

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-504355  
(P2017-504355A)

(43) 公表日 平成29年2月9日(2017.2.9)

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
<b>C 1 2 M</b> 1/00 (2006.01)		C 1 2 M	1/00 A	4 B 0 2 9
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)		C 1 2 Q	1/68 A	4 B 0 6 3

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁)

(21) 出願番号 特願2016-557876 (P2016-557876)  
 (86) (22) 出願日 平成26年9月29日 (2014.9.29)  
 (85) 翻訳文提出日 平成28年8月3日 (2016.8.3)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/057992  
 (87) 国際公開番号 W02015/084477  
 (87) 国際公開日 平成27年6月11日 (2015.6.11)  
 (31) 優先権主張番号 14/096, 273  
 (32) 優先日 平成25年12月4日 (2013.12.4)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 598028028  
 ロッキード マーティン コーポレイション  
 Lockheed Martin Corporation  
 アメリカ合衆国 20817 メリーランド州, ベセスダ, ロックリッジ ドライブ 6801  
 (71) 出願人 516165457  
 ザイジェム コーポレイション リミテッド  
 アメリカ合衆国, バージニア 22903, シャーロットビル, デール アベニュー 705 ディー

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非接触赤外線熱サイクル

(57) 【要約】

マイクロ流体チップは、例えば、PCRのように、化学又は生化学反応のために、流体を入れる1つ又は複数の反応室を含む。非接触熱源は、熱源が反応室又は流体に接触しないように反応室及び流体を加熱する。熱源は、反応室及び流体を別々に加熱することができ、反応室及び流体は、熱源からの熱放射を別々に吸収する。温度センサは、反応室及び流体の温度を取得する。制御回路は、反応室の加熱及び非加熱の間で熱源をサイクルする流体と、温度センサにより取得された温度に基づく流体と、における反応のために、サイクリングプロファイルに従って熱源を制御する。冷却は、受動的又は能動的に提供されることができる。

【選択図】 図1

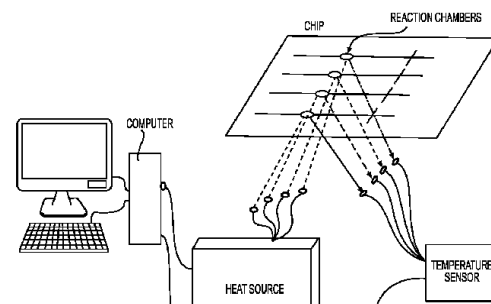


FIG. 1

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

流体を入れる反応室と、

前記反応室及び前記流体を加熱する非接触熱源であって、前記熱源は、前記反応室又は前記流体と接触せず、且つ、前記反応室及び前記流体は、前記熱源からの熱放射を別々に吸収する、非接触熱源と、

前記反応室及び / 又は前記流体の温度を取得する温度センサと、

前記反応室の加熱及び非加熱の間で前記熱源をサイクルする流体と、前記温度センサにより取得された前記温度に基づく流体と、における化学又は生化学反応のために、サイクリングプロファイルに従って前記熱源を制御するように構成された制御回路と、

を具備する装置。

10

**【請求項 2】**

請求項 1 に記載の装置であって、複数の他の反応室と共に前記反応室を含むマイクロ流路チップをさらに含む、装置。

**【請求項 3】**

請求項 2 に記載の装置であって、

前記熱源は、前記反応室毎に非接触熱の出力を含み、

前記温度センサは、前記反応室毎に個別の温度を取得し、且つ、

前記制御回路は、前記温度センサ及び前記サイクリングプロファイルにより取得された各々の温度に基づいて、前記反応室毎に独立して前記熱源を制御する、装置。

20

**【請求項 4】**

請求項 3 に記載の装置であって、前記熱源は、1 つ又は複数の赤外線レーザを含む、装置。

**【請求項 5】**

請求項 4 に記載の装置であって、前記マイクロ流路チップは、シクロオレフィンコポリマー (COC) を含む、装置。

**【請求項 6】**

請求項 5 に記載の装置であって、前記 1 つ又は複数の赤外線レーザは、 $1720\text{ nm} + / - 10\text{ nm}$  の中心波長で動作する、装置。

**【請求項 7】**

請求項 1 に記載の装置であって、前記温度センサは、前記反応室又は前記流体と接触しない非接触センサである、装置。

30

**【請求項 8】**

請求項 7 に記載の装置であって、前記温度センサは、1 つ又は複数の高温計、又は、1 つ又は複数の赤外線カメラである、装置。

**【請求項 9】**

請求項 1 に記載の装置であって、前記サイクリングプロファイルは、以下のステップ

- (a) 第 1 速度で第 1 温度まで加熱すること、
  - (b) 前記第 1 温度を第 1 保持時間保持すること、
  - (c) 第 2 速度で第 2 温度まで冷却すること、
  - (d) 前記第 2 温度を第 2 保持時間保持すること、
  - (e) 第 3 速度で第 3 温度まで加熱すること、且つ、
  - (f) 前記第 3 温度を第 3 保持時間保持すること、
- を含む、装置。

40

**【請求項 10】**

請求項 9 に記載の装置であって、前記サイクリングプロファイルにおいて、ステップ (a) ~ (f) は、所定のサイクル数だけ繰り返される、装置。

**【請求項 11】**

請求項 10 に記載の装置であって、前記サイクルの最後の 1 つにおいて、前記第 3 温度は、前記第 3 保持時間よりも長い最終延長時間保持される、装置。

50

## 【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載の装置であって、前記サイクリングプロファイルは、前記サイクルの最初の 1 つにおける前記ステップ ( a ) の前に、変性温度を変性時間保持する変性ステップを含む、装置。

## 【請求項 1 3】

請求項 1 2 に記載の装置であって、前記制御回路は、以下の条件

前記流体の量  $\leq 10 \text{ ml}$

前記所定のサイクル数 = 20 ~ 35

前記第 1 温度 = 50 ~ 96

前記第 1 保持時間 = 2 ~ 20 秒

前記第 1 速度 =  $> -2 / \text{s}$

前記第 2 温度 = 50 ~ 96

前記第 2 保持時間 = 5 ~ 60 秒

前記第 2 速度  $< -1 / \text{s}$

前記第 3 温度 = 50 ~ 96

前記第 3 保持時間 = 5 ~ 60 秒

前記第 3 速度 =  $> 2 / \text{s}$ 、且つ、

前記最終延長時間 = 1 ~ 15 分

を満たすようなサイクリングプロファイルに従って前記熱源を制御するように構成される、装置。

## 【請求項 1 4】

請求項 1 3 に記載の装置であって、前記制御回路は、以下の条件

変性温度 = 50 ~ 96、且つ、

変性時間は、60 秒と等しい又は 60 秒以上である、

を満たすようなサイクリングプロファイルに従って前記熱源を制御するように構成される、装置。

## 【請求項 1 5】

請求項 1 2 に記載の装置であって、前記制御回路は、以下の条件

前記流体の量  $\leq 10 \text{ ml}$

前記所定のサイクル数は、約 27 である、

前記第 1 温度は、約 95 である、

前記第 1 保持時間は、約 5 秒である、

前記第 1 速度は、約  $> 3 / \text{s}$  である

前記第 2 温度は、約 60 である、

前記第 2 保持時間は、約 10 秒である、

前記第 2 速度は、約  $-2.1 / \text{s}$  である、

前記第 3 温度は、約 72 である、

前記第 3 保持時間 = 5 ~ 60 秒である、

前記第 3 保持時間は、約 10 秒である、且つ、

前記第 3 速度は、約  $3.7 / \text{s}$  である、

を満たすようなサイクリングプロファイルに従って前記熱源を制御するように構成される、装置。

## 【請求項 1 6】

請求項 1 2 に記載の装置であって、前記制御回路は、以下の条件

前記第 1 温度は、前記第 2 温度及び前記第 3 温度よりも高い、

前記第 3 温度は、前記第 2 温度よりも高い、且つ、

前記第 1 保持時間は、前記第 2 保持時間及び前記第 3 保持時間よりも短い、

を満たすようなサイクリングプロファイルに従って前記熱源を制御するように構成される、装置。

## 【請求項 1 7】

10

20

30

40

50

請求項 1 に記載の装置であって、  
前記反応室及び / 又は前記流体を冷却するための能動又は受動冷却器をさらに備え、  
前記能動的な冷却器が提供されるときに、前記制御回路が、前記サイクリングプロファイルに従って冷却を提供するために前記能動的な冷却器を制御するように構成される、装置。

【請求項 18】

請求項 1 に記載の装置であって、  
前記熱源は、I R (赤外線) 光源と、前記反応室及び前記流体を加熱するために前記 I R 光源から前記反応室及び前記流体に前記 I R 光を出力するための光ファイバチャンネルと、を有し、

10

前記光ファイバチャンネルは、出力端に矯正レンズを有する、装置。

【請求項 19】

反応のための方法は、  
制御回路により制御すること、流体を含み前記反応が起こる反応室を、前記反応室又は前記流体の温度を感知することに基づいたサイクリングプロファイルに従って、加熱し及び冷却すること、を有し、前記サイクリングプロファイルは、

- (a) 第 1 速度で第 1 温度まで加熱すること、
  - (b) 前記第 1 温度を第 1 保持時間保持すること、
  - (c) 第 2 速度で第 2 温度まで冷却すること、
  - (d) 前記第 2 温度を第 2 保持時間保持すること、
  - (e) 第 3 速度で第 3 温度まで加熱すること、且つ、
  - (f) 前記第 3 温度を第 3 保持時間保持すること、
- を含む。

20

【請求項 20】

制御回路により実行されたとき、前記制御回路に請求項 19 に従って前記方法を実行させるコンピュータ実行可能命令を有する非一過性のコンピュータ可読媒体。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

ポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR) は、生化学研究施設で利用するプロセスであって、Taq ポリメラーゼのようなポリメラーゼ酵素を使用してオリゴヌクレオチドを複製する。PCR は、オリゴヌクレオチド、特に DNA の迅速な複製を可能にする。このため、オリゴヌクレオチドの単一コピーは、さらなる操作又は分析を可能にする膨大な量に変換されることができる。PCR プロセスは、対象オリゴヌクレオチドの複製を可能にするため、2 つ又は 3 つの温度の間で繰り返し反応混合物の温度をサイクルする。各サイクルは、対象オリゴマー配列の数を倍増することができる。PCR 技術は、オリゴヌクレオチド又はオリゴリボヌクレオチドの単一分子を約  $10^6$  から約  $10^9$  倍程度に増幅することができる。別の試験ステップは、増幅されたオリゴヌクレオチドを検出することを含むことができる。参照により本明細書に組み込まれる米国特許公報第 7955840 号を参照。

30

【0002】

米国特許公報第 5589136 号 (Northrup, Raymond P. Marie 111a 他。1996) に開示されている MATCI 装置は、熱サイクル及び分析にモジュラーアプローチを使用する、自動化 PCR 装置である。本明細書に参考として組み込まれるこの特許では、それぞれの反応は、それ自体の熱サイクルスリーブで実行され、各スリーブは、自身と関連する光学励起源及び蛍光検出器を有する。熱サイクルスリーブの低熱質量は、MATCI 装置に非常に高速な熱サイクルを実現させる。サンプルは、最大 30 / 秒の速度で加熱され、且つ、5 / 秒程度の速度で冷却される。

40

【0003】

2 つの他の市販のシステムは、GENEXPERT (セファイド、カリフォルニア州サニーベール) 及び RAZOR (アイダホテクノロジー社) の商品名で販売され、使い捨て

50

の流体カートリッジを使用し、それぞれが機器に位置する固体ヒータと密接に接触させるために圧力下で膨張する柔軟な反応室を含む (Petersen、McMillan 他。1999)。RAZOR は、柔軟な流体ポーチ及びポーチの中に反応スラグを移動させるアクチュエータを使用する。ポーチの反応ゾーンの壁は、2つの固体のヒータと密接に接触する。両方の場合において、ヒータは固体であり、使い捨てカートリッジ又はポーチは、1つ又はそれ以上の反応ゾーンを有し、それぞれのゾーンはヒータと熱接触するための薄くフレキシブルな壁を有している。別の技術では、Akonnii バイオシステムズ社 (フレデリックスバーグ、メリーランド州) により TRUDIAGNOSIS<sup>TM</sup> 及び TRUARRAY<sup>TM</sup> の商品名で販売され、指の爪のサイズのマイクロアレイに配列された数百の分子バイオセンサーを使用することにより、一度に数百もの疾患マーカー用サンプルを迅速に検査する。サンプルは、マイクロ流体チャネルを使用して配列を介して運ばれる。Akonnii バイオシステムズ技術は、30分未満で正確な診断結果を提供することができ、情報に基づき時宜を得た治療法の決定を支援する。

10

20

30

40

50

#### 【発明の概要】

#### 【0004】

本開示の一実施態様による装置は、流体を入れる反応室と、反応室及び流体を加熱する非接触熱源であって、熱源は、反応室又は流体と接触せず、且つ、反応室及び流体は、熱源からの熱放射を別々に吸収する、非接触熱源と、

反応室及び / 又は流体の温度を取得する温度センサと、反応室の加熱及び非加熱の間で熱源をサイクルする流体と、温度センサにより取得された温度に基づく流体と、における化学又は生化学反応のために、サイクリングプロファイルに従って熱源を制御するように構成された制御回路と、を具備する。

#### 【0005】

反応室の材料は、熱源による流体の加熱とは別に熱源により著しく加熱されることができる。

#### 【0006】

複数の他の反応室と共に反応室を含むマイクロ流路チップは、含まれることができる。

#### 【0007】

熱源は、反応室毎に非接触熱の出力を含み、  
温度センサは、反応室毎に個別の温度を取得し、且つ、  
制御回路は、温度センサ及びサイクリングプロファイルにより取得された各々の温度に基づいて、反応室毎に独立して熱源を制御する。

#### 【0008】

熱源は、1つ又は複数の赤外線レーザを含む。  
マイクロ流路チップは、シクロオレフィンコポリマー (COC) を含む。  
1つ又は複数の赤外線レーザは、 $1720\text{nm} + / - 10\text{nm}$  の中心波長で動作することができる。  
温度センサは、反応室又は流体と接触しない非接触センサであることができる。

#### 【0009】

温度センサは、1つ又は複数の高温計、又は、1つ又は複数の赤外線カメラを含むことができる。

#### 【0010】

サイクリングプロファイルは、以下のステップ (a) 第1速度で第1温度まで加熱すること、(b) 第1温度を第1保持時間保持すること、(c) 第2速度で第2温度まで冷却すること、(d) 第2温度を第2保持時間保持すること、(e) 第3速度で第3温度まで加熱すること、且つ、(f) 第3温度を第3保持時間保持すること、を含むことができる。

#### 【0011】

サイクリングプロファイルにおいて、ステップ (a) ~ (f) は、所定のサイクル数だけ繰り返されることができる。

## 【0012】

サイクルの最後の1つにおいて、第3温度は、第3保持時間よりも長い最終延長時間保持することができる。

## 【0013】

サイクリングプロファイルは、サイクルの最初の1つにおけるステップ(a)の前に、変性温度を変性時間保持する変性ステップを含むことができる。

## 【0014】

制御回路は、以下の条件を満たすようなサイクリングプロファイルに従って熱源を制御することができる。流体の量 $\leq 10\text{ ml}$ 。所定のサイクル数 = 20 ~ 35。第1温度 = 50 ~ 96。第1保持時間 = 2 ~ 20秒。第1速度 =  $> -3 / \text{s}$ 。第2温度 = 50 ~ 96。第2保持時間 = 5 ~ 20秒。第2速度  $< -2 / \text{s}$ 。第3温度 = 50 ~ 96。第3保持時間 = 5 ~ 20秒。第3速度 =  $> 3 / \text{s}$ 。及び、最終延長時間 = 2 ~ 15分。

10

## 【0015】

制御回路は、以下の条件を満たすようなサイクリングプロファイルに従って熱源を制御することができる。変性温度 = 50 ~ 96。及び、変性時間は、60秒と等しい又は60秒以上である。

## 【0016】

制御回路は、以下の条件を満たすようなサイクリングプロファイルに従って熱源を制御することができる。流体の量 $\leq 10\text{ ml}$ 。所定のサイクル数は、約27である。第1温度は、約95である。第1保持時間は、約5秒である。第1速度は、約 $> 3 / \text{s}$ である。第2温度は、約60である。第2保持時間は、約10秒である。第2速度は、約 $-2.1 / \text{s}$ である。第3温度は、約72である。第3保持時間 = 10秒である。第3保持時間は、約10秒である。及び、第3速度は、約 $3.7 / \text{s}$ である。いくつかの実施形態において、これらの値は、近似値又は平均値とすることができる。

20

## 【0017】

また、制御回路は、以下の条件を満たすようなサイクリングプロファイルに従って熱源を制御することができる。流体の量 $\leq 10\text{ ml}$ 。所定のサイクル数は、約27である。第1温度は、約94である。第1保持時間は、約10秒である。第1速度は、約 $> 3 / \text{s}$ である。第2温度は、約59である。第2保持時間は、約40秒である。第2速度は、約 $-2 / \text{s}$ である。いくつかの実施形態において、これらの値は、近似値又は平均値とすることができる。

30

## 【0018】

ある実施形態において、制御回路は、以下の条件を満たすようなサイクリングプロファイルに従って熱源を制御することができる。第1温度は、第2温度及び第3温度よりも高い。第3温度は、第2温度よりも高い。及び、第1保持時間は、第2保持時間よりも短く、及び、第3保持時間よりも短い又は同じである。

## 【0019】

反応室及び/又は流体を冷却するための能動冷却器を備えることができ、制御回路は、サイクリングプロファイルに従って冷却を提供するために能動的な冷却器を制御することができる。

40

## 【0020】

熱源は、IR(赤外線)光源と、反応室及び流体を加熱するためにIR光源から反応室及び流体にIR光を出力するための光ファイバチャンネルと、を有し、光ファイバチャンネルは、出力端に矯正レンズを有することができる。

## 【0021】

反応(例、PCR反応)のための方法は、制御回路により制御すること、流体を含み反応が起こる反応室を、反応室又は流体の温度を感知することに基づいたサイクリングプロファイルに従って、加熱し及び冷却すること、を有することができ、サイクリングプロファイルは、(a) 第1速度で第1温度まで加熱すること、(b) 第1温度を第1保持時間保持すること、(c) 第2速度で第2温度まで冷却すること、(d) 第2温度を

50

第2保持時間保持すること、(e) 第3速度で第3温度まで加熱すること、且つ、(f) 第3温度を第3保持時間保持すること、を含む。

【0022】

制御回路により実行されたとき、方法を実行させるコンピュータ実行可能命令を有する非一過性のコンピュータ可読媒体。

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1】コンピュータ、熱源、温度センサ及びチップを含むシステムの概略図である。

【図2】水の赤外線(IR)吸収スペクトルを示す図である。

【図3】シクロオレフィンコポリマー(COC)のIR吸収スペクトルを示す図である。

【図4A】ポリエチレンのIR吸収スペクトルを示す図である。

【図4B】ポリジメチルシロキサン(PDMS)のIR吸収スペクトルを示す図である。

【図4C】ポリメチルメタクリレート(PMMA)のIR吸収スペクトルを示す図である。

【図5】抽出、反応、貯蔵、廃棄、反応及び分離のためのチャンネルを含むチャンネル及び反応室を含む例示的な統合マイクロ流体チップを示す図である。

【図6】図5の反応室を概略的に示す図である。

【図7A】IRレーザ源を介して重合体ポリメラーゼ連鎖反応マイクロデバイスを示す図である。

【図7B】図7AのIRレーザ源のヒートマップを示す図である。

【図8】(A)~(F)は、カートリッジ/反応室の組に指向した2つの異なる波長を用いる熱シミュレーションを示す図である。

【図9】例示的な処理のアルゴリズムフローチャートである。

【図10】例示的な処理システム又はコンピュータを概略的に示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0024】

図中、参照番号は、複数の図を通して同一又は対応する部分を指す。さらに、本明細書で使用される単語“a”、“an”などは、特に明記しない限り、「1つ又は複数」の一般的な意味を持つ。図面は、別段の指定がない限り、一定の縮尺で描かれる。

【0025】

さらに、「約」、「およそ」、「周り」のような用語及び類似の用語は、一般に20%、10%又は好ましくは5%のマージン内での識別値を含む範囲を参照する。また、この用語は、2、1若しくは0.5、1、2若しくは5秒又は1若しくは0.5 /秒のマージン内での識別値を含む範囲を参照する。

【0026】

例示的な実施形態の概要

遺伝情報は、個人のアイデンティティ及び生物の種類を確立するために使用することができ、PCRは非常に少量のサンプルから分析可能な量の遺伝物質を生成することが可能である。多くの技術は、分析的及び法医学的作業へのPCRの応用(時には増幅と呼ばれる)を容易にするために存在する。具体的には、身元不明の遺体及び犯罪者を特定するためのPCRの使用は、法執行機関及び軍で広く使用される。また、国防及び国土安全保障についてのPCRの適用は、生体防御開発が活発な分野である。また、医師や病院は、次の手順でPCR技術を使用することができる。上気道、腸管又はSTD感染に関連する複数の感染症の血液、唾液又は尿サンプルをスクリーニングする。感染症は、抗生物質に対して耐性であるか否かを判定する。感染は、ウイルス又は細菌であるか否かを判定する。副作用に対する個々の反応性を特定する。がんの種類(例えば、乳癌、前立腺癌、卵巣癌又は膵臓癌)を診断する。アルツハイマー病に対する個体の素因を特定する。このリストは包括的ではない。自動化された携帯型PCR装置/デバイスは、遠隔地の現場で少量のサンプル濃度を処理することができ、研究者及び医療従事者に分析データを提供する。

【0027】

PCR処理の間の基本動作は、熱サイクルである。すなわち、反応温度の上昇及び低下は、増幅処理を有効にし、反応混合物の温度を約60及び約95の間で20回又はそれ以上も混合する。別の実施形態では、反応混合物は、約60及び約95の間で、50回又はそれ以上も混合される。熱サイクルは、4つの区分を持つことができる。第1温度でサンプルを加熱する。サンプルを第1温度に維持する。より低い温度までサンプルを冷却する。そして温度を低い温度に維持する。

【0028】

従来のPCR機器は、増幅のためのサンプル及び必要な試薬を含有する96ほどの円錐形の反応管を保持するアルミニウムブロックを使用することができる。ブロックは、しばしばペルティエ加熱/冷却装置又は閉ループ液体加熱/冷却システムのいずれかを使用してPCR増幅処理の間に加熱され及び冷却される。システム内では、チャンネルを介して流れる液体がアルミニウムブロック内に封じ込まれている。しかし、アルミニウムブロックの大きな質量及びアルミニウムの導電率は、加熱及び冷却の速度を毎秒約1に制限することができる。結果として、50サイクルのPCR増幅処理は、少なくとも約2時間要する。例えば、米国特許公報第7955840号を参照。

10

【0029】

さらに、アルミニウムブロックの冷却速度は、加熱速度よりも著しく遅い。加熱速度及び冷却速度の間の非対称性は、PCR処理の効率を低下させる。例えば、不要な副反応は、両極端の温度の間で生じる可能性があり、所望のPCR反応に必要な試薬を消費するいわゆる「プライマーダイマー」及び異常増幅産物のような不要なDNA産物を生成する。また、他の処理、例えば、リガンド結合（有機又は酵素）は、不均一な温度の下で不要な副反応を起こし、しばしば分析の質を下げる。これらの理由から、PCR法及び同様の生化学反応処理の最適化は、中間温度で最小限の時間を費やして、所望の最適な反応温度に可能な限り迅速に達することが必要である。したがって、反応物を含む反応槽は、リアルタイムの光学測定を可能にして、且つ、種々のサンプル量を許容するために、加熱及び冷却速度を最適化するように設計されなければならない。例えば、米国特許公報第7955840号を参照。

20

【0030】

さらに、熱サイクルを扱うための従来のアプローチは、使い捨てコンポーネントの、機器ハードウェアとの十分な熱接触を生成するための柔軟性に依りて、制限される。具体的には、所望のサイクル性能を提供する方法及び装置は、特別な反応室の材料に頼ることなく、コスト削減及び大幅な効率化を約束する。

30

【0031】

PCR反応は、研究、生物医学、人間の識別及びその他で使用されるように、完了までに数時間を要する。本開示によれば、反応混合物の温度サイクリングのための効率的な方法は、反応を加速させ、必要な反応時間を45分又は未満に低減させることができる。このような効率的な方法は、急速サーモサイクリングと称され、本明細書に記載の例示的な実施形態の少なくともいくつかに従って、非接触の赤外線（IR）加熱により提供することができる。

【0032】

IR加熱は、IRレーザにより提供されることができ、サイクリングパラメータの精度及び制御の例外的なレベルを提供することができる。しかしながら、熱駆動型反応が各熱サイクルで完全に起こるように、反応室における熱分布は、均一且つ厳密に制御されることが望ましい。

40

【0033】

本開示による例示的な実施形態は、特に、反応室の周囲に十分に分布するIRレーザのような非接触源からの熱を確保する新規な方法を提供できるため、最適な反応条件が達成される。反応物及び溶液を均一に加熱するための戦略がなければ、温度勾配が反応室内で発生する可能性があり、不完全又は非効率的な反応をもたらし、より遅い熱サイクルを要し得る。

50

## 【 0 0 3 4 】

例示的な実施形態によれば、電磁波源の波長は、反応室及びその反応室の内容物の両方により吸収されるように選択され且つ最適化される。反応室材料及び反応室内の反応物/溶媒からの熱吸収とともに、反応物の間で温度が均一に分散されるため、それらが一様に反応する。反応室の具体例は、例えば、ゼオンケミカルLPの登録商標であるゼオノアのように、シクロオレフィンコポリマー(COC)から作られたマイクロ流体チップ内にあり、そのチップには、緩衝溶液中にマイクロリットルレベルの量のポリマーゼ連鎖反応(PCR)反応物を含む。非接触IRレーザは、特定の温度又はPCR反応を進めるために必要な特定の温度(複数)にまで反応室を加熱するために使用される。基板と接触しない高温計は、反応室の温度を監視し、IRレーザへの電力を調整し且つ制御するために使用されるコンピュータに温度測定値を送信するために使用されることができる。

10

## 【 0 0 3 5 】

本開示による例示的な実装は、次のような利点を提供することができる。(1)加熱用の接触手段を置き換えて温度サイクルに対する十分な制御を提供し、(2)表面对体積比が大きく、小容量である場合、溶液自体をより効率的に加熱することで、熱は、溶液から隣接する室材料へ急速に逃げる。溶液及び反応室を同時に加熱することで、温度勾配をより効果的に回避する。

## 【 0 0 3 6 】

導入

例えば、微小電気機械システム(MEMS)及びマイクロ流体工学であるマイクロ総合分析システムにおいて、正確且つ迅速な熱サイクルを実施するための方法、プロセス、手順、システム、装置及び構成要素が、本明細書に記載される。また、基板(又は他の反応部位)に接触していない放射源により反応室を急速に加熱及び冷却するためのカートリッジ及び計器システム内の正確な装置のアーキテクチャ及び特徴は、本明細書に記載される。本明細書に記載の例示的な実施形態は、マイクロメートルレベルの空間精度が要求されるユーザ操作装置において迅速且つ効率的な温度制御のために好適である。

20

## 【 0 0 3 7 】

本開示の態様は、生物学的分析のための反応室の非接触加熱に関する。また、本開示の態様は、核酸分析のためのマイクロ流体に関する。さらに、本開示の態様は、マイクロ流体チップにおける非接触熱サイクルに関する。

30

## 【 0 0 3 8 】

本開示の態様は、メソスケール及びマイクロスケールでの化学的及び生化学的反応のための迅速な熱伝達を提供可能にする。従来、反応室は、接触及び非接触手段の両方により加熱することができる。非接触手段は、熱サイクルのために潜在的により迅速、正確且つ制御された方法を可能とする。

## 【 0 0 3 9 】

マイクロ流体チップは、法医学、診断、環境モニタリング及び他のあらゆる分野に広く適用される。チップは、一般に、鑑定用に対象DNAを増幅するためにPCR反応を使用する。DNAは、ヒト、動物、細菌、真菌、ウイルス又はDNAを含む任意の生物からであってもよい。これらのチップ及びチップと接続する器具は、少量のサンプル、ひいては検出用に少量のDNAを使用し、DNAの対象配列を分析することができるようにPCR技術を用いてDNAを急速に増幅することを意図する。

40

## 【 0 0 4 0 】

PCR法は、一般に、対象DNAを増幅するために、周期的な方法での温度変化を必要とする。温度変化は、サイクル内でDNA配列を融解、アニーリング及び拡張することを促進し、迅速に増幅させる。

## 【 0 0 4 1 】

多くの異なる化学的、生化学的及び他の反応は、温度変化に敏感である。遺伝子増幅の領域における熱プロセスの例としては、ポリマーゼ連鎖反応(PCR)、サンガー配列決定等があるが、これらに限定されない。複数のサンプルを熱処理する時間及びコストを

50

削減するための1つのアプローチは、1つのサンプル又は異なる複数のサンプルの異なる部分を同時に処理することができる複数のチャンバを含む装置を使用する。チャンバとチャンバの間の正確な温度制御、比較可能な温度遷移速度及び/又は温度間の迅速な遷移を要する可能性があるいくつかの反応の例は、例えば、遺伝暗号の解読を助ける核酸サンプルの操作を含む。核酸操作の技術は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）のような増幅方法、自己持続配列複製（3SR）及び鎖置換増幅（SDA）のような対象ポリヌクレオチド増幅方法、「分枝鎖」DNA増幅のような対象ポリヌクレオチドに付着した信号の増幅に基づく方法、リガーゼ連鎖反応（LCR）及びQBレプリカーゼ増幅（QBR）のようなプローブDNAの増幅に基づく方法、ライゲーション活性化転写（LAT）及び核酸配列ベースの増幅（NASBA）のような転写ベースの方法、修復連鎖反応（RCR）及びサイクリングプローブ反応（CPR）のようなあらゆる他の増幅方法を含む。核酸操作技術の他の例は、例えば、サンガー配列決定、リガンド結合アッセイ等を含む。

10

20

30

40

50

#### 【0042】

熱サイクルを達成するための物理的方法は、PCRサイクル時間を可能な限り短くするために開発されてきた。マイクロ流体チップを含み及び除く両方の方法の、熱サイクルのためのあらゆる方法がある。2つの筐体を物理的に接触して置き、サイクルする温度を変更するペルチェ加熱のような接触方法がある。本開示によれば別の方法は、非接触加熱であって、ここにおいて、この非接触加熱では、サイクルされる試薬及びサンプルを含む身体に光学的又は放射線の他の光源がある距離から向けられる。この非接触方法は、より迅速な熱サイクル及びより著しい加熱勾配を含む様々な理由のため、接触方法に勝る利点を提供することができる。

#### 【0043】

反応室の冷却は、能動的又は受動的とすることができる。能動的な冷却機構は、ファン又は他の非接触方法を含むことができる。また、ペルチェ又はヒートシンクのような接触型冷却方法が利用可能である。非接触型加熱方法で達成可能な利点は、能動的な冷却には必要ないが、利用される余地があることである。基板は、他の材料と熱導通してもよく、熱源がオフのときに受動的に熱分散を行ってもよい。

#### 【0044】

光源からの非接触加熱で対処する問題は、サンプル領域における適切な熱伝達の提供である。液体サンプルを保持する基板は、液体サンプル中の特定の均一温度を達成する試行にとって悪影響となり得る。液体又は液体の成分が効率的に加熱される波長のみ熱源が同調される場合、チャンバの材料は、液体サンプルからの熱を分散させうる。

#### 【0045】

反応物又は分析要素の熱制御は、電気抵抗ヒータ、ペルチェ加熱及び冷却細胞、空気ヒータ又は赤外線ヒータのようなヒータを使用して、カートリッジのバルク加熱を介して達成することができる。このようなバルク加熱システムは、通常は大規模であり、膨大なエネルギー供給を有する。現在、多くのマイクロ流体装置は、ベンチトップに設置する。本開示の態様によれば、手持ち、携帯可能なサイズの装置を可能にさせるスペース効率のよい装置又は小型化された装置が提供される。このような装置は、ベンチトップシステムよりも比較的小さい容積を要求できる。このようなシステムの容積は、 $10^{-1}$ 及び $10^{-3}$ マイクロリットルの間の範囲にある。ポータブル機器は、血液サンプルのような1~5マイクロリットルのアッセイ要素、及び/又は試薬のような100~500マイクロリットルのアッセイ要素の容積を加熱することができる。温度制御ゾーンに加熱される容積を制限することは、要求される熱の量を減少させ、局所的な加熱を容易にさせる。

#### 【0046】

センサは、メソスケール及びマイクロスケール分析装置で使用することができる。エネルギーが物体から放射されると、放射エネルギーは、オブジェクトの温度を決定させる様々な実施形態に従って使用することができる。エネルギーは、可視光スペクトル又は非可視光スペクトル内にある。エネルギーは、センサ内で検出器に当たり、反応が生じることで、検出器から出力される電気信号を生じさせる。電気出力は、従来的高温計又は他の温

度感知技術に従って温度を測定するために、処理（例えば、必要に応じて増幅及び／又は線形化）可能な信号とすることができる。

【0047】

本開示に関連する回路、信号処理システム、温度センサ、ヒータ及び関連する装置は、米国特許公報第4632908号（Schultz、1986）、第5232667号（Hieb及びBlomberg、1993）、第5653537号（Ignatowicz他、1997）、第5882903号（Andreuski他、1999）、第5539673号（Charm他、1996）及び第6022141号（Bass、2000）に記載され、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0048】

本開示に関連する化学的／生化学反応室内で液体のみを加熱する電磁放射を使用する方法は、米国特許公報第6210882号及び第6413766号（Lander s他、2001、2002）に記載され、それら全体が本明細書に組み込まれる。これらの特許は、不均一に加熱することにより、サンプル内の温度勾配及び不完全な反応を引き起こす非接触加熱方法を記載する。

【0049】

この開示に関連するさらなる方法は、米国特許公報第6833536号、第7173218号、第7294812号及び第8007733号（Shigeura、2004；Shigeura、法定代理人及びShigeura、故人、2007a、2007b、Shigeura及びShigeura、2011）に記載され、その全体が本明細書に組み込まれる。これらの特許は、基板との相互作用を回避することで不均一な加熱を引き起こす非接触温度感知による非接触加熱方法を記載する。

【0050】

米国特許公報第7344894号（Greenstein他、2008）には、その全体が本明細書に組み込まれ、装置は、非接触方法で加熱し、サンプル用に均一又は十分な加熱領域を作ることに失敗したことが記載されている。

【0051】

米国特許公報第7348182号（Martin及びSaul、2008）には、その全体が本明細書に組み込まれ、この方法は、ホットスポットの影響を受けやすく、導波管を要し、不均一な加熱となることが記載されている。

【0052】

米国特許公報第7517692号（Taguchi及びKitamura、2009）には、反応室は、非接触手段により加熱されるが、精度又は細部といった点を達成せず、均一で、制御された加熱を達成することに失敗している。

【0053】

例示的实施形態の詳細な考察

本明細書で論じる例示的实施形態によれば、サンプルを保持するチャンバ及びサンプルのために光媒介非接触加熱を適切にチューニングすることを達成することができる。マイクロ流体反応室では、サンプルは非常に小さい（マイクロリットルからナノリットル）容積であり、反応室の表面と熱接触する。このような少量のサンプルは、単位体積当たりの表面積の比率が高いことと、反応室を構成する基板材料が液体サンプルよりも大きいヒートシンクであるという事実とが原因で、反応室とサンプルの界面付近に温度勾配を発生させる。反応室は、ガラス、プラスチック、シリコン、セラミック、石英又は他のポリマー基材（例えば、ポリメチルメタクリレート、ポリカーボネート、ポリエチレン、シクロオレフィン又はポリジメチルシロキサン）を含むが、これらに限定されず、多様な材料であってもよい。基板は、ポリ（シクロオレフィン）又はシクロオレフィンコポリマーであることが好ましい。材料は、サンプルを収容するいかなる反応室を補填し得るが、これは特にマイクロ流体チップに適用可能である。あらゆる流体処理コンポーネントは、マイクロ流体チップ上のマイクロチャンネルにより連結される。チャンネル寸法の範囲は、長さ約10mmから約80mmのマイクロチャンネル及び約10umから約200um幅のマイクロ

10

20

30

40

50

チャンネルを含むことができる。

【0054】

液体サンプルと材料の間の界面は、接触していない又は材料から離れたサンプルの部分とは異なる熱特性を有するので、任意の材料のチャンバにおいて液体を直接加熱することは、全ての液体サンプルの温度の均一性を制限する。サンプル内の反応を非効率的にさせる温度勾配がある。

【0055】

解決策は、液体及びチャンバ材料の両方において、温度変化及び熱流を同時に推進させることである。少量のサンプル及び小さなチャンバでは、マイクロ流体チップで見られるように、チャンバ材料及び周囲の材料の表面積及び体積は、熱接触を介して液体サンプルを目標温度にすることで足りる。容積に対する表面積が大きいチャンバでは、熱源によりチャンバ材料を効率的に加熱することが最も効率的である。加熱されたチャンバ材料は、効率的且つ均一にサンプル容量を加熱する。

10

【0056】

放射熱源は、種々の異なる熱源の1つであって、赤外線（IR）レーザ、IRダイオード、LED、面発光レーザ又はマイクロ波源を含むが、これらに限定されない。

【0057】

様々な実施形態には、化学的又は生化学反応室用の非接触放射ヒータ及び非接触温度センサを含むシステムを含む。ヒータは、例えば、約0.7マイクロメートル又はそれ以上、又は、約1.5マイクロメートル又はそれ以上の波長を有する放射線を放出するように設計することができる。ヒータは、例えば、レーザ光源又はハロゲン光源とすることができる。センサは、反応室に接触することなく、反応室から放出された放射エネルギーを検出することができる。様々な実施形態によれば、センサは、例えば、約5マイクロメートルから約15マイクロメートルの波長のように、約2マイクロメートルから約20マイクロメートルの波長を有する放射エネルギーを検出することができる。センサは、例えば、1つ又は複数の非接触赤外線高温計とすることができる。また、センサは、1つ又は複数の赤外線カメラとすることができる。

20

【0058】

様々な実施形態によれば、非接触加熱及び温度感知システムは、化学反応室内の温度を調節するために提供される。反応室は、基板内に形成され又は固着され、固定され、設置され又は他の方法で基板の表面又はホルダーに装着又は接続される。

30

【0059】

様々な実施形態によれば、非接触放射エネルギー源は、反応領域を加熱して、化学的及び/又は生化学的反応を生じさせる又は促進するために使用される。反応領域は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）装置、医療診断装置、DNA抽出装置、タンパク質又は血液ガス分析器又は他の機器などの分析機器の範囲内とすることができる。エネルギー源は、所望の反応又は所望の反応速度を達成するために十分な波長を有するエネルギーを放射するように設計可能である。例えば、エネルギー源は、少なくとも約0.7マイクロメートルの波長を有するエネルギーを放射することができるが、これに限定されない。

40

【0060】

多くのDNA増幅法は、PCR又は等温法を含むこの装置のために使用することができる。レーザによる基板の加熱を介してのDNA拡張は、有用なアプリケーションである。

【0061】

本開示の態様は、1つのプロセスで例示され、抽出及び増幅プロセスが単一の閉塞したチャンバの反応と複合される。このアプローチは、自動化装置の設計及び動作を単純化し、サンプルの完全性を維持するため、好ましい。しかしながら、他の例示の実施形態によれば、この方法は必須ではない。この例では、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公報2010/041056号（Kinnon及びSaul、2010）に記載の組合せ抽出PCR法を利用することができる。全ての反応のために単一のチャンバを使用することは、流体運動の必要性を大幅に低減することにより、装置の設計を簡素化し、

50

故障率と運転時間を減少させる。

【0062】

温度が範囲内に正確に制御されるために、チップ、熱源及び感知源を含むシステムは、コンピュータ制御されてもよい。

【0063】

チップは、同じ電力、同じ速度で又は異なる速度、電力若しくは温度レベルで加熱される複数のチャンネルを有してもよい。

【0064】

反応室は、圧縮空気又はファンにより能動的に冷却されてもよく、又は、チャンバからの自然放射損失により受動的に冷却されてもよい。

10

【0065】

チップ又はカートリッジは、機器をサンプルに適合するように、静的又は所定の位置に保持されてもよく、又は、チャンバ及びサンプルが放射線又は冷却流路で移動又は回転されるように、円形のデザインであってもよい。チップ又はカートリッジは、1～20のチャンネルを有してもよい。いくつかの実施形態では、20チャンネル以上を有してもよい。

【0066】

図面を参照すると、図1は、コンピュータによるフィードバック制御を用いる4つのチャンネルチップのための熱源、チップ及びセンサを含むシステムを示す図である。4つのチャンネルチップは、単に例示であり、他の数のチャンネル又は単一のチャンネルを利用することができる。

20

【0067】

図1において、コンピュータは、レーザ光源のような第1熱源と、高温計のような温度センサと、データケーブルで接続される。この特定の例示の実施形態では、チップが4つのチャンネル（及び4つの反応室）を有するため、第1の熱源は、コンピュータにより独立して制御される4つの熱出力を有し、アルゴリズムルーチンを介して自動的に又はユーザ入力に基づきいずれかにより、4つの反応室を一対一に対応して加熱する。さらに、チップが4つのチャンネルを有するため、温度センサは、各反応室の温度を個別に収集する検出器を有する。

【0068】

さらなる実施形態では、第2熱源が提供され、コンピュータに接続される。第2熱源は、4つの反応室のそれぞれに対して4つの出力（第1熱源の場合と同様に一対一に対応）を有することができる。第2熱源は、第1熱源とは異なる波長で反応室を加熱することができる。さらに、追加の熱源は、異なる波長で動作する対応の出力により提供されることができる。

30

【0069】

各々の熱源は、コンピュータに繋がれ、各反応室を基準に独立して制御することができる。例示的な実施形態では、各々の熱源は、異なる波長の光を出力するレーザ光源である。さらに、複数の温度センサは、反応室及び/又はチップの異なる部分を監視するために提供可能である。

【0070】

サンプルを加熱するために使用される光の波長は、チャンバ材料及び液体サンプルを同時に加熱するため、1つ又は複数の最適な波長に調整することができる。具体的には、1つの波長は、チャンバ材料及び液体サンプルの両方を同時に加熱するために使用することができ、又は、2つ又はそれ以上の波長は、チャンバ材料及び液体サンプルを同時に加熱するために使用することができる。2つ又はそれ以上の波長が使用される場合、各波長は、チャンバ材料及び液体サンプルのうち1つのみに最適化されることができ、又は、同時に使用される場合、各波長は、波長により結果として得られた加熱がチャンバ材料及び液体サンプルの間で均一な温度上昇を提供するように選択されることができる。このような実施形態では、複数の波長のうち第1波長は、チャンバ材料及び液体サンプルのうち一方を加熱することができる。一方で、複数の波長のうち第2波長は、チャンバ材料及び液体

40

50

サンプルのうち他方を加熱することができる。さらに、第1波長は、チャンバ材料及び液体サンプルの他方よりも強い程度でチャンバ材料及び液体サンプルのうち一方を加熱することができ、第2波長は、チャンバ材料及び液体サンプルの他方をチャンバ材料及び液体サンプルのうち一方よりも強い程度で加熱することができる。波長は、吸収特性及び加熱される材料/液体の容積に基づいて異なる電力レベルで出力されることができる。

#### 【0071】

2つ又はそれ以上の波長は、例えば、2つ又はそれ以上の別個のレーザ光源により生成されることができる。2つ又はそれ以上の別個のレーザ光源の出力は、光ファイバ結合器により、対象/サンプル/反応室への出力経路を提供する単一の光ファイバケーブルと共に連動することができる。

10

#### 【0072】

チャンバは、マイクロ流体チップ上に設けることができ、熱源は、赤外線レーザのような赤外線源とすることができる。基板の材料は、COC（シクロオレフィンコポリマー）又はCOP（シクロオレフィンポリマー）とすることができる。この材料は、反応室用又はチップ全体用の材料とすることができる。液体サンプルは、チャンバ内でDNA増幅を実行するためのDNA及びPCR試薬を含むサンプルとすることができる。チャンバ及び液体サンプルの加熱は、3 / 秒という低い速度から100 / 秒の速度までチャンバ内で急速にPCRを十分に動作させるために効率的であることができる。全ての熱サイクルは、約20秒で完了することができる。しかし、特定の実施形態で所望される場合は、例えば、出力電力を制限することにより、より遅い速度で達成される。

20

#### 【0073】

熱源は、放射源と称されることができ、COC基板材料及び液体サンプルの主要部分を構成する水により即時に吸収される1720nmの波長に同調されたレーザとすることができる。吸収される放射線の割合は、全断面の材料/物質のそれぞれの厚さに依存する。図3は、COC内の光の吸収におけるスペクトルデータを示し、図2は、同様に水の場合を示す。COCの厚さは、データが示す2mmである。1720nmでは、光の約20%が透過し、約0.23/mmが吸収される。水は、約5.7/cm又は0.57/mmの吸収を示す。これらの寸法で、水はCOC基板と比べて約2倍の光エネルギーを吸収するが、既定の反応室の容積（約1.35マイクロリットル）を、COC材料が加熱された容積と比べると実質的により多くCOCが存在する。

30

#### 【0074】

基板材料は、光又は熱を大幅に吸収するように選択されるので、基板（すなわち、反応室）自体は、熱源による流体の加熱とは別に、熱源により加熱される。「大幅に」が意図することは、基板材料は、反応室内で流体と同様の方法で加熱され、それ自体が流体と同様の方法で加熱されることなく単に光又は熱を流体に伝えないということである。

#### 【0075】

この例での冷却は、温度を低下させる必要があるときに、放射線源がオフにされる点で受動的である。代替的な実施形態は、各チャンバ用に能動的な冷却のための小さなファンを含む。このようなファン又は放射線源のオフは、温度センサから温度データを受け取るコンピュータにより制御可能であり、検出温度を閾値と比較することができ、検出温度に基づいて設定温度又は温度範囲を維持することができる。

40

#### 【0076】

反応室は、抽出、増幅及び分離モジュール（領域、物理的構造）を含むことができる統合されたチップ上に提供されることができる。記載された反応室は、DNA増幅のためであり、プライマー、試薬及び抽出されたDNAを含む。

#### 【0077】

例示的な実施形態によれば、IRレーザ源は、反応室から21mm又はそれ以上離れており、4つの光チャンネルに分離され、4つのマイクロ流体チャンネルチップ上に各チャンネルが1つある。IRレーザ源及び反応室の間の典型的な距離は25.40mm（1.000インチ）、32.33mm（1.273インチ）及び34.87mm（1.373

50

インチ)である。反応室及び基板を覆う対応レーザースポットは、直径が約6.7mmである。しかし、他のレーザースポットが実現されることができる。

【0078】

IRレーザー源は、4(又はそれ以上)の光チャンネルが、それぞれの反応室の位置で基盤に対して実質的に垂直になるように、配置することができる。また、チャンネルは、比較的小さい角度の傾斜とすることができる。非接触温度センサは、法線に対する角度で提供することができる。角度は、30°~60°又は45°の間とすることができる。別個の非接触温度センサチャンネルは、各反応室のそれぞれに提供することができる。非接触温度センサ(又はそのチャンネル)は、それぞれの反応室から15mm(0.590インチ)離れて提供することができる。

10

【0079】

チップのための基板は、ポリマー又は他の材料であってもよい。加熱の波長は、図1によれば、(a)水の吸光度、(b)選択された光源の発光波長及び(c)基板材料の吸光度を含む範囲と重なるように選択される。例えば、各材料の吸光度スペクトルは、図中に示される。図3は、COC及びCOP(ゼオネックス<sup>TM</sup>、ゼオノア<sup>TM</sup>、トパス<sup>TM</sup>、アベル<sup>TM</sup>、アト<sup>TM</sup>の名の下で提供)を示す。図4Aは、ポリエチレンを示す。図4Bは、ポリジメチルシロキサン(PDMS)を示す。図4Cは、ポリメチルメタクリレート(PMMA)を示す。

【0080】

図5は、抽出、反応、保管、廃棄、反応及び分離のためのチャンネルを含むチャンネルと統合した例示的なマイクロ流体チップを示す。反応室は、反応室600とラベル付けされる。図6は、例示的な測定値を有する反応室600の拡大図を描く。図5及び図6は、縮尺で描かれる。反応室600は、長さ3.56mm及び幅1.21mmで体積が約1.35マイクロリットルであり、楕円形状を有する。

20

【0081】

図7Aは、IRレーザーが覆うポリマーマイクロ装置内でIR媒介PCRを実行するポリマーPCRマイクロ流体装置700の上面図である。図7Aに示すように、マイクロデバイス700は、1つ又は複数の反応室702、1つ又は複数のIRレーザー(又はレーザー出力)704及び1つ又は複数の非接触温度センサ706を含む。IRレーザーは、加熱するために使用され、コンピュータを介した非接触温度感知方法で制御される。図7Bのヒートマップに示すように、IRレーザー源は、PCRの反応室を取り囲む小さな領域を加熱する。図7Bは、赤外線カメラで撮影したヒートマップである。

30

【0082】

従来のサーマルサイクラーを用いて得られた温度サイクルプロファイルは、図7AのIRレーザーシステムを用いて増幅後に得られる温度サイクルプロファイルと比較された。マイクロ流体PCR増幅及び小さな反応容量(~1µL)のための図7AのIRレーザーシステムの使用は、総増幅時間を6倍をも短縮させる。

【0083】

図8(A)~(F)は、カートリッジ/チャンバの組に指向させる異なる2つの波長を用いた熱シミュレーションの比較を示す。図8(A)~(C)は、1720nmの波長の放射線を用いたチャンバ領域への熱の影響を示し、図8(D)~(F)は、1930nmの波長の放射線を用いた熱の影響を示す。シミュレーションにおける温度範囲は、室温(23)から95であり、本実施形態で使用されるPCR技術の熱サイクルプロセスのピーク温度である。他の温度は、他の技術に利用することができ、本開示の教示は、本明細書で論じた温度に限定されない。

40

【0084】

シミュレーションは、10秒を超える。図8(A)及び8(D)は、1720nm及び1930nmのレーザーで、それぞれが時間=0の時点である。ゼオネックスCOCにおける基板。図8(B)及び8(E)は、時間=5秒の時点である。図8(C)及び8(F)は、時間=10秒の時点である。これらの図は、液体サンプル及びチャンバ材料(172

50

0 nm) の両方を含む広い領域にわたる熱分布と、液体サンプル (1930 nm) 中に局在する狭い熱分布との差を示す。より広い熱分布を有するチャンバは、液体サンプル内で、非効率で且つ不完全な反応を生じさせる可能性がある温度勾配の危険性をより低くする。

【0085】

本開示によるマイクロ流体チップは、同じチップ上でPCRによる検出、抽出、PCR及び同じチップ上で分離又は抽出、PCR、分離及び検出を実行するために、チップに含まれる全てのサンプル材料と完全に統合されることができる。

【0086】

非接触加熱は、非接触温度検知と組み合わせることができる。

10

【0087】

レーザー光源からのレーザー光は、光ファイバチャネルを介して送信されることができる。各チャネル用に別々の光源が使用されることができ、又は、単一の光源がいくつかのチャネルソースに分割されることができる。

【0088】

レーザー出力は、すべてのチャネルを均一にするために、矯正レンズを用いることができる。ここで、光ファイバレーザーは、レンズを用いて調整され、このレンズは、開口数を0.22から、チップにおけるスポットサイズの直径、~6.7mmと関連する、16.77度である光学系の先端からフルアングルまで、減少させる。

【0089】

本明細書中に記載の実施形態は、能動的な冷却を用いる又は用いないことができる。

20

【0090】

いくつかの実施形態において、レーザー源/出力は、これらの特定の要件及び設計特徴のうち1つ又は複数をも有してもよい。個別にアドレス指定可能及び制御可能な4つのチャネル。10nm未満のスペクトル幅を有し、中心波長1720nm +/- 10nmの波長での出力光電力。総光出力電力最小4ワットのために、各チャネルの最小電力出力1.0ワット。及び、0.20 +/- 0.02の開口数を有するファイバ口からの光であって、ファイバからの電力強度のプロファイルが途中で最大となり、且つ、プロファイルが略中央でほぼ一定であり、その後、最後まで一貫して減少する。

【0091】

チャンバは、100~10000ナノリットルの間で様々な容積を有してもよい。

チャンバに通じるチャネルは、様々なアーキテクチャとすることができる。

加熱速度は、広い範囲で提供することができる。

完全なハードウェアの代わりに、光ファイバケーブルを使用し、スペースを節約することができる。

30

【0092】

したがって、光を発生させるためのハードウェアは、光の出力から離れて位置することができる。熱センサ(例えば、高温計)は、故に、レーザーをチャンバの同じ側に含ませることができる。これにより、完全な検出装置がよりコンパクトになり、小型化が容易になる。

40

【0093】

チップは、多数のチャネル及び多数の独立した反応室を有することができる。1~20別個であるが、各チップ上にある独立の反应用到に反復されたチャネルとすることができる。独立の反応毎に複数のチャネルとすることができる。

【0094】

サンプル混合物は、1つ又は複数の核酸分子を含むことができ、二本鎖(ds)DNA、一本鎖(ss)DNA及びRNAから構成されるグループから選択される。

【0095】

システムは、次の仕様で構成されることができる。

【0096】

50

流体及び周囲に含有する材料の微小サンプルの加熱に使用する I R 光源モジュールは、ポリマーゼ連鎖反応 ( P C R ) プロセスにおいて使用することができる。 I R モジュールには、電力及び制御信号が供給される。 I R モジュールには、チャンネル毎に光ファイバケーブルから出力する個別にアドレス指定可能 / 制御可能な 4 つのチャンネルを備えることができる。

**【 0 0 9 7 】**

I R 光源モジュールは、制御電子機器、光源、熱管理、光学及び光ファイバ配信の組み合わせである。このモジュールは、完全なフィールド交換可能ユニット ( F R U ) を形成する自己完結型のユニットである。 I R 光源モジュールは、電力を光パワーに変換する。各チャンネルは、デジタル制御可能であり、選択的に有効 / 無効にして、それぞれのチャンネルをアクティブ / 非アクティブにすることができる。各チャンネルは、アナログ又はデジタルの入力を提供されることができ、それぞれのチャンネルの出力電力を制御する。

10

**【 0 0 9 8 】**

I R 光源モジュールは、次の外部機能インタフェースを有することができる。電力の入力、チャンネル毎にデジタル可能、チャンネル毎に各チャンネルからの光パワーのアナログ又はデジタルによるインタフェース制御、及び、チャンネル毎の光ファイバケーブルからの光パワー出力である。

**【 0 0 9 9 】**

I R 光は、 $0.20 \pm 0.02$  の開口数を有するファイバから出力する。ファイバからの電力強度のプロファイルは、途中で最大である。プロファイルは、略中央でほぼ一定であり、その後最後まで一貫して減少してもよい。

20

**【 0 1 0 0 】**

モジュールの入力電圧は、 $5 \text{ VDC} (+/- 0.5 \text{ V})$ 、 $12 \text{ VDC} (+/- 1.0 \text{ V})$  又は  $24 \text{ VDC} (+/- 2 \text{ V})$  とすることができる。入力電圧は、一つ又は複数のこれらの値であってもよい。入力電圧 ( 複数可 ) は、最大のユニット効率を得て、熱放散電力を最小化するように選択することができる。

**【 0 1 0 1 】**

光パワーを制御するためのアナログラインは、入力電圧範囲  $0 \sim 5$  ボルトと、出力を生成しない  $0$  ボルトと  $5$  ボルトの間で線形応答をする全ての出力とを有する信号コネクタに設けられる。アナログ回線は、 $10 \text{ k}$  より大きな入力インピーダンスを有することができる。コンピュータの電圧コントローラに接続することができる。信号の帯域幅及び関連するモジュールの応答は、 $0 \text{ kHz} (\text{DC})$  よりも大きく、 $1 \text{ kHz}$  未満である。レーザ出力 ( $10\% \sim 90\%$ ) の立ち上がり時間 ( $T_r$ ) は、帯域幅 ( $BW$ ) と関連し、 $T_r = 0.35 / BW$  の関係である。 $1 \text{ kHz}$  の帯域幅については、関連付けられる立ち上がり時間は  $350$  マイクロ秒である。

30

**【 0 1 0 2 】**

モジュールからの I R 光は、公称直径  $200 \mu\text{m}$  及び開口数 ( $NA$ )  $0.22$  を有する光ファイバケーブルに結合する。光ファイバケーブルは、モジュールの外側に外部バルクヘッドコネクタを有するモジュールから着脱可能である。レーザモジュールコネクタは、 $SMA905$  コネクタを受け付ける。モデルの出力電力は、ケーブルの出力で測定される。

40

**【 0 1 0 3 】**

レーザの出射は、反応室から約  $21 \text{ mm}$  に配置され、光ファイバレーザは、レンズを用いて調整され、このレンズは、開口数を  $0.22$  から、チップでのスポットサイズ直径  $\sim 6.7 \text{ mm}$  に関連する、 $16.77$  度である光学系の先端からフルアングルまで、減少させる。

**【 0 1 0 4 】**

$1720 \text{ nm}$  ( 赤外線レーザ光線経路 ) での光出力は、以下 ( i ) ~ ( i i i ) から構成される。( i ) レーザハウジングが存在し、即時に ( i i ) 光ファイバと結合され、光ファイバは、( i i i ) レンズアセンブリ ( 開口数  $0.22$  を有する ) と接続し、レンズ

50

アセンブリは、レーザビームを拡大する。レンズアセンブリは、垂直に取り付けられるので、出射するレーザは、チップを保持するモジュールのカバープレート近くの上方向けられる。チップは、レーザ経路がチップ及び/又は反応室の表面に対して垂直となるように比較的、水平に取り付けることができる。また、レーザ経路は、垂線に対する角度で提供することができる。温度検出経路は、垂線に対する角度で提供することができ、レーザ経路と干渉しないように提供することができる。

【0105】

例示的なレーザ操作手順/アルゴリズム制御

レーザの起動手順： システムがオンになると、レーザに電力が供給される。コンピュータを介したソフトウェア・インタフェースによりコマンド信号が送信されたときのみ、レーザ出射は起こる。

10

【0106】

PCR手順： ソフトウェア・インタフェースを操作するに先立ち、チップは、カバー付きホルダーの所定の位置に配置されるべきである。そのときになって初めて、レーザに制御信号を送信するソフトウェアが使用されるべきである。温度感知（例えば、高温計）フィードバック信号は、ソフトウェア・インタフェースを介してレーザが動作中であり、且つ、PCR手順が動作中の間はそのカバーが除去されるべきではないことを示すことができる。

【0107】

レーザシャットダウン手順： 前カバーを取り外す前にレーザがオフになっていることを確実にするために、ソフトウェアでは手動操作モードが選択でき、ゼロ出力電圧をそこに入力することができる。ソフトウェアを介して適切なコマンドを実行することにより、レーザ出力をオフにすることができる。この手順は、各レーザについて繰り返すことができ、温度測定は、レーザがいかなる放射線も出力していないことを確認するために観察することができる。また、電源供給を切断すると、レーザへの電源がオフになる。

20

【0108】

例示的なDNAの準備

口腔スワブは、ドナーから得られ、且つ、ZYGEM<sup>TM</sup>緩衝液98マイクロリットル及びPREPGEM<sup>TM</sup>酵素2マイクロリットルが加えられた。得られたサンプルは、従来のサーマルサイクラーにおいて、75 で2分間及び95 で2分間、培養された。

30

【0109】

POWERPLEX（登録商標）18： DNAは、総容積10マイクロリットルのために、POWERPLEX（登録商標）マスターミックス2マイクロリットル及びPOWERPLEX（登録商標）プライマー1マイクロリットルが加えられた。

【0110】

IDENTIFILER<sup>TM</sup>： DNAは、総容積10マイクロリットルのために、PYROSTART<sup>TM</sup>マスターミックス（Fermentas社<sup>TM</sup>）5マイクロリットル、IDENTIFILER<sup>TM</sup>プライマー（APPLIED BIOSYSTEMSから）2.25マイクロリットル、SPEEDSTAR<sup>TM</sup>DNAポリメラーゼ（タカラバイオから）0.25マイクロリットル及び10mg/mL BSA0.5マイクロリットルに加えられた。

40

【0111】

例示的な熱サイクル手順/アルゴリズムの制御

【0112】

PROMEGAPOWERPLEX（登録商標）： 96 で1分間、（94 で5秒間、60 で10秒間、72 で10秒間を）30サイクル、且つ、最後に60 で60秒間。温度は、受動的又は能動的な冷却と併せて、コンピュータによる制御された加熱及びアルゴリズム処理により維持される。

【0113】

IDENTIFILER<sup>TM</sup>： 95 で1分間、（95 で5秒間、59 で10秒

50

間、72 で10秒間を)32サイクル、且つ、最後に60 で60秒間。温度は、受動的又は能動的な冷却と併せて、コンピュータによる制御された加熱及びアルゴリズム処理により維持される。

【0114】

例示的な統合型チップサーマルサイクリング手順/制御アルゴリズム

【0115】

L I F E T E C H N O L O G I E S I D E N T I F I E R <sup>T M</sup>を使用して、サンプルは、初期の変性工程のために、最初の温度95 で60秒間保持された。次に、(a) I Rレーザで95 に加熱され、5秒間保持され、(b)ソースがオフになり、2.1 °C /秒で60 に受動的に冷却し、10秒間保持され、且つ、(c)次いで、3.7 /秒の速度で72 まで加熱し、10秒間保持され、これらが26サイクル行われた。その後、最終延長が5分間あった。増幅の結果は、電気泳動によりチップ上で分離した。

10

【0116】

P R O M E G A P O W E R P L E X 1 8 D <sup>T M</sup>を使用して、サンプルは、初期の変性工程のために、最初の温度95 で60秒間保持された。次に、(a) I Rレーザで95 に加熱され、5秒間保持され、(b)ソースがオフになり、2.1 °C /秒で60 に受動的に冷却し、10秒間保持され、且つ、(c)次いで、3.7 /秒の速度で72 まで加熱し、10秒間保持され、これらが27サイクル行われた。その後、最終延長が5分間あった。増幅の結果は、電気泳動によりチップ上で分離した。

20

【0117】

別の実施形態では、L I F E T E C H N O L O G I E S I D E N T I F I E R <sup>T M</sup>を使用して、サンプルは、初期の変性工程のために、最初の温度94 で60秒間保持された。次に、(a) I Rレーザで94 に加熱され、5秒間保持され、(b)ソースがオフになり、2.1 °C /秒で59 に受動的に冷却し、20秒間保持され、これらが27サイクル行われた。次いで、72 で5分間の最終延長があった。増幅の結果は、電気泳動によりチップ上で分離した。

30

【0118】

P R O M E G A P O W E R P L E X 1 8 D <sup>T M</sup>を使用して、サンプルは、初期の変性工程のために、最初の温度94 で60秒間保持された。次に、(a) I Rレーザで94 に加熱され、10秒間保持され、(b)ソースがオフになり、2.1 °C /秒で59 に受動的に冷却し、40秒間保持され、これらが27サイクル行われた。次いで、60 で5分間の最終延長があった。増幅の結果は、電気泳動によりチップ上で分離した。

40

【0119】

しかし、他の時間及び温度は、本開示の教示に従って利用することができ、上述の値は、対応する時間の近似値が所定の範囲内に収まる近似値又は平均値とすることができる。

【0120】

図9は、本開示による例示的なアルゴリズムプロセス900を示すフローチャートである。ステップS902では、パラメータは、プロセスを制御するために、システム、処理システム又はコンピュータに入力される。例示的なパラメータは、反応室の材料、熱源(複数可)の種類、冷却源(複数可)の種類、温度感知装置(複数可)の種類、反応室内の流体の量、反応室内の主要な構成要素、温度、保持時間、サイクル数及び動作モードを含む。動作モードは、自動、半自動又は手動に設定することができ、全プロセスを通して相互作用の異なるレベルをユーザに提供する。周辺機器及びディスプレイを介してコンピュータのG U I (グラフィカルユーザインタフェース)により入力することができる。パラメータのリストは、網羅的ではない。パラメータは、コンピュータのデータファイルに事前に定義され、且つ、1つ又はいくつかのオプションを単に選択することでアクセスすることができる。また、テーブルデータファイルは、事前に定義された手順の設定を選択するために使用することができる。また、コンピュータは、期待される熱源、受動的冷却及び期待される温度感知装置をデフォルトに設定することができる。さらに、デフォルトは、予め設定された温度、保持時間、温度変化の速度及びサイクル数を含むことができる。

50

## 【 0 1 2 1 】

パラメータがコンピュータに入力され、選択され及び読み込まれ、又は、そうでなければステップ S 9 0 2 の処理システムで定義され、且つ、機器（すなわち、マイクロ流体チップ、ホルダー、熱源、冷却源及び温度センサ）及び流体が適切に確立され、変性ステップがステップ S 9 0 4 で提供されることが出来る。ステップ S 9 0 4 における変性ステップは、初期の時間に初期の変性温度で流体サンプルを保持することを含む。

## 【 0 1 2 2 】

ステップ S 9 0 4 の変性ステップの後、サンプル、流体及び / 又は反応室の加熱（本明細書中で単に加熱と称する）は、ステップ S 9 0 6 で開始する。ステップ S 9 0 6 で、加熱は、第 1 加熱速度で実行され、所定の第 1 加熱速度に到達するために、第 1 温度に到達するまで、熱源を介して加熱量が印加される。別の実施形態では、加熱速度（すなわち、第 1 速度）が定義されなくてもよい。第 1 温度は、ステップ S 9 0 8 で第 1 時間保持される。

10

## 【 0 1 2 3 】

サンプル、流体及び / 又は反応室（本明細書中で単に冷却と称する）の冷却は、ステップ S 9 1 0 で、受動的又は能動的のいずれか、第 2 の速度で又は少なくとも第 2 の速度（すなわち、第 2 冷却速度）で第 2 温度まで実行される。別の実施形態では、第 2 冷却速度（すなわち、第 2 速度）は、定義されなくてもよい。第 2 温度は、ステップ S 9 1 2 で、第 2 時間保持される。

## 【 0 1 2 4 】

ステップ S 9 1 4 で、加熱は、第 3 加熱速度で実行され、所定の第 3 加熱速度に到達するために、第 3 温度に到達するまで、熱源を介して加熱量が印加される。別の実施形態では、第 3 加熱速度（すなわち、第 3 速度）が定義されなくてもよい。第 3 温度は、ステップ S 9 1 6 で第 3 時間保持される。

20

## 【 0 1 2 5 】

ステップ S 9 0 6 ~ S 9 1 6 の手順は、1 周期を定義する。パラメータ（すなわち、加熱 / 冷却変数）は、自動モードが選択されている場合の所定の入力に基づいて、又は、半自動モードが選択されている場合のユーザ入力に基づいて、各サイクルの後にステップ S 9 1 8 で選択的に調整することができる。手動モードで、ユーザは、各ステップ / 手順を制御し、コンピュータは、ユーザ入力を受信されるまで、1 つ又は複数のアルゴリズムの態様に進まない。

30

## 【 0 1 2 6 】

ステップ S 9 2 0 では、サイクル数に到達するまで、ステップ S 9 0 6 ~ S 9 1 6 又はステップ S 9 0 6 ~ S 9 1 8 が複数回繰り返される。この数は、予め定義され又はリアルタイムでユーザにより選択されることが出来る。また、この数は、サンプルの観察可能な又は検出可能な特性に関連するセンサ入力に基づいて、自動的に、コンピュータにより選択されることが出来る。

## 【 0 1 2 7 】

サイクルが完了した後、第 3 温度は、ステップ S 9 2 2 で最終延長時間保持され、且つ、S 9 2 4 で電気泳動が実行される。

40

## 【 0 1 2 8 】

上記のアルゴリズムでは、加熱及び冷却速度は、定期的に処理温度の測定値によりモニタされることができ、且つ、熱源による加熱量及び能動的な冷却装置により提供される冷却量を調整することで制御することができる。特定の加熱 / 冷却設定が原因で、ある加熱 / 冷却速度に到達することが知られている場合には、加熱 / 冷却速度をモニタすることは必要ではないかもしれない。さらに、加熱 / 冷却速度は、ある閾値を超えていることを単に確認するためにモニタしてもよい。

## 【 0 1 2 9 】

先に論じた例示的な実施形態によれば、以下の設定を適用することができる。

## 【 0 1 3 0 】

50

サンプル / 流体 容量 : 10 ミリリットル  
 変性 : 95 °C で 60 秒間。  
 サイクル数 : 27。  
 第 1 温度 : 95 °C。  
 第 1 保持時間 : 5 秒間。  
 第 1 速度 : > 3 / 秒 (正、加熱)。  
 第 2 温度 : 60 °C。  
 第 2 保持時間 : 10 秒間。  
 第 2 速度 : 2.1 / 秒 (負、冷却)。  
 第 3 温度 : 72。  
 第 3 保持時間 : 10 秒間。  
 第 3 速度 : 3.7 / 秒 (正、加熱)。且つ  
 最終延長時間 : 5 分間。

10

## 【0131】

別の例示的な実施形態によれば、以下の設定を適用することができる。

サンプル / 流体 容量 : < 10 ミリリットル  
 変性 : 50 ~ 96 °C で 60 秒間。  
 サイクル数 : 20 ~ 35。  
 第 1 温度 : 50 ~ 95 °C。  
 第 1 保持時間 : 2 ~ 10 秒間。  
 第 1 速度 : > 3 / 秒 (正、加熱)。  
 第 2 温度 : 50 ~ 96 °C。  
 第 2 保持時間 : 5 ~ 20 秒間。  
 第 2 速度 : 2 / 秒 (負、冷却)。  
 第 3 温度 : 50 ~ 96。  
 第 3 保持時間 : 5 ~ 20 秒間。  
 第 3 速度 : 3 / 秒 (正、加熱)。且つ  
 最終延長時間 : 2 ~ 15 分間。

20

## 【0132】

本明細書で示した又は説明したコンピュータアーキテクチャの複数のブロックは、単一の処理システムで実施されてもよく、又は、プロセッサと称される可能性のある複数の処理システムに渡って分散されてもよい。例えば、各アーキテクチャのブロックは、別個のプロセッサ、システム又は論理コンポーネントとすることができる。

30

## 【0133】

図 10 は、例示的な処理システム又はプロセッサ 1000 を示す。1 つ又は複数のこのような処理システムは、本明細書の記載に従って、1 つ若しくは複数のアルゴリズム又はこれらの一部、又は、1 つ若しくは複数のアーキテクチャのブロック又はこれらの一部を実行して又はが使用されることができる。

## 【0134】

例示的な処理システム 1000 は、1 つ又は複数のマイクロプロセッサ又は同等物を使用して実装されることができる。例えば、中央処理装置 (CPU) 及び / 又は少なくとも 1 つのアプリケーション特化型プロセッサ ASP (図示せず) がある。マイクロプロセッサは、コンピュータ可読記憶媒体を使用する回路であって、本開示のプロセス及びシステムを実行及び / 又は制御するためのマイクロプロセッサを制御するように構成される。例えば、メモリ回路 (例、ROM、EPROM、EEPROM、フラッシュメモリ、スタティックメモリ、DRAM、SDRAM、及びその等価物) がある。他の記憶媒体は、ハードディスクドライブ又は光ディスクドライブを制御するコントローラを介して制御することができる。例えば、ディスクコントローラがある。

40

## 【0135】

マイクロプロセッサ又はこの態様は、代替の実施形態で、本開示を増大する又は完全に

50

実施するための論理デバイスを含み又は排他的に含むことができる。このような論理装置は、特定用途向け集積回路（ASIC）、フィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA）、汎用配列ロジック（GAL）及びそれらの等価物を含むが、これらに限定されない。マイクロプロセッサは、別の装置又は単一の処理機構とすることができる。さらに、本開示は、マルチコアCPUの並列処理能力により利益を享受する。また、マルチプロセッサの配列で1つ又は複数のプロセッサにより提供される制御回路は、メモリに含まれる一連の命令を実行するために採用されることができる。代替的に、ハードワイヤード回路は、ソフトウェア命令に代わって又はソフトウェア命令と組み合わせて使用することができる。このように、本明細書で論じる例示的な実装は、ハードウェア回路及びソフトウェアの特定の組み合わせに限定されるものではない。

10

**【0136】**

別の態様では、本開示に従った処理の結果は、表示制御部を介してモニタに表示することができる。表示制御部は、好ましくは、少なくとも1つのグラフィックス処理ユニットを含み、計算効率の改善のために、複数のグラフィックス処理コアにより提供されることができる。追加的に、I/O（入力/出力）インタフェースは、周辺機器としてI/Oインタフェースに接続可能なマイク、スピーカー、カメラ、マウス、キーボード、タッチペーンのディスプレイ又はパッドインタフェース等からの信号及び/又はデータを入力するために設けられる。例えば、本開示の様々なプロセス又はアルゴリズムのパラメータを制御するためのキーボード及びポインティングデバイスは、追加の機能及び構成オプション又は制御表示特性を提供するために、I/Oインタフェースに接続することができる。さらに、モニタは、コマンド/命令インタフェースを提供するためのタッチセンサ式インタフェースを備えることができる。

20

**【0137】**

また、I/Oインタフェースは、冷却源（複数可）、熱源（複数可）及び温度センサに接続される。

**【0138】**

上記コンポーネントは、制御可能なパラメータを含むデータの送信又は受信をするネットワークインタフェースを介してネットワーク、例えば、インターネット又はローカルのイントラネットに接続することができる。セントラルバスは、上記ハードウェアコンポーネント同士を接続するために設けられ、且つ、これらの間のデジタル通信のために少なくとも一つの経路を提供する。

30

**【0139】**

適切なソフトウェア、例えば、オペレーティングシステム又はアプリケーションは、メモリ及び記憶装置を含む処理システムのコンピュータ可読媒体に有形的に格納することができる。コンピュータ可読媒体の他の例は、コンパクトディスク、ハードディスク、フロッピーディスク、テープ、磁気光学ディスク、PROM（EPROM、EEPROM、フラッシュEPROM）、DRAM、SRAM、SDRAM又は他のいかなる磁気媒体、コンパクトディスク（例えば、CD-ROM）又はコンピュータが読取可能な他のいかなる媒体を含む。ソフトウェアは、デバイスドライバ、オペレーティングシステム、開発ツール、アプリケーションソフトウェア及び/又はGUIを含んでもよいが、これらに限定されない。

40

**【0140】**

上記記載の媒体上のコンピュータコード要素は、解釈可能又は実行可能な任意のコードメカニズムであってもよく、スクリプト、解釈可能なプログラム、ダイナミックリンクライブラリ（DLL）、Javaクラス及び完全に実行可能なプログラムを含むが、これらに限定されない。また、本開示の態様の処理の一部は、より良い性能、信頼性及び/又はコストのために分散されてもよい。

**【0141】**

本明細書に記載された手順及びルーチンは、システム、方法又はコンピュータプログラム製品として具現化することができ、1つ又は複数の専用の回路又はプログラムされたブ

50

ロセッサを介して実行することができる。したがって、本明細書で提供される説明は、専用ハードウェアの形態、ハードウェアで実行される専用ソフトウェアの形態（ファームウェア、常駐ソフトウェア、マイクロコード等を含む）又は専用のハードウェアコンポーネント及び特定のアルゴリズムと処理コードで構成される汎用プロセッサの組合せによる形態をとってもよい。ハードウェアコンポーネントは、「回路」、「モジュール」、「ユニット」、「装置」又は「システム」と称される。ハードウェアにより実行される実行可能なコードは、コンピュータプログラム製品のように有形のメモリ装置上で具現化される。例としては、CD、DVD、フラッシュドライブ、ハードディスクユニット、ROM、RAM及び他のメモリ装置を含む。

【0142】

参照は、本開示の実施形態による方法、システム及びコンピュータプログラム製品のフローチャート図及びブロック図においてなされる。これらの態様は、コンピュータプログラム命令により実行される。これらのコンピュータプログラム命令は、マシンを生成するために汎用コンピュータ、専用コンピュータ、又は他のプログラム可能データ処理装置のプロセッサに提供されてもよい。例えば、コンピュータ又は他のプログラム可能データ処理装置のプロセッサを介して実行され、フローチャート及び/又はブロック図のブロック又は複数のブロックで特定された機能/動作を実施するための手段を作成する命令がある。

10

【0143】

また、これらのコンピュータプログラム命令は、コンピュータ可読媒体に格納することができ、コンピュータ又は他のプログラム可能データ処理装置に、特定の 방법으로機能するように指示を出すことができる。例えば、コンピュータ可読媒体に格納された命令は、フローチャート及び/又はブロック図のブロック又は複数のブロックで特定された機能/動作を実行するための命令手段を含む作成項目を生成する。

20

【0144】

また、コンピュータプログラム命令は、コンピュータ実行プロセスを生成するコンピュータ又は他のプログラム可能装置で一連の動作ステップを実行させるために、コンピュータ又は他のプログラム可能データ処理装置に読み込まれてもよい。例えば、コンピュータ又は他のプログラム可能装置で実行される命令は、フローチャート及び/又はブロック図のブロック又は複数のブロックで特定された機能/動作を実現するためのプロセスを提供する。

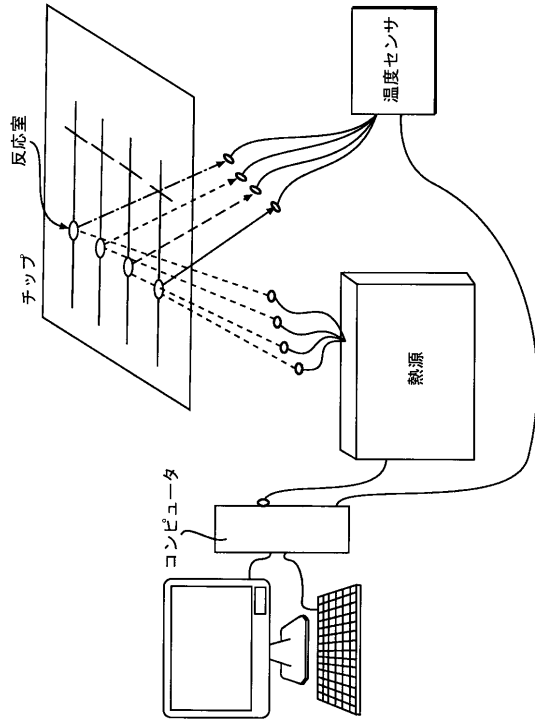
30

【0145】

多くの実施形態が記載されてきた。上記に関わらず、本開示の精神及び範囲から逸脱することなくなされた種々の改変は、理解される。例えば、開示技術のステップが異なる順序で実行された場合、開示システムの構成要素が異なる方法で組み合わせられた場合、又は、構成要素が他の構成要素により置き換えられ又は補充された場合、好適な結果が達成されてもよい。本明細書に記載された機能、プロセス及びアルゴリズムは、本明細書に記載された機能、プロセス及びアルゴリズムを実行するためのプログラムコード及び/又はコンピュータ命令を実行するように構成されたコンピュータプロセッサ及び/又はプログラム可能回路を含むハードウェアで実施され、又は、これらを含むハードウェアにより実行されるソフトウェアで実施されてもよい。追加的に、いくつかの実施形態は、これらに記載されたものとは同一ではないモジュール又はハードウェア上で実施されてもよい。結果的に、他の実施形態は、主張した特許請求の範囲内にあってもよい。

40

【 図 1 】



【 図 2 】

FIG. 1

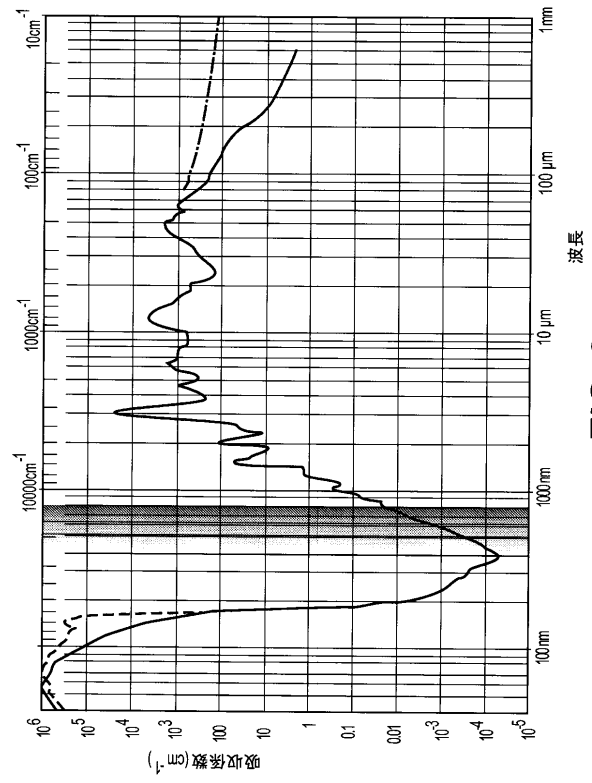


FIG. 2

【 図 3 】

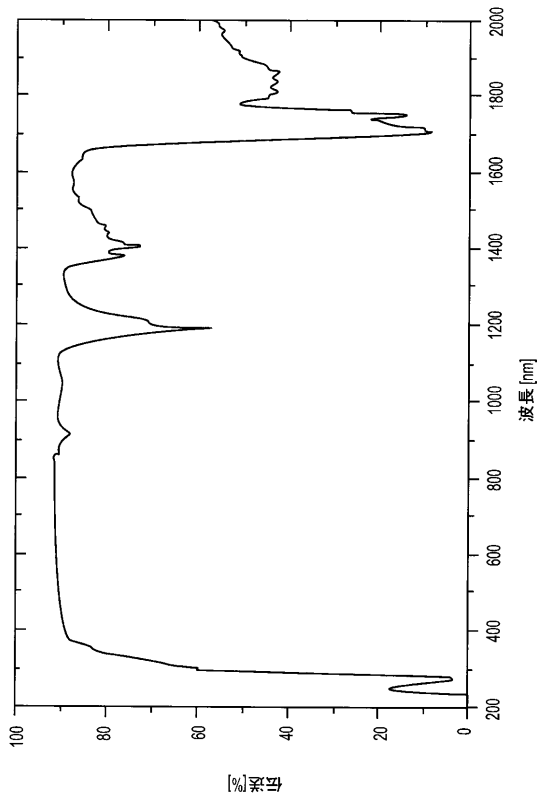


FIG. 3

【 図 4 A 】

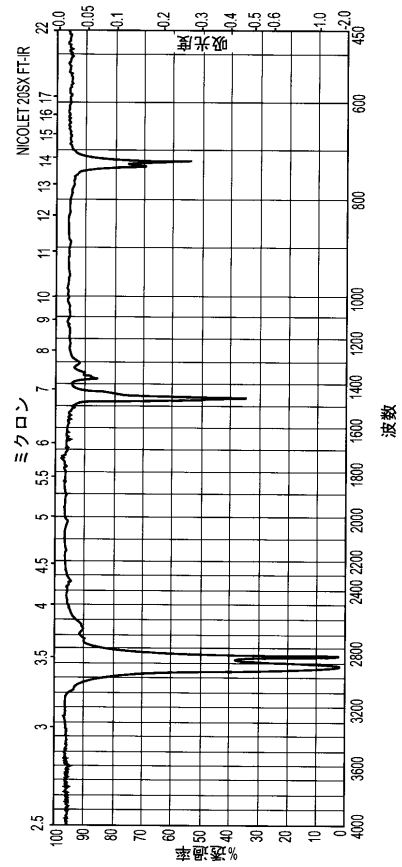


FIG. 4A

【 図 4 B 】

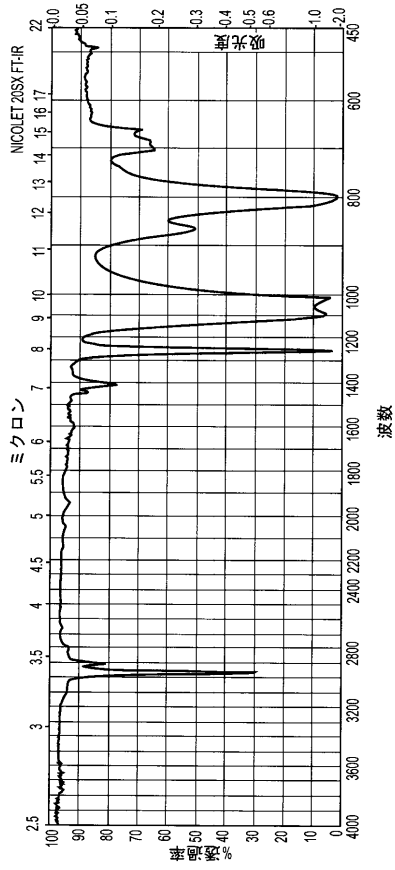


FIG. 4B

【 図 4 C 】

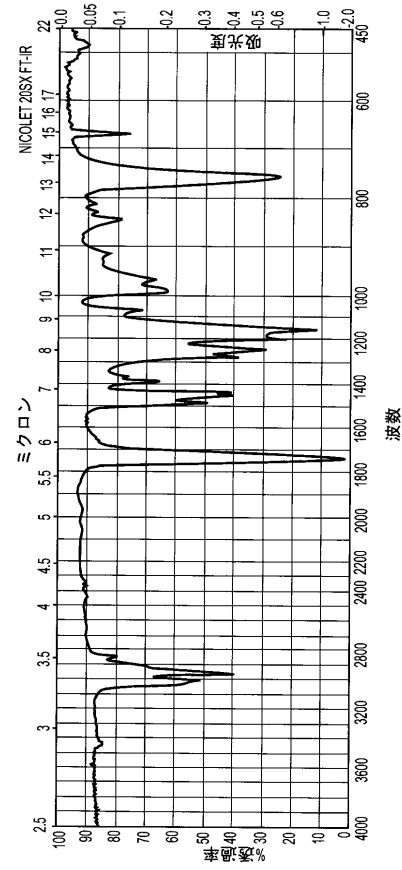


FIG. 4C

【 図 5 】

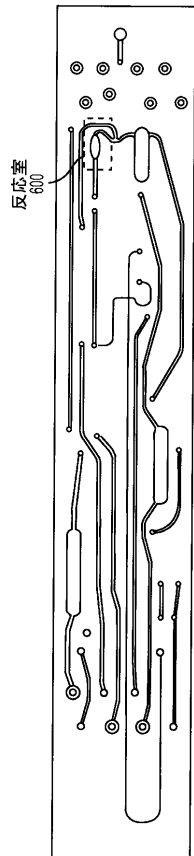


FIG. 5

【 図 6 】

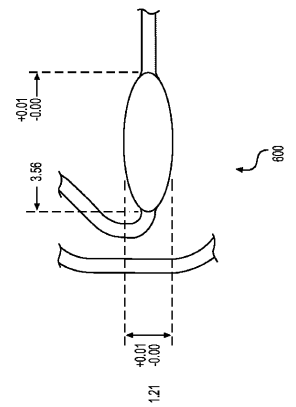


FIG. 6

【 図 7 A 】

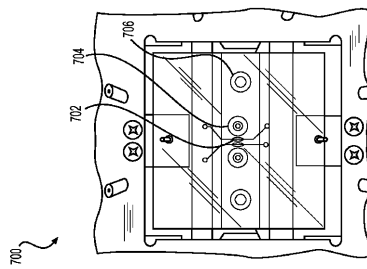


FIG. 7A

【 図 7 B 】

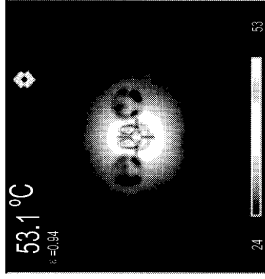


FIG. 7B

【 図 8 】

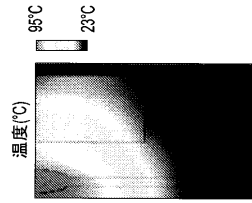


FIG. 8C

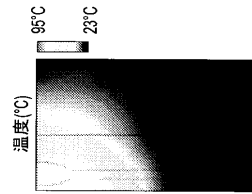


FIG. 8B

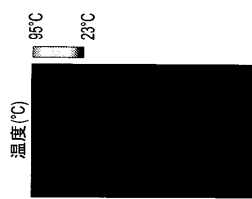


FIG. 8A

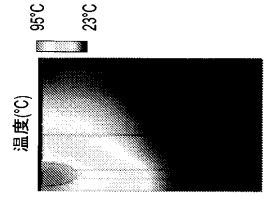


FIG. 8F

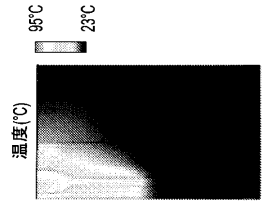


FIG. 8E

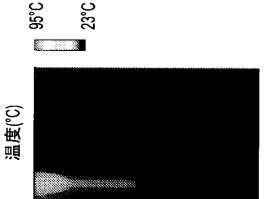


FIG. 8D

【 図 9 】

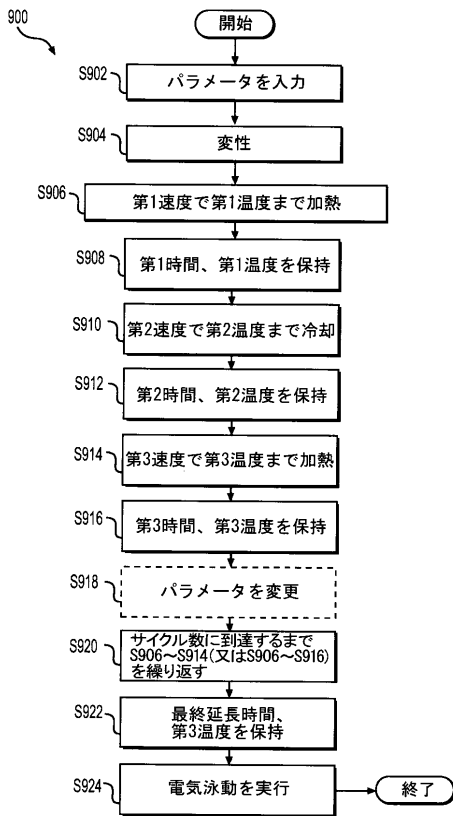


FIG. 9

【 図 10 】

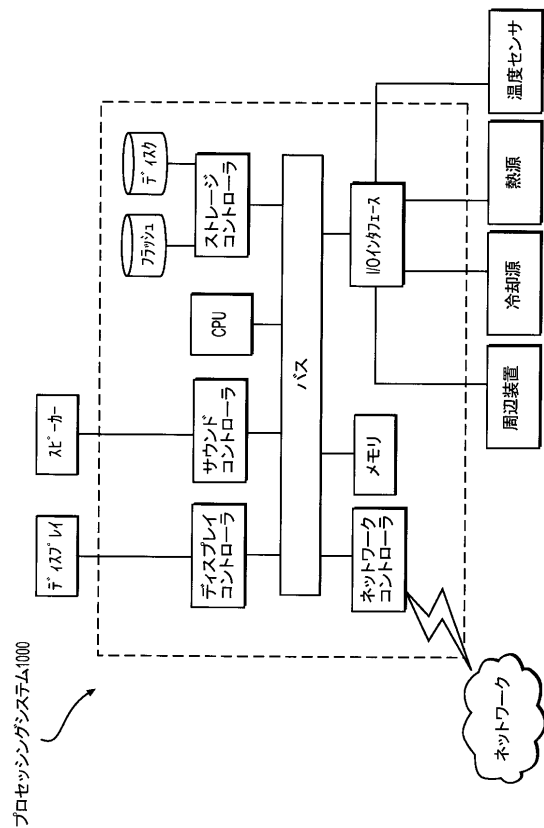


FIG. 10

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/057992
---

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. B01L3/00 B01L7/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) B01L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2003/231878 A1 (SHIGEURA JOHN [US]) 18 December 2003 (2003-12-18) paragraphs [0006], [0007], [0018], [0019], [0028], [0030], [0031], [0033], [0034], [0049] - paragraphs [0054], [0057], [0059] figures 1, 2, 6 -----	1-17
X	US 2005/287661 A1 (LANDERS JAMES [US]) 29 December 2005 (2005-12-29) paragraphs [0025], [0026], [0036], [0045] - [0047], [0049] - [0053], [0055], [0058] - paragraphs [0064], [0066] figures 1, 4, 5 ----- -/--	1-18
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 22 December 2014		Date of mailing of the international search report 23/03/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Bischoff, Laura

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2014/057992**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
  
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-18

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/057992
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2007/009382 A1 (BEDINGHAM WILLIAM [US] ET AL) 11 January 2007 (2007-01-11) the whole document -----	1-18
A	US 6 210 882 B1 (LANDERS JAMES P [US] ET AL) 3 April 2001 (2001-04-03) the whole document -----	1-18

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/057992

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003231878 A1	18-12-2003	AU 2003223741 A1	22-12-2003
		US 2003231878 A1	18-12-2003
		US 2005175332 A1	11-08-2005
		US 2006239666 A1	26-10-2006
		US 2008095679 A1	24-04-2008
		US 2012052564 A1	01-03-2012
		US 2012322140 A1	20-12-2012
		WO 03104783 A1	18-12-2003
US 2005287661 A1	29-12-2005	AU 2003287029 A1	04-05-2004
		US 2005287661 A1	29-12-2005
		WO 2004033099 A2	22-04-2004
US 2007009382 A1	11-01-2007	AU 2006266465 A1	11-01-2007
		BR PI0613829 A2	15-02-2011
		CA 2614035 A1	11-01-2007
		CN 101218030 A	09-07-2008
		EP 1899067 A1	19-03-2008
		JP 2009500622 A	08-01-2009
		KR 20080041175 A	09-05-2008
		US 2007009382 A1	11-01-2007
		WO 2007005077 A1	11-01-2007
		ZA 200801188 A	25-02-2009
US 6210882 B1	03-04-2001	AU 2479199 A	16-08-1999
		EP 1051518 A1	15-11-2000
		US 6210882 B1	03-04-2001
		US 2001029036 A1	11-10-2001
		WO 9939005 A1	05-08-1999

International Application No. PCT/US2014/057992

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-18

An apparatus, comprising: a reaction chamber to hold a fluid; a non-contact heat source to heat the reaction chamber and the fluid, wherein the heat source does not contact the reaction chamber or the fluid, and the reaction chamber and the fluid separately absorb heat radiation from the heat source; a temperature sensor to acquire a temperature of the reaction chamber and/or the fluid; and control circuitry configured to control the heat source according to a cycling profile for a chemical or biochemical reaction in the fluid to cycle the heat source between heating and not heating the reaction chamber and the fluid based on the temperature acquired by the temperature sensor.

1.1. claims: 2-6, 9-16(completely); 1(partially)

An apparatus, comprising: a reaction chamber to hold a fluid; a non-contact heat source to heat the reaction chamber and the fluid, wherein the heat source does not contact the reaction chamber or the fluid, and the reaction chamber and the fluid separately absorb heat radiation from the heat source; a temperature sensor to acquire a temperature of the reaction chamber and/or the fluid; and control circuitry configured to control the heat source according to a cycling profile for a chemical or biochemical reaction in the fluid to cycle the heat source between heating and not heating the reaction chamber and the fluid based on the temperature acquired by the temperature sensor, with further details about the heat source, solving the problem to find an alternative heat source.

1.2. claims: 7, 8(completely); 1(partially)

An apparatus, comprising: a reaction chamber to hold a fluid; a non-contact heat source to heat the reaction chamber and the fluid, wherein the heat source does not contact the reaction chamber or the fluid, and the reaction chamber and the fluid separately absorb heat radiation from the heat source; a temperature sensor to acquire a temperature of the reaction chamber and/or the fluid; and control circuitry configured to control the heat source according to a cycling profile for a chemical or biochemical reaction in the fluid to cycle the heat source between heating and not heating the reaction chamber and the fluid based on the temperature acquired by the temperature sensor, with further details about the temperature sensor, solving the problem to find an alternative temperature sensor.

1.3. claims: 17(completely); 1(partially)

An apparatus, comprising: a reaction chamber to hold a

International Application No. PCT/US2014/057992

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

fluid; a non-contact heat source to heat the reaction chamber and the fluid, wherein the heat source does not contact the reaction chamber or the fluid, and the reaction chamber and the fluid separately absorb heat radiation from the heat source; a temperature sensor to acquire a temperature of the reaction chamber and/or the fluid; and control circuitry configured to control the heat source according to a cycling profile for a chemical or biochemical reaction in the fluid to cycle the heat source between heating and not heating the reaction chamber and the fluid based on the temperature acquired by the temperature sensor, further defined by the presence of a cooler, solving the problem to find an alternative way of cooling the reaction chamber and/or the fluid.

1.4. claims: 18(completely); 1(partially)

An apparatus, comprising: a reaction chamber to hold a fluid; a non-contact heat source to heat the reaction chamber and the fluid, wherein the heat source does not contact the reaction chamber or the fluid, and the reaction chamber and the fluid separately absorb heat radiation from the heat source; a temperature sensor to acquire a temperature of the reaction chamber and/or the fluid; and control circuitry configured to control the heat source according to a cycling profile for a chemical or biochemical reaction in the fluid to cycle the heat source between heating and not heating the reaction chamber and the fluid based on the temperature acquired by the temperature sensor, with further details about the heat source, solving the problem to find an alternative heat source.

---

2. claims: 19, 20

A method for a reaction and a non-transitory computer-readable medium including computer-executable instructions to perform such method, the method comprising: controlling, by control circuitry, heating and cooling of a reaction chamber that contains a fluid in which the reaction is to occur, in accordance with a cycling profile based on sensing a temperature of the reaction chamber or the fluid, the cycling profile including: (a) heating to a first temperature at a first rate; (b) holding the first temperature for a first holding time; (c) cooling to a second temperature at a second rate; (d) holding the second temperature for a second holding time; (e) heating to a third temperature at a third rate; and (f) holding the third temperature for a third holding time, solving the problem to provide a method for a thermocycling reaction of a fluid.

---

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. J A V A

(74)代理人 100099759

弁理士 青木 篤

(74)代理人 100092624

弁理士 鶴田 準一

(74)代理人 100114018

弁理士 南山 知広

(74)代理人 100160716

弁理士 遠藤 力

(74)代理人 100180806

弁理士 三浦 剛

(74)代理人 100205969

弁理士 氷室 詩乃

(72)発明者 マイケル エドワード イーガン

アメリカ合衆国, ワシントン 9 8 0 1 2, ボセル, ボセルエバレット ハイウェイ 2 0 2 2 5

(72)発明者 ピーター カール トロスト

アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 2 1 2 9, サンディエゴ, ピア カバッコ ロジ 1 2 9 7 6

(72)発明者 ジェイムズ ランダーズ

アメリカ合衆国, バージニア 2 2 9 0 3, シャーロットビル, ネットル コート 6 3 3

(72)発明者 ブライアン ルート

アメリカ合衆国, バージニア 2 2 9 0 1, シャーロットビル, ウッドゲート コート 1 4 5, アpartment 2エー

(72)発明者 オリオン スコット

アメリカ合衆国, バージニア 2 2 9 0 3, シャーロットビル, イースト ジェファーソン ストリート 1 1 1 3, アpartment # 2

Fターム(参考) 4B029 AA23 BB20 CC01 FA12 FA15

4B063 QA01 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QR62 QS25 QS34