



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112021003146-4 A2



(22) Data do Depósito: 29/08/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 11/05/2021

(54) **Título:** SISTEMA E MÉTODOS PARA DETECTAR O TEMPO DE VIDA AO USAR FOTODETECTORES DE CONTAGEM DE FÓTONS

(51) **Int. Cl.:** G01N 21/64; C12Q 1/6869.

(30) **Prioridade Unionista:** 29/08/2018 US 62/724,167.

(71) **Depositante(es):** QUANTUM-SI INCORPORATED.

(72) **Inventor(es):** BENJAMIN CIPRIANY.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2019048824 de 29/08/2019

(87) **Publicação PCT:** WO 2020/047262 de 05/03/2020

(85) **Data da Fase Nacional:** 19/02/2021

(57) **Resumo:** "SISTEMA E MÉTODOS PARA DETECTAR O TEMPO DE VIDA AO USAR FOTODETECTORES DE CONTAGEM DE FÓTONS". A presente invenção refere-se a sistemas e métodos para detectar o tempo de vida de moléculas luminescentes ao usar fotodetectores configurados para executar a contagem de fótons. Os sistemas e os métodos podem envolver uma disposição de fotodetectores para detectar os fótons emitidos de uma amostra, que pode incluir moléculas luminescentes, e circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores. O circuito de detecção podem ser configurados para contar, pelo menos durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo, uma quantidade de fótons incidentes em um fotodetector na disposição de fotodetectores.

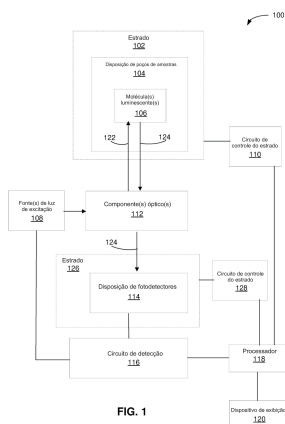


FIG. 1

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"SISTEMA E MÉTODOS PARA DETECTAR O TEMPO DE VIDA AO USAR FOTODETECTORES DE CONTAGEM DE FÓTONS"**.

REFERÊNCIA REMISSIVA A PEDIDOS DE PATENTE RELACIONADOS

[001] O presente pedido de patente reivindica o benefício sob o 35 U.S.C. § 119(e) do Pedido de Patente Norte-americano Provisório nº. de série 62/724.167, intitulado "SISTEMA E MÉTODOS PARA DETECTAR O TEMPO DE VIDA AO USAR FOTODETECTORES DE CONTAGEM DE FÓTONS", e depositado em 29 de agosto de 2018, o qual é incorporado a título de referência no presente documento em sua totalidade.

ANTECEDENTES

Campo

[002] O presente pedido de patente refere-se a sistemas, métodos e técnicas para detectar moléculas em amostras biológicas e químicas mediante a execução da análise paralela dessas amostras.

Técnica Relacionada

[003] A detecção e a análise de amostras biológicas e químicas podem ser executadas ao etiquetar as amostras com etiquetas luminescentes que emitem a luz que tem um comprimento de onda característico em resposta à iluminação das amostras com luz que excita as etiquetas luminescentes. Os fotodetectores posicionados para detectar a luz emitida podem gerar sinais, os quais podem ser usados para analisar a amostra.

SUMÁRIO

[004] Algumas modalidades são dirigidas a um sistema que inclui uma disposição de fotodetectores e um circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores. O circuito de detecção é configurado para contar, durante um primeiro período de tempo e um segundo

período de tempo depois da iluminação de uma molécula luminescente com luz de excitação, uma quantidade de fótons incidentes recebidos da molécula luminescente em um fotodetector da disposição de fotodetectores.

[005] Em algumas modalidades, o circuito de detecção é configurado para contar os fótons individuais incidentes na disposição de fotodetectores durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo. Em algumas modalidades, o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais que identificam a molécula luminescente.

[006] Em algumas modalidades, o circuito de detecção também é configurado para gerar sinais que distinguem entre tipos diferentes de moléculas luminescentes incluindo um primeiro sinal que identifica um primeiro tipo de molécula luminescente e um segundo sinal que identifica um segundo tipo de molécula luminescente. Em algumas modalidades, os tipos diferentes de moléculas luminescentes são associados com nucleotídeos diferentes, e o circuito de detecção é configurado para gerar um conjunto de sinais que identificam uma série de nucleotídeos. Em algumas modalidades, o conjunto de sinais que identificam a série de nucleotídeos arranja em sequência uma molécula de ácido nucleico modelo. Em algumas modalidades, a série de nucleotídeos identificados pelo conjunto de sinais é uma série de nucleotídeos de uma molécula de ácido nucleico complementar à molécula de ácido nucleico modelo. Em algumas modalidades, os tipos diferentes de nucleotídeos na série de nucleotídeos são etiquetados com tipos diferentes de moléculas luminescentes.

[007] Em algumas modalidades, o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos de um tempo de vida da molécula luminescente.

[008] Em algumas modalidades, o circuito de detecção têm pelo

menos dois circuitos de contagem de fótons associados com um fotodetector na disposição e configurados para contar a quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector. Em algumas modalidades, o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo. Em algumas modalidades, os sinais gerados pelo circuito de detecção incluem um primeiro sinal que identifica uma primeira quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e um segundo sinal que identifica uma segunda quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo. Em algumas modalidades, pelo menos dois circuitos de contagem de fótons incluem um primeiro circuito de contagem de fótons e um segundo circuito de contagem de fótons, e o primeiro circuito de contagem de fótons é configurado para gerar o primeiro sinal e o segundo circuito de contagem de fótons é configurado para gerar o segundo sinal. Em algumas modalidades, o circuito de detecção é configurado para gerar um sinal de leitura que inclui o primeiro sinal e o segundo sinal. Em algumas modalidades, o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo são períodos de tempo não superpostos.

[009] Em algumas modalidades, o circuito de detecção é configurado para receber um sinal de controle que indica um tempo de referência e para executar a contagem de fótons em resposta à recepção do sinal de controle. Em algumas modalidades, o circuito de detecção é configurado para receber um sinal de controle de uma fonte de luz configurada para emitir um pulso de luz de excitação e para executar a contagem de fótons em resposta à recepção do sinal de controle.

[0010] Em algumas modalidades, o sistema também compreende: pelo menos uma fonte de luz configurada para emitir luz de excitação;

e um circuito configurado para controlar pelo menos uma fonte de luz para emitir pulsos de luz de excitação e gerar os sinais de controle que correspondem aos pulsos emitidos. O circuito de detecção associado com um fotodetector na disposição é configurado para executar a contagem de fótons em resposta à recepção de pelo menos um dos sinais de controle dos circuitos.

[0011] Em algumas modalidades, o sistema também compreende: uma disposição de poços de amostras, onde os poços de amostras individuais na disposição de poços de amostras é configurado para receber uma amostra. Em algumas modalidades, uma posição de alinhamento da disposição de poços de amostras à disposição de fotodetectores inclui um primeiro subconjunto de poços de amostras posicionados para alinhar opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores e um segundo subconjunto de poços de amostras posicionados para não alinhar opticamente com os fotodetectores na disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, o primeiro subconjunto de poços de amostras inclui pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras que alinha opticamente com pelo menos uma fileira dos fotodetectores na disposição de fotodetectores quando na posição de alinhamento. Em algumas modalidades, o primeiro subconjunto de poços de amostras inclui uma primeira fileira e uma segunda fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras, em que a primeira fileira e a segunda fileira são separadas por pelo menos uma fileira de poços de amostras no segundo subconjunto de poços de amostras.

[0012] Em algumas modalidades, o sistema também compreende: pelo menos um elemento óptico posicionado para dirigir os fótons emitidos da disposição da poços de amostras rumo à disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, pelo menos um elemento óptico

é posicionado para dirigir os fótons emitidos de um poço de amostras da disposição de poços de amostras rumo a um fotodetector na disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, pelo menos um elemento óptico é configurado para alinhar os fótons emitidos de um poço de amostras da disposição de poços de amostras para se sobrepor com uma região de detecção de um fotodetector na disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, pelo menos um elemento óptico inclui um espelho dicróico posicionado para dirigir a luz emitida por pelo menos uma fonte de luz rumo à disposição de poços de amostras e para transmitir a luz emitida pela molécula luminescente à disposição de fotodetectores.

[0013] Em algumas modalidades, o sistema também compreende: pelo menos um guia de ondas, em que pelo menos uma porção dos poços de amostras na disposição de poços de amostras é posicionada para receber a luz de pelo menos um guia de ondas. Em algumas modalidades, a disposição de poços de amostras e pelo menos um guia de ondas são integrados em um chip de amostra, e a disposição de poços de amostras é arranjada em uma superfície do chip de amostra. Em algumas modalidades, o chip de amostra também compreende um acoplador de grade configurado para receber a luz de uma fonte de luz externa e para acoplar opticamente a luz em pelo menos um guia de ondas. Em algumas modalidades, pelo menos um elemento óptico inclui uma pluralidade de lentes arranjadas em uma configuração de lente de retransmissão.

[0014] Em algumas modalidades, a disposição de fotodetectores compreende uma disposição de fotodiodos de avalanche de fótons individuais.

[0015] Algumas modalidades são dirigidas a um aparelho que inclui o circuito de detecção que compreende uma disposição de fotodetectores. O circuito de detecção é configurado para contar os fótons

incidentes recebidos pela disposição de fotodetectores das moléculas luminescentes para distinguir entre as moléculas luminescentes associadas com nucleotídeos diferentes que são incorporados em uma molécula de ácido nucleico.

[0016] Em algumas modalidades, o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais que identificam uma série de nucleotídeos quando os nucleotídeos individuais são incorporados na molécula de ácido nucleico. Em algumas modalidades, as moléculas luminescentes etiquetam tipos diferentes de nucleotídeos.

[0017] Em algumas modalidades, o aparelho também compreende uma pluralidade de poços de amostras configurados para receber uma molécula de ácido nucleico modelo, em que um fotodetector na disposição é posicionado para receber a luz de um poço da pluralidade de poços de amostras. Em algumas modalidades, a molécula de ácido nucleico é complementar à molécula de ácido nucleico modelo.

[0018] Algumas modalidades são dirigidas a um método de fotodetecção que inclui a recepção, por um fotodetector em uma disposição de fotodetectores, dos fótons de uma molécula luminescente, e a contagem, ao usar o circuito de detecção, de uma quantidade de fótons incidentes no fotodetector durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo.

[0019] Em algumas modalidades, o método de fotodetecção também compreende a geração dos sinais que identificam a molécula luminescente, em que os sinais indicam uma primeira quantidade de fótons recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e uma segunda quantidade de fótons recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo. Em algumas modalidades, o método de fotodetecção também compreende a iluminação da amostra com um pulso de luz de excitação, e em que a contagem da quantidade dos fótons ocorre em resposta à iluminação da amostra com um pulso

de luz de excitação.

[0020] Algumas modalidades são dirigidas a pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador não transitório que armazena instruções executáveis por processador que, quando executadas por pelo menos um processador de hardware, fazem com que pelo menos um processador de hardware execute um método de detecção de fótons que compreende: a recepção, do circuito configurado para controlar pelo menos uma fonte de luz, de um sinal de controle que corresponde a um pulso de luz emitido por pelo menos uma fonte de luz; e o controle, em resposta à recepção do sinal de controle, do circuito de detecção configurado para executar a contagem dos fótons incidentes em um fotodetector em uma disposição de fotodetectores, em que a contagem inclui a contagem de uma quantidade de fótons incidentes recebidos pelo detetor durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo.

[0021] Em algumas modalidades, o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo. Em algumas modalidades, os sinais gerados pelo circuito de detecção incluem um primeiro sinal que identifica uma primeira quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e um segundo sinal que identifica uma segunda quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo.

[0022] Algumas modalidades são dirigidas a um método para alinhar uma disposição de poços de amostras com uma disposição de fotodetectores, em que o método compreende: a detecção, ao usar a disposição de fotodetectores, da luz da disposição de poços de amostras incidente na disposição de fotodetectores; e o ajuste, com base na luz detectada, do posicionamento da disposição de poços de amostras

em relação à disposição de fotodetectores para permitir que pelo menos uma porção de poços de amostras na disposição de poços de amostras alinhe opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[0023] Em algumas modalidades, uma quantidade de luz detectada por fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores indica um grau de alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores inclui o deslocamento da disposição de poços de amostras de uma primeira posição a uma segunda posição, em que um primeiro subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição. Em algumas modalidades, um segundo subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição.

[0024] Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o posicionamento de pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras para alinhar opticamente com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o deslocamento da disposição de poços de amostras e/ou da disposição de fotodetectores em uma direção translacional. Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende a rotação da disposição de poços de amostras

e/ou da disposição de fotodetectores a um ângulo. Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende a comparação de um padrão da luz detectada a um padrão de alinhamento, em que o padrão de alinhamento tem pelo menos um dos fotodetectores como detectando uma quantidade de luz abaixo de um limite.

[0025] Algumas modalidades são dirigidas a um meio de armazenamento que pode ser lido por computador que armazena no mesmo instruções, que quando executadas por um processador, executam um método de fotodetecção que inclui a recepção, do circuito configurado para controlar pelo menos uma fonte de luz, de um sinal de controle que corresponde a um pulso de luz emitido por pelo menos uma fonte de luz, e o controle, em resposta à recepção do sinal de controle, do circuito de detecção configurado para executar a contagem dos fótons incidentes em um fotodetector em uma disposição de fotodetectores. A contagem dos fótons inclui a contagem de uma quantidade de fótons incidentes recebidos pelo detetor durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo.

[0026] Algumas modalidades são dirigidas a um método para alinhar uma disposição de poços de amostras a uma disposição de fotodetectores. O método inclui a detecção, ao usar a disposição de fotodetectores, da luz da disposição da poços de amostras incidente na disposição de fotodetectores, e o ajuste, com base na luz detectada, do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores para permitir que pelo menos uma porção dos poços de amostras na disposição de poços de amostras alinhe opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[0027] Algumas modalidades são dirigidas a um sistema que inclui um estrado, uma disposição de fotodetectores configurados para de-

tectar a luz, um circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores e configurado para gerar os sinais indicativos dos fótons incidentes na disposição de fotodetectores, e um circuito. O circuito é configurado para executar um método que inclui a recepção dos sinais do circuito de detecção, e o ajuste, com base nos sinais recebidos, do posicionamento do estrado em relação à disposição de fotodetectores para permitir que pelo menos uma porção de poços de amostras na disposição de poços de amostras alinhe opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[0028] Em algumas modalidades, o circuito compreende: pelo menos um processador; e pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador codificado com instruções executáveis por computador que, quando executadas, executam o método.

[0029] Em algumas modalidades, os sinais recebidos indicam uma quantidade de luz detectada por fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores, e a quantidade de luz indica um grau de alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento do estrado em relação à disposição de fotodetectores também compreende o ajuste da posição do estrado de uma primeira posição a uma segunda posição, em que um primeiro subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons quando o estrado está na segunda posição e não na primeira posição. Em algumas modalidades, um segundo subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição. Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o posicionamento de pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposi-

ção de poços de amostras para alinhar com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposição de fotodetectores

Breve Descrição dos Desenhos

[0030] Vários aspectos e modalidades do pedido de patente serão descritos com referência às figuras a seguir. Deve ser apreciado que as figuras não estão necessariamente desenhadas em escala. Os itens que aparecem em múltiplas figuras são indicados pelo mesmo número de referência em todas as figuras em que aparecem.

[0031] A FIGURA 1 é um diagrama de blocos que ilustra um sistema de detecção, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0032] A FIGURA 2 é um diagrama esquemático que ilustra os componentes ópticos exemplificadores, que podem ser incluídos em um sistema de detecção, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0033] A FIGURA 3 é um gráfico que ilustra a operação de portas elétricas com o passar do tempo, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0034] A FIGURA 4A é um diagrama esquemático de tipos exemplificadores de circuitos que podem ser incluídos no circuito de detecção, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0035] A FIGURA 4B é um fluxograma de um processo ilustrativo para a obtenção de contagens de fótons, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0036] A FIGURA 5 é um gráfico da eficiência de detecção de fótons espectral para uma disposição de fotodiodos de avalanche de fótons individuais, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0037] A FIGURA 6 é um gráfico da eficiência de detecção de fó-

tons espectral para um fotodiodo de avalanche de fótons individuais, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0038] A FIGURA 7 é um gráfico das curvas de probabilidade da emissão para duas moléculas luminescentes diferentes que têm características diferentes de deterioração da emissão, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0039] A FIGURA 8 é um gráfico da contagem de fótons dos fótons da emissão, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0040] A FIGURA 9 é um gráfico de um trem de pulsos ópticos, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0041] A FIGURA 10 é um diagrama esquemático de uma reação biológica exemplificadora que pode ocorrer dentro de um poço de amostras, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0042] A FIGURA 11 é um diagrama esquemático de uma vista em seção transversal de um chip de amostra exemplificador que tem uma fileira de poços de amostras, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0043] A FIGURA 12A é uma vista planar que ilustra o alinhamento óptico de uma disposição de poços de amostras a uma disposição de fotodetectores, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0044] A FIGURA 12B é uma vista planar que ilustra o desalinhamento translacional entre uma disposição de poços de amostras e uma disposição de fotodetectores, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0045] A FIGURA 12C é uma vista planar que ilustra o desalinha-

mento rotacional entre uma disposição de poços de amostras e uma disposição de fotodetectores, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0046] A FIGURA 13 é um fluxograma de um processo ilustrativo para alinhar uma disposição de poços de amostras com uma disposição de fotodetectores, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

[0047] A FIGURA 14 é um diagrama de blocos de um dispositivo de computação ilustrativo que pode ser usado na implementação de algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0048] Os aspectos do presente pedido de patente se referem a sistemas e métodos relacionados para analisar amostras em paralelo, incluindo a identificação de moléculas individuais dentro de uma amostra e o arranjar em sequência de ácidos nucleicos. A análise de uma amostra pode incluir a etiquetagem de moléculas na amostra com uma ou mais etiquetas luminescentes (por exemplo, moléculas fluorescentes), que podem ser usadas para detectar a amostra e/ou identificar moléculas individuais da amostra (por exemplo, identificar nucleotídeos individuais como parte do arranjo em sequência de ácidos nucleicos). Uma molécula luminescente, tal como um uma molécula etiquetada com uma molécula fluorescente ou um uma molécula que pode então emitir luz, pode ficar excitada em resposta à iluminação da molécula luminescente com luz de excitação (por exemplo, a luz que tem um comprimento de onda característico que pode excitar a molécula luminescente a um estado excitado) e, se a molécula luminescente ficar excitada, emite a luz de emissão (por exemplo, a luz que tem um comprimento de onda característico emitida pela molécula luminescente ao retornar de um estado excitado a um estado aterrado). A detecção da luz de emissão pode permitir a identificação da molécula

luminescente ao usar uma ou mais características da luz, incluindo uma característica de luz temporal que emite (por exemplo, seu período de tempo de deterioração da emissão, ou "tempos de vida"), um comprimento de onda de emissão característico, e um comprimento de onda de absorção característico. Uma característica temporal da luz pode ser identificada ao iluminar uma molécula luminescente com luz de excitação e ao determinar os tempos associados com o tempo quando os fótons são recebidos da molécula luminescente por um fotodetector depois da iluminação. As características temporais típicas da luz podem variar de picosegundos a centenas de nanossegundos.

[0049] As limitações na identificação de características temporais da luz podem advir da escala temporal curta durante a qual os fótons são emitidos de uma molécula luminescente ao atingir um estado excitado, e de que alguns fotodetectores podem não conseguir operar de uma maneira que permita a detecção dos fótons nessas escalas temporais. Estas limitações podem se tornar mais significativas no contexto da detecção de uma só molécula onde a identificação de moléculas luminescentes pode ficar limitada ao usar uma única molécula luminescente ou um número baixo de moléculas luminescentes para etiquetar uma única molécula e a probabilidade das moléculas luminescentes de emitir luz em resposta a se tornarem excitadas. Até alguma extensão, essas limitações podem ser superadas ao executar a iluminação repetida da amostra e a detecção dos fótons emitidos, onde os fótons detectados durante o mesmo período de tempo depois de eventos diferentes de iluminação podem ser acumulados para identificar um perfil de tempo que caracteriza a luz emitida de uma amostra particular. No entanto, o tempo associado com tal iluminação repetida e a detecção de fótons torna-se limitada em alguns respeitos pelos fotodetectores que são usados. Por exemplo, alguns fotodetectores podem ser capazes de detectar somente os fótons recebidos dentro de um

período de tempo depois da iluminação da amostra porque o fotodetector pode não ter a capacidade de se configurar por múltiplos períodos de tempo de detecção dentro do quadro temporal curto necessário para detectar as características temporais da luz, que podem variar de picosegundos a centenas de nanossegundos. Estes tipos de limitações podem conduzir a perfis temporais incompletos ou imprecisos da luz emitida, o que pode resultar na identificação incorreta das moléculas como estando presentes na amostra ou uma indicação que uma molécula particular não está presente na amostra. No contexto do arranjo em sequência de ácidos nucleicos em tempo real onde a molécula luminescente que está sendo identificada é usada para etiquetar um nucleotídeo ou um análogo de nucleotídeo é incorporado em um cordão de ácido nucleico complementar, outras limitações podem advir do tempo dos eventos de incorporação, que podem ficar na faixa de 10 ms a 1.000 ms. Alguns fotodetectores convencionais podem não ter a capacidade de executar a detecção de fótons repetida, temporalmente sincronizada à iluminação repetida dentro dessa escala temporal e, desse modo, não têm a capacidade de detectar atributos (por exemplo, o tempo de vida da fluorescência) de eventos de incorporação individual com um nível desejado de exatidão.

[0050] Os autores da presente invenção reconheceram e apreciaram que a identificação dos fótons recebidos durante múltiplos períodos de tempo depois da iluminação de uma amostra pode melhorar a detecção de uma característica temporal de uma molécula luminescente presente na amostra. Os aspectos do presente pedido de patente e referem aos fotodetectores e aos circuitos de detecção associados configurados para detectar uma quantidade dos fótons recebidos por um fotodetector dentro de múltiplos períodos de tempo depois de um tempo de referência, o qual pode ser um tempo associado com um pulso de luz de excitação que ilumina a amostra. Em algumas modali-

dades, o circuito de detecção pode contar uma quantidade de fótons incidentes recebidos de uma molécula luminescente em um fotodetector durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo depois da iluminação da molécula luminescente com luz de excitação. O circuito de detecção pode incluir pelo menos um primeiro circuito de contagem de fótons e um segundo circuito de contagem de fótons associado com o fotodetector e pode gerar os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo, respectivamente. Um sinal de leitura gerado pelo circuito de detecção pode incluir o primeiro sinal e o segundo sinal. Desta maneira, o sinal de leitura resultante do circuito de detecção pode fornecer uma indicação de uma característica temporal (por exemplo, tempo de vida) da luz emitida pela molécula luminescente. Em algumas modalidades, o fotodetector é um fotodiodo de avalanche de fótons individuais, e o circuito de detecção pode executar a contagem de fótons com base nos sinais elétricos gerados pelo fotodiodo de avalanche de fótons individuais em resposta à recepção dos fótons incidentes.

[0051] Os autores da presente invenção reconheceram e apreciaram que a implementação dos fotodetectores e dos circuitos de detecção associados configurados para executar a contagem de fótons durante múltiplos períodos de tempo tal como descrito no presente documento pode acarretar vários benefícios que melhoram a detecção de características temporais de moléculas luminescentes. Estes benefícios incluem a capacidade de detectar uma quantidade dos fótons recebidos durante múltiplos períodos de tempo depois de um caso simples de iluminação da amostra. Isto pode permitir a identificação melhorada de um perfil temporal que caracteriza as características temporais das moléculas luminescentes, o que pode resultar em uma detecção mais exata de moléculas luminescentes como estando pre-

sentes em uma amostra. Os fotodetectores e circuitos de detecção tal como descrito no presente documento podem ser particularmente benéficos para as aplicações que envolvem a detecção de moléculas luminescentes dentro de escalas temporais curtas, tais como aqueles necessários para a execução do arranjo em sequência de ácidos nucleicos em tempo real. Em particular, as limitações do tempo associadas com os eventos de incorporação individuais podem limitar a duração do tempo permitido para detectar os fótons emitidos pelas moléculas luminescentes usadas para etiquetar nucleotídeos ou análogos de nucleotídeos que são incorporados em um cordão de ácido nucleico em crescimento. Por meio da implementação de fotodetectores e circuitos de detecção configurados para executar a contagem e a acumulação de fótons durante múltiplos períodos de tempo, menos repetições de iluminação seguidas pela detecção de fótons podem ser necessárias para obter o perfil temporal idêntico ou similar para uma molécula luminescente do que o uso de fotodetectores convencionais que só podem detectar os fótons dentro de um único período de tempo depois da iluminação. Além disso, os fotodetectores e os circuitos de detecção operando em um modo no qual um quadro de leitura inclui os sinais associados com a acumulação de contagens de fótons para múltiplas repetições de iluminação podem melhorar a razão entre sinal e ruído, o que também pode reduzir a intensidade da iluminação necessária para obter uma razão entre sinal e ruído desejada.

[0052] Algumas modalidades do presente pedido de patente se referem a um sistema de detecção para detectar moléculas luminescentes, o qual inclui fotodetectores e o circuito de detecção configurados para executar a contagem de fótons durante múltiplos períodos de tempo tal como descrito no presente documento. O sistema de detecção pode incluir uma disposição de poços de amostras, onde os poços de amostras individuais na disposição são configurados para receber

uma amostra (por exemplo, molécula de ácido nucleico modelo). O sistema de detecção pode incluir uma ou mais fontes de luz configuradas para emitir luz, a qual pode excitar as moléculas luminescentes presentes na amostra, e um ou mais componentes ópticos configurados para dirigir a luz rumo à disposição de poços de amostras. De acordo com algumas modalidades, uma ou mais fontes de luz podem ser configuradas para emitir pulsos de luz e o tempo da contagem de fótons executada pelo circuito de detecção pode depender do tempo dos pulsos de luz. Em particular, os circuitos de controle associados com uma ou mais fontes de luz podem gerar os sinais de controle que correspondem a quando os pulsos de luz individuais são emitidos, e o circuito de detecção pode começar a executar a contagem de fótons em resposta à recepção dos sinais de controle. Desta maneira, os pulsos de luz emitidos por uma fonte de luz podem agir como um ativador externo para que o circuito de detecção comece a executar a contagem de fótons.

[0053] A disposição de poços de amostras pode ser integrada como parte de um chip de amostra, que pode formar uma interface com um outro componente do sistema de detecção, tal como um estrado. O estrado pode ser usado para posicionar a disposição de poços de amostras em relação aos fotodetectores. O chip de amostra pode ser unido de maneira removível ao componente, o que pode permitir que as os chips de amostras separados sejam usados para amostras diferentes durante a operação. Por conseguinte, os aspectos da presente pedido de patente são dirigidos a técnicas para alinhar uma disposição de poços de amostras a uma disposição de fotodetectores de uma maneira que permite que os fótons emitidos de diferentes poços de amostras sejam distinguidos uns dos outros com base em qual fotodetector é usado para detectar os fótons emitidos. O alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores po-

de envolver o posicionamento das duas disposições uma em relação à outra (por exemplo, ao ajustar o posicionamento de um estrado em relação à disposição de fotodetectores e/ou de um estrado em relação à disposição de poços de amostras) de maneira tal que alguns ou todos os poços de amostras alinhem opticamente com pelo menos alguns dos fotodetectores. Em algumas modalidades, o alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores pode envolver o posicionamento das duas disposições uma em relação à outra de maneira tal que haja uma correspondência de um para um entre os poços de amostras individuais e os fotodetectores individuais.

[0054] Os autores da presente invenção também reconheceram e apreciaram que a configuração da disposição de poços de amostras e a disposição de fotodetectores de maneira tal que nem todos os fotodetectores são alinhados opticamente aos poços de amostras pode conferir determinados benefícios durante o processo de alinhamento. Em particular, o arranjo dos fotodetectores na disposição de fotodetectores e o arranjo de poços de amostras na disposição de poços de amostras podem ser tais que, quando alguns poços de amostras estão em alinhamento óptico com os fotodetectores, há alguns fotodetectores não alinhados opticamente com os poços de amostras. Nesses casos, as técnicas para alinhar a disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores podem envolver o ajuste do posicionamento relativo das duas disposições com base nos sinais indicativos da quantidade de luz que está sendo detectada pelos fotodetectores de maneira tal que um subconjunto de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons em uma posição subsequente quando um outro subconjunto de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons na posição subsequente. Desta maneira, alguns fotodetectores podem ser designados como fotodetectores posicionados pa-

ra receber a luz, os quais podem ser indicados como fotodetectores "brilhantes", ao passo que outros fotodetectores podem ser designados como fotodetectores posicionados para não receber a luz, os quais podem ser indicados como fotodetectores "escuros" uma vez que eles não detectam nenhum fóton ou uma pequena quantidade de fótons quando em alinhamento. Por exemplo, o posicionamento das fileiras e/ou das colunas de poços de amostras na disposição de poços de amostras e o posicionamento das fileiras e/ou das colunas de fotodetectores na disposição de fotodetectores podem ser tais que, quando algumas fileiras ou colunas de fotodetectores estão em alinhamento óptico com os poços de amostras, há outras fileiras ou colunas de fotodetectores que não estão. Nesses casos, um processo para alinhar a disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores pode envolver o ajuste da posição da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores de maneira tal que algumas fileiras ou colunas de fotodetectores detectam uma quantidade maior de fótons ao passo que outras fileiras ou colunas de fotodetectores detectam uma quantidade menor de fótons. Estas técnicas de alinhamento podem superar determinadas dificuldades no alinhamento óptico de uma disposição de poços de amostras com uma disposição de fotodetectores. Por exemplo, a designação de alguns fotodetectores como "escuros" pode facilitar os ajustes mais finos porque a detecção da falta de um sinal óptico ou de um sinal óptico menor pode ser mais fácil do que a detecção quando um sinal óptico aumenta. Estas técnicas de alinhamento óptico podem ser particularmente adequadas quando o número de poços de amostras é grande, tal como quando o número de poços de amostras fica na faixa de 100 a 100.000.

[0055] Os aspectos e as modalidades descritos acima, bem como aspectos e modalidades adicionais, são descritos mais adiante. Estes aspectos e/ou modalidades podem ser usados individualmente, todos

juntos, ou em qualquer combinação de dois ou mais, uma vez que o pedido de patente não é limitado neste respeito.

[0056] A FIGURA 1 é um diagrama de blocos que ilustra o sistema de detecção de moléculas 100, o qual pode detectar as moléculas luminescentes presentes em uma amostra de acordo com algumas modalidades. O sistema de detecção 100 pode incluir a disposição de poços de amostras 104 que tem poços de amostras configurados para receber moléculas, incluindo as moléculas de uma amostra (por exemplo, ácido nucleico modelo) e as moléculas luminescentes 106 (por exemplo, nucleotídeos etiquetados de maneira fluorescente). O sistema de detecção 100 pode incluir a(s) fonte(s) de luz de excitação 108, que emite(m) a luz 122 que pode excitar a(s) molécula(s) luminescente(s) 106. Quando uma molécula luminescente é posicionada dentro de um poço de amostras da disposição 104 e recebe a luz 122, a molécula luminescente pode emitir a luz de emissão 124 em resposta. O sistema de detecção 100 pode incluir a disposição de fotodetectores 114 configurados para detectar a luz 124 da disposição de poços de amostras 104, incluindo a luz 124 emitida pela(s) molécula(s) luminescente(s) 106. Os fotodetectores individuais na disposição 114 podem corresponder a um poço de amostras na disposição 104 de maneira tal que a luz detectada por um fotodetector particular é identificada como sendo originária de um poço de amostras particular. O sistema de detecção 100 pode incluir o circuito de detecção 110, que pode detectar os sinais gerados pelos fotodetectores na disposição de fotodetectores 114, onde os sinais indicam os fótons incidentes detectados pelos fotodetectores. Em algumas modalidades, um fotodetector pode gerar uma corrente que corresponde a um fóton incidente recebido pelo fotodetector, e o circuito de detecção 116 pode detectar a corrente. Desta maneira, a disposição de fotodetectores 114 e o circuito de detecção 116 podem permitir a detecção de fótons individuais e a conta-

gem de fótons individuais. Em algumas modalidades, a disposição de fotodetectores 114 inclui diodos de avalanche de fótons individuais (SPADs). Em tais modalidades, um SPAD pode gerar um portador de carga em resposta à recepção de um fóton incidente, o que pode ativar uma corrente de avalanche que tem uma duração de tempo. O circuito de detecção 116 pode detectar a corrente de avalanche, e gerar um sinal que indica que o SPAD recebeu um fóton incidente.

[0057] Em algumas modalidades, o arranjo dos fotodetectores na disposição de fotodetectores 114 pode incluir o posicionamento dos fotodetectores de maneira tal que os fotodetectores são espaçados uns dos outros por uma distância particular, que pode ficar na faixa de 50 μm a 600 μm , ou qualquer valor ou gama de valores nessa faixa. Em algumas modalidades, o arranjo dos fotodetectores na disposição 114 pode ser tal que os fotodetectores são espaçados uns dos outros por uma distância que é de pelo menos 500 μm . Estes tipos de arranjos de fotodetectores podem melhorar a capacidade do sistema de detecção de detectar moléculas individuais, uma vez que os fotodetectores individuais podem ser posicionados para receber a luz emitida de uma região ou de uma posição particular. Nesses casos, a disposição de fotodetectores pode ter uma porcentagem entre a área do detetor e a área da imagem igual a menos de 10%. Em algumas modalidades, porcentagem entre a área do detetor e a área da imagem pode ficar na faixa de 1% a 5%. Os fotodetectores individuais na disposição 114 podem ter um diâmetro ativo na faixa de 10 μm a 50 μm , ou qualquer valor ou gama de valores nessa faixa. No contexto de usar o dispositivo integrado descrito no presente documento para a análise de moléculas individuais, estes arranjos de fotodetectores podem melhorar a detecção da luz emitida de um único poço de amostras pelos fotodetectores individuais na disposição 114.

[0058] Deve ser apreciado que estes tipos de arranjos do fotode-

tectores podem ser apropriados para outras técnicas de detecção de luz e formação de imagem que envolvem a detecção da luz de uma região particular. No contexto de técnicas de formação de imagem, ter um arranjo de fotodetectores com uma razão apropriadamente baixa entre a área do detetor e a área da imagem, que também pode ser indicado como tendo um fator baixo de preenchimento, pode permitir que os fotodetectores individuais ajam como uma disposição de aberturas capazes de detectar a luz originária de regiões particulares dentro de uma amostra. Em particular, tais arranjos de fotodetectores podem ser implementados para obter uma definição óptica melhorada de uma amostra que tem sua imagem formada por causa do posicionamento dos fotodetectores para detectar a luz originária da amostra em uma região particular. Por exemplo, tais arranjos de fotodetectores podem conferir benefícios a tipos particulares de técnicas de formação de imagem que envolvem áreas de exploração de uma amostra, tais como a microscopia confocal. Na microscopia confocal convencional, a definição óptica da amostra que tem a imagem formada pode ser obtida ao usar a iluminação de ponto para iluminar uma seção na amostra em um momento e fazer a varredura da iluminação de ponto sobre uma região particular da amostra para obter uma imagem da região da amostra, a qual pode ser indicada como uma varredura de quadriculação. Por outro lado, um arranjo de fotodetectores que têm um fator baixo de preenchimento pode ser implementado para fornecer uma definição óptica desejada em uma imagem de uma amostra sem ter que executar uma varredura completa tal como na microscopia confocal convencional, uma vez que os fotodetectores individuais correspondem a seções particulares discerníveis da amostra que tem a imagem formada. Em vez de fazer a varredura da região inteira da amostra para formar uma imagem, o plano da amostra ou a disposição de fotodetectores pode ser movido de maneira tal que os fotodetectores

individuais são usados para fazer a varredura de seções particulares dentro de uma região da amostra para formar uma imagem completa da região. Tais técnicas podem melhorar a velocidade em que uma imagem que tem uma definição óptica similar como uma imagem confocal é obtida, uma vez que os dados da imagem são adquiridos por alguns ou todos os fotodetectores durante cada reposicionamento da disposição de fotodetectores e da amostra uns em relação aos outros de maneira tal que a varredura das seções menores da amostra é feita eficazmente. Essas seções menores nas quais foi feita a varredura podem então ser combinadas para formar uma imagem completa da região de interesse na amostra. Deve ser apreciado que estas técnicas de formação de imagem podem ser aplicadas a tipos diferentes de iluminação da amostra incluindo a iluminação de fluorescência de reflexão interna total (TIRF), a iluminação de campo amplo incoerente, a iluminação por uma disposição de pontos laser, ou quaisquer outras técnicas de iluminação de amostras estruturadas.

[0059] Quaisquer técnicas de acoplamento óptico apropriadas podem ser implementadas para acoplar a luz emitida pela(s) fonte(s) de luz de excitação 108 para amostrar a disposição de poços de amostras 104 de maneira tal que alguns ou todos os poços de amostras na disposição 104 recebem a luz. Em algumas modalidades, um feixe de luz emitida pela(s) fonte(s) de luz de excitação 108 pode iluminar alguns ou todos os poços de amostras na disposição 104. Nas modalidades em que um feixe de luz é dirigido para um lado da disposição 104, tal posicionamento da(s) fonte(s) de luz de excitação 108 na disposição de poços de amostras 104 pode ser considerado como iluminação da parte traseira. Em um exemplos, um ou mais componentes ópticos posicionados em relação à(s) fonte(s) de luz de excitação 108 e a disposição de poços de amostras 104 podem agir de modo a espalhar o diâmetro do feixe de luz emitida pela(s) fonte(s) de luz de excitação 108

de uma maneira que permite que múltiplos poços de amostras na disposição recebam a luz 122. Em outras modalidades, a disposição de poços de amostras 104 é integrada como parte de um dispositivo fotônico, o qual pode ser indicado como um "chip de amostra". O chip de amostra pode incluir um ou mais guias de ondas configurados para propagar a luz aos poços de amostras. Um ou mais guias de ondas podem acoplar opticamente à(s) fonte(s) de luz de excitação 108 através de qualquer componente de acoplamento apropriado, incluindo um acoplador óptico de faceta e um acoplador óptico de grade.

[0060] O sistema de detecção 100 pode incluir os componentes ópticos 112, que podem incluir qualquer sistema óptico apropriado para dirigir a luz emitida da disposição de poços de amostras 104 rumo à disposição de fotodetectores 114. Em algumas modalidades, os componentes ópticos 112 podem ser posicionados para dirigir os fótons emitidos de um poço de amostras na disposição de poços de amostras 104 rumo a um fotodetector na disposição de fotodetectores 114. Como um exemplo, os componentes ópticos 112 podem dirigir a luz dos poços de amostras individuais aos seus fotodetectores correspondentes de maneira tal que a luz emitida do poço de amostras só é detectada pelo seu fotodetector correspondente. Nesses casos, os componentes ópticos 112 posicionados no sistema de detecção 100 podem alinhar com os fótons emitidos de um poço de amostras da disposição de poços de amostras 104 para se sobrepor opticamente com uma região de detecção de um fotodetector na disposição de fotodetectores 114 de maneira tal que alguns ou todos os fótons emitidos são incidentes na região de detecção.

[0061] Os componentes ópticos 112 podem incluir um ou mais sistemas ópticos para dirigir a luz de excitação 122 emitida pela(s) fonte(s) de luz de excitação 108 rumo à disposição de poços de amostras 104 de maneira tal que os pares de luz de excitação acopla optica-

mente com a disposição de poços de amostras 104. Alguma combinação dos componentes ópticos 112 (que podem incluir, por exemplo, nenhum, um, ou mais de cada um de: lente, espelho, filtro óptico, atenuador, componente direcionador de feixe, componente formador de feixe) e configurados para operarem e/ou aplicar a luz de uma fonte de luz de excitação à disposição de poços de amostras 104. Os componentes ópticos 112 podem ser arranjados para dirigir a luz pelo menos um poço de amostras, que pode incluir uma amostra a ser analisada, e dirigir os sinais ópticos (por exemplo, fluorescência, radiação dispersa de volta) de pelo menos um poço de amostras para a disposição de fotodetectores 114, onde os circuitos de detecção 116 podem produzir um ou mais sinais elétricos representativos dos sinais ópticos recebidos. Em algumas modalidades, os componentes ópticos 112 podem incluir um espelho dicróico posicionado para dirigir a luz emitida pela(s) fonte(s) de luz de excitação rumo à disposição de poços de amostras 104. O espelho dicróico pode permitir que a luz emitida pela(s) molécula(s) luminescente(s) 106 seja transmitida através do espelho dicróico rumo à disposição de fotodetectores 114 enquanto reduz a transmissão de luz de excitação à disposição de fotodetectores 114. Em algumas modalidades, os componentes ópticos 112 podem incluir múltiplas lentes arranjadas em uma configuração de lente de retransmissão. A configuração de lente de retransmissão pode permitir uma correspondência de um para um entre os poços de amostras individuais na disposição 104 e os fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores 114.

[0062] O sistema de detecção 100 pode incluir um estrado(s) com circuitos de controle de estrado associados para posicionar a disposição de poços de amostras 104 e a disposição de fotodetectores 114 uma em relação à outra. O(s) estrado(s) pode(m) ser configurado(s) para prover graus de liberdade translacional e/ou rotacional quando a

disposição de poços de amostras 104 e/ou a disposição de fotodetectores 114 são movidas. Por exemplo, a disposição de poços de amostras 104 pode ser montada no estrado 102 e a disposição de fotodetectores 114 pode ser montada no estrado 126. Tal como mostrado na FIGURA 1, o sistema de detecção 100 pode incluir o estrado 122 para posicionar a disposição de poços de amostras 104 e o estrado 126 para posicionar a disposição de fotodetectores 114. Os circuitos de controle de estrado 110 acoplados ao estrado 122 podem fornecer sinais de controle para controlar o estrado 122, ao passo que os circuitos de controle de estrado 128 acoplados ao estrado 126 podem fornecer sinais de controle para controlar o estrado 126. O estrado 102 e/ou estrado 126 podem ser configurados para prover o deslocamento translacional e/ou rotacional para a disposição de poços de amostras 104 e/ou a disposição de fotodetectores 114. Por exemplo, o estrado 102 pode ser configurado para prover o deslocamento de translação para a disposição de poços de amostras 104, ao passo que o estrado 126 pode ser configurado para prover o deslocamento de rotação para a disposição de fotodetectores 114. Em contudo um outro exemplo, o estrado 102 pode ser configurado para prover o deslocamento de rotação para a disposição de poços de amostras 104, ao passo que o estrado 126 pode ser configurado para prover o deslocamento de translação para a disposição de fotodetectores 114. Em contudo umas outras modalidades, ambos o estrado 102 e o estrado 126 podem ser configurados para prover ambos os deslocamentos de rotação e de translação.

[0063] Embora os estrados 102 e 126 e os circuitos de controle associados 110 e 128 sejam mostrados na FIGURA 1, deve ser apreciado que algumas modalidades do sistema de detecção descrito no presente documento podem envolver o uso de somente um estrado, tal como um estrado para mover a disposição de poços de amostras

104 ou um estrado para mover a disposição de fotodetectores 114. Em tais modalidades, o estrado pode ser configurado para prover o deslocamento de rotação e de translação para posicionar a disposição de poços de amostras 104 em relação à disposição de fotodetectores 114. Por exemplo, em algumas modalidades do sistema de detecção descrito no presente documento, o estrado 102 pode ser configurado para prover o deslocamento de translação e de rotação para a disposição de poços de amostras 104. Como um outro exemplo, o estrado 126 pode ser configurado para prover o deslocamento de translação e de rotação para a disposição de fotodetectores 114.

[0064] Em algumas modalidades, alguns ou todos os componentes ópticos 112 podem ser montados em um ou mais estrados do sistema de detecção, tal como no estrado 102 ou no estrado 126, tal como mostrado na FIGURA 1. Em algumas modalidades, a(s) fonte(s) de luz de excitação 108 pode(m) ser montada(s) em um dos estrados do sistema de detecção, tal como no estrado 102. A montagem de alguns ou todos os componentes ópticos 112 e/ou fonte(s) de luz de excitação 108 em um estrado pode reduzir a necessidade de realinhar luz de excitação à disposição de poços de amostras 104 durante o posicionamento da disposição de poços de amostras 104 em relação à disposição de fotodetectores 114, o que pode permitir o alinhamento óptico melhorado da disposição de poços de amostras 104 em relação à(s) fonte(s) de luz de excitação.

[0065] A FIGURA 2 é um diagrama esquemático dos componentes ópticos exemplificadores 220, 222, 224, 226 e 228 que podem ser usados no sistema de detecção 100 para dirigir a luz emitida dos poços de amostras 204 da disposição de poços de amostras 104 rumo aos fotodetectores 214 na disposição de fotodetectores 114, de acordo com algumas modalidades. Tal como mostrado na FIGURA 2, os componentes ópticos incluem a lente 220, o filtro 222, a lente 224, a

lente 226 e a lente 228. Em algumas modalidades, a lente 220 é uma objetiva de 60x. Em algumas modalidades, a lente 224 é uma lente de tubo de 1x. Em algumas modalidades, a lente 226 é uma lente de retransmissão que tem um comprimento focal de 100 mm. Em algumas modalidades, a lente 228 é uma lente de retransmissão que tem um comprimento focal de 200 mm. O filtro 222 pode ser configurado para reduzir ou bloquear a transmissão da luz de excitação, o que pode reduzir a luz de excitação que alcança os fotodetectores 214 na disposição de fotodetectores 114.

[0066] O circuito de detecção 116 associado com a disposição de fotodetectores 114 é configurado para executar a contagem de fótons dos fótons incidentes nos fotodetectores individuais. Em algumas modalidades, o circuito de detecção 116 pode incluir componentes eletrônicos de processamento de sinais (por exemplo, um ou mais microcontroladores, uma ou mais disposições de portas programáveis no campo, um ou mais microprocessadores, um ou mais processadores de sinais digitais, portas lógicas, etc.) configurados para processar os sinais elétricos dos fotodetectores. Durante a operação quando a disposição de fotodetectores 114 é posicionada para receber os fótons emitidos da(s) molécula(s) luminescente(s) 106, o circuito de detecção 116 pode gerar sinais que identificam moléculas luminescentes individuais. Os sinais gerados pelo circuito de detecção 116 podem permitir a distinção entre tipos diferentes de moléculas luminescentes. O circuito de detecção 116 pode gerar um primeiro sinal que identifica um primeiro tipo de molécula luminescente e um segundo sinal que identifica um segundo tipo de molécula luminescente.

[0067] Em algumas modalidades, o circuito de detecção 116 pode contar uma quantidade de fótons incidentes em um fotodetector na disposição de fotodetectores 114 durante períodos de tempo diferentes depois de um tempo de referência. O tempo de referência pode

agir como um ativador para que o circuito de detecção 116 comece a contar os fótons que são incidentes em um fotodetector na disposição 114. O circuito de detecção 116 podem receber os sinais de controle que indicam o tempo de referência de um dispositivo externo e, em resposta à recepção dos sinais de controle, o circuito de detecção 116 pode começar a executar a contagem de fótons dos fótons incidentes nos fotodetectores na disposição 114. Em algumas modalidades, o circuito de detecção 116 é configurado para contar uma quantidade de fótons incidentes em um fotodetector durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo depois de um tempo de referência. O primeiro período de tempo e o segundo período de tempo pode ser períodos de tempo não superpostos. Em algumas modalidades, um período de tempo onde os fótons incidentes não são contados pelo circuito de detecção 116 pode separar o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo. Tal período de tempo, que pode ser considerado como "tempo de retardamento", pode permitir que o circuito de detecção seja rearmado entre o primeiro e o segundo períodos de tempo e pode melhorar a exatidão da contagem de fótons pelo circuito de detecção.

[0068] Em algumas modalidades, o circuito de detecção 116 pode incluir múltiplos circuitos de contagem de fótons para contar os fótons incidentes nos fotodetectores na disposição de fotodetectores 114. Em tais modalidades, o circuito de detecção 116 pode incluir um ou mais circuitos de contagem de fótons associados com os fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores 114 onde cada um dos circuitos de contagem de fótons é configurado para contar uma quantidade de fótons incidentes recebidos por seu fotodetector correspondente durante um período de tempo. Quando múltiplos circuitos de contagem de fótons são associados com um fotodetector na disposição de fotodetectores, então cada um dos circuitos de contagem de

fótons pode corresponder a um período de tempo diferente durante o qual os fótons incidentes no fotodetector são contados. Em algumas modalidades, dois ou mais circuitos de contagem de fótons são associados com os fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores 114 e configurados para gerar os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos por um fotodetector durante dois ou mais períodos de tempo. Como um exemplo, os fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores 114 podem ter dois circuitos de contagem de fótons, os quais são configurados para gerar os sinais indicativos de uma quantidade de fótons incidentes em um fotodetector durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo depois de um tempo de referência. Os sinais gerados pelos circuitos de contagem de fótons podem incluir um primeiro sinal que identifica uma primeira quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e um segundo sinal que identifica uma segunda quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo. Os dois circuitos de contagem de fótons podem gerar individualmente um primeiro e um segundo sinais de maneira tal que um primeiro circuito de contagem de fótons executa a contagem de fótons durante o primeiro período de tempo e gera o primeiro sinal, e um segundo circuito de contagem de fótons executa a contagem de fótons durante o segundo período de tempo e gera o segundo sinal. Em tais modalidades, o circuito de detecção 116 pode gerar um sinal de leitura que inclui o primeiro sinal e o segundo sinal.

[0069] O tempo de referência que é ativado quando o circuito de detecção 116 começa a executar a contagem de fótons podem corresponder a um tempo associado com a iluminação da disposição de poços de amostras 104 com a luz de excitação. Tal tempo de referência pode permitir que o circuito de detecção 116 comece a contar os fó-

tons emitidos pela(s) molécula(s) luminescente(s) 106 que foram excitadas ao serem iluminadas com a luz de excitação. Os sinais gerados pelo circuito de detecção 116 podem fornecer uma indicação do tempo de vida da emissão da(s) molécula(s) luminescente(s). O circuito de detecção 116 pode receber sinais de controle periódicos que indicam múltiplos tempos de referência, e o circuito de detecção 116 pode executar a contagem de fótons depois de cada um dos tempos de referência individuais. Desta maneira, o circuito de detecção 116 pode executar a contagem de fótons repetida depois da iluminação da(s) molécula(s) luminescente(s), o que pode melhorar a detecção da(s) molécula(s) luminescente(s) pelo sistema 100. Em algumas modalidades, a(s) fonte(s) de luz de excitação 108 emite(m) pulsos de luz e o tempo de referência corresponde a um tempo associado com a(s) fonte(s) de luz de excitação 108 que emitem um pulso de luz. Em tais modalidades, os circuitos associados com a(s) fonte(s) de luz de excitação 108 podem gerar sinais de controle que correspondem aos pulsos de luz emitidos. Os sinais de controle podem ser transmitidos ao circuito de detecção 116 e ser usados como uma série de tempos de referência para serem ativados quando o circuito de detecção 116 executa a contagem de fótons.

[0070] De acordo com algumas modalidades, o circuito de detecção 116 pode executar a contagem de fótons ao gerar sinais elétricos associados algumas vezes com os períodos de tempo de contagem de fótons para controlar se os fótons individuais detectados pelos fotodetectores são contados pelo circuito de detecção 116. Estes sinais elétricos podem agir como uma porta elétrica de maneira tal que, quando a porta elétrica está em um estado DESLIGADO, o circuito de detecção executa a contagem de fótons e, quando a porta elétrica está em um estado LIGADO, o circuito de detecção não executa a contagem de fótons. Nas modalidades em que os fotodetectores são fotodiodos

de avalanche de fótons individuais, os quais geram a corrente em resposta à recepção dos fótons incidentes, os sinais elétricos gerados pelo circuito de detecção 116 podem controlar se o circuito de detecção 116 recebe a corrente gerada por um fotodiodo de avalanche de fótons individuais. Na execução da contagem de fótons por múltiplos períodos de tempo, o circuito de detecção 116 pode operar a porta elétrica de maneira tal que a porta elétrica fica DESLIGADA durante os tempos associados com os períodos de tempo individuais e LIGADA durante os tempos fora dos períodos de tempo. Desta maneira, o circuito de detecção 116 pode controlar o tempo quando a contagem de fótons ocorre. Em algumas modalidades, o circuito de detecção 116 pode ser configurado para operar múltiplas portas elétricas. Em tais exemplos, o circuito de detecção 116 pode ter uma porta elétrica que corresponde a cada circuito de contagem de fótons associado com um fotodetector, onde a porta elétrica para um circuito de contagem de fótons particular é configurada para controlar o tempo associado com o momento em que o circuito de contagem de fótons executa a contagem de fótons.

[0071] A porta elétrica pode depender do tempo de um sinal de referência, que possa ser externo ao circuito de detecção, de maneira tal que o tempo dos estados LIGADO e DESLIGADO da porta elétrica pode começar em resposta à recepção do sinal da referência pelo circuito de detecção 116. O tempo da porta elétrica pode depender dos tempos associadas com os pulsos de luz emitidos pela(s) fonte(s) de luz de excitação 108. Tal como discutido no presente documento, a(s) fonte(s) de luz de excitação 108 pode(m) gerar os sinais de controle que correspondem ao tempos dos pulsos de luz emitidos e o circuito de detecção 116 pode operar a porta elétrica para executar a contagem de fótons em resposta à recepção dos sinais de controle.

[0072] A FIGURA 3 é um gráfico exemplificador que ilustra como o circuito de detecção 116 pode operar a porta elétrica 301 e a porta elé-

trica 302 com o passar do tempo. Tal como mostrado na FIGURA 3, as portas elétricas 301 e 302 são sinais de voltagem que são mantidos a uma voltagem particular, V_{ON} , quando as portas elétricas estão em um estado LIGADO para impedir que o circuito de detecção 116 execute a contagem de fótons. Quando as portas elétricas 301 e 302 são ajustados a uma outra voltagem, V_{OFF} , as portas elétricas ficam em um estado DESLIGADO, e o circuito de detecção 116 pode executar a contagem de fótons. O tempo a partir do momento em que as portas elétricas são ajustadas o estado DESLIGADO ocorre após um tempo de referência, T_0 , que pode em algumas modalidades ser um tempo associado com um pulso de luz emitido pela(s) fonte(s) de luz de excitação 108. Tal como mostrado na FIGURA 3, a porta elétrica 301 é reduzida até a voltagem V_{OFF} para o período de tempo T_1 depois de T_0 . Além disso, a porta elétrica 302 é reduzida até a voltagem V_{OFF} para o período de tempo T_2 subsequente ao período de tempo T_1 . A contagem de fótons pode ser executada pelo circuito de detecção durante os períodos de tempo T_1 e T_2 . Por exemplo, a porta elétrica 301 pode corresponder a uma porta elétrica para um primeiro circuito de contagem de fótons, que pode executar a contagem de fótons durante o período de tempo T_1 , e a porta elétrica 302 pode corresponder a uma porta elétrica para um segundo circuito de contagem de fótons, que pode executar a contagem de fótons durante o período de tempo T_2 . Embora o período de tempo T_1 seja mostrado como sendo mais curto do que o período de tempo T_2 na FIGURA 3, deve ser apreciado que algumas modalidades podem envolver o período de tempo T_1 mais longo do que ou igual ao período de tempo T_2 . Tal como mostrado na FIGURA 3, pode haver um tempo de retardamento, T_d , entre o período de tempo T_1 e o período de tempo T_2 . O tempo de retardamento, T_d , pode ser um tempo associado com a permissão para que o fotodetector seja rearmado, o que pode melhorar a detecção dos fótons durante

o período de tempo T_2 . O período de tempo T_1 e o período de tempo T_2 podem ficar na faixa de 1,5 ns a 20 ns, ou qualquer valor ou gama de valores nessa faixa. O tempo de retardamento, T_d , pode ficar na faixa de 0,5 ns a 10 ns, ou qualquer valor ou gama de valores nessa faixa. Embora dois períodos de tempo sejam mostrados na FIGURA 3, deve ser apreciado que o circuito de detecção pode operar mais de duas portas elétricas, dependendo do número de períodos de tempo que são usados para executar a contagem de fótons.

[0073] A FIGURA 4A é um diagrama esquemático exemplificador dos tipos de circuitos que podem ser incluídos no circuito de detecção 116, de acordo com algumas modalidades. Tal como mostrado na FIGURA 4A, o circuito de detecção pode incluir o circuito de recuperação de relógio 410, o circuito de laço de travamento de fase, o relógio 1 430, o relógio 2 440, o circuito de porta 450, o contador 1 460, o contador 2 470 e o circuito de restauração 480. O circuito de recuperação de relógio 410 pode receber um sinal de controle de um dispositivo externo, tal como uma fonte de luz de excitação (por exemplo, um laser de modo travado), e pode transmitir um sinal ao circuito de laço de travamento de fase, o que pode ajustar os períodos de tempo durante os quais a contagem de fótons é executada. O circuito de laço de travamento de fase 420 pode transmitir sinais de controle ao relógio 1 430 e ao relógio 2 440. Nas modalidades onde o laço de travamento de fase 420 é comum ao relógio 1 430 e ao relógio 2 440, o relógio 1 430 e o relógio 2 440 podem ter um retardamento de fase programado pelo usuário entre o relógio 1 430 e o relógio 2 440. O relógio 1 430 e o relógio 2 440 podem controlar o tempo do circuito de porta 450 na operação de uma porta elétrica. Em particular, o circuito de porta 450 pode controlar a disposição de fotodetectores 114 para operar em um modo bloqueado com o tempo do relógio 1 430 e do relógio 2 440 ajustando o tempo de operação da porta controlada pelo circuito de

porta 450. A disposição de fotodetectores 114 pode transmitir os sinais que indicam a detecção de fótons pela disposição de fotodetectores 114 ao contador 1 460 e ao contador 2 470, que podem executar a contagem de fótons. O tempo ajustado pelo relógio 1 430 e pelo relógio 2 440 pode controlar os períodos de tempo durante os quais o contador 1 460 e o contador 2 470 executam a contagem de fótons. Os sinais de leitura que indicam as contagens de fótons podem ser obtidos do contador 1 460 e do contador 2 470. O circuito de restauração 480 pode agir para restaurar o contador 1 460 e o contador 2 470 de maneira tal que o contador 1 460 e o contador 2 470 ficam em um estado para executar a contagem de fótons.

[0074] O tempo de contagem de fótons executado pelo contador 1 460 e pelo contador 2 470 pode ser ajustado por sinais de controle transmitidos do circuito de porta 450 ao contador 1 460 e ao contador 2 470 onde o tempo dos sinais de controle transmitidos pelo circuito de porta 450 é determinado pelo tempo do relógio 1 430 e do relógio 2 440. Por exemplo, o relógio 1 430 pode ajustar um primeiro período de tempo e o circuito de porta 450 pode controlar o contador 1 460 para que execute a contagem de fótons durante o primeiro período de tempo, e o relógio 2 440 pode ajustar um segundo período de tempo e o circuito de porta 450 pode controlar o contador 2 470 para que execute a contagem de fótons durante o segundo período de tempo. Deve ser apreciado que o circuito de relógio e contador adicional pode ser incluído para executar a contagem de fótons durante mais de dois períodos de tempo.

[0075] A FIGURA 4B mostra um fluxograma de um processo ilustrativo 490 para obter contagens de fótons, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento. O processo 490 pode ser executado pelo menos parcialmente pelo circuito de detecção 116.

[0076] O processo 490 começa na etapa 491, onde a contagem de fótons pode ser iniciada por um evento de ativação. Um evento de ativação pode ser um evento que serve como uma referência do tempo para executar a contagem de fótons. O evento de ativação pode ser um pulso óptico, tal como um pulso óptico gerado pela(s) fonte(s) de luz de excitação 108, ou um pulso elétrico, tal como um pulso elétrico gerado em um tempo depois de um pulso óptico. O evento de ativação pode ser um evento singular ou um evento periódico de repetição. No contexto de medições do tempo de vida da fluorescência, o evento de ativação pode ser a geração de um pulso de luz de excitação para excitar um ou mais fluoróforos. Os fótons que alcançam a disposição de fotodetectores 114 podem produzir portadores de carga, e o circuito de detecção 116 pode executar a contagem de fótons dos portadores de carga fotogerados.

[0077] O processo 490 prossegue para a etapa 492 onde o relógio 1 controla a operação de uma porta, tal como o relógio 1 430 que controla o circuito de porta 450 tal como mostrado na FIGURA 4A. O relógio 1 pode ajustar um primeiro período de tempo durante o qual a porta fica em um estado DESLIGADO de maneira tal que alguns ou todos os fotodetectores na disposição de fotodetectores 114 podem gerar um sinal em resposta à recepção dos fótons durante o primeiro período de tempo. A seguir, o processo 490 prossegue para a etapa 493 onde o contador 1 executa a contagem de fótons durante o primeiro período de tempo de maneira tal que os fótons detectados por um fotodetector na disposição 114 durante o primeiro período de tempo são contados pelo contador 1. Algumas modalidades podem incluir um contador 1 para fotodetectores individuais na disposição 114 de maneira tal que os fótons detectados por fotodetectores diferentes são contados separadamente por contadores diferentes durante o primeiro período de tempo. Em algumas modalidades, a porta pode alcançar

um estado LIGADO depois do primeiro período de tempo ter passado, tal como pela transmissão pelo relógio 1 de um sinal ao circuito de porta 450 no final do primeiro período de tempo para ajustar o sinal eléctrico a um estado LIGADO.

[0078] O processo 490 prossegue para a etapa 494 onde o relógio 2 controla operação da porta, tal como o relógio 2 440 que controla o circuito de porta 450 tal como mostrado na FIGURA 4A. O relógio 2 pode ajustar um segundo período de tempo durante o qual a porta fica em um estado DESLIGADO de maneira tal que alguns ou todos os fotodetectores na disposição de fotodetectores 114 podem gerar um sinal em resposta à recepção dos fótons durante o segundo período de tempo. A seguir, o processo 490 prossegue para a etapa 495 onde o contador 2 executa a contagem de fótons durante o segundo período de tempo de maneira tal que os fótons detectados por um fotodetector na disposição 114 durante o segundo período de tempo são contados pelo contador 2. Tal como discutido acima em relação ao contador 1, algumas modalidades podem incluir um contador 2 para fotodetectores individuais na disposição 114 de maneira tal que os fótons detectados por fotodetectores diferentes são contados separadamente por contadores diferentes durante o segundo período de tempo. Em algumas modalidades, a porta pode alcançar um estado LIGADO depois do segundo período de tempo ter passado, tal como pela transmissão pelo relógio 2 de um sinal ao circuito de porta 450 no final do segundo período de tempo.

[0079] Algumas modalidades podem envolver a repetição deste processo por múltiplas vezes para obter a informação estatística a respeito dos períodos de tempo em que os fótons chegam depois de um evento de ativação. As contagens de fótons obtidas pelo contador 1 e pelo contador 2 podem ser agregadas em múltiplos eventos de ativação para gerar os sinais de contagem de fótons que representam

um número total dos fótons detectados durante o primeiro período de tempo e o segundo período em múltiplos eventos de ativação. A repetição da medição pode permitir a agregação de contagens de fótons para obter resultados estatisticamente significativos. Por exemplo, no contexto da medição do tempo de vida da fluorescência, pode-se esperar que um evento de detecção de fótons em resposta a um fóton recebido de um fluoróforo pode ocorrer de maneira relativamente rara, tal como uma vez em cerca de 1.000 eventos de excitação.

[0080] Uma vez que o número de repetições de eventos de ativação tenha sido executado, o processo 490 pode prosseguir para a etapa 496 de leitura das contagens de fótons do contador 1 e do contador 2. Nas modalidades onde há contadores separados para fotodetectores individuais, a leitura das contagens de fótons podem incluir a leitura das contagens de fótons para o contador 1 e o contador 2 associadas com fotodetectores diferentes de maneira tal que uma primeira contagem de fótons associada com o contador 1 e uma segunda contagem de fótons associada com o contador 2 são obtidas para fotodetectores individuais.

[0081] Em algumas modalidades, uma vez que as contagens de fótons tenham sido lidas, o processo 490 pode prosseguir para a etapa 497 onde o contador 1 e o contador 2 podem ser restaurados a um estado para permitir que a contagem de fótons subsequente seja executada pelo contador 1 e pelo contador 2, tal como depois de um evento de ativação subsequente. A etapa 497 pode ser executado pelo circuito de restauração 480 mostrado na FIGURA 4A, de acordo com algumas modalidades. Algumas modalidades podem envolver a execução de uma restauração dos contadores 1 e 2 depois de cada evento de ativação de maneira tal que as contagens de fótons para o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo são obtidas para eventos de ativação individuais.

[0082] Tal como discutido no presente documento, os fotodetectores na disposição de fotodetectores 114 podem incluir fotodiodos de avalanche de fótons individuais (SPADs). Os SPADs podem ter uma eficiência desejada de detecção de fótons dentro de uma faixa espectral entre 550 nm e 650 nm, que pode corresponder à luz emitida pela(s) molécula(s) luminescente(s) 106. Em algumas modalidades, os SPADs podem ter uma eficiência de detecção de fótons na faixa de 15% a 50%, ou qualquer porcentagem ou gama de porcentagens nessa faixa para comprimentos de ondas entre 550 nm e 650 nm. A FIGURA 5 é um gráfico da eficiência de detecção de fótons espectral para uma disposição de SPADs, os quais podem ser usados como fotodetectores na disposição de fotodetectores 114 de acordo com algumas modalidades. Tal como mostrado na FIGURA 5, a disposição de SPADs tem uma eficiência de detecção de fótons na faixa de 16% a 26% dentro da faixa de comprimentos de onda entre 550 nm e 650 nm. A FIGURA 6 é um gráfico da eficiência de detecção de fótons espectral para um SPAD, o qual pode ser usado como um fotodetector na disposição de fotodetectores 114 de acordo com algumas modalidades. Tal como mostrado na FIGURA 6, o SPAD tem uma eficiência de detecção de fótons na faixa de 37% a 48% dentro da faixa de comprimentos de onda entre 550 nm e 650 nm.

[0083] Embora os aspectos da tecnologia sejam descritos em conexão com os SPADs, deve ser apreciado que a disposição de fotodetectores 114 pode incluir outros tipos de fotodetectores configurados para bloquear com um tempo desejado enquanto têm uma razão entre sinal e ruído que permite a detecção de fótons individuais. Como um exemplo, os fotodetectores que têm uma operação a baixa corrente escura e baixo ruído de leitura, enquanto exibem uma alta sensibilidade a fótons, podem ser implementados na tecnologia descrita no presente documento. Os exemplos dos fotodetectores apropriados que

podem ser implementados na disposição de fotodetectores podem incluir fotodetectores de semicondutores de óxido de metal complementares (CMOS) como parte de um sensor de imagem de CMOS (CIS), fotodiodos de avalanche (APDs), e fotodetectores que combinam aspectos de fotodetectores de CMOS e APDs, por exemplo, mediante a implementação de características de amplificação de ganho para prover um fotodetector de CMOS com uma sensibilidade mais elevada. Um benefício dos fotodetectores de CMOS é que o processamento de CMOS pode permitir a fabricação de uma disposição de fotodetectores que tem uma densidade elevada dos fotodetectores. Algumas modalidades podem incluir a disposição de fotodetectores 114 que tem fotodetectores retroiluminados, o que pode melhorar a eficiência de quantum eficaz dos fotodetectores.

[0084] De acordo com algumas modalidades, um sistema de detecção, tal como o sistema de detecção 100, configurado para analisar as amostras com base em características da emissão, pode detectar diferenças nos tempos de vida e/ou nas intensidades entre moléculas luminescentes diferentes. A título de explanação, a FIGURA 7 traça duas curvas de probabilidades de emissão diferentes (A e B), que podem ser representativas da emissão de duas moléculas luminescentes diferentes. Com referência à curva A (mostrada como uma linha tracejada), depois de ser excitada por um pulso óptico curto ou ultracurto, uma probabilidade $p_A(t)$ de uma emissão de uma primeira molécula pode deteriorar com o passar do tempo, tal como descrito. Em alguns casos, a diminuição na probabilidade de um fóton ser emitido com o passar do tempo pode ser representada por uma função de deterioração exponencial $p_A(t) = P_{A0}e^{-t/\tau_A}$, onde P_{A0} é uma probabilidade de emissão inicial e τ_A é um parâmetro temporal associado com a primeira molécula que caracteriza a probabilidade de deterioração da emissão. τ_A pode ser indicado como o "tempo de vida da emissão" ou o

"tempo de vida" da primeira molécula luminescente. Outras moléculas luminescentes podem ter características de emissão diferentes daquela mostrada na curva A. Por exemplo, uma outra molécula luminescente pode ter um perfil de deterioração que difira de uma única deterioração exponencial, e o seu tempo de vida pode ser caracterizado por um valor de meia-vida ou por alguma outra métrica.

[0085] Uma segunda molécula luminescente pode ter um perfil de deterioração que é exponencial, mas tem um tempo de vida mensuravelmente diferente. Na FIGURA 7, uma molécula luminescente que tem a probabilidade de emissão da curva B pode ter a função de deterioração exponencial $p_B(t) = P_{B_0}e^{-t/\tau^B}$, onde P_{B_0} é uma probabilidade de emissão inicial e τ^B é um parâmetro temporal associado com a segunda molécula luminescente que caracteriza a probabilidade de deterioração da emissão. No exemplo mostrado, o tempo de vida para a segunda molécula luminescente da curva B é mais curto do que o tempo de vida para a primeira molécula luminescente da curva A, e a probabilidade de emissão é mais elevada mais cedo depois da excitação da segunda molécula luminescente representada pela curva B do que para a primeira molécula luminescente representada pela curva A. As moléculas luminescentes diferentes podem ter tempos de vida ou valores de meia-vida que variam de cerca de 0,1 ns a cerca de 20 ns, em algumas modalidades.

[0086] A identificação das moléculas luminescentes com base no tempo de vida (e não no comprimento de onda de emissão, por exemplo) pode simplificar os aspectos de um sistema de detecção. Como um exemplo, o sistema óptico discriminador de comprimento de onda (tais como filtros de comprimento de onda, detetores dedicados para cada comprimento de onda, fontes ópticas pulsadas dedicadas a comprimento de ondas diferentes, e/ou sistema óptico de difração) pode ser reduzido no número ou ser eliminado quando da identificação de

moléculas luminescentes com base no tempo de vida. Em alguns casos, uma única fonte óptica pulsada que opera a um único comprimento de onda característico pode ser usada para excitar as moléculas luminescentes diferentes que são emitidas dentro de uma mesma região de comprimento de onda do espectro óptico mas têm tempos de vida mensuravelmente diferentes. Um sistema de detecção que usa uma única fonte óptica pulsada, ao invés de múltiplas fontes ópticas que operam a comprimentos de onda diferentes, para excitar e discernir as moléculas luminescentes diferentes que emitem em uma mesma região de comprimento de onda pode ser menos complexo para operar e manter, mais compacto, e pode ser manufaturado a um custo mais baixo.

[0087] Embora os sistemas de detecção com base na análise do tempo de vida possam ter determinados benefícios, a quantidade de informação obtida por um sistema de detecção e/ou a exatidão de detecção podem ser aumentadas com a permissão de técnicas de detecção adicionais. Por exemplo, alguns sistemas de detecção podem ser adicionalmente configurados para discernir uma ou mais propriedades de uma amostra com base no comprimento de onda da emissão e/ou na intensidade da emissão.

[0088] Com referência outra vez à FIGURA 7, de acordo com algumas modalidades, tempos de vida de emissão diferentes podem ser distinguidos com um fotodetector e um circuito de detecção associado que é configurado para executar a contagem de fótons dos fótons incidentes no fotodetector depois da excitação de uma molécula luminescente. A contagem de fótons pode ocorrer durante um único intervalo entre os eventos de leitura durante os quais o circuito de detecção conta uma quantidade dos fótons recebidos durante múltiplos períodos de tempo. O conceito de determinação do tempo de vida de emissão pela contagem de fótons é introduzido graficamente na FIGURA 8. No

tempo t_e imediatamente antes de T_1 , uma molécula luminescente é excitada por um pulso óptico curto ou ultracurto. O circuito de detecção associado com um fotodetector que detecta os fótons emitidos pela molécula luminescente pode contar os fótons durante múltiplos períodos de tempo, tais como o período de tempo 1 entre T_1 e T_2 e o período de tempo 2 entre T_3 e T_4 indicados na FIGURA 8, que são resolvidos temporalmente com respeito ao tempo de excitação da(s) molécula(s) luminescente(s). Ao somar os múltiplos eventos de excitação, a quantidade de fótons em cada período de tempo pode se aproximar da curva de deterioração da intensidade mostrada na FIGURA 8, e pode ser usada para distinguir entre moléculas luminescentes diferentes.

[0089] De acordo com algumas modalidades, a(s) fonte(s) de luz de excitação 108 no sistema de detecção 100 pode compreender um ou mais módulos laser de modo travado configurados para produzir pulsos de luz de excitação. A FIGURA 9 ilustra perfis de intensidade temporais dos pulsos de saída de um módulo laser de modo travado exemplificador. Em algumas modalidades, os valores de pico da intensidade dos pulsos emitidos podem ser mais ou menos iguais, e os perfis podem ter um perfil temporal de Gauss, embora outros perfis tais como um perfil sech^2 possam ser possíveis. Em alguns casos, os pulsos podem não ter perfis temporais simétricos e podem ter outros formatos temporais. A duração de cada pulso pode ser caracterizada por um valor máximo de metade da largura total (FWHM), tal como indicado na FIGURA 9. De acordo com algumas modalidades de um laser de modo travado, os pulsos ópticos ultracurtos podem ter valores de FWHM de menos de 100 picosegundos (ps). Em alguns casos, os valores de FWHM podem ficar entre cerca de 5 ps e cerca de 30 ps.

[0090] Em algumas modalidades, a(s) fonte(s) de luz de excitação 180 pode(m) incluir um ou mais módulos laser comutados em ganho configurados para produzir pulsos de luz de excitação. Os exemplos

de módulos laser comutados em ganho apropriados são descritos no Pedido de Patente U.S. no. 16/043.651, depositado em 24 de julho de 2018, intitulado "INSTRUMENTO BIO-OPTOELETRÔNICO MACIÇAMENTE PARALELO MANUALMENTE TRANSPORTÁVEL", o qual é incorporado a título de referência em sua totalidade.

[0091] Os pulsos de saída podem ser separados por intervalos regulares T . Por exemplo, T pode ser determinado por um tempo de percurso de ida e volta entre um acoplador de saída e um espelho de extremidade da cavidade do módulo laser. De acordo com algumas modalidades, o intervalo de separação de pulsos T pode ficar na faixa de cerca de 1 ns a cerca de 30 ns, ou qualquer valor ou gama de valores dentro dessa faixa. Em alguns casos, o intervalo de separação de pulsos T pode ficar na faixa de cerca de 5 ns a cerca de 20 ns, que corresponde a um comprimento da cavidade laser (um comprimento aproximado de um eixo óptico dentro de uma cavidade laser do módulo laser) entre cerca de 0,7 metro e cerca de 3 metros.

[0092] De acordo com algumas modalidades, um intervalo de separação de pulsos desejado T e o comprimento da cavidade laser podem ser determinados por uma combinação do número de poços de amostras, características da emissão, e velocidade de circuitos de manipulação de dados para a leitura de dados do circuito de detecção 116. Os autores da presente invenção reconheceram e apreciaram que as moléculas luminescentes diferentes podem ser distinguidas por suas taxas diferentes de deterioração de emissão ou tempos de vida característicos. Por conseguinte, precisa haver um intervalo de separação de pulsos suficiente T para coletar as estatísticas adequadas para que as moléculas luminescentes selecionadas façam a distinção entre as suas taxas de deterioração diferentes. Além disso, se o intervalo de separação de pulsos T for demasiadamente curto, o circuito de manipulação de dados pode não dar conta da grande quantidade de

dados que são coletados pelo grande número de poços de amostras.

[0093] De acordo com algumas implementações, um módulo direcionador de feixe pode receber os pulsos de saída de um módulo laser de modo travado e ser configurado para ajustar pelo menos a posição e os ângulos incidentes dos pulsos ópticos em um acoplador óptico (por exemplo, acoplador de grade) de um chip de amostra que tem uma disposição de amostras. Em alguns casos, os pulsos de saída do módulo laser de modo travado podem ser operados por um módulo direcionados de feixe para mudar adicional ou alternativamente uma forma do feixe e/ou uma rotação do feixe em um acoplador óptico. Em algumas implementação, o módulo direcionador de feixe também pode prover ajustes na focalização e/ou na polarização do feixe de pulsos de saída no acoplador óptico. Um exemplo de um módulo direcionador de feixe é descrito no Pedido de Patente U.S. no. 15/161.088 intitulado "LASER PULSADO E SISTEMA BIOANALÍTICO", depositado em 20 de maio de 2016, o qual é incorporado no presente documento a título de referência. Um outro exemplo de um módulo direcionador de feixe é descrito em um Pedido de Patente U.S. no. 15/843.720 separado, "CONJUNTO DE FORMAÇÃO E DIRECIONAMENTO DE FEIXE COMPACTO", depositado em 14 de dezembro de 2017, o qual é incorporado no presente documento a título de referência.

[0094] Nas modalidades que envolvem o uso do sistema de detecção 100 para o arranja em sequência de ácidos nucleicos, a(s) molécula(s) luminescente(s) 106 pode(m) incluir tipos diferentes de moléculas luminescentes associadas com tipos diferentes de nucleotídeos ou análogos de nucleotídeos, tal como ao usar tipos diferentes de moléculas luminescentes para etiquetar os tipos diferentes de nucleotídeos ou análogos de nucleotídeos. Os poços de amostras individuais na disposição de poços de amostras 104 podem ser configurados para receber uma molécula de ácido nucleico modelo e nucleotídeos e/ou

análogos de nucleotídeos etiquetados. Um exemplo não limitador de uma reação de sequenciamento que ocorre em um poço de amostras é ilustrado na FIGURA 10. Neste exemplo, a incorporação sequencial de nucleotídeos e/ou análogos de nucleotídeos em um cordão em crescimento que é complementar a um ácido nucleico alvo está ocorrendo no poço de amostras. A incorporação sequencial pode ser detectada para arranjar em sequência uma série de ácidos nucleicos (por exemplo, DNA, RNA). De acordo com algumas modalidades, a polimerase 1020 pode ficar localizada dentro do poço de amostras (por exemplo, unida a uma base do poço de amostras). A polimerase pode absorver um ácido nucleico alvo (por exemplo, uma porção de ácido nucleico derivada do DNA), e arranjar em sequência um cordão em crescimento de ácido nucleico complementar para produzir um cordão em crescimento do DNA. Os nucleotídeos e/ou os análogos de nucleotídeos etiquetados com moléculas luminescentes diferentes podem ser dispersos em uma solução acima e dentro do poço da amostra.

[0095] Quando um nucleotídeo e/ou um análogo de nucleotídeo etiquetado 1010 é incorporado em um cordão em crescimento de ácido nucleico complementar, tal como mostrado na FIGURA 10, uma ou mais moléculas luminescentes 1030 unidas podem ser repetidamente excitadas pelos pulsos de energia óptica acoplados ao poço da amostra. Em algumas modalidades, a(s) molécula(s) luminescente(s) 1030 pode(m) ser unida(s) a um ou mais nucleotídeos e/ou análogos de nucleotídeo 1010 com qualquer ligante 1040 apropriado. Um evento de incorporação pode durar um período de tempo de até cerca de 100 ms. Durante este tempo, os pulsos da luz de emissão resultantes da excitação da(s) molécula(s) luminescente(s) por pulsos de uma fonte de excitação, tal como um laser de modo travado, podem ser detectados com um fotodetector de contagem de fótons. Ao unir a(s) molécula(s) luminescente(s) com características diferentes de emissão (por

exemplo, taxas de deterioração da emissão, intensidade) a nucleotídeos (A, C, G, T) ou análogos de nucleotídeos diferentes, são detectadas e distinguidas as características diferentes da emissão enquanto o cordão de DNA incorpora um ácido nucleico e permite a determinação da sequência de nucleotídeos do cordão em crescimento do DNA.

[0096] O circuito de detecção 116 pode ser configurado para contar os fótons incidentes recebidos pela disposição de fotodetectores 114 da disposição de poços de amostras 104 para distinguir entre as moléculas luminescentes associadas com os nucleotídeos ou análogos de nucleotídeos diferentes que são incorporados em uma molécula de ácido nucleico. O circuito de detecção 116 pode gerar os sinais que correspondem a tipos diferentes de moléculas luminescentes, e um conjunto de sinais pode identificar uma série de nucleotídeos etiquetados com tipos diferentes de moléculas luminescentes e pode ser usado para arranjar em sequência uma molécula de ácido nucleico modelo. Em particular, a série de nucleotídeos identificada pelo conjunto de sinais gerados pelo circuito de detecção 116 pode corresponder a uma série de nucleotídeos de uma molécula de ácido nucleico complementar ao cordão de ácido nucleico modelo. Como um exemplo, quatro fluoróforos diferentes podem ser usados para etiquetar quatro tipos diferentes de nucleotídeos (por exemplo, os nucleotídeos que têm as bases adenina "A", guanina "G", citosina "C" e timina "T") e o circuito de detecção 116 pode gerar quatro tipos diferentes de sinais, os quais são usados para distinguir entre os quatro fluoróforos e identificar quais dos quatro nucleotídeos são incorporados em uma molécula de ácido nucleico complementar a uma molécula de ácido nucleico modelo que é arranjada em sequência. Em particular, os quatro fluoróforos diferentes podem variar no perfil do tempo de vida da fluorescência e/ou intensidade de maneira tal que os sinais gerados pelo circuito de detecção 116 podem fazer a distinção entre os quatro fluoróforos

com base em seu perfil do tempo de vida da fluorescência e/ou intensidade. Um conjunto exemplificador dos sinais gerados pelo circuito de detecção 116 pode identificar uma série de nucleotídeos como ATTA-CAGG, o qual pode ser usado para identificar a série complementar dos nucleotídeos como TAATGACC como estando presente em uma molécula de ácido nucleico modelo.

[0097] Antes de executar a análise de uma amostra ao usar um sistema de detecção tal como descrito no presente documento, o alinhamento da disposição de poços de amostras e da disposição de fotodetectores pode ter que ser obtido de maneira tal que pelo menos alguns dos poços de amostras ficam posicionados opticamente em relação à disposição de fotodetectores para pelo menos alguns dos fotodetectores receberem a luz emitida de um respectivo poço de amostra. Por conseguinte, algumas modalidades do presente pedido de patente se referem a técnicas para alinhar opticamente a disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores.

[0098] Com relação outra vez à FIGURA 1, em algumas modalidades, os sinais gerados pelo circuito de detecção 116 podem ser usados no alinhamento da disposição de poços de amostras 104 em relação à disposição de fotodetectores 114. Em tais modalidades, o processador 118 pode processar os sinais gerados pelo circuito de detecção 116 para gerar sinais de controle do estrado para o reposicionamento da disposição de poços de amostras 104 e para transmitir os sinais de controle do estrado ao circuito de controle do estrado 110. O circuito de controle do estrado 110 podem agir para mover o estrado 102 em resposta à recepção dos sinais de controle do estrado, e a disposição de poços de amostras 104 no estrado 102 pode mudar a as posições em relação à disposição de fotodetectores 114. Adicional ou alternativamente, o processador 118 pode gerar sinais de controle do estrado para o reposicionamento da disposição de fotodetectores 114

e transmitir os sinais de controle do estrado ao circuito de controle do estrado 128. O circuito de controle do estrado 128 pode agir para mover o estrado 126 em resposta à recepção dos sinais de controle do estrado, e a disposição de fotodetectores 114 pode mudar as posições em relação à disposição de poços de amostras 104. O estrado 102 e/ou o estrado 126 podem ser configurados para se mover em qualquer número apropriado de eixos, incluindo os eixos de translação e rotação. Em algumas modalidades, o estrado 102 pode ser um piezo-estrado configurado para ter uma faixa de deslocamento ao longo de três eixos diferentes. Em algumas modalidades, o estrado 126 pode ser um estrado montado em um goniômetro, o qual pode permitir que o estrado 126 incline a ângulos particulares.

[0099] Embora os estrados 102 e 126 e os circuitos de controle associados 110 e 128 sejam mostrados na FIGURA 1, deve ser apreciado que algumas modalidades podem envolver o uso de somente um estrado, tal como um estrado para mover a disposição de poços de amostras 104 ou um estrado para mover a disposição de fotodetectores 114, e pode incluir somente circuitos de controle do estrado para controlar o posicionamento do estrado. Adicional ou alternativamente, algumas modalidades podem envolver o controle manual (por exemplo, botões giráveis para posicionamento mecânico por um usuário) de um ou ambos os estrados 102 e 126 para posicionar a disposição de poços de amostras 104 e/ou a disposição de fotodetectores 114.

[00100] Os sinais gerados pelo circuito de detecção 116 podem ser providos ao processador 118, o qual pode executar a análise ao usar os sinais. O processador 118 pode incluir um hardware de transmissão de dados configurado para transmitir e receber dados de e para dispositivos externos através de um ou mais links de transmissão de dados. Em algumas modalidades, o processador 118 pode gerar dados da imagem ao usar os sinais e transmitir os dados da imagem ao dispo-

tivo de exibição 120, e o dispositivo de exibição 120 pode exibir uma imagem ao usar os dados da imagem. Uma imagem exibida no dispositivo de exibição 120 pode permitir que um usuário veja se a disposição de poços de amostras 104 está alinhada apropriadamente com a disposição de fotodetectores 114.

[00101] Em algumas modalidades, a disposição de poços de amostras 104 é integrada como parte de um chip de amostra, onde a disposição de poços de amostras 104 é arranjada em uma superfície do chip de amostra. O chip de amostra pode incluir um ou mais componentes ópticos para aplicar a luz de excitação 122 aos poços de amostras individuais da disposição de poços de amostras 104. O chip de amostra pode incluir um ou mais guias de ondas posicionados em relação aos poços de amostras de maneira tal que alguns ou todos os poços de amostras na disposição ficam posicionados para receber a luz de um ou mais guias de ondas. Em algumas modalidades, o chip de amostra pode incluir um ou mais acopladores de grade configurados para receber a luz e para acoplar opticamente a luz a um ou mais guia de ondas. Em tais modalidades, um feixe de luz de excitação incidente pode ser dirigido a uma região do chip de amostra que é separada de uma região que tem os poços de amostras. Os componentes ópticos 112 podem ser configurados para dirigir um feixe da luz de excitação 122 rumo a um ou mais acopladores de grade no chip de amostra, o que pode permitir o acoplamento de luz de excitação a um ou mais guias de ondas.

[00102] A FIGURA 11 é uma vista em seção transversal de um chip de amostra exemplificador 1100, de acordo com algumas modalidades. O chip de amostra 1100 inclui poços múltiplos poços de amostras 204 arranjados em uma superfície do chip de amostra 1100. A fileira de poços de amostras 204 mostrada na FIGURA 11 é posicionada a uma distância D do guia de ondas 1108 para permitir o acoplamento

óptico com o guia de ondas 1108. A distância D pode ficar na faixa de 50 nm a 500 nm, incluindo qualquer valor ou gama de valores nessa faixa. Em algumas modalidades, a distância D fica entre 100 nm e 200 nm, incluindo qualquer valor ou gama de valores nessa faixa. Embora cinco poços de amostras sejam mostrados, deve ser apreciado que o chip de amostra 1100 pode incluir qualquer número apropriado de poços de amostras em uma vista em seção transversal do chip de amostra 1100. Em algumas modalidades, os poços de amostras 204 são posicionados em relação ao guia de ondas 1108 para permitir que um campo óptico evanescente acople a energia óptica aos poços de amostras individuais 204 enquanto a luz se propaga ao longo do guia de ondas 1108. O chip de amostra 1100 pode incluir o acoplador de grade 1106, o qual pode acoplar a luz de excitação 122 (mostrada pelas setas tracejadas na FIGURA 11) ao guia de ondas 1108. Durante a operação, um feixe de luz de excitação 122 pode ser posicionado para acoplar com o acoplador de grade 1106, tal como pelos componentes ópticos 112 tal como mostrado na FIGURA 1, e a luz pode se propagar ao longo do guia de ondas 1108 e acoplar a alguns ou todos os poços de amostras 204 posicionados ao longo do guia de ondas 1108. Uma molécula luminescente posicionada dentro de um poço de amostras particular 204 pode receber a luz de excitação do guia de ondas 1108, e em resposta pode emitir a luz 124, a qual pode ser detectada por um fotodetector 214 na disposição de fotodetectores 114.

[00103] A FIGURA 12A é uma vista planar esquemática que ilustra o alinhamento óptico dos poços de amostras 204 com os fotodetectores 214. Os poços de amostras 204 são mostrados como os círculos, e os fotodetectores 214 são mostrados como quadrados. No entanto, deve ser apreciado que os poços de amostras e os fotodetectores podem ter qualquer formato em seção transversal apropriado e que os aspectos do presente pedido de patente não são limitados aos forma-

tos dos poços de amostras 204 e dos fotodetectores 214 mostrados na FIGURA 12A. O(s) componente(s) óptico(s) 112 pode(m) ser configurado(s) para ajustar a ampliação relativa entre o plano óptico da disposição de poços de amostras e o plano óptico da disposição de fotodetectores de maneira tal que pelo menos uma porção dos poços de amostras se sobrepõe opticamente com pelo menos alguns dos fotodetectores. O arranjo dos poços de amostras em uma disposição, incluindo as distâncias entre os poços de amostras ao longo de uma fileira e entre as fileiras de poços de amostras, assim como o arranjo dos fotodetectores em uma disposição, incluindo as distâncias entre os fotodetectores e as fileiras de fotodetectores, pode ter uma configuração que permita o alinhamento óptico de alguns ou todos os poços de amostras para alinhar opticamente com os fotodetectores individuais. Tal como mostrado na FIGURA 12A, o afastamento relativo entre os poços de amostras individuais 204 e os fotodetectores individuais 214 pode permitir que pelo menos algumas das fileiras de poços de amostras em uma disposição de poços de amostras alinhe opticamente com algumas das fileiras de fotodetectores. Em algumas modalidades, o alinhamento óptico pode envolver o fato que a distância entre os poços de amostras em uma fileira seja a mesma ou similar à distância entre os fotodetectores em uma fileira.

[00104] O alinhamento óptico pode ser considerado em um plano óptico que inclui poços de amostras e/ou em um plano óptico que inclui fotodetectores. Em algumas modalidades, um plano óptico dos poços de amostras pode ter uma distância D_w entre os poços de amostras individuais ao longo de uma fileira e entre fotodetectores individuais ao longo de uma fileira como sendo igual a cerca de 5 micra. Em algumas modalidades, um plano óptico dos fotodetectores pode ter uma distância D_w entre os poços de amostras individuais ao longo de uma fileira e entre fotodetectores individuais ao longo de uma fileira

como sendo igual a cerca de 150 micra. Os fotodetectores individuais podem ter uma dimensão w dentro da qual um poço de amostras se sobrepõe opticamente quando no alinhamento óptico. Em algumas modalidades, a dimensão w pode ser de cerca de 1 micron no plano óptico que inclui os poços de amostras. Em algumas modalidades, a dimensão w pode ser de cerca de 30 micra no plano óptico que inclui os fotodetectores. A distância D_s entre as fileiras de poços de amostras e a distância D_p entre as fileiras de fotodetectores podem permitir o alinhamento óptico. Em algumas modalidades, a distância D_s pode ficar na faixa de cerca de 7,5 micra a cerca de 225 micra, ou qualquer valor ou gama de valores nessa faixa, no plano óptico dos poços de amostras. Em algumas modalidades, a distância D_p pode ficar na faixa de cerca de 5 micra a cerca de 150 micra, ou qualquer valor ou gama de valores nessa faixa, no plano óptico dos poços de amostras. Em algumas modalidades, a distância D_p pode ser de cerca de 150 micra no plano óptico dos poços de amostras.

[00105] Algumas modalidades podem envolver o alinhamento óptico dos poços de amostras posicionados ao longo de um guia de ondas com uma fileira de fotodetectores. Tal como mostrado na FIGURA 12A, os poços de amostras, incluindo o poço de amostras 204a, são posicionados ao longo do guia de ondas 1108a e alinham opticamente com uma fileira de fotodetectores, incluindo o fotodetector 214a. Em quanto que uma outra fileira de poços de amostras, tal como a fileira dos poços de amostras posicionada ao longo do guia de ondas 1108b, que inclui o poço de amostras 204b, não seja alinhada opticamente com os fotodetectores individuais, tais como as fileiras dos fotodetectores que incluem os fotodetectores 214b e 214c. Este tipo de configuração pode permitir uma maior facilidade no alinhamento de poços de amostras com os fotodetectores, uma vez que alguns dos fotodetectores são usados para detectar quando os poços de amostras estão em

alinhamento enquanto que outros fotodetectores são usados para detectar quando os poços de amostras não estão alinhados. O ajuste do posicionamento relativo de uma disposição de poços de amostras em relação a uma disposição de fotodetectores pode incluir o deslocamento de uma ou ambas as disposições para uma posição onde um primeiro subconjunto de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons ao passo que um segundo subconjunto de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons.

[00106] A FIGURA 12B é uma vista planar que ilustra o desalinhamento óptico dos poços de amostras 204 em relação aos fotodetectores 214 da amostra. Em particular, a FIGURA 12B ilustra o desalinhamento translacional com os poços de amostras 204 deslocados dos fotodetectores 214 ao longo da direção X. A correção de tal desalinhamento translacional pode envolver o deslocamento incremental da disposição de poços de amostras ao longo da direção x até que uma fileira de fotodetectores detecte uma determinada quantidade de fótons, tais como uma quantidade máxima de fótons ou uma quantidade de fótons acima de um valor limite, para obter o alinhamento mostrado na FIGURA 12A.

[00107] Em alguns exemplos, o desalinhamento óptico de uma disposição de poços de amostras e de uma disposição de fotodetectores pode incluir o desalinhamento rotacional. A FIGURA 12C é uma vista planar que ilustra o desalinhamento rotacional dos poços de amostras 204 em relação aos fotodetectores 214 onde os poços de amostras 204 são desalinhados em relação aos fotodetectores 214 por um ângulo θ . Em tal posição de desalinhamento rotacional, os poços de amostras ao longo dos guias de ondas individuais só podem se sobrepor com alguns dos fotodetectores em uma fileira da disposição de fotodetectores, e o desalinhamento pode ser corrigido ou reduzido ao girar a disposição de poços de amostras em relação à disposição de

fotodetectores ou ao girar a disposição de fotodetectores em relação à disposição de poços de amostras de maneira tal que mais fotodetectores na fileira detectam a luz. Por exemplo, tal como mostrado na FIGURA 12C, somente alguns dos poços de amostras ao longo do guia de ondas 1108a se sobrepõem opticamente com os fotodetectores em uma fileira que inclui o fotodetector 214a de maneira tal que somente os fotodetectores que se sobrepõem opticamente com os poços de amostras são posicionados para receber os fótons. A correção de tal desalinhamento rotacional pode envolver a rotação incremental da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores de modo que haja mais fotodetectores posicionados para detectar a luz.

[00108] Além disso, tal como discutido acima, a disposição de poços de amostras e a disposição de fotodetectores podem ser projetadas de maneira tal que nem todas as fileiras de poços de amostras alinham com os fotodetectores, onde tais fotodetectores podem ser considerados como fotodetectores "escuros". Em tais modalidades, a correção do desalinhamento rotacional pode envolver o posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores de maneira tal que algumas das fileiras de poços de amostras não se sobrepõem com os fotodetectores. Por exemplo, o desalinhamento rotacional pode envolver uma situação na qual uma única fileira de poços de amostras é posicionada para a sobreposição com múltiplas fileiras de fotodetectores. Tal como mostrado na FIGURA 12C, os fotodetectores 214b e 214d ficam em fileiras separadas na disposição de fotodetectores, e os poços de amostras 204b e 204d, que são posicionados ao longo do guia de ondas 1108b, se sobrepõem com os fotodetectores 214b e 214d, respectivamente. A correção para este tipo de desalinhamento rotacional pode envolver a rotação da disposição de poços de amostras em relação à disposição de

fotodetectores de maneira tal que a fileira de poços de amostras ao longo do guia de ondas 1108b alinha com uma fileira de fotodetectores ou não alinha com nenhum dos fotodetectores. Uma vez que este tipo de desalinhamento é observado por fileiras vizinhas dos fotodetectores que têm pelo menos um fotodetector de detecção de luz, a correção pode envolver o reposicionamento da disposição de poços de amostras e a disposição de fotodetectores até que as fileiras dos fotodetectores que estão posicionados para receber a luz da disposição de poços de amostras sejam separadas por uma ou mais fileiras de fotodetectores que são posicionados para não receber a luz da disposição de poços de amostras. Em tais exemplos, o processo de alinhamento pode envolver a comparação do padrão de fotodetectores na disposição de fotodetectores que estão detectando a luz em qualquer estrado particular do processo de alinhamento a um padrão de luz desejado que é detectado pela disposição de fotodetectores para determinar se etapas adicionais de alinhamento são necessárias para obter o padrão desejado. Como um exemplo, o padrão desejado dos fotodetectores que detectam a luz com respeito às FIGURAS 12A, 12B e 12C podem ser descritos como alternando entre uma fileira de fotodetectores que detectam a luz, ou fotodetectores "claros", com uma fileira de fotodetectores que não detectam a luz, ou fotodetectores "escuros". Este padrão pode então ser comparado aos padrões de detecção de luz durante o processo de alinhamento para determinar se a disposição de poços de amostras e a disposição de fotodetectores foram alinhadas de maneira apropriada. Em algumas modalidades, um padrão de fotodetector escuro pode identificar uma orientação particular da disposição de poços de amostras, e é usado para ajustar o alinhamento. Por exemplo, um padrão rotacionalmente assimétrico, tal como um padrão em forma de L de fotodetectores escuros, pode ser usado na determinação que a disposição de poços de amostras e a disposição de fotodetectores não

estão alinhadas rotacionalmente.

[00109] A FIGURA 13 é um fluxograma de um processo ilustrativo 1300 para alinhar opticamente uma disposição de poços de amostras com uma disposição de fotodetectores, de acordo com algumas modalidades da tecnologia descrita no presente documento. O processo 1300 começa na etapa 1310, onde a luz emitida dos poços de amostras em uma disposição de poços de amostras, tal como a disposição de poços de amostras 104, é detectada ao usar uma disposição de fotodetectores, tal como a disposição de fotodetectores 114. Uma quantidade de luz detectada por fotodetectores individuais pode fornecer uma indicação de um grau de alinhamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores. A detecção da luz ao usar a disposição de fotodetectores pode envolver um circuito de detecção, tal como o circuito de detecção 116, para executar a contagem de fótons dos fótons incidentes recebidos em fotodetectores individuais. Em algumas modalidades, o alinhamento pode envolver o direcionamento da luz de excitação para os poços de amostras na disposição de poços de amostras (por exemplo, ao propagar a luz ao longo dos guias de ondas em um chip de amostra) e a detecção da luz emitida dos poços de amostras ao usar a disposição de fotodetectores.

[00110] Em seguida, o processo 1300 prossegue para a etapa 1320, onde o posicionamento da disposição de poços de amostras e/ou da disposição de fotodetectores é ajustado com base na luz detectada de maneira tal que pelo menos alguns dos poços de amostras são alinhados opticamente com pelo menos alguns dos fotodetectores. O ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras e/ou da disposição de fotodetectores pode envolver o ajuste para responder pelo desalinhamento rotacional e/ou translacional entre a disposição de poços de amostras e a disposição de fotodetectores. O ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras pode incluir o

deslocamento da disposição de poços de amostras de uma primeira posição para uma segunda posição, o que pode envolver o uso de um estrado, tal como o estrado 102. O ajuste do posicionamento da disposição de fotodetectores pode incluir o deslocamento da disposição de fotodetectores de uma primeira posição para uma segunda posição, o que pode envolver o uso de um estrado, tal como o estrado 126. Um primeiro conjunto de fotodetectores pode detectar uma quantidade maior de fótons quando na segunda posição e não na primeira posição. Um segundo conjunto de fotodetectores pode detectar uma quantidade menor de fótons quando na segunda posição e não na primeira posição. Em algumas modalidades, o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores pode envolver o ajuste de suas posições relativas de maneira tal que uma ou mais fileiras de poços de amostras alinha opticamente com uma ou mais fileiras de fotodetectores. Deve ser apreciado que a disposição de poços de amostras, a disposição de fotodetectores, ou ambas, podem ser reposicionados durante a etapa 1320.

[00111] Em seguida, o processo 1300 pode prosseguir para a etapa 1330, onde o foco da disposição de poços de amostras em relação à disposição de detectores é ajustado. Este processo pode envolver o ajuste de um ou mais sistemas ópticos no sistema, tais como os componentes ópticos 112, para colocar um plano de imagem da disposição de poços de amostras em alinhamento com o plano das regiões de detecção dos fotodetectores.

[00112] Em seguida, o processo 1300 pode prosseguir para a etapa 1340, onde o padrão de luz detectado pela disposição de fotodetectores é comparado a um padrão de luz desejado. Em particular, a etapa 1340 pode ser incluída no processo de alinhamento quando há um conjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores designado como fotodetectores "escuros". A comparação de um determinado pa-

drão de luz detectado pela disposição de fotodetectores a um padrão desejado pode envolver uma comparação de um para um da luz detectada por fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores com sua posição correspondente dentro do padrão de luz desejado e/ou a comparação de tal padrão de luz com o padrão geral desejado para obter um grau de alinhamento.

[00113] Algumas modalidades podem envolver a repetição das etapas 1310, 1320, 1330 e/ou 1340 para obter uma quantidade desejada de alinhamento óptico entre a disposição de poços de amostras e a disposição de fotodetectores. Em algumas modalidades, o ajuste de uma posição da disposição de poços de amostras, da disposição de fotodetectores, ou de ambas, na etapa 1320 pode ser uma mudança incremental na posição, a qual pode ser subsequentemente avaliada quanto ao fato se o reposicionamento melhora o alinhamento mediante a detecção de luz da disposição de poços de amostras ao usar a disposição de fotodetectores. Se a nova posição melhorar o alinhamento óptico, então a nova posição pode ser mantida. Se a nova posição não melhorar o alinhamento óptico, então o sistema pode reverter de volta a uma posição prévia. Desta maneira, o alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores pode prosseguir em incrementos.

[00114] Em algumas modalidades, uma parte ou todo o processo 1300 pode ser executado por qualquer(qualquer) dispositivo(s) de computação apropriado(s) (por exemplo, um único dispositivo de computação, múltiplos dispositivos de computação colocados em uma única posição física ou posicionados em múltiplas posições físicas afastadas umas das outras, etc.), uma vez que os aspectos da tecnologia descrita não são limitados no presente documento a este respeito. Em algumas modalidades, uma parte ou todo o processo 1300 pode ser executado por um usuário que opera um ou mais componentes

de um sistema de detecção, tal como o sistema de detecção 100. Por exemplo, o estrada 102, o estrada 126, ou ambos, podem ser controlados por um ou por mais dispositivos de computação, que podem gerar e transmitir sinais de controle aos estrados.

[00115] Deve ser apreciado que as técnicas descritas no presente documento para alinhar uma disposição de fotodetectores a uma disposição de poços de amostras podem ser implementadas na formação de um dispositivo monolítico onde a formação do dispositivo monolítico envolve a união de dois substratos separados: um substrato que tem uma disposição de fotodetectores e um outro substrato que tem uma disposição de poços de amostras, ou uma outra disposição configurada para emitir a luz de locais particulares. Neste contexto, a formação do dispositivo monolítico pode envolver o posicionamento dos dois substratos um em relação ao outro de maneira tal que alguns ou todos os fotodetectores no primeiro substrato alinham opticamente com os poços de amostras, ou outros pontos de interesse, no segundo substrato antes de unir os dois substratos. É nesta etapa na formação do dispositivo monolítico em que as técnicas de alinhamento descritas no presente documento podem ser implementadas para obter um grau desejado de funcionalidade no dispositivo monolítico resultante. Em algumas modalidades, os dois substratos podem ser colocados em contato físico e a luz detectada pela disposição de fotodetectores pode ser usada para ajustar o alinhamento da disposição de fotodetectores com a disposição de poços de amostras. Em algumas modalidades, estas técnicas de alinhamento podem ser usadas no alinhamento de componentes ópticos, tais como disposições de microlentes e disposições de fibras, com as disposições de fontes de luz (por exemplo, lasers de emissão na superfície de cavidade vertical (VCSELs)).

Aspectos Adicionais

[00116] Em algumas modalidades, as técnicas descritas no presen-

te documento podem ser realizadas ao usar um ou mais dispositivos de computação. As modalidades não são limitadas à operação com qualquer tipo particular de dispositivo de computação.

[00117] A FIGURA 14 é um diagrama de blocos de um sistema de computação ilustrativo 1400 que pode ser usado para implementar um circuito de controle para controlar a disposição de fotodetectores, o circuito de detecção, uma ou mais fontes de luz, um estrado para posicionar a disposição de poços de amostras, ou para executar a análise dos dados da disposição de fotodetectores. O sistema de computação 1400 inclui o(s) processador(es) 1410 e um ou mais artigos de manufatura que compreendem meios de armazenamento que podem ser lidos por computador não transitórios (por exemplo, a memória 1420 e um ou mais meios de armazenamento não volátil 1430). O(s) processador(es) 1410 pode(m) controlar os dados de escrita e os dados de leitura da memória 1420 e do armazenamento não volátil 1430 de qualquer maneira apropriada, uma vez que os aspectos da tecnologia descrita no presente documento não são limitados a este respeito. Para executar qualquer uma das funcionalidades descritas no presente documento, o(s) processador(es) 1410 pode(m) executar um ou mais instruções executáveis por processador armazenadas em um ou mais meios de armazenamento que podem ser lido por computador não transitórios (por exemplo, a memória 1420), que podem servir como meios de armazenamento que podem ser lido por computador não transitórios que armazenam instruções executáveis por processador para a execução pelo(s) processador(es) 1410.

[00118] O sistema de computação 1400 também pode incluir interface(s) de entrada/saída (I/O) de rede 1440 através da(s) qual(is) o sistema de computação 1400 pode se comunicar com outros dispositivos de computação (por exemplo, por uma rede). O sistema de computação 1400 pode incluir a interface de entrada/saída (I/O) do usuário

1460, através da qual o sistema de computação 1400 pode prover a saída e receber a entrada de um usuário. A interface I/O do usuário 1460 pode incluir dispositivos tais como um teclado, um mouse, um microfone, um dispositivo de exibição (por exemplo, um monitor ou uma tela de toque), alto-falantes, uma câmera, e/ou vários outros tipos de dispositivos de I/O.

[00119] As modalidades descritas acima podem ser implementadas em qualquer uma de numerosas maneiras. Por exemplo, as modalidades podem ser implementadas ao usar um hardware, um software ou uma combinação dos mesmos. Quando implementada no software, o código do software pode ser executado em qualquer processador apropriado (por exemplo, um microprocessador) ou uma coleção de processadores, se for provido em um único dispositivo de computação ou distribuído entre múltiplos dispositivos de computação. Deve ser apreciado que qualquer componente ou coleção de componentes que executam as funções descritas acima podem ser genericamente considerados como um ou mais controladores que controlam as funções acima discutidas. Um ou mais controladores podem ser implementados de numerosas maneiras, tal como com um hardware dedicado, ou com um hardware de finalidades gerais (por exemplo, um ou mais processadores) que é programado ao usar o microcódigo ou o software para executar as funções recitadas acima.

[00120] A este respeito, deve ser apreciado que uma implementação das modalidades descritas no presente documento compreende pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador (por exemplo, RAM, ROM, EEPROM, memória flash ou uma outra tecnologia de memória, CD-ROM, discos versáteis digitais (DVD) ou um outro armazenamento em disco óptico, fitas cassete magnéticas, fitas magnéticas, armazenamento em disco magnético ou outros dispositivos de armazenamento magnético, ou um outro meio de ar-

mazenamento que pode ser lido por computador não transitório tangível) codificado com um programa de computador (por exemplo, uma pluralidade de instruções executáveis) que, quando executado em um ou mais processadores, executa as funções acima discutidas de uma ou mais modalidades. O meio que pode ser lido por computador pode ser transportável de maneira tal que o programa armazenado no mesmo pode ser carregado em qualquer dispositivo de computação para implementar aspectos das técnicas descritas no presente documento. Além disso, deve ser apreciado que a referência a um programa de computador que, quando executado, executa algumas das funções acima discutidas, não é limitada a um programa de aplicativo que roda em um computador hospedeiro. Ao invés disto, os termos programa de computador e software são usados no presente documento para se referir a qualquer tipo de código de computador (por exemplo, software de aplicativo, firmware, microcódigo, ou qualquer outra forma de instrução de computador) que pode ser empregado para programar um ou mais processadores para implementar aspectos das técnicas descritas no presente documento.

[00121] As modalidades descritas podem ser implementadas em várias combinações. As configurações exemplificadoras incluem as configurações (1) - (36), (40)-(42) e (51)-(56), e os métodos (37)-(39) e (43)-(50) a seguir.

[00122] (1) Um sistema que compreende: uma disposição de fotodetectores; e um circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores, em que o circuito de detecção é configurado para contar, durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo depois da iluminação de uma molécula luminescente com luz de excitação, uma quantidade de fótons incidentes recebidos da molécula luminescente em um fotodetector da disposição de fotodetectores.

[00123] (2) O sistema da configuração (1), em que o circuito de de-

tecção é configurado para contar os fótons individuais incidentes na disposição de fotodetectores durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo.

[00124] (3) O sistema da configuração (1) ou (2), em que o circuito de detecção também é configurado para gerar sinais que identificam a molécula luminescente.

[00125] (4) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a (3), em que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais que distinguem entre tipos diferentes de moléculas luminescentes incluindo um primeiro sinal que identifica um primeiro tipo de molécula luminescente e um segundo sinal que identifica um segundo tipo de molécula luminescente.

[00126] (5) O sistema da configuração (4), em que tipos diferentes de moléculas luminescentes são associados com nucleotídeos diferentes, e o circuito de detecção é configurado para gerar um conjunto de sinais que identifica uma série de nucleotídeos.

[00127] (6) O sistema da configuração (5), em que o conjunto de sinais que identifica a série de nucleotídeos arranja em sequência uma molécula de ácido nucleico modelo.

[00128] (7) O sistema da configuração (6), em que a série de nucleotídeos identificados pelo conjunto de sinais é uma série de nucleotídeos de uma molécula de ácido nucleico complementar à molécula de ácido nucleico modelo.

[00129] (8) O sistema da configuração (7), em que tipos diferentes de nucleotídeos na série de nucleotídeos são etiquetados com tipos diferentes de moléculas luminescentes.

[00130] (9) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a (8), em que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos de um tempo de vida da molécula luminescente.

[00131] (10) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a

(9), em que o circuito de detecção tem pelo menos dois circuitos de contagem de fótons associados com um fotodetector na disposição e configurados para contar a quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector.

[00132] (11) O sistema da configuração (10), em que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo.

[00133] (12) O sistema da configuração (11), em que os sinais gerados pelo circuito de detecção incluem um primeiro sinal que identifica uma primeira quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e um segundo sinal que identifica uma segunda quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo.

[00134] (13) O sistema da configuração (12), em que pelo menos dois circuitos de contagem de fótons incluem um primeiro circuito de contagem de fótons e um segundo circuito de contagem de fótons, e em que o primeiro circuito de contagem de fótons é configurado para gerar o primeiro sinal e o segundo circuito de contagem de fótons é configurado para gerar o segundo sinal.

[00135] (14) O sistema da configuração (12) ou (13), em que o circuito de detecção é configurado para gerar um sinal de leitura que inclui o primeiro sinal e o segundo sinal.

[00136] (15) O sistema de qualquer uma das configurações (12) a (14), em que o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo são períodos de tempo não superpostos.

[00137] (16) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a (15), em que o circuito de detecção é configurado para receber um sinal de controle que indica um tempo de referência e para executar a contagem de fótons em resposta à recepção do sinal de controle.

[00138] (17) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a (16), em que o circuito de detecção é configurado para receber um sinal de controle de uma fonte de luz configurada para emitir um pulso de luz de excitação e para executar a contagem de fótons em resposta à recepção do sinal de controle.

[00139] (18) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a (17), em que o sistema também compreende: pelo menos uma fonte de luz configurada para emitir luz de excitação; e um circuito configurado para controlar pelo menos uma fonte de luz para emitir pulsos de luz de excitação e gerar os sinais de controle que correspondem aos pulsos emitidos, em que o circuito de detecção associado com um fotodetector na disposição é configurado para executar a contagem de fótons em resposta à recepção de pelo menos um dos sinais de controle dos circuitos.

[00140] (19) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a (18), em que o sistema também compreende: uma disposição de poços de amostras, em que os poços de amostras individuais na disposição de poços de amostras são configurados para receber uma amostra.

[00141] (20) O sistema da configuração (19), em que uma posição de alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores inclui um primeiro subconjunto de poços de amostras posicionado para alinhar opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores e um segundo subconjunto de poços de amostras posicionado para não alinhar opticamente com os fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[00142] (21) O sistema da configuração (20), em que o primeiro subconjunto de poços de amostras inclui pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras que alinha opticamente com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposi-

ção de fotodetectores quando na posição de alinhamento.

[00143] (22) O sistema da configuração (20) ou (21), em que o primeiro subconjunto de poços de amostras inclui uma primeira fileira e uma segunda fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras, em que a primeira fileira e a segunda fileira são separadas por pelo menos uma fileira de poços de amostras no segundo subconjunto de poços de amostras.

[00144] (23) O sistema de qualquer uma das configurações (19) a (22), em que o sistema também compreende pelo menos um elemento óptico posicionado para dirigir os fótons emitidos da disposição de poços de amostras rumo à disposição de fotodetectores.

[00145] (24) O sistema da configuração (23), em que pelo menos um elemento óptico é posicionado para dirigir os fótons emitidos de um poço de amostras da disposição de poços de amostras rumo a um fotodetector na disposição de fotodetectores.

[00146] (25) O sistema da configuração (23) ou (24), em que pelo menos um elemento óptico é configurado para alinhar os fótons emitidos de um poço de amostras da disposição de poços de amostras para se sobrepor com uma região de detecção de um fotodetector na disposição de fotodetectores.

[00147] (26) O sistema de qualquer uma das configurações (23) a (25), em que pelo menos um elemento óptico inclui um espelho dicróico posicionado para dirigir a luz emitida por pelo menos uma fonte de luz rumo à disposição de poços de amostras e para transmitir a luz emitida pela molécula luminescente à disposição de fotodetectores.

[00148] (27) O sistema de qualquer uma das configurações (23) a (26), em que pelo menos um elemento óptico inclui uma pluralidade de lentes arranjadas em uma configuração de lente de retransmissão.

[00149] (28) O sistema de qualquer uma das configurações (19) a (27), em que o sistema também compreende pelo menos um guia de

ondas, em que pelo menos uma porção dos poços de amostras na disposição de poços de amostras é posicionada para receber a luz de pelo menos um guia de ondas.

[00150] (29) O sistema da configuração (28), em que a disposição de poços de amostras e pelo menos um guia de ondas são integrados em um chip de amostra, e a disposição de poços de amostras é arranjada em uma superfície do chip de amostra.

[00151] (30) O sistema da configuração (29), em que o chip de amostra também compreende um acoplador de grade configurado para receber a luz de uma fonte de luz externa e para acoplar opticamente a luz a pelo menos um guia de ondas.

[00152] (31) O sistema de qualquer uma das configurações (1) a (30), em que a disposição de fotodetectores compreende uma disposição de fotodiodos de avalanche de fótons individuais.

[00153] (32) Um aparelho que compreende: um circuito de detecção que compreende uma disposição de fotodetectores, em que o circuito de detecção é configurado para contar os fótons incidentes recebidos pela disposição de fotodetectores das moléculas luminescentes para distinguir entre as moléculas luminescentes associadas com os nucleotídeos diferentes que são incorporados em uma molécula de ácido nucleico.

[00154] (33) O aparelho da configuração (32), em que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais que identificam uma série de nucleotídeos quando os nucleotídeos individuais são incorporados na molécula de ácido nucleico.

[00155] (34) O aparelho da configuração (32) ou (33), em que as moléculas luminescentes etiquetam tipos diferentes de nucleotídeos.

[00156] (35) O aparelho de qualquer uma das configurações (32) a (34), em que o aparelho também compreende uma pluralidade de poços de amostras configurados para receber uma molécula de ácido

nucleico modelo, em que um fotodetector na disposição é posicionado para receber a luz de um poço da pluralidade de poços de amostras.

[00157] (36) O aparelho da configuração (35), em que a molécula de ácido nucleico é complementar à molécula de ácido nucleico modelo.

[00158] (37) Um método de fotodeteccção, o qual compreende: a recepção, por um fotodetector em uma disposição de fotodetectores, dos fótons de uma molécula luminescente; e a contagem, ao usar o circuito de deteccção, de uma quantidade de fótons incidentes no fotodetector durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo.

[00159] (38) O método de fotodeteccção de (37), o qual também compreende: a geração dos sinais que identificam a molécula luminescente, em que os sinais indicam uma primeira quantidade dos fótons recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e uma segunda quantidade dos fótons recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo.

[00160] (39) O método de fotodeteccção de (37) ou (38), o qual também compreende: a iluminação da amostra com um pulso de luz de excitação, e em que a contagem da quantidade de fótons ocorre em resposta à iluminação da amostra com um pulso de luz de excitação.

[00161] (40) Pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador não transitório que armazena instruções executáveis por processador que, quando executadas por pelo menos um processador de hardware, fazem com que pelo menos um processador de hardware execute um método de fotodeteccção que compreende: a recepção, do circuito configurado para controlar pelo menos uma fonte de luz, de um sinal de controle que corresponde a um pulso de luz emitido por pelo menos uma fonte de luz; e o controle, em resposta à recepção do sinal de controle, do circuito de deteccção configurado pa-

ra executar a contagem de fótons incidentes em um fotodetector em uma disposição de fotodetectores, em que a contagem inclui a contagem de uma quantidade de fótons incidentes recebidos pelo detetor durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo.

[00162] (41) Pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador não transitório (40), em que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo.

[00163] (42) Pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador não transitório (40) ou (41), em que os sinais gerados pelo circuito de detecção incluem um primeiro sinal que identifica uma primeira quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e um segundo sinal que identifica uma segunda quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo.

[00164] (43) Um método para alinhar uma disposição de poços de amostras com uma disposição de fotodetectores, em que o método compreende: a detecção, ao usar a disposição de fotodetectores, da luz da disposição da poços de amostras incidente na disposição de fotodetectores; e o ajuste, com base na luz detectada, do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores para permitir que pelo menos uma porção dos poços de amostras na disposição de poços de amostras alinhe opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[00165] (44) O método de (43), em que uma quantidade de luz detectada por fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores indica um grau de alinhamento da disposição de poços de amostras

com a disposição de fotodetectores.

[00166] (45) O método de (43) ou (44), em que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores inclui o deslocamento da disposição de poços de amostras de uma primeira posição para uma segunda posição, em que um primeiro subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição.

[00167] (46) O método de (45), em que um segundo subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição.

[00168] (47) O método de qualquer um de (43) a (46), em que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o posicionamento de pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras para alinhar opticamente com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[00169] (48) O método de qualquer um de (43) a (47), em que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o deslocamento da disposição de poços de amostras e/ou da disposição de fotodetectores em uma direção translacional.

[00170] (49) O método de qualquer um de (43) a (48), em que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende a rotação da disposição de poços de amostras e/ou da disposição de fotodetectores a um ângulo.

[00171] (50) O método de qualquer um de (43) a (49), em que o

ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende a comparação de um padrão de luz detectada a um padrão de alinhamento, em que o padrão de alinhamento tem pelo menos um dos fotodetectores como detectando uma quantidade de luz abaixo de um limite.

[00172] (51) Um sistema, o qual compreende: um estrado; uma disposição de fotodetectores configurados para detectar a luz; um circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores e configurado para gerar os sinais indicativos dos fótons incidentes na disposição de fotodetectores; e um circuito configurado para executar um método que compreende: a recepção dos sinais do circuito de detecção; e o ajuste, com base nos sinais recebidos, do posicionamento do estrado em relação à disposição de fotodetectores para permitir que pelo menos uma porção dos poços de amostras na disposição de poços de amostras alinhe opticamente com pelo menos uma porção de fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[00173] (52) O sistema da configuração (51), em que o circuito compreende: pelo menos um processador; e pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador codificado com instruções executáveis por computador que, quando executadas, executam o método.

[00174] (53) O sistema da configuração (51) ou (52), em que os sinais recebidos indicam uma quantidade de luz detectada por fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores, e a quantidade de luz indica um grau de alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores.

[00175] (54) O sistema de qualquer uma das configurações (51) a (53), em que o ajuste do posicionamento do estrado em relação à disposição de fotodetectores também compreende o ajuste da posição do estrado de uma primeira posição a uma segunda posição, em que um

primeiro subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons quando o estrado está na segunda posição e não na primeira posição.

[00176] (55) O sistema da configuração (54), em que um segundo subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição.

[00177] (56) O sistema da configuração (55), em que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o posicionamento de pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras para alinhar com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposição de fotodetectores.

[00122] Tem desse modo sido descritos vários aspectos e modalidades da tecnologia deste pedido de patente, deve ser apreciado que várias alterações, modificações e melhorias irão ocorrer de imediato aos elementos normalmente versados no estado da técnica. Tais alterações, modificações e melhorias devem ficar dentro do carácter e do âmbito da tecnologia descrita no pedido de patente. Portanto, deve ser compreendido que as modalidades acima são apresentadas apenas a título de exemplo e que, dentro do âmbito das reivindicações e dos equivalentes adicionados às mesmas, as modalidades da invenção podem ser praticadas de outra maneira que não tal como descrito especificamente. Além disso, qualquer combinação de duas ou mais características, sistemas, artigos, materiais, conjuntos e/ou métodos descritos no presente documento, se tais características, sistemas, artigos, materiais, conjuntos e/ou métodos não forem mutuamente inconsistentes, é incluída dentro do âmbito da presente invenção.

[00123] Além disso, tal como descrito, alguns aspectos podem ser incorporados como um ou mais métodos. Os atos executados como

parte do método podem ser ordenados de qualquer maneira apropriada. Por conseguinte, podem ser construídas modalidades em que os atos são executados em uma ordem diferente do que é ilustrado, o que pode incluir a execução de alguns atos simultaneamente, mesmo que sejam mostrados como etapas sequenciais em modalidades ilustrativas.

[00124] Todas as definições, tal como definidas e usadas no presente documento, devem ser compreendidas como preponderantes em relação às definições de dicionários, as definições nos documentos incorporados a título de referência, e/ou os significados comuns dos termos definidos.

[00125] Os artigos indefinidos "um" e "uma", tal como usados no presente documento no relatório descritivo e nas reivindicações, a menos que esteja indicado claramente de alguma outra maneira, devem ser compreendidos como significando "pelo menos um."

[00126] A expressão "e/ou", tal como usada no presente documento no relatório descritivo e nas reivindicações, deve ser compreendida como significando "qualquer um ou ambos" dos elementos assim unidos, isto é, os elementos que estão conjuntamente presentes em alguns casos e não conjuntamente presentes em outros casos.

[00127] Tal como usado no presente documento no relatório descritivo e nas reivindicações, a expressão "pelo menos um", em referência a uma lista de um ou mais elementos, deve ser compreendida como significando pelo menos um elemento selecionado de qualquer um ou mais dos elementos na lista de elementos, mas não incluindo necessariamente pelo menos um de cada elemento listado especificamente dentro da lista de elementos e não excluindo quaisquer combinações de elementos na lista de elementos. Esta definição também permite que os elementos possam estar opcionalmente presentes além dos elementos identificados especificamente dentro da lista de elementos

aos quais se refere a expressão "pelo menos um", que estejam relacionados ou não relacionados aos elementos especificamente identificados.

[00128] O uso de termos ordinais tais como "primeiro", "segundo", "terceiro", etc., nas reivindicações para modificar um elemento da reivindicação não é conotado em si a nenhuma prioridade, precedência, ou ordem de um elemento da reivindicação em relação a uma outro ordem ou ordem temporal em que os atos de um método são executados, mas eles são usados meramente como etiquetas para distinguir um elemento da reivindicação que tem um determinado nome de um outro elemento que tem um mesmo nome (mas para o uso do termo ordinal) para distinguir os elementos da reivindicação.

[00129] Nas reivindicações, assim como no relatório descritivo acima, todas as expressões transicionais tais como "que compreende", "que inclui", "que carrega", "que tem", "que contém", "que envolve", "contendo", "composto de", e outras ainda devem ser compreendidas como de sentido aberto, isto é, para significar incluindo mas sem ficar limitado a. As expressões transicionais "que consiste em" e "que consiste essencialmente em" serão frases transicionais de sentido fechado ou semifechado, respectivamente.

REIVINDICAÇÕES

1.Sistema, caracterizado pelo fato de que compreende:
uma disposição de fotodetectores; e
um circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores, em que o circuito de detecção é configurado para contar, durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo depois da iluminação de uma molécula luminescente com luz da excitação, uma quantidade de fótons incidentes recebidos da molécula luminescente em um fotodetector da disposição de fotodetectores.

2.Sistema, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção é configurado para contar os fótons individuais incidentes na disposição de fotodetectores durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo.

3.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais que identificam a molécula luminescente.

4.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais que distinguem entre tipos diferentes de moléculas luminescentes incluindo um primeiro sinal que identifica um primeiro tipo de molécula luminescente e um segundo sinal que identifica um segundo tipo de molécula luminescente.

5.Sistema de acordo com a reivindicação 4 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que os tipos diferentes de moléculas luminescentes são associados com nucleotídeos diferentes, e o circuito de detecção é configurado para gerar um conjunto de sinais que identificam uma série de nucleotídeos.

6.Sistema de acordo com a reivindicação 5 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o conjunto de sinais que identificam a série de nucleotídeos arranja em sequência uma molécula de ácido nucleico modelo.

7.Sistema de acordo com a reivindicação 6 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a série de nucleotídeos identificados pelo conjunto de sinais é uma série de nucleotídeos de uma molécula de ácido nucleico complementar à molécula de ácido nucleico modelo.

8.Sistema de acordo com a reivindicação 7 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que tipos diferentes de nucleotídeos na série de nucleotídeos são etiquetados com tipos diferentes de moléculas luminescentes.

9.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos de um tempo de vida da molécula luminescente.

10.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção tem pelo menos dois circuitos de contagem de fótons associados com um fotodetector na disposição e é configurado para contar a quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector.

11.Sistema de acordo com a reivindicação 10 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção também é configurado para gera os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo.

12.Sistema de acordo com a reivindicação 11 ou de acordo

com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que os sinais gerados pelo circuito de detecção incluem um primeiro sinal que identifica uma primeira quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e um segundo sinal que identifica uma segunda quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo.

13.Sistema de acordo com a reivindicação 12 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que pelo menos dois circuitos de contagem de fótons incluem um primeiro circuito de contagem de fótons e um segundo circuito de contagem de fótons, e em que o primeiro circuito de contagem de fótons é configurado para gerar o primeiro sinal e o segundo circuito de contagem de fótons é configurado para gerar o segundo sinal.

14.Sistema de acordo com a reivindicação 12 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção é configurado para gerar um sinal de leitura que inclui o primeiro sinal e o segundo sinal.

15.Sistema de acordo com a reivindicação 12 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo são períodos de tempo não superpostos.

16.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção é configurado para receber um sinal de controle que indica um tempo de referência e para executar a contagem de fótons em resposta à recepção do sinal de controle.

17.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção é configurado para receber um sinal

de controle de uma fonte de luz configurada para emitir um pulso de luz de excitação e para executar a contagem de fótons em resposta à recepção do sinal de controle.

18.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

pelo menos uma fonte de luz configurada para emitir luz de excitação; e

um circuito configurado para controlar pelo menos uma fonte de luz para emitir pulsos de luz de excitação e gerar sinais de controle que correspondem aos pulsos emitidos, em que o circuito de detecção associado com um fotodetector na disposição é configurado para executar a contagem de fótons em resposta à recepção de pelo menos um dos sinais de controle do circuito.

19.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

uma disposição de poços de amostras, em que os poços de amostras individuais na disposição de poços de amostras são configurados para receber uma amostra.

20.Sistema de acordo com a reivindicação 19 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que uma posição de alinhamento da disposição de poços de amostras para a disposição de fotodetectores inclui um primeiro subconjunto de poços de amostras posicionados para alinhar opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores e um segundo subconjunto de poços de amostras posicionado para não alinhar opticamente com os fotodetectores na disposição de fotodetectores.

21.Sistema de acordo com a reivindicação 20 ou de acordo

com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o primeiro subconjunto de poços de amostras inclui pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras que alinha opticamente com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposição de fotodetectores quando na posição de alinhamento.

22.Sistema de acordo com a reivindicação 20 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o primeiro subconjunto de poços de amostras inclui uma primeira fileira e uma segunda fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras, em que a primeira fileira e a segunda fileira são separadas por pelo menos uma fileira de poços de amostras no segundo subconjunto de poços de amostras.

23.Sistema de acordo com a reivindicação 19 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

pelo menos um elemento óptico posicionado para dirigir os fótons emitidos da disposição de poços de amostras rumo à disposição de fotodetectores.

24.Sistema de acordo com a reivindicação 23 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que pelo menos um elemento óptico é posicionado para dirigir os fótons emitidos de um poço de amostras da disposição de poços de amostras rumo a um fotodetector na disposição de fotodetectores.

25.Sistema de acordo com a reivindicação 23 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que pelo menos um elemento óptico é configurado para alinhar os fótons emitidos de um poço de amostras da disposição de poços de amostras para se sobrepor com uma região de detecção de um fotodetector na disposição de fotodetectores.

26.Sistema de acordo com a reivindicação 23 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que pelo menos um elemento óptico inclui um espelho dicróico posicionado para dirigir a luz emitida por pelo menos uma fonte de luz rumo à disposição de poços de amostras e para transmitir a luz emitida pela molécula luminescente à disposição de fotodetectores.

27.Sistema de acordo com a reivindicação 23 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que pelo menos um elemento óptico inclui uma pluralidade de lentes arranjadas em uma configuração de lente de retransmissão.

28.Sistema de acordo com a reivindicação 19 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

pelo menos um guia de ondas, em que pelo menos uma porção dos poços de amostras na disposição de poços de amostras é posicionada para receber a luz de pelo menos um guia de ondas.

29.Sistema de acordo com a reivindicação 28 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a disposição de poços de amostras e pelo menos um guia de ondas são integrados em um chip de amostra, e a disposição de poços de amostras é arranjada em uma superfície do chip de amostra.

30.Sistema de acordo com a reivindicação 29 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o chip de amostra também compreende um acoplador de grade configurado para receber a luz de uma fonte de luz externa e para acoplar opticamente a luz em pelo menos um guia de ondas.

31.Sistema de acordo com a reivindicação 1 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a disposição de fotodetectores compreende uma disposição de fotodiodos de avalanche de fótons individuais.

32. Aparelho, caracterizado pelo fato de que compreende:

um circuito de detecção que compreende uma disposição de fotodetectores, em que o circuito de detecção é configurado para contar os fótons incidentes recebidos pela disposição de fotodetectores de moléculas luminescentes para distinguir entre as moléculas luminescentes associadas com nucleotídeos diferentes que são incorporados em uma molécula de ácido nucleico.

33. Aparelho de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais que identificam uma série de nucleotídeos quando os nucleotídeos individuais são incorporados na molécula de ácido nucleico.

34. Aparelho de acordo com a reivindicação 32 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que as moléculas luminescentes etiqueta, tipos diferentes de nucleotídeos.

35. Aparelho de acordo com a reivindicação 32 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que compreende ainda uma pluralidade de poços de amostras configurados para receber uma molécula de ácido nucleico modelo, em que um fotodetector na disposição é posicionado para receber a luz de um poço da pluralidade de poços de amostras.

36. Aparelho de acordo com a reivindicação 35 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a molécula de ácido nucleico é complementar à molécula de ácido nucleico modelo.

37. Método de fotodetecção, caracterizado pelo fato de que compreende:

a recepção, por um fotodetector em uma disposição de fotodetectores, dos fótons de uma molécula luminescente; e

a contagem, ao usar o circuito de detecção, de uma quantidade de fótons incidentes no fotodetector durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo.

38.Método de fotodetecção de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

a geração de sinais que identificam a molécula luminescente, em que os sinais indicam uma primeira quantidade de fótons recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e uma segunda quantidade de fótons recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo.

39.Método de fotodetecção de acordo com a reivindicação 37 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

a iluminação da amostra com um pulso de luz de excitação, e em que a contagem da quantidade de fótons ocorre em resposta à iluminação da amostra com um pulso de luz de excitação.

40.Meio de armazenamento que pode ser lido por computador não transitório, caracterizado pelo fato de que armazena instruções executáveis por processador que, quando executadas por pelo menos um processador de hardware, fazem com que pelo menos um processador de hardware execute um método de fotodetecção, o qual compreende:

a recepção, do circuito configurado para controlar pelo menos uma fonte de luz, um sinal de controle que corresponde a um pulso de luz emitido por pelo menos uma fonte de luz; e

o controle, em resposta à recepção do sinal de controle, do circuito de detecção configurado para executar a contagem dos fótons incidentes em um fotodetector em uma disposição de fotodetectores, em que a contagem inclui a contagem de uma quantidade de fótons incidentes recebidos pelo detetor durante um primeiro período de tem-

po e um segundo período de tempo.

41.Meio de armazenamento que pode ser lido por computador não transitório da reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que o circuito de detecção também é configurado para gerar os sinais indicativos da quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e o segundo período de tempo.

42.Meio de armazenamento que pode ser lido por computador não transitório de acordo com a reivindicação 40 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que os sinais gerados pelo circuito de detecção incluem um primeiro sinal que identifica uma primeira quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o primeiro período de tempo e um segundo sinal que identifica uma segunda quantidade de fótons incidentes recebidos pelo fotodetector durante o segundo período de tempo.

43.Método para alinhar uma disposição de poços de amostras a uma disposição de fotodetectores, caracterizado pelo fato de que compreende:

detectar, ao usar a disposição de fotodetectores, a luz da disposição de poços de amostras incidente na disposição de fotodetectores; e

ajustar, com base na luz detectada, o posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores para permitir que pelo menos uma porção de poços de amostras na disposição de poços de amostras alinhe opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores.

44.Método, de acordo com a reivindicação 43, caracterizado pelo fato de que uma quantidade de luz detectada por fotodetecto-

res individuais na disposição de fotodetectores indica um grau de alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores.

45.Método, de acordo com a reivindicação 43 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores inclui o deslocamento da disposição de poços de amostras de uma primeira posição a uma segunda posição, em que um primeiro subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição.

46.Método, de acordo com a reivindicação 45 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que um segundo subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição.

47.Método, de acordo com a reivindicação 43 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o posicionamento de pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras para alinhar opticamente com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposição de fotodetectores.

48.Método, de acordo com a reivindicação 43 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o deslocamento da disposição de poços de amostras e/ou da disposição

de fotodetectores em uma direção translacional.

49.Método, de acordo com a reivindicação 43 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende a rotação da disposição de poços de amostras e/ou da disposição de fotodetectores a um ângulo.

50.Método, de acordo com a reivindicação 43 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende a comparação de um padrão da luz detectada a um padrão de alinhamento, em que o padrão de alinhamento tem pelo menos um dos fotodetectores como detectando uma quantidade de luz abaixo de um limite.

51.Sistema, caracterizado pelo fato de que compreende:

um estrado;

uma disposição de fotodetectores configurados para detectar a luz;

um circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores e configurado para gerar os sinais indicativos dos fótons incidentes na disposição de fotodetectores; e

um circuito configurado para executar um método que compreende:

a recepção dos sinais do circuito de detecção; e

o ajuste, baseado nos sinais recebidos, do posicionamento do estrado em relação à disposição de fotodetectores para permitir que pelo menos uma porção dos poços de amostras na disposição de poços de amostras alinhe opticamente com pelo menos uma porção dos fotodetectores na disposição de fotodetectores.

52.Sistema, de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que os circuitos compreendem:

pelo menos um processador; e

pelo menos um meio de armazenamento que pode ser lido por computador codificado com instruções executáveis por computador que, quando executadas, executam o método.

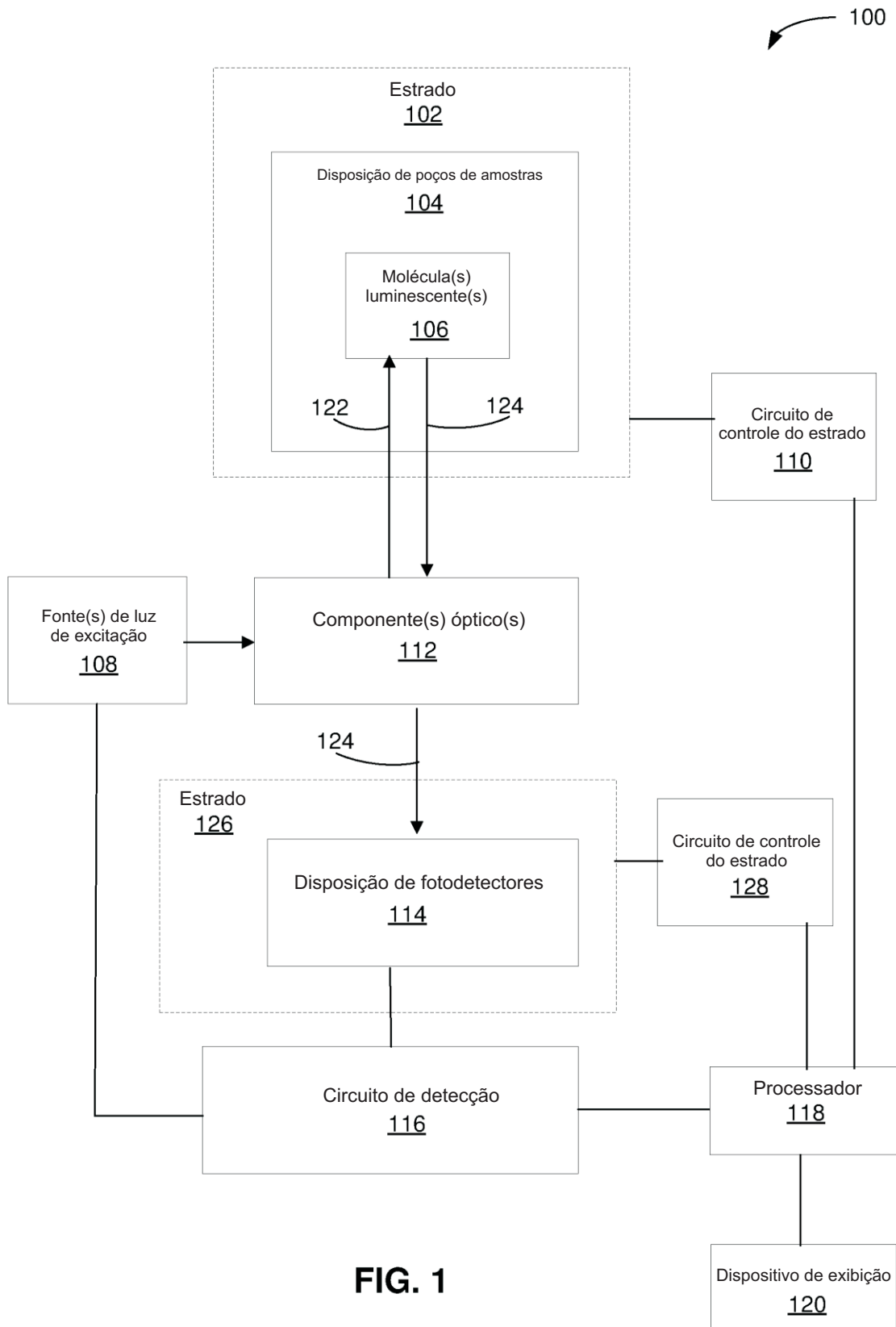
53.Sistema de acordo com a reivindicação 51 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que os sinais recebidos indicam uma quantidade de luz detectada por fotodetectores individuais na disposição de fotodetectores, e a quantidade de luz indica um grau de alinhamento da disposição de poços de amostras com a disposição de fotodetectores.

54.Sistema de acordo com a reivindicação 51 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ajuste do posicionamento do estrado em relação à disposição de fotodetectores também compreende o ajuste da posição do estrado de uma primeira posição a uma segunda posição, em que um primeiro subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade maior de fótons quando o estrado está na segunda posição e não na primeira posição.

55.Sistema de acordo com a reivindicação 54 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que um segundo subconjunto de fotodetectores na disposição de fotodetectores detecta uma quantidade menor de fótons quando a disposição de poços de amostras está na segunda posição e não na primeira posição.

56.Sistema de acordo com a reivindicação 55 ou de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ajuste do posicionamento da disposição de poços de amostras em relação à disposição de fotodetectores compreende o

posicionamento de pelo menos uma fileira de poços de amostras na disposição de poços de amostras para alinhar com pelo menos uma fileira de fotodetectores na disposição de fotodetectores.



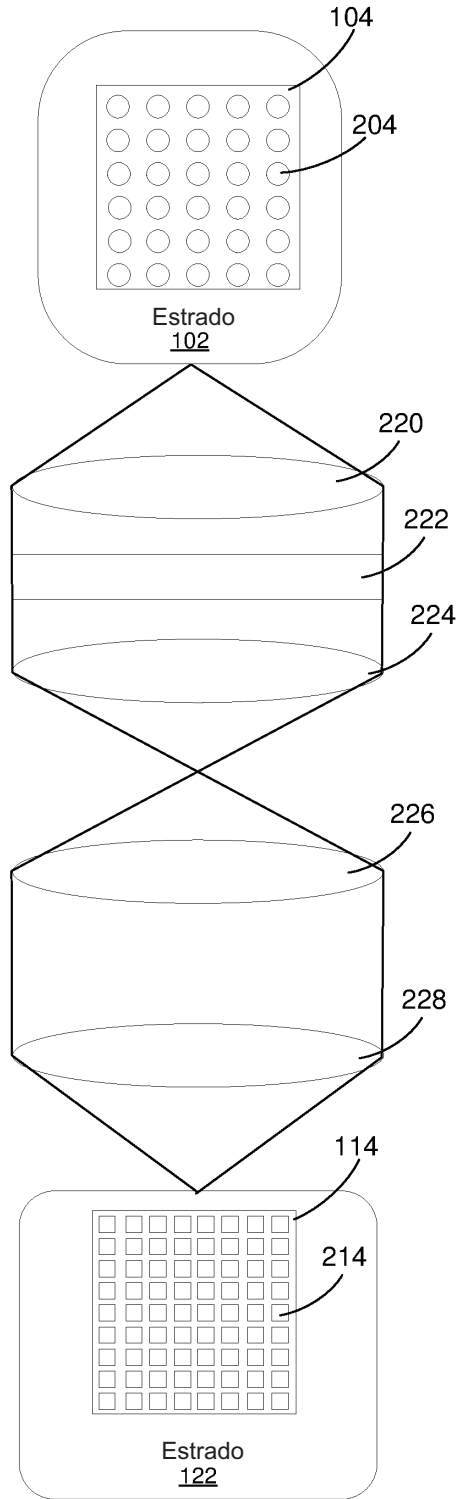
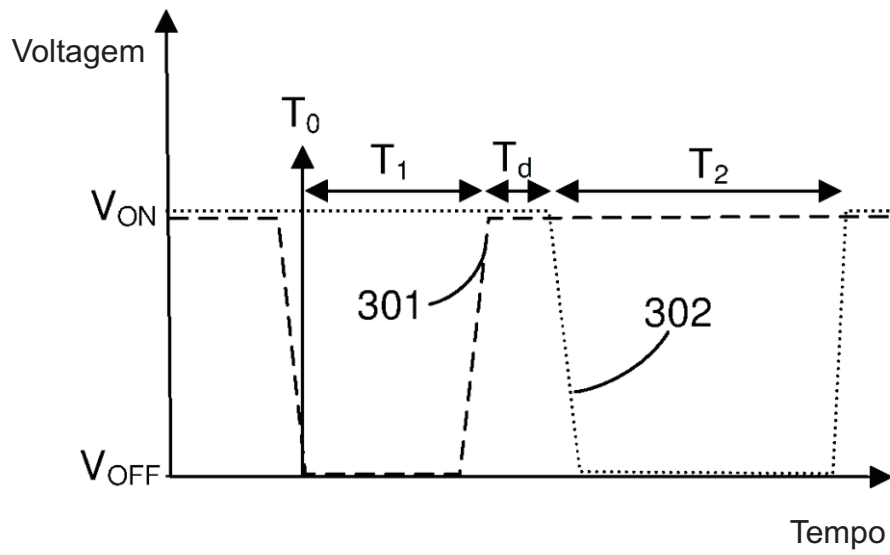


FIG. 2

**FIG. 3**

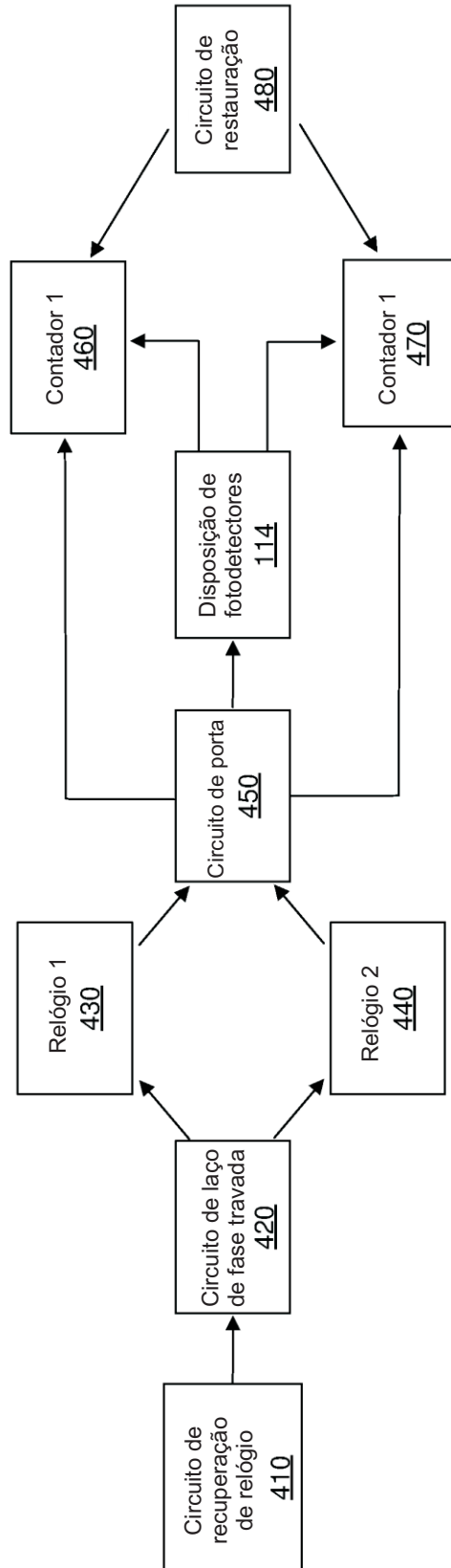


FIG. 4A

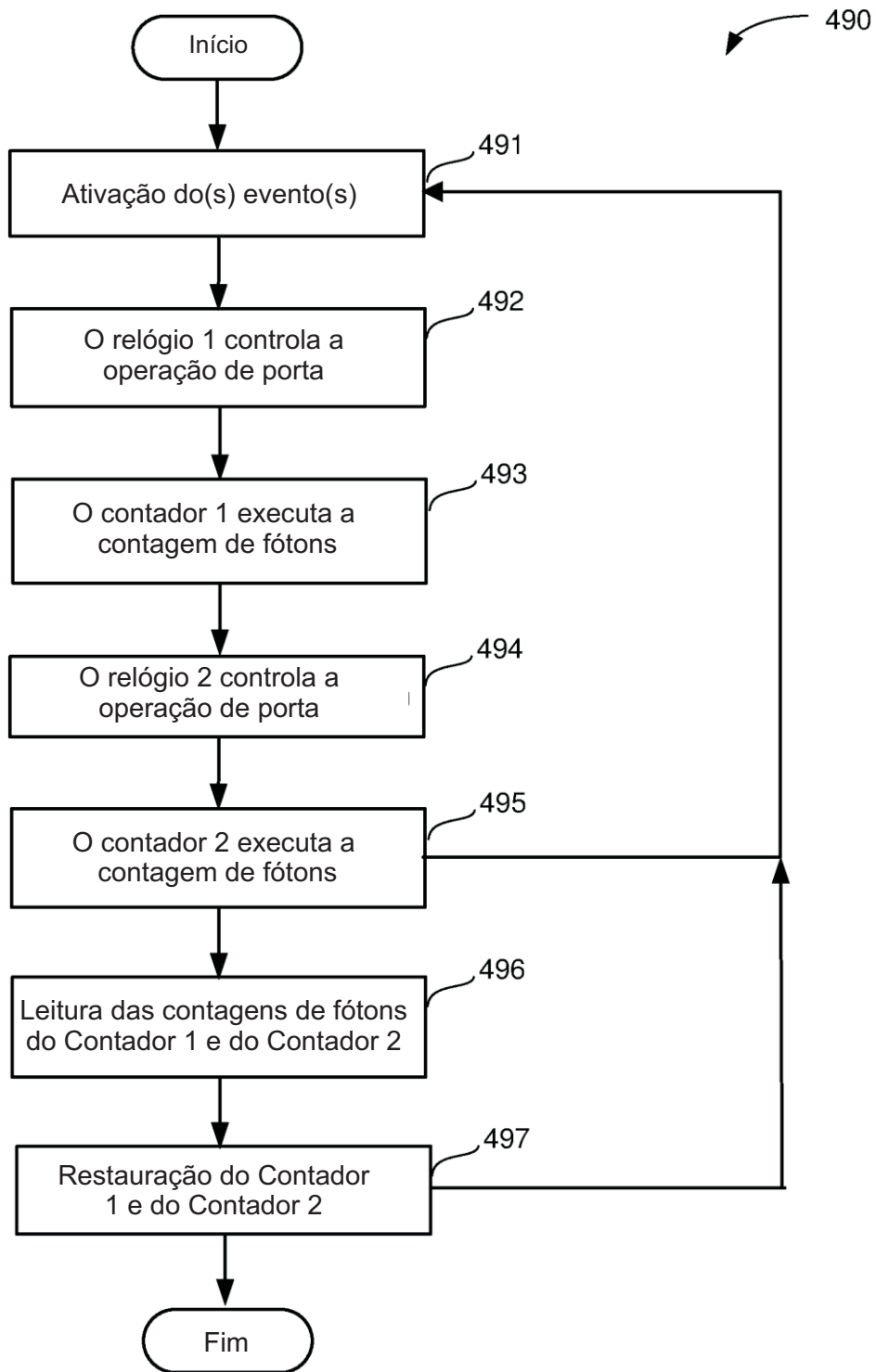


FIG. 4B

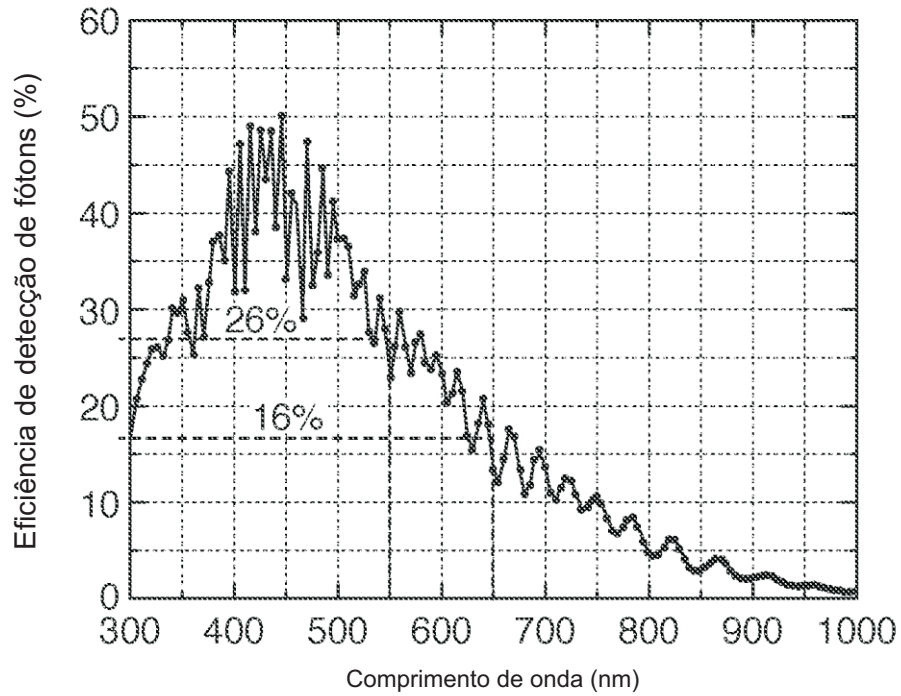


FIG. 5

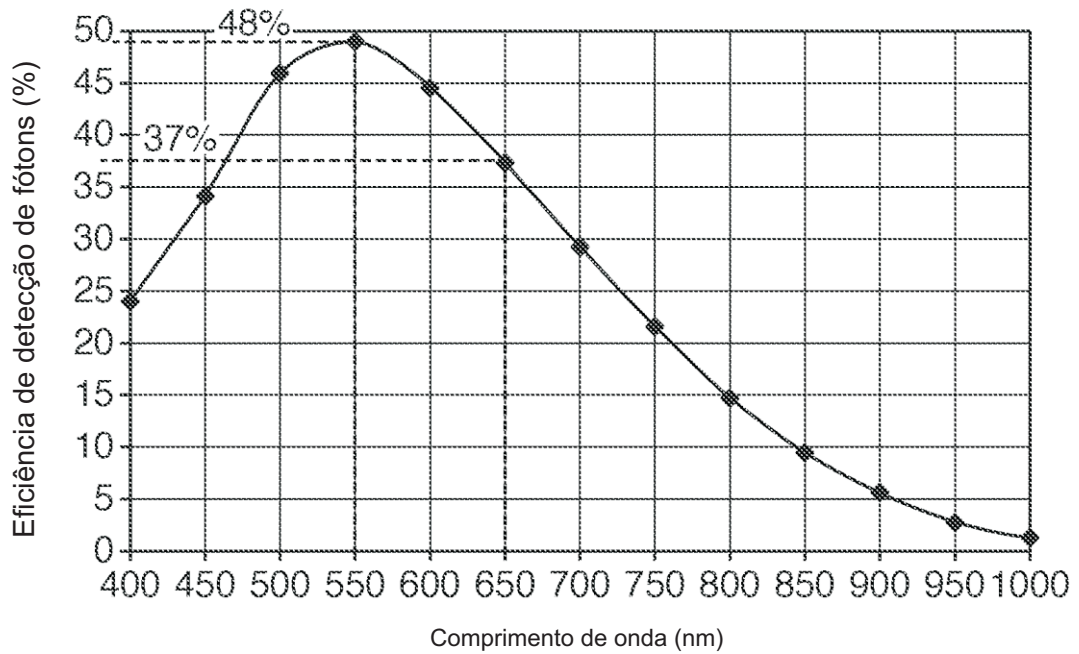


FIG. 6

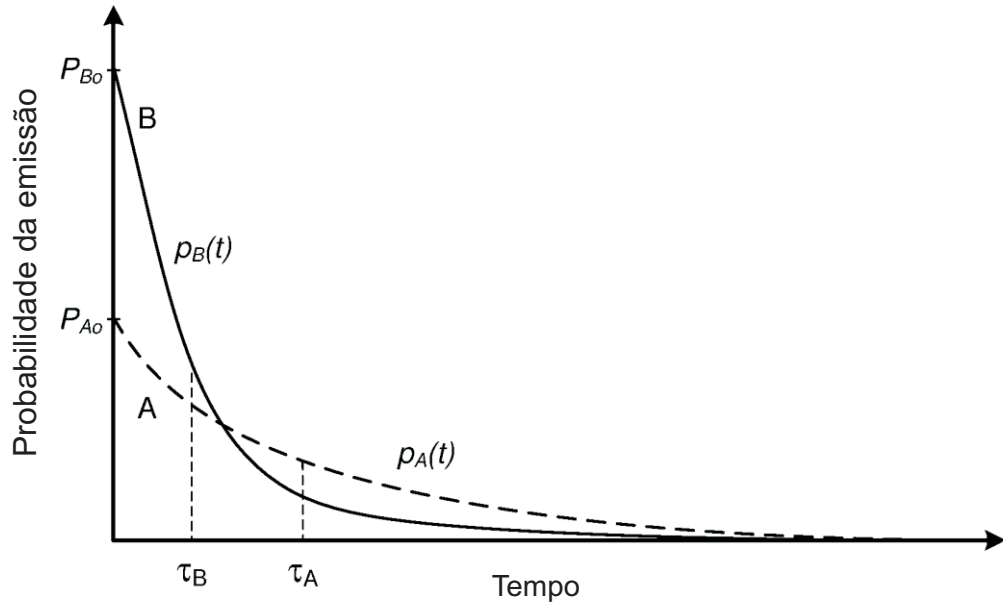


FIG. 7

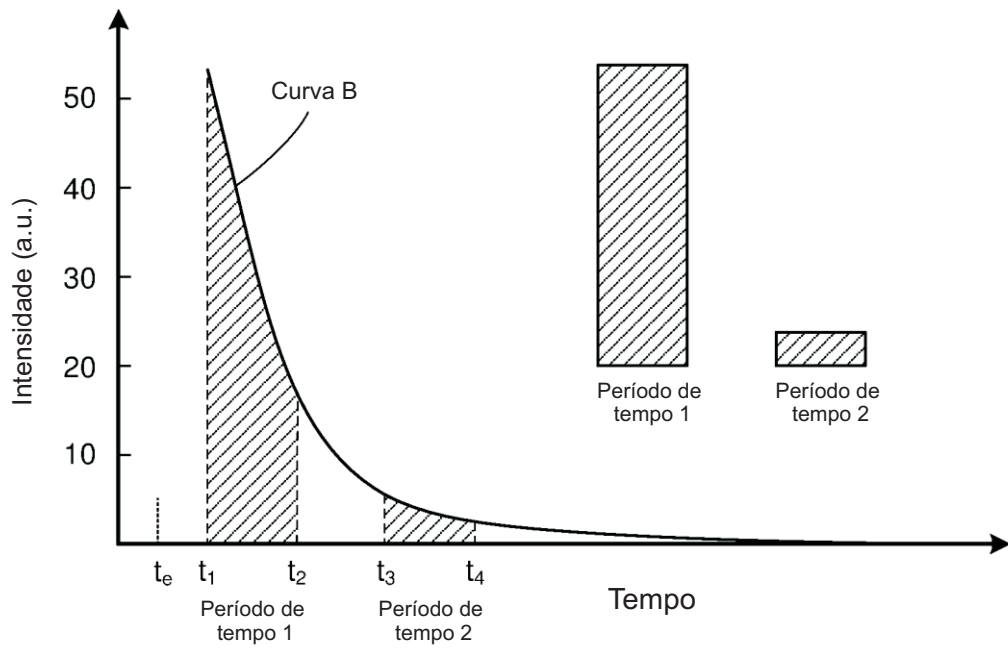


FIG. 8

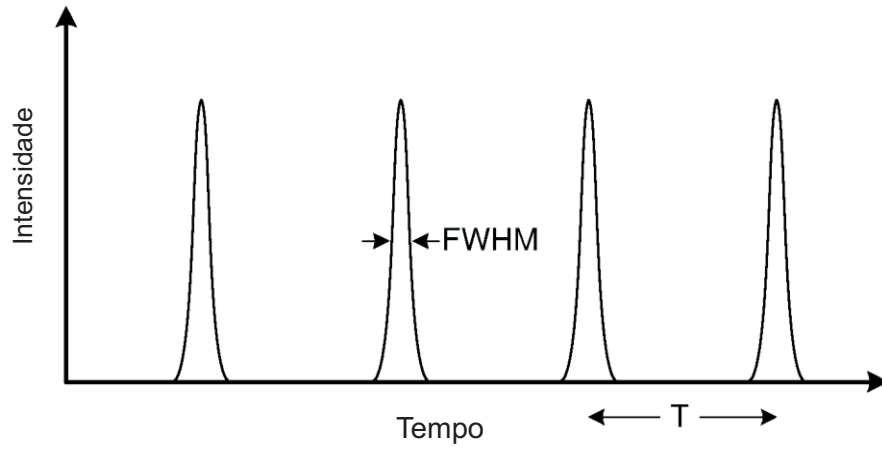


FIG. 9

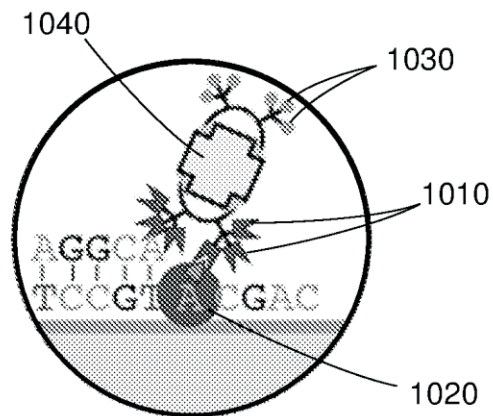


FIG. 10

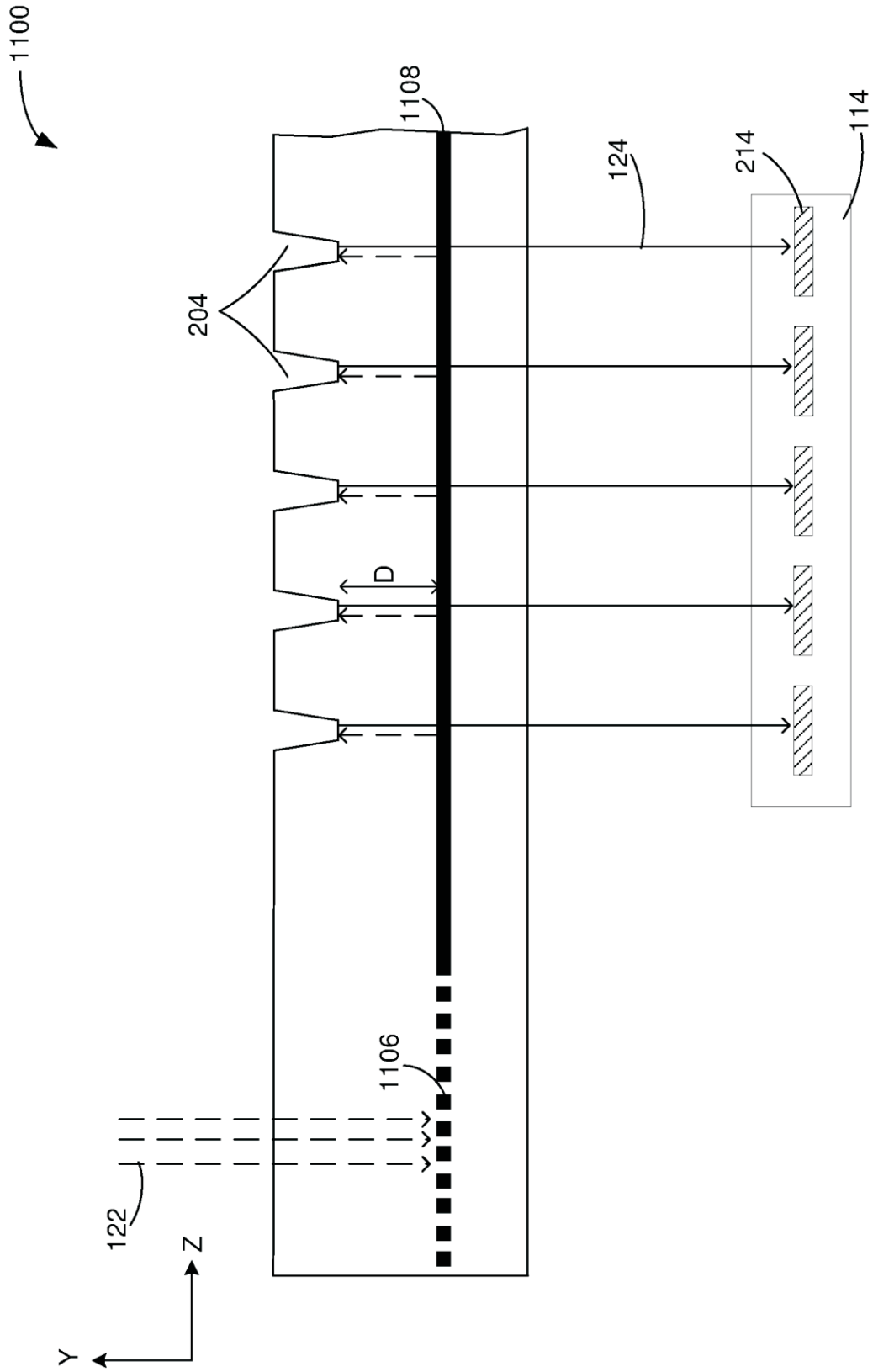


FIG. 11

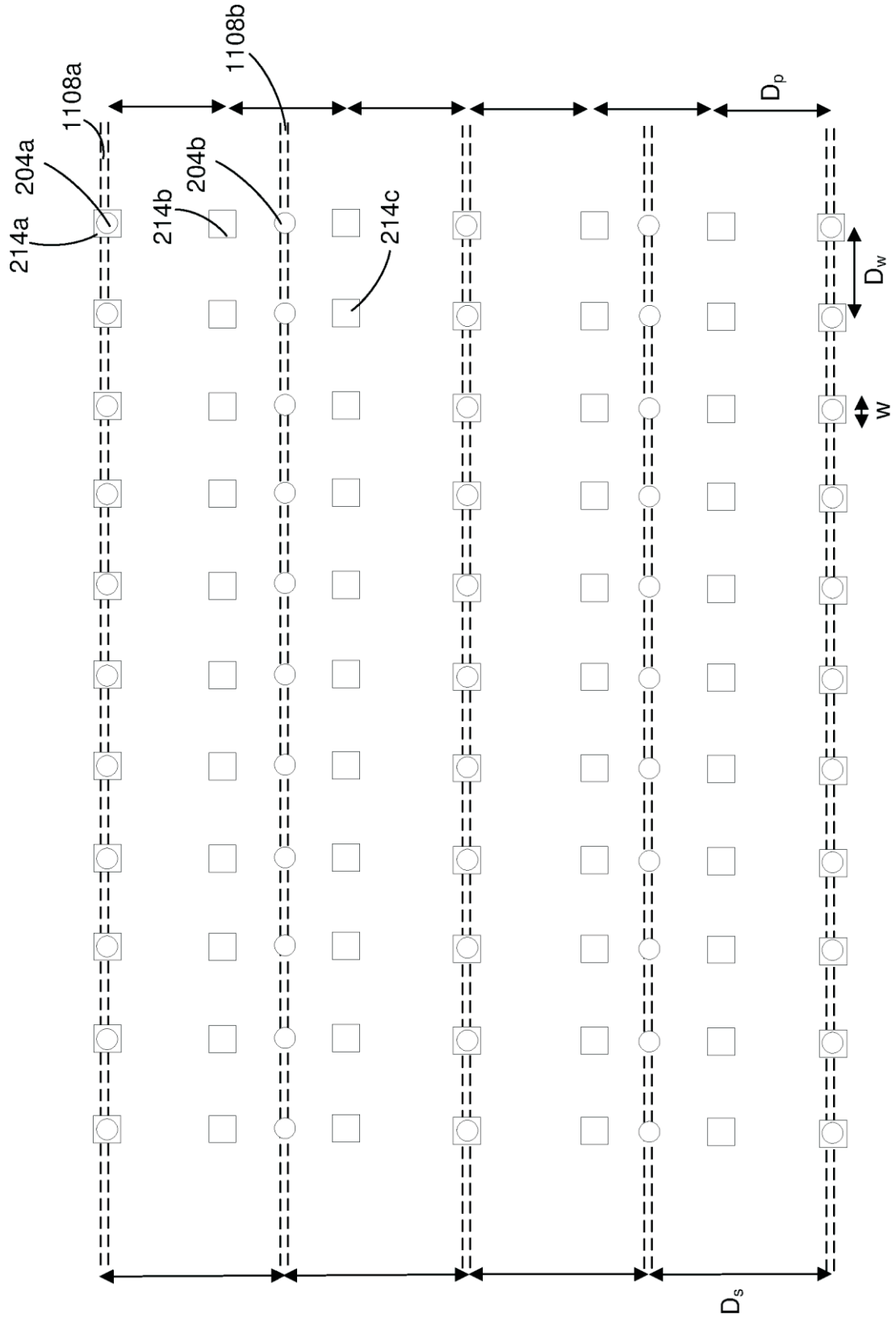


FIG. 12A



FIG. 12B

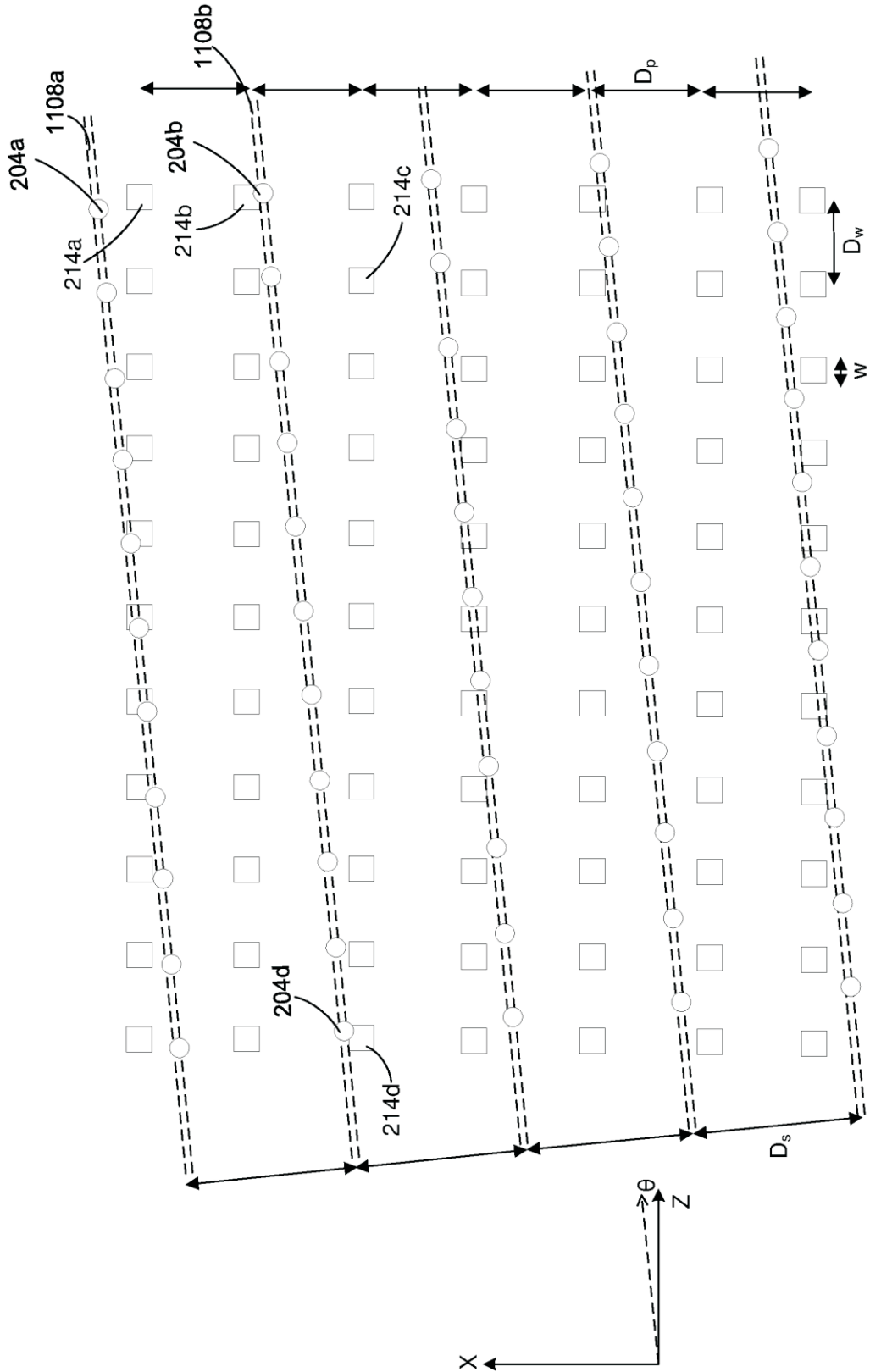


FIG. 12C

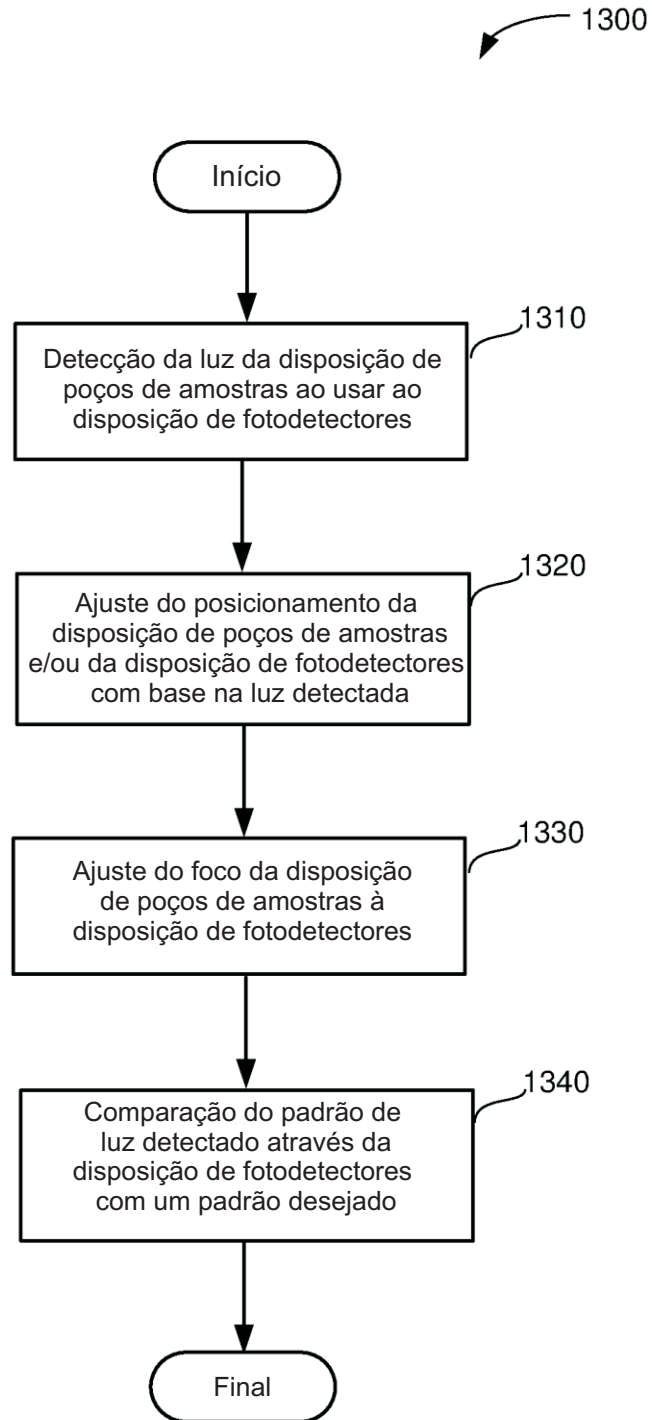


FIG. 13

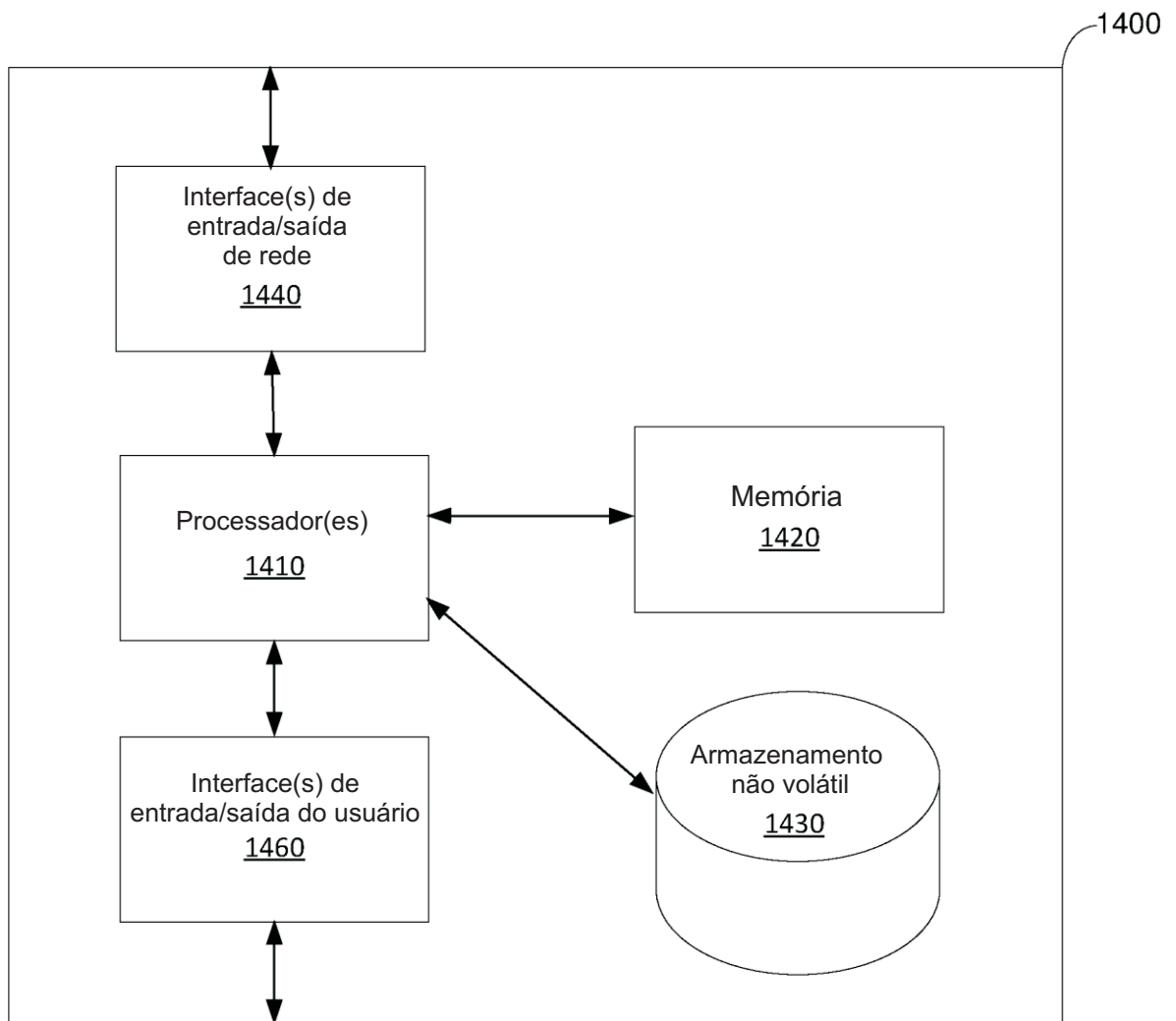


FIG. 14

RESUMO

Patente de Invenção: **"SISTEMA E MÉTODOS PARA DETECTAR O TEMPO DE VIDA AO USAR FOTODETECTORES DE CONTAGEM DE FÓTONS"**.

A presente invenção refere-se a sistemas e métodos para detectar o tempo de vida de moléculas luminescentes ao usar fotodetectores configurados para executar a contagem de fótons. Os sistemas e os métodos podem envolver uma disposição de fotodetectores para detectar os fótons emitidos de uma amostra, que pode incluir moléculas luminescentes, e circuito de detecção associado com a disposição de fotodetectores. O circuito de detecção podem ser configurados para contar, pelo menos durante um primeiro período de tempo e um segundo período de tempo, uma quantidade de fótons incidentes em um fotodetector na disposição de fotodetectores.