



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 177 830** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) МПК⁷ **B 01 L 7/00, G 05 D 23/19//C**
12 Q 1/68

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

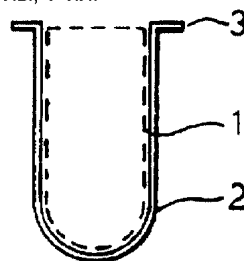
(21), (22) Заявка: 99114775/04, 20.11.1997
(24) Дата начала действия патента: 20.11.1997
(30) Приоритет: 06.12.1996 GB 9625442.0
31.07.1997 GB 9716052.7
(46) Дата публикации: 10.01.2002
(56) Ссылки: DE 3132926 A1, 01.07.1982. DE
2707641 A, 24.08.1978. US 4735778 A,
05.04.1988. US 5498392 A, 12.03.1996. RU
2016652 C1, 30.07.1994. RU 94033108 A1,
27.07.1996. US 5241363 A, 31.08.1993. US
5106540 A, 21.04.1992.
(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
фазу: 06.07.1999
(86) Заявка РСТ:
GB 97/03187 (20.11.1997)
(87) Публикация РСТ:
WO 98/24548 (11.06.1998)

(71) Заявитель:
ДЗЕ СЕКРЕТЭРИ ОФ СТЕЙТ ФОР ДЕФЕНС
(GB)
(72) Изобретатель: ЛИ Мартин Алан (GB),
ЛЕСЛИ Дарио (GB)
(73) Патентообладатель:
ДЗЕ СЕКРЕТЭРИ ОФ СТЕЙТ ФОР ДЕФЕНС
(GB)
(74) Патентный поверенный:
Кузнецов Юрий Дмитриевич

(54) **РЕАКТОРЫ**

(57)
Изобретение относится к ректорам и устройству для регулируемого нагрева реагентов, например, реагентов, используемых в биохимических реакциях, и к способам их использования. Устройство для проведения реакций содержит реактор, токопроводящий полимер и средство управления для регулирования подачи тока к полимеру. Токопроводящий полимер, излучающий тепло при пропускании через него электрического тока, выполнен с возможностью подключения к источнику тока через средство управления. Реактор содержит контейнер для реагентов в виде капиллярной трубки, предметное стекло или чип, находящийся в тесном контакте с токопроводящим полимером. Например, полимер может быть выполнен в виде пленки, которая обернута вокруг трубки для

образования оболочки. Это позволяет создать легко регулируемый источник тепла, который может быть быстро нагрет и охлажден до желательных температур. Реакторы и устройства можно использовать для проведения термоциклических реакций, таких, как полимеразная цепная реакция (ПЦР). 3 с. и 23 з. п. ф-лы, 7 ил.



Фиг. 1



RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 177 830** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **B 01 L 7/00, G 05 D 23/19//C**
12 Q 1/68

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 99114775/04, 20.11.1997
(24) Effective date for property rights: 20.11.1997
(30) Priority: 06.12.1996 GB 9625442.0
31.07.1997 GB 9716052.7
(46) Date of publication: 10.01.2002
(85) Commencement of national phase: 06.07.1999
(86) PCT application:
GB 97/03187 (20.11.1997)
(87) PCT publication:
WO 98/24548 (11.06.1998)

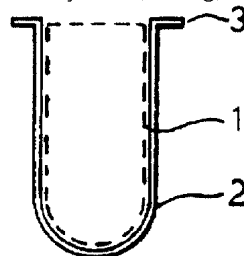
(71) Applicant:
DZE SEKRETEhRI OF STEJT FOR DEFENS
(GB)
(72) Inventor: LI Martin Alan (GB),
LESLI Dario (GB)
(73) Proprietor:
DZE SEKRETEhRI OF STEJT FOR DEFENS
(GB)
(74) Representative:
Kuznetsov Jurij Dmitrievich

(54) **REACTORS**

(57) Abstract:

FIELD: reactors and devices for controllable heating of reagents, for example, reagents used in biochemical reactions. SUBSTANCE: device for conducting reactions has reactor, current- conducting polymer and unit for control of current supply to polymer. Current-conducting polymer radiating heat when electric current is passed through it may be connected to current source through control unit. Reactor has container for reagents made in form of capillary tube, slide or chip brought in close contact with current-conducting polymer. Polymer may be made in form of film wrapped around tube for forming envelope, thus making easily adjustable heat source which may be quickly heated and cooled to

required temperature. According to invention, reactors and devices may be used for conducting thermocyclic reactions, such as polymerizing chain reaction. EFFECT: enhanced efficiency. 26 cl, 8 dwg, 1 ex



Фиг.1

Изобретение относится к (реакционным) сосудам и устройству для регулируемого нагрева реагентов, например, реагентов, используемых в биохимических реакциях, и к способам их использования.

Регулируемый нагрев реакторов (реакционных сосудов) часто осуществляют, используя твердотельные блочные нагреватели, которые нагревают и охлаждают различными способами. Современные твердотельные блочные нагреватели нагревают, помимо прочего, с помощью электрических элементов или термоэлектрических устройств. Другие реакторы можно нагревать с помощью устройств, в которых используются галогеновые лампы/турбулентный воздушный поток. Реакционные сосуды можно охлаждать с помощью термоэлектрических устройств, путем использования компрессионных холодильных машин, с помощью принудительного движения воздуха или охлаждающих текучих сред. Реакторы устанавливаются в блочный нагреватель с различной степенью прилегания. Таким образом, тепловой контакт между блочным нагревателем и реактором изменяется от одной конструкции нагревателя к другой. При реакциях, стадии которых требуют различных температур, температуру блочного нагревателя можно регулировать, используя программируемый контроллер, например, для обеспечения возможности выполнения термоциклирования, применяя нагреватели.

Этот тип нагревательного устройства особенно пригоден для реакций, требующих термоциклирования, таких, как способы амплификации ДНК, подобные полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР представляет собой процесс образования больших количеств конкретной последовательности ДНК и основан на присущих ДНК свойствах спаривания оснований нуклеиновых кислот по принципу комплементарности и точной репликации комплементарных нитей ДНК. Стандартный ПЦР включает циклический процесс, состоящий из трех основных стадий.

Денатурирование: Смесь, содержащую реагенты ПЦР (включающие в себя ДНК, подлежащую репликации, отдельные нуклеотидные основания (А, Т, Г, Ц), соответствующие праймеры и фермент полимеразу), нагревают до заданной температуры для разделения двух нитей заданной ДНК.

Отжиг: После этого смесь охлаждают до другой заданной температуры, и праймеры располагают свои комплементарные последовательности на нитях ДНК и соединяются с ними.

Удлинение цепи: Смесь снова нагревают до следующей заданной температуры. Фермент полимеразы (действующий как катализатор) обеспечивает присоединение отдельных нуклеотидных оснований к концу праймера с образованием новой нити ДНК, которая является комплементарной для последовательности заданной ДНК, при этом две нити соединяются (сцепляются) вместе.

Недостаток известных блочных нагревателей обусловлен временем задержки, требуемым для нагрева и охлаждения нагревательного блока до температур, необходимых для реакции. Таким образом, время, необходимое для завершения каждого

цикла реакции, помимо скорости реакции частично определяется термодинамическими свойствами нагревателя. При реакциях, включающих многочисленные циклы и множество температурных стадий, это время задержки существенно влияет на время, требуемое для завершения реакции. Термоциклические устройства на основе блочных нагревателей, как правило, требуют примерно 2 часа для завершения 30 циклов реакции.

Для многих случаев применения ПЦР желательно завершить последовательность циклов в минимально возможное время. В частности, например, когда существует подозрение в загрязнении вдыхаемого объема воздуха, или текучих сред, или продуктов, предназначенных для потребления людьми или животными, быстрые диагностические методы могут сэкономить значительные средства, позволят сберечь здоровье и даже жизнь.

Альтернативное термоциклическое устройство содержит ряд капиллярных реакционных трубок, которые подвешены в воздухе. Нагрев и охлаждение реакционных трубок выполняют, используя галогеновую лампу и турбулентный воздушный поток от вентилятора. Термодинамика этой системы обеспечивает существенное улучшение по сравнению с традиционной конструкцией блочного нагревателя, поскольку нагретый и охлажденный воздух пропускают через реакционные трубки, при этом обеспечивается быстрое достижение требуемых температур и вентилятор создает однородную тепловую окружающую среду и обеспечивает принудительное охлаждение. При использовании данного устройства 30 циклов реакции можно завершить примерно за 15 минут.

Недостатком этого термоциклического устройства является то, что воздушное охлаждение и нагрев сложно применить в многоцелевом устройстве и, естественно, оно непригодно в качестве передвижного или переносного.

Заявитель разработал эффективную систему для быстрого нагрева и охлаждения реагентов, которая особенно пригодна для термоциклических реакций.

Таким образом, в соответствии с настоящим изобретением разработан реактор, содержащий токопроводящий полимер, который выделяет тепло при пропускании через него электрического тока.

Токопроводящие полимеры известны в данной области, и их предоставляет фирма Caliente Systems Inc., Нью-Йорк, США. Другие примеры таких полимеров раскрыты, например, в патенте США 5106540 и патенте США 5106538. Пригодные проводящие полимеры могут обеспечивать температуру до 300°C, и, таким образом, они хорошо подходят для использования в процессах ПЦР, в которых обычный диапазон температур составляет от 30 до 100°C.

Преимущество изобретения над обычным блочным нагревателем обусловлено тем обстоятельством, что полимеры, которые проводят электрический ток, способны быстро нагреваться. Скорость нагрева зависит от точного состава, природы полимера, размеров используемого полимера и величины поданного тока. Предпочтительно полимер

имеет высокое удельное сопротивление, например, превышающее 1000 Ом·см. Температуру полимера можно легко регулировать путем регулирования величины электрического тока, пропускаемого через полимер, обеспечивая возможность сохранения желательной температуры полимера в течение требуемого периода времени. Кроме того, скорость перехода от одной температуры к другой можно легко регулировать после калибровки путем подачи соответствующего электрического тока, например, при управлении по компьютерной программе.

Кроме того, по сравнению с блочным нагревателем также можно обеспечить быстрое охлаждение вследствие малой тепловой массы полимера. Однако при необходимости реактор можно подвергнуть искусственному охлаждению для увеличения скорости охлаждения. Соответствующие способы охлаждения включают в себя охлаждение с принудительным движением воздуха, например, путем использования вентиляторов, погружение в лед или водяную баню и т. д.

Кроме того, использование полимера в качестве нагревательного элемента в реакторе в целом позволяет получить более компактное устройство по сравнению с устройствами, в которых применяются существующие блочные нагреватели, что целесообразно при проведении химических реакций в реальных условиях, например, на открытом воздухе, на реке, в заводском цехе или даже в небольшой мастерской.

Реактор может иметь форму контейнера для реагентов, например, стеклянный, пластмассовый или кремниевый контейнер, при этом токопроводящий полимер будет расположен в непосредственной близости от контейнера. В одном варианте осуществления реактора полимер в виде оболочки охватывает реактор и находится в тепловом контакте с реактором. Оболочка может быть выполнена или в виде фасонной крышки, которая сконструирована с возможностью установки ее вокруг реактора на плотной посадке, или она может быть выполнена в виде полоски из пленки, в которую может быть завернут реактор и защищен.

Конструкция с полимерной оболочкой означает, что между оболочкой и реактором может быть достигнут тесный тепловой контакт. Это гарантирует быстрое достижение желательной температуры реактора без задержки, вследствие влияния воздушного слоя, создающего тепловую изоляцию между реактором и нагревателем. Кроме того, полимерную оболочку можно использовать для адаптации устройства, используя ранее существующие реакторы. В частности, полоску из гибкой полимерной пленки можно обернуть вокруг реактора, имеющего различные размеры и формы.

Когда применяется оболочка, может оказаться предпочтительным перфорировать ее или выполнить сетчатой.

Это может обеспечить повышение гибкости полимера и даже более легкий доступ охлаждающей среды, если полимер сам по себе не используется для охлаждения.

В другом варианте осуществления изобретения полимер используется как неотъемлемая часть реактора. Реактор может

быть изготовлен из полимера путем экструзии, литься под давлением или аналогичными способами. В альтернативном варианте реактор может быть изготовлен с использованием составной конструкции, в которой слой проводящего полимера расположен между слоями материала, из которого изготовлен реактор, или внутренние или наружные поверхности реактора покрыты полимером, или реактор главным образом изготовлен из полимера, покрытого тонким ламинатом из совместимого с ПЦР материала. Такие реакторы могут быть изготовлены с использованием ламинирования или осаждения, такого, как химическое или электрохимическое осаждение, то есть способов, традиционных в данной области.

Реакторы, которые содержат полимер в виде неотъемлемой (выполненной за одно целое) части, могут обеспечить получение особо компактных конструкций.

Если для конкретной реакции требуются несколько реакторов, любые точки электрического присоединения могут быть расположены таким образом, что один источник может быть подсоединен ко всем реакционным сосудам или трубкам. Реакторы могут быть выполнены в виде массива, т. е. как одно целое.

В альтернативном варианте каждый из реакторов или каждая группа реакторов может иметь свой собственный профиль нагрева, задаваемый путем регулирования подаваемого тока к этому реактору или группе реакторов. Это позволяет получить дополнительное и особо важное преимущество для реакторов с полимером согласно изобретению по сравнению с твердотельными блочными нагревателями и нагревателями, в которых используется турбулентный воздушный поток. Преимущество заключается в том, что можно регулировать отдельные реакторы независимо друг от друга с учетом их собственных температурных профилей. Это означает, что можно использовать сравнительно небольшое устройство для одновременного выполнения множества количественных анализов на основе ПЦР, несмотря на то, что каждый количественный анализ требует своей, отличающейся от других рабочей температуры. Например, тесты на основе ПЦР для обнаружения фактического множества организмов в образце могут выполняться одновременно, несмотря на то, что последовательность нуклеотидов, характерная для каждого организма, подвергается амплификации при различных рабочих температурах ПЦР.

Полимер рациональным образом может быть выполнен в виде листового материала или пленки, например, толщиной от 0,01 мм до 10 мм, такой, как пленка толщиной от 1 до 10 мм и, предпочтительно, толщиной от 0,1 до 0,3 мм. Использование тонких пленок позволяет минимизировать количество полимера, требуемого для покрытия определенного реактора или поверхности. Это приводит к уменьшению времени, которое требуется для нагрева полимера до заданной температуры, поскольку тепло, которое вырабатывается при пропускании тока через полимер, не должно распределяться по большому объему полимерного материала.

Полимерный компонент реактора

выполнен таким образом, что электрический ток может вырабатываться внутри полимера. Это можно обеспечить или путем выполнения полимера с точками подключения для присоединения к источнику электропитания или путем индуцирования электрического тока внутри полимера, например, за счет воздействия на полимер соответствующих электрических или магнитных полей.

Тесный тепловой контакт между полимером и реагентами или контейнером с реагентами, который может быть установлен в реакторах по изобретению, позволяет уменьшить или устранить изолирующее воздействие воздушного слоя между нагревательным элементом и реактором.

В одном варианте осуществления изобретения реактор содержит капиллярную трубку. Теплопередача от капиллярной трубки к реагентам, содержащимся внутри нее, происходит быстрее, чем это имеет место при использовании обычных сосудов с реагентами, поскольку отношение площади поверхности реагентов к их объему в капиллярной трубке больше, чем в обычном сосуде с реагентами.

В альтернативном варианте реактор может содержать плоскую опорную пластину, такую, как матрица, в частности, кристалл, такой, как кремниевый пластинчатый кристалл, или предметное стекло, в частности, предметное стекло микроскопа, которое может служить опорой для реагентов. Пластина может быть изготовлена из полимера, или полимер может быть предусмотрен в виде неотъемлемой части пластины, или в виде покрытия на одной стороне пластины, или в виде полимерного слоя внутри составной конструкции, как описано выше. При необходимости и, в частности, когда пластина представляет собой кристалл, полимер может быть осажден и/или вытравлен в предпочтительной форме на кристалле с использованием, например, технологии изготовления печатных плат.

Реакторы данного типа могут быть особенно полезны для выполнения ПЦР на месте, например, на образцах тканей.

Другими пригодными реакторами являются трубки и кюветы, которые известны в данной области.

В соответствии с изобретением также разработано устройство для проведения реакций, требующих множества температурных стадий, причем указанное устройство содержит реактор описанного выше типа, средство для выработки электрического тока в полимере и регулирующее средство, предназначенное для регулирования величины электрического тока, проходящего через полимер, для регулирования температуры полимера.

Регулирующее средство представляет собой средство автоматического регулирования, например, устройство сопряжения, управляемое компьютером. Путем использования программируемого контроллера для формирования электрической схемы, соединенной с полимером, применяя устройство, можно запрограммировать определенный режим нагрева, например, определенное число циклов с заданием заранее определенных температурных стадий в течение заданных временных интервалов и с заданием значений выдержки времени, при этом различные профили температуры и времени для

различных реакторов будут применяться в одном и том же устройстве одновременно.

Средство управления может включать устройство для оперативного контроля температуры, например, термопару, которая контролирует температуру реактора и обеспечивает подачу этой информации в систему управления, так что поддерживается желательный режим нагрева и/или охлаждения.

В альтернативном варианте температуру полимера можно оперативно контролировать непосредственно путем измерения его удельного сопротивления, например, путем размещения нагревательного элемента из полимера в качестве резистора в схеме моста Уитстона (моста для измерения сопротивлений постоянному току). Это позволяет избежать использования других устройств для измерения температуры, например, термопар.

В возможном варианте устройство дополнительно содержит средство для искусственного охлаждения, например, один или более вентиляторов.

Устройство может включать множество контейнеров. Полимер может быть выполнен в виде неотъемлемой части каждого контейнера, в виде оболочки вокруг каждого контейнера или расположен таким образом, что слой полимера будет находиться между соседними контейнерами. Любые точки электрического соединения на полимере могут быть подсоединены к одному источнику электропитания, если выполняется несколько реакций, требующих одинаковых температурных стадий.

Однако в предпочтительном варианте осуществления устройство имеет такую конструкцию, что полимер, находящийся в контакте с контейнером или группой контейнеров или образующий контейнер или группу контейнеров, соединен с отдельным источником электропитания. При этом отдельные контейнеры или группы контейнеров соединены с различными независимо управляемыми источниками электропитания. В такой конструкции одновременно можно выполнять ряд различных реакций, требующих различных температурных стадий, поскольку каждый контейнер или группа контейнеров имеет свой собственный нагревательный элемент. Эта конструкция позволяет пользователям провести несколько реакций малыми загрузочными порциями (малыми сериями) при использовании одного устройства, что было невозможно при использовании существующего оборудования. Единственные устройства, которые ранее были доступны для подобного использования, представляли собой определенные конструкции блочных нагревателей, имевших от 2 до 4 сегментов, которые можно было нагревать и охлаждать независимо друг от друга. Однако такое устройство ограничено использованием от 2 до 4 загрузочных порций (серий) для реакций, и его недостатком является значительное время цикла, как указано выше.

В том случае, если реактор содержит предметное стекло или кристалл, устройство может содержать предметное стекло или кристалл, источник электропитания, средство для подсоединения источника электропитания к предметному стеклу или кристаллу или для

индуцирования электрического тока в полимере и средство для регулирования тока, проходящего через слой полимера на предметном стекле или кристалле.

Предлагаемые реакторы и устройство можно использовать для проведения химических или биохимических реакций. В соответствии с изобретением разработан способ проведения реакции, например, химической или биохимической реакции, причем способ включает нагрев реагентов в реакторе, описанном выше.

Реакторы и устройство, согласно изобретению, можно использовать как для реакций амплификации, например, ПЦР, уже упомянутых выше, так и для секвенирования нуклеиновых кислот и при исследованиях кинетики ферментов, когда изучают активность ферментов при различных температурах, а также в других реакциях, особенно тех, которые предусматривают использование активности ферментов и в которых необходимо поддерживать точные значения температуры. Реакторы позволяют достичь точных значений температуры и поддерживать их в течение соответствующих периодов времени и затем быстро изменять при желании, даже в передвижных или переносных устройствах согласно некоторым вариантам осуществления изобретения.

В полимеразных цепных реакциях температурный режим, необходимый для обеспечения соответственно денатурирования, отжига и удлинения цепи, и время, требуемое для выполнения этих стадий, будут меняться в зависимости от различных факторов. К примерам таких факторов относится природа и длина нуклеотида, подвергаемого амплификации, природа используемых праймеров и применяемые ферменты. Специалист в данной области может определить оптимальные условия для каждого случая. Обычные температуры денатурирования составляют около 95 °С, обычные температуры отжига составляют около 55 °С и надлежащие температуры удлинения цепи составляют в основном 72 °С. При использовании заявленных реакторов и устройства можно обеспечить быстрое достижение заданных температур и легко регулировать скорость перехода от одной температуры к другой.

Для многих вариантов осуществления изобретения можно применить интерколлирующие красители общих ДНК и количественные анализы образцов определенных генов, например, количественные анализы Tagman®, описанные в патенте США 5538848, и анализы методом полной флуоресценции с внутренним отражением, подобные тем, которые описаны в международной публикации W093/06241. При таких количественных анализах сигнал от образца, например, флуоресцирующий сигнал или недолговечный сигнал распознается с использованием устройства для оперативного контроля флуоресценции. При использовании процесса такого типа устройство для оперативного контроля флуоресценции должно быть выполнено с возможностью обнаружения сигналов, излучаемых образцом. В некоторых случаях полезно, если по меньшей мере часть реактора, например его конец, где реактор представляет собой

трубку, будет выполнена оптически прозрачной, так что измерения будут выполняться с помощью этой части. В альтернативном варианте реактор может быть предусмотрен со средством для передачи сигнала от образца к контролирующему устройству, например, с волоконным или запердельным волноводом.

В дальнейшем изобретение поясняется описанием вариантов его осуществления со ссылками на сопровождающие чертежи, на которых:

фиг. 1 изображает нагреватель реактора, содержащий кожух из токопроводящего полимера, выполненный с возможностью установки его вокруг реакционной трубки;

фиг. 2 - предметное стекло, имеющее покрытие из токопроводящего полимера на одной из своих поверхностей;

фиг. 3 - предметное стекло, имеющее слой токопроводящего полимера внутри составной конструкции;

фиг. 4 - устройство для проведения реакций, предусматривающих стадии, выполняемые при различных температурах, в котором используется полоска из токопроводящего полимера для нагрева реактора в виде капиллярной трубки;

фиг. 5 - схему устройства, согласно изобретению, предназначенного для выполнения ПЦР;

фиг. 6 - профиль термоциклирования, используемый в устройстве по фиг. 5;

фиг. 7 - блок-схему переносного мультidetектора ПЦР;

фиг. 7а - схему детекторного элемента, предназначенного для использования в устройстве по фиг. 7.

Оболочка (фиг. 1) из токопроводящего полимера 2 снабжена точками 3, предназначенными для подсоединения к источнику электропитания. Размер и форма оболочки 2 определяется размерами и формой реактора 1, вокруг которого установлена оболочка.

При использовании оболочку 2 размещают вокруг реактора 1 и в тесном тепловом контакте с ним. Затем точки 3 соединяют с источником электропитания (не показан), и через полимерную оболочку 2 пропускают электрический ток, тем самым нагревая ее и любые реагенты внутри реактора 1.

Предметное стекло 1 (фиг. 2) покрыто с одной стороны токопроводящим полимером 2. С обоих концов предметного стекла 1 предусмотрены точки 3, электрически соединенные с полимерным слоем 2.

На фиг. 3 показан реактор, содержащий предметное стекло 1, имеющее составную конструкцию, так что слой токопроводящего полимера 2 расположен между слоями обычного материала, используемого для изготовления подобных предметных стекол, например, стекла. С обоих концов предметного стекла 1 предусмотрены точки 3, электрически соединенные с полимерным слоем 2.

При использовании источник электропитания (не показан) соединяют с точками 3 на предметном стекле и ток пропускают через полимерный слой 2, тем самым нагревая предметное стекло 1 и любые реагенты, помещенные на предметное стекло 1.

Полоска из токопроводящей полимерной

пленки 2 (фиг. 4) обернута вокруг капиллярной трубки 1 и закреплена. Полоска полимерной пленки 2 снабжена точками 3 электрического подсоединения, к которым подсоединен источник 5 электропитания с помощью соединительных зажимов 4.

При использовании электрический ток пропускают через полимерную пленку 2, тем самым нагревая капиллярную трубку 1 и любые реагенты, помещенные внутри капиллярной трубки 1.

Устройство по фиг. 5 было разработано для распознавания ПЦР. В качестве реактора использовалась капиллярная трубка 6 с внутренним диаметром 1,12 мм и наружным диаметром 1,47 мм. Полоска из токопроводящего полимера 7 была обернута вокруг трубки и закреплена таким образом, что она удерживалась с обеспечением плотного прилегания к наружной поверхности трубки. Следовательно, нагрев выполнялся со всех сторон трубки 6, что приводило к минимизации перепада температур в образце, находящемся в трубке 6.

Нагрев выполняли с помощью источника 8 электропитания, который через интерфейс (устройство сопряжения) 9 был соединен с компьютером 10 для обеспечения возможности автоматического регулирования циклов нагрева. Вентиляторный охладитель 11 был установлен с возможностью направления воздуха на полимер 7. С наружной стороны полимера 7 была предусмотрена инфракрасная термопара 12 для оперативного контроля температуры.

Для определения параметров устройства перед использованием была использована термопара К-типа для определения температуры внутри трубки 6. После этого температуру внутри и снаружи трубки 6 использовали для линейаризации данных по наружной температуре до прогнозируемой температуры образца.

Полимер для нагрева соединен с источником 8 электропитания, а схема замкнута путем использования интерфейса 9 и программного обеспечения. Переключатель 14 для замыкания схемы представляет собой быстродействующее оптическое реле, которое может переключаться каждые 10 мс. Вторая схема используется для управления двумя небольшими электрическими вентиляторами 11, которые обеспечивают принудительное воздушное охлаждение реакционного образца и работают непрерывно. Программное обеспечение для регулирования представляет собой программное обеспечение Lab-View, которое обеспечивает удобный для пользователя графический интерфейс как для программирования, так и для работы. Исходно ток подают с относительно высокой частотой, чтобы быстрее достичь требуемой температуры. Когда заданная рабочая температура достигнута, подача тока осуществляется с меньшей частотой, как это требуется для поддержания заданной рабочей температуры в течение заданного времени.

Устройство содержит коробку 70 (фиг. 7) с крышкой, имеющую изолирующие перегородки, образующие множество ячеек 71 для детекторных элементов. Коробка 70 электрически связана через интерфейс 72 с источником 73 питания и компьютером 74. Соединение выполнено таким образом, чтобы обеспечить возможность подключения

различных источников к каждой из ячеек 71. Каждая ячейка 71 содержит термопару (не показана) для оперативного контроля температуры в ячейке.

5 Детекторный элемент (фиг. 7 а) содержит реакционную трубку 75, окруженную оболочкой 76. Оболочка 76 выполнена из нагревательного полимера и соединена с питающим вводом 77.

10 После того как трубка 75 заполнена и остановлена, она может быть вдвинута в соответствующую ячейку 71 до тех пор, пока ввод 77 не будет зажат вокруг соответствующих приемных зажимов в ячейках (не показано). При полном подсоединении элементов устройство 15 обеспечивает возможность воспроизведения на экране компьютера состояния подключения каждой трубки 75.

При закрывании крышки коробки 70 завершается процесс изолирования каждой ячейки, и каждая трубка 75 будет 20 удерживаться в своей ячейке.

Компьютерная программа обеспечивает возможность отдельной идентификации молекулы, подлежащей обнаружению в 25 каждой трубке 75, и когда это будет осуществлено, программа может управлять соответствующим температурным циклом для ПЦР для амплификации данной молекулы в случае ее наличия. Когда циклы будут 30 завершены, содержимое трубки может быть подвергнуто воздействию соответствующих детекторов образцов генов для определения того, действительно ли имела молекула, подлежащая обнаружению.

Естественно, принципы работы устройства могут быть реализованы различными 35 способами. Устройство может быть передвижным, а не переносным, и может быть выполнено с возможностью приема детекторных элементов другой формы, отличной от трубки, включая предметное 40 стекло. Как правило, оно выполнено для работы с 96 или 192 детекторными элементами.

Следующий пример иллюстрирует изобретение.

Пример

Амплификация ДНК

45 Была выполнена описанная ниже ПЦР с использованием устройства по фиг. 5 при удаленной термопаре К-типа.

Ампликон со 100 комплементарными парами оснований нуклеиновых кислот из клонированного фрагмента *Yersinia pestis* был 50 подвергнут амплификации. Условия реакции предварительно были оптимизированы путем использования Idaho RapidCycler™, и образцы из той же реакционной смеси были подвергнуты амплификации в Idaho RapidCycler™ для выполнения контрольных 55 реакций.

Реакционная смесь, помещенная в трубку 6, содержала следующее:

50 ммоль (mM) Tris. HCl, pH 8,3,

3 ммоль MgCl,

60 2,5 мг/мл бычьего сывороточного альбумина,

200 мМ каждой из д-АТФ, д-ТТФ, д-ЦТФ и д-ГТФ,

100 мкг/мл каждого из праймеров ПЦР,

25 единиц/мл Tag Полимеразы.

Профиль термоциклирования был запрограммирован следующим образом: 95°C

в течение нуля секунд, 55 °C в течение нуля секунд и 72 °C в течение нуля секунд. Путем сравнения аналогичный профиль термоциклирования был запрограммирован в Idaho RapidCycler™. Были использованы реакционные объемы 50 µл как в покрытом полимером реакторе 6, так и в Idaho RapidCycler™.

В данном контексте "ноль секунд" означает, что как только заданная температура будет достигнута, программа дает команду на достижение последующей температуры. Следовательно, точное время, в течение которого реакция проводится при заданной температуре, зависит от параметров и свойств используемого устройства. Однако в целом оно будет меньше одной секунды.

После 40 циклов в капиллярном сосуде образец продукта ПЦР объемом 50 µл от каждой из реакций был фракционирован по размерам посредством гель-электрофореза на агарозе в 2%-ном геле в 1 x TAE-буфере. Визуализация ДНК осуществлялась с использованием окрашивания бромидом этида. Образец подвергался опытам вместе с образцом из Idaho RapidCycler™ (25 циклов), и был выявлен аналогичный ампликон с надлежащими размерами.

Формула изобретения:

1. Устройство для проведения реакций, содержащее реактор, токопроводящий полимер, который излучает тепло при пропускании через него электрического тока, и средство управления для регулирования подачи тока к полимеру, при этом полимер выполнен с возможностью подключения к источнику тока через средство управления, отличающееся тем, что указанный реактор предназначен для размещения реагентов и регулирования их нагрева, при этом средство управления запрограммировано для подачи тока и получения последовательности различных температур реагентов, находящихся внутри реактора.

2. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что содержит множество реакторов.

3. Устройство по п. 2, отличающееся тем, что различные токи могут быть поданы для нагрева каждого реактора или группы реакторов.

4. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что средство управления выполнено с возможностью подачи тока для обеспечения различного профиля температуры и/или времени для каждого из реакторов.

5. Устройство по любому из пп. 1 - 4, отличающееся тем, что каждый реактор содержит контейнер для реагентов, а токопроводящий полимер прилегает к указанному контейнеру.

6. Устройство по п. 5, отличающееся тем, что токопроводящий полимер образует оболочку вокруг контейнера.

7. Устройство по п. 5 или 6, отличающееся тем, что токопроводящий полимер выполнен в виде пленки.

8. Устройство по п. 7, отличающееся тем, что оболочка выполнена за одно целое с контейнером.

9. Устройство по любому из пп. 5 - 8, отличающееся тем, что токопроводящий полимер выполнен перфорированным или сетчатым.

10. Устройство по любому из пп. 1 - 4,

отличающееся тем, что токопроводящий полимер образует контейнер для реагентов.

11. Устройство по любому из пп. 1 - 10, отличающееся тем, что реактор содержит контейнер для реагентов, причем одна из поверхностей контейнера покрыта указанным токопроводящим полимером.

12. Устройство по любому из пп. 1 - 11, отличающееся тем, что каждый реактор содержит капиллярную трубку.

13. Устройство по любому из пп. 1 - 11, отличающееся тем, что каждый реактор содержит предметное стекло.

14. Устройство по любому из пп. 1 - 11, отличающееся тем, что реактор содержит чип.

15. Устройство по любому из пп. 2 - 14, отличающееся тем, что реакторы выполнены в виде матрицы.

16. Устройство по любому из пп. 1 - 15, отличающееся тем, что средство управления выполнено с возможностью подачи электрического тока таким образом, чтобы провести реакции, требующие множества температурных стадий внутри реакторов.

17. Устройство по п. 16, отличающееся тем, что средство управления запрограммировано таким образом, что многократные циклы реакции осуществляются автоматически.

18. Устройство по любому из п. 16 или 17, отличающееся тем, что средство управления выполнено с возможностью подачи тока согласно заданному профилю времени/температуры.

19. Устройство по любому из пп. 1 - 18, отличающееся тем, что дополнительно содержит средство для обнаружения сигнала от образца в реакторе.

20. Способ проведения химической или биохимической реакции, имеющей множество температурных стадий, включающий следующие операции: помещение реагентов, требуемых для указанной реакции, в реактор и нагрев и/или охлаждение реактора до требуемых температурных стадий, отличающийся тем, что реактор содержит токопроводящий полимер, который излучает тепло при пропускании через него электрического тока, при этом осуществляют нагрев реагентов до первой требуемой температуры путем подачи тока к указанному токопроводящему полимеру, осуществляют последующее регулирование тока для получения последующих температурных стадий, требуемых для реакции.

21. Способ по п. 20, отличающийся тем, что реакция представляет собой амплификацию ДНК.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что реакция амплификации представляет собой полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

23. Способ по любому из пп. 19 - 22, отличающийся тем, что каждый из реагентов для множества реакций помещают в реактор и нагревают одновременно.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что каждый реактор нагревают по отдельности до температуры, требуемой для выполнения реакции внутри этого реактора.

25. Реактор, содержащий предметное стекло или чип и средство для нагрева реагентов на слайде или чипе, отличающийся тем, что средство для нагрева содержит токопроводящий полимер, который излучает тепло при пропускании через него

электрического тока.

26. Реактор по п. 25, отличающийся тем, что указанный полимер выполнен за одно целое с предметным стеклом или чипом.

Приоритет по пунктам:

06.12.1996 по пп. 1-3, 5-8, 10-13, 15, 17, 20, 22-24;

31.07.1997 по пп. 4, 9, 16, 18, 19;

20.11.1997 по пп. 14, 25, 26.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

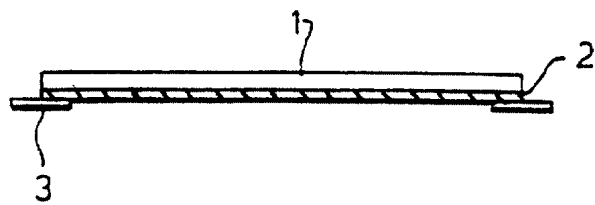
50

55

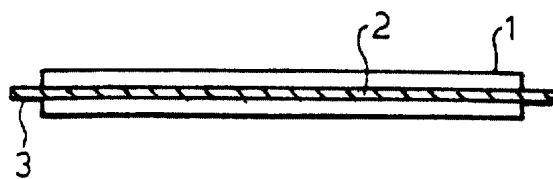
60

RU 2 1 7 7 8 3 0 C 2

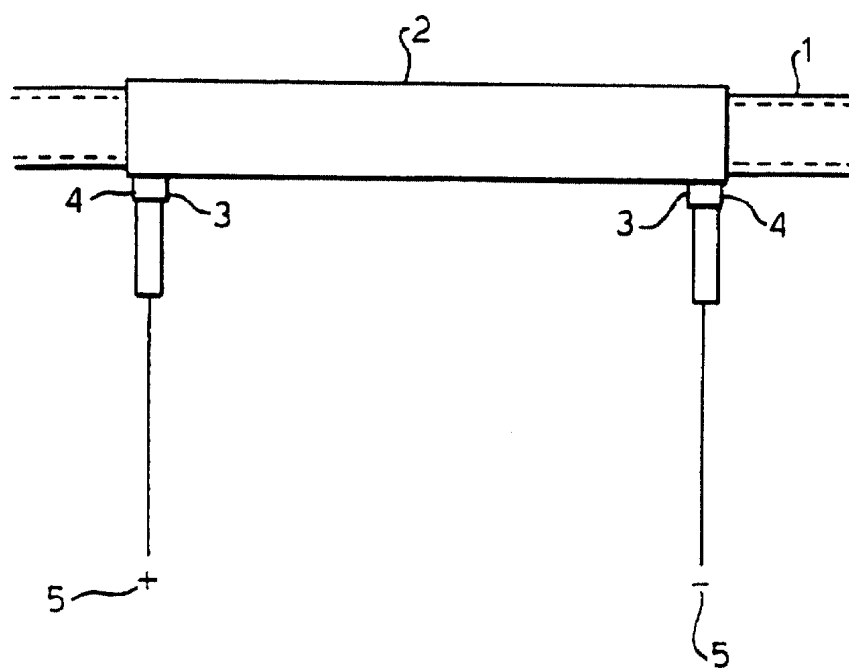
RU 2 1 7 7 8 3 0 C 2



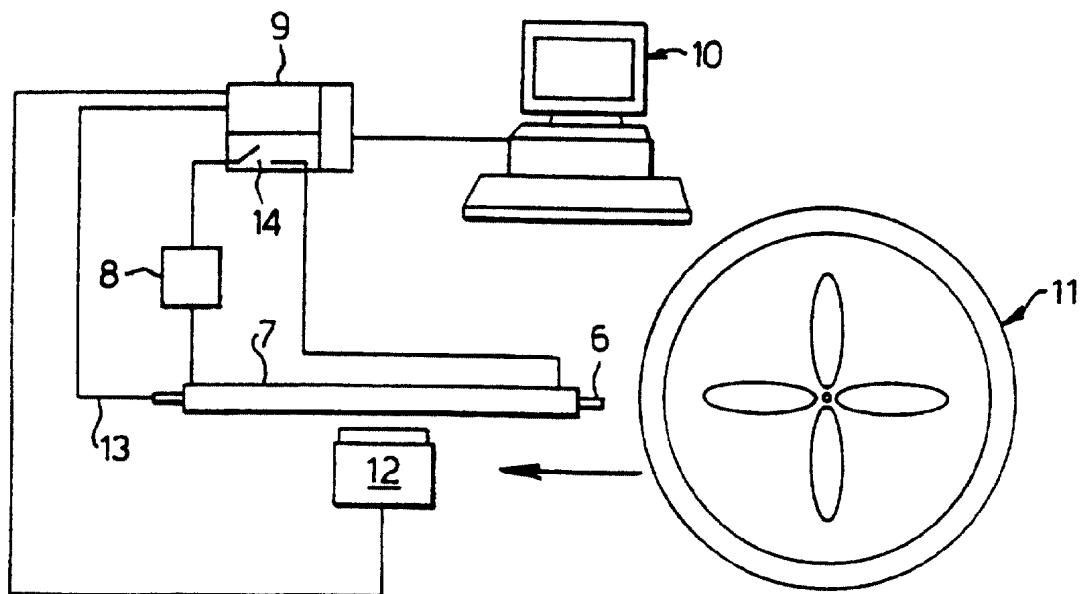
Фиг.2



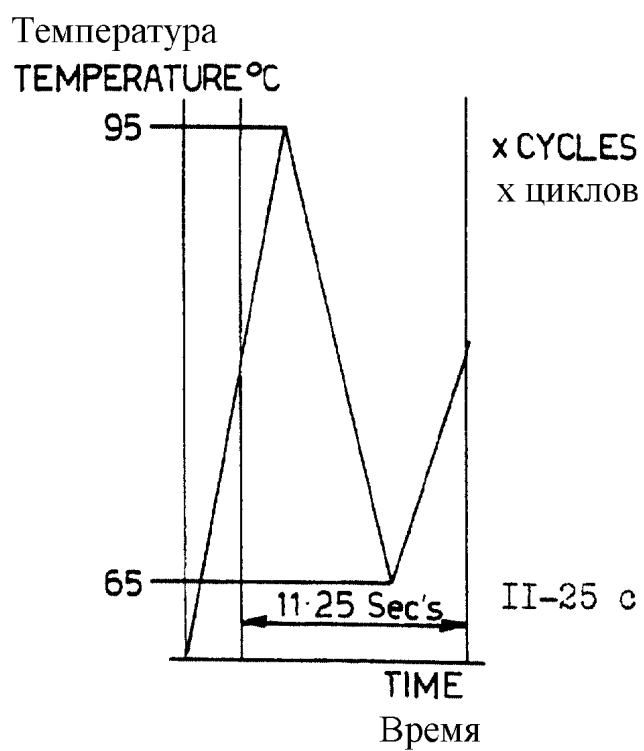
Фиг.3



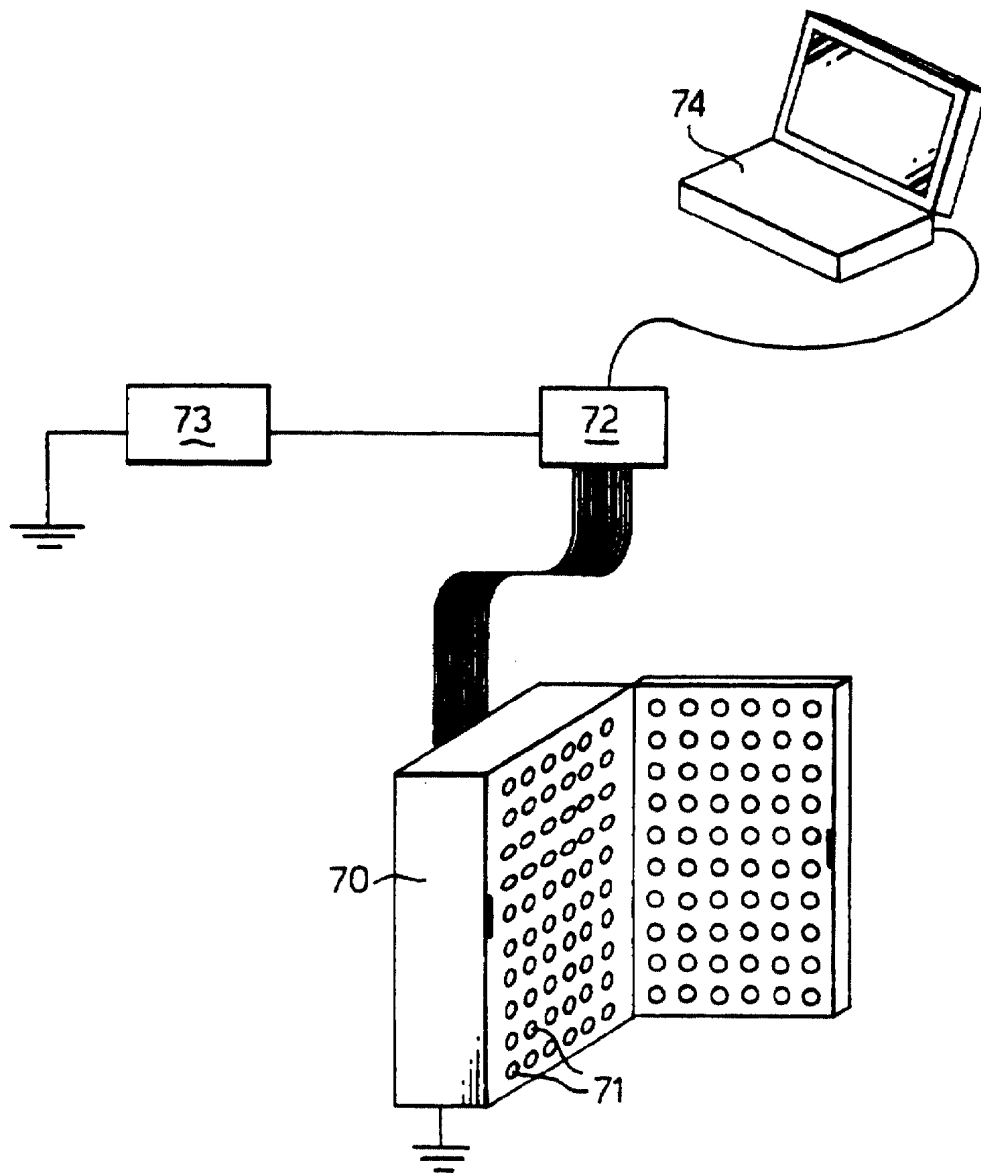
Фиг.4



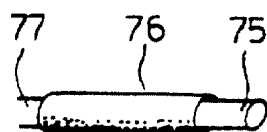
Фиг.5



Фиг.6



Фиг.7



Фиг.7а