

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036930**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.15

(51) Int. Cl. **B01L 7/00** (2006.01)

(21) Номер заявки
201890371

(22) Дата подачи заявки
2016.07.22

(54) УСТРОЙСТВО ТЕРМОУПРАВЛЕНИЯ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **62/196,267**

(56) **US-A1-2011165628**

(32) **2015.07.23**

US-A1-2004149725

(33) **US**

US-A-5061630

(43) **2018.08.31**

(86) **PCT/US2016/043761**

(87) **WO 2017/015640 2017.01.26**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СИФИИД (US)

(72) Изобретатель:
**Фромм Дэвид, Пхан Тиен, Пиччини
Мэттью (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Здесь предложены устройства термoуправления, предназначенные для обеспечения улучшенного управления и КПД при проведении циклирования по температуре. Такое устройство термoуправления может содержать термоэлектрический охладитель, управляемый скоординированно с другим устройством терморегулирования, чтобы контролировать противоположную поверхность термоэлектрического охладителя и/или микросреду. Некоторые такие устройства термoуправления содержат первый и второй термоэлектрические охладители, разделенные теплоконденсатором. Устройство термoуправления может быть выполнено в планарной конфигурации со средством тепловой связи с плоским реакционным сосудом анализатора образца для использования при термоциклировании в полимеразной цепной реакции образца текучей среды в реакционном сосуде. Также предложены способы термоциклирования с использованием таких устройств термoуправления.

B1**036930****036930****B1**

Данная заявка испрашивает преимущество приоритета предварительной заявки на патент США № 62/196267, озаглавленной "Thermal Control Device and Methods of Use", поданной 23 июля 2015 г., все содержание которой включено сюда по ссылке.

Данная заявка в целом родственна заявке на патент США № 13/843739, озаглавленной "Honeycomb tube", поданной 15 марта 2013 г., патенту США № 8048386 под названием "Fluid Processing and Control" с датой подачи 25 февраля 2002 г. и патенту США № 6374684 под названием "Fluid Control and Processing System" с датой подачи 25 августа 2000 г., все из которых включены сюда по ссылке во всей их полноте для всех целей.

Предпосылки изобретения

Настоящее изобретение в целом относится к устройствам термоуправления, более конкретно к устройству, системе и способам термоциклирования при анализе нуклеиновых кислот.

Различные биологические процедуры тестирования требуют термоциклирования для способствования химической реакции посредством теплообмена. Одним из примеров такой процедуры является полимеразная цепная реакция (ПЦР) для амплификации ДНК. К другим примерам относятся быстрая ПЦР, лигазная цепная реакция (ЛЦР), самоподдерживаемая репликация последовательностей, исследования кинетики энзимов, анализы гомогенного связывания лигандов и комплексные биохимические механистические исследования, требующие сложных изменений температуры.

Такие процедуры требуют системы, которая способна аккуратно повышать и понижать температуры образца быстро и с прецизионной точностью. Традиционные системы обычно используют устройства охлаждения (например, вентиляторы), занимающие большой объем физического пространства и требующие значительной мощности для обеспечения требуемой величины производительности (т.е. быстрого падения температуры). Системы охлаждения на основе вентиляторов имеют проблемы с временем задержки запуска и перекрытием при отключении, то есть они будут продолжать функционировать после отключения и, таким образом, не работают с мгновенной цифровой точностью. Например, центробежный вентилятор после включения не будет мгновенно дуть с полным объемом, а также будет продолжать вращаться после того, как электропитание будет отключено, тем самым реализуя время перекрытия, которое должно учитываться при тестировании. Такие проблемы задержки и перекрытия часто усугубляются при старении устройства.

Системы охлаждения на основе вентиляторов обычно предназначались для систем с низкой стоимостью, относительно приемлемой производительностью и простой реализацией, не давая промышленности значительного стимула для решения этих проблем. Ответом до настоящего времени было встраивание более мощных вентиляторов, имеющих большие объемные производительности, которые также увеличивают требования к пространству и электропитанию. Ценой этого является отрицательное влияние на мобильность полевых систем тестирования, которые могут использоваться, например, для быстрого обнаружения вирусных/бактериальных вспышек в отдаленных областях. Другая проблема состоит в том, что этот подход мало успешен в более высокотемпературных средах, таких как те, которые могут иметь место в тропических областях. Соответственно существует остающаяся без ответа потребность в устранении недостатков известных нагревательных/охлаждающих устройств, используемых в биологических системах тестирования.

Термоциклирование обычно является принципиальной особенностью большинства процессов амплификации нуклеиновых кислот, где температура образца текучей среды циклически меняется не менее пятидесяти раз между пониженной температурой отжига (например, 60°) и более высокой температурой денатурации (например, 95°). Это термоциклирование обычно осуществляют, используя большую тепловую массу (например, алюминиевый блок) для нагрева образца текучей среды и вентиляторы для охлаждения образца текучей среды. Из-за большой тепловой массы алюминиевого блока скорости нагревания и охлаждения ограничиваются примерно 1°С/с, так что процесс ПЦР с пятьюдесятью циклами может занять два или более часа до своего завершения. В тропическом климате, где окружающие температуры могут быть повышенными, это может неблагоприятно сказываться на скорости охлаждения, таким образом увеличивая время термоциклирования, например с 2 до 6 ч.

Некоторые коммерческие приборы обеспечивают скорости нагревания порядка 5°С/с при значительно меньших скоростях охлаждения. При таких относительно медленных скоростях нагревания и охлаждения было замечено, что некоторые процессы, такие как ПЦР, могут становиться малопродуктивными и неэффективными. Например, реакции могут происходить при промежуточных температурах, создавая нежелательные и наносящие вред продукты ДНК, такие как побочные продукты "primer-dimer" или аномальные ампликоны, а также расходовать реагенты, необходимые для намеченной реакции ПЦР. Другие процессы, такие как связывание лигандов или другие биохимические реакции, когда они выполняются в средах с неравномерной температурой, тоже страдают от побочных реакций и продуктов, потенциально вредных для аналитического метода.

Для некоторых применений ПЦР и других методологий обнаружения химических веществ объем тестируемого образца текучей среды может оказывать значительное влияние на термоциклирование.

Оптимизация процесса амплификации нуклеиновой кислоты и подобные процессы биохимических

реакций обычно требуют высоких скоростей нагрева и охлаждения так, чтобы требуемые оптимальные температуры реакции могли быть достигнуты как можно быстрее. Это может быть особенно проблемным при проведении термоциклирования в высокотемпературных средах, таких как те, которые имеют место в тропическом климате, где производственные помещения часто могут не иметь кондиционирования. Такие условия могут приводить в результате к более длительным временам термоциклирования с менее четкими результатами (т.е. с большим количеством нежелательных побочных реакций). Поэтому существует неудовлетворенная потребность в устройствах термоуправления с более высокими скоростями нагрева и охлаждения, которые не зависят от окружающей среды и могут изготавливаться дешево и с минимальными размерами для включения в состав диагностических устройств. Существует дополнительная потребность в устройствах термоуправления, лучше управляющих термоциклированием внутри реакционной камеры в пределах заданных диапазонов скорости, погрешности и точности систем нынешнего поколения.

Краткое описание сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к устройству термоуправления, выполняющему термоциклирование сосуда для биологической реакции с улучшенными управлением, скоростью и КПД. В первом варианте устройство термоуправления содержит первый термоэлектрический охладитель, имеющий активную поверхность и базовую поверхность; второй термоэлектрический охладитель, имеющий активную поверхность и базовую поверхность; и теплоконденсатор, расположенный между первым и вторым термоэлектрическими охладителями так, что базовая поверхность первого термоэлектрического охладителя связана по теплу с активной поверхностью второго термоэлектрического охладителя через теплоконденсатор. В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит контроллер, функционально связанный с каждым из первого и второго термоэлектрических охладителей, причем контроллер выполнен с возможностью осуществления работы второго термоэлектрического охладителя одновременно с первым термоэлектрическим охладителем с тем, чтобы увеличивать скорость и КПД первого термоэлектрического охладителя по мере того, как температура активной поверхности первого термоэлектрического охладителя изменяется от начальной температуры до требуемой целевой температуры.

В некоторых вариантах осуществления между устройствами первого и второго термоэлектрических охладителей помещена термопрокладка, а в некоторых вариантах осуществления термопрокладка действует в качестве теплоконденсатора. В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит теплоконденсатор, образованный из теплопроводящего материала достаточной массы, чтобы накапливать достаточную тепловую энергию для способствования повышению скоростей нагрева и охлаждения образца текучей среды во время термоциклирования. В некоторых вариантах осуществления теплоконденсатор содержит материал, имеющий более высокую тепловую массу, чем материал активной и/или базовой поверхностей первого и второго термоэлектрических охладителей, которые в некоторых вариантах осуществления образованы из керамического материала. В некоторых вариантах осуществления теплоконденсатор образован из слоя меди толщиной примерно 10 мм или менее (например, примерно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 мм или менее). Эта конфигурация позволяет устройству термоуправления иметь относительно тонкую, плоскую конструкцию, чтобы быть пригодным для использования с плоским реакционным сосудом в устройстве анализа нуклеиновых кислот с уменьшенными габаритами.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит первый датчик температуры, предназначенный для восприятия температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя; и второй датчик температуры, предназначенный для восприятия температуры теплоконденсатора. В некоторых вариантах осуществления первый и второй датчики температуры связаны с контроллером так, чтобы работа первого и второго термоэлектрических охладителей была основана, по меньшей мере частично, на входном сигнале от первого и второго датчиков температуры контроллеру соответственно. В некоторых вариантах осуществления второй датчик температуры заделан в теплопроводящий материал теплоконденсатора или, по меньшей мере, находится в тепловом контакте с ним. Считается, что в любом из описанных здесь вариантов осуществления датчик температуры может быть расположен в различных других местах при условии, что этот датчик находится в достаточном тепловом контакте с соответствующим слоем, чтобы воспринимать температуру слоя.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит контроллер, выполненный с первичным контуром управления, в который подается входной сигнал первого датчика температуры, и вторичным контуром управления, в который подается входной сигнал второго датчика температуры. Контроллер может быть выполнен таким образом, что отклик в полосе пропускания первичного контура управления сделан по времени более быстрым (или более медленным), чем отклик в полосе пропускания вторичного контура управления. Как правило, первичный и вторичный контуры управления оба являются контурами с обратной связью (т.е. замкнутыми). В некоторых вариантах осуществления контуры управления соединены последовательно (в отличие от параллельного соединения). В некоторых вариантах осуществления контроллер выполнен с возможностью циклического переключения между циклом нагрева, в котором активная поверхность первого термоэлектрического охладителя нагревается до повышенной целевой температуры, и циклом охлаждения, в котором активная поверхность первого термоэлектрического охладителя охлаждается до пониженной целевой температуры. Контроллер

может быть выполнен таким образом, что вторичный контур управления переключает второй термоэлектрический охладитель между режимами нагревания и охлаждения прежде, чем первый контур управления переключается между нагреванием и охлаждением, чтобы нагружать тепло теплоконденсатор. В некоторых вариантах осуществления вторичный контур управления поддерживает температуру теплоконденсатора в пределах примерно 40°C относительно температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя. В некоторых вариантах осуществления вторичный контур управления поддерживает температуру теплоконденсатора в пределах примерно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50°C относительно температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя. Контроллер может быть выполнен таким образом, что КПД первого термоэлектрического охладителя поддерживается за счет работы второго термоэлектрического охладителя, так что нагревание и охлаждение активной поверхностью первого термоэлектрического охладителя происходит с линейной скоростью примерно 10°C/с. Неограничивающие примерные линейные скорости, которые могут быть достигнуты с настоящим изобретением, составляют 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1°C/с. В некоторых вариантах осуществления повышенная целевая температура составляет примерно 90°C или больше, а пониженная целевая температура составляет примерно 40°C или меньше. В некоторых вариантах осуществления пониженная целевая температура находится в диапазоне от примерно 40 до примерно 75°C. В некоторых вариантах осуществления пониженная целевая температура составляет примерно 45, 50, 55, 60, 65 или примерно 70°C.

В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления дополнительно содержит теплоотвод, связанный с базовой поверхностью второго термоэлектрического охладителя, чтобы предотвратить тепловой разгон (тепловое убежание) во время циклирования. Устройство термуправления может быть сконструировано в общем с планарной конфигурацией и с размерами, соответствующими плоской части трубки реакционного сосуда в устройстве анализа образца. В некоторых вариантах осуществления размер плоской части имеет длину примерно 45 мм или менее и ширину примерно 20 мм или менее или длину примерно 40 мм на примерно 12,5 мм, такие как примерно 11 мм на 13 мм, чтобы быть пригодным для использования с реакционным сосудом в устройстве анализа ПЦР. В общем планарная конфигурация может быть выполнена и снабжена такими размерами, чтобы толщина от активной поверхности первого термоэлектрического охладителя до противоположной стороны теплоотвода составляла примерно 20 мм или менее. Предпочтительно в некоторых вариантах осуществления устройство термуправления может быть приспособлено для взаимодействия с реакционным сосудом для термоциклирования реакционного сосуда с одной его стороны, чтобы позволить проводить оптическое обнаружение целевого аналита с противоположной стороны реакционного сосуда во время термоциклирования. В некоторых вариантах осуществления используются два устройства термуправления, чтобы нагревать противоположные плоские стороны реакционного сосуда. В некоторых вариантах осуществления, где два устройства термуправления используются с противоположных сторон реакционного сосуда (например, двухстороннее нагревание), оптическое обнаружение осуществляют, пропуская и принимая оптическую энергию через тонкие стенки реакционного сосуда, таким образом обеспечивая возможность одновременного нагрева и оптического исследования реакционного сосуда.

В некоторых вариантах осуществления здесь предложены способы управления температурой. Такие способы содержат этапы, на которых: осуществляют работу первого термоэлектрического охладителя, имеющего активную поверхность и базовую поверхность, чтобы нагревать и/или охлаждать активную поверхность от начальной температуры до целевой температуры; и осуществляют работу второго термоэлектрического охладителя (имеющего активную поверхность и базовую поверхность), чтобы повышать КПД первого термоэлектрического охладителя по мере того, как температура активной поверхности первого термоэлектрического охладителя изменяется от начальной температуры до требуемой целевой температуры, причем активная поверхность второго термоэлектрического охладителя связана по теплу с базовой поверхностью первого термоэлектрического охладителя через теплоконденсатор. Такие способы могут дополнительно содержать этапы: осуществление работы первого термоэлектрического охладителя содержит осуществление работы первичного контура управления с входным сигналом температуры от датчика температуры на активной поверхности первого термоэлектрического охладителя, и осуществление работы второго термоэлектрического охладителя содержит осуществление работы вторичного контура управления с входным сигналом температуры от датчика температуры внутри теплоконденсатора. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно содержит: циклирование между режимом нагревания, в котором активная поверхность первого термоэлектрического устройства нагревается до повышенной целевой температуры, и режимом охлаждения, в котором эта активная поверхность охлаждается до пониженной целевой температуры; и накопление тепловой энергии от тепловых флуктуаций между режимами нагревания и охлаждения в теплоконденсаторе, содержащем слой с повышенной теплопроводностью по сравнению с активными и базовыми поверхностями первого и второго термоэлектрических охлаждающих устройств соответственно.

Некоторые варианты осуществления изобретения предусматривают способы управления температурой в реакции с термоциклированием. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретение

предусматривает циклирование между режимом нагревания и режимом охлаждения второго термоэлектрического устройства одновременно с циклированием между режимами нагревания и охлаждения первого термоэлектрического устройства, тем самым поддерживая КПД первого термоэлектрического устройства во время циклирования. В некоторых вариантах осуществления контроллер выполнен так, что отклик в полосе пропускания первичного контура управления для первого термоэлектрического устройства является более быстрым, чем отклик в полосе пропускания вторичного контура управления для второго термоэлектрического устройства. Контроллер может дополнительно быть выполнен так, что циклирование регулируется по времени контроллером с переключением второго термоэлектрического устройства между режимами прежде переключения первого термоэлектрического устройства между режимами с тем, чтобы нагружать тепло теплоконденсатор. При некоторых применениях повышенная целевая температура составляет примерно 90°C или более, а пониженная целевая температура составляет примерно 75°C или менее.

В некоторых вариантах осуществления способы управления температурой дополнительно включают поддержание температуры теплоконденсатора в пределах примерно 40°C относительно температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя с помощью управляемой работы второго термоэлектрического охладителя во время циклирования первого термоэлектрического охладителя с тем, чтобы поддерживать КПД первого термоэлектрического охладителя во время циклирования. В некоторых вариантах осуществления КПД первого термоэлектрического охладителя поддерживается за счет работы второго термоэлектрического охладителя так, что нагревание и/или охлаждение с помощью активной поверхности первого термоэлектрического охладителя происходит с линейной скоростью в пределах 10°C/с или менее. Такие способы могут дополнительно включать осуществление работы теплоотвода, связанного с базовой поверхностью второго термоэлектрического охладителя, во время термоциклирования первым и вторым термоэлектрическими охладителями с тем, чтобы предотвратить тепловое убегание.

В некоторых вариантах осуществления здесь предложены способы термоциклирования в процессе полимеразной цепной реакции (ПЦР). Такие способы могут включать этапы: взаимодействие устройства термоуправления с реакционным сосудом с содержащимся в нем образцом текучей среды для выполнения полимеразной цепной реакции для амплифицирования целевого полинуклеотида, содержащегося в образце текучей среды, так что активная поверхность первого термоэлектрического охладителя термически взаимодействует с реакционным сосудом; и термоциклирование устройства термоуправления в соответствии с конкретным протоколом, чтобы нагревать и охлаждать образец текучей среды во время процесса ПЦР. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие устройства термоуправления с реакционным сосудом содержит соприкосновение активной поверхности первого термоэлектрического охладителя с одной стороной реакционного сосуда, так что противоположная сторона остается непокрытой устройством термоуправления, позволяя вести оптическое обнаружение с противоположной стороны. В некоторых вариантах осуществления каждый из режима нагревания и режима охлаждения имеет один или более рабочих параметров, причем эти один или более рабочих параметров асимметричны между режимами нагревания и охлаждения. Например, каждый из режима нагревания и режима охлаждения имеет полосу пропускания и коэффициент усиления контура, причем полосы пропускания и коэффициенты усиления контура в режиме нагревания и в режиме охлаждения различны.

В некоторых вариантах осуществления предложены способы управления температурой с помощью устройства термоуправления. Такие способы содержат этапы: снабжают устройство термоуправления первым и вторым термоэлектрическим охладителем с теплоконденсатором между ними, причем каждый из первого и второго термоэлектрических охладителей имеет активную поверхность и базовую поверхность; нагревают активную поверхность; охлаждают активную поверхность; нагревают базовую поверхность; и охлаждают базовую поверхность. В некоторых вариантах осуществления каждая активная нагреваемая поверхность и каждая активная охлаждаемая поверхность управляются по одному или более рабочим параметрам. В некоторых вариантах осуществления величина упомянутых одного или более рабочих параметров различна во время нагревания активной поверхности и во время охлаждения активной поверхности.

В любом из описанных вариантов осуществления, включающих первый и второй термоэлектрические охладители, второй термоэлектрический охладитель может быть заменен устройством терморегулирования. Такое устройство терморегулирования содержит любой из нагревателя, охладителя или любое средство, пригодное для регулировки температуры. В некоторых вариантах осуществления устройство терморегулирования включено в микросреду, общую с первым термоэлектрическим охладителем, так что работа устройства терморегулирования изменяет температуру микросреды относительно окружающей температуры. В этом варианте устройство изменяет окружающую среду, позволяя первому термоэлектрическому охладителю циклировать между первой температурой (например, температурой амплификации между 60-70°C) и второй более высокой температурой (например, температурой денатурации примерно 95°C), осуществляя термоциклирование между этими температурами настолько быстро, насколько возможно. Если первая и вторая температуры обе выше истинной окружающей температуры,

то для второго источника тепла (например, термоэлектрического охладителя или нагревателя) более эффективно в пределах микросреды повышать температуру внутри микросреды выше окружающей температуры. Альтернативно если окружающая температура превышает вторую, более высокую температуру, устройство терморегулирования могло бы охладить микросреду до идеальной температуры, чтобы позволить проводить быстрое термоциклирование между первой и второй температурами более эффективно. В некоторых вариантах осуществления микросреда содержит термопрокладку между первым термоэлектрическим устройством и устройством терморегулирования.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит первый термоэлектрический охладитель, имеющий активную поверхность и базовую поверхность, устройство терморегулирования и контроллер, функционально связанный с первым термоэлектрическим охладителем и устройством терморегулирования. Контроллер может быть выполнен с возможностью осуществления работы первого термоэлектрического охладителя скоординированно с устройством терморегулирования с тем, чтобы повышать КПД первого термоэлектрического охладителя по мере того, как температура активной поверхности первого термоэлектрического охладителя изменяется от начальной температуры до требуемой целевой температуры. Устройства терморегулирования могут включать в себя терморезистивный нагревательный элемент, или второй термоэлектрический охладитель, или любые подходящие средства для регулировки температуры.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления дополнительно содержит один или более датчиков температуры, связанных с контроллером и расположенных вдоль или вблизи первого термоэлектрического охладителя, устройства терморегулирования и/или микросреды, общей для первого термоэлектрического охладителя и устройства терморегулирования. Устройство терморегулирования может быть связано по теплу с первым термоэлектрическим охладителем через микросреду (которая может содержать теплоконденсатор), ограниченную внутри устройства анализа, в котором расположено устройство терморегулирования, так что температура микросреды может контролироваться и регулироваться относительно окружающей температуры снаружи устройства анализа.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит контроллер, связанный с каждым из термоэлектрического охладителя и устройства терморегулирования и выполненный с возможностью управления температурой так, чтобы управлять температурой внутри камеры реакционного сосуда, находящегося в тепловой связи с устройством термоуправления. В некоторых вариантах осуществления контроллер выполнен с возможностью осуществлять работу первого термоэлектрического охладителя на основании теплового моделирования температуры *in situ* реакционной камеры внутри реакционного сосуда. Тепловое моделирование температуры может выполняться в реальном времени и, в зависимости от точности модели, может использовать фильтрацию Калмана.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления расположено внутри устройства анализа и позиционировано так, чтобы быть в тепловой связи с реакционным сосудом картриджа для образца, расположенного внутри устройства анализа. Контроллер может быть выполнен с возможностью проведения термоциклирования в процессе полимеразной цепной реакции внутри камеры реакционного сосуда.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит первый термоэлектрический охладитель, имеющий активную поверхность и базовую поверхность, устройство терморегулирования, термопрокладку между первым термоэлектрическим охладителем и устройством терморегулирования, так что базовая поверхность первого термоэлектрического охладителя связана по теплу с устройством терморегулирования через термопрокладку, и первый датчик температуры, предназначенный для восприятия температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя. Устройство может дополнительно содержать контроллер, функционально связанный с первым термоэлектрическим охладителем и с устройством терморегулирования. Контроллер может быть выполнен с возможностью осуществления работы устройства терморегулирования скоординированно с первым термоэлектрическим охладителем, чтобы повышать скорость и КПД первого термоэлектрического охладителя по мере того, как температура активной поверхности первого термоэлектрического охладителя изменяется от начальной температуры до требуемой целевой температуры. В некоторых вариантах осуществления контроллер выполнен с контуром управления с обратной связью, имеющим вход обратной связи температуры, прогнозируемой на основе тепловой модели, включающей входной сигнал от первого датчика температуры.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1А, В дают общий вид системы анализа образца, содержащей картридж для образца, имеющий реакционный сосуд и устройство термоуправления, выполненное в виде съемного модуля, предназначенного для связи с реакционным сосудом в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 2 иллюстрирует схематичный вид устройства термоуправления, соответствующий некоторым вариантам осуществления изобретения.

Фиг. 3 показывает прототип устройства термоуправления в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 4А, В показывают плоскую область многолуночного реакционного сосуда, который пригоден для использования с некоторыми вариантами осуществления изобретения и у которого модуль устройства термуправления может быть выполнен в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 5 показывает САД-модель прототипа устройства термуправления в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 6 показывает зажимное приспособление устройства термуправления для связи с реакционным сосудом в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 7 показывает термоцикл под управлением контура с обратной связью в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 8 показывает десять последовательных термоциклов для всего диапазона термоциклирования ПЦР в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 9 показывает характеристики термоциклирования для пяти циклов в начале термоциклирования и после двух дней непрерывного термоциклирования.

Фиг. 10 показывает диаграмму с заданными точками, используемыми в контурах управления в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 11 показывает диаграмму с заданными точками, используемыми в контурах управления в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 12 показывает график входных сигналов и измеренных значений температуры во время термоциклирования, управляемого тепловой моделью в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Фиг. 13-15 показывают способы управления термоциклированием в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение в целом относится к системам, устройствам и способам управления термоциклами в химической реакции, в частности к модулю устройства термуправления, предназначенному для использования при управлении термоциклированием в реакции амплификации нуклеиновой кислоты.

В первом варианте изобретения предлагается устройство термуправления, обеспечивающее улучшенное управление и КПД при термоциклировании. В некоторых вариантах осуществления такие устройства термуправления могут быть выполнены с возможностью осуществления термоциклирования для полимеразной цепной реакции образца текучей среды в реакционном сосуде. Такие устройства могут содержать по меньшей мере один термоэлектрический охладитель, расположенный в непосредственном контакте с или непосредственно смежный с реакционным сосудом так, чтобы температура активной поверхности вариантов термоэлектрического охладителя соответствовала температуре образца текучей среды в реакционном сосуде. Этот подход предполагает достаточное для теплопроводности время, чтобы выровнять температуру образца текучей среды внутри реакционного сосуда. Такие улучшенные устройства термуправления могут использоваться взамен существующих устройств термуправления и, таким образом, обеспечивать улучшенное управление, скорость и КПД при выполнении традиционной процедуры термоциклирования.

Во втором варианте улучшенное управление и КПД, обеспечиваемые описанными здесь устройствами терморегулирования, позволяют выполнять такие устройства с возможностью осуществления оптимизированной процедуры термоциклирования. В некоторых вариантах осуществления такие устройства термуправления могут быть выполнены с возможностью осуществлять термоциклирование, используя тепловую модель температуры внутри камеры реакционного сосуда, чтобы выполнить полимеразную цепную реакцию образца текучей среды в реакционном сосуде. Это тепловое моделирование может быть реализовано внутри контроллера устройства термуправления. Такое тепловое моделирование может использовать модель, основанную на теоретических и/или эмпирических значениях, или может использовать моделирование в реальном времени. Такое моделирование может дополнительно использовать фильтрацию Калмана для обеспечения более точной оценки температур внутри реакционного сосуда. Этот подход позволяет проводить более быстрое и более эффективное термоциклирование, чем традиционные процедуры термоциклирования.

Любой из описанных выше подходов к термоциклированию может быть выполнен описанными здесь устройствами термуправления. В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления использует первый термоэлектрический охладитель с активной поверхностью, находящейся в тепловом контакте с реакционным сосудом внутри устройства анализа биологического образца, и использует другое устройство терморегулирования (например, второй термоэлектрический охладитель, нагреватель, холодильник), чтобы управлять температурой противоположной базовой поверхности первого термоэлектрического охладителя. В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления содержит первый и второй термоэлектрические охладители, связанные по теплу через теплоконденсатор с достаточной теплопроводностью и массой для передачи и накопления тепловой энергии с тем, чтобы уменьшить время при переключении между нагреванием и охлаждением, тем самым обеспечивая более быстрое и более эффективное термоциклирование. В некоторых вариантах осуществления устройство

использует термистор внутри первого термоэлектрического охладителя и другой термистор внутри слоя теплоконденсатора и работает с использованием первого и второго контуров управления с обратной связью на основании температуры первого и второго термистора соответственно. Чтобы использовать накопленную в слое теплоконденсатора тепловую энергию, второй контур управления может быть выполнен с возможностью опережения или отставания от первого контура управления. При использовании одного или более из описанных здесь вариантов варианты осуществления настоящего изобретения обеспечивают более быстрое, более надежное устройство термуправления для выполнения быстрого термоциклирования, предпочтительно примерно за 2 ч или менее, даже в описанных выше проблемных высокотемпературных средах.

I. Краткий обзор примерных систем

A. Устройство анализа биологического образца.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к устройству термуправления, предназначенному для использования с реакционным сосудом в устройстве анализа образца и выполненному с возможностью управления термоциклированием в реакционном сосуде для проведения реакции амплификации нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления выполнено в виде съемного модуля, который сопрягается с и/или поддерживает контакт с реакционным сосудом с тем, чтобы позволить проводить термоциклирование по мере необходимости для конкретного анализа, например позволить проводить амплификацию целевого анализата в образце текучей среды, расположенном внутри реакционного сосуда. В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления имеет планарную конфигурацию и выполнено с размерами, соответствующими плоскому участку реакционного сосуда, для которого требуется термоциклирование. В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления содержит участок или механизм сопряжения, которым устройство термуправления поддерживается в контакте с и/или в непосредственной близости от по меньшей мере одной стороны реакционного сосуда, тем самым способствуя нагреванию и охлаждению содержащегося в нем образца текучей среды. В других вариантах осуществления устройство термуправления закреплено приспособлением или другими средствами в соответствующем положении для управления термоциклированием внутри реакционного сосуда. Например, устройство термуправления может быть закреплено внутри устройства анализа образца, в которое помещается одноразовый картридж для образца так, что, когда картридж для образца находится в положении для проведения тестирования на целевой анализат, устройство термуправления находится в подходящем положении для управления термоциклированием в нем.

В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления выполнено в виде съемного модуля, который может быть сопряжен с реакционным сосудом или трубкой, проходящей от картриджа для анализа образцов, выполненного с возможностью обнаружения целевой нуклеиновой кислоты в тесте амплификации нуклеиновой кислоты (nucleic acid amplification test, NAAT), например анализа полимеразной цепной реакции (ПЦР). Подготовка образца текучей среды в таком картридже обычно содержит последовательность этапов обработки, которые могут содержать этапы химической, электрической, механической, тепловой, оптической или акустической обработки в соответствии с конкретным протоколом. Такие этапы могут использоваться для выполнения различных функций приготовления образцов, таких как получение клеток, лизис клеток, очистка, связывание анализатов и/или связывание нежелательного материала. Такой картридж для обработки образца может содержать одну или более ячеек, пригодных для выполнения этапов приготовления образцов. Картридж для образцов, пригодный для использования с изобретением, показан и описан в патенте США № 6374684 под названием "Fluid Control and Processing System" с датой подачи 25 августа 2000 г. и в патенте США № 8048386 под названием "Fluid Processing and Control", с датой подачи 25 февраля 2002 г., все содержание которых включено сюда для всех целей по ссылке во всей их полноте.

В одном варианте устройство термуправления предназначено для использования с одноразовым картриджем для анализа, содержащим реакционный сосуд. В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления предназначено для использования с неинструментальным одноразовым узлом, который облегчает сложное управление жидкостями и задачи обработки. Этот одноразовый узел, содержащий реакционный сосуд, позволяет выполнять сложные, но все же скоординированные усилия по смешиванию, лизису и мультиплексированной подаче реагентов и образцов к конечному месту назначения обнаружения, камере, встроенной в реакционный сосуд. Внутри эта реакционная камера находится там, где осуществляются сложные биохимические процессы, такие, которые критичны к поддержанию точных условий среды для того, чтобы реакция была успешной и эффективной. Для реакций ПЦР и rtПЦР особенно важно проводить термоциклирование быстро и точно, и выполнение этого без физического датчика в месте проведения реакции подтверждает наличие проблемы, если не невозможность выполнения задачи. Существующие подходы используют температурные поправки (калибровки) относительно расположенных поблизости датчиков температуры, чтобы оценить, какой будет температура в реакционной камере. Этот подход обладает значительными недостатками. Даже при малом физическом разном между температурными датчиками и реакционным сосудом поправки определяются в установившемся состоянии, а большинство реакций никогда не достигают истинного установившегося состоя-

ния из-за физической динамики тепловой системы, связанной с малыми временами термоцикличности реакций. По сути, температура внутри реакционного сосуда никогда действительно не известна. Чтобы решить эту проблему, существующие подходы обычно оптимизируют термоциклирование, находя "идеальные" температуры реакции и времена удержания заданных точек по температуре путем последовательного и итерационного установления теплового режима, пока успех не будет достигнут. Этот процесс утомителен, а так как разработчики исследования никогда действительно не знают, какова фактическая температура реакционной камеры во время исследования, оптимизированные характеристики исследования никогда не могут быть реализованы. Этот процесс часто приводит к более длительным временам удержания заданных точек, чем это необходимо для гарантии, что температура образца текущей среды достигает требуемой температуры.

Тепловое моделирование является другим подходом и может быть реализовано в пределах системы анализа при использовании описанных здесь устройств улучшенного термоуправления. Моделирование позволяет иметь точный и прецизионный прогноз в реальном времени по температурам в конкретном месте (*in situ*) реакционной камеры. Кроме того, тепловое моделирование также позволяет выяснить динамику, которая может использоваться для лучшего управления скоростью (временами циклирования), и заложить основу более мощной системы будущей разработки исследований. Что еще более важно, эти модели могут проверяться на правильность и настраиваться, чтобы точно отражать температуру реального мира, как если бы реакционная камера была фактически снабжена физическим датчиком. Наконец, тепловое моделирование может учитывать вариации окружающей температуры, что имеет огромную важность при развертывании систем медицинского контроля, где высокие (или низкие) окружающие температуры влияют на температуры в реакционной камере, которые в противном случае не учитываются. Таким образом, разработчики исследования могут быть уверены, что температурами в реакционной камере всегда будут точно контролироваться до требуемых уровней.

Фильтрация Калмана является способом управления, посредством которого может быть достигнута оптимальная оценка при использовании модели системы, результатов измерений, получаемых автономно (например, КПД элементов системы, свойства материалов, соответствующие входные мощности и т.п.), и температур, измеренных в реальном времени. По существу, алгоритм берет то, что модель предсказывает для всех ее состояний (например, температуры), объединенных с реальными измеренными состояниями (например, измеренными одним или более датчиками температуры). Соответствующая модель также учитывает шум при этих измерениях (датчиком) и шум в собственно процессе. Алгоритм берет всю эту информацию и применяет динамический взвешенный подход, который либо подтверждает прогнозы модели для результатов измерений, либо наоборот, в зависимости от сравнения текущих результатов измерений с их предыдущими значениями. Чтобы использовать алгоритмы Калмана для оптимального прогноза, модель должна быть точным представлением физической системы.

На фиг. 1А показано примерное устройство 100 анализа образцов для тестирования целевого анализа в образце текущей среды, подготовленном внутри одноразового картриджа 110 для образца, находящегося внутри устройства 100. Картридж содержит реакционный сосуд 20, через который подготовленный образец текущей среды протекает для амплификации, возбуждения и оптического обнаружения во время анализа ПЦР на целевой аналит. В некоторых вариантах осуществления реакционный сосуд может содержать множество индивидуальных реакционных лунок и/или дополнительных ячеек, таких как ячейка предамплификации, как показано на фиг. 4В. Система дополнительно содержит устройство 10 термоуправления, расположенное смежным с реакционным сосудом 20, для управления термоциклированием образца текущей среды в нем во время анализа. На фиг. 1В устройство 10 термоуправления показано в виде съемного модуля, что позволяет устройству 10 термоуправления использоваться на других картриджах для образца в последующих анализах. Устройство 10 термоуправления может быть выполнено с возможностью сопряжения с электрическими контактами внутри устройства 100 анализа образца так, чтобы запитывать устройство термоуправления во время термоциклирования.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления может быть предназначено для использования вместе с реакционным сосудом, таким как показанный на фиг. 4А, В, которые иллюстрируют примерный картридж 110 для обработки образца и соответствующий реакционный сосуд 20, чтобы позволить выполнить приготовление образца и анализ внутри устройства 100 обработки образца, которое выполняет приготовление образца, а также обнаружение и анализ аналита. Как можно видеть на фиг. 4А, примерный картридж 110 для обработки образца содержит различные компоненты, среди которых основной корпус, имеющий одну или более камер для приготовления образцов, к которому крепится реакционный сосуд 20, как показано на фиг. 4В. После того как картридж 110 для обработки образца и реакционный сосуд 20 собраны вместе (как показано на фиг. 4А), образец текущей среды помещается внутрь камеры картриджа, а картридж вставляется в устройство анализа образца. Затем устройство выполняет этапы обработки, необходимые для выполнения подготовки образца, и подготовленный образец передается через один из пары проходных портов в канал для текущей среды реакционного сосуда, прикрепленного к корпусу картриджа. Подготовленный образец текущей среды транспортируется в камеру реакционного сосуда 20, и в то же время используются средство возбуждения и средство оптического обнаружения, чтобы оптически воспринимать присутствие или отсутствие одного или более интересующих це-

левых аналитов с нуклеиновыми кислотами (например, бактерии, вируса, патогена, токсина или другой мишени). Понятно, что такой реакционный сосуд может содержать самые различные камеры, ячейки, каналы, области обработки и/или микролунки для использования при обнаружении целевого(ых) аналита(ов). Примерное использование такого реакционного сосуда для анализа образца текучей среды описывается в переуступленном заявителю патенте США № 6818185 под названием "Cartridge for Conducting a Chemical Reaction" с датой подачи 30 мая 2000 г., все содержание которого включено сюда по ссылке для всех целей.

Неограничивающие примерные способы амплификации нуклеиновой кислоты, пригодные для использования с изобретением, включают полимеразную цепную реакцию (ПЦР), ПЦР с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР, от англ. reverse-transcriptase PCR), лигазную цепную реакцию (ЛЦР), транскрипционно-опосредованную амплификацию (transcription mediated amplification, TMA) и амплификацию, основанную на последовательности нуклеиновых кислот (Nucleic Acid Sequence Based Amplification, NASBA). Дополнительные тесты с нуклеиновыми кислотами, пригодные для использования с настоящим изобретением, известны специалистам в данной области техники. Анализ образца текучей среды обычно содержит ряд этапов, которые могут содержать оптическое или химическое обнаружение в соответствии с конкретным протоколом. В некоторых вариантах осуществления может использоваться второе устройство обработки образца для выполнения каких-либо из аспектов, связанных с анализом и обнаружением целевого вещества, описанное в патенте США № 6818185, упомянутом ранее и включенном сюда во всей его полноте.

В. Устройство термуправления.

В одном варианте изобретение предусматривает устройство термуправления, предназначенное для обеспечения улучшенного управления температурой, а также обеспечения быстрого и эффективного циклирования между по меньшей мере двумя различными температурными зонами. Такое устройство термуправления может содержать термоэлектрический охладитель, который управляется скоординированно с другим устройством терморегулирования. Устройство терморегулирования может включать в себя нагреватель, холодильник, другой термоэлектрический охладитель или любые подходящие средства для изменения температуры. В некоторых вариантах осуществления в устройстве используется прозрачный изолирующий материал, чтобы позволить проводить оптическое обнаружение через изолирующий участок устройства. Устройство термуправления может дополнительно использовать один или более тепловых датчиков (например, термопар), теплового конденсатора, тепловой буфер, теплоизолятор или любое сочетание этих элементов. В некоторых вариантах осуществления устройство терморегулирования содержит терморезистивный нагреватель. В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления предназначено для одностороннего нагрева реакционного сосуда, тогда как в других вариантах осуществления устройство предназначено для двухстороннего нагрева (например, на противоположных главных поверхностях). Следует понимать, что любые из описанных здесь признаков могут применяться к любому из подходов и не ограничиваются тем конкретным вариантом осуществления, в котором этот признак описан.

В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления в соответствии с вариантами осуществления изобретения содержит первый термоэлектрический охладитель и второй термоэлектрический охладитель, разделенные теплоконденсатором. Теплоконденсатор содержит материал, обладающий достаточной теплопроводностью и массой, чтобы проводить и накапливать тепловую энергию с тем, чтобы повышать КПД и скорость термического нагрева и/или охлаждения при переключении между циклами термического нагрева и охлаждения с помощью первого и второго термоэлектрических охладителей. В некоторых вариантах осуществления каждый из первого и второго термоэлектрических охладителей имеет активную поверхность и базовую поверхность, и теплоконденсатор располагается между первым и вторым термоэлектрическими охладителями так, что базовая поверхность первого термоэлектрического охладителя связана по теплу с активной поверхностью второго термоэлектрического охладителя через теплоконденсатор. В некоторых вариантах осуществления теплоконденсатор находится в непосредственном контакте с первым и вторым термоэлектрическими охладителями.

В некоторых вариантах осуществления устройство термуправления содержит контроллер, функционально связанный с каждым из первого и второго термоэлектрических охладителей с тем, чтобы управлять первым и вторым термоэлектрическими охладителями одновременно так, чтобы поддерживать и/или повышать КПД первого термоэлектрического охладителя во время термоциклирования. Такое термоциклирование содержит нагревание активной поверхности от начальной температуры до требуемой целевой температуры и/или охлаждение активной поверхности от начальной температуры до более низкой требуемой целевой температуры.

В некоторых вариантах осуществления теплоконденсатор содержит слой материала с достаточной тепловой массой и теплопроводностью для того, чтобы поглотить и хранить достаточно тепловой энергии для повышения КПД первого термоэлектрического охладителя с тем, чтобы поддерживать или повышать КПД при нагревании и/или охлаждении первым термоэлектрическим охладителем, и в частности при переключении между нагреванием и охлаждением во время термоциклирования. В некоторых вариантах осуществления слой теплоконденсатора является более тонким, чем первый или второй термоэлек-

трический охладитель, и имеет более высокую тепловую массу на единицу толщины, чем первый или второй термоэлектрический охладитель. Например, теплоконденсатор может содержать металл, такой как медь, имеющий достаточную теплопроводность и более высокую тепловую массу на единицу толщины по сравнению с керамическими слоями первого и второго термоэлектрических охладителей. Поскольку при большей толщине в качестве теплопроводящего слоя могут использоваться материалы с меньшей тепловой массой, предпочтительно использовать материалы с более высокой тепловой массой относительно слоя теплоконденсатора, поскольку это позволяет всему устройству термоуправления иметь подходящий размер и толщину для применения с малогабаритной системой химического анализа. Медь особенно предпочтительна в качестве теплоконденсатора, поскольку обладает относительно высокой теплопроводностью и относительно высокой тепловой массой, что позволяет слою теплоконденсатора накапливать тепловую энергию. В некоторых вариантах осуществления медный слой имеет толщину примерно 5 мм или меньше, обычно примерно 1 мм или меньше. Неограничивающие примерные материалы, пригодные для использования в качестве теплоконденсатора в настоящем изобретении, включают: алюминий, серебро, золото, сталь, железо, цинк, кобальт, медь, никель, а также различные неметаллические варианты (например, графит, углерод с высокой проводимостью, проводящая керамика). Дополнительные материалы, пригодные для использования в настоящем изобретении, хорошо известны специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления содержит первый термоэлектрический охладитель и устройство терморегулирования, которое включает в себя терморезистивный нагревательный элемент. Следует понимать, что это устройство терморегулирования может заменять описанное здесь устройство второго термоэлектрического охладителя в любом из вариантов осуществления.

II. Прототип устройства термоуправления

Этот раздел описывает и обобщает характеризацию начального проекта, конструкции и рабочих характеристик неограничивающего примерного прототипа - устройства термоуправления в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения. Этот примерный прототип является интегрированным модулем нагревания/охлаждения, предназначенным для использования в малогабаритном приборе анализа образцов для проведения анализа ПЦР на образце текучей среды.

Из-за пространственных ограничений и ограничений по стоимости материалов, диктуемых техническими требованиями к прибору анализа проб, для которого был предназначен прототип, реализованы альтернативные способы нагревания и охлаждения рассматриваемого реакционного сосуда. Был разработан интегрированный, полностью твердотельный модуль нагревания и охлаждения, состоящий из: двух термоэлектрических охладителей (двух модулей Пельтье), электроники возбуждения, системы теплоотвода с размером, пригодным для размещения внутри прибора анализа образца, и двух контуров управления, реализованных аппаратными средствами прибора. В этом прототипе модуль устройства термоуправления был разработан так, чтобы контактировать только с одной стороной реакционного сосуда, оставляя другую сторону доступной для оптического исследования продуктов ПЦР. Следует понимать, что могут быть реализованы и другие вариации этой конструкции, например устройства термоуправления могут быть расположены для двойного нагрева каждой из главных поверхностей реакционного сосуда с оптическим обнаружением, производимым через малые поверхности реакционного сосуда. Первичные технические требования, испытанные и удовлетворяемые этой системой-прототипом, обобщены в приведенной ниже табл. 1.

Таблица 1. Обобщенные данные тестирования

	ERS	Характеристики прототипа	Удовлетворено требование? (Да/Нет)
Размеры места под реакционную трубку	Объем реакционной трубки до 100 мкл	Активная область >11×11 мм; превышает площадь поперечного сечения реакционной трубки 100 мкл	Да
Тепловая мощность	Нагревание/охлаждение: 10 Вт макс.	9 Вт	Да
Скорость нагревания в контуре с обратной связью	Скорость $\geq 7^{\circ}\text{C}/\text{с}$	Нагревание керамики в контуре с обратной связью от 50°C до 95°C за 6,5 секунд ($7^{\circ}\text{C}/\text{с}$)	Да
Скорость охлаждения в контуре с обратной связью	Скорость $\geq 7^{\circ}\text{C}/\text{с}$	Охлаждение керамики в контуре с обратной связью от 95°C до 50°C за 6,5 секунд ($7^{\circ}\text{C}/\text{с}$)	Да
Диапазон рабочих температур	От окружающей до 105°C	Блок, функционирующий при 105°C	Да
Разрешение по заданным точкам температуры	$0,1^{\circ}\text{C}$	Разрешение $<0,1^{\circ}\text{C}$	Да
Разрешение обратной связи по температуре	$0,1^{\circ}\text{C}$	Разрешение $0,1^{\circ}\text{C}$	Да
Калибровка	Хранится в EEPROM	Не калибруется	В разработке
Равномерность температуры поверхности	$\pm 0,5^{\circ}\text{C}$	В разработке	В разработке
Надежность	В разработке	10 000 циклов - ХОРОШО; срок службы - в разработке	В разработке

А. Принципы базовой конструкции.

В некоторых вариантах осуществления модуль устройства термуправления по изобретению использует термоэлектрический охладитель (ТЭО), также известный как охладитель Пельтье. ТЭО является твердотельным электронным устройством, состоящим из двух керамических пластин, прослаиваемых чередующимися пакетами столбиков из р- и n-легированного полупроводника, расположенных по шаблону, подобному шахматной доске, соединенных проводами последовательно и соединенных по теплу параллельно. Когда к концам полупроводников прикладывается электрическое напряжение, протекающий через устройство электрический ток приводит к существенному перепаду температур между двумя керамическими пластинами. При прямом напряжении смещения верхняя пластина становится более холодной, чем нижняя (условно считается, что поверхность, противоположная поверхности с электрическими проводами, является "холодной" поверхностью), и используется в качестве твердотельного холодильника. Изменение полярности напряжения на обратное теперь заставляет "холодную" поверхность становиться значительно более горячей, чем нижняя поверхность. Таким образом, устройства ТЭО давно популярны для применений с термоциклированием. КПД нагревания/охлаждения ТЭО резко увеличивается для малогабаритных устройств с низкой мощностью.

Прогресс в создании материалов позволил изготавливать чрезвычайно тонкие (~3 мм) ТЭО со значительно повышенным коэффициентом полезного действия (КПД) при охлаждении/нагревании и активной площадью, сопоставимой с реакционным сосудом GX (10×10 мм). Имеющиеся в продаже малогабаритные ТЭО обычно имеют КПД ~60%, пониженное сбрасываемое тепло и малый размер уменьшают вероятность выхода из строя из-за термических напряжений - главной причины отказа при повторяющейся циклировании, необходимым для ПЦР. Малогабаритные ТЭО привлекательны для малогабаритной системы тестирования образцов нуклеиновых кислот, они являются небольшим, недорогим, интегрированным решением нагревания/охлаждения и будут давать хорошие характеристики эффективного охлаждения в большом диапазоне температур окружающей среды, в отличие от принудительного воздушного охлаждения, эффективность которого падает при повышении температуры окружающей среды.

Эффективное нагревание/охлаждение с помощью ТЭО зависит от трех факторов. Во-первых, необ-

ходимо проявить внимание, чтобы ограничить тепловую нагрузку на устройство ТЭО. Из-за малых размеров реакционного сосуда и типичного малого реакционного объема (<100 мкл) тепловая нагрузка не вызывает значительного беспокойства, хотя устройства должны загружаться должным образом заполненным буфером реакционным сосудом для тестирования. Во-вторых, характеристики теплообменника для тепла и холода должны быть достаточны, чтобы рассеивать избыточное тепло (примерно 40% от входной электроэнергии, потребляемой системой) при повторном термоциклировании. Отказ от управления рассеиваемым теплом может заметно уменьшить тепловой КПД и в худшем случае вызвать тепловой разгон системы внутри всего узла ТЭО. На практике тепловой разгон может произойти за минуты, когда температуры горячей и холодной поверхностей обе становятся настолько горячими, что расплавляются электрические соединения внутри устройства. Из-за пространственных ограничений внутри малогабаритной системы анализа размер теплоотвода ограничен. Таким образом, алюминиевый теплоотвод (выбранный из-за его высокой теплопроводности и теплоемкости) с максимизированной площадью поверхности (радиатор с ребрами) встраивают наряду с малым вентилятором, чтобы дополнительно рассеивать горячий воздух от границы раздела алюминий теплоотвода/воздух. Этот блок выполнен с такими размерами, чтобы пространственно соответствовать портативной малогабаритной системе анализа нуклеиновых кислот.

Для хорошо работающей системы ТЭО существуют физические ограничения по разности температуры (dT), достижимой между горячей и холодной поверхностями устройства Пельтье; у имеющихся в продаже наиболее эффективных ТЭО пиковая dT составляет $\sim 70^\circ\text{C}$. Такая dT достаточна для ПЦР, поскольку требуемые температуры термоциклирования обычно находятся в пределах диапазона $45\text{--}95^\circ\text{C}$. Поэтому большинство систем ПЦР на основе эффекта Пельтье имеют теплоотвод с температурой несколько выше окружающей ($\sim 30^\circ\text{C}$), и цикл противоположной поверхности происходит от этой базовой температуры. Однако тепловой КПД начинает отставать по мере того, как достигается максимальная dT . Чтобы поддерживать скорость нагрева/охлаждения, максимизировать КПД системы и минимизировать механическое напряжение в системе, было разработано термоуправление, использующее множественные устройства ТЭО в соответствии с вариантами осуществления изобретения, такие как в примере осуществления, показанном на фиг. 2.

На фиг. 2 показано примерное устройство термоуправления, содержащее первый ТЭО 11 (первичный ТЭО) и второй ТЭО 12 (вторичный ТЭО), связанные по теплу через слой 13 теплоконденсатора. ТЭО выполнены так, что активная поверхность 11a первого ТЭО 11 связана по теплу с реакционным сосудом 20 ПЦР, чтобы способствовать управлению термоциклированием в нем. Устройство может необязательно содержать приспособление 19 сопряжения для монтажа устройства на реакционном сосуде. В некоторых вариантах осуществления устройство может быть прикреплено к приспособлению, которое позиционирует устройство прилегающим к реакционному сосуду. Противоположная базовая поверхность 11b первого ТЭО связана по теплу с активной поверхностью 12a второго ТЭО 12 через слой теплоконденсатора. Эта конфигурация может также быть описана так: базовая поверхность 11b находится в непосредственном контакте с одной стороной слоя 13 теплоконденсатора, а активная поверхность 12a находится в непосредственном контакте с противоположной стороной слоя 13 теплоконденсатора. В некоторых вариантах осуществления базовая поверхность 12b второго ТЭО связана по теплу с теплоотводом 17 и/или охлаждающим вентилятором 18 так, как показано в варианте осуществления по фиг. 3. В этом варианте осуществления устройство 10 термоуправления выполнено так, что оно связано по теплу вдоль одной стороны плоского участка реакционного сосуда 20 с тем, чтобы позволить проводить оптическое возбуждение с другого направления (например, с другой стороны реакционного сосуда) с помощью средства 30 оптического возбуждения, такого как лазер, и оптическое обнаружение с еще одного направления (например, с противоположной стороны реакционного сосуда) с помощью средства 31 оптического обнаружения. Другой вид такой конфигурации показан на фиг. 5 и 6.

В состав первого ТЭО 11 входит термистор 16 на или вблизи активной поверхности 11a, чтобы позволить проводить точное управление температурой реакционного сосуда. Выходной сигнал температуры этого термистора используется в первичном контуре 15 управления, который управляет нагреванием и охлаждением с помощью активной поверхности 11a. Второй термистор 16' введен внутри или вблизи слоя теплоконденсатора, и соответствующий выходной сигнал температуры используется во втором контуре 15' управления, который управляет нагреванием и охлаждением с помощью активной поверхности 12a второго ТЭО. В одном из вариантов первый контур управления является более быстрым, чем второй контур управления (например, второй контур управления отстает от первого), что учитывает тепловую энергию, переносимую и накопленную внутри слоя теплоконденсатора. Используя эти два контура управления, можно управлять разностью температур между активной поверхностью 11a и базовой поверхностью 11b первого ТЭО 11 так, чтобы оптимизировать и повысить КПД первого ТЭО, что обеспечивает более быстрые и более равномерные нагревание и охлаждение первым ТЭО, тогда как теплоконденсатор обеспечивает более быстрое переключение между нагреванием и охлаждением, как описано здесь и продемонстрировано в экспериментальных результатах, представленных ниже.

Вместо того, чтобы присоединить стандартный теплоотвод к керамической пластине напротив ре-

акционного сосуда, используется другой (вторичный) ТЭО для поддержания температуры в пределах примерно 40°C относительно активной поверхности первичного ТЭО. В некоторых вариантах осуществления для поддержания такой работы используются два контура ПИД-управления (пропорционально-интегрально-дифференциального регулирования). В некоторых вариантах осуществления для поддержания температуры активной поверхности первичного ТЭО используются контуры не-ПИД управления. Как правило, быстрый контур ПИД-управления выводит первичный ТЭО на заданную точку установленной температуры, контролируруемую термистором, установленным на нижнюю сторону керамической пластины, контактирующей с реакционным сосудом. Этот контур работает с максимальной скоростью, чтобы обеспечить управляемую температуру, которая может быть быстро и точно достигнута. В некоторых вариантах осуществления второй, более медленный контур ПИД-управления поддерживает температуру на нижней поверхности первичного ТЭО, чтобы максимизировать тепловой КПД (экспериментально определено, что температура должна быть в пределах ~40°C от температуры активной поверхности). Как обсуждалось выше, контуры не-ПИД-управления также могут использоваться для поддержания температуры ТЭО с максимизацией теплового КПД. В некоторых вариантах осуществления предпочтительно демпфировать взаимодействие между двумя контурами управления, чтобы исключить управление одного контура другим. Более выгодно поглощать и хранить тепловую энергию от первого и/или второго ТЭО при помощи слоя теплоконденсатора, чтобы способствовать быстрому переключению между нагреванием и охлаждением.

Здесь подробно описываются два неограничивающих примерных способа достижения быстрого и эффективного переключения между нагреванием и охлаждением, используемых в некоторых вариантах осуществления изобретения. Во-первых, отклик в полосе пропускания вторичного контура управления преднамеренно ограничивают намного более низким, чем в быстром первичном контуре, в итоге получая так называемый "ленивый контур". Во-вторых, теплоконденсатор укладывают между двумя ТЭО в виде "сэндвича". Хотя желательно, чтобы все устройство термуправления было относительно тонким для обеспечения возможности применения устройства на малоразмерном реакционном сосуде, обычно используемом в процессе ПЦР, следует понимать, что слой теплоконденсатора может быть более толстым, при условии, что он обеспечивает достаточную массу и проводимость, чтобы функционировать в качестве теплоконденсатора для ТЭО на любой стороне теплоконденсатора. В некоторых вариантах осуществления слой теплоконденсатора является тонкой медной пластиной толщиной примерно 1 мм или менее. Медь предпочтительна из-за своей чрезвычайно высокой теплопроводности, в то время как толщина в 1 мм экспериментально определена достаточно демпфирующей взаимодействие двух ТЭО, обеспечивая достаточную для тонкого слоя массу, чтобы хранить тепловую энергию, действуя в качестве теплоконденсатора. Хотя медь особенно пригодна из-за своей теплопроводности и большой массы, следует понимать, что могут использоваться различные другие металлы или материалы, имеющие подобные свойства теплопроводности и высокую массу, предпочтительно материалы, которые являются теплопроводящими (даже если и меньше, чем у любого ТЭО) и обладают массой, такой же или более высокой, чем любой ТЭО, чтобы позволить слою действовать в качестве теплоконденсатора по накоплению тепловой энергии. В другом варианте слой теплоконденсатора может содержать второй термистор, который используется для контроля температуры "обратной стороны" (например, базовой поверхности), используемой вторичным контуром ПИД-управления. Оба контура управления реализованы в цифровой форме внутри единого чипа программируемой системы на кристалле (от англ. Programmable System on Chip, PSoC), который отправляет сигналы управления на два вывода биполярной подачи тока Пельтье. Специалистам в данной области техники следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления для управления могут использоваться не-PSOC чипы, например, для использования с настоящим изобретением пригодны программируемые пользователем матричные (FPGA) и т.п. В некоторых вариантах осуществления для предотвращения теплового разгона модуль с двумя ТЭО содержит теплоотвод, который можно присоединить к обратной стороне вторичного ТЭО, используя, например, теплопроводящую серебростержащую эпоксидную смолу. Альтернативные способы присоединения и материалы, пригодные для использования с изобретением, известны специалистам в данной области техники.

На фиг. 2 схематично показана конструкция с двумя ТЭО. Температура реакционного сосуда ПЦР (измеряемая термистором 16, заштрихованный эллипс) определяется первичным ТЭО и управляется контуром встроенного программного обеспечения PSoC. Оптимальный тепловой КПД первичного ТЭО поддерживается с помощью второго термистора (16') (заштрихованный эллипс), находящегося в тепловом контакте со слоем меди, сигнал которого подается во вторичный контур PSoC, управляющий вторым ТЭО.

В. Начальное изготовление прототипа.

На фиг. 3 показана фотография прототипа модуля нагрева/охлаждения с двумя ТЭО. Первичный и вторичный ТЭО (Laird, OptoTEC HOT20,65,F2A,1312, перечень технических данных приведен ниже) по размерам составляют 13 (в ширину)×13 (в длину)×2,2 (в толщину) мм и имеют максимальный тепловой КПД ~60%. На фиг. 4 сравниваются лежащие в плоскости размеры ТЭО и реакционного сосуда GX. В некоторых вариантах осуществления плоская область, на которую оказывает влияние модуль ТЭО,

совпадает с реакционным сосудом GX. Это позволяет размещать в модуле ТЭО реакционные сосуды, имеющие объем текучей среды от примерно 25 мкл (показано) до примерно 100 мкл.

На фиг. 3 представлен примерный прототип модуля с двумя ТЭО для одностороннего нагрева и охлаждения реакционного сосуда в системе химического анализа. Как можно видеть, теплоотвод включает в себя минивентилятор, чтобы отводить тепло и поддерживать КПД ТЭО. Первичный ТЭО (верхний) циклирует температуру в реакционном сосуде, контролируемую термистором, установленным на нижнюю сторону керамики в контакте с трубкой. ТЭО "обратной стороны" поддерживает температуру промежуточного медного слоя (используя оба термистора), чтобы обеспечивать оптимальный тепловой КПД первичного ТЭО. Теплоотвод со встроенным минивентилятором удерживает весь модуль в состоянии теплового равновесия.

В некоторых вариантах осуществления маленький термистор с температурным допуском $\pm 0,1^\circ\text{C}$ присоединяют к нижней стороне верхней поверхности первичного ТЭО, используя серебросодержащую эпоксидную смолу. Этот термистор отслеживает температуру, прикладываемую к реакционному сосуду, и формирует входной сигнал для первичного контура управления в PSoC, который управляет током возбуждения первичного ТЭО. Нижнюю поверхность первичного ТЭО присоединяют к медной пластине толщиной 1 мм с помощью серебросодержащей эпоксидной смолы. Медная пластина имеет прорезь, в которой находится второй термистор TR136-170, залитый серебросодержащей эпоксидной смолой, чтобы контролировать "температуру обратной стороны", и сигнал с него вводится во вторичный контур управления в PSoC. Вторичный ТЭО, управляемый вторичным контуром управления, затем прокладывают между медной пластиной и алюминиевым теплоотводом. Теплоотвод механически обработан до общей толщины $\approx 6,5$ мм, сохраняя общую толщину всего пакета < 13 мм и лежащий в плоскости размер $\approx 40,0$ (длина) $\times 12,5$ (ширина) мм, что обусловлено пространственными ограничениями внутри малогабаритного прибора. Минивентилятор Sunon Mighty размером 12×12 мм приклеивают внутри ниши, механически выполненной в теплоотводе, где ТЭО взаимодействуют с теплоотводом. Заметим, что минивентилятор не должен напрямую охлаждать теплоотвод; достаточен бесшумный, долговечный, дешевый, низковольтный (3,3 В макс.) бесколлекторный двигатель для поддержания рабочих характеристик теплоотвода путем удаления горячего слоя воздуха с границы раздела алюминий/воздух с использованием сдвигового потока, в отличие от прямого воздушного охлаждения (как в некоторых традиционных устройствах анализа, таких как GX или другие такие устройства).

Тестирование блоков прототипа определит, достаточны ли скорость нагрева/охлаждения, термостабильность, стойкость к повышенной температуре окружающей среды и общая надежность системы, чтобы удовлетворить требованиям к техническим характеристикам. Тепловые характеристики показаны приемлемыми, так что в случае примерной малогабаритной системы-прототипа удовлетворяются цели проекта: меньшие размеры, стойкость и дешевизна (необходимо меньше деталей, чем при двухстороннем нагревании/охлаждении). Дополнительно одностороннее нагревание/охлаждение позволяет проводить более эффективное оптическое обнаружение через боковую сторону реакционного сосуда. На фиг. 5 показан CAD-чертеж модуля с двумя ТЭО, блоков светодиодного возбуждения и обнаружения и реакционного сосуда внутри примерной системы-прототипа.

На фиг. 5 представлена CAD-модель модуля нагрева/охлаждения с двумя ТЭО. Реакционный сосуд подвергается термоциклированию с одной стороны (первая главная поверхность реакционного сосуда), а флуоресценция обнаруживается через противоположную сторону (вторую главную поверхность реакционного сосуда). Светодиодная подсветка осуществляется через кромку (малую поверхность) реакционного сосуда.

С. Начальные характеристики нагрева/охлаждения.

Характеристики нагрева и охлаждения примерного прототипа узла ТЭО измеряли, используя специальное приспособление, которое надежно прижимает узел ТЭО к одной поверхности реакционного сосуда (фиг. 6). Позаботились о том, чтобы теплоизолировать узел ТЭО от приспособления, изготовив его из теплоизолирующего материала, такого как Delrin. В целях имитации тепловой нагрузки реакционный сосуд заполняли образцом текучей среды и помещали в надежном контакте с прототипом блока обнаружения флуоресценции на противоположной узлу ТЭО поверхности реакционного сосуда. Следует заметить, что независимо измеряли температуру на верхней поверхности ТЭО, в этой геометрии контактирующей с реакционным сосудом, чтобы она была равной или более высокой, чем температура, измеренная первичным термистором ТЭО. Поэтому разумно использовать считываемую первичным термистором ТЭО температуру, чтобы первоначально охарактеризовать тепловые характеристики системы нагрева/охлаждения с двумя ТЭО. Любое рассогласование между температурами термистора и реакционного сосуда может быть охарактеризовано и скорректировано с использованием контуров обратной связи между термистором первичного ТЭО и температурой образца текучей среды в реакционном сосуде.

На фиг. 6 показано примерное зажимное приспособление для крепления устройства термоуправления к трубке ПЦР для определения тепловых характеристик. В одном примере реакционный сосуд может быть заполнен образцом текучей среды и закреплен с установлением теплового контакта между модулем нагрева/охлаждения и одной поверхностью реакционного сосуда. Другая поверхность реакционного

сосуда прижимается к блоку обнаружения флюоресценции. Блок светодиодного возбуждения освещает раствор через малую поверхность (например, кромку) реакционного сосуда.

Прототип панели управления PSoC, использующей ПИД-управление для сохранения заданной точки температуры термистора первичного ТЭО и подачи двухполярного тока возбуждения на устройства ТЭО (положительное напряжение при нагревании и отрицательное напряжение при охлаждении) и для электропитания минивентилатора. Этот ПИД-контур настроили на максимизацию характеристики первичного ТЭО. Написали сценарий выполнения встроенной программы (скрипт) для циклирования заданной точки у реакционного сосуда между высокой и низкой предельными температурами, характерными для термоциклирования при ПЦР. Конкретно нижняя заданная точка температуры равна 50°C, со временем выдержки 12 с, начинающимся, когда измеренная температура находится в пределах $\pm 0,1^\circ\text{C}$ в течение 1 с. Аналогично верхняя заданная точка температуры равна 95°C со временем выдержки 12 с, начинающимся с момента, когда температура находится в пределах $\pm 0,1^\circ\text{C}$ относительно заданной точки в течение 1 с. Сценарий циклировался между 50 и 95°C бесконечное число раз.

Внутри того же самого чипа PSoC также эксплуатировался вторичный контур управления, считывающий температуру вторичного термистора, находящегося в тепловом контакте с медным слоем демпфирования/теплоконденсатора (см. фиг. 2), и действующий на вторичный ТЭО. Чтобы должным образом поддерживать тепловые характеристики системы, управляя температурой этого медного слоя, так называемой температурой "обратной стороны", был найден другой набор параметров настройки ПИД-регулирования. Этот контур управления имел значительно меньшую полосу пропускания, чем первичный контур управления ТЭО, как и ожидалось. PSoC и соответствующая ему программа также позволяют иметь множественные заданные точки температуры обратной стороны, что полезно при максимизации характеристики линейной скорости, поддерживая первичный ТЭО работающим в оптимально эффективном тепловом режиме.

На фиг. 7 показан примерный термоцикл от температуры реакционного сосуда, графики, измеренные для термоцикла от 50°C→95°C→50°C под управлением контура с обратной связью. Скорости нагревания и охлаждения в контуре с обратной связью составляют $\sim 7^\circ\text{C}/\text{с}$. Прямоугольная кривая является требуемой заданной точкой температуры, а другая кривая - измеренной температурой реакционного сосуда. Было определено, что тепловой КПД первичного ТЭО был самым высоким при разности температур между трубкой ПЦР и обратной стороной не выше 30°C, поэтому температурой обратной стороны управляли так, чтобы она была 65°C при нагревании до максимальной температуры (95°C на трубке ПЦР) и 45°C при охлаждении трубки ПЦР до 50°C (см. кривую). Когда температура первичного ТЭО линейно выросла до более высокой температуры, температура обратной стороны могла медленно и управляемо доводиться до более низкой температуры в ожидании следующего термоцикла (см. кривую). Эта схема аналогична использованию ТЭО обратной стороны для того, чтобы должным образом нагрузить "тепловую пружину", действующую на первичный ТЭО, и применима для использования с системами ПЦР, поскольку тепловой профиль, применяемый для конкретного анализа ПЦР, априорно известен разработчику анализа. Заметим, что линейная скорость в контуре с обратной связью для стабильного и повторяющегося нагревания и охлаждения составляет $\sim 6,5$ с для диапазона 45°C, как показано для десяти последовательных термоциклов, представленных на фиг. 8, соответствующих истинной линейной скорости в контуре с обратной связью $\sim 7^\circ\text{C}/\text{с}$ как для нагревания, так и для охлаждения. Характеристики поддерживаются на протяжении множества циклов во всем диапазоне термоциклирования.

Д. Эксперименты по определению надежности на начальном и конечном этапах.

Типичный анализ ПЦР имеет примерно 40 термоциклов от температуры отжига ($\sim 65^\circ\text{C}$) до температуры денатурализации ДНК ($\sim 95^\circ\text{C}$) и обратно к температуре отжига. Для оценки надежности модуль-прототип циклировали между 50°C (порядка минимальных температур, используемых для экспериментов с ПЦР) и 95°C, с десятисекундным временем выдержки при каждой температуре, чтобы позволить системе достигнуть теплового равновесия.

На фиг. 9 показано сравнение первых и последних 5 циклов из теста с 5000 циклов. Заметим, что ось времени кривой справа соответствует диапазону с малой выборкой данных; 5000 циклов заняли приблизительно 2 дня. Этот модуль с тех пор циклировали более 10000 раз с сохраняющимися характеристиками. Как можно видеть, характеристики термоциклирования для циклов 1-5 (слева) остаются постоянными после 5000 циклов (циклы 4995-5000 справа), и нет никаких изменений в тепловых характеристиках между начальными и конечными циклами. Это вселяет надежду по двум причинам. Во-первых, параметры контура с обратной связью для быстрого нагревания/охлаждения довольно стабильны при повторяющемся термоциклировании. Даже малая тепловая нестабильность ведет к дрейфу в измеренных температурных кривых как для первичного ТЭО, так и для ТЭО обратной стороны, быстро возрастаая до теплового разгона (который может вызывать отказ встроенного программного обеспечения с замыканием и перегрузкой по току). Должным образом настроенные системы не показывали такого поведения, демонстрируя устойчивость системы. Во-вторых, тепловой КПД модуля остается стабильным на протяжении свыше 5000 циклов. Действительно, этот блок впоследствии прошел термоциклирование >10000 раз без катастрофического отказа или постепенного ухудшения характеристик.

Е. Альтернативные конструкции.

Разнообразие в конструкции модулей может вызвать незначительные различия в характеристиках устройства. Например, существующие модули собирают вручную, с механически обработанными теплоотводами и промежуточными медными слоями, и все компоненты соединяют вместе вручную, используя проводящую эпоксидную смолу. Вариация толщины эпоксидной смолы или создание малых углов между компонентами внутри слоистой конструкции модуля приводит к различию в тепловых характеристиках. Наиболее важно, что термисторы также прикрепляют к керамике, используя теплопроводящую эпоксидную смолу. Малые зазоры между термистором и керамикой ведут к ошибкам между задаваемой и измеряемой температурами.

В некоторых вариантах осуществления тепловое устройство содержит поверхность нагревания и охлаждения (например, описанное здесь устройство ТЭО) на каждой главной поверхности (противоположных сторонах) реакционного сосуда. В таких вариантах осуществления оптическое обнаружение может выполняться вдоль малой поверхности (например, кромки). В некоторых вариантах осуществления оптическое обнаружение выполняют вдоль первой малой поверхности, а оптическое возбуждение выполняют вдоль второй малой поверхности, ортогональной к первой малой поверхности. Такие варианты осуществления могут быть особенно полезны, когда необходимы нагревание и охлаждение больших объемов текучей среды (жидкие образцы объемом больше 25 мкл).

В некоторых вариантах осуществления модули устройства термоуправления используют специальное устройство Пельтье, содержащее встроенный термистор поверхностного монтажа, установленный на нижней стороне керамической пластины в контакте с реакционным сосудом. Крошечный термистор в корпусе 0201 (0,60 (длина)×0,30 (ширина)×0,23 (высота) мм) может использоваться для минимизации конвекции в устройстве Пельтье, приводя к вариации температуры, ограничиваемой толщиной детали. Кроме того, поскольку тепловым контактом и положением термисторов поверхностного монтажа можно точно управлять, эти детали будут иметь очень единообразные, пригодные для характеристики разности между измеренной и фактической температурами керамики. В некоторых вариантах осуществления устройство термоуправления может содержать устройства Пельтье, специально сконструированные для того, чтобы полностью встраиваться в модуль нагревания/охлаждения с использованием методов массового производства полупроводников (машины типа "бери и ставь" и пайка оплавлением). Промежуточная медная подложка может быть заменена на печатную плату теплового интерфейса Бергквиста (медная подложка толщиной 1 мм), которая имеет точно контролируемые толщину меди и размеры пластины. Подложки Бергквиста будут также обеспечивать выводы пластины для термистора обратной стороны и всех входных и выходных электрических соединений модуля. Устройство Пельтье обратной стороны останется устройством, аналогичным используемому в настоящее время. Наконец, весь узел ТЭО может быть герметизирован в силиконе, чтобы сделать его водостойким. В некоторых вариантах осуществления алюминевый монтажный кронштейн может также удваивать действие теплоотвода.

Г. Примерные команды управления термоциклированием устройства-прототипа.

1. Краткий обзор.

Система может включать в себя, например на записываемом запоминающем устройстве системы, список команд, которые могут выполняться в системе, чтобы осуществлять работу устройства термоуправления в соответствии с описанными здесь принципами. Эти команды являются основными функциями, которые могут добавляться вместе в блоки, чтобы выстраивать конечные функциональные возможности для выполнения нагревания/охлаждения и оптического обнаружения в реакционном сосуде. Оптические блоки могут иметь 5 различных светодиодов и 6 фотодетекторов (идентифицированных по цвету), наряду с малогабаритным термоэлектрическим охладителем (ТЭО) для поддержания температуры светодиодов. Аппаратными средствами термоциклирования является модуль с двумя ТЭО. Команды разделяются по функциям термоциклирования и оптического исследования.

2. Команды термоциклирования.

Для ясности, на фиг. 1 схематично показан используемый для ПЦР узел с двумя ТЭО. Заметим, что первичный ТЭО взаимодействует с реакционным сосудом, а вторичный ТЭО управляет общим тепловым КПД системы, чтобы оптимизировать характеристики. Температуру первичного ТЭО контролируют, используя первичный термистор, а вторичный термистор контролирует вторичный ТЭО.

На фиг. 2 схематично показано устройство термоуправления в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, в частности конструкция с двумя ТЭО описанного здесь прототипа. Температура реакционного сосуда ПЦР (измеряемая термистором (16), заштрихованный эллипс) определяется первичным ТЭО и управляется контуром во встроенном программном обеспечении PSoC. Оптимальный тепловой КПД первичного ТЭО поддерживается вторым термистором (16') (заштрихованный эллипс), находящимся в тепловом контакте с медным слоем, сигнал которого подается во вторичный контур PSoC, управляющий вторым ТЭО. На фиг. 11 показаны подъем и спад заданных точек, связанных с первым и вторым термисторами.

SETPOINT1: заданная точка температуры (выраженная в 1/100°C) для первичного ТЭО. Формат XXXX.

SETPOINT2: заданная точка температуры (выраженная в $1/100^{\circ}\text{C}$) для вторичного ТЭО. Формат XXXX.

PGAINR1: установка коэффициента усиления контура Р управления для первичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

IGAINR1: установка коэффициента усиления контура I управления для первичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

DGAINR1: установка коэффициента усиления контура D управления для первичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

PGAINR2: установка коэффициента усиления контура D управления для вторичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

IGAINR2: установка коэффициента усиления контура I управления для вторичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

DGAINR2: установка коэффициента усиления контура D управления для вторичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

PGAINF1: Установка коэффициента усиления контура Р управления для первичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

IGAINF1: установка коэффициента усиления контура I управления для первичного ТЭО для УМЕНЬШЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

DGAINF1: установка коэффициента усиления контура D управления для первичного ТЭО для УМЕНЬШЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

PGAINF2: установка коэффициента усиления контура Р управления для вторичного ТЭО для УМЕНЬШЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

IGAINF2: установка коэффициента усиления контура I управления для вторичного ТЭО для УМЕНЬШЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

DGAINF2: установка коэффициента усиления контура D управления для вторичного ТЭО для УМЕНЬШЕНИЯ температур. 4 чертежа с сигналами.

DELTARISE: разница по времени (в мс) между заданными точками температуры первичного и вторичного ТЭО для УВЕЛИЧЕНИЯ температуры, как показано выше. Для положительных значений DELTARISE активированная заданная точка для вторичного ТЭО увеличивается на вводимое пользователем заранее значение шага температуры для первичного ТЭО. Отрицательные значения DELTARISE увеличивают заданную точку вторичного ТЭО после того, как первичный ТЭО активирован. Формат XXXX.

DELTAFAIL: разница по времени (в мс) между заданными точками температуры первичного и вторичного ТЭО для УМЕНЬШЕНИЯ температуры, как показано выше. Для положительных значений DELTAFAIL активированная заданная точка для вторичного ТЭО увеличивается на вводимое пользователем заранее значение шага температуры для первичного ТЭО. Отрицательные значения DELTAFAIL увеличивают заданную точку вторичного ТЭО после того, как первичный ТЭО активирован. Формат XXXX.

SOAKTIME: время (в мс), указываемое для того, чтобы позволить реакционному сосуду достигнуть теплового равновесия с модулем ТЭО. Во время выдержки не должны выполняться никакие оптические считывания. Формат XXXXX.

HOLDTME: время (в мс), указываемое после каждого шага температуры, выделенное на проведение оптических считываний во время стандартного термоциклирования. Формат XXXXXX.

RAMPOS: скорость линейного изменения в установившемся состоянии, указываемая пользователями (в десятых долях градуса/с). Должна использоваться только для действующих анализов, чтобы замедлить линейные скорости повышения до меньших скоростей, чем максимально достижимые при стандартном ПИД-управлении. Формат XXX.

RAMPNEG: скорость линейного изменения в установившемся состоянии, указываемая пользователями (в десятых долях градуса/секунды). Должна использоваться только для действующих анализов, чтобы замедлить линейные скорости снижения до меньших скоростей, чем максимально достижимые при стандартном ПИД-управлении. Формат XXX.

WAITTRIGGER: помещает ICORE в бездействующее состояние, пока не будет принят внешний импульс запуска.

ADDTRIGGER: добавляет внешний импульс запуска после того, как этап завершен.

MANUAL TRIGGER: подает импульс запуска вручную.

FANPCR: бит включения/выключения для вентилятора(ов), находящегося (находящихся) с обратной стороны теплоотвода на модуле с двумя ТЭО для ПЦР.

3. Оптические команды.

SETPOINT3: заданная точка температуры (в $1/100$ долях $^{\circ}\text{C}$) ТЭО оптического блока. Формат XXXX.

PGAIN3: установка коэффициента усиления в контуре Р управления для ТЭО оптики. 4 чертежа с сигналами.

IGAIN3: установка коэффициента усиления в контуре I управления для ТЭО оптики. 4 чертежа с сигналами.

DGAIN3: установка коэффициента усиления в контуре D управления для ТЭО оптики. 4 чертежа с сигналами.

FANOPTICS: бит включения/выключения для вентилятора, находящегося с обратной стороны теплоотвода на ТЭО оптического блока.

Значения матрицы для оптических считываний приводятся для каждой пары светодиод/детектор. Действительные флуоресцентные каналы показаны разным цветом для соответствующих светодиодов. Более подробно смотрите ниже в табл.2.

Таблица 2. Каналы флуоресценции для оптического обнаружения

Светодиод/ детектор	0 (синий)	1 (зеленый)	2 (желтый)	3 (красный)	4 (темнокрасный)	5 (ИК)
0 (УФ)						
1 (синий)	10	11	12	13	14	15
2 (зеленый)	20	21	22	23	24	25
3 (желтый)	30	31	32	33	34	35
4 (красный)	40	41	42	43		

READCHANNEL: указывает, какая пара(ы) светодиод/детектор считываются при каждом оптическом считывании. Размещает строку между 1 и 30 матричными парами, разделенными пробелом. Например, командой считать детекторы темно-красного цвета (Deep Red) и ИК с освещением красным светодиодом будет "READCHANNEL 44 45". Флуоресцентные сигналы создаются только на более длинных длинах волн, чем цвет возбуждения; действительные сигналы показываются в цвете для каждого светодиода, указанного в приведенной выше таблице.

READFLUORESCENCE 0: считывает все соответствующие детекторы для УФ-возбуждения (00, 01, 02, 03, 04 и OS).

READFLUORESCENCE 1: считывает все соответствующие детекторы для синего возбуждения (11, 12, 13, 14 и 15).

READFLUORESCENCE 2: считывает все соответствующие детекторы для зеленого возбуждения (22, 23, 24 и 25).

READFLUORESCENCE 3: считывает все соответствующие детекторы для желтого возбуждения (33, 34 и 35).

READFLUORESCENCE 4: считывает все соответствующие детекторы для красного возбуждения (44 и 45).

LEDWU: время прогрева светодиодов перед началом оптического считывания (в мс). Формат XXXX.

OPTICSINT: время интегрирования для оптического считывания (в мс). Формат XXXX.

PLL: бит включения/выключения для режима фазовой автоподстройки (иначе известного как режим AC). Импульсы в режиме AC запускают светодиоды на фиксированной частоте (формируемые в PSoC), и детекторы считывают, используя схему фазовой автоподстройки.

LEDCURRENT X: устанавливает ток светодиода (в mA), XXXX. Пример формата: LEDCURRENT 0 300: устанавливает УФ светодиод на 300 mA. Когда режим AC разрешен (PLL включен), LEDCURRENT устанавливает уровень смещения по постоянному току для тока светодиода, на который накладывается импульс.

LEDSLEWDEPTH X: только для режима AC, LEDSLEWDEPTH устанавливает амплитуду переменноточковой (AC) компоненты сигнала возбуждения светодиода (в mA). Глубина пропуска указывается как величина между средним и максимальным током, подаваемым на светодиод, и используется в сочетании с командой LEDCURRENT. Например, чтобы привести в действие красный светодиод с помощью симметричного импульса в диапазоне 0-100 mA, существует смещение по постоянному току на 50 mA (LEDCURRENT 4 SO) и импульс ± 50 mA (LEDSLEWDEPTH 4 50).

LEDPULSESHAPE X: определяет форму входного тока возбуждения для светодиода в режиме AC (синусоидальный, треугольный, дельта-функция, другая форма).

G. Подход с тепловым моделированием для управления термоциклированием.

По другой особенности устройство термоуправления может быть выполнено с возможностью управления температурой на основании теплового моделирования. Эта особенность может использоваться в устройстве термоуправления, выполненном с возможностью одностороннего нагрева или двухстороннего нагрева. В некоторых вариантах осуществления такие устройства содержат первый термоэлектрический охладитель и другое устройство терморегулирования, каждое из которых связано с контроллером, управляющим первым термоэлектрическим охладителем скоординированно с устройством

вом терморегулирования, чтобы улучшить управление, скорость и КПД при нагревании и/или охлаждении с помощью первого термоэлектрического охладителя. Следует понимать однако, что эта особенность с тепловым моделированием может быть введена в средства управления любой из описанных здесь конфигураций.

Пример такого подхода проиллюстрирован на диаграмме модели состояний, показанной на фиг. 11. На этой фигуре показана модель семи состояний для использования с односторонней версией устройства термоуправления. Эта модель применяет электрические теории для моделирования тепловой системы реального мира по температуре, которые включают температуры поверхностей термоэлектрического охладителя, реакционного сосуда и образца текучей среды внутри реакционного сосуда. На диаграмме показаны семь состояний модели и три измеренных состояния, используемые в алгоритме Калмана, чтобы достигнуть оптимальной оценки содержимого реакционного сосуда, предполагая, что это вода.

В модели цепи по фиг. 11 конденсаторы представляют собой материальную тепловую емкость, резисторы представляют собой материальную теплопроводность, напряжение на каждом конденсаторе и источнике представляют собой температуру, а источник тока представляет собой тепловую энергию, вводимую от термоэлектрического охладителя (ТЭО) передней стороны, прилегающего к поверхности реакционного сосуда. В этом варианте осуществления входами в модель являются температура ТЭО обратной стороны, которая может быть спрогнозирована из модели T1-T7, подвод тепла (Ватт) к термоэлектрическому охладителю передней стороны и температура "Блока", расположенного прилегающим к противоположной поверхности сосуда. Это завершает модельную часть алгоритма. Как ранее замечено, алгоритмы Калмана обычно используют модель в сочетании с измеренным сигналом/сигналами датчиков, которые также являются частью выходов модели. Здесь измеренные сигналы термистора, преобразованные в температуру, используются для термоэлектрического охладителя передней стороны, а также для термоэлектрического охладителя обратной стороны. Для случая измеренной температуры обратной стороны он не является выходом модели, но принимается, что они одинаковы. Одной из причин такого предположения является то, что R1 пренебрежимо малым с точки зрения общей теплопроводности.

На фиг. 12 показана система одностороннего нагрева и охлаждения, которая демонстрирует высокий уровень точности этой модели, когда сочетается с методами оптимальной оценки. Входы модели (измеренная T1, температура блока и подвод в Ваттах от термоэлектрического охладителя передней стороны) показаны вместе с фактическими измеренными значениями (измеренная T1, измеренная T3, измеренная T5 и температура блока), которые используются для точной настройки параметров R и C так, чтобы все прогнозируемые и измеренные кривые перекрываются при работе модели.

Как явно видно из этого графика, можно получить очень точную и реалистично спрогнозированную температуру реакционного сосуда, которая может затем использоваться в качестве обратной связи в контуре термоуправления с обратной связью. Эти данные также указывают на возможность знать, как температура меняется динамически в ходе фаз нагрева и охлаждения процесса, и влияние температуры окружающей среды на заданные точки термоуправления, необходимые для создания конкретной температуры реакционного сосуда. Эти признаки оказались мощными инструментами для будущих усилий по анализу и разработке прибора. Дополнительно, хотя показанная здесь модель действительна для системы одностороннего нагрева/охлаждения, эта концепция может быть расширена, чтобы учесть модуль двухстороннего активного нагрева/охлаждения.

Для подтверждения правильности может использоваться инструментальный реакционный сосуд, в котором в реакционную камеру сосуда вставлена термopара. Подтверждение правильности может быть осуществлено путем выполнения ряда экспериментов, где начальные условия для значений C и R берутся из известных физических свойств материалов.

Здесь также предусмотрены способы термоциклирования в соответствии с вариантами осуществления изобретения, как показано в примерах на фиг. 13-15. Способ, изображенный на фиг. 13, включает в себя: осуществление работы первого термоэлектрического охладителя, имеющего активную поверхность и базовую поверхность, с нагреванием и/или охлаждением активной поверхности от начальной температуры до целевой температуры; осуществление работы другого устройства терморегулирования (например, термоэлектрического охладителя, нагревателя, холодильника) так, чтобы повышать КПД первого термоэлектрического охладителя по мере того, как температура активной поверхности первого термоэлектрического охладителя изменяется от начальной температуры до требуемой целевой температуры; термоциклирование между режимом нагрева, в котором активная поверхность первого термоэлектрического устройства нагревается до повышенной целевой температуры, и режимом охлаждения, в котором активная поверхность охлаждается до пониженной целевой температуры. Способ дополнительно включает управление термоциклированием с помощью одного из двух подходов. При первом подходе термоциклированием управляют, по меньшей мере частично, основываясь на температуре, полученной на или вблизи активной поверхности первого термоэлектрического охладителя. При втором подходе управление термоциклированием основано, по меньшей мере частично, на тепловой модели температуры образца текучей среды внутри реакционного сосуда, расположенного вдоль или вблизи активной поверхности первого термоэлектрического охладителя.

На фиг. 14 показан способ, который включает осуществление работы первого термоэлектрического

охладителя, имеющего активную поверхность и базовую поверхность, с нагреванием и/или охлаждением активной поверхности от начальной температуры до целевой температуры, и осуществление работы второго термоэлектрического охладителя, имеющего активную поверхность, связанную по теплу с первым термоэлектрическим охладителем так, чтобы повысить КПД первого термоэлектрического охладителя по мере того, как температура активной поверхности первого термоэлектрического охладителя изменяется от начальной температуры до требуемой целевой температуры. Как описано ранее, вместо второго термоэлектрического охладителя может использоваться устройство терморегулирования, такое как терморезистивный нагреватель. Как правило, такие способы дополнительно включают циклирование между режимом нагревания, в котором активная поверхность первого термоэлектрического устройства нагревается до повышенной целевой температуры, и режимом охлаждения, в котором активная поверхность охлаждается до пониженной целевой температуры. В некоторых вариантах осуществления способы включают демпфирование тепловых флуктуаций между режимами нагревания и охлаждения и накопление тепловой энергии теплоконденсатором или термопрокладкой, который(ая) содержит слой с повышенной теплопроводностью по сравнению с активной и базовой поверхностями первого и второго термоэлектрических охлаждающих устройств соответственно. Такие способы могут дополнительно включать использование контура управления, использующего входные сигналы от датчиков температуры активной поверхности и/или термопрокладки, чтобы дополнительно улучшить скорость и КПД при циклировании.

На фиг. 15 представлен способ, который включает в себя осуществление работы устройства термоуправления с первым и вторым термоэлектрическими охладителями с теплоконденсатором между ними, причем каждый из первого и второго термоэлектрических охладителей имеет активную поверхность и базовую поверхность, и нагревание активной поверхности первого термоэлектрического охладителя. Такие способы могут дополнительно использовать устройство терморегулирования, такое как терморезистивный нагреватель, вместо второго термоэлектрического охладителя. В этом случае способ включает: охлаждение базовой поверхности первого термоэлектрического охладителя с помощью второго термоэлектрического охладителя и теплоконденсатора и охлаждение активной поверхности первого термоэлектрического охладителя, затем нагревание базовой поверхности первого термоэлектрического охладителя с помощью второго термоэлектрического охладителя и теплоконденсатора. Такие способы могут дополнительно использовать теплоконденсатор или термопрокладку между термоэлектрическими охладителями, чтобы дополнительно улучшить скорость и КПД при термоциклировании.

В приведенном выше описании изобретение описано со ссылкой на конкретные варианты его осуществления, но специалисты в данной области техники поймут, что изобретение не ограничено ими. Различные признаки, варианты осуществления и особенности описанного выше изобретения могут использоваться по отдельности или совместно. Дополнительно изобретение может быть применено в любом числе сред и приложений, помимо описанных здесь, без отступления от более широких сущности и объема описания изобретения. Описание и чертежи должны соответственно рассматриваться как иллюстративные, а не ограничительные. Признается, что используемые здесь термины "содержащий", "включающий" и "имеющий" специально предназначены читаться как общепринятые термины, означающие открытый перечень.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устройство термоуправления, содержащее
 - первый термоэлектрический охладитель, имеющий активную поверхность и базовую поверхность;
 - второй термоэлектрический охладитель, имеющий активную поверхность и базовую поверхность;
 - теплоконденсатор, помещенный между первым и вторым термоэлектрическими охладителями так, что базовая поверхность первого термоэлектрического охладителя связана по теплу с активной поверхностью второго термоэлектрического охладителя через теплоконденсатор, причем теплоконденсатор образован из слоя теплопроводного материала с большей теплопроводностью, чем теплопроводность активных поверхностей и базовых поверхностей первого и второго термоэлектрических охладителей;
 - первый датчик температуры, предназначенный для восприятия первой температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя;
 - второй датчик температуры, предназначенный для восприятия второй температуры теплоконденсатора; и
 - контроллер, функционально связанный с каждым из первого и второго термоэлектрических охладителей, причем контроллер выполнен с возможностью осуществления работы второго термоэлектрического охладителя одновременно с первым термоэлектрическим охладителем так, чтобы повышать КПД первого термоэлектрического охладителя по мере того, как температура активной поверхности первого термоэлектрического охладителя изменяется от начальной температуры до требуемой целевой температуры, причем первый и второй датчики температуры связаны с контроллером так, что работа первого и второго термоэлектрических охладителей основана, по меньшей мере частично, на входных сигналах от первого датчика температуры и второго датчика температуры,
 - причем контроллер выполнен с возможностью осуществления работы первого термоэлектрического

охладителя согласно первичному контуру управления, в который подается входной сигнал первого датчика температуры, и выполнен с возможностью осуществления работы второго термоэлектрического охладителя согласно вторичному контуру управления, в который подается входной сигнал второго датчика температуры,

причем первичный контур управления выполнен с возможностью циклирования между режимом нагревания первого термоэлектрического охладителя, в котором активная поверхность первого термоэлектрического охладителя нагревается до повышенной целевой температуры, и режимом охлаждения первого термоэлектрического охладителя, в котором активная поверхность первого термоэлектрического охладителя охлаждается до пониженной целевой температуры, и одновременно вторичный контур управления выполнен с возможностью циклирования между режимом нагревания и режимом охлаждения второго термоэлектрического охладителя,

причем во время режима нагревания и режима охлаждения второго термоэлектрического охладителя вторичный контур управления опережает или отстает от первичного контура управления по времени так, что температура теплоконденсатора изменяется во время одновременного циклирования первого и второго термоэлектрических охладителей так, что теплоконденсатор облегчает управляемое накопление и отдачу тепловой энергии для повышения скорости и КПД теплового циклирования активной поверхности первого термоэлектрического охладителя.

2. Устройство по п.1, в котором теплоконденсатор является слоем меди толщиной примерно 5 мм или менее.

3. Устройство по п.1, в котором теплоконденсатор является слоем меди толщиной примерно 1 мм или менее.

4. Устройство по п.1, в котором контроллер выполнен так, что отклик в полосе пропускания первичного контура управления является по времени более быстрым, чем отклик в полосе пропускания вторичного контура управления.

5. Устройство по п.1, в котором контроллер выполнен так, что вторичный контур управления переключает второй термоэлектрический охладитель между режимами нагревания и охлаждения прежде, чем первый контур управления переключится между нагреванием и охлаждением, чтобы нагружать теплом теплоконденсатор.

6. Устройство по п.1, в котором любое из:

вторичный контур управления поддерживает температуру теплоконденсатора в пределах примерно 40°C от температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя;

контроллер выполнен так, что КПД первого термоэлектрического охладителя поддерживается за счет работы второго термоэлектрического охладителя, так что нагревание и охлаждение с помощью активной поверхности первого термоэлектрического охладителя происходит со скоростью в пределах 10°C в секунду или менее; и

повышенная целевая температура составляет примерно 90°C или более, а пониженная целевая температура составляет примерно 40°C или менее.

7. Устройство по п.1, дополнительно содержащее

теплоотвод, связанный с базовой поверхностью второго термоэлектрического охладителя, чтобы предотвратить тепловой разгон во время циклирования.

8. Устройство по п.7, имеющее толщину от активной поверхности первого термоэлектрического охладителя до противоположной стороны теплоотвода примерно 20 мм или менее.

9. Устройство по п.8, имеющее лежащие в плоскости размеры устройства термоуправления с длиной примерно 45 мм или менее и шириной примерно 20 мм или менее.

10. Устройство по п.7, имеющее лежащие в плоскости размеры с длиной примерно 40 мм и шириной примерно 12,5 мм.

11. Устройство по п.1, в котором активная поверхность первого термоэлектрического охладителя составляет примерно 11 мм на 13 мм.

12. Устройство по п.11, предназначенное для взаимодействия с реакционным сосудом для термоциклирования реакционного сосуда на одной его стороне, чтобы обеспечить возможность оптического обнаружения целевого анализа с противоположной стороны реакционного сосуда.

13. Система терморегулирования, содержащая

два или более устройства термоуправления, каждое по п.1; и

приспособление, предназначенное для попеременного расположения упомянутых двух или более устройств термоуправления в активном местоположении для эффективного циклирования нагревания и/или охлаждения соответствующим устройством термоуправления и выборочного переключения между упомянутыми двумя или более устройствами термоуправления.

14. Способ управления температурой, содержащий

осуществление работы первого термоэлектрического охладителя, имеющего активную поверхность и базовую поверхность, причем первый термоэлектрический охладитель выполнен с возможностью нагрева активной поверхности от начальной температуры до повышенной целевой температуры и выпол-

нен с возможностью охлаждения активной поверхности до пониженной целевой температуры относительно повышенной целевой температуры, и причем во время нагрева и охлаждения первого термоэлектрического охладителя первый термоэлектрический охладитель выполнен с возможностью работы с первичным контуром управления, причем первичный контур управления принимает первый входной сигнал температуры от первого датчика температуры, предназначенного для восприятия температуры на или вблизи активной поверхности первого термоэлектрического охладителя; и

осуществление работы второго термоэлектрического охладителя, имеющего активную поверхность и базовую поверхность, причем активная поверхность второго термоэлектрического охладителя связана по теплу с базовой поверхностью первого термоэлектрического охладителя через теплоконденсатор, причем теплоконденсатор имеет большую теплопроводность, чем теплопроводность активной поверхности и базовой поверхности первого и второго термоэлектрических охладителей, причем второй термоэлектрический охладитель выполнен с возможностью работы с вторичным контуром управления, где вторичный контур управления принимает второй входной сигнал температуры от второго датчика температуры, предназначенного для восприятия температуры теплоконденсатора; и

циклирование между режимом нагревания первого термоэлектрического охладителя, в котором активная поверхность первого термоэлектрического охладителя нагревается до повышенной целевой температуры, и режимом охлаждения первого термоэлектрического охладителя, в котором активная поверхность первого термоэлектрического охладителя охлаждается до пониженной целевой температуры, и одновременное циклирование между режимом нагревания и режимом охлаждения второго термоэлектрического охладителя,

причем во время режима нагревания и режима охлаждения второго термоэлектрического охладителя вторичный контур управления опережает или отстает от первичного контура управления по времени так, что температура теплоконденсатора изменяется во время одновременного циклирования первого и второго термоэлектрических охладителей так, что теплоконденсатор облегчает управляемое накопление и отдачу тепловой энергии для повышения скорости и КПД теплового циклирования активной поверхности первого термоэлектрического охладителя.

15. Способ по п.14, в котором

контроллер выполнен так, что отклик в полосе пропускания первичного контура управления является более быстрым, чем отклик в полосе пропускания вторичного контура управления.

16. Способ по п.14, дополнительно содержащий

поддержание температуры теплоконденсатора в пределах примерно 40°C от температуры активной поверхности первого термоэлектрического охладителя посредством управляемой работы второго термоэлектрического охладителя во время циклирования первого термоэлектрического охладителя так, чтобы поддерживать КПД первого термоэлектрического охладителя во время циклирования.

17. Способ по п.16, в котором КПД первого термоэлектрического охладителя поддерживают за счет работы второго термоэлектрического охладителя так, что нагревание и/или охлаждение с помощью активной поверхности первого термоэлектрического охладителя происходит со скоростью в пределах 10°C в секунду или менее.

18. Способ по п.14, причем способ дополнительно содержит

осуществление работы теплоотвода, связанного с базовой поверхностью второго термоэлектрического охладителя, во время циклирования первым и вторым термоэлектрическими охладителями с тем, чтобы предотвратить тепловой разгон.

19. Способ термоциклирования в процессе полимеразной цепной реакции, содержащий

взаимодействие устройства термоуправления по п.1 с реакционным сосудом с находящимся в нем образцом для выполнения полимеразной цепной реакции для амплифицирования целевого полинуклеотида так, что активная поверхность первого термоэлектрического охладителя термически взаимодействует с реакционным сосудом; и

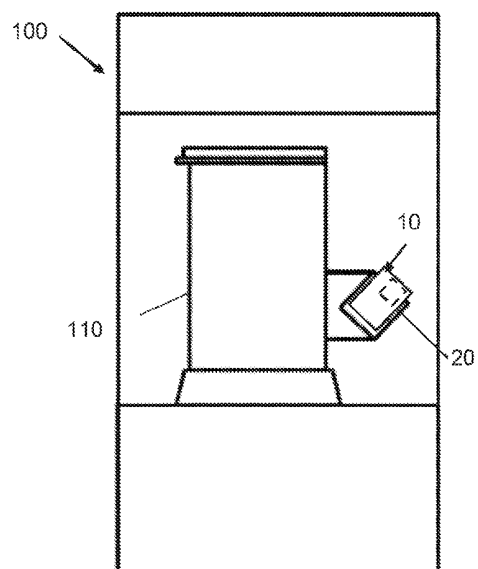
термоциклирование устройства термоуправления в соответствии с конкретным протоколом для амплифицирования целевого полинуклеотида.

20. Способ по п.19, в котором взаимодействие устройства термоуправления с реакционным сосудом содержит соприкосновение активной поверхности первого термоэлектрического охладителя с одной стороной реакционного сосуда, так что противоположная сторона остается незакрытой устройством термоуправления, чтобы обеспечить возможность оптического обнаружения с противоположной стороны.

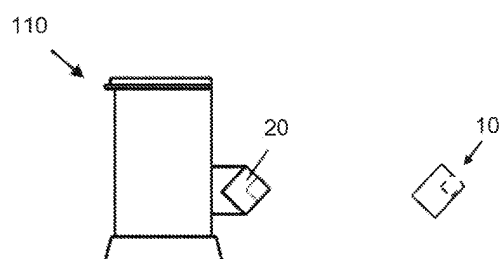
21. Способ по п.19, в котором

каждый из режима нагревания и режима охлаждения имеет один или более рабочих параметров, причем эти один или более рабочих параметров асимметричны между режимом нагревания и охлаждением; или

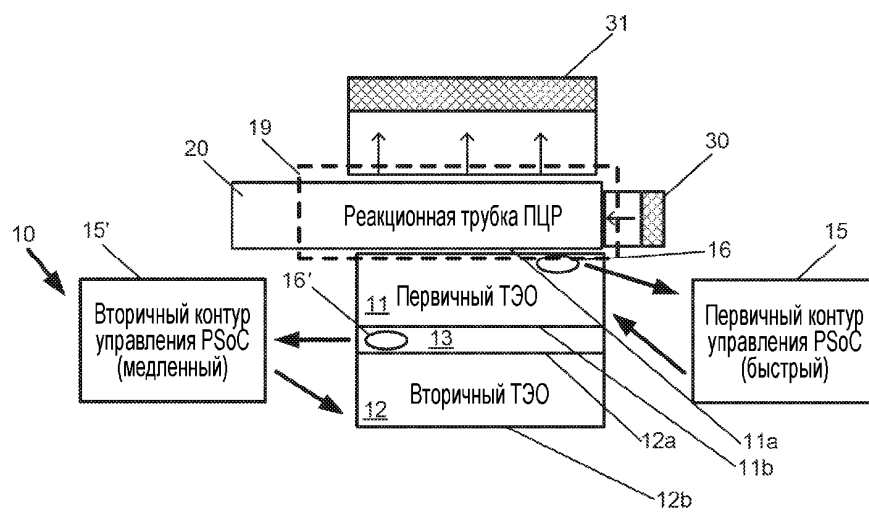
каждый из режима нагревания и режима охлаждения имеет полосу пропускания и коэффициент усиления контура, при этом полоса пропускания и коэффициенты усиления контура в режиме нагревания и режиме охлаждения различны.



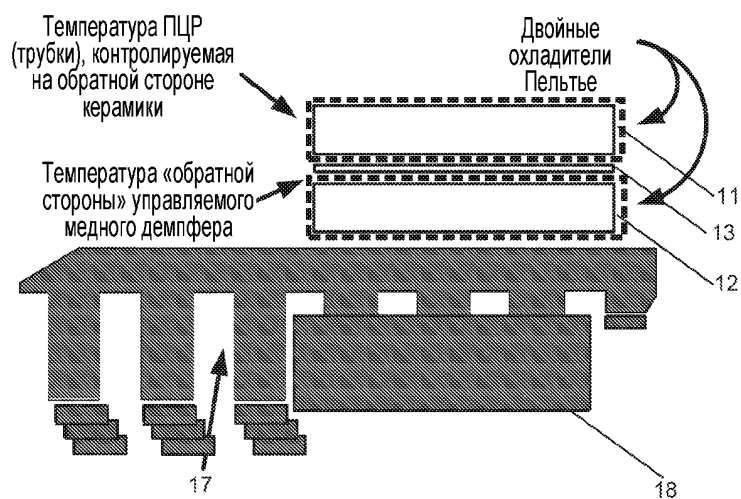
Фиг. 1А



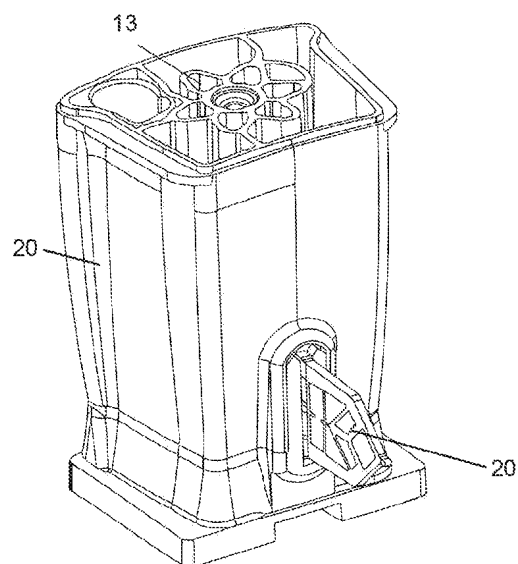
Фиг. 1В



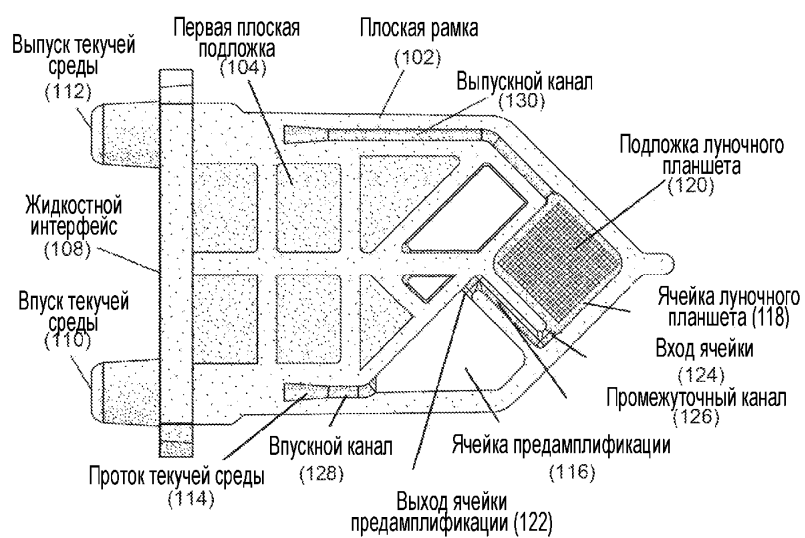
Фиг. 2



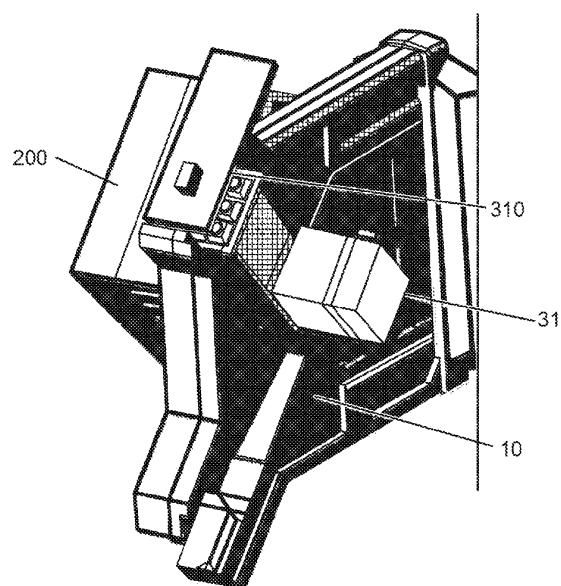
Фиг. 3



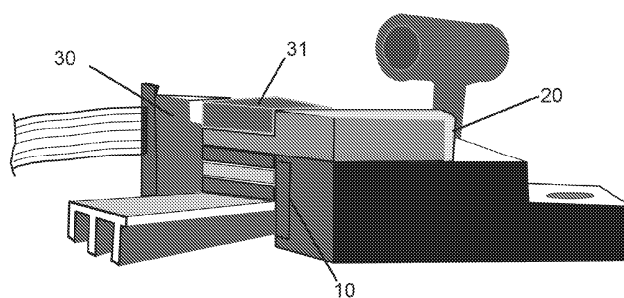
Фиг. 4А



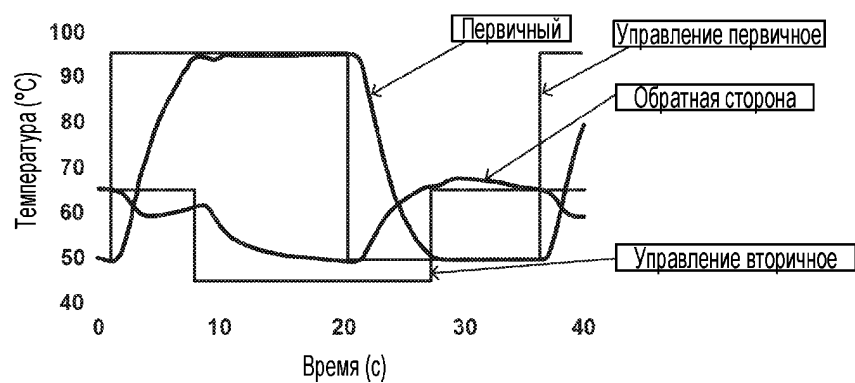
Фиг. 4В



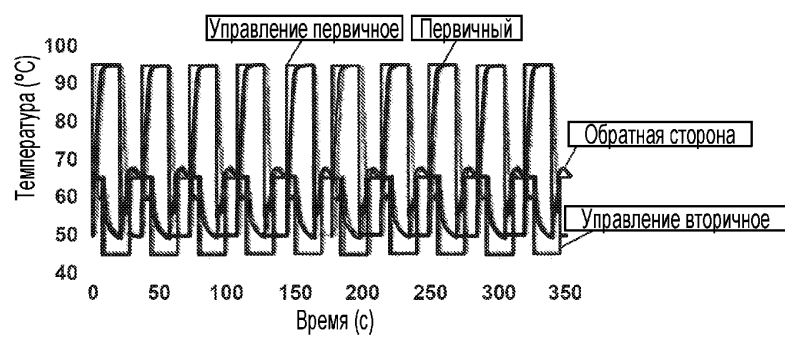
Фиг. 5



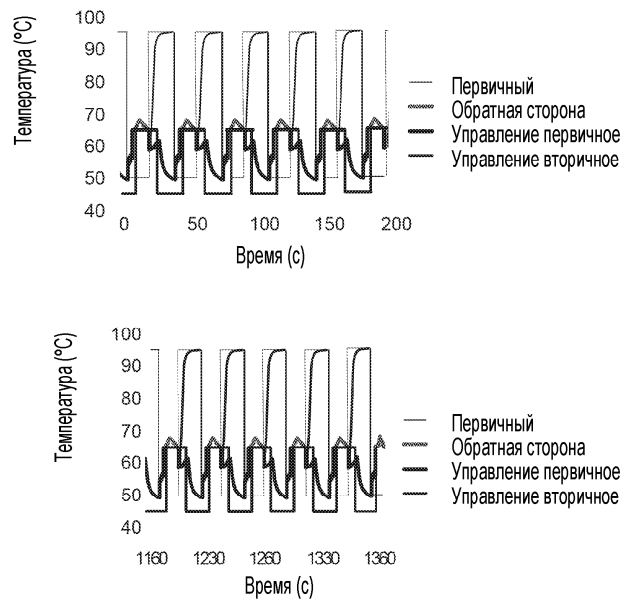
Фиг. 6



Фиг. 7

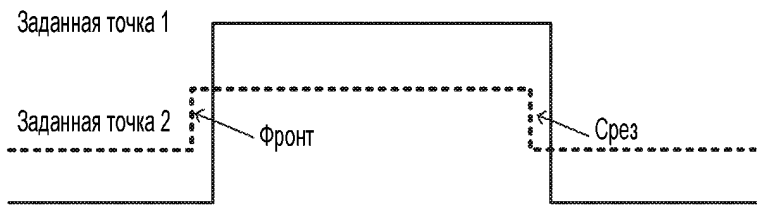


Фиг. 8

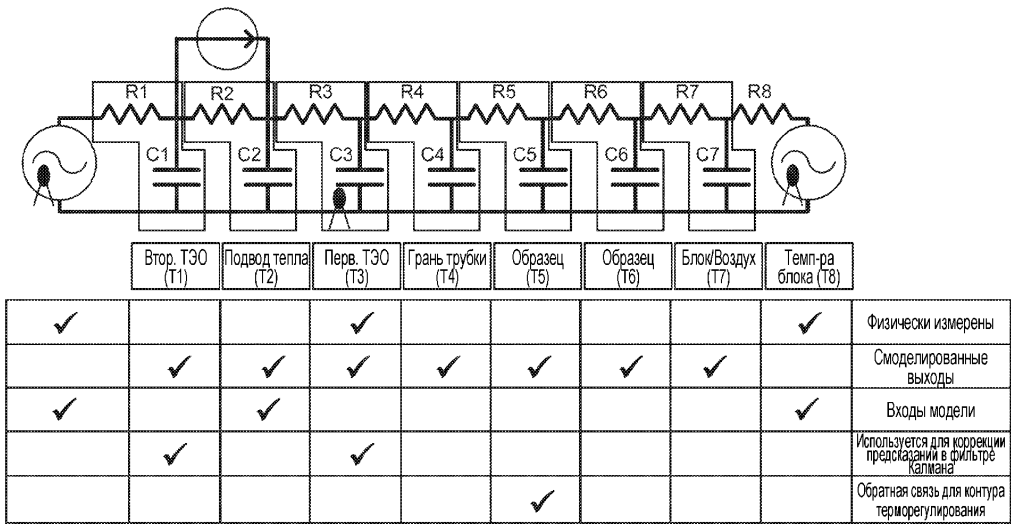


Характеристики термоциклирования для циклов 1-5 (вверху) остаются постоянными после 5000 циклов (циклы 4995-5000 внизу)

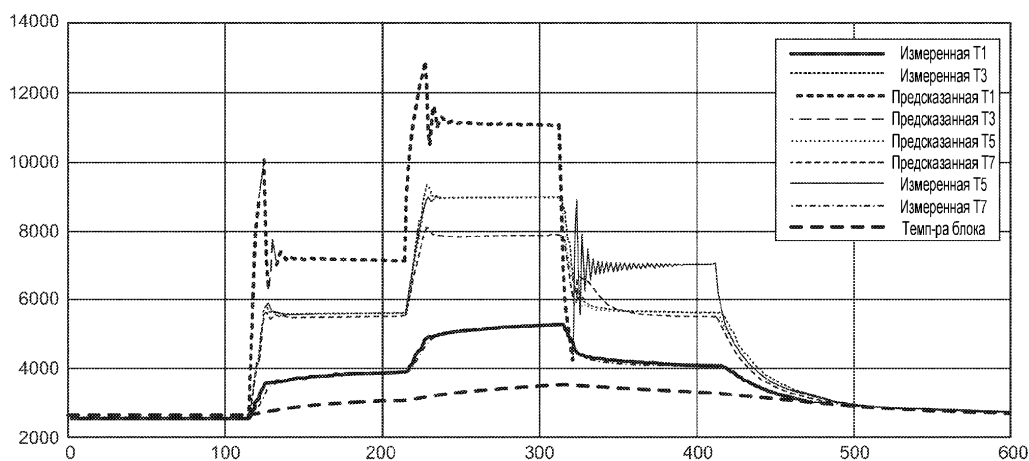
Фиг. 9



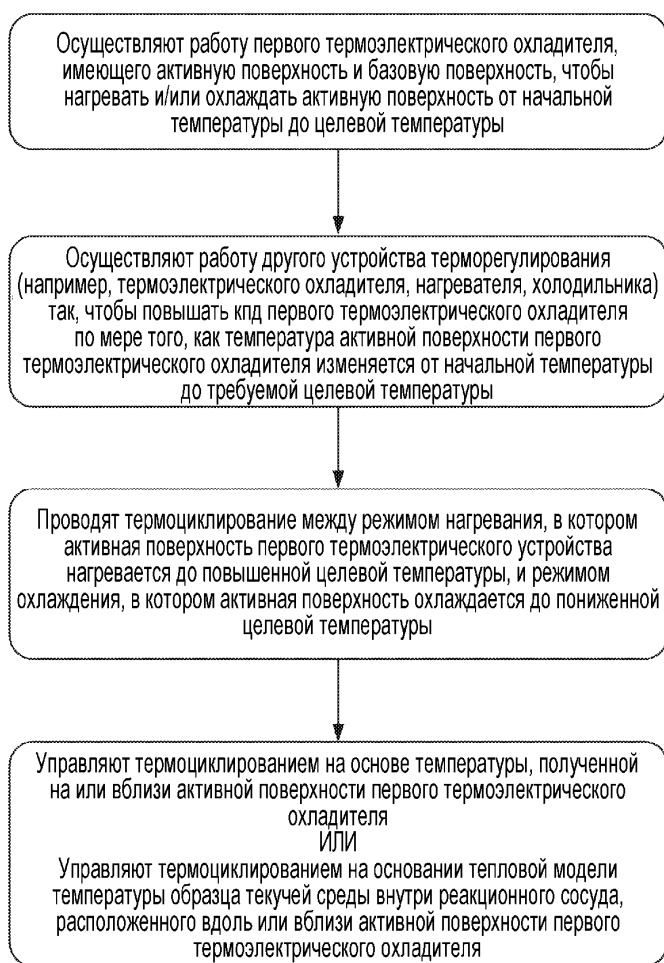
Фиг. 10



Фиг. 11



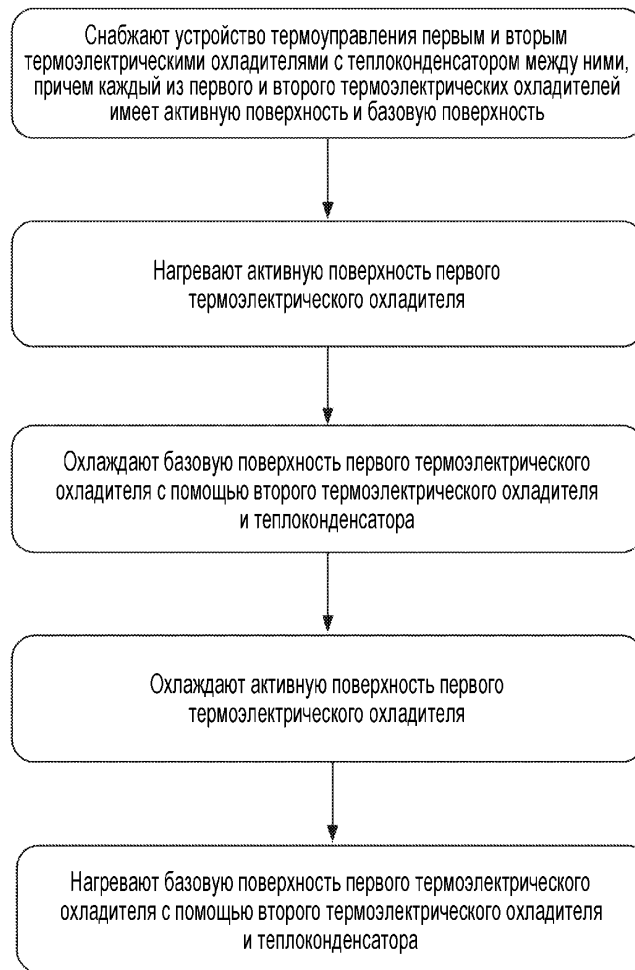
Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15

