



(51) МПК
G01N 21/01 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
C12Q 1/6844 (2018.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 21/01 (2021.08); G01N 21/64 (2021.08); C12Q 1/6844 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2020142284, 22.12.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 22.12.2020

Дата регистрации:
 25.10.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.12.2020

(45) Опубликовано: 25.10.2021 Бюл. № 30

Адрес для переписки:

117042, Москва, Плавский пр., 1, кв. 333,
 Шляхтина Галина Михайловна

(72) Автор(ы):

Каникевич Дмитрий Владимирович (RU),
 Пауль Станислав Юрьевич (RU),
 Захарченко Павел Александрович (RU),
 Горский Евгений Вячеславович (RU),
 Колесниченко Кирилл Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
 «Троицкий инженерный центр» (ООО
 «ТИЦ») (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: US 2017/0113221 A1, 27.04.2017. US
 2016/0131592 A1, 12.05.2016. US 2020/0324293
 A1, 15.10.2020. RU 2703776 C9, 18.02.2020. RU
 2548606 C2, 20.04.2015.

(54) ПРИБОР ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

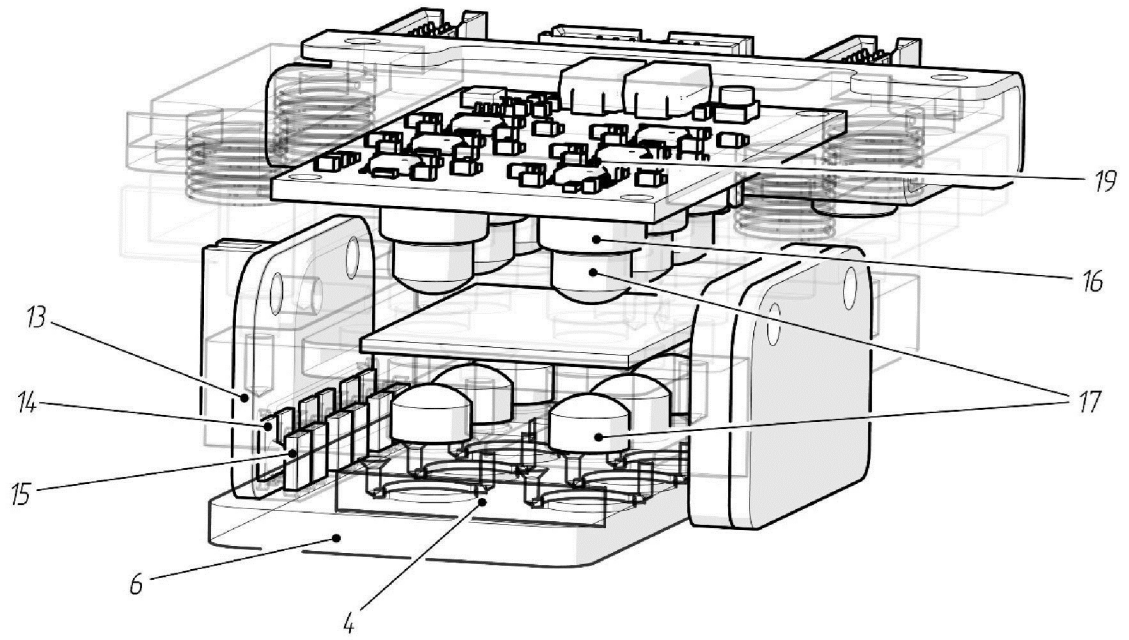
(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Предложен прибор для проведения амплификации нуклеиновых кислот. Прибор состоит из корпуса с отверстием для установки чипа-картриджа и крышки, блока термоциклирования, оптической системы. Блок термоциклирования расположен горизонтально в нижней зоне корпуса прибора, а оптическая система расположена над блоком термоциклирования, место для чипа-картриджа размещено в нижней зоне оптической системы. При этом источник света выполнен в виде установленных вдоль боковых торцов чипа-

картриджа узкополосных светодиодов, причём узел приёма сигнала флуоресценции расположен непосредственно над реакционными лунками чипа-картриджа, где узел приёма сигнала флуоресценции снабжён мультиспектральными сенсорами или отдельными фотодиодами. Изобретение обеспечивает повышение компактности, универсальности и быстродействия прибора с увеличением его надежности при проведении различных исследований не только в лаборатории, но и в полевых условиях в режиме реального времени. 5 з.п. ф-лы, 4 ил.

RU 2 757 987 C1

RU 2 757 987 C1



ФИГ. 3

RU 2757987 C1

RU 2757987 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G01N 21/01 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
C12Q 1/6844 (2018.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 21/01 (2021.08); G01N 21/64 (2021.08); C12Q 1/6844 (2021.08)(21)(22) Application: **2020142284, 22.12.2020**(24) Effective date for property rights:
22.12.2020Registration date:
25.10.2021

Priority:

(22) Date of filing: **22.12.2020**(45) Date of publication: **25.10.2021 Bull. № 30**

Mail address:

**117042, Moskva, Plavskij pr., 1, kv. 333,
Shlyakhtina Galina Mikhajlovna**

(72) Inventor(s):

**Kanikevich Dmitrii Vladimirovich (RU),
Paul Stanislav Iurevich (RU),
Zakharchenko Pavel Aleksandrovich (RU),
Gorskii Evgenii Viacheslavovich (RU),
Kolesnichenko Kirill Vladimirovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoi otvetstvennostiu
«Troitskii inzhenernyi tsentr» (OOO «TITs»)
(RU)**(54) **DEVICE FOR CARRYING OUT AMPLIFICATION OF NUCLEIC ACIDS**

(57) Abstract:

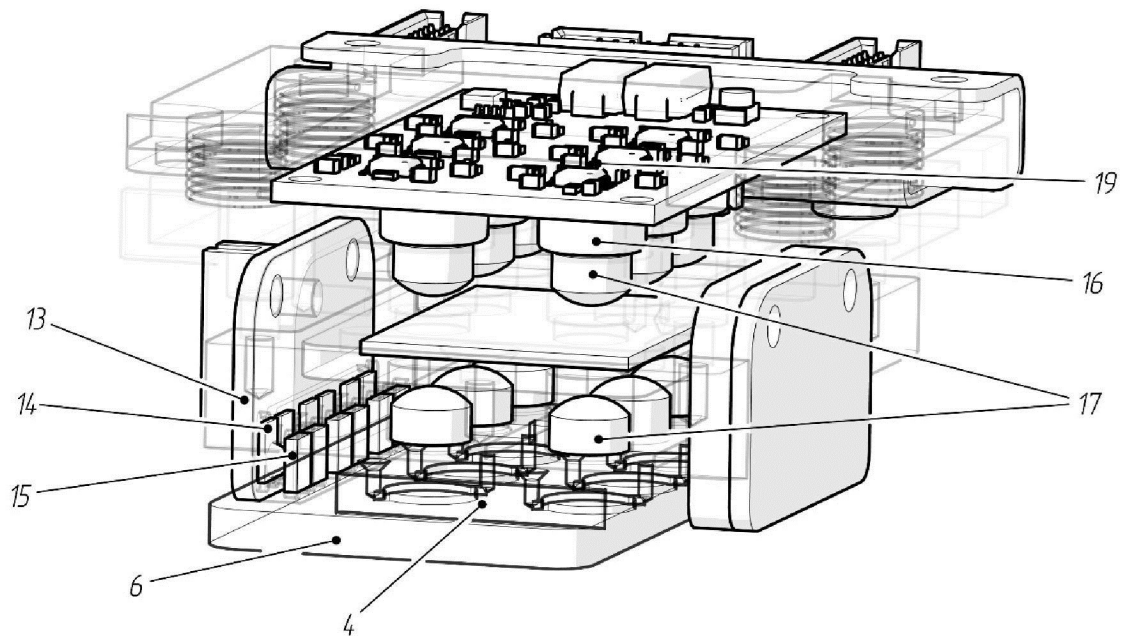
FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biotechnology. A device for carrying out amplification of nucleic acids is proposed. The device consists of a housing with a hole for installing a chip cartridge and a cover, a thermal cycling unit, and an optical system. The thermal cycling unit is located horizontally in the lower zone of the device body, and the optical system is located above the thermal cycling unit, the place for the chip-cartridge is located in the lower zone of the optical system. In this case, the light source is made in the form of narrow-band light-emitting diodes installed

along the side ends of the cartridge-chip, and the fluorescence signal receiving unit is located directly above the reaction wells of the cartridge-chip, where the fluorescence signal receiving unit is equipped with multispectral sensors or separate photodiodes.

EFFECT: invention provides an increase in the compactness, versatility and speed of the device with an increase in its reliability when carrying out various studies not only in the laboratory, but also in the field in real time.

6 cl, 4 dwg



ФИГ. 3

RU 2757987 C1

RU 2757987 C1

Изобретение относится к области биотехнологии и предназначено, в частности, для использования в компактном переносном виде для проведения ПЦР (полимеразной цепной реакции) в режиме реального времени.

Из области техники известна система для обработки нескольких биологических образцов, проведения химической или биохимической реакции и обеспечения вывода результатов анализа, включающая

модуль подготовки образца, реакционный модуль, включающий реакционную камеру с получением продукта реакции, амплификацию множества маркеров коротких тандемных повторов (STR-маркеров), модуль подготовки образца и реакционный модуль интегрированы в одноразовый картридж, включающий камеру для образца, камеру для смешивания и реакционную камеру, выполненную с возможностью термоциклирования, плату с реагентами или картридж с реагентами, содержащие реагенты для проведения химической или биохимической реакции, включающей термоциклирование, модуль анализа, имеющий жидкостное сообщение с реакционной камерой и выполненный с возможностью проведения анализа продукта реакции, термоциклёр, сконфигурированный для циклического изменения температуры в реакционной камере, компьютеризированную систему управления, сконфигурированную для управления системой (см. патент RU № 2559541, МПК C12M 1/18, опубл. В 2013 году). Эта система предназначена для решения большого круга задач по исследованию жидких образцов и имеет сложную конструкцию.

Известен прибор – «лаборатория на чипе», включающий лазерный источник с фильтром, первое и второе зеркала, управляющие направлением света, проходящего через первый фильтр, поляризатор, поляризующий свет, отраженный вторым зеркалом, светоделитель, разделяющий поляризованный свет, проходящий через поляризатор, линзу, которая коллимирует поляризованный свет на материал образца в микроканале, линзу, которая собирает флуоресценцию, излучаемую возбужденными флуоресцентно мечеными биоматериалами поляризованным светом, излучаемым из части генерации поляризации, третье зеркало, контролирующее направление флуоресценции, проходящей через линзу, второй фильтр, фильтрующий флуоресценцию, отраженную третьим зеркалом, поляризованный светоделитель, разделяющий флуоресценцию, проходящую через второй фильтр, третий фильтр, который фильтрует флуоресценцию, проходящую через поляризованный светоделитель, вертикальные и горизонтальные фотоэлектронные умножители, которые измеряют сигналы флуоресценции излучаемого света, проходящего через третий фильтр, в вертикальной и горизонтальной плоскостях, поляризатор, установленный перед горизонтальным ФЭУ, осциллограф, который измеряет поляризацию флуоресценции, проходящую через фотоэлектронные умножители (ФЭУ), между первым фильтром и первым зеркалом помещается оптический прерыватель, состоящий из вращающегося диска с прорезями, для периодического включения / выключения источника света (см. опубликованную заявку US2007117220, МПК C12M3/00, опубл. в 2007 г.). Данное техническое решение представляет собой достаточно сложное и громоздкое устройство, которое количественно измеряет взаимодействие между биомолекулами и флуоресцентно мечеными биоматериалами, а также активность ферментов с использованием измерения поляризации флуоресценции.

Известен прибор для детектирования капельной ПЦР-амплификации на основе микрофлюидного чипа, включающий светодиодный источник возбуждения света, асферическую линзу, причем светодиод в качестве точечного источника света помещён в фокус линзы так, что свет, излучаемый светодиодом, коллимируется через линзу для формирования параллельного пучка света, отображаемого в области чипа (см. патент

CN109652298, Кл. C12M1/00, опубл. в 2019 г.). В этом устройстве капля, содержащая молекулы ДНК, вводится в капельный микрофлюидный чип с помощью пипетки, затем чип помещают в блок амплификации капельной ПЦР для проведения реакции ПЦР-амплификации, а флуорохром в капле возмущается с помощью светодиода и светофильтра. Изображение флуоресцентной капли фокусируют с помощью алгоритма автофокусировки. Затем получают ряд изображений различных частей чипа с помощью сканирования. Сделанные изображения объединяют для получения полной информации об исследуемой области капли чипа. С помощью этой автоматизированной конструкции получают конечный результат очень медленно. В ней не предусмотрено ускорение работы и увеличение количества исследуемых образцов.

Известно устройство прямой количественной ПЦР, которое включает в себя распределитель жидкости, модуль термоциклера и модуль обработки изображений, распределитель жидкости используется для распределения смеси образцов в каждое отверстие одноразового чипа ПЦР; модуль термоциклера используется для размещения одноразового ПЦР-чипа и обеспечения условий для проведения реакции амплификации на смеси образцов в каждое отверстие одноразового ПЦР-чипа; а модуль обработки изображений расположен в модуле термоциклера и используется для измерения интенсивности флуоресценции флуоресцентного красителя в каждом отверстии одноразового чипа ПЦР до и после амплификации (см. патент CN210916083, Кл. C12M1/34, опубл. в 2020 г.). В этом патенте рассмотрены различные варианты выполнения устройства в целом и его отдельных узлов. Однако, описание носит общий и схематический характер. В патенте не раскрыты технические подробности устройства и его узлов.

Известно устройство для идентификации нуклеиновых кислот с помощью полимеразной цепной реакции, включающей введение жидких образцов, содержащих нуклеиновую кислоту, в зону реакции на верхней поверхности теплопроводной подложки микрочипа; изоляцию внесенных образцов от атмосферы; контакт нуклеиновой кислоты образца с компонентами полимеразной цепной реакции при термоциклировании образцов с отводом тепла через внешнюю поверхность микрочипа; флуоресцентное детектирование изменения количества продуктов полимеразной цепной реакции при термоциклировании; идентификация количества исходной нуклеиновой кислоты в образцах по динамике роста флуоресцентного сигнала, при этом используемый микрочип содержит теплопроводную подложку из теплопроводного материала (см. опубликованную заявку US2011189683, МПК C12M1/34, опубл. в 2011 г.). Специфика данного технического решения заключается в том, что введенные образцы изолируются путем отделения их от атмосферы слоем жидкости, не смешивающейся с водой, которая удерживается на верхней поверхности теплопроводной подложки с помощью периферийного барьера.

Известен прибор для проведения ПЦР-анализа с помощью одноразового чипа, включающий оптическую головку, состоящую из 6 идентичных по устройству каналов, каждый из которых включает оптическую систему возбуждения и считывания флуоресценции, при этом система возбуждения состоит из излучающего светодиода, коллиматора, узкополосного светофильтра и объектива, с помощью которого освещается реакционная камера чипа, а для считывания флуоресцентного сигнала используют аналогичную оптическую схему с использованием регистрирующего фотодиода. Вся оптическая головка находится на каретке линейного привода и способна совершать движения вдоль камер чипа, последовательно считывая флуоресценцию из каждой реакционной камеры каждым из спектральных каналов (см. патент RU №

2703776, МПК С12Q 1/6806, опубл. В 2019 году). Специфика медленной работы прибора с такой оптической системой и его использования обоснованы ограничивающими конструктивными признаками прибора.

Наиболее близким аналогом к заявленному изобретению является модуль устройства анализа «лаборатория на чипе», предназначенный для флуоресцентного измерения полимеразной цепной реакции (ПЦР) или для другого метода анализа, такого как анализ кривой плавления, включающий одноразовый чип-картридж с реакционными лунками, узел подготовки образцов, оптическую систему с источником света для флуоресцентного возбуждения реактива, автоматизированным светофильтром, датчиком изображения, корпус устройства анализа «лаборатория на чипе», дисплей и электронную систему управления. Корпус модуля имеет отверстие для вставки одноразового чипа-картриджа, содержащего анализируемый материал, в устройство анализа «лаборатория на чипе». Корпус имеет заднюю сторону с соединительным отверстием для подключения кабеля электропитания к устройству анализа «лаборатория на чипе». Кроме того, корпус имеет сторону стоячей поверхности, имеющую интерфейс для обслуживания аналитического устройства «лаборатория на чипе». Сторона стоячей поверхности имеет такую форму, чтобы устанавливать устройство анализа «лаборатория на чипе» во время работы. Задняя сторона имеет такую форму, чтобы использоваться как дополнительная стоящая поверхность устройства анализа «лаборатория на чипе», когда кабель извлекается из соединительного отверстия (см. опубликованные заявки WO2019202070 , МПК В01L9/00, опубл. в 2019 г. и WO2020083768, МПК G01J3/02, опубл. в 2020 году заявитель - BOSCH GMBH ROBERT [DE]). Известный модуль имеет достаточно компактную конструкцию по сравнению с другими лабораторными приборами, но этот сложный прибор выполнен *с функциональной избыточностью, недопустимой для прибора, который предназначен для работы в режиме реального времени, при этом для его работы требуется конструктивно сложный чип-картридж.*

Техническая проблема заключается в том, что описанные устройства работают медленно и не обеспечивают достижения высокой точности исследований при проведении ПЦР (полимеразной цепной реакции) в режиме реального времени в «полевых» (не лабораторных) условиях, например, при выезде на дом к больному, в автомобиле, на улице. В них остается нерешенной **задача** упрощения средств исследования при высокой результативности. Решение данной задачи не должно ограничиваться только возможностью проведения амплификации нуклеиновых кислот в лабораторных условиях. Найденное решение должно давать возможность проводить различные исследования не только в лабораторных условиях, но и в местах, не предназначенных для медицинских целей.

Настоящее изобретение направлено на решение **технической задачи** повышения компактности, универсальности и быстродействия прибора для проведения амплификации нуклеиновых кислот с увеличением его надежности при проведении различных исследований.

Решение поставленной технической задачи достигается за счет того, что в приборе для проведения амплификации нуклеиновых кислот, состоящем из корпуса с отверстием для установки чипа-картриджа на его передней панели и крышки, расположенных внутри корпуса блока термоциклирования, оптической системы, состоящей из узла возбуждения флуоресценции реакционных лунок чипа-картриджа, включающего источник света и светофильтры, и узла приёма сигнала флуоресценции (фотоприёмного устройства), и электронной системы управления с дисплеем и интерфейсами для подключения других устройств, блок термоциклирования расположен горизонтально

в нижней зоне корпуса прибора, а оптическая система расположена над блоком термоциклирования таким образом, что место для горизонтального положения чипа-картриджа размещено в нижней зоне оптической системы, при этом источник света выполнен в виде узкополосных светодиодов, установленных вдоль боковых торцов чипа-картриджа, причём узел приёма сигнала флуоресценции (фотоприёмное устройство) расположен непосредственно над реакционными лунками чипа-картриджа, причём узел приёма сигнала флуоресценции (фотоприёмное устройство) либо снабжён мульти-спектральными сенсорами, каждый из которых расположен над отдельной лункой, либо снабжён отдельными фотодиодами, каждый из которых расположен над отдельной лункой, выполненными с однополосными и/или многополосными интерференционными светофильтрами. Узел приёма сигнала флуоресценции (фотоприёмное устройство) снабжён линзами. Прибор снабжён световой RGB индикацией, расположенной на передней панели корпуса. Прибор снабжён USB-разъемом для подключения к внешнему компьютеру, а также USB-разъемом для передачи результатов ПЦР на внешний Flash-накопитель, размещёнными на торцевой стороне корпуса. Блок термоциклирования снабжён радиальным вентилятором, расположенным внутри корпуса рядом с блоком термоциклирования. Дисплей расположен на крышке прибора.

Изобретение поясняется чертежами.

На фиг.1 изображен прибор для проведения амплификации нуклеиновых кислот в рабочем состоянии, в изометрии. На фиг. 2 – то же без корпуса, в изометрии. На фиг. 3 изображена оптическая система, в изометрии. На фиг. 4 изображён одноразовый чип-картридж, в изометрии.

Прибор для проведения амплификации нуклеиновых кислот имеет компактный корпус 1 (см. фиг.1). Корпус 1 оснащён крышкой 2. Прибор содержит расположенные в корпусе 1 блок 3 термоциклирования, устройство для размещения чипа-картриджа 4 (см. фиг. 4), оптическую систему (см. фиг. 3), включающую узел возбуждения флуорофоров и флуоресцентных красителей и узел приёма сигнала флуоресценции (узел детекции оптического сигнала), узел отображения результатов измерений с дисплеем 5, который может быть расположен на крышке 2, и электронную систему управления (см. фиг. 2). Блок 3 термоциклирования может быть выполнен на основе элемента Пельтье (термоэлектрического преобразователя) и включает нагревательный блок 6. Блок 3 термоциклирования снабжен модулем измерения температуры для точного управления и контроля температурой термоциклирования (на рисунке не показано), ребристым радиатором 7, расположенным под нижней площадкой элемента Пельтье, предназначенным для отвода выделяемого тепла и радиальным вентилятором 8, предназначенным для охлаждения радиатора 7. Радиальный вентилятор 8 расположен в корпусе 1 рядом с блоком 3 термоциклирования. Боковое расположение радиального вентилятора 8 относительно блока 3 термоциклирования позволяет минимизировать габариты прибора. Нагревательный блок 6 также является частью устройства для размещения чипа-картриджа 4, т.к. заправленный исследуемой пробой чип-картридж 4 при установке в прибор должен быть прижат к блоку 6.

Чип-картридж 4 (см. фиг. 4) представляет собой плоскую прозрачную пластину, изготовленную из полимерного материала с высокой биоинертностью, низкой автофлуоресценцией и высоким уровнем прохождения света. С нижней стороны в пластине выполнены реакционные лунки 9 (реакционные ячейки) для заправки исследуемыми образцами и реагентами. Каждая реакционная лунка 9 имеет заправочное отверстие 10 и отверстие 11 для выхода воздуха, расположенные сверху чипа-картриджа 4. Чип-картридж 4 имеет герметизирующую плёнку с обеих сторон (на рисунке не

показано), плотно прилегающую к поверхности и обеспечивающую полную герметизацию лунок 9 и отверстий 10 и 11. Одноразовый чип-картридж 4 может быть снабжен пазами 12, предназначенными для фиксации в нижней зоне оптической системы прибора для амплификации нуклеиновых кислот на нагревательной пластине 6. Прибор может быть снабжен устройством автоматической загрузки чипа-картриджа 4 (на рисунке не показано) в рабочее положение.

Устройство для размещения чипа-картриджа 4, в свою очередь является частью оптической системы (см. фиг. 3) прибора и установлено в его нижней зоне. Узел возбуждения флуорофоров и/или флуоресцентных красителей оптической системы включает расположенные на плате 13 по боковым сторонам оптической системы узкополосные светодиоды 14 с минимальным углом расходимости излучения, расположенные непосредственно напротив соответствующих реакционных лунок 9 одноразового чипа-картриджа 4 по его боковым торцам. Вариант исполнения одноразового чипа-картриджа 4 показан на фиг. 4. На плате 13 могут располагать как один, так и несколько светодиодов 14 в зависимости от того, какие флуоресцентные красители предполагается использовать. А также в зависимости от количества лунок 9 и длины чипа-картриджа 4. При этом каждый светодиод 14 может возбуждать флуорофоры сразу в нескольких лунках 9 чипа-картриджа 4. Для спектрального разделения возбуждающего излучения и излучения флуорофоров (например, FAM, HEX, ROX и Cy5) между каждым светодиодом 14 и торцом чипа-картриджа 4 установлен соответствующий интерференционный светофильтр 15 с максимумами пропускания, например в диапазоне 470, 520, 580, 635 нм. Для увеличения количества полезного излучения, проникающего внутрь чипа-картриджа 4, обеспечивают минимальное расстояние между возбуждающими светодиодами 14 и торцом чипа-картриджа 4.

Узел приёма сигнала флуоресценции (узел детекции оптического сигнала) представляет собой оптическую фокусирующую систему - фотоприёмное устройство 16, расположенное непосредственно над реакционными лунками 9 чипа-картриджа 4. Фотоприёмное устройство 16 состоит из линз 17. Их количество зависит от типа фотоприёмного устройства 16. При использовании в качестве фотоприёмного устройства 16 отдельных фотодиодов, каждый из которых расположен над отдельной лункой 9, в систему устанавливают однополосные и/или многополосные интерференционные светофильтры 18 со спектрами пропускания, соответствующими спектрам излучения флуоресцентных красителей. Например, такие светофильтры 18 могут иметь максимумы пропускания в диапазонах 520, 560 и 680 нм и блокировку паразитного излучения возбуждающих светодиодов 14 в диапазонах 470 и 635 нм. При этом при использовании в схеме отдельных фотодиодов над каждой лункой 9 в качестве фотоприёмного устройства 16 допускается использование двух и более комбинаций флуоресцентных красителей.

Также в оптическую систему в качестве фотоприёмного устройства 16 допускается установка оптических мульти-спектральных сенсоров, представляющих собой сборку единичных фотодиодов, расположенных в общем корпусе, каждый из которых расположен над отдельной лункой 9 (на рисунке не показано). На каждый фотодиод устанавливают собственный интерференционный светофильтр (на рисунке не показано) с полосами пропускания, соответствующими спектрам излучения применяемых флуорофоров. При этом для увеличения площади фоточувствительного элемента и равномерного распределения излучения в плоскости фокусировки, фотодиоды с фильтрами каждого спектрального диапазона могут быть объединены в пары. В случае использования мульти-спектральных сенсоров не требуется установка дополнительных

многополосных светофильтров, при этом появляется возможность проводить мультиплексную полимеразную цепную реакцию с возможностью одновременного определения большого числа мишеней в одной пробе – во всех реакционных лунках 9 чипа-картриджа 4 (до 24 мишеней).

5 Узел отображения результатов измерений включает плату 19 обработки сигнала, принятого от фотопрёмного устройства 16, встроенный компьютер 20 (электронную систему управления) для переработки поступающих сигналов и их вывода на дисплей 5 в виде, например, графика ПЦР-кривой. Для обеспечения удобной работы, управления функциями прибора, а также отображения результатов измерений прибор может быть
10 оснащен сенсорным LCD дисплеем 5. Дисплей 5 может быть расположен на крышке 2. На лицевой (передней панели корпуса 1) может быть предусмотрена световая RGB индикация 21 различных режимов работы прибора, таких, как процесс термоциклирования, наличие чипа-картриджа 4, обнаружение патогена, сигнализация о появлении различных неисправностей в работе и т.д. Прибор может быть оснащен
15 USB-разъемом 22 для подключения к внешнему компьютеру, а также USB-разъемом 23 для передачи результатов ПЦР на внешний Flash-накопитель.

Прибор для проведения амплификации нуклеиновых кислот используют следующим образом. Чип-картридж 4 заправляют реагентами, содержащими флуорофоры (флуоресцентные красители), с помощью дозатора или шприца с плоской иглой.
20 Заправочное отверстие 10, как и отверстие 11 для выхода воздуха имеют ступенчатую форму. Такая форма отверстий 10 и 11 предотвращает возможное повреждение герметизирующей плёнки дозатором или иглой на нижней стороне чипа-картриджа 4, которая герметизирует лунки 9. В одну лунку 9 (например, с габаритами: диаметр 7 мм и высотой 0,6 мм) помещается до 24 мкл жидкости (реагентов). Габариты лунки 9 могут
25 быть разными: шире, тоньше или глубже, при этом важно, чтобы объем лунки 9 не изменился. Заправочные отверстия 10 расположены таким образом, чтобы иметь максимально возможное расстояния друг от друга во избежание возможной контаминации между лунками 9. Чип-картридж 4 в данном примере, изображенном на
30 фиг. 4, имеет шесть лунок 9. Две из них предполагается использовать для положительного и отрицательного контроля. Форма чипа-картриджа 4, его размеры и количество лунок 9 зависят от оптической системы, в которой будут использованы. После незначительной доработки оптического узла можно адаптировать любое количество лунок 9 на одном чипе-картридже 4.

После заправки всех лунок 9 герметизируют заправочные отверстия 10 и отверстия
35 11 для выхода воздуха. Для этого используют прозрачную плёнку с тонким слоем клея (на рисунке не показано). Плёнку клеящей стороной прикладывают к верхней поверхности чипа-картриджа 4 и равномерно разглаживают. Этот метод позволяет с высокой эффективностью герметизировать отверстия 10 и 11, при этом лунки 9 окончательно герметизируются тоже, что позволяет избежать разгерметизации во время
40 амплификации. Благодаря наличию заливных воронок (фасок) в отверстиях 10 практически исключается попадание заливаемой жидкости на верхнюю поверхность чипа-картриджа 4. После герметизации чип-картридж 4 вставляют в прибор для проведения амплификации нуклеиновых кислот.

Использование в блоке 3 термоциклирования чипа-картриджа 4 элемента Пельтье
45 размером, например, 40x40 мм даёт возможность не только равномерно нагревать все лунки 9 чипа-картриджа 4, но и значительно уменьшить габариты прибора для ПЦР. Максимальная тепловая мощность элемента составляет 170 Вт, но фактически блок 3 загружен лишь на 30%. Это позволяет снизить нагрузку на элемент Пельтье и увеличить

его срок службы. При старте амплификации элемент Пельтье нагревает блок 6 (он может быть выполнен из алюминия). Нагревательный блок 6 передает тепло на плотно прижатый к нему чип-картридж 4 с лунками 9. Внутри нагревательного блока 6 и под нижней керамической площадкой элемента Пельтье можно установить терморезисторы или терморезисторы для более точного управления и контроля температурой термоциклирования. Расположенный под нижней площадкой элемента Пельтье ребристый радиатор 7 отводит выделяемое тепло, а радиальный вентилятор 8 его дополнительно охлаждает. Такая компактная конструкция блока 3 термоциклирования позволяет значительно уменьшить размеры прибора в целом.

В процессе работы прибора после каждого цикла происходит измерение уровня флуоресценции флуоресцентных красителей, при этом интенсивность излучения говорит о первоначальном количестве интересующих молекул в исследуемом образце. Измерение уровня флуоресценции осуществляют компактной оптической системой (см. фиг. 3), включающей узел возбуждения флуорофоров и флуоресцентных красителей и узел приёма сигнала флуоресценции (узел детекции оптического сигнала). Во время амплификации происходит торцевое возбуждение флуорофоров. Для спектрального разделения возбуждающего излучения и излучения флуорофоров между светодиодами 14 и торцом чипа-картриджа 4 установлены интерференционные светофильтры 15 с максимумами пропускания в диапазонах длин волн, соответствующих длинам волн поглощения красителей. В оптической системе обеспечено минимальное расстояние между возбуждающими светодиодами 14 и торцами чипа-картриджа 4 для увеличения количества полезного излучения, проникающего внутрь чипа-картриджа 4.

Излучение флуоресцентного красителя исследуемого образца улавливает система линз 17 с интерференционным светофильтром 18 со спектрами пропускания, соответствующими спектрам излучения флуоресцентных красителей. Сигнал, зарегистрированный фотоприёмным устройством 16 оптической системы, поступает в плату обработки сигнала, а встроенный компьютер обрабатывает данные и выводит их на дисплей 5 в виде графика (на рисунке не показано) или, например в виде графика ПЦР-кривой. Если на лицевой панели предусмотрена световая RGB индикация 21 различных режимов работы прибора, таких, как процесс термоциклирования, наличие чипа-картриджа 4, обнаружение патогена, сигнализация о появлении различных неисправностей в работе и т.д., то при небольшом усложнении прибора значительно облегчается управление его работой. Оснащение прибора USB-разъемом 22 для подключения к внешнему компьютеру и USB-разъемом 23 для передачи результатов ПЦР на внешний Flash-накопитель даёт возможность расширить его функции.

Повышению эффективности исследования с помощью вышеописанного компактного портативного прибора для проведения амплификации нуклеиновых кислот, в том числе и ПЦР (полимеразной цепной реакции) в режиме реального времени, способствует материал чипа-картриджа 4 с высокой биоинертностью, низкой автофлуоресценцией и высоким уровнем прохождения пучка света, обеспечивающий возможность использования узкополосных светодиодов 14 с боковых торцов чипа-картриджа 4. Что, в свою очередь, даёт возможность значительно уменьшить габариты прибора в целом. Горизонтальное расположение чипа-картриджа 4 в процессе проведения исследований способствует повышению равномерности прогревания и охлаждения образцов, исключает стекание жидкости в реакционных лунках 9 в одну сторону. Торцевое возбуждение флуорофоров даёт возможность при уменьшении габаритов оптической системы повысить отношение сигнал/шум (ОСШ) фотоприёмного устройства 16.

Таким образом, технический результат, достигаемый с использованием заявленного

изобретения, заключается в повышении компактности, универсальности и
быстродействия прибора для проведения амплификации нуклеиновых кислот с
увеличением его надежности при проведении различных исследований не только в
лаборатории, но и в полевых условиях, например, у постели больного, в том числе
5 проведение ПЦР (полимеразной цепной реакции) в режиме реального времени.

(57) Формула изобретения

1. Прибор для проведения амплификации нуклеиновых кислот, состоящий из корпуса
с отверстием для установки чипа-картриджа на его передней панели и крышки,
10 расположенных внутри корпуса блока термоциклирования, оптической системы,
состоящей из узла возбуждения флуоресценции реакционных лунок чипа-картриджа,
включающего источник света и светофильтры, узла приёма сигнала флуоресценции и
электронной системы управления с дисплеем и интерфейсами для подключения других
устройств, отличающийся тем, что блок термоциклирования расположен горизонтально
15 в нижней зоне корпуса прибора, а оптическая система расположена над блоком
термоциклирования таким образом, что место для горизонтального положения чипа-
картриджа размещено в нижней зоне оптической системы, при этом источник света
выполнен в виде узкополосных светодиодов, установленных вдоль боковых торцов
чипа-картриджа, причём узел приёма сигнала флуоресценции расположен
20 непосредственно над реакционными лунками чипа-картриджа, причём узел приёма
сигнала флуоресценции либо снабжён мультиспектральными сенсорами, каждый из
которых расположен над отдельной лункой, либо снабжён отдельными фотодиодами,
каждый из которых расположен над отдельной лункой, выполненными с однополосными
и/или многополосными интерференционными светофильтрами.

25 2. Прибор по п. 1, отличающийся тем, что узел приёма сигнала флуоресценции
снабжён линзами.

3. Прибор по п. 1, отличающийся тем, что он снабжён световой RGB индикацией,
расположенной на передней панели корпуса.

4. Прибор по п. 1, отличающийся тем, что он снабжён USB-разъемом для подключения
30 к внешнему компьютеру, а также USB- разъемом для передачи результатов ПЦР на
внешний Flash-накопитель, размещёнными на торцевой стороне корпуса.

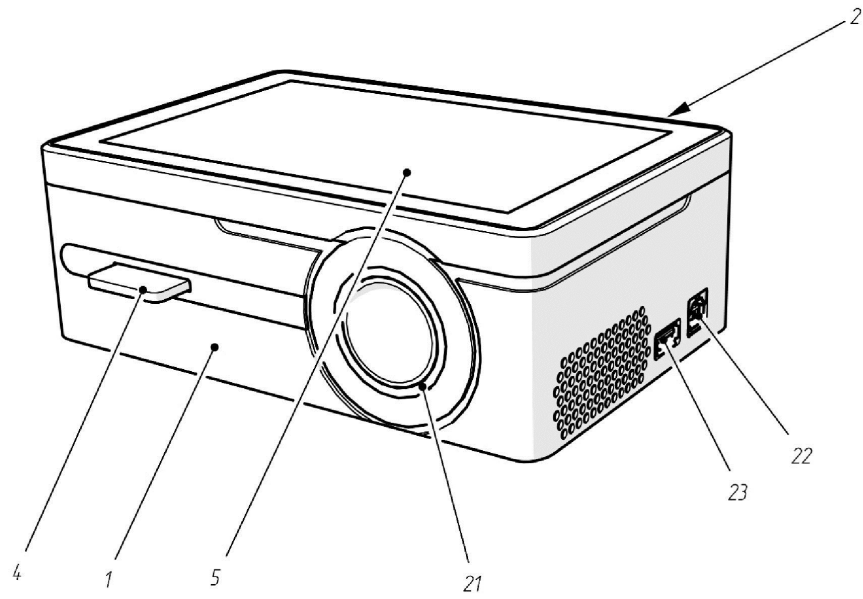
5. Прибор по п. 1, отличающийся тем, что блок термоциклирования снабжён
радиальным вентилятором, расположенным внутри корпуса рядом с блоком
термоциклирования.

35 6. Прибор по п. 1, отличающийся тем, что дисплей расположен на крышке прибора.

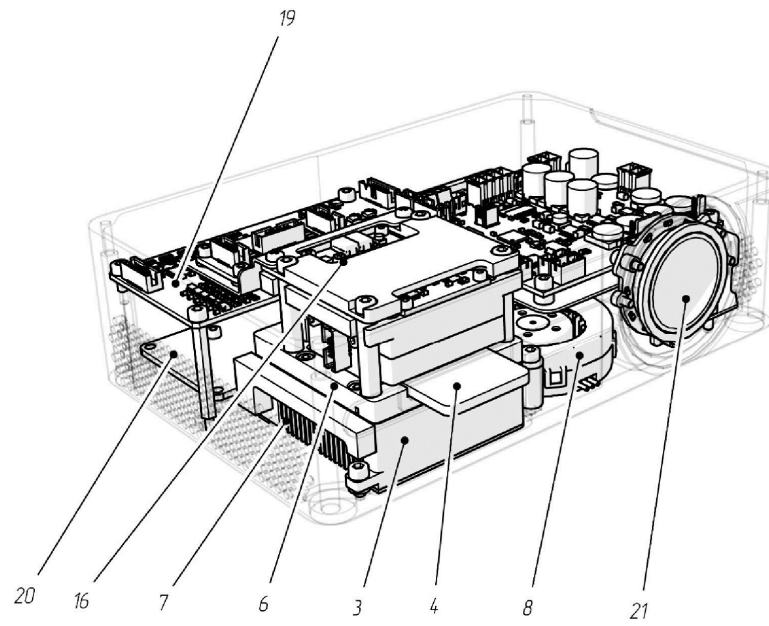
40

45

1

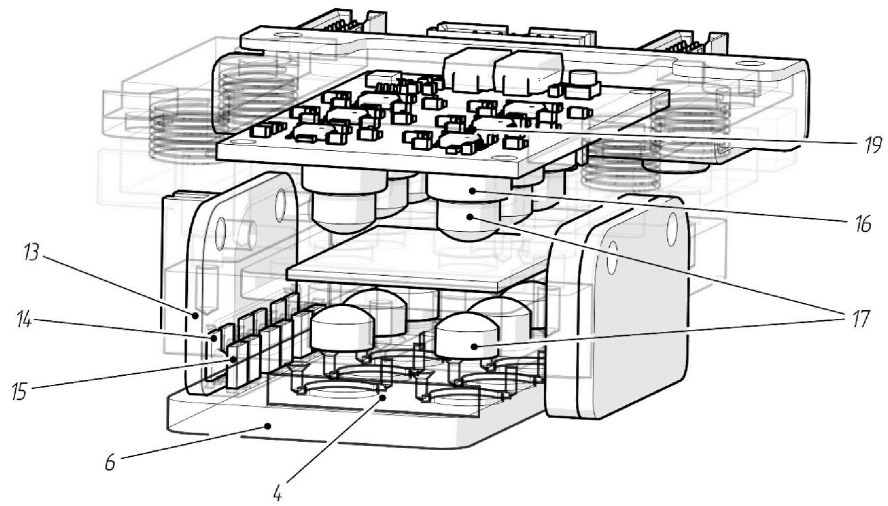


Фиг. 1

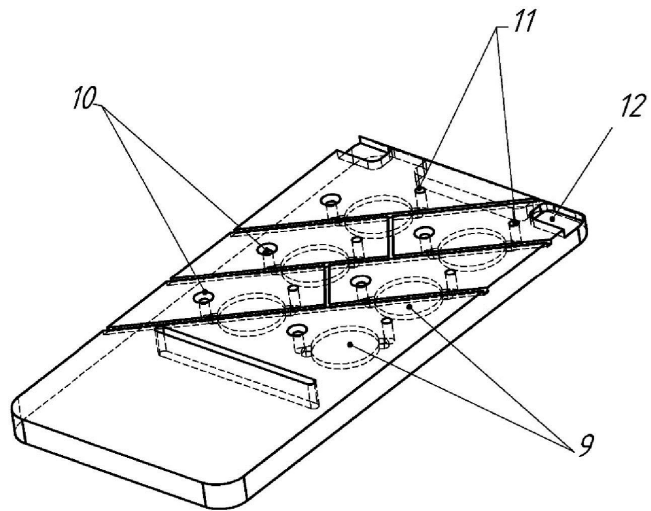


Фиг. 2

2



Фиг. 3



Фиг. 4