

(19)



(11)

EP 2 951 277 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung:
14.04.2021 Patentblatt 2021/15

(51) Int Cl.:
C12M 1/00 ^(2006.01) **B01L 3/00** ^(2006.01)
G01N 1/38 ^(2006.01)

(21) Anmeldenummer: **13814576.8**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP2013/078086

(22) Anmeldetag: **27.12.2013**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 2014/117908 (07.08.2014 Gazette 2014/32)

(54) **VERFAHREN ZUR EXTRAKTION VON TROCKEN VORGELAGERTER KÖRPERFLÜSSIGKEIT IN EINER PROBE**

METHOD FOR EXTRACTING DRIED, PRE-STORED BODILY FLUID IN A SAMPLE

PROCÉDÉ D'EXTRACTION DE LIQUIDES ORGANIQUES PRÉSTOCKÉS À SEC DANS UN PRÉLÈVEMENT

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR

(72) Erfinder:
• **HOEHL, Melanie**
71254 Ditzingen (DE)
• **DAUB, Martina**
71287 Weissach (DE)
• **STEIGERT, Juergen**
70176 Stuttgart (DE)

(30) Priorität: **30.01.2013 DE 102013201505**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
09.12.2015 Patentblatt 2015/50

(56) Entgegenhaltungen:
EP-A2- 2 532 428 **WO-A1-2011/137533**
WO-A1-2012/149314 **DE-A1-102008 042 581**

(73) Patentinhaber: **Robert Bosch GmbH**
70442 Stuttgart (DE)

EP 2 951 277 B1

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt kann jedermann nach Maßgabe der Ausführungsordnung beim Europäischen Patentamt gegen dieses Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

Beschreibung

Stand der Technik

[0001] Die Durchführung biochemischer Prozesse basiert auf der Handhabung von Flüssigkeiten. Typischerweise wird diese Handhabung manuell mit Hilfsmitteln wie Pipetten, Reaktionsgefäßen, aktiven Sondenoberflächen oder Laborgeräten durchgeführt. Durch Pippetierröbter oder Spezialgeräte sind diese Prozesse zum Teil bereits automatisiert.

[0002] Sogenannte Lab-on-a-Chip-Systeme (Westentaschenlabor oder Chiplabor, kurz LoC-Systeme) sind mikrofluidische Systeme, welche die gesamte Funktionalität eines makroskopischen Labors auf einem nur scheckkartengroßen Kunststoffsubstrat unterbringen. Lab-on-a-Chip-Systeme bestehen typischerweise aus zwei Hauptkomponenten. Ein Testträger oder eine Einwegkartusche beinhaltet Strukturen und Mechanismen für die Umsetzung der fluidischen Grundoperationen (z.B. Mischer), welche aus passiven Komponenten wie Kanälen, Reaktionskammer, vorgelagerte Reagenzien oder auch aktiven Komponenten wie Ventile oder Pumpen bestehen können. Die zweite Hauptkomponente sind Aktuations-, Detektions- und Steuereinheiten.

[0003] Eines der zur Diagnose des Gesundheitszustandes einer Person verwendeten primären Mittel ist die Analyse des Blutes oder anderer Körperflüssigkeiten der Person auf die An- oder Abwesenheit von "Analyten", die auf die Gesundheit der Person schließen lassen. Bestimmte Körperflüssigkeiten, wie zum Beispiel Urin, Speichel, Samen u. a. können nichtinvasiv gewonnen werden, und die Analyse derartiger Flüssigkeiten kann Informationen über den Gesundheitszustand einer Person bereitstellen. Die Körperflüssigkeit, die in der Regel jedoch das vollständigste Bild von der Gesundheit einer Person liefert, ist das Vollblut.

[0004] Um die genaueste Analyse des Blutes zu erhalten, ist es wichtig, die Analyte von der zellulären Fraktion des Blutes verhältnismäßig schnell nach der Probenentnahme zu trennen. Zentrifugation und anschließende Kühlung von Proben ist in den meisten Fällen zur Erhaltung der Integrität einer Blutprobe oder anderen Körperflüssigkeit für eine ausreichende Zeitdauer ausreichend. Das Verfahren ist jedoch umständlich und teuer, weil es erforderlich macht, dass das Blut oder eine andere Probe entweder an einem Ort gesammelt wird, welcher die gesamte vorschriftsmäßige Ausrüstung besitzt, oder dass die Probe gekühlt und in ein separates Laboratorium zur weiteren Verarbeitung versandt wird. Es ist auch ein erheblicher Zeitaufwand erforderlich, um die Analysenergebnisse zu erhalten. Zeit kann jedoch für das Leben oder die Gesundheit des Patienten kritisch sein.

[0005] Seit den frühen sechziger Jahren werden sogenannte Dried Blood Spots (DBS) verwendet, insbesondere zur Diagnostik von Stoffwechselerkrankungen bei Neugeborenen. Dazu werden einige Tropfen kapillares Blut auf einfaches Filterpapier aufgebracht. Der Ge-

brauch von DBS hat einige Vorteile gegenüber der klassischen Vollblute-/Plasmaprobe, die zurzeit noch die verbreitetste Probenart darstellt. Einer der größten Vorteile stellt die Möglichkeit der Lagerung der DBS bei Raumtemperatur dar, welches den Transport vom Patienten zum analytischen Labor vereinfacht und kostengünstiger macht. Ein weiterer Vorteil ist das geringe benötigte Probenvolumen von 10 bis 30 µl Blut für DBS im Vergleich zu 100 bis 500 µl für die Plasmaproben. Dieser Vorteil spielt vor allem eine Rolle, wenn Kinder oder kleine Tiere, wie zum Beispiel Nagetiere, beprobt werden sollen.

[0006] Momentan gibt es kaum mikrofluide Systeme, die Analytik oder Diagnostik mit Trockenblut (DBS) durchführen können. Ein Grund dafür ist, dass die Extraktion des Trockenblutes in eine für die Diagnostik akzeptable Form (meist flüssig) aus Filtermaterial aufwendig sein kann. Es kann auch schwierig sein, die aufgelöste, wässrige Probe von dem festen Filtermaterial zu separieren. Sobald der Analyt gelöst ist, ist manchmal ein weiterer Aufreinigungsschritt nötig. All diese Schritte benötigen viele Wegwerfteile (z.B. Pipettenspitzen, MTP, Plastikgefäße) und Prozessschritte, die oft mehrere verschiedene Geräte in Anspruch nehmen.

[0007] Die WO 2011/137533 A1 offenbart ein Verfahren für die Herstellung einer Probe unter Verwendung eines digitalen Mikrofluid-Arrays und die optionale anschließende Massenanalyse eines extrahierten Analyten. Ein innerhalb einer getrockneten Probe vorhandener Analyt wird in einer Extraktionslösung durch ein elektrisches Ansprechen des digitalen Mikrofluid-Arrays extrahiert, indem ein Tröpfchen der Extraktionslösung auf die getrocknete Probe transportiert wird.

[0008] DE 10 2008 042581 A1 zeigt eine mikrofluidische Anordnung zum Gewinnen und gegebenenfalls Bearbeiten eines Extraktes aus einer Probe und zum Überführen desselben in fließfähiger Form in einen mikrofluidischen Chip mit einem Extraktor, der eine komprimierbare Extraktionskammer und mindestens eine Öffnung derselben aufweist, einem Reaktor, der eine Reaktionskammer, eine mit der mindestens einen Öffnung des Extraktors kommunizierende Eintrittsöffnung, wobei die beiden Öffnungen einen Fließweg zwischen den Kammern definieren, eine Austrittsöffnung zur fluidischen Verbindung mit dem mikrofluidischen Chip und eine Entlüftungsöffnung der Reaktionskammer aufweist, und einer in den Fließweg zwischen dem Extraktor und dem Reaktor geschalteten Filteranordnung.

Vorteile der Erfindung

[0009] Das in dem Anspruch 1 definierte Verfahren weist gegenüber herkömmlichen Lösungen den Vorteil auf, dass es nunmehr möglich ist, trocken vorgelagerte Proben (wie beispielsweise DBS Proben) für beliebige trocken vorgelagerte Körperflüssigkeiten in einem mikrofluidischen System mittels eines LoC-Systems auf einfache Art und Weise zu extrahieren und gegebenenfalls nachfolgend weiteren Analysen durchzuführen, wodurch

eine wesentliche Ausweitung der Anwendungen für trocken vorgelagerte Proben realisierbar ist. Dadurch ergibt sich wie oben stehend beschrieben auch eine wesentliche Vereinfachung im Hinblick auf die Handhabung von den entnommenen Proben, da diese nicht mehr gekühlt werden müssen und zusätzlich länger haltbar sind, als es zum Beispiel im Fall von Vollblut oder anderer Körperflüssigkeiten möglich ist.

[0010] Schließlich sind generell bei der Verwendung von trocken vorgelagerten Körperflüssigkeiten in einer Probe kleinere Probevolumen für eine Analyse ausreichend, so dass die Methode vor allem auch für Säuglinge oder kleine Tiere in Frage kommt oder auch bei wiederholter Entnahme von Proben für den Patienten schonender ist. Deshalb können mit einer beispielhaften Vorrichtung in vorteilhafter Weise trocken vorgelagerte Körperflüssigkeiten in einer Probe untersucht werden, welche auf weniger invasive und patientenfreundlichere Weise gewonnen werden.

[0011] Die beispielhafte Vorrichtung eignet sich besonders vorteilhaft für die Extraktion von trocken vorgelagerten Körperflüssigkeiten aller Art aus einer Probe, wie zum Beispiel Urin, Sputum, Lavage, Speichel, Ejakulat/Sperma, Perikardialflüssigkeit, Pleuraflüssigkeit, Abdominalflüssigkeit, Peritonealdialysat (CAPD), Drainageflüssigkeit, Bronchoalveolarspülung (BALF), Zerebrospinalflüssigkeit, Magensaft, Schweiß, Lymphe, Galle, Pankreas Sekretionen, Blut, Muttermilch, Vaginalsekret der Frau, Tränenflüssigkeit, Nasensekret, Hirnwasser, Aszites, Pleuraflüssigkeit, Fruchtwasser, Ohrenschmalz, Eiter, Synovia, Menstruationsflüssigkeit, Kammerwasser des Auges etc.

[0012] Mögliche Anwendungen für das Verfahren zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit in einer Probe beinhalten beispielsweise:

Metabolische Krankheitsdiagnostik, Therapiebegleitung und Screening bei Säuglingen, Kindern und Erwachsenen, sowie Tieren und anderen Lebewesen,

Infektionsdiagnostik und Therapiebegleitung und Screening (zum Beispiel HIV, HPV, STD, Hepatitis etc.)

Blutzucker

Screening, Diagnostik und Therapiebegleitung von Erbkrankheiten (zum Beispiel Sichelzellen-Anämie, Autoimmunerkrankungen, wie Morbus Crohn, Diabetes, Lupus, etc.) Begleitende Untersuchungen bei klinischen Studien (bspw. in Phasen II/III)

Veterinär-Anwendungen

[0013] Gemäß eines Beispiels zum besseren Verständnis der Erfindung erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels Inkubation in einer Elutionslösung. Dieses Extraktionsverfahren realisiert ein Einweichen des Trägermaterials zusammen mit der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit der Probe, solange bis sich die Analyten vom

Trägermaterial gelöst haben. Dabei kann das Einweichen auch bei erhöhten Temperaturen erfolgen. Für die Elutionslösung kommen verschiedene wasser-basierte oder organische Lösungen in Frage. Beispielsweise zählen dazu Alkohole (insbesondere Ethanol, Butanol, Isopropanol, Methanol, etc), Pufferlösungen mit Wasser (zum Beispiel PBS, Tween, HEPES und Natrium Azide), sowie organische Stoffe (zum Beispiel organische Säuren oder Basen etc), proteinhaltige Lösungen (zum Beispiel Milch, BSA, Calcein), anorganische Lösungen (zum Beispiel Säuren und Basen), Detergenzien und Salze.

[0014] Erfindungsgemäß erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels einer Pumpfunktion einer Elutionslösung durch die Probe über eine vorbestimmte Zeit. Dabei kann die Extraktion mittels einer Pumpfunktion erfolgen, indem die Elutionslösung für die vorbestimmte Zeit durch die Probe, insbesondere dem Trägermaterial der Probe, hin- und hergepumpt wird. Eine Optimierung der Effizienz des erfindungsgemäßen Extraktionsverfahrens ist mit einer **[0015]** Steuerung von Temperatur und/oder Druck während des Extrahierens möglich. Für die Elutionslösung kommen die vorstehend erwähnten Lösungen in Frage.

[0016] Gemäß eines Beispiels zum besseren Verständnis der Erfindung erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels Ultraschall. Hierbei sollte Ultraschall mit einer Frequenz verwendet werden, welche sowohl zur Extraktion der Körperflüssigkeit von dem Trägermaterial führt als auch eine Beschädigung oder Veränderung der Körperflüssigkeit während der Extraktion ausschließt. Hierzu sollten vorzugsweise Frequenzen in einem Bereich von 20 kHz bis 50 MHz verwendet werden. Die Leistungsdichte sollte vorzugsweise weniger als 1 W/cm² betragen.

[0017] Gemäß eines Beispiels zum besseren Verständnis der Erfindung erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels enzymatischen Verdauens des Trägermaterials durch Enzyme. Wenn die Probe ein auflösbares, abbaubares oder enzymatisch-verdaubares Trägermaterial aufweist, dann kann die Extraktion der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit von dem Trägermaterial durch ein spezifisches, enzymatisches Verdauen des Trägermaterials durch Enzyme erfolgen. Als Beispiel für solche Enzyme können Proteasen, Proteinasen oder proteolytische Enzyme genannt werden, wie sie für die Spaltung von, zum Beispiel Proteinen oder Peptiden, in biologischen bzw. bio-chemischen Prozessen verwendet werden.

[0018] Gemäß einer weiteren Ausgestaltung des Verfahrens ist die Probe horizontal, vertikal oder gegenüber der Vorrichtung geneigt auf dem Aufnahmebereich platziert. In Abhängigkeit von der vorgesehenen Anwendungsumgebung der Vorrichtung kann eine unterschiedlich orientierte Aufnahme der Probe auf der Vorrichtung erforderlich sein. Alternativ dazu kann auch der Aufnahme-

bereich schwenkbar gegenüber dem Lab On Chip-System ausgebildet sein, wobei der Aufnahmebereich hierzu beispielsweise einen Träger aufweist, welcher schwenkbar mit dem Lab On Chip-System gekoppelt ist und für die Aufnahme der Probe dient.

[0019] Gemäß einer weiteren Ausgestaltung des Verfahrens ist des Weiteren ein Filter oder eine Aufreinigungsvorrichtung für die aus der Probe extrahierte Körperflüssigkeit vorgesehen. So kann im Hinblick auf die Aufreinigungsvorrichtung, beispielsweise im Abgabebereich des Lab On Chip-Systems, in Wirkverbindung mit einem mikrofluidischen Kanal, welcher den Aufnahmebereich mit dem Abgabebereich verbindet, eine DNA-Aufreinigung, eine Proteinaufreinigung, ein Ionenaustauscher, eine Antikörper-basierende Aufreinigung von Blutkomponenten etc. vorgesehen sein.

[0020] Gemäß einer weiteren Ausgestaltung des Verfahrens ist das Trägermaterial der Probe aus einem abbaubaren oder auflösbaren Material, aus einem Filtermaterial oder besteht aus einem Polymer. Im Fall eines abbaubaren Materials ist vorzugsweise ein enzymatisch-verdaubares Material vorgesehen, wie zum Beispiel Zellose. Im Fall eines auflösbaren Materials ist vorzugsweise ein flüssigkeits-lösliches Material vorgesehen, wie zum Beispiel Gelatine. Im Hinblick auf die Verwendung von Filtermaterialien können Oberflächenfilter oder Gewebefilter eingesetzt werden, welche beispielsweise PVDF, Silikamatrix, Filze, Spinnvliese, Papier, Gewebe, Kunstfasern (insbesondere aus Polyester, Polyphenylensulfid, Polytetrafluorethylen etc.), keramische Fasern/Sinterkörper, Glasfasern, Metalle umfassen, sowie andere Materialien, welche zur Verwendung als ein Filter geeignet sind.

[0021] Gemäß einer weiteren Ausgestaltung des Verfahrens besteht das Trägermaterial der Probe aus Glas als Fasern oder aus Glaskügelchen. Die Glaskügelchen (oder beads) können jeweils mit einer glatten, rauen oder strukturierten Oberfläche versehen sein, wobei auch Gemische von unterschiedlich gestalteten Glaskügelchen für eine Probe möglich sind. Prinzipiell können die unterschiedlichen Trägermaterialien auch chemisch und/oder physikalisch bearbeitet sein, um somit eine gewünschte Eigenschaft zur Verfügung stellen zu können.

[0022] Eine beispielhafte, nicht beanspruchte Kartusche umfasst eine Vorrichtung zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit in einer Probe, ein Gehäuse der Kartusche, eine Trommel, welche zumindest eine Kammer aufweist, wobei die Vorrichtung im Inneren der Trommel angeordnet ist.

[0023] Hieraus ergibt sich der Vorteil, dass bei der Kartusche die Nutzung mehrerer, zum Teil kostenintensiver Geräte für die Aufbereitung von trocken vorgelagerten Körperflüssigkeiten in einer Probe nicht mehr notwendig ist, da sämtliche Prozessschritte nunmehr im LoC System stattfinden, welches in der Anschaffung wesentlich preisgünstiger ist. Des Weiteren können in der Kartusche weitere Schritte für das Aufbereiten der extrahierten Körperflüssigkeit aus der Probe realisiert werden, so dass

für eine nachfolgende Analyse die aufbereitete Körperflüssigkeit bereitgestellt werden kann.

[0024] Gemäß dem Patentanspruch 1 wird ein Verfahren zum Extrahieren einer trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus einer Probe beansprucht.

[0025] Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren entfallen in vorteilhafter Weise des Weiteren die bislang erforderlichen Pipettierschritte für die Extraktion der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit in einer Probe durch die automatisierte Prozessierung im LoC-System, wodurch die Handhabung für das Bedienpersonal wesentlich vereinfacht wird und somit die Kosten für eine Aufbereitung der Probe mittels Extraktion verringert werden können.

[0026] Gemäß eines nicht beanspruchten Verfahrens erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels Inkubation in einer Elutionslösung. Dieses Extraktionsverfahren realisiert ein Einweichen des Trägermaterials zusammen mit der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit der Probe, solange bis sich die Analyten vom Trägermaterial gelöst haben. Dabei kann das Einweichen auch bei erhöhten Temperaturen erfolgen. Für die Elutionslösung kommen die vorstehend beschriebenen wasser-basierten oder organischen Lösungen in Frage.

[0027] Erfindungsgemäß erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels einer Pumpfunktion einer Elutionslösung durch die Probe über eine vorbestimmte Zeit. Dabei kann die Extraktion mittels einer Pumpfunktion erfolgen, indem die Elutionslösung für die vorbestimmte Zeit durch die Probe, insbesondere dem Trägermaterial der Probe, hin- und hergepumpt wird. Eine Optimierung der Effizienz des erfindungsgemäßen Extraktionsverfahrens ist mit einer Steuerung von Temperatur und/oder Druck während des Extrahierens möglich.

[0028] Gemäß eines Beispiels zum besseren Verständnis der Erfindung erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels Ultraschall. Hierbei sollte Ultraschall mit einer Frequenz verwendet werden, welche sowohl zur Extraktion der Körperflüssigkeit von dem Trägermaterial führt als auch eine Beschädigung oder Veränderung der Körperflüssigkeit während der Extraktion ausschließt.

[0029] Gemäß eines Beispiels zum besseren Verständnis der Erfindung erfolgt das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe mittels enzymatischen Verdauens des Trägermaterials durch Enzyme. Wenn die Probe ein auflösbares, abbaubares oder enzymatisch-verdaubares Trägermaterial aufweist, dann kann die Extraktion der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit von dem Trägermaterial durch ein spezifisches, enzymatisches Verdauen des Trägermaterials durch Enzyme erfolgen.

55 Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0030] Die vorliegende Erfindung wird anhand der beiliegenden Zeichnungen erklärt. Es zeigt dabei

Fig. 1: eine schematische perspektivische Ansicht einer beispielhaften Vorrichtung zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit in einer Probe,

Fig. 2: eine schematische perspektivische Ansicht der Vorrichtung gemäß Fig. 1, wobei die Probe in einem Aufnahmebereich der Vorrichtung platziert ist,

Figs. 3A bis 3C: eine schematische Ansicht von Extraktionsverfahren zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit aus einer Probe.

Fig. 4: eine schematische Ansicht eines weiteren Extraktionsverfahrens für eine trocken vorgelagerte Körperflüssigkeit in einer Probe.

Fig. 5: eine schematische Ansicht eines Bereichs einer beispielhaften Vorrichtung, welcher für die Aufreinigung einer extrahierten Körperflüssigkeit aus der Probe vorgesehen ist, und

Fig. 6: eine beispielhafte, nicht beanspruchte Kartusche mit einer beispielhaften Vorrichtung zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit in einer Probe.

Ausführungsformen der Erfindung

[0031] Fig. 1 zeigt in vereinfachter und schematischer Darstellung eine beispielhafte Vorrichtung 100 zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit (nicht dargestellt) in einer Probe 30. Die Vorrichtung 100 weist ein Lab On Chip-System 10 mit einem Aufnahmebereich 20 auf, welcher zur Aufnahme der Probe 30 mit der Körperflüssigkeit in trocken vorgelagerter Form in einem Trägermaterial (nicht dargestellt) vorgesehen ist. Des Weiteren weist das Lab On Chip-System 10 einen Abgabebereich 50 zur Abgabe der extrahierten Körperflüssigkeit aus der Probe 30 auf, welche mit dem Aufnahmebereich 20 über einen mikrofluidischen Kanal (nicht dargestellt) wirkverbunden ist. Die Extraktion der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe 30 erfolgt in dem Aufnahmebereich 20.

[0032] Im Folgenden wird beispielhaft die Verwendung eines DBS Pellets für die Probe 30 beschrieben. Es sind jedoch für den Einsatz in der vorliegenden Vorrichtung 100 beliebige Arten von Proben verwendbar, welche eine trocken vorgelagerte Körperflüssigkeit enthalten. Zum Extrahieren des Blutes aus dem Pellet 30 wird das Pellet 30 in das LoC-System 10 eingelegt, nämlich in den Aufnahmebereich 20. Das Pellet 30 kann dabei entweder horizontal, schräg oder vertikal in den Aufnahmebereich 20 eingelegt werden.

[0033] Fig. 2 zeigt eine schematische perspektivische Ansicht der Vorrichtung 100 gemäß Fig. 1, wobei das Pellet 30 in dem Aufnahmebereich 20 der Vorrichtung 100 platziert ist. Nach Platzieren des Pellet 30 in den Aufnahmebereich 20 wird die Blutprobe extrahiert. Die Extraktion kann auf unterschiedliche Arten stattfinden. Anschließend wird die extrahierte Blutprobe an dem Abgabebereich 50 der Vorrichtung 100 an die Umgebung

(nicht dargestellt) abgegeben, vorzugsweise mit Hilfe eines Schlauchs (nicht dargestellt).

[0034] Figs. 3A bis 3C zeigen eine schematische Ansicht von Extraktionsverfahren zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit aus einer Probe.

[0035] Fig. 3A zeigt ein erstes Verfahren für das Extrahieren einer trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit (nicht dargestellt) aus einer Probe 30. Dabei wird die Probe 30 mittels Inkubation in einer Elutionslösung vom Trägermaterial 40 der Probe 30 getrennt. Dieses Extraktionsverfahren realisiert ein Einweichen des Trägermaterials 40 zusammen mit der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit der Probe 30, solange bis sich die Analyten vom Trägermaterial 40 gelöst haben. Dabei kann das Einweichen auch bei erhöhten Temperaturen erfolgen. Für die Elutionslösung kommen verschiedene wasserbasierte oder organische Lösungen in Frage. Beispielsweise zählen dazu Alkohole (insbesondere Ethanol, Butanol, Isopropanol, Methanol, etc), Pufferlösungen mit Wasser (zum Beispiel PBS, Tween, HEPES und Sodium Azide), sowie organische Stoffe (zum Beispiel organische Säuren oder Basen etc), proteinhaltige Lösungen (zum Beispiel Milch, BSA, Calcein), anorganische Lösungen (zum Beispiel Säuren und Basen), Detergenzien und Salze.

[0036] Fig. 3B zeigt ein erfindungsgemäßes Verfahren für das Extrahieren einer trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit (nicht dargestellt) mittels einer Pumpfunktion. Hierbei wird eine Elutionslösung 60 für eine vorbestimmte Zeit durch eine Probe 30, insbesondere dem Trägermaterial 40 der Probe 30, hin- und hergepumpt. Eine Optimierung der Effizienz des erfindungsgemäßen Extraktionsverfahrens ist mit einer Steuerung von Temperatur und/oder Druck während des Extrahierens möglich.

[0037] Fig. 3C zeigt ein weiteres, nicht erfindungsgemäßes Verfahren für das Extrahieren einer trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit (nicht dargestellt) aus einer Probe 30 mittels Ultraschall. Hierbei sollte Ultraschall mit einer Frequenz verwendet werden, welche sowohl zur Extraktion der Körperflüssigkeit von dem Trägermaterial 40 der Probe 30 führt als auch eine Beschädigung oder Veränderung der Körperflüssigkeit während der Extraktion ausschließt. Es sollten vorzugsweise Frequenzen in einem Bereich von 20 kHz bis 50 MHz verwendet werden. Die Leistungsdichte sollte vorzugsweise weniger als 1 W/cm² betragen.

[0038] Fig. 4 zeigt eine schematische Ansicht eines vierten Extraktionsverfahrens für eine trocken vorgelagerte Körperflüssigkeit (nicht dargestellt) in einer Probe 30. Eine Blutprobe in der Form eines Pellet 30 wird auf einem enzymatischverdaubaren Cellulose-Trägermaterial 40 gelagert. Das Extrahieren der Blutprobe vom Trägermaterial 40 findet durch spezifisches, enzymatisches Verdauen des Trägermaterials 40 durch Enzyme 70 statt. Als Beispiel für solche Enzyme können Proteasen, Proteinasen oder proteolytische Enzyme genannt werden, wie sie für die Spaltung von, zum Beispiel Proteinen oder Peptiden, in biologischen bzw. bio-chemischen Prozes-

sen verwendet werden.

[0039] Fig. 5 zeigt eine schematische Ansicht eines Bereichs der beispielhaften Vorrichtung, welcher für eine Aufreinigung einer extrahierten Körperflüssigkeit aus einer Probe 30 vorgesehen ist. Zur Aufreinigung der Blutprobe ist flussabwärts in einem mikrofluiden Kanal 90 eine Filterfunktion 80 angeordnet. Zusätzlich kann auch eine Aufreinigungsfunktion (nicht dargestellt), wie zum Beispiel eine DNA-Aufreinigung, eine Proteinaufreinigung, ein Ionenaustauscher, eine Antikörper-basierende Aufreinigung von Blutkomponenten, etc. in dem mikrofluiden Kanal 90 vorgesehen sein.

[0040] Fig. 6 zeigt eine Kartusche 200 mit einer Vorrichtung (nicht dargestellt) zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit (nicht dargestellt) in einer Probe 30. Die Kartusche 200 umfasst ein Gehäuse 210, welches einen im Wesentlichen hohlylindrischen Hauptabschnitt aufweist, welcher sich im oberen Bereich der Kartusche 200 befindet. Die Kartusche 200 weist in ihrem Inneren drei Trommeln 220, 221, 222 auf, welche entlang der Rotationsachse 235 der Kartusche 200 übereinander und kongruent zueinander angeordnet sind. Jede Trommel 220, 221, 222 weist in ihrem Inneren wiederum mindestens zwei Kammern 230, 231 auf, welche für die Aufnahme von unterschiedlichen Reagentien sowie für einen oder mehrere Analyten (hier den DBS Pellet 30) vorgesehen sind. Während der Extraktion und Aufbereitung des DBS Pellets 30 werden die einzelnen Trommeln 220, 221, 222 durch die Einwirkung der Zentrifugalkraft mit Hilfe einer sogenannten ‚Kugelschreiber-Mechanik‘ (nicht dargestellt) entlang der Rotationsachse 235 der Kartusche 200 gedreht.

[0041] Die linke Seite von Fig. 6 zeigt eine mögliche Ausführungsform für eine Trommel 220, bei welcher der DBS Pellet 30 oder eine andere trocken-vorgelagerte Körperflüssigkeit von oben in die Trommel 220 einführt wird. Die rechte Seite von Fig. 6 zeigt eine weitere Ausführungsform für eine Trommel 220, bei welcher der DBS Pellet 30 seitlich durch eine Öffnung 240 in die Trommel 220 eingeführt wird. Die Vorrichtung für die Extraktion einer trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit im LoC-System kann sich dabei in einer Kammer 230 von einer der Trommeln 220, 221, 222 befinden.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Extrahieren einer trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus einer Probe, mit den Schritten:

- Bereitstellen einer Vorrichtung (100) zur Extraktion von trocken vorgelagerter Körperflüssigkeit, aufweisend ein Lab On Chip-System (10) mit einem Aufnahmebereich (20), welcher zur Aufnahme einer Probe (30) mit zumindest einer Körperflüssigkeit in trocken vorgelagerter Form in einem Trägermaterial (40) vorgesehen

ist, und mit einem Abgabebereich (50) zur Abgabe der extrahierten Körperflüssigkeit aus der Probe (30), wobei eine Extraktion der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe (30) in dem Aufnahmebereich (20) erfolgen kann,

- Bereitstellen einer Probe (30), welche zumindest eine trocken vorgelagerte Körperflüssigkeit in einem Trägermaterial (40) aufweist;
- Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe (30) in dem Aufnahmebereich (20); und
- Abgeben der aus der Probe (30) extrahierten Körperflüssigkeit in dem Abgabebereich (50) der Vorrichtung (100),

dadurch gekennzeichnet, dass

das Extrahieren der trocken vorgelagerten Körperflüssigkeit aus der Probe (30) durch ein Hin- und Herpumpen einer Elutionslösung durch das Trägermaterial der Probe (30) über eine vorbestimmte Zeit erfolgt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Probe (30) horizontal, vertikal oder gegenüber dem Lab On Chip-System (10) geneigt auf dem Aufnahmebereich (20) platziert wird.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** des Weiteren ein Filter (80) oder eine Aufreinigungsvorrichtung für die aus der Probe (30) extrahierte Körperflüssigkeit in der Vorrichtung (100) vorgesehen ist.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Trägermaterial (40) der Probe (30) aus einem abbaubaren oder auflösbaren Material, aus einem Filtermaterial ist oder aus einem Polymer besteht.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Trägermaterial (40) der Probe (30) aus Glas als Fasern oder aus Glaskügelchen besteht.

Claims

1. Method for extracting a dry pre-stored bodily fluid from a sample, comprising the steps of:

- making available a device (100) for extraction of dry pre-stored bodily fluid, said device (100) having a lab-on-a-chip system (10) with a receiving region (20), which is provided for receiving a sample (30) having at least one bodily fluid in a dry pre-stored form in a carrier material (40), and with a discharging region (50) for discharg-

ing the extracted bodily fluid from the sample (30), wherein an extraction of the dry pre-stored bodily fluid from the sample (30) can take place in the receiving region (20),

- making available a sample (30), which has at least one dry pre-stored bodily fluid in a carrier material (40);
- extracting the dry pre-stored bodily fluid from the sample (30) in the receiving region (20); and
- discharging the bodily fluid, extracted from the sample (30), in the discharging region (50) of the device (100),

characterized in that

the extracting of the dry pre-stored bodily fluid from the sample (30) is effected by pumping an elution solution to and fro through the carrier material of the sample (30) for a predetermined time.

2. Method according to Claim 1, **characterized in that** the sample (30) is placed on the receiving region (20) horizontally, vertically or at an inclination to the lab-on-a-chip system (10).
3. Method according to either of Claims 1 and 2, **characterized in that**, furthermore, a filter (80) or a purification device for the bodily fluid extracted from the sample (30) is provided in the device (100).
4. Method according to one of Claims 1 to 3, **characterized in that** the carrier material (40) of the sample (30) is made from a degradable or soluble material, from a filter material or from a polymer.
5. Method according to one of Claims 1 to 3, **characterized in that** the carrier material (40) of the sample (30) is made from glass in the form of fibres or from glass beads.

Revendications

1. Procédé d'extraction d'un fluide corporel pré-stocké à sec à partir d'un échantillon, comprenant les étapes suivantes :
 - la fourniture d'un dispositif (100) pour l'extraction de fluide corporel pré-stocké à sec, comprenant un système de laboratoire sur puce (10) muni d'une zone de réception (20), qui est prévue pour la réception d'un échantillon (30) muni d'au moins un fluide corporel sous forme pré-stockée à sec dans un matériau support (40), et muni d'une zone de déchargement (50) pour le déchargement du fluide corporel extrait à partir de l'échantillon (30), une extraction du fluide corporel pré-stocké à sec à partir de l'échantillon (30) pouvant avoir lieu dans la zone de réception

(20),

- la fourniture d'un échantillon (30), qui comprend au moins un fluide corporel pré-stocké à sec dans un matériau support (40) ;
- l'extraction du fluide corporel pré-stocké à sec à partir de l'échantillon (30) dans la zone de réception (20) ; et
- le déchargement du fluide corporel extrait à partir de l'échantillon (30) dans la zone de déchargement (50) du dispositif (100),

caractérisé en ce que

l'extraction du fluide corporel pré-stocké à sec à partir de l'échantillon (30) a lieu par un pompage en va-et-vient d'une solution d'éluion au travers du matériau support de l'échantillon (30) pendant un temps prédéterminé.

2. Procédé selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** l'échantillon (30) est placé horizontalement, verticalement ou incliné par rapport au système de laboratoire sur puce (10) sur la zone de réception (20) .
3. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, **caractérisé en ce qu'**un filtre (80) ou un dispositif de purification pour le fluide corporel extrait à partir de l'échantillon (30) est en outre prévu dans le dispositif (100).
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, **caractérisé en ce que** le matériau support (40) de l'échantillon (30) est en un matériau dégradable ou dissolvable, en un matériau filtrant ou est constitué d'un polymère.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, **caractérisé en ce que** le matériau support (40) de l'échantillon (30) est constitué de billes de verre ou de verre sous forme de fibres.

Fig. 1

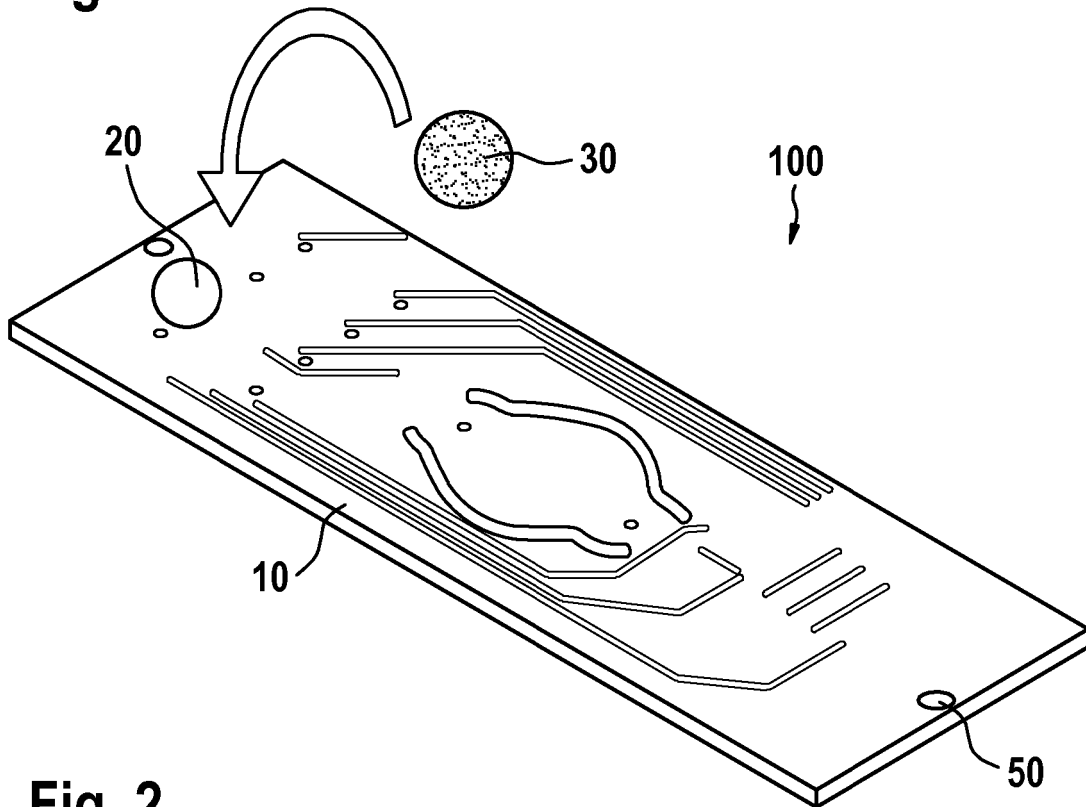


Fig. 2

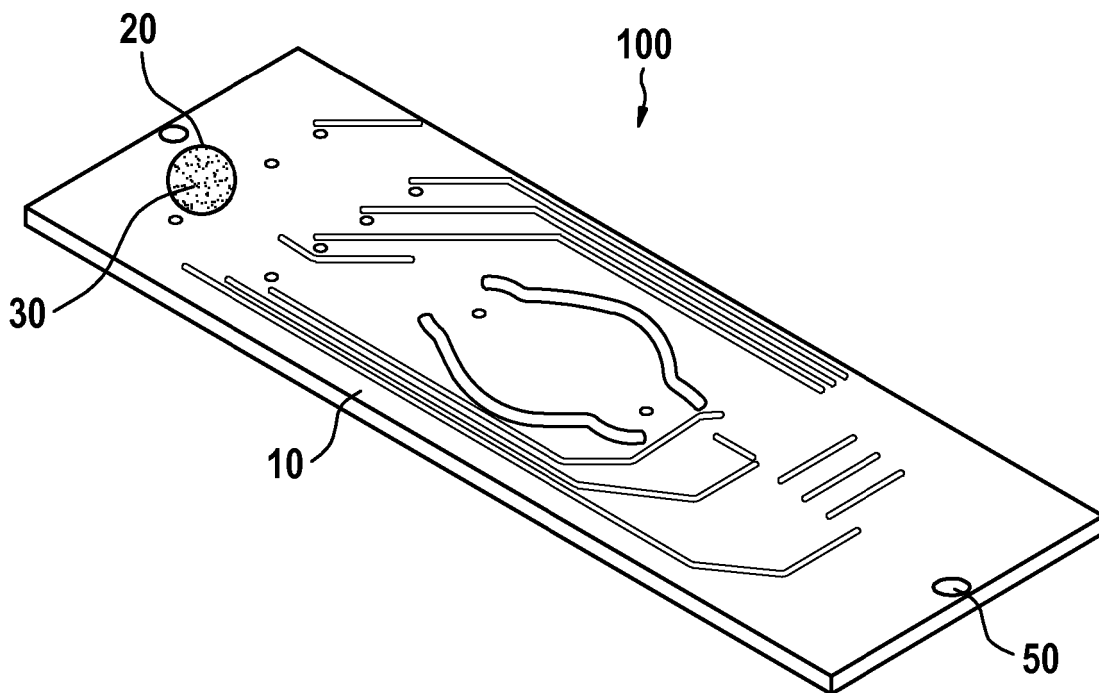


Fig. 3A

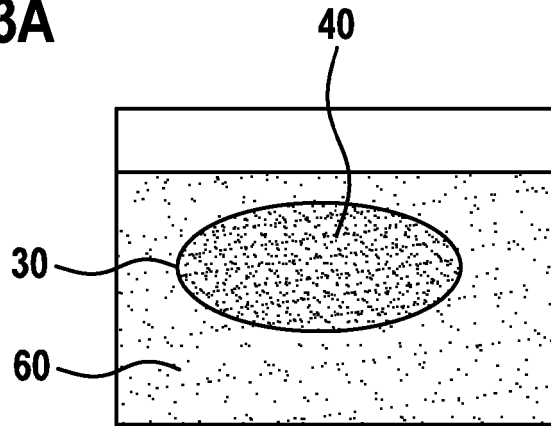


Fig. 3B

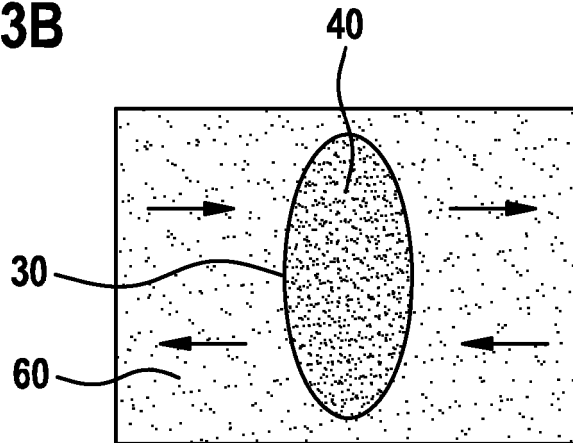


Fig. 3C

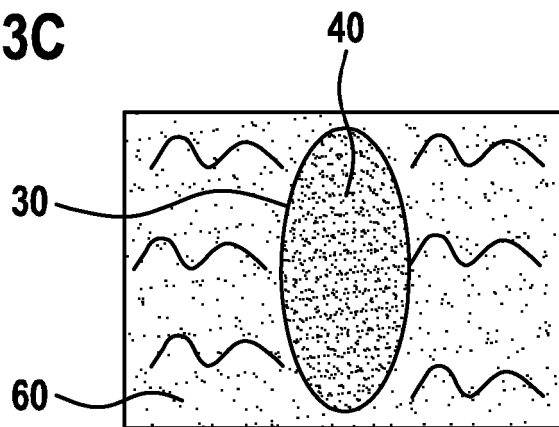


Fig. 4

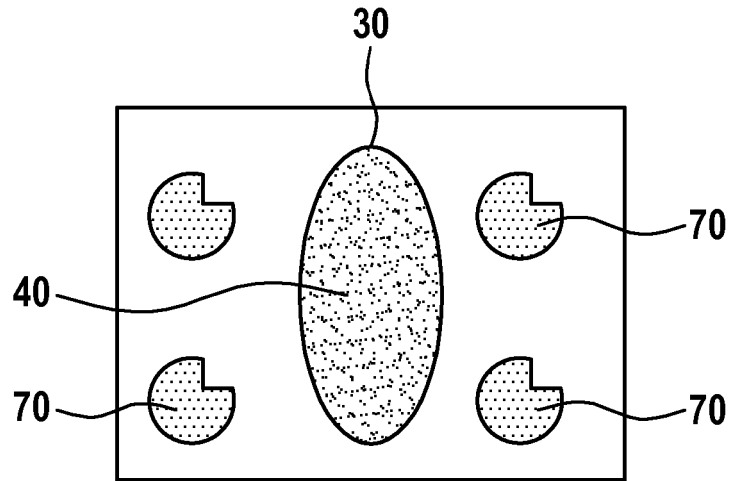


Fig. 5

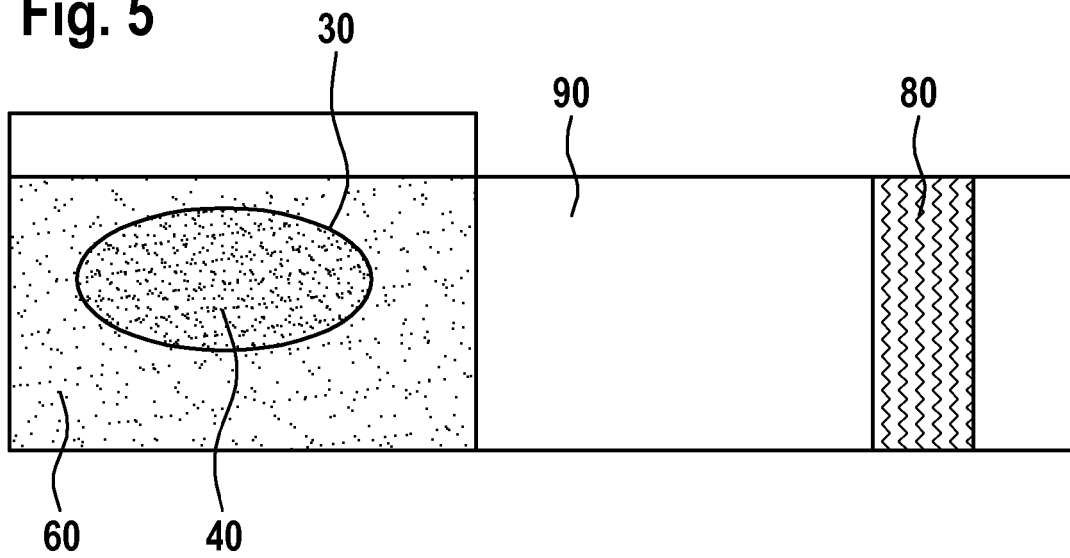
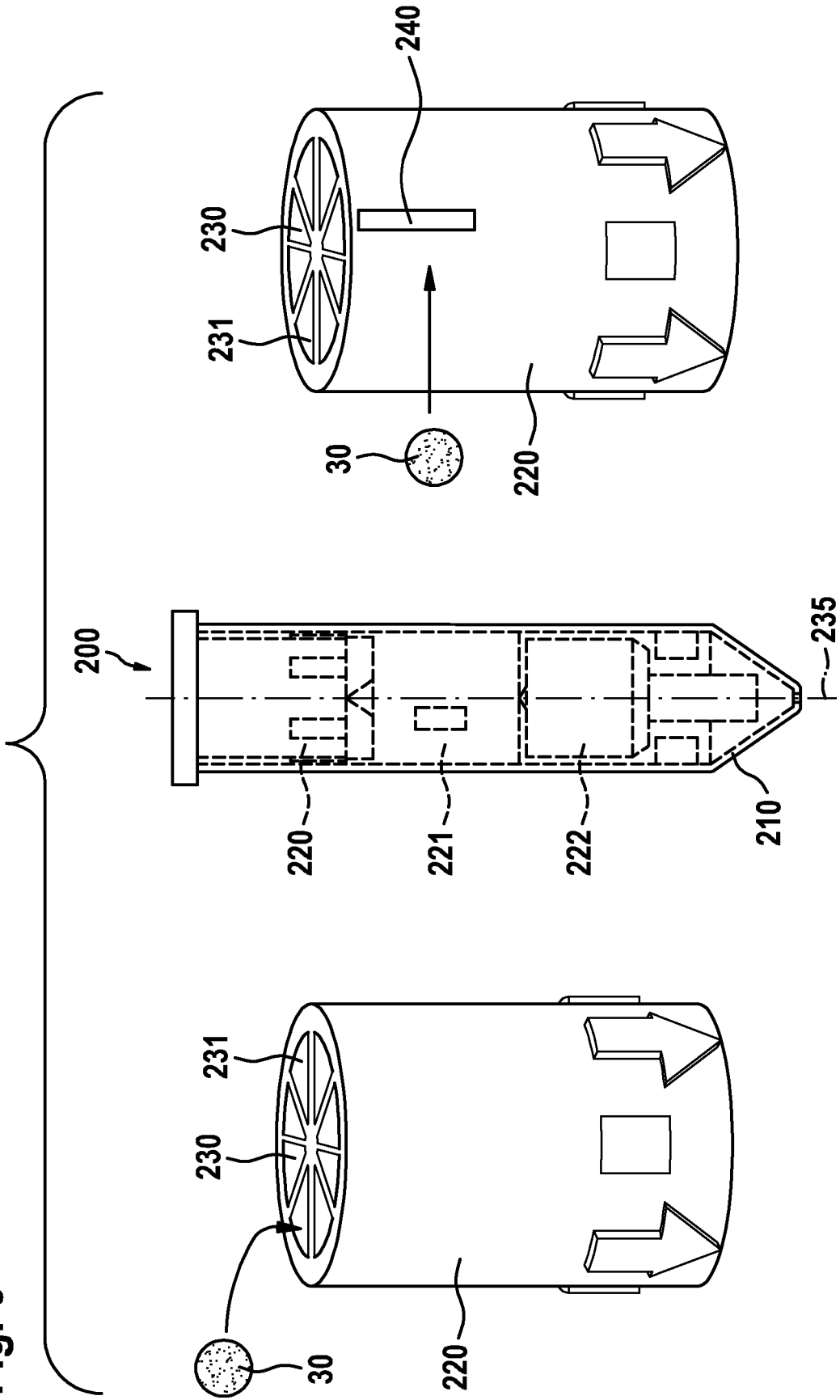


Fig. 6



IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- WO 2011137533 A1 [0007]
- DE 102008042581 A1 [0008]