

(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
2. Mai 2002 (02.05.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/35187 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01F 11/02**,
B01L 3/00, 3/02

ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E. V. [DE/DE]; Leonrodstrasse 54, 80636 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/04023

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Oktober 2001 (23.10.2001)

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **LISEC, Thomas** [DE/DE]; Sandberg 112, 25524 Itzehoe (DE). **MÜHLMANN, Sascha** [DE/DE]; Dorfstrasse 28a, 25588 Oldendorf (DE). **GRÜNZIG, Sven** [DE/DE]; Brunnenstrasse 5, 25524 Itzehoe (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 52 819.8 24. Oktober 2000 (24.10.2000) DE

(74) **Anwalt: GAGEL, Roland**; Landsberger Strasse 480a, 81241 München (DE).

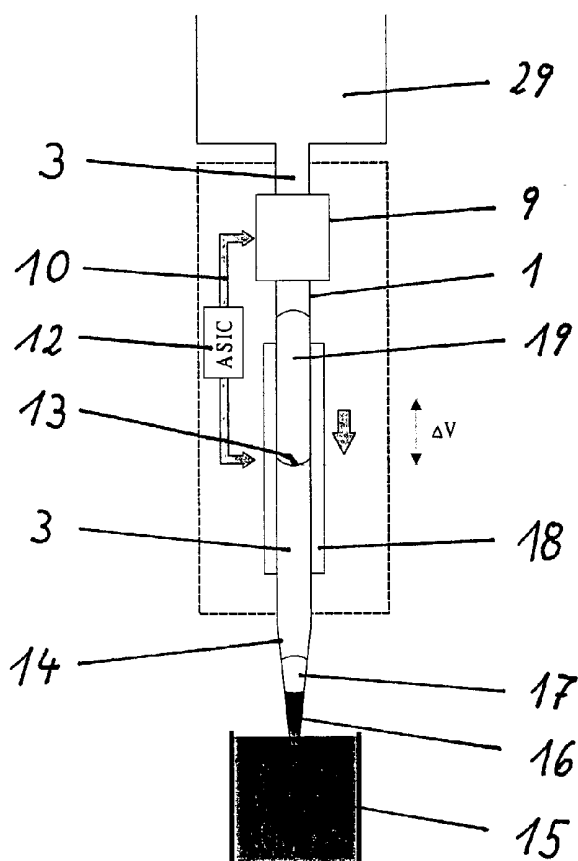
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FRAUNHOFER GESELLSCHAFT**

(81) Bestimmungsstaaten (national): JP, US.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: PIPETTE SYSTEM AND PIPETTE ARRAY

(54) Bezeichnung: PIPETTENSYSTEM UND PIPETTENARRAY



(57) **Abstract:** A pipette system is disclosed, comprising a pipette capillary (1) and an actuator (9), whereby the actuator serves to set the position of a phase boundary (13) between a system medium (3) and a second medium in the pipette capillary. A sensor element (18) is provided for measuring the position of the phase boundary. Said system is embodied such that the actuator is controlled by a regulator element (12), depending upon an output signal from the sensor element.

(57) **Zusammenfassung:** Vorgeschlagen wird ein Pipettensystem, mit einer Pipettenkapillare (1) und einem Aktor (9), wobei der Aktor zur Einstellung der Position einer Phasengrenze (13) zwischen einem Systemmedium (3) und einem zweiten Medium in der Pipettenkapillare dient und ein Sensorelement (18) zur Positionsmessung der Phasengrenze vorhanden ist, dergestalt, dass der Aktor von einem Regelelement (12) in Abhängigkeit von einem Ausgangssignal des Sensorelements ansteuerbar ist.

WO 02/35187 A1



(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

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.

Veröffentlicht:

- *mit internationalem Recherchenbericht*
- *vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen*

Pipettensystem und Pipettenarray

- 5 Die Erfindung betrifft ein Pipettensystem und Pipettenarrays aus Pipettensystemen mit einem Regelkreis bestehend aus einem Aktor einem Regelement und einem Sensorelement zur Steuerung des Pipettiervorganges.

Das erfindungsgemäße Pipettensystem und Pipettenarray kann besonders
10 günstig zum Pipettieren von Flüssigkeiten in HTS (High Throughput Screening), klinischer Chemie und chemischer Synthese zum Einsatz kommen. Es existieren viele Applikationen, z. B. in der klinischen Chemie, wo verschiedene Volumina mit hoher Genauigkeit (typ. 3 % Coefficient of Variation) parallel pipettiert werden müssen.

- 15 Gleichzeitig ist es erforderlich, die minimalen Probenvolumina möglichst gering zu halten, um den Verbrauch an Reagenzien zu minimieren bzw. eine steigende Packungsdichte der Mikrotiterplatten zu ermöglichen. Hierzu sollten Volumina im sub- Mikroliter Bereich durch ein Array aktiv geregelter, einzeln ansteuerbarer Pipetten übertragen werden können.

20

Stand der Technik

Gebräuchlich ist die Verwendung von Spritzenpumpen als Antrieb beim Pipettieren geringer Flüssigkeitsmengen. Da moderne Spritzenpumpen auf Steppermotoren mit hoher Auflösung basieren, ist die präzise Manipulation von Flüssigkeitsmengen im Nanoliter - Bereich möglich. Gängige Nadelpipettierer verfügen über einen einzelnen Kanal, bestehend aus einer fest im Gehäuse installierten Spritzenpumpe, die über einen flüssigkeitsgefüllten Schlauch mit der räumlich verfahrbaren Pipettier-
nadel verbunden ist. Da sich der Verbindungsschlauch beim Verfahren der Nadel verformen kann und dessen Volumen somit nicht konstant bleibt, ist das minimale Pipettiervolumen auf den Mikroliter Bereich begrenzt. Solche Geräte werden z. B. beim Hit-Picking in HTS-Anwendungen verwendet, bei dem Proben aus einzelnen Wells einer größeren Anzahl von Mikrotiterplatten auf einer neuen Mikrotiterplatte zusammengefaßt werden. Da jede Mikrotiterplatte seriell abgearbeitet werden muss, sind Nadelpipettierer zur Steigerung des Durchsatzes oftmals mit mehreren Pipettierkanälen ausgestattet. Soll jeder Kanal getrennt angesteuert werden, sind dementsprechend viele Spritzenpumpen erforderlich. Große Systeme dieser Art verfügen z.B. über 96 Kanäle, von denen jeweils 8 parallel durch eine Spritzenpumpe betätigt werden. Der Einbau von 96 Spritzenpumpen ist aus Platz- und Kostengründen nicht möglich.

Eine Alternative zu den Nadelpipettierern bilden Geräte, bei denen ein Array von Pipetten nach dem Kolbenhubprinzip bedient wird. Bei Ausführungen mit einem einzelnen Kolben werden die Proben über ein Luftpolster manipuliert. Aufgrund der Größe des Luftpolsters zwischen Kolben und Proben ist das minimale Volumen, das präzise pipettiert werden kann, auf den Mikroliter Bereich begrenzt. Andere Ausführungen bestehen aus einem Array aus einzelnen Spritzen. Da in jeder Spritze nur kleine Luftpolster entstehen, ist die Übertragung deutlich geringerer Mengen möglich. Zum Beispiel wird bei diesen Geräten ein minimales Pipettiervolumen von 100 Nanolitern angegeben. Allen derartigen Geräten ist gemeinsam, dass die Pipetten nicht einzeln angesteuert werden können sondern stets parallel arbeiten.

Dementsprechend ist deren Haupteinsatzgebiet der HTS-Bereich, wo möglichst viele Proben mit konstantem Volumen maximal schnell von einer Mikrotiterplatte auf eine andere übertragen und vermessen werden müssen. Die Pipettiergenauigkeit bleibt dabei vergleichsweise gering, was den Einsatz auf Tests eher qualitativer Natur beschränkt.

Gelöste Aufgabe

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde ein Pipettensystem zu schaffen, welches die Nachteile aus dem Stand der Technik vermeidet, insbesondere die exakte Steuerung jeder einzelnen Pipette innerhalb eines aus erfindungsgemäßen Pipettensystemen bestehenden Pipettenarrays ermöglicht.

Beschreibung

Gemäß der vorliegenden Erfindung wird die Aufgabe durch die Merkmale des Anspruches 1 gelöst. Die vorliegende Erfindung stellt darüber hinaus in Anspruch 13 ein Verfahren zum Betreiben des Pipettensystems und/oder daraus bestehender Pipettenarrays zur Verfügung.

Die bevorzugten Ausführungsformen sind Gegenstand der abhängigen Ansprüche.

Das erfindungsgemäße Pipettensystem umfaßt eine Pipettenkapillare, einen Aktor, ein Regelement und ein Sensorelement. Das Sensorelement bildet zusammen mit dem Regelement und dem Aktor einen Regelkreis zur Steuerung des Pipettiervorganges.

Die Pipettenkapillare ist mindestens teilweise mit einem Systemmedium gefüllt. Der Aktor ermöglicht die Verschiebung der räumlichen Position einer Phasengrenze zwischen dem Systemmedium und einem zweiten Medium innerhalb der Kapillare. Unter Phasengrenze ist dabei jeder hinreichend scharfe Übergang zwischen unterschiedlichen Medien zu verstehen. Also z.B. der Übergang zwischen einer Flüssigkeit und einem Gas.

Die Phasengrenze ist bevorzugt die Grenze einer Blase des zweiten Mediums innerhalb des Systemmediums. Das Sensorelement ist derart ausgebildet, dass es die Position der Phasengrenze oder der Blase innerhalb der Kapillare detektieren kann. Das Sensorelement bildet zusammen mit dem

5 Regelelement und dem Aktor einen Regelkreis, dergestalt, dass mittels des Aktors die Verschiebung der Position des Systemmediums innerhalb der Pipettenkapillare, abhängig von der mit dem Sensorelement gemessenen Position der Phasengrenze oder der Blase, über das Regelelement steuerbar ist. Das Sensorelement ist also durch eine elektronische Schaltung mit dem

10 Aktor verbunden, welche die Ausgangssignale des Sensorelements erfasst und verarbeitet und den Aktor in Abhängigkeit von diesen Signalen gezielt ansteuern kann. Der Aktor kann entweder selbst das Systemmedium in Bewegung setzen, also eine Strömung erzeugen oder z. B. in Form eines Ventils derart ausgebildet sein, dass er eine durch einen äußeren Antrieb

15 erzeugbare Strömung des Systemmediums steuern und/oder beeinflussen kann. Die Phasengrenze kann also innerhalb der Kapillare durch geeignetes Ansteuern des Aktors bei gleichzeitiger Aktivierung des Antriebs innerhalb eines überwachten Bereiches gezielt positioniert werden. Bevorzugt besteht der Antrieb aus einem Reservoir mit Systemmedium, welches derart mit der

20 Pipettenkapillare verbunden ist, dass vom Reservoir Systemmedium in die Pipettenkapillare einfließen kann. Das Reservoir kann z.B. über einen Schlauch mit einem Ende der Pipettenkapillare verbunden sein. Innerhalb des Reservoirs kann das Systemmedium mit Druck derart beaufschlagt werden, dass ein Antrieb für einen Strom des Systemmediums in der Pipettenkapillare

25 besteht.

In bestimmten Fällen können Aktor und Antrieb zusammenfallen. Ist das Gerät z. B. nur mit einer einzelnen Pipette ausgestattet, kann auch unmittelbar eine Spritzenpumpe mittels des Ausgangssignals des Sensorelements gesteuert werden.

30 Die Aufnahme und Abgabe von gasförmigen oder flüssigen Proben über eine Pipettierspitze ist mit der Position der überwachten Phasengrenze innerhalb der Kapillare korreliert. Das aufgenommene oder abgegebene Probenvolumen ist dabei zu der Lageänderung der Position der Phasengrenze proportional.

Als Systemmedium kommt prinzipiell jede Flüssigkeit oder jedes Gas in Frage, bevorzugt wird eine elektrisch leitfähige Flüssigkeit eingesetzt. Ist das Systemmedium eine Flüssigkeit, so kann das zweite Medium entweder ein Gas oder eine nicht mit dem Systemmedium mischbare weitere Flüssigkeit sein.

- 5 Sind beide Medien Flüssigkeiten, so muss bei Einsatz eines Leitfähigkeitssensors ein signifikanter Leitfähigkeitsunterschied zwischen den Flüssigkeiten bestehen. Im Folgenden wird ohne Einschränkung der Allgemeinheit meist von Flüssigkeiten gesprochen. Diese Flüssigkeiten werden auch als Systemflüssigkeit bezeichnet.
- 10 Als Systemflüssigkeit kann eine beliebige, wässrige oder nichtwässrige Lösung dienen, die mit den in der Pipette verwendeten Materialien verträglich ist.

Als Sensorelement wird ein Sensor gemäß der deutschen Patentanmeldung DE 199 44331 eingesetzt. Es handelt sich hierbei um einen Mikrosensor zur

15 Positionsmessung von Flüssigkeiten in Kapillaren, dieser beruht auf dem Prinzip von Leitfähigkeitsmessungen. Dabei ist jedoch nur eine Änderung der Leitfähigkeit für das Messprinzip wesentlich. Die Absoluthöhe der Leitfähigkeit der Arbeitsflüssigkeit spielt eine untergeordnete Rolle. In Falle des Einsatzes eines derartigen Sensors muss die Systemflüssigkeit elektrisch leitfähig sein,

20 falls nicht das zweite Medium elektrisch leitfähig ist.

In der Kapillare befindet sich eine Gasblase, die auf beiden Seiten von der Arbeitslösung umschlossen ist und innerhalb der Kapillare über einem Sensorchip hin- und her bewegt werden kann. Anstelle der Gasblase kann auch eine nichtleitende Flüssigkeit verwendet werden, die mit der Arbeitslösung nicht

25 mischbar ist. Im Folgenden wird, ohne Einschränkung der Allgemeinheit, nur von einer Blase gesprochen. Wesentlich ist, dass zwischen Arbeitsflüssigkeit und Blaseninhalt ein signifikanter Leitfähigkeitsunterschied besteht. Vorstellbar ist daher auch, dass die Arbeitsflüssigkeit nicht leitend ist und die Blase aus einer leitfähigen Flüssigkeit besteht. Es befindet sich also mindestens ei-

30 ne Grenze zwischen zwei unterschiedlichen Leitfähigkeiten der Kapillarenfüllung im Bereich über dem Sensorelement.

Der Sensorchip besteht aus einem Substrat bevorzugt aus Silizium, Glas oder Kunststoff.

Darauf sind mikrostrukturierte, teilpassivierte Metallelektroden, bevorzugt aus Platin, Iridium oder Gold aufgebracht. Iridium zeichnet sich durch einen besonders geringen Polarisationswiderstand in wässriger Lösung aus. Die Elektroden bestehen aus jeweils einer bevorzugt konstanten Anzahl von sich in einem bevorzugt konstanten Abstand befindenden Teilelektroden, welche untereinander mit elektrischen Verbindungen vernetzt sind. Die Teilelektroden von bevorzugt zwei Elektroden stehen sich paarweise bevorzugt mit einem konstanten Abstand als Teilelektrodenpaare gegenüber. Die sich wiederholende Grundgeometrie (Mäander) besteht also aus bevorzugt zwei Elektrodenpaaren, welche wiederum aus Teilelektrodenpaaren bestehen. Diese Grundgeometrie wiederholt sich periodisch über die gesamte Sensorchiplänge, Der Abstand zwischen den Teilelektrodenpaaren in Längsrichtung, d.h. in Richtung der zu messenden Blasenbewegung, ist, in bevorzugter Weise, stets derselbe. Dies gilt auch bei benachbarten Teilelektrodenpaaren, welche zu benachbarten Mäandern gehören. Dabei sind bevorzugt die elektrischen Verbindungen zwischen den Teilelektroden der Elektroden mit einer passivierenden Schicht überzogen, wogegen die Teilelektroden selbst die sensoraktiven Bereiche des Sensorchips darstellen und sich daher direkt an der Oberfläche, welche mit der Arbeitsflüssigkeit in Berührung kommt, befinden. Die elektrischen Verbindungen können derart positioniert sein, dass diese von der Wandung der Kapillare vollständig gegenüber dem Innenraum der Kapillare abgedichtet sind. Wenn die Kapillare aus einem isolierenden Material besteht kann dann auf eine Passivierungsschicht verzichtet werden. Die Passivierung ist nur notwendig wenn die elektrischen Verbindungen mit der Systemflüssigkeit in Kontakt kommen können oder die Kapillare aus elektrisch leitfähigem Material besteht. Der Sensor wird so seitlich an der Kapillare, welche z.B. aus Glas oder Kunststoff besteht, angebracht, dass sich die aktiven Bereiche der Elektroden, also die Teilelektroden, im Innenraum der Kapillare befinden. Die Anschlüsse (Bondpads) der Elektroden der einzelnen Mäander liegen dagegen außerhalb der Kapillare. Hierzu wird die Kapillarenwand partiell durch den Sensorchip ersetzt.

Befindet sich eine leitfähige Flüssigkeit in der Kapillare und wird eine Spannung angelegt, so fließt ein Strom zwischen den gegenüberliegenden

Teilelektroden eines Mäanders. Die Impedanz des Mäanders wird unter anderem von der benetzten Elektrodenfläche, d.h. der Anzahl der benetzten Teilelektrodenpaare, bestimmt. Mit zunehmender benetzter Fläche nimmt sie ab. Dieser Effekt kann zur Detektion der Position einer Luftblase oder
5 allgemein einer Leitfähigkeitsgrenze, die den Mäander ganz oder teilweise überdeckt, bzw. im Falle einer einzelnen Leitfähigkeitsgrenze, die sich über dem Mäander befindet, ausgenutzt werden. Im Folgenden wird zur Beschreibung der Funktionsweise des Sensors ohne Einschränkung der Allgemeinheit von einer Blase gesprochen. Die Aussagen gelten jedoch auch
10 für das Vorhandensein einer einzigen Leitfähigkeitsgrenze. Es wird dann nicht eine Blasenposition bestimmt sondern die Lage der Leitfähigkeitsgrenze zwischen zwei Teilelektrodenpaaren eines Mäanders oder die Lage der Leitfähigkeitsgrenze zwischen zwei Mäandern. Eine Blase stellt einen Spezialfall dar, bei dem zwei Leitfähigkeitsgrenzen innerhalb der
15 Kapillarenfüllung liegen.

Die Position der Blase lässt sich im Ruhezustand aus dem Vergleich der Widerstandswerte aller Mäander ermitteln. Unabhängig von der konkreten Arbeitsflüssigkeit zeigen alle von der Flüssigkeit benetzten Mäander einen
20 minimalen Widerstandswert. Ist die Blase ausreichend groß, so dass mindestens ein Mäander vollständig von ihr überdeckt wird, ergibt sich für diesen Mäander ein maximaler Widerstandswert. Die angrenzenden, nur teilweise bedeckten Mäander weisen Zwischenwerte des Widerstandes auf. Zur Bestimmung der genauen Position der Flüssigkeitsoberfläche im
25 Zwischenbereich eines Mäanders ist die Kenntnis der Form des Widerstandsverlaufes (Referenzwiderstandskurve) beim Überstreichen eines Mäanders und des Maximal- und Minimalwertes des Widerstandes des betreffenden Mäanders notwendig. Durch Interpolation auf die Kurve bekannter Form und mit bekanntem Minimal- bzw. Maximalwert kann dann
30 jeder Zwischenwiderstandswert einem bestimmten Teilelektrodenpaar des entsprechenden Mäanders zugeordnet, und somit die Blasenposition oder Leitfähigkeitsgrenzenposition genau bestimmt, werden.

Sind die Benetzungseigenschaften der Arbeitsflüssigkeit gegenüber dem Sensorelement so, dass sich kein dauerhafter Flüssigkeitsfilm auf dem Sensorelement bildet und ist die Wanderungsgeschwindigkeit der Blase nicht zu hoch, dann treten während der Bewegung der Blase über die Teilelektrodenpaare eines Mäanders hinweg charakteristische abrupte Widerstandsänderungen (Sprünge) auf. Im Falle einer wässrigen Lösung bedeutet dies eine hydrophobe Oberfläche des Sensorelements, wobei die Lösung jedoch nicht so stark abgestoßen werden darf, dass sich keine Benetzung, in den Bereichen des Sensorelements, welche von der Arbeitsflüssigkeit überdeckt sind, ausbilden kann. Idealer Weise wird das Sensorelement immer exakt dort von der Arbeitsflüssigkeit benetzt wo es vom Arbeitsflüssigkeitsstand überdeckt ist. Werden alle Mäander parallel überwacht, kann aus der Gesamtzahl der Sprünge während der Blasenwanderung die von der Blase zurückgelegte Wegstrecke und damit das bewegte Flüssigkeitsvolumen bestimmt werden.

In einem, aus Pipetten mit erfindungsgemäßen Pipettensystemen gebildetem Pipettenarray sind alle Pipetten getrennt regelbar. Es können entsprechend der Aktivierung des Antriebs (Unter- oder Überdruck) unabhängig voneinander unterschiedliche Probenvolumina sowohl aufgenommen als auch abgegeben werden. Es kann aber auch vorteilhaft sein die Pipetten nur in einer Richtung, d.h. entweder beim Aufnehmen oder beim Abgeben von Proben, getrennt zu regeln und in der jeweils anderen Richtung parallel arbeiten zu lassen.

Da der Füllstand in der Pipette durch den Sensor überwacht wird, muss der Aktor selbst nicht präzise wie z. B. eine Spritzenpumpe arbeiten, sondern kann in Abhängigkeit vom Sensorsignal gesteuert werden. Gleichzeitig lassen sich unterschiedliche Aktoren und Antriebe miteinander kombinieren.

Da der Aktor und das Sensorelement direkt in der Pipettenkapillare eingebaut sein können und das Regelelement nur einen geringen Platzbedarf hat ermöglicht das erfindungsgemäße Pipettensystem den Aufbau von Pipettenarrays deren einzelne Pipetten unabhängig voneinander steuerbar sind und jeweils unterschiedlich große Probenvolumina pipettieren können.

Die vorliegende Erfindung wird ohne Beschränkung des allgemeinen Erfindungsgedankens im Folgenden anhand von Ausführungsbeispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnungen beschrieben.

- 5 Fig. 1 zeigt ein erfindungsgemäßes Pipettensystem.
Fig. 2 zeigt den Aufbau eines Pipettensystems nach dem Stand der Technik
Fig. 3 zeigt den Aufbau von Pipettenarrays, welche nach dem Kolbenhubprinzip, mit parallel arbeitenden Pipetten arbeiten nach dem Stand der Technik.
Fig. 4. zeigt einen elektronischen Sensor nach der Patentanmeldung
10 DE 199 44 331
Fig. 5 zeigt ein erfindungsgemäßes Pipettenarray mit Ventilen als Aktoren
Fig. 6 zeigt ein erfindungsgemäßes Pipettenarray mit Elektrolysezellen als Aktoren und einem Kolbenarray als externem Antrieb.
Fig. 7 zeigt den Ablauf des Befüllens eines erfindungsgemäßen Pipetten-
15 arrays mit dem Systemmedium und darauf folgendem Pipettiervorgang.

Fig. 1 zeigt den schematischen Aufbau einer regelbaren Pipette mit dem erfindungsgemäßen Pipettensystem. Die Pipette verfügt über einen Füllstandssensor (18), innerhalb einer Kapillare (1). Der Füllstandssensor
20 besteht aus einem seitlich in Längsrichtung angebrachten Chip, der die Position einer Phasengrenze (13) innerhalb der Kapillare, bevorzugt zwischen Luft und einer Flüssigkeit kontinuierlich überwachen kann. Im Falle der Ausprägung des Füllstandssensor als Sensorelement nach der Patentanmeldung DE 199 44 331 enthält der Chip mikrostrukturierte
25 Metallelektroden, deren aktive Bereiche sich innerhalb der Kapillare befinden. Sie sind über die gesamte Länge des Chips verteilt, wobei sich eine bestimmte Anordnung, im folgenden auch Mäander genannt, ständig wiederholt. Am oberen Ende der Kapillare des Füllstandssensors befindet sich ein Aktor (9) der einen Strom der durch die Kapillare fließt aktiv beeinflussen
30 kann. Bei dem Strom kann es sich um Flüssigkeitsstrom oder Gasstrom handeln. Im Folgenden wird ohne Einschränkung der Allgemeinheit von einem Flüssigkeitsstrom gesprochen. Der Aktor kann z. B. ein elektromagnetisches Ventil sein. Ein Regelelement (12) aus einer elektronischen Schaltung, z. B.

einem ASIC, verbindet Füllstandssensor und Aktor in einem Regelkreis (10). Alle zum Pipettensystem gehörenden Bestandteile werden in der Figur durch den gestrichelten Rahmen zusammengefasst.

Der obere Ausgang der Pipette ist mit einem Antrieb (29) verbunden, der
5 durch pneumatische oder hydraulische Krafteinwirkung einen Fluidstrom erzeugen, d. h. eine Flüssigkeit in der Pipette bewegen kann. Die Systemflüssigkeit (3) in der Pipette umschließt eine Blase aus einem zweiten Medium (19), z.B. ein Luftsegment, im folgenden die Messblase, dessen eine Phasengrenze, im folgenden auch Meniskus, sich in der Kapillare innerhalb
10 der aktiven Elektrodenbereiche des Füllstandssensors befindet. Am unteren Ausgang der Pipette ist eine bevorzugt auswechselbare Pipettenspitze (14) angeschlossen. In der Spitze kann sich eine Probe (16) befinden. Die Probe kann in die Pipettierspitze aus einem Probengefäß (15) angesaugt oder Abgegeben werden, wenn durch den Antrieb ein Unter- oder Überdruck über
15 den Aktor auf die Systemflüssigkeit ausgeübt wird. Die Probenlösung ist von der Systemflüssigkeit durch ein weiteres Luftsegment, im folgenden die Trennblase (17), separiert.

Verschiebt sich die Messblase und somit die überwachte Phasengrenze innerhalb der Kapillare, wird die Position der Phasengrenze oder der Messblase
20 im Fall der Verwendung des Sensors aus der Patentanmeldung DE 199 44 331 gemäß der im folgenden beschriebenen statischen Methode der Füllstandsdetektion vom Füllstandssensor detektiert.

25 Jeder vollständig von der Systemflüssigkeit bedeckte Mäander eines Sensors zeigt einen Maximalwert des Ausgangssignals. Wird ein beliebiger Mäander hingegen vollständig von der Luftblase überdeckt, ist dessen Ausgangssignal gleich Null. Wird ein beliebiger Mäander nur teilweise von der Luftblase überdeckt, d. h. befindet sich die Phasengrenze zwischen Systemflüssigkeit und
30 Luft innerhalb dieses Mäanders, erscheinen Zwischenwerte. Sind die Maximalwerte für alle Mäander bekannt, können die Zwischenwerte für jeden Mäander durch Interpolation auf eine Linie zwischen Null und dem Maximalwert einem der Elektrodenpaare des entsprechenden Mäanders zugeordnet und

somit die Lage des Phasenüberganges über die gesamte Länge des Sensors eindeutig ermittelt werden. Andersherum, für jeden Mäandereines Sensors können bei bekanntem Maximalwert konkrete Ausgangssignalwerte errechnet werden, die einer bestimmten Position der überwachten Phasengrenze entsprechen würden.

Voraussetzung ist, dass die Maximalwerte aller Mäander des Sensors sich während des Dosiervorganges nicht ändern.

Bleibt der Querschnitt der Kapillare über deren Länge konstant, ist die Verschiebung der überwachten Phasengrenze proportional zum Systemflüssigkeitsvolumen, das nach oben oder nach unten aus der Kapillare verdrängt wird. Wandert die überwachte Phasengrenze z. B. nach unten, drückt die verdrängte Systemflüssigkeit ihrerseits einen Teil der Probe aus der Pipettenspitze heraus. Ist die Trennblase klein genug, so dass die Komprimierbarkeit von Luft vernachlässigt werden kann, entspricht das abgegebene Probenvolumen mit hoher Genauigkeit dem Volumen der verdrängten Systemflüssigkeit. Verschiebt sich die überwachte Phasengrenze nach oben und taucht die Pipettenspitze dabei in ein Probengefäß ein, wird ein der Verschiebung äquivalentes Probenvolumen aufgenommen.

Da der Aktor über eine elektronische Regelung (ASIC) mit dem Sensor verbunden ist, kann der Phasenübergang durch eine geeignete Ansteuerung des Aktors bei gleichzeitiger Aktivierung des Antriebs (Überdruck oder Unterdruck) innerhalb des vom Füllstandssensor überwachten Bereiches der Kapillare gezielt positioniert werden. Auf diese Weise können folglich genau definierte Probenvolumina aufgenommen oder abgegeben werden.

Fig. 2 zeigt einen Nadelpipettierer mit einem einzelnen Kanal, bestehend aus einer fest im Gehäuse installierten Spritzenpumpe (21), die über einen flüssigkeitsgefüllten Schlauch (20) mit der räumlich verfahrbaren Pipettiernadel verbunden ist nach dem Stand der Technik. Die Pipette wird durch eine Spritzenpumpe mittels einer Systemflüssigkeit (3) betätigt und kann über der Mikrotiterplatte (22) verfahren werden. Die Luftblase (17) in der Pipettenspitze (14) dient zur Trennung der Systemflüssigkeit von der Probe (16).

Fig. 3 zeigt schematisch mögliche Varianten von Geräten, bei denen ein Array von parallel arbeitenden Pipetten nach dem Kolbenhubprinzip bedient wird, nach dem Stand der Technik. Bei der Ausführung in Fig. 3a werden die
5 Proben (16) mit einem einzelnen Kolben (23) über ein Luftpolster (25) manipuliert. Aufgrund der Größe des Luftpolsters zwischen Kolben und Proben ist das minimale Volumen, das präzise pipettiert werden kann, auf ca. 1 Mikroliter begrenzt. Die Ausführung in Fig. 3b entspricht einem Array aus einzelnen
10 Spritzen, welche mittels eines Kolbenarrays (24) betätigt werden. Da in jeder Spritze nur kleine oder gar keine Luftpolster (25) entstehen, ist die Übertragung deutlich geringerer Probenmengen (16) möglich.

In Fig. 4 ist ein Ausschnitt eines Sensors gemäß der Patentanmeldung DE 199 44 331 mit einer bevorzugten Elektrodengeometrie in der Draufsicht
15 dargestellt. Die aktiven, freiliegenden Bereiche (5) der Elektroden befinden sich innerhalb einer Kapillare (1) und sind über die gesamte Länge des Sensorchips (2) verteilt. Die Elektrodenstruktur besteht dabei aus einer sich ständig wiederholenden Anordnung. Jede Elektrode besteht aus mehreren
20 sensoraktiven Teilelektroden (5), wobei immer zwei Elektroden ein Elektrodenpaar (Mäander) (8) bilden. Die Teilelektroden der Elektrodenpaare stehen sich als Teilelektrodenpaare (11) gegenüber. Jede Elektrode hat dabei eine eigene elektrische Anschlussmöglichkeit (Bondpad) (4).
Aufeinanderfolgende Mäander sind so angeordnet, dass der Abstand zwischen den Teilelektrodenpaaren (11) über die gesamte Chiplänge stets konstant ist. Jeder Mäander besteht aus zwei Metallelektroden mit 8 einander gegenüberliegenden Teilelektrodenpaaren.
25

Die einzelnen Teilelektroden auf jeder Seite eines Mäanders sind in Reihe geschaltet. Die elektrische Verbindung zwischen den einzelnen Teilelektroden
30 auf einer Seite eines Mäanders hat dabei einen ohmschen Widerstand welcher nicht zu gering sein sollte. Bei der dargestellten Ausführungsform wird der Widerstand durch die Verlängerung der elektrischen Verbindung (7) in Schlangenlinienform erhöht. Der Abstand zwischen benachbarten Teilelektro-

denpaaren (11) in Längsrichtung von einigen 10 Mikrometer. Je geringer der Abstand der Teilelektrodenpaare in Längsrichtung, desto höher ist die Auflösung des Sensors, d.h. desto kleinere Flüssigkeitsmengen können dosiert werden. Die freiliegenden, aktiven Elektrodenbereiche können mit einer Flüssigkeit innerhalb der Kapillare in Kontakt kommen.

Die Ableitungen zu den außerhalb der Kapillare liegenden Bondpads sind von einer Passivierungsschicht (6) bedeckt, wenn sie nicht von der Kapillarenwandung überdeckt werden.

10 Der in Fig. 5 dargestellte Aufbau zeigt ein Dosiergerät mit einem Array aus N einzeln ansteuerbaren und regelbaren Pipetten (30), die mit elektromagnetischen Ventilen als Aktoren (9) versehen sind. Miniaturventile, die dem Rastermaß einer 96'er Mikrotiterplatte genügen, sind kommerziell erhältlich. Das Ventil wird über eine auf der Pipette integrierte Schaltung (ASIC) als Regelelement (12), die die Sensorsignale verarbeitet, gemäß vorgegebenen Sollwerten gesteuert. Den Antrieb (29) bildet ein gemeinsames Reservoir (26) am oberen Ausgang der Pipetten, in dem z. B. pneumatisch oder hydraulisch definierter Unter- oder Überdruck ($\pm p$) erzeugt werden kann. In dieser Ausführungsform wird nur ein gemeinsamer Antrieb für alle Pipettensysteme verwendet.

In Fig. 6 ist eine andere Gerätevariante mit N einzeln ansteuerbaren und regelbaren Pipetten (30) dargestellt. In diesem Fall enthält jede Pipette eine Elektrolysezelle (27) als Aktor. Ist die Systemflüssigkeit (3) eine wässrige Lösung, kommt es beim Anlegen einer elektrischen Spannung zur Gasentwicklung in der Elektrolysezelle und folglich zum Druckaufbau in der Pipette. Ist das Volumen oberhalb jeder Pipette unveränderlich, so dass die Systemflüssigkeit nicht nach oben ausweichen kann, wird in Korrelation zum entstandenen Gasvolumen Probenflüssigkeit aus der Pipettenspitze verdrängt. Dieser Vorgang kann analog zum Ventil über den in die Pipette integrierten ASIC gemäß vorgegebenen Sollwerten gesteuert werden. Als Antrieb kann hier z. B. ein Kolbenarray (24) oder auch eine Spritzenpumpe dienen. Die Gasblasen könnten auch durch Heizen der Systemflüssigkeit

oberhalb des Sensorelements erzeugt werden. Eine weitere Variante des Aktors könnte durch das Verengen oder Erweitern des Durchmessers der Kapillare oberhalb des Sensorelements verwirklicht werden. Hierzu kann z.B. von außen mit einem herkömmlichen Piezoelement oder einem

- 5 Bimetallstreifen auf ein oberhalb des Sensorelements an die Pipettenkapillare anschließendes verformbares Schlauchstück, gesteuert vom Ausgangssignal des Sensorelements, gedrückt werden.

Fig. 7 zeigt unter Verwendung des in Fig. 5 dargestellten Gerätes den Ablauf
10 des parallelen Übertragens von Proben (16) mit unterschiedlichen Volumina von einer Mikrotiterplatte (22) auf eine andere. Strömungsrichtungen sind in den Figuren jeweils durch Pfeile angedeutet.

Zuerst werden alle Pipetten mit Systemflüssigkeit (3) durchgespült. Dazu
15 muss im Reservoir (26) ein bestimmter Überdruck "+p" eingestellt, alle Anker-ventile (9) eins bis N gleichzeitig geöffnet und nach einer vorgegebenen Zeit wieder geschlossen werden. Gemäß Fig. 7a sind dann alle Pipetten vollständig mit Systemflüssigkeit gefüllt. Bevorzugt bei Einsatz eines Sensors nach der Patentanmeldung DE 199 44 331 kann nun für jeden Sensor die
20 maximalen Ausgangssignale aller Mäander bestimmt und als Referenzwerte abgespeichert werden.

Im zweiten, in Fig. 7b dargestellten Schritt wird in jeder Pipette eine Messblase erzeugt. Dazu wird das Reservoir auf Unterdruck "-p" umgeschaltet und
25 alle Ventile zeitgleich geöffnet, wobei die Pipettenspitzen über das Niveau der Systemflüssigkeit in einer Spülwanne (28) angehoben sind. Dadurch wird in jede Pipette Luft (25) angesaugt. Der Vorgang wird durch Schließen der Ventile gestoppt, wenn der obere Meniskus der Luftblase in jeder Pipette eine vorgegebene Position innerhalb des Sensorbereiches erreicht hat. Es ist be-
30 vorzugt, für alle Pipetten dieselbe Position auszuwählen, um gleichgroße Messblasen zu erhalten. Die vorgegebene Position innerhalb des Sensorbereiches befindet sich bei Einsatz eines Sensors nach der Patentanmeldung DE 199 44 331 bevorzugt am untersten Mäander.

Anschließend wird, wie in Fig. 7c dargestellt das Pipettenarray in eine Wanne mit Systemflüssigkeit (Spülwanne (28)) abgesenkt, bis die Pipettenspitzen in die Systemflüssigkeit (3) eintauchen. Werden die Ventile jetzt zeitgleich
5 geöffnet und herrscht im Reservoir Unterdruck (-p), wird Systemflüssigkeit angesaugt. Der Vorgang wird für jede Pipette individuell durch Schließen des Ventils gestoppt, wenn der untere Meniskus der Luftblase die gewünschte, bevorzugt für alle Pipetten gleiche Position erreicht hat. Diese Position liegt bei Einsatz des Sensorelements der Patentanmeldung DE 199 44 331
10 bevorzugt auf einem der untersten Mäander, um ein möglichst großes Probenvolumen aufnehmen zu können.

Im vierten Schritt werden in den Pipettenspitzen die Trennblasen erzeugt, die ein Vermischen der Proben mit der Systemflüssigkeit vermeiden sollen. Dazu
15 wird das Pipettenarray soweit angehoben, dass der Kontakt aller Spitzen zur Flüssigkeit unterbrochen wird. Wie in den vorangegangenen Schritten wird das Ansaugen der Luft (25) durch zeitgleiches Öffnen der Ventile gestartet und unabhängig für jede Pipette an der unteren Phasengrenze der Messblase überwacht. Dem Sollwert entsprechend wird durch individuelles Schließen des
20 Ventils jeder Pipette auf einer bestimmten Position eines bestimmten Mäanders weiter oben gestoppt. Dieser Vorgang wird in Fig. 7d dargestellt. Diese Position muss nicht immer dieselbe sein. In Abhängigkeit von den Probenvolumina bzw. den Eigenschaften der Probenlösungen (16) können die Trennblasen von Pipette zu Pipette unterschiedlich groß gestaltet werden.

25 Die Pipettensysteme sind nun zur Pipettierung von Probenflüssigkeiten bereit. Dazu wird das Pipettenarray über einer Quell- Mikrotiterplatte (221) positioniert und soweit in die Wells in denen sich die Proben (16) befinden abgesenkt, bis die Pipettenspitzen in die darin enthaltenen Flüssigkeiten eintauchen. Für jede Pipette wird unabhängig von den anderen das Ventil geöffnet
30 und solange Probenflüssigkeit angesaugt, bis die überwachte untere Phasengrenze der Messblase die vorgegebene Position erreicht hat. Dann wird das Ventil wieder geschlossen. Auf diese Weise kann, wie in Fig. 7e dargestellt

jede Pipette ein anderes Volumen ΔV_1 bis ΔV_N aufnehmen. Der Startzeitpunkt kann dabei für jede Pipette individuell gewählt werden. Die Pipetten können z. B. alle gleichzeitig beginnen und dementsprechend zeitlich versetzt stoppen. Sie können auch zeitlich versetzt gestartet werden, so dass die Aufnahme der Proben (16) gleichzeitig beendet wird. Haben alle Pipetten den Vorgang abgeschlossen, wird das Pipettenarray wieder angehoben.

Zum Abgeben der pipettierten Proben, gemäß Fig. 7f wird das Reservoir auf Überdruck "+p" umgeschaltet und das Pipettenarray über der Zielplatte (222) positioniert. Nach dem Absenken der Pipetten, dargestellt in Fig. 7g werden die Ventile geöffnet und die Proben je nach Bedarf teilweise oder nahezu vollständig abgegeben. Sobald die überwachte Phasengrenze einer Pipette die vorgegebene Position (Sollwert) erreicht hat, wird das entsprechende Ventil geschlossen. Ist dieser Vorgang für alle Pipetten beendet, wird das Pipettenarray, wie in Fig 6h dargestellt angehoben. Anschließend können weitere Mikrotiterplatten befüllt (siehe Fig. 7g) oder ein neuer Dosiervorgang begonnen werden (siehe Fig. 7a).

Bei dem in Fig. 6 dargestellten Gerät laufen die in Fig. 7b bis 7d dargestellten Schritte für alle Pipetten parallel ab, Mess- und Trennblasen sind für alle Pipetten gleich groß. Die aufgenommenen Probenvolumina, siehe Fig. 7e, sind ebenfalls alle gleich. Beim Abgeben gemäß Fig. 7g lassen sich die Pipetten hingegen getrennt steuern.

Hierzu 6 Seiten Zeichnungen

Bezugszeichenliste

	1 Kapillare, Pipettenkapillare	23 Kolben
	2 Sensorchip	24 Kolbenarray
5	3 Systemmedium	25 Luft
	4 Anschlussmöglichkeiten (Bondpad)	26 Reservoir des Systemmediums
	5 sensoraktive Teilelektroden	27 Elektrolysezelle
	6 Passivierungsschicht	28 Spülwanne
	7 Verbindung zwischen den Teilelektroden	29 Antrieb
10	8 Elektrodenpaar	30 regelbare Pipette
	9 Aktor	
	10 Regelkreis	
	11 Teilelektrodenpaar	
	12 Regelelement	
15	13 Phasengrenze	
	14 Pipettenspitze	
	15 Probengefäß	
	16 Probe	
	17 Trennblase	
20	18 Sensorelement	
	19 Blase des zweiten Mediums	
	20 Schlauch	
	21 Spritzenpumpe	
	22 Mikrotiterplatte, 221 Quellplatte, 222 Zielplatte	
25		

Patentansprüche

1. Pipettensystem, mit
 - einer Pipettenkapillare (1),
 - einem Aktor (9) zur Einstellung der Position einer Phasengrenze (13) zwischen einem Systemmedium (3) und einem zweiten Medium (19) in der Pipettenkapillare,
 - einem Sensorelement (18) zur Positionsmessung der Phasengrenze, und
 - einem Regelelement (12), von dem der Aktor (9) in Abhängigkeit von einem Ausgangssignal des Sensorelements (18) ansteuerbar ist, dadurch gekennzeichnet, dass das Sensorelement (18) ein elektrischer Sensor ist, der aus einem Substrat (2) und mehreren einzeln an elektrischen Anschlussmöglichkeiten (4) kontaktierbaren, auf das Substrat (2) aufgebrachten Elektroden besteht, wobei die Elektroden aus mit elektrischen Verbindungen (7) vernetzten sensoraktiven Teilelektroden (5) bestehen und sich die Teilelektroden (5) von jeweils zwei Elektroden immer als Teilelektrodenpaare (11) beabstandet gegenüberliegen und die so gebildeten Elektrodenpaare (8) sich periodisch über die Sensorlänge wiederholen.

2. Pipettensystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei der Phasengrenze um eine Phasengrenze zwischen einer Flüssigkeit als Systemmedium (3) und einem Gas als zweitem Medium (19), oder zwischen einer elektrisch leitfähigen Flüssigkeit und einer nicht elektrisch leitfähigen Flüssigkeit, wobei die beiden Flüssigkeiten nicht mischbar sind, handelt.

3. Pipettensystem nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Phasengrenze dadurch gebildet wird, dass eine Blase des zweiten Mediums (19) zwischen dem Systemmedium (3) innerhalb der Pipettenkapillare eingeschlossen ist.

4. Pipettensystem nach Anspruch 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass es sich bei der Blase um eine Luftblase und bei dem Systemmedium (3) um eine wässrige Lösung handelt.
5. Pipettensystem nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass ein Antrieb (29) zur Beaufschlagung des Systemmediums (3) mit einer pneumatischen oder hydraulischen Kraft vorgesehen ist, wodurch ein Strom des Systemmediums (3) in der Pipettenkapillare erzeugbar ist.
6. Pipettensystem nach Anspruch 5,
dadurch gekennzeichnet,
dass es sich bei dem Antrieb (29) um ein Reservoir mit Systemmedium (3) handelt, wobei das Reservoir mit einem Ende der Pipettenkapillare verbunden ist.
7. Pipettensystem nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass es sich bei dem Antrieb (29) um einen Kolbenantrieb oder einen Spritzpumpenantrieb handelt und/oder dass der Aktor (9) den Strom steuert.
8. Pipettensystem nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,
dass es sich bei dem Aktor (9) um ein mechanisches oder elektromechanisches Ventil oder um eine Elektrolysezelle (27) handelt.
9. Pipettensystem nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass es sich bei dem Regelement (12) um eine elektronische Schaltung handelt.

10. Pipettensystem nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass der Sensor derart an der Pipettenkapillare befestigt ist, dass sich die sensoraktiven Teilelektroden (8) innerhalb der Pipettenkapillare befinden und die elektrischen Anschlussmöglichkeiten sich außerhalb der Pipettenkapillare befinden und dass sich mindestens eine Phasengrenze im Bereich des Sensors befindet.
11. Pipettenarray mit mehreren Pipettensystemen nach einem der Ansprüche 1 bis 10.
12. Pipettenarray nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass entweder bei der Arbeitsphase Aufnehmen oder bei der Arbeitsphase Abgeben von Probenflüssigkeit die Pipettensysteme einzeln regelbar sind.
13. Verfahren zum Befüllen der Pipettenkapillare des Pipettensystems und/oder Pipettenarrays nach einem der Ansprüche 1 bis 12, mit den Verfahrensschritten
 - vollständiges Befüllen der Pipettenkapillare des Pipettensystems mit dem Systemmedium (3),
 - Erzeugen einer Blase bestehend aus dem zweiten Medium (19) durch Ansaugen desselben und nachfolgendes Ansaugen von Systemmedium (3),
 - Ansaugen einer Gasblase (17) zur Trennung des Systemmediums (3) von einer zu pipettierenden Probenflüssigkeit (16) derart, dass die Phasengrenze zwischen Systemmedium (3) und zweitem Medium (19) innerhalb der Sensorlänge liegt.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem Verfahrensschritt des vollständigen Befüllens der Pipettenkapillare Referenzmessungen am Systemmedium (3) mit dem Sensorelement (18) durchgeführt werden.

15. Verfahren nach Anspruch 13 oder 14,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Ausdehnung der Blase des zweiten Mediums (19) der Sensorlänge entspricht.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 15,
dadurch gekennzeichnet,
dass bei Einsatz eines Pipettenarrays entweder bei der Arbeitsphase Aufnehmen oder bei der Arbeitsphase Abgeben von Probenflüssigkeit die Pipettensysteme einzeln geregelt werden.

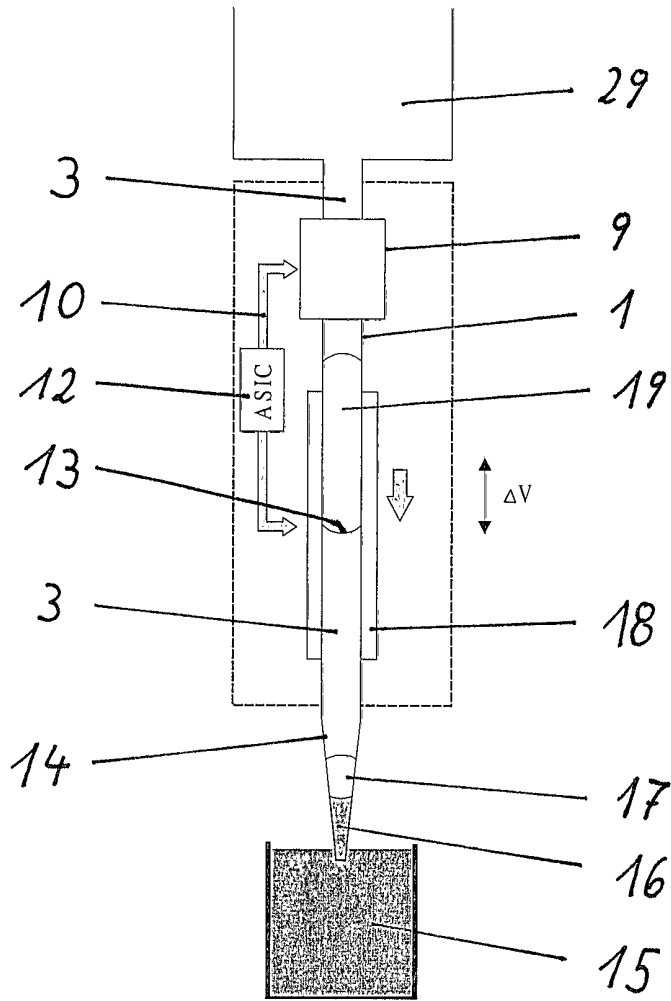


Fig. 1

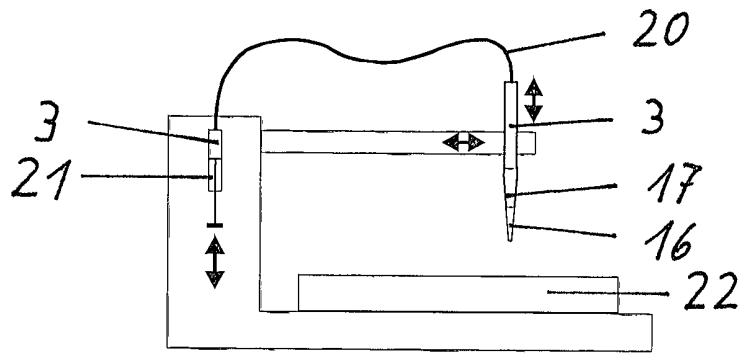


Fig. 2

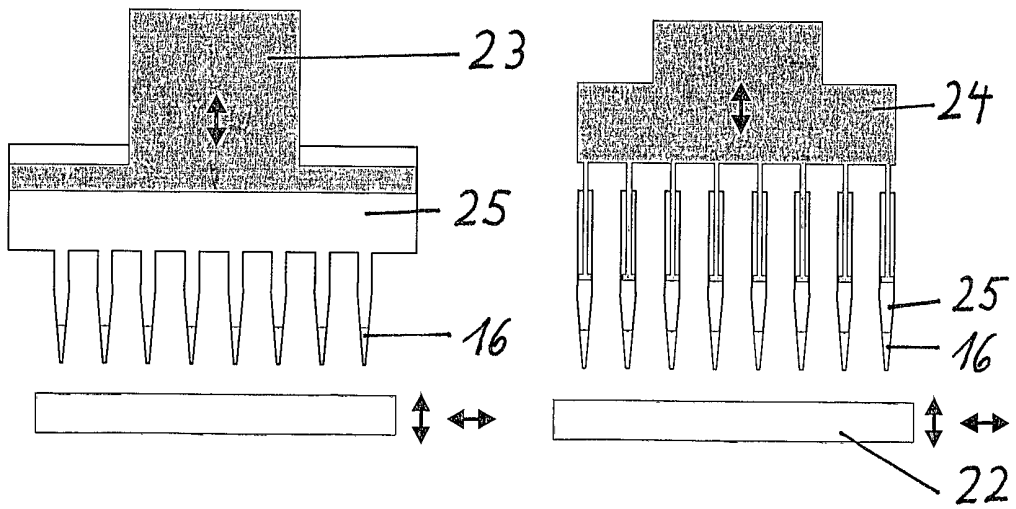


Fig. 3a

Fig. 3b

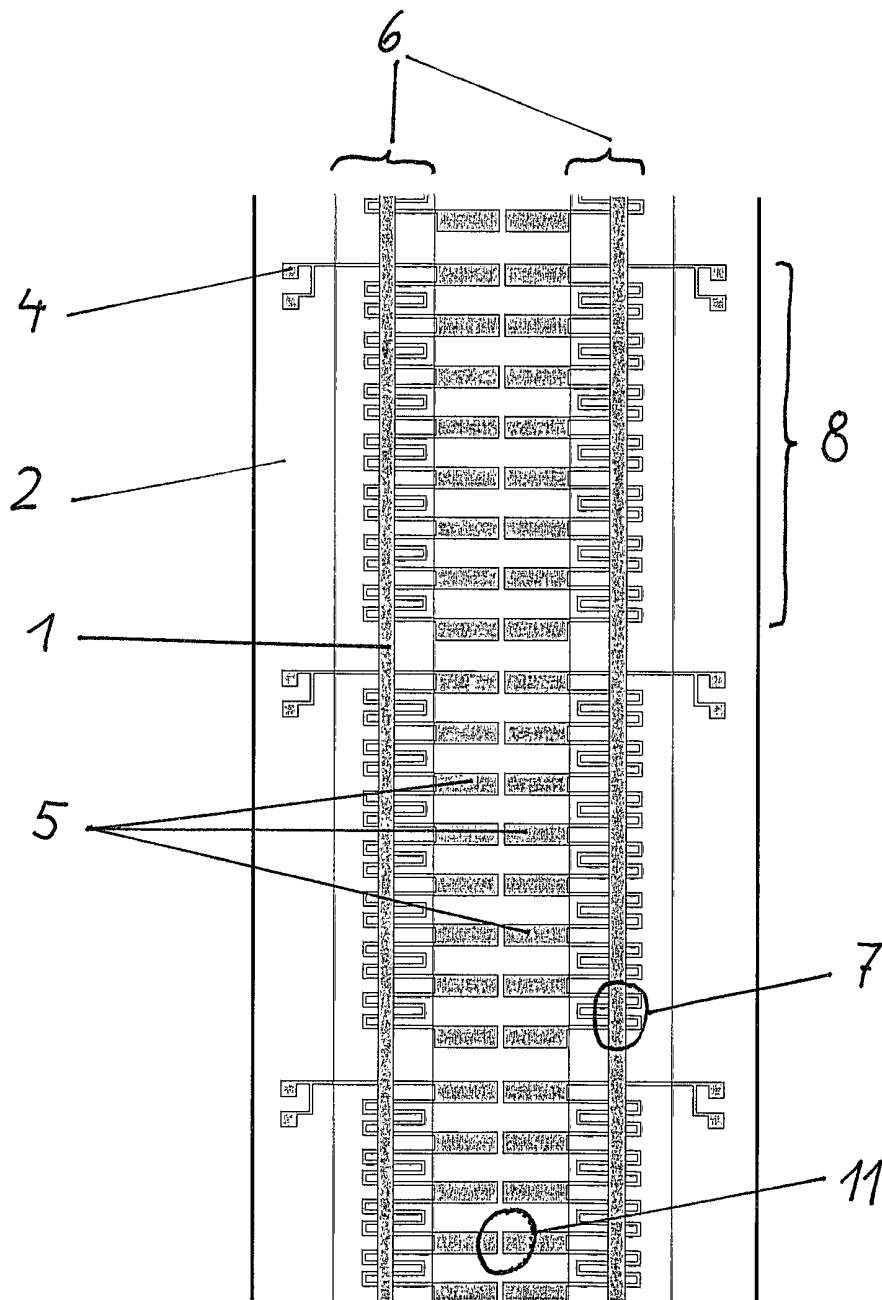


Fig. 4

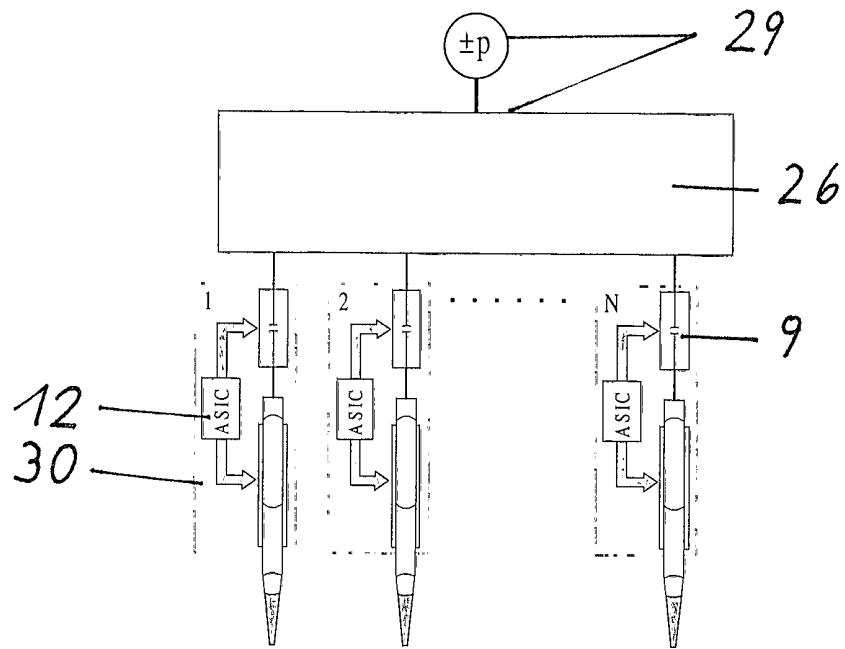


Fig. 5

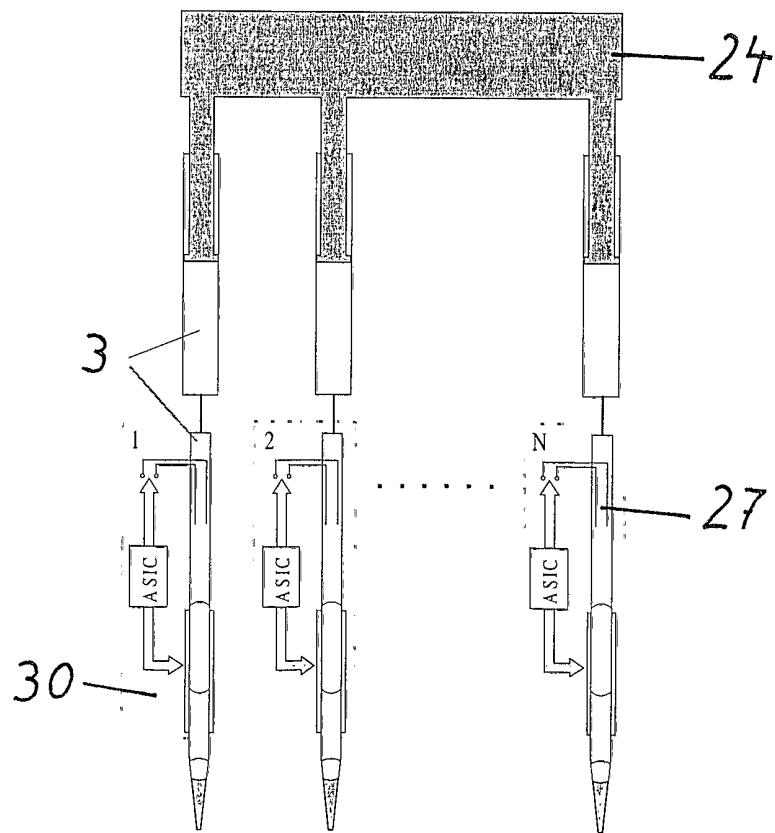
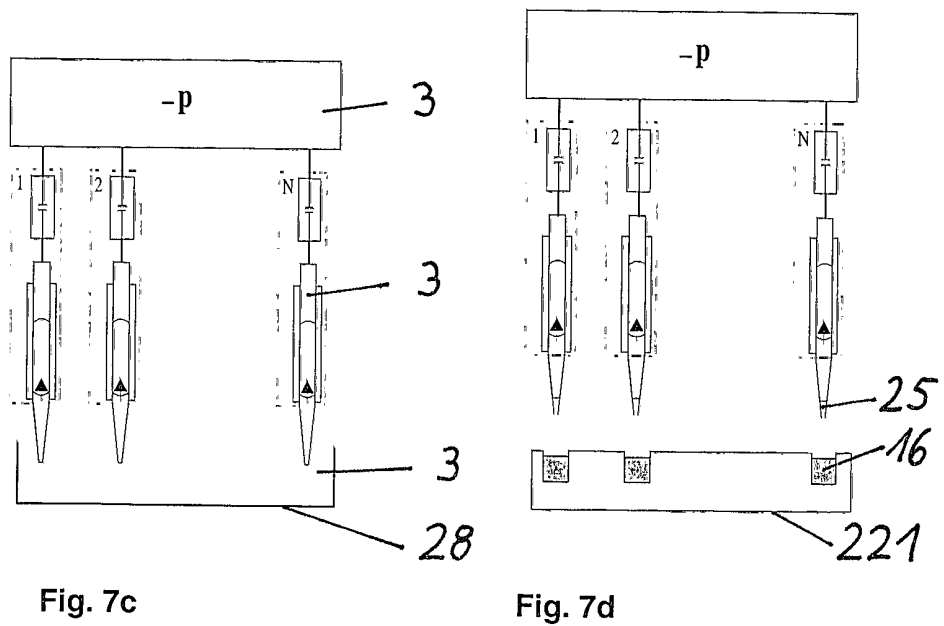
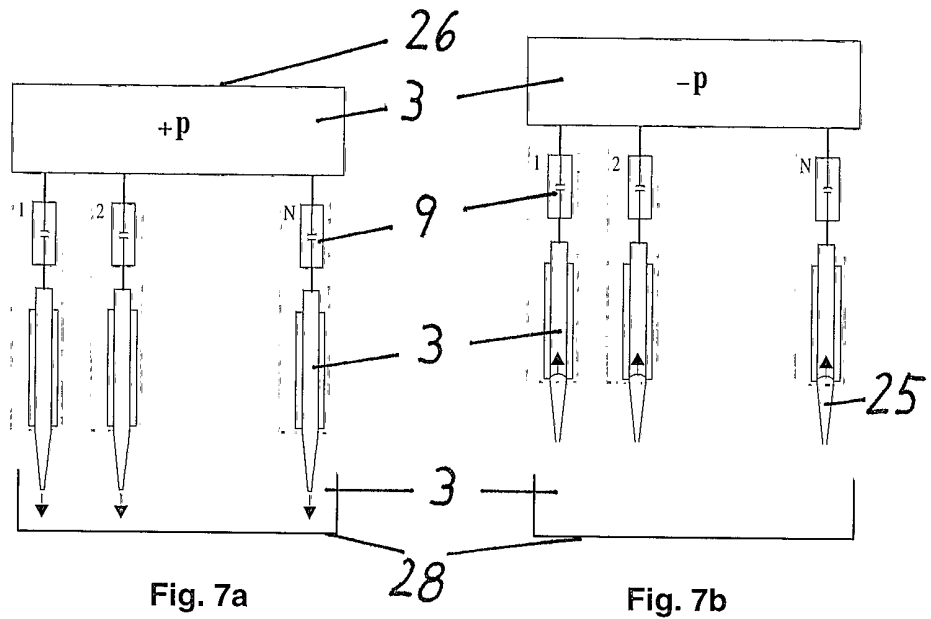
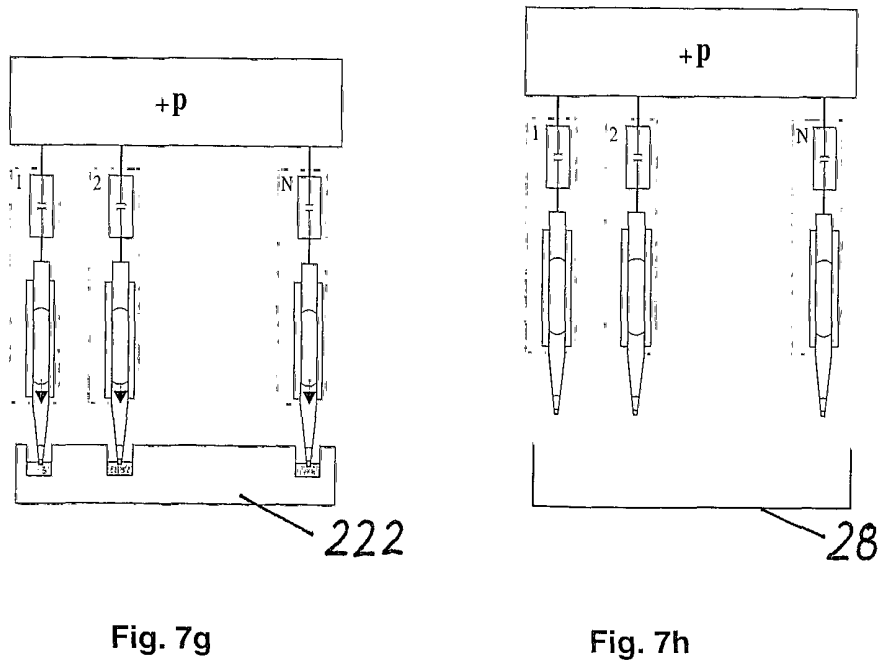
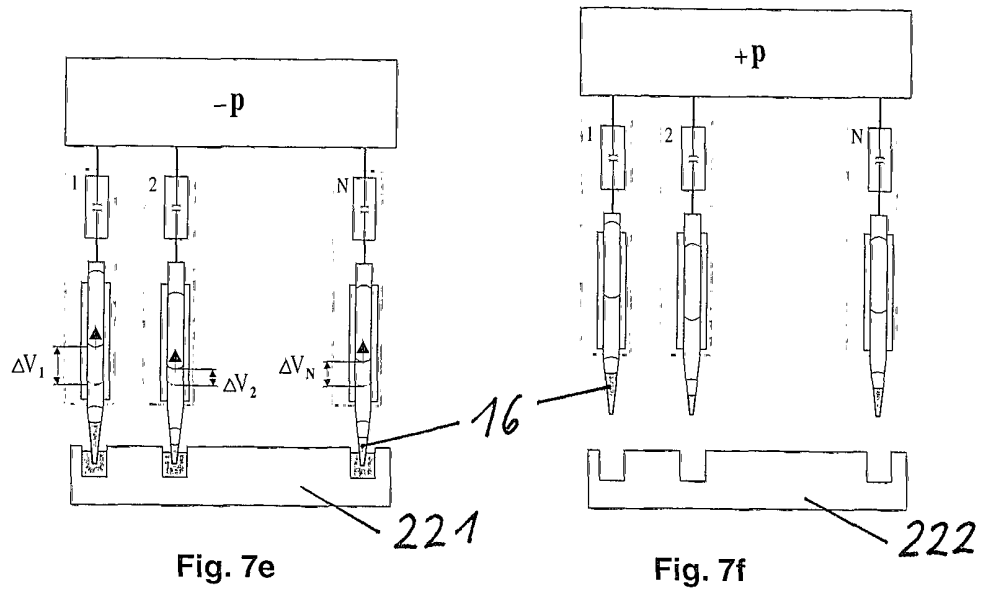


Fig. 6





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

onal Application No
PCT/DE 01/04023

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01F11/02 B01L3/00 B01L3/02

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)
IPC 7 G01F 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 practical, search terms used)
EPO-Internal, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 725 267 A (ROSSENDORF FORSCHZENT) 7 August 1996 (1996-08-07) abstract column 3, line 7 -column 5, line 22; figures	1-16
A	DE 197 37 173 A (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER) 18 March 1999 (1999-03-18) column 1, line 66 -column 2, line 34; figure 1	1-16
A	US 5 927 547 A (MEYER WILHELM ET AL) 27 July 1999 (1999-07-27) abstract column 7, line 8 -column 8, line 14; figure 1	1-16
	-/--	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in 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
27 February 2002

Date of mailing of the International search report
05/03/2002

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
Smith-Hewitt, L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

nal Application No
PCT/DE 01/04023

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DOERING M: "FLUESSIGKEITEN MIKROFEIN DOSIEREN" FEINWERKTECHNIK + MESSTECHNIK, CARL HANSER VERLAG. MUNCHEN., DE, vol. 99, no. 11, 1 November 1991 (1991-11-01), pages 459-463, XP000274115 page 459, column 1, line 1 -page 460, column 3, line 21</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1
A	<p>US 6 101 946 A (MARTINSKY RICHARD S) 15 August 2000 (2000-08-15) abstract; figures column 1, line 65 -column 2, line 56</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1
P,A	<p>DE 199 44 331 A (FRAUNHOFER GES FORSCHUNG) 12 April 2001 (2001-04-12) cited in the application column 2, line 40 -column 5, line 68</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 01/04023

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0725267	A	07-08-1996	AT 173539 T	15-12-1998
			WO 9624040 A2	08-08-1996
			DE 59600820 D1	24-12-1998
			DK 725267 T3	02-08-1999
			EP 0725267 A2	07-08-1996
DE 19737173	A	18-03-1999	DE 19737173 A1	18-03-1999
			WO 9910099 A1	04-03-1999
			EP 1017497 A1	12-07-2000
			JP 2001513439 T	04-09-2001
US 5927547	A	27-07-1999	US 6083762 A	04-07-2000
			EP 0810438 A2	03-12-1997
			JP 10114394 A	06-05-1998
			US 6079283 A	27-06-2000
			US 6203759 B1	20-03-2001
			US 6094966 A	01-08-2000
			US 6112605 A	05-09-2000
			US 6220075 B1	24-04-2001
			US 2001014477 A1	16-08-2001
			US 2001016177 A1	23-08-2001
US 6101946	A	15-08-2000	NONE	
DE 19944331	A	12-04-2001	DE 19944331 A1	12-04-2001
			WO 0120271 A1	22-03-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

ionales Aktenzeichen
PCT/DE 01/04023

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G01F11/02 B01L3/00 B01L3/02

Nach der Internationalen Patenklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G01F B01L G01N

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

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

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
A	EP 0 725 267 A (ROSSENDORF FORSCHZENT) 7. August 1996 (1996-08-07) Zusammenfassung Spalte 3, Zeile 7 -Spalte 5, Zeile 22; Abbildungen	1-16
A	DE 197 37 173 A (EPPENDORF GERAETEBAU NETHELER) 18. März 1999 (1999-03-18) Spalte 1, Zeile 66 -Spalte 2, Zeile 34; Abbildung 1	1-16
A	US 5 927 547 A (MEYER WILHELM ET AL) 27. Juli 1999 (1999-07-27) Zusammenfassung Spalte 7, Zeile 8 -Spalte 8, Zeile 14; Abbildung 1	1-16

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	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
27. Februar 2002	05/03/2002

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 Smith-Hewitt, L
---	--

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DOERING M: "FLUESSIGKEITEN MIKROFEIN DOSIEREN" FEINWERKTECHNIK + MESSTECHNIK, CARL HANSER VERLAG. MUNCHEN., DE, Bd. 99, Nr. 11, 1. November 1991 (1991-11-01), Seiten 459-463, XP000274115 Seite 459, Spalte 1, Zeile 1 -Seite 460, Spalte 3, Zeile 21 ---	1
A	US 6 101 946 A (MARTINSKY RICHARD S) 15. August 2000 (2000-08-15) Zusammenfassung; Abbildungen Spalte 1, Zeile 65 -Spalte 2, Zeile 56 ---	1
P,A	DE 199 44 331 A (FRAUNHOFER GES FORSCHUNG) 12. April 2001 (2001-04-12) in der Anmeldung erwähnt Spalte 2, Zeile 40 -Spalte 5, Zeile 68 -----	1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PC/DE 01/04023

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0725267	A	07-08-1996	AT 173539 T	15-12-1998
			WO 9624040 A2	08-08-1996
			DE 59600820 D1	24-12-1998
			DK 725267 T3	02-08-1999
			EP 0725267 A2	07-08-1996
DE 19737173	A	18-03-1999	DE 19737173 A1	18-03-1999
			WO 9910099 A1	04-03-1999
			EP 1017497 A1	12-07-2000
			JP 2001513439 T	04-09-2001
US 5927547	A	27-07-1999	US 6083762 A	04-07-2000
			EP 0810438 A2	03-12-1997
			JP 10114394 A	06-05-1998
			US 6079283 A	27-06-2000
			US 6203759 B1	20-03-2001
			US 6094966 A	01-08-2000
			US 6112605 A	05-09-2000
			US 6220075 B1	24-04-2001
			US 2001014477 A1	16-08-2001
			US 2001016177 A1	23-08-2001
US 6101946	A	15-08-2000	KEINE	
DE 19944331	A	12-04-2001	DE 19944331 A1	12-04-2001
			WO 0120271 A1	22-03-2001