(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. September 2016 (15.09.2016)

WIPO | PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2016/142516 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
B01L 3/00 (2006.01) *B01D 3/02* (2006.01)
B01L 7/00 (2006.01) *G01N 1/40* (2006.01)
B01L 9/00 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2016/055282

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. März 2016 (11.03.2016)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2015 103 634.7 12. März 2015 (12.03.2015) DE

(71) Anmelder: **QIAGEN GMBH** [DE/DE]; IP & IPL Qiagen Strasse 1, 40724 Hilden (DE).

(72) Erfinder: **VOIT, Thomas**; c/o QIAGEN GmbH Qiagen Strasse 1, 40724 Hilden (DE). **HECKEL, Dirk**; c/o QIAGEN GmbH Qiagen Strasse 1, 40724 Hilden (DE). **DOEDT, Thomas**; c/o QIAGEN GmbH Qiagen Strasse 1, 40724 Hilden (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

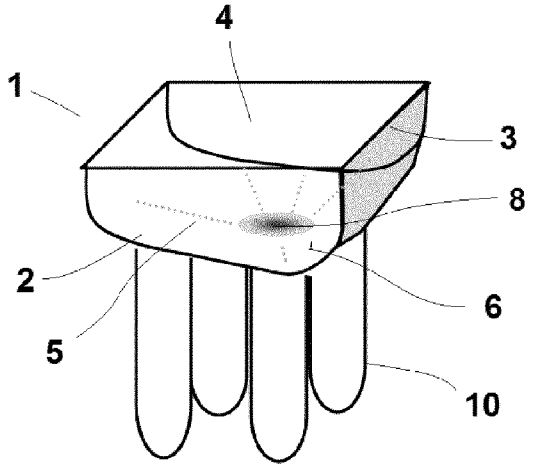
— *mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)*

(54) **Title**: CONTAINER FOR DRYING AND PREPARING BIOLOGICAL SPECIMENS

(54) **Bezeichnung** : BEHÄLTER ZUM TROCKNEN UND AUFBEREITEN BIOLOGISCHER PROBEN

Abb. 1

Fig.



(57) **Abstract**: The invention relates to a container for processing and storing biological specimens, which container has a base, a side wall, and an opening, wherein the container has a capacity from 100 µl to 5000 µl, wherein the opening is arranged at the top, wherein the base has a first region which substantially forms a plane which extends over the centre of the base, and wherein the base has a second region which laterally adjoins the first region and has a depression (8). The invention further relates to systems, to kits and to methods for processing and storing biological specimens.

(57) **Zusammenfassung**: Behälter zur Verarbeitung und Aufbewahrung biologischer Proben, der einen Boden, eine Seitenwand und eine Öffnung aufweist, wobei der Behälter ein Fassungsvermögen von 100 µl bis 5000 µl aufweist, wobei die Öffnung oben angeordnet ist, wobei

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2016/142516 A1

der Boden einen ersten Bereich aufweist, der im Wesentlichen eine Ebene bildet, die sich über die Mitte des Bodens erstreckt, und wobei der Boden einen zweiten Bereich aufweist, der seitlich an den ersten Bereich angrenzt, und der eine Vertiefung (8) aufweist. Die Erfindung betrifft auch Vorrichtungen, Kits und Verfahren zur Verarbeitung und Aufbewahrung biologischer Proben.

Behälter zum Trocknen und Aufbereiten biologischer Proben

Die Erfindung betrifft Behälter, Vorrichtungen, Kits und Verfahren zur Verarbeitung und Aufbewahrung biologischer Proben.

Stand der Technik

In biochemischen, mikrobiologischen und diagnostischen Laboren werden große Mengen von Proben im Mikrolitermaßstab analysiert und verarbeitet. Dabei werden biologische Proben, wie Körperflüssigkeiten, Nukleinsäuren oder Proteine, üblicherweise in wässriger Lösung eingesetzt. Die Verwendung von Mikrotiterplatten oder Kunststoffgefäßen in Arrays, insbesondere in automatisierten Verfahren, ermöglicht die parallele Verarbeitung einer Vielzahl von Proben. Dabei ist es regelmäßig erforderlich, die Proben zu trocknen und in einem späteren Schritt wieder in Flüssigkeit aufzunehmen. Dies ist beispielsweise erforderlich, um aufgereinigte biologische Materialien, wie DNA oder Proteine, in einem Lösungsmittel oder Puffer aufzunehmen. Die Trocknung erleichtert auch die Lagerung und den Transport biologischer Proben, beispielsweise von einem Arzt in ein diagnostisches Labor zu Analysezwecken. Das Trocknen von biologischen Proben aus wässrigen Lösungen im Mikrometermaßstab erfolgt oftmals mit Hilfe von Heizblöcken, im Trocknungsschrank oder einfach durch Belassen an Luft über einen ausreichenden Zeitraum.

Zur Verarbeitung solcher biologischer Proben werden oft Einweg-Kunststoffbehälter („Eppendorf-Cups“, Firma Eppendorf, Hamburg) verwendet, die beispielsweise in der DE 10159804 A1 beschrieben werden. Solche Gefäße weisen zylinderförmige Außenwände und einen konisch nach unten zulaufenden Boden auf. In der zentralen Vertiefung können Flüssigkeiten akkumulieren und beim Pipettieren mit geringem Flüssigkeitsverlust aufgenommen werden. Diese

Ausgestaltung hat den Nachteil, dass die Oberfläche der Flüssigkeit, insbesondere bei kleinen Flüssigkeitsmengen, relativ klein ist, was das Trocknen erschwert und die Trocknungsdauer verlängert.

Eine Vielzahl von Proben kann in Arrays aus solchen Behältern oder in Mikrotiterplatten verarbeitet werden. Mikrotiterplatten, die aus einem einzigen Kunststoffteil geformt sind, werden beispielsweise in der DE 10212761 A1 beschrieben.

Behältnisse zum Prozessieren biologischer Proben im Mikrometermaßstab können auch einen ebenen Boden aufweisen. Mit solchen Behältnissen können gerade geringe Proben in geringen Flüssigkeitsmengen gut getrocknet werden, da sich die Flüssigkeit auf dem Boden verteilt und eine relativ große Oberfläche aufweist. Nachteilig ist jedoch, dass die Probe nach Wiederaufnahme in einer kleinen Flüssigkeitsmenge nur unvollständig mittels Pipettieren von Boden entnommen werden kann, da die Lösung nicht an einer Stelle des Bodens akkumuliert, sondern sich Reste über den Boden hinweg verteilen. Um die Flüssigkeit vollständig zu entnehmen, muss das Gefäß geneigt werden. Dies erfolgt im allgemeinen händisch und die Ausbeute ist verbesserungsbedürftig.

Es besteht daher ein Bedürfnis nach Verfahren und Vorrichtungen, die es erlauben, biologische Proben in Flüssigkeit zum einen auf einfache Weise zu trocknen und zum anderen auf einfache Weise wieder in Flüssigkeit aufzunehmen, also aufzulösen oder zu resuspendieren, und anschließend weiter zu verarbeiten. Verbesserungen der bekannten Verfahren und Vorrichtungen wären gerade in dem technischen Gebiet der Verarbeitung von biologischen Proben von hoher Bedeutung, da solche Arbeitsschritte bei Routinetätigkeiten in diagnostischen, biochemischen und molekularbiologischen Labors routinemäßig in sehr hoher Anzahl durchgeführt werden. Daher wäre bereits eine geringfügige Arbeitserleichterung oder Verbesserung in der Praxis mit einem erheblichen Vorteil verbunden.

Aufgabe der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Verfahren und Vorrichtungen bereitzustellen, welche die Nachteile aus dem Stand der Technik überwinden. Insbesondere sollen Verfahren und Vorrichtungen bereitgestellt werden, die es erlauben, biologische Proben in Flüssigkeit auf einfache Weise zu trocknen, wieder in Flüssigkeit aufzunehmen und weiter zu verarbeiten. Die Verfahren sollen es ermöglichen, bei Routineverfahren in biochemischen oder diagnostischen Labors eine Vielzahl von Proben im Mikrometermaßstab auf einfache Weise zu verarbeiten.

Offenbarung der Erfindung

Überraschenderweise wird die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe gelöst durch Behälter, Vorrichtungen, Kits und Verfahren gemäß den Patentansprüchen.

Gegenstand der Erfindung ist ein Behälter zum Verarbeiten und Aufbewahren biologischer Proben, der einen Boden, eine Seitenwand und eine Öffnung aufweist, wobei der Behälter ein Fassungsvermögen von 100 µl bis 5000 µl aufweist,
wobei der Behälter oben eine Öffnung aufweist,
wobei der Boden einen ersten Bereich aufweist, der im Wesentlichen eine Ebene bildet und sich über die Mitte des Bodens erstreckt, und
wobei der Boden einen zweiten Bereich aufweist, der seitlich an den ersten Bereich angrenzt, und der eine Vertiefung (8) aufweist.

Mit dem Betriff "biologische Probe" werden Materialien bezeichnet, die üblicherweise in biochemischen, molekularbiologischen oder diagnostischen Labors verarbeitet werden. Die biologischen Proben können biologisches Material oder Fraktionen oder Teile davon sein, wie Körperflüssigkeiten, Gewebe oder

Zellen. Die Körperflüssigkeiten sind bevorzugt Blut, Speichel, Urin, Liquor cerebrospinalis (CSF), bronchoalveoläre Lavage (BAL) oder Sputum. Die biologischen Materialien können auch biologische Moleküle oder Gemische davon sein oder enthalten, wie Nukleinsäuren, Proteine, Polysaccharide, Fette oder niedermolekulare Verbindungen. Die Materialien können natürlichen Ursprungs sein oder mittels biotechnologischer Verfahren hergestellt sein, wie rekombinante Nukleinsäuren oder Proteine. Die biologischen Proben können auch synthetischen Ursprungs sein, sofern sie biologische Materialien nachbilden oder Derivate oder Analoga davon sind.

Bevorzugt ist die biologische Probe ausgewählt aus Körperflüssigkeiten, Geweben, Zellen, biologischen Molekülen, wie Nukleinsäuren, Proteinen, Polysacchariden und Lipiden, sowie Gemischen oder Fraktionen davon, wie Lysate. Bevorzugte Körperflüssigkeiten sind Blut und Urin. Die Nukleinsäuren sind bevorzugt DNA oder RNA.

Mit dem Begriff "verarbeiten" werden Verfahren bezeichnet, bei denen die biologischen Proben in irgendeiner Weise chemisch oder physikalisch verändert werden. Insbesondere werden die biologischen Proben getrocknet und/oder in Flüssigkeit wiederaufgenommen, also gelöst oder resuspendiert.

Die biologische Probe weist vor dem Trocknen einen Flüssigkeitsgehalt auf. Bevorzugt ist die biologische Probe, die Flüssigkeit aufweist und getrocknet werden soll, flüssig. Sie kann dabei als Lösung oder Suspension vorliegen. Bevorzugt ist der Gehalt an Feststoffen in der Flüssigkeit kleiner 20 Gew.%, kleiner 10 Gew.% oder kleiner 5 Gew.%.

Die biologische Probe kann in dem Behälter in einer Lösung, insbesondere in wässriger Lösung, oder Suspension, insbesondere wässrige Suspension, vorliegen. In einer weiteren Ausführungsform liegt die biologische Probe in dem Behälter getrocknet vor.

Mit dem Begriff „Behälter“ werden in dem technischen Gebiet übliche Behältnisse und Gefäße zur Aufbewahrung und Verarbeitung von Flüssigkeiten im Mikrometermaßstab, die biologische Proben enthalten, bezeichnet. Der Behälter weist einen Boden, eine Seitenwand und eine Öffnung auf. Die Öffnung ist oben angeordnet. Bevorzugt wird die Öffnung von den oberen Enden der Seitenwand gebildet. Dies bedeutet, dass das Gefäß keine obere Seite aufweist, die dem Boden gegenüber liegt. Solche Ausgestaltungen sind bei der Verarbeitung biologischer Proben üblich, beispielsweise bei Eppendorf-Gefäßen oder Mikrotiterplatten.

Der Behälter weist eine Seitenwand auf. Mit dem Begriff "Seitenwand" wird die Gesamtheit der seitlichen Wände beschrieben, die an den Boden angrenzen. Die Seitenwand kann eine beliebige Form aufweisen. Dabei können seitliche Wände parallel zueinander liegen oder sich zum Boden hin verjüngen. Bevorzugt sind runde oder abgerundete Seitenwände, insbesondere in Form eines Zylinders oder nach unten zulaufenden Kegelstumpfes. Die Seitenwand kann auch einen eckigen Querschnitt aufweisen, bevorzugt einen viereckigen Querschnitt, wobei die Ecken abgerundet sein können. Der Querschnitt kann dabei rechteckig oder quadratisch sein und sich dabei zum Boden hin verjüngen.

Der Behälter weist oben eine Öffnung auf. Mit „oben“ wird die Seite gegenüber vom Boden bezeichnet. Bei Benutzung in Normalstellung (aufrecht) kann die Flüssigkeit somit nicht aus dem Behälter herausfließen. Der Behälter weist nur eine einzige Öffnung auf. Bevorzugt ist keine obere Wand vorhanden, sondern die Öffnung schließt direkt an die oberen Enden der Seitenwände an und wird durch diese gebildet.

Der Behälter ist abgesehen von der Öffnung wasserdicht. Bevorzugt besteht der Behälter aus dem Boden und der Seitenwand, wobei gegebenenfalls noch ein Deckel oder eine Versiegelung mit einer Folie vorhanden sein kann. Der Behälter

weist im Innenraum ein Fassungsvermögen von 100 µl bis 5.000 µl Flüssigkeit auf, insbesondere zwischen 500 µl und 3000 µl, oder zwischen 500 µl und 1.500 µl. Derartige Fassungsvermögen sind typisch für solche Behälter im Labormaßstab, wie Eppendorf-Cups, PCR Cups oder einzelne Behälter (Wells) in Mikrotiterplatten.

Der Behälter weist einen Boden auf, der maßgeblich aus dem ersten und zweiten Bereich gebildet wird. Der erste Bereich bildet im Wesentlichen eine Ebene, die sich über die Mitte des Bodens erstreckt. Der erste Bereich dient dazu, darauf biologische Proben einzutrocknen. Dabei verdunstet die Flüssigkeit und die biologische Probe verbleibt auf dem ersten Bereich. Biologische Proben haften üblicherweise nach dem Trocknen an den Boden. Da sich eine Flüssigkeit auf dem ersten Bereich verteilt, wird die Oberfläche beim Trocknen vergrößert und dadurch der Trocknungsvorgang beschleunigt.

Mit "im Wesentlichen" wird ein erster Bereich bezeichnet, der nahezu eine Ebene bildet und noch den Zweck erfüllt, dass Flüssigkeiten darauf eingetrocknet werden können. Somit ist auch ein erster Bereich umfasst, der nicht völlig eben ist, sondern geringfügig gekrümmt ist, beispielsweise um einen Winkel von weniger als 5°, weniger als 2° oder weniger als 1°. Dabei kann die Krümmung gleichmäßig über die Ebene verlaufen oder unregelmäßig. Bevorzugt ist die Krümmung konkav, so dass die Ebene eine Vertiefung aufweist. Bei solchen leicht gekrümmten oder geneigten Ebenen kann eine flüssige Probe noch gut in dem ersten Bereich eingetrocknet werden, insbesondere wenn nur kleine Mengen, beispielsweise in Form eines einzelnen Tropfens, eingetrocknet werden. Eine leichte konkave Krümmung kann das Eintrocknen unterstützen, da verhindert wird, dass die Flüssigkeit in den zweiten Bereich fließt.

Der Boden weist einen zweiten Bereich auf, der eine Vertiefung umfasst. Der flächige erste Bereich schließt direkt an den zweiten Bereich an. Beide Bereiche sind seitlich miteinander verbunden. Der zweite Bereich liegt niedriger als der

erste Bereich und die Ebene, wenn sich das Gefäß in Normalposition (aufrecht) befindet. Die Vertiefung liegt daher unterhalb des ersten Bereichs. Wenn der Behälter geneigt wird, so dass der erste Bereich hin zu dem zweiten Bereich geneigt wird, kann eine Flüssigkeit von dem ersten Bereich in den zweiten Bereich fließen. Der zweite Bereich ist so ausgestaltet, dass das Hinunterlaufen der Flüssigkeit in die Vertiefung und das Ansammeln in der Vertiefung unterstützt wird. Die Vertiefung liegt bevorzugt zentral in dem zweiten Bereich und bevorzugt nicht am Rand des zweiten Bereichs. Der zweite Bereich ist bevorzugt zu der Vertiefung hin geneigt oder gekrümmt. Denkbar ist eine konische oder umgekehrt pyramidale Form, die symmetrisch oder unregelmäßig sein kann, oder die Rinnen aufweisen kann. Der zweite Bereich ist so ausgestaltet, dass er eine ausreichende Flüssigkeitsmenge aufnehmen kann, die von dem ersten Bereich herunterfließt, beispielsweise bis zu 50 µl, bis zu 100 µl oder bis zu 200 µl.

Der erste Bereich erstreckt sich über die Mitte des Bodens. Mit der "Mitte des Bodens" wird die axiale Achse des Gefäßes bezeichnet, die in (aufrechter) Normalposition von oben zum Boden hin führt. Die radiale Achse weist somit von der axialen Achse zu der Seitenwand hin. Da sich der erste Bereich über die Mitte des Bodens erstreckt, liegt der zweite Bereich mit der Vertiefung nicht in der Mitte des Bodens, sondern seitlich davon. Der zweite Bereich dient dazu, eine in dem ersten Bereich des Bodens getrocknete biologische Probe, die somit an den ersten Bereich anhaftet, nach der Wiederaufnahme in Flüssigkeit zu sammeln. Dies ist auf einfache Weise möglich, wenn der Behälter beim oder nach der Wiederaufnahme der Probe in Flüssigkeit geneigt wird, und zwar zu dem zweiten Bereich hin. Dann fließt die Lösung oder Suspension vom ersten in den zweiten Bereich und sammelt sich insbesondere in der Vertiefung an. Die Flüssigkeit mit der resuspendierten oder wieder gelösten biologischen Probe kann dann gut mit einer Pipette entnommen werden.

Zwischen dem ersten und zweiten Bereich kann ein niedriger Steg vorhanden sein, der verhindert, dass eine geringe, zu trocknende Flüssigkeitsmenge von dem

ersten Bereich in unerwünschter Weise in den zweiten Bereich gelangt. Der Steg darf aber nicht so hoch sein, dass er den Transfer der Flüssigkeit vom ersten in den zweiten Bereich beeinträchtigt, nachdem die Probe nach dem Trocknen in Flüssigkeit wiederaufgenommen wurde.

Der erste Bereich kann eine geringfügige konkave Krümmung aufweisen. Eine solche geringfügige Krümmung kann verhindert, dass die Flüssigkeit vor dem Trocknen in den zweiten Bereich gelangt.

Bevorzugt besteht der Boden aus dem ersten und zweiten Bereich. Allgemein umfasst der Boden den Teil der Außenwand des Behälters, der diesen im Wesentlichen nach unten hin abgrenzt. Dagegen grenzen die Seitenwände den Behälter vornehmlich nach außen zur Seite hin ab. Der Boden kann direkt an die Seitenwände anschließen. Es ist bevorzugt, dass der Behälter im Innenraum und/oder der Boden keine Ecken und Kanten aufweist. Der Innenraum und/oder der Boden weist bevorzugt nur Rundungen auf.

Es ist bevorzugt, dass die Seitenwände mit dem Boden über einen konkav gewölbten Übergangsbereich verbunden sind. Dabei kann auch nur der flächige erste Bereich über den gewölbten Übergangsbereich mit den Seitenwänden verbunden sein. Solche abgerundeten Übergangsbereiche haben den Vorteil, dass keine Kanten vorhanden sind, in denen sich Flüssigkeit ansammeln kann, was sowohl das Trocknen als auch das Rücklösen erschwert.

Der flächige erste Bereich hat eine ausreichende Ausdehnung, um darauf eine Flüssigkeitsmenge im Mikrolitermaßstab einzutrocknen. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Anteil des ersten Bereichs an dem Boden des Behältnisses, oder an der Summe von dem ersten Bereich und zweiten Bereich, zwischen 40% und 95%, besonders bevorzugt zwischen 50% bis 90%, oder zwischen 60% bis 80%. Bevorzugt ist der erste Bereich größer als der zweite Bereich, beispielsweise mindestens zweifach, dreifach oder vierfach größer. Dabei

werden die Anteile oder Verhältnisse bevorzugt in der Aufsicht auf den Behälter ermittelt, wenn der erste Bereich horizontal liegt.

In einer Ausführungsform wird die gesamt Flüssigkeit mit der biologischen Probe auf dem ersten Bereich eingetrocknet. Dies ist beispielsweise möglich, wenn ein Tropfen auf den ersten Bereich pipettiert wird, der wegen der Adhäsionskräfte an der Position verbleibt. In einer weiteren Ausführungsform wird die Flüssigkeit auf dem ersten und dem zweiten Bereich getrocknet. Dies ist möglich, wenn eine ausreichend große Flüssigkeitsmenge eingesetzt wird, die sowohl den ersten als auch den zweiten Bereich bedeckt. Wenn der zweite Bereich kleiner ist als der erste Bereich, wird ungeachtet dessen der Trocknungsvorgang insgesamt beschleunigt.

Besonders bevorzugt besteht der Boden aus dem ersten Bereich und dem daran anschließenden zweiten, niedrigeren Bereich, sowie gewölbten Zwischenbereichen, die den ersten und zweiten Bereich mit den Seitenwänden verbinden.

Der erste Bereich kann eben oder geneigt sein. Insgesamt kann der erste Bereich einen Neigungswinkel von 0 bis 45° aufweisen. Falls nicht anders angegeben, beziehen sich die Angaben zum Neigungswinkel in dieser Anmeldung auf die Normallage, wenn das Gefäß auf einem horizontalen Untergrund steht oder positioniert ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der erste Bereich geneigt. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Neigungswinkel zwischen 10° und 45°, besonders bevorzugt zwischen 15° und 40°. Mit der Neigung wird der Winkel bezeichnet, wenn das Gefäß in Normalposition auf einen horizontalen Untergrund positioniert wird, insbesondere abgestellt wird. Der zweite Bereich schließt bei dieser Ausführungsform an der niedrigsten Kante des ersten Bereichs an. Bei dieser Ausführungsform kann die getrocknete biologische Probe beim Abstellen

des Behälters besonders gut wiederaufgenommen werden, da die Lösung oder Resuspension durch die Neigung des ersten Bereichs von diesem herunterfließt und sich im zweiten Bereich und insbesondere in der Vertiefung ansammelt. Bei dieser Ausführungsform wird die biologische Probe in dem Behälter getrocknet, wenn der Behälter auf einem geneigten Untergrund positioniert wird, dessen Neigungswinkel dem Neigungswinkel des ersten Bereichs, also der Ebene, entspricht, so dass der erste Bereich horizontal ausgerichtet ist. Die biologische Probe wird in dieser Position getrocknet. Nach dem Trocknen wird der Behälter von dem geneigten Untergrund entfernt. Er ist zur späteren Wiederaufnahme der Probe in Flüssigkeit verfügbar und kann vorher gelagert oder transportiert werden.

In einer weiteren Ausführungsform ist der erste Bereich horizontal in dem Behälterboden angeordnet. Dies bedeutet, dass der erste Bereich beim Abstellen des Behälters auf einem horizontalen Untergrund horizontal liegt. Bei dieser Ausführungsform erfolgt das Trocknen der biologischen Probe auf einem ebenen Untergrund, während die Wiederaufnahme der biologischen Probe auf einem geneigten Untergrund erfolgt.

Der Behälter kann aus Materialien bestehen, die in dem technischen Gebiet üblich sind. In einer bevorzugten Ausführungsform besteht der Behälter aus Kunststoff. Geeignete Kunststoffe sind insbesondere organische Polymere. Geeignet sind insbesondere thermoplastische Elastomere, wie Polyolefine, insbesondere Polyethylen oder Polypropylen, oder Silikone. Bevorzugt ist der Behälter einstückig. Er besteht dann bevorzugt aus einem einzigen Kunststoff.

In einer bevorzugten Ausführungsform besteht der Behälter aus leitfähigem Kunststoff. Dadurch kann das Trocknen der Probe durch Erwärmen unterstützt werden.

Der Behälter kann einen Deckel oder eine Versiegelung mit einer Folie aufweisen, der die Öffnung verschließen kann. Der Deckel kann dabei mit dem Behälter fest

verbunden sein, und insbesondere durch Herunterklappen eingerastet werden. Der Deckel oder die Versiegelung dienen zum Transport oder zur Lagerung der Proben.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Boden, insbesondere der erste Bereich, auf der Innenseite strukturiert. Eine Strukturierung des Bodens, und dabei insbesondere des ersten Bereichs, kann zur optimalen Verteilung der Flüssigkeit beitragen und die Haftung der getrockneten Probe unterstützen. Eine geeignete Strukturierung kann durch bekannte Maßnahmen erzeugt werden, wie Nanostrukturierung oder Bestrahlung des Kunststoffs. Die gute Verteilung der Flüssigkeit kann auch durch die Auswahl des Kunststoffes verbessert werden, insbesondere durch Verwendung einer hydrophilen Polymerkomponente. Der Kunststoff wird bevorzugt so ausgewählt, dass er die eingetrocknete Probe auch bei längerer Lagerung nicht beeinflusst, beispielsweise durch Migration von Inhaltsstoffen, wie Inhibitoren.

In einer bevorzugten Ausführungsform weist der Behälter zusätzlich mindestens eine Einrichtung zum Fixieren und/oder Abstellen auf, die unterhalb des Bodens angeordnet ist. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Behälter passgenau und lösbar mit einer Mikrotiterplatte verbindbar, insbesondere über die Einrichtung zum Fixieren. Das Fixieren erfolgt bevorzugt formschlüssig, insbesondere durch Einrasten. Bevorzugt weist die Einrichtung zum Fixieren länglich nach unten vom Boden weg. Sie kann beispielsweise die Form von einem oder mehreren, insbesondere vier Standbeinen aufweisen. Diese dienen dazu, dass der Behälter abgestellt werden kann und/oder durch Einrasten auf einen entsprechenden Untergrund, wie eine Mikrotiterplatte, fixiert werden kann. Dabei kann bevorzugt eine Vielzahl von Behältern auf dem Untergrund oder der Mikrotiterplatte fixiert werden.

Gegenstand der Erfindung ist auch eine Vorrichtung für biologische Proben, umfassend mindestens zwei Behälter gemäß mindestens einem der

vorhergehenden Ansprüche, wobei die Behälter gleich ausgerichtet sind und miteinander verbunden sind. Dabei bedeutet "gleich ausgerichtet", dass die Behälter in jeweils der gleichen räumlichen Anordnung miteinander kombiniert werden, so dass alle Öffnungen und Vertiefungen jeweils in die gleiche Richtung weisen. Bevorzugt sind die Behälter in Reihen und/oder zweidimensionalen Arrays miteinander verbunden. Bevorzugt weist die Vorrichtung 4 bis 1536, insbesondere 4 bis 384, besonders bevorzugt 6, 12, 24, 48 oder 96 Behälter auf. Mit solchen Vorrichtungen kann in einem Labor routinemäßig eine Vielzahl von biologischen Proben verarbeitet werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform sind die Behälter fest miteinander verbunden. Bevorzugt entspricht das Format der Vorrichtung üblichen Laborformaten, beispielsweise Mikrotiterplattenformaten. Die Vorrichtung ist dann eine Mikrotiterplatte mit besonderer Ausgestaltung der Behältnisse (Näpfchen). Die Formate solcher Vorrichtungen sind genormt nach dem ANSI Standard der Society of Biomolecular Screening (SBS). Die Abmessungen sind üblicherweise 127,76 mm x 85,48 mm x 14,35 mm (Länge x Breite x Höhe). Übliche Formate weisen 6, 12, 24, 48, 96, 384 oder 1536 Behälter (Näpfchen) auf. Bevorzugt ist insbesondere ein 96er Format, bei dem 96 Gefäße in 8 parallelen Spalten und 12 Reihen angeordnet sind. Entsprechende Formate werden auch in der DE 10212761 A1 beschrieben. In einer weiteren Ausführungsform sind die Behälter lösbar miteinander verbunden. Mit solchen Formaten kann die Vorrichtung besonders gut in automatisierten Verfahren verwendet werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Vorrichtung in eine Mikrotiterplatte einsatzbar und löslich fixierbar, so dass jeder Behälter auf einer oder mehreren Vertiefungen der Mikrotiterplatte positioniert ist

Gegenstand der Erfindung ist auch eine Kit zum Trocknen und Transportieren von biologischen Proben, umfassend mindestens den erfindungsgemäßen Behälter, wobei der erste Bereich geneigt ist, und/oder die Vorrichtung und einen Heizblock,

dessen Oberfläche geneigt ist, wobei der Neigungswinkel dem Neigungswinkel des ersten Bereichs entspricht.

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum Trocknen einer biologischen Probe, umfassend die Schritte:

(a) Bereitstellen eines erfindungsgemäßen Behälters und/oder einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, der/die einen geneigten ersten Bereich aufweist,

(b) Positionieren des Behälters oder der Vorrichtung auf einem geneigten Untergrund, der im Wesentlichen den gleichen Neigungswinkel aufweist wie der geneigte erste Bereich, so dass der erste Bereich horizontal ausgerichtet ist,

(c) Zugabe einer Flüssigkeit, enthaltend eine biologischen Probe, mindestens auf den ersten Bereich, und

(d) Trocknen der Flüssigkeit mit der biologischen Probe, gegebenenfalls unter Erwärmen des Behälters oder der Vorrichtung, unter Erhalt einer getrockneten biologischen Probe, die mindestens teilweise auf dem ersten Bereich positioniert ist.

Wenn der Behälter oder die Vorrichtung auf einem um den Neigungswinkel des ersten Bereichs geneigten Untergrund positioniert wird, kann die Lösung auf dem horizontalen, flächigen ersten Bereich verteilt werden. Dadurch wird die Oberfläche vergrößert und das Trocknen erleichtert. Es wird eine getrocknete biologische Probe erhalten, die mindestens teilweise in dem ersten Bereich eingetrocknet ist. Die biologische Probe kann vollständig in dem ersten Bereich erhalten werden, wenn sie in Schritt (c) gezielt auf in den ersten Bereich gegeben wird, ohne dass sie während des Verfahrens herunterlaufen kann, insbesondere wenn nur eine kleine Probenmenge pipettiert wird.

Die Flüssigkeit mit der biologischen Probe kann eine Lösung oder eine Suspension sein. Das Gesamtvolumen der eingesetzten Flüssigkeit mit der

enthaltenen biologischen Probe kann beispielsweise zwischen 1 µl und 1.000 µl, insbesondere zwischen 5 µl und 800 µl, bevorzugt zwischen 10 µl und 500 µl, besonders bevorzugt zwischen 10 µl und 200 µl liegen.

Bevorzugt wird die Flüssigkeit in Schritt (c) auf den ersten Bereich pipettiert, nachdem dieser in Schritt (b) horizontal ausgerichtet wurde. In einer anderen Ausführungsform wird die Flüssigkeit mit der biologischen Probe gemäß Schritt (c) in den Behälter oder die Vorrichtung gegeben und danach erst der erste Bereich in Schritt (b) horizontal ausgerichtet. Diese Ausführungsform ist möglich, wenn das Volumen der Flüssigkeit so groß ist, dass sie ohnehin nicht auf dem ersten Bereich verbleiben würde, sondern sich gleichmäßig in dem Behälter verteilen würde.

Beim Trocknen wird die Flüssigkeit von der biologischen Probe teilweise oder vollständig entfernt. Bevorzugt wird die biologische Probe weitgehend getrocknet, so dass ein Feststoff in dem Behälter verbleibt. Bevorzugt ist der Restgehalt an Flüssigkeit nach dem Trocknen kleiner als 50%, als 20%, als 10% oder als 5%, bezogen auf das Gesamtgewicht des eingetrockneten Rückstands.

Das Trocknen wird bevorzugt durch Erwärmen und/oder Niedrigdruck unterstützt. Das Erwärmen erfolgt bei Temperaturen, die für solche biologischen Proben geeignet sind. Bevorzugt erfolgt das Trocknen zwischen 30°C und 65°C.

In einer bevorzugten Ausführungsform unterstützt der Untergrund den Trocknungsvorgang. Bevorzugt ist der Untergrund ein Heizblock. Bevorzugt ist die Vorrichtung oder der Behälter an den Heizblock angepasst, so dass sie eng anliegen und ein optimaler Wärmetransfer ermöglicht wird. Besonders bevorzugt ist der Heizblock lösbar mit dem Behälter oder der Vorrichtung verbindbar. Bevorzugt ist zusätzlich eine Einrichtung zum Anlegen eines Vakuums oder eine Ablufteinrichtung vorhanden. Durch diese Maßnahmen, oder insbesondere durch Kombination der Maßnahmen, kann der Trocknungsvorgang besonders

beschleunigt werden. Bevorzugt wird das Trocknen in einer Trockeneinrichtung durchgeführt, die ein luftdichtes Gehäuse aufweist, wie einem Trockenschrank oder einer automatisierten Arbeitsstation. Der Trocknungsvorgang kann durch Bewegung unterstützt werden, beispielsweise leichtes Rotieren der Behälter oder der Vorrichtung.

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum Verarbeiten einer biologischen Probe, umfassend die Schritte:

(e) Bereitstellen einer biologischen Probe, die in einem Verfahren der Erfindung getrocknet wurde, in mindestens einem erfindungsgemäßen Behälter und/oder einer Vorrichtung,

(f) Zugeben einer Flüssigkeit,

(g) Wiederaufnahme der biologischen Probe in der Flüssigkeit,

(h) Positionieren des Behälters oder der Vorrichtung auf einem ebenen Untergrund, so dass der erste Bereich geneigt ist und die Flüssigkeit mit der biologischen Probe in dem zweiten Bereich akkumuliert, und

(i) gegebenenfalls Entnahme der Flüssigkeit mit der biologischen Probe.

In Schritt (g) erfolgt ein Auflösen oder Resuspendieren der biologischen Probe. Zur Wiederaufnahme der biologischen Probe kann jede geeignete Flüssigkeit eingesetzt werden, wie Lösungsmittel oder Wasser, Puffer oder wässrige Reaktionsgemische. In Schritt (h) wird der erste Bereich des Bodens geneigt. Insgesamt wird die vorher getrocknete biologische Probe in einer Flüssigkeit wiederaufgenommen, wonach sie von dem geneigten ersten Bereich in dem zweiten Bereich fließt und in der Vertiefung akkumuliert. Die Flüssigkeit kann aus der Vertiefung besonders einfach durch Pipettieren entnommen werden. Gerade bei kleinen Probevolumen ist es vorteilhaft, wenn sich diese in einer Vertiefung ansammeln, um Flüssigkeitsverluste zu verringern.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird das Verfahren automatisiert durchgeführt. Dies bedeutet, dass mindestens teilweise

Arbeitsschritte, wie das Pipettieren oder das Aufheizen, von Automaten und/oder Robotern durchgeführt werden. Bevorzugt wird das Verfahren vollständig automatisiert durchgeführt.

Die Behälter oder Vorrichtungen können mit Kennzeichnungen ausgestattet sein, um die Probenidentifizierung zu ermöglichen, wie Barcodierungen. Die Behälter können dann in ein Labor-Informationsmanagementsystem integriert werden.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Trocknen, Aufbewahren, Resuspendieren und/oder Verarbeiten einer biologischen Probe.

Durch die Erfindung wird die zugrunde liegende Aufgabe gelöst. Es werden Verfahren und Vorrichtungen bereitgestellt, die es ermöglichen, biologische Proben schnell zu trocknen, effektiv wieder in Flüssigkeit aufzunehmen, und auf einfache Weise zu entnehmen. Die Verfahren und Vorrichtungen sind einfach durchführbar und in Routineverfahren in biochemischen und diagnostischen Labors integrierbar. Sie können auch in üblichen automatisierten Verfahren eingesetzt werden.

Abbildung 1 zeigt schematisch einen erfindungsgemäßen Behälter 1.
Abbildung 2 zeigt schematisch und nicht maßstabsgetreu einen erfindungsgemäßen Behälter 1 in der Aufsicht.
Abbildung 3 zeigt eine Vorrichtung aus vier Behältern 1 in einer Reihe.
Abbildung 4 zeigt eine Vorrichtung 9 aus 24 Behältern 1, die in einem zweidimensionalen Array angeordnet sind, sowie einen Behälter 1 in der Aufsicht und einen Behälter 1, in den Flüssigkeit pipettiert wird.
Abbildung 5b zeigt eine Vorrichtung 9 aus vier erfindungsgemäßen Behältern 1 in Reihe mit einem geneigten ersten Bereich auf einem geneigten Heizblock 11.
Abbildung 5a zeigt schematisch die Zugabe von Flüssigkeit mit einer Pipette.
Abbildung 5c zeigt schematisch die Entnahme von Flüssigkeit mit einer Pipette.

Abbildung 6 zeigt ein Gerät zum Trocknen von Vorrichtungen 9 auf Mikrotiterarrays mit einem geneigten Heizblock 11 und Einrichtungen 14, 15 zum Trocknen.

Abbildung 7 zeigt graphisch Ergebnisse der Ausführungsbeispiele. Aufgetragen ist für jedes der 12 Beispiele die bestimmte Menge DNA in µg, wobei der jeweils erste Balken (A, Querstriche) dem Trocknen mit Heizblock entspricht, der jeweils zweite Balken (B, weiß) dem Trocknen mit Heizplatte entspricht und der jeweils dritte Balken (C, schwarz) dem Trocknen in der Sterilbank mit Luftzug entspricht.

Nachfolgend wird die Erfindung anhand der Abbildungen erläutert. Die Abbildungen sind schematisch und zeigen beispielhaft Ausführungsformen der Erfindung. Sie sind daher nicht als einschränkend anzusehen.

In Abbildung 1 ist schematisch ein erfindungsgemäßer Behälter 1 mit einem Boden 2, einer Seitenwand 3 und einer Öffnung 4 dargestellt. Der Behälter weist eine Einrichtung 10 zum Fixieren und Abstellen in Form von vier Standbeinen auf. Der Behälter ist in der Normalposition in aufrechter Lage gezeigt, bei der er auf einem ebenen Untergrund abgestellt (oder fixiert) ist. Der Boden 2 weist einen ersten Bereich 5 auf, der geneigt ist. Zusätzlich ist ein tieferer zweiter Bereich 6 vorhanden, der eine Vertiefung 8 aufweist. Die Vertiefung ist seitlich angeordnet und liegt nicht in der Mitte des Bodens. Somit kann in der Normalposition Flüssigkeit in dem Behälter vom ersten Bereich zum zweiten Bereich und dort in die Vertiefung fließen und dort akkumulieren. Der erste Bereich 5 des Bodens ist flächig ausgestaltet. Der erste Bereich ist über einen gewölbten Übergangsbereich mit der Seitenwand 3 verbunden. Die Verbindung des zweiten Bereichs 6 mit der Seitenwand ist teilweise ebenfalls gewölbt.

Abbildung 2 zeigt einen Behälter 1 gemäß Abbildung 1 in der Aufsicht. Die Darstellung ist nicht maßstabsgetreu und die Maße entsprechen nicht genau denen in Abbildung 1. Insbesondere ist in Abbildung 1 der erste Bereich kleiner als in Abbildung 2. Die Seitenwand 3 des Behälters ist senkrecht. Der Boden ist

unterteilt in den ersten Bereich 5, der im Wesentlichen eine Ebene bildet, und den zweiten Bereich 6, der eine Vertiefung 8 aufweist. Der erste Bereich erstreckt sich über die Mitte des Bodens 7, während der zweite Bereich seitlich an den ersten Bereich anschließt.

Abbildung 3 zeigt eine Vorrichtung 9 aus vier Behältern 1, die in einer Reihe angeordnet sind und dabei gleich ausgerichtet sind. Die Behälter können dabei lösbar oder fest miteinander verbunden sein.

Abbildung 4 zeigt eine Vorrichtung 9, bei der 24 Behälter 1 zu einem zweidimensionalen Array verbunden sind. Die Behälter sind bevorzugt fest miteinander verbunden. Die Behälter 1 sind gleich ausgerichtet, so dass Flüssigkeiten bei Veränderungen der Vorrichtung 9 in den Behältern auf gleiche Weise reagieren. Da die Vorrichtung 9 aus 24 Behältern 1 mit jeweils vier gleichmäßig verteilten Standbeinen besteht, kann die Vorrichtung in eine 96er Mikrotiterplatte eingesetzt werden, wobei jedes der 96 Standbeine in eine Öffnung der Mikrotiterplatte einrastet oder darauf aufliegt. Oberhalb des Arrays ist schematisch ein einzelner Behälter 1 vergrößert und in der Aufsicht mit Seitenwänden 3, die in diesem Fall geneigt sind, und einer Vertiefung 8 in dem zweiten Bereich schematisch dargestellt. Rechts von dem Array ist schematisch und vergrößert ein einzelner Behälter 1 gezeigt, bei dem mit einer Pipette 12 Flüssigkeit aus der Vertiefung 8 entnommen wird.

Abbildung 5b zeigt eine Vorrichtung 9 aus vier Behältern 1 in Reihe, die einen in Normalposition geneigten ersten Bereich aufweisen. Die Vorrichtung ist auf einem geneigten Heizblock 11 abgestellt. Dies führt dazu, dass der erste Bereich horizontal liegt, da die Neigungswinkel des flächigen ersten Bereichs und des Heizblocks sich insgesamt ausgleichen. Die Flüssigkeit 13 verteilt sich somit gleichmäßig auf dem flächigen ersten Bereich und kann effektiv getrocknet werden. In Abbildung 5a ist schematisch ein einzelner Behälter der Vorrichtung 9 dargestellt, in den mit einer Pipette 12 Flüssigkeit 13 pipettiert wird. In

Abbildung 5c ist schematisch ein einzelner Behälter 1 der Vorrichtung 9 in Normalposition, also auf einem ebenen Untergrund, gezeigt. Die Flüssigkeit 13 ist in der Vertiefung akkumuliert und wird mit einer Pipette 12 aus der Vertiefung entnommen.

Abbildung 6 zeigt eine Trockeneinrichtung 16 mit einem Gehäuse 17. Die Trockeneinrichtung weist einen schrägen Heizblock 11 auf. Dieser enthält Ausbuchtungen zum Fixieren von Vorrichtungen 9. In das Array von Einbuchtungen kann eine Vorrichtung 9 lösbar eingerastet werden. In Abbildung 6 ist eine Vorrichtung 9 aus vier Behältern in Reihe dargestellt, die in die Einrichtung 10 zum Fixieren eingesetzt ist. Die Behälter weisen geneigte erste Bereiche auf, die durch die ausgleichende Neigung des Heizblocks horizontal ausgerichtet sind. Dadurch ermöglicht die Trockeneinrichtung 16 ein effizientes Trocknen der biologischen Proben. Das Trocknen wird durch eine Niederdruckeinrichtung 15, die eine Vakuumpumpe sein kann, und durch eine Belüftungseinrichtung 14, die ein Ventilator oder eine Umlufteinrichtung sein kann, unterstützt.

Ausführungsbeispiele

Die folgenden Ausführungsbeispiele 1 bis 12 beschreiben Versuche zum Trocken einer biologischen Probe und Wiederaufnehmen in Flüssigkeit in verschieden ausgestalteten Behältern. Als biologische Probe wurde in allen Beispielen Blut eingesetzt. Das Blut wurde in definierten und unterschiedlichen Mengen in drei verschiedene Behälter, die typischerweise in biochemischen und diagnostischen Labors eingesetzt werden, gegeben, und mit jeweils 3 Trocknungseinrichtungen getrocknet. Angaben zu den Behältertypen und Trocknungseinrichtungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Bedingungen und Ergebnisse der Beispiele 1 bis 12

Probe		Behälter		Trocknung		
Nr	**Menge µl**	**Boden**	**Standard**	**Heizblock 45°**	**Heizplatte**	**Sterilbank, Luftzug**
1	100	flach	24 well Kulturplatte	2	2,5	12
2	200	flach	24 well Kulturplatte	3	4	16
3	300	flach	24 well Kulturplatte	8	5	20
4	400	flach	24 well Kulturplatte	36	36	36
5	50	flach	48 well Kulturplatte	2	2	12
6	100	flach	48 well Kulturplatte	2,5	2,5	16
7	150	flach	48 well Kulturplatte	5	4	20
8	200	flach	48 well Kulturplatte	6	4,5	24
9	10	konisch	96 well EMT Platte	1,5	1,5	8
10	25	konisch	96 well EMT Platte	3	4	12
11	50	konisch	96 well EMT Platte	8	8	18
12	80	konisch	96 well EMT Platte	12	15	24

In den Beispielen 1 bis 4 wurde Blut in den angegebenen Mengen in die Behälter von üblichen 24er Kulturplatten mit flachem Boden gegeben. In den Beispielen 5 bis 8 wurde Blut in übliche Behälter von 48er Kulturplatten mit flachem Boden gegeben. In den Beispielen 9 bis 12 wurde Blut in übliche Behälter von 96er EMT Platten (Elution Microtubes CL, Marke der Firma Qiagen, NL) gegeben, die sich zum Boden hin konisch verjüngen. Die Form ähnelt „Eppendorf-Gefäßen“. In jedem Beispiel wurden jeweils drei Proben bereitgestellt, die mit unterschiedlichen Trocknungseinrichtungen getrocknet wurden, nämlich auf einem geneigten Heizblock, der auf 45°C temperiert war, auf einer Heizplatte und in eine Sterilbank mit Ablufteinrichtung bei ca. 20°C. Es wurde die Zeitdauer gemessen, bis die Probe völlig eingetrocknet war, also bis sich durchgängig ein trockener Schorf auf dem Behälterboden bildete. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 angegeben. Anschließend wurde der feste Rückstand in jeweils 200 µl Wasser wieder aufgenommen. Die DNA wurde mit einem Kit isoliert (QIAamp Sample-Prep;

Marke der Firma Qiagen, NL) und die Menge DNA spektroskopisch und mittels Gelelektrophorese analysiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 7 gezeigt. Die Menge isolierter DNA in Mikrogramm ist in Form von Balken für die Ausführungsbeispiele 1 bis 12 angegeben. Jedem Ausführungsbeispiel sind drei Proben zugeordnet, wobei der erste Balken (A, Querstriche) der Trocknung mit Heizblock, der zweite Balken (B, weiß) dem Trocknen mit Heizplatte und der dritte Balken (C, schwarz) dem Trocknen in der Sterilbank mit Luftzug entspricht.

Die Ergebnisse zeigen, dass das Trocknen in den Behältern mit flachem Boden im Vergleich deutlich schneller erfolgte als in dem Behälter mit konischem Boden. So waren beispielsweise in Ausführungsbeispiel 12 selbst für relativ geringe Mengen von 80 µl in verschiedenen Trocknungsverfahren Trocknungsdauern von 12 bis 24 Stunden erforderlich. Mit Behältern mit flachem Boden waren dagegen sogar bei deutlich größeren Flüssigkeitsmengen, wie 200 µl, Trocknungsdauern von 2, 4, 4,5 oder 6 Stunden ausreichend (Beispiele 2, 8). Mit der 24er Kulturplatte ließ sich dagegen erst eine Probe mit 400 µl Blut nicht mehr effizient trocknen. Auch nach 36 Stunden wurde keine vollständige Trocknung beobachtet. Übliche Behälter mit sich nach unten verjüngendem Boden sind also vergleichsweise wenig geeignet, um biologische Proben effizient zu trocknen.

Bei der Wiederaufnahme der getrockneten Proben in Flüssigkeit zeigten sich für die verschiedenen Behälter deutliche Unterschiede. In den Behältern mit konischem Boden konnte das eingetrocknete Blut in den Ausführungsbeispielen 9 und 10, gemäß denen 10 bzw. 25 µl Blut eingetrocknet waren, gut resuspendiert werden. Dagegen war eine Rücklösung der eingetrockneten Rückstände bei den Beispielen 11 und 12 aus 50 oder 80 µl Blut nicht möglich, da der Rückstand als Klumpen am Boden in der Vertiefung festklebte. Bei den Beispielen 9 bis 12 erfolgte das Rücklösen für 30 Minuten mit Wasser bei einer Temperatur von 56°C unter Schütteln. Nach Lyse in Puffer AL (hochchaotroper Lysepuffer, Firma Qiagen, NL) bei 56°C für 30 Minuten konnte auch in Ausführungsbeispiel 11 die

Probe gelöst werden. Die Proben aus Ausführungsbeispiel 12 konnten auf diese Art auch gelöst werden mit Ausnahme der im Heizblock eingetrockneten Probe.

Mit der 24er Kulturplatte mit flachem Boden wurde mit Wasser (30 Minuten, 56°C) eine gute Rücklösung bei den Ausführungsbeispiele 1 und 2 beobachtet. In den Ausführungsbeispiele 3 und 4 wurde der Rückstand teilweise gelöst und verblieb teilweise als fester Film auf dem Boden, insbesondere bei den Proben, die mit Heizplatte getrocknet wurden. Selbst bei Lyse mit AL (56°C, 30 Minuten) konnte der Rückstand für die Beispiele 3 und 4 nicht vollständig rückgelöst werden. Bei den Beispielen 5 bis 8 mit 48er Kulturplatte wurde eine gute Rücklösung in Wasser (30 Minuten, 56°C) für die Beispiele 5 und 6 beobachtet, bei den Beispielen 7 und 8 aber nur eine teilweise Auflösung. Nach Lyse mit AL (56°C, 30 Minuten) konnte der Rückstand bei allen Proben wieder gelöst werden, wobei bei Beispiel 8 an den Rändern ein kleiner, nicht lösbarer Rückstand verblieb.

Allgemein wurde beobachtet, dass die Wiederaufnahme in Flüssigkeit bei den Ausführungsbeispielen 9 bis 12 dadurch erleichtert war, dass die Böden keine Kanten aufwiesen, sondern nur Rundungen. Bei dem Proben 1 bis 8 wurde beobachtet, dass die Wiederaufnahme in Flüssigkeit an den unteren Kanten, die den flachen Boden mit den Seitenwänden verbanden, erschwert war und zum Teil nur mit besonderem Aufwand möglich war. Die Probleme resultieren daher, dass Flüssigkeit sich in solchen kantigen Bereichen ansammeln, da dort eine bessere Anhaftung an die Wände möglich ist. Dieses Phänomen führt dazu, dass sowohl das Trocknen als auch das Wiederaufnehmen der Flüssigkeit in den Kanten- und Eckbereichen erschwert wird.

Insgesamt zeigen die Versuche, dass Behälter mit flachem Boden das Trocknen und die Wiederaufnahme in Flüssigkeit erleichtern. Die quantitative Entnahme der Flüssigkeit nach dem Wiederauflösen ist aber problematisch, da die Probe nicht an einer Stelle akkumuliert vorliegt. Außerdem können Kanten und Ecken in Randbereiche zu Problemen beim Trocknen und Wiederaufnehmen führen und

die Ausbeute beeinträchtigen. Behälter mit konischem Boden sind dagegen wenig geeignet, um biologische Proben zu trocknen. Auch die Wiederaufnahme in Flüssigkeit ist bereits bei relativ kleinen Probenmengen problematisch. Die bodenseitige Vertiefung erleichtert aber die Entnahme von Flüssigkeiten.

5

PATENTANSPRÜCHE

1. Behälter (1) zum Verarbeiten und Aufbewahren biologischer Proben, der einen Boden (2), eine Seitenwand (3) und eine Öffnung (4) aufweist, wobei der Behälter ein Fassungsvermögen von 100 µl bis 5000 µl aufweist,
wobei der Behälter oben eine Öffnung (4) aufweist,
wobei der Boden (2) einen ersten Bereich (5) aufweist, der im Wesentlichen eine Ebene bildet und sich über die Mitte (7) des Bodens erstreckt, und
wobei der Boden einen zweiten Bereich (6) aufweist, der seitlich an den ersten Bereich angrenzt, und der eine Vertiefung (8) aufweist.

2. Behälter gemäß Anspruch 1, wobei der erste Bereich (5) 40% bis 95% des Bodens ausmacht und/oder mindestens zweifach größer ist als der zweite Bereich (6).

3. Behälter gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der erste Bereich (5) geneigt ist.

4. Behälter gemäß Anspruch 3, wobei der Neigungswinkel des ersten Bereichs (5) zwischen 10° und 45° ist.

5. Behälter gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Behälter in Innenraum keine Ecken und Kanten aufweist, und/oder
wobei die Seitenwände mit dem Boden über einen konkav gewölbten Übergangsbereich verbunden sind.

6. Behälter gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, der aus Kunststoff besteht und/oder der einen Boden (2) aufweist, der auf der Innenseite strukturiert ist.

7. Behälter gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, der zusätzlich mindestens eine Einrichtung (10) zum Fixieren und/oder Abstellen aufweist, die unterhalb des Bodens (2) angeordnet ist, insbesondere in Form von Standbeinen.

8. Behälter gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Behälter lösbar mit einer Mikrotiterplatte verbindbar ist, insbesondere über die Einrichtung (10) zum Fixieren.

9. Vorrichtung (9) für biologische Proben, umfassend mindestens zwei, bevorzugt 4 bis 96 Behälter (1) gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Behälter (1) gleich ausgerichtet und miteinander verbunden sind.

10. Vorrichtung gemäß Anspruch 9, wobei die Behälter (1) in Reihen und/oder zweidimensionalen Arrays miteinander verbunden sind, und/oder
wobei die Vorrichtung in eine Mikrotiterplatte einsatzbar und löslich fixierbar ist, so dass jeder Behälter (1) auf einer oder mehreren Vertiefungen der Mikrotiterplatte positioniert ist.

11. Kit zum Trocknen und Transportieren von biologischen Proben, umfassend mindestens einen Behälter (1) und/oder eine Vorrichtung (9) gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche und einen Heizblock (11), dessen Oberfläche geneigt ist, wobei der Neigungswinkel dem Neigungswinkel des ersten Bereichs (5) entspricht.

12. Verfahren zum Trocknen einer biologischen Probe, umfassend die Schritte:
    (a) Bereitstellen eines Behälters (1) und/oder einer erfindungsgemäßen Vorrichtung (9) gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, der/die einen geneigten ersten Bereich (5) aufweist,

(b) Positionieren des Behälters (1) oder der Vorrichtung (9) auf einem geneigten Untergrund, der im Wesentlichen den gleichen Neigungswinkel aufweist wie der geneigte erste Bereich (5), so dass der erste Bereich (5) horizontal ausgerichtet ist,

(c) Zugeben einer Flüssigkeit, enthaltend eine biologischen Probe, mindestens auf den ersten Bereich (5), und

(d) Trocknen der Flüssigkeit mit der biologischen Probe, gegebenenfalls unter Erwärmen des Behälters oder der Vorrichtung, unter Erhalt einer getrockneten biologischen Probe, die mindestens teilweise auf dem ersten Bereich (5) positioniert ist.

13. Verfahren zum Verarbeiten einer biologischen Probe, umfassend die Schritte:

(e) Bereitstellen einer biologischen Probe, die in einem Verfahren gemäß Anspruch 12 getrocknet wurde, in mindestens einem Behälter (1) und/oder einer Vorrichtung (9) gemäß den Ansprüchen 1 bis 10,

(f) Zugeben einer Flüssigkeit,

(g) Wiederaufnahme der biologischen Probe in der Flüssigkeit,

(h) Positionieren des Behälters oder der Vorrichtung auf einem ebenen Untergrund, so dass der erste Bereich (5) geneigt ist und die Flüssigkeit mit der biologischen Probe in dem zweiten Bereich (6) akkumuliert, und

(i) gegebenenfalls Entnahme der Flüssigkeit mit der biologischen Probe.

14. Behälter, Vorrichtung oder Verfahren gemäß mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die biologische Probe ausgewählt ist aus Körperflüssigkeiten, Geweben, Zellen, biologischen Molekülen, wie Nukleinsäuren, Proteinen, Polysacchariden und Lipiden, sowie Gemischen oder Fraktionen davon.

15. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zum Trocknen, Aufbewahren, Resuspendieren und/oder Verarbeiten einer biologischen Probe.

Abb. 1

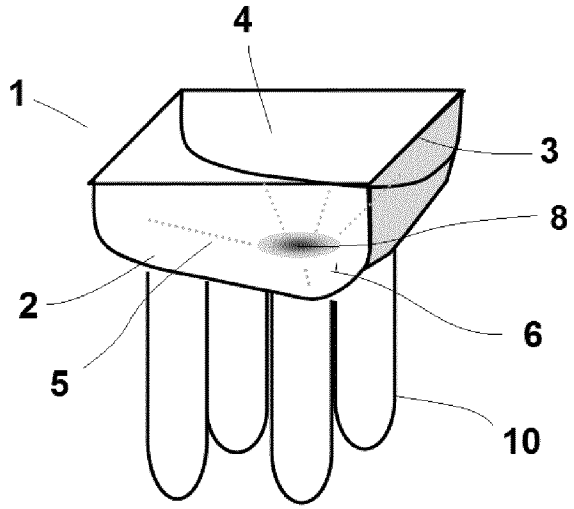


Abb. 2

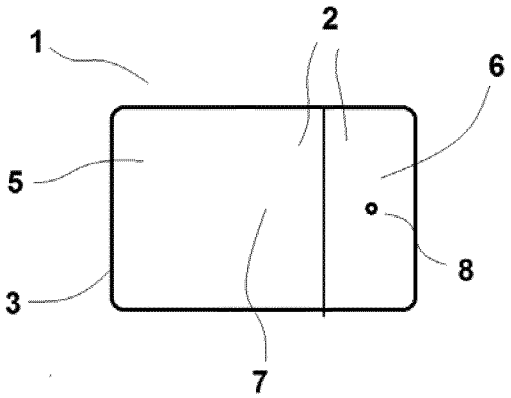


Abb. 3

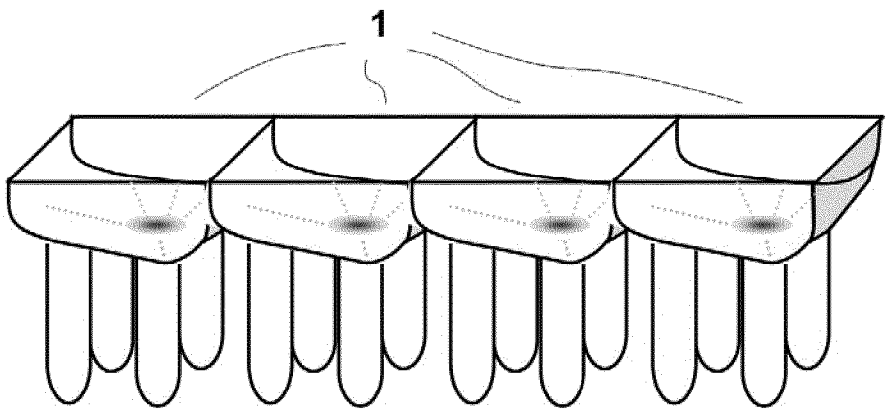


Abb. 4

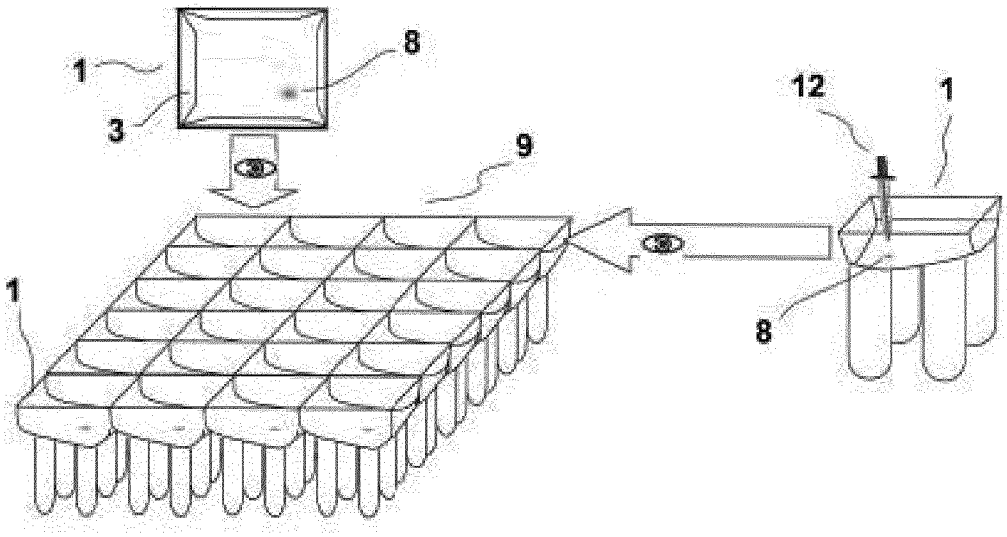
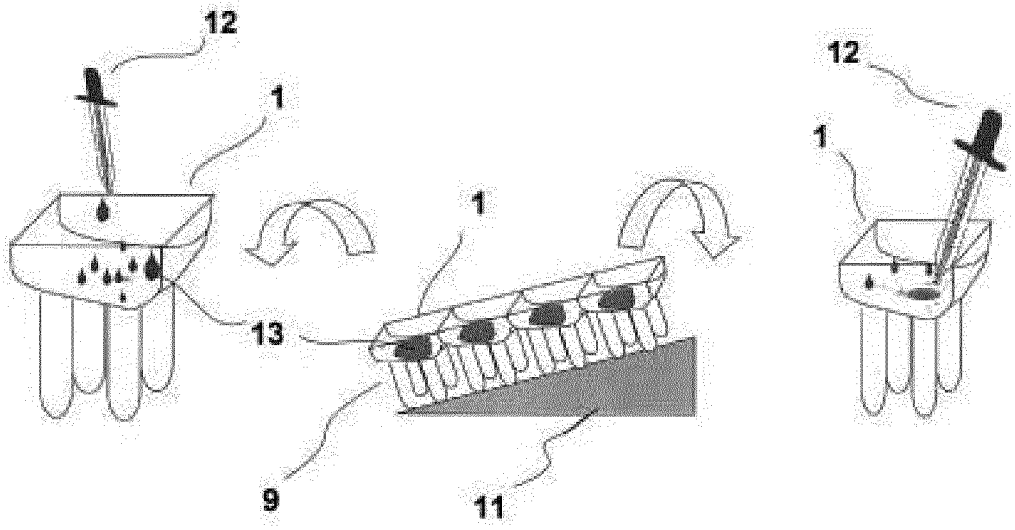


Abb. 5



a) b) c)

Abb. 6

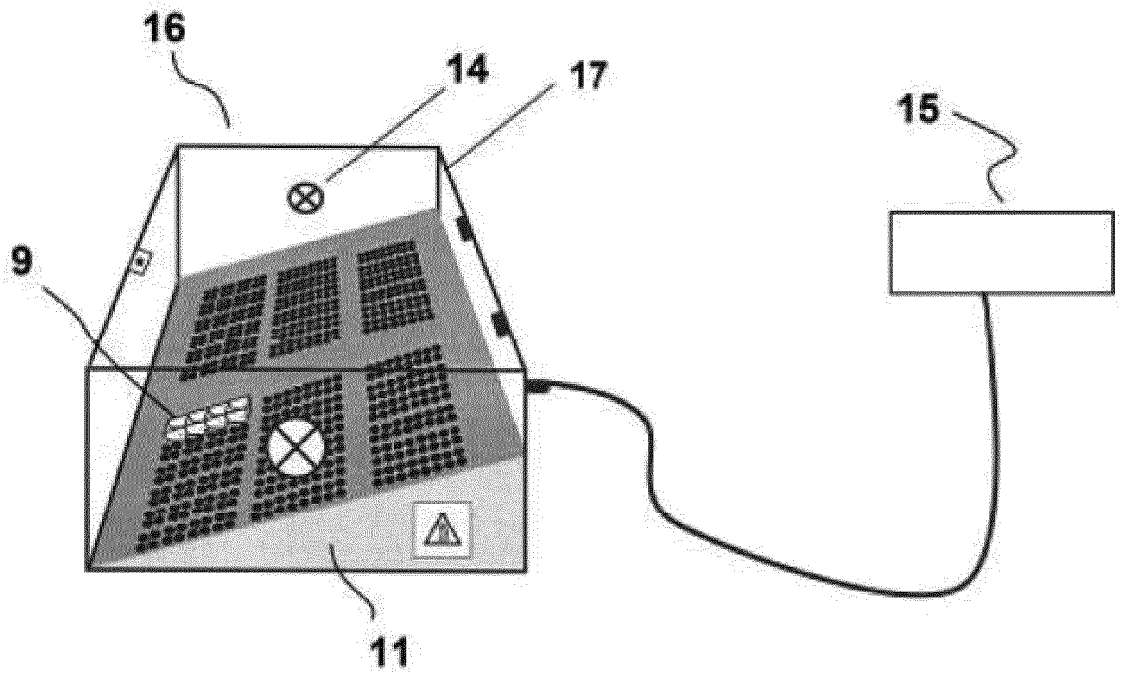
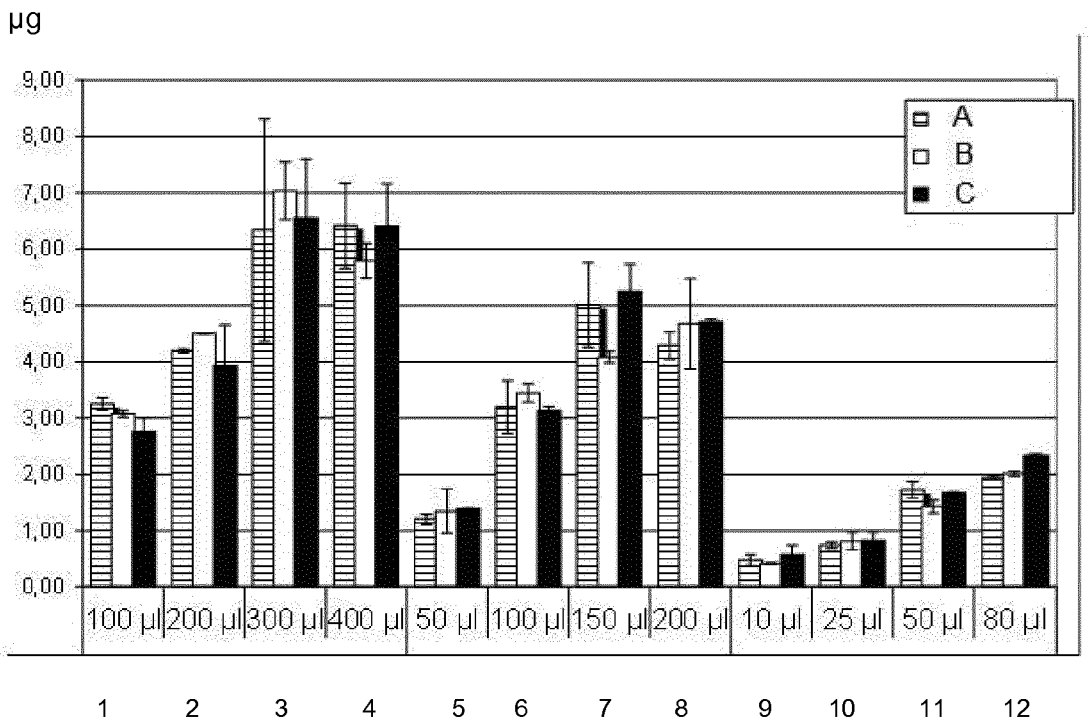

16
14
17
15
9
11

Abb. 7


µg
9,00
8,00
7,00
6,00
5,00
4,00
3,00
2,00
1,00
0,00
A
B
C
100 µl
200 µl
300 µl
400 µl
50 µl
100 µl
150 µl
200 µl
10 µl
25 µl
50 µl
80 µl
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/055282

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. B01L3/00 B01L7/00 B01L9/00 B01D3/02
ADD. G01N1/40

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
B01D B01L G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 44 19 971 A1 (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER [DE]) 14 December 1995 (1995-12-14) column 3, line 59 - column 4, line 25; claims; figure 1 column 5, lines 7-10; figure 4	1-11,14, 15
X	US 3 902 477 A (GERARDE HORACE W) 2 September 1975 (1975-09-02) abstract column 1, line 54 - line 65; claim 1; figure 1	1,14,15
X	US 2004/115099 A1 (SMITH JAMES C [US]) 17 June 2004 (2004-06-17) paragraph [0027]; figures 1,2	1

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 May 2016	27/05/2016

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Veefkind, Victor

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/055282

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013/037059 A1 (STAFFORD SIMON [GB]) 14 February 2013 (2013-02-14) figures 5A,8A,23C -----	1,2,6,9, 11,14,15
X	WO 00/45956 A1 (BUECHI LAB TECH [CH]; FREYDL ERNST [CH]; TAUER ANDREAS [CH]; ZIOLKO TH) 10 August 2000 (2000-08-10) page 1; claims; figure 1 -----	1,12,13

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2016/055282

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4419971 A1	14-12-1995	NONE	
US 3902477 A	02-09-1975	NONE	
US 2004115099 A1	17-06-2004	NONE	
US 2013037059 A1	14-02-2013	AU 2010277393 A1	23-02-2012
		CA 2769552 A1	03-02-2011
		CN 102665913 A	12-09-2012
		DK 2459313 T3	04-05-2015
		EP 2459313 A2	06-06-2012
		GB 2472321 A	02-02-2011
		US 2013037059 A1	14-02-2013
		WO 2011012905 A2	03-02-2011
WO 0045956 A1	10-08-2000	AT 251947 T	15-11-2003
		DE 50004067 D1	20-11-2003
		EP 1025905 A1	09-08-2000
		EP 1150773 A1	07-11-2001
		JP 2002536157 A	29-10-2002
		WO 0045956 A1	10-08-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2016/055282

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. B01L3/00 B01L7/00 B01L9/00 B01D3/02
ADD. G01N1/40

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
B01D B01L G01N

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 44 19 971 A1 (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER [DE]) 14. Dezember 1995 (1995-12-14) Spalte 3, Zeile 59 - Spalte 4, Zeile 25; Ansprüche; Abbildung 1 Spalte 5, Zeilen 7-10; Abbildung 4 -----	1-11,14, 15
X	US 3 902 477 A (GERARDE HORACE W) 2. September 1975 (1975-09-02) Zusammenfassung Spalte 1, Zeile 54 - Zeile 65; Anspruch 1; Abbildung 1 -----	1,14,15
X	US 2004/115099 A1 (SMITH JAMES C [US]) 17. Juni 2004 (2004-06-17) Absatz [0027]; Abbildungen 1,2 -----	1

-/--

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen [X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
18. Mai 2016	27/05/2016

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Veefkind, Victor

1

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 2013/037059 A1 (STAFFORD SIMON [GB]) 14. Februar 2013 (2013-02-14) Abbildungen 5A,8A,23C -----	1,2,6,9, 11,14,15
X	WO 00/45956 A1 (BUECHI LAB TECH [CH]; FREYDL ERNST [CH]; TAUER ANDREAS [CH]; ZIOLKO TH) 10. August 2000 (2000-08-10) Seite 1; Ansprüche; Abbildung 1 -----	1,12,13

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2016/055282

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 4419971 A1	14-12-1995	KEINE	
US 3902477 A	02-09-1975	KEINE	
US 2004115099 A1	17-06-2004	KEINE	
US 2013037059 A1	14-02-2013	AU 2010277393 A1	23-02-2012
		CA 2769552 A1	03-02-2011
		CN 102665913 A	12-09-2012
		DK 2459313 T3	04-05-2015
		EP 2459313 A2	06-06-2012
		GB 2472321 A	02-02-2011
		US 2013037059 A1	14-02-2013
		WO 2011012905 A2	03-02-2011
WO 0045956 A1	10-08-2000	AT 251947 T	15-11-2003
		DE 50004067 D1	20-11-2003
		EP 1025905 A1	09-08-2000
		EP 1150773 A1	07-11-2001
		JP 2002536157 A	29-10-2002
		WO 0045956 A1	10-08-2000