(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
9. April 2009 (09.04.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2009/043813 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
B01F 5/10 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2008/062905

(22) Internationales Anmeldedatum:
26. September 2008 (26.09.2008)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2007 047 478.6
27. September 2007 (27.09.2007) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US)*: **CHARITÉ - UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN** [DE/DE]; Charitèplatz 1, 10117 Berlin (DE). **RWTH AACHEN RHEINISCH-WESTFÄLISCHE TECHNISCHE HOCHSCHULE** [DE/DE]; Templergraben 55, 52062 Aachen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: **FELDHUSEN, Jörg** [DE/DE]; Am Hallenbad 46, 41352 Korschenbroich (DE). **SCHLÜTER, Hartmut** [DE/DE]; Auf dem Ziegenbrink 27, 49082 Osnabrück (DE). **THIEMANN, Joachim** [DE/DE]; Claire-Waldoff-Promenade 17, 10557 Berlin (DE). **LEMBURG, Johannes** [DE/DE]; Welkenrather Str. 118 H App. 120, 52074 Aachen (DE).

(74) Anwälte: **ZIEBIG, Marlene, K.** usw.; Wallstrasse 58/59, 10179 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, 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, ME, 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, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

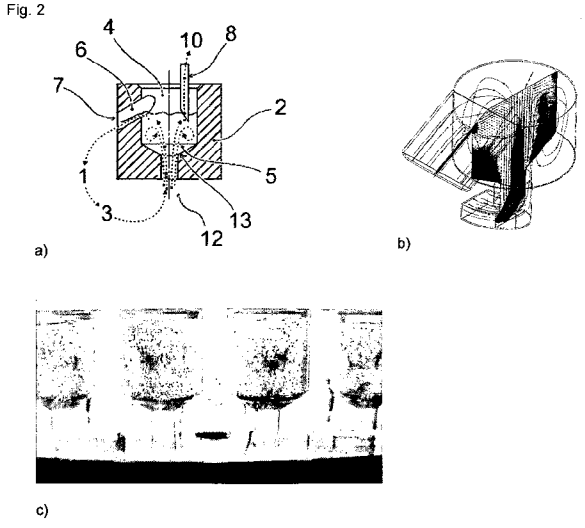
(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: APPARATUS AND METHOD FOR THE UNIFORM DISTRIBUTION OF MICROPARTICLES IN A LIQUID

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR GLEICHMÄSSIGEN VERTEILUNG VON MIKROPARTIKELN IN EINER FLÜSSIGKEIT

Fig. 2



(57) Abstract: The invention relates to an apparatus for the uniform distribution of microparticles in a liquid, comprising a storage chamber (1) with a suspension of microparticles and liquid, a mixing head (2) for the reception of the suspension and a pump (3) which is connected to the storage chamber (1) and the mixing head (2) for the suctioning of the suspension from the storage chamber (1) into the mixing head (2), wherein the mixing head (2) has at least one cavity (4) with a turbulent flow mixer (5) and an overflow (6) which is connected to the storage chamber by means of an opening (7), which is characterized in that the storage chamber (1) has a pin (14) and/or a rotary inlet (15) and a rotary runback (16), which are connected to the pump (3). The apparatus can be used for identifying, characterizing and cleansing proteins. The subject matter of the invention is also a method for the uniform distribution of microparticles in a liquid, in which a turbulent, quasi-static state is produced.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2009/043813 A1

GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, 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*

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit, umfassend eine Vorratskammer 1 mit einer Suspension aus Mikropartikeln und Flüssigkeit, einen Mischkopf 2 zur Aufnahme der Suspension und eine Pumpe 3, die mit der Vorratskammer 1 und dem Mischkopf 2 zum Ansaugen der Suspension von der Vorratskammer 1 in den Mischkopf 2 verbunden ist, wobei der Mischkopf 2 mindestens eine Kavität 4 mit einem Strömungsverwirbler 5 und einem Überlauf 6, der durch eine Öffnung 7 mit der Vorratskammer 1 verbunden ist, aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorratskammer 1 einen Stift 14 und/oder einen Rotationszulauf 15 und einen Rotationsrücklauf 16, die mit der Pumpe 3 verbunden sind, aufweist. Die Vorrichtung kann zur Identifizierung, Charakterisierung und Aufreinigung von Proteinen verwendet werden. Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit, in dem ein turbulenter, quasistatischer Zustand erzeugt wird.

Vorrichtung und Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Herstellen einer Suspension mit gleichmäßig verteilten Mikropartikeln in einer Trägerflüssigkeit bzw. zum Aufrechterhalten einer gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in der Trägerflüssigkeit. Die Vorrichtung umfasst eine Vorratskammer 1 mit der Suspension, einen Mischkopf 2 und eine Pumpe 3, die mit der Vorratskammer 1 und dem Mischkopf 2 verbunden ist, wobei der Mischkopf 2 mindestens eine Kavität 4 mit einem Strömungsverwirbler 5 und einem Überlauf 6, der durch eine Öffnung 7 mit der Vorratskammer 1 verbunden ist, aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorratskammer 1 einen Stift 14 und/oder einen Rotationszulauf 15 und einen Rotationsrücklauf 16, die mit der Pumpe 3 verbunden sind, aufweist. Die Vorrichtung kann zur Identifizierung, Charakterisierung und Aufreinigung von Proteinen verwendet werden. Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit, in dem ein turbulenter, quasistatischer Zustand erzeugt wird.

Die fortschreitende Automatisierung von Abläufen in der Labortechnik basiert zu großen Teilen auf paralleler Probenverarbeitung. Zunehmende Bedeutung in der Proteomforschung erhalten dabei Mikropartikel, sogenannte Beads, die wenige Mikrometer bis etwa 0,1 mm große Kunststoff-Kügelchen darstellen und deren Oberflächen bestimmte reaktive Eigenschaften besitzen. Diese Mikropartikel werden nach ihrer Herstellung in einer schützenden Trägerflüssigkeit gelagert, mit der sie eine Suspension bilden. Ein grundlegendes Problem der Handhabung von Mikropartikeln ist die mengenmäßig gleiche Dosierung dieser Partikel auf eine große Anzahl von Probenträgern. Ein direktes Abwiegen oder Zählen der Mikropartikel scheidet aus, da sie nicht aus der Trägerflüssigkeit entnommen werden können und dürfen.

Es ist im Stand der Technik bekannt, dass ein indirektes Bemessen der Partikelmenge über das Abmessen des Volumens der Trägerflüssigkeit möglich ist. Diese Art der Mengenmessung geht von der Annahme der konstanten Verteilung der Mikropartikel in der Trägerflüssigkeit aus. Diese Annahme ist jedoch nicht ohne weiteres zulässig, da die Mikropartikel im Allgemeinen eine höhere Dichte als die Trägerflüssigkeit aufweisen und deshalb zum Sedimentieren neigen. In Abhängigkeit vom Ort der Probennahme befinden sich folglich überdurchschnittlich viele Mikropartikel in einer bodennahen Probe bzw. unterdurchschnittlich wenige Mikropartikel in einer oberflächennahen Probe.

Zur konstanten Verteilung der Mikropartikel in einer Flüssigkeit sind verschiedene Vorrichtungen und Verfahren im Stand der Technik vorgeschlagen worden. Die Patentschrift US 6,255,166 B1 offenbart eine Vorrichtung, die ein Mischen von Mikropartikeln in Suspension dadurch ermöglicht, dass Flüssigkeit durch das vertikale Hin- und Herbewegen einer Schaufel bewegt wird. Nachteilig ist hier der benötigte Energieaufwand für das externe Rührelement sowie der Fakt, dass sich die Schaufel innerhalb des Gefäßes befindet und damit eine Entnahme oder Analyse der Suspension behindert.

Die Patentschrift US 5,705,610 lehrt eine Vorrichtung, die Misch- und Reaktionsgefäße umfasst, zwischen denen Reagenzien bzw. Suspensionen transportiert werden können, die durch das Einspeisen von Gas durchmischt werden. Der mit der Blasenbildung einhergehende Gaseintrag ist jedoch sowohl unter verfahrenstechnischen Gesichtspunkten (Volumenvergrößerung, ungleiche Flüssigkeitsvolumina bei der Probenentnahme etc.) als auch im Hinblich auf die Sensibilität biologischer Strukturen kritisch.

Es ist des Weiteren aus WO 2007/064635 A1 eine Vorrichtung bekannt, die ohne Luftdurchlass arbeitet, indem eine Suspension durch eine Öffnung zwischen zwei Pumpen-Mischkammern bewegt und die durchmischte Suspension durch einen Ventilanschluss entfernt wird. Die Vorrichtung erfordert ein aufwendiges

Zusammenspiel der beiden Pumpen und unterbindet eine Probennahme im Turbulenzbereich.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die im Stand der Technik aufgezeigten Nachteile der Durchmischung von Mikropartikeln in Suspensionen zu überwinden und eine Vorrichtung zu entwickeln, die eine zuverlässige Mikropartikelmengenbemessung gewährleistet.

Die Aufgabe der Erfindung wird gemäß den unabhängigen Ansprüchen gelöst. Die Unteransprüche beinhalten bevorzugte Ausführungsformen. Erfindungsgemäß wird eine Vorrichtung zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit bereitgestellt, die eine Vorratskammer 1 mit einer Suspension aus Mikropartikeln und Flüssigkeit, einen Mischkopf 2 zur Aufnahme der Suspension und eine Pumpe 3, die mit der Vorratskammer 1 und dem Mischkopf 2 zum Ansaugen der Suspension von der Vorratskammer 1 in den Mischkopf 2 verbunden ist, umfasst, wobei der Mischkopf 2 mindestens eine Kavität 4 mit einem Strömungsverwirbler 5 und einem Überlauf 6, der durch eine Öffnung 7 mit der Vorratskammer 1 verbunden ist, aufweist dadurch gekennzeichnet, dass die Vorratskammer 1 einen Stift 14 und/oder einen Rotationszulauf 15 und einen Rotationsrücklauf 16, die mit der Pumpe 3 verbunden sind, aufweist.

Es hat sich gezeigt, dass die Trennung von Vorratskammer 1 und Mischkopf 2, der Einbau eines Strömungsverwirblers 5 in die Kavität 4 des Mischkopfs 2 und das Verschalten der vorgenannten Bauelemente in einem Kreislauf nicht nur zu einer konstanten Mikropartikelverteilung am Ort des Interesses führt, sondern auch einen quasistatischen Zustand in der Kavität 4 erzeugt. Der Ort des Interesses stellt dabei eine Schnittstelle 8 zum angrenzenden Laborsystem 10 dar, durch das die in der Suspension enthaltenen Mikropartikel oder damit verbundene Strukturen entnommen und/oder analysiert werden können. Die Strukturen umfassen vorzugsweise Biomoleküle, wie z. B. Proteine, Nukleinsäuren Peptide, Kohlenhydrate, Polymere oder Moleküle mit einem Molekulargewicht zwischen 50 und 1.000 Da, oder Mikroorganismen oder eukaryotische Zellen.

Erfindungsgemäß weist die Vorratskammer 1 einen Stift 14 und/oder einen Rotationszulauf 15 und einen Rotationsrücklauf 16, die mit der Pumpe 3 verbunden sind, auf. Diese Komponenten sind besonders vorteilhaft, um einen zweiten Suspensionskreislauf zu generieren, der ein Sedimentieren der Mikropartikel in der Vorratskammer 1 verhindert. Zwar sind die im ersten Kreislauf zwischen Vorratskammer 1 und Mischkopf 2 transportierten Mikropartikel in der Kavität 4 gleichmäßig in der Trägerflüssigkeit verteilt, jedoch könnte dort ihre Konzentration mit der Zeit sinken. Das wäre dann der Fall, wenn beispielsweise zu Beginn in der Vorratskammer 1 sedimentierte Mikropartikel angesaugt werden und im weiteren Verlauf eine an Partikeln ausgedünnte Suspension. Durch den Stift 14 und/oder Rotationszulauf 15 und -ablauf 16 wird also nicht nur die gleichmäßige Verteilung in einem Zyklus des ersten Kreislaufs erzielt, sondern das Aufrechterhalten einer konstant verteilten Suspension über den gesamten zeitlichen Verlauf des Betriebs der Vorrichtung. Der zeitliche Verlauf wird durch das Füllvolumen der Vorratskammer 1 mit Suspension und deren sukzessive Entnahme aus der Kavität 4 determiniert. Die Pumpe 3 fördert in dieser Ausführungsform die Suspension in zwei parallelen Kreisläufen. Der hinzugetretene zweite Kreislauf sorgt für die Rotation der in der Vorratskammer 1 gespeicherten Suspension, indem durch den Rotationsrücklauf 16 die Suspension angesaugt, in einer Rotationsschleife transportiert und anschließend am Rotationszulauf 15 wieder in die Vorratskammer überführt wird. Es ist bevorzugt, den Rotationszulauf 15 und den Rotationsrücklauf 16 in verschiedenen Höhen der Vorratskammer 1 anzuordnen. Sofern durch den Rotationskreislauf trotzdem nur eine laminare Strömung entsteht, die ein Sedimentieren der Mikropartikel am Boden der Kammer 1 nicht hinreichend unterbindet, kann mittels eines Strömungsverwirblers 5, wie ihn der Stift 14 darstellt, die rotierende Strömung verwirbelt werden. Im Totwasser des Stifts 14 ist eine Absaugung 17 angeordnet, über die dem Mischkopf 2 Suspension zugeführt wird.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung besteht darüber hinaus aus zwei Einheiten, einer Pumpeneinheit 3 und einer Einheit mit Vorratskammer 1 und Mischkopf 2, die zum Transport der Suspension zwischen ihnen durch Leitungen verbunden

sind. Es versteht sich, dass jegliche Pumpe 3 über einen Motor verfügt und von einer externen Energiequelle 9 angetrieben wird.

Vorratskammer 1 und Mischkopf 2 können eine integrale Komponente bilden oder anderweitig aneinander befestigt sein. In jedem Fall muss die Anordnung von Vorratskammer 1 und Mischkopf 2 zueinander gewährleisten, dass Suspension durch einen Überlauf 6 an der Kavität 4 und eine obere Öffnung 7 an der Vorratskammer 1 in letztere gelangen kann. Die Vorratskammer 1 stellt einen Hohlraum beliebiger geometrischer Gestalt dar, der beispielsweise einen nicht rotationssymmetrischen Querschnitt besitzt, insbesondere einen elliptischen Querschnitt, vieleckigen Querschnitt oder rechteckigen Querschnitt mit einer Halbkreisfläche oder zwei Halbkreisflächen an gegenüberliegenden Rechtecksflächen. Im Sinne der Erfindung ist jedoch eine rotationssymmetrische, zylinderförmige Gestaltung bevorzugt. Der Hohlraum sollte eine Größe aufweisen, die zur Speicherung einer gewissen Mikropartikelmenge für eine spezielle Anwendung geeignet ist. In einer Ausgestaltung der Erfindung ist die Vorratskammer 1 deshalb durch den Benutzer austauschbar. Die Vorratskammer wird entweder per Hand oder maschinell befüllt, wobei letzteres den Vorteil einer möglichen Automatisierung aufweist.

Die Pumpe 3 fördert die Suspension im Kreislauf, indem die Suspension zunächst aus der Vorratskammer 1 angesaugt wird. Hierfür können Pumpen beliebiger Bauart eingesetzt werden, solange eine Mindestgeschwindigkeit der Strömung und damit ein Partikeltransport bewirkt werden. Die Mindestgeschwindigkeit hängt u.a. von der Beschaffenheit der Leitungsverbindungen und den Eigenschaften der Suspension ab, wozu insbesondere die Menge und Masse der Partikel sowie die Viskosität der Trägerflüssigkeit zählen. Die Parameter können durch den Fachmann experimentell in Routineversuchen ermittelt werden. Bevorzugt wird in der erfindungsgemäßen Vorrichtung eine Schlauchpumpe verwendet.

Die angesaugte Suspension wird mittels Transportleitungen, vorzugsweise mittels Schläuchen 11, in den Mischkopf 2 transportiert. Der Mischkopf umfasst

wenigstens einen Hohlraum, die sogenannte Kavität 4. In einer bevorzugten Ausgestaltung der Erfindung weist der Mischkopf 2 acht Kavitäten 4 auf, wodurch das simultane Bearbeiten mehrerer Proben gegeben ist. Insbesondere ist ein solcher Mischkopf 2 kompatibel zum 96-Well-Format, wie es z. B. Mikrotiter-Platten repräsentieren. Das Vorschalten der Vorrichtung an Hochdurchsatzrobotern ermöglicht damit die Automatisierung von Prozessen in der Grundlagenforschung sowie in der pharmazeutischen, chemischen, diagnostischen und biotechnologischen Industrie.

Die Kavität 4 umfasst einen Zustrombereich 12, einen Bereich mit Strömungsverwirbler 5 und einen Turbulenzbereich. Der Zustrombereich 12 befindet sich am Boden der Kavität 4, gefolgt vom Bereich mit Strömungsverwirbler 5 und dem Turbulenzbereich darüber. Der Wechsel vom Bereich mit Strömungsverwirbler 5 zum Turbulenzbereich kann fließend sein. Es ist bevorzugt, dass die vorgenannten Bereiche die selbe geometrische Form des Querschnitts besitzen. Die geometrische Form ist dabei nicht limitiert, solange der Einbau von Strömungsverwirblungselementen möglich bleibt. Betreffs möglicher Formen sei auf die Ausführungen zur Vorratskammer 1 verwiesen. In einer bevorzugten Ausgestaltung der Vorrichtung weist die Kavität 4 einen rotationssymmetrischen Querschnitt auf.

Die Kavität 4 ist derart gestaltet, dass in ihr eine turbulente Strömung erzeugt werden kann, wozu ein Strömungsverwirbler 5 eingebaut wird. Im Sinne der Erfindung handelt es sich bei einem „Strömungsverwirbler 5“ um eine beliebige bautechnische Maßnahme an und/oder in der Kavität 4, die sowohl ein externes Bauelement, dass mit der Kavität verbunden ist oder nicht, als auch die Gestalt der Kavität 4 selbst beinhalten kann. Nicht limitierende Beispiele für Strömungsverwirbler 5 sind Rührer oder Schüttler (als externe, nicht verbundene Elemente), Stift oder Gitter (als externe, verbundene Elemente), unstetige Erweiterungen oder Verjüngungen des Querschnitts sowie Auswölbungen der Seitenwände (als interne Elemente).

In einer bevorzugten Ausgestaltung der Erfindung umfasst der Strömungsverwirbler 5 mindestens eine unstetige Vergrößerung des Querschnitts in einem Erweiterungsbereich 13 oberhalb des Zustrombereichs 12. Der Begriff „unstetige Vergrößerung" bezieht sich im Sinne der Erfindung auf eine plötzliche Erweiterung des Durchmessers bzw. Querschnitts, wobei sich die Erweiterung an Kanten und damit in Form einer Stufe vollzieht. Die Suspension strömt durch den Zustrombereich 12, dem sich der Erweiterungsbereich 13 anschließt. Das heißt, in dieser Ausführungsform wird der Bereich mit Strömungsverwirbler 5 durch den Erweiterungsbereich 13 repräsentiert. Der Erweiterungsbereich 13 ist vorzugsweise in der unteren Hälfte der Kavität 4 angeordnet, besonders bevorzugt in deren unterem Drittel, ganz besonders bevorzugt im unteren Viertel. Durch eine bodennahe Anordnung wird ein großer Turbulenzbereich gewährleistet.

Die Turbulenz, die benötigt wird, um eine konstant verteilte Suspension zu erhalten, kann vorteilhaft durch die Ausgestaltung der unstetigen Vergrößerung eingestellt werden. Der Grad der Turbulenz wird dabei durch das Zusammenspiel verschiedener Parameter bestimmt, zu denen die relative Höhe des Erweiterungsbereichs 13 bezogen auf die Gesamthöhe der Kavität 4, das Ausmaß der unstetigen Vergrößerung und die Art der Stufe zählen. Prinzipiell ist die relative Höhe des Erweiterungsbereichs 13 möglichst klein zu wählen, um wiederum einen großen Turbulenzbereich zu gewährleisten. Vorzugsweise beträgt die Höhe des Erweiterungsbereichs 13 weniger als 25 % der Höhe der Kavität 4, besonders bevorzugt weniger als 15 %. Dies wird u.a. durch die Neigung der Innenwände im Erweiterungsbereich 13 bestimmt. In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung vergrößert sich der Querschnitt im Erweiterungsbereich 13 linear, vorzugsweise mit einem Anstieg tan φ von weniger als 70°, besonders bevorzugt weniger als 50°, ganz besonders bevorzugt weniger als 30°. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist die Kavität 4 als Zylinder ausgebildet, so dass sie im Erweiterungsbereich 13 mit dem vorgenannten Anstieg konisch divergiert. Als weiterer Parameter ist das Ausmaß der unstetigen Vergrößerung so zu dimensionieren, dass genug Raum zum Abriss der Strömung an der Innenwand und Verwirbelung vorhanden ist sowie dieser

Raum auch mit Turbulenz ausgefüllt werden kann. Die unstetige Vergrößerung ist so gestaltet, dass sich der Querschnitt im Erweiterungsbereich 13 mindestens verdoppelt, vorzugsweise mindestens verfünffacht, besonders bevorzugt mindestens verzehnfacht.

Als weiteres bauliches Element enthält die Kavität 4 einen Überlauf 6, der sich im oberen Teil des Turbulenzbereichs befindet. Dadurch wird sichergestellt, dass der geförderte Zustrom nicht zu einem Überlaufen der Kavität 4 führt, sofern keine Entnahme oder lediglich eine Entnahme von Suspension stattfindet, deren entnommenes Volumen geringer als das zugeströmte Volumen ist. Der Überlauf 6 stellt einen ummantelten Hohlraum in der Kavität 4 dar, dessen Länge zumindest der Wanddicke der Kavität 4 entspricht. Vorzugsweise hat der Überlauf 6 eine Länge, die über die Wandstärke der Kavität 4 hinausgeht. Des Weiteren ist der Überlauf 6 so geneigt, dass die Suspension abfließen kann. Der Mischkopf 2 ist bevorzugt oberhalb der Vorratskammer 1 angeordnet, um ein Abfließen derjenigen Suspension, die sich auf oder über dem Niveau des Überlaufs 6 befindet, durch Gravitation in die tieferliegende Vorratskammer 1 zu ermöglichen. Insbesondere ist der Überlauf 6 oberhalb des erfindungsgemäß bevorzugten Erweiterungsbereichs 13 angeordnet. Natürlich ist es auch denkbar, den Mischkopf 2 in gleicher oder sogar geringerer Höhe als die Vorratskammer 1 zu positionieren und die überlaufende Suspension zunächst in einem Becken zu sammeln, bevor sie mittels einer Pumpe oder unter Ausnutzung von Kapillarkräften in die Vorratskammer 1 zurückgeführt wird. Hierzu kann eine Öffnung 7, welche die obere offene Fläche der Vorratskammer 1 repräsentiert, oder einen andere Öffnung dienen, wobei letztere bei Anlegen eines äußeren Drucks auf die zur Öffnung führende Leitung auch unterhalb des Flüssigkeitsspiegels in der Vorratskammer 1 liegen kann.

Voraussetzung einer Suspensionsentnahme ist, dass die Kavität 4 eine Schnittstelle 8 zu einem angrenzenden Laborsystem 10 besitzt. Bei diesem Laborsystem 10 kann es sich beispielsweise um einen Liquid-Handling-Roboter (Flüssigkeitsentnahmeroboter) handeln, der mittels Entnahmenadeln die

Suspension absaugt. Die Schnittstelle 8 kann beispielsweise als die Suspensionsoberfläche aufgefasst werden. Die Entnahmenadeln tauchen an der Schnittstelle 8 in die Suspension ein. Um ein wiederholtes Anpassen der Eintauchtiefe der Entnahmenadeln zu vermeiden, ist eine Schnittstelle 8 in einer konstanten Höhe erwünscht, wie sie durch die Erfindung bereitgestellt wird. Durch die erfindungsgemäße Anordnung und Ausgestaltung von Pumpe 3, Vorratskammer 1 und Kavität 4 (mit jeweils mindestens zwei Öffnungen), die ein Fahren der Suspension im Kreislauf ermöglichen, wird ein quasistatischer Zustand hinsichtlich der Turbulenz und der Lage der Schnittstelle 8 in der Kavität 4 ausgebildet.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit. Mit anderen Worten betrifft die Erfindung auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Erhalt einer Suspension aus gleichmäßig verteilten Mikropartikeln in einer Trägerflüssigkeit und/oder zur Aufrechterhaltung einer gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Trägerflüssigkeit. Die Erfindung bezieht sich ferner auf die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Entnahme einer Suspension aus gleichmäßig verteilten Mikropartikeln in einer Flüssigkeit, vorzugsweise mit einem Flüssigkeitsentnahmeroboter. Die vorherige Lehre der Erfindung und deren Ausführungsformen betreffend die Vorrichtung an sich sind gültig und ohne Einschränkungen auf deren Verwendung anwendbar, sofern es sinnvoll erscheint.

In einer Ausgestaltung der erfindungsgemäßen Verwendung wird die Vorrichtung zur Identifizierung, Charakterisierung und/oder Aufreinigung von Proteinen eingesetzt. Proteine sind häufig an der Entstehung schwerwiegender Krankheiten, wie z. B. Krebs oder Alzheimer beteiligt. Bei der Analyse von Proteinen haben Mikropartikel mit einem Durchmesser von wenigen Mikrometern bis 0,1 mm eine zunehmende Bedeutung. Deren Oberfläche hat verschiedene reaktive Eigenschaften, welche die Identifizierung und Charakterisierung von Proteinen ermöglichen. Des Weiteren stellt die Laborautomatisierung auf dem Gebiet der

Charakterisierung und Identifizierung von Proteinen einen wachsenden Markt dar, so dass zur effektiven Gestaltung der Mikropartikel-gestützten Proteomforschung Hochdurchsatzroboter unentbehrlich sind. Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist so konstruiert, dass ein Liquid-Handling-Roboter mittels Entnahmenadeln die konstant verteilte Suspension aus den Wells (Kavitäten 4) eines Mischkopfs 2, vorzugsweise aus einem Mischkopf mit acht Wells, entnehmen kann. Damit ist eine Vorschaltung der Vorrichtung an Hochdurchsatzroboter möglich. Die erfindungsgemäße Verwendung der Vorrichtung ist vorzugsweise zur Bereitstellung von konstant verteilten Mikropartikelmengen zur Durchführung von automatisierten Protein-Aufreinigungsprozessen mittels Chromatographie im 96-Well-Batch-Fomat geeignet.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung der Verwendung wird die Vorrichtung der vorliegenden Erfindung bei der Aktivitätsbestimmung von Enzymen mittels Massenspektrometrie genutzt. Dass die Massenspektrometrie ein schnelles, sensitives und zuverlässiges Werkzeug für die Bestimmung enzymatischer Aktivitäten ist, konnte wiederholt demonstriert werden (Hsieh et al. 1995, Anal. Biochem. 229, 20; Bothner et al. 2000, J. Biol. Chem. 275, 13455; Wu et al. 1997, Chem. Biol. 4, 653). MALDI-MS zeichnet sich durch Widerstandsfähigkeit gegenüber Pufferlösungen und eine hohe Eignung zur Analyse komplexer Mischungen aus, weswegen sie für ein direktes Screening von Enzymaktivitäten prädestiniert ist, die nur eine minimale Probenvorbereitung benötigen. Mittels eines massenspektrometrisch-unterstützten Enzymscreenings (“mass spectrometry assisted enzyme screening”, MES) können enzymatische Aktivitäten in komplexen Proteinfraktionen mit einem Massenspektrometer ermittelt werden. Das Prinzip wird hier kurz beschrieben, während sich eine eingehende Beschreibung in den Artikeln von Jankowski et al. 2001, Anal. Biochem. 290, 324, sowie Schlüter et al. 2003, Anal. Bioanal. Chem. 37, 1102, findet, die beide in ihrer Gesamtheit in die vorliegende Anmeldung als Referenz aufgenommen werden. Dem analytischen Vorgehen liegt die kovalente Immobilisierung von Proteinen an Mikropartikel zugrunde, wodurch der proteolytischer Abbau verhindert und das Entfernen solcher Moleküle aus der Proteinfraktion erreicht wird, die den

massenspektrometrischen Nachweis der enzymatischen Reaktionsprodukte stören würden. Die Enzymaktivität wird durch Inkubieren der immobilisierten Proteine mit einer reaktionsspezifischen Sonde bestimmt, worauf die Analyse der Reaktionsmischung mittels MALDI-MS nach definierten Inkubationszeiten erfolgt. Erst die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung stellt eine konstant verteilte Suspension an Mikropartikel sicher, infolgedessen eine gleichmäßige Oberflächenbeladung und konstante Proteinkonzentration sowie die Entnahme einer identischen Mikropartikelmenge zur Inkubation mit der Sonde ermöglicht wird und reproduzierbare Daten generiert werden.

Ein anderer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit, in dem die erfindungsgemäße Vorrichtung eingesetzt wird.

Die Erfindung lehrt ferner ein Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit mit den folgenden Schritten:

(a) Befüllen einer Vorratskammer 1 mit einer Suspension aus Mikropartikeln und Flüssigkeit,
(b) Ansaugen der Suspension mit einer Pumpe 3 über eine Absaugung 17 aus der Vorratskammer 1,
(c) Transportieren der angesaugten Suspension in einen Mischkopf 2, der mindestens eine Kavität 4 aufweist,
(d) Überführen der Suspension in die Kavität 4,
(e) Erzeugen einer turbulenten Strömung in der Kavität 4,
(f) Überführen von Suspension oberhalb eines Überlaufs 6 durch eine Öffnung 7 in die Vorratskammer 1, und optional
(g) Wiederholen der Schritte (b) bis (f)

Dadurch gekennzeichnet, dass parallel zu den Schritten (b) bis (g) ein Kreislauf mit den folgenden Schritten gefahren:

(b') Ansaugen der Suspension mit der Pumpe 3 über einen Rotationsrücklauf 16 aus der Vorratskammer 1,
(c') Transportieren der angesaugten Suspension in einer Rotationsschleife,

(d') Überführen der Suspension über einen Rotationszulauf 15 in die Vorratskammer 1,

(e') Erzeugen einer turbulenten Strömung in der Vorratskammer 1, und optional Wiederholen der Schritte (b') bis (e').

Die vorherige Lehre der Erfindung und deren Ausführungsformen betreffend die Vorrichtung und deren Verwendung sind gültig und ohne Einschränkungen auf die Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln anwendbar, sofern es sinnvoll erscheint.

Die Abfolge der Schritte verdeutlicht, dass das Verfahren im Kreislauf gefahren wird, wofür jeweils zwei Öffnungen der Vorratskammer 1 bzw. des Mischkopfs 2 essentiell sind, die jeweils voneinander verschieden sind. Das heißt, dass sich in der Vorratskammer 1 die Absaugung 17 zum Absaugen der Suspension in Richtung Mischkopf 2 und die Öffnung 7 zur Aufnahme aus dem Mischkopf 2 übergelaufener Suspension sowie in der Kavität 4 im Mischkopfs 2 der Zustrom 13 der Suspension aus der Vorratskammer 1 und der Überlauf 6 zur Rückführung der Suspension in die Vorratskammer 1 befinden. Schritt (g) wird solange ausgeführt, bis die Vorratskammer 1 leer oder keine Durchmischung der Partikel mehr erwünscht ist, weil die Entnahme und/oder Analyse der Partikelsuspension beendet ist.

Die turbulente Strömung in Schritt (e) kann durch jede Maßnahme bewirkt werden, die eine Reynolds-Zahl über dem kritischen Wert von 2300 zur Folge hat. Geeignete Maßnahmen sind insbesondere die Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit der Suspension, der Oberflächenrauhigkeit der Kavität 4 und/oder der Dichte der Suspension und/oder die Verringerung der dynamischen Viskosität. In einer bevorzugten Ausgestaltung des Verfahrens wird die turbulente Strömung durch den Einbau eines Strömungsverwirblers 5 erzeugt, besonders bevorzugt durch den Einbau mindestens einer unstetigen Vergrößerung des Querschnitts in einem Erweiterungsbereich 13 oberhalb eines Zustrombereichs 12.

Das Verfahren kann auch so durchgeführt werden, dass sich nach Schritt (e), (f) oder (g) ein weiterer Schritt (h) anschließt, in dem die Suspension von einem Flüssigkeitsentnahmeroboter entnommen wird.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden also erstmalig eine Vorrichtung und ein Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit bereitgestellt. Die Erfindung nutzt die Ausgestaltung einer durchströmten Entnahmekavität 4, um auf einfachem und zuverlässigem Wege Turbulenz zu erzeugen, die wiederum eine konstante Durchmischung von Mikropartikeln in einer Suspension nach sich zieht. Die Trennung von Vorratskammer 1 und Mischkopf 2 ermöglicht dabei vorteilhaft eine gleichmäßige Verteilung der Mikropartikel am Ort der Partikelentnahme bzw. -analyse (Kavität 4). Dieses System wird erfindungsgemäß gekoppelt mit einem zweiten Kreislauf, der dafür sorgt, dass die Verteilung der Mikropartikel über einen längeren Zeitraum homogen bleibt bzw. sowohl zu Beginn, als auch zu einem Zeitpunkt zu dem die Vorrichtung schon einige Zeit in Betrieb gewesen ist. Darüber hinaus wird eine parallele Probenverarbeitung gewährleistet, indem der Mischkopf 2 eine Vielzahl an Kavitäten 4 besitzt, die zusammen angesteuert eine identische Durchmischung der Mikropartikel zeigen und folglich einer automatisierten Mikropartikelmengenbemessung zugänglich sind. Während im Stand der Technik lediglich eine Durchströmung mit Gas beschrieben ist, wird hier die Strömung der Suspension selbst ausgenutzt. Aufgrund der überraschenden Kombination dieser Verwirbelung mit einem Überlauf 6 bildet sich ein Flüssigkeitskreislauf, der in den Kavitäten 4 zu einem quasistatischen Zustand führt. Vorrichtung und Verfahren der Erfindung zeichnen sich durch eine einfache und kostengünstige Handhabung aus und eröffnen eine Vielzahl von Anwendungsperspektiven, von denen insbesondere die Biochemie genannt sei.

Es versteht sich, dass diese Erfindung nicht auf die spezifischen Methoden, Zusammensetzungen und Bedingungen beschränkt ist, wie sie hierin beschrieben sind, da solche Dinge variieren können. Es versteht sich des Weiteren, dass die vorliegend verwendete Terminologie ausschließlich dem Zweck der Beschreibung

besonderer Ausführungsformen dient und nicht den Schutzumfang der Erfindung einschränken soll. Wie vorliegend in der Spezifikation einschließlich der anhängigen Ansprüche verwendet, schließen Wortformen im Singular, wie z. B. "ein", "eine", "einer", "der" oder "das" die Entsprechung im Plural ein, sofern der Kontext nicht eindeutig etwas anderes vorgibt. Beispielsweise enthält der Bezug auf "einen Strömungsverwirbler 5" einen einzelnen Verwirbler oder mehrere Verwirbler, die wiederum identisch oder verschieden sein können, oder der Bezug auf "ein Verfahren" schließt äquivalente Schritte und Verfahren ein, die dem Fachmann bekannt sind.

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von nicht limitierenden Beispielen für konkrete Ausführungsformen näher erläutert.

Fig. 1 zeigt eine schematische Zeichnung der Komponenten der Vorrichtung zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit ohne den Rotationskreislauf.

Fig. 2 zeigt eine Kavität 4 zur Entnahme von Suspension: a) schematisch, b) im Strömungsprofil, und c) während des Betriebs der Vorrichtung.

Fig. 3 zeigt eine schematische Zeichnung der Suspensionsmischer-Zylinderkammer einschließlich des Rotationskreislaufs mit den Konstruktionselementen, welche die Strömungskreisläufe verdeutlichen.

Fig. 4 zeigt ein CFD der Vorratskammer 1.

Fig. 5 zeigt den Prototyp des Gesamtsystems.

BEISPIEL

Der Prototyp des Gesamtsystems, wie er in Fig. 5 dargestellt ist, enthält als Energiequelle 9 ein 12 V Gleichspannungsnetzteil, welches das Gesamtsystem

mit elektrischer Energie versorgt. Durch die Energiequelle wird die Pumpe 3 angetrieben, bei der es sich um eine Schlauchpumpe des Typs Watson Marlow 102R handelt, die mit einem Faulhaber-Motor 3540K024C angetrieben wird. Pumpe 3 und Motor werden über einen Schalter in Betrieb genommen.

Wie aus Fig. 1 ersichtlich wird, sind Pumpe 3 und Motor zum Schutz vor äußeren Einflüssen mit einem Deckel 18 verkleidet, der mit Schrauben DIN 912 (M4x10) an einer Flanschplatte 19 befestigt ist. Der Schraubentyp wird auch für alle weiteren Befestigungen genutzt. Sowohl die Pumpe 3 als auch die Suspensionsmischer-Zylinderkammer sind auf eine Grundplatte 20 montiert. Die Suspensionsmischer-Zylinderkammer umfasst den Vorratskammer-Sockel 21, Mischkopf 2, ZylinderStift 14 Typ DIN 7 (3x15) und vier Verbindungselemente Typ Connector M6 250-6. Die Suspensionsmischer-Zylinderkammer ist am Vorratskammer-Sockel 21 mit der Grundplatte 20 verschraubt. Der Sockel 21 hat im Zentrum eine zylinderförmige Vorratskammer 1 und oberhalb davon ist ein 8-Well-Mischkopf 2 verschraubt.

In Fig. 2 wird deutlich, dass die Wells oder Entnahmekavitäten 4 derart geformt sind, dass der geförderte Zustrom auf Grund einer unstetigen Rohrerweiterung im Eingangsbereich (Erweiterungsbereich 13) turbulent wird. Auf diese Weise wird die Suspension in der Kavität 4 verwirbelt und durchmischt. Durch die Entnahme der Suspension durch den Liquid-Handling-Roboter wird das Gesamtvolumen in dem System verringert. Um für die Entnahme von Suspension einen konstant hohen Flüssigkeitspegel zu erreichen, weisen die Kavitäten 4 einen Überlauf 6 auf.

Die Pumpe fördert die Suspension in zwei parallelen Kreisläufen (Fig. 3). Der erste Kreislauf versorgt die Entnahmekavitäten 4 (Fig. 2a, 3). Die Suspension wird an einer zylinderförmigen Absaugung 17 angesaugt und durch Schläuche 11 geleitet. Durch ein Steigrohr 22 gelangt die Suspension in den Mischkopf 2 und wird mittels eines Leitungssystems in den Zustrombereich 12 der einzelnen Kavitäten 4 transportiert. Die überlaufende Flüssigkeit fließt durch die Öffnung 7 direkt in die Vorratskammer 1. Es handelt sich also um einen Flüssigkeitskreislauf, bei dem in

der Kavität 4 ein quasistatischer Zustand erzeugt wird, aus dem konstant verteilte Suspension entnommen wird.

Der zweite Kreislauf sorgt für eine Rotation der gespeicherten Suspension in der Vorratskammer 1 (Fig. 3, 4). Hierzu wird Suspension durch einen Rotationsrücklauf 16 angesaugt, durch eine Rotationsschleife in Schläuchen 11 transportiert und über einen Rotationszulauf 15 wieder in die Vorratskammer 1 gegeben. Die Vorratskammer 1 weist einen zylinderförmigen Stift 14 auf, der die rotierende Strömung derart verwirbelt, dass sich im Zentrum der Kammer keine Beads ablagern können (ähnlich einer Teetasse mit Teekrümeln). Im Totwasser des Stifts befindet sich die Absaugung 17, die durch das Steigrohr 22 die Entnahmekavitäten 4 speist.

BEZUGSZEICHENLISTE

1	Vorratskammer
2	Mischkopf
3	Pumpe
4	Kavität
5	Strömungsverwirbler
6	Überlauf
7	Öffnung
8	Schnittstelle
9	Energiequelle
10	Laborsystem
11	Schläuche
12	Zustrombereich
13	Erweiterungsbereich
14	Stift
15	Rotationszulauf
16	Rotationsrücklauf
17	Absaugung
18	Deckel
19	Flanschplatte
20	Grundplatte
21	Sockel
22	Steigrohr

ANSPRÜCHE

1. Vorrichtung zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit, umfassend eine Vorratskammer (1) mit einer Suspension aus Mikropartikeln und Flüssigkeit, einen Mischkopf (2) zur Aufnahme der Suspension und eine Pumpe (3), die mit der Vorratskammer (1) und dem Mischkopf (2) zum Ansaugen der Suspension von der Vorratskammer (1) in den Mischkopf (2) verbunden ist, wobei der Mischkopf (2) mindestens eine Kavität (4) mit einem Strömungsverwirbler 5 und einem Überlauf (6), der durch eine Öffnung (7) mit der Vorratskammer (1) verbunden ist, aufweist,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Vorratskammer (1) einen Stift (14) und/oder einen Rotationszulauf (15) und einen Rotationsrücklauf (16), die mit der Pumpe (3) verbunden sind, aufweist.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Strömungsverwirbler 5 mindestens eine unstetige Vergrößerung des Querschnitts in einem Erweiterungsbereich (13) oberhalb eines Zustrombereichs (12) ist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Querschnitt im Erweiterungsbereich (13) mindestens verdoppelt, vorzugsweise mindestens verfünffacht, besonders bevorzugt mindestens verzehnfacht.

4. Vorrichtung nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Querschnitt im Erweiterungsbereich (13) linear vergrößert, vorzugsweise mit einem Anstieg tan φ von weniger als 70°, besonders bevorzugt weniger als 50°, ganz besonders bevorzugt weniger als 30°.

5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Kavität (4) einen rotationssymmetrischen Querschnitt aufweist und im Erweiterungsbereich (13) konisch divergiert.

6. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die angesaugte Suspension in der Kavität (4) eine Schnittstelle (8) in konstanter Höhe zu einem Flüssigkeitsentnahmeroboter ausbildet.

7. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Mischkopf (2) acht Kavitäten 4 aufweist.

8. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit.

9. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur Entnahme einer Suspension mit gleichmäßig verteilten Mikropartikeln in einer Flüssigkeit.

10. Verwendung nach Anspruch 10 zur Identifizierung, Charakterisierung und/oder Aufreinigung von Proteinen, vorzugsweise zur Aktivitätsbestimmung von Enzymen mittels Massenspektrometrie.

11. Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit, dadurch gekennzeichnet, dass eine Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8 eingesetzt wird.

12. Verfahren zur gleichmäßigen Verteilung von Mikropartikeln in einer Flüssigkeit mit den folgenden Schritten:

    (a) Befüllen einer Vorratskammer (1) mit einer Suspension aus Mikropartikeln und Flüssigkeit,

(b) Ansaugen der Suspension mit einer Pumpe (3) über eine Absaugung (17) aus der Vorratskammer (1),

(c) Transportieren der angesaugten Suspension in einen Mischkopf (2), der mindestens eine Kavität (4) aufweist,

(d) Überführen der Suspension in die Kavität (4),

(e) Erzeugen einer turbulenten Strömung in der Kavität (4),

(f) Überführen von Suspension oberhalb eines Überlaufs (6) durch eine Öffnung (7) in die Vorratskammer (1), und optional

(g) Wiederholen der Schritte (b) bis (f),

dadurch gekennzeichnet, dass parallel zu den Schritten (b) bis (g) ein Kreislauf mit den folgenden Schritten gefahren wird:

(b') Ansaugen der Suspension mit der Pumpe (3) über einen Rotationsrücklauf (16) aus der Vorratskammer (1),

(c') Transportieren der angesaugten Suspension in einer Rotationsschleife,

(d') Überführen der Suspension über einen Rotationszulauf (15) in die Vorratskammer (1),

(e') Erzeugen einer turbulenten Strömung in der Vorratskammer (1), und optional

Wiederholen der Schritte (b') bis (e').

13. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt (e) die turbulente Strömung durch Einbau eines Strömungsverwirblers 5 erzeugt wird, vorzugsweise durch den Einbau mindestens einer unstetigen Vergrößerung des Querschnitts in einem Erweiterungsbereich (13) oberhalb eines Zustrombereichs (12).

14. Verfahren nach Anspruch 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass sich nach Schritt (e), (f) oder (g) ein weiterer Schritt anschließt:

(h) Entnehmen der Suspension von einem Flüssigkeitsentnahmeroboter.

Fig. 1

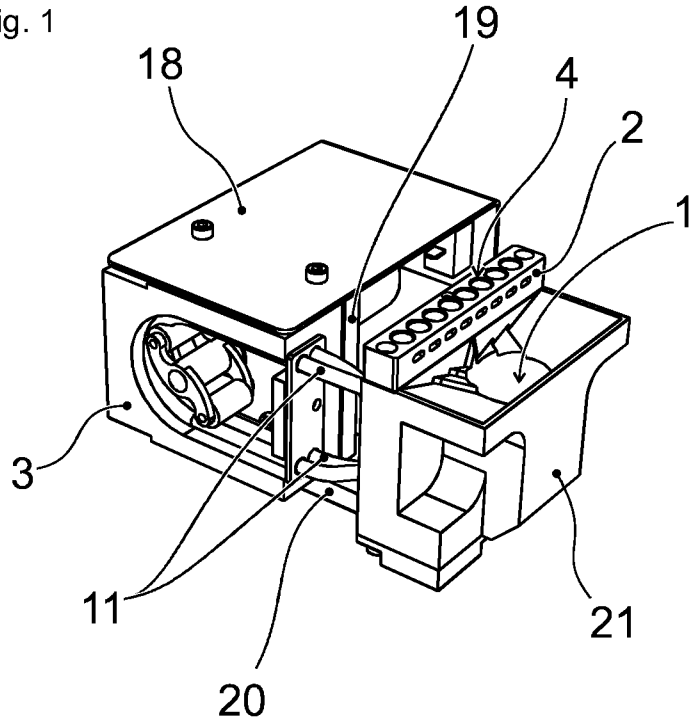
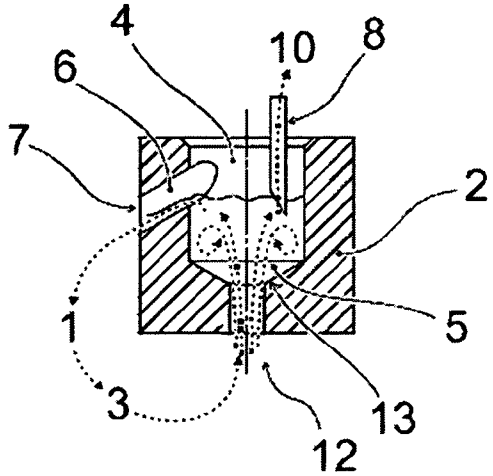
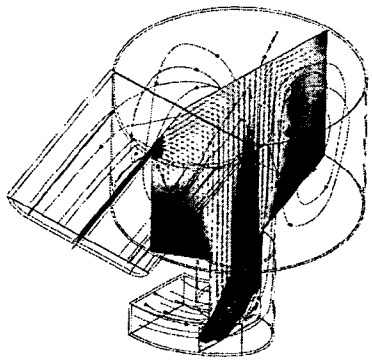


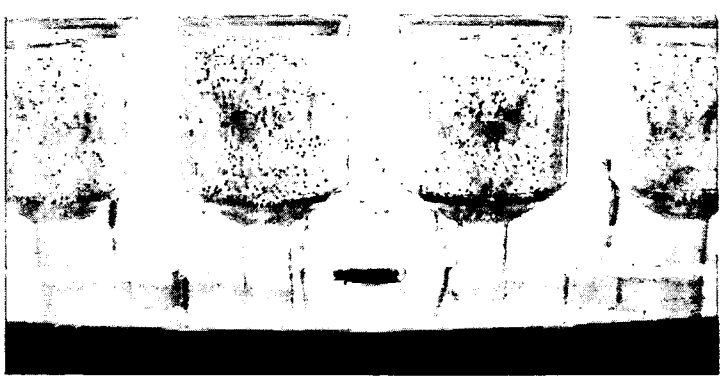
Fig. 2



a)



b)



c)

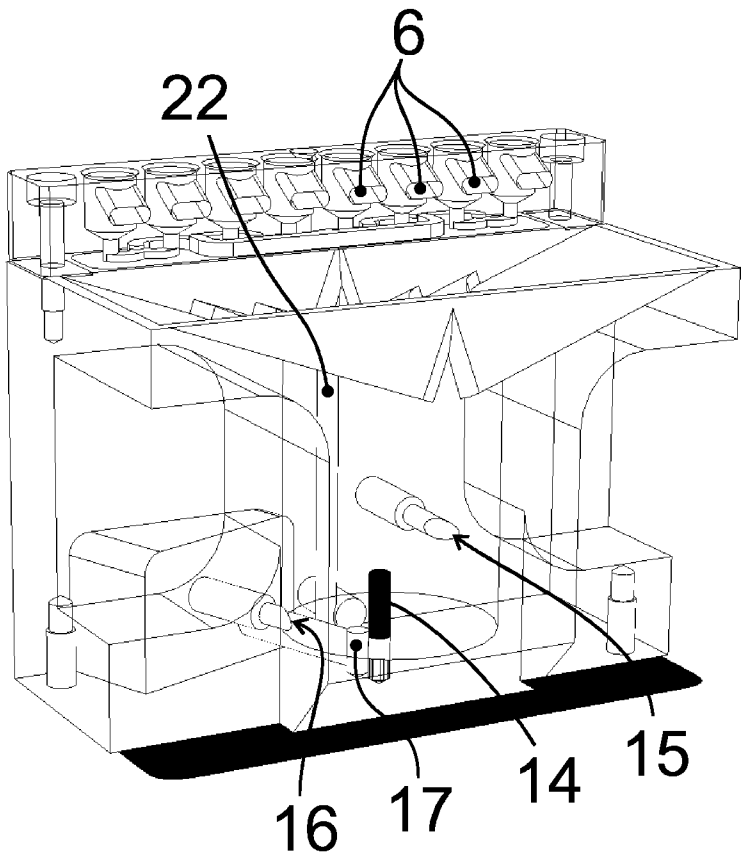


Fig. 3

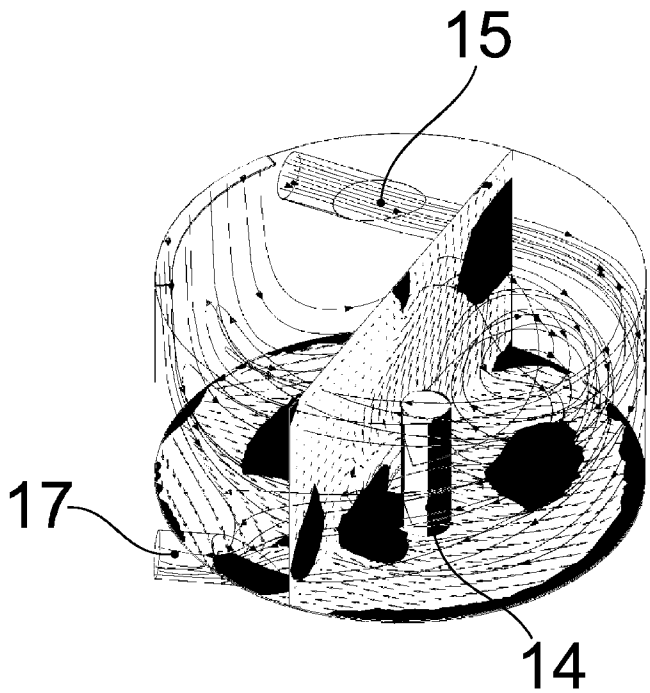


Fig. 4

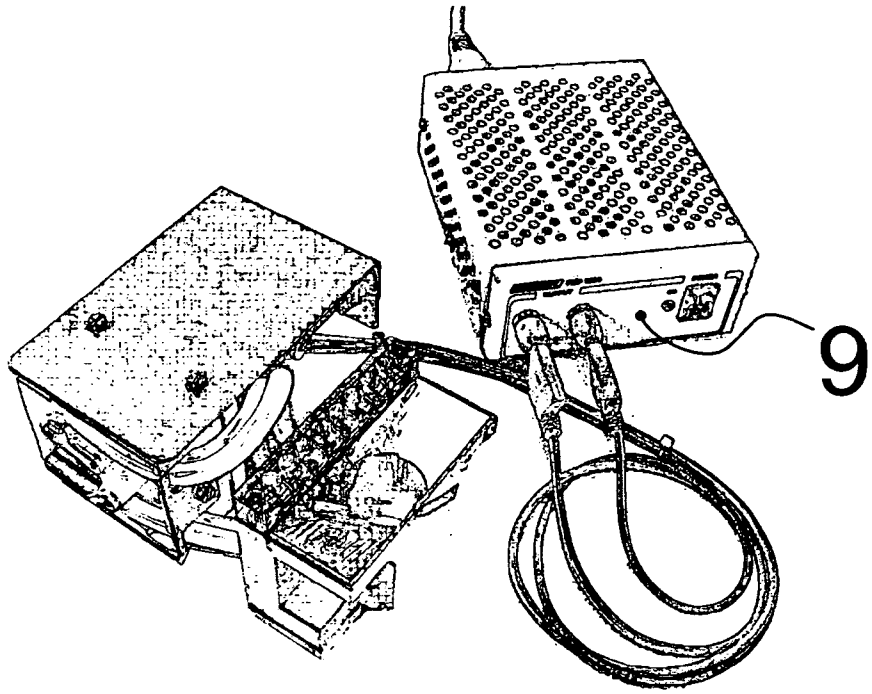


Fig. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/062905

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. B01F5/10

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)
B01F B01L

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	GB 1 189 162 A (INST WLOKIEN SZTUCZNYCH I SYNT [PL]) 22 April 1970 (1970-04-22) column 2, line 13 - column 2, line 37; figure 1	1-6
A	DE 38 44 174 A1 (FRESENIUS AG [DE]) 5 July 1990 (1990-07-05) abstract; figure 1	1-14
A	US 2004/134930 A1 (HIRAKI MASAHIKO [JP] ET AL) 15 July 2004 (2004-07-15) abstract; figure 1	1-14
A	JP 2005 131568 A (TDK CORP; GENUS KK) 26 May 2005 (2005-05-26) abstract	1-14

-/--

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

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

"E" earlier 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.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 Dezember 2008	12/01/2009

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/062905

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 211 733 A (CHANG SHIH-CHIH [US]) 8 July 1980 (1980-07-08) abstract; figure 1	1-14
A	FR 2 020 513 A (BRITISH MOTOR CORP LTD) 17 July 1970 (1970-07-17) claim 1; figure 1	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2008/062905

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 1189162 A	22-04-1970	NONE	
DE 3844174 A1	05-07-1990	NONE	
US 2004134930 A1	15-07-2004	DE 60123844 T2	30-08-2007
		EP 1381448 A1	21-01-2004
		WO 02089961 A1	14-11-2002
JP 2005131568 A	26-05-2005	JP 3771557 B2	26-04-2006
US 4211733 A	08-07-1980	NONE	
FR 2020513 A	17-07-1970	BE 737043 A	16-01-1970
		CH 512277 A	15-09-1971
		DE 1936645 A1	19-02-1970
		ES 370430 A1	01-07-1971
		GB 1183887 A	11-03-1970
		NL 6912338 A	17-02-1970

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2008/062905

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. B01F5/10

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
B01F B01L

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	GB 1 189 162 A (INST WLOKIEN SZTUCZNYCH I SYNT [PL]) 22. April 1970 (1970-04-22) Spalte 2, Zeile 13 - Spalte 2, Zeile 37; Abbildung 1	1-6
A	DE 38 44 174 A1 (FRESENIUS AG [DE]) 5. Juli 1990 (1990-07-05) Zusammenfassung; Abbildung 1	1-14
A	US 2004/134930 A1 (HIRAKI MASAHIKO [JP] ET AL) 15. Juli 2004 (2004-07-15) Zusammenfassung; Abbildung 1	1-14
A	JP 2005 131568 A (TDK CORP; GENUS KK) 26. Mai 2005 (2005-05-26) Zusammenfassung	1-14

-/--

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

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" 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
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
10. Dezember 2008	12/01/2009
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	**Bevollmächtigter Bediensteter** Muller, Gérard

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (April 2005)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2008/062905

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 211 733 A (CHANG SHIH-CHIH [US]) 8. Juli 1980 (1980-07-08) Zusammenfassung; Abbildung 1	1-14
A	FR 2 020 513 A (BRITISH MOTOR CORP LTD) 17. Juli 1970 (1970-07-17) Anspruch 1; Abbildung 1	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2008/062905

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
GB 1189162	A	22-04-1970	KEINE		
DE 3844174	A1	05-07-1990	KEINE		
US 2004134930	A1	15-07-2004	DE	60123844 T2	30-08-2007
			EP	1381448 A1	21-01-2004
			WO	02089961 A1	14-11-2002
JP 2005131568	A	26-05-2005	JP	3771557 B2	26-04-2006
US 4211733	A	08-07-1980	KEINE		
FR 2020513	A	17-07-1970	BE	737043 A	16-01-1970
			CH	512277 A	15-09-1971
			DE	1936645 A1	19-02-1970
			ES	370430 A1	01-07-1971
			GB	1183887 A	11-03-1970
			NL	6912338 A	17-02-1970