

(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
23. Mai 2019 (23.05.2019)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2019/096407 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

B01L 3/00 (2006.01) *G01N 35/00* (2006.01)
B01L 3/02 (2006.01)

Uerikon (CH). **QUINTEL, Harald**; Bächlistrasse 10, 8266
Steckborn (CH).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2017/079622

(74) **Anwalt: IRSCH, Manfred**; Intellectual Property Services
GmbH, Langfeldstrasse 88, 8500 Frauenfeld (CH).

(22) Internationales Anmeldedatum:
17. November 2017 (17.11.2017)

(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, DE, DJ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN,
KP, KR, KW, 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.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(71) **Anmelder: HOMBRECHTIKON SYSTEMS EN-
GINEERING AG** [CH/CH]; Garstligweg 6, 8634 Hom-
brechtikon (CH).

(72) **Erfinder: HASSLER, Kai**; Zihlmattweg 17, 6005 Luzern
(CH). **LUTZE, Konstantin**; Mockenwiesstrasse 36, 8713

(54) **Title:** DEVICE AND METHOD FOR REVERSIBLY IMMOBILISING BIOMOLECULES

(54) **Bezeichnung:** VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR REVERSIBLEN IMMOBILISIERUNG VON BIOMOLEKÜLEN

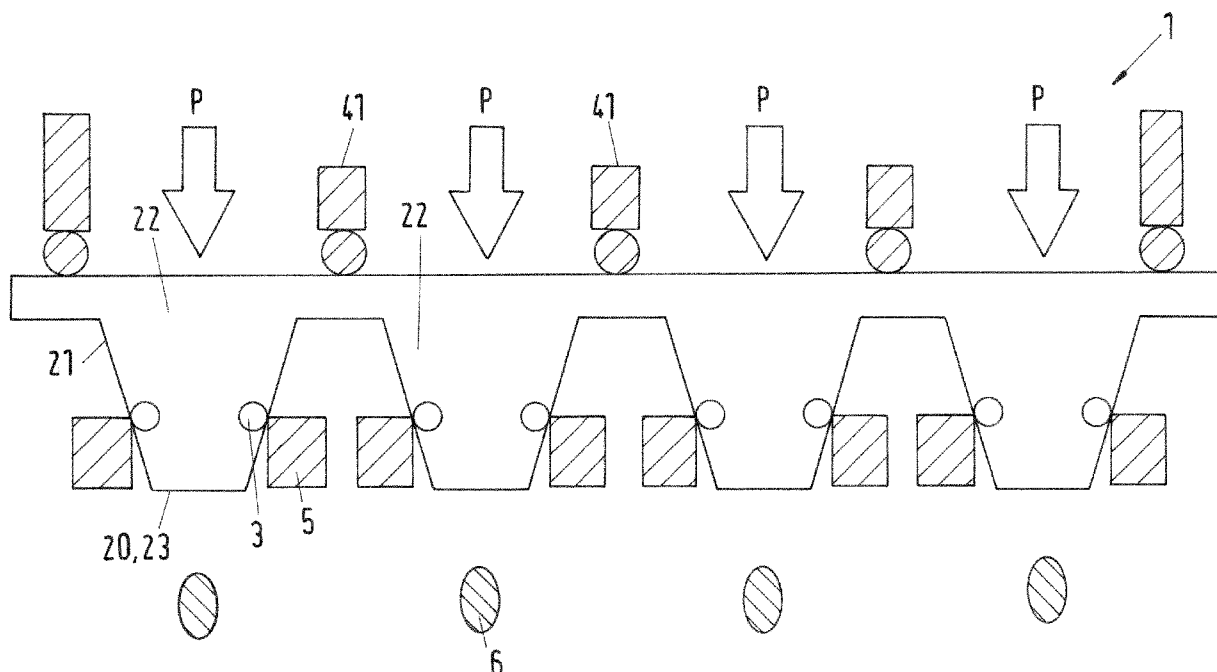


Fig.1

(57) **Abstract:** The invention relates to a device (1) for reversibly immobilising biomolecules. The device (1) comprises a container (2, 21) which can be filled with a fluid (6) containing biomolecules, and which has an opening (23) and a valve (20). The valve (20) for the controllable out-flow of the fluid (6) can be opened and closed by a closure mechanism. Magnetic particles (3) on which the biomolecules can be immobilised, in particular can be reversibly immobilised, can be arranged freely moveably in the container (2, 21). A magnet (5), for fixing the magnetic particles (3) in the container (2, 21), is arranged on the container (2, 21), wherein the fluid (6) can be removed from the container (2, 21) through the opening (23) in the open state of the valve (20).

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung (1) zur reversiblen Immobilisierung Biomolekülen. Die Vorrichtung



WO 2019/096407 A1

(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)

(1) umfasst einen mit einer Flüssigkeit (6) mit Biomolekülen befüllbaren Behälter (2, 21) mit einer Öffnung (23) und einem Ventil (20). Das Ventil (20) für das kontrollierbare Abfließen der Flüssigkeit (6) kann durch einen Verschlussmechanismus geöffnet und geschlossen werden. Magnetische Partikel (3) an welchen die Biomoleküle immobilisierbar sind, insbesondere reversibel immobilisierbar sind, können frei bewegbar im Behälter (2, 21) angeordnet werden. Ein Magnet (5), für das Fixieren der magnetischen Partikel (3) im Behälter (2, 21), ist am Behälter (2, 21) angeordnet, wobei die Flüssigkeit (6) im offenen Zustand des Ventils (20), durch die Öffnung (23), aus dem Behälter (2, 21) entfernbar ist.

Hombrechtikon Systems Engineering AG, Garstligweg 6, CH-8634**Hombrechtikon****Vorrichtung und Verfahren zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen**

- 5 Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen gemäss dem Oberbegriff des unabhängigen Anspruchs 1. Die Erfindung betrifft weiter ein Verfahren zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen gemäss dem Oberbegriff des unabhängigen Anspruchs 16. Die Erfindung betrifft weiter einen Apparat zur automatisierten Verarbeitung von
- 10 Biomolekülen umfassend eine Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen gemäss dem Oberbegriff des unabhängigen Anspruchs 18.

- Im Stand der Technik sind viele Methoden zur Aufreinigung von DNS und anderen Biomolekülen bekannt. Eine Art der Aufreinigung ist die DNS-Extraktion, bei welcher die DNS in unpolarer Umgebung ausgefällt wird. Auch
- 15 kann DNS über Zentrifugation, z.B. nach einem Zellaufschluss gereinigt werden oder über elektrophoretische Methoden.

- Biomoleküle können auch durch Immobilisierung auf einem unlöslichen Träger synthetisiert und gereinigt werden. Übliche Substrate um Biomoleküle zu immobilisieren sind Glas sowie anderen, weniger verbreitete Substrate wie
- 20 Gold, Platin, Oxide, Halbleiter und diverse Polymersubstrate.

- “Magnetic bead-based clean-up” und “magnetic bead-based normalization” sind weit verbreitete Verfahren zur Immobilisierung, Aufreinigung und Konzentrationsanpassung von Nukleinsäure. Typische Anwendungsgebiete dieser Verfahren sind die Probenvorbereitung im Kontext von DNS
- 25 Sequenzierung oder DNS Detektion (z.B. mittels PCR, englisch polymerase chain reaction, deutsch Polymerase-Kettenreaktion).

Im Stand der Technik werden die magnetischen Partikel typischerweise durch Ringmagnete, welche einen Behälter umschliessen, im Behälter gehalten. Dadurch kann eine Lösung mit Verunreinigungen abpipettiert werden, während die magnetischen Partikel mit den gebundenen Biomolekülen im Behälter verbleiben.

Die magnetischen Partikel (magnetic beads) wurden 1995 am Whitehead Institute zu Aufreinigung von PCR Produkten entwickelt. Die magnetischen Partikel sind paramagnetisch und können z.B. aus Polystyrol bestehen, welches mit Eisen beschichtet ist. Auf dem Eisen können dann verschiedene Moleküle mit Carboxylgruppen angebracht sein. Diese Carboxylgruppen können die DNS-Moleküle reversibel binden. Dadurch werden die DNS-Moleküle immobilisiert.

Verfahren mit magnetischen Partikeln umfassen meist folgende Schritte. Zuerst werden die PCR-Produkte an die magnetischen Partikel gebunden. Anschliessend werden die magnetischen Partikel mit den angehefteten PCR-Produkten von Verunreinigungen getrennt (dieser Schritt wird z.B. durch abpipettieren der Lösung vom Feststoff realisiert). Dann werden die magnetischen Partikel mit den angehefteten PCR-Produkten gewaschen. Nach dem Waschen werden die PCR-Produkte von den magnetischen Partikeln eluiert und auf eine neue Platte transferiert.

Bei vollautomatisierten Prozessen werden nach dem Einbringen des Ausgangsmaterials in einem Isolationsprozess die notwendigen Reagenzien automatisch zur Probe pipettiert und mittels Pipettenspitze wieder entfernt. Die Magnetpartikel-gebundenen Nukleinsäuren werden am Boden und am Rand der Kavitäten gesammelt und in Abhängigkeit der Routine durch

optimiertes Auf- und Abpipettieren wiederum in Lösung gebracht. Final werden die DNS oder die RNS für eine direkte Lagerung oder weitere Anwendungen in separate Gefäße mit Deckel eluiert.

Diese Schritte erfordern also wiederholte Zugabe und Entnahme von Flüssigkeiten bzw. Reagenzien. Dies wird typischerweise durch Pipettieren mit Einwegpipettenspitzen in Mikrotiterplatten (96 Proben oder mehr) bewerkstelligt. Diese Verfahren haben also den grossen Nachteil, dass sehr viele Pipettenspitzen verbraucht werden, da diese nach jedem Schritt gewechselt werden müssen.

10

Weiterhin sind aus dem Stand der Technik verschiedene Dosierverfahren bekannt. Zum Beispiel die I-DOT Technologie („Immediate Drop on Demand Technology“) von Dispensix, welche nur ein Dispensing-System ist. Dieses System zum Flüssigkeitsspenden basiert auf einer Mikrotiterplatte mit sogenannten „wells“(Vertiefungen), welche an deren Unterseite Öffnungen von einigen Mikrometern Durchmesser aufweisen. Die Flüssigkeit wird durch Kapillarkräfte in den Vertiefungen gehalten. Durch einen wohl-definierten Druckpuls von oben auf eine flüssigkeitsgefüllten Vertiefungen bildet sich ein Tropfen genauen Volumens, welcher durch die unteren Öffnungen der Vertiefungen ausgegeben wird. Somit können zwar genaue Flüssigkeitsmengen im Nanoliterbereich ausgegeben werden, aber ein Dispensing-System bietet keine Möglichkeit zur Aufreinigung von Biomolekülen.

15

20

25

Eine Dispensing Vorrichtung ist auch aus der US 8,877,145 B2 bekannt. Bei der Vorrichtung wird eine Flüssigkeit durch eine Kapillare gehalten, welche über ein Flüssigkeitsreservoir verfügt. Durch Anbringen eines hydraulischen Drucks werden die Kapillarkräfte überwunden und eine genaue Flüssigkeitsmenge kann ausgegeben werden.

30

Aus der US 4,111,754 ist eine Vorrichtung bekannt, bei welcher in einer Kapillare eine Plastikstruktur zur Oberflächenvergrößerung angebracht ist. In dieser Kapillare wird die Flüssigkeit durch die Kapillarkräfte gehalten und Antigene oder Antikörper können an die Plastikstruktur anhaften. So können
5 die Antigene oder Antikörper auf der Plastikoberfläche immobilisiert werden. Durch Zugabe von Waschflüssigkeit können dann die Verunreinigungen entfernt werden. Ein Nachteil dieser Vorrichtung ist, dass die Antigene und Antikörper im Inneren der Kapillare gebunden sind und nicht mit dem Trägermaterial ausgeworfen werden können. Die Antigene und Antikörper
10 können nur eluiert werden, indem sie aus dem Behälter gelöst also wieder mobilisiert werden. Weiter kann die Oberfläche an welche die Biomoleküle angeheftet werden nur durch Ändern der Kapillare, also durch Ändern der Vorrichtung angepasst werden und bei einer Reaktion kann der Träger für die Biomoleküle nicht zu besserer Durchmischung bewegt werden, wodurch
15 auch die Reaktionszeit erhöht wird. Die beschriebene Vorrichtung ist ausserdem nicht kompatibel mit allen Aufreinigungsprotokollen, was die Integration der Vorrichtung in existierende Arbeitsabläufe erschwert

Die wesentlichen Nachteile des Standes der Technik sind einerseits, dass
20 viele Pipettenspitzen verbraucht werden und andererseits, dass die Biomoleküle an stationären Trägermaterialien befestigt werden. Somit sind die im Stand der Technik bekannten Verfahren langsam, kostenintensiv sowie wenig effizient.

Aufgabe der Erfindung ist es daher eine Vorrichtung zur Immobilisierung von
25 Biomolekülen mittels Binden der Biomoleküle an eine feste Oberfläche, ein Verfahren zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen mittels Binden der Biomoleküle an eine feste Oberfläche und einen Apparat zur automatisierten Verarbeitung von Biomolekülen mit einer Vorrichtung zur

Immobilisierung von Biomolekülen bereitzustellen, welche die aus dem Stand der Technik bekannten nachteiligen Wirkungen vermeiden.

Die Aufgabe wird durch eine Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen mit den Merkmalen des unabhängigen Anspruchs 1, durch ein
5 Verfahren zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen mit den Merkmalen des unabhängigen Anspruchs 16 und durch einen Apparat zur automatisierten Verarbeitung von Biomolekülen umfassend eine Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung mit den Merkmalen des unabhängigen Anspruchs 18 gelöst.

10 Die abhängigen Ansprüche beziehen sich auf besonders vorteilhafte Ausführungsformen der Erfindung.

Erfindungsgemäss wird weiter ein Verfahren zur reversiblen Immobilisierung, insbesondere zur Aufreinigung, von Biomolekülen vorgeschlagen, durchgeführt mit einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung,
15 insbesondere zur Aufreinigung, von Biomolekülen. Das Verfahren kann dabei die folgenden Schritte umfassen. Magnetische Partikel und eine Flüssigkeit, insbesondere eine Flüssigkeit mit Reagenzien, werden in einem Behälter angeordnet. Biomoleküle oder Reagenzien werden an die magnetischen Partikel gebunden, insbesondere reversibel gebunden. Die magnetischen
20 Partikel werden mit einem Magneten im Behälter fixiert. Die Flüssigkeit, insbesondere die Flüssigkeit mit Verunreinigungen, wird aus der Öffnung des Behälters durch Öffnen des Ventils, insbesondere zur Aufreinigung der Biomoleküle, entfernt. Die Biomoleküle werden, z.B. mit einem Lösemittel, von den magnetischen Partikeln abgelöst. Dann können die gelösten
25 Biomoleküle durch Öffnen des Ventils aus dem Behälter entfernt werden.

Im Rahmen der Erfindung kann der Behälter über eine zweite Öffnung verfügen. Über diese zweite Öffnung kann z.B. Flüssigkeit zugeführt werden,

oder das Ventil gesteuert werden. Die zweite Öffnung kann auf der gegenüberliegenden Behälterseite von der Öffnung liegen. Das Ventil kann derart über die zweite Öffnung gesteuert werden, dass über die zweite Öffnung ein Druck auf die Flüssigkeit reguliert wird.

5

- Bei der reversiblen Immobilisierung, insbesondere der Aufreinigung, mit den magnetischen Partikeln werden Behälter verwendet, deren Vertiefungen eine (oder mehrere) Öffnungen, vorzugsweise an der Unterseite, aufweisen, welche dergestalt sind, dass sie eine Ventilfunktion besitzen oder über ein
- 10 Ventil steuerbar sind, sodass es möglich ist Flüssigkeit in der Vertiefung zu halten oder die Vertiefung durch die Öffnungen zu leeren, wobei die magnetischen Partikel durch den Magnet in der Vertiefung des Behälters gehalten werden. Ausserdem sind die Biomoleküle reversibel an die Partikel bindbar und die magnetischen Partikel können eine vergrösserte Oberfläche
- 15 im Vergleich zur Behälterwand aufweisen und können auch mitsamt gebundener Biomoleküle aus dem Behälter entfernt werden. Weiter können Biomoleküle selektiv an die Oberfläche der magnetischen Partikel gebunden werden, sodass nur eine Sorte von Biomolekülen aus einer Flüssigkeit gebunden wird.
- 20 Die Verwendung von magnetischen Partikeln hat den grossen Vorteil, dass die magnetischen Partikel einfach durch einen Magneten (z.B. Permanent- oder Elektromagnet) beziehungsweise durch ein Magnetfeld in den Vertiefungen des Behälters fixiert werden können, wodurch eine einfache Abtrennung der Flüssigkeit ermöglicht wird. Ausserdem ist es möglich, dass
- 25 der Magnet derart beweglich am Behälter angeordnet ist, dass die magnetischen Partikel während einem Reaktionsschritt im Behälter frei bewegbar sind und während eines Waschschriffs, durch ändern der Magnetposition im Behälter fixiert werden. Insbesondere kann der Magnet derart bewegbar sein, dass der Magnet in einer ersten Position am Behälter

angeordnet ist und die magnetischen Partikel fixiert und durch Bewegung des Magneten in eine zweite Position am oder um den Behälter, die magnetischen Partikel bewegbar werden.

- 5 Im Rahmen dieser Erfindung ist unter dem Begriff Biomolekül, DNS, RNS, Nukleinsäuren, Proteine, Startsequenzen für Biomoleküle; Zellen und Zellbestandteile, Monomere oder andere biologisch relevante Moleküle zu verstehen.

- 10 Ein Waschschrift ist im Rahmen der Erfindung ein Verfahrensschritt, bei welchem die Flüssigkeit aus den Behältern durch Betätigung des Ventils abgelassen wird und bei welchem so die Verunreinigungen von magnetischen Partikeln mit den angehafteten Biomolekülen abgetrennt werden. Zu einem Waschschrift kann auch Waschen mit einer Waschlösung gehören (Wasser oder andere).

- 15 Ein Reaktionsschritt ist im Rahmen der Erfindung ein Verfahrensschritt, bei welchem die an die Magnetische Partikel gebundenen Biomoleküle umgesetzt, an die Partikel gebunden, oder verlängert (Kettenverlängerung, z.B. PCR „Polymerase-Kettenreaktion“) werden.

- 20 Unter Reagenzien sind im Rahmen der Erfindung alle Verbindungen, Moleküle und Flüssigkeiten zu verstehen, welche sich zur Synthese, Aufreinigung und Immobilisierung/Mobilisierung eignen. Insbesondere Können Reagenzien auch Biomoleküle und/oder deren Monomere sein.

- 25 Eine Verunreinigung ist im Folgenden im Allgemeinen ein Stoff welcher nicht vollständig reagiert ist beziehungsweise nicht an die magnetischen Partikel gebunden ist, das Lösungsmittel, Nebenprodukte und Kontaminationen, sowie ein Gemisch von zwei oder mehrerer der vorangehend beschriebenen.

Insbesondere können Verunreinigungen auch Reagenzien oder Biomoleküle sein.

Eine Flüssigkeit kann im Rahmen der Erfindung eine Lösung sein, insbesondere ein Reaktionsgemisch aus Biomolekülen und/oder Reagenzien
5 und/oder Verunreinigungen sein.

Im Rahmen der Erfindung ist unter Aufreinigung das Entfernen von Verunreinigungen von den an den magnetischen Partikeln gebundenen Biomolekülen zu verstehen. Insbesondere kann Aufreinigung dem Entfernen der Flüssigkeit entsprechen, im speziellen dem Entfernen einer Flüssigkeit
10 nach einem Waschschrift oder dem Entfernen der Flüssigkeit zwischen Reaktionsschritten. Im Rahmen der Erfindung kann unter Aufreinigung auch die Normalisierung von Biomolekülen und das Selektieren von Biomolekülen verstanden werden.

Im Rahmen der Erfindung kann ein Verschlussmechanismus eine
15 mechanische und/oder elektrische und/oder magnetische Vorrichtung zum Verschliessen und Öffnen des Ventils sein. Es ist im Rahmen der Erfindung aber auch denkbar, dass das erfindungsgemäße Ventil eine Kapillare ist. Dann könnte ein Verschlussmechanismus ein Stoff sein, durch dessen Zugabe zur Flüssigkeit die Viskosität und/oder die Oberflächenspannung
20 dieser Flüssigkeit geändert wird. Bei einer solchen Verschlussmechanismus /Kapillaren-Kombination würde einer Druckänderung die Verringerung der Oberflächenspannung und/oder der Viskosität entsprechen.

Im Rahmen der Erfindung kann ein Druckänderer eine Vorrichtung zum Erzeugen von Druck (Flüssigkeit- und/oder Luftdruck), wie zum Beispiel eine
25 Pumpe, ein Gebläse oder ein Stempel sein. Ein Druckänderer kann aber auch eine Vorrichtung sein, welche eine Folie derart manipuliert, sodass ein Druck

auf die Flüssigkeit ausgeübt werden kann. Ein Druckänderer kann weiterhin eine Vorrichtung zum Auseinanderziehen von einem Behälter und einer Auffangvorrichtung sein umso einen, die Flüssigkeit zurückhaltenden Überdruck zu entlassen.

- 5 Die Rückhaltekraft des Ventils kann im Rahmen der Erfindung die Kapillarkraft einer Kapillare sein, der durch eine Folie erzeugte Unterdruck und allgemein ein Unterdruck, die Oberflächenspannung und/oder der Viskosität einer Flüssigkeit, ein Überdruck insbesondere ein durch ein Auffangbehälter erzeugter Überdruck, eine durch ein Filter erzeugte
- 10 Fluidbarriere, oder eine magnetisch oder mechanische Kraft eines Schliessmechanismus.

Unter Immobilisierung ist im Rahmen der Erfindung das Binden, insbesondere das reversible Binden der Biomoleküle an die magnetischen Partikel zu verstehen.

- 15 Ein magnetischer Partikel (auch „magnetic bead“) kann im Folgenden im Allgemeinen ein Partikel im Mikrometer oder im Millimeterbereich sein. Weiter kann ein magnetischer Partikel porös sein. Ein Biomolekül kann im Folgenden im Allgemeinen über Thiolgruppen und/oder Aminogruppen und/oder Hydroxygruppen und/oder Carboxylgruppen und/oder Carbonylgruppen
- 20 und/oder Estergruppen und/oder Nitrilgruppen und/oder Aminogruppen und/oder irgendwelchen anderen funktionellen Gruppen an die Oberfläche der magnetischen Partikel gebunden sein.

Ein magnetischer Partikel kann im Rahmen der Erfindung ein beschichteter Nickelpartikel sein oder irgendein anderer ferro- oder paramagnetischer

- 25 Partikel. Magnetische Partikel haben typischerweise einen, Durchmesser von ungefähr 1 Mikrometer. Unter ungefähr 1 Mikrometer ist im Rahmen der Erfindung 0,5 bis 1,5 Mikrometer, insbesondere 0,7 bis 1,3 Mikrometer im speziellen 0,9 bis 1,1 Mikrometer zu verstehen.

Ein Ventil kann im Folgenden im Allgemeinen auch ein Druckventil, ein Stromventil oder ein Rückschlagventil sein, besonders bevorzugt eine Kapillare und/oder ein Filter und/oder eine Folie und/oder ein Auffangbehälter und/oder ein magnetisch gesteuertes Ventil.

- 5 Ein Magnet kann im Rahmen der Erfindung ein Permanentmagnet und/oder ein Elektromagnet und/oder ein Supraleiter und/oder ein Ferromagnet und/oder ein Paramagnet sein. Insbesondere kann ein Magnet eine Vorrichtung sein, welche eine Magnetkraft ausübt.

- Im Rahmen der Erfindung kann ein -Messgerät ein Lumineszenz- und
10 Absorptionsmessgerät oder ein Fluoreszenzmessgerät oder ein UV-Vis-Messgerät oder ein Nanopore-basiertes Messgerät sein.

Die Vorteile der erfindungsgemässen Vorrichtung und des erfindungsgemässen Verfahrens sind:

- Drastische Reduktion des Pipettenspitzenverbrauchs
- 15 - Verkürzung der Prozesszeit (da Pipettierschritte entfallen)
- Ein Instrument basierend auf diesem Verfahren kann vergleichsweise platzsparend realisiert werden
- effizient und kostengünstig
- leicht automatisierbar
- 20 - auch für Vorrichtungen reduzierter Grösse

- erlaubt einfache Modifizierung vorhandener Maschinen
 - Biomoleküle können immobilisiert aus Probenbehälter entfernt und weiterverarbeitet werden
 - Biomoleküle können selektiv gebunden werden
- 5
- Durch Verwendung von Partikeln wird viel grössere Oberfläche erzeugt
 - Verarbeitung kleinerer Volumina
 - Keine Restvolumina
- 10
- Die Vorrichtung ist einfach in existierende (manuelle, semi-automatisierte oder automatisierte) Arbeitsabläufe integrierbar (kann auf Standardverfahren zur DNS-Aufreinigung aufbauen)
 - Kompatibel mit etablierten Partikel-basierten Aufreinigungsprotokollen, sodass die Vorrichtung leicht in existierende Arbeitsabläufe eingefügt werden kann

In der Praxis kann der Verschlussmechanismus ein Druckänderer sein, wobei

15 durch den Druckänderer ein Druck auf die Flüssigkeit derart veränderbar ist, sodass durch den Druck eine Rückhaltekraft des Ventils überwindbar ist. Somit kann das Ventil geöffnet werden. Die Kontrolle des Drucks auf die Flüssigkeit ist wichtig um die Vertiefung bei Bedarf zu leeren. Der Druck kann durch eine Druckkammer die mit den oberen Teil der Vertiefungen,

20 beziehungsweise des Behälters verbunden ist gesteuert werden (wobei der obere Teil der Teil ist, über den Druck auf die Flüssigkeit ausgeübt werden kann). Bei Verwendung einer Multiwellplate, insbesondere einer Mikrotitrierplatte, kann durch voneinander unabhängigen Druckkammern (z.B. pro Vertiefung bzw. pro Bereich der Multiwellplate eine Druckkammer)

einzelne Bereich oder Vertiefungen unabhängig mit Druck beaufschlagt werden. Hierfür kann eine Druckkammeranordnung mit unabhängigen Druckkammern mit den oberen Teil der Vertiefung, beziehungsweise des Behälters verbunden sein. Die Druckdifferenz kann auch durch Erzeugen
5 eines Unterdrucks an der Aussenseite der Öffnung erzeugt werden. Um die Druckdifferenz zwischen Innen- und Aussenbereich der Vertiefung bzw. des Behälters zu steuern, kann der obere Teil der Vertiefung, beziehungsweise des Behälters und/oder die untere Öffnung verschliessbar sein. Auch reversibles Verschliessen ist denkbar zur längeren Aufbewahrung von Proben
10 oder Reagenzien im Behälter (Eventuell reversibles Verschliessen um eine Multiwellplate, insbesondere eine Mikrotitrierplatte PCR-fähig zu machen).

Bei Verwendung eines Druckänderers entspricht das Öffnen des Ventils einer Erhöhung des Drucks auf die Flüssigkeit beziehungsweise einem erzeugten
15 Unterdruck der an der Öffnung des Behälters auf die Flüssigkeit wirkt. Das Ventil ist immer dann geschlossen wenn keine Flüssigkeit aus dem Behälter durch die Öffnung entfernenbar ist (nur wenn noch Flüssigkeit im Behälter vorhanden). Ein Druckänderer kann zum Beispiel über folgende Prinzipien wirken: Hydrostatik, Kapillardruck, Fliehkraft, Gasdruck.

20 In Ausgestaltung der Erfindung kann der Verschlussmechanismus ein hydrostatischer Druckänderer sein, wobei durch den hydrostatischen Druckänderer ein hydrostatischer Druck der Flüssigkeit durch Zugabe von Flüssigkeit in den Behälter derart erhöhbar ist, dass durch den
25 hydrostatischen Druck eine Rückhaltekraft des Ventils überwindbar ist, und somit das Ventil geöffnet werden kann. So ist es möglich einen Teil der Flüssigkeit aus dem Behälter zu entfernen, indem neue Flüssigkeit zugegeben wird, also der Füllstand des Behälters erhöht wird. Ein

hydrostatischer Druckänderer könnte somit eine Zuführvorrichtung für eine Flüssigkeit (zum Beispiel eine Waschflüssigkeit für einen Waschschrift) sein.

- In der Praxis kann durch den Verschlussmechanismus eine Polarität und/oder
- 5 Viskosität und/oder Oberflächenspannung der Flüssigkeit im Behälter veränderbar sein, sodass eine Rückhaltekraft des Ventils überwindbar ist, und somit das Ventil geöffnet werden kann. Die Polarität und/oder Viskosität und/oder Oberflächenspannung der Flüssigkeit können zum Beispiel durch
- 10 Zugabe von anderen Flüssigkeiten oder Substanzen geändert werden, oder durch Änderung des pH-Wertes. Somit könnte der Verschlussmechanismus als Zuführeinrichtung für eine Substanz (zum Beispiel Tenside für Oberflächenspannung; unpolare oder polare Flüssigkeiten; Feststoffe) oder Flüssigkeit ausgestaltet sein. Für eine Änderung der Viskosität wäre auch eine Heizvorrichtung als Verschlussmechanismus möglich.
- 15
- In Ausgestaltung der Erfindung kann der Druckänderer den Luftdruck über der Flüssigkeit und/oder an der Öffnung, insbesondere eine an der Unterseite des Behälters angeordnete Öffnung, ändern. So kann das Erzeugen eines Unterdrucks an der Öffnung, zum Abfließen der Flüssigkeit führen.
- 20 Ausserdem kann eine Erhöhung des Luftdrucks über der Flüssigkeit zum Abfließen der Flüssigkeit führen. Somit würde durch Erzeugen des Unterdrucks an der Öffnung und durch Erhöhung des Luftdrucks über der Flüssigkeit, das Ventil geöffnet werden. Mit „Luftdruck über der Flüssigkeit“ ist der Luftdruck gemeint welcher derart auch die Flüssigkeit einwirkt, dass die
- 25 Flüssigkeit aus dem Behälter entfernt werden kann.

In Ausgestaltung der Erfindung kann das Ventil der Vorrichtung an der Öffnung angeordnet sein. Das Ventil kann auch die Öffnung sein, wenn z.B. das Ventil eine Kapillare ist, ist die Öffnung der Kapillare auch die Öffnung

zum Abführen der Flüssigkeit. Insbesondere kann das Ventil und/oder die Öffnung an der Unterseite des Behälters angeordnet sein.

5 In der Praxis kann eine Vertiefung der Vorrichtung mehrere Ventile und/oder Öffnungen umfassen. So könnten die Öffnungen auch als eine Art Sieb fungieren, durch welche die magnetischen Partikel nicht durchpassen, aber die Flüssigkeit abfließen kann. Solch ein Aufbau ist auch möglich wenn mehrere Kapillaren an einer Vertiefung als Ventile vorhanden sind.

10 In Ausgestaltung der Erfindung kann das Ventil der Vorrichtung als eine Kapillare oder als ein Filter oder als eine Folie oder als ein Auffangbehälter ausgeformt sein.

15 Wenn die Ventalfunktion so realisiert wird, dass die untere Öffnung als dünne Kapillare ausgeformt ist, ist der Kapillardruck ausreichend um eine spontane Entleerung der Kavitäten zu verhindern. Die Flüssigkeit kann nun entfernt werden, indem ein Druckimpuls (durch den Druckänderer) von oben auf die Flüssigkeit gegeben wird, sodass die Flüssigkeit durch die Öffnung entfernt wird (Öffnen des Ventils). Wenn das Ventil als Filter ausgeformt ist, wird die
20 Flüssigkeit durch die Fluidbarriere des Filtermaterials zurückgehalten. Die Flüssigkeit kann auch hier entfernt werden, indem ein Druckimpuls (durch den Druckänderer) von oben auf die Flüssigkeit gegeben wird, sodass die Flüssigkeit durch den Filter gepresst wird (Öffnen des Ventils) und durch die Öffnung entfernt wird. Ist das Ventil eine Folie so kann die Folie derart über
25 dem Behälter angeordnet sein, dass ein Gasvolumen zwischen Folie und Flüssigkeit eingeschlossen wird. Nun kann durch Manipulation der Folie (z.B. durch Bewegung der Folie durch einen vom Druckänderer erzeugten Druck) das Gasvolumen zwischen Flüssigkeit und Folie derart komprimiert werden

das ein Druck auf die Flüssigkeit ausgeübt wird, der die Flüssigkeit aus der Öffnung presst (Öffnen des Ventils).

- In der Praxis kann die Öffnung der Vorrichtung mit einem auf der Flüssigkeit treibbaren Kügelchen verschliessbar sein. So gibt es die Möglichkeit um die
- 5 Flüssigkeit über die Öffnung zu leeren und danach die Öffnung der Vertiefung zu verschliessen.

- In Ausführung der Erfindung ist der Behälter der Vorrichtung eine
- Multiwellplate, insbesondere eine Mikrotitrierplatte, mit Vertiefungen.
- 10

In Ausgestaltung der Erfindung kann der Druckänderer der Vorrichtung eine Druckkammeranordnung sein, sodass jede Vertiefung einzeln mit Druck beaufschlagbar ist.

- 15 Am Ventil oder im Behälter kann ein Messgerät angeordnet sein, sodass am hängenden Tropfen oder bei der Flüssigkeit im Behälter eine Messung durchführbar ist.

- In Ausgestaltung der Erfindung kann die Vorrichtung einen Mischer umfassen.
- 20 Der Mischer kann ein veränderbares Magnetfeld und/oder ein magnetisch bewegbarer Festkörper sein. Ein magnetisch bewegbarer Festkörper kann hierbei ein Rührstab und/oder Magnetrührer sein, welcher durch ein Magnetfeld in Bewegung gesetzt wird. Bei Verwendung von magnetischen Partikeln kann durch ein veränderbares Magnetfeld eine Bewegung der
- 25 magnetischen Partikel hervorgerufen werden, wodurch auch ein Durchmischen zustande kommt.

In der Praxis können auch Vorrichtungen in Reihe geschaltet sein.

In der Praxis können die Vorrichtung und das Verfahren für Post-Ligation-Aufreinigung verwendet werden. Erfindungsgemäss wird weiter ein Verfahren zur reversiblen Immobilisierung, insbesondere zur Aufreinigung, von Biomolekülen vorgeschlagen, durchgeführt mit einer Vorrichtung zur

5 reversiblen Immobilisierung, insbesondere zur Aufreinigung, von Biomolekülen. Das Verfahren kann dabei die folgenden Schritte umfassen. Magnetische Partikel und eine Flüssigkeit mit Reagenzien werden in einem Behälter angeordnet. Biomoleküle oder Reagenzien zur Synthese von Biomolekülen werden an die magnetischen Partikel gebunden, insbesondere

10 reversibel gebunden. Die magnetischen Partikel werden mit einem Magneten im Behälter fixiert. Die Flüssigkeit mit Verunreinigungen wird aus der Öffnung des Behälters durch Öffnen des Ventils zur Aufreinigung der Biomoleküle entfernt. Die Biomoleküle werden, z.B. mit einem Lösemittel, von den magnetischen Partikeln abgelöst. Dann können die gelösten Biomoleküle

15 durch Öffnen des Ventils aus dem Behälter entfernt werden.

Das Verfahren kann selbstverständlich multiple Schritte umfassen, in welchen Flüssigkeiten zu- und abgeführt werden müssen, sowie Verunreinigungen abgetrennt werden oder in welchen die Biomoleküle von den magnetischen

20 Partikeln abgelöst werden. So können die aufgereinigten Biomoleküle dispensiert werden, indem sie durch die Öffnung der Vorrichtung, nach Lösen von den magnetischen Partikeln, abgeführt werden.

Wenn die magnetischen Partikel mit einem Magneten im Behälter fixiert sind kann anschliessend die Flüssigkeit durch eine Druckänderung (abhängig von der Ventilart) entfernt werden. Solch ein Ablauf kann nach Abschliessen eines

25 Reaktionsschrittes sinnvoll sein, um entweder einen weiteren Reaktionsschritt durchzuführen oder in einem Waschschrift die Verunreinigungen abzutrennen.

Erfindungsgemäss wird weiter ein Apparat zur automatisierten Verarbeitung von Biomolekülen mit einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung, insbesondere zur Aufreinigung von Biomolekülen vorgeschlagen.

- 5 Im Folgenden wird die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnungen näher erläutert.

- Fig. 1 eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen
- 10 Fig. 2 eine schematische Darstellung eines weiteren Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen
- Fig. 3 eine schematische Darstellung eines weiteren Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen
- 15 Fig. 4 ein erstes Ausführungsbeispiel eines Ventils
- Fig. 5 ein zweites Ausführungsbeispiel eines Ventils
- Fig. 6 ein drittes Ausführungsbeispiel eines Ventils
- Fig. 7 eine schematische Darstellung eines weiteren Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen
- 20

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung einer Vorrichtung 1 zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen. Hierbei ist der Behälter als Multiwellplate 21 ausgeführt. Die Vertiefungen 22 der Multiwellplate 21

können mit einer Flüssigkeit 6 befüllt werden. Bei diesem Ausführungsbeispiel sind die magnetischen Partikel 3 in den Vertiefungen 22 der Multiwellplate 21 angeordnet und als eine Ansammlung von magnetischen Partikeln ausgestaltet. In einem Verfahren zur Verarbeitung von Biomolekülen würde

5 sich eine Flüssigkeit 6 mit den zu verarbeitenden Biomolekülen samt dafür benötigten Reagenzien in den Vertiefungen 22 der Multiwellplate 21 befinden. Die Biomoleküle, welche in der Flüssigkeit 6 befindlich sind, können an die magnetischen Partikel 3 reversibel angeheftet werden (also immobilisiert werden). Die gewünschten Biomoleküle können selektiv an die magnetischen

10 Partikel gebunden werden. Die ungebundenen Verunreinigungen werden dann über die Öffnung entfernt. Ausserdem können die Biomoleküle z.B. an der Oberfläche der magnetischen Partikel 3 verlängert werden (z.B. durch PCR). Nach einer durchgeführten Reaktion müssen während der Reaktion entstandene oder nicht vollständig abreagierte Verunreinigungen, welche sich

15 in der Flüssigkeit 6 befinden, entfernt werden. Hierfür kann durch eine von einem Druckkänderer, welcher hier als Druckkammeranordnung 41 ausgeführt ist (hier Vorrichtung welche einen Druck p erzeugt), erzeugten Druck p die Rückhaltekraft des Ventils 20 überwunden werden, indem ein Druck auf die in den Vertiefungen befindliche Flüssigkeit 6 (hier nicht gezeigt) ausgeübt wird.

20 Dadurch kann die Flüssigkeit 6 aus der Multiwellplate 21 entfernt werden, während die Biomoleküle an der Oberfläche der magnetischen Partikel 3 verbleiben. Die magnetischen Partikel werden durch einen Magneten 5 in der Vertiefung 22 der Multiwellplate 21 gehalten.

Fig. 2 zeigt eine schematische Darstellung eines weiteren

25 Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung 1 zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen. Bei dieser Vorrichtung 1 ist im Behälter 2, 21 in der Vertiefung 22 ein treibbares Kügelchen 7 angebracht. Im Zustand A, bei welchem keine Flüssigkeit 6 im Behälter 2, 21 ist, verschliesst die

schwimmende Kugel 7 die Öffnung 23 und das Ventil 20. Das Ventil 20 kann z.B. eine Kapillare sein, bei welcher die Flüssigkeit 6 durch die Kapillarkräfte gehalten wird.

- In dem Fall, dass der Behälter 2, 21 als Multiwellplate 21 ausgebildet ist, bei welcher mehrere Vertiefungen 22 nebeneinander angeordnet sind, kann somit beim Leeren der Vertiefungen 22 durch Beaufschlagung mit einem vom Druckänderer (hier Vorrichtung welche einen Druck p erzeugt) erzeugten Druck p (hier nicht gezeigt), ein Druckabfall verhindert werden. Der Druckabfall kommt zu Stande, wenn eine Vertiefung der Multiwellplate 21 bereits leer ist, also sich im Zustand A befindet, während andere Vertiefungen 22 der Multiwellplate 21 noch mit Flüssigkeit 6 gefüllt sind, sich also im Zustand B befinden. Der Druckabfall kann verhindert werden, indem die Öffnung 23 einer Vertiefung 22, welche sich im Zustand A befindet, durch das treibbare Kügelchen 7 verschlossen wird.
- Im Zustand B, bei welchem die Vertiefung 22 mit Flüssigkeit gefüllt ist, treibt das treibbare Kügelchen 7 an der Oberfläche der Flüssigkeit 6 und erlaubt somit ein Entfernen der Flüssigkeit 6 aus der Öffnung 23 durch Beaufschlagung mit einem Druck p (hier nicht gezeigt). Im Zustand B wird die Flüssigkeit 6 durch das Ventil 20 in der Vertiefung 22 des Behälters 2, 21 gehalten und kann nicht durch die Öffnung 23 abfließen. Erst beim Öffnen des Ventils 20 kann die Flüssigkeit 6 aus der Öffnung 23 abfließen.
- Ein treibbares Kügelchen kann z.B. bei einer Vorrichtung nach Fig. 1 verwendet werden.

- Fig. 3 zeigt eine schematische Darstellung eines weiteren Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung und Aufreinigung von Biomolekülen. Bei diesem Ausführungsbeispiel befindet sich im Behälter 2, 21 eine Flüssigkeit 6 mit magnetischen Partikeln 3. Die Flüssigkeit 6 wird durch ein Ventil 20 in Form einer Kapillare 201 zurückgehalten. Weiterhin ist in der Vertiefung 22 des Behälters 2, 21 ein

Rührstab 81 befindlich. Dieser Rührstab 81 ist dazu geeignet die Flüssigkeit 6 derart in Bewegung zu versetzen, dass die Flüssigkeit 6 bei einem Reaktionsschritt durchmischt wird. Die Flüssigkeit 6 kann bei einem Waschschrift durch Beaufschlagung mit einem Druck p (hier nicht gezeigt) schneller abfließen, wenn die Flüssigkeit 6 durch den Rührstab 81 in Bewegung gebracht wird.

Der in Fig. 3 gezeigte Rührstab 81 kann selbstverständlich mit jedem beliebigen Ventil 20 kombiniert werden und der Rührstab 81 kann auch als ein anderer magnetisch bewegbarer Festkörper ausgeformt sein.

10

Fig. 4 zeigt ein erstes Ausführungsbeispiel eines Ventils. Bei diesem Behälter 2, 21 ist das Ventil als Folie 203 ausgeführt. Die Öffnung 23 muss keine Kapillare sein, sondern kann einfach als Kanal ausgestaltet sein. Durch die Folie 203 kann die Flüssigkeit 6 nicht durch die Öffnung 23 aus der Vertiefung 22 des Behälters 2, 21 abfließen, da die Flüssigkeit durch einen Unterdruck im Behälter gehalten wird. Erst beim Bewegen der Folie 203, wenn sich das Gasvolumen zwischen Folie und Flüssigkeit 6 komprimiert, also ein Druck P_3 auf die Flüssigkeit ausgeübt wird, kann die Flüssigkeit 6 durch die Öffnung 23 abfließen. Die Folie 203 könnte durch einen Druckänderer, derart bewegt werden, sodass die Folie 203 durch einen Druck (hier nicht gezeigt) auf die Folie von der flüssigkeitsabgewandten Seite, ein Senken der Folie 203 in Richtung der Flüssigkeit 6 bewirkt. In einem erfindungsgemässen Verfahren könnte in einem Waschschrift die magnetische Partikel 3 durch einen Magneten 5 in der Vertiefung 22 gehalten werden, während die Flüssigkeit 6 samt Verunreinigungen beim Bewegen der Folie 203 abfließen kann (magnetische Partikel 3 und Magnet 5 siehe Fig. 1). Ein Ventil nach Fig. 4 kann selbstverständlich mit einer Vorrichtung 1 nach Fig. 1, sowie einem

treibbaren Kügelchen 7 nach Fig. 2 und einem Rührstab 81 nach Fig 3 kombiniert werden.

Fig. 5 zeigt ein zweites Ausführungsbeispiel eines Ventils. Bei dem Behälter 2, 21 ist das Ventil als Auffangbehälter 204 ausgeführt. Im Auffangbehälter 204 wird derart ein Überdruck P1 erzeugt, dass die Flüssigkeit 6 nicht durch die Öffnung 23 aus der Vertiefung 22 des Behälters 2, 21 abfließen kann. Erst beim Auseinanderziehen des Behälters 2, 21 und des Auffangbehälters 204, wenn sich der Überdruck P1 an den Umgebungsdruck P2 anpasst, kann die Flüssigkeit 6 durch die Öffnung 23 abfließen. In einem

10 erfindungsgemässen Verfahren könnte in einem Waschschrift die magnetische Partikel 3 durch einen Magneten 5 in der Vertiefung 22 gehalten werden, während die Flüssigkeit 6 samt Verunreinigungen beim Auseinanderziehen des Behälters 2, 21 und des Auffangbehälters 204 abfließen kann (magnetische Partikel 3 und Magnet 5 siehe Fig. 1). In

15 diesem Ausführungsbeispiel würde ein Druckänderer einer Vorrichtung zum Auseinanderziehen des Behälters 2, 21 und des Auffangbehälters 204 entsprechen, da so der Überdruck P1 auf den Umgebungsdruck P2 geändert wird, wodurch die Flüssigkeit 6 abfließen kann. Ein Ventil nach Fig. 5 kann selbstverständlich mit einer Vorrichtung 1 nach Fig. 1, sowie einem Rührstab

20 81 nach Fig 3 kombiniert werden. Ausserdem ist es möglich, dass eine Druckänderung auch anders impliziert wird. Zum Beispiel kann die Druckänderung durch eine verschliessbare Öffnung, welche am Auffangbehälter 204 angeordnet ist, zustande kommen. Fig. 6 zeigt ein drittes

25 Ausführungsbeispiel eines Ventils. Bei dem Behälter 2, 21 ist das Ventil als Filter 202 ausgeführt. Durch den Filter 202 wird die Flüssigkeit 6 zurückgehalten, sodass die Flüssigkeit 6 nicht durch die Öffnung 23 aus der Vertiefung 22 des Behälters 2, 21 abfließen kann. Erst beim Erzeugen eines Drucks P (hier nicht gezeigt) durch einen Druckänderer (hier eher ein Druckerzeuger), welcher die Flüssigkeit 6 derart beaufschlagt, dass die

30 Flüssigkeit 6 durch den Filter 202 durchgepresst wird, kann die Flüssigkeit 6 durch die Öffnung 23 abfließen. In einem erfindungsgemässen Verfahren

könnte so in einem Waschschrift die magnetischen Partikel mit einem Magneten in der Vertiefung 22 gehalten werden, während die Flüssigkeit 6 samt Verunreinigungen beim Beaufschlagen mit Druck abfließen kann. In diesem Ausführungsbeispiel würde ein Druckänderer einer Vorrichtung zum Erzeugen von Druck entsprechen, da so die Rückhaltekraft des Filters 202
5 überwunden wird, wodurch die Flüssigkeit 6 abfließen kann. Ein Ventil nach Fig. 6 kann selbstverständlich mit einer Vorrichtung 1 nach Fig. 1, sowie einem Rührstab 81 nach Fig 3 kombiniert werden.

Fig. 7 zeigt eine schematische Darstellung eines weiteren Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung zur reversiblen Immobilisierung und
10 Aufreinigung von Biomolekülen. Dieses Ausführungsbeispiel zeigt eine Reihenschaltung mehrerer Vorrichtungen. So kann eine Flüssigkeit 6 von einem oberen Behälter 2, 21 zu einem unteren Behälter 2, 21 überführt werden, indem durch Betätigung des Ventils 20 die Flüssigkeit von einer
15 Öffnung 23 in den nächsten Behälter 2, 21 übertritt. Die Ventile 20 der verschiedenen Behälter können alle gleich sein oder alle unterschiedlich oder teilweise unterschiedlich. So könnte z.B. ein erstes Ventil 205 eine Kapillare 201 sein, während ein zweites Ventil 206 ein Filter ist. Es wäre aber auch denkbar, dass ein erstes Ventil 205 eine erste Kapillare 2013 ist, während ein
20 zweites Ventil 206 eine zweite Kapillare 2012 ist. So können die erste und die zweite Kapillare 2012, 2013 unterschiedlich lang und/oder dick sein, wodurch in jedem Behälter 2, 21 eine andere Verweilzeit der Flüssigkeit 6 erreicht wird. Eine Reihenschaltung nach Fig. 7 kann selbstverständlich mit einer Vorrichtung 1 nach Fig. 1, sowie einem treibbaren Kügelchen 7 nach Fig. 2
25 und einem Rührstab 81 nach Fig 3 kombiniert werden. Ausserdem können bei einer Reihenschaltung verschiedene Verfahrensschritte in jeder Ebene der Vorrichtung vorgenommen werden.

Patentansprüche

1. Vorrichtung (1) zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen, wobei die Vorrichtung (1) einen mit einer Flüssigkeit mit Biomolekülen
5 befüllbaren Behälter (2, 21) mit einer Öffnung (23) und einem Ventil (20) umfasst, wobei das Ventil (20) für das kontrollierbare Abfließen der Flüssigkeit (6) durch einen Verschlussmechanismus geöffnet und geschlossen werden kann,
dadurch gekennzeichnet, dass
10 magnetische Partikel (3), an welchen die Biomoleküle immobilisierbar sind, insbesondere reversibel immobilisierbar sind, frei bewegbar im Behälter (2, 21) angeordnet werden können, und am Behälter (2, 21) ein Magnet (5), für das Fixieren der magnetischen Partikel (3) im Behälter (2, 21), angeordnet ist, wobei die Flüssigkeit (6) im offenen
15 Zustand des Ventils (20), durch die Öffnung, (23) aus dem Behälter (2, 21) entfernbar ist.
2. Vorrichtung (1) nach Anspruch 1, wobei der Verschlussmechanismus ein Druckänderer ist, und durch den Druckänderer ein Druck (P, P1)
20 auf die Flüssigkeit (6) derart veränderbar ist, dass durch den Druck (P,P1) eine Rückhaltekraft des Ventils (20) überwindbar ist, und somit das Ventil (20) geöffnet werden kann.
3. Vorrichtung (1) nach Anspruch 1, wobei durch den
25 Verschlussmechanismus eine Polarität und/oder Viskosität und/oder Oberflächenspannung der Flüssigkeit (6) im Behälter veränderbar ist, sodass eine Rückhaltekraft des Ventils (20) überwindbar ist, und somit das Ventil (20) geöffnet werden kann.

4. Vorrichtung (1) nach Anspruch 2, wobei der Druckänderer ein hydrostatischer Druckänderer ist, wobei durch den hydrostatischen Druckänderer ein hydrostatischer Druck der Flüssigkeit (6) durch Zugabe von Flüssigkeit in den Behälter (2, 21) derart erhöhbar ist, dass durch den hydrostatischen Druck eine Rückhaltekraft des Ventils (20) überwindbar ist, und somit das Ventil (20) geöffnet werden kann.
5. Vorrichtung (1) nach Anspruch 2, wobei der Druckänderer den Luftdruck über der Flüssigkeit oder an der Öffnung, insbesondere eine an der Unterseite des Behälters angeordnete Öffnung, ändert
6. Vorrichtung (1) nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das Ventil (20) an der Öffnung (23) angeordnet ist.
7. Vorrichtung (1) nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das Ventil (20) als eine Kapillare (201) oder als ein Filter (202) oder als eine Folie (203) oder als ein Auffangbehälter (204) ausgeformt ist.
8. Vorrichtung (1) nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Öffnung (23) mit einem auf der Flüssigkeit (6) treibbaren Kügelchen (7) verschliessbar ist.
9. Vorrichtung (1) nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei an der Öffnung (23) oder im Behälter (2, 21) ein Messgerät angeordnet ist, sodass an einem an der Öffnung (23) hängenden Tropfen respektive im Behälter eine Messung durchführbar ist.
10. Vorrichtung (1) nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Vorrichtung (1) einen Mischer (8, 81) umfasst.

11. Vorrichtung (1) nach Anspruch 9, wobei der Mischer (8, 81) ein veränderbares Magnetfeld und/oder ein magnetisch bewegbarer Festkörper (81) ist.
- 5
12. Vorrichtung (1) nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei der Behälter (2, 21) eine Multiwellplate (21), insbesondere eine Mikrotitrationsplatte, mit Vertiefungen (22) ist.
- 10 13. Vorrichtung (1) nach Anspruch 12, wobei die Vertiefungen (22) mehrere Ventile (20) und/oder Öffnungen (23) umfassen.
14. Vorrichtung (1) nach Anspruch 13, wobei der Druckänderer eine Druckkammeranordnung (41) ist, sodass eine Vertiefung (22) einzeln mit Druck (P, P1) beaufschlagbar ist.
- 15
15. Vorrichtung (1) nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei mehrere Vorrichtungen (1) in Reihe geschaltet sind.
- 20 16. Verfahren zur reversiblen Immobilisierung von Biomolekülen, **dadurch gekennzeichnet, dass** eine Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1-15 verwendet wird.
17. Verfahren nach Anspruch 16,
- 25 **dadurch gekennzeichnet, dass** das Verfahren folgende Schritte umfasst
- a) Anordnen von magnetischen Partikeln (5) und einer Flüssigkeit (6) mit Biomolekülen in einem Behälter (2, 21)
- b) Binden, insbesondere reversibles binden, von Biomoleküle an
- 30 den magnetischen Partikeln (3)

- c) Fixieren der magnetischen Partikel (3) mit einem Magneten (5) im Behälter (2, 21)
- d) Entfernen der Flüssigkeit (6) aus der Öffnung (23) des Behälters (2, 21) durch Öffnen des Ventils (20)
- 5 e) Lösen der Biomoleküle von den magnetischen Partikeln (3)
- f) Entfernen der gelösten Biomoleküle durch Öffnen des Ventils

18. Apparat zur automatisierten Verarbeitung von Biomolekülen umfassend eine Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 15.

10

15

20

25

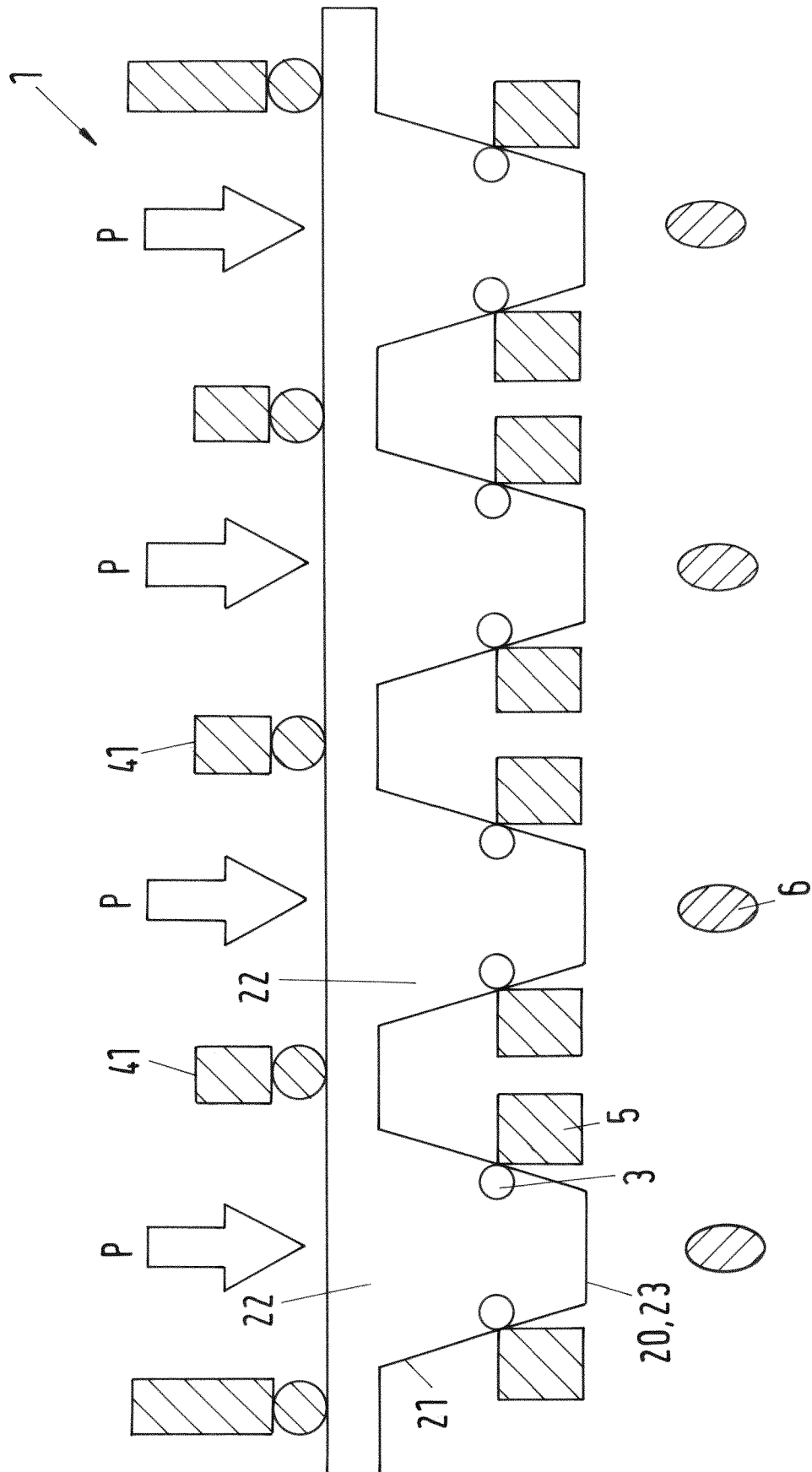


Fig. 1

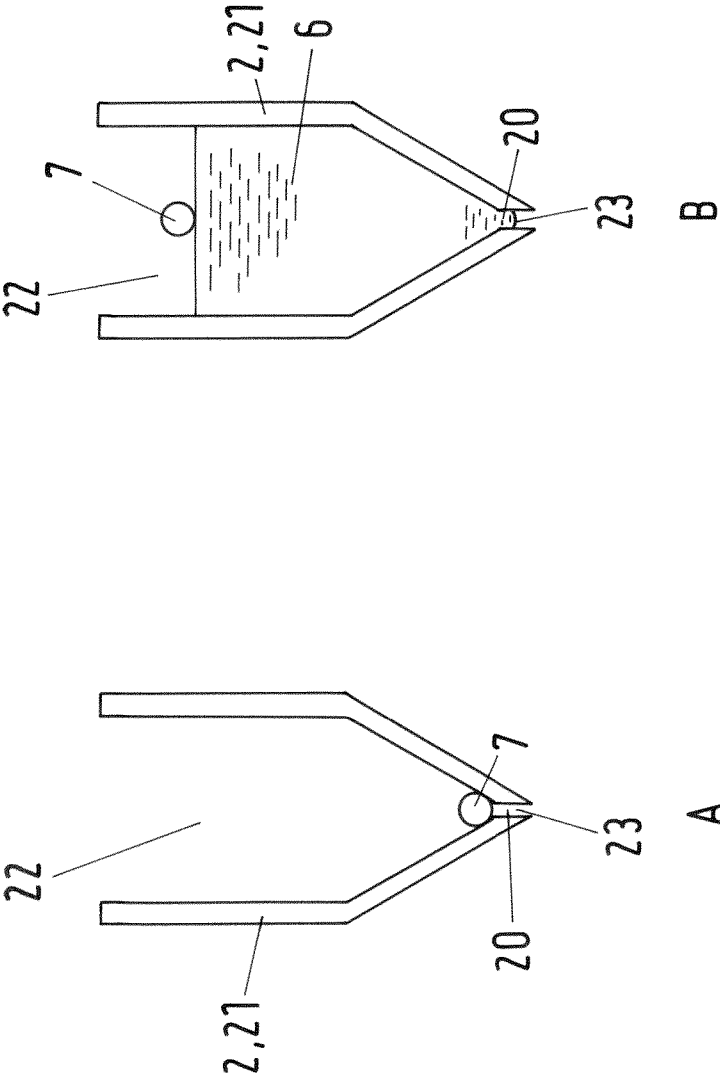


Fig.2

3/7

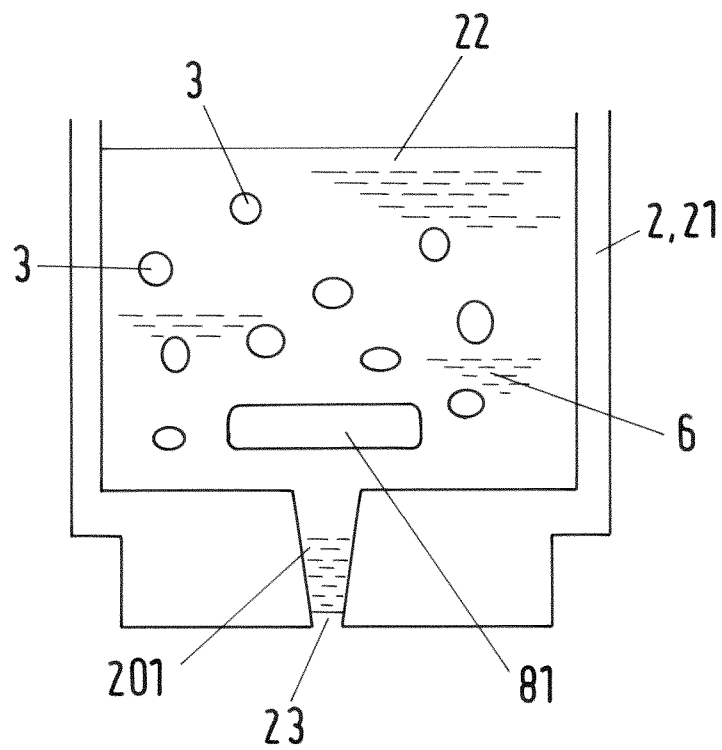


Fig.3

4/7

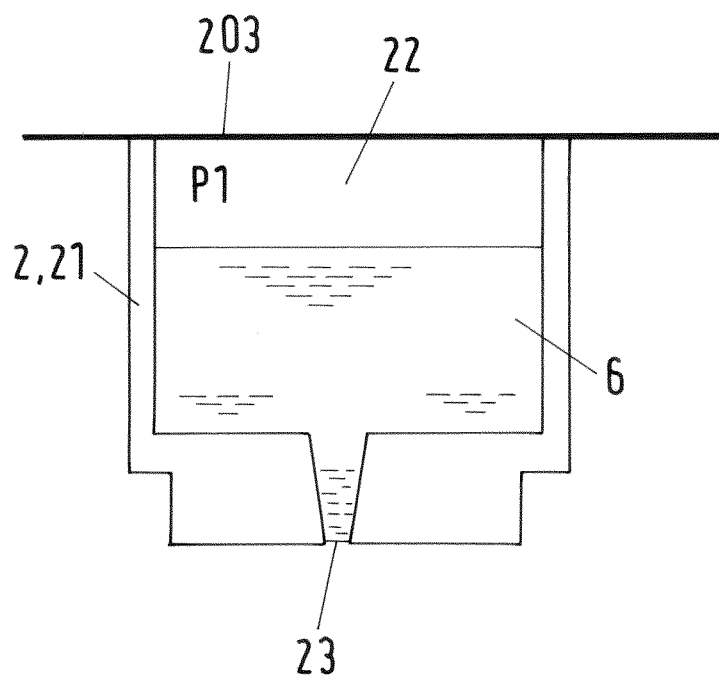
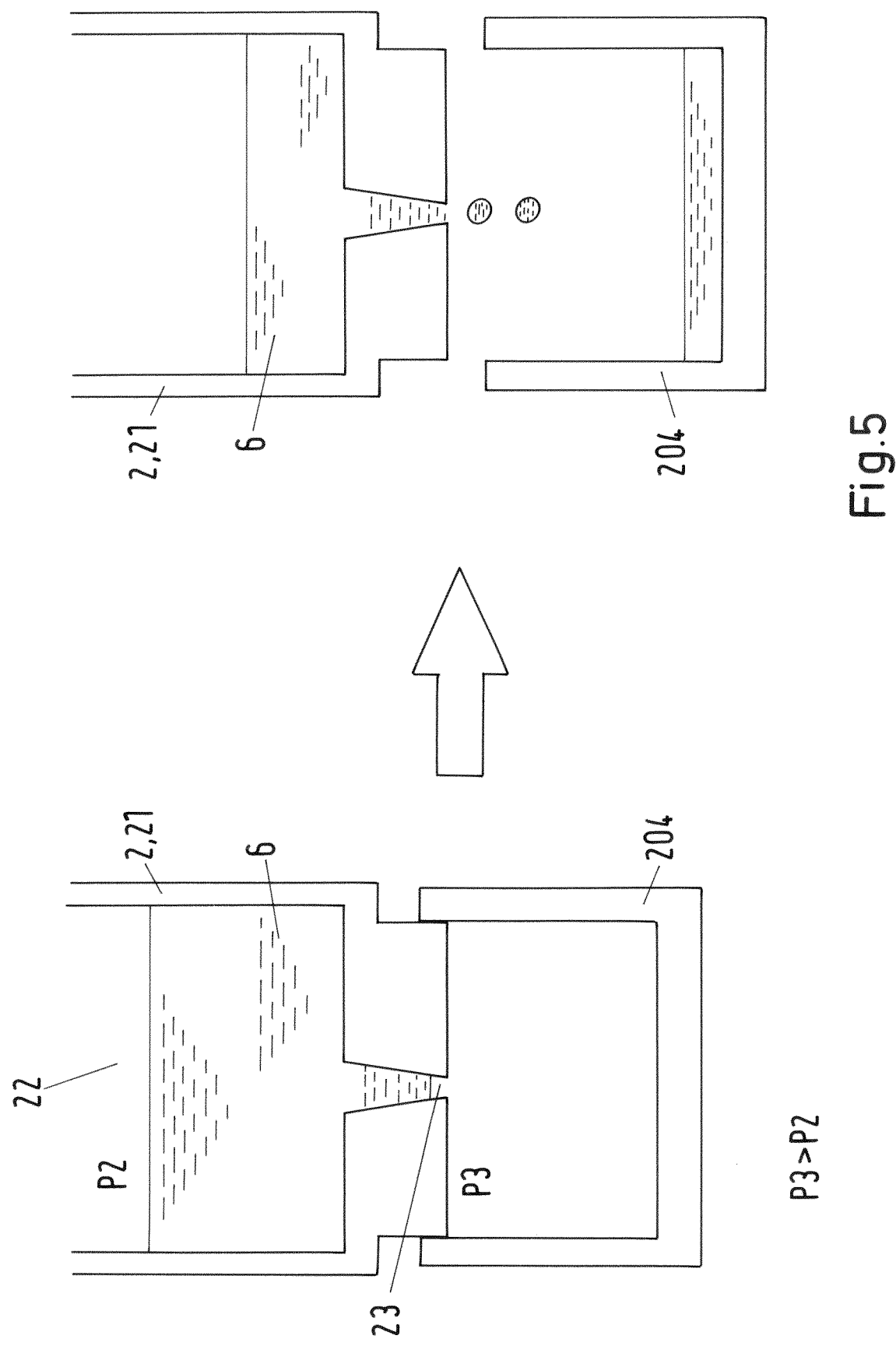


Fig.4

5/7



6/7

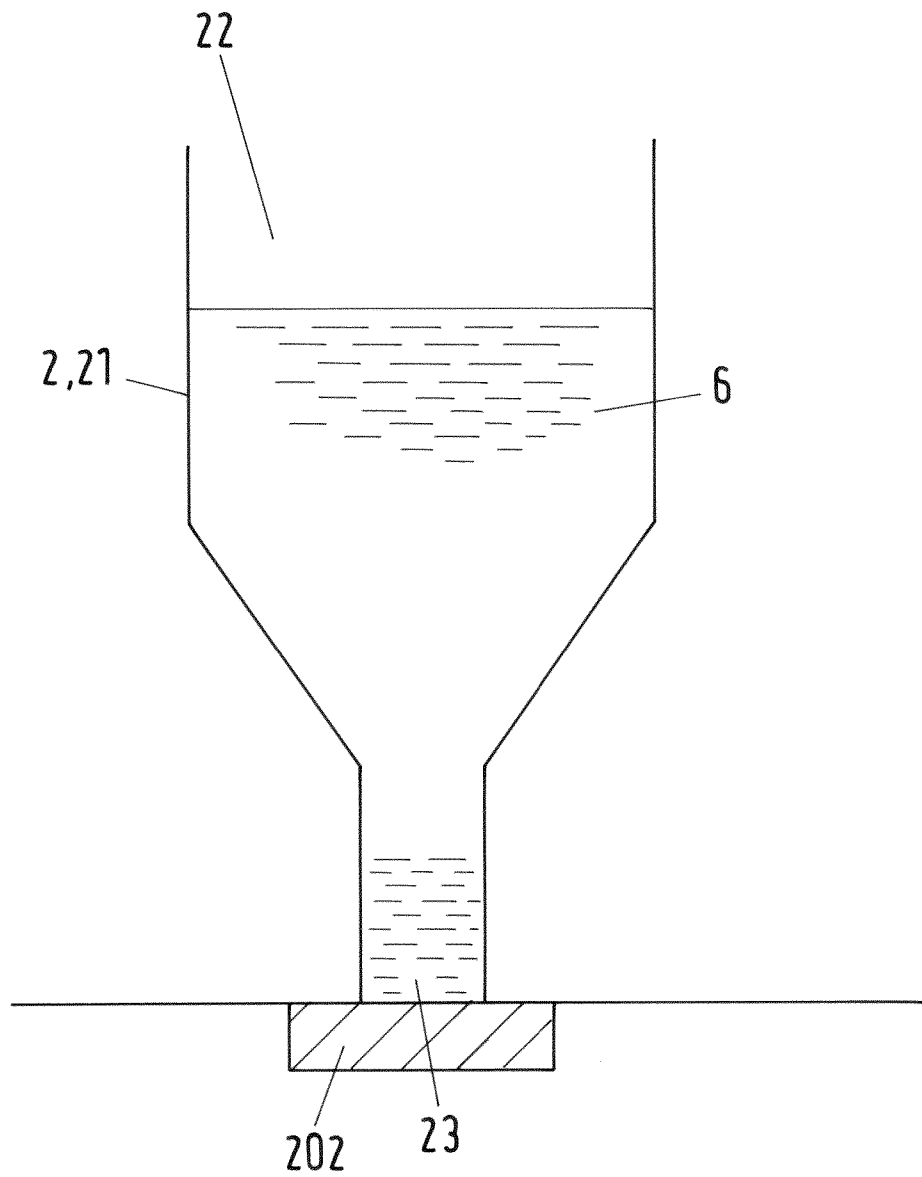


Fig. 6

7/7

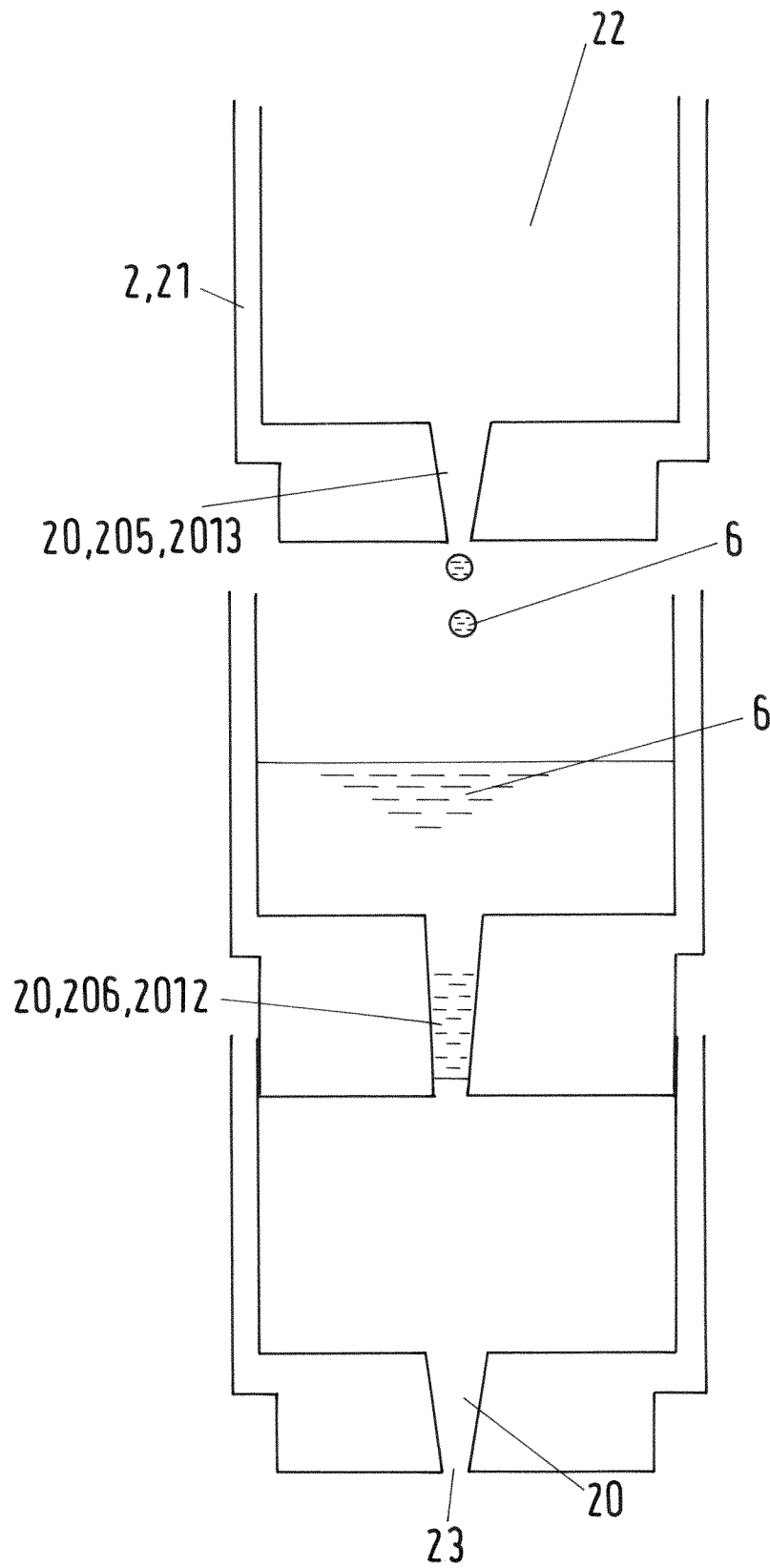


Fig.7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/079622

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. B01L3/00 B01L3/02 G01N35/00
ADD.

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)
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	WO 2004/113874 A2 (ABBOTT LAB [US]; LOWREY MICHAEL [US]; SAFAR SCOTT [US]; DUNN CHADWICK) 29 December 2004 (2004-12-29) abstract page 6, line 15 - page 13, line 4; figures 1a,1b,4	1-18
X	WO 2010/075199 A2 (ABBOTT LAB [US]; SAGE RUSSELL L [US]) 1 July 2010 (2010-07-01) the whole document page 9, line 20 - page 14, line 3; figures 1,2a,2b,2c,4b	1-18
X	EP 0 691 541 A2 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE]) 10 January 1996 (1996-01-10) abstract column 7, line 3 - column 9, line 33; figures 1,4a,4b	1-18
	-/--	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



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

16 May 2018

Date of mailing of the international search report

23/05/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sinn, Cornelia

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/079622

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 065 001 A1 (PREC SYSTEM SCIENCE CO LTD [JP]) 3 January 2001 (2001-01-03) abstract paragraphs [0001], [0117], [0123] - [0148]; figures 1,2a,2b,2c -----	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/079622

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004113874	A2	29-12-2004	AT 413603 T 15-11-2008
		CA 2529886 A1 29-12-2004	
		EP 1638690 A2 29-03-2006	
		EP 2058664 A2 13-05-2009	
		EP 2087935 A1 12-08-2009	
		ES 2315998 T3 01-04-2009	
		ES 2345211 T3 17-09-2010	
		ES 2468290 T3 16-06-2014	
		JP 5136806 B2 06-02-2013	
		JP 5301610 B2 25-09-2013	
		JP 2006528337 A 14-12-2006	
		JP 2010151849 A 08-07-2010	
		JP 2011221030 A 04-11-2011	
		US 2005047963 A1 03-03-2005	
		US 2009252652 A1 08-10-2009	
		US 2009314802 A1 24-12-2009	
		WO 2004113874 A2 29-12-2004	
WO 2010075199	A2	01-07-2010	EP 2379698 A2 26-10-2011
		WO 2010075199 A2 01-07-2010	
EP 0691541	A2	10-01-1996	DE 4423878 A1 11-01-1996
		EP 0691541 A2 10-01-1996	
		JP 2729034 B2 18-03-1998	
		JP H0852378 A 27-02-1996	
		US 6187270 B1 13-02-2001	
EP 1065001	A1	03-01-2001	EP 1065001 A1 03-01-2001
		EP 1671703 A2 21-06-2006	
		JP 4431276 B2 10-03-2010	
		US 6805840 B1 19-10-2004	
		WO 9947267 A1 23-09-1999	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. B01L3/00 B01L3/02 G01N35/00 ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) 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	WO 2004/113874 A2 (ABBOTT LAB [US]; LOWREY MICHAEL [US]; SAFAR SCOTT [US]; DUNN CHADWICK) 29. Dezember 2004 (2004-12-29) Zusammenfassung Seite 6, Zeile 15 - Seite 13, Zeile 4; Abbildungen 1a,1b,4 -----	1-18
X	WO 2010/075199 A2 (ABBOTT LAB [US]; SAGE RUSSELL L [US]) 1. Juli 2010 (2010-07-01) das ganze Dokument Seite 9, Zeile 20 - Seite 14, Zeile 3; Abbildungen 1,2a,2b,2c,4b -----	1-18
X	EP 0 691 541 A2 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE]) 10. Januar 1996 (1996-01-10) Zusammenfassung Spalte 7, Zeile 3 - Spalte 9, Zeile 33; Abbildungen 1,4a,4b ----- -/-	1-18
☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☒ 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
16. Mai 2018		23/05/2018
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Sinn, Cornelia

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 1 065 001 A1 (PREC SYSTEM SCIENCE CO LTD [JP]) 3. Januar 2001 (2001-01-03) Zusammenfassung Absätze [0001], [0117], [0123] - [0148]; Abbildungen 1,2a,2b,2c -----	1-18

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2017/079622

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2004113874 A2	29-12-2004	AT 413603 T	15-11-2008
		CA 2529886 A1	29-12-2004
		EP 1638690 A2	29-03-2006
		EP 2058664 A2	13-05-2009
		EP 2087935 A1	12-08-2009
		ES 2315998 T3	01-04-2009
		ES 2345211 T3	17-09-2010
		ES 2468290 T3	16-06-2014
		JP 5136806 B2	06-02-2013
		JP 5301610 B2	25-09-2013
		JP 2006528337 A	14-12-2006
		JP 2010151849 A	08-07-2010
		JP 2011221030 A	04-11-2011
		US 2005047963 A1	03-03-2005
		US 2009252652 A1	08-10-2009
		US 2009314802 A1	24-12-2009
		WO 2004113874 A2	29-12-2004
WO 2010075199 A2	01-07-2010	EP 2379698 A2	26-10-2011
		WO 2010075199 A2	01-07-2010
EP 0691541 A2	10-01-1996	DE 4423878 A1	11-01-1996
		EP 0691541 A2	10-01-1996
		JP 2729034 B2	18-03-1998
		JP H0852378 A	27-02-1996
		US 6187270 B1	13-02-2001
EP 1065001 A1	03-01-2001	EP 1065001 A1	03-01-2001
		EP 1671703 A2	21-06-2006
		JP 4431276 B2	10-03-2010
		US 6805840 B1	19-10-2004
		WO 9947267 A1	23-09-1999