

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 700 207**

51 Int. Cl.:

B01L 7/00 (2006.01)

B01L 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.11.2009 PCT/IB2009/055134**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.06.2010 WO10064160**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2009 E 09764071 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 2364219**

54 Título: **Sistema de variación térmica cíclica que comprende un elemento de calentamiento transparente**

30 Prioridad:

05.12.2008 EP 08170837

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

14.02.2019

73 Titular/es:

**BIOCARTIS NV (100.0%)
Generaal De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen, BE**

72 Inventor/es:

**KOLESNYCHENKO, ALEKSEY y
GEIJSELAERS, MARTINUS, L., J.**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 700 207 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

Sistema de variación térmica cíclica que comprende un elemento de calentamiento transparente

Campo de la invención

5 La invención está relacionada con un sistema de variación térmica cíclica y con un dispositivo de diagnóstico. Además, está relacionada con un uso del sistema de variación térmica cíclica en un proceso de amplificación de ADN.

Antecedentes de la invención

10 En amplificaciones de diagnóstico molecular, el ADN procedente de una muestra, como sangre, heces, etc. se multiplica o se copia para incrementar la cantidad de ADN por encima de un umbral de detección. Existen diferentes procesos de amplificación. Además, en aplicaciones de diagnóstico, existe necesidad de procesos de variación térmica cíclica necesarios para controlar un calentamiento o enfriamiento de una muestra o mezcla, la cual se monitoriza o se analiza durante la aplicación de diagnóstico. En concreto, para muchos procesos de amplificación la variación térmica cíclica es necesaria porque pasos diferentes durante el proceso de amplificación tienen lugar a temperaturas diferentes. El ADN resultante del proceso de amplificación se detecta a menudo ópticamente, por ejemplo utilizando fluoróforos en el proceso de amplificación.

15 Además, también para aplicaciones de diagnóstico generales, muestras o mezclas a monitorizar o analizar necesitan ser comprobadas ópticamente por un usuario o un dispositivo de monitorización. Por consiguiente, en aplicaciones de diagnóstico generales y en particular en un proceso de amplificación de ADN se requieren un sistema de variación térmica cíclica y una detección óptica muy eficientes.

20 El documento US 2008/0032347 A describe un elemento de captación de temperatura para monitorizar calentamiento y enfriamiento. El sistema incluye un cartucho para alojar a una cámara que incluye una mezcla a analizar. El cartucho se pone en contacto con un dispositivo que incluye una capa de sensor, una capa conductora del calor y una capa de calentamiento. El documento WO 01/57253 A1 describe un sistema de variación térmica cíclica en el cual una cámara está situada entre calentadores y en la cual se acopla luz al interior y al exterior de la cámara a través de lados transparentes de la cámara; la cámara comprende dos paredes principales flexibles adyacentes a los calentadores y dos paredes laterales rígidas ópticamente transmisivas.

25 El documento JP2006201120 describe un aparato de inspección capaz de suprimir un cambio de temperatura indeseable de una sustancia bio-relacionada. El aparato de inspección incluye una incubadora para ajustar la temperatura del recipiente de inspección anexo. La incubadora está compuesta por una placa superior, una placa transversal, y un contenedor, en donde la placa transversal y el contenedor constituyen un cuerpo principal de la incubadora para alojar al recipiente de examen. El documento US2006/0030035 describe chips termo-controlables y sistemas ópticos para análisis múltiple; los sistemas o chips pueden comprender micro-calentadores fabricados del material cerámico transparente óxido de estaño e indio (ITO) para permitir que luz emitida desde un micropocillo pase a través de ellos y sea detectada por un elemento de detección de fotones. Los aparatos y métodos descritos en esta memoria se consideran útiles para amplificación de ácidos nucleicos de alto rendimiento y bajo coste.

Compendio de la invención

30 Por lo tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar un sistema de variación térmica cíclica y un sistema de calentamiento que permitan una variación térmica cíclica y una detección óptica eficientes durante el proceso de diagnóstico.

40 El objeto es resuelto por los rasgos de las reivindicaciones independientes. En las reivindicaciones dependientes se proporcionan realizaciones preferidas.

45 La invención está basada en el pensamiento de proporcionar un sistema de variación térmica cíclica que comprende un dispositivo de calentamiento situado adyacente a una cámara que incluye la muestra a analizar. El dispositivo de calentamiento incluye un sustrato transparente y un elemento de calentamiento para proporcionar calor, el cual es conducido por el sustrato transparente hasta la cámara y la muestra a analizar.

50 El sustrato transparente permite que un usuario o un dispositivo de monitorización puedan ver a través del sustrato transparente de la placa de soporte para de ese modo monitorizar la muestra dentro de la cámara. Además, la cámara que incluye la muestra a analizar incluye al menos una parte que es transparente. El área transparente de la cámara está alineada con un sustrato transparente del dispositivo de calentamiento. Por esto, se consigue detectar o monitorizar ópticamente la muestra durante el proceso de diagnóstico. Por consiguiente, la transparencia del sustrato y del área transparente de la cámara debería ser tal que sea posible detección o monitorización óptica de la muestra. El elemento de calentamiento del sistema de variación térmica cíclica permite una variación térmica cíclica fiable de la cámara y de la muestra incluida en la cámara. Además, combinando el elemento de calentamiento y el sustrato transparente se consigue un contacto térmico muy eficiente entre el elemento de calentamiento y el sustrato transparente. El elemento de calentamiento se puede colocar en los lados

del sustrato transparente, en concreto encima o debajo del sustrato transparente. Además, se podría incluir dentro del sustrato transparente para mejorar la eficiencia de la conducción térmica del calor generado por el elemento de calentamiento.

5 Preferiblemente, el sustrato transparente y el área transparente de la cámara tienen una transmisión mejor que el 80% en el rango de longitudes de onda de 300-1000 nm.

En una realización preferida de la invención, el sistema de variación térmica cíclica está diseñado para acoplar luz procedente de una fuente de luz al interior de la cámara y/o acoplar luz que emana de la cámara a un detector a través del sustrato transparente. Esta realización tiene la ventaja de que acoplar luz a través del sustrato transparente ofrece una interfaz óptica alternativa a la cámara en comparación con, por ejemplo, acoplar luz al interior y al exterior de la cámara a través de las superficies menores (las superficies laterales más pequeñas de esa cámara en una geometría de caja plana en lugar de las superficies principales más grandes) de la cámara. El acoplamiento de luz a través de las superficies menores de la cámara, como se hace en la técnica anterior, deja las superficies principales de la cámara libres para que hagan contacto con calentadores para calentar la muestra dentro de la cámara. La cámara de acuerdo con la técnica anterior puede tener una geometría plana para permitir rápida variación térmica cíclica a través de las superficies principales utilizando los calentadores e interfaces ópticas a través de las superficies menores. Sin embargo, de acuerdo con la invención, las superficies principales del sustrato transparente, o de hecho cualquier superficie del sustrato transparente, se pueden utilizar como una interfaz óptica para acoplar luz al interior y/o al exterior de la cámara. Esto ofrece posibilidades para mayor libertad de diseño en la colocación de una fuente de luz y/o un detector, que pueden estar comprendidos en el sistema de variación térmica cíclica, con respecto a una cámara. Otra posibilidad ofrecida por la invención es recoger más luz procedente de una cámara de lo que es posible a través de las superficies menores de una cámara. El sustrato puede incluso comprender centros de dispersión para dispersar luz que procede de la cámara hacia un detector.

En una realización preferida de la invención, la luz procedente de la fuente de luz y/o la luz que emana de la cámara se acopla a través de una superficie principal del sustrato transparente y del área transparente. Esta realización tiene la ventaja de que permite que más luz procedente de la fuente de luz se pueda acoplar al interior de la cámara y/o que más luz que emana de la cámara se pueda acoplar al detector de lo que sería posible si la cámara estuviera ópticamente acoplada a sus alrededores a través de las superficies menores, es decir las paredes laterales, del sustrato transparente. Además, esta geometría permite una disposición compacta de calentadores, cámara de muestras, fuente de luz, y detector, por ejemplo teniendo una fuente de luz y un detector en un lado de la cámara y utilizando un elemento de división del haz como un espejo dicróico para guiar luz desde la fuente de luz hasta la cámara y desde la cámara hasta el detector. Todavía además, esta geometría tiene la ventaja de que permite que se pueda utilizar una única unidad de fuente de luz y/o una única unidad de detector con respecto a una pluralidad de cámaras. La unidad de fuente de luz y/o la unidad de detector se pueden mover de una cámara a la siguiente sin la necesidad de alineación estricta entre la fuente de luz, la cámara, y el detector que aplica cuando se utilizan las superficies menores de la cámara para acoplar luz al interior y/o al exterior de la cámara.

En una realización preferida de la invención, la cámara está situada entre un primer y un segundo dispositivo de calentamiento, en donde el primer dispositivo de calentamiento está situado en un lado superior y el segundo dispositivo de calentamiento está situado en un lado inferior de la cámara. Al menos uno de los dispositivos de calentamiento superior o inferior comprende un sustrato transparente, en donde el lado correspondiente de la cámara también incluye el área transparente, el cual está alineado con el sustrato transparente del dispositivo de calentamiento que posee el sustrato transparente. Por esto, es posible detectar ópticamente por ejemplo una luz de fluorescencia a través del sustrato transparente del dispositivo de calentamiento y del área transparente de la cámara desde un lado del sistema de variación térmica cíclica. Además, esta realización proporciona la posibilidad de fabricar el otro de los dispositivos de calentamiento mediante un material de bajo precio sin un sustrato transparente. Preferiblemente, el dispositivo de calentamiento realizado sin un sustrato transparente incluye un elemento de calentamiento para calentar la cámara y la muestra dentro de la cámara.

Sin embargo, ciertas aplicaciones pueden requerir un dispositivo de calentamiento superior y uno inferior, los cuales comprenden ambos un sustrato transparente. De esta forma, es posible detectar ópticamente el contenido de la cámara desde ambos lados. Por esto, es posible colocar la cámara entre los dispositivos de calentamiento superior e inferior sin tener cuidado de dónde está situada la respectiva área transparente de la cámara.

Preferiblemente, el sustrato transparente tiene una conductividad térmica menor de 120W/cm*K. Además, es ventajoso proporcionar un material de sustrato transparente que tenga un valor de calor específico bajo. Normalmente para sistemas de calentamiento térmico se utiliza aluminio como material básico que proporciona una buena conductividad térmica de 117 W/cm*K a 20°C. Para proporcionar un calentamiento muy eficiente de la muestra dentro de la cámara, la conductividad térmica de la placa de soporte debería ser al menos similar a la del aluminio.

Además, se prefiere tener un valor de calor específico bajo, dado que el valor de calor específico determina la masa térmica del elemento de calentamiento. Una masa térmica pequeña permite variación térmica cíclica rápida. Un valor de calor específico para el aluminio es de aproximadamente 0,9 J/g*K. Un material que cumple estos requisitos y que es transparente es el zafiro. El zafiro tiene a 20°C una conductividad térmica de 100 W/cm*K que es menor que

la conductividad térmica del aluminio. El valor de calor específico para el zafiro es 0,7 J/g*K. De esta manera, el zafiro combina ventajas de buena conductividad térmica y bajo valor de calor específico junto con la característica transparente.

5 Combinando el material transparente y las características mencionadas anteriormente es posible una rápida variación térmica cíclica de la muestra junto con monitorización óptica. Realizando variaciones térmicas cíclicas y detectando ópticamente a la vez es posible reducir drásticamente el tiempo de ensayo. Incluso, cuando se realizan primero las variaciones térmicas cíclicas y a continuación se detecta cualquier señal óptica, esto se podría realizar muy fácilmente sin ningún paso de manipulación adicional, como extraer la cámara fuera del sistema de variación térmica cíclica para detección óptica, etc.

10 El dispositivo de calentamiento puede incluir sólo un sustrato transparente y el elemento de calentamiento. Pero también es posible proporcionar una placa de soporte que soporte al sustrato transparente, en donde el elemento de calentamiento podría estar situado sobre ambos, la placa de soporte y/o el área transparente. Entonces la placa de soporte se podría realizar no transparente. Sin embargo, cuando se tengan dos materiales para el dispositivo de calentamiento las conductividades térmicas de ambos materiales deberían ser similares.

15 Proporcionando el sistema de variación térmica cíclica con un sustrato transparente hecho de zafiro es posible conformar un PCR en tiempo real (rtPCR) que requiera simultáneamente variación térmica cíclica de líquido de muestra y detección óptica de señales de fluorescencia que se originan en la amplificación de ADN. Por esto, la velocidad de la amplificación de ADN se incrementa debido a la eficiencia y velocidad del sistema de variación térmica cíclica. Por lo tanto, el sistema de variación térmica cíclica de la presente invención proporciona un sistema
20 térmico muy rápido para reducir el tiempo de ensayo. Además, dicho sistema de variación térmica cíclica proporciona un acceso óptico muy bueno a la cámara y en particular al líquido de muestra incluido dentro de la cámara para poder realizar una detección óptica simultáneamente o secuencialmente al proceso de variación térmica cíclica.

25 En una realización preferida adicional, el elemento de calentamiento también está fabricado de un material transparente, por ejemplo óxido de Indio. Por esto el elemento de calentamiento no interfiere con la detección de señales de fluorescencia que se originan en la muestra a analizar. El elemento de calentamiento podría estar situado entre el sustrato transparente y la cámara o podría estar integrado en el interior del sustrato transparente, por ejemplo dentro de un surco del sustrato transparente. De forma alternativa, el elemento de calentamiento puede estar situado en el lado del sustrato transparente opuesto a la cámara. Sin embargo, en caso de tener una placa de
30 soporte soportando al sustrato transparente el elemento de calentamiento también se podría colocar respectivos lados de la placa de soporte o podría estar integrado en el interior de la placa de soporte.

Preferiblemente, los elementos de calentamiento del dispositivo de calentamiento superior e inferior están conformados con formas similares.

35 Además, para controlar el proceso de variación térmica cíclica de la muestra dentro de la cámara, el sistema de variación térmica cíclica incluye al menos un sensor de temperatura, el cual está acoplado al dispositivo de calentamiento para detectar la temperatura del sustrato transparente para detectar la temperatura de proceso de la cámara.

40 El sensor podría estar situado dentro de un surco del sustrato transparente, entre la cámara y el sustrato transparente o en el lado opuesto a la cámara. Además podría estar integrado en el interior de un cartucho que aloja a la cámara. Proporcionando el sensor de temperatura en el interior de un surco del sustrato transparente, se consigue una mejor captación de temperatura.

45 El elemento de calentamiento utilizado para calentar la muestra dentro de la cámara está realizado preferiblemente como un elemento de calentamiento resistivo. El elemento de calentamiento (en, por ejemplo, al menos uno de los calentadores en un sistema de variación térmica cíclica) podría estar realizado como alambre embebido en el interior de un surco del sustrato transparente o podría tener una forma plana, la cual se coloca entre el sustrato transparente y la cámara o en el lado opuesto a la cámara. Está realizado preferiblemente como un calentador de película delgada. Sin embargo, también podría estar realizado como un alambre de calentamiento, el cual se coloca a continuación en el interior de un surco de la placa de soporte para proporcionar buen contacto térmico del elemento de calentamiento. El elemento de calentamiento se conforma como un anillo para de ese modo conformar
50 una ventana del sustrato dentro del anillo, la cual se utiliza para detección óptica de la muestra dentro de la cámara y para detección óptica de una señal óptica de la muestra dentro de la cámara. La ventana del sustrato debería estar alineada con un área transparente de la cámara.

55 La cámara incluye una cara superior y una cara inferior, en donde al menos una de la cara superior o inferior comprende un área transparente realizado como lámina transparente. La lámina transparente permite dirigir una señal de excitación sobre la muestra y detectar una señal óptica originada en la muestra. Además, la lámina transparente está hecha de una lámina transparente elástica. De esta manera, al calentar térmicamente la cámara la lámina se inflará en la dirección del dispositivo de calentamiento. Sin embargo, el inflado está limitado por el sustrato transparente para de ese modo incrementar la presión dentro de la cámara para acelerar aún más el

proceso de variación térmica cíclica y para incrementar el contacto térmico entre el sustrato transparente y la cámara. Además, de este modo se impide la formación de burbujas de aire dentro de la cámara.

5 El sistema de variación térmica cíclica incluye además al menos un dispositivo de sujeción para sujetar el dispositivo de calentamiento y en particular para sujetar el elemento de calentamiento y/o el sustrato transparente. El dispositivo de sujeción incluye una abertura para proporcionar acceso óptico libre a la ventana del sustrato.

10 El dispositivo de sujeción preferiblemente sujeta a la placa de soporte y/o a la placa de soporte en su borde respectivamente. Preferiblemente, el dispositivo de sujeción hace contacto con el elemento de calentamiento con forma de anillo, el cual está situado en el lado opuesto a la cámara. De esta manera, el elemento de calentamiento está situado debajo del dispositivo de sujeción y es presionado por el dispositivo de sujeción en dirección al sustrato transparente y a la cámara. Para proporcionar la fuerza requerida, el dispositivo de sujeción está acoplado a un muelle mecánico, el cual está presionando el sustrato transparente y/o el elemento de calentamiento contra la cámara para de ese modo incrementar el contacto mecánico y el contacto térmico entre el dispositivo de calentamiento y la cámara.

15 El sistema de variación térmica cíclica comprende un cartucho para alojar a la cámara como se especifica en la reivindicación 1.

El objeto es solucionado además por un dispositivo de diagnóstico que incluye un cartucho que tiene una pluralidad de sistemas de variación térmica cíclica como se ha descrito anteriormente. Preferiblemente, el cartucho incluye una pluralidad de espacios para alojar a una pluralidad de cámaras, las cuales se colocan a continuación entre un dispositivo de calentamiento superior y un dispositivo de calentamiento inferior, respectivamente.

20 Además, el objeto es solucionado mediante el uso del sistema de variación térmica cíclica como se ha descrito anteriormente en un proceso de amplificación de ADN y en concreto en un proceso de PCR. Preferiblemente, el sistema de variación térmica cíclica como se ha descrito anteriormente es apropiado para ser usado en un proceso de PCR en tiempo real que requiera una variación térmica cíclica y una detección óptica simultáneas.

25 Una ventaja adicional de utilizar zafiro como material para el sustrato transparente es que es extremadamente duro y de este modo garantiza una larga vida útil. Además, tiene una estabilidad química muy grande que permite un proceso de limpieza simple. Además, proporciona un gran rango de longitudes de onda que permite detección óptica de señales de fluorescencia para múltiples etiquetas de tinte. El sistema de variación térmica cíclica de la presente invención es en particular aplicable para procesadores de amplificación de ADN. Sin embargo, el sistema de variación térmica cíclica también se podría utilizar en el campo de diagnóstico molecular general, en el campo de diagnóstico químico, en diagnóstico en el punto de atención médica y en investigación de diagnóstico biomolecular. Se podría utilizar para biosensores, matrices de expresión de genes y proteínas y sensores ambientales y para sensores de calidad del calor.

30 De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona un método para analizar diagnósticamente una muestra, que comprende los pasos de: poner una cámara que incluye a la muestra a analizar en contacto con al menos un dispositivo de calentamiento que tiene un sustrato transparente y un elemento de calentamiento; Someter a variaciones térmicas cíclicas a la cámara generando calor con el elemento de calentamiento conducido a la cámara por medio del sustrato transparente; y detectar ópticamente la muestra dentro de la cámara secuencialmente o simultáneamente al paso de variación térmica cíclica.

En lo que sigue se describen diferentes realizaciones ejemplares de la invención.

40 **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 muestra una vista en sección del sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con la presente invención.

La Figura 2 muestra una placa de soporte que incluye un alambre de calentamiento como se describe en el contexto de la presente invención.

45 La Figura 3 muestra un elemento de calentamiento en forma plana como se describe en el contexto de la presente invención.

La Figura 4 muestra un diagrama que muestra la transmisión óptica del zafiro.

Descripción detallada de las realizaciones

50 En la Figura 1 se muestra una vista en sección del sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con la presente invención. Existen un primer dispositivo de calentamiento 10a y un segundo dispositivo de calentamiento 10b. Una cámara 30 está situada entre el primer y el segundo dispositivo de calentamiento 10a, 10b. La cámara 30 es alojada por un cartucho 40, el cual se muestra sólo parcialmente.

El primer y el segundo dispositivo de calentamiento 10a, 10b de la realización mostrada en la Figura 1 incluye un sustrato transparente 11a, 11b hecho de zafiro. De esta manera, los sustratos transparentes 11a, 11b son completamente transparentes. No se ilustra pero es posible tener una placa de soporte soportando al sustrato transparente en el medio del mismo. Entonces la placa de soporte está rodeando al sustrato transparente. La placa de soporte podría tener diferente material y podría ser transparente o no transparente.

El sensor de temperatura 25 puede estar situado a cada lado de la cámara para captar la temperatura de los respectivos sustratos transparentes 11a, 11b. Pero, puede ser suficiente con tener sólo un sensor de temperatura. El sensor de temperatura 25 también se podría colocar dentro del cartucho 40.

Los elementos de calentamiento 12a y 12b están realizados en forma plana y tienen una forma de anillo como se muestra en la Figura 3. Los elementos de calentamiento de forma plana 12a, 12b están situados en los respectivos lados opuestos a la cámara de los dispositivos de calentamiento 10a y 10b. Sin embargo, también son posibles otras formas de elementos de calentamiento. Además la ubicación de los elementos de calentamiento 12a, 12b puede ser diferente a la realización mostrada en la Figura 1. Los elementos de calentamiento 12a, 12b podrían estar completamente embebidos dentro del material transparente, preferiblemente dentro de un surco conformado en el sustrato transparente.

Si el elemento de calentamiento se fabrica de un material transparente también podría tener un área mayor que la mostrada en la Figura 1, para proporcionar de ese modo un mejor contacto y un intercambio de calor entre el elemento de calentamiento 12a, 12b y el sustrato transparente 11a, 11b. Si al menos uno de los elementos de calentamiento 12a, 12b es transparente, puede interferir con la ventana del sustrato 26, porque todavía es posible detección óptica.

Los elementos de calentamiento 12a, 12b y los sustratos transparentes 11a, 11b están soportados respectivamente por elementos de sujeción 50a y 50b, los cuales proporcionan un contacto mecánico fiable entre el sustrato transparente 11a, 11b y los elementos de calentamiento 12a, 12b por un lado y la cámara 30 por el otro lado. Por esto, el calor generado por los elementos de calentamiento 12a, 12b es transmitido de manera fiable por el sustrato 11a, 11b de zafiro transparente de los dispositivos de calentamiento 10a, 10b a la cámara 30 para calentar la muestra incluida en la cámara 30.

La cámara incluye un área transparente 31, la cual está realizada como una lámina transparente que tiene característica elástica. Cuando se calienta la cámara 30 que contiene la muestra a analizar, la lámina se extiende en dirección al sustrato transparente 11a, 11b, incrementando de ese modo el contacto entre el dispositivo de calentamiento 10a, 10b y la cámara 30.

La presión para mejor conducción de calor y para poner en contacto el elemento de calentamiento/sustrato transparente con la cámara 30 se podría incrementar utilizando muelles 51 que presionen los elementos de sujeción 50a y 50b, respectivamente en dirección a la cámara 30 para proporcionar de ese modo un acoplamiento estrecho entre los sustratos transparentes 11a, 11b y la cámara 30.

En la Figura 2 se ilustra una realización adicional del dispositivo de calentamiento, apropiada para un sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con la presente invención. El dispositivo de calentamiento 10 mostrado en la Figura 2 incluye un elemento de calentamiento 12 realizado como un alambre, el cual está conformado en forma de anillo con terminales respectivos para proporcionar conexión eléctrica al calentamiento resistivo. Además, el sustrato transparente 11 de acuerdo con la Figura 2 incluye un sensor 25, el cual está situado dentro de la ventana del sustrato 26.

La Figura 3 ilustra una realización alternativa del elemento de calentamiento 12, apropiada para un sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con la presente invención. El elemento de calentamiento 12 está realizado en forma plana y colocado directamente en el lado opuesto a la cámara del sustrato transparente como se muestra en la Figura 1. En base a la gran área de contacto entre el elemento de calentamiento 20 de forma plana y la placa de soporte 10 se proporciona una buena transmisión de calor desde el elemento de calentamiento 12 hasta el sustrato transparente 11. En caso de utilizar un alambre como elemento de calentamiento como se muestra en la Figura 2, se prefiere proporcionar un surco en el interior del sustrato 11 transparente para tener una transmisión de calor fiable. No se ilustra, pero una solución preferida adicional para integrar o embeber el elemento de calentamiento en el interior del sustrato transparente 11, para de ese modo incrementar el contacto térmico entre el elemento de calentamiento y el sustrato transparente 11.

El sensor de temperatura 25 mostrado en la Figura 1 está situado preferiblemente dentro de la ventana del sustrato 26, en donde para medida fiable de la temperatura, está ventajosamente situada dentro de un surco del sustrato transparente 11. Sin embargo, para medir la temperatura se puede utilizar otra ubicación cerca de la cámara para de ese modo no interferir la vista o el acceso óptico al interior de la cámara.

En la Figura 4 se muestra la transmisión óptica del material de zafiro a lo largo de un gran rango de longitudes de onda, la cual permite una detección óptica de señales de fluorescencia de múltiples etiquetas de tinte. El material de zafiro tal como se usa preferiblemente para el dispositivo de calentamiento proporciona un coeficiente de transmisión muy bueno desde longitudes de onda muy pequeñas hasta longitudes de onda muy grandes. Además, el zafiro

proporciona una dureza extremadamente alta que garantiza una larga vida útil, en donde su estabilidad química permite un procedimiento de limpieza simple.

- 5 El sustrato transparente y el área transparente de la cámara son transparentes para permitir el paso de al menos una de luz de excitación y una luz de fluorescencia resultante. De esta manera, dichas señales ópticas deben poder pasar a través del dispositivo de calentamiento ya sea para excitar la muestra o para alcanzar un detector respectivamente.

Se proporciona un controlador para controlar el al menos un elemento de calentamiento y para recibir el valor de temperatura medido por el sensor. El controlador puede además controlar la excitación óptica de la muestra y la detección óptica de la muestra.

- 10 El sistema de variación térmica cíclica y el dispositivo de diagnóstico de la presente invención son perfectamente apropiados para un PCR en tiempo real para un proceso de amplificación de ADN. Aplicando la invención en un proceso de amplificación de ADN se incrementa la velocidad del sistema térmico y por lo tanto la eficiencia. Además, es posible una detección óptica durante el proceso de amplificación de ADN para detectar una señal de fluorescencia que se origina en la amplificación de ADN. Utilizando un sustrato de zafiro transparente junto con un elemento de calentamiento en el dispositivo de calentamiento innovador, es posible detectar fácilmente de forma óptica el contenido de la cámara PCR.
- 15

REIVINDICACIONES

1. Sistema de variación térmica cíclica, que comprende:

al menos un dispositivo de calentamiento (10a, 10b) que tiene un sustrato transparente (11a, 11b) y un elemento de calentamiento (12a, 12b), estando dicho elemento de calentamiento (12a, 12b) en contacto directo con el sustrato transparente (11a, 11b); y

un cartucho (40) que aloja a una cámara (30), incluyendo dicha cámara (30) una cara superior y una cara inferior y estando adaptada para alojar a una muestra y situada adyacente al al menos un dispositivo de calentamiento (10a, 10b), en donde al menos una de dichas caras superior o inferior comprende una lámina (31) elástica transparente,

estando el sistema de variación térmica cíclica caracterizado por estar diseñado de tal manera que al menos durante el funcionamiento, la lámina (31) elástica transparente está situada en contacto y alineada con el sustrato transparente (11a, 11b) del al menos un dispositivo de calentamiento (10a, 10b),

estando dicha lámina (31) adaptada para inflarse en la dirección del dispositivo de calentamiento cuando se produce el calentamiento térmico de la cámara.
2. Sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sistema de variación térmica cíclica está diseñado para acoplar luz procedente de una fuente de luz al interior de la cámara (30) y/o acoplar luz que emana de la cámara (30) a un detector a través del sustrato transparente (11a, 11b).
3. Sistema de variación térmica cíclica de la reivindicación 2, en el cual la luz procedente de la fuente de luz y/o la luz que emana de la cámara (30) está acoplada a través de una superficie principal del sustrato transparente (11a, 11b) y de la lámina (31) elástica transparente.
4. Sistema de variación térmica cíclica de una de las reivindicaciones 1-3, que comprende un primer dispositivo de calentamiento (10a) y un segundo dispositivo de calentamiento (10b), el primer dispositivo de calentamiento (10a) está situado en un lado de la cámara (30), mientras que el segundo dispositivo de calentamiento (10b) está situado en el lado opuesto a la cámara (30), para de ese modo colocar la cámara (30) entre el primer y el segundo dispositivo de calentamiento (10a, 10b).
5. Sistema de variación térmica cíclica de una de las reivindicaciones 1-4, en el cual el sustrato transparente (11a, 11b) tiene una conductividad térmica menor que $120 \text{ W/cm}^2\text{K}$ y/o un valor de calor específico menor que $0,9 \text{ J/g}^{\circ}\text{K}$.
6. Sistema de variación térmica cíclica de una de las reivindicaciones 1-5, en el cual el sustrato transparente (11a, 11b) comprende un sustrato de zafiro.
7. Sistema de variación térmica cíclica de una de las reivindicaciones 1-6, en el cual el elemento de calentamiento (12a, 12b) es transparente.
8. Sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con la reivindicación 7, en el cual el elemento de calentamiento (12a, 12b) está hecho de óxido de indio.
9. Sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con una de las reivindicaciones 1-8, en el cual el dispositivo de calentamiento (10a, 10b) comprende al menos un sensor (25) para detectar la temperatura del sustrato transparente (11a, 11b), en donde el sensor (25) puede estar situado preferiblemente dentro de un surco del sustrato transparente (11a, 11b).
10. Sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con una de las reivindicaciones 1-9, que comprende además al menos un elemento de sujeción (50a, 50b) para sujetar el dispositivo de calentamiento (10a, 10b).
11. Sistema de variación térmica cíclica de acuerdo con la reivindicación 10, en el cual el elemento de sujeción (50a, 50b) está acoplado a un muelle (51) para presionar el sustrato transparente (10a, 10b) y/o el elemento de calentamiento (20a, 20b) contra la cámara (30).
12. Dispositivo de diagnóstico que incluye un cartucho (40) que tiene una pluralidad de sistemas de variación térmica cíclica de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes.
13. Método para analizar de manera diagnóstica una muestra, que comprende los pasos de:
 - poner una cámara (30) que incluye la muestra a ser analizada en contacto con al menos un dispositivo de calentamiento (10a, 10b) que tiene un sustrato transparente (11a, 11b) y un elemento de calentamiento (12a, 12b),
 - en donde la cámara (30) es alojada por un cartucho (40) y comprende una lámina (31) elástica transparente,

en donde el elemento de calentamiento (12a, 12b) está en contacto directo con el sustrato transparente (11a, 11b); y

en donde la lámina (31) elástica transparente está situada en contacto y alineada con el sustrato transparente (11a, 11b) y adaptada para inflarse en la dirección del dispositivo de calentamiento cuando se produce un calentamiento térmico de la cámara;

- 5
- someter a la cámara (30) a variaciones térmicas cíclicas generando calor con el elemento de calentamiento (12a, 12b) conducido a la cámara (30) por medio del sustrato transparente (11a, 11b) y de la lámina (31) elástica transparente;
- 10
- detectar ópticamente la muestra dentro de la cámara a través de dicho sustrato transparente (11a, 11b) y de dicha lámina (31) elástica transparente secuencialmente o simultáneamente al paso de variación térmica cíclica.

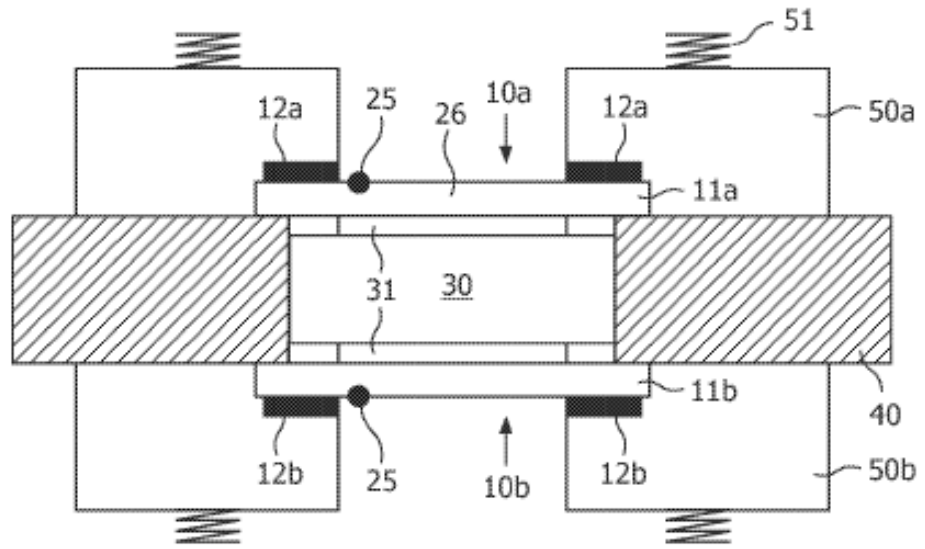


FIG. 1

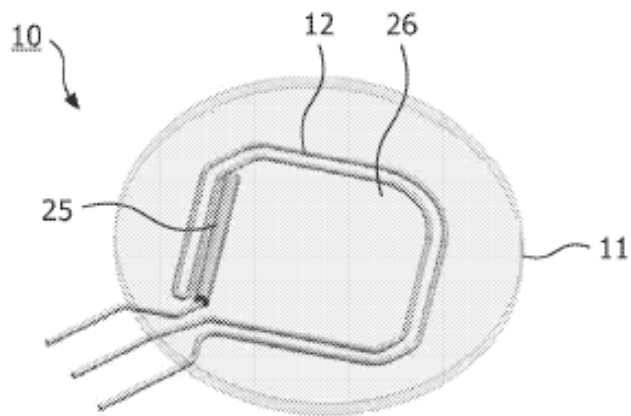


FIG. 2

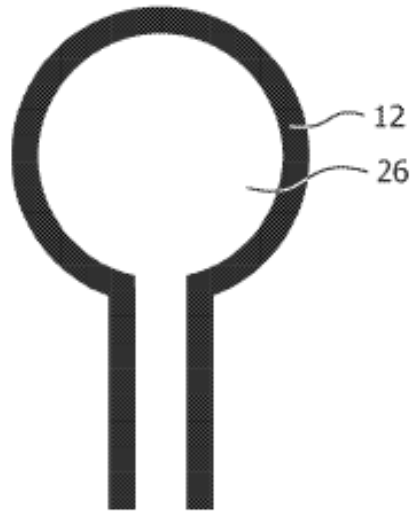


FIG. 3

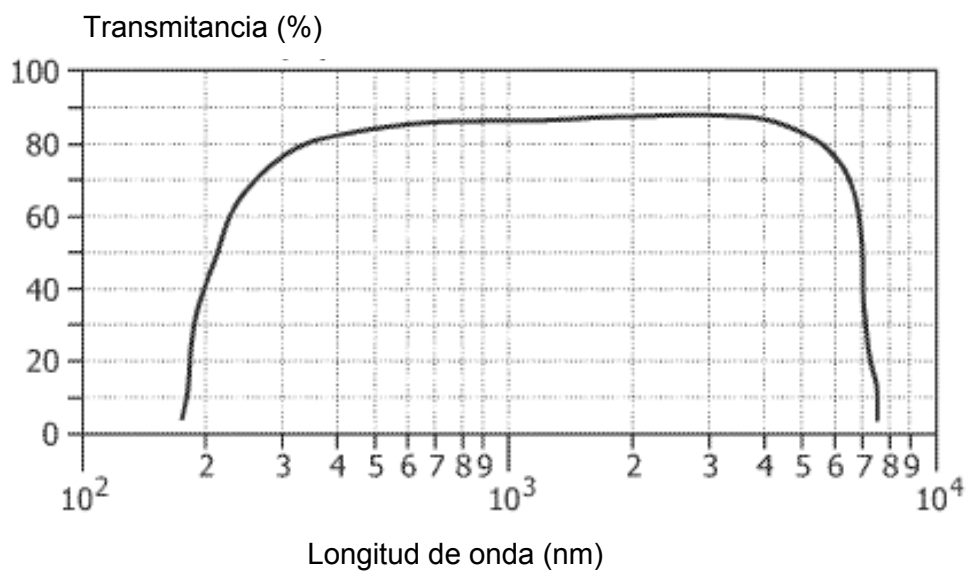


FIG. 4