



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



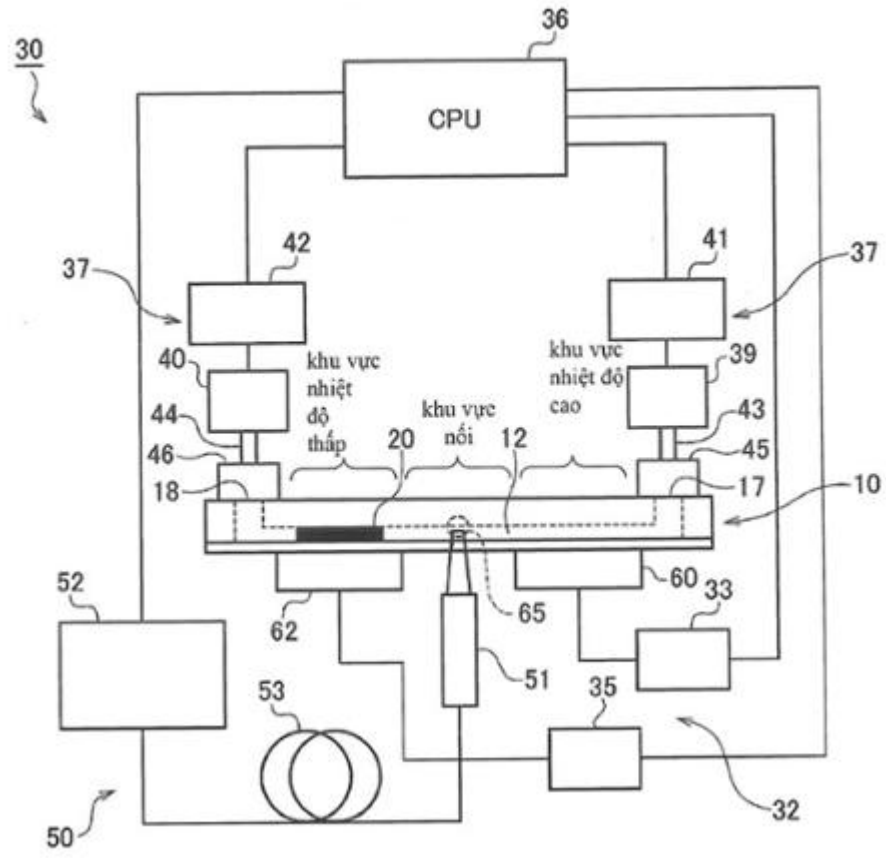
1-0039509

(51)¹⁹ C12M 1/00; C12N 15/09; G01N 37/00; (13) B
G01N 21/13; G01N 21/64; G01N 35/00;
C12M 1/38; C12Q 1/686

(21) 1-2019-06962 (22) 29/05/2018
(86) PCT/JP2018/020471 29/05/2018 (87) WO2018/225577 13/12/2018
(30) 2017-111817 06/06/2017 JP
(45) 25/04/2024 433 (43) 25/03/2020 384ASC
(73) GO!Foton, Inc (JP)
5-4-2 Tokodai, Tsukuba City, Ibaraki 3002635, Japan
(72) Takashi FUKUZAWA (JP); Naofumi NISHIZAWA (JP); Hisao NAGATA (JP).
(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) BỘ XỬ LÝ PHẢN ỨNG

(57) Sáng chế đề cập đến bộ xử lý phản ứng (30) được bố trí với bình xử lý phản ứng (10) trong đó ống (12) được tạo ra, hệ thống nạp chất lỏng (37), hệ thống điều khiển nhiệt độ (32) để cung cấp khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp cho ống (12) và máy dò huỳnh quang (50) để phát hiện mẫu (20) đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang của ống (12) và CPU (36) để điều khiển hệ thống nạp chất lỏng (37) dựa trên tín hiệu được phát hiện. Vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ $(n+1)$ được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n dựa trên kết quả dừng điều khiển trên mẫu (20) trong chu trình thứ n .



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các bộ xử lý phản ứng được sử dụng cho các phản ứng chuỗi polymeraza (PCR)

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thử nghiệm di truyền học được sử dụng rộng rãi để kiểm tra trong nhiều lĩnh vực y tế, xác định các sản phẩm nông nghiệp và các vi sinh vật gây bệnh, việc đánh giá an toàn cho các sản phẩm thực phẩm, và thậm chí để kiểm tra các virus gây bệnh và một loạt các bệnh truyền nhiễm. Để phát hiện một lượng ADN nhỏ, là chất mang gen, với độ nhạy cao, các phương pháp phân tích kết quả thu được bằng cách khuếch đại một phần ADN đã biết. Trên hết, PCR là công nghệ đáng chú ý trong đó một phần nhất định của lượng rất nhỏ ADN được thu thập từ một sinh vật hoặc tương tự được khuếch đại có chọn lọc.

Trong PCR, chu trình nhiệt được định trước được áp dụng cho mẫu trong đó mẫu sinh học chứa ADN và chất phản ứng PCR bao gồm các môi, enzym và các chất tương tự được trộn lẫn để gây ra phản ứng biến tính, ủ và phản ứng kéo dài được lặp lại với một phần cụ thể của ADN được khuếch đại có chọn lọc.

Đó là thực tế phổ biến để thực hiện PCR bằng cách đặt lượng được định trước của mẫu mục tiêu vào ống PCR hoặc bình xử lý phản ứng như vi tấm (vi đĩa) trong đó tạo ra nhiều lỗ. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, PCR sử dụng bình xử lý phản ứng (còn được gọi là “chip”) được bố trí với vi ống được tạo ra trên để được thực hiện (ví dụ: Tài liệu sáng chế 1).

[Tài liệu sáng chế 1] Đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế của Nhật Bản số 2009-232700

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các vấn đề được giải quyết bởi sáng chế

Trong PCR sử dụng bình phản ứng thuộc loại ống đối ứng, để áp dụng chu trình nhiệt đối với mẫu, phần lớn các khu vực nhiệt độ được duy trì ở nhiệt độ khác nhau được đặt trên ống và mẫu được di chuyển theo cách đối ứng ở giữa các khu vực nhiệt độ trong ống. Để áp dụng đúng chu trình nhiệt cho mẫu, mẫu cần dừng chính xác ở từng khu vực nhiệt độ. Các biến thể ở vị trí dừng có thể ngăn các phản ứng xảy ra, làm cho tiến trình của các phản ứng thay đổi tùy theo vị trí của mẫu và làm cho các phản ứng như việc khuếch đại ADN không chính xác, mà có thể dẫn đến việc phán đoán sai của các công nhân và/hoặc những người đó tham gia vào công việc.

Trong bối cảnh sáng chế, mục đích của sáng chế là cung cấp công nghệ có khả năng dừng mẫu chính xác ở vị trí định trước trong khu vực nhiệt độ trong bộ xử lý phản ứng có khả năng áp dụng chu trình nhiệt cho mẫu bằng cách di chuyển mẫu theo cách đối ứng trong ống trong đó các khu vực nhiệt độ khác nhau được thiết lập.

Phương tiện giải quyết vấn đề

Bộ xử lý phản ứng theo phương án của sáng chế bao gồm: bình xử lý phản ứng trong đó ống nơi mà sự di chuyển mẫu được tạo ra; hệ thống nạp chất lỏng di chuyển và dừng mẫu trong ống; hệ thống điều khiển nhiệt độ bố trí ở nhiều khu vực nhiệt độ được duy trì ở nhiệt độ khác nhau, nhiều khu vực nhiệt độ bao gồm ít nhất khu vực nhiệt độ thứ nhất và khu vực nhiệt độ thứ hai; hệ thống phát hiện phát hiện mẫu đi qua khu vực phát hiện được đặt giữa các khu vực nhiệt độ liền kề của ống, khu vực phát hiện bao gồm ít nhất một khu vực phát hiện thứ nhất được thiết lập giữa khu vực nhiệt độ thứ nhất và khu vực nhiệt độ thứ hai của ống; và bộ điều khiển điều khiển hệ thống nạp chất lỏng được dựa trên tín hiệu được phát hiện bởi hệ thống phát hiện. Thiết bị điều khiển được tạo ra để thực hiện việc điều khiển đối ứng đối với nhiều chu trình trên mẫu trong đó, trong một chu trình, mẫu được dừng trong một khoảng thời gian cố định ở khu vực nhiệt độ thứ nhất, sau đó chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ nhất sang khu vực nhiệt độ thứ hai sau khi đi qua khu vực phát hiện thứ nhất và sau đó được dừng lại trong một khoảng thời gian cố định, sau đó quay trở lại khu vực nhiệt độ thứ nhất và sau đó dừng lại. Xét theo đó: thời gian chờ cần thiết cho đến thời điểm bộ điều khiển hướng dẫn hệ thống nạp chất lỏng dừng mẫu sau thời gian mẫu đi qua khu vực phát hiện thứ nhất được phát hiện bởi hệ thống phát hiện liên quan đến việc chuyển động từ khu vực nhiệt độ thứ nhất đến khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n (n là số

nguyên tử 1 hoặc lớn hơn) được ký hiệu là $t^{1 \rightarrow 2}_d(n)$; vị trí dừng mục tiêu của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n được ký hiệu là $X^{[2]}_0(n)$; thời gian chuyển tiếp của mẫu đi qua khu vực phát hiện liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ nhất sang khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n được ký hiệu là $t^{1 \rightarrow 2}_p(n)$; chiều dài của mẫu trong ống được ký hiệu là L; và khoảng thời gian cố định cụ thể cho bộ xử lý phản ứng được ký hiệu là t_c , thời gian chờ $t^{1 \rightarrow 2}_d(n)$ được xác định theo phương trình sau: $t^{1 \rightarrow 2}_d(n) = X^{[2]}_0(n) * t^{1 \rightarrow 2}_p(n)/L - t_c$. Vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình (n+1) được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n dựa trên kết quả của việc dừng điều khiển trên mẫu trong chu trình thứ n.

Vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ (n+1) có thể được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n dựa trên vị trí dừng $X^{[2]}_1(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n và vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[2]}_{00}$ trong khu vực nhiệt độ thứ hai.

Vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ (n+1) có thể được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n dựa trên độ chênh lệch $\Delta X^{[2]}(n)$ giữa vị trí dừng $X^{[2]}_1(n)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n và vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[2]}_{00}$ trong khu vực nhiệt độ thứ hai.

Vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ (n+1) có thể được xác định bằng cách điều chỉnh vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n.

Vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]}_0(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ (n+1) có thể được thiết lập theo phương trình sau: $X^{[2]}_0(n+1) = X^{[2]}_0(n) + k^{[2]}(n)$, và biến điều chỉnh $k^{[2]}(n)$ có thể được xác định dựa trên mối quan hệ với độ chênh lệch $\Delta X^{[2]}(n)$ trong chu trình thứ n.

Biến điều chỉnh $k^{[2]}(n)$ có thể được xác định với việc tham chiếu đến bảng mô tả mối quan hệ giữa độ chênh lệch $\Delta X^{[2]}(n)$ và biến điều chỉnh $k^{[2]}(n)$ trong chu trình thứ n.

Vị trí dừng $X^{[2]}_{11}(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n có thể thu được là $X^{[2]}_{11}(n)$ được xác định theo phương trình sau: $X^{[2]}_{11}(n) = L/t^{2 \rightarrow nt_p(n)} * \{t^{2 \rightarrow nt_{mp}(n)} - t_c\}$. Trong phương trình này, $t^{2 \rightarrow nt_p}(n)$ là thời gian chuyển tiếp qua khu vực phát hiện mà mẫu đi qua ngay sau khi rời khỏi khu vực nhiệt độ thứ hai liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ hai sang khu vực nhiệt độ tiếp theo và $t^{2 \rightarrow nt_{mp}}(n)$ là thời gian cần thiết kể từ khi hoạt động của hệ thống nạp chất lỏng được bắt đầu để di chuyển mẫu cho đến khi bộ điều khiển nhận ra đầu của mẫu đã đến khu vực phát hiện mà mẫu đi qua ngay sau đó liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ hai sang khu vực nhiệt độ tiếp theo.

Hiệu quả của sáng chế

Theo sáng chế, công nghệ được đề xuất có khả năng dừng chính xác mẫu ở vị trí định trước trong khu vực nhiệt độ trong bộ xử lý phản ứng có khả năng áp dụng chu trình nhiệt cho mẫu bằng cách di chuyển mẫu theo cách đối ứng trong ống trong đó các khu vực nhiệt độ khác nhau được thiết lập.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Fig.1A và Fig.1B là sơ đồ giải thích bình xử lý phản ứng có thể sử dụng trong bộ xử lý phản ứng theo phương án của sáng chế;

Fig.2 là sơ đồ để giải thích bộ xử lý phản ứng theo phương án của sáng chế;

Fig.3 là sơ đồ giải thích vị trí dừng của mẫu;

Fig.4 là sơ đồ thể hiện những thay đổi trong tín hiệu huỳnh quang;

Fig.5 là sơ đồ thể hiện kết quả của thí nghiệm điều khiển sự di chuyển của mẫu theo ví dụ so sánh 1;

Fig.6 là sơ đồ thể hiện kết quả của thí nghiệm điều khiển sự di chuyển của mẫu theo ví dụ so sánh 2;

Fig.7 là sơ đồ thể hiện kết quả của thí nghiệm điều khiển sự di chuyển của mẫu theo ví dụ so sánh 3;

Fig.8 là sơ đồ để giải thích các chu trình nhiệt;

Fig.9 là sơ đồ so sánh với mẫu được sử dụng trong thí nghiệm được thể hiện trên Fig.5, vị trí dừng thực tế của mẫu với vị trí dừng được ước tính được dựa vào sáng chế;

Fig.10 là sơ đồ so sánh với mẫu được sử dụng trong thí nghiệm được thể hiện trên Fig.6, vị trí dừng thực tế của mẫu với vị trí dừng được ước tính được dựa vào sáng chế;

Fig.11 là sơ đồ so sánh với mẫu được sử dụng trong thí nghiệm được thể hiện trên Fig.7, vị trí dừng thực tế của mẫu với vị trí dừng được ước tính được dựa vào sáng chế;

Fig.12 là sơ đồ thể hiện lưu đồ giải thích phương pháp điều khiển sự di chuyển của mẫu trong bộ xử lý phản ứng theo phương án của sáng chế;

Fig.13 là sơ đồ thể hiện kết quả của thí nghiệm điều khiển sự di chuyển trong đó phương pháp điều khiển sự di chuyển của mẫu theo phương án này đã được sử dụng và là sơ đồ so sánh vị trí dừng thực tế của mẫu với vị trí dừng được ước tính được dựa vào sáng chế ở khu vực nhiệt độ thấp;

Fig.14 là sơ đồ giải thích phương án khác của bình xử lý phản ứng; và

Fig.15 là sơ đồ để giải thích phương án khác của bộ xử lý phản ứng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Việc giải thích sẽ được đưa ra dưới đây liên quan đến bộ xử lý phản ứng theo phương án của sáng chế. Bộ xử lý phản ứng này là thiết bị để thực hiện PCR. Các chi tiết, bộ phận, và quy trình tương tự hoặc tương đương được minh họa trong mỗi hình vẽ sẽ được biểu thị bằng cùng một số tham chiếu và các giải thích trùng lặp sẽ được bỏ qua một cách thích hợp. Hơn nữa, các phương án không giới hạn sáng chế và được thể hiện cho mục đích minh họa, và tất cả các đặc tính được mô tả trong phương án và sự kết hợp của chúng không nhất thiết phải có trong sáng chế.

Fig.1A và Fig.1B là sơ đồ giải thích bình xử lý phản ứng có thể sử dụng trong

bộ xử lý phản ứng theo phương án của sáng chế. Fig.1A là hình chiếu bằng của bình xử lý phản ứng 10 và Fig.1B là hình chiếu nhìn từ phía trước của bình xử lý phản ứng 10.

Như được thể hiện trên các Fig.1A và Fig.1B, bình xử lý phản ứng 10 bao gồm đế 14 và màng bịt kín ống 16.

Tốt hơn là, đế 14 được tạo ra từ vật liệu mà ổn định theo sự thay đổi nhiệt độ và chịu được dung dịch mẫu được sử dụng. Hơn nữa, tốt hơn là đế 14 được tạo ra từ vật liệu có khả năng tạo khuôn tốt, đặc tính trong suốt và chắn tốt và đặc tính tự phát huỳnh quang thấp. Như là một vật liệu như vậy, vật liệu vô cơ như thủy tinh, silicon (Si) hoặc tương tự, nhựa như acrylic, polyeste, silicon, hoặc tương tự, và đặc biệt là xycloolefin được ưu tiên. Ví dụ về kích thước của đế 14 bao gồm cạnh dài 75 mm, cạnh ngắn 25 mm, và độ dày 4 mm.

Rãnh giống như ống 12 được tạo ra ở mặt dưới 14a của đế 14 và ống 12 này được bịt kín bởi màng bịt kín ống 16. Một ví dụ về kích thước của ống 12 được tạo ra ở mặt dưới 14a của đế 14 bao gồm chiều rộng là 0,7 mm và chiều sâu là 0,7 mm. Cổng kết nối thứ nhất 17, mà giao tiếp với bên ngoài, được tạo ra tại vị trí của một đầu của ống 12 trong đế 14. Cổng kết nối thứ hai 18 được tạo ra ở vị trí của đầu kia của ống 12 trong đế 14. Cặp cổng kết nối thứ nhất 17 và cổng kết nối thứ hai 18 được tạo ra ở hai đầu tương ứng của ống 12 được tạo ra để lộ ra ở mặt trên 14b của đế 14. Đế này có thể được sản xuất bằng cách đúc phun ép hoặc công đoạn cắt với máy xử lý NC hoặc tương tự.

Như được thể hiện trên Fig.1B, ở mặt dưới 14a của đế 14, màng bịt kín ống 16 được gắn vào. Trong bình xử lý phản ứng 10 theo phương án, hầu hết ống 12 được tạo ra theo hình ống được lộ ra ở mặt dưới 14a của đế 14. Điều này là để cho phép dễ dàng đúc bằng cách đúc phun ép bằng khuôn kim loại hoặc tương tự. Để bịt kín ống này để tận dụng ống làm Rãnh, màng bịt kín ống 16 được gắn ở mặt dưới 14a của đế 14.

Màng bịt kín ống 16 có thể dính và/hoặc dính trên một trong các bề mặt chính của chúng hoặc có thể có lớp chức năng thể hiện độ dính và/hoặc độ kết dính thông qua quá trình ép, chiếu xạ năng lượng bằng tia cực tím hoặc tương tự, gia nhiệt, v.v. được tạo ra trên một trong số các bề mặt chính. Do đó, màng bịt kín ống 16 có chức

năng dễ dàng trở thành nguyên khối với mặt dưới 14a của đế 14 trong khi tiếp xúc gần với mặt dưới 14a. Màng bịt kín ống 16 được tạo ra từ vật liệu, bao gồm cả chất kết dính, có đặc tính tự phát huỳnh quang thấp. Về mặt này, màng trong suốt làm bằng nhựa như xycloolefin, polyeste, polypropylen, polyetylen hoặc acrylic là phù hợp nhưng không bị giới hạn. Hơn nữa, màng bịt kín ống 16 có thể được tạo ra từ thủy tinh hoặc nhựa giống như tấm. Vì độ cứng có thể được dự kiến trong trường hợp này, màng bịt kín ống 16 rất hữu ích trong việc ngăn sự cong vênh và biến dạng của bình xử lý phản ứng 10.

Ống 12 được bố trí với khu vực phản ứng trong đó việc điều khiển nhiệt độ ở nhiều mức có thể được thực hiện bởi bộ xử lý phản ứng được mô tả sau. Chu trình nhiệt có thể được áp dụng cho mẫu bằng cách di chuyển mẫu sao cho mẫu tịnh tiến liên tục trong khu vực phản ứng nơi mà nhiệt độ của nhiều mức được duy trì.

Khu vực phản ứng của ống 12 được thể hiện trên Fig.1A và Fig.1B bao gồm ống dạng ecpet với các lượt liên tục được thực hiện bằng cách kết hợp các phần cong và các phần thẳng. Khi bình xử lý phản ứng 10 được gắn trên bộ xử lý phản ứng được mô tả sau, phía bên phải của ống 12 trong các hình được dự kiến sẽ trở thành khu vực phản ứng có nhiệt độ tương đối cao (khoảng 95°C) (sau đây gọi là “khu vực nhiệt độ cao”) và phía bên trái của ống 12 được dự kiến sẽ trở thành khu vực có nhiệt độ thấp hơn (khoảng 55°C) (sau đây gọi là “khu vực nhiệt độ thấp”). Hơn nữa, khu vực phản ứng của ống 12 bao gồm khu vực kết nối để kết nối khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp ở giữa. Khu vực nối này có thể là ống thẳng.

Khi khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp là các ống dạng ecpet như theo phương án này, khu vực hiệu quả của bộ gia nhiệt hoặc tương tự cấu tạo điều khiển nhiệt độ được mô tả sau này có thể được sử dụng một cách hiệu quả, và có những lợi thế mà phương sai nhiệt độ trong khu vực phản ứng dễ dàng giảm và kích thước đáng kể của bình xử lý phản ứng có thể giảm, cho phép bộ xử lý phản ứng được làm nhỏ.

Mẫu được đưa vào chu trình nhiệt được đưa vào ống 12 thông qua một trong hai cổng kết nối thứ nhất 17 và cổng kết nối thứ hai 18. Phương pháp đưa vào không giới hạn ở điều này. Ngoài ra, ví dụ, số mẫu thích hợp có thể được đưa trực tiếp qua

công kết nối bằng pipet, ống nhỏ giọt, ống tiêm hoặc các loại tương tự. Ngoài ra, phương pháp đưa vào có thể được sử dụng được thực hiện trong khi ngăn ngừa ô nhiễm thông qua chip kim hình nón, trong đó bộ lọc được làm bằng nhựa xốp hoặc polyetylen được kết hợp. Nói chung, nhiều loại chip kim này được bán và có thể dễ dàng lấy được, và chip hình kim có thể được sử dụng trong khi được gắn vào đầu của pipet, ống nhỏ giọt, ống tiêm hoặc tương tự. Hơn nữa, mẫu có thể được di chuyển đến vị trí định trước trong ống bằng cách xả và đưa mẫu bằng pipet vào, ống nhỏ giọt, ống tiêm hoặc tương tự và sau đó đẩy mẫu thông qua áp suất.

Ví dụ, mẫu bao gồm những mẫu thu được bằng cách thêm đầu dò huỳnh quang, enzym ổn định nhiệt và bốn loại deoxyribonucleosit triphosphat (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) làm chất phản ứng PCR vào hỗn hợp chứa một hoặc nhiều loại ADD. Hơn nữa, mỗi cụ thể phản ứng với ADN được đưa vào quá trình phản ứng được trộn lẫn. Bộ dụng cụ chất phản ứng PCR thời gian thực có bán trên thị trường và các chất tương tự cũng có thể được sử dụng.

Fig.2 là sơ đồ để giải thích bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án của sáng chế;

Bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án được bố trí với phần đặt bình xử lý phản ứng (không được hiển thị) trên đó đặt bình xử lý phản ứng 10, hệ thống điều khiển nhiệt độ 32 và CPU 36. Như được thể hiện trên Fig.2, liên quan đến bình xử lý phản ứng 10 được đặt trên phần đặt bình xử lý phản ứng, hệ thống điều khiển nhiệt độ 32 được tạo cấu hình để có thể duy trì và điều khiển chính xác nhiệt độ của khu vực bên phải của ống 12 của bình xử lý phản ứng 10 trong hình là khoảng 95°C (dải nhiệt độ cao) và nhiệt độ của khu vực bên trái của nó trong hình là khoảng 55 ° C (dải nhiệt độ thấp).

Hệ thống điều khiển nhiệt độ 32 là để duy trì nhiệt độ của từng khu vực nhiệt độ của khu vực phản ứng và được cung cấp cụ thể với bộ gia nhiệt nhiệt độ cao 60 để gia nhiệt khu vực nhiệt độ cao của ống 12, bộ gia nhiệt nhiệt độ thấp 62 để gia nhiệt khu vực nhiệt độ thấp của ống 12, bộ cảm biến nhiệt độ (không được thể hiện), chẳng hạn như cặp nhiệt điện hoặc bộ phận tương tự để đo nhiệt độ thực tế của từng khu vực nhiệt độ, bộ điều khiển nhiệt độ cao 33 để điều khiển nhiệt độ của bộ gia nhiệt nhiệt độ cao 60, và bộ điều khiển nhiệt độ thấp 35 để điều khiển nhiệt độ của bộ gia nhiệt

độ thấp 62. Thông tin về nhiệt độ thực tế được đo bằng bộ cảm biến nhiệt độ được gửi đến CPU 36. Dựa trên thông tin về nhiệt độ thực tế của từng khu vực nhiệt độ, CPU 36 điều khiển từng bộ điều khiển bộ gia nhiệt sao cho nhiệt độ của mỗi bộ gia nhiệt trở thành nhiệt độ định trước. Ví dụ, mỗi bộ gia nhiệt có thể là một bộ phận làm nóng điện trở, bộ phận Peltier hoặc tương tự. Hệ thống điều khiển nhiệt độ 32 có thể được bổ trí thêm với các bộ phận khác để cải thiện khả năng điều khiển nhiệt độ của từng khu vực nhiệt độ.

Bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án được cung cấp thêm hệ thống nạp chất lỏng 37 cho việc di chuyển, bên trong ống 12, mẫu 20 được đưa vào ống 12 của bình xử lý phản ứng 10. Hệ thống nạp chất lỏng 37 được bố trí với bơm thứ nhất 39, bơm thứ hai 40, bộ điều khiển bơm thứ nhất 41 để điều khiển bơm thứ nhất 39, bộ điều khiển bơm thứ hai 42 để điều khiển bơm thứ hai 40, ống thứ nhất 43 và ống thứ hai 44.

Một đầu của ống thứ nhất 43 được nối với cổng kết nối thứ nhất 17 của bình xử lý phản ứng 10. Vật liệu bao gói 45 hoặc dầu niêm phong để đảm bảo độ kín khí tốt hơn là được bố trí tại ngã ba của cổng kết nối thứ nhất 17 và đầu ống thứ nhất 43. Đầu kia của ống thứ nhất 43 được nối với đầu ra của bơm thứ nhất 39. Theo cách tương tự, một đầu của ống thứ hai 44 được nối với Cổng kết nối thứ hai 18 của bình xử lý phản ứng 10. Vật liệu bao gói 46 hoặc dầu niêm phong để đảm bảo độ kín khí tốt hơn là được bố trí tại ngã ba của Cổng kết nối thứ hai 18 và đầu ống thứ hai 44. Đầu kia của ống thứ hai 44 được nối với đầu ra của bơm thứ hai 40.

Ví dụ, bơm thứ nhất 39 và bơm thứ hai 40 có thể là bơm siêu nhỏ, mỗi bơm bao gồm một bơm màng ngăn. Ví dụ, như bơm thứ nhất 39 và bơm thứ hai 40, bơm siêu nhỏ (mô hình MZB1001 T02) được sản xuất bởi Murata Manufacturing Co., Ltd., hoặc tương tự có thể được sử dụng. Mặc dù bơm thổi vi mô này có thể làm tăng áp suất ở phía thứ cấp cao hơn so với phía sơ cấp trong quá trình vận hành, áp suất ở phía sơ cấp và áp suất ở phía thứ cấp bằng nhau tại thời điểm bơm dừng hoặc khi bơm bị dừng lại.

CPU 36 điều khiển việc cung cấp không khí và điều áp từ bơm thứ nhất 39 và bơm thứ hai 40 thông qua bộ điều khiển bơm thứ nhất 41 và bộ điều khiển bơm thứ hai 42. Việc cung cấp và điều áp không khí từ bơm thứ nhất 39 và bơm thứ hai 40 tác động lên mẫu 20 bên trong ống thông qua cổng kết nối thứ nhất 17 và cổng kết nối thứ

hai 18 và trở thành lực động cơ phản lực để di chuyển mẫu 20. Cụ thể hơn nữa là, bằng cách vận hành luân phiên bơm thứ nhất 39 và bơm thứ hai 40, áp suất được tác dụng lên bề mặt đầu của mẫu 20 trở nên lớn hơn áp suất được tác dụng lên đầu kia và lực động cơ phản lực liên quan đến chuyển động của mẫu 20 do đó có thể thu được. Bằng cách vận hành luân phiên bơm thứ nhất 39 và bơm thứ hai 40, mẫu 20 có thể được di chuyển theo cách đối ứng trong ống để đi qua từng khu vực nhiệt độ của ống 12 của bình xử lý phản ứng 10. Kết quả là, chu trình nhiệt có thể được áp dụng cho mẫu 20. Cụ thể hơn, ADN trong mẫu 20 được khuếch đại có chọn lọc bằng cách áp dụng liên tục một bước biến tính ở khu vực nhiệt độ cao và bước ủ và kéo dài ở khu vực nhiệt độ thấp. Nói cách khác, khu vực nhiệt độ cao có thể được xem là khu vực nhiệt độ biến tính và khu vực nhiệt độ thấp có thể được xem là khu vực nhiệt độ ủ và kéo dài. Thời gian lưu trú ở từng khu vực nhiệt độ có thể được thiết lập một cách thích hợp bằng cách thay đổi thời gian trong đó mẫu 20 dừng ở vị trí được định trước ở từng khu vực nhiệt độ.

Bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án được bố trí thêm với máy dò huỳnh quang 50. Như được mô tả ở trên, đầu dò huỳnh quang được định trước được thêm vào mẫu 20. Do cường độ tín hiệu huỳnh quang phát ra từ mẫu 20 làm tăng khi quá trình khuếch đại ADN được tiến hành, giá trị cường độ của tín hiệu huỳnh quang có thể được sử dụng như một chỉ số đóng vai trò là yếu tố quyết định cho tiến trình PCR hoặc chấm dứt phản ứng.

Như là máy dò huỳnh quang 50, máy dò huỳnh quang loại sợi quang FLE-510 được sản xuất bởi Nippon Sheet Glass Co., Ltd., có thể được sử dụng, là hệ thống quang học rất nhỏ gọn cho phép đo nhanh và phát hiện huỳnh quang bất kể cho dù nơi đó là nơi có ánh sáng hoặc nơi tối. Máy dò huỳnh quang loại sợi quang này cho phép điều chỉnh đặc tính bước sóng của ánh sáng / huỳnh quang kích thích để điều chỉnh đặc tính bước sóng phù hợp với đặc tính huỳnh quang phát ra từ mẫu 20 và do đó cho phép hệ thống phát hiện và quang học tối ưu cho mẫu có đặc điểm khác nhau được đề xuất. Hơn nữa, máy dò huỳnh quang loại sợi quang thích hợp để phát hiện huỳnh quang từ một mẫu tồn tại trong một khu vực nhỏ hoặc hẹp như ống vì đường kính nhỏ của tia sáng do máy dò huỳnh quang loại sợi quang được mang lại.

Máy dò huỳnh quang loại sợi quang 50 được bố trí với đầu đọc quang 51, bộ

điều khiển dò huỳnh quang 52 và sợi quang 53 kết nối đầu đọc quang 51 và bộ điều khiển dò huỳnh quang 52. Bộ điều khiển dò huỳnh quang 52 bao gồm nguồn sáng cho ánh sáng kích thích (đèn LED, laze hoặc nguồn sáng được điều chỉnh để phát ra các bước sóng cụ thể khác), bộ ghép ống/bộ tách ống quang và thiết bị chuyển đổi quang điện (PD, APD hoặc bộ dò ánh sáng như máy quang kế) (không được hiển thị), và tương tự và được tạo ra từ bộ điều khiển hoặc tương tự để điều khiển chúng. Đầu đọc quang 51 được tạo ra từ hệ thống quang học như thấu kính và có chức năng chiếu xạ hướng mẫu bằng ánh sáng kích thích và thu huỳnh quang được phát ra từ mẫu. Huỳnh quang thu được được tách ra khỏi ánh sáng kích thích bằng bộ ghép ống / bộ tách ống loại sợi quang bên trong bộ điều khiển dò huỳnh quang 52 thông qua sợi quang 53 và được chuyển đổi thành tín hiệu điện bởi thành phần chuyển đổi quang điện.

Trong bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án sáng chế, đầu dò quang 51 được bố trí sao cho huỳnh quang từ mẫu 20 đi qua khu vực một phần 65 (gọi là khu vực phát hiện huỳnh quang 65''') trong khu vực kết nối nối khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp có thể được phát hiện. Do phản ứng tiến triển trong khi mẫu 20 được di chuyển liên tục theo cách đối ứng trong ống sao cho ADN được xác định trước trong mẫu 20 được khuếch đại, bằng cách theo dõi sự thay đổi lượng huỳnh quang được phát hiện, có thể học được tiến trình khuếch đại ADN trong thời gian thực. Hơn nữa, trong bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án, giá trị đầu ra từ máy dò huỳnh quang 50 được sử dụng để điều khiển chuyển động của mẫu 20, như được mô tả sau đó. Máy dò huỳnh quang không bị giới hạn ở máy dò huỳnh quang loại sợi quang miễn là máy dò huỳnh quang thể hiện chức năng phát hiện huỳnh quang từ mẫu.

Fig.3 là sơ đồ giải thích vị trí dừng của mẫu. Như đã được mô tả ở trên, trong bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án, để áp dụng chu trình nhiệt cho mẫu 20 bằng cách di chuyển mẫu theo cách đối ứng trong ống 12, phần lớn các khu vực nhiệt độ (nghĩa là khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp hơn) mỗi khu vực được duy trì ở nhiệt độ khác nhau được đặt trên ống 12. Để áp dụng đúng chu trình nhiệt cho mẫu 20, mẫu 20 cần dừng chính xác ở từng khu vực nhiệt độ. Các biến thể ở vị trí dừng có thể ngăn các phản ứng xảy ra, làm cho các phản ứng thay đổi tùy theo vị trí của mẫu và làm cho các phản ứng như việc khuếch đại ADN không chính xác, mà có thể dẫn đến phán đoán sai lầm của các công nhân và/hoặc những người đó tham gia vào công

việc.

Như đã được mô tả ở trên, đầu đọc quang 51 của máy dò huỳnh quang 50 được bố trí để phát hiện huỳnh quang từ mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 của ống 12. Máy dò huỳnh quang 50 phát hiện tín hiệu huỳnh quang từ mẫu 20 trong khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và truyền tín hiệu đến CPU 36 cứ sau 0,01 giây. CPU 36 nhận được tín hiệu huỳnh quang, thực hiện xử lý số học như làm tròn tru giá trị tín hiệu huỳnh quang và lấy trung bình như trung bình di động, so sánh với giá trị ngưỡng được định trước (sau đây đôi khi được gọi chung là “đánh giá và tương tự”), và tương tự, và bố trí tín hiệu dừng hoặc tín hiệu vận hành cho hệ thống nạp chất lỏng 37 được dựa trên kết quả của chúng.

Trong Fig.3, khu vực phát hiện huỳnh quang 65 được bố trí gần phần giữa khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp; tuy nhiên, điều này là không giới hạn. Ví dụ, việc bố trí của chúng có thể bị lệch về phía khu vực nhiệt độ cao hoặc về phía khu vực nhiệt độ thấp. Do đầu ra của bộ gia nhiệt nhiệt độ thấp 62 được bố trí ở khu vực nhiệt độ thấp có thể thấp hơn nhiệt độ của bộ gia nhiệt nhiệt độ cao 60 được bố trí ở khu vực nhiệt độ cao, nên có thể sử dụng các bộ phận gia nhiệt phù hợp nhỏ hoặc mỏng, và trong trường hợp, đầu đọc quang 51 cũng có thể được bố trí trong khi bị lệch về phía nhiệt độ thấp.

Fig.3 thể hiện điều kiện nơi mà mẫu 20 ở vị trí X. Khoảng cách X của mẫu 20 là khoảng cách ở giữa giao diện thuộc phần đầu của mẫu 20 mà gần nhất với khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và ở giữa của khu vực phát hiện huỳnh quang 65. Vị trí của mẫu 20 được biểu thị bằng khoảng cách X từ tâm của khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và đôi khi được biểu thị đơn giản là “vị trí của X”. Hơn nữa, ngay cả khi mẫu ở khu vực nhiệt độ cao hoặc khu vực nhiệt độ thấp, giá trị của X được xem là khoảng cách vô hướng từ tâm của khu vực phát hiện huỳnh quang 65.

Việc dừng mẫu 20 tại vị trí dừng mục tiêu X_0 hiện đang được xem xét. Khi mẫu 20 có mặt tại vị trí dừng mục tiêu X_0 này, mẫu 20 được gia nhiệt thích hợp nhất và được duy trì ở nhiệt độ được định trước. Vị trí dừng mục tiêu X_0 được xác định dựa trên phạm vi và vị trí của khu vực nhiệt độ của bộ xử lý và cấu hình của bình xử lý phản ứng 10.

Như đã được mô tả ở trên, trong trường hợp, ví dụ, vị trí của khu vực phát hiện huỳnh quang 65 bị lệch về khu vực nhiệt độ cao hoặc khu vực nhiệt độ thấp, vị trí dừng mục tiêu ở phía khu vực nhiệt độ cao và vị trí dừng mục tiêu ở phía khu vực nhiệt độ thấp là khác nhau. Sau đây, nói chung, trong trường hợp vị trí dừng mục tiêu được xem xét, khoảng cách được mô tả đơn giản là X_0 . Tuy nhiên, cần lưu ý rằng, như được mô tả ở trên, vị trí dừng mục tiêu ở phía khu vực nhiệt độ cao và vị trí dừng mục tiêu ở phía khu vực nhiệt độ thấp không cần phải giống nhau.

Dòng chảy để dừng mẫu 20 được hiển thị dưới đây.

(1) Mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 (máy dò huỳnh quang 50 truyền tín hiệu huỳnh quang đến CPU 36).

(2) CPU 36 phát hiện đường dẫn của mẫu 20 dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang 50.

(3) CPU 36 truyền tín hiệu dừng cho bơm thứ nhất 39 đến bộ điều khiển bơm thứ nhất 41 hoặc truyền tín hiệu dừng cho bơm thứ hai 40 đến bộ điều khiển bơm thứ hai 42.

(4) Dừng bơm thứ nhất 39 hoặc bơm thứ hai 40.

(5) Dừng mẫu 20.

Trong bình xử lý phản ứng 10 theo phương án này, đầu đọc quang 51 của máy dò huỳnh quang 50 được bố trí gần phần giữa ở giữa khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp và phát hiện sự đi qua của mẫu. Do đó, để dừng mẫu 20 tại vị trí dừng mục tiêu X_0 , cần xác định thời gian cần thiết là bao lâu cho đến khi dừng bơm sau khi mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65.

Thời gian (sau đây, được gọi là “thời gian chờ”) t_d đã sử dụng từ khi mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 được phát hiện bởi máy dò huỳnh quang 50 cho đến khi CPU 36 ra lệnh cho máy bơm để dừng mẫu 20 thông qua bộ điều khiển bơm có thể được biểu thị bằng phương trình sau (1).

$$t_d = X_0/v - t_c \quad (1)$$

Trong phương trình (1), X_0 là vị trí dừng mục tiêu, v là tốc độ di chuyển khi mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và t_c là thời gian trì hoãn không đổi dành riêng cho bộ xử lý.

Lời giải thích được đưa ra liên quan đến thời gian trì hoãn t_c . Đường dẫn của mẫu 20 không được CPU 36 nhận ra cùng lúc với đường dẫn được phát hiện bởi máy dò huỳnh quang 50. Tín hiệu huỳnh quang được phát hiện từ mẫu 20 yêu cầu xử lý trung bình của tín hiệu, việc xử lý số học để so sánh với giá trị ngưỡng (giá trị tham chiếu của cường độ tín hiệu huỳnh quang được định trước để đánh giá mẫu 20 có trong khu vực phát hiện huỳnh quang 65) để xác định và các giá trị tương tự. Do đó, sau khi mẫu 20 thực sự đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65, thời gian trì hoãn được xác định trước t_c được tạo ra cho đến khi CPU 36 nhận ra đường dẫn.

Tiếp theo, tốc độ di chuyển v của mẫu sẽ được giải thích. Fig.4 thể hiện một ví dụ về những thay đổi trong tín hiệu huỳnh quang được phát hiện bởi máy dò huỳnh quang 50 và thu được do hoạt động như việc xử lý di chuyển trung bình bằng CPU 36. Trong Fig.4, trục hoành thể hiện thời gian có 0 trong thời gian trước khi mẫu 20 đi vào khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và khi phát hiện tín hiệu huỳnh quang được bắt đầu và trục tung thể hiện cường độ đầu ra tín hiệu huỳnh quang từ bộ điều khiển dò huỳnh quang 52. Như được thể hiện trên Fig.4, khi mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65, mối quan hệ giữa thời gian và tín hiệu huỳnh quang được phát hiện là tín hiệu huỳnh quang tăng từ 0 hoặc đường cơ sở khi mẫu 20 đi vào khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và tín hiệu huỳnh quang giảm xuống 0 hoặc đường cơ sở một lần nữa khi mẫu 20 thoát khỏi khu vực phát hiện huỳnh quang 65.

Dựa trên biểu đồ được thể hiện trên Fig.4, thu được thời gian chuyển tiếp t_p của mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65. Vì thời gian chuyển tiếp t_p là chênh lệch về thời gian, thời gian chuyển tiếp không bị ảnh hưởng bởi thời gian trì hoãn của bộ xử lý. Ví dụ: 50% độ chênh lệch ở giữa đường cơ sở và giá trị đỉnh được đặt làm giá trị ngưỡng, thời gian tương ứng với điểm A trên Fig.4 tương ứng với thời gian sớm nhất được đặt là thời gian vào của (phần cuối phần đầu của) mẫu 20 và thời gian tương ứng với điểm B tương ứng với thời gian gần nhất được đặt là thời gian thoát của (phần cuối phía sau) của mẫu 20 trong số các điểm giao nhau của một đường thẳng biểu thị giá trị ngưỡng song song với trục hoành và đường cong tín hiệu huỳnh quang và độ

chênh lệch giữa thời gian tương ứng với điểm A và thời gian tương ứng với điểm B được đặt là thời gian chuyển tiếp t_p của mẫu 20. Những người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể tùy ý và tự do đặt tỷ lệ phần trăm chênh lệch giữa giá trị cực đại của tín hiệu huỳnh quang và đường cơ sở cho giá trị ngưỡng. Dựa vào thể tích của mẫu 20 được đưa vào ống, độ dài L của mẫu trong ống được xác định. Dựa vào chiều dài L đã biết của mẫu 20 và thời gian chuyển tiếp t_p của mẫu 20, CPU 36 có thể tính được tốc độ di chuyển v của mẫu 20 bằng cách sử dụng $v = L / t_p$.

Thời gian trì hoãn t_c có thể đạt được bằng thử nghiệm bằng cách đặt thời gian chờ tạm thời t_d (có thể là 0 (giây) đầu tiên) bằng cách sử dụng vị trí dừng mục tiêu X_0 và tốc độ di chuyển v của mẫu, di chuyển mẫu 20 theo cách đối ứng và sau đó thu được độ chênh lệch giữa vị trí dừng thực tế X_1 và vị trí dừng đích X_0 của mẫu 20, sau đó thực hiện thử nghiệm và lỗi để giảm thiểu độ chênh lệch nhiều nhất có thể.

Các tác giả sáng chế đã giới thiệu giải pháp FITC (fluorescein isothiocyanat: mẫu phát huỳnh quang) của nồng độ được định trước (ví dụ: 100 nM (đơn vị [nM] là nanomol và là nanomol/lít) được điều chỉnh sao cho độ dài của ống là 40 mm, ống 12 có chiều rộng 0,7 mm và độ sâu là 0,7 mm của bình xử lý phản ứng 10 như được thể hiện trên Fig.1 và thu được thời gian trì hoãn t_c dựa trên thực nghiệm dựa trên vị trí dừng mục tiêu được xác định trước X_0 và di chuyển tốc độ v (thời gian chuyển tiếp t_p) của mẫu 20. Đối với thời gian chuyển tiếp t_p của mẫu 20, đầu ra của bơm đóng vai trò lực đẩy của mẫu 20 đã được điều chỉnh để trở nên ổn định đáng kể (cụ thể là 0,5 giây) bằng phản hồi được định trước. Kết quả là, trong bình xử lý phản ứng 10 và bộ xử lý phản ứng 30 được sử dụng trong thí nghiệm, bằng cách đặt thời gian trì hoãn t_c là 0,175 giây, đã tìm thấy sự khác biệt giữa vị trí dừng thực tế X_1 và vị trí dừng đích X_0 của mẫu 20 để có thể được giảm thiểu.

Tiếp theo, các tác giả sáng chế đã sử dụng làm mẫu thành phần dung dịch phản ứng của SpeedSTAR HS ADN polymeraza (SpeedSTAR là nhãn hiệu đã đăng ký) được sản xuất bởi Takara Bio Inc., dùng làm ADN polymeraza cho chất phản ứng PCR. SpeedSTAR HS ADN polymeraza này được đi cùng với các hợp chất cần thiết cho PCR, chẳng hạn như hỗn hợp các triphosphat deoxyribonucleosit nêu trên (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), chất đệm, v.v. dùng làm mẫu. Do đó, độ chênh lệch giữa vị trí dừng thực tế X_1 và vị trí dừng mục tiêu X_0 của mẫu được tìm thấy lớn dần khi sự di

chuyển của mẫu được điều khiển được dựa trên phương trình trên (1) trong bộ xử lý phản ứng 30. Khi vị trí dừng thực tế X_1 và vị trí dừng mục tiêu X_0 của mẫu lớn, có khả năng điều khiển nhiệt độ của mẫu không thể được thực hiện với độ chính xác cao.

Các tác giả sáng chế đã chuẩn bị hai mẻ bằng cách chuẩn bị một mẫu trong đó SpeedSTAR HS ADN polymeraza được mô tả ở trên được tạo thành chế phẩm dung dịch phản ứng và tiến hành thử nghiệm để điều khiển sự di chuyển của mẫu. Các kết quả thử nghiệm trên hai mẻ này được thể hiện trên Fig.5 và Fig.6 lần lượt là các ví dụ so sánh 1 và 2.

Trong các Fig.5 và Fig.6, trục hoành biểu thị số chu trình n (n là số nguyên từ 1 trở lên) và trục tung biểu thị vị trí dừng thực tế $X_1(n)$ tương ứng với số đếm chu trình n . Trong một chu trình, mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp và sau đó quay trở lại từ khu vực nhiệt độ thấp đến khu vực nhiệt độ cao. Trong các Fig.5 và Fig.6, đường nét liền chỉ vị trí $X^{[L]}_1(n)$ tại đó mẫu được dừng ở khu vực nhiệt độ thấp khi chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp (HL) và đường nét đứt biểu thị vị trí $X^{[H]}_1(n)$ tại đó mẫu được dừng ở khu vực nhiệt độ cao khi chuyển từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao (LH).

Vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ và $X^{[H]}_1(n)$ của mẫu được lấy bằng cách chuyển động mẫu lặp đi lặp, phóng to và quan sát mẫu ở độ phóng đại được định trước trực tiếp ở trên, và đo khoảng cách từ tâm của khu vực phát hiện huỳnh quang 65 đến đầu của mẫu gần với khu vực phát hiện huỳnh quang 65 bằng thước kẻ.

Như có thể thấy trong Fig.5 và Fig.6, vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ và $X^{[H]}_1(n)$ của mẫu có xu hướng giảm khi số chu trình n tăng và xu hướng rõ ràng là trong $X^{[L]}_1(n)$ cụ thể (nghĩa là, mẫu có xu hướng tiếp cận khu vực phát hiện huỳnh quang 65 khi số chu trình n tăng). Do hiện tượng này không xảy ra ngay cả khi mẫu chỉ được dựa trên dung dịch FITC được đưa vào, các tác giả sáng chế đã tìm thấy, do kết quả của thử nghiệm và lỗi nghiêm túc, rằng hiện tượng đó đã được gây ra do sự có mặt của chất hoạt động bề mặt có trong ADN polymeraza với lượng được định trước. Trong mỗi ADN polymeraza được sử dụng trong các ví dụ so sánh 1 và 2 được thể hiện trong Fig.5 và Fig.6, Tween20 và Nonidet P-40 (Nonidet là nhãn hiệu đã được đăng ký), là các chất hoạt động bề mặt không ion, được thêm vào mỗi lượng 0,01 phần trăm theo

trọng lượng.

Thật vậy, mẫu được chuẩn bị bằng cách thêm Tween20, chất hoạt động bề mặt có trong các ADN polymeraza ở trên, trong dung dịch FITC có nồng độ 100 nM sao cho nồng độ Tween20 là 0,01% trọng lượng và thử nghiệm đã được thực hiện đối với mẫu này. Vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ và $X^{[H]}_1(n)$ của mẫu có xu hướng giảm khi số chu trình n tăng, và đặc biệt là xu hướng đặc biệt ở vị trí dừng $X^{[L]}_1(n)$ ở khu vực nhiệt độ thấp khi mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp ($H \rightarrow L$). Kết quả thử nghiệm này được thể hiện trên Fig.7 như ví dụ so sánh 3.

Các tác giả sáng chế đã cải tiến phương pháp điều khiển chuyển động của mẫu dựa trên phương trình (1) khi xem xét tình huống nơi mà diễn ra sự di chuyển mẫu ở vị trí dừng (làm giảm khoảng cách dừng).

Việc giải thích sẽ được đưa ra dưới đây liên quan đến một phương pháp điều khiển chuyển động theo phương án sáng chế. Trường hợp mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp ($H \rightarrow L$) sẽ được xem xét ở đây. Tuy nhiên, có thể xem xét điều tương tự áp dụng đối với trường hợp mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao ($L \rightarrow H$).

Đầu tiên, phương trình (1) ở trên để có được thời gian chờ được viết lại thành phương trình (2) dưới đây sử dụng hậu tố.

$$\begin{aligned} t^{H \rightarrow L}_d(n) &= X^{[L]}_0(n)/v^{H \rightarrow L}_p(n) - t_c \\ &= X^{[L]}_0(n) * t^{H \rightarrow L}_p(n)/L - t_c \quad (2) \end{aligned}$$

Fig.8 là sơ đồ để giải thích các chu trình nhiệt; Như được thể hiện trên Fig.8, trong một chu trình, mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp và dừng lại, sau đó quay trở lại từ khu vực nhiệt độ thấp đến khu vực nhiệt độ cao và dừng lại. CPU 36 của bộ xử lý phản ứng 30 được tạo ra để thực hiện việc điều khiển qua lại cho nhiều chu trình trên mẫu.

Việc giải thích chi tiết sẽ được đưa ra liên quan đến từng mục trong phương trình trên (2). Trong phần giải thích dưới đây, n là số nguyên từ 1 trở lên và hậu tố $H \rightarrow L$ của mỗi ký hiệu là sự chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ

thấp.

Mục $t^{H \rightarrow L_d}(n)$ biểu thị thời gian chờ khi mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n và là thời gian cần thiết kể từ thời điểm phát hiện mẫu qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 bằng máy dò huỳnh quang 50 cho đến thời điểm CPU 36 hướng dẫn hệ thống nạp chất lỏng 37 dừng mẫu.

Mục $X^{[L]}_0(n)$ là vị trí dừng mục tiêu của mẫu trong khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n và được biểu thị bằng khoảng cách từ tâm của khu vực phát hiện huỳnh quang 65 đến đầu của mẫu (xem Hình 3).

Mục $t^{H \rightarrow L_p}(n)$ biểu thị thời gian chuyển tiếp của mẫu qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n (xem Fig.4). Mục $V^{HL}_p(n)$ thể hiện tốc độ di chuyển của mẫu qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 liên quan đến sự chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n .

L là chiều dài của mẫu trong ống. t_c là thời gian trì hoãn và là hằng số nội tại dựa trên các thông số kỹ thuật của bộ xử lý phản ứng 30, bình xử lý phản ứng 10 và tương tự. Thời gian trì hoãn $t_c = 0,175$ giây thu được bằng thực nghiệm như được mô tả ở trên đã được áp dụng ở đây.

Trong bộ xử lý phản ứng 30, khi di chuyển mẫu từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n , CPU 36 hướng dẫn hệ thống nạp chất lỏng 37 dừng mẫu tại thời điểm xác định thời gian chờ $t^{H \rightarrow L_d}(n)$ trong phương trình trên (2) đã trôi qua kể từ thời điểm mẫu đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 được phát hiện bởi máy dò huỳnh quang 50.

Ở đây, trong bộ xử lý phản ứng 30 theo phương án sáng chế, vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu khi di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao đến khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ $(n+1)$, là chu trình tiếp theo của chu trình thứ n , được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ của mẫu trong chu trình thứ n dựa trên kết quả kiểm soát dừng trên mẫu trong chu trình thứ n . Như được thể hiện trên Fig.5 đến Fig.7, có xu hướng vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ của mẫu thay đổi (chủ yếu tiếp cận khu vực phát hiện huỳnh quang 65) khi số chu trình tăng khi có chất hoạt động bề mặt

trong mẫu. Do đó, bằng cách đặt vị trí dừng đích $X^{[L]}_0(n+1)$ của chu trình thứ $(n+1)$ tiếp theo dựa trên kết quả kiểm soát dừng của mẫu trong chu trình thứ n , có thể dừng mẫu tại một vị trí chính xác hơn. Cần lưu ý rằng vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ trong chu trình thứ $(n+1)$ không chỉ có giá trị khác với vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ trong chu trình thứ n nhưng cũng là giá trị giống với giá trị của vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ trong chu trình thứ n là kết quả của việc hiệu chỉnh.

Cụ thể hơn nữa là, vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu trong chu trình thứ $(n+1)$ được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ trong chu trình thứ n dựa trên độ chênh lệch $\Delta X^{[L]}(n)$ giữa vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ của mẫu trong chu trình thứ n và vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$. Vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$ là vị trí mà mẫu phải có mặt ở khu vực nhiệt độ thấp trong thiết kế. Vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$ là giá trị được xác định dựa trên thiết kế và cấu hình của bộ xử lý phản ứng 30 và bình xử lý phản ứng 10. Không cần phải nói rằng càng gần vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$ vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ của mẫu thì càng mong muốn là vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$.

Vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu trong chu trình thứ $(n+1)$ có thể được thiết lập bằng cách thêm biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ vào vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ của mẫu trong chu trình thứ n như trong phương trình (3) dưới đây. Giá trị ban đầu của biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ có thể là 0.

$$X^{[L]}_0(n+1) = X^{[L]}_0(n) + k^{[L]}(n) \quad (3)$$

Biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ có thể được xác định dựa trên độ chênh lệch $\Delta X^{[L]}(n)$ giữa vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ của mẫu trong chu trình thứ n và vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$. Ví dụ, bảng trong đó mối quan hệ giữa độ chênh lệch $\Delta X^{[L]}(n)$ trong chu trình thứ n và biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ được mô tả như trong Bảng 1 dưới đây có thể được chuẩn bị trước, và biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ có thể được xác định với việc tham chiếu đến bảng.

Bảng 1 -

$\Delta X^{[L]}(n)$	$k^{[L]}(n)$
---------------------	--------------

[Đơn vị: mm]	[Đơn vị: mm]
$-99 \geq \Delta X^{[L]}(n) < -10$	+10
$-10 \geq \Delta X^{[L]}(n) < -5$	+5
$-5 \geq \Delta X^{[L]}(n) \geq 5$	0
$5 < \Delta X^{[L]}(n) \leq 10$	-5
$10 < \Delta X^{[L]}(n) \leq 99$	-10

Bảng 1 ở trên xác định như sau: Trong phần mô tả dưới đây, biểu thức “xa hơn vị trí cụ thể X” có nghĩa là “cách xa vị trí X nhìn từ khu vực phát hiện huỳnh quang 65” và có nghĩa là giá trị của X là vị trí được tạo ra lớn hơn và biểu thức gần hơn vị trí cụ thể Xv có nghĩa là gần hơn so với vị trí X được xem từ khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và có nghĩa là giá trị của X là vị trí được tạo nhỏ hơn.

- Khi vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ trong chu trình thứ n gần hơn vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$, vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ trong chu trình thứ (n+1) được thiết lập xa hơn vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ trong chu trình thứ n.

- Khi vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ trong chu trình thứ n gần như giống với vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$, vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ trong chu trình thứ (n+1) được thiết gần như giống với vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ trong chu trình thứ n.

- Khi vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ trong chu trình thứ n xa hơn vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$, vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ trong chu trình thứ (n+1) được thiết lập gần hơn vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ trong chu trình thứ n.

Ví dụ: khi độ chênh lệch $\Delta X^{[L]}(n)$ trong chu trình thứ n là -7 mm, biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ được xác định là +5 mm được dựa vào bảng. Trong trường hợp này, vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu trong chu trình thứ (n+1) được thiết lập thành giá trị thu được bằng cách thêm +5 mm vào vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ của

mẫu trong chu trình thứ n . Ví dụ: khi độ chênh lệch $\Delta X^{[L]}(n)$ trong chu trình thứ n là -2 mm, biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ được xác định là 0 mm được dựa vào bảng. Trong trường hợp này, vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu trong chu trình thứ $(n+1)$ được thiết lập thành giá trị giống với vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ của mẫu trong chu trình thứ n .

Trong phần mô tả ở trên, bằng cách thêm biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ vào vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ của mẫu trong chu trình thứ n , vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu trong chu trình thứ $(n+1)$ thu được. Tuy nhiên, phương pháp thiết lập vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu trong chu trình thứ $(n+1)$ không bị giới hạn trong phương pháp này. Ngoài phương pháp điều khiển đã biết chẳng hạn điều khiển PID, các biến điều chỉnh khác với các thuật ngữ được sử dụng trong các hệ số hiệu chỉnh có thể được xem xét hoặc được kết hợp.

Trong mô tả ở trên, vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ của mẫu được sử dụng để xác định biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$. Tuy nhiên, khi thực sự sử dụng bộ xử lý phản ứng 30, làm thế nào để có được vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ của mẫu là một vấn đề. Điều này là do các bộ cảm biến phát hiện vị trí không được thiết lập ở từng khu vực nhiệt độ trong bộ xử lý phản ứng 30. Do đó, phương pháp ước tính vị trí dừng thực tế của mẫu trong từng khu vực nhiệt độ sẽ được mô tả.

Vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n có thể được ước tính theo phương trình (4) dưới đây. Khi vị trí dừng được ước tính của mẫu được viết là $X^{[L]}_{11}(n)$, sau đây được thiết lập.

$$X^{[L]}_{11}(n) = L/t^{L \rightarrow H}_p(n) * \{t^{L \rightarrow H}_{mp}(n) - t_c\} \quad (4)$$

Trong phương trình (4), $t^{L \rightarrow H}_p(n)$ là thời gian chuyển tiếp của mẫu qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thấp đến khu vực nhiệt độ cao trong chu trình thứ n . Hơn nữa, $t^{L \rightarrow H}_{mp}(n)$ là thời gian cần thiết kể từ khi hoạt động của hệ thống nạp chất lỏng 37 được bắt đầu để di chuyển mẫu cho đến khi CPU 36 nhận ra rằng đầu của mẫu đã đạt đến khu vực phát hiện huỳnh quang 65 liên quan đến sự chuyển động từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao trong chu trình thứ n .

Fig.9 đến Fig.11 thể hiện các kết quả xác minh tính hợp lệ của phương trình (4) ở trên. Trong các Fig.9 đến Fig.11, trục hoành biểu thị số chu trình n và trục tung biểu thị vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ (giá trị đo) của mẫu và vị trí dừng được ước tính $X^{[L]}_{11}(n)$ (giá trị được ước tính) của mẫu ở khu vực nhiệt độ thấp khi chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp. Trong các Fig.9 đến Fig.11, đường nét liền thể hiện giá trị đo $X^{[L]}_1(n)$ và dấu \circ thể hiện giá trị ước tính $X^{[L]}_{11}(n)$ được ước tính dựa trên phương trình (4). Fig.9 là kết quả thử nghiệm cho mẫu được sử dụng trong thử nghiệm được thể hiện trên Fig.5 ở trên. Fig.10 là kết quả thử nghiệm cho mẫu được sử dụng trong thử nghiệm được thể hiện trên Fig.6 ở trên. Fig.11 là kết quả thử nghiệm cho mẫu được sử dụng trong thử nghiệm được thể hiện trên Fig.7 ở trên.

Từ các Fig.9 đến Fig.11, có thể xác định giá trị đo $X^{[L]}_1(n)$ và giá trị được ước tính $X^{[L]}_{11}(n)$ gần như bằng nhau (giá trị tuyệt đối của độ chênh lệch giữa tối đa là 3 mm). Do đó, ước tính vị trí dừng dựa trên phương trình (4) dường như gần như chính xác và có thể thấy rằng $X^{[L]}_1(n)$ và $X^{[L]}_{11}(n)$ có thể được coi là xấp xỉ bình đẳng với nhau.

Như đã được giải thích ở trên, bộ xử lý phản ứng theo phương án này thực hiện điều khiển chuyển động, mà được gọi là loại điều khiển phản hồi, trên mẫu sau khi có được vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n+1)$ của mẫu với liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ $(n+1)$ dựa trên thời gian vận chuyển $t^{HL}_p(n)$ của mẫu qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65, vị trí dừng (được ước tính) $X^{[L]}_{11}(n)$ của mẫu và vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(n)$ của mẫu liên quan đến chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình thứ n . Sự chuyển động của mẫu từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp chủ yếu được giải thích ở trên. Tuy nhiên, điều tương tự cũng có thể được áp dụng cho sự di chuyển của mẫu từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao miễn là thay thế các hậu tố $[L]$, $H \rightarrow L$ và $L \rightarrow H$ trong các phương trình (2) đến (4) đến $[H]$, $L \rightarrow H$ và $H \rightarrow L$, tương ứng, được sử dụng.

Fig.12 là lưu đồ giải thích phương pháp điều khiển sự di chuyển của mẫu trong bộ xử lý phản ứng theo phương án của sáng chế. Trong lưu đồ này, phương pháp điều khiển liên quan đến sự di chuyển của mẫu từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp sẽ được giải thích. Tuy nhiên, điều tương tự cũng áp dụng cho sự chuyển động

của mẫu từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao.

Đầu tiên, trong thiết kế, CPU 36 đặt vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$, đây là vị trí mà mẫu phải có trong khu vực nhiệt độ thấp (S10). $X^{[L]}_{00}$ được biểu thị bằng khoảng cách từ tâm của khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và được thiết lập thành, ví dụ, $X^{[L]}_{00} = 30 \text{ mm}$.

Sau đó, CPU 36 thiết lập giá trị của n thành 1 và đặt vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0$ (1) trong chu trình đầu tiên đến vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$ (S 12).

CPU 36 hoạt động, trong hệ thống nạp chất lỏng 37, bơm thứ nhất 39 để bắt đầu mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp (S14). Mẫu đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 và CPU 36 đo cường độ tín hiệu huỳnh quang để thu được $t^{H \rightarrow L}_p$ (1) dựa trên giá trị ngưỡng và tính toán và xác định thời gian chờ $t^{H \rightarrow L}_d$ (1) trong chu trình đầu tiên dựa trên chu trình đầu tiên dựa trên phương trình (2) (S16). Về giá trị ngưỡng để đo $t^{H \rightarrow L}_p$ (1), ước tính có thể được thực hiện dựa trên kinh nghiệm là giá trị ban đầu khi $n = 1$ (chu trình đầu tiên) và giá trị có thể được xác định dựa trên ước tính. Trong trường hợp $n = 2$ (chu trình thứ hai), $t^{H \rightarrow L}_p$ (2) có thể thu được dựa trên cường độ tín hiệu huỳnh quang đo được tại thời điểm chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp khi $n = 1$ và trên ngưỡng giá trị. Như đã được mô tả ở trên, giá trị ngưỡng có thể là 50% độ chênh lệch cường độ giữa cường độ tại đường cơ sở và cường độ cực đại trong sự thay đổi của cường độ tín hiệu huỳnh quang. Về giá trị ngưỡng, dựa trên cường độ tín hiệu huỳnh quang được đo tại thời điểm chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp khi $n = n'$ (chu trình thứ n (n' là số nguyên từ 2 trở lên)), giá trị ngưỡng cho chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp cho $n = n' + 1$ (chu trình thứ ($n' + 1$)) và giá trị ngưỡng cho sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thấp đến khu vực nhiệt độ cao cho $n = n' + 1$ (chu trình thứ ($n' + 1$)) có thể thu được. Hơn nữa, dựa trên cường độ tín hiệu huỳnh quang được đo tại thời điểm chuyển động từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao khi $n = n'$ (chu trình thứ n), giá trị ngưỡng cho chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp cho $n = n' + 1$ (chu trình thứ ($n' + 1$)) và giá trị ngưỡng cho sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thấp đến khu vực nhiệt độ cao cho $n = n' + 1$ (chu trình thứ ($n' + 1$)) có thể thu được.

Khi bắt đầu chu trình nhiệt PCR sử dụng mẫu được làm từ ADN thực tế hoặc tương tự, ADN, v.v., của mẫu thử nghiệm vẫn chưa được khuếch đại đủ. Tuy nhiên, ngay cả khi bắt đầu chu trình nhiệt, huỳnh quang được phát ra từ mẫu chứa đầu dò huỳnh quang, và rất dễ phân biệt giữa đường cơ sở và cực đại và để đạt được giá trị ngưỡng dựa trên sự thay đổi cường độ tín hiệu huỳnh quang đã được đo. Do đó, không có vấn đề gì với phép đo $t^{H \rightarrow L_p}(n)$ và phép tính $t^{H \rightarrow L_d}(n)$ (n là số nguyên từ 2 trở lên).

Sau đó, CPU 36 dừng mẫu ở khu vực nhiệt độ thấp theo thời gian chờ $t^{HL_d}(1)$ được xác định trong S16 (S18). Nói cách khác, CPU 36 chỉ thị cho hệ thống nạp chất lỏng 37 dừng mẫu tại thời điểm khi thời gian chờ $t^{H \rightarrow L_d}(1)$ trôi qua kể từ khi phát hiện mẫu xuyên qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65 được phát hiện máy dò huỳnh quang 50.

Sau khi được gia nhiệt trong một khoảng thời gian được định trước ở trạng thái dừng lại ở khu vực nhiệt độ thấp, mẫu chuyển từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao (S20). Ở đây, việc điều khiển tương tự như việc điều khiển chuyển động từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp được thực hiện.

Trong quá trình chuyển từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao, mẫu đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65. Sau khi mẫu đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang 65, CPU 36 thu được $t^{L \rightarrow H_p}(1)$ và $t^{L \rightarrow H_{mp}}(1)$, thu được vị trí dừng ước tính $X^{[L]}_{11}(1)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ thấp trong chu trình đầu tiên dựa trên phương trình (4) ở trên và ước tính vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(1)$ là $X^{[L]}_{11}(1)$ (S22).

Tiếp theo, CPU 36 thu được độ chênh lệch $\Delta X^{[L]}(1)$ giữa vị trí dừng $X^{[L]}_1(1)$ của mẫu trong chu trình đầu tiên và vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[L]}_{00}$ và xác định biến điều chỉnh $k^{[L]}(1)$ có tham chiếu đến bảng mô tả mối quan hệ giữa độ chênh lệch $\Delta X^{[L]}(n)$ và biến điều chỉnh $k^{[L]}(n)$ như được thể hiện trong bảng 1 (S24).

Sau đó, CPU 36 xác định vị trí dừng mục tiêu $X^{[L]}_0(2)$ trong chu trình thứ hai dựa trên phương trình(3) ở trên (S26).

Sau đó, CPU 36 xác định xem giá trị của n có đạt được số chu trình xác định trước hay không (S28). Số lượng chu trình được xác định trước có thể được xác định trước bởi bộ phận điều hành và số lượng của nó là 30 đến 60 chu trình.

Khi giá trị của n chưa đạt đến số chu trình được định trước (Không có trong S28), giá trị của n được tăng thêm 1 sao cho $n = 2$ (S30). Sau đó, bước trở về S14 và thời gian chờ $t^H \rightarrow L_d(2)$ trong chu trình thứ hai được xác định dựa trên phương trình (2) ở trên trong bước S16. Các bước S14 đến bước S26 được thực hiện cho đến khi giá trị của n đạt đến số chu trình được định trước. Khi giá trị của n đạt đến số chu trình được định trước (Có trong bước S28), việc điều khiển kết thúc.

Trên đây là chi tiết về phương pháp điều khiển khi mẫu 20 di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp và dừng ở vị trí xác định trước ở khu vực nhiệt độ thấp. Như đã được mô tả ở trên, điều tương tự có thể được áp dụng cho sự di chuyển của mẫu từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ cao miễn là thay thế các tham số thay đổi trong mỗi quy trình, các biến trong mỗi phương trình và hậu tố [L], $H \rightarrow L$ và $L \rightarrow H$ tương ứng với [H], $L \rightarrow H$ và $H \rightarrow L$, được sử dụng.

Thử nghiệm đã được tiến hành về cách vị trí dừng được ước tính và vị trí dừng thực tế của mẫu thay đổi theo số chu trình sử dụng phương pháp điều khiển chuyển động mẫu theo phương án của sáng chế. Như trong trường hợp của ví dụ so sánh 1 và ví dụ so sánh 2, mẫu thu được bằng cách điều chỉnh SpeedSTAR HS ADN polymeraza đã được sử dụng.

Fig.13 thể hiện vị trí dừng được ước tính và vị trí dừng thực tế ở khu vực nhiệt độ thấp khi mẫu di chuyển từ khu vực nhiệt độ cao sang khu vực nhiệt độ thấp. Trục hoành biểu thị số chu trình, điểm đánh dấu \circ thể hiện vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$ được đo mỗi năm chu trình và đường nét liền biểu thị vị trí dừng được ước tính $X^{[L]}_{11}(n)$. Như được thể hiện trên Fig.13, đã đạt được thỏa thuận tốt giữa vị trí dừng được ước tính và vị trí dừng thực tế và ngay cả khi số chu trình đạt tới 50, phương pháp điều khiển theo phương án này đã thành công sao cho $X^{[L]}_1(n)$ ở khu vực nhiệt độ thấp giảm trong khoảng từ 26 mm đến 30 mm và $X^{[H]}_1(n)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ cao cũng giảm trong khoảng từ 29,5 mm đến 33,5 mm (không được thể hiện). Do đó, có thể thấy rằng mẫu có thể được dừng một cách chính xác ở vị trí được xác định trước so với các ví dụ so sánh 1 đến 3 được thể hiện trên Fig.5 đến Fig.7.

Mặt khác, đường dẫn trong chu trình của mẫu 20 trong bộ xử lý phản ứng 30 (hệ thống hai bước) có các khu vực phản ứng bao gồm các khu vực nhiệt độ của hai

mức được giải thích ở đây như sau:

(a) khu vực nhiệt độ cao (H) → (b) khu vực phát hiện huỳnh quang (máy dò huỳnh quang) → (c) khu vực nhiệt độ thấp (L) → (d) khu vực phát hiện huỳnh quang (máy dò huỳnh quang) → (a) khu vực nhiệt độ cao (H) → v.v...

Lưu ý rằng các khu vực phát hiện huỳnh quang (các máy dò huỳnh quang) của (b) và (d) là như nhau.

Liên quan đến cơ sở của từng yếu tố của đường dẫn như vậy và các tham số đã đề cập ở trên, thời gian chờ để dừng ở vị trí được định trước ở khu vực nhiệt độ cao (H) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang ở trong (d) ngay trước khi mẫu đạt đến khu vực nhiệt độ cao (H) và vị trí dừng được ước tính ở khu vực nhiệt độ cao (H) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang ở trong (b) ngay sau khi mẫu rời khỏi khu vực nhiệt độ cao (H).

Thời gian chờ để dừng tại vị trí được định trước ở khu vực nhiệt độ thấp (L) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang ở trong (b) ngay trước khi mẫu đạt đến khu vực nhiệt độ thấp (L) và vị trí dừng được ước tính trong khu vực nhiệt độ thấp (L) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang ở trong (d) ngay sau khi mẫu rời khỏi khu vực nhiệt độ thấp (L).

Tức là, thời gian chờ dừng ở vị trí được định trước ở khu vực nhiệt độ cao hoặc khu vực nhiệt độ thấp được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang tương ứng với khu vực phát hiện huỳnh quang mà qua đó mẫu đi qua ngay trước khi đến khu vực.

Hơn nữa, vị trí dừng được ước tính trong khu vực nhiệt độ cao hoặc khu vực nhiệt độ thấp được tính toán dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang tương ứng với khu vực phát hiện huỳnh quang mà mẫu đi qua ngay sau khi rời khỏi vùng. Dựa trên sự cân nhắc này, phương trình (4) để có được vị trí dừng được ước tính $X^{[L]}_{11}(n)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ thấp có thể được viết lại như phương trình (5) dưới đây.

$$X^{[L]}_{11}(n) = L/t^{L \rightarrow nt}_p(n) * \{t^{L \rightarrow nt}_{mp}(n) - t_c\} \quad (5)$$

Trong phương trình (5), $t^{L \rightarrow nt_p}(n)$ là thời gian chuyển tiếp qua khu vực phát hiện huỳnh quang (khu vực phát hiện huỳnh quang 65 trong trường hợp của phương án này) mà qua đó mẫu đi qua ngay sau khi rời khỏi khu vực nhiệt độ thấp đến sự chuyển động từ khu vực nhiệt độ thấp sang khu vực nhiệt độ tiếp theo (khu vực nhiệt độ cao trong trường hợp của phương án này). $t^{L \rightarrow nt_{mp}}(n)$ là thời gian cần thiết từ khi hoạt động của hệ thống nạp chất lỏng được bắt đầu để di chuyển mẫu cho đến khi CPU 36 nhận ra rằng đầu của mẫu đã đến khu vực phát hiện huỳnh quang mà mẫu đi qua ngay lập tức sau đó liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ hai sang khu vực nhiệt độ tiếp theo (khu vực nhiệt độ cao). Đối với vị trí dừng ước tính của mẫu trong khu vực nhiệt độ cao, việc thay thế các hậu tố [L] và $L \rightarrow nt$ thành [H] và $H \rightarrow nt$, tương ứng, trong phương trình (5) cần được sử dụng. Phương trình (5) có thể được áp dụng không chỉ cho bộ xử lý phản ứng 30 có khu vực nhiệt độ ở hai mức được mô tả ở trên mà còn cho bình xử lý phản ứng 110 có khu vực nhiệt độ ở ba mức được mô tả sau.

Fig.14 là sơ đồ giải thích phương án khác của bình xử lý phản ứng. Bình xử lý phản ứng 10 như được thể hiện trên Fig.1A áp dụng chu trình nhiệt đối với mẫu bằng cách liên tục đối ứng mẫu giữa các khu vực nhiệt độ ở hai mức: ví dụ, khu vực nhiệt độ cao khoảng 95°C; và khu vực nhiệt độ thấp, ví dụ, khoảng 55°C. Bình xử lý phản ứng 110 như được thể hiện trên Fig.14 áp dụng chu trình nhiệt cho mẫu bằng cách liên tục đối ứng mẫu giữa các khu vực nhiệt độ ở ba mức: ví dụ, khu vực nhiệt độ cao khoảng 95°C; khu vực nhiệt độ trung bình, ví dụ, khoảng 65°C; và khu vực nhiệt độ thấp, ví dụ, khoảng 55°C. Trong trường hợp này, có thể thực hiện biến tính của ADN ở khu vực nhiệt độ cao, ủ ở khu vực nhiệt độ thấp và kéo dài ở khu vực nhiệt độ trung bình.

Ống 12 của bình xử lý phản ứng 110 như được thể hiện trên Fig.14 có khu vực nhiệt độ trung bình giữa khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp. Cũng giống như ở khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ thấp, ống này ở khu vực nhiệt độ trung bình được tạo ra từ ống có hình dạng giống nhau với các vòng quay liên tục được thực hiện bằng cách kết hợp các phần cong và các phần thẳng. Ống 12 của bình xử lý phản ứng 110 có khu vực nối thứ nhất nằm giữa khu vực nhiệt độ cao và khu vực nhiệt độ trung bình và khu vực nối thứ hai nằm giữa khu vực nhiệt độ trung bình và

khu vực nhiệt độ thấp. Khu vực nổi thứ nhất và khu vực nổi thứ hai bao gồm các ống thẳng. Trong khu vực nổi thứ nhất và khu vực nổi thứ hai, khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất 165 và khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai lần lượt được thiết lập.

Fig.15 là sơ đồ để giải thích phương án khác của bộ xử lý phản ứng. Bộ xử lý phản ứng 130 như được thể hiện trên Fig.15 là thiết bị để thực hiện chu trình nhiệt trên bình xử lý phản ứng 110 có các khu vực nhiệt độ gồm ba cấp độ như được thể hiện trên Fig.14.

Ngoài bộ gia nhiệt nhiệt độ cao 60, bộ gia nhiệt nhiệt độ thấp 62, bộ điều khiển nhiệt độ cao 33 và bộ điều khiển nhiệt độ thấp 35, hệ thống điều khiển nhiệt độ 32 của bộ xử lý phản ứng 130 còn có bộ gia nhiệt nhiệt độ trung bình 61 để gia nhiệt khu vực nhiệt độ trung bình của ống 12 và bộ điều khiển nhiệt độ trung bình 34 để điều khiển nhiệt độ của bộ gia nhiệt nhiệt độ trung bình 61.

Máy dò huỳnh quang thứ nhất 251 của bộ xử lý phản ứng 130 bao gồm: đầu đọc quang thứ nhất 151 để phát hiện huỳnh quang từ mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất 165 của ống của bình xử lý phản ứng 110; bộ điều khiển máy phát huỳnh quang thứ nhất 152; và sợi quang thứ nhất 153 kết nối đầu đọc quang thứ nhất 151 và bộ điều khiển dò huỳnh quang thứ nhất 152 và máy dò huỳnh quang thứ hai 252 bao gồm: đầu đọc quang thứ hai 154 để phát hiện huỳnh quang từ mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai 166 của ống của bình xử lý phản ứng 110; bộ điều khiển phát hiện huỳnh quang thứ hai 155; và sợi quang thứ hai 156 kết nối đầu đọc quang thứ hai 154 và bộ điều khiển máy dò huỳnh quang thứ hai 155.

Đối với mẫu 20 trong bộ xử lý phản ứng 130, chu trình nhiệt được áp dụng với khu vực nhiệt độ cao → khu vực nhiệt độ thấp → khu vực nhiệt độ trung bình → khu vực nhiệt độ cao là một chu trình. Cần lưu ý rằng trong quá trình của khu vực nhiệt độ cao → khu vực nhiệt độ thấp trong bộ xử lý phản ứng 130, mẫu đi qua khu vực nhiệt độ trung bình ở giữa mà không bị dừng trong một thời gian được định trước.

Hoạt động mẫu bằng bộ xử lý phản ứng 130 sẽ được giải thích như sau.

Các vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[H]}_{00}$, $X^{[M]}_{00}$ và $X^{[L]}_{00}$ ở khu vực nhiệt độ cao, khu vực nhiệt độ trung bình và khu vực nhiệt độ thấp được định trước. Chúng

được biểu hiện dưới dạng $X^{[H]}_0(1)$, $X^{[M]}_0(1)$ và $X^{[L]}_0(1)$ làm giá trị ban đầu. Hơn nữa, giống như trong hệ thống hai bước được mô tả ở trên, các giá trị ngưỡng tương ứng được yêu cầu để tính thời gian chờ $t^{HL}_d(1)$, $t^{LM}_d(1)$ và $t^{MH}_d(1)$ cho các khu vực nhiệt độ tương ứng được định trước. Cần lưu ý rằng hậu tố M chỉ khu vực nhiệt độ trung bình.

Trong hệ thống nạp chất lỏng 37, bơm thứ nhất 39 được vận hành để di chuyển mẫu 20 từ khu vực nhiệt độ cao (H) sang khu vực nhiệt độ thấp (L). Trong hai khu vực phát hiện huỳnh quang nằm giữa các khu vực này, khi mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai 166 ở phía gần với khu vực nhiệt độ thấp, phép đo thời gian vận chuyển $t^{HL}_{2p}(n)$ và tính toán thời gian chờ $t^{H \rightarrow L}_{2d}(n)$ dựa trên phương trình trên (2) được thực hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ hai 252 (hậu tố 1 và 2 của ký hiệu t chỉ thời gian có nghĩa là thời gian chờ tương ứng thu được dựa trên thời gian đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất 165 và đoạn đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai lần lượt là 166, và tương tự áp dụng sau đây). Sau thời gian chờ $t^{HL}_{2d}(n)$ đã trôi qua kể từ thời điểm mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai 166, việc dừng bơm thứ nhất 39 được hướng dẫn và mẫu 20 dừng lại ở khu vực nhiệt độ thấp.

Hơn nữa, trong hai khu vực phát hiện huỳnh quang, khi mẫu đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất 165 ở phía gần với khu vực nhiệt độ cao, phép đo $t^{H \rightarrow L}_{1p}(n)$ và phép tính $t^{H \rightarrow L}_{1mp}(n)$ được thực hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ nhất 251 và vị trí dừng được ước tính $X^{[H]}_{11}(n)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ cao được lấy dựa trên phương trình (4) ở trên để được ước tính là vị trí dừng thực tế $X^{[H]}_1(n)$. Khi có hai hoặc nhiều khu vực phát hiện huỳnh quang giữa các khu vực chuyển động, việc tính toán thời gian chờ để dừng mẫu được thực hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang liên quan đến khu vực phát hiện huỳnh quang gần nhất với vùng đến và vị trí dừng trong khu vực khởi hành được ước tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang liên quan đến khu vực phát hiện huỳnh quang gần khu vực xuất phát nhất.

Sau khi dừng mẫu 20 trong khoảng thời gian cố định ở khu vực nhiệt độ thấp, trong hệ thống nạp chất lỏng 37, bơm thứ hai 40 được vận hành để di chuyển mẫu 20 từ khu vực nhiệt độ thấp (L) sang khu vực nhiệt độ trung bình (M). Khi mẫu đi qua

khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai 166 nằm giữa các khu vực này, phép đo thời gian chuyển tiếp $t^{L \rightarrow M_{2p}}(n)$ và tính thời gian chờ $t^{L \rightarrow M_{2d}}(n)$ dựa trên phương trình trên (2) được thực hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ hai 252. Sau khi thời gian chờ $t^{L \rightarrow M_{2d}}(n)$ trôi qua kể từ thời điểm mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai 166, việc dừng bơm thứ hai 40 được thực hiện và mẫu 20 dừng lại ở khu vực nhiệt độ trung bình. Hơn nữa, phép đo $t^{L \rightarrow M_{2p}}(n)$ và phép tính $t^{L \rightarrow M_{2mp}}(n)$ được thực hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang và vị trí dừng được ước tính $X^{[L]}_{11}(n)$ của mẫu 20 ở khu vực nhiệt độ thấp thu được dựa trên phương trình(4) ở trên để được ước tính là vị trí dừng thực tế $X^{[L]}_1(n)$.

Sau khi dừng mẫu 20 trong khoảng thời gian cố định ở khu vực nhiệt độ trung bình trong hệ thống nạp chất lỏng 37, bơm thứ hai 40 được vận hành để di chuyển mẫu 20 từ khu vực nhiệt độ trung (M) sang khu vực nhiệt độ cao (H). Khi mẫu đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất 165 được nằm giữa các khu vực này, phép đo thời gian chuyển tiếp $t^{M \rightarrow H_{1p}}(n)$ và tính thời gian chờ $t^{M \rightarrow H_{1d}}(n)$ dựa trên phương trình trên (2) ở trên được thực hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ hai 251. Sau thời gian chờ $t^{M \rightarrow H_{1d}}(n)$ đã trôi qua kể từ thời điểm mẫu 20 đi qua khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất 165, việc dừng bơm thứ nhất 40 được hướng dẫn và mẫu 20 dừng lại ở khu vực nhiệt độ cao. Hơn nữa, phép đo $t^{M \rightarrow H_{1p}}(n)$ và phép tính $t^{M \rightarrow H_{1mp}}(n)$ được thực hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang và vị trí dừng được ước tính $X^{[M]}_{11}(n)$ của mẫu 20 ở khu vực nhiệt độ trung bình thu được dựa trên phương trình(4) ở trên để được ước tính là vị trí dừng thực tế $X^{[M]}_1(n)$.

Mặt khác, đường dẫn trong chu trình của mẫu 20 trong bộ xử lý phản ứng 130 (hệ thống ba bước) có các khu vực phản ứng bao gồm các khu vực nhiệt độ của ba mức được giải thích ở đây như sau:

(a) khu vực nhiệt độ cao (H) \rightarrow (b) khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất (máy dò huỳnh quang thứ nhất) \rightarrow (c) khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai (máy dò huỳnh quang thứ hai) \rightarrow (d) khu vực nhiệt độ thấp (L) \rightarrow (e) khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai (máy dò huỳnh quang thứ hai) \rightarrow (f) khu vực nhiệt độ trung bình (M) \rightarrow (g) khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất (máy dò huỳnh quang thứ nhất) \rightarrow (a) khu vực nhiệt độ cao (H) \rightarrow v.v.

Mặc dù khu vực nhiệt độ trung bình (M) tồn tại giữa (b) và (c), khu vực này không được bao gồm trong đường dẫn do mẫu chỉ đi qua khu vực mà không bị dừng lại.

Liên quan đến cơ sở của từng bộ phận của đường dẫn như vậy và các tham số đã đề cập ở trên, thời gian chờ để dừng ở vị trí được định trước ở khu vực nhiệt độ cao (H) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ nhất ở trên (g) ngay trước khi mẫu đi đến khu vực nhiệt độ cao (H). Hơn nữa, vị trí dừng được ước tính trong khu vực nhiệt độ cao (H) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ nhất trong (b) ngay sau khi mẫu rời khỏi khu vực nhiệt độ cao (H).

Theo cách tương tự, thời gian chờ để dừng ở vị trí định trước ở khu vực nhiệt độ trung bình (M) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ hai ở trên (e) ngay trước khi mẫu đạt đến khu vực nhiệt độ trung bình (M). Hơn nữa, vị trí dừng được ước tính trong khu vực nhiệt độ trung bình (M) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ nhất trong (g) ngay sau khi mẫu rời khỏi khu vực nhiệt độ trung bình (H).

Hơn nữa, thời gian chờ để dừng ở vị trí được định trước ở khu vực nhiệt độ thấp (L) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ hai ở trên (c) ngay trước khi mẫu đạt đến khu vực nhiệt độ thấp (L). Hơn nữa, vị trí dừng được ước tính trong khu vực nhiệt độ thấp (L) được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang thứ hai trong (e) ngay sau khi mẫu rời khỏi khu vực nhiệt độ thấp (L).

Ở trên, thời gian chờ để dừng ở vị trí được định trước ở khu vực nhiệt độ cao, khu vực nhiệt độ trung bình hoặc khu vực nhiệt độ thấp được tính dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang tương ứng với khu vực phát hiện huỳnh quang mà qua đó mẫu phát hiện vượt qua ngay trước khi đến khu vực.

Hơn nữa, vị trí dừng được ước tính trong mỗi khu vực được tính toán dựa trên tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang tương ứng với khu vực phát hiện huỳnh quang mà mẫu đi qua ngay sau khi rời khỏi vùng. Do đó, phương trình (5) ở trên cũng được áp dụng cho bình xử lý phản ứng 110 có khu vực nhiệt độ ba cấp. Do đó, với vị trí dừng ước tính của mẫu trong khu vực nhiệt độ cao, việc thay thế các hậu tố [L] và L

→ nt thành [H] và H → nt, tương ứng, trong phương trình (5) cần được sử dụng. Hơn nữa, với vị trí dừng ước tính của mẫu trong khu vực nhiệt độ trung bình, việc thay thế các hậu tố [L] và L → nt thành [M] và M → nt, tương ứng, trong phương trình (5) cần được sử dụng.

Như được mô tả ở trên, ngay cả trong trường hợp bộ xử lý phản ứng 130 (hệ thống ba bước) có khu vực phản ứng gồm các khu vực nhiệt độ gồm ba cấp, tín hiệu huỳnh quang từ máy dò huỳnh quang được cung cấp ngay trước hoặc ngay sau khu vực nhiệt độ tương ứng và vị trí của mẫu sẽ được xem xét. Điều này giống như trong trường hợp bộ xử lý phản ứng 30 có các khu vực phản ứng bao gồm các khu vực nhiệt độ của hai mức được mô tả ở trên.

Mô tả ở trên là lời giải thích của sáng chế dựa trên các phương án. Các phương án này chỉ nhằm mục đích minh họa, và rõ ràng với những người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này rằng các sửa đổi khác nhau để cấu thành các bộ phận và quy trình có thể được phát triển và các sửa đổi đó cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

MÔ TẢ CÁC SỐ CHỈ DẪN

10, 110 bình xử lý phản ứng,

12 Ống,

14 Đế,

16 Mànng bịt kín ống,

17 Cổng kết nối thứ nhất,

18 Cổng kết nối thứ hai,

20 Mẫu,

30, 130 Bộ xử lý phản ứng,

32 Hệ thống điều khiển nhiệt độ

- 33 Bộ điều khiển nhiệt độ cao
- 34 Bộ điều khiển nhiệt độ trung bình
- 35 Bộ điều khiển nhiệt độ thấp
- 36 CPU,
- 37 Hệ thống nạp chất lỏng,
- 39 Bơm thứ nhất,
- 40 Bơm thứ hai,
- 41 Bộ điều khiển bơm thứ nhất,
- 42 Bộ điều khiển bơm thứ hai,
- 43 Ống thứ nhất,
- 44 Ống thứ hai,
- 45, 46 Vật liệu bao gói,
- 50 Máy dò huỳnh quang,
- 51 Đầu đọc quang,
- 52 Bộ điều khiển dò huỳnh quang,
- 53 Sợi quang,
- 60 Bộ gia nhiệt nhiệt độ cao,
- 61 Bộ gia nhiệt nhiệt độ trung bình,
- 62 Bộ gia nhiệt nhiệt độ thấp,
- 65 Khu vực phát hiện huỳnh quang,
- 151 Đầu đọc quang thứ nhất,

152 Đầu đọc quang thứ hai,

153 Sợi quang thứ nhất,

154 Đầu đọc quang thứ hai,

155 Bộ điều khiển dò huỳnh quang thứ hai,

156 Sợi quang thứ hai,

165 Khu vực phát hiện huỳnh quang thứ nhất,

166 Khu vực phát hiện huỳnh quang thứ hai,

251 Máy dò huỳnh quang thứ nhất,

252 Máy dò huỳnh quang thứ hai,

Khả năng áp dụng công nghiệp

Sáng chế được áp dụng cho phản ứng chuỗi polymeraza (PCR).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Bộ xử lý phản ứng bao gồm:

bình xử lý phản ứng trong đó có ống nơi mà sự di chuyển mẫu được tạo ra;

hệ thống nạp chất lỏng làm di chuyển và dừng mẫu trong ống;

hệ thống điều khiển nhiệt độ có bố trí nhiều khu vực nhiệt độ được duy trì ở nhiệt độ khác nhau, nhiều khu vực nhiệt độ bao gồm ít nhất khu vực nhiệt độ thứ nhất và khu vực nhiệt độ thứ hai;

hệ thống phát hiện mà phát hiện mẫu đi qua khu vực phát hiện được thiết lập giữa các khu vực nhiệt độ liền kề của ống, khu vực phát hiện bao gồm ít nhất một khu vực phát hiện thứ nhất được thiết lập giữa khu vực nhiệt độ thứ nhất và khu vực nhiệt độ thứ hai của ống; và

bộ điều khiển điều khiển hệ thống nạp chất lỏng dựa trên tín hiệu được phát hiện bởi hệ thống phát hiện,

trong đó thiết bị điều khiển được tạo ra để thực hiện việc điều khiển đối ứng cho nhiều chu trình trên mẫu nơi mà trong một chu trình, mẫu được dừng trong một khoảng thời gian cố định ở khu vực nhiệt độ thứ nhất, di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ nhất sang khu vực nhiệt độ thứ hai sau khi đi qua khu vực phát hiện thứ nhất và sau đó bị dừng trong một khoảng thời gian cố định, sau đó quay lại khu vực nhiệt độ thứ nhất và sau đó dừng lại,

trong đó:

thời gian chờ cần thiết cho đến thời điểm bộ điều khiển hướng dẫn hệ thống nạp chất lỏng dừng mẫu sau thời gian mẫu đi qua khu vực phát hiện thứ nhất được phát hiện bởi hệ thống phát hiện liên quan đến việc chuyển động từ khu vực nhiệt độ thứ nhất đến khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n (n là số nguyên từ 1 hoặc lớn hơn) được ký hiệu là $t^{1 \rightarrow 2}_d(n)$;

vị trí dừng mục tiêu của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n được ký hiệu là $X^{[2]}_0(n)$;

thời gian chuyển tiếp của mẫu đi qua khu vực phát hiện liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ nhất sang khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n được ký hiệu là $t^{1 \rightarrow 2}_p(n)$;

chiều dài của mẫu trong ống được ký hiệu là L ; và

khoảng thời gian cố định cụ thể cho bộ xử lý phản ứng được ký hiệu là t_c ,

thời gian chờ $t^{1 \rightarrow 2}_d(n)$ được xác định theo phương trình sau:

$$t^{1 \rightarrow 2}_d(n) = X^{[2]_0}(n) * t^{1 \rightarrow 2}_p(n)/L - t_c, \text{ và}$$

vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình $(n+1)$ được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n được dựa vào kết quả của việc dừng điều khiển trên mẫu trong chu trình thứ n .

2. Bộ xử lý phản ứng theo điểm 1, trong đó vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ $(n+1)$ được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n dựa trên vị trí dừng $X^{[2]_1}(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n và vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[2]_{00}}$ trong khu vực nhiệt độ thứ hai.

3. Bộ xử lý phản ứng theo điểm 1 hoặc 2, trong đó vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ $(n+1)$ được điều chỉnh từ vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n dựa trên độ chênh lệch $\Delta X^{[2]}(n)$ giữa vị trí dừng $X^{[2]_1}(n)$ của mẫu ở khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n và vị trí dừng mục tiêu được tính $X^{[2]_{00}}$ trong khu vực nhiệt độ thứ hai.

4. Bộ xử lý phản ứng theo điểm 3, trong đó vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ $(n+1)$ được xác định bằng cách sửa vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n .

5. Bộ xử lý phản ứng theo điểm 4,

trong đó vị trí dừng mục tiêu $X^{[2]_0}(n+1)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ $(n+1)$ được thiết lập theo phương trình sau:

$$X^{[2]_0}(n+1) = X^{[2]_0}(n) + k^{[2]}(n), \text{ và}$$

trong đó biến điều chỉnh $k^{[2]}(n)$ được xác định dựa trên mối quan hệ với độ chênh lệch $\Delta X^{[2]}(n)$ trong chu trình thứ n .

6. Bộ xử lý phản ứng theo điểm 5, trong đó biến điều chỉnh $k^{[2]}(n)$ được xác định với việc tham chiếu đến bảng mô tả mối quan hệ giữa độ chênh lệch $\Delta X^{[2]}(n)$ và biến điều chỉnh $k^{[2]}(n)$ trong chu trình thứ n .

7. Bộ xử lý phản ứng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 6,

trong đó vị trí dừng $X^{[2]_1}(n)$ của mẫu trong khu vực nhiệt độ thứ hai trong chu trình thứ n thu được là $X^{[2]_{11}}(n)$ được xác định theo phương trình sau:

$$X^{[2]_{11}}(n) = L/t^{2 \rightarrow nt_p}(n) * \{t^{2 \rightarrow nt_{mp}}(n) - t_c\},$$

trong đó, trong phương trình này, $t^{2 \rightarrow nt_p}(n)$ là thời gian chuyển tiếp qua khu vực phát hiện mà mẫu đi qua ngay sau khi rời khỏi khu vực nhiệt độ thứ hai liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ hai sang khu vực nhiệt độ tiếp theo và

trong đó $t^{2 \rightarrow nt_{mp}}(n)$ là thời gian cần thiết từ khi hoạt động của hệ thống nạp chất lỏng được bắt đầu để di chuyển mẫu cho đến khi bộ điều khiển nhận ra rằng đầu của mẫu đã đến khu vực phát hiện mà mẫu đi qua ngay lập tức sau đó liên quan đến sự di chuyển từ khu vực nhiệt độ thứ hai sang khu vực nhiệt độ tiếp theo.

1/9

FIG. 1A

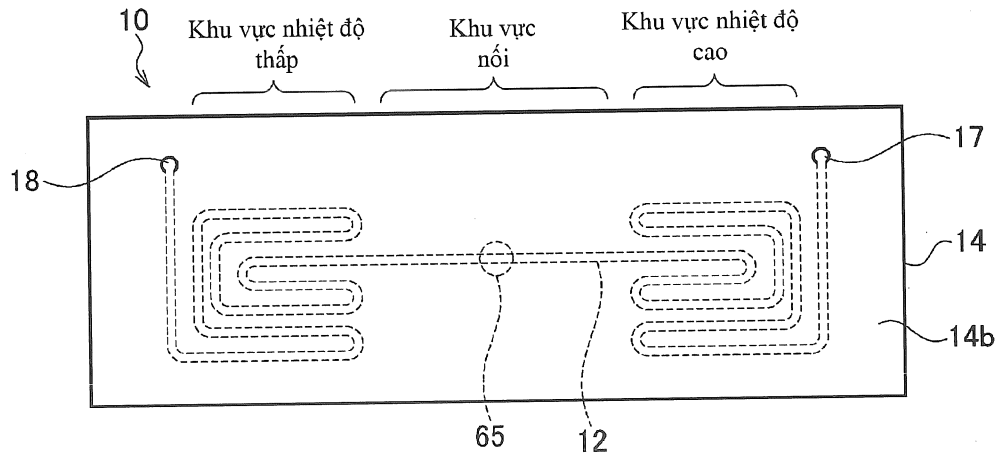


FIG. 1B

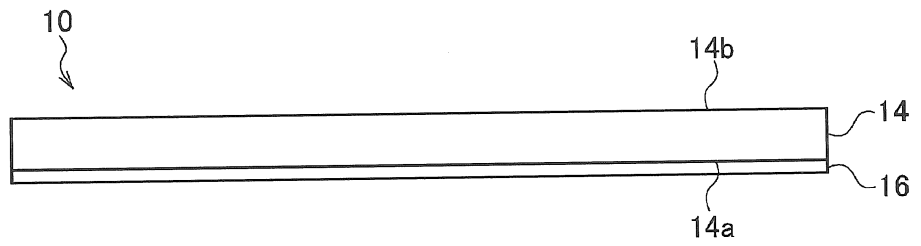


FIG. 2

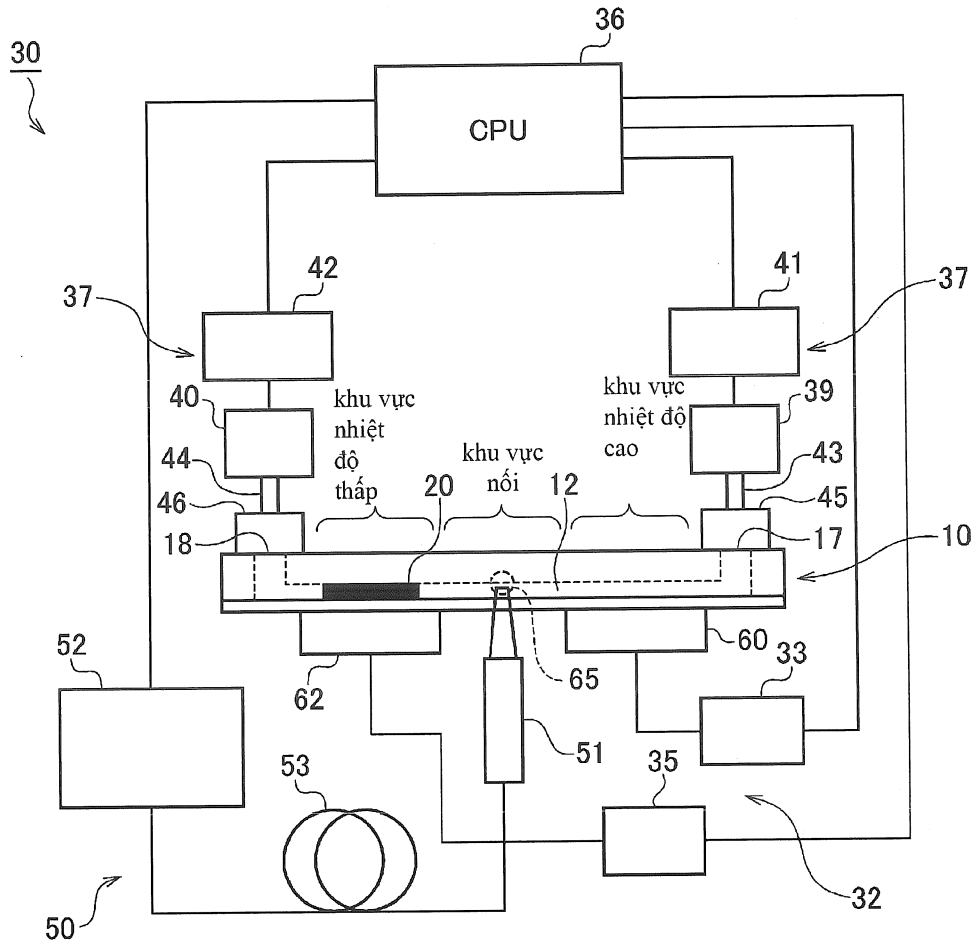
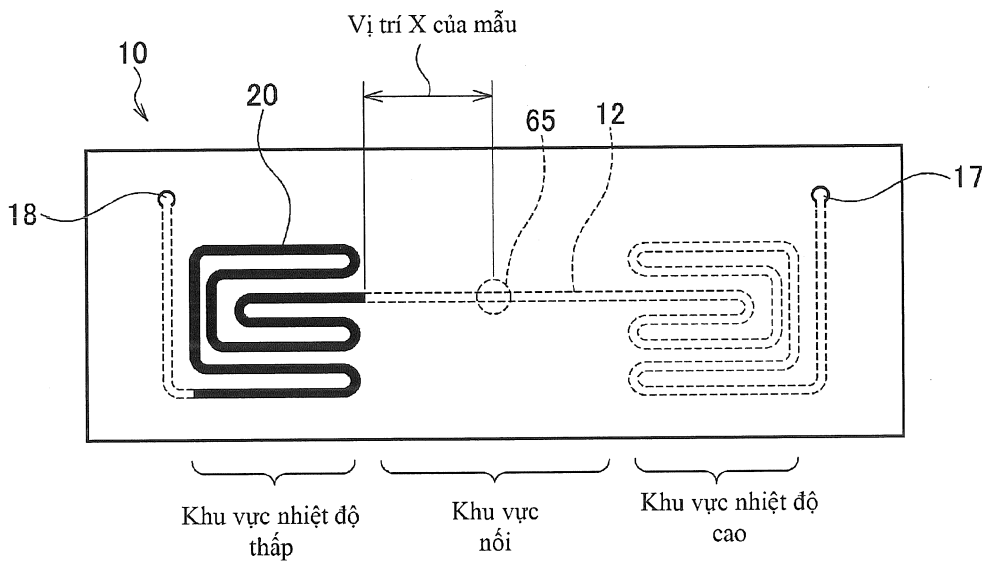


FIG. 3



3/9

FIG. 4

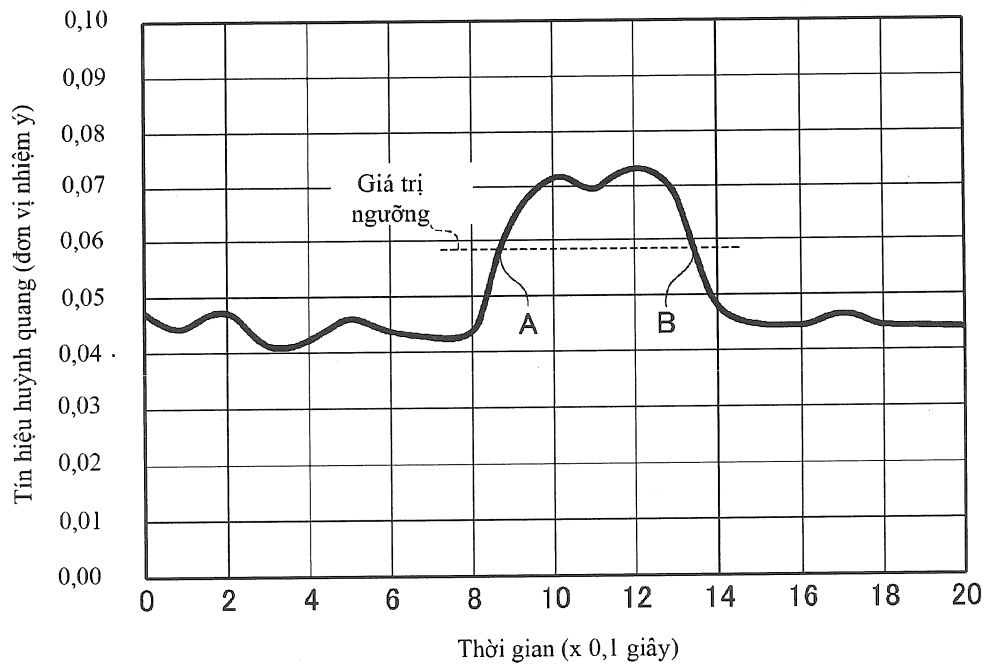
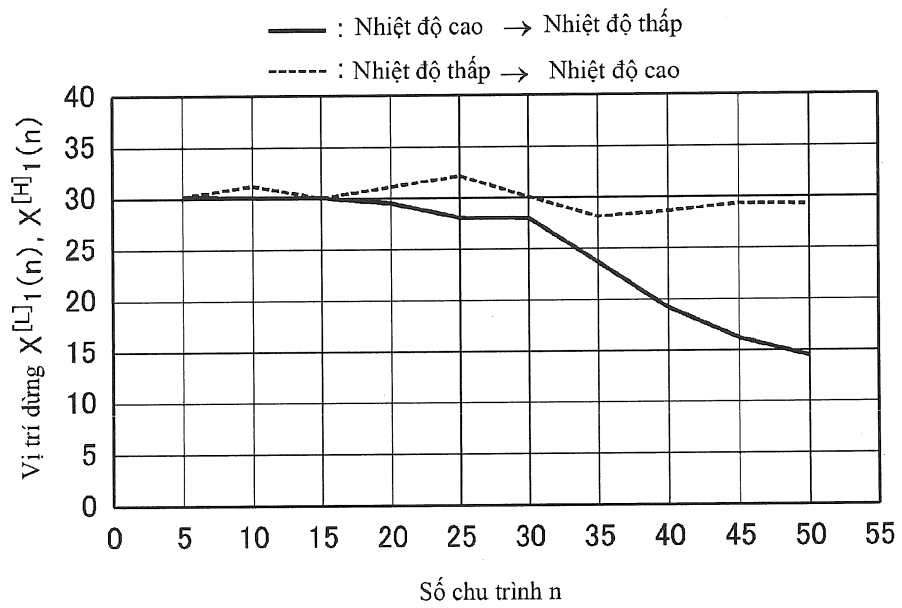


FIG. 5



4/9

FIG. 6

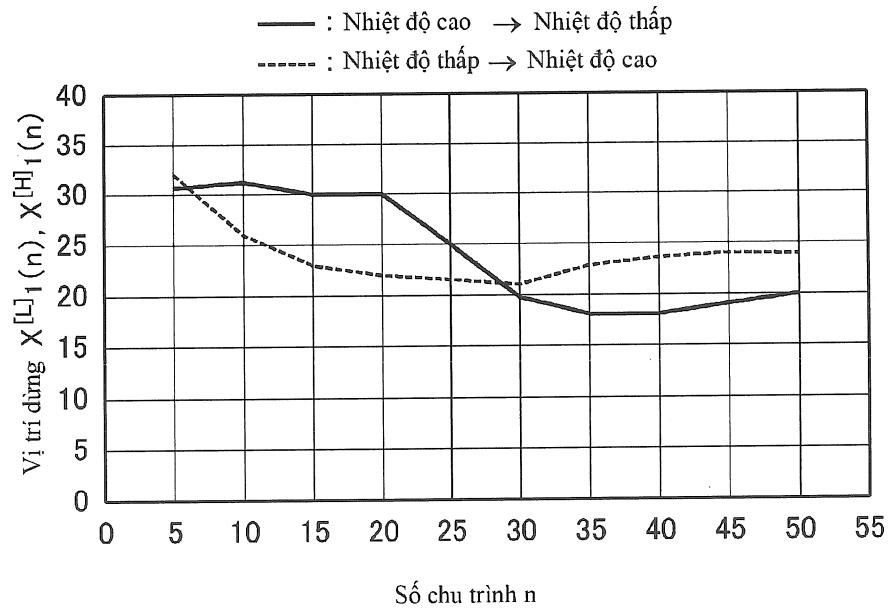
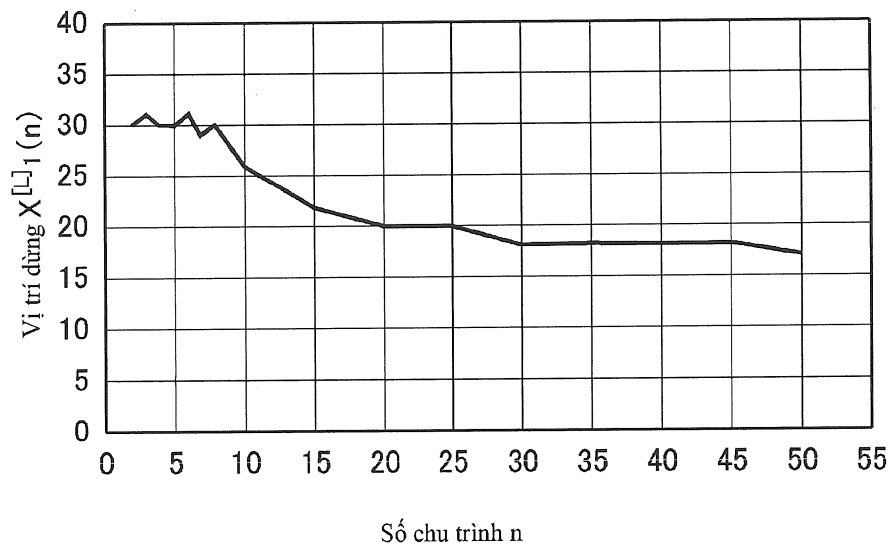


FIG. 7



5/9

FIG. 8

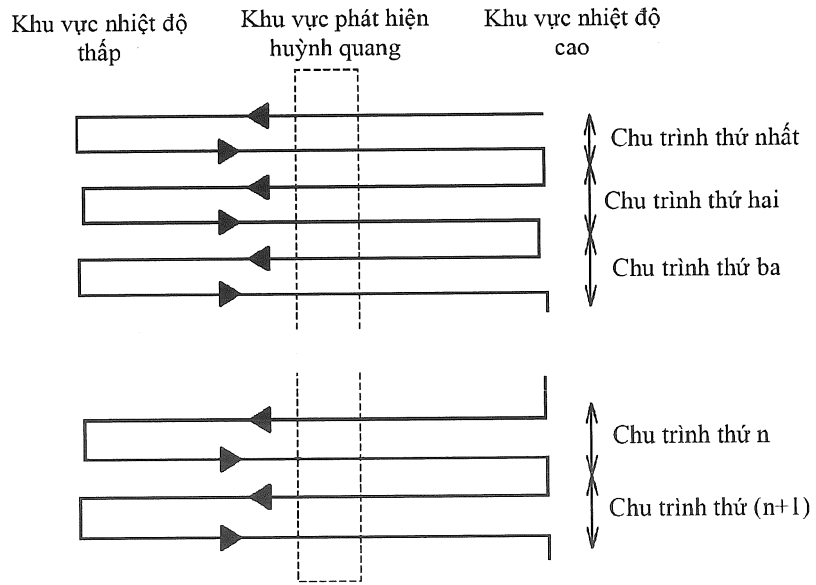
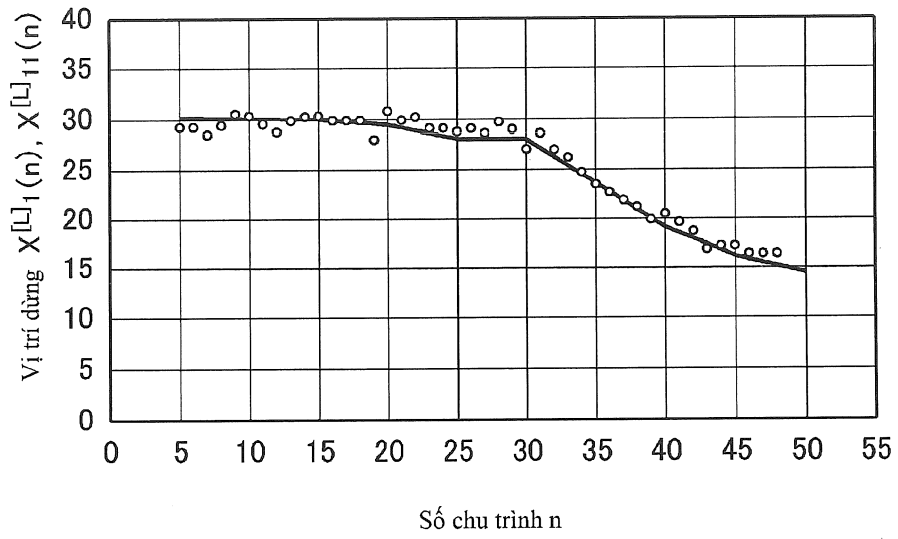


FIG. 9



6/9

FIG. 10

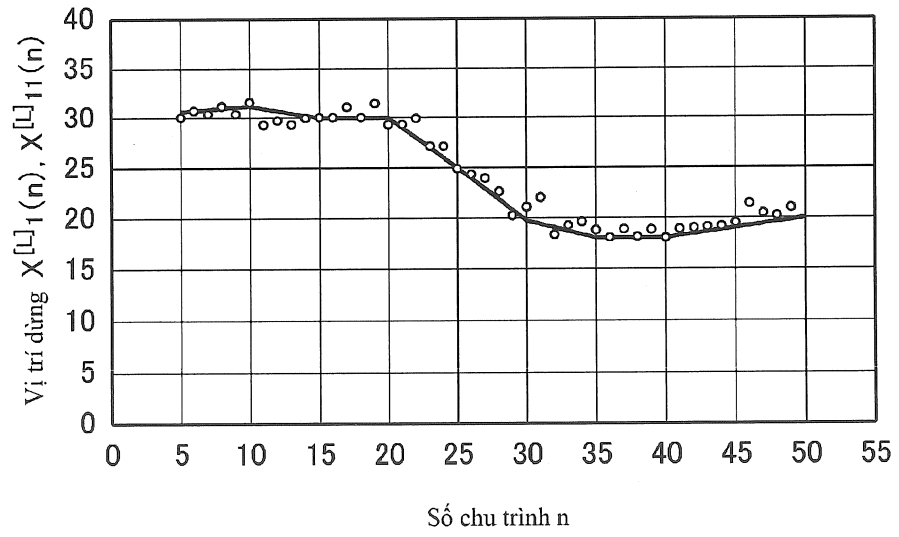


FIG. 11

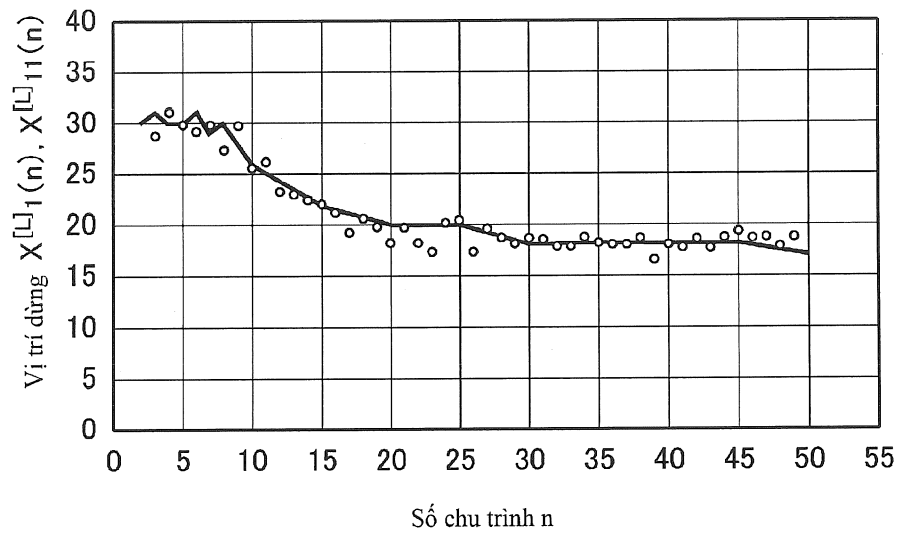


FIG. 12

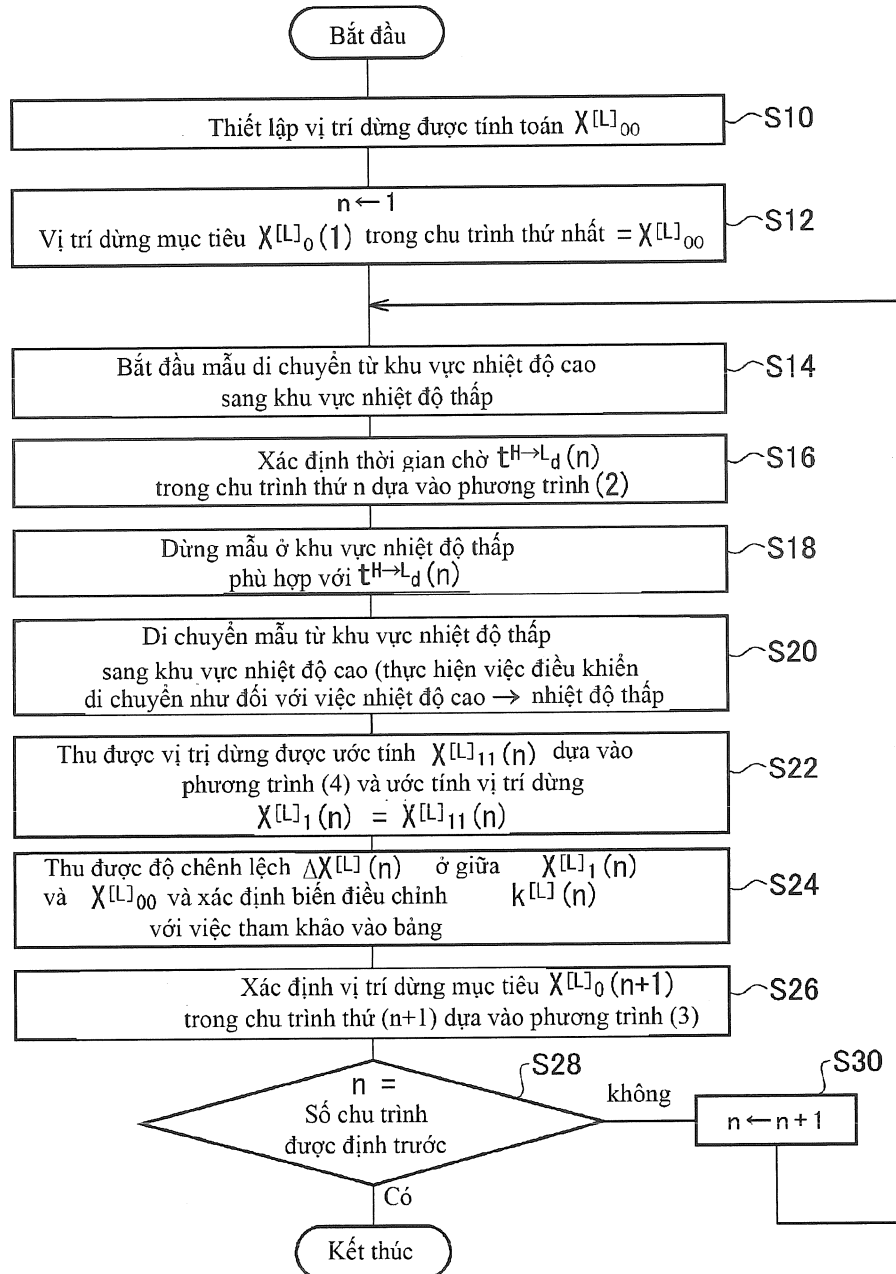


FIG. 13



FIG. 14

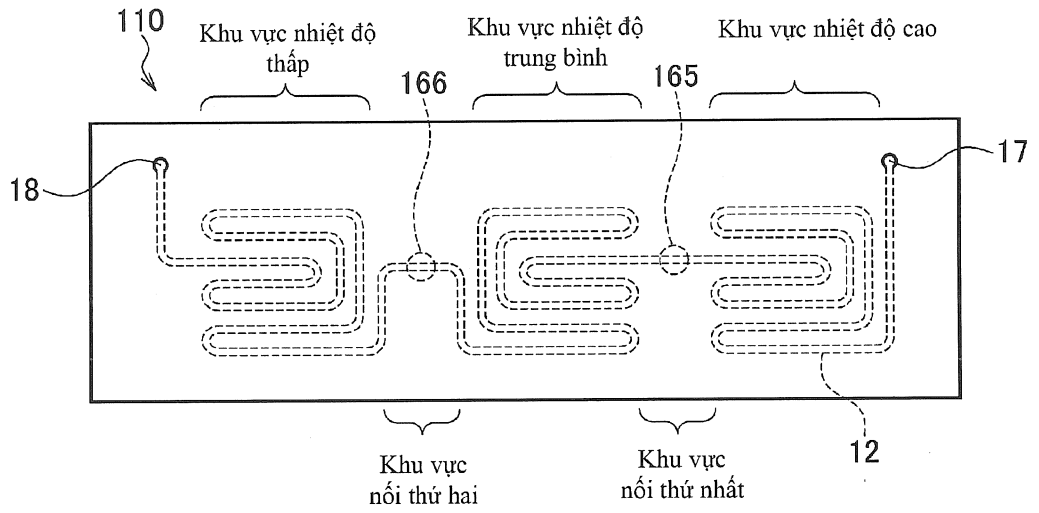


FIG. 15

