

(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  
29. November 2007 (29.11.2007)

PCT

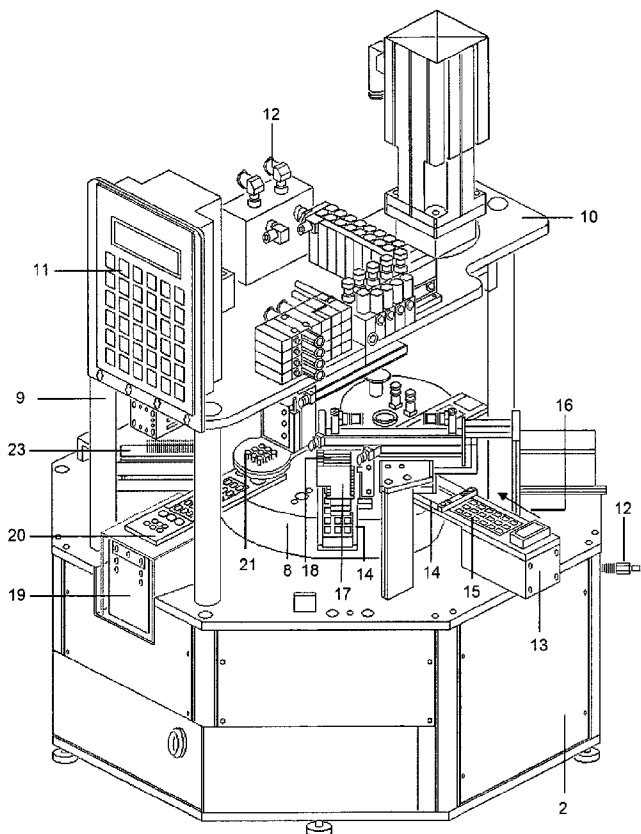
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2007/134814 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation:  
G01N 1/28 (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/004461
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
18. Mai 2007 (18.05.2007)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
10 2006 023 626.2 19. Mai 2006 (19.05.2006) DE  
10 2007 017 807.9 16. April 2007 (16.04.2007) DE
- (71) Anmelder und  
(72) Erfinder: MERZ, Hartmut [DE/DE]; Bachstelzenweg 7,  
23627 Gross Grönau (DE).
- (74) Anwälte: GROSSE, Wolfgang usw.; Grosse Bockhorni  
Schumacher, Elsenheimerstr. 49, 80687 München (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,  
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG,  
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,  
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO,  
RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,  
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR THE AUTOMATED AND REPRODUCIBLE PRODUCTION OF CELL OR TISSUE SAMPLES THAT ARE TO BE ANALYZED AND ARE ARRANGED ON OBJECT SUPPORTS

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR AUTOMATISIERTEN REPRODUZIERBAREN HERSTELLUNG VON AUF OBJEKTTRÄGERN ANGEORDNETEN ZU UNTERSUCHENDEN ZELL- ODER GEWEBEPROBEN



(57) Abstract: Disclosed is an automatic table-top device (1) for reproducibly producing cell or tissue samples (22) that are to be analyzed and are arranged on object supports (15). Said device (1) comprises a centrally located, rotatably mounted conveying apparatus (8) on a base-type housing (2). A plurality of modular processing stations (13, 14, 19, 23) are placed at the periphery of the conveying apparatus (8), at a distance therefrom. Receptacles (14) that are supplied in the peripheral zone of the conveying apparatus (8) are used for accommodating object supports (15) on which automatically segmented cell and tissue segments (22) are reproducibly and accurately positioned. The cell and tissue segments (22) are permanently fixed to the object supports (15) with the aid of a curable adhesive, and the object supports are fed to another treatment device and are subjected to other treatment processes.

(57) Zusammenfassung: Eine als Tischgerät ausgestattete automatisch arbeitende Vorrichtung (1) zur reproduzierbaren Herstellung von auf Objektträgern (15) angeordneten zu untersuchenden Zell- oder Gewebeproben (22) weist auf einem sockelartigen Gehäuse (2) eine zentral angeordnete drehbar gelagerte Fördereinrichtung (8) auf, an deren Peripherie eine Mehrzahl von modularen Bearbeitungsstationen (13, 14, 19, 23) im Abstand zu der Fördereinrichtung (8) angeordnet ist. Am Randbereich der Fördereinrichtung (8) vorgesehene

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2007/134814 A1



TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

---

Aufnahmen (14) dienen zur Aufnahme von Objektträgern (15), auf denen automatisch segmentierte Zell- und Gewebesegmente (22) reproduzierbar sowie lagerichtig positioniert werden. Die Zell- und Gewebesegmente (22) werden mit Hilfe eines aushärtbaren Klebers auf den Objektträgern (15) dauerhaft fixiert, und die Objektträger werden nach ihrer Ausgabe einer weiteren Behandlungsvorrichtung sowie weiteren Behandlungsverfahren unterworfen.

Vorrichtung und Verfahren zur automatisierten reproduzierbaren Herstellung von auf Objektträgern angeordneten zu untersuchenden Zell- oder Gewebeproben sowie Objektträger

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur automatisierten reproduzierbaren Herstellung von auf Objektträgern angeordneten zu untersuchenden Zell- oder Gewebeproben, insbesondere eines Patientenmaterials, wobei die Vorrichtung eine Mehrzahl von modularen Stationen umfasst, die jeweils einen Arbeitsschritt in einer Gesamtfolge von Arbeitsschritten ausführen, gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1 und einen geeigneten Objektträger zur Verwendung in der erfindungsgemäßen Vorrichtung, gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 29. Zudem betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung derartiger Proben, gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 37.

In der jüngeren Vergangenheit ist durch die Verbesserung gentechnischer Analyseverfahren ein erhöhter Bedarf an Gewebeuntersuchungen entstanden. Insbesondere wird im Rahmen der Onkologie bei der Behandlung und Diagnose von Krebs vermehrt auf die Genexpressionsanalyse gesetzt. Bei einer derartigen Analyse wird die

Tatsache ausgenutzt, dass von 25.000 vorhandenen Genen des menschlichen Genoms häufig nur 200 bis 300 bestimmend für die Funktion eines Tumors sind. Aus diesen charakteristischen Genen können wiederum häufig 20 bis 30 extrahiert werden, die ohne signifikante Verschlechterung der statistischen Aussage eine verlässliche Aussage über den Tumorzustand, die Wirkungsweise einer Behandlung und den Verlauf der Erkrankung geben können. Mit einer Genexpressionsanalyse werden Tumore darauf untersucht, ob spezielle Gene ein-/ausgeschaltet sind bzw. welche Gene vorhanden sind. Dies geschieht anhand von Zell- oder Gewebeproben, die mittels spezieller Antikörper untersucht werden, welche dann über Färbeverfahren zu einem spezifischen Nachweis der Gene im Gewebe führen.

Bisher bekannte Anordnungen und Verfahren, wie zum Beispiel offenbart in der EP 1370639 und der WO 01/22086, setzen dabei Gewebefelder ein, die aus Feldanordnungen verschiedener Gewebeproben bestehen und gleichzeitig einem Agens ausgesetzt werden, mit dem ein spezifischer Antikörper auf die verschiedenen Gewebeproben aufgebracht werden kann. Nach einem anschließenden Färben können alle verschiedenen auf dem Objektträger untergebrachten Gewebeproben unter dem Mikroskop untersucht werden.

Zur Vorbereitung der Gewebeproben werden zunächst Gewebelöcke aus zu untersuchendem Gewebe ausgestanzt und in einen Paraffinblock eingebracht. Die Größe der Gewebelöcke hängt dabei vom beabsichtigten Stanzdurchmesser ab. Aus mehreren derartigen Paraffinblöcken werden dann so genannte Bereichsblöcke gebildet, indem jeweils mit dünnen Proberöhrchen der dort im Paraffinblock vorhandenen Gewebeprobe ein Stanzzylinder entnommen wird und in einem weiteren Paraffinblock nach Art eines Feldes eingebracht wird, sodass beispielsweise bis zu 240 unterschiedliche Gewebeproben unterschiedlicher Herkunft in einem solchen Block untergebracht werden können. Zur anschließenden Untersuchung wird dann ein Teilschnitt quer zu den Zylinderachsen vorgenommen und dadurch eine dünne Schicht der verschiedenen Gewebeproben erhalten, praktisch nach Art eines Rasters eingebettet in Paraffin, welche auf einen Objektträger aufgebracht und untersucht werden kann.

Derartige Anordnungen und die anschließenden Untersuchungsverfahren haben insbesondere den Nachteil, dass keine individualisierten, das heißt patientenbezogenen Untersuchungen damit möglich sind, weil immer wieder der gesamte Probenbereich, der einmal in einem Wachsylinder zusammengefasst wurde, gemeinsam untersucht wird bzw. untersucht werden muss. Weiterhin besteht ein Nachteil dieses Verfahrens darin, dass eine große Anzahl von Proben lediglich mit einem Untersuchungsagens untersucht werden kann.

Wie eingangs erwähnt, besteht jedoch ein hoher Bedarf, je Patient eine Vielzahl Untersuchungen an Gewebeproben ein und desselben Gewebes durchzuführen, diese jedoch mit unterschiedlichsten Agenzien, das heißt mit Antikörpern oder Sonden für spezifische Gene, die beispielsweise je nach Krebstyp zu untersuchen sind.

Aus der US 4647543 ist ein Verfahren zu serologischen Untersuchungen von Antikörpern im Blut eines Patienten bekannt, das hauptsächlich dazu verwendet wird, um Autoimmunkrankheiten bei den Probanden zu diagnostizieren. Bei diesem Verfahren werden im Blut vorhandene Antikörper dazu gebracht, mit speziell dafür präpariertem Indikatorgewebe zu reagieren, um durch eine Färbung des Gewebes eine Indikation für das Vorhandensein von Antikörpern spezifischer Art im Blut zu erhalten. Es wird dabei weder eine strukturelle Untersuchung des Gewebes durchgeführt, noch ist es mit dem dort eingesetzten Färbeverfahren möglich, eine gute morphologische Auflösung spezifischer Strukturen des Gewebes erkennbar zu machen.

Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe besteht darin, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Aufbereitung von zu untersuchendem Gewebe sowie einen Objektträger für zu untersuchendes Gewebe anzugeben, die es erlauben, auf technisch einfache Weise mehrere Proben eines einzigen Gewebes gemeinsam und synchron aufzubereiten. Insbesondere soll diese Aufbereitung es ermöglichen, dass verschiedene Aufbereitungsverfahren gleichzeitig zur Anwendung kommen können. Die

Vorrichtung soll dabei einfach und robust aufgebaut sein und einen kontinuierlichen Betrieb gewährleisten.

Diese Aufgabe wird durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 1 hinsichtlich der Vorrichtung, durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 29 hinsichtlich des Objektträgers und durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 37 hinsichtlich des Verfahrens gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen der Vorrichtung, des Objektträgers bzw. des Verfahrens ergeben sich aus den abhängigen Unteransprüchen.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung weist mindestens eine Einrichtung zum lage-richtigen Positionieren der Proben auf einem Objektträger auf sowie eine Einrichtung zum Fördern des bestückten Objektträgers zu den einzelnen Bearbeitungsstationen, wobei die Fördereinrichtung in vorteilhafter Weise zentral in der Vorrichtung gelagert ist und an ihrer Peripherie Stationen zur weiteren Bearbeitung verteilt angeordnet sind.

Dabei kann die Fördereinrichtung von einem drehbar gelagerten Rundtisch gebildet sein, der taktweise in gleichen zeitlichen Takten bewegt wird, wenn beispielsweise mehrere Objektträger von der Fördereinrichtung gleichzeitig gefördert werden, oder der kontinuierlich programmgesteuert bewegt wird, wenn die Fördereinrichtung nur einen Objektträger den einzelnen Bearbeitungsstationen nacheinander zuführt.

Während bei gleichzeitiger Bearbeitung mehrerer Objektträger an verschiedenen Arbeitsstationen der Vorschub in Uhrzeigerrichtung anhand der längsten Verweildauer an einer Arbeitsstation eingestellt werden muss, können bei der Durchleitung nur eines Objektträgers die Arbeitszyklen an den einzelnen Arbeitsstationen unterschiedlich sein.

Gemäß einem weiteren vorteilhaften Merkmal der Erfindung ist die Fördereinrichtung auf einem sockelartigen Gehäuse gelagert, in welchem der Antrieb und/oder die Steuerung für die Fördereinrichtung aufgenommen ist/sind. Auch können hier

pneumatische und hydraulische Druckleitungen angeschlossen sein, über welche den Funktionsteilen der Arbeitsstationen Druckmittel zugeführt werden.

Vorteilhaft sind die modularen Bearbeitungsstationen in einem Raster aus konstanten Winkeln zueinander über den Umfang der Fördereinrichtung verteilt angeordnet, so dass ihnen die Objektträger taktweise mittels der Fördereinrichtung zuführbar sind. Die Fördereinrichtung weist an ihrer Peripherie in weiterer vorteilhafter Ausgestaltung des Gegenstands der Erfindung Aufnahmeeinrichtungen auf, in welche Objektträger zur Lagesicherung während der Förderung einführbar sind. Hier können an sich bekannte Rasteinrichtungen Anwendung finden, die ein vorübergehendes Fixieren und Lösen der Objektträger ermöglichen.

Die Bearbeitungsstationen sind auf der Oberseite des sockelartigen Gehäuses angeordnet, wobei die Objektträger der Vorrichtung über eine Eingabestation zugeführt werden. Dieser Eingabestation ist vorteilhaft ein Objektträgermagazin zugeordnet, aus welchem die Objektträger programmgesteuert aufeinander folgend zuführbar sind. Dabei können Magazine Anwendung finden, die auswechselbar sind und ein Speichervolumen von wenigstens 150 Objektträgern aufweisen.

Des Weiteren weist die Vorrichtung in vorteilhafter Weise eine Station zur Fixierung der Proben auf einem Objektträger auf, wobei diese Station einen Dispenser für einen Kleber zum Auftragen von separierten positionierten Kleberrationen definierter Größe auf einen Objektträger besitzt. Mittels bekannter Pipettentechiken kann der Kleber in einem vorgegebenen Raster auf die Oberfläche des Objektträgers aufgetragen werden, wobei es sich bei dem Kleber vorzugsweise um einen UV-Kleber-Typ handelt, wie beispielsweise Loctite 3491.

Als nächste Station besitzt die Vorrichtung in vorteilhafter Weise eine Einrichtung zum Zuführen einer mit Zell- oder Gewebeschnitten versehenen Probenfolie aus einem ersten transparenten Substrat zu einem Objektträger sowie eine Stanze zur Segmentierung der Proben und eine Separierungsvorrichtung für die Proben. Die

Zuführeinrichtung, die Stanze und die Separierungsvorrichtung sind in einer Arbeitsstation zusammengefasst.

Vorteilhaft umfasst die Separierungsvorrichtung eine Kurvenscheibe, mittels welcher eine Vielzahl von Greifeinrichtungen über Kurvenbahnen aus einer im Wesentlichen zentralen Lage in eine definierte Position auf Abstand zueinander bewegbar sind. Dabei sind die Greifeinrichtungen von Zylindern mit pneumatisch betätigten Saugnäpfen gebildet. Die Separierungseinrichtung ist zwischen der Stanze und dem Objektträger bewegbar gelagert.

Nachdem die mit Zell- oder Gewebeschnitten versehene Probefolie aus dem ersten transparenten Substrat von außen automatisch in die Zuführeinrichtung eingeführt worden ist, stanzt die Stanze die Proben aus der Probenfolie aus, wobei sie von unten gegen die oberhalb der Folie an die Folie angedrückten und als Widerlager dienenden Greifeinrichtungen anfährt. Während die segmentierten ausgestanzten Folienstücke von den unter Unterdruck stehenden Saugnäpfen gehalten werden, wird die Separierungseinrichtung von der Stanze weg zu dem rasterartigen Objektträger bewegt, wobei sich gleichzeitig die Zylinder mit den pneumatisch betätigten Saugern über die Kurvenbahnen nach außen bewegen und dadurch die segmentierten Proben lagerichtig in dem Raster des Objektträgers positionieren.

Nachdem die Proben mittels der Greifeinrichtungen auf dem Objektträger abgesetzt sind und durch die tropfenförmigen UV-Kleber am Verrutschen gehindert werden, wird der Objektträger einer weiteren Bearbeitungsstation zugeführt, in welcher der Kleber unter Einfluss einer UV-Lichtbestrahlung ausgehärtet wird. Nach dem Aushärten des Klebers wird der Objektträger einer Beschriftungs- und/oder Etikettierstation zugeführt, in welcher der Objektträger insbesondere mit einem Barcode beschriftet oder etikettiert wird. Schließlich kann in vorteilhafter Weise auch eine Kamerastation für die visuelle Erkennung der einzelnen Proben und die Auswahl geeigneter Proben sowie die Abtrennung von ungeeignetem Probenmaterial vorgesehen sein.

Wenn der Objektträger mit den segmentierten und lagerichtig positionierten Proben fertig gestellt ist, wird er einer Ausgabestation zugeführt, in welcher die fertigen Objektträger zur Weiterbearbeitung an eine nachfolgende Vorrichtung ausgegeben werden, in welcher z.B. ein Erhitzen und Einfärben der auf dem Objektträger angeordneten Proben erfolgt.

Die Vorrichtung kann ferner in vorteilhafter Weise ein Bedienpanel aufweisen, über welches eine Steuerung zur Einstellung der Bearbeitungsmodi an den Bearbeitungsstationen einstellbar ist. Das Gehäuse der Vorrichtung weist einen Rahmen aus Aluminiumprofilen auf, der für den erforderlichen Eingriffsschutz mit einer abnehmbaren Abdeckung versehen ist. Dieser Aufbau ermöglicht eine hohe Flexibilität und spart Gewicht, da die Vorrichtung als Tischgerät ausgeführt ist, so dass ein einfacher Transport gewährleistet ist.

Besonders vorteilhaft wird als erfindungsgemäßer Objektträger ein rasterartiger Objektträger verwendet, der mehrere gleich bemessene Reaktionszonen aufweist, wobei einzelne Gewebe-Substrateinheiten in Reaktionszonen untergebracht sind, wobei das Substrat flexibel und transparent ausgestaltet ist und die jeweiligen Reaktionszonen mit hydrophoben Umrandungen versehen sind.

Auf diese Weise wird ein standardisierter Untersuchungsträger geschaffen, mit dem bei der Durchführung spezieller Genexpressionsanalysen an Gewebematerial unterschiedliche Aufbereitungsflüssigkeiten durch Pipetten aufgebracht werden können.

Besonders vorteilhaft sieht es eine Weiterbildung des erfindungsgemäßen Objektträgers vor, dass über den Reaktionszonen des Objektträgers eine Abdeckung aufbringbar ist, um den Objektträger bzw. die Gewebe-Substrateinheiten in den Reaktionszonen für eine spätere Beobachtung zu konservieren.

Besonders vorteilhaft sieht es eine Weiterbildung des erfindungsgemäßen Objektträgers vor, dass seine Dicke insgesamt nicht den Abstand zwischen einem Objektträger eines Lichtmikroskops und dessen Okularobjektivtubus überschreitet.

Weiterhin vorteilhaft sieht es eine Weiterbildung des erfindungsgemäßen Objektträgers vor, dass die Höhe der Umrandung einer Reaktionszone und die Dicke des Substrats, sowie jene des darauf befindlichen Gewebes aufeinander abgestimmt sind, so dass eine gewünschte Aufbereitung mit der Reaktionsflüssigkeit noch erfolgen kann, aber dass möglichst genau die Menge von Flüssigkeit eingebracht wird, die für eine Reaktion zur Aufbereitung ausreicht, sodass keine teureren Flüssigkeiten verschwendet werden müssen, bzw. eine handelsüblich standardisiert vertriebene Flüssigkeitsmenge für die Aufbereitung von mehr Proben als bisher ausreicht.

Besonders vorteilhaft ist der erfindungsgemäße Objektträger bei einer Weiterbildung so ausgestaltet, dass der Abstand der Reaktionszonen dem Abstand von standardisierten Pipettenträgern entspricht, weil auf diese Weise simultan mehrere Reaktionsflüssigkeiten gleichzeitig in unterschiedliche Reaktionszonen eingebracht werden können, um nach Fertigstellung der mit den Proben versehenen Objektträger diese einer nachfolgenden Färbebehandlung durch Zuführung von Reaktionsflüssigkeiten zu unterwerfen.

Nach einer vorteilhaften Weiterbildung des Objektträgers weist dieser ein Textfeld auf, in welchem ein Identifikationscode, insbesondere in Form eines Barcodes aufbringbar ist. Mittels des Identifikationscode können die die zu untersuchenden Zellen oder Gewebeschnitte enthaltenden jeweiligen Objektträger dem einzelnen Patienten später zugeordnet werden.

Vorteilhafterweise werden die Reaktionszonen des Objektträgers durch Beschichtung des Objektträgers mit einem aufgespritzten Rahmen oder einer Folie aus anderem hydrophoben Material, in die die Reaktionszonen eingelassen sind, gebildet.

In besonders vorteilhafter Weise werden die erfindungsgemäße Vorrichtung und der erfindungsgemäße Objektträger zur Genexpressionsuntersuchung von menschlichem Zellgewebe eingesetzt.

Weitere Vorteile, Merkmale und Einzelheiten der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung von bevorzugten Ausführungsbeispielen anhand der Figuren. Darin zeigen:

- Fig. 1 ein Beispiel einer zu untersuchenden Gemenge,
- Fig. 2 ein Beispiel der zylindrischen Probeentnahme aus in Wachswürfeln eingebetteten Gewebeproben,
- Fig. 3 die Aufbereitung von Gewebeprobefeldern und die Aufbringung des Gewebeprobefeldes auf einen Objektträger,
- Fig. 4 veranschaulichend die Probleme bei der Untersuchung von Stanzzylingerwebeproben, die in einem Gewebefeld zusammengefasst sind,
- Fig. 5 eine Gewebeprobe zur Färbung auf einem Objektträger,
- Fig. 6 die Unterteilung eines auf einem Substrat befestigten flächigen Gewebeschnittes in einzelne Gewebe-Substrateinheiten zur weiteren Verarbeitung,
- Fig. 7 eine perspektivische Gesamtansicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit Gehäuseabdeckung,
- Fig. 8 eine perspektivische Gesamteinsicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung ohne Gehäuseabdeckung und geöffnetem Sockel,
- Fig. 9 eine perspektivische Gesamteinsicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung ohne Gehäuseabdeckung, etwas im Uhrzeigersinn gedreht,
- Fig. 10 eine perspektivische Ansicht der Fördereinrichtung mit eingesetzten Objektträgern und zwei an der Peripherie angeordneten Bearbeitungsstationen,
- Fig. 11 eine perspektivische Ansicht der Separierungsvorrichtung in Draufsicht,
- Fig. 12 eine perspektivische Unteransicht der Separierungsvorrichtung,
- Fig. 13 ein Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Objektträgers,
- Fig. 14 an einem Schnitt entlang der Linie A-A veranschaulichend die Abmessungen einer Reaktionszone mit eingebrachter Gewebe-Substrateinheit und

Fig. 15 schematisch die Beschickung der Reaktionszonen auf dem Objektträger mit Aufbereitungsreagenzien,

Fig. 1 zeigt anhand eines Beispiels die Vielfalt von zu untersuchenden Genen bei einer speziellen Krebsart. Einzelheiten der Darstellung sind dem Artikel von Lossos et al. „Prediction of Survival in Diffuse Large-B-Cell Lymphoma Based on the Expression of Six Genes“ N. Engl J Med 2004; 350: 1828-37 im New England Journal of Medicine entnommen.

Die im Verlaufe dieser Beschreibung der Erfindung häufig verwendeten Begriffe „Aufbereitung“ und „aufbereiten“ sollen eine auch schrittweise Vorbereitung von zu untersuchendem Gewebe für einzelne Untersuchungsstationen bedeuteten.

Insbesondere ist weiter in Fig. 1 zu erkennen, dass die Gene A, B und C bzw. D, E und F statistisch besonders signifikant sind, sodass sie als repräsentativ für die hier dargestellte Genmenge gelten können, was ihre Aussagekraft in Bezug auf die Diagnose des Gewebes anbelangt.

Hier ist besonders zu erkennen, dass die Gene A, B und C speziell charakteristisch sind in Bezug auf statistisch längeres Überleben eines Patienten, während die Gene D, E und F speziell charakteristisch sind in Bezug auf statistisch kürzeres Überleben eines Patienten.

Anhand der Darstellung in Fig. 1 kann leicht erkannt werden, dass ein großer Bedarf an der Aufbereitung von spezifischem Gewebe in Bezug auf die Untersuchung mit spezifischen Antikörpern für mehrere Gene besteht.

Insbesondere besteht auch ein Bedarf darin, dies technisch wirkungsvoll und schnell und unter möglichst hoher Ausnutzung der vorhandenen Untersuchungsflüssigkeiten durchführen zu können.

Fig. 2 veranschaulicht anhand eines Beispiels von unterschiedlichen Gewebeproben, die Gewebeentnahme in Form von Stanzzylindern. Ein derartiges Verfahren ist beispielsweise in EP 1370639 A1 offenbart. Wie in Fig. 2 zu erkennen ist, sind dort einzelne Gewebeproben in Paraffinwürfeln 21, 22, 23 und 24 angeordnet. Die Paraffinwürfel sind hier im Schnitt dargestellt. Der Würfel 21 enthält Gewebepartikel 213 und 214, aus denen Gewebezylinder 211 und 212 ausgestanzt werden. Die Stanzung erfolgt hier in einer Richtung 100. Der Paraffinwürfel 22 enthält Gewebestandteile 223 und 224, aus denen zylindrische Proben 221 und 222 entnommen werden.

Der Paraffinwürfel 23 enthält Gewebe 233, aus dem Zylinder 231 und 232 ausgestanzt werden. Der Paraffinwürfel 24 enthält Gewebe 244 und 243, aus dem Gewebezylinder 241 und 242 ausgestanzt werden.

Es kann bereits hier deutlich erkannt werden, dass das Gewebe bezüglich seiner Gewebezusammensetzung, beispielsweise bei 213 und bei 214 inhomogen ist und ebenso auch eine unterschiedliche Tiefenausdehnung hat, sodass in den einzelnen Stanzzylindern beim Ausstanzen teilweise mehr oder weniger Gewebe zu liegen kommt. Im Falle der Stanzzylinder 212 und 241 wird besonders viel Gewebe entnommen, während im Falle der Stanzzylinder 221 und 222 weniger Gewebe entnommen wird. Es ist auch deutlich zu erkennen, dass bezüglich der Tiefenausdehnung der Zylinder beispielsweise im Bereich des Zylinders 212 in der Tiefenabfolge in der Richtung 100 unterschiedliche Gewebeschichten übereinander zu liegen kommen.

Fig. 3 zeigt eine weitere Darstellung zur Veranschaulichung, wie aus in Paraffinwürfeln eingebetteten Gewebeproben durch zylindrische gestanzte Probenentnahme Probenfelder werden, die auf einem Objektträger aufgebracht werden können.

In Analogie zu Fig. 2 sind hier wieder Paraffinwürfel 21 und 23 dargestellt, aus denen Probezylinder 211 und 212 respektive 231 und 232 entnommen werden. Die Richtung 100 zeigt hier in die Zeichenebene. Wie weiter erkannt werden kann,

werden die aus den Paraffinwürfeln 21 und 23 entnommenen Zylinder in einem weiteren Paraffinzylinder 31 in regelmäßigen Abständen feldartig angeordnet, so dass ein Probenblock erzeugt wird, der Stanzzylinder aus unterschiedlichstem Gewebe enthält. Durch Schnitte senkrecht zur Richtung 100 kann dann eine dünne Schicht von Gewebematerial von diesem Probenblock abgetrennt werden und auf einem Objektträger 15 aufgebracht werden. Diese dünne Schicht 32 ist rechts in Fig. 3 dargestellt. Ein solches Aufbereitungsverfahren ist beispielsweise im Stand der Technik in WO 01/22086 offenbart. Insbesondere ist anhand von Fig. 3 zu erkennen, dass durch diese herkömmliche Aufbereitungstechnologie immer eine Vielzahl von Proben unterschiedlichsten Gewebes auf einem Objektträger angeordnet werden. Dieses Aufbereitungsverfahren hat weiterhin den Nachteil, dass alle auf dem Objektträger 15 gemeinsam vorhandenen Gewebeproben gemeinsam einer Reaktion unterzogen werden müssen, weil keine Vorkehrungen getroffen sind, um die Proben separat zu untersuchen. Abgesehen davon, gibt es im Stand der Technik derzeit keine Verfahren, um die Gewebeproben unterschiedlich und separat einzufärben. Vielmehr sehen es die gängigen Gerätschaften lediglich vor, dass derartige Objektträger in großen Mengen Schritt für Schritt einer Einzelbehandlung unterzogen werden.

Die Nachteile dieser Verfahren sind, dass sie zeitaufwändig sind, dass sie große Flüssigkeitsmengen konsumieren und dass sie keine individualisierten Untersuchungen erlauben.

Fig. 4 veranschaulicht anhand der Tiefenausdehnung in einer Richtung 100 der unterschiedlichen Stanzzylinder 211, 212, 221, 222, 231, 232, 241 und 242 eine weitere Problematik der Aufbereitung von Gewebeproben nach Art von Gewebefeldern, wie in Fig. 3 beschrieben. Die Stanzzylinder sind hier analog zu Fig. 2 bezeichnet. Deutlich ist anhand der Tiefenausdehnung der einzelnen Zylinder in Richtung 100 zu erkennen, dass beispielsweise bei einem weit oben liegenden Schnitt in der Richtung an der die Bezugszeichen angebracht sind, zum Beispiel bei Zylinder 221 und 222 kein Gewebe erhalten werden wird, sondern lediglich Paraffin. Sodass bei einer entsprechenden Untersuchung zwar eine Schicht mit Gewebe eines Pro-

benzylinders 212 und 231 untersucht werden kann, aber die anderen Gewebeproben ausfallen. Im Falle von Paraffin ist dieser Ausfall nicht kritisch, weil optisch erkannt werden kann, dass an dieser Stelle kein Gewebe vorhanden ist.

Ein weiteres Problem besteht jedoch darin, dass das Gewebe, welches den zu untersuchendem Gewebe von beispielsweise 2,0 x 2,0 mm x 0,2 - 0,3 mm in Form eines Stanzzylinders entnommen wurde, sowohl in der Tiefe als auch in der Fläche inhomogen ist. Was bedeutet, dass Krebsgewebe teilweise in gesundem Gewebe eingelagert ist und je nach Anordnung des Schnittes sowohl in der Horizontalen als auch in der Vertikalen Richtung unterschiedliche Gewebeschichten durch den Stanzzylinder erfasst werden.

In der Darstellung in Fig. 4 ist gesundes Gewebe dunkel und erkranktes Gewebe hell dargestellt. Dies bedeutet, dass beispielsweise in den Zylindern 222 und 242 kein erkranktes Gewebe enthalten ist, während in den anderen Zylindern je nach der Darstellung in unterschiedlichen Schnitttiefen mal erkranktes Gewebe, das heißt Krebszellengewebe, und mal gesundes Gewebe erhalten wird. Es ist also denkbar, dass nach der Methode der Aufbereitung von Gewebefeldern, wie sie beispielsweise in Fig. 3 dargestellt ist, man einen vollständigen Gewebebereich auf einem Objektträger erhält, der auch bei optischer Inspektion keine Paraffinbereiche offenbart, dass aber trotzdem einzelne Gewebeflecken kein Krebszellengewebe enthalten. Dies ist besonders nachteilig, weil durch Probeuntersuchungen sicherzustellen ist, dass ein negatives Resultat nicht darauf basiert, dass falsches Gewebe untersucht wurde.

Fig. 5 veranschaulicht einen Objektträger 15, auf dem eine Gewebeprobe angeordnet ist. Der Objektträger 15 enthält eine flächige Schnittprobe 532, die beispielsweise mittels einer Färbemethode einzufärben ist, um spezifische Zellenareale sichtbar zu machen.

Fig. 6 zeigt anhand eines Beispiels, wie ein flächiger Gewebeschnitt in Gewebe-Substrateinheiten unterteilt wird.

Fig. 6 zeigt ein Substratmaterial 61 transparenter Art, auf dem ein flächiger Gewebeschnitt 613 aufgebracht ist. Dieser Gewebeschnitt 613 weist beispielsweise eine Dicke von 1 bis 5  $\mu\text{m}$  auf und eine Größe von 1 x 1 cm. Vor der Aufbringung des Gewebeschnittes auf dem Substratmaterial, das beispielsweise elastisch ist und aus einer als Trägerfolie dienenden Polycarbonatfolie ausgeführt sein kann, kann sichergestellt werden, dass das Gewebe homogen ist, und durch optische Inspektion kann weiterhin sichergestellt werden, dass lediglich untersuchungsrelevantes Gewebematerial in diesem Gewebeschnitt enthalten ist, sodass die Nachteile des Standes der Technik, wie sie zuvor in Bezug auf Gewebebereiche in Gewebefeldern beschrieben wurden, weitestgehend ausgeschlossen werden können.

Wie Fig. 6 weiter zeigt, wird der Gewebeschnitt 613 in Richtung 610 und 620 gestückelt, sodass nachfolgend Gewebe-Substrateinheiten 611, 612 und 615 erhalten werden, von denen lediglich einige zur Veranschaulichung dargestellt sind. Diese Gewebe-Substrateinheiten können dann in Reaktionszonen bzw. -felder des Objektträgers 15 eingebracht werden, um mit Hilfe verschiedener Aufbereitungsreagenzien den Nachweis unterschiedlicher Antigene führen zu können.

Fig. 7 zeigt eine erfindungsgemäße Vorrichtung zur automatisierten reproduzierbaren Herstellung von auf Objektträgern angeordneten zu untersuchenden Zell- oder Gewebeproben. Die Vorrichtung 1 ist als Tischgerät ausgebildet und besteht im Wesentlichen aus einem sockelartigen Gehäuse 2, auf dem eine abnehmbare Abdeckung 3 angeordnet ist, die mit dem sockelartigen Gehäuse 2 verriegelt ist. Die Abdeckung besitzt an der Oberseite zwei Griffenheiten 4, so dass die als Tischgerät ausgebildete Vorrichtung 1 transportierbar ist.

An der Unterseite des sockelartigen Gehäuses 2 befinden sich verstellbare Füße 5, die es ermöglichen, das Tischgerät in eine horizontale Lage einzustellen. Es kann in vorteilhafter Weise vorgesehen sein, dass zur exakten Justierung Wasserwaagen oder entsprechende Einstellelemente vorgesehen sind, die aber in der Zeichnung nicht dargestellt sind.

An der Unterseite ist ferner eine Schublade 6 zu erkennen, die mit einem Schloss 7 verriegelbar ist. In Fig. 8 ist die Schublade 6 in geöffnetem Zustand dargestellt, und es ist zu erkennen, dass in der Schublade die Steuereinrichtung und ein Teil der Antriebseinrichtung für die Fördereinrichtung 8 angeordnet sind. Die Antriebseinrichtung besteht im Wesentlichen aus bekannten Elementen und wird nicht im Einzelnen beschrieben.

Auf der Oberseite des sockelartigen Gehäuses 2 ist ein Rahmen 9 aus Aluminiumprofilen vorgesehen, auf dessen Oberseite ein plattenartiges Bauteil 10 zur Aufnahme weiterer Steuerungskomponenten gelagert ist, die nicht im Einzelnen beschrieben werden und zur Steuerung der nachfolgend beschriebenen Vorrichtungskomponenten dienen. Die Bedienung erfolgt dabei über ein Panel 11 an der Vorderseite der erfindungsgemäßen Vorrichtung 1, über welches Betriebsmodi der nachfolgend beschriebenen Bearbeitungsstationen eingestellt werden können.

Die Vorrichtung 1 verfügt ferner über pneumatische und/oder hydraulische Druckanschlüsse 12, an welche entsprechende Druckleitungen angeschlossen sind, um die zum Teil pneumatisch/hydraulisch betätigten Antriebskomponenten der Bearbeitungsstationen mit Druckenergie zu versorgen.

Zentral in der Vorrichtung 1 ist auf dem sockelartigen Gehäuse 2 die Fördereinrichtung 8 gelagert, die als Rundtisch ausgebildet ist und im Uhrzeigersinn taktweise oder kontinuierlich programmgesteuert drehbar ist. An der Peripherie dieser Fördereinrichtung sind auf der Oberseite des sockelartigen Gehäuses 2 Bearbeitungsstationen im Abstand gerastert zu einander angeordnet. Über die Eingabestation 13 wird der Fördereinrichtung 8 der Objektträger 15 in Richtung des Pfeils 16 zugeführt. Der Objektträger 15 wird dabei in eine der Aufnahmeeinrichtungen 14 eingeschoben und dort fixiert, welche sich am oberen Randbereich in Abständen zueinander gleichmäßig verteilt an der Fördereinrichtung 8 befinden.

Sobald der Objektträger 15 mit der Aufnahmeeinrichtung 14 der Fördereinrichtung 8 verrastet ist, wird die Fördereinrichtung taktweise im Uhrzeigersinn bewegt, bis der Objektträger 15 mit der nächsten Bearbeitungsstation 17 in Deckung kommt. Hierbei handelt es sich um eine Station zur Fixierung der Proben auf dem Objektträger, in diesem Fall um eine Station, die mit einem Dispenser 18 für einen Kleber zum Auftragen von separierten positionierten Kleberrationen definierter Größe auf den Objektträger ausgestattet ist. Der Dispenser 18 ordnet entsprechend dem vorgegebenen Raster des Objektträgers 15 Klebepunkte in den einzelnen Reaktionsfeldern des Rasters an.

Anschließend wird der Objektträger 15 der Bearbeitungsstation 19 zugeführt, die eine Stanze 20 und eine Separierungsvorrichtung 21 umfasst. Mit der Stanze 20 werden aus der von der Außenseite der Vorrichtung automatisch zugeführten, nicht dargestellten Trägerfolie mit auf die Trägerfolie gezogenen Zell- und Gewebeschnitten der Stärke von ca. 1,5  $\mu\text{m}$  Zell- und Gewebeselemente 22 in Form der Gewebe-Substrateinheiten 611, 612 und 615 ausgestanzt, die mittels der Separierungseinrichtung 21 auf Abstand gebracht werden und mittels dieser Einrichtung auf dem Objektträger in den die Reaktionsfelder bildenden Rasterfeldern auf den Klebepunkten abgelegt werden.

Sobald die Zell- und Gewebeselemente 22 auf dem Objektträger 15 abgelegt sind, bewegt sich die Fördereinrichtung 8 im Uhrzeigersinn taktweise weiter und transportiert den Objektträger 15 zu der Bearbeitungsstation 23, wobei es sich hier um eine Aushärtstation für die Kleber handelt. In dieser Station wird der Objektträger 15 mittels einer UV-Lichtquelle bestrahlt und der Kleber ausgehärtet.

An die Bearbeitungsstation 23 schließen sich noch eine in der Zeichnung nicht dargestellte Beschriftungs- und/oder Etikettierungsstation an, in welcher der Objektträger mit einem Barcode beschriftet oder etikettiert wird. Es können sich ferner noch eine Kamerastation für die visuelle Erkennung der einzelnen Proben und die Auswahl geeigneter Proben sowie Abtrennung von ungeeignetem Probenmaterial anschließen. Schließlich ist auf der Rückseite der Vorrichtung eine in der Zeich-

nung verdeckt angeordnete Ausgabestation vorgesehen, in welcher die fertig gestellten Objektträger zur Weiterverarbeitung an eine nachfolgende Vorrichtung ausgegeben werden, wo sie einer Hitzebehandlung und einem Färbeverfahren unter Verwendung von Aufbereitungsreagenzien unterworfen werden.

In Fig. 10 ist die Fördereinrichtung 8 deutlicher zu erkennen, die an ihrer Peripherie in gleichem Abstand zueinander angeordnete Aufnahmeeinrichtungen 14 für die Objektträger 15 aufweist. In diese Aufnahmeeinrichtungen 14 werden die Objektträger eingeschoben und den einzelnen Bearbeitungsstationen taktweise zugeführt. Es ist auch zu erkennen, dass im Bereich der Eingabestation 13 ein schematisch angedeutetes Magazin 24 mit Objektträgern 15 angeordnet ist, aus welchem die einzelnen Objektträger nacheinander der Aufnahme 14 an der Eingabestation 13 zugeführt werden.

In Fig. 11 ist ein Teil der Separierungsvorrichtung 21 gezeigt, wobei zur besseren Veranschaulichung die Oberplatte weggelassen ist. Es ist zu erkennen, dass neun Zylinder 25 vorgesehen sind, die an ihrer Unterseite mit pneumatisch betätigten Saugnäpfen 26 ausgestattet sind und an ihrer Oberseite Saugluftanschlüsse 27 aufweisen. Die Zylinder 25 sind dabei an Kurvenarmen 28 gelagert, die ihrerseits in den Kurvenbahnen 29 einer Kurvenscheibe 30 verschieblich gelagert sind. Wenn die Kurvenscheibe 30 mittels des Kurbelarmes 31 verschwenkt wird, werden die Kurvenarme in den Kurvenbahnen zwangsgeführt, und die Zylinder 25 bewegen sich auf vorgegebene Positionen auf einen größeren Radius. Auf diese Art und Weise werden die an der Unterseite der Saugnäpfe angesaugten separierten Probenstücke auf ein bestimmtes Raster separiert, welches exakt dem Raster der Reaktionsfelder des Objektträgers 15 entspricht. Sobald sich die Proben in der ihnen zugeordneten exakten Position befinden, werden sie mittels der Zylinder 25 auf dem Objektträger 15 abgelegt und durch den Kleber am Verrutschen gehindert.

Fig. 12 zeigt eine perspektivische Ansicht der Separierungsvorrichtung 21 von unten, in der die Zell- und Gewebesegmente 22 einmal in der zusammen geschobenen

Position X gezeigt sind, in welcher sie die Stanze verlassen, sowie in der separierten Position Y, in welcher sie auf dem Objektträger 15 abgelegt werden.

In Fig. 13 ist einen Objektträger 15 als Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Objektträgers veranschaulicht. Am oberen Ende ist ein Textfeld 71 angeordnet, das beispielsweise einen Identifikationscode in Form eines Barcodes enthalten kann. Der Objektträger 15 ist beispielsweise mit einem aufgespritzten Rahmen, einer Teflonfolie oder einer Folie aus anderem hydrophoben Material beschichtet, in welche die Reaktionszonen 74 eingelassen sind. Als Beispiel sind in einzelnen Reaktionszonen Zell- und Gewebeselemente in Form von Gewebe-Substrateinheiten 611, 612 und 615 dargestellt. Die Abmessungen der Objektträger 15 betragen etwa 75 x 25 mm und die Maße der Zell- und Gewebeselemente etwa 4 x 4 mm. Jeder Objektträger ist mit 2 mal 9 Segmenten bestückt.

Beispielsweise beträgt die Abmessung einer Reaktionszone 4,5 x 4,5 mm und die seitlichen Ränder längs unten und oben betragen jeweils 1,8 mm. Die Foliendicke kann beispielsweise 0,13 mm betragen, alternativ aber auch 0,25 bis 0,28 mm. Weiterhin ist eine gestrichelte Linie A-A dargestellt, die eine Schnittlinie für die Darstellung in Fig. 14 veranschaulicht.

Fig. 14 zeigt ein Beispiel einer Reaktionszone 74. In der Reaktionszone 74 ist ein auf einem Substrat 714 angeordnetes Zell- und Gewebeselemente in Form eines Gewebepartikels 715 dargestellt, das auf einem Objektträger 15 zu liegen kommt. Insbesondere ist bei der Darstellung zu beachten, dass eine Dicke  $d_1$ , das heißt die Summe der Dicke des Gewebeschnittes und des Substrates kleiner ist als eine Dicke  $d_2$ , das heißt die Dicke der Trägerfolie 75, beziehungsweise einer aufgespritzten Umrandung, wobei das Dickenverhältnis so bemessen ist, dass die Reaktionszone ausreichend Flüssigkeit aufnimmt, um das Gewebepartikel 715 aufbereiten zu können, jedoch gleichzeitig keine Flüssigkeit verschwendet wird. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass mit einer definierten Flüssigkeitsmenge entsprechend dem so vorgegebenen Reaktionsvolumen möglichst viele Gewebe-Substrateinheiten aufbereitet werden können, bzw. möglichst viele Objektträger untersucht werden können.

Besonders vorteilhaft können mit einem derartigen Objektträger 18 Untersuchungen an ein und demselben Gewebe zusammengefasst werden und simultan durchgeführt werden. Speziell kann ein derartiger Objektträger mittels einer Abdeckfolie versiegelt werden, anschließend patientenspezifisch archiviert werden und zur späteren Beobachtung bereitgehalten werden.

Fig. 15 zeigt schematisiert dargestellt die nachfolgende Behandlung der auf dem Objektträger 15 angeordneten Gewebe-Substrateinheiten mit Reaktionsflüssigkeiten. Die Vorrichtung weist einen Hydraulikzylinder oder Pressluftzylinder, der lineare Schubbewegung ermöglicht und einen Aktor 822 und einen damit verbundenen Aktor 823 auf. An einer Brücke 821 sind Pipetten 825 und 824 befestigt, deren Abstand so bemessen ist, dass sie gleichzeitig die Reaktionszonen 84 und 85 des Objektträgers 15 mit Aufbereitungsreagenzien beschicken können. Auf diese Weise können simultan mehrere Reaktionsflüssigkeiten gleichzeitig in unterschiedliche Reaktionszonen des Objektträgers 15 eingebracht werden, um nach Fertigstellung der mit den Proben versehenen Objektträger diese der nachfolgenden Färbebehandlung durch Zuführung der Reaktionsflüssigkeiten zu unterwerfen.

Vorteilhaft wird durch diese beispielhaft ausgeführte erfindungsgemäße Vorrichtung die Aufbereitung von mehreren Gewebe-Substrateinheiten simultan in Reaktionszonen eines Objektträgers ermöglicht, so dass zeiteffizient verschiedenste Untersuchungen am gleichen Gewebe, beispielsweise eines Patienten durchgeführt werden können. Selbstverständlich sind auch andere Zellgewebearten denkbar, wie beispielsweise biologisches Gewebe von Tieren, Pflanzen oder Saatgut, aber auch adhärenzte Blutbestandteile, Eiweiße oder industrielle Materialien woran derartige Untersuchungen durchzuführen sind.

Auf vorteilhafte Weise stellt so die erfindungsgemäße Vorrichtung eine kombinierte Aufbereitung und Untersuchung der Proben bereit, die zeitnah mehrere Untersuchungen zulässt. Insbesondere können beispielsweise die Abstände zwischen den einzelnen Reaktionszonen so zu bemessen sein, dass sie mit den Pipettenabständen

eines Standardmaßes beispielsweise einer ELISA Platte übereinstimmen, wobei 6, 8- oder 12-Kanal Pipetten eingesetzt werden können. Je mehr Kanäle hierbei vorhanden sind, desto mehr Untersuchungen/ Aufbereitungen können gleichzeitig stattfinden. Dies führt zu einer beträchtlichen Zeit- und Kostenersparnis.

Vorteilhaft können so standardisierte Untersuchungsgeräte eingesetzt werden, die lediglich auf den speziellen Anwendungsfall abzustimmen sind. Es wäre selbstverständlich denkbar, dass Probenblöcke, wie sie in Fig. 3 mit 31 bezeichnet sind, aus Gewebe von lediglich einem Patienten hergestellt werden. Insofern wäre weiter denkbar, dass nach der Methode des Standes der Technik ein Objektträger zur Verfügung gestellt werden könnte, der lediglich Probenmaterial eines einzigen Patienten enthält. Es gibt jedoch im Stand der Technik keinerlei Möglichkeiten, diesen Probenträger dann mit einzelnen Reaktionszonen zu versehen bzw. das dünne Paraffinblättchen 32 mit den Gewebeproben im Anschluss zu unterteilen und in separaten Reaktionszonen unterzubringen, weil dieses dafür viel zu empfindlich wäre, und ein definierter Reaktionszustand so nicht hergestellt werden kann.

### Patentansprüche

1. Vorrichtung zur automatisierten reproduzierbaren Herstellung von auf Objektträgern angeordneten zu untersuchenden Zell- oder Gewebeproben, insbesondere eines Patientenmaterials, wobei die Vorrichtung eine Mehrzahl von modularen Stationen umfasst, die jeweils einen Arbeitsschritt in einer Gesamtfolge von Arbeitsschritten ausführen, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung (1) mindestens eine Einrichtung zum lagerichtigen Positionieren der Proben auf einem Objektträger (15) sowie zum Fördern des bestückten Objektträgers zu den einzelnen Stationen (13, 17, 19) zur weiteren Bearbeitung aufweist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung (1) eine Fördereinrichtung (8) aufweist, die zentral in der Vorrichtung gelagert ist und an deren Peripherie die modularen Stationen (13, 17, 19) verteilt angeordnet sind.
3. Vorrichtung nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Fördereinrichtung (8) von einem drehbar gelagerten Rundtisch gebildet ist.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Fördereinrichtung (8) von einem taktweise bewegbaren Rundtisch gebildet ist.
5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Fördereinrichtung von einem kontinuierlich programmgesteuert drehbaren Rundtisch gebildet ist.
6. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Fördereinrichtung (8) auf einem sockelartigen Gehäuse

- (2) gelagert ist, in welchem der Antrieb und/oder die Steuerung für die Fördereinrichtung aufgenommen ist/sind.
7. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die modularen Bearbeitungsstationen (13, 17, 19) in einem Raster aus konstanten Winkeln zueinander über den Umfang der Fördereinrichtung (8) verteilt angeordnet sind, derart, dass sie taktweise ansteuerbar sind.
  8. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Fördereinrichtung (8) an ihrer Peripherie Aufnahmeeinrichtungen (14) aufweist, in welche Objektträger zur Lagesicherung während der Förderung einführbar sind.
  9. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Eingabestation (13) aufweist, über welche der Fördereinrichtung (8) ein Objektträger (15) zuführbar ist.
  10. Vorrichtung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Eingabestation (13) ein Objektträgermagazin (24) zugeordnet ist, aus welchem Objektträger (15) programmgesteuert aufeinander folgend zuführbar sind.
  11. Vorrichtung nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Magazin (24) ein Speichervolumen von wenigstens 150 Objektträgern aufweist.
  12. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Station zur Fixierung (17) der Proben auf einem Objektträger aufweist.
  13. Vorrichtung nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Station zur Fixierung (17) der Proben einen Dispenser (18) für einen Kleber zum

Auftragen von separierten positionierten Kleberrationen definierter Größe auf einen Objektträger aufweist.

14. Vorrichtung nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kleber aus einem UV-Kleber-Typ, insbesondere Loctite 3491, besteht.
15. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Einrichtung zum Zuführen einer mit Zell- oder Gewebeschnitten (22) versehenen Probenfolie aus einem ersten transparenten Substrat zu einem Objektträger sowie eine Stanze (20) zur Segmentierung und eine Separierungsvorrichtung (21) der Proben (22) umfasst.
16. Vorrichtung nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Zuführ- einrichtung, die Stanze (20) und die Separierungsvorrichtung (21) in einer Arbeitsstation (19) zusammengefasst sind.
17. Vorrichtung nach Anspruch 16, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Separie- rungsvorrichtung (21) eine Kurvenscheibe (30) umfasst, mittels welcher eine Vielzahl von Greifeinrichtungen (26) über Kurvenbahnen (29) aus einer im wesentlichen zentralen Lage in eine definierte Position auf Abstand zu ein- ander bewegbar sind.
18. Vorrichtung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Greifein- richtungen von Zylindern (25) mit pneumatisch betätigten Saugnäpfen (26) gebildet sind.
19. Vorrichtung nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Separie- rungseinrichtung (21) zwischen der Stanze (20) und dem Objektträger (15) bewegbar gelagert ist.

20. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 15 bis 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Stanze (20) die Proben (22) gegen die als Widerlager dienenden Greifeinrichtungen aus der Probenfolie ausstanzt.
21. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Station zum Aushärten (23) des Klebers aufweist.
22. Vorrichtung nach Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Aushärtstation (23) eine UV-Licht-Bestrahlungseinrichtung aufweist.
23. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Beschriftungs- und/oder Etikettierungsstation aufweist, in welcher der Objektträger insbesondere mit einem Barcode beschriftet oder etikettiert wird.
24. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Kamerastation für die visuelle Erkennung der einzelnen Proben und die Auswahl geeigneter Proben sowie Abtrennung von ungeeignetem Probenmaterial aufweist.
25. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Ausgabestation aufweist, in welcher die fertig gestellten Objektträger (15) zur Weiterverarbeitung an eine nachfolgende Vorrichtung ausgegeben werden.
26. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung ein Bedienpanel (11) aufweist, über welches eine Steuerung zur Einstellung der Bearbeitungsmodi an den Bearbeitungsstationen einstellbar ist.

27. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung einen Rahmen (9) aus Aluminiumprofilen aufweist, der für den erforderlichen Eingriffsschutz mit einer abnehmbaren Abdeckung (3) versehen ist.
28. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung als Tischstandgerät ausgebildet ist.
29. Objektträger zur Verwendung in einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 28, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Objektträger (15) mehrere Reaktionszonen (84, 85) in gleichmäßigem ersten Abstand, Gewebe-Substrateinheiten (611, 612, 615) in den Reaktionszonen (84, 85), wobei das Substrat (61) flexibel und transparent ausgestaltet ist und zusammen mit der Zell- oder Gewebeproben eine erste Dicke aufweist, und hydrophobe Umrandungen (75) der Reaktionszonen mit einer ersten Höhe aufweist.
30. Objektträger nach Anspruch 29 **dadurch gekennzeichnet, dass** über den Reaktionszonen des Objektträgers (15) eine Abdeckung aufbringbar ist, um den Objektträger bzw. die Gewebe-Substrateinheiten in den Reaktionszonen für eine spätere Beobachtung zu konservieren, wobei die Abdeckung eine zweite Dicke aufweist.
31. Objektträger nach Anspruch 30, **dadurch gekennzeichnet, dass** bei dem Objektträger (15) die zweite Dicke, die erste Höhe und die Dicke des Objektträgers so bemessen sind, dass sie zwischen einen Objektträger und einen Objektivtubus eines Mikroskops passen.
32. Objektträger nach einem der Ansprüche 29 bis 31, **dadurch gekennzeichnet, dass** bei dem Objektträger (15) die erste Dicke D1 und die erste Höhe D2 in Bezug auf ein geringes Flüssigkeitsvolumen innerhalb der Umrandung (75) optimiert ist.

33. Objektträger nach einem der Ansprüche 18 bis 21, bei der der erste Abstand dem Pipettenabstand von mindestens zwei gemeinsam geführten Pipetten (824, 825) angepasst ist.
34. Objektträger nach einem der Ansprüche 29 bis 33, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Objektträger (15) ein Textfeld (71) aufweist, in welchem ein Identifikationscode, insbesondere in Form eines Barcodes aufbringbar ist.
35. Objektträger nach einem der Ansprüche 29 bis 34, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Reaktionszonen (84, 85) durch Beschichtung des Objektträgers (15) mit einem aufgespritzten Rahmen oder einer Folie aus anderem hydrophoben Material, in die Reaktionszonen (74) eingelassen sind, gebildet sind.
36. Verwendung der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 28 und des Objektträgers nach einem der Ansprüche 29 bis 35 zur Genexpressionsuntersuchung von menschlichem Zellgewebe.
37. Verfahren zur automatisierten reproduzierbaren Herstellung von auf Objektträgern angeordneten zu untersuchenden Zell- oder Gewebeproben, insbesondere eines Patientenmaterials, unter Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 28 und einem Objektträger nach einem der Ansprüche 29 bis 34, wobei die Vorrichtung eine Mehrzahl von modularen Stationen umfasst, die jeweils einen Arbeitsschritt in einer Gesamtfolge von Arbeitsschritten ausführen, **dadurch gekennzeichnet**, dass einzelne Objektträger (15) kontinuierlich über eine Eingabestation (13) einer Fördereinrichtung (8) zugeführt und an dieser fixiert werden, dass die Fördereinrichtung jeden Objektträger (15) nacheinander einer Fixierstation (17) für den Auftrag eines Fixierungsmittels, einer Beschickungsstation (19) für die automatische lagerichtige Beschickung des Objektträgers (15) mit segmentierten Proben, einer Aushärtstation (23) für das Fixiermittel, einer Beschriftungsstation, einer Scanner- und Lesestation, bzw. einer Kamerastation und

einer Ausgabestation zugeführt werden, an welcher sie für eine weitere Bearbeitung an eine nachfolgende Vorrichtung ausgegeben werden.

38. Verfahren nach Anspruch 37, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Proben der Beschickungsstation in Form von auf einer Trägerfolie gezogenen Zell- oder Gewebeschnitten, insbesondere mit einer Stärke von 1,5  $\mu\text{m}$ , zugeführt werden, aus der Folie ausgestanzt und separiert werden und in einem vorgegebenen Raster auf dem mit einem Fixiermittel versehenen Objektträger abgesetzt werden.
39. Verfahren nach Anspruch 38, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Fixiermittel in einer nachfolgenden Behandlungsstation durch Wärmebehandlung, insbesondere durch UV-Licht-Bestrahlung ausgehärtet wird.
40. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche 37 bis 39, **dadurch gekennzeichnet**, dass der ausgegebene Objektträger einer nachfolgenden Hitze- und Färbebehandlung unterworfen wird.
41. Verwendung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 37 bis 40 zur Genexpressionsuntersuchung von menschlichem Zellgewebe.

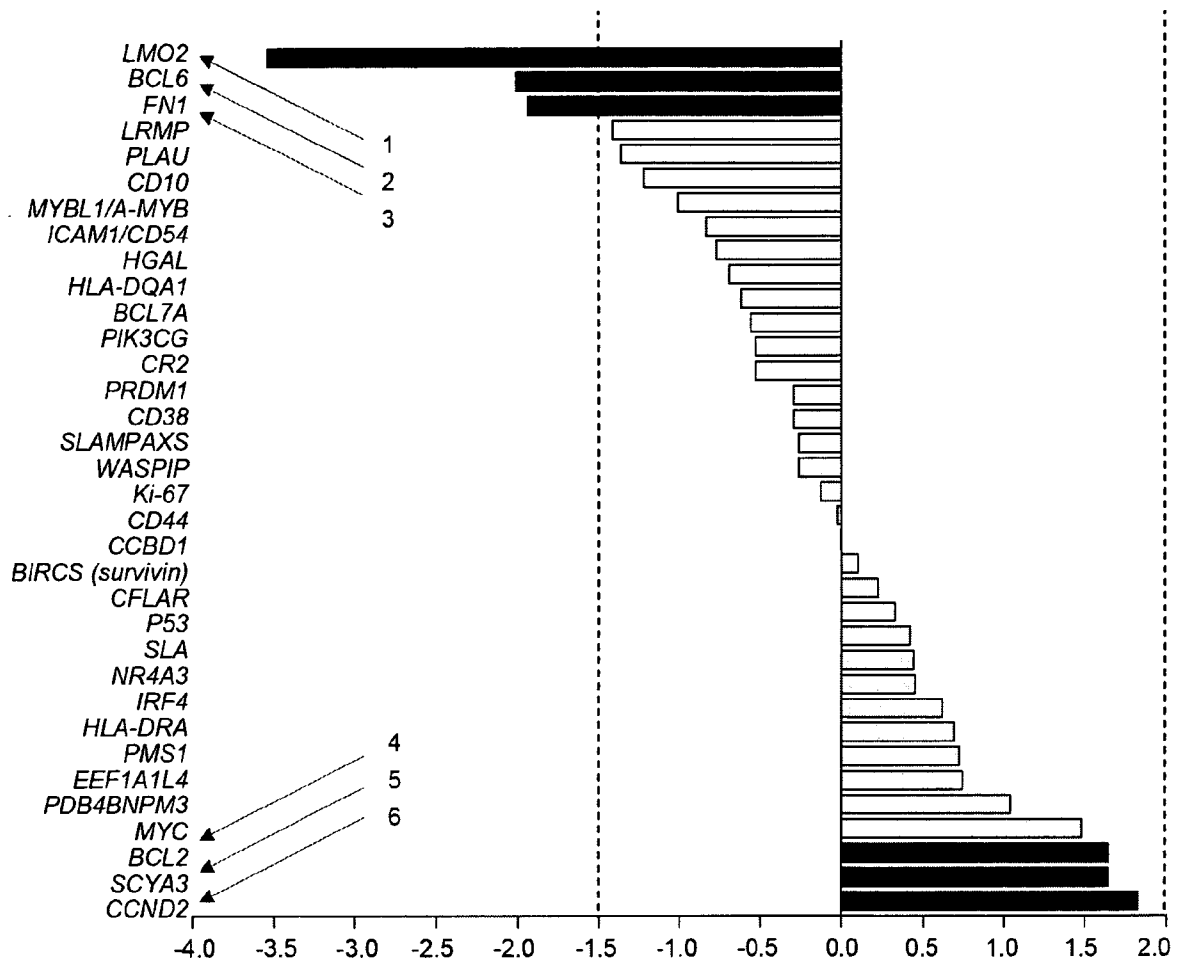


Fig. 1

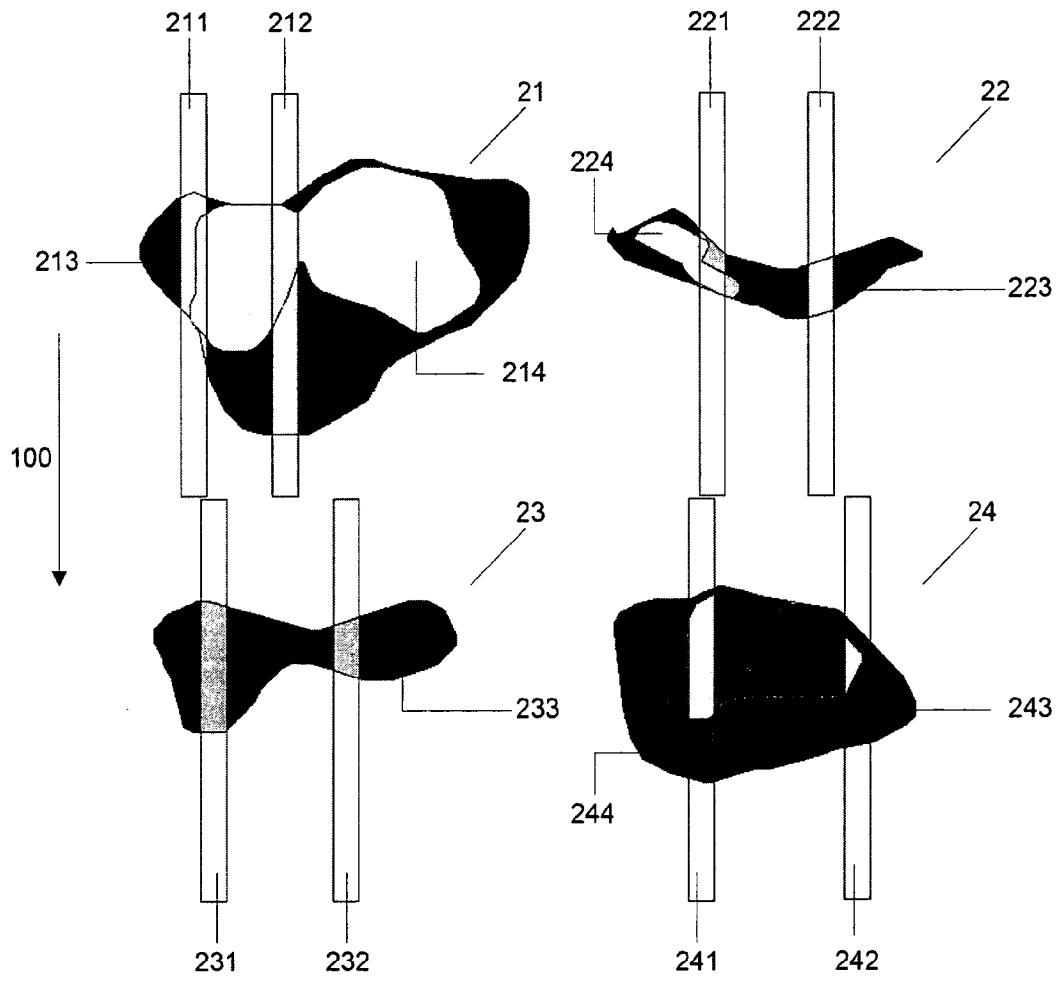


Fig. 2

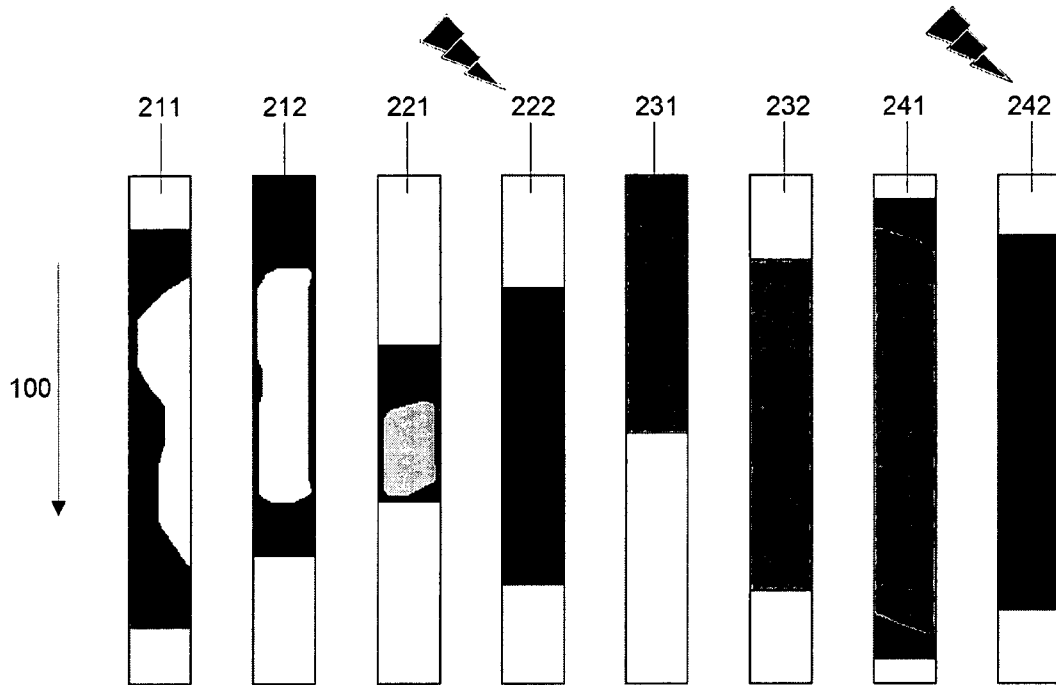


Fig. 4

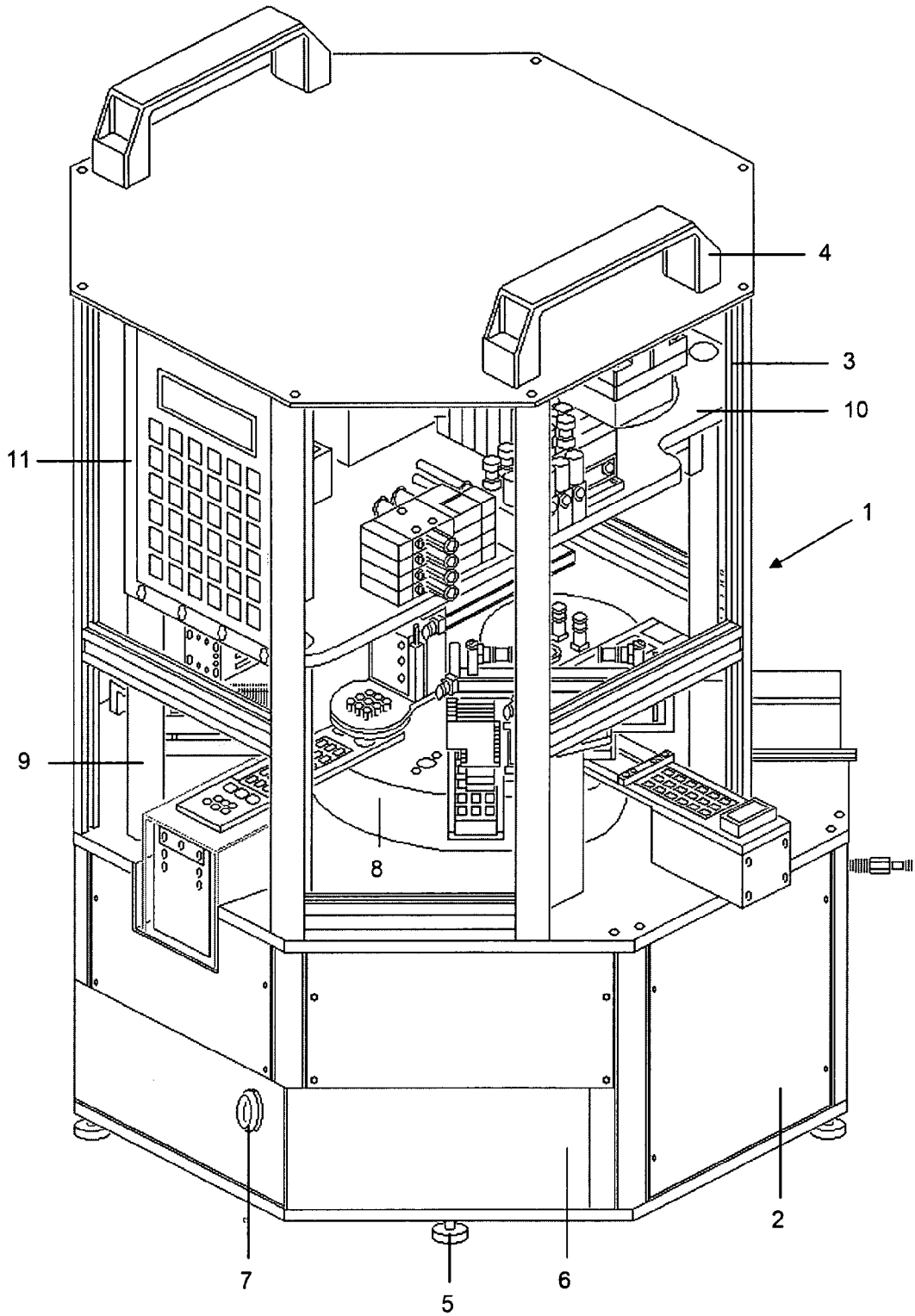


Fig. 7

ERSATZBLATT (REGEL 26)

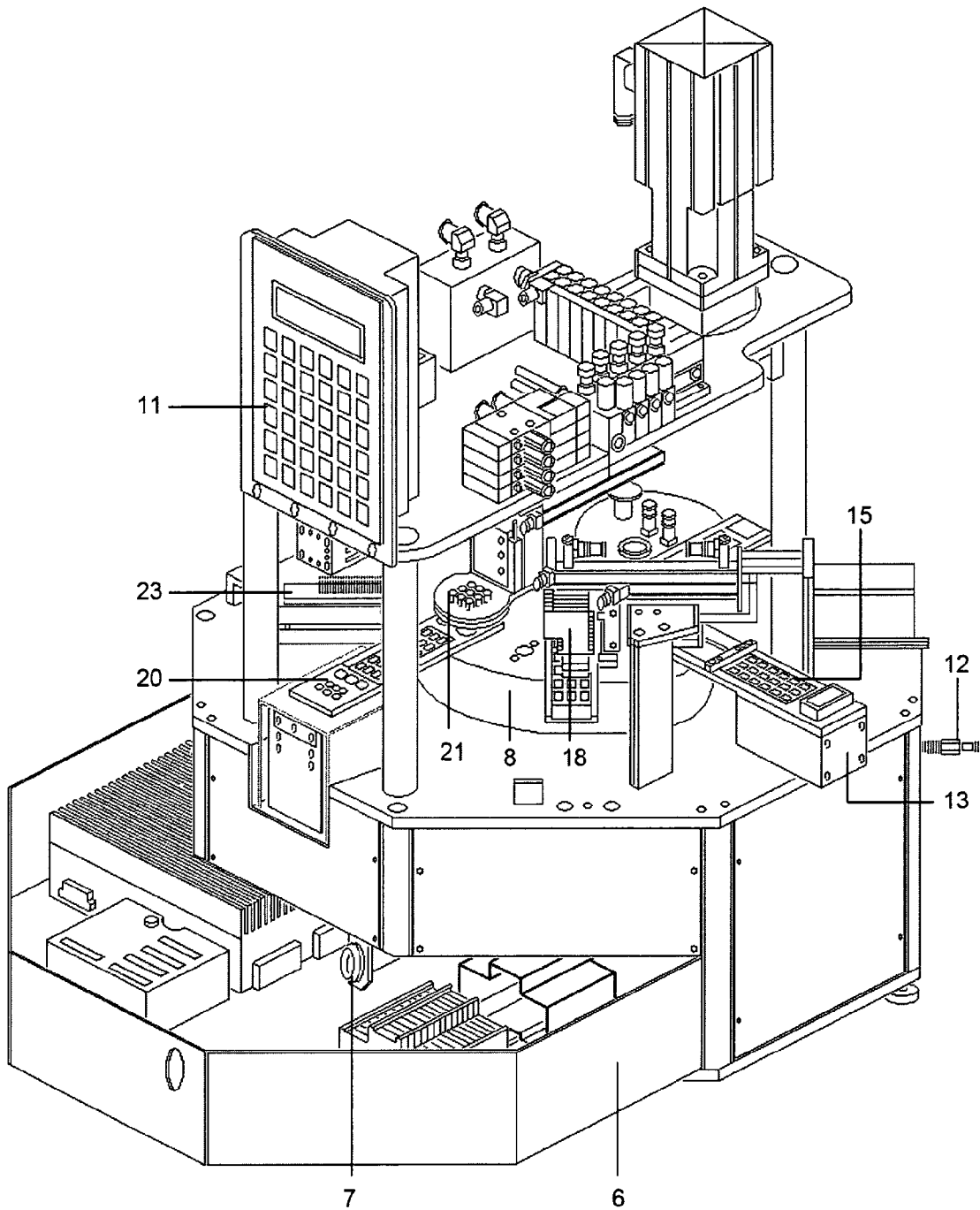


Fig. 8

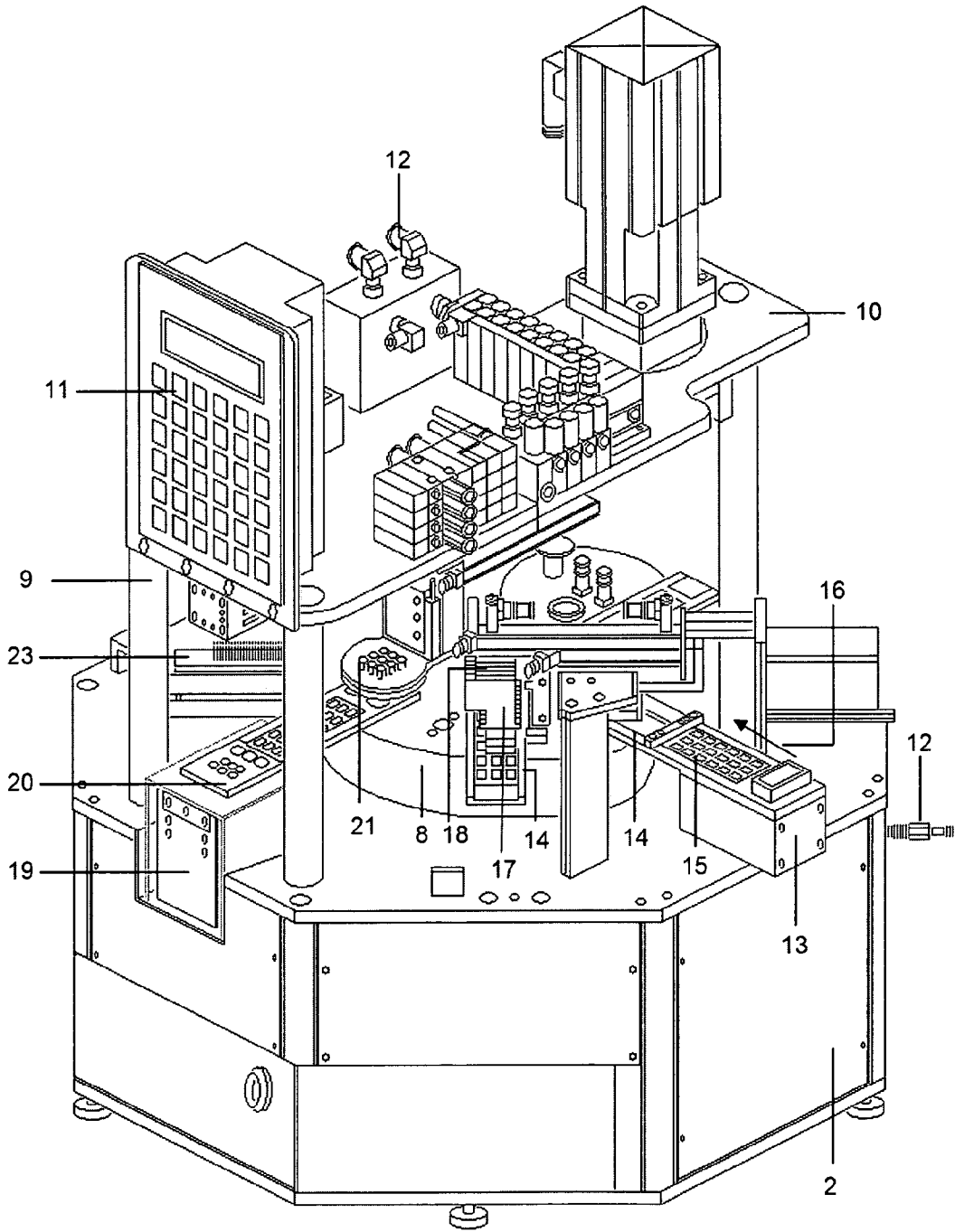


Fig. 9

ERSATZBLATT (REGEL 26)

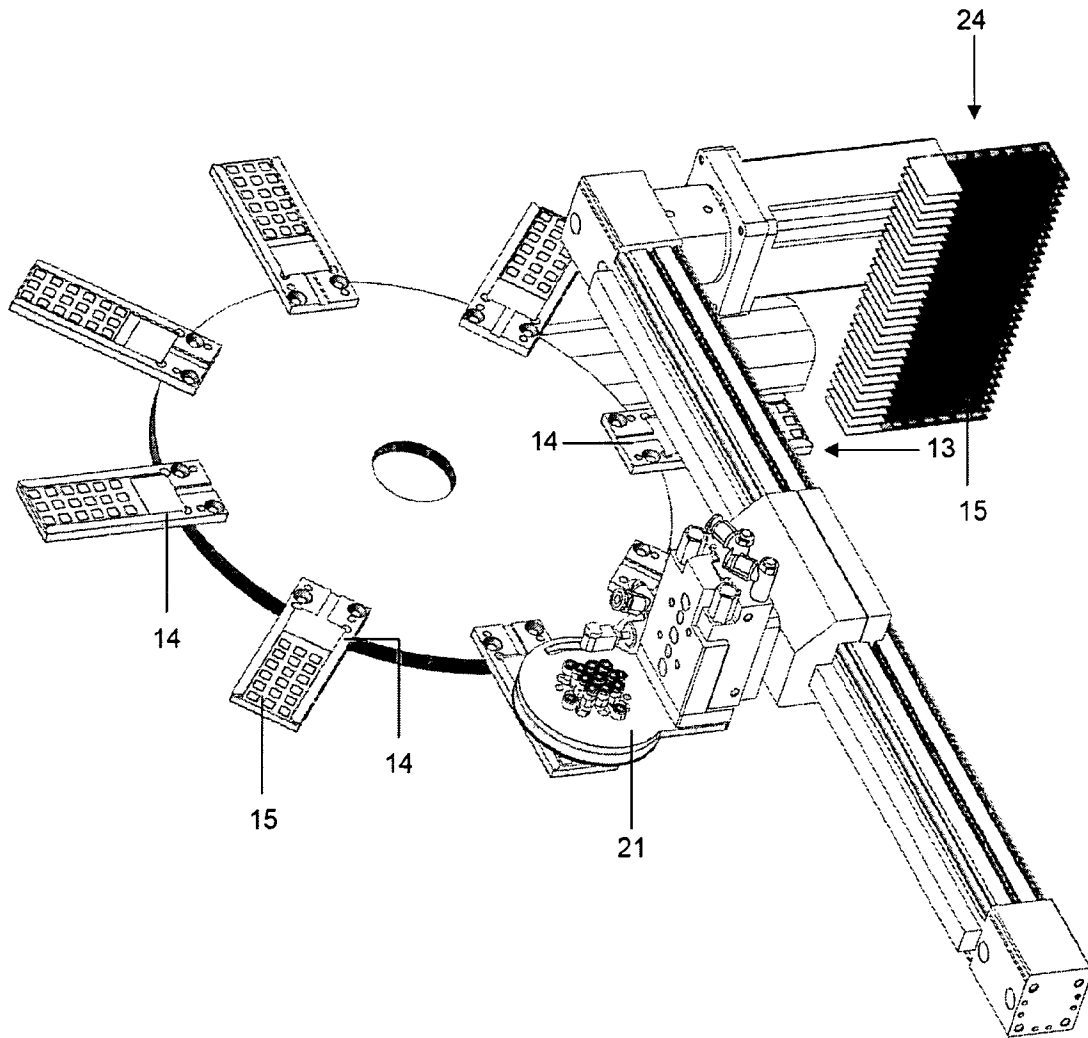


Fig. 10

ERSATZBLATT (REGEL 26)

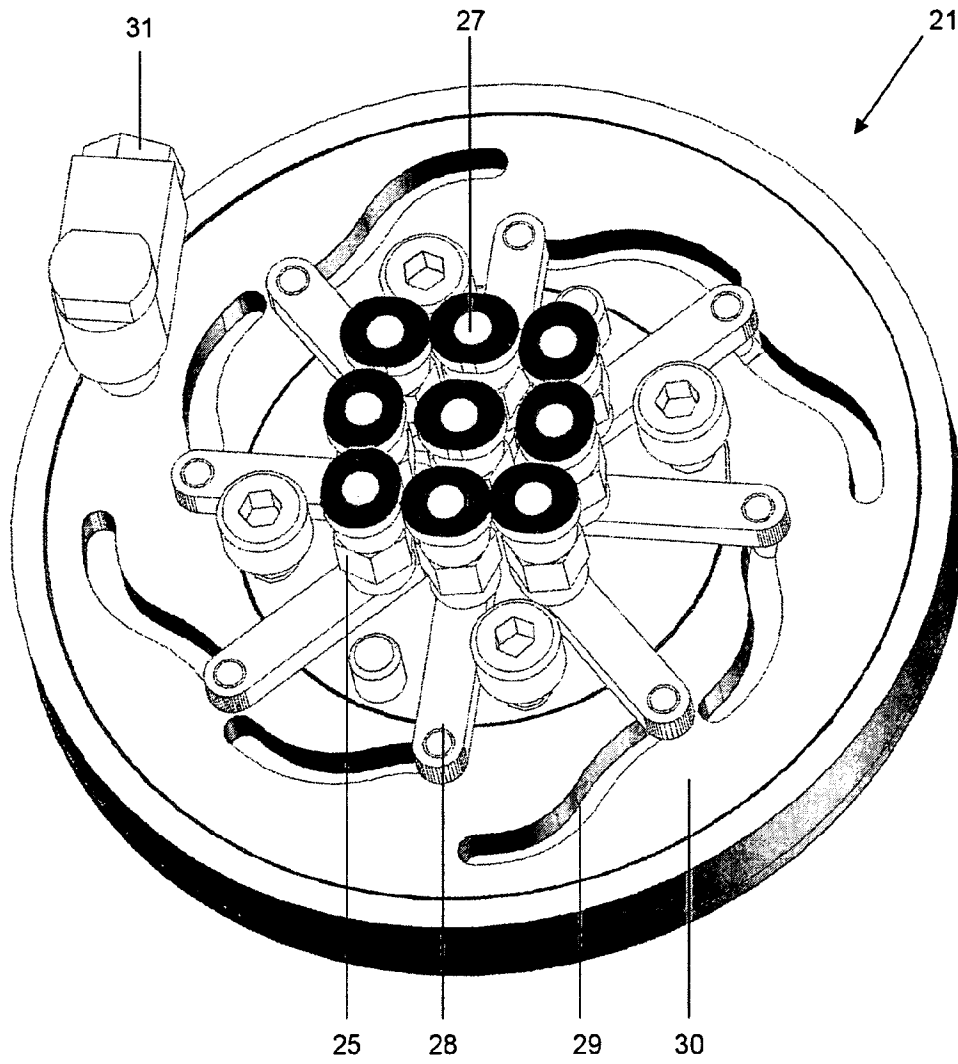


Fig. 11

ERSATZBLATT (REGEL 26)

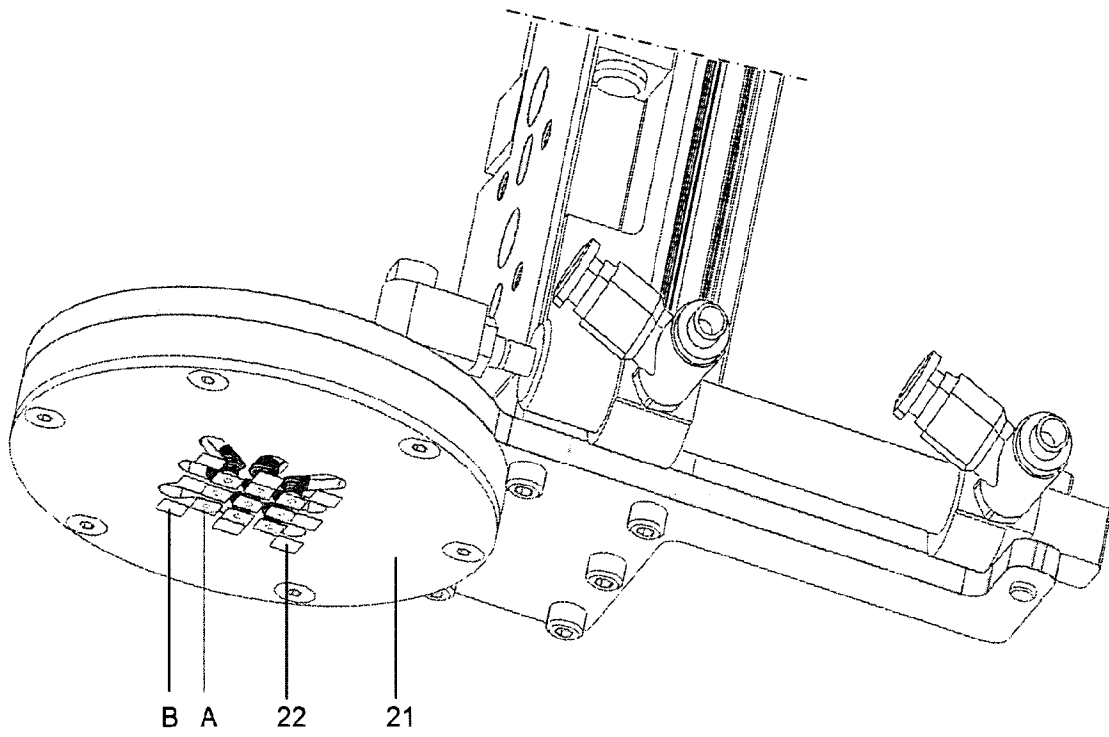


Fig. 12

ERSATZBLATT (REGEL 26)

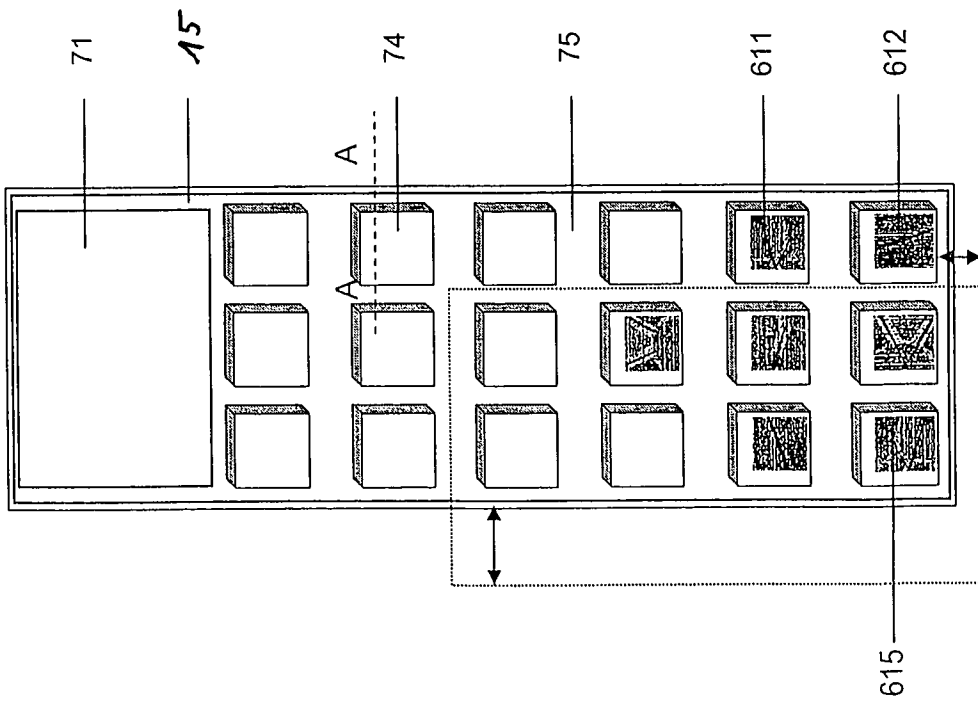


Fig. 13

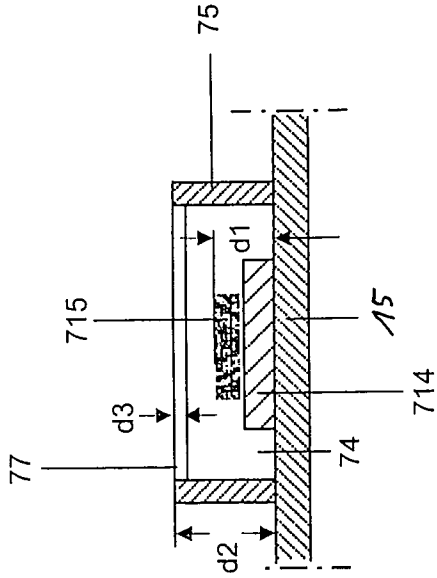


Fig. 14

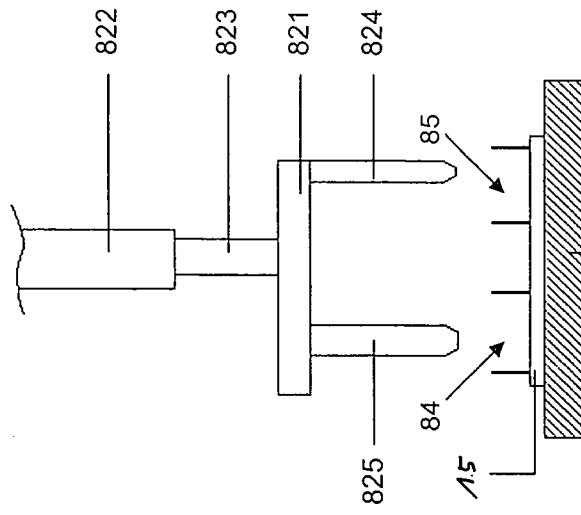


Fig. 15

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2007/004461A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. G01N1/28

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)  
G01N C12M H01L

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 practical, 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 2005/073693 A (EUROIMMUN [DE]; STOCKER WINFRIED [DE]; RATEIKE MARTIN [DE]; MORRIN MAR) 11 August 2005 (2005-08-11)	1-28
Y	the whole document	36-41
X	EP 0 117 262 A1 (STOCKER WINFRIED DR MED) 5 September 1984 (1984-09-05)	29-35
Y	abstract figures 2-4,6 page 7, line 1 - line 15 page 8, line 27 - page 9, line 28 page 10, line 3 - line 25 page 11, line 21 - line 34 Seite 12, Absatz "Beispiel 2" page 13, line 20 - page 15, line 9	36-41
	----- -/--	



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 document 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.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 September 2007

Date of mailing of the international search report

05/10/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ruchaud, Nicolas

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2007/004461

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 2004/039938 A (ORIDIS BIOMED FORSCHUNGS UND E [AT]; SCHNETZ GUNTRAM [AT]; REDL HEINZ) 13 May 2004 (2004-05-13)</p> <p>abstract figure 1 page 1, line 1 - line 10 page 3, line 14 - line 39 page 5, line 32 - page 6, line 28 page 10, line 24 - page 13, line 40</p>	1,2,6, 8-12, 23-28,36
X	<p>WO 01/31317 A (GENOMETRIX GENOMICS INC [US]) 3 May 2001 (2001-05-03)</p> <p>abstract page 1, line 19 - page 2, line 18 page 3, line 15 - page 8, line 29</p>	1,2,6, 8-12, 23-28,36
A	<p>WO 01/22086 A (COHEN JONATHAN [US]) 29 March 2001 (2001-03-29)</p> <p>abstract figures 2a,2b,2c,3 page 6, line 15 - line 16 page 9, line 1 - line 19 page 9, line 25 - page 10, line 2</p>	1,3-5
A	<p>US 2004/026938 A1 (JUNGE VOLKER [DE]) 12 February 2004 (2004-02-12)</p> <p>abstract figures 1-4 paragraphs [0033] - [0038]</p>	1,15-20, 37
A	<p>KANONEN J ET AL: "TISSUE MICROARRAYS FOR HIGH-THROUGHPUT MOLECULAR PROFILING OF TUMORSPECIMENS"</p> <p>NATURE MEDICINE, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 4, no. 7, July 1998 (1998-07), pages 844-897, XP002934472 ISSN: 1078-8956</p> <p>abstract page 844, column 1, line 12 - column 2, line 4 Absatz "Methods"</p>	1,29,36, 37,41

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/004461

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005073693	A	11-08-2005	DE 102004005100 A1 EP 1718948 A1	25-08-2005 08-11-2006
EP 0117262	A1	05-09-1984	AT 33717 T DE 3376359 D1 JP 59210364 A US 4647543 A	15-05-1988 26-05-1988 29-11-1984 03-03-1987
WO 2004039938	A	13-05-2004	AT 412239 B AT 16492002 A AU 2003277936 A1 EP 1556476 A2 US 2006147896 A1	25-11-2004 15-04-2004 25-05-2004 27-07-2005 06-07-2006
WO 0131317	A	03-05-2001	AU 1103101 A	08-05-2001
WO 0122086	A	29-03-2001	EP 1135680 A1 JP 2003510571 T	26-09-2001 18-03-2003
US 2004026938	A1	12-02-2004	CN 1663024 A WO 2004003978 A1 DE 10228555 A1 EP 1516358 A1 KR 20050049432 A	31-08-2005 08-01-2004 22-01-2004 23-03-2005 25-05-2005

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts T 86904 WO (GS/LA)	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Formblatt PCT/ISA/220 sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP2007/004461	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18/05/2007	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 19/05/2006
Anmelder  MERZ, Hartmut		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** beruht die internationale Recherche auf

- der internationalen Anmeldung in der Sprache, in der sie eingereicht wurde
- einer Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache \_\_\_\_\_, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (Regeln 12.3 a) und 23.1 b)).

b.  Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbaren **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** siehe Feld Nr. I.

2.  **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld Nr. II).

3.  **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld Nr. III).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR AUTOMATISIERTEEN REPRODUZIERBAREN HERSTELLUNG VON AUF OBJEKTTRÄGERN ANGEORDNETEN ZU UNTERSUCHENDEN ZELL- ODER GEWEBEPROBEN

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld Nr. IV angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Hinsichtlich der **Zeichnungen**

- a. ist folgende Abbildung der **Zeichnungen** mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 9
- wie vom Anmelder vorgeschlagen
- wie von der Behörde ausgewählt, weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- wie von der Behörde ausgewählt, weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.
- b.  wird keine der Abbildungen mit der Zusammenfassung veröffentlicht.

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
INV. G01N1/28

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

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )  
G01N C12M H01L

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 2005/073693 A (EUROIMMUN [DE]; STOCKER WINFRIED [DE]; RATEIKE MARTIN [DE]; MORRIN MAR) 11. August 2005 (2005-08-11)	1-28
Y	das ganze Dokument	36-41
X	EP 0 117 262 A1 (STOCKER WINFRIED DR MED) 5. September 1984 (1984-09-05)	29-35
Y	Zusammenfassung Abbildungen 2-4,6 Seite 7, Zeile 1 - Zeile 15 Seite 8, Zeile 27 - Seite 9, Zeile 28 Seite 10, Zeile 3 - Zeile 25 Seite 11, Zeile 21 - Zeile 34 Seite 12, Absatz "Beispiel 2" Seite 13, Zeile 20 - Seite 15, Zeile 9	36-41
	----- -/--	



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\* älteres Dokument, 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 anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

21. September 2007

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

05/10/2007

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Ruchaud, Nicolas

## C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 2004/039938 A (ORIDIS BIOMED FORSCHUNGS UND E [AT]; SCHNETZ GUNTRAM [AT]; REDL HEINZ) 13. Mai 2004 (2004-05-13) Zusammenfassung Abbildung 1 Seite 1, Zeile 1 - Zeile 10 Seite 3, Zeile 14 - Zeile 39 Seite 5, Zeile 32 - Seite 6, Zeile 28 Seite 10, Zeile 24 - Seite 13, Zeile 40	1,2,6, 8-12, 23-28,36
X	WO 01/31317 A (GENOMETRIX GENOMICS INC [US]) 3. Mai 2001 (2001-05-03) Zusammenfassung Seite 1, Zeile 19 - Seite 2, Zeile 18 Seite 3, Zeile 15 - Seite 8, Zeile 29	1,2,6, 8-12, 23-28,36
A	WO 01/22086 A (COHEN JONATHAN [US]) 29. März 2001 (2001-03-29) Zusammenfassung Abbildungen 2a,2b,2c,3 Seite 6, Zeile 15 - Zeile 16 Seite 9, Zeile 1 - Zeile 19 Seite 9, Zeile 25 - Seite 10, Zeile 2	1,3-5
A	US 2004/026938 A1 (JUNGE VOLKER [DE]) 12. Februar 2004 (2004-02-12) Zusammenfassung Abbildungen 1-4 Absätze [0033] - [0038]	1,15-20, 37
A	KANONEN J ET AL: "TISSUE MICROARRAYS FOR HIGH-THROUGHPUT MOLECULAR PROFILING OF TUMORSPECIMENS" NATURE MEDICINE, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, Bd. 4, Nr. 7, Juli 1998 (1998-07), Seiten 844-897, XP002934472 ISSN: 1078-8956 Zusammenfassung Seite 844, Spalte 1, Zeile 12 - Spalte 2, Zeile 4 Absatz "Methods"	1,29,36, 37,41

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/004461

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2005073693	A	11-08-2005	DE 102004005100 A1 EP 1718948 A1	25-08-2005 08-11-2006
EP 0117262	A1	05-09-1984	AT 33717 T DE 3376359 D1 JP 59210364 A US 4647543 A	15-05-1988 26-05-1988 29-11-1984 03-03-1987
WO 2004039938	A	13-05-2004	AT 412239 B AT 16492002 A AU 2003277936 A1 EP 1556476 A2 US 2006147896 A1	25-11-2004 15-04-2004 25-05-2004 27-07-2005 06-07-2006
WO 0131317	A	03-05-2001	AU 1103101 A	08-05-2001
WO 0122086	A	29-03-2001	EP 1135680 A1 JP 2003510571 T	26-09-2001 18-03-2003
US 2004026938	A1	12-02-2004	CN 1663024 A WO 2004003978 A1 DE 10228555 A1 EP 1516358 A1 KR 20050049432 A	31-08-2005 08-01-2004 22-01-2004 23-03-2005 25-05-2005