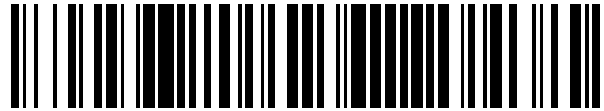


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 587**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2003 E 03753106 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2015 EP 1511991**

54 Título: **Instrumento óptico que incluye una fuente de excitación**

30 Prioridad:

17.05.2002 US 381671 P
09.08.2002 US 216620
09.09.2002 US 409152 P
28.02.2003 US 450734 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.08.2015

73 Titular/es:

LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION (100.0%)
5791 VAN ALLEN WAY
CARLSBAD, CA 92008, US

72 Inventor/es:

BOEGE, STEVEN J.;
OLDMAN, MARK y
YOUNG, EUGENE F.

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 543 587 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Instrumento óptico que incluye una fuente de excitación

Referencia cruzada con solicitud relacionada campo

5 Las presentes enseñanzas están relacionadas con un instrumento para detectar y medir fluorescencia, y con métodos de medición de fluorescencia que pueden ser utilizados en ensayos basados en amplificación de secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, *Polymerase Chain Reaction*).

Antecedentes

10 En la publicación internacional nº WO 01/35079 se describe un fluorómetro que incluye una distribución de fuentes lumínicas de diodos emisores de luz (led) en correspondencia uno a uno con recipientes de muestras. Sin embargo, con tal sistema se pueden encontrar diversos problemas. Por ejemplo, tal sistema puede ser costoso para la experimentación utilizada comúnmente que implica análisis de una distribución de 96 pocillos de muestras y requeriría 96 fuentes lumínicas led. El uso de una fuente lumínica por pocillo, también puede tener como resultado la foto-decoloración de los tintes fluorescentes presentes en las muestras que se están analizando.

15 Una solicitud internacional con número de publicación WO 00/58715 describe un aparato con dos fuentes lumínicas y dos rejillas de difracción para difractar la luz en múltiples rayos de excitación. Los rayos de excitación iluminan un portamuestras que contiene múltiples muestras. El aparato incluye además una lente convexa para colimar los rayos y un detector para detectar la radiación.

20 Una solicitud internacional con número de publicación WO 01/69211 describe un aparato con una fuente lumínica para emitir luz de excitación, un sustrato con una pluralidad de muestras y un detector con una distribución bidimensional de elementos sensibles a la luz. Unas fuentes lumínicas adecuadas incluyen diferentes láseres, láseres de diodo y lámparas de mercurio.

25 Una solicitud internacional con número de publicación WO 00/31518 describe un instrumento con una fuente lumínica de múltiples rayos, un espejo, unas muestras y un detector. El instrumento es capaz de leer muchas muestras independientes al mismo tiempo. Como fuentes lumínicas se describen láseres, diodos láser, diodos emisores de luz o lámparas con arco compacto.

Una solicitud internacional con número de publicación WO 99/60381 describe un instrumento para monitorizar la replicación de ADN por PCR con una fuente lumínica que proporciona rayos de excitación que son dirigidos por un divisor de rayo a unos viales.

Compendio

30 La invención se dirige a un instrumento según la reivindicación 1 y a un método según la reivindicación 32.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es un diagrama esquemático de un camino óptico para un instrumento óptico que incluye una fuente lumínica y una lente colimadora, y un camino óptico para iluminar una pluralidad de recipientes de reacción espaciados, según diversas realizaciones;

35 La Fig. 2 es un diagrama esquemático de unos ejemplos de instrumento óptico y un camino óptico generado por el instrumento óptico según diversos ejemplos;

La Fig. 3 es una vista en perspectiva de un instrumento óptico para proporcionar el camino óptico mostrado en la Fig. 2, con un panel lateral del instrumento retirado;

La Fig. 4 es una vista en perspectiva en despiece ordenado del instrumento óptico mostrado en la Fig. 3;

40 La Fig. 5 es una vista en perspectiva de una fuente de excitación que incluye una distribución de fuentes lumínicas utilizadas según diversas realizaciones;

La Fig. 6 es una vista en sección transversal de la fuente de excitación mostrada en la Fig. 5 tomada a lo largo de la línea 6-6 de la Fig. 5;

45 La Fig. 7 es un diagrama esquemático de un instrumento óptico que incluye una fuente lumínica y una lente colimadora, y un camino óptico que genera el instrumento, según diversos ejemplos;

La Fig. 8 es un diagrama esquemático de una parte de un instrumento óptico que incluye una fuente lumínica, una lente colimadora y una máscara, según diversas realizaciones;

La Fig. 9 es un diagrama esquemático de una parte de un instrumento óptico que incluye una máscara, una lente de región de reacción y una región de reacción, según diversas realizaciones;

La Fig. 10 es un diagrama esquemático de un instrumento óptico y un camino óptico generado por el instrumento óptico, según diversas realizaciones;

La Fig. 11 es una vista en perspectiva de un instrumento óptico y un camino óptico generado por el instrumento óptico, según diversos ejemplos;

- 5 La Fig. 12 es una vista esquemática del instrumento óptico de la Fig. 4 y un camino óptico generado por el instrumento óptico;

La Fig. 13 es un diagrama esquemático de un instrumento óptico que incluye una fuente lumínica adyacente a un detector, y un camino óptico generado por el instrumento óptico;

La Fig. 14 es una vista superior del instrumento de la Fig. 13;

- 10 La Fig. 15 es un diagrama esquemático de un instrumento óptico y un camino óptico según diversos ejemplos;

La Fig. 16 es un diagrama esquemático de un instrumento óptico y un camino óptico según diversas realizaciones;

La Fig. 17 ilustra un ejemplo de realización de una composición de fuente lumínica, por ejemplo una composición de diodo emisor de luz orgánico (OLED); y

- 15 La Fig. 18 ilustra un ejemplo de realización de una composición de fuente lumínica, por ejemplo una composición de OLED con varios OLED de varios colores apilados unos encima de otros.

Se ha de entender que tanto la descripción general precedente como la siguiente descripción detallada son solo unos ejemplos y explicaciones, y se pretende que proporcionen una explicación adicional de las diversas realizaciones de las presentes enseñanzas.

Descripción de diversas realizaciones

- 20 Diversas realizaciones descritas en esta memoria proporcionan un instrumento óptico. El instrumento puede incluir una pluralidad de regiones de reacción espaciadas, una fuente lumínica adaptada para iluminar simultáneamente por lo menos dos de las regiones de reacción con radiación de excitación, y una lente colimadora dispuesta a lo largo de un recorrido de rayo de excitación entre la fuente lumínica y las regiones de reacción. Un ejemplo de realización se muestra en la Fig. 1.

- 25 Según diversas realizaciones y como se muestra en la Figura 1, se proporciona un instrumento para iluminar múltiples regiones de reacción espaciadas con una fuente de excitación. La fuente lumínica 10 puede emitir rayos de excitación 15 que pueden pasar a través de una lente colimadora 20. La lente colimadora 20 puede colimar los rayos de excitación de tal manera que los rayos de excitación emergen de la lente colimadora paralelos al eje óptico de la lente colimadora y como haces discretos 25 de rayos de excitación colimados. Los haces 25 de rayos de excitación colimados pueden impactar en una pluralidad de regiones de reacción espaciadas 40, de tal manera que cada haz 25 de rayos de excitación colimados emitidos por la lente colimadora puede impactar en una respectiva región de reacción, por ejemplo una de las regiones de reacción 40 de una bandeja de pocillos de muestras 41 sostenida por un conjunto portador 48. Según diversas realizaciones, los haces 25 de rayos de excitación colimados pueden ser enfocados en las respectivas regiones de reacción 40 por el paso a través de unas respectivas lentes de enfoque, tales como unas lentes 30 de región de reacción. Según diversas realizaciones, con la lente colimadora 20 se puede utilizar una máscara 70 para eliminar la luz irrelevante de tal manera que toda la luz que pasa a través de la máscara 70 es dirigida hacia o impacta en una respectiva lente 30 de región de reacción.

- La Fig. 2 muestra un sistema según diversos ejemplos que puede incluir un conjunto portador 48 de regiones de reacción, por ejemplo, un bloque termociclador, que incluye unos pocillos 44 para sostener unas respectivas regiones de reacción 40, por ejemplo, viales, espaciadas entre sí. Las regiones de reacción pueden contener unas respectivas muestras 42. Las muestras pueden ser, por ejemplo, unas respectivas suspensiones de ingredientes para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otros métodos de amplificación de secuencia de ácido nucleico. Si el conjunto portador 48 de regiones de reacción es un bloque termociclador, el conjunto 48 puede incluir un controlador 49 de termociclador para hacer ciclos de temperatura del bloque a través de un programa de temperatura.

- 45 Cada región de reacción 40 puede incluir, por ejemplo, cualquier cámara, envase, recipiente, pocillo de muestra, cápsula, vial, tubo centrífugo, gel, tubo capilar, canal capilar u otro dispositivo de contención, restricción, retención o confinamiento, sin limitación, que sea capaz de retener una muestra para análisis fluorométrico o la iluminación del mismo. Las regiones de reacción 40 pueden fijarse, asegurarse, montarse o conectarse, separarse o integrarse de otro modo con el conjunto portador 48 de regiones de reacción. El conjunto portador 48 puede conectarse o colocarse sobre una superficie de un sustrato o un portador y posicionarse para permitir que dos o más regiones de reacción sean iluminadas simultáneamente por una fuente lumínica. Según diversas realizaciones en donde la región de reacción es integral con el conjunto portador, el conjunto portador puede ser, por ejemplo, una bandeja de

purificación, una bandeja de microtitulación, bandeja multipocillo, distribución de muestras, o dispositivo semejante para sostener múltiples muestras.

Las muestras 42 a analizar pueden incluir suspensiones acuosas de materiales de muestra, por ejemplo, una muestra de "semilla" de una secuencia de ácido nucleico objetivo, iniciadores seleccionados, ácidos nucleicos, encimas, tampones, y otras sustancias químicas utilizadas convencionalmente para la PCR.

Las regiones de reacción 40 pueden ser calentadas y enfriadas en un ciclo predeterminado mediante calentadores eléctricos, refrigerantes líquidos o aire, o una combinación de los mismos, o mediante otros métodos conocidos por los expertos en la técnica para lograr ciclos térmicos. Las regiones de reacción 40 pueden ser sometidas a ciclos entre dos fases de temperatura para afectar al PCR, por ejemplo. Las regiones de reacción 40 pueden ser mantenidas a una temperatura constante para una reacción isotérmica.

Las regiones de reacción espaciadas 40 pueden ser, por ejemplo, viales cónicos o cilíndricos, y pueden estar separadas entre sí o pueden estar formadas integralmente en una bandeja unitaria, por ejemplo, una bandeja de plástico. Según diversas realizaciones, el conjunto portador 48 de regiones de reacción puede sostener una pluralidad de viales, por ejemplo 96 viales, en una distribución, tal como una distribución de 12 por 8 viales. Según diversas realizaciones, los viales o regiones de reacción 40 pueden retirarse del conjunto portador 48 de regiones de reacción para la preparación y/o la carga de muestras. Según diversas realizaciones, para sellar los viales se puede proporcionar una tapa unitaria de plástico, tal como una tapa que incluye unos capuchones 46.

Los capuchones 46 para las regiones de reacción 40 pueden descansar sobre, conectarse a, o sellarse estrechamente con las regiones de reacción 40 para impedir la contaminación y la pérdida por evaporación de las muestras 42 en las regiones de reacción 40. Para esta función también o en su lugar se pueden utilizar otros métodos e instrumentos, tal como disponer aceite, tal como un aceite mineral, en la superficie de muestras, en cuyo caso pueden no ser necesarios los capuchones. Si se utilizan, los capuchones 46 pueden ser transparentes a la luz utilizada en el instrumento. Los capuchones 46 pueden ser convexos, por ejemplo, mirando hacia arriba. Según diversas realizaciones, los capuchones 46 pueden ser una película o una tapa de termosellado. Según diversas realizaciones y como se muestra en la Fig. 2, los capuchones convexos, mirando hacia arriba, 46 pueden funcionar como lentes de región de reacción para enfocar los respectivos haces 28 de rayos de excitación colimados a la muestra 42 en una respectiva región de reacción 40. Según diversas realizaciones, cada capuchón 46 puede encajar ajustado en cada respectivo vial 40 de tal manera que el capuchón 46, cuando está encajado en el vial 40, puede soportar el peso del vial 40 suspendido del capuchón 46. Según diversas realizaciones en donde el vial 40 está suspendido del capuchón 46, como se muestra en la Fig. 9, el capuchón puede tener forma de seta, que tiene una parte superior convexa y una base más estrecha que sobresale debajo de la parte superior de tal manera que la base más estrecha pueda encajar ajustada en el vial 40. El capuchón 46 que soporta el vial 40 puede descansar en una plataforma 47, como se muestra en las Figs. 2 y 7, en donde la plataforma incluye unos agujeros pasantes para el paso de los viales 40 a través de la plataforma, de tal manera que los capuchones 46 descansen en la plataforma 47 mientras los viales 40 están suspendidos de los capuchones 46 y se extienden a través de la plataforma 47. Según diversas realizaciones, una pluralidad de capuchones 46 puede formarse como una sola hoja de tal manera que la hoja se pueda colocar sobre una pluralidad de viales o regiones de reacción 40.

Según diversas realizaciones, un instrumento de monitorización se puede montar sobre el conjunto portador 48 de regiones de reacción que contiene las regiones de reacción 40. El instrumento puede ser desmontable o puede girar para el acceso a las regiones de reacción 40.

Como se muestra en la Fig. 2, por ejemplo, el instrumento puede incluir una platina 130 que descansa sobre los capuchones 46 o, si no se utilizan capuchones, que descansa directamente sobre las regiones de reacción 40. La platina 130 puede ser de aluminio y puede incluir una distribución de agujeros 135 alineados con las regiones de reacción 40, cada agujero tiene un diámetro que es aproximadamente igual que el diámetro superior de la región de reacción. Si se utilizan capuchones 46, la temperatura de la platina 130 puede ser mantenida por un calentador de película u otro instrumento para impedir que se forme condensación bajo los capuchones 46. El calentamiento de la platina, sin embargo, no debería interferir con la reacción, tal como replicación de ADN, en las regiones de reacción 40. Un ejemplo de método para impedir la condensación es mantener la platina 130 a una temperatura ligeramente mayor que la temperatura más alta de muestra que alcanza el conjunto portador 48 de regiones de reacción.

Según diversas realizaciones y como se representa en la Fig. 2, encima de cada región de reacción 40, puede colocarse una lente de enfoque, tal como una lente 30 de región de reacción, que tiene un punto focal que está aproximadamente centrado en una respectiva muestra 42 en una respectiva región de reacción 40. Encima de la lente 30 de región de reacción se puede colocar una lente de enfoque 35, por ejemplo una lente de objetivo o una lente Fresnel, para proporcionar, por ejemplo, un sistema óptico telecéntrico. Los términos "lente de enfoque" y "lente de región de reacción" utilizados en toda esta descripción pueden, según diversas realizaciones, ser intercambiables porque puede haber presente una lente de región de reacción, una lente de enfoque o ambas según diversas realizaciones. Cada lente de enfoque 35 y cada lente 30 de región de reacción pueden incluir dos o más lentes, que juntas puedan efectuar un enfoque deseado, de este modo la palabras "lente" en esta memoria incluye tales multiplicidades. Un capuchón convexo, mirando hacia arriba, de una región de reacción puede funcionar, por ejemplo, como lente de región de reacción. Según diversas realizaciones, sobre o en las proximidades de la lente de

enfoque o la lente de región de reacción se puede montar un patrón de densidad neutro (no se muestra) para corregir las inconsistencias en la iluminación y en la imaginología, por ejemplo, para atenuar la luz en el centro del campo de imagen.

5 Un tinte o marcador fluorescentes en una muestra en una región de reacción puede emitir luz con una frecuencia de emisión cuando son excitados por un rayo de excitación con la longitud de onda apropiada. La luz emitida puede ser pasada como rayo de emisión 85 a un detector 80. Según diversas realizaciones y como se muestra en la Fig. 2, el rayo de emisión 85 puede pasar a través de una lente 30 de región de reacción y/o una lente de enfoque 35 a un detector 80. Opcionalmente puede montarse a 45°, o con cualquier otro ángulo adecuado, un espejo de desviación 65 para un empaquetado conveniente del instrumento. El espejo de desviación 65 se puede omitir, o en lugar o
10 además del espejo de desviación se puede utilizar otro tipo de óptica de desviación. Según diversas realizaciones, el rayo de emisión 85 puede ser reflejado por un espejo de desviación 65 hacia un filtro de transición 60, tal como un filtro de paso largo o un divisor de rayos. El filtro de transición 60 puede dejar pasar o reflejar un rayo de emisión 85 hacia el detector 80. Según diversas realizaciones, el filtro de transición 60 puede incluir una superficie curvada, como se muestra en la Fig. 2.

15 Una o más lentes 30 de región de reacción, lentes de enfoque 35 y capuchones 46 pueden proporcionar un sistema de enfoque primario para enfocar los respectivos haces de rayos de excitación a la región de reacción 40 y/o para enfocar los rayos de emisión 85 hacia un detector 80. Según diversas realizaciones, se puede omitir la lente de enfoque 35 de modo que el sistema de enfoque incluya una lente 30 de región de reacción o viceversa. Según diversas realizaciones, una pluralidad de lentes de región de reacción puede formar una distribución de lentes de
20 región de reacción, en donde cada lente de región de reacción puede corresponder a una región de reacción independiente. Las lentes de región de reacción pueden disponerse entre la lente colimadora 20 y la región de reacción de tal manera que cada haz de rayos de excitación colimados procedentes de la lente colimadora impacta en una respectiva lente de región de reacción y puede ser enfocado sobre una muestra en una respectiva región de reacción. Según diversas realizaciones, una o más de las lentes de enfoque 35, las lentes 30 de región de reacción y los capuchones 46 pueden enfocar un rayo de emisión 85 sobre el detector 80.

Según diversas realizaciones, una lente de enfoque y/o una lente de región de reacción pueden estar ubicadas entre una lente colimadora y una región de reacción, entre un filtro de transición y una región de reacción, entre un espejo y una región de reacción o entre una segunda lente de campo y una región de reacción. Si se utiliza en combinación con una lente de región de reacción, puede colocarse una lente de enfoque entre una lente de región de reacción y
30 una lente colimadora, filtro de transición, espejo o segunda lente de campo.

Para filtrar los haces de rayos de excitación colimados, se puede disponer un filtro de excitación 100 entre la lente colimadora 20 y el filtro de transición 60, como se muestra en la Fig. 2. El filtro de excitación 100 puede dejar pasar la luz que tenga la frecuencia de excitación para los marcadores o tintes utilizados en las muestras, y puede bloquear substancialmente la luz que tenga la frecuencia de emisión.

35 Según diversas realizaciones, como se muestra en la Fig. 2, entre el filtro de transición 60 y el detector 80 se puede disponer un filtro de emisión 120. Entre el filtro de transición 60 y la lente 82 de detector, delante del detector 80, se puede disponer un filtro de emisión 120. El filtro de emisión 120 puede dejar pasar un rayo de emisión 85 que tenga la frecuencia de emisión emitida desde las muestras iluminadas y puede bloquear substancialmente la luz que tenga la frecuencia de excitación.

40 Según diversas realizaciones y como se muestra en la Fig. 2, el filtro de excitación 100 y el filtro de transición 60 constituyen juntos un primer sistema dispuesto para recibir haces de rayos de excitación colimados 25 que tienen la frecuencia de excitación desde la lente colimadora 20. Según diversas realizaciones, el filtro de emisión 120 y el filtro de transición 60 constituyen juntos un segundo sistema dispuesto para recibir rayos de emisión 85 desde la lente de enfoque 35 y/o la lente 30 de región de reacción para dejar pasar rayos de emisión 85 con una frecuencia de
45 emisión hacia el detector 80. Según diversas realizaciones, se pueden omitir los filtros de emisión y de excitación, y el primer sistema puede incluir un filtro de transición 60 que refleja o deja pasar haces de rayos de excitación colimados 25 y el segundo sistema puede incluir un filtro de transición 60 que deja pasar o refleja, respectivamente, rayos de emisión 85 hacia el detector 80.

Según diversas realizaciones, el filtro de transición 60, el filtro de excitación 100 y el filtro de emisión 120 pueden fijarse a un módulo 230 como se muestra en la Fig. 3. Estos elementos se pueden asociar con un tinte primario seleccionado utilizado en las muestras. El módulo puede ser desmontable del alojamiento 232 del instrumento A para la sustitución por otro módulo capaz de contener un filtro diferente, filtro de excitación y filtro de emisión asociados con otro tinte primario seleccionado. El instrumento A puede incluir un subalojamiento 233 de fuente lumínica y un subalojamiento 235 de detector o de cámara. Como se muestra en la Fig. 3, el filtro de transición 60
50 puede estar ubicado en el instrumento A de tal manera que el filtro de transición 60 esté a 45° con respecto al plano B del instrumento. Se pueden utilizar otros ángulos adecuados de colocación de filtro de transición con respecto al plano B.

Según diversas realizaciones y como se muestra en la Fig. 4, un módulo cambiabile 230 de un instrumento A, como se muestra en la Fig. 3, puede incluir un bloque de montaje 234 que tiene un reborde 236 que puede fijarse al

alojamiento 232 con un solo tornillo 238. El filtro de transición 60 puede mantenerse a aproximadamente 45°, o cualquier otro ángulo adecuado, en el bloque de montaje 234 con un bastidor 240 y unos tornillos 242. El filtro de emisión 120 se puede montar, por ejemplo, con pegamento, por acoplamiento con rozamiento, encaje por salto elástico o algo semejante, en el bloque de montaje 234. El filtro de excitación 100 se puede montar similarmente en el miembro de montaje 244, que a su vez se puede sostener mediante tornillos 246 en el bloque de montaje 234. Con el módulo 230 en su sitio, el instrumento A se puede cerrar por la conexión de la placa lateral 247, como se muestra en la Fig. 3, por ejemplo, con tornillos. Opcionalmente, para tener un alineamiento repetible se pueden utilizar unas espigas de colocación (no se muestran). Un módulo de sustitución puede incluir el mismo o similar bloque de montaje y los componentes asociados pero con un filtro de transición, máscara, filtro de excitación y/o filtro de emisión diferentes.

La fuente lumínica 10 que puede emitir rayos de excitación 15 puede ser una sola fuente lumínica o una distribución o manojos de fuentes lumínicas. Según diversas realizaciones y como se muestra en las Figs. 5 y 6, la fuente lumínica 10 puede incluir una distribución 103 de fuentes lumínicas individuales 104 aseguradas en un substrato 108. El substrato 108 puede hacerse de cualquier material que pueda soportar el calor emitido por la fuente lumínica. Por ejemplo, para el substrato 108 se puede utilizar metal o plásticos. El substrato 108 puede ser capaz de montarse en un cuerpo 102, como se muestra en la Fig. 6. Para montar las fuentes lumínicas 104 y el substrato 108 en el cuerpo 102 puede proporcionarse una plataforma 109. La distribución de fuentes lumínicas individuales 104 puede ser asegurada dentro del cuerpo 102 mediante unos dispositivos adecuados tales como bandas de caucho, pestañas, pegamento u otros medios sin el uso del substrato 108. El cuerpo 102 puede incluir una lente 106 como se muestra en las Figs. 5 y 6. Según diversas realizaciones, la lente 106 está ubicada espaciada de la distribución 103 de fuentes lumínicas individuales 104. La fuente lumínica 10 también puede incluir una fuente de energía 110 capaz de iluminar cada fuente lumínica individual 104, simultánea, individual, secuencialmente, en grupos, en filas o en otras configuraciones u órdenes de iluminación. Se pueden iluminar secuencialmente grupos de colores individuales de la distribución. La distribución de fuentes lumínicas puede generar rayos de excitación de luz denominados en esta memoria como rayos de excitación o rayos de excitación de luz de área.

Según diversas realizaciones, los grupos de números predeterminados de fuentes lumínicas 104 pueden emitir unas respectivas longitudes de onda de tal manera que los diferentes grupos de fuentes lumínicas emitan diferentes frecuencias de excitación. Cada uno de los grupos puede disponerse como filas de fuentes lumínicas individuales 104 o puede incluir una pluralidad de fuentes lumínicas con una primera longitud de onda de rayo de excitación, distribuidas homogéneamente por toda la distribución junto con las fuentes lumínicas con las otras longitudes de onda de rayo de excitación. La longitud de onda o longitudes de onda emitidas desde cada grupo de fuentes lumínicas pueden corresponder a una frecuencia de excitación particular para un marcador o tinte utilizados en una o más de las muestras. Un controlador, capaz de alimentar una o más de las fuentes lumínicas individuales 104 o grupos de fuentes lumínicas en la distribución 103, puede alimentar las fuentes lumínicas de un grupo que tenga una particular longitud de onda simultánea o individualmente de las fuentes lumínicas de los otros grupos. Cada grupo de fuentes lumínicas alimentadas por el controlador puede proporcionar unos rayos de excitación que iluminan simultáneamente por lo menos dos de la pluralidad de regiones de reacción, y puede hacer que un respectivo marcador o tinte fluoreszca.

Según diversas realizaciones, y como se muestra en la Fig. 7, la fuente lumínica 10 puede incluir una fuente lumínica individual 112. Los rayos de excitación emitidos desde la fuente lumínica 112 divergen desde la fuente lumínica 112 con un ángulo de divergencia. El ángulo de divergencia puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 5° a aproximadamente 75° o más. El ángulo de divergencia puede ser substancialmente ancho, por ejemplo, más de 45°, incluso puede enfocarse eficientemente por el uso de una lente colimadora 20. Según diversas realizaciones, los haces de rayos de excitación colimados 25 que han pasado a través de la lente colimadora 20 pueden reflejarse desde un filtro de paso largo 60 en una dirección hacia el espejo de desviación 65. Los haces de rayos de excitación colimados reflejados por el espejo de desviación 65 pueden pasar a través una lente de enfoque 35, por ejemplo, una lente Fresnel. Según diversas realizaciones, cada uno de los haces de rayos de excitación colimados puede ser enfocado por una respectiva lente 30 de región de reacción antes de iluminar una respectiva muestra 42 en la correspondiente región de reacción 40. En el ejemplo mostrado en la Fig. 7, las regiones de reacción son unos viales individuales en una serie de pocillos en una bandeja 48.

Según diversas realizaciones, una fuente lumínica puede contener un Diodo Emisor de Luz (led) o una distribución de ledes. Según diversas realizaciones, cada led puede ser un led de alta potencia que puede emitir 1 mW o más de energía de excitación. En diversas realizaciones, un led de alta potencia puede emitir por lo menos 5 mW de energía de excitación. En diversas realizaciones en donde el led puede emitir por lo menos 5 mW de energía de excitación, con el led se puede utilizar un dispositivo de refrigeración tal como, pero no limitado a, un disipador térmico o ventilador. Se puede utilizar una distribución de ledes de alta potencia que utiliza solo aproximadamente 10 vatios de energía o menos, dependiendo de la potencia de cada led y del número de ledes en la distribución. El uso de una distribución de ledes puede tener como resultado una reducción significativa de requisito de potencia sobre las fuentes lumínicas, tal como, por ejemplo, una fuente lumínica halógena de 750 vatios. Unos ejemplos de fuentes de distribución de ledes están disponibles, por ejemplo, en Stocker Yale como LED ARE-LIGHTS.

Según diversas realizaciones, la fuente lumínica puede ser un Diodo Emisor de Luz (led). El led puede incluir un Diodo Emisor de Luz Orgánico (OLED), o un Dispositivo Electroluminiscente de Película Delgada (TFELD). El led

puede incluir un OLED fosforescente (PHOLED). Si se utiliza un OLED, el OLED puede tener cualquiera de diversos tamaños, formas y/o longitudes de onda. El OLED puede ser un dispositivo de bajo consumo de potencia. Unos ejemplos de OLED en diversas configuraciones y longitudes de onda se describen en, por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 6.331.438 B1. El OLED puede incluir un OLED de molécula pequeña y/o un OLED a base de polímero, también conocido como un Polímero Emisor de Luz (LEP). Puede utilizarse un OLED que sea un OLED de molécula pequeña depositado en un sustrato. Puede utilizarse un OLED que esté depositado en un sustrato. Puede utilizarse un OLED que esté depositado en una superficie mediante técnica de deposición por vapor. Puede utilizarse un LEP que esté depositado en un revestimiento disolvente.

Según diversas realizaciones, se utiliza un OLED y puede formarse a partir de uno o más materiales orgánicos estables. El OLED puede incluir una o más películas delgadas a base de carbono y el OLED puede ser capaz de emitir luz de diversos colores cuando se aplica un voltaje a la una o más películas delgadas a base de carbono.

Según diversas realizaciones, el OLED puede incluir una película que está ubicada entre dos electrodos. Los electrodos pueden ser, por ejemplo, un ánodo transparente y/o un cátodo metálico. La película de OLED puede incluir una o más de una capa de inyección de agujeros, una capa de transporte de agujeros, una capa emisiva y una capa de transporte de electrones. El OLED puede incluir una película que tiene un grosor de aproximadamente un micrómetro o menos. Cuando se aplica un voltaje apropiado a la película, las cargas inyectadas positiva y negativa pueden recombinarse en la capa emisiva para producir luz por medio de electroluminiscencia. La cantidad de luz emitida por el OLED puede estar relacionada con el voltaje aplicado a través de los electrodos a la película delgada del OLED. Hay disponibles diversos materiales adecuados para la fabricación de OLED, por ejemplo, en H. W. Sands Corp. de Júpiter, Florida. Diversos tipos de OLED se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. nº 4.356.429 de Tang, la patente de EE.UU. nº 5.554.450 de Shi et al y en la patente de EE.UU. nº 5.593.788 de Shi et al.

Según diversas realizaciones, se utiliza un OLED y puede ser producido en un sustrato flexible, en un sustrato ópticamente transparente, en un sustrato con una forma inusual, o en una combinación de los mismos. En un sustrato pueden combinarse múltiples OLED, en donde los múltiples OLED pueden emitir luz con diferentes longitudes de onda. Múltiples OLED en un solo sustrato o múltiples sustratos adyacentes pueden formar un patrón entrelazado o no entrelazado de luz de diversas longitudes de onda. El patrón puede corresponder a, por ejemplo, una disposición de depósito de muestras. Uno o más OLED pueden formar una forma que rodea, por ejemplo, un depósito de muestras, una serie de depósitos de muestras, una distribución de una pluralidad de depósitos de muestras o un recorrido de flujo de muestras. El recorrido de muestras puede ser, por ejemplo, un canal, un capilar o un microcapilar. Uno o más OLED pueden formarse para seguir el recorrido de flujo de muestras. Uno o más OLED pueden formarse con la forma de un sustrato o una parte de un sustrato. Por ejemplo, el OLED puede ser curvado, circular, ovalado, rectangular, cuadrado, triangular, anular o con cualquier otra forma geoméricamente regular. El OLED puede formarse como una forma geométrica irregular. El OLED puede iluminar uno o más depósitos de muestras, por ejemplo, un OLED puede iluminar uno, dos, tres, cuatro o más depósitos de muestras simultáneamente o en secuencia. El OLED puede diseñarse, por ejemplo, para iluminar todos los pocillos de una distribución multipocillo correspondiente.

Según diversas realizaciones, en el sustrato de OLED puede incorporarse uno o más filtros de excitación, eliminando de este modo los equipos adicionales y reduciendo la cantidad de espacio necesario para un sistema óptico. Por ejemplo, uno o más filtros pueden formarse en una capa de un sustrato incluyendo uno o más OLED y una capa que incluye un recorrido de flujo de muestras. La longitud de onda emitida por el OLED puede ser ajustada por impresión de un tinte fluorescente en el sustrato de OLED, como enseña, por ejemplo, Hebner et al. en el documento "Local Tuning of Organic Light-Emitting Diode Color by Dye Droplet Application," APPLIED PHYSICS LETTERS, Vol. 73, nº. 13 (28 de septiembre de 1998).

Según diversas realizaciones, la fuente lumínica puede ser un Láser de Estado Sólido (SSL, *Solid State Laser*). El SSL puede producir luz monocromática, coherente, direccional, y puede proporcionar una longitud de onda estrecha de energía de excitación. El SSL puede utilizar un material láserico que es distribuido en una matriz sólida, a diferencia de otros láseres que utilizan un material de fuente láserico de gas, tinte o semiconductor. Unos ejemplos de materiales lásericos de estado sólido y las correspondientes longitudes de onda de emisión pueden incluir, por ejemplo: Rubí a aproximadamente 694 nm; Nd:Yag a aproximadamente 1064 nm; Nd:YV04 a aproximadamente 1064 nm y/o aproximadamente 1340 nm y que pueden duplicarse para emitir a aproximadamente 532 nm o aproximadamente 670 nm; Alexandrita de aproximadamente 655 nm a aproximadamente 815 nm; y Ti:Zafiro de aproximadamente 840 nm a aproximadamente 1100 nm. Según diversas realizaciones, también pueden utilizarse otros láseres de estado sólido conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, diodos láser. El material láserico apropiado puede ser seleccionado sobre la base de los tintes fluorescentes utilizados o la longitud de onda de excitación requerida.

Si se utiliza un SSL, el láser se puede seleccionar para coincidir estrechamente con la longitud de onda o intervalo de longitudes de onda de excitación óptimas de un tinte fluorescente. La temperatura de funcionamiento del sistema se puede considerar en la selección de un SSL apropiado. La temperatura de funcionamiento se puede cambiar para afectar a la longitud de onda emitida del SSL. La fuente lumínica para el láser puede ser cualquier fuente conocida por los expertos en la técnica, por ejemplo una lámpara de destellos. Información útil acerca de diversos láseres de

estado sólido se puede encontrar, por ejemplo, en www.repairfaq.org/sam/lasersl.htm. Unos ejemplos de láseres de estado sólido utilizados en diversos sistemas para la identificación de materiales biológicos se tratan en la patente de EE.UU. nº 5.863.502 de Southgate et al. y en la patente de EE.UU. nº US 6.529.275 B2 de Amirhanian et al.

5 Según diversas realizaciones, se pueden utilizar diversos tipos de fuentes lumínicas singularmente o en combinación con otras fuentes lumínicas. Se puede utilizar uno o más OLED con, por ejemplo, uno o más ledes no orgánicos, uno o más láseres de estado sólido, una o más fuentes lumínicas halógenas o una combinación de los mismos.

10 Según diversas realizaciones, se puede utilizar una fuente lumínica para proporcionar rayos de excitación para irradiar una solución de muestra que contiene uno o más tintes. Por ejemplo, se pueden utilizar dos o más rayos de excitación que tienen emisiones de igual o diferente longitud de onda, de tal manera que cada rayo de excitación excite un respectivo tinte diferente en la muestra. El rayo de excitación puede apuntarse desde la fuente lumínica directamente a la muestra, a través de una pared de un recipiente de muestras que contiene la muestra o puede ser transportado por diversos sistemas ópticos a la muestra. Un sistema óptico puede incluir uno o más de, por ejemplo, un espejo, un divisor de rayo, una fibra óptica, una guía de luz y/o una combinación de los mismos.

15 Según diversas realizaciones, puede utilizarse uno o más filtros, por ejemplo, un filtro de paso banda, con una fuente lumínica para controlar la longitud de onda de un rayo de excitación. Puede utilizarse uno o más filtros para controlar la longitud de onda de un rayo de emisión emitido por un marcador excitado u otro luminiscente. Uno o más filtros de excitación se pueden asociar con una fuente lumínica para formar el rayo de excitación. Entre la una o más fuentes lumínicas y la muestra se puede ubicar uno o más filtros. Uno o más filtros de emisión se pueden asociar con un rayo de emisión desde y/o longitud de onda o intervalo de longitudes de onda de un marcador o tinte excitados.
20 Entre la muestra y uno o más detectores de rayo de emisión se puede ubicar uno o más filtros.

Según diversas realizaciones, se utiliza una lente colimadora 20 para recibir y dirigir rayos de luz de excitación 15 desde una fuente lumínica 10 y para colimar los rayos de luz de excitación de tal manera que los rayos de luz que se originan en el punto sobre la fuente lumínica que es intersecada por el eje óptico de la lente colimadora puede emerger desde la lente colimadora paralelo al eje óptico de la lente colimadora. Según diversas realizaciones, la lente colimadora se puede ubicar a una longitud focal de la fuente lumínica. Según diversas realizaciones, la lente colimadora puede incluir una pluralidad de lentes colimadoras en forma de distribución de lentes colimadoras.

Según diversas realizaciones, se proporciona una lente colimadora 20 para cada fuente lumínica 10. La lente colimadora 20 puede recibir rayos de luz de excitación 15 desde una fuente lumínica 10 y puede colimar los rayos de luz de excitación 15 de tal manera que se producen dos o más haces discretos 15 de rayos de excitación colimados, en donde cada haz discreto 25 de rayos de excitación colimados sea de la misma longitud de onda pero de menor energía que los rayos de luz de excitación iniciales 15 que entran a la lente colimadora. Según diversas realizaciones, cada lente colimadora puede formar cuatro haces discretos de rayos de excitación colimados a partir de una fuente de excitación. La lente colimadora puede ser de cualquier material conocido por recibir y colimar luz. Según diversas realizaciones, la lente colimadora puede ser una lente Fresnel o una esfera de vidrio moldeado.
35 "Lente colimadora" tal como se le hace referencia en esta memoria puede incluir un sistema de lente colimadora que incluye, por ejemplo, una lente colimadora, una máscara, un filtro o una combinación de los mismos.

Según diversas realizaciones, y como se representa en las Figs. 2 y 7, se puede disponer un filtro de transición 60, por ejemplo, un filtro de paso largo, un filtro paso banda o un filtro multimuesca para recibir uno o más haces 25 de rayos de excitación colimados de la lente colimadora 20. El filtro de transición 60 puede ser un reflector dicróico colocado con un ángulo, por ejemplo 45°, para reflejar los haces 25 de rayos de excitación colimados emitidos desde la fuente lumínica 10. La luz reflejada puede entonces iluminar por lo menos dos de las regiones de reacción con unos respectivos haces 25 de rayos de excitación colimados de tal manera que las moléculas de tinte en las respectivas muestras de las regiones de reacción 40 puedan fluorescer con una frecuencia de emisión y producir rayos de emisión. Según diversas realizaciones, el filtro de transición 60 puede dejar pasar la luz que tiene la frecuencia de emisión. Tal filtro puede utilizar capas de interferencia óptica para proporcionar una respuesta de frecuencia deseada.

Según diversas realizaciones como se muestra en las Figs. 2 y 7, y con cualquiera de las fuentes lumínicas descritas en esta memoria, el filtro de transición 60 puede colocarse de modo que pueda reflejar los haces de rayos de excitación colimados 25 al espejo de desviación 65. Los haces de rayos de excitación colimados 25 pueden reflejarse desde el filtro de transición 60 como haces de rayos de excitación colimados que tienen la frecuencia de excitación. Como se muestra en la Fig. 2, el filtro de transición 60 puede incluir una superficie curvada, que hace que los rayos de excitación reflejados diverjan con reflexión. Como se muestra en las Figs. 2 y 7, los haces de rayos de excitación colimados 25 pueden ser reflejados desde el espejo de desviación 65 hacia las respectivas regiones de reacción 40. Los haces reflejados 25 de rayos de excitación colimados pueden ser enfocados por la lente de enfoque 35 para formar unos respectivos haces 28 que pueden ser enfocados por las respectivas lentes 30 de región de reacción en unas muestras en las respectivas regiones de reacción 40.

Según diversas realizaciones, y como se muestra en las Figs. 2 y 7, un espejo 65 entre la lente colimadora y la pluralidad de regiones de reacción se puede ubicar un espejo 65. Según diversas realizaciones que incluyen una o más lentes de campo, el espejo puede ubicarse entre una primera lente de campo y una segunda lente de campo

para dirigir los haces de rayos de excitación colimados desde la primera lente de campo hacia la segunda lente de campo. Según diversas realizaciones, se puede ubicar un espejo 65 en un recorrido de rayo de excitación entre una fuente lumínica y una región de reacción. Según diversas realizaciones, se puede ubicar un espejo en un recorrido de rayo de excitación entre una o más fuentes lumínicas y dos o más regiones de reacción. Se puede ubicar un espejo entre una lente colimadora o un filtro y una lente de enfoque, lente de región de reacción o región de reacción.

Según diversas realizaciones, se puede proporcionar una máscara 70 como se muestra en las Figs. 1, 8, 9, 10, 12, 13 y 16, después de la lente colimadora de tal manera que se pueda crear un perfil especial de irradiancia que es una copia a escala de las regiones de reacción espaciadas. La máscara puede eliminar los rayos de excitación no deseados para que no impacten en las regiones de reacción espaciadas. La máscara 70 se puede utilizar para eliminar luz de excitación irrelevante de tal manera que los haces de rayos de excitación colimados 25 correspondientes a las regiones de reacción 40 se pasen a través de la máscara 70 y otra luz sea bloqueada. Según diversas realizaciones, la máscara puede ser ópticamente opaca. Según otras diversas realizaciones, la máscara puede ser de aluminio anodizado. Los profesionales en la técnica conocen métodos y materiales para crear tal máscara. Se podría utilizar un OLED con la forma de una región sin enmascarar.

Según diversas realizaciones, se puede ubicar una máscara 70 antes de una lente de región de reacción o distribución de lentes de región de reacción, como se muestra en la Fig. 9. La máscara puede eliminar los rayos de excitación para que no pasen a través de una lente de región de reacción hacia una respectiva región de reacción. La máscara puede eliminar los rayos de emisión no deseados o la luz irrelevante para que no pasen a través de una lente de región de reacción hacia un detector, minimizando el ruido de señal.

Según diversas realizaciones, como se muestra en las Figs. 10-12, se puede ubicar uno o más filtros de transición 61, 62 tales como, por ejemplo, un filtro de paso largo, un filtro de paso corto, un divisor de rayos, un prisma o una rejilla de difracción, entre la lente colimadora 20 y la pluralidad de regiones de reacción 40. Según diversas realizaciones, el filtro de transición puede ser un filtro de paso largo, de paso banda o multimuesca.

Según diversas realizaciones, como se muestra en las Figs. 10-12, los filtros de transición 61, 62 pueden dejar pasar haces de rayos de excitación colimados 25, 26 y reflejar rayos de emisión 85 utilizando los ejemplos de disposiciones que se muestran incluyendo la fuente lumínica 10 y el detector 80. Según diversas realizaciones, los filtros de transición 61 y/o 62 pueden ser colocados individualmente con un ángulo de 45° o con ángulos diferentes a 45°. Aunque los filtros de transición 61 y 62 pueden dividir los recorridos ópticos de los haces de rayos de excitación colimados 25, 26 desde el rayo de emisión 85, también son adecuadas y se pueden utilizar otras variantes que logran tal resultado. Por ejemplo, puede ser deseable minimizar o eliminar la luz de fuente lumínica que llega al detector 80, y para lograr esta minimización se puede utilizar un filtro de paso largo dicróico utilizado como filtros de transición 61 y 62. Según diversas realizaciones, para uno o ambos filtros de transición 61 y 62 se puede utilizar un filtro de paso largo no dicróico, un divisor de rayos 50/50, un divisor de rayos multimuesca.

Según diversas realizaciones, se puede colocar un filtro de transición de tal manera que el filtro esté ubicado a lo largo de un recorrido de rayo de excitación entre una fuente lumínica y una sola región de reacción. Según otras diversas realizaciones, se puede ubicar un filtro de transición 61, 62 entre una o más fuentes lumínicas y dos o más regiones de reacción, como se muestra, por ejemplo, en las Figs. 10 y 11. Según diversas realizaciones, el filtro de transición 61, 62 se puede ubicar en un recorrido de rayo de excitación entre una lente colimadora y una lente de enfoque, una lente de región de reacción o una región de reacción. Según diversas realizaciones, el filtro de transición 61, 62 se puede ubicar en un recorrido de rayo de emisión entre una región de reacción, lente de región de reacción, o una lente de enfoque y un detector.

Según diversas realizaciones, una fuente lumínica puede emitir rayos de excitación hacia múltiples regiones de reacción en una fila de regiones de reacción o en dos o más filas de regiones de reacción. Por ejemplo, cada fuente lumínica en la Fig. 11 puede iluminar unas regiones de reacción en una fila. Según diversas realizaciones, cada fuente lumínica puede iluminar dos regiones de reacción en dos o más filas adyacentes.

Según diversas realizaciones, la muestra puede contener un marcador o tinte fluorescente que fluoresce, por ejemplo, cuando está en presencia de una secuencia de ácido nucleico de destino. Se pueden utilizar sondas de tinte fluorescente. Se pueden utilizar otros tintes que tengan características similares. Se pueden utilizar tintes intercalables, tintes informadores, tintes de flotación libre y otros tintes. Las muestras también pueden contener un tinte pasivo adicional que pueda servir como referencia o control.

Si se incluye un tinte de referencia, puede incluir, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico etiquetada con un tinte de rodamina y/o fluoresceína o un derivado de los mismos. Un ejemplo de un tinte de referencia adecuado es el tinte ROX disponible en Applied Biosystems de Foster City, California. La molécula de tinte pasivo puede seleccionarse para no tomar parte en la reacción, por ejemplo, una reacción de PCR, de modo que la fluorescencia del tinte pasivo sea substancialmente sin influencia de una secuencia de ácido nucleico de destino y permanezca constante durante la PCR. La fluorescencia detectada del tinte pasivo puede utilizarse para normalizar la fluorescencia del tinte vinculante de secuencia de destino al utilizar una concentración estándar del tinte pasivo en una o más regiones de reacción.

La fuente lumínica puede emitir rayos de excitación que incluyen una frecuencia de excitación secundaria que hace que el tinte pasivo fluoreszca a una frecuencia de emisión secundaria. La frecuencia de emisión secundaria puede ser dirigida a un detector para generar unas correspondientes señales de datos secundarios. El procesador puede recibir las señales de datos secundarios y computar los datos secundarios representativos de la concentración estándar conocida del tinte pasivo. Estos datos se pueden utilizar para normalizar los datos primarios, de modo que, por ejemplo, la concentración de la secuencia de ácido nucleico de destino es normalizada a la concentración estándar del tinte pasivo después de corregir los cálculos de concentración de la secuencia de destino en proporción a los ajustes hechos en el tiempo de exposición, y conjuntamente con la normalización para la deriva, justificado por el análisis de la frecuencia de emisión secundaria. Más detalles acerca del uso de tintes pasivos y transformaciones matemáticas que utilizan datos recopilados de tintes pasivos se presentan en la Guía de usuario del sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000, páginas A-1 a A-10, disponible en Applied Biosystems. La frecuencia de excitación secundaria puede ser idéntica a la frecuencia de excitación primaria y el tinte pasivo puede seleccionarse para fluorescer de tal manera que la frecuencia de excitación secundaria pueda ser substancialmente a la frecuencia de emisión de los rayos de emisión primarios. En el ejemplo de PCR, las señales de datos primarios pueden ser generadas durante cada fase de extensión del ciclo térmico cuando la secuencia de destino es recombinada y la emisión de tinte primario se maximiza. Las señales de datos secundarios pueden ser generadas durante cada fase de desnaturalización del ciclo térmico cuando la secuencia de destino es desnaturalizada y la correspondiente emisión de tinte primario es minimizada. De este modo, las señales de datos para la fase primaria pueden ser substancialmente representativas de la concentración de secuencia de destino, y las señales de datos para la fase secundaria pueden ser substancialmente representativas de la concentración estándar del tinte pasivo. Como alternativa o adicionalmente, los datos de tinte pasivo se pueden tomar durante la fase e hibridación.

Unos filtros de emisión y de excitación adecuados para el uso en un instrumento óptico pueden ser cualquier filtro óptico paso banda que utilice, por ejemplo, películas de interferencia óptica, cada una con un paso banda a una frecuencia que es óptima para la longitud de onda de excitación del tinte fluorescente o la longitud de onda de emisión del tinte fluorescente. Cada filtro puede tener una atenuación muy alta para frecuencias de no paso banda para impedir que sean reflejadas imágenes "fantasma" y para impedir la luz parásita. Para tinte verde SYBR, por ejemplo, el paso banda de filtro de excitación puede centrarse alrededor de una longitud de onda de 485 nm, y el paso banda de filtro de emisión puede centrarse alrededor de una longitud de onda de 555 nm. Como se muestra en las Figs. 10-12, los filtros de transición 61, 62 pueden realizar la transición desde reflexión a transmisión en una longitud de onda entre estas dos, por ejemplo, a aproximadamente una longitud de onda de 510 nm, de modo que la luz de frecuencias inferiores a la longitud de onda de transición se puede reflejar y la luz de longitud de onda mayor puede pasar a través del filtro, o viceversa. De esta manera, según diversas realizaciones, un filtro de transición puede funcionar como uno o más de un filtro de excitación y un filtro de emisión. El filtro de excitación y/o el filtro de emisión pueden estar inclinados para eliminar imágenes fantasmas.

Según diversas realizaciones, se puede omitir el filtro de transición, y la fuente lumínica 10 y el detector 80 pueden estar ubicados lado con lado como se muestra en las Figs. 13 y 14 en donde los haces 25 de rayos de excitación colimados y los rayos de emisión 85 pasan a lo largo de recorridos ópticos ligeramente diferentes. Realmente no es necesario que la fuente lumínica 10 y el detector 80 estén uno al lado de otro si se utilizan uno o más espejos de desviación. De este modo, se puede utilizar cualquiera de tales disposiciones para lograr los efectos descritos en esta memoria. Según unos ejemplos de realizaciones, cuando se utiliza un filtro de transición, los haces de rayos de excitación colimados 25 y los rayos de emisión 85 tendrán los mismos recorridos ópticos a través de una lente de enfoque y/o una lente 30 de región de reacción.

Según diversas realizaciones, como se muestra en las Figs. 15 y 16, en el instrumento óptico se puede utilizar una o más lentes de campo 50, 52. La lente de campo puede ser una lente Fresnel o cualquier otra lente adecuada conocida por los profesionales en la técnica. Según diversas realizaciones, la primera y la segunda lente de campo 50, 52 pueden colocarse de tal manera que la primera lente de campo 50 pueda recibir los haces de rayos de excitación colimados de la lente colimadora y dejar pasar los haces de rayos de excitación colimados a la segunda lente de campo 52, que puede estar ubicada a una distancia de la primera lente de campo 50 igual a la suma de las longitudes focales de la primera y la segunda lente de campo 50, 52. La segunda lente de campo 52 puede colimar los rayos de excitación pasados para crear una distribución de haces de luz de excitación colimada paralela al eje óptico de la segunda lente de campo 52. Los haces paralelos de luz de excitación colimada pueden propagarse desde la segunda lente de campo 52 a distribución o una lente de región de reacción o directamente a una pluralidad de regiones de reacción espaciadas. Según diversas realizaciones, cada haz de luz de excitación colimada impacta en una respectiva región de reacción o lente de región de reacción.

Según diversas realizaciones, por ejemplo, como se muestra en la Figura 15, con cada fuente lumínica se puede utilizar un par de lentes de campo 50, 52. Según diversas realizaciones, como se muestra, por ejemplo, en la Figura 16, con múltiples fuentes lumínicas se puede utilizar un par de lentes de campo 50, 52. Por ejemplo, puede utilizarse un par de lentes de campo para una sola línea de fuentes lumínicas en una distribución de muestras multipocillo. De esta manera, una distribución de 8 x 12 pocillos de muestras, totalizando 96 pocillos de muestras, puede tener 96 pares de lentes de campo (un par de lentes de campo por fuente lumínica), 12 pares de lentes de campo (un par de lentes de campo por fila de 8 pocillos de muestras), 8 pares de lentes de campo (un par de lentes de campo por fila de 12 pocillos de muestras), u otros números adecuados de pares de lentes de campo. Según diversas realizaciones, puede utilizarse un par de lentes de campo en combinación con una fuente lumínica, dos fuentes

lumínicas o más de dos fuentes lumínicas. El uso de un par de lentes de campo para múltiples fuentes lumínicas puede reducir el coste del instrumento óptico.

Según diversas realizaciones, un filtro de transición se puede ubicar entre una primera lente de campo y una segunda lente de campo, de tal manera que los haces de rayos de excitación colimados puedan pasar a través de la primera lente de campo y el filtro de transición hacia la segunda lente de campo. Según diversas realizaciones, el rayo de emisión puede pasar a través de la segunda lente de campo al filtro de transición, que puede dejar pasar el rayo de emisión a un detector. Según diversas realizaciones, un filtro de transición se puede ubicar entre una primera lente de campo y una segunda lente de campo, de tal manera que los haces de rayos de excitación colimados pasen a través de la primera lente de campo y sean reflejados desde el filtro de transición hacia la segunda lente de campo, y el rayo de emisión pasa a través de la segunda lente de campo y el filtro de transición a un detector. Según otras diversas realizaciones, el filtro de transición puede estar ubicado entre la lente colimadora y la primera lente de campo, entre la primera lente de campo y la segunda lente de campo o entre la segunda lente de campo y la lente de región de reacción o la región de reacción.

Según diversas realizaciones, se proporcionan unos métodos por los que respectivos haces de rayos de excitación colimados puede impactar en las respectivas de una pluralidad de regiones de reacción espaciadas. Los respectivos haces de rayos de excitación colimados pueden hacer que florezca uno o más tintes en la respectiva región de reacción, emitiendo un rayo de emisión. Según diversas realizaciones, el rayo de emisión puede pasar a través de una lente de región de reacción y, opcionalmente, una lente de enfoque o una segunda lente de campo, para impactar sobre un filtro de transición. Según diversas realizaciones, el rayo de emisión puede pasar a través del filtro de transición a un detector 80, como se muestra en la Fig. 2. Según otras diversas realizaciones, el rayo de emisión se refleja desde el filtro de transición hacia el detector 80, como se muestra en las Figs. 10-12. El detector puede determinar la longitud de onda del rayo de emisión como un primer conjunto de datos. El primer conjunto de datos puede ser enviado a un procesador 90, como se muestra en las Figs. 2 y 10, para la determinación de la presencia o ausencia de fluorescencia en una muestra en una o más regiones de reacción espaciadas. También se puede detectar la longitud de onda y la intensidad de los rayos de emisión y ser registradas en el primer conjunto de datos. Según diversos ejemplos, puede estar ausente una o más de la lente de región de reacción, la lente de enfoque, la segunda lente de campo o el filtro.

Según diversas realizaciones, el detector 80 puede ser un detector de distribución, por ejemplo, un dispositivo de inyección de carga (CID, *charge injection device*) o un dispositivo de carga acoplada (CCD, *charge-coupled device*). Se puede utilizar una videocámara convencional, por ejemplo una que contenga un detector CCD. La lente 82 de detector y la electrónica asociada para el detector pueden ser los conocidos por los expertos en la técnica. Un ejemplo de sistema detector es el modelo 1000L de Electrim, que puede incluir 751 píxeles activos horizontalmente y 242 píxeles activos verticalmente (no entrelazados) y puede incluir una placa de circuitos que tiene una interfaz directa con un bus ISA de ordenador. Tales cámaras pueden incluir circuitos de captura de fotogramas. Se puede utilizar, o adaptar y utilizar, cualquier subsistema o dispositivo de imaginología digital, tal como receptores de luz de píxeles CMOS, fotodiodos, fotomultiplicadores u otros, como los conocidos por los expertos en la técnica. Según diversas realizaciones, el detector puede ser capaz de tomar imágenes de fotogramas congelados o estáticas, para un posterior procesamiento en ordenador.

Según diversas realizaciones, un detector tal como un CCD puede recibir luz durante un periodo de integración seleccionado y, después de conversión analógica/digital, puede leer los datos de señal digital en un nivel acumulado durante ese periodo.

Un obturador electrónico puede controlar eficazmente el periodo de integración. Los datos de señal pueden ser generados para cada píxel, incluidos los que reciben el rayo de emisión de cada una de las regiones de reacción.

Se puede utilizar un detector que incluye una multiplicidad de fotoreceptores (píxeles) con una pluralidad de regiones de reacción con el fin de proporcionar monitorización independiente de cada región de reacción. Según diversas realizaciones, se puede utilizar un dispositivo de escaneo con un solo fotodetector, por ejemplo, por escaneo del espejo de desviación 65 y utilizando una lente de abertura pequeña 82 de detector para el detector 80, como se muestra en la Fig. 2. Según diversas realizaciones, se puede utilizar una pluralidad de fotomultiplicadores.

Según diversas realizaciones, se puede utilizar un lente 82 de detector para enfocar el rayo de emisión sobre el detector 80. En otra realización, la lente 82 de detector puede ser sustituida por un reflector de enfoque. Tal sistema de enfoque de emisión (lente de detector o reflector) se puede ubicar después (como se muestra en la Fig. 2) o antes del filtro de transición 60 o en cada lado del filtro de emisión 120, y como alternativa se puede integrar en un sistema de enfoque primario que incluya componentes también utilizados para dirigir los rayos de excitación. Por ejemplo, una lente de enfoque 35 puede ser una lente de objetivo que enfoca los rayos de emisión 85 sobre el detector 80.

La lente 82 de detector puede cooperar con la lente 30 de región de reacción y/o con la lente de enfoque 35 para enfocar el rayo de emisión sobre el detector 80. La lente 82 de detector puede tener una abertura grande, una baja distorsión y un mínimo efecto viñeta.

Según diversas realizaciones, se puede utilizar un solo detector 80 para recibir el rayo de emisión de múltiples regiones de reacción 40, como se muestra en las Figs. 2 y 10, por ejemplo. Según otras diversas realizaciones, como se muestra, por ejemplo, en las Figs. 13 y 14, cada región de reacción puede corresponder a un solo detector. Unos ejemplos de tales detectores se pueden encontrar, por ejemplo, en la publicación WO 01/69211.

- 5 Según diversas realizaciones, el procesador 90 puede ser un ordenador o sistema informático para la determinación de la ausencia o presencia y la cantidad de componentes de muestra determinada por la detección de la fluorescencia de diversos tintes fluorescentes en las regiones de reacción espaciadas. El procesador puede producir un segundo conjunto de datos que contiene las cantidades de diversos componentes dentro de cada una de la pluralidad de regiones de reacción espaciadas.
- 10 Según diversas realizaciones, un método para iluminar múltiples regiones de reacción espaciadas con una fuente lumínica puede comprender emitir luz como un rayo de excitación desde una fuente lumínica, y hacer pasar la luz a través de una lente colimadora para formar haces de rayos de excitación colimados en donde cada rayo de excitación colimado se encuentra paralelo al eje óptico de la lente colimadora después de pasar a través de la lente colimadora. Los haces de rayos de excitación colimados pueden impactar en una pluralidad de regiones de reacción espaciadas, de tal manera que cada haz de rayos de excitación colimados se enfoca sobre una respectiva región de reacción. Para ayudar a enfocar cada haz sobre una región de reacción separada, en el recorrido de un haz de rayos de excitación colimados se puede establecer una lente de región de reacción, una lente de enfoque o ambas, para enfocar el haz sobre una región de reacción espaciada discreta. Se puede utilizar una distribución de lentes de región de reacción para enfocar los haces de rayos de excitación colimados de tal manera que cada respectivo haz de rayos de excitación colimados se enfoque en una respectiva de una pluralidad de regiones de reacción espaciadas. En diversas realizaciones, se puede disponer una máscara o bloque de filtro después de la lente colimadora y puede estar adyacente a la lente colimadora de tal manera que los rayos de excitación que pasan a través de la lente colimadora también pasan a través de la máscara o bloque de filtro para destripar los rayos de excitación no deseados encontrados en los haces de rayos de excitación colimados. La máscara o bloque de filtro pueden formar un perfil de haces de rayos de excitación colimados que coincide con el perfil de la pluralidad de regiones de reacción espaciadas establecidas para recibir tales haces de rayos de excitación colimados.

Según diversas realizaciones, los haces de rayos de excitación colimados emitidos desde la lente colimadora o máscara en la lente colimadora pueden pasar a través de una o más lentes de campo. Los haces de rayos de excitación colimados pueden pasar a través de la primera lente de campo y continuar pasando por un punto focal de la primera lente de campo hasta que, en diversas realizaciones, llegan a un espejo de desviación o filtro de transición. Los haces enfocados de rayos de excitación colimados pueden ser reflejados por el espejo o filtro de transición, o en el caso del filtro de transición, pueden pasar a través del filtro de transición, a una segunda lente de campo. La segunda lente de campo puede volver a colimar los haces de rayos de excitación. Cada uno de los haces nuevamente colimados de rayos de excitación puede pasar a través de una respectiva lente de región de reacción con el fin de enfocar cada haz de rayos de excitación en una respectiva región de reacción de la pluralidad de regiones de reacción. Según diversas realizaciones, los haces enfocados de rayos de excitación colimados, después de pasar a través de la primera lente de campo, pueden continuar a través del punto focal de la primera lente de campo a la segunda lente de campo sin pasar a través o impactar en un espejo o filtro de transición. Según diversas realizaciones, la máscara puede estar ubicada antes de la lente de región de reacción para reducir el ruido.

40 Una vez que los haces de rayos de excitación colimados llegan a sus respectivas regiones de reacción, cada haz puede impactar en una respectiva muestra contenida o retenida en una respectiva región de reacción. Cada muestra puede ser excitada por el respectivo haz de rayos de excitación y emitir rayos de emisión desde la muestra en la región de reacción. Los rayos de emisión pueden pasar a través de la lente de región de reacción y, según diversas realizaciones, puede impactar en un detector. Según diversas realizaciones, los rayos de emisión pueden pasar a través de la lente de región de reacción y luego pasar a través de una o más lentes de campo, filtro de transición o una combinación de los mismos antes de impactar en un detector. Según diversas realizaciones, los rayos de emisión pueden pasar a través de una lente de región de reacción y un filtro de transición, y a un detector. Según diversas realizaciones, el detector puede recibir rayos de emisión de una muestra en una región de reacción y puede crear un primer conjunto de datos, que pueden ser pasados a un procesador para la determinación de la composición de la muestra en la región de reacción.

La Fig. 17 es una vista inferior que ilustra una composición de OLED 400 que se puede utilizar como fuente lumínica, junto con una pluralidad de detectores de fotodiodo 412, según diversas realizaciones. La composición de OLED 400 puede incluir una pluralidad de lámparas OLED 402 de pocillo, cada una colocada, en funcionamiento, encima de un respectivo pocillo de una distribución multipocillo de pocillos de muestras. Cada lámpara de material OLED de pocillo 402 puede conectarse a, o formarse integralmente con, un respectivo brazo de conexión 404 que lleva a un terminal de composición 406. Cada terminal de composición puede conectarse a, o formarse integralmente con, los respectivos brazos de conexión 404 que se ramifican desde el terminal de composición.

Los brazos de conexión 404 se ramifican desde los terminales laterales 406 y 408. La composición de OLED puede conectarse a unas respectivas conexiones eléctricas opuestas, por ejemplo unos terminales opuestos de una fuente de alimentación. La composición de OLED puede conectarse a la fuente de alimentación a través de unos conductores dispuestos en esquinas opuestas de la composición de OLED. La fuente de alimentación puede incluir

5 o estar conectada a uno o más de un interruptor, un medidor, un oscilador, un potenciómetro, un detector, una unidad de procesamiento de señal o algo semejante. Como alternativa o adicionalmente, cada uno de los brazos de conexión 404 puede incluir un cable o conductor eléctrico en forma de, por ejemplo, un alambre metálico. La composición de OLED puede incluir una pluralidad de elementos de iluminación OLED accesibles individualmente (no se muestran) con un conductor aparte conectado a cada elemento de iluminación. El cableado, los conductores, terminales, brazos de conexión y similares pueden implementarse en, por ejemplo, un sustrato o una película. Se puede utilizar una unidad de control 410 de composición de OLED para suministrar energía y controlar la composición de OLED 400. Una pluralidad de detectores 412 se puede conectar eléctricamente a una unidad de control 416 de detector a través de unos respectivos conductores 414 de detector como se muestra.

10 La pluralidad de detectores se puede disponer, por ejemplo, centrada, en la pluralidad de lámparas OLED 402 de pocillo, en los lados de las lámparas de pocillo que miran a unos respectivos pocillos de muestra, y/o cuando están colocados funcionalmente adyacentes a una distribución de pocillos de muestra multipocillo. Los detectores se pueden configurar para detectar la luz emitida desde los pocillos de muestra de una distribución de pocillos de muestra, sin ser inundados o blanqueados por las respectivas lámparas OLED de pocillo. Por ejemplo, entre los
 15 detectores y las respectivas lámparas OLED de pocillo se puede disponer material de máscara. El detector 412 puede formarse en el mismo sustrato que la lámpara OLED.

El ejemplo de composición de OLED mostrado en la Fig. 17 tiene una forma para estar alineada con una distribución de pocillos de muestra de 24 pocillos. Otras realizaciones de composiciones de OLED que utilizan diversas formas y diversos números de lámparas de pocillo se encuentran dentro del alcance de las presentes enseñanzas.

20 Según diversas realizaciones, cada lámpara 402 de pocillo puede incluir, por ejemplo, cuatro lámparas individuales o capas de OLED, capaces de producir longitudes de onda de excitación en cuatro frecuencias diferentes.

La composición de OLED puede construirse de una construcción unitaria o multipieza, de material moldeado, de material estampado, de material serigrafiado, de material cortado o algo semejante.

25 La Fig. 18 ilustra un ejemplo de realización de una composición de fuente lumínica. Una composición OLED 450 puede incluir OLED de varios colores 452, 454 y 456 apilados uno sobre otro. La composición de OLED puede ser útil para una composición compacta de fuente lumínica capaz de formar rayos de excitación con diversas longitudes de onda. Los OLED 452, 454 y 456 pueden ser transparentes, permitiendo a los rayos de excitación de cada OLED pasar a través de cualquier otro OLED para ser dirigido hacia una muestra. Los OLED 452, 454 y 456 pueden emitir diferentes colores, los mismos colores o una combinación de los mismos, según la intensidad y la variedad de
 30 colores requeridas. Los OLED 452, 454 y 456 pueden compartir un electrodo, por ejemplo, un cátodo. Un electrodo, por ejemplo, un ánodo, para alimentar a cada uno de los OLED 452, 454 y 456 puede conectarse con aislamiento eléctrico desde cada respectivo ánodo a una unidad de control (no se muestra) si se desea la capacidad de activar independientemente cada uno de los OLED 452, 454 y 456. Los OLED 452, 454 y 456 pueden compartir eléctricamente un electrodo, dos electrodos o ningún electrodo. Se puede apilar cualquier número de OLED, por
 35 ejemplo, dos OLED, tres OLED, cuatro OLED o más OLED, para formar una fuente lumínica, una respectiva fuente lumínica o una distribución de fuentes lumínicas.

Otras realizaciones serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la presente memoria descriptiva y la puesta en práctica de las enseñanzas descritas en esta memoria. Se pretende que la presente memoria descriptiva y los ejemplos sean considerados únicamente como ejemplos.

40

REIVINDICACIONES

1. Un instrumento que comprende:
un bloque con una pluralidad de regiones de reacción espaciadas (40);
una fuente emisora de luz (10) que comprende una distribución (103) de fuentes de diodo emisor de luz que se disponen en grupos, en donde diferentes grupos de números predeterminados de fuentes de diodo emisor de luz se configuran para emitir diferentes frecuencias de excitación y en donde la fuente emisora de luz (10) está adaptada para dirigir rayos de excitación hacia la pluralidad de regiones de reacción (40);
y
un sistema de lente colimadora dispuesto a lo largo de un recorrido de rayos de excitación entre la fuente emisora de luz (10) y la pluralidad de regiones de reacción (40),
en donde el sistema de lente colimadora incluye una lente colimadora (20) y una máscara (70) que es capaz de colimar rayos de excitación de la fuente emisora de luz (10) en dos o más haces espaciados (25) de rayos de excitación colimados, y en donde el instrumento es capaz de dirigir cada uno de los dos o más haces (25) de rayos de excitación colimados hacia una respectiva región de reacción de la pluralidad de regiones de reacción (40) de modo que más de un haz espaciado (25) sea dirigido hacia cada región de reacción.
2. El instrumento de la reivindicación 1, que comprende además:
una lente de enfoque dispuesta a lo largo de un recorrido de por lo menos uno de los dos o más haces (25) de rayos de excitación colimados entre el sistema de lente colimadora (20) y la pluralidad de regiones de reacción (40).
3. El instrumento de la reivindicación 2, en donde la lente de enfoque se dispone adyacente a la región de reacción.
4. El instrumento de la reivindicación 2, en donde la lente de enfoque es una lente Fresnel.
5. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, en donde una muestra se dispone en por lo menos una de las regiones de reacción (40) y la muestra incluye un tinte que es capaz de emitir un rayo de emisión cuando es iluminado con uno respectivo de los dos o más haces (25) de rayos de excitación colimados.
6. El instrumento de la reivindicación 5, en donde la muestra comprende unos componentes para la amplificación de secuencia de ácido nucleico.
7. El instrumento de la reivindicación 5, en donde la muestra comprende unos componentes para la reacción en cadena de la polimerasa.
8. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, en donde la pluralidad de regiones de reacción (40) comprende 96 regiones de reacción (40).
9. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, en donde la lente colimadora se dispone a aproximadamente una longitud focal de la lente colimadora alejada de la fuente emisora de luz (10).
10. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, en donde las fuentes de diodo emisor de luz comprenden un diodo emisor de luz que tiene un vataje superior a aproximadamente un microvatío.
11. El instrumento de la reivindicación 10, en donde el diodo emisor de luz tiene un vataje de aproximadamente 5 microvatios o más.
12. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un filtro de excitación dispuesto a lo largo de un recorrido de rayos de excitación entre la fuente emisora de luz (10) y la pluralidad de regiones de reacción (40).
13. El instrumento de la reivindicación 12, en donde el filtro de excitación comprende un filtro de paso largo, un filtro de paso de banda, un filtro de paso de banda múltiple, o una combinación de los mismos.
14. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, en donde hay una correspondencia de 1 a por lo menos 4 entre la fuente emisora de luz (10) y los haces (25) de rayos de excitación colimados, respectivamente.
15. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, en donde el sistema de lente colimadora (20) comprende una lente Fresnel.
16. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el sistema de lente colimadora (20) comprende una esfera de vidrio moldeada.

17. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, que comprende además una máscara (70) dispuesta entre el sistema de lente colimadora (20) y la pluralidad de regiones de reacción (40).
18. El instrumento de la reivindicación 17, en donde la máscara (70) es ópticamente opaca.
19. El instrumento de la reivindicación 17, en donde la máscara (70) comprende aluminio anodizado.
- 5 20. El instrumento de la reivindicación 17, en donde la máscara (70) está en contacto con el sistema de lente colimadora (20).
21. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20, en donde la máscara (70) está adyacente a una lente de enfoque, y la lente de enfoque se dispone a lo largo de un recorrido de rayo de dos o más haces (25) de rayos de excitación colimados entre el sistema de lente colimadora (20) y la pluralidad de regiones de reacción (40).
- 10 22. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, que comprende además por lo menos una lente de campo dispuesta a lo largo de un recorrido de rayo de excitación entre el sistema de lente colimadora (20) y la pluralidad de regiones de reacción (40).
23. El instrumento de la reivindicación 22, en donde la por lo menos una lente de campo comprende una lente Fresnel.
- 15 24. El instrumento de la reivindicación 22, que comprende dos lentes de campo espaciadas la suma de las longitudes focales de las dos lentes de campo.
25. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un espejo dispuesto a lo largo de un recorrido de rayo de excitación entre el sistema de lente colimadora (20) y la pluralidad de regiones de reacción (40).
- 20 26. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un filtro de transición dispuesto a lo largo de un recorrido de rayo de excitación entre el sistema de lente colimadora (20) y la pluralidad de regiones de reacción (40).
27. El instrumento de la reivindicación 26, en donde el filtro de transición comprende un filtro de paso largo, un filtro de paso de banda, un filtro de paso de banda múltiple, o una combinación de los mismos.
- 25 28. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un detector dispuesto para recibir los rayos de emisión emitidos desde cada una de la pluralidad de regiones de reacción (40).
29. El instrumento de la reivindicación 28, en donde el detector comprende una cámara, un detector de carga acoplada, un fotodiodo, un fotomultiplicador, un CMOS, un CID o una combinación de los mismos.
- 30 30. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones 28 a 29, en donde el detector es capaz de generar un primer conjunto de datos, representativos de los rayos de emisión detectados, y en donde el instrumento comprende además un procesador capaz de recibir un primer conjunto de datos desde el detector y procesar el primer conjunto de datos.
- 35 31. El instrumento según cualquier reivindicación precedente, en donde las fuentes de diodo emisor de luz incluyen un diodo emisor de luz orgánico.
32. Un método para iluminar una pluralidad de regiones de reacción espaciadas (40) con rayos de excitación, el método comprende:
- 40 proporcionar un instrumento que comprende una fuente emisora de luz (10) que comprende una distribución (103) de fuentes de diodo emisor de luz que se disponen en grupos, en donde diferentes grupos de números predeterminados de fuentes de diodo emisor de luz se configuran para emitir diferentes frecuencias de excitación y que comprende además un sistema de lente colimadora que incluye una lente colimadora (20) y una máscara (70), y un bloque que incluye la pluralidad de regiones de reacción espaciadas (40), por lo menos una de las regiones de reacción (40) comprende una muestra;
- generar unos rayos de excitación con la fuente emisora de luz;
- 45 pasar los rayos de excitación a través del sistema de lente colimadora (20) para formar dos o más haces espaciados (25) de rayos de excitación colimados;
- retirar los rayos de excitación irrelevantes con la máscara (70), en donde la máscara (70) está dispuesta a lo largo de un recorrido de rayo de excitación entre la lente colimadora (20) y la pluralidad de regiones de reacción (40); y

enfocar cada uno de los dos o más haces espaciados (25) de rayos de excitación colimados hacia una respectiva de la pluralidad de regiones de reacción espaciadas (40) de modo que más de un haz espaciado (25) sea dirigido hacia cada región de reacción.

- 5 33. El método de la reivindicación 32, que comprende además detectar rayos de emisión emitidos desde la pluralidad de regiones de reacción espaciadas (40), con un detector.
34. El método de la reivindicación 33, que comprende además generar un primer conjunto de datos representativo de los rayos de emisión detectados por el detector.
35. El método de la reivindicación 34, que comprende además procesar el primer conjunto de datos con un procesador.
- 10 36. El método según cualquiera de las reivindicaciones 32 a 35, que comprende además pasar los rayos de emisión emitidos desde la pluralidad de regiones de reacción espaciadas (40) a través de un filtro de emisión.
37. El método según cualquiera de las reivindicaciones 32 a 36, que comprende además pasar los dos o más haces espaciados (25) de rayos de excitación colimados desde el sistema de lente colimadora (20) a través de una primera lente de campo, y desde la primera lente de campo a través de una segunda lente de campo.
- 15 38. El método según cualquiera de las reivindicaciones 32 a 37, en donde la etapa de enfocar cada uno de los dos o más haces espaciados (25) de rayos de excitación colimados comprende pasar cada uno de los dos o más haces espaciados (25) de rayos de excitación colimados a través de una lente de enfoque.
39. El método de la reivindicación 38, en donde cada lente de enfoque es una lente de región de reacción dispuesta adyacente a una respectiva región de reacción.
- 20 40. El método de la reivindicación 38, en donde la lente de enfoque es una lente Fresnel.
41. El método según cualquiera de las reivindicaciones 32 a 40, en donde la muestra comprende unos componentes para una reacción de amplificación de secuencia de ácido nucleico.
42. El método de la reivindicación 41, en donde la reacción de amplificación de secuencia de ácido nucleico comprende una reacción en cadena de la polimerasa.

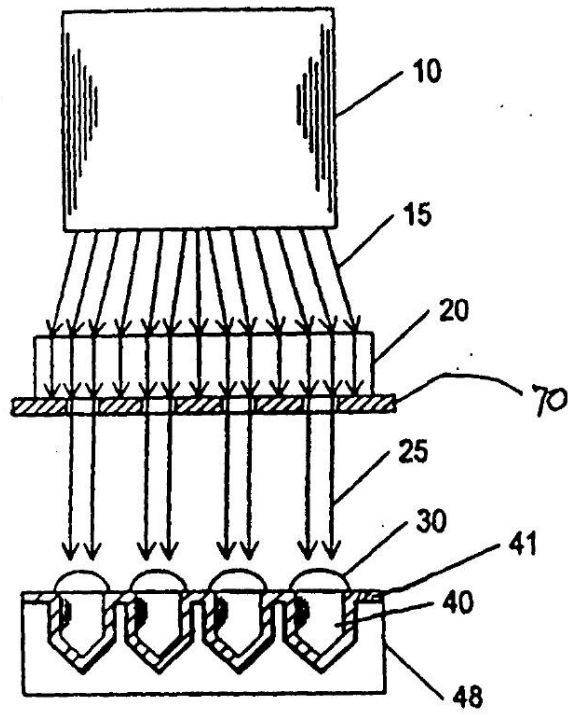


FIG. 1

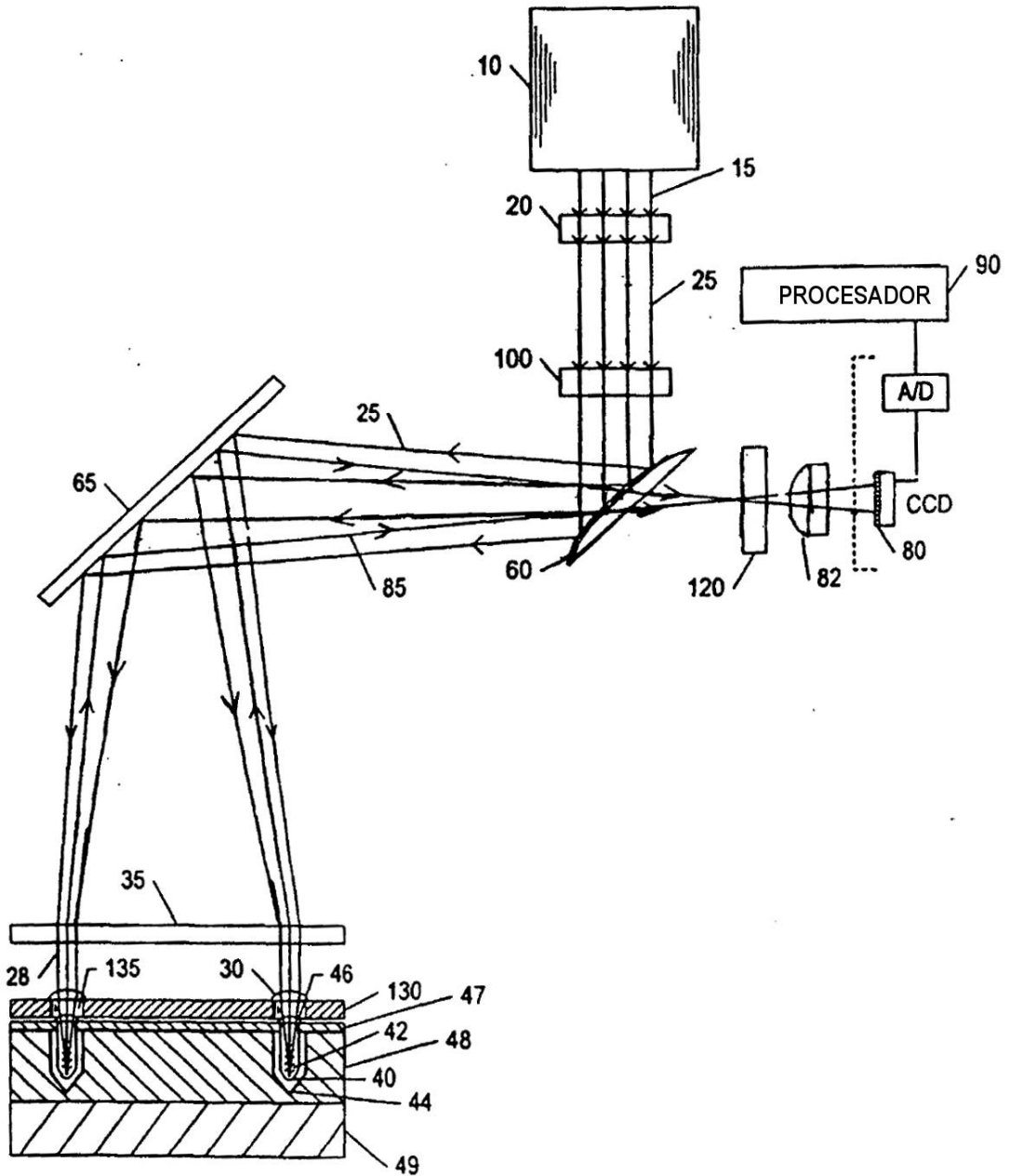


FIG. 2

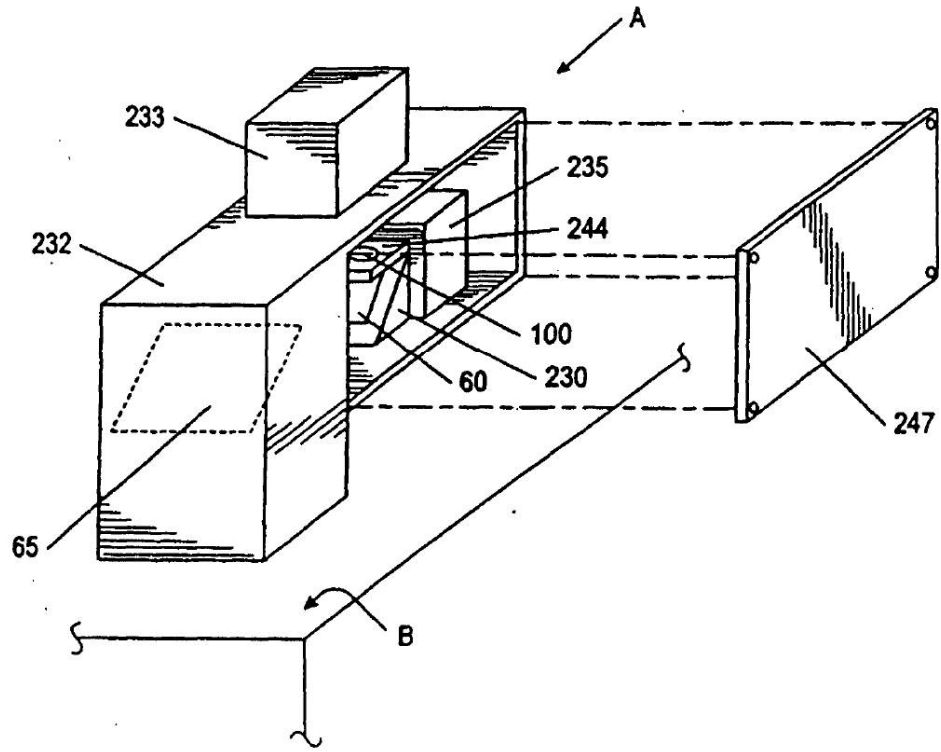


FIG. 3

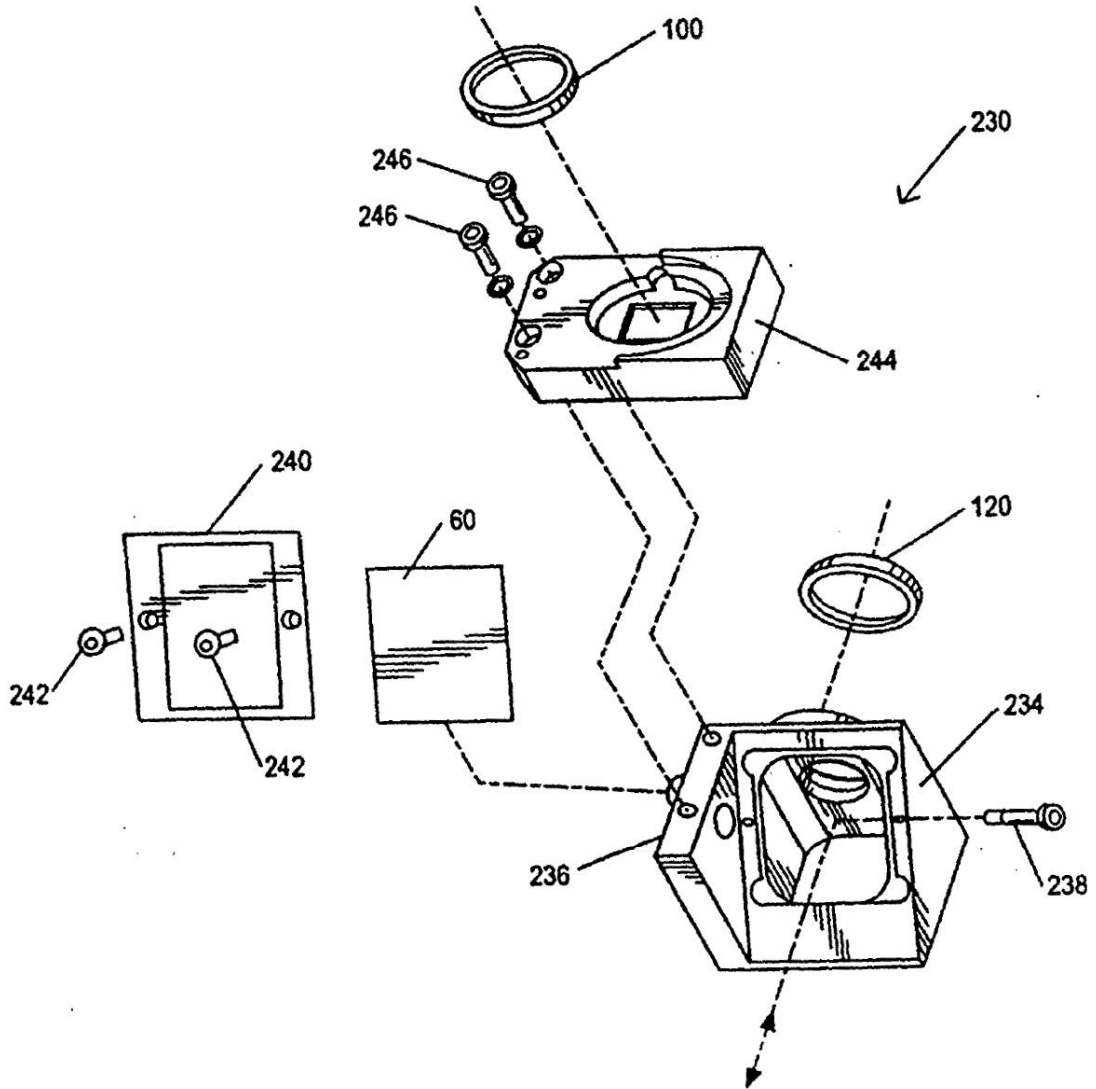


FIG. 4

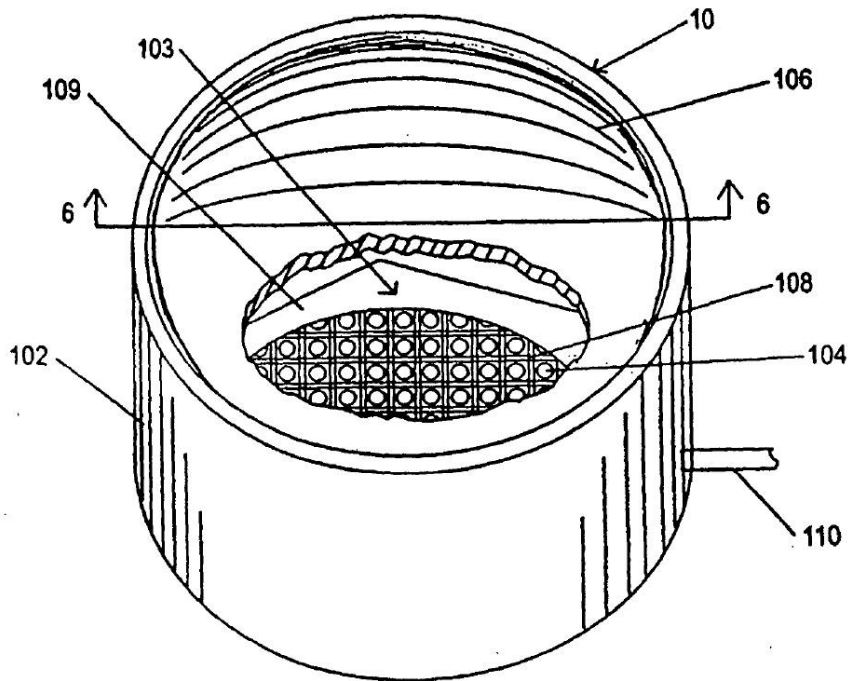


FIG. 5

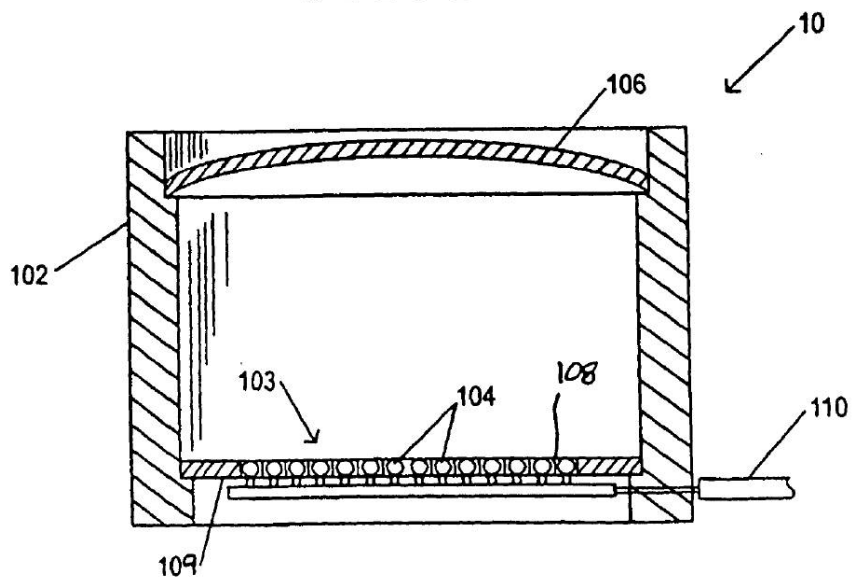


FIG. 6

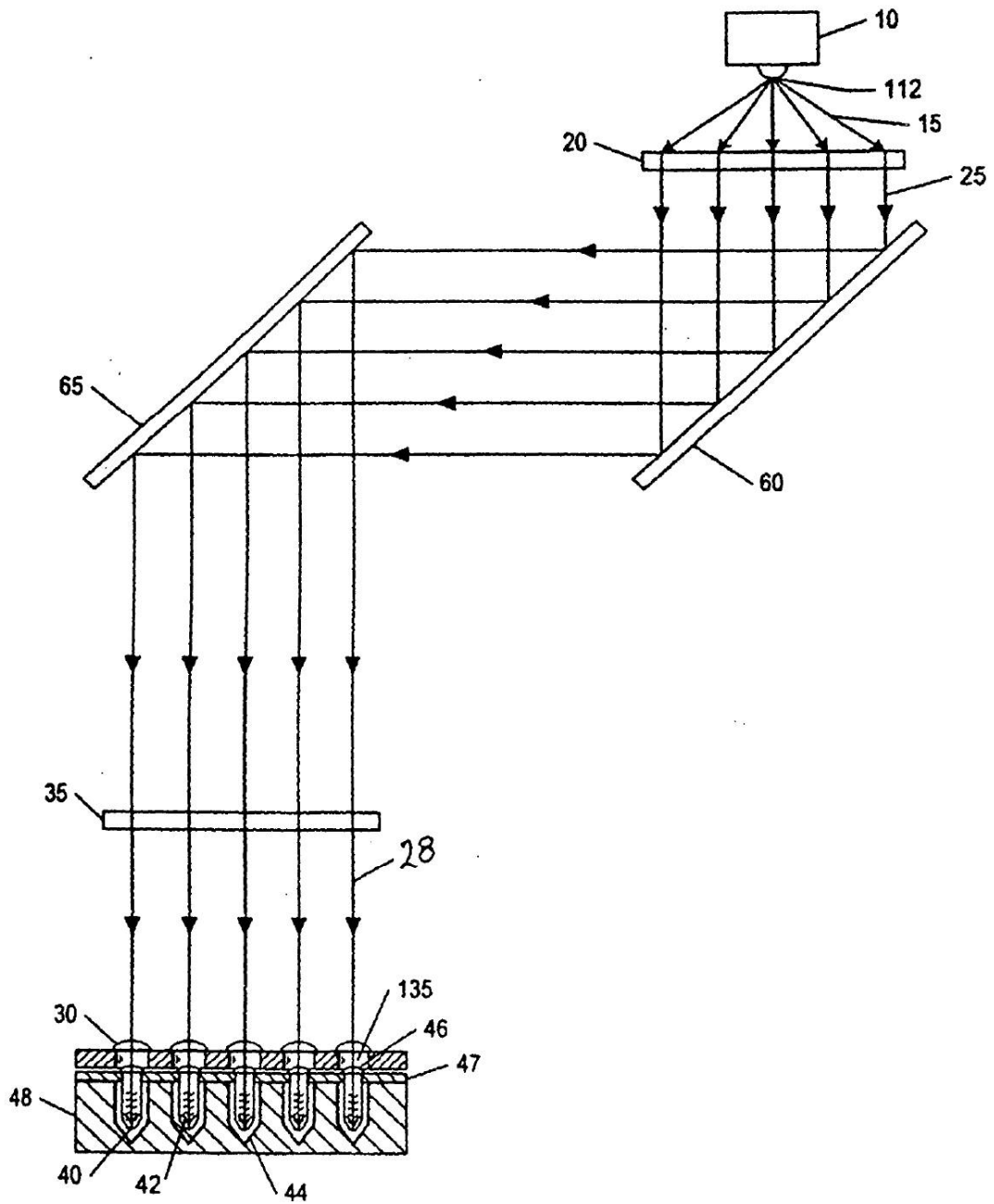


FIG. 7

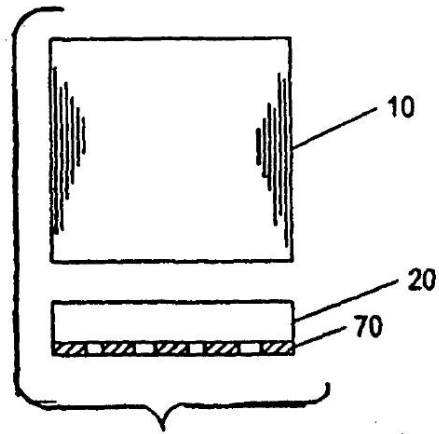


FIG. 8

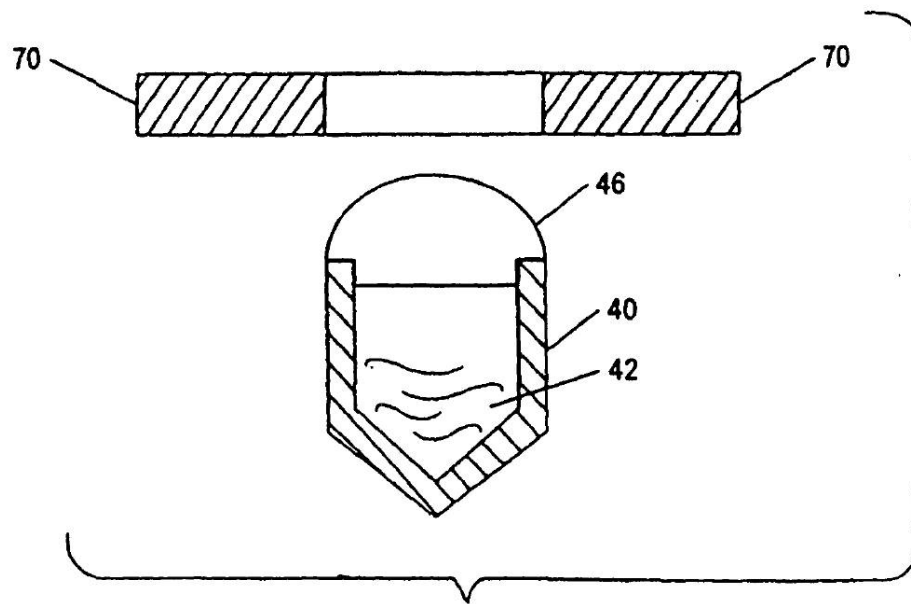


FIG. 9

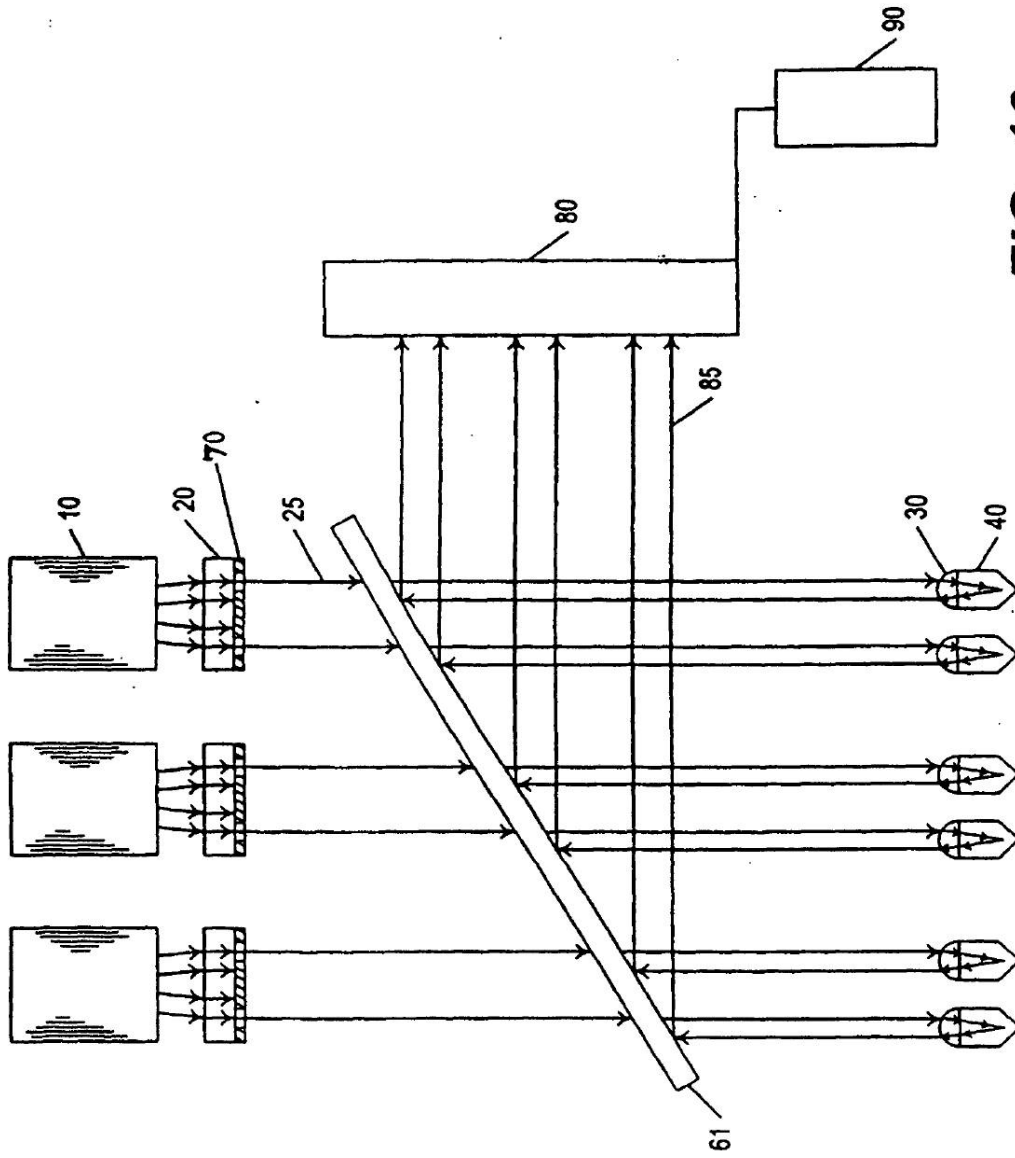


FIG. 10

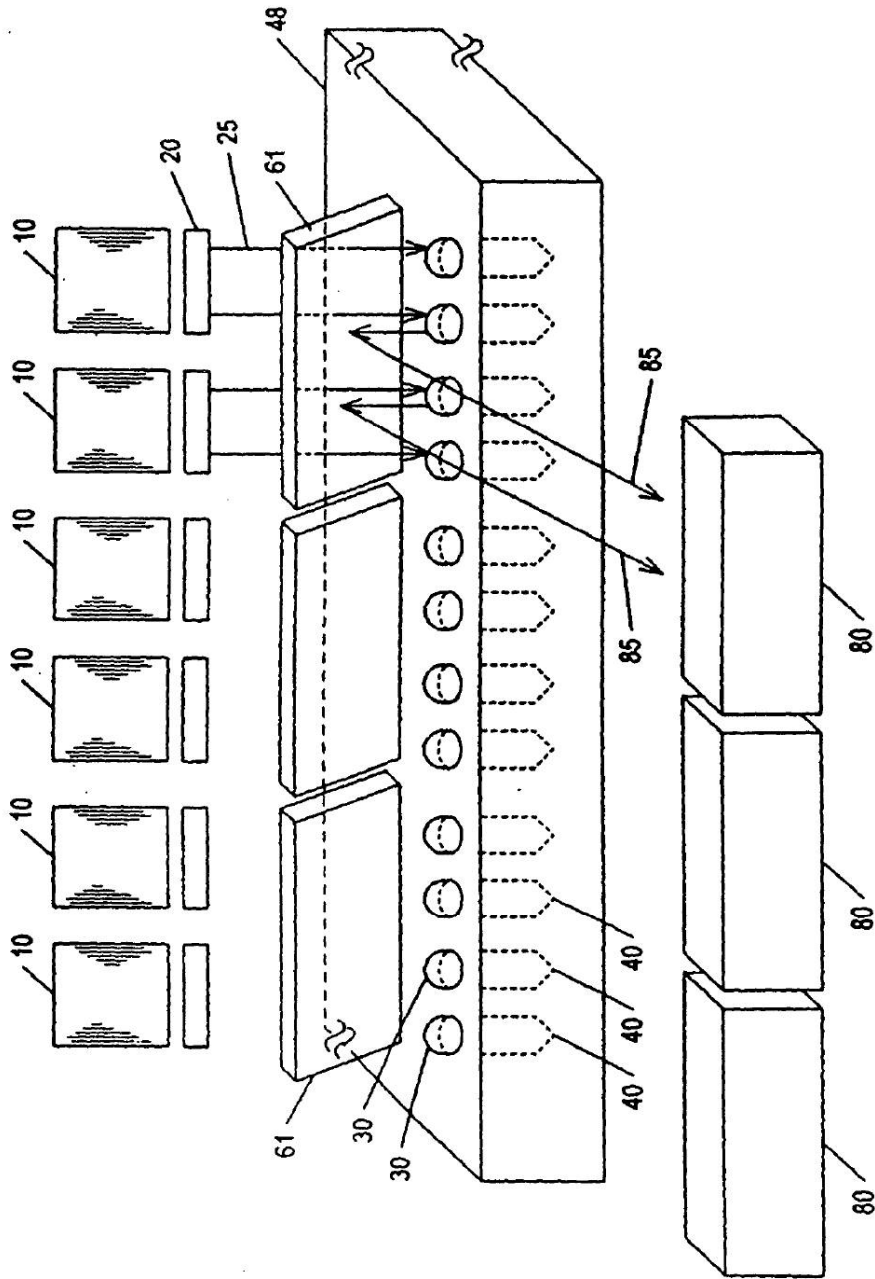


FIG. 11

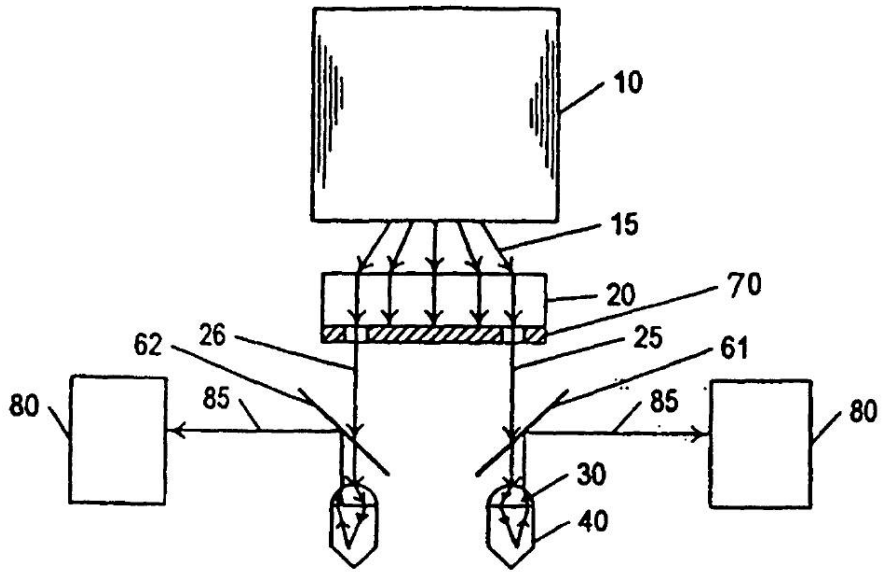


FIG. 12

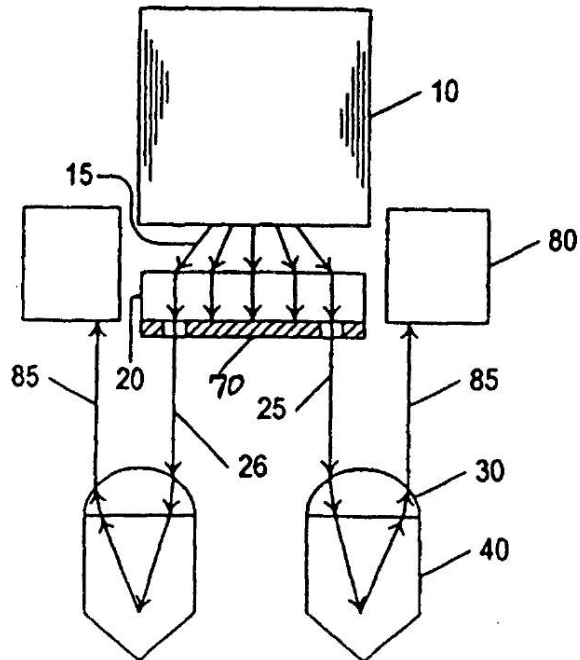


FIG. 13

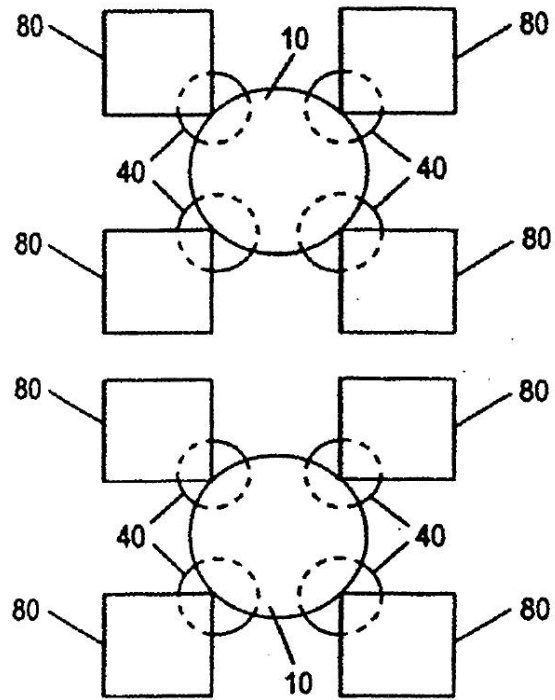


FIG. 14

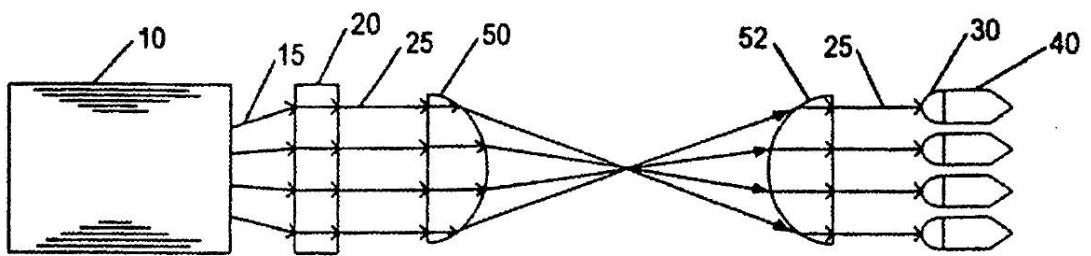


FIG. 15

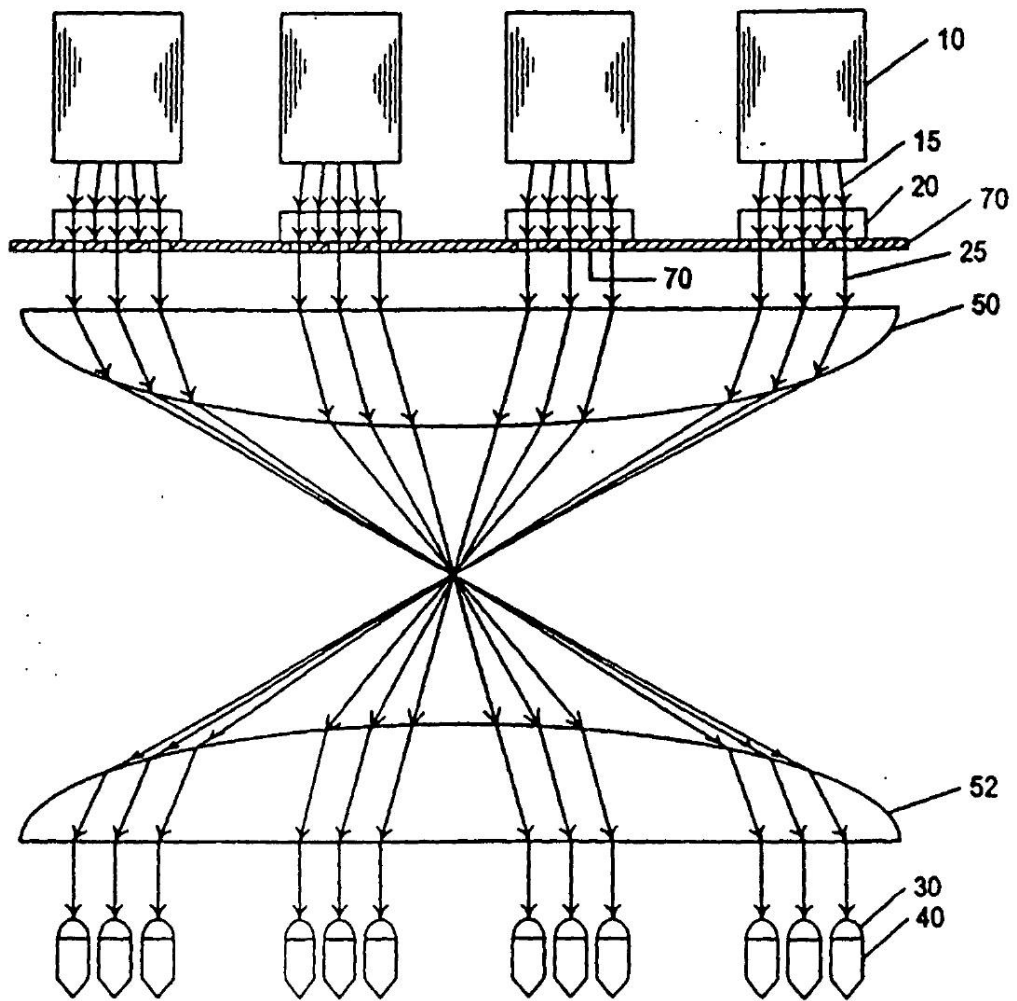


FIG. 16

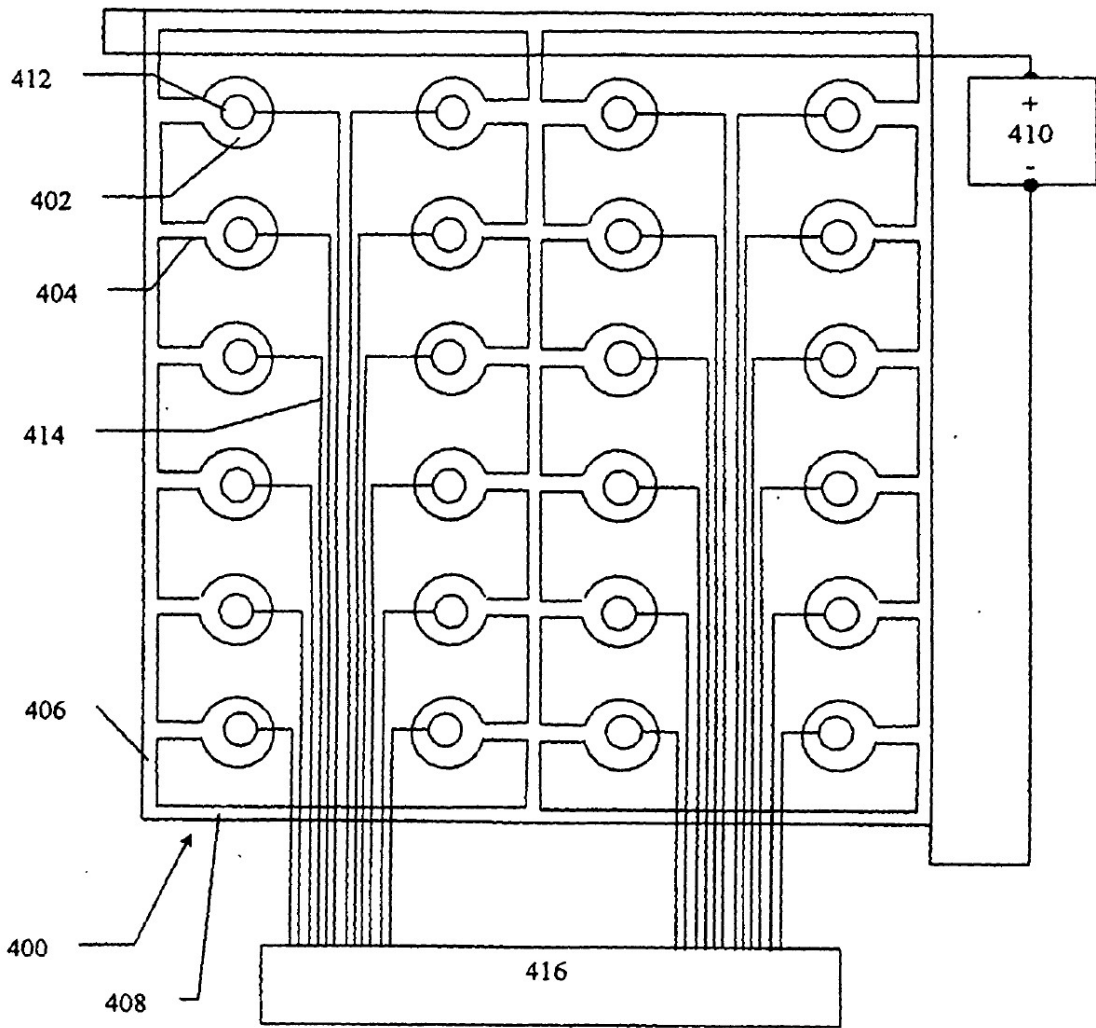


FIG. 17

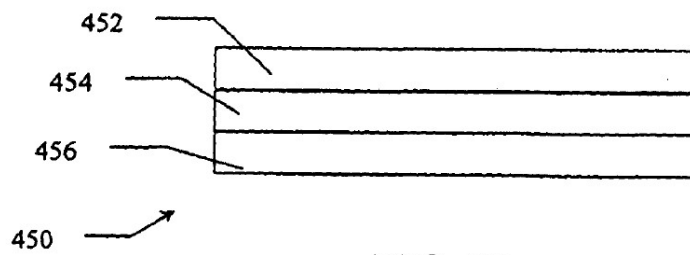


FIG. 18