

REIVINDICACIONES

1. Un método, que comprende:

hacer fluir un reactivo de incorporación, a través de un sistema de gestión de reactivos y una celda de flujo de un instrumento, teniendo la celda de flujo un primer polinucleótido colocado en su interior, en el que el reactivo de incorporación añade una primera base a una secuencia de bases, comprendiendo la secuencia de bases un segundo polinucleótido complementario al primer polinucleótido;

capturar una imagen, de una señal de identificación procedente de la primera base, después de que la primera base se haya añadido al segundo polinucleótido;

hacer fluir un reactivo de escisión, a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo, para eliminar un primer terminador desde la primera base con el fin de permitir que una base posterior en la secuencia de bases se añada al segundo polinucleótido; y

hacer fluir un reactivo tampón, a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo en una pluralidad de ciclos de direcciones consecutivas de flujo hacia adelante y hacia atrás.

2. El método de la reivindicación 1, en el que la pluralidad

de ciclos comprende 4 o más ciclos.

3. El método de la reivindicación 1, en el que la pluralidad de ciclos comprende 12 o más ciclos.

4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo se colocan en un cartucho del instrumento, siendo el cartucho insertable de forma extraíble en el instrumento.

5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el reactivo de incorporación, el reactivo de escisión y el reactivo tampón se almacenan en pocillos de reactivo del sistema de gestión de reactivos, los pocillos de reactivo operables para almacenar un volumen total finito de cada reactivo.

6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el flujo del reactivo tampón comprende:

hacer fluir un primer volumen de flujo hacia adelante del reactivo tampón en la dirección del flujo hacia adelante de cada ciclo de la pluralidad de ciclos; y

hacer fluir un segundo volumen de flujo hacia atrás del reactivo tampón en la dirección de flujo hacia atrás de cada

ciclo de la pluralidad de ciclos, siendo el primer volumen de flujo hacia delante mayor que el segundo volumen de flujo hacia atrás.

7. El método de la reivindicación 6, en el que el volumen de flujo hacia delante es mayor que el volumen de flujo hacia atrás en aproximadamente un 3 % o más.

8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el flujo del reactivo tampón comprende:

un período de incubación sustancialmente sin flujo de reactivo tampón a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo durante aproximadamente 10 segundos o más después del último ciclo de la pluralidad de ciclos; y

hacer fluir un tercer volumen de flujo hacia delante del reactivo tampón en la dirección del flujo hacia delante después del período de incubación.

9. El método de la reivindicación 8, en el que el volumen de barrido total del reactivo tampón, durante el flujo del reactivo tampón, está sustancialmente determinado por la fórmula $((1^{\text{er}} \text{ FFV} + 2^{\text{o}} \text{ RFV}) * N) + 3^{\text{er}} \text{ FFV}$, en la que:

$1^{\text{er}} \text{ FFV}$ es el primer volumen de flujo hacia delante,

El 2^{o} RFV es el segundo volumen de flujo hacia atrás,

N es el número total de ciclos en la pluralidad de ciclos,
y

El 3^{er} FFV es el tercer volumen de flujo hacia delante.

10. El método de la reivindicación 9, en el que el consumo de fluido total del reactivo tampón, durante el flujo del reactivo tampón, está sustancialmente determinado por la fórmula $((1^{\text{er}} \text{ FFV} + 2^{\text{o}} \text{ RFV}) * N) + 3^{\text{er}} \text{ FFV}$.

11. El método de la reivindicación 10, en el que la relación entre el volumen de barrido total del reactivo tampón y el consumo de fluido total del reactivo tampón es igual o superior a aproximadamente 6.

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el flujo en la dirección del flujo hacia adelante y el flujo en la dirección del flujo hacia atrás están separados por un tiempo de retardo de aproximadamente 1 segundo o menos para cada ciclo de la pluralidad de ciclos de direcciones de flujo hacia adelante y hacia atrás.

13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el flujo en la dirección del flujo hacia adelante y el flujo en la dirección del flujo hacia atrás está separado por

un tiempo de retardo de aproximadamente 200 milisegundos o menos para cada ciclo de la pluralidad de ciclos de direcciones de flujo hacia adelante y hacia atrás.

14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que cada ciclo de la pluralidad de ciclos de direcciones de flujo hacia adelante y hacia atrás está separado por un tiempo de retardo de aproximadamente 200 milisegundos o menos.

15. Un instrumento que comprende:

un sistema de gestión de reactivos, colocado en el instrumento, comprendiendo el sistema de gestión de reactivos una pluralidad de pocillos de reactivos, teniendo los pocillos de reactivo al menos un primer, un segundo y un tercer reactivo bien operables para contener un reactivo de incorporación, un reactivo de escisión y un reactivo tampón colocados respectivamente en el mismo, el sistema de gestión de reactivos para seleccionar un flujo de reactivo de uno de la pluralidad de pocillos de reactivo; y

una celda de flujo, colocado en el instrumento, comprendiendo la celda de flujo un canal de flujo en comunicación fluida con el sistema de gestión de reactivos, el canal de flujo para dirigir el flujo de reactivo sobre un primer polinucleótido posicionado en el canal de flujo;

en el que el instrumento es operable para:

hacer fluir el reactivo de incorporación, a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo, para añadir una primera base a una secuencia de bases, comprendiendo la secuencia de bases un segundo polinucleótido complementario al primer polinucleótido;

capturar una imagen, de una señal de identificación procedente de la primera base, después de que la primera base se haya añadido al segundo polinucleótido;

hacer fluir el reactivo de escisión, a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo, para eliminar un primer terminador desde la primera base con el fin de permitir que una base posterior en la secuencia de bases se añada al segundo polinucleótido; y

hacer fluir el reactivo tampón, a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo en una pluralidad de ciclos de direcciones consecutivas de flujo hacia adelante y hacia atrás.

16. El instrumento de la reivindicación 15, en el que, el instrumento es operable para hacer fluir el reactivo tampón a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo en una pluralidad de 4 o más ciclos de direcciones de flujo consecutivas hacia adelante y hacia atrás.

17. El instrumento de la reivindicación 15, en el que, el instrumento es operable para hacer fluir el reactivo tampón a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo en una pluralidad de 12 o más ciclos de direcciones de flujo consecutivas hacia adelante y hacia atrás.

18. El instrumento de cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en el que el instrumento es operable para hacer fluir el reactivo tampón de manera que el flujo en una dirección de flujo hacia adelante y el flujo en una dirección de flujo hacia atrás esté separado por un tiempo de retardo de aproximadamente 200 milisegundos o menos para cada ciclo de la pluralidad de ciclos de las direcciones de flujo hacia adelante y hacia atrás.

19. El instrumento de cualquiera de las reivindicaciones 15-18, en el que el sistema de gestión de reactivos se puede insertar de forma extraíble en el instrumento.

20. El instrumento de cualquiera de las reivindicaciones 15-19, en el que la celda de flujo se puede insertar de forma extraíble en el instrumento.

21. El instrumento de las reivindicaciones 15-20, que comprende:

un cartucho para contener el sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo;

en el que el reactivo de incorporación, el reactivo de escisión y el reactivo tampón se almacenan en pocillos de reactivo del sistema de gestión de reactivos, en el que los pocillos de reactivo almacenan un volumen total finito de cada reactivo.

22. El instrumento de la reivindicación 21, en el que el cartucho se puede insertar de forma extraíble en el instrumento.

23. El instrumento de cualquiera de las reivindicaciones 15-22, en el que el instrumento es operable para hacer fluir el reactivo tampón de manera que:

se hace fluir un primer volumen del reactivo tampón en la dirección del flujo hacia delante de cada ciclo de la pluralidad de ciclos;

se hace fluir un segundo volumen del reactivo tampón en la dirección de flujo hacia atrás de cada ciclo de la pluralidad de ciclos, siendo el primer volumen mayor que el segundo volumen.

24. El instrumento de la reivindicación 23, en el que el

volumen de flujo hacia delante es mayor que el volumen de flujo hacia atrás en aproximadamente un 3 % o más.

25. El instrumento de cualquiera de las reivindicaciones 23 o 24, en el que el instrumento es operable para hacer fluir el reactivo tampón de manera que:

se impone un período de incubación de sustancialmente ningún flujo del reactivo tampón a través del sistema de gestión de reactivos y la celda de flujo durante aproximadamente 10 segundos o más después del último ciclo de la pluralidad de ciclos; y

se hace fluir un tercer volumen de flujo hacia adelante del reactivo tampón fluye en la dirección del flujo hacia adelante después del período de incubación.

26. El instrumento de la reivindicación 25, en el que, el instrumento es operable para hacer fluir el reactivo tampón de manera que:

un volumen de barrido total del reactivo tampón se determina sustancialmente mediante la fórmula $((1^{\text{er}} \text{ FFV} + 2^{\circ} \text{ RFV}) * N) + 3^{\text{er}} \text{ FFV}$, en el que:

$1^{\text{er}} \text{ FFV}$ es el primer volumen de flujo hacia delante,
El 2° RFV es el segundo volumen de flujo hacia atrás,
N es el número total de ciclos en la pluralidad de

ciclos, y

el 3^{er} FFV es el tercer volumen de flujo hacia adelante;

un consumo de fluido total del reactivo tampón se determina sustancialmente mediante la fórmula $((1^{\text{er}} \text{ FFV} - 2^{\circ} \text{ RFV}) * N) + 3^{\text{er}} \text{ FFV}$; y

en el que la relación entre el volumen de barrido total del reactivo tampón y el consumo de fluido total del reactivo tampón es igual o superior a aproximadamente 6.