光发射器711的发射端与所述第一双带通滤光片731之间;所述第二二向色镜713与所述第一双带通滤光片731相对的一面还与所述第二激光发射器712的发射端呈45°的倾斜相对。

[0094] 以图3为参考,此时第一激光发射器711置于左侧,第一双带通滤光片731置于第一激光发射器711的右侧;所述第二二向色镜713设于第一激光发射器711与第一双带通滤光片731之间,该第二二向色镜713的上表面相对于第一激光发射器711的发射端呈45°倾斜布置、下表面相对于第一双带通滤光片731呈45°倾斜布置;所述第二激光发射器712设于第二二向色镜713的下方,第二激光发射器712的发射端与第二二向色镜713的下表面相对,该第二二向色镜713的下表面相对于第二激光发射器712的发射端呈45°的倾斜布置。通过这种设置方式,第一激光发射器711发出的第一种波长的激光便能垂直穿过第一双带通滤光片731,而第二激光发射器712发出的第二中波长的激光经过一次反射后便能垂直穿过第一双带通滤光片731。

[0095] 其中,两个方案中所述第一种波长的激光优选为527-537nm,其最佳值为532nm,而所述第二种波长的激光优选为635-645nm,其最佳值为640nm。当然,也可以是第一种波长的激光优选为635-645nm,第二种波长的激光优选为527-537nm,此时只需选择合适的第二二向色镜713,使第二二向色镜713依然保持第一种波长的激光可以穿透、而第二种波长的

激光只能反射的特性便可。

[0096] 更进一步的,所述导向机构的第一种实施方式如图2所示,所述导向机构75包括第三二向色镜751和第二反射镜752;所述第三二向色镜751用于将所述红外光反射至所述第二双带通滤光片732、以及将从所述基因测序芯片6反射回来的所述红外光反射至所述自动对焦装置74;所述荧光穿过所述第三二向色镜751射至所述第二反射镜752,所述第二反射镜752用于将所述荧光反射至所述探测相机76。

[0097] 在实际生产中,可以直接用探测相机76接收荧光;但这种方案将使得自动对焦装置74、探测相机76分别置于横、纵两个方向,从而导致整机布置不统一,占用空间;所以增设第二反射镜752后便能解决此问题,因为此时即使自动对焦装置74、探测相机76以相同方式布置,通过第三二向色镜751和第二反射镜752的相互配合也能实现红外光射至自动对焦装置74、荧光射至探测相机76。

[0098] 更进一步的,如图2所示,所述第三二向色镜751的一面与所述第二双带通滤光片732、自动对焦装置74相对,所述第三二向色镜751相对于所述第二双带通滤光片732、自动对焦装置74的收发端呈 45° 倾斜布置;所述第二反射镜752与所述第三二向色镜751的另一面平行相对布置,所述第二反射镜752相对于所述探测相机76的采集端呈 45° 倾斜布置。

[0099] 以图2为参考,此时所述第三二向色镜751设于第二双带通滤光片732的下方,第三二向色镜751的上表面同时与第二双带通滤光片732、自动对焦装置74的收发端相对,且第三二向色镜751的上表面相对于第二双带通滤光片732、自动对焦装置74的收发端均呈 45° 的倾斜布置;所述第二反射镜752设于第三二向色镜751的下方,第二反射镜752的上表面与第三二向色镜751的下表面平行相对;所述探测相机76设于第二反射镜752的右侧,所述第二反射镜752的上表面相对于所述探测相机76的采集端呈 45° 倾斜布置。其中,从图2可知,在所述第二反射镜752和所述探测相机76之间还可以增设筒镜78,该筒镜78用于进行光线汇聚,以此使得基因测序芯片6中的DNA图像成像到探测相机76上。

[0100] 更进一步的,所述导向机构的第二种实施方式如图4所示,所述导向机构75包括第三二向色镜751;所述第三二向色镜751用于将所述红外光反射至所述第二双带通滤光片732、以及将从所述基因测序芯片6反射回来的所述红外光反射至所述自动对焦装置74;所述荧光穿过所述第三二向色镜751射至所述探测相机76。

[0101] 如上所述,此种实现方式会增加设备的占用空间,但是由于省去第二反射镜752,从而节省了成本,也属于实际生产中的一种可选方案。

[0102] 更进一步的,如图4所示,所述第三二向色镜751的一面与所述第二双带通滤光片732、自动对焦装置74相对、另一面与所述探测相机76相对,所述第三二向色镜751相对于所述第二双带通滤光片732、自动对焦装置74的收发端、探测相机76的采集端呈 45° 倾斜布置。

[0103] 以图4为参考,此时所述第三二向色镜751设于第二双带通滤光片732的下方,第三二向色镜751的上表面同时与第二双带通滤光片732、自动对焦装置74的收发端相对,且第三二向色镜751的上表面相对于第二双带通滤光片732、自动对焦装置74的收发端均呈 45° 的倾斜布置;所述探测相机76设于第三二向色镜751的下方,探测相机76的采集端与第三二向色镜751的下表面相对,第三二向色镜751的下表面相对于探测相机76的采集端成 45° 的倾斜布置。其中,从图4可知,在所述第三二向色镜751和所述探测相机76之间还可以增设筒镜78,该筒镜78用于进行光线汇聚,以此使得基因测序芯片6中的DNA图像成像到探测相机

76上。

[0104] 需要指出,二向色镜又称双色镜,常用于激光技术中,其特点是对一定波长的光几乎完全透过,而对另一些波长的光几乎完全反射,其能反射什么光、通过什么光只要根据需要进行制作选择便可。如所述第一二向色镜733能让荧光和红外光透过,但却能让激光完全反射。另外,双带通滤光片为滤光片的一种,其能分离出某两种波段单色光;如所述第一双带通滤光片731能够仅对激光发射机构71射出的两种激光进行滤光。

[0105] 如图5所示,在进行采样的时候可以在基因测序芯片6与显微物镜72之间添加浸油9,这是因为本发明发生全内反射的面位于基因测序芯片6和DNA水环境的分界面。要发生全反射必须满足两个条件:(1)从光密介质到光疏介质;(2)入射角 α 大于临界角。加入浸油9可以有效增大显微物镜72的数值孔径NA($NA=n*\sin\theta$),进而离轴出射的激发光将以更大的角度出射,在基因测序芯片6和DNA水环境的分界面满足大于临界角的要求。

[0106] 另外,由光学反射率的定义 $R = \frac{(n_1 - n_2)^2}{(n_1 + n_2)^2}$,其中, n_1 和 n_2 为分界面两侧介质的光学折射率。可知,在存在折射率差别的分界面也会存在一定的光学反射,这些光学反射即衰减了入射光的能量,同时也是反射回来的光被探测相机76到形成背景噪声信号。在显微物镜72和基因测序芯片6间添加浸油9会减少一次光学反射,从而可以一定程度的减少背景噪声。

[0107] 更进一步的,如图6至11所示,所述夹装平台2包括平台底座21、温控芯片22和用于对所述基因测序芯片6进行定位固定的夹装框23;所述平台底座21的上表面设有用于安装所述基因测序芯片6的安装区211,所述温控芯片22安装在所述安装区211内,所述基因测序芯片6安装在所述温控芯片22上方;所述夹装框23与所述平台底座21转轴联接,以使所述夹装框23能够翻向和翻离所述平台底座21。

[0108] 当夹装框23翻离平台底座21时,便可以将基因测序芯片6安装在安装区211内,或者将基因测序芯片6从安装区211内拆除;当基因测序芯片6安装在安装区211后,便可将夹装框23翻向平台底座21,以此对基因测序芯片6进行夹稳固定;而且本技术方案使用温控芯片22控制基因测序芯片6内的反应温度,其温度控制准确、调节方便,这是现有技术采用电热丝加热所无法实现的。

[0109] 更进一步的,如图6所示,所述安装区211的两侧均设有试剂导流孔212,所述试剂导流孔212的下端口与所述流体控制装置4接通、上端口与所述基因测序芯片6接通。

[0110] 更进一步的,如图6所示,所述平台底座21在所述安装区211的两侧各设有一个转轴台213;所述夹装框23包括两条夹装边231和一条定位边232,所述两条夹装边231的一端分别与所述定位边232的两端垂直相连接,所述两条夹装边231的另一端分别与所述转轴台213转轴联接,以使所述夹装框23翻向所述平台底座21时,所述夹装框23能围绕在所述安装区211的周边。

[0111] 更进一步的,如图6所示,所述定位边232上设有锁扣233,所述平台底座21在与所述锁扣233位置对应处设有锁台214,所述锁台214上设有解锁按钮215;所述锁扣233用于插入所述锁台214内,以此实现夹装框23与平台底座21之间的锁合定位;所述解锁按钮215用于解除所述锁台214对所述夹装框23的固定。

[0112] 更进一步的,如图6和9所示,所述夹装边231能够朝向所述平台底座21的表面设有凸台234,所述基因测序芯片6的两侧均设有定位孔61,所述凸台234用于对嵌入所述定位孔

61内对所述基因测序芯片6定位。

[0113] 更进一步的,如图6和7所示,所述夹装边231与所述转轴台213联接处设有扭簧24,所述扭簧24的一端与所述夹装边231抵接、另一端与所述转轴台213抵接,以此使得所述夹装框23保持在翻开状态。

[0114] 如图6所示,在正常状态下,由于扭簧24对夹装边231持续施力,所以夹装框23将保持在翻开状态,此时若将夹装框23翻向平台底座21,则锁扣233将嵌入锁台214内,从而使得夹装框23能围绕在安装区211的周边,并以此状态保持固定,具体如图8所示;而当按下解锁按钮215后,锁台214对锁扣233解除锁定,从而扭簧24再次将夹装框23推离平台底座21,此时便可将基因测序芯片6安装在安装区211内,安装后的状态如图9所示;最后,只要将夹装框23翻向平台底座21,使锁扣233将嵌入锁台214内便可对基因测序芯片6进行固定,其中,所述的凸台234将嵌入所述定位孔61内,以此进一步加强基因测序芯片的固定,具体可见图10和图11,此时基因测序芯片6、温控芯片22、平台底座21和移动平台5将依次由上往下布置。

[0115] 另外,如图12所示,所述基因测序芯片6上设有第一基因测序通道62和第二基因测序通道63,当基因测序芯片6安装在安装区211后,所述第一基因测序通道62和第二基因测序通道63接与试剂导流孔相接通。

[0116] 更进一步的,如图13和图14所示,所述移动平台5能够带动所述夹装平台2移向和移离显微物镜72,特别地,在夹装平台2移向显微物镜72后,由于有夹装框23的阻挡,显微物镜72始终保持在基因测序芯片6的上方,保证了显微物镜72始终对准基因测序芯片。

[0117] 更进一步的,如图1所示,所述机座1底部设有多个第一减震脚垫81。

[0118] 更进一步的,如图1所示,所述机座1上还设有支架11,所述全反射显微镜7和所述移动平台5安装在所述支架11上,所述支架11底部设有多个第二减震脚垫82,所述第二减震脚垫支撑在所述机座上。

[0119] 单分子荧光检测系统对外界的震动非常敏感,为避免外界震动导致光学图像的抖动,仪器设计了两级减震结构。即第一减震脚垫81现外界和仪器整体的震动隔绝,第二减震脚垫82实现仪器内部震动和全反射显微镜之间的震动隔绝,同时消除一级减震的残余震动。

[0120] 更进一步的,如图15所示,所述试剂存放装置3包括冷藏储存室31,所述冷藏储存室31内设有冷藏试剂瓶32和电动升降机构33,所述电动升降机构33设于所述冷藏试剂瓶32的上方,所述电动升降机构33上设有与所述流体控制装置4接通的第一穿刺针34,所述电动升降机构33用于带动所述第一穿刺针34插入和离开所述冷藏试剂瓶32。

[0121] 更进一步的,如图15所示,所述试剂存放装置3还包括常温储存室35,所述常温储存室35内设有常温试剂瓶36和手动升降机构37,所述手动升降机构37设于所述常温试剂瓶36的上方,所述手动升降机构37上设有第二穿刺针38,所述手动升降机构37用于带动所述第二穿刺针38插入和离开所述常温试剂瓶36。

[0122] 显然,对于需要冷藏的试剂,流体控制装置4能够通过第一穿刺针34直接进行抽取,而对于常温保存的试剂,使用者可以通过手动升降机构37和第二穿刺针38进行拿取,提高了设备使用的灵活性。

[0123] 更进一步的,如图12和图16所示,所述流体控制装置4包括多通阀41、第一三通阀

42和驱动组件43,所述多通阀41包括多个试剂抽取口411以及一个出液口412,所述试剂抽取口411与所述第一穿刺针34接通,所述出液口412能够选择与任意一个试剂抽取口411相接通,所述第一三通阀42包括吸液口421、第一分流口422和第二分流口423,所述吸液口421接通所述第一分流口422或所述第二分流口423,所述吸液口421管道连接所述出液口412,所述基因测序芯片6包括第一基因测序通道62和第二基因测序通道63,所述第一基因测序通道62和所述第二基因测序通道63分别管道连接所述第一分流口422和所述第二分流口423,所述驱动组件43包括第一注射泵431和第二注射泵432,所述第一注射泵431和所述第二注射泵432分别管道连接所述第一基因测序通道62和所述第二基因测序通道63。

[0124] 其中,在所述第一注射泵431向所述第一基因测序通道62提供负压,以使所述第一基因测序通道62获取所述基因测序试剂进行基因测序反应时,所述第二注射泵432停止向所述第二基因测序通道63提供负压,以使所述第二基因测序通道63进行荧光图像采集。

[0125] 更进一步的,如图12和16所示,所述驱动组件43还包括第二三通阀433、第三三通阀434、第一废液瓶435和第二废液瓶436,所述第二三通阀433管道连接于所述第一注射泵431和所述第一基因测序通道62之间,同时还管道连接所述第一废液瓶435,所述第三三通阀434管道连接于所述第二注射泵432和所述第二基因测序通道63之间,同时还管道连接所述第二废液瓶436。

[0126] 从上述方案可知,所述基因测序芯片6内设置所述第一基因测序通道62和所述第二基因测序通道63,从而使得所述基因测序试剂可以自动流入所述第一基因测序通道62和所述第二基因测序通道63内进行反应和荧光图像采集,而且在所述第一基因测序通道62进行荧光测序反应时,所述第二基因测序通道63可以进行荧光图像采集,从而有效减少了基因测序时间,即有效提高了基因测序效率,使得所述基因测序的流体控制装置4减少了基因测序成本,提高基因测序效率。

[0127] 本发明的测序反应和图像采集都是在37度环境中进行,即两者所需的温度相同。而二代测序技术的测序反应和图像采集均需要在不同温度下进行,即测序反应和图像采集不能同时进行,大大降低了工作效率。而在本方案中,可以在同一个温度控制平台上的同一个基因测序芯片6上同时进行不同单元间的测序反应和图像采集。实现了单相机、单测序芯片、多通道的并行处理,效率可以提高一倍。

[0128] 本发明的工作过程大致如下:

[0129] 1、将样品置于基因测序芯片6内,以此制作基因测序芯片6;

[0130] 2、将基因测序芯片6安装于夹装平台2上,并使得基因测序芯片6与流体控制装置4接通;

[0131] 3、流体控制装置将基因测序试剂送至第一基因测序通道62内,此时温控芯片22控制样品在指定的温度下进行反应;

[0132] 4、待第一基因测序通道62内的反应完毕后,移动平台5将基因测序芯片6移向所述全反射显微镜7下进行图像信息采集;与此同时,流体控制装置4将基因测序试剂送至第二基因测序通道63内,此时温控芯片22控制样品在指定的温度下进行反应。

[0133] 通过上述方式便能尽可能提高基因测序的效率,为临床诊断应用提供了巨大的帮助。

[0134] 以上所述是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员

来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也视为本发明的保护范围。

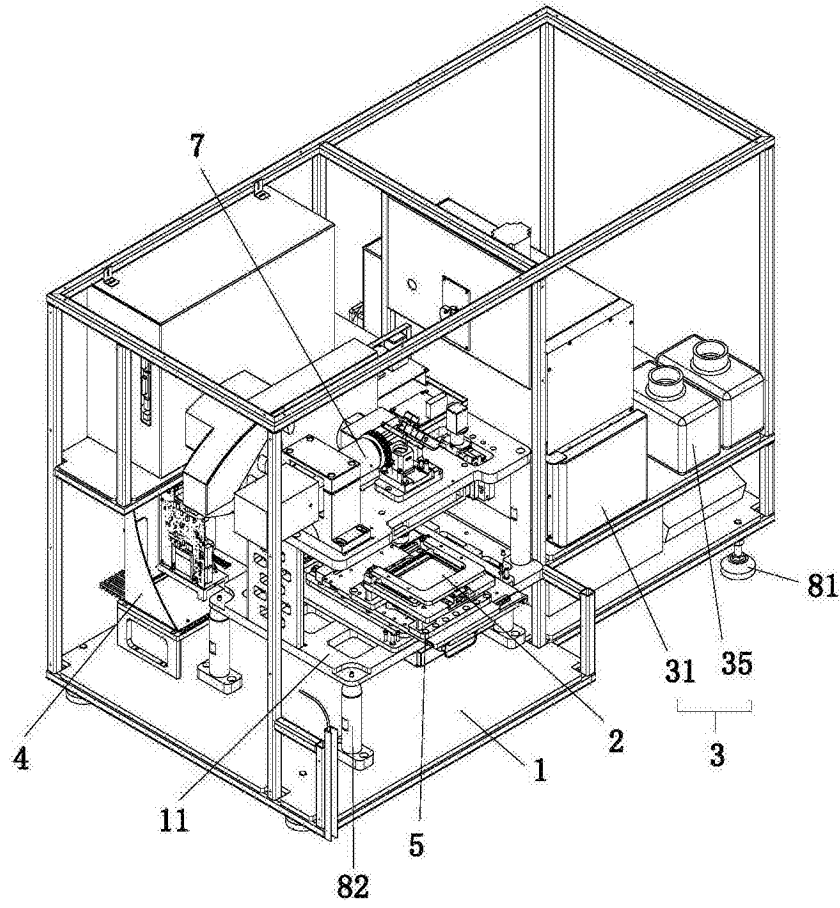


图1

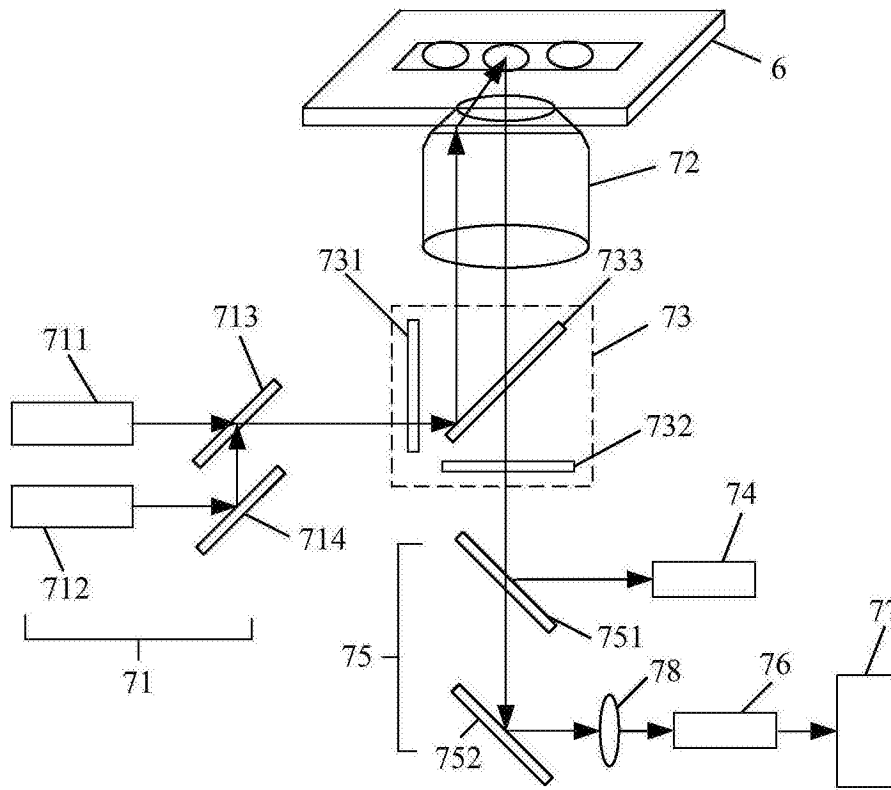


图2

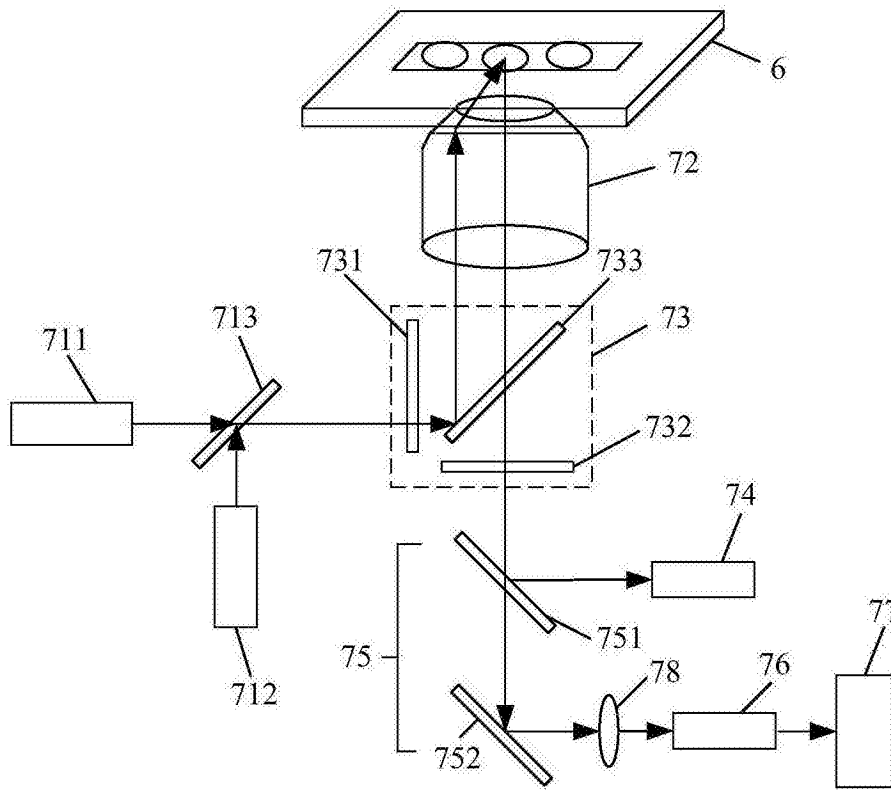


图3

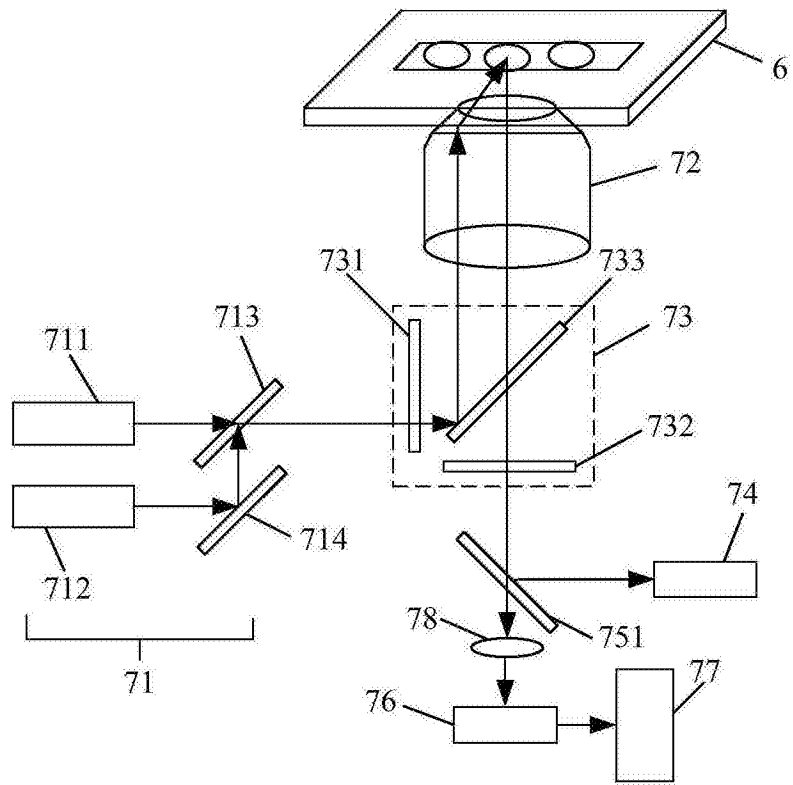


图4

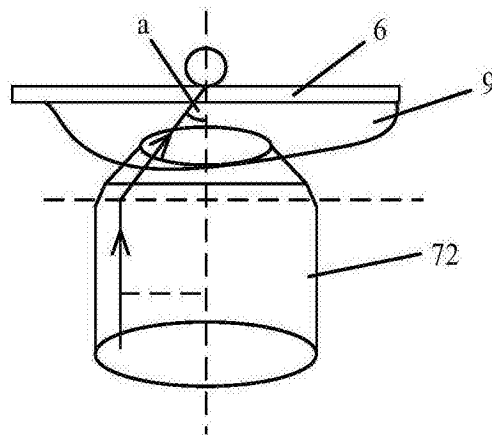


图5

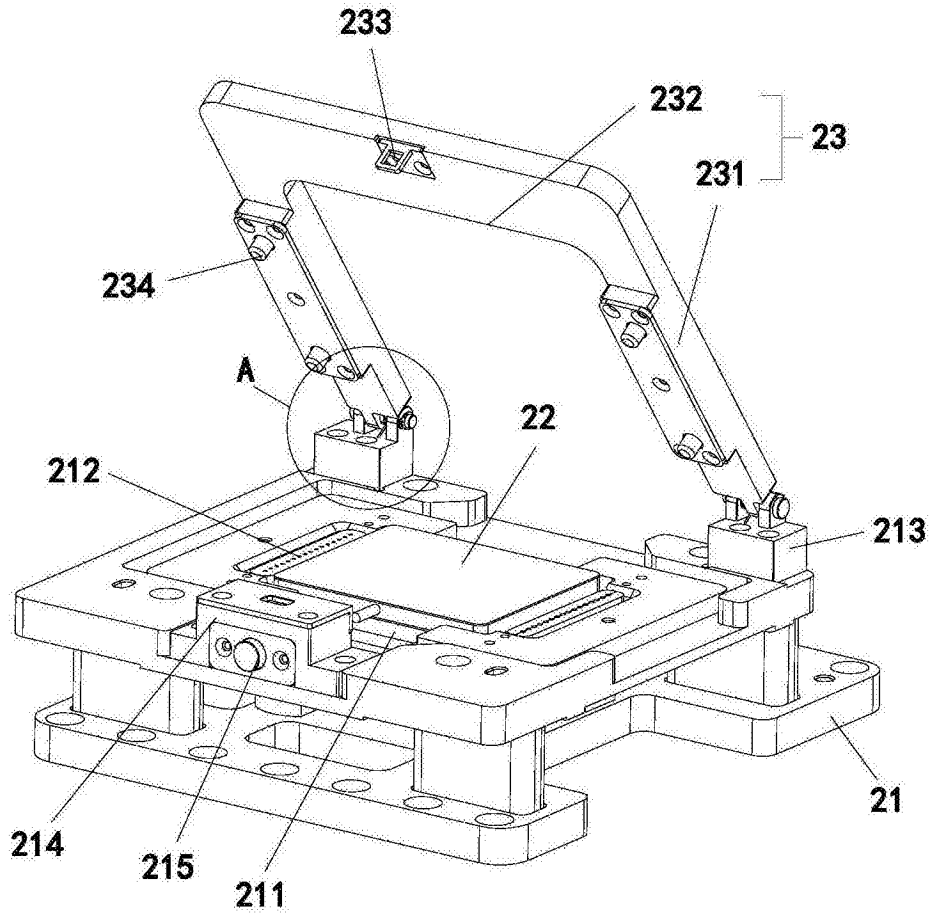


图6

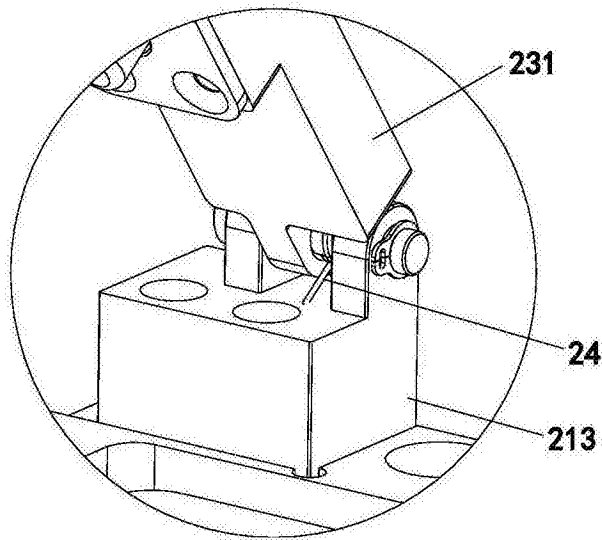


图7

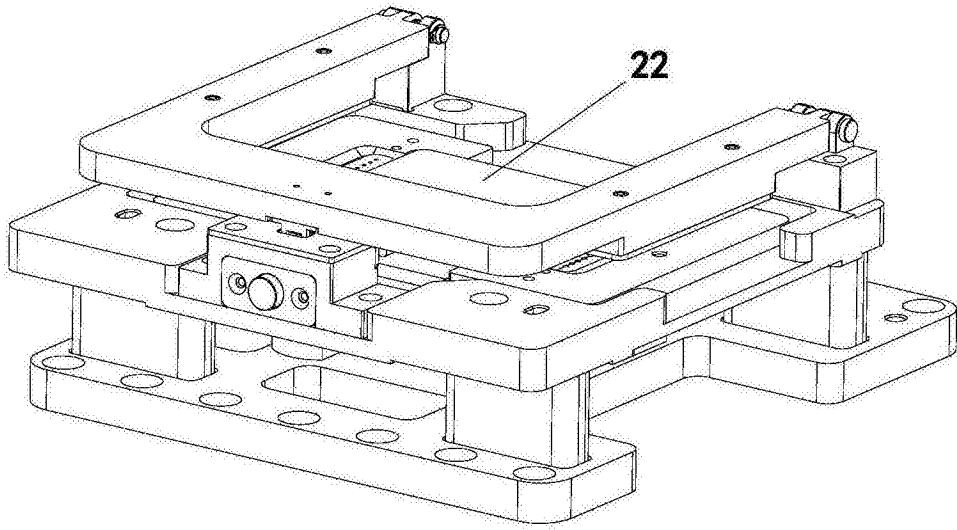


图8

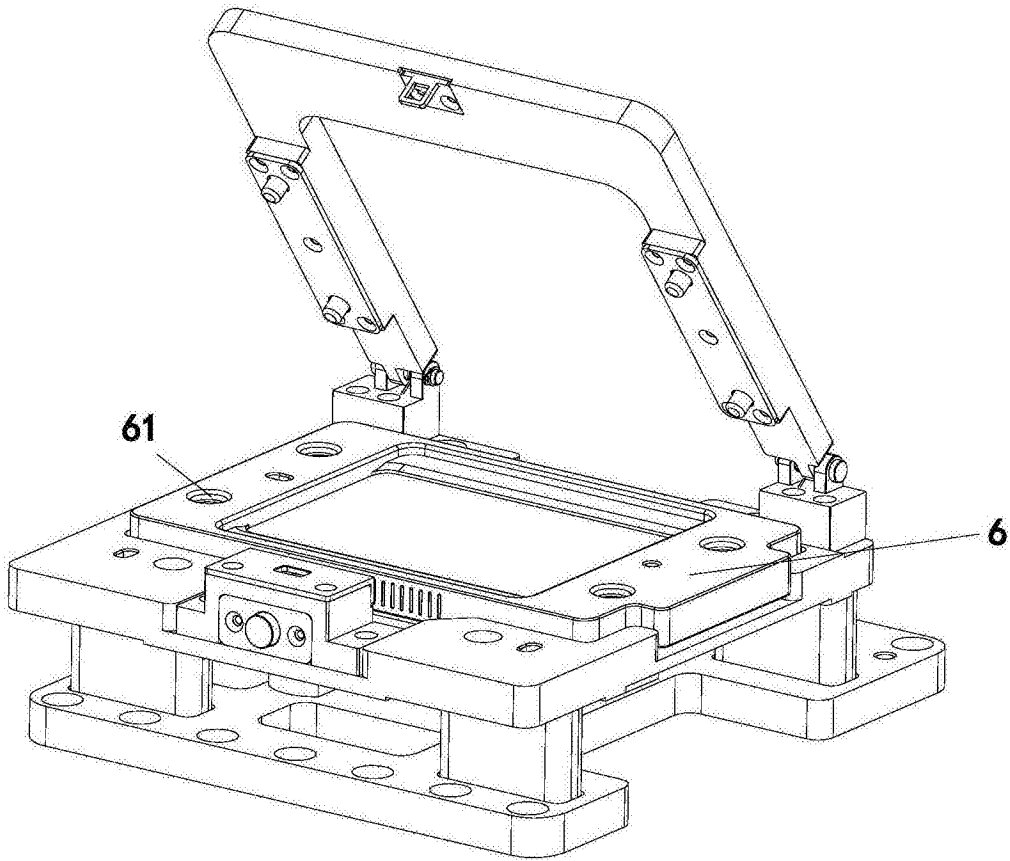


图9

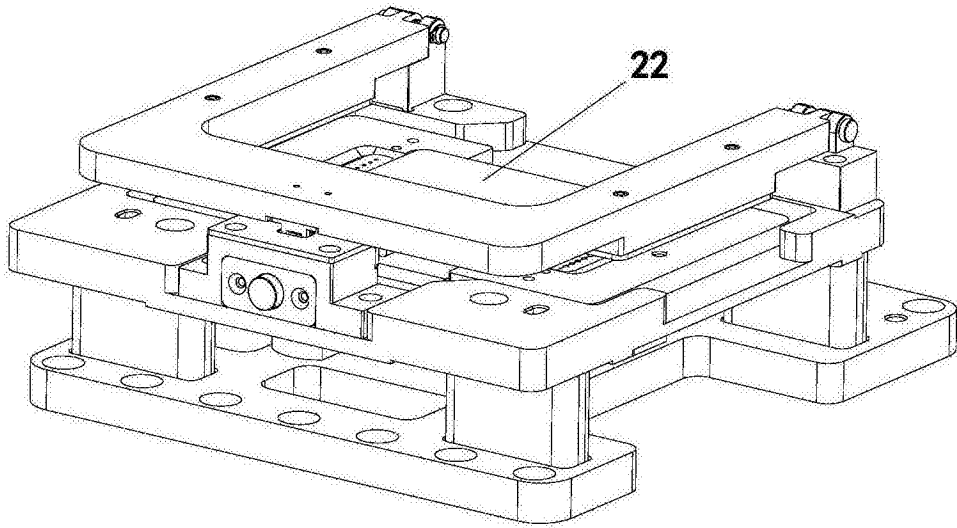


图10

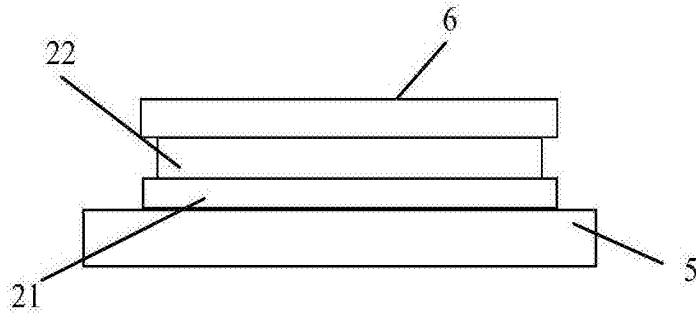


图11

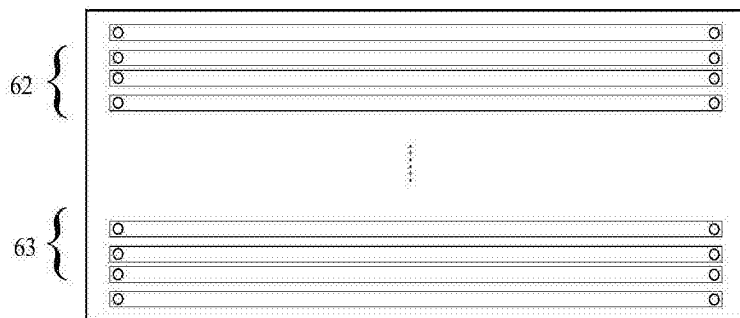


图12

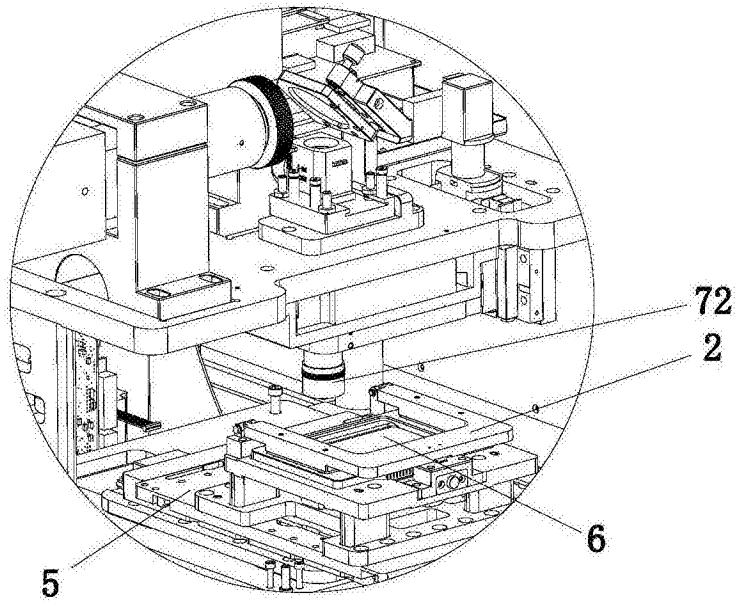


图13

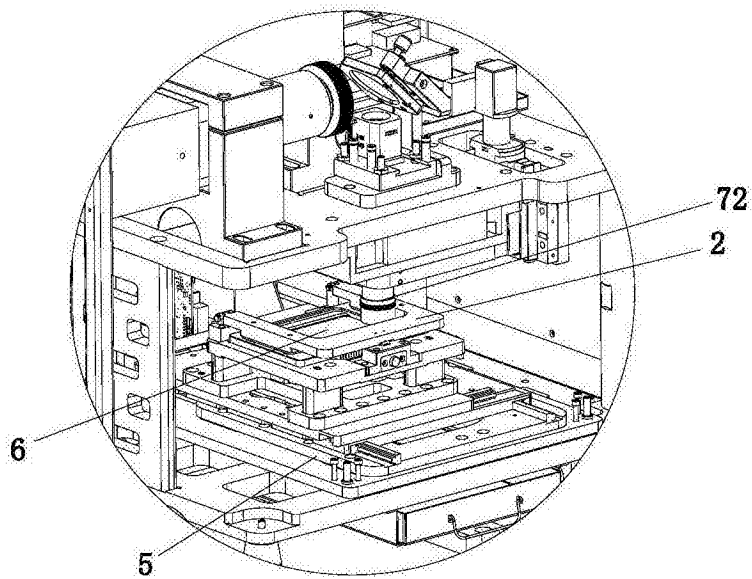


图14

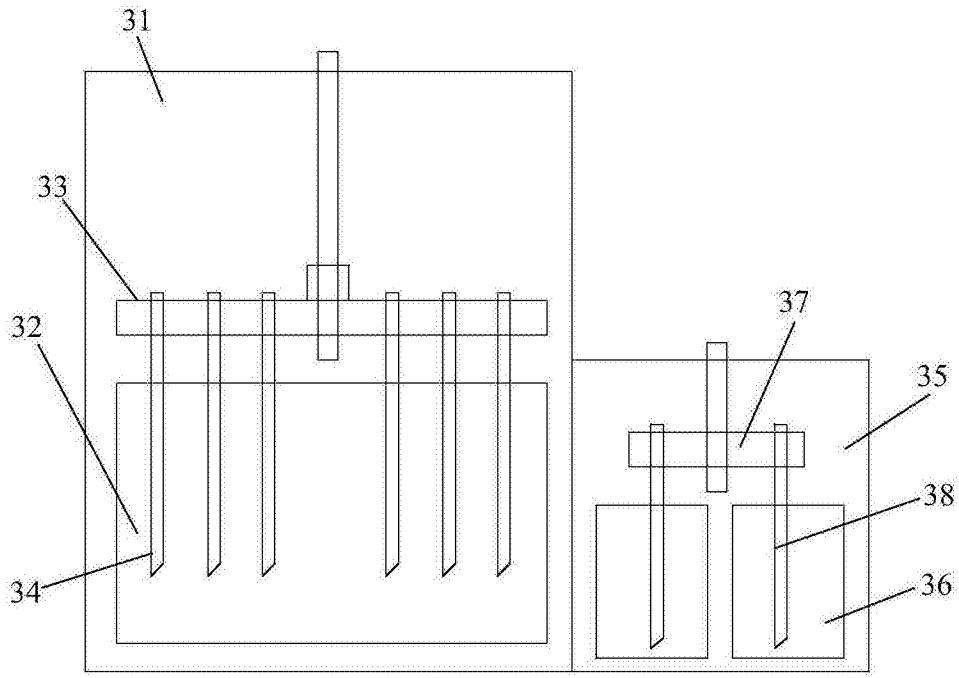


图15

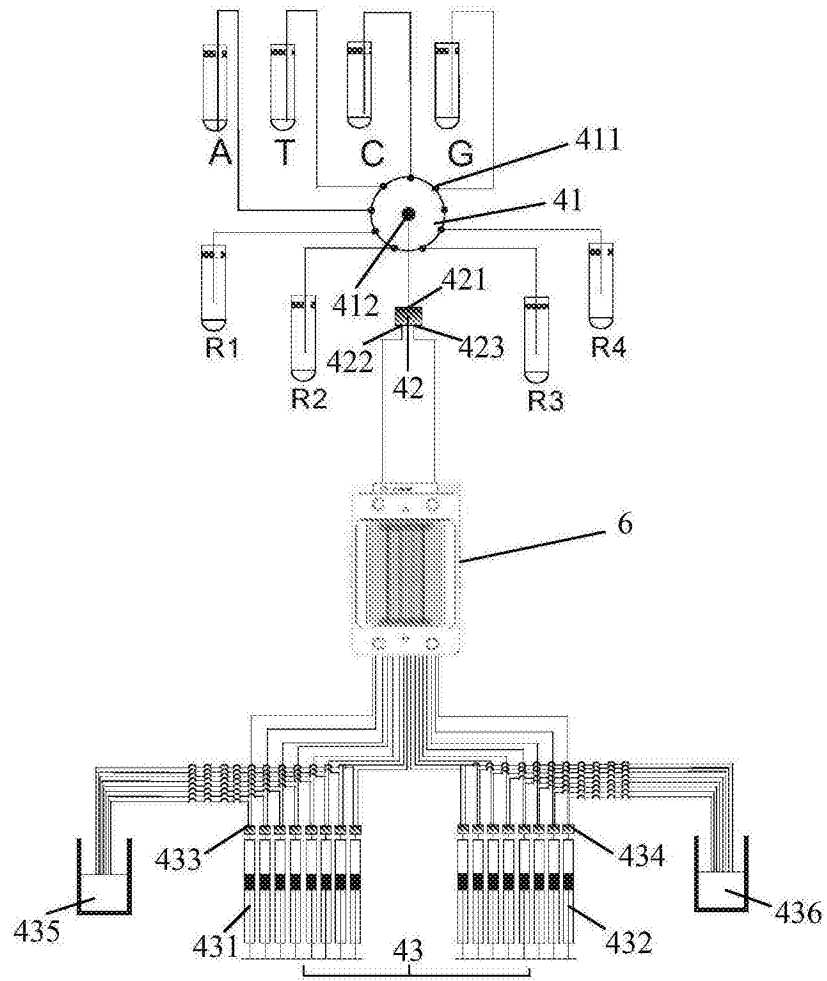


图16