



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104749142 A

(43) 申请公布日 2015.07.01

(21) 申请号 201310739789.8

(22) 申请日 2013.12.30

(71) 申请人 中国科学院生物物理研究所  
地址 100101 北京市朝阳区大屯路 15 号

(72) 发明人 张翔 徐涛 贾策 仓怀兴  
罗志勇 纪伟 付彦辉 孟涛

(51) Int. Cl.

G01N 21/64(2006.01)

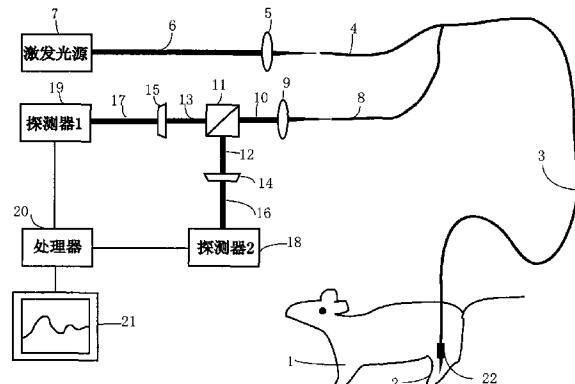
权利要求书1页 说明书3页 附图2页

(54) 发明名称

一种用于 II 型糖尿病药物筛选的装置

(57) 摘要

本发明基于荧光探针构建和转基因技术，提出了一种用于 II 型糖尿病药物筛选的装置，本发明利用光学检测手段，将药理研究从细胞水平提升到整体动物水平，并且能够对药物作用进行实时监测和分析。其包括：单色光源，连接输入光纤的一端，将单色光源的发射光引至探测点，激发探测点产生荧光；输出光纤，接收探测点的荧光；与输出光纤连接的二色分光器，由二色分光器将接收到的荧光分成红色荧光和绿色荧光；红色荧光探测器，安置在红色荧光的光路上；绿色荧光探测器，安置在绿色荧光的光路上；处理器，连接红色荧光探测器和绿色荧光探测器，接收并处理红色荧光探测器和绿色荧光探测器的信号。本发明涉及大体相同、但荧光分离光路不同的两种形式的装置。



1. 一种用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其包括:

一单色光源,连接输入光纤的一端,将单色光源的发射光引至探测点,激发探测点产生荧光;

输出光纤,接收探测点的荧光;

输出光纤连接一二色分光器,由二色分光器将接收到的荧光分成红色荧光和绿色荧光;

一红色荧光探测器,安置在红色荧光的光路上;

一绿色荧光探测器,安置在绿色荧光的光路上;

一处理器,连接红色荧光探测器和绿色荧光探测器,接收并处理红色荧光探测器和绿色荧光探测器的信号。

2. 如权利要求 1 所述的用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其中,二色分光器为二色分光棱镜或二色分光片。

3. 如权利要求 1 所述的用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其中,单色光源为氩离子激光器或蓝光固态激光器。

4. 如权利要求 1 所述的用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其中,红色荧光探测器和绿色荧光探测器为光电倍增管、雪崩光电二极管或电荷耦合器件等信号检测模块。

5. 如权利要求 1 所述的用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其中,输出光纤与二色分光器之间连接有聚光透镜。

6. 如权利要求 5 所述的用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其中,二色分光器与聚光透镜之间安装有带阻滤光片。

7. 如权利要求 1 所述的用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其中,二色分光器与红色荧光探测器之间、二色分光器与绿色荧光探测器之间各安装有窄带滤波片。

8. 如权利要求 1 所述的用于 II 型糖尿病药物筛选的装置,其中,处理器为计算机。

## 一种用于 II 型糖尿病药物筛选的装置

### 技术领域：

[0001] 本发明涉及一种用于药物筛选的装置, 具体地涉及一种用于 II 型糖尿病药物筛选的装置。

### 背景技术：

[0002] 随着分子生物学与基因工程学的发展, 人们逐渐从分子机制去研究疾病的产生机理, 以期望能够找到有效治疗疾病的药物和方法。糖尿病是一种与血糖代谢相关的疾病, 而生物体的肌肉组织是血糖代谢的主要部位之一, 肌细胞对葡萄糖的吸收利用是血糖调控的重要途径, 因此对肌细胞内与葡萄糖转运相关蛋白活动的监测, 就能够反映出生物体对血糖的调控作用。糖尿病分为 I 型糖尿病和 II 型糖尿病, 其中 I 型糖尿病是由于生物体胰岛素分泌缺乏, 通过注射胰岛素治疗可以维持生命。II 型糖尿病是由于体内周围组织对胰岛素不敏感(即胰岛素抵抗), 因此通过注射胰岛素的方法并不能很好地治疗 II 型糖尿病, 于是就迫切需要一种能够提高生物体对胰岛素响应的药物。

### 发明内容：

[0003] 本发明的目的在于提供一种可用于 II 型糖尿病药物筛选的装置。

[0004] 为实现上述目的, 用于 II 型糖尿病药物筛选的装置, 其主要包括:

[0005] 一单色光源, 连接一输入光纤的一端, 将单色光源的发射光引至探测点, 激发探测点产生荧光;

[0006] 至少一输出光纤, 接收探测点的荧光;

[0007] 二色分光器, 连接输出光纤连接, 由二色分光器将接收到的荧光分成红色荧光和绿色荧光;

[0008] 一红色荧光探测器, 安置在红色荧光的光路上;

[0009] 一绿色荧光探测器, 安置在绿色荧光的光路上;

[0010] 一处理器, 连接红色荧光探测器和绿色荧光探测器, 接收并处理红色荧光探测器和绿色荧光探测器的信号。

[0011] 本发明基于荧光探针构建和转基因技术, 提出了一种在体动物 II 型糖尿病药物筛选的装置, 该装置利用光学检测手段, 将药理研究从细胞水平提升到整体动物水平, 并且能够对药物作用进行实时监测和分析。

### 附图说明：

[0012] 图 1 是本发明的装置之一的示意图;

[0013] 图 2 是本发明的装置之二的示意图;

[0014] 图 3 是本发明的输出光纤探头的示意图;

[0015] 图 4 是本发明的信号处理流程图。

**具体实施方式：**

[0016] 以下结合附图实施例对本发明做进一步详细描述。

[0017] 如图 1 和图 2 所示,在使用本发明的装置前,需要先将带有双波长荧光标记的分子探针 (TDimer2\_IRAP131\_PHI, 由中国科学院生物物理研究所提供) 转基因到 II 型糖尿病小鼠 (KKA-y II 型糖尿病鼠, 由中国医学科学院提供), 可通过电击、病毒侵染、基因枪轰击等手段将分子探针转染到小鼠肌肉内, 也可以直接利用转基因鼠进行实验。数天后, 待荧光蛋白充分表达, 便可将小鼠用于进行后续工作。把针形光纤探头插入小鼠 1 腿部肌肉 2 中待监测的部位并用胶带固定, 针形套管中插入了光纤束 22, 其中一根或若干根光纤用作输入, 其余光纤用作输出。单色光源或激光器产生的激发光 (波长为  $488\text{nm} \pm 30\text{nm}$ ) 通过光纤导入肌肉组织, 由于肌细胞中大量表达了荧光蛋白, 在激发光的照射下发出绿色荧光 ( $514\text{nm} \pm 30\text{nm}$ ) 和红色荧光 ( $586\text{nm} \pm 30\text{nm}$ ), 其中绿色荧光在葡萄糖转运体上膜时强度会增加, 红色荧光的强度则不会有太大的变化, 产生的荧光通过光纤导回。然后用一个二色分光片或二色分光棱镜将返回的荧光分成两束, 两束荧光再分别经过  $514\text{nm} \pm 30\text{nm}$  和  $586\text{nm} \pm 30\text{nm}$  的窄带滤波片将红色荧光和绿色荧光分离出来。也可以先用一个  $488 \pm 30\text{nm}$  的带阻滤波片将残余激发光滤出, 再用一个二色分光器将红色荧光和绿色荧光分离出来。然后用光电倍增管 (PMT) 或雪崩光电二极管 (APD) 或电荷藕合器件 (CCD) 等检测模块分别检测两路荧光信号并输出电信号, 输出信号反映了荧光强度的大小。通过数据采集卡采集信号并交给计算机 (PC) 处理, 计算机将两个值作比值运算并归一化, 得到的值反映了肌细胞对药物响应的大小。编写软件将该值绘制成为与时间相关的曲线, 并实时显示在显示器上, 就可以对药物作用进行实时分析, 从而对药物进行筛选。在激发光路和荧光光路中, 可根据需要加入透镜, 以实现光路耦合。

[0018] 如图 1 和图 2 所示, 为本发明装置的两种形式, 它们大体上相同, 只是在荧光分离光路上不同。图 1 采用的是用二色分光棱镜或二色分光片 11 将荧光等分成两路, 然后再用  $514\text{nm} \pm 30\text{nm}$  和  $586\text{nm} \pm 30\text{nm}$  的窄带滤波片 15、14 将红色荧光和绿色荧光分离出来。图 2 则先经过  $488 \pm 30\text{nm}$  的带阻滤波片 31 将残余激发光滤出, 再用一个二色分光器 33 将红色荧光和绿色荧光分离出来。图 3 为输出光纤探头的局部放大图。图 3 中, 不锈钢针形套管 26 用于插入肌肉组织, 并起到保护光纤的作用。在针形套管 26 内固定有若干光纤 25a-25e, 该光纤的数量根据针形套管内径而定, 以大致填满套管为宜。激发光源 7 可以为  $10\text{mW}-100\text{mW}$  的氩离子激光器或蓝光固态激光器, 也可以用普通单色光源。输出  $488\text{nm}$  的单色光束 6 经过透镜 5 耦合入光纤端 4, 如果用激光器做光源, 且输出光束的光斑直径与光纤端直径相当, 可以直接耦合入光纤。激发光经光纤 3 从另一端输出。见图 3 激发光 23, 激发光 23 通过输入光纤 25a (也可以是几根输入光纤) 导入, 以一定的发散角 (与光纤数值孔径相关, 此为公知技术) 照射附近区域肌细胞, 由于肌细胞中大量表达了荧光蛋白, 因此会发射出荧光, 荧光 24 通过输出光纤 25b-25e 收集, 并沿光纤 3 从另一端 8 导出。在图 1 中, 输出荧光经透镜 9 准直后由二色分光棱镜或二色分光片 11 等分成两束荧光 13 和 12, 两束荧光 13 和 12 均为荧光 10 的一半。荧光 13 经过  $586\text{nm} \pm 30\text{nm}$  的窄带滤波片 15 而得到红色荧光 17, 并由探测器 19 进行检测。另一路荧光 12 经过  $514\text{nm} \pm 30\text{nm}$  的窄带滤波片 14 而得到绿色荧光 16, 并由探测器 18 进行检测, 探测器 18、19 可以为光电倍增管 (PMT) 或雪崩光电二极管 (APD) 或电荷藕合器件 (CCD), 且包含相应的供电电路、偏置电路、前置放大电路和放大

电路。探测器 18、19 的输出信号均输入给处理器 20，处理器 20 为计算机 (PC)，其中装入了至少两个模拟信号输入通道的数据采集卡。也可以使用现成的集成了光电倍增管 (PMT) 或雪崩光电二极管 (APD) 或电荷耦合器件 (CCD) 的探测器和专门的数据采集卡。数据采集卡将两通道的值（一般为数字信号）交给计算机，计算机将两个值作比值运算并归一化，后将该值绘制成与时间相关的曲线实时显示在显示器 21 上。在图 2 中，输出荧光经透镜 9 准直后经过一个  $488 \pm 30\text{nm}$  的带阻滤波片 31 将残余激发光滤出，剩余荧光 32 再经二色分光器 33 从而分离出红色荧光 35 和绿色荧光 34。红色荧光 35 和绿色荧光 34 分别由探测器 19、18 检测，探测器 19、18 的输出信号均输入给处理器 20，处理器 20 为计算机 (PC)，计算机信号处理流程如图 4 所示，计算机将两个值作比值运算并归一化，后将该值绘制成与时间相关的曲线实时显示在显示器 21 上，这样便可根据曲线的变化来监测药物作用的效果。

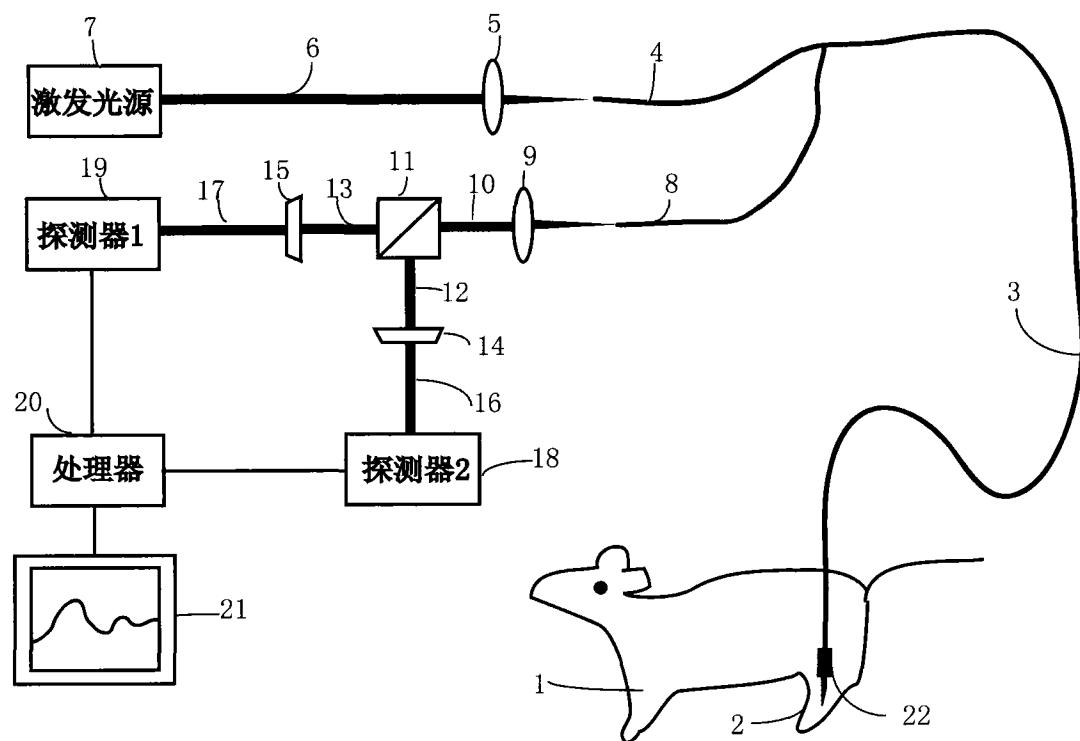


图 1

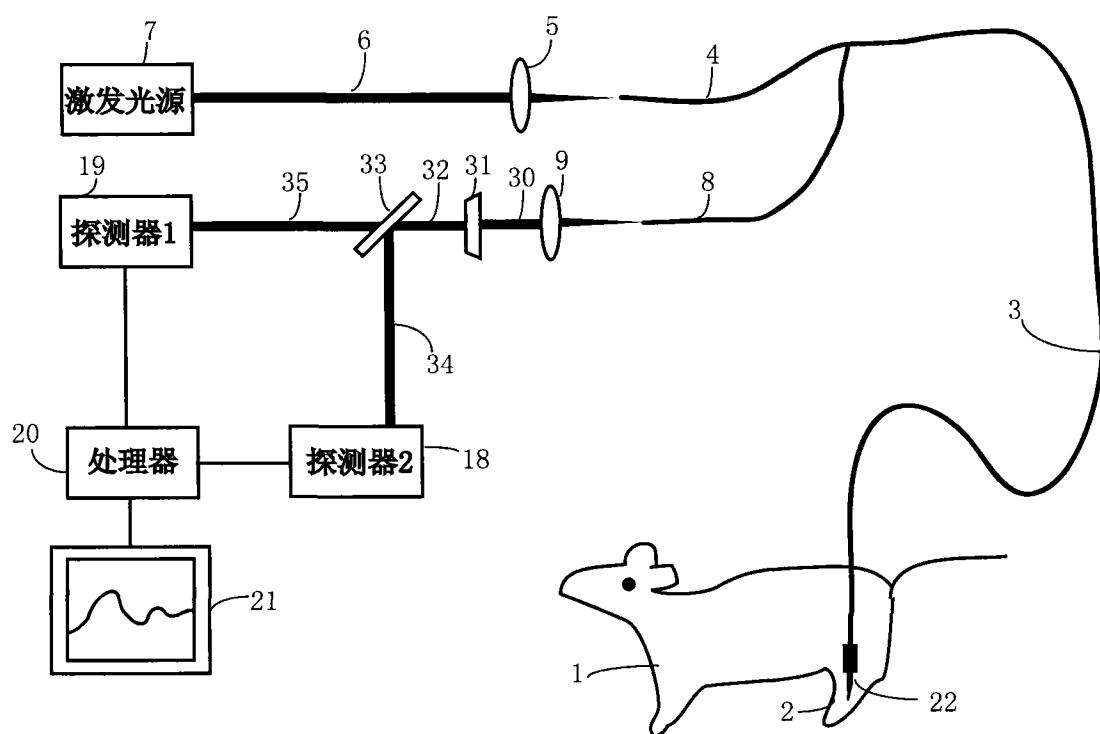


图 2

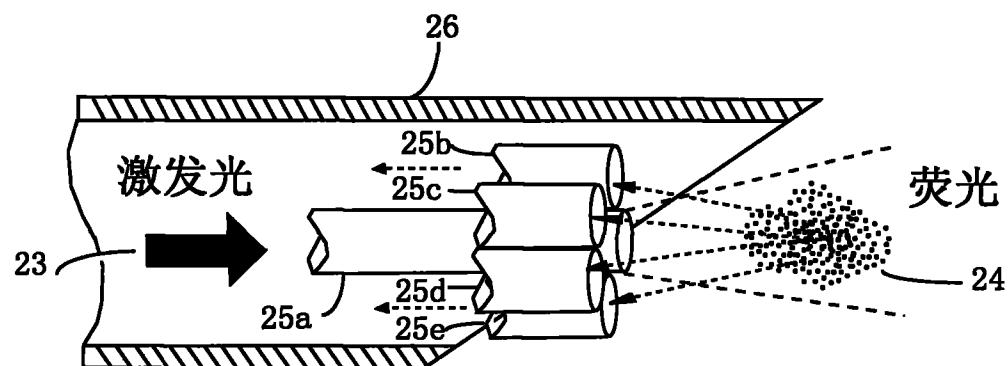


图 3

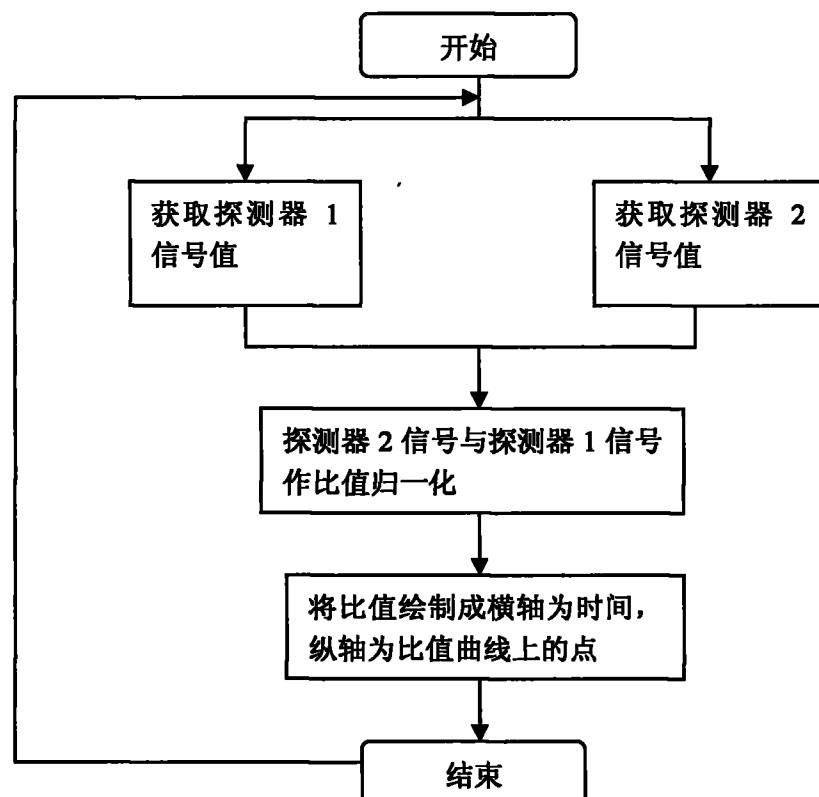


图 4