(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 00 865 T2** 2006.05.11

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 480 738 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 00 865.8**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/NL03/00144**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 708 728.5**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 03/072240**
(86) PCT-Anmeldetag: **25.02.2003**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **04.09.2003**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **01.12.2004**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **15.06.2005**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **11.05.2006**

(51) Int Cl.[8]: ***B01J 19/00*** (2006.01)

(30) Unionspriorität:
1020066 **26.02.2002** **NL**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK

(73) Patentinhaber:
Flexgen Technologies B.V., Leiden, NL

(74) Vertreter:
Andrejewski, Honke & Sozien, 45127 Essen

(72) Erfinder:
HEEMSKERK, Jacobus, Cornelis, NL-2172 HZ Sassenheim, NL; DEN DUNNEN, Theodorus, Johannes, NL-3069 LA Rotterdam, NL; VAN BOOM, Hubertus, Jacobus, NL-2343 CR Oegstgeest, NL

(54) Bezeichnung: **VORRICHTUNG ZUR BEHANDLUNG VON LICHTEMPFINDLICHEN BIOPOLYMEREN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Behandlung von lichtempfindlichen Biopolymeren mit wenigstens einer Lichtquelle, einer Prozesskammer, welche zur Aufnahme eines Substrats geeignet ist, auf welchem sich die Biopolymere zur Behandlung mit Licht von der Lichtquelle befinden, und mit einer Verteilereinheit, um das Licht der Lichtquelle zu den ausgewählten Bereichen auf dem Substrat zu lenken.

[0002] Solch eine Vorrichtung ist aus dem Artikel „Maskless fabrication of light-directed oligonucleotide microarrays using a digital micromirror array" von den Autoren Singh-Gason S. et al., veröffentlicht 1999 in Nature Biotechnology Band 17, S. 947–978 bekannt.

[0003] In der bekannten Vorrichtung wird eine Ultraviolettlichtquelle von einem Filter und nachfolgend von einer Reflektionsmaske in der Form eines digitalen Mikrospiegelarrays. Über diese Reflektionsmaske wird das Ultraviolettlicht über einen speziellen Projektionsschirm auf das Substrat in der Prozesskammer zur Bildung eines DNA-Testarrays gelenkt. Die Prozesskammer ist mit einem so genannten Oligo-Synthesegerät verbunden, das dazu dient, die jeweiligen Flüssigkeiten, die zur Bildung des DNA-Testarrays in der Prozesskammer notwendig sind, zur Prozesskammer oder weg von der Prozesskammer zu leiten.

[0004] Weil das Licht von der Ultraviolettlichtquelle selektiv auf bestimmte Stellen auf dem Substrat projiziert wird, findet eine lokale Aktivierung der jeweiligen photolabilen Gruppe, die mit den Flüssigkeiten versorgt wird, statt. Auf diese Weise kann ein gewünschtes DNA-Nukleotid nacheinander an jeder ausgewählten Stelle auf dem Substrat gebildet werden.

[0005] Mit solch einer Vorrichtung ist es möglich, DNA-Testarrays mit mindestens 40 000 Nukleotidpositionen herzustellen, was bedeutet, dass die Bildung eines solchen Arrays ein zeitraubender Prozess ist, der darüber hinaus einen hohen Präzisionsstandard erfüllen muss, um die Bildung von nicht korrekten Nukleotiden an Positionen, die benachbart zu den beleuchteten Stellen sind, zu vermeiden. Folglich müssen hohen Standards hinsichtlich zum Beispiel der Präzision und der Geschwindigkeit, mit welcher die Verteilereinheit das Licht von der Ultraviolettlichtquelle lenken kann, erfüllt werden.

[0006] Es ist das Ziel der Erfindung diese und andere Erfordernisse zu erfüllen, die in der Praxis durch eine Vorrichtung von der in der Präambel erwähnten Art erfüllt werden, und eine solche Vorrichtung bereitzustellen, die relativ preisgünstig hergestellt werden kann und zusätzlich leicht transportiert werden kann.

[0007] Ein weiteres Ziel der Erfindung ist es, eine solche Vorrichtung bereitzustellen, die nicht nur zur Bildung eines DNA-Testarrays verwendet werden kann, sondern auch allgemein zur Behandlung von lichtempfindlichen Biopolymeren.

[0008] Solche Biopolymere können zum Beispiel auch RNA und Aminosäuren (Peptide, Proteine), die modifiziert sein können oder nicht, also reine DNA-, RNA- und Proteinbausteine (Nukleotide, Aminosäuren) sowie solche mit bestimmten Modifikationen (Fluorchrome, Zuckergruppen-Glykoproteine, Phosphat, Methyl) und auch solche, bei denen die Bausteine selbst bereits modifiziert sind (DNA, LNA, synthetische Aminosäuren) einschließen. Der Fachmann wird keine Schwierigkeit dabei haben, diese Liste weiter zu ergänzen.

[0009] Die Ziele der Erfindung können mit einer Vorrichtung, die einem oder mehreren der Ansprüche, die an die Beschreibung angehängt sind, entsprechen.

[0010] In einem ersten Aspekt ist die Vorrichtung dadurch gekennzeichnet, dass die Verteilereinheit wenigstens einen motorgetriebenen Spiegel aufweist, der Spiegel auf einer drehbaren Spule befestigt ist, die sich zwischen Polen eines ein Magnetfeld erzeugenden Gerätes befindet und dass die Verteilereinheit eine einstellbare elektrische Energiequelle aufweist, die mit der Spule zur Steuerung der Orientierung des Spiegels verbunden ist. Von diesem wurde gezeigt, dass er eine schnelle und präzise arbeitende Verteilereinheit mit relativ geringer Komplexität bereitstellt, die zusätzlich preiswert verwirklicht werden kann und die in den oben erwähnten Gebieten vielfältig verwendet werden kann. Zum Beispiel macht es die erfindungsgemäße Vorrichtung möglich, einfach eine Flusssynthese in einer Reihe von nachfolgenden Syntheseschritten durchzuführen, wobei die zu beleuchtende Fläche für jeden nachfolgenden Syntheseschritt leicht weiterbewegt wird. Auf diese Art können eine große Vielzahl von Aufbaumolekülen verwirklicht werden, die insbesondere in der Länge variieren können.

[0011] Es wird angemerkt, dass das Substrat an einem festen Träger, in der Form von, unter anderem aber nicht ausschließlich, einer glatten Oberfläche wie eines Objektträgers, einer porösen Matrix, glatten oder porösen Kugeln oder einer Gelbeschichtung immoblisiert oder angeheftet sein kann.

[0012] Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann unter Verwendung eines so genannten Galvanospiegels als Verteilereinheit in geeigneter Weise verwirklicht werden.

[0013] Für einen ökonomischen Energieverbrauch wird der Spiegel vorzugsweise dielektrisch beschich-

tet, um einen Reflektionskoeffizienten von mindestens 0,99 im relevanten Wellenlängenbereich des zu reflektierenden Lichts zu verwirklichen.

[0014] Weiter wird bevorzugt, dass der Motor des Spiegels temperaturstabilisiert ist. Diese Maßnahme garantiert eine hohe Reproduzierbarkeit des Einstellverhaltens der Verteilereinheit.

[0015] In einem weiteren Aspekt der Erfindung wird die Vorrichtung dadurch gekennzeichnet, dass eine Fokussierlinse, vorzugsweise eine F-Theta-Linse, im optischen Pfad zwischen dem Spiegel und dem Substrat angeordnet ist. Dieses erhöht die Präzision des Positionierens des Lichtstrahls auf dem Substrat weiter. Da dieses Substrat im Allgemeinen flach ist, ist eine Korrektur für das vom Spiegel reflektierte Licht notwendig, dessen Fokussierungspunkt nur in der Spiegelachse auf der Ebene des Substrats liegen wird. Eine geeignete F-Theta-Linse, die für diesen Zweck verwendbar ist, ist eine solche Linse von Sill Optics in Deutschland, Typ Nummer S4 LFT 3100.

[0016] In der Regel ist es ebenfalls notwendig, einen Strahlen-Expander zu verwenden. Dieser ist dem Fachmann bekannt und wird verwendet, um einen Lichtpunkt mit den richtigen Abmessungen mit Hilfe der Fokussierlinse zu produzieren.

[0017] In einer geeigneten Ausführungsform der Vorrichtung wird die Lichtquelle durch eine Ultraviolettlichtquelle verkörpert. Gute Ergebnisse können erzielt werden, wenn die Ultraviolettlichtquelle im 390 nm Bereich arbeitet, vorzugsweise bei ungefähr 350 nm. Dies wird vorzugsweise unter Verwendung eines Frequenz verdreifachten Nd:YAG-Lasers verwirklicht. Solch ein Dioden-Laser stellt eine preiswerte Lichtquelle mit geringem Energieverbrauch bereit, welche die Anforderungen erfüllt, der eine Vorrichtung zur Behandlung von lichtempfindlichen Biopolymeren entsprechen muss.

[0018] Die Erfindung wird nun weiter bezüglich einer nicht einschränkenden, beispielhaften Ausführungsform und bezüglich der Zeichnung, die in einer einzigen Figur schematisch eine Vorrichtung zur Herstellung eines erfindungsgemäßen DNA-Testarrays zeigt, erläutert werden.

[0019] Wie schon oben erklärt, ist die Erfindung nicht auf diese Anwendung der Vorrichtung beschränkt, vielmehr kann die Vorrichtung zur Behandlung von lichtempfindlichen Biopolymeren im Allgemeinen verwendet werden. Um die Erklärung der Ansprüche zugänglicher zu halten, betrifft das Beispiel nur die Herstellung eines DNA-Testarrays.

[0020] Die Figur zeigt eine Vorrichtung zur Herstellung eines DNA-Testarrays mit einer Ultraviolettlichtquelle **1** und weiter einer Prozesskammer **3**, welche zur Aufnahme eines Substrats **6** geeignet ist, auf welchem der DNA-Testarray gebildet wird. Dieses Substrat kann zum Beispiel Glas oder Polypropylen oder ein anderes, geeignetes Material sein.

[0021] Zur Herstellung des DNA-Testarrays wird außerdem eine Verteilereinheit **2** bereitgestellt, welche das Licht aus der Ultraviolettlichtquelle **1** zum Beleuchten von ausgewählten Stellen auf dem Substrat **6** in der Prozesskammer **3** lenkt. Außerdem werden Leitungen **4** zur Versorgung mit und Entsorgung von Flüssigkeiten bereitgestellt, welche an den zu beleuchtenden Stellen auf dem Substrat **6** benötigt werden, um dort die gewünschte Nukleotidbildung zu verwirklichen.

[0022] Erfindungsgemäß wird die Verteilereinheit **2** als ein motorgetriebenener Spiegel oder mehrere Spiegel verkörpert, von denen jeder auf drehbaren Spulen befestigt ist, die sich in einem Magnetfeld befinden, zum Beispiel durch Anordnen der Spule zwischen den Polen eines Dauermagneten. Die Figur zeigt außerdem einen computergesteuerten Regler **5**, der zum Einstellen der Stromstärke dient, die durch die Spule oder Spulen geleitet werden soll, so dass der daran platzierte Spiegel die gewünschte Position, entsprechend der zu beleuchtenden Stelle auf dem Substrat **6** annimmt. Die eine oder andere Sache wird sehr schematisch in der Figur angedeutet, ist dem Fachmann aber vollständig klar, so dass eine weitere Erklärung nicht notwendig ist.

[0023] Es ist vorteilhaft, als Verteilereinheit **2** einen so genannten Galvanospiegel zu verwenden. Ein solcher Galvanospiegel ist seit vielen Jahren bekannt, ist äußerst genau und ist relativ preiswert erhältlich.

[0024] Es ist außerdem vorteilhaft und im Allgemeinen auch wünschenswert, dass der Motor des Spiegels temperaturstabilisiert ist, zum Beispiel bei ungefähr 50°C, um einen hohen Grad an Reproduzierbarkeit des Einstellungsverhaltens des Spiegels zu erzielen.

[0025] Die Verteilereinheit **2** umfasst vorzugsweise eine Fokussierlinse und weiter bevorzugt eine so genannte F-Theta-Linse, welche im optischen Pfad zwischen dem Spiegel und dem Substrat **6** angeordnet ist. Die Art und Weise, in der dies ausgeführt wird, ist dem Fachmann vollständig bekannt, so dass keine weitere Erklärung notwendig ist.

[0026] Es ist wünschenswert als Ultraviolettlichtquelle eine Quelle zu verwenden, die im 340–390 nm Bereich arbeitet, vorzugsweise bei ungefähr 350 nm.

[0027] Der Erfinder schlägt insbesondere vor, einen Nd:YAG-Laser mit einer verdreifachten Frequenz zu verwenden. Solch ein Dioden-Laser entspricht dem Zweck und ist preiswert erhältlich.

[0028] Letztlich wird erneut betont, dass der Schutzumfang auf Grund der Ansprüche nicht auf das obige Beispiel beschränkt ist; dieses Beispiel dient lediglich dazu, alle möglichen Unklarheiten in diesen Ansprüchen zu beseitigen ohne sie in irgendeiner Weise einzuschränken. Für den Fachmann ist offensichtlich, dass die unter Schutz gestellte Vorrichtung in vielen Anwendungen verwendet werden kann und dass jede solche Anwendung durch die angehängten Ansprüche abgedeckt wird.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Behandlung von lichtempfindlichen Biopolymeren, mit wenigstens einer Lichtquelle (**1**), einer Prozesskammer (**3**), welche zur Aufnahme eines Substrates (**6**) geeignet ist, auf welchem sich die Biopolymere zu ihrer Behandlung mit Licht von der Lichtquelle (**1**) befinden, und mit einer Verteilereinheit (**2**), um das Licht der Lichtquelle (**1**) zu ausgewählten Bereichen auf dem Substrat (**6**) zu lenken, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Verteilereinheit (**2**) wenigstens einen motorgetriebenen Spiegel aufweist, welcher auf einer drehbaren Spule befestigt ist, die sich ihrerseits zwischen Polen eines ein Magnetfeld erzeugenden Gerätes befindet, und dass die Verteilereinheit (**2**) eine einstellbare elektrische Energiequelle (**5**) aufweist, die mit der Spule zur Steuerung der Orientierung des Spiegels verbunden ist.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sich die Orientierung des Spiegels in einer vorgegebenen Position einstellen lässt, welche zum ausgewählten bestrahlten Bereich auf dem Substrat (**6**) korrespondiert.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Verteilereinheit (**2**) ein Galvanospiegel ist.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Motor des Spiegels temperaturstabilisiert wird.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass eine Fokussierlinse, vorzugsweise eine F-Theta-Linse, im optischen Pfad zwischen dem Spiegel und dem Substrat (**6**) angeordnet ist.

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei der Lichtquelle (**1**) um eine Ultraviolettlichtquelle handelt.

7. Vorrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Ultraviolettlichtquelle im Bereich von 340 bis 390 nm, vorzugsweise bei ca. 350 nm, arbeitet.

8. Vorrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Ultraviolettlichtquelle als Frequenz verdreifachter Nd:YAG-Laser ausgebildet ist.

9. Verfahren zur Behandlung von lichtempfindlichen Biopolymeren unter Rückgriff auf eine Lichtquelle (**1**), eine Prozesskammer (**3**), welche zur Aufnahme eines Substrates (**6**) eingerichtet ist, auf welchem die Biopolymere zur Behandlung mit Licht von der Lichtquelle (**1**) platziert sind und eine Verteilereinheit (**2**), um das Licht der Lichtquelle (**1**) zu ausgewählten Bereichen auf dem Substrat (**6**) zu lenken, dadurch gekennzeichnet, dass für die Verteilereinheit (**2**) von wenigstens einem motorgetriebenen Spiegel Gebrauch gemacht wird, welcher auf einer drehbaren Spule befestigt ist, die sich zwischen Polen eines ein Magnetfeld erzeugenden Gerätes befindet, wobei die Orientierung des Spiegels gesteuert wird, indem die Spule an eine einstellbare elektrische Energiequelle (**5**) angeschlossen wird.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Orientierung des Spiegels in eine vorgegebene Stellung ausgerichtet wird, welche zu einem vorgegebenen beleuchteten Bereich auf dem Substrat (**6**) korrespondiert.

11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, dass im Gebrauch die Temperatur des Motors des Spiegels stabilisiert wird.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

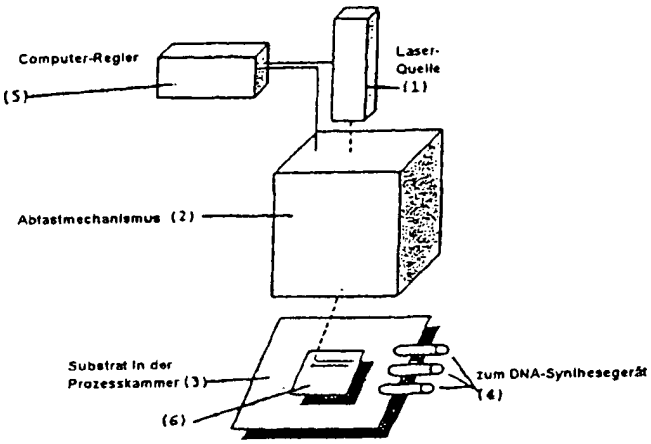

Fig. 1