



PCX热电冷却器加速PCR循环过程

Laird
THERMAL SYSTEMS

针对实时 PCR 而设计的下一代热电冷却器

莱尔德热系统应用说明

目录

简介.....	3
聚合酶链反应 (PCR)	4
用于精确温度管理的热电冷却器 t.....	6
标准热电冷却器.....	6
PowerCycling PCX 系列热电冷却器.....	6
用于改进温度控制的加长型 PCX 热电冷却器.....	7
结论.....	8
关于莱尔德热系统.....	9
联系莱尔德热系统.....	10

简介

聚合酶链反应 (PCR) 是一种分子诊断技术，用于放大 DNA 测序。聚合酶链反应也称为分子复制，其中所产生的 DNA 对许多实验室和临床程序至关重要。PCR 检测有助于诊断 SARS-CoV-2，即 COVID-19。PCR 测试不仅可以在测试过程中检测病毒的存在，而且即使在患者不再被感染后，也会检测到病毒的片段。PCR 测试被认为是诊断 COVID-19 的“黄金标准”，因为它是最准确、最可靠的测试。PCR 对于传染病检测的有巨大影响，预计将成为我们日常生活的测试标准。



PCR 被认为是诊断传染病的最准确、最可靠检测方法。

PCR 仪器主要分为三种类型：传统型、实时型和定量型。上世纪 90 年代设计的传统 PCR 仪器精度低、灵敏度差，结果是在测试后获得。实时 PCR 允许技术人员在测试过程中查看结果，能够为定量分析提供最精准的数据。实时 PCR 使医务人员能够提供护理点 (POC) 检测，在几分钟内，而不是几小时向患者提供结果。POC 测试可确保患者在需要的时间和地点获得最有效和最高效的医疗护理。实时 PCR 测试可以节省时间，因为技术人员可以在预测试运行期间优化熔解温度。定量 PCR，也称为数字 PCR，提供对罕见折叠 (rare folds) 的精确计数，能够进行比实时 PCR 检测更深入的分析。

PCR 可由一种称为热循环仪 (thermocycler) 的设备提供支持，该设备被编程为每 30 到 60 秒快速改变反应温度，以进行 DNA 变性和合成。多年来，技术进步使热循环仪的尺寸不断减小，以节省宝贵的实验室工作台空间。用于实时和数字 PCR 测试的现代热循环仪需要采用热电技术精确管理温度设定点和升温速率。由于在加热和冷却循环期间出现的机械应力，热循环会产生一种较为严苛的环境，从而降低标准热电冷却器的性能。莱尔德热系统开发了下一代热电冷却器 PowerCycling PCX 系列，将先进的热电材料与增强的专有过程控制相结合，可为热循环应用提供最佳性能和坚固的构建。

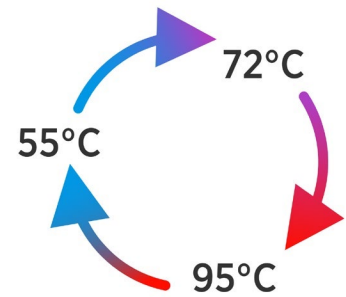


现代热循环设备利用基于热电技术的标准热电冷却器，来提供精确的温度控制和快速的升温速率。

聚合酶链反应 (PCR)

PCR 需要大量的热循环周期来创建数百万条用于诊断的 DNA 测序链。在热循环仪器中，样本经过制备并分配到 96 或 384 孔卡盒中，并在每个温度阶段进行精确的温度控制。

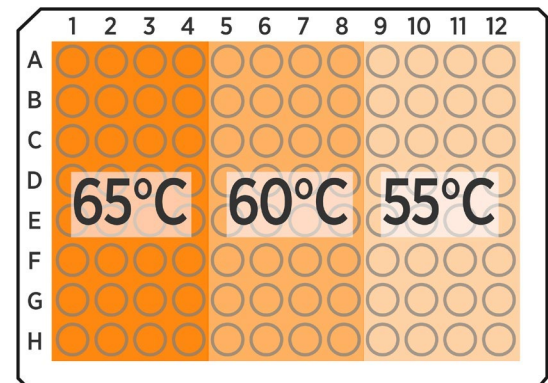
通常，PCR 由一系列 20 到 40 个重复温度循环周期组成，每次都使 DNA 拷贝加倍。在大约 40 个循环中，可以创建大约 10 亿个 DNA 拷贝，以生成足够的生物标志物，由光学测量系统可以高精度地对其进行识别。样本循环之前通常是在高温 (95°C) 下进行单个温度操作，分离出 DNA，然后冷却至 50 ~ 65°C 之间的解链温度，此时生物标志物将与 DNA 结合。第三阶段将温度升高到 72°C，以便可以对 DNA 的副本进行测序。每个阶段的设定点温度和时间长度取决于各种参数，而这些参数则取决于生物标志物与 DNA 的结合程度。



PCR 包括三个温度周期循环步骤。

确定最佳的熔体温度可能需要试运行，这可以通过先进的 PCR 设备来完成，其中可以同时控制 50 ~ 65°C 的四到六个温度区。

可以进行预试验之前的测试，以找到生物标志物附着在 DNA 上的最佳温度。这可以在不同区域温度下实时监测，以在运行正式 PCR 测试之前确定最佳熔解温度，这将确保测试结果的最高准确性，并且也是定量 PCR 所必需的。

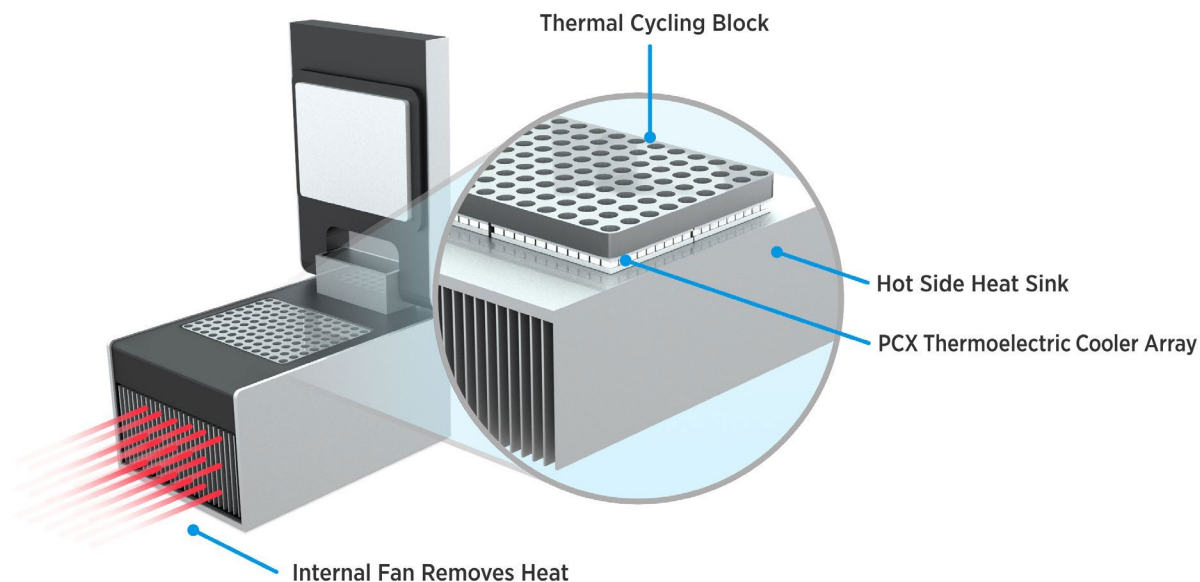


多个温度区可用于预试验之前的测试，以找到生物标志物附着在 DNA 上的最佳熔解温度。

为了最大限度地缩短扩增的总持续时间，并最大限度地增加 PCR 在一天内可以进行的测试数量，需要更快的温度上升速率。在传统的 PCR 设备中，大概每秒升温 3 ~ 5°C，而随着新机器设备进入市场，升温速率增加到每秒 6 ~ 9°C。

控制侧包含一个带有机床加工孔的冷块，用于容纳样本盒。尽量减少整个托盘的温度梯度非常重要，这样所有的孔都可以循环到相同的设定点温度。在整个 PCR 过程中，热循环仪中的样本托盘必须保持在正负半摄氏度的范围内，否则它们会出现错误，并且无法用于分析。散热侧包含一个散热器和带有加热器筒的风扇，通常在散热侧使用辅助控制回路，这样即使在控制侧有 40°C 的温差范围内波动，仍能保持热侧的温度稳定。这改进了温度控制并有助于最大限度地减少温度设定点的过冲，尤其是在快速升温条件下。

热循环仪可用于需要非常严格温度控制的 PCR 方案。将温度控制保持在 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 以内可能具有很大挑战性，尤其是在位于托盘外边缘的孔中。横向的散热均衡和高导热的冷板对于确保整个板的最小温度梯度至关重要。



实时 PCR 热循环仪需采用先进的热电冷却器，因为与其他技术相比，先进的热电冷却器能够提供更精确的控制和更快的升温速率。

此外，也需要热电冷却器具有严格的搭接公差，以最小化接合表面与散热器和冷块之间的间隙。还建议与热电冷却器配合使用的热交换器具有严格的表面平整度和抛光表面，这将确保所有热电冷却器在组装过程中都在平面上，并有助于将空气从界面材料中排出，以最大限度地减小温度梯度。

ACR 是针对随时间变化的模块热阻测量。ACR 在其使用寿命期间漂移几个百分点的情况并不少见，而且并非所有热电冷却器都会以相同的速率变化。不同批次的生产公差可能相差 5% 以上，为了尽量减少 ACR 漂移对温度梯度的影响，建议按 ACR 值对热电冷却器进行分类，并为每台 PCR 机器设备分组。这将确保热电冷却器之间的温度梯度不会随时间发生太大变化，并延长 PCR 机器设备的现场使用寿命。

一个 PCR 方案示例是加热组织载玻片以进行原位杂交。通过由热循环仪提供的受控温度变化可以用来研究温度相关的动力学。除了能够优化 PCR 方案外，具有梯度功能的热循环仪还可以确定任何酶活性的最佳温度。

用于精确热管理的热电冷却器

与可能需要数小时才能提供结果的传统 PCR 热循环仪相比，现代实时 PCR 可在持续测试期间提供结果。在发生错误时，允许技术人员停止测试并进行调整。实时 PCR 速度的提高主要是由于减少了循环时间、去除了 PCR 后检测程序以及使用荧光标记和检测其排放的灵敏方法。实时热循环仪需使用先进的热电冷却器，因为与其他技术相比，先进的热电冷却器能够提供更精准的温度控制、更小的占位面积和更高的效率。通过实现更快的升温速率，热电冷却器可提供更大的吞吐量和更快的测试结果。

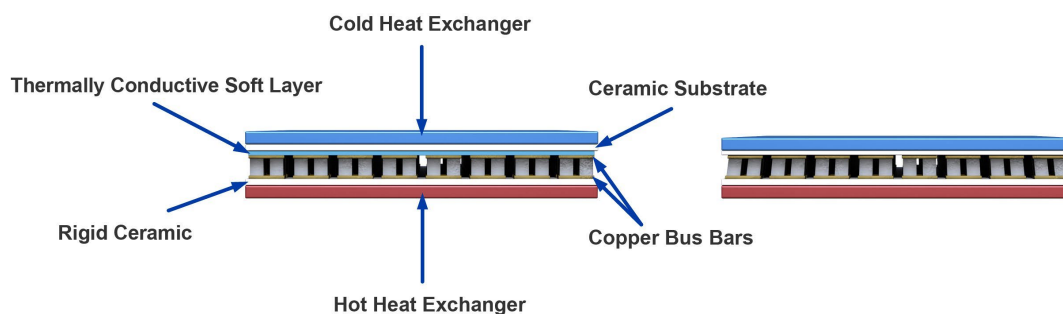
标准热电冷却器

标准热电冷却器仅设计用于制冷应用，它们由陶瓷基板上的铜汇流条和半导体对之间的焊点构建而成，具有坚固的结构。由于具有刚性结构，当模块从重复的冷却和加热循环中快速收缩和膨胀时，热循环会对热电冷却器施加机械应力。热收缩导致制冷端陶瓷收缩，而热侧陶瓷基板会膨胀。半导体元件焊接在两侧，并在循环过程中承受机械疲劳和剪切应力。这会导致热电冷却器出现故障或显著缩短其使用寿命，从而使 PCR 机器无法运行。

PowerCycling PCX 系列热电冷却器

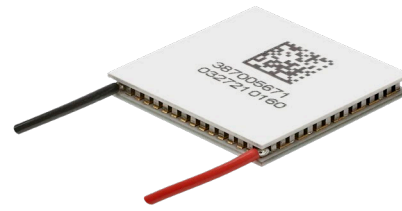
PowerCycling PCX 系列专门设计用于进行数十万次热循环，同时能够将性能降级减至最小，它们可安装在热循环仪托盘（井）下方，以提供更精确的温度稳定性。高度可靠的 PowerCycling PCX 系列能够延长热循环仪的平均故障间隔时间 (MTBF)，并通过减少停机时间和维护来降低总体拥有成本。这将延长 PCR 设备的使用寿命，同时可帮助 OEM 最大限度地提高每台设备的耗材销售收入。

PCX 模块采用独特的牢固架构，并利用下一代热电材料来降低热应力。冷侧陶瓷基板下方嵌入有柔性导热“软层”，以充分吸收由温度循环引起的机械应力，并延长热循环应用中设备的整体使用寿命。PowerCycling PCX 热电冷却器已通过领先的 PCR OEM 验证测试协议要求，能够为模拟现实生活应用条件的热电冷却器引入剧烈的加速循环条件。



普通热电冷却器（右），以及具有介电导热软层的 PowerCycling 系列热电冷却器（左），在夸大热膨胀应变下半导体颗粒的相对应应变示意图。

PCX 热电冷却器采用增强型过程控制和焊接架构制造，可在高达 120°C 的温度下运行，这超出了 PCR 应用的要求。与标准热电冷却器产品相比，PCX 系列采用下一代热电材料组装，能够提供更快的升温速率。



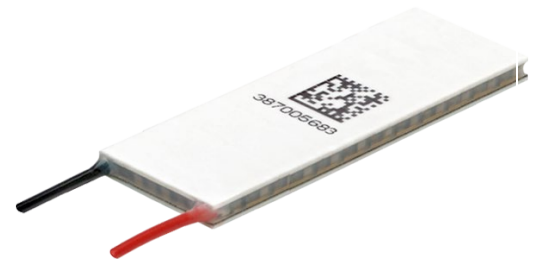
PCX 系列设计用于在高达 120°C 的温度下运行，这超出了 PCR 应用的要求。

当在热循环仪托盘下方以阵列方式使用时，PCX 系列热电冷却器可优化横向散热，能够在整个冷区内提供精确、均匀的温度稳定性，误差可控制在 ±0.5°C 以内。阵列大小取决于托盘井的数量。

PCX 系列可提供从 14 到 215 瓦的多种冷却能力，涵盖多个几何尺寸，以适应不同的托盘尺寸和井数要求。

用于改进温度控制的加长型 PCX 热电冷却器

高精度温度控制是找到生物标志物与 DNA 结合最佳熔解温度的关键。PCR 试剂盒上的更多温度区域将帮助减少每组井之间的偏差，使技术人员更容易找到最佳熔解温度，从而更快地获得测试结果。

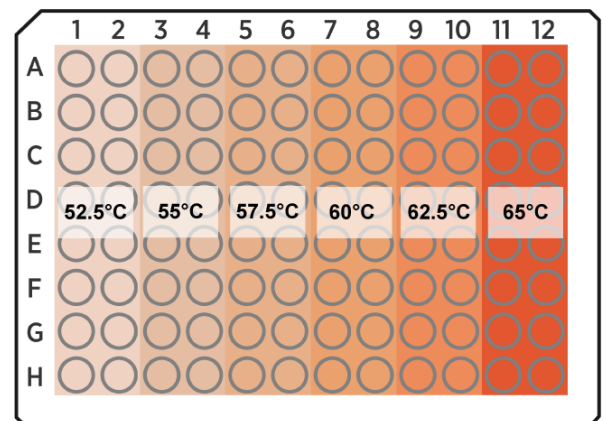


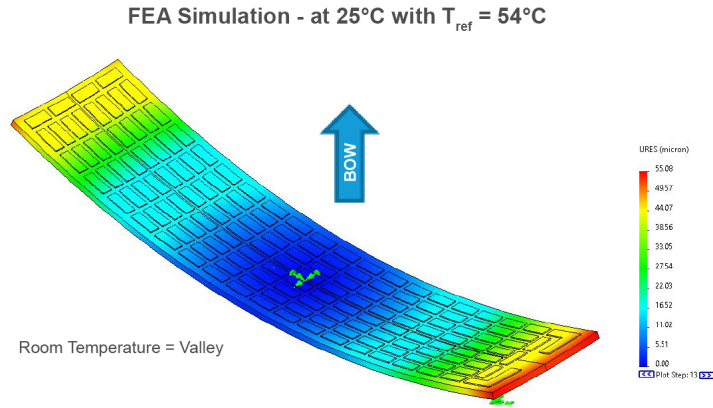
PCX 加长型热电冷却器允许 PCR 托盘上的温度区域更窄，这使技术人员更容易找到最佳熔解温度。

通过在 PCR 井下方安装细长的热电冷却器，温度区间可变得更窄，从而在整个托盘上可提供更小的温度梯度。本用例中的 PCR 托盘设计具有六个热电冷却器，每个区域都有一个热电冷却器。

然而，由于加长部件带来的弯曲效应，细长型热电冷却器的制造过程极具挑战性。长度与宽度比越大，陶瓷越容易弯曲，这在组装过程中是一个巨大挑战。

通过采用改进的专有过程控制和更先进的热电材料，莱尔德热系统开发了 PCX 加长型系列热电冷却器，能够提供卓越的模块化架构和高可靠性，且消除了弯曲效应。PCX 加长系列已通过严格的反向功率循环测试，符合最新的 PCR 行业标准要求。





由于在高温下会发生弯曲效应，细长型零部件的制造极具挑战性。我们的 PowerCycling PCX 加长型系列可提供卓越的模块化架构，消除了这种效应的影响。

结论

PCR 应用需要数量巨大的热循环来创建数百万条 DNA 测序链以供分析。由于加热和冷却阶段产生的机械应力，对于标准热电冷却器来说，这是一个极其恶劣的应用环境。莱尔德热系统开发的新型 PowerCycling PCX 系列采用具备专有热电模块架构的下一代热电材料，能够吸收机械应力，并延长热电冷却器的使用寿命。这已经在基于最新 PCR 资质标准的严格循环测试中得到验证。

PCX 系列有多种几何尺寸，能够为 PCR 温度区或托盘设计提供非常高的灵活性。与其他类型的热循环装置相比，这种紧凑型热电冷却器具有明显优势，其中包括更精确的温度控制、更快速的升温速率和更高的效率，这些性能优势能够显著改善测试结果，并加快 PCR 测试进程。

欲了解有关 PowerCycling PCX 系列的更多信息，或阅读相关的测试协议，请访问：lairdthermal.com。

欲为您的 PCR 应用查找最佳的热电冷却器，请采用[热管理大师 PCR 计算器 \(Thermal Wizard PCR Calculator\)](#)。

关于莱尔德热系统

莱尔德热系统为全球医疗、工业、运输和电信市场的严苛应用开发热管理解决方案。我们能够制造行业中最多样化的产品组合，这些包括从主动热电冷却器和组件，到温度控制器和液体冷却系统。我们的工程师能够使用先进的热建模和热管理技术来解决复杂的热管理和温度控制问题。通过提供广泛的设计、原型制作和内部测试能力，我们可以在整个产品生命周期中与客户密切合作，以降低风险并加快他们的产品上市速度。我们的全球制造和支持资源可帮助客户最大限度地提高生产力、正常运行时间、性能和产品质量。莱尔德热系统是标准或定制热管理解决方案的最佳选择。访问：www.lairdthermal.com 以了解更多信息。

联系莱尔德热系统

如果您有任何问题，或者需要关于莱尔德热系统的进一步信息，请通过网站与我们联系：

www.lairdthermal.com.

Modern-Thermoelectrics-Designed-for-Real-Time-PCR-Application-Note-CN-012522

Trademarks

© Copyright 2021 Laird Thermal Systems, Inc. All rights reserved. Laird™, the Laird Ring Logo, and Laird Thermal Systems™ are trademarks or registered trademarks of Laird Limited or its subsidiaries.