



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) CH

700 127 A1

(51) Int. Cl.: G01N 1/28 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)

Patentanmeldung für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 01979/08

(71) Anmelder:
Tecan Trading AG, Seestrasse 103
8708 Männedorf (CH)

(22) Anmeldedatum: 17.12.2008

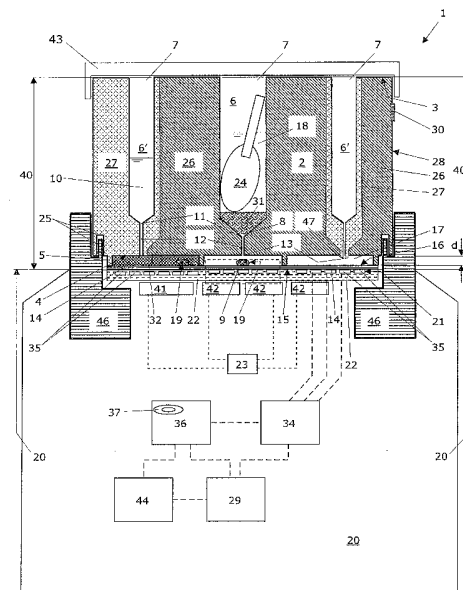
(72) Erfinder:
Marc N. Feiglin, East Brunswick, NJ 08816 (US)

(43) Anmeldung veröffentlicht: 30.06.2010

(74) Vertreter:
OK pat AG Patente Marken Lizenzen, Chamerstrasse 50
6300 Zug (CH)

(54) System und Vorrichtung zur Aufarbeitung biologischer Proben und zur Manipulation von Flüssigkeiten mit biologischen Proben.

(57) Ein Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben, umfassend einen Behälter (2) zur Aufarbeitung grosser Volumina, einen flachen Polymerfilm (14) mit einer Unterseite (15) und einer hydrophoben Oberseite (16), die durch Vorsprünge (5) in einem Abstand d zur Unterseite (4) des Behälters (2) gehalten wird, wobei der Abstand d wenigstens einen Spalt (17) definiert, wenn der Behälter (2) auf dem Film (14) angeordnet ist, und eine Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20), umfassend wenigstens ein Elektroden-Array (21) zur Auslösung von Bewegungen von Flüssigkeitströpfchen, ein Substrat (22), welches das wenigstens eine Elektroden-Array (21) trägt, und eine Steuereinheit (23), ist dadurch gekennzeichnet, dass der Behälter (2) und der Film (14) reversibel an der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) angebracht sind, wobei das System (1) auf diese Weise die Verschiebung wenigstens eines Flüssigkeitströpfchens (19) aus dem wenigstens einen Schacht (6) durch den Kanal (12) des Behälters (2) auf die hydrophobe Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) und über dem wenigstens einen Elektroden-Array (21) ermöglicht; wobei die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) dafür ausgeführt ist, eine gelenkte Bewegung dieses Flüssigkeitströpfchens (19) auf der hydrophoben Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) durch Elektrobenetzung zu steuern und die biologische Probe (9) dort aufzuarbeiten.



Beschreibung

Technisches Gebiet

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Aufarbeitungssystem für biologische Proben, das einen Behälter zur Aufarbeitung grosser Volumina, einen flachen Polymerfilm und eine Vorrichtung zur Manipulation von Flüssigkeitströpfchen umfasst. Die Erfindung betrifft des Weiteren eine Vorrichtung zur Manipulation von Flüssigkeitströpfchen, die ein von einem Substrat getragenes Elektroden-Array und einen Hauptprozessor für die Steuerung der Auswahl einzelner Elektroden und deren Belieferung mit einzelnen Spannungsimpulsen zur Manipulation von Flüssigkeitströpfchen durch Elektrobenetzung umfasst. Vorzugsweise ist diese Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung dafür ausgeführt, einen flachen Polymerfilm wie auch einen solchen Behälter zur Aufarbeitung grosser Volumina aufzunehmen.

[0002] Die Analyse von biologischem Material wie Gewebeproben oder Mikroorganismen, insbesondere Nucleinsäuren oder Proteinen, ist auf verschiedenen Gebieten gut etabliert, speziell auf dem Gebiet der wissenschaftlichen Forschung, des pharmakologischen Screenings oder der forensischen Wissenschaften. Entsprechende Verfahren wurden für verschiedene Zwecke entwickelt, wobei jedes Verfahren einen speziellen Satz von Reaktionsreagenzien und Vorrichtungen zur Durchführung des jeweiligen Verfahrens benötigt. Es bleibt jedoch eine Herausforderung, bestehende Analyseverfahren an die auf jedem Gebiet vorliegenden verschiedenen Bedingungen und Erfordernisse anzupassen. Zum Beispiel steht bei der Kriminaltechnik gewöhnlich nur eine relative kleine Menge an zu analysierendem Material zur Verfügung. Zudem kann die Qualität dieses Materials recht gering sein, was das beteiligte Personal vor zusätzliche Herausforderungen stellt. Folglich müssen die Verfahren speziell an diese Bedingungen angepasst sein. Dagegen steht für labordiagnostische Verfahren das biologische Material gewöhnlich in ausreichenden Mengen zur Verfügung, jedoch müssen die erforderlichen Verfahren individuell an die zu lösende zugrundeliegende Fragestellung angepasst werden.

[0003] Für die ersten Schritte der Analyse von biologischem Material sind Verfahren erforderlich, die auf dem Fachgebiet wohl bekannt sind. Interessierendes Material wird z.B. an einem Tatort gesammelt (bei der Kriminaltechnik) oder einem Patienten entnommen (zu diagnostischen Zwecken). Bei solchem Material kann es sich um Gewebeproben (wie Mundschleimhautzellen, Haarfollikel) oder Körperflüssigkeiten (wie Blut, Sputum etc.) handeln. Dieses Ausgangsmaterial erfordert dann eine weitere Aufarbeitung, um Nucleinsäuren oder Proteine für die Analyse verfügbar zu machen. Typischerweise wird hierfür zunächst ein Schritt der Lyse durchgeführt, der zum Beispiel die Anwendung von Wärme, eine bestimmte enzymatische Aktivität und/oder die Anwendung spezieller Chemikalien beinhaltet. Auf die Zellyse folgt ein Herausreinigen der Nucleinsäure oder des Proteins von Interesse aus dem weiteren Zellmaterial. Falls die Nucleinsäure analysiert werden soll, könnte ein Amplifikationsschritt zweckmässig sein, um die Probenausbeute zu erhöhen. Nucleinsäureamplifikation wird typischerweise durch die Polymerasekettenreaktion (PCR) bewerkstelligt. Dieses Verfahren ermöglicht die Amplifikation spezifischer, vordefinierter Nucleinsäuresequenzen mittels sequenzspezifischer Primer. Abhängig von der zu lösenden Fragestellung könnte das amplifizierte Material zum Beispiel durch Sequenzierung weiter analysiert werden.

[0004] Mit fortschreitender Zuverlässigkeit und Vereinfachung derartiger Methoden, zum Beispiel durch die Verwendung von Kits, sind diese Methoden auf diesen unterschiedlichen Gebieten zu Standardverfahren geworden. Zusammen mit einer steigenden Nachfrage nach Diagnostika auf molekularer Ebene besteht ein zunehmender Bedarf für die automatisierte Aufarbeitung relevanter Proben ausgehend von einer anfänglichen biologischen Probe bis hin zur Endanalyse.

Verwandter Stand der Technik

[0005] Automatisierte Flüssigkeitshandhabungssysteme sind auf dem Fachgebiet allgemein wohl bekannt. Ein Beispiel ist die Roboter-Arbeitsstation Freedom EVO® der gegenwärtigen Anmelderin (Tecan Schweiz AG, Seestrasse 103, CH-8708 Männedorf, Schweiz). Diese Vorrichtung ermöglicht eine automatisierte Flüssigkeitshandhabung in einer autarken Vorrichtung oder in automatisierter Verbindung mit einem Analysesystem. Diese automatisierten Systeme benötigen gewöhnlich grössere Flüssigkeitsvolumina (Mikroliter bis Milliliter) zur Aufarbeitung. Es handelt sich ausserdem um grössere Systeme, die nicht dafür konzipiert sind, transportabel zu sein.

[0006] Eine transportable Vorrichtung zur Lyse und/oder Aufreinigung biologischer Proben ist aus WO 2007/061943 bekannt. Die Aufarbeitung von Nucleinsäuren erfolgt im Innern einer Kartuschenkammer mittels Elektroden, die auf den beiden Seiten angeordnet sind, wobei auf diese Weise biologisches Material durch Elektrolyse, Elektroporation, Elektroosmose, Elektrokinetik oder Widerstandsbeheizung aufgearbeitet wird. Die Kartusche umfasst ausserdem Siebmatritzen oder -membranen. Durch Verwendung geeigneter Puffer und anderer Reagenzien in Kombination mit dem Einsatz der Elektroden können im Innern der Kammer verschiedene Reaktionen durchgeführt werden, und die gewünschten Produkte können zum Beispiel zu Auffangmembranen geleitet werden. Die Kartusche selbst kann in einem integrierten System angeordnet werden, das die erforderlichen Steuerelemente und Energiequellen umfasst. Obwohl diese Kartusche ein System bereitstellt, um die Probenaufarbeitung zumindest teilweise elektronisch zu steuern, ist immer noch das Eingreifen eines Forschers oder von technischem Laborpersonal erforderlich.

[0007] Andere Methoden, die sich mit der automatisierten Aufarbeitung biologischer Proben befassen, stammen aus dem Gebiet der Mikrofluidik. Dieses technische Gebiet betrifft allgemein die Steuerung und Manipulation von Flüssigkeiten in einem kleinen Volumen, gewöhnlich im Mikro- oder Nanomassstab. Flüssigkeitsbewegung in einem Kanalsystem wird per se bekanntlich z.B. durch Mikropumpen in unbewegten Vorrichtungen oder durch Zentripetalkräfte in sich drehender

Laborware gesteuert. Bei der digitalen Mikrofluidik wird eine definierte Spannung an Elektroden eines Elektroden-Arrays angelegt, so dass einzelne Tröpfchen angesprochen werden (Elektrobenetzung). Für einen allgemeinen Überblick über das Elektrobenetzungs-verfahren siehe Washizu, IEEE Transactions on Industry Applications, Volume 34, No. 4, 1998, und Pollack et al., Lab chip, 2002, Volume 2, 96-101. Kurz zusammengefasst bezeichnet Elektrobenetzung ein Verfahren zur Bewegung von Flüssigkeitströpfchen mittels Arrays von Mikroelektroden, die vorzugsweise von einer hydrophoben Schicht bedeckt werden. Durch Anlegen einer definierten Spannung an Elektroden des Elektroden-Arrays wird eine Änderung der Oberflächenspannung des Flüssigkeitströpfchens induziert, das sich auf den adressierten Elektroden befindet. Dies führt zu einer markanten Änderung des Kontaktwinkels des Tröpfchens auf der adressierten Elektrode, folglich zu einer Bewegung des Tröpfchens. Für solche Elektrobenetzungsverfahren sind zwei grundsätzliche Möglichkeiten bekannt, die Elektroden anzuordnen: Die Verwendung einer einzigen Oberfläche mit einem Elektroden-Array zur Auslösung der Bewegung von Tröpfchen oder das Hinzufügen einer zweiten Oberfläche, die einem ähnlichen Elektroden-Array gegenüberliegt und die wenigstens eine Masseelektrode bereitstellt. Ein Hauptvorteil der Elektrobenetzungstechnik ist, dass nur ein kleines Flüssigkeitsvolumen benötigt wird, z.B. ein einzelnes Tröpfchen. Daher kann eine Flüssigkeitsaufarbeitung in erheblich kürzerer Zeit durchgeführt werden. Überdies kann die Steuerung der Flüssigkeitsbewegung vollständig unter elektronischer Kontrolle erfolgen, was zur automatisierten Aufarbeitung von Proben führt.

[0008] Eine Vorrichtung zur Manipulation von Flüssigkeitströpfchen durch Elektrobenetzung unter Verwendung einer einzigen Oberfläche mit einem Elektroden-Array (einer monoplanaren Anordnung von Elektroden) ist aus US-Patent Nr. 5 486 337 bekannt. Sämtliche Elektroden sind auf einer Oberfläche eines Trägersubstrats angeordnet, in das Substrat eingelassen oder mit einer nicht benetzbaren Oberfläche bedeckt. An die Elektroden ist eine Spannungsquelle angeschlossen. Das Tröpfchen wird durch Anlegen einer Spannung an aufeinanderfolgende Elektroden bewegt, wodurch die Bewegung der Flüssigkeitströpfchen über den Elektroden entsprechend der Abfolge, in der die Spannung an die Elektroden angelegt wird, gelenkt wird.

[0009] Eine Elektrobenetzungsvorrichtung zur Steuerung der Bewegungen von Flüssigkeitströpfchen im Mikromassstab unter Verwendung eines Elektroden-Arrays mit einer gegenüberliegenden Fläche mit wenigstens einer Masseelektrode ist aus US 6 565 727 bekannt (eine biplanare Anordnung von Elektroden). Jede Oberfläche dieser Vorrichtung kann eine Vielzahl von Elektroden umfassen. Die Antriebs Elektroden des Elektroden-Arrays sind vorzugsweise in einer ineinandergreifenden Beziehung zueinander angeordnet, und zwar durch Fortsätze, die sich an den Rändern jeder einzelnen Elektrode befinden. Die zwei gegenüberliegenden Arrays bilden einen Spalt. Die dem Spalt zugewandten Oberflächen der Elektroden-Arrays sind vorzugsweise mit einer elektrisch isolierenden, hydrophoben Schicht bedeckt. Das Flüssigkeitströpfchen wird in dem Spalt platziert und durch sequenzielles Anlegen einer Vielzahl elektrischer Felder an eine Vielzahl von Elektroden, die sich an gegenüberliegenden Stellen des Spalts befinden, in einer unpolaren Füllflüssigkeit bewegt.

[0010] Die Verwendung einer solchen Elektrobenetzungsvorrichtung zur Manipulation von Flüssigkeitströpfchen im Kontext der Aufarbeitung biologischer Proben ist aus der US-Patentanmeldung Nr. 2007/0 217 956 A1 bekannt. Dort wird vorgeschlagen, Nucleinsäuren auf einer Platine zum Beispiel durch Thermozyklisierung zu amplifizieren. Die Elektroden werden auf einem Array von Elektroden durch Anlegen eines Potentials zwischen einer Referenzelektrode und einer oder mehreren Antriebs Elektroden transportiert. Die Probe wird in ein Reservoir auf der Platine eingebracht, und es werden auf die Platine Tröpfchen abgegeben.

[0011] Jedoch ermöglicht keine der bekannten Vorrichtungen die vollautomatisierte Aufarbeitung von Nucleinsäuren ausgehend von dem gesammelten Material bis hin zur Endanalyse im kleinvolumigen Massstab. Ein zusätzlicher Nachteil der vorgestellten Vorrichtungen ist mit dem Wesen solcher Anordnungen von Elektroden-Arrays verbunden, die gewöhnlich in der Herstellung kostspielig sind und folglich bei Gebrauch eher keine Wegwerfartikel darstellen. Eine ständige Wiederverwendung derselben Vorrichtung für verschiedene biologische Proben und Anwendungen birgt jedoch die Gefahr einer Kreuzkontamination der interessierenden Proben, was zu falschen Ergebnissen führen könnte. Daher sind solche Vorrichtungen für Hochdurchsatztests ungeeignet.

Aufgaben und Zusammenfassung der vorliegenden Erfindung

[0012] Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Vorrichtung vorzuschlagen, welche die vollstufige Handhabung biologischer Proben auf einfache, automatisierte und schnelle Weise ermöglicht, wobei die Handhabung mit dem Bereitstellen einer auf ihr biologisches Material zu analysierenden Probe in der Vorrichtung beginnt und die Aufarbeitung mit dem Ausführen einer Endanalyse abgeschlossen wird.

[0013] Diese Aufgabe wird gemäss einem ersten Aspekt durch ein Aufarbeitungssystem für biologische Proben, wie es hier beschrieben und offenbart ist, gelöst.

[0014] Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine alternative Vorrichtung vorzuschlagen, die eine vereinfachte Manipulation von Flüssigkeitströpfchen im Mikromassstab ermöglicht.

[0015] Diese Aufgabe wird gemäss einem zweiten Aspekt durch Bereitstellen eines Flüssigkeitströpfchen-Manipulationssystems gelöst, das eine präzise und gelenkte Bewegung von Flüssigkeitströpfchen im Mikromassstab ermöglicht.

[0016] Zusätzliche bevorzugte Merkmale gemäss der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

[0017] Vorteile der vorliegenden Erfindung umfassen:

[0018] Das System stellt eine Mehrkomponenten-Vorrichtung bereit, die für eine vollautomatisierte Aufarbeitung biologischer Proben bis hin zur Analyse angepasst ist.

[0019] Ein derartiges vollstufiges System kann direkt Makrovolumina an Probe (entweder in flüssiger Form oder auf einer festen Oberfläche wie z.B. einem Wangenabstrichtupfer) aufnehmen und unter Verwendung von Nanovolumina aufarbeiten; alles ohne jegliche Benutzerinteraktion.

[0020] Die Unterscheidung zwischen wegwerfbaren und nicht wegwerfbaren Komponenten ermöglicht die automatisierte Aufarbeitung auf standardisierte und kosteneffiziente Weise.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0021] Die vorliegende Erfindung wird anhand exemplarischer Ausführungsformen und schematischer Zeichnungen ausführlicher erläutert werden. Diese Erläuterungen sollten jedoch nicht den Umfang der vorliegenden Erfindung einschränken. Überdies können die in den Figuren dargestellten relativen Abmessungen beträchtlich variieren, da diese Schemata nicht massstabsgerecht gezeichnet sind. Dargestellt ist in:

- Fig. 1 ein schematischer Querschnitt und Teillayout eines Aufarbeitungssystems für biologischen Proben gemäss dem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung;
- Fig. 2 eine Draufsicht auf einen Behälter und einen Film eines Aufarbeitungssystems für biologische Proben gemäss der vorliegenden Erfindung, wobei
 - Fig. 2a den wenigstens einen Schacht zur Platzierung der biologischen Probe darstellt, wobei dieser zum äusseren Rand des Behälters hin angeordnet ist, und
 - Fig. 2b den wenigstens einen Schacht zur Platzierung der biologischen Probe darstellt, wobei dieser in der Mitte des Behälters angeordnet ist;
- Fig. 3 Draufsichten verschiedener Ausführungsformen von bevorzugten Elektroden-Arrays, wobei in
 - Fig. 3A jede Elektrode in Form eines Rechtecks ausgeführt ist;
 - Fig. 3B jede Elektrode in Form eines Sechsecks ausgeführt ist;
 - Fig. 3C jede Elektrode in Form eines Kreises ausgeführt ist; und
 - Fig. 3D jede Elektrode in Form eines Dreiecks ausgeführt ist.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

[0022] Fig. 1 zeigt einen schematischen Querschnitt und ein Teillayout eines beispielhaften Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben gemäss dem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung. Um eine automatisierte und kosteneffiziente Aufarbeitung biologischer Proben zu ermöglichen, umfasst dieses System 1 verschiedene einzelne Komponenten, die in einfachen Schritten zu einer Einheit, dem System 1, zusammengefügt werden können. Eine solche Komponente ist zum Beispiel ein Behälter 2, der vom Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben umfasst wird. Der Behälter 2 ist für die Aufarbeitung grosser Volumina einer Flüssigkeit 18 ausgebildet. Im Kontext der vorliegenden Erfindung sind grosse Flüssigkeitsvolumina als Flüssigkeitsvolumina von bis zu 5 ml oder bis zu 10 ml zu verstehen, je nach der aufzunehmenden Probe. Im Falle der Verwendung eines Wangenschleimhautabstrichs ist zum Beispiel der grossvolumige Schacht vorzugsweise dafür ausgelegt, Volumina von bis zu 2 ml zu fassen; wenn er zum Beispiel Vollblut enthält, fasst der Schacht vorzugsweise bis zu 5 ml. Der Behälter 2 hat eine Oberseite 3 und eine Unterseite 4. An seiner Unterseite 4 umfasst der Behälter 2 Vorsprünge 5. Diese Vorsprünge 5 können als Teile des Behälters 2 ausgeführt sein, die sich an der Unterseite 4 nach unten erstrecken. Alternativ können diese Vorsprünge 5 gesondert an der Unterseite 4 des Behälters 2 angebracht werden, zum Beispiel durch Kleben, Schweißen oder andere geeignete Mittel zur stabilen Befestigung solcher Vorsprünge 5 an der Unterseite 4 des Behälters 2. Der Behälter 2 umfasst wenigstens einen Schacht 6. Dieser wenigstens eine Schacht 6 ist an seiner Oberseite 7 offen. Auf diese Weise kann eine biologische Probe 9, ein Reaktionsreagenz 10 oder beides in das Innere dieses Schachts 6 eingebracht werden. An seiner Bodenseite 8 besitzt der wenigstens eine Schacht 6 wenigstens eine Öffnung 11. Diese Öffnung ist durch einen Kanal 12 des Behälters 2 mit einer Ausflussöffnung 13 des Behälters 2 an dessen Unterseite 4 verbunden. Wenn eine Flüssigkeit 18 oder ein Flüssigkeitströpfchen 19 in den wenigstens einen Schacht 6 (mit oder ohne Reaktionsreagenz und/oder mit oder ohne wenigstens Teile(n) der biologischen Probe 9) eingebracht wird, kann sie bzw. es durch den Kanal 12 aus dem Schacht 6 befördert werden. Der Durchmesser des Kanals 12 wird vorzugsweise so gewählt, dass die Kapillarkraft ein Auslaufen von Flüssigkeit aus der Ausflussöffnung 13 verhindert und dass die Flüssigkeiten somit im Innern des wenigstens einen Schachts 6 verbleiben, ohne dass hierfür

ein Ventil oder irgendein anderer Verschluss des Kanals 12 erforderlich sind. Der Durchmesser des Kanals 12 beträgt vorzugsweise 100 µm bis 1 mm.

[0023] Überdies umfasst das Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben einen flachen Polymerfilm 14. Dieser flache Polymerfilm 14 könnte auch als «Kunststoffhaut» bezeichnet werden, wie dies von Yang et al. (2008) «Exchangeable, preloaded «Skin Depot» for digital microfluidics» bei der MicroTAS-Konferenz in San Diego, CA vorgeschlagen wurde. Dieser flache Polymerfilm 14 besitzt vorzugsweise eine Unterseite 15 und eine hydrophobe Oberseite 16. Als Material für die dünnen Polymerfilme können Nahrungsmittelverpackungen und dehnbare Wachsfolien verwendet werden. Beim Zusammenbau der einzelnen Komponenten zum Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben wird in einem ersten Schritt durch Platzierung des Behälters 2 auf dem Film 14 die hydrophobe Oberseite 16 des Films 14 an den Vorsprüngen 5 des Behälters 2 zur Anlage gebracht. Dadurch halten die Vorsprünge 5 den flachen Polymerfilm 6 in einem Abstand «d» zur Unterseite 4 des Behälters 2. Dieser Abstand «d» wird durch die Höhe der Vorsprünge 5 des Behälters 2 bestimmt und definiert wenigstens einen Spalt 17, wenn der Behälter 2 auf dem flachen Polymerfilm 14 angeordnet ist. Der Spalt 17 zwischen der hydrophoben Oberseite 16 des Films 14 und der Unterseite 4 des Behälters ist dafür ausgelegt, ein Flüssigkeitströpfchen aufzunehmen. Vorzugsweise ist dieser Spalt 17 kleiner als 2 mm. Meistbevorzugt ist der Spalt 17 kleiner als 1 mm.

[0024] Die biologische Probe 9 ist vorzugsweise in einem Schacht 6 enthalten. Sie kann mit einer Flüssigkeit 18 wie einer Pufferlösung mit oder ohne Lyseagenzien gemischt werden. Die biologische Probe 9 kann (während sie in einem Flüssigkeitströpfchen 19 gehalten wird) aus dem wenigstens einen Schacht 6 durch den Kanal 12 des Behälters 2 auf die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 verschoben werden. Das Flüssigkeitströpfchen 19 mit der biologischen Probe 9 wird auf diese Weise in dem Spalt 17 zwischen dem Film 14 und dem Behälter 2 angeordnet.

[0025] Die Verschiebung kann ohne Verwendung von Ventilen durch angelegten Druck, Zentrifugalkraft oder Elektrobenetzung gegen die Kapillarkräfte, die ein Auslaufen von Flüssigkeiten aus den Schächten 6,6' verhindern, durchgeführt werden. Jedoch können auch andere Mittel eingesetzt werden, die sich dazu eignen, die Flüssigkeit 18 oder das Flüssigkeitströpfchen 19 aus dem Schacht 6 auf die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Films 14 zu verschieben. Diese Mittel zur Verschiebung können auch zur Überführung eines Reaktionsreagenzes 10, das in einem Schacht 6' des Behälters 2 gespeichert ist, auf die Oberseite des Films benutzt werden. Wenn Flüssigkeiten aus den Schächten 6,6' auf die obere Polymerfilmoberfläche 16 verschoben werden, kann zum Beispiel über einen leeren Schacht 6' überschüssige Luft aus dem Spalt abgeführt werden.

[0026] Für die Manipulation von Flüssigkeitströpfchen 19, die vorzugsweise aus dem wenigstens einen Schacht 6 des Behälters 2 auf die Oberseite 16 des Films 14 verschoben worden sind, umfasst das Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben ausserdem eine Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20. Diese Vorrichtung 20 umfasst wenigstens ein Elektroden-Array 21, ein Substrat 22, welches das wenigstens eine Elektroden-Array 21 trägt, und eine Steuereinheit 23. Die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 ist so ausgebildet, dass der Behälter 2 und der Film 14 reversibel an der Vorrichtung 20 angebracht werden können. Dabei liegt die Unterseite 15 des Films 14 an dem Elektroden-Array 21 an. Auf diese Weise zusammengebaut, ermöglicht das Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben die Verschiebung eines Flüssigkeitströpfchens 19 aus dem wenigstens einen Schacht 6 des Behälters 2 auf die Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 und folglich über dem wenigstens einen Elektroden-Array 21. Das Elektroden-Array 21 ist dafür ausgeführt, Bewegungen der Flüssigkeitströpfchen 19 auszulösen. Folglich ist die Vorrichtung 20 dafür ausgeführt, eine gelenkte Bewegung dieses Flüssigkeitströpfchens 19 auf der Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 durch Elektrobenetzung zu steuern und die biologische Probe 9 dort aufzuarbeiten.

[0027] Typische biologische Proben 9, die von einem Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben aufgearbeitet werden können, sind Nucleinsäuren oder Proteine. Vorzugsweise werden Nucleinsäuren zur Aufarbeitung verwendet. Solche Nucleinsäuren umfassen DNA (Desoxyribonucleinsäure, zum Beispiel genomische DNA, cDNA, mtDNA), RNA (Ribonucleinsäure, zum Beispiel mRNA), einzel- oder doppelsträngig, und Derivate davon (zum Beispiel künstlich markierte Nucleinsäuren). Diese biologischen Proben 9 können in Gewebeproben wie Mundschleimhautzellen oder Haarfollikel enthalten sein. Ebenso können die biologischen Proben 9 in einer Flüssigkeit enthalten sein, wie Proben von Körperflüssigkeiten wie z.B. Blut, Urin, Sputum etc. Eine biologische Probe 9 von Interesse kann unabhängig von ihrem Ursprung durch ein Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben gemäss der vorliegenden Erfindung aufgearbeitet werden. Von besonderem Interesse sind Proben, die zum Beispiel Patienten entnommen wurden (bei Routine-Diagnoseverfahren) oder von einem Tatort stammen (bei der Kriminaltechnik). Für eine erfolgreiche Aufarbeitung der Probe sollte jedoch die Wahl benötigter Reaktionsreagenzien 10 auf der Grundlage des Materials, das die biologische Probe 9 enthält, getroffen werden. Es ist auch möglich, eine bereits aufgereinigte biologische Probe 9 in den wenigstens einen Schacht 6 des Behälters 2 zu laden. In diesem Fall ist ein Aufreinigungsschritt während der Aufarbeitung im Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben nicht unbedingt erforderlich.

[0028] Vorzugsweise ist der wenigstens eine Schacht 6 des Behälters 2 dafür ausgelegt, ein festes Substrat 24 aufzunehmen, das die biologische Probe 9 trägt. Dieses feste Substrat 24 könnte eine Gewebeprobe sein. Es ist jedoch auch möglich, dass dieses feste Substrat 24 ein Tupfer, ein Spatel, eine Nadel, eine Spritze, ein Stück Papier wie FTA-Papier oder Stoffmaterial wie Kleidung oder ein anderes Substrat, das sich zum Tragen und/oder Sammeln einer biologischen Probe 9 eignet, oder z.B. Gewebe ist, das die Probe 9 enthält. Meistbevorzugt ist das feste Substrat 24 ein Tupferkopf und entsprechend ist der wenigstens eine Schacht 6 des Behälters 2 dafür ausgelegt, einen Tupferkopf aufzunehmen. Eine

exemplarische Ausführungsform eines Schachts 6, der einen Tupferkopf beherbergt, ist in Fig. 1 dargestellt. Eine typische Grösse eines solchen Schachts 6 für einen Tupferkopf weist einen Durchmesser von etwa 10 mm und eine Höhe von etwa 40 mm auf. Ein solcher Tupferkopf kann aus Baumwolle oder Polyester bestehen, wie dies auf dem Fachgebiet allgemein bekannt ist. Diese festen Proben 24 können Gewebeproben oder auch biologische Proben 9 in Form einer Flüssigkeit (wie Körperflüssigkeiten) tragen.

[0029] In der vorliegenden Fig. 1 ist ein Behälter 2 dargestellt, der einen Schacht 6, welcher dafür ausgelegt ist, einen Tupferkopf aufzunehmen, und weitere Schächte 6' umfasst, die sich von dem Probenschacht 6 in der Grösse unterscheiden. Bei einer anderen Variante, wie sie in Fig. 2a und 2b dargestellt ist, umfasst der Behälter 2 wenigstens einen Probenschacht 6 und sechs kleinere Schächte 6' zur Speicherung von Reaktionsreagenzien. Diese Schächte 6' sind vorzugsweise dafür ausgelegt, Reaktionsreagenzien 10 und andere benötigte Flüssigkeiten wie Puffer zu speichern. Eine typische Grösse eines solchen Schachts 6' zur Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 weist einen Durchmesser von etwa 5 mm und eine Höhe von etwa 40 mm auf. Jedoch kann die Grösse jedes Schachts 6,6' des Behälters 2 je nach den Anforderungen, die das zu lösende zugrundeliegende Problem stellt, individuell angepasst werden. Desgleichen kann die Position der Schächte 6,6' im Innern des Behälters 2 je nach der Ausführung der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20, den Herstellungsverfahren etc. gewählt werden. Vorzugsweise sind die Schächte 6,6' in den äusseren Bereichen des Behälters 2 angeordnet, um einen mittleren Bereich unter dem Behälter zum Bewegen von Flüssigkeitströpfchen 19 und zur Aufarbeitung der Probe 9 innerhalb des Flüssigkeitströpfchens 19 bereitzustellen. Zur Aufarbeitung können Tropfen von Reaktionsreagenzien 10 auf die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 überführt und dort mit einem Tröpfchen 19 gemischt werden.

[0030] Der wenigstens eine Schacht 6 mit einem festen Substrat 24, das die biologische Probe 9 trägt, kann auch ein Reaktionsreagenz 10 enthalten. Vorzugsweise ist ein solches Reaktionsreagenz 10 dazu geeignet, die biologische Probe 9 aus dem Material, in dem sie enthalten ist, freizusetzen. Ein Lysereagenz wäre zum Beispiel für diese Zwecke gut geeignet. Es könnte einen Reaktionspuffer und Mittel zum enzymatischen Aufschluss der die biologische Probe 9 beherbergenden Zellhülle umfassen. Das Reaktionsreagenz 10 kann im Innern des Schachts 6 in Form einer Flüssigkeit angeordnet sein. Je nach Anwendung und Verfügbarkeit kann jedoch das Reaktionsreagenz 10 alternativ zum Beispiel in lyophilisierter Form im Innern des Schachts 6 angeordnet sein. Diese Form von Reaktionsreagenz 10 wird bevorzugt, wenn der Behälter mit vorgeladenen Reaktionsreagenzien 10 käuflich sein soll. Es entspricht jedoch dem Allgemeinwissen eines Fachmanns, dass die lyophilisierte Form eines Reaktionsreagenzes nur bevorzugt wird, wenn der Vorgang der Lyophilisierung keinen oder nur einen unbedeutenden Einfluss auf die Funktionalität des Reagenzes 10 hat.

[0031] Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst der Behälter 2 des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben wenigstens einen Schacht 6, der als Speicher für ein Reaktionsreagenz 10 ausgebildet ist. Diese Ausführungsform wird besonders bevorzugt, falls der Behälter 2 bereits einen Schacht 6 zur Platzierung einer biologischen Probe 9 enthält. Folglich umfasst der Behälter in dieser Situation wenigstens zwei Schächte 6, einen Schacht 6 zur Platzierung der biologischen Probe 9 und einen Schacht 6' zur Speicherung eines Reaktionsreagenzes. Gespeicherte Reagenzien 10 umfassen Reagenzien, die aus einer Gruppe ausgewählt sind, welche Reagenzien zur Durchführung von Zellyse, Reagenzien zur Durchführung einer Nucleinsäureaufreinigung, Reagenzien zur Durchführung einer Nucleinsäureamplifikation und Reagenzien zur Durchführung einer Sequenzierung von Nucleinsäuren beinhaltet.

[0032] Bei der Zellyse wird die Zellintegrität durch Aufbrechen der Zellmembranen zerstört. Dieser Schritt kann zum Beispiel mittels enzymatischer Aktivität oder chemischer Lyse erfolgen. Jedoch können auch andere Verfahren zur Zerstörung der Zellintegrität zweckmässig sein. Exemplarisch ist an dieser Stelle die thermostabile Protease EA1, hergestellt von ZyGem™ Corporation (Waikato Innovation Park, Ruakura Road, Hamilton, Neuseeland), als geeignetes Enzym zur Durchführung einer Zellyse zu erwähnen. Alternativ kann Zellyse mittels Proteinase K oder chemischer Lyse durchgeführt werden, beides Verfahren, die auf dem Fachgebiet ebenfalls wohlbekannt sind. Die Wahl des zum verwendeten Enzym passenden Puffers kann durch einen Fachmann erfolgen, ohne dass hierfür ein besonderer Aufwand erforderlich ist, und wird ebenfalls als Bestandteil des Allgemeinwissens auf dem Fachgebiet angesehen. Da der Vorgang der Durchführung einer Zellyse einem Fachmann wohlbekannt ist, soll er hier nicht näher beschrieben werden.

[0033] Verfahren zur Aufreinigung von DNA sind ebenfalls auf dem Fachgebiet wohlbekannt, und die einzelnen Verfahrensschritte sollen hier nicht erläutert werden. Ein Aufreinigungsschritt wird in solchen Fällen bevorzugt, wo das Probengemisch Elemente enthält, die anschliessende Reaktionen stören könnten. Im Kontext dieser Anmeldung ist ein solcher Aufreinigungsschritt vorzugsweise nach einer Zellyse oder nach Nucleinsäureamplifikationsprozessen wie einer Polymerasekettenreaktion oder Sequenzierung durch Synthese erwünscht. Vorzugsweise ist DNA aufzureinigen. Typischerweise umfassen Reagenzien zur Durchführung einer Nucleinsäureaufreinigung Perlen (beads) oder Partikel, gegebenenfalls modifiziert, die imstande sind, DNA direkt oder indirekt zu binden. Nach DNA-Bindung können unerwünschte Inhaltsstoffe des Probengemisches ausgewaschen werden, und die DNA kann in einer gewünschten Flüssigkeit gelöst werden. Solche Perlen können Standard-Magnetperlen sein, die auf dem Fachgebiet wohlbekannt sind. Vorteilhafte Perlen umfassen DNA IQ™, die von Promega Corporation (2800 Woods Hollow Road, Madison, WI 53711 USA) angeboten werden, oder Dynal® Magnetic Beads, die von Invitrogen Ltd (European Headquarters: 3 Fountain Drive, Inchinnan Business Park, Paisley PA49RF, UK) angeboten werden. Geeignete Perlen oder Partikel können auch modifiziert sein. Eine solche Modifikation kann die Aufreinigung vereinfachen und spezifizieren, da sie die Bindung spezifisch markierter DNA vermittelt. DNA-Markierung kann während eines Amplifikationsprozesses bewerkstelligt werden. Eine typische Markierung, die für Primer bei

einer Polymerasekettenreaktion verwendet wird, ist Biotin; jedoch können im Kontext der vorliegenden Erfindung auch andere geeignete Markierungen verwendet werden. Der in das Amplikon eingebaute markierte Primer kann im anschließenden Aufreinigungsprozess durch Einsatz von zum Beispiel streptavidinbeschichteten Perlen eingefangen werden. Jedoch können andere Systeme, die sich zur Aufreinigung amplifizierter DNA eignen, verwendet werden.

[0034] Zum Beispiel können auch in diesem zweiten Aufreinigungsschritt Dynal® Magnetic Beads verwendet werden.

[0035] Polymerasekettenreaktion (PCR) wird typischerweise zur Amplifikation von Nucleinsäuren benutzt und ist ebenfalls auf dem Fachgebiet wohlbekannt. Kurz gesagt beinhaltet PCR eine zyklische Wiederholung von drei elementaren, temperaturspezifischen Schritten: einem Nucleinsäuredenaturierungsschritt bei vorzugsweise 98 °C, der die DNA-Doppelstränge auftrennt, einem Annealingschritt, der die Bindung von vorher ausgewählten Primern (Oligonucleotiden) an entsprechende Sequenzen auf dem Einzelstrang ermöglicht, wobei dieser Temperaturschritt von der Primersequenz abhängt, und einem Verlängerungsschritt unter Beteiligung einer Polymerase, die gebundenen Primer zu einem Nucleinsäurestrang verlängert, bei einer enzyspezifischen Temperatur. Die Polymerase ist vorzugsweise thermostabil, so dass sie nicht durch die Denaturierungstemperatur beeinflusst wird. Eine solche thermostabile Polymerase, die auf dem Fachgebiet wohlbekannt ist, ist die Polymerase des Bakteriums *Thermus aquaticus* (Taq-Polymerase). Jedoch können andere verfügbare thermostabile Polymerasen Verwendung finden. Bevorzugte Matrizen sind genomische DNA oder cDNA. Mittels PCR können vorher ausgewählte, spezifische Regionen einer Matrize amplifiziert werden, was zum Beispiel mehr Informationen über den Ursprung der DNA liefert. Bevorzugte Regionen, die durch PCR zu analysieren sind, umfassen mitochondriale DNA (mtDNA), typische kurze Tandemwiederholungen (short tandem repeats, STR) oder distinkte Einzelnucleotidpolymorphismen (SNPs), die dafür bekannt sind, dass sie zum Beispiel mit spezifischen Erkrankungen verbunden sind (verwendet als genetische Marker).

[0036] Die Sequenzierung spezifisch amplifizierter DNA ist ein wohlbekanntes Instrument zur näheren Charakterisierung der ausgewählten DNA. Auf dem Fachgebiet sind wichtige Sequenzierungsprinzipien bekannt, Sequenzierung durch Amplifikation und Sequenzierung durch Hybridisierung. Die Sequenzierung durch Amplifikation beinhaltet ein PCR-ähnliches Verfahren, das jedoch markierte Stopp-Primer verwendet, welche den Verlängerungsprozess zufällig beenden. Die resultierenden endmarkierten Fragmente werden dann zur Bestimmung der Sequenz der Matrize verwendet. Die Sequenzierung durch Hybridisierung (SBH) erfordert die Bindung von markiertem Primer an eine Matrix. Die Primer werden so gewählt, dass sie in ihrer Sequenz teilweise überlappen. Nach Hybridisierung einer Ziel-DNA an diese Primer kann die Sequenz durch Analyse der Primersequenz, an die das Ziel gebunden ist, bestimmt werden. Wenn bei dem Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben der Schritt der Sequenzierung durch Hybridisierung angewendet wird, werden die markierten Primer vor Beginn der Probenaufarbeitung vorzugsweise an die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 gebunden. Meistbevorzugt werden die markierten Primer vor der Abgabe des Systems in den Handel gebunden.

[0037] Falls zwei oder mehr, vorzugsweise alle oben vorgestellten Verfahren mittels des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben gemäß der vorliegenden Erfindung durchgeführt werden sollen, ist es erforderlich, dass der Behälter 2 mehr als zwei Schächte 6,6' umfasst. Vorzugsweise umfasst der Behälter 2 wenigstens einen Schacht 6 zur Platzierung einer biologischen Probe 9 und weitere Schächte 6' zur Speicherung der benötigten Reaktionsreagenzien 10, wobei jedem Reaktionsreagenz 10 eines Verfahren ein Schacht 6' zugeordnet ist. Vorzugsweise ist der Schacht 6 zur Platzierung der biologischen Probe 9 dafür ausgeführt, zusätzlich Reaktionsreagenzien 10 und Puffer zu speichern, die zur Zellyse erforderlich sind. Die Zellyse kann somit direkt in dem Schacht 6 durchgeführt werden, der die biologische Probe 9 enthält.

[0038] Sollen alle oben erwähnten Verfahren durchgeführt werden, umfasst dann der Behälter 2 wenigstens vier Schächte 6, 6': einen Schacht 6 zur Platzierung der biologischen Probe 9 und Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 zur Zellyse, einen Schacht 6' zur Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 zur DNA-Aufreinigung, einen Schacht 6' zur Speicherung von Reaktionsreagenzien für eine PCR und einen Schacht 6' zur Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 zur Sequenzierung. Meistbevorzugt umfasst der Behälter 2 wenigstens zehn Schächte 6, 6' zur Aufarbeitung einer biologischen Probe 9:

- Wenigstens ein Schacht 6 ist für die Positionierung der biologischen Probe 9, für die Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 und Puffer und für die Durchführung einer Zellyse ausgebildet,
- wenigstens drei Schächte 6' sind für eine Aufreinigung vor der PCR ausgebildet (jeweils einer für Magnetperlen, Waschpuffer und Elutionspuffer),
- wenigstens zwei Schächte 6' sind für die Amplifikation ausgebildet (einer für die Speicherung des Enzyms und Puffers, einer für die Speicherung des Primers, mit einem Primer-Schacht pro Lokus, der amplifiziert werden soll),
- wenigstens zwei Schächte 6' sind für die Aufreinigung nach der PCR ausgebildet (einer für die Speicherung von streptavidinbeschichteten Perlen und einer für die Speicherung von Waschpuffer),
- wenigstens zwei Schächte 6' sind für die Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 und Puffer zur Sequenzierung durch Hybridisierung ausgebildet (einer für die Speicherung von Puffer mit einer Referenzsonde und einer für die Speicherung von Puffer mit einer interessierenden Sonde).

[0039] Allgemein hängt die Zahl der Schächte 6,6' von der Art des verwendeten Reaktionssystems (benötigte Reagenzien, Aufarbeitungsschritte) und der Zahl der erforderlichen Analysen (Anzahl der zu analysierenden Sequenzen/Loki, d.h. STR, SNP, mtDNA) ab und kann von einem Fachmann auf der Basis des allgemeinen Kenntnisstandes auf dem Fachgebiet festgelegt werden. Wenn der Primer für die Amplifikation in dem Behälter 2 gespeichert werden soll, umfasst der

Behälter 2 für den Amplifikationsprozess vorzugsweise einen Primer-Schacht pro Lokus, der zu analysieren ist. Wenn 16 Loci analysiert werden sollen, umfasst der Behälter folglich vorzugsweise 16 Primer-Schächte 6' für die Amplifikation. Bei einer anderen bevorzugten Variante kann der für den Amplifikationsschritt erforderliche Primer in getrockneter Form auf der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 verfügbar sein, so dass hier in dem Behälter 2 kein gesonderter Schacht 6' zur Speicherung von Primer benötigt würde. Der Primer kann in diesem Fall mittels eines in einem Schacht 6' enthaltenen Puffers auf dem Film 14 resuspendiert werden. Für den Schritt der Sequenzierung durch Hybridisierung kann die Zahl der zur Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 und Puffer erforderlichen Schächte 6' in gleicher Weise gewählt werden.

[0040] Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist das Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben dafür ausgeführt, die Extraktion, Aufreinigung, Amplifikation und Analyse einer biologischen Probe 9 von Interesse durchzuführen. Folglich stellt die vorliegende Erfindung gemäss dem ersten Aspekt ein vollstufiges System bereit, das direkt Makrovolumina an Probe (entweder in flüssiger Form oder auf einer festen Oberfläche wie einem Wangenabstrichtupfer) aufnehmen und unter Verwendung von Nanovolumina bis zur Endanalyse aufarbeiten kann.

[0041] In Fig. 2a und 2b ist in Draufsicht ein Behälter 2 gemäss der vorliegenden Erfindung dargestellt, der einen Schacht 6 zur Platzierung der biologischen Probe 9 und sechs weitere Schächte 6' zur Speicherung von Reaktionsreagenzien 10 aufweist. Wenn die Zellyse direkt im Innern des Schachts 6 zur Platzierung der biologischen Probe 9 durchgeführt wird, wird die biologische Probe 9 aus dem zellulären Kontext freigesetzt und vorzugsweise in eine Flüssigkeit 18 abgegeben, die daher eine aus der Zellyse resultierende Reaktionslösung darstellt. Falls die biologische Probe 9 bei der Platzierung in dem Schacht 6 des Behälters 2 nicht in einer oder mehreren Zellen enthalten war (falls keine Lyse erforderlich ist), kann die Flüssigkeit entsprechend den nachfolgenden Verfahrensschritten gewählt und über die Oberseite 7 des Schachts 6 dem Schacht zugesetzt werden. In jedem Fall sollte die biologische Probe 9 für die weitere Aufarbeitung mittels des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben gemäss dem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung wenigstens teilweise in einer Flüssigkeit enthalten sein. Die Flüssigkeit 18 oder ein Flüssigkeitströpfchen, das wenigstens Teile der biologischen Probe 9 enthält, wird dann zur weiteren Aufarbeitung aus dem Schacht 6 durch den Kanal 12 des Behälters 2 auf die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 verschoben.

[0042] Die Verschiebung wird vorzugsweise ohne Verwendung von Ventilen oder anderen beweglichen Mitteln durch einen angelegten Druck, durch Zentrifugalkraft oder durch Elektrobenetzung bewerkstelligt. Alle diese bevorzugten Mittel zur Verschiebung wirken gegen die Kapillarkräfte, die ein Auslaufen von Flüssigkeiten aus den Schächten 6,6' verhindern. Jedoch können auch andere Mittel verwendet werden, die sich zur Verschiebung der Flüssigkeit 18 oder eines Flüssigkeitströpfchens 19 aus dem Schacht 6 auf die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Films 14 eignen.

[0043] Was die weitere Aufarbeitung betrifft, werden der Behälter 2 und der flache Polymerfilm 14 reversibel an der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 angebracht, wobei die Unterseite 15 des Films 14 an dem Elektroden-Array 21 anliegt. Entsprechend wird das Flüssigkeitströpfchen 19 aus dem Schacht 6 über dem Elektroden-Array 21 verschoben. In dieser Anordnung kann das Flüssigkeitströpfchen 19 in einer gelenkten Weise mittels der Flüssigkeitsmanipulationsvorrichtung 20 durch Elektrobenetzung bewegt werden. Die Bewegung wird gesteuert, um die gewählte Aufarbeitung der in dem Flüssigkeitströpfchen 19 enthaltenen biologischen Probe 9 zu erreichen und um diese Aufarbeitung an bevorzugten Orten des Elektroden-Arrays durchzuführen.

[0044] Bei einer Variante des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben wird das Flüssigkeitströpfchen 19 in dem Spalt 17 in einer nicht mischbaren Systemflüssigkeit 32 bewegt. Diese Variante ist die bevorzugte Ausführungsform, wenn mit der biologischen Probe 9, die in dem wenigstens einen Flüssigkeitströpfchen 19 enthalten ist, eine PCR durchgeführt wird. Da die PCR erfordert, dass ein solches Flüssigkeitströpfchen 19 verschiedenen Temperaturen ausgesetzt wird, was den Denaturierungsschritt bei etwa 98 °C einschliesst, kann mittels einer solchen nicht mischbaren Systemflüssigkeit 32 eine Verdampfung von Flüssigkeit verhindert oder zumindest beträchtlich eingeschränkt werden. Bevorzugte Systemflüssigkeiten, die nicht mit dem Flüssigkeitströpfchen 19 mischbar sind, werden z.B. unter Siliconöl, Hexadecan und Benzol ausgewählt.

[0045] Für eine formschlüssige Anbringung des Behälters 2 an der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20, umfassen sowohl der Behälter 2 als auch die Vorrichtung 20 vorzugsweise jeweils wenigstens ein Positionierungselement 25. Solche Positionierungselemente sind vorzugsweise aus einer Gruppe ausgewählt, welche umfasst:

- wenigstens eine Nut in der Seitenfläche 28 des Behälters 2 und wenigstens eine Erhebung, die derart aus der Vorrichtung 20 herausragt, dass beim Anbringen des Behälters 2 mit dem Film 14 an der Vorrichtung 20 Nut und Erhebung formschlüssig zueinander angeordnet werden;
- wenigstens eine Nut an der Unterseite 4 des Behälters 2 und wenigstens eine Erhebung, die derart aus der Vorrichtung 20 herausragt, dass beim Anbringen des Behälters 2 mit dem Film 14 an der Vorrichtung 20 Nut und Erhebung formschlüssig zueinander angeordnet werden;
- wenigstens eine Nut an der Unterseite 4 des Behälters 2 und wenigstens eine Erhebung, die derart aus der Vorrichtung 20 herausragt, dass beim Anbringen des Behälters 2 mit dem Film 14 an der Vorrichtung 20 Nut und Erhebung formschlüssig zueinander angeordnet werden, wobei die wenigstens eine aus der Vorrichtung 20 herausragende Erhebung ein Peltier-Element ist, um den Behälter 2 lokal mit einer vorgewählten Temperatur zu versehen; und

- den Behälter 2 mit der Form eines unregelmässigen Polyeders und die Flüssigkeitsmanipulationsvorrichtung mit einer entsprechenden Vertiefung, so dass beim Anbringen des Behälters 2 an der Vorrichtung 20 beide in einer satt anliegenden, formschlüssigen Weise ausgerichtet werden.

[0046] Positionierungselemente 25, die als wenigstens eine Nut des Behälters 2 und wenigstens eine aus der Vorrichtung 20 herausragende Erhebung ausgebildet sind, sind in Fig. 1 (mit der Nut an der Unterseite 4 des Behälters 2), Fig. 2a (mit zwei dreiecksförmigen Nuten in der Seitenfläche des Behälters) und in Fig. 2b (mit zwei halbkreisförmigen Nuten in der Seitenfläche des Behälters 2) dargestellt. Wenn ein Peltier-Element für die Beheizung des Schachts 6 zur Platzierung der biologischen Probe 9 verwendet wird, kann ein solches Peltier-Element als eine aus der Vorrichtung 20 herausragende Erhebung ausgebildet sein, und seine Position kann zum Beispiel so gewählt sein, dass es speziell den Schacht 6 (unabhängig davon, ob dieser ein zentraler ist oder nicht) mit einer bestimmten Temperatur versieht. Jedoch können auch andere Mittel zur Positionierung des Behälters 2 auf der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 in einer definierten Konfiguration verwendet werden, die einem Fachmann wohlbekannt sind und hier nicht näher beschrieben werden sollen.

[0047] Während der Behälter 2 auf der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 angeordnet ist, kann ein Flüssigkeitströpfchen 19 auf dem flachen Polymerfilm 14 entweder nur die hydrophobe Oberseite 16 des Films 14 berühren oder sowohl die hydrophobe Oberseite 16 des Films 14 als auch die Unterseite 4 des Behälters 2 berühren. Die Kontaktflächen eines solchen Flüssigkeitströpfchens 19 lassen sich durch die Bemessung des Spalts 17 (folglich die Bemessung der Vorsprünge 5) oder durch die Bemessung des Flüssigkeitströpfchens 19 beeinflussen.

[0048] Der Behälter 2 wird vorzugsweise durch Spitzguss hergestellt. Auf diese Weise können die Produktionskosten trotz der erzielbaren hohen Fertigungsqualität verringert werden, und der Behälter 2 kann als preiswertes Einwegprodukt benutzt werden. Ein solcher Einweg-Behälter 2 ist für den Vertrieb für verschiedene Anwendungen geeignet und kann mit einem speziellen Satz von Reaktionsreagenzien 10 ausgestattet werden. Der Behälter 2 ist vorzugsweise aus einem elektrisch isolierenden Material 26, aus einem elektrisch leitenden Material 27 oder aus einer Kombination von sowohl einem elektrisch leitenden als auch einem elektrisch isolierenden Material 26,27 hergestellt. Bei Herstellung aus zwei verschiedenen Materialien wird ein zweistufiges Spritzgussverfahren bevorzugt. In Fig. 1, 2a und 2b besteht der Kern des Behälters 2 aus einem elektrisch isolierenden Material 26, während die Bereiche, welche die Schächte 6,6' umgeben, aus einem elektrisch leitenden Material 27 bestehen. Die umgebenden Bereiche aus dem leitenden Material 27 werden durch das isolierende Material 26 voneinander getrennt. Diese umgebenden Bereiche aus leitendem Material 27 können an der Unterseite 4 des Behälters 2 eine Düse 47 bilden, die leicht in den Spalt 17 hineinragt (siehe Fig. 1). Der Vorteil, den eine solche Düse bietet, ist die Möglichkeit, ein Flüssigkeitströpfchen 19 einzeln zu erzeugen und in den Spalt abzugeben, ohne dass das Tröpfchen 19 die Oberfläche der Unterseite 4 des Behälters 2 berührt. Überdies kann eine solche Düse eine gerichtete Abgabe des Tröpfchens 19 in den Spalt 17 ermöglichen.

[0049] Zudem bilden Teile der umgebenden Bereiche aus dem elektrisch leitenden Material 27 einen Teil der äusseren Seitenfläche 28 des Behälters 2. Eine solche Variante hat den Vorteil, dass jeder elektrisch leitende Bereich 27 des Behälters 2 individuell elektrisch kontaktiert werden kann. Dies ermöglicht, dass die leitenden Bereiche durch eine Spannungsregelung 29 angesteuert und mit einer individuellen Spannung beliefert werden können. Auf diese Weise können mittels des Prinzips der Elektrobenetzung aus jedem Schacht 6,6' ein oder mehrere Flüssigkeitstropfen auf die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 verschoben werden. Ein wesentlicher Punkt ist, dass die Bewegung individuell für jeden Schacht erfolgen kann, so dass Reaktionsreagenzien 10 oder Flüssigkeiten, welche die biologische Probe 9 enthalten, individuell zu dem Zeitpunkt, an dem sie auf dem Film 14 benötigt werden, verschoben werden können.

[0050] In Fig. 2a ist der wenigstens eine Schacht 6 zur Platzierung einer biologischen Probe 9 zur äusseren Seitenfläche 28 des Behälters 2 hin angeordnet. Der wenigstens eine Schacht 6 ist ausserdem von einem elektrisch leitenden Material 27 umgeben. Die elektrisch leitende Umgebung 27 erstreckt sich in dieser Variante derart, dass sie den Hauptteil des Kerns des Behälters 2 bildet. Somit bestehen wesentliche Teile der Unterseite 4 des Behälters 2 ebenfalls aus elektrisch leitendem Material 27. Dies ermöglicht eine Aufarbeitung eines Flüssigkeitströpfchens 19, das auf der hydrophoben Oberseite 16 des Films 14 platziert ist und das die Unterseite 4 des Behälters 2 berührt, durch Elektrobenetzung, indem die elektrisch leitenden Teile der Unterseite 4 des Behälters 2 als Masseelektrode eingesetzt werden. Entsprechend kann in dieser Variante die gelenkte Bewegung des Flüssigkeitströpfchens 19 zusätzlich stabilisiert werden.

[0051] Wenn der Behälter 2 selbst einem Schritt der Beheizung unterzogen wird, um zum Beispiel die Zellyse im Innern des wenigstens einen Schachts 6 zur Platzierung der biologischen Probe und/oder eines Reaktionsreagenzes zu beschleunigen, wird bevorzugt, dass ein Teil des Behälters 2 aus einem thermisch isolierenden Material besteht oder dass um die Zone höherer Temperatur thermisch isolierende Spalte vorgesehen sind.

[0052] Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst der Behälter 2 Mittel zur Identifikation 30, die aus einer Gruppe ausgewählt sind, welche einen Strichcode und eine RFID-Markierung (RFID, Radiofrequenz-Identifikation) oder einen anderen integrierten Chip umfasst. Da solche Mittel zur Identifikation 30 dem Fachmann wohlbekannt sind, sollen sie hier nicht näher beschrieben werden. Identifikationsmittel 30 werden insbesondere bevorzugt, wenn der Behälter 2 des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben in einer automatisierten Weise verwendet wird, wobei zum Beispiel Informationen über die in einem Schacht 6 des Behälters 2 angeordnete biologische Probe gespeichert werden. Darüber hinaus ist eine Verfolgung einer bestimmten Probe auch in einem grossen Laborsystem möglich.

[0053] Wenn ein festes Substrat 24, das die biologische Probe 9 enthält, in dem wenigstens einen Schacht 6 des Behälters platziert wird, umfasst dieser Schacht 6 vorzugsweise Rückhaltemittel 31, um zu verhindern, dass das feste Substrat 24 die Öffnung 8 dieses Schachts 6 blockiert. Die Rückhaltemittel 31 sind aus einer Gruppe ausgewählt, die einen Filter, eine Fritte (siehe Fig. 1) und Reliefstrukturen (siehe Fig. 2b) umfasst. Jedoch können für diese Zwecke auch andere auf dem Fachgebiet wohlbekannte Rückhaltemittel 31 verwendet werden.

[0054] Fig. 2a und 2b zeigen jeweils einen Behälter 2, der einen Analysenbereich 33 aufweist. Ein Behälter 2 mit einem Analysenbereich 33 wird bevorzugt, wenn bestimmte Bereiche der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 durch optische Mittel 38 zugänglich sein sollen. In der einfachsten Ausführungsform definiert ein ausgeschnittener Bereich den Analysenbereich 33, vorzugsweise in der äusseren Seitenfläche 28 des Behälters 2. Der entsprechende Bereich der hydrophoben Oberseite 16 des Films 14, der unter dem Ausschnitt liegt, wird auf diese Weise für optische Mittel 38 zugänglich. Solche optischen Mittel sind z.B. ein menschliches Auge oder eine optische Vorrichtung. Fig. 2a und 2b zeigen exemplarisch eine bevorzugte Position eines optischen Mittels in Bezug auf den Analysenbereich 33. Meistbevorzugt ist der Analysenbereich 33 über jenem Bereich der hydrophoben Oberseite 16 angeordnet, der für die Aufarbeitung einer biologischen Probe 9 mittels Sequenzierung ausgebildet ist, besonders bevorzugt, wenn als Sequenzierungsverfahren das Verfahren der Sequenzierung durch Hybridisierung durchgeführt wird. Vorzugsweise sind die optischen Vorrichtungen 38 aus einer Gruppe ausgewählt, die ein Standard-Mikroskop, ein Kamerasystem, ein Lichtleitersystem wie eine Glasfaseroptik, einen Scanner und Adaptierungen oder Kombinationen davon umfasst. Zum Beispiel wird in einer sehr einfachen Ausführungsform eine Kamera, ein einfaches CCD oder ein PMT (Photomultiplier) zusammen mit einer Lichtquelle wie einer LED verwendet, die als Erregungsquelle für Fluoreszenzmarkierungen auf dem Film 14 dient. Wenn ein Lichtleitersystem verwendet wird, kann sich die Erregungs- und/oder Messvorrichtung neben dem Behälter 2 befinden. Somit können automatische Probenaufarbeitung und Endanalyse auf demselben Polymerfilm 16 und auf dem Elektroden-Array 21 durchgeführt werden.

[0055] Wie in Fig. 2a und 2b dargestellt, umfasst der Behälter 2 bei Vorhandensein eines Analysenbereichs 33 vorzugsweise einen Stützrand 45. Dieser Stützrand 45 erstreckt sich entlang der äusseren Seitenfläche 28 des Behälters 2, wobei er den Analysenbereich 33 umrahmt. Entsprechend kann dieser Stützrand 45 auch ein oder mehrere Vorsprünge 5 an seiner Unterseite umfassen, die an der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 befestigt sind. Dieser Stützrand 45 stützt den einen Ausschnitt aufweisenden Behälter 2, wenn er auf dem Film 14 angeordnet ist.

[0056] Bei einer besonders benutzerfreundlichen Variante ist eine Vielzahl von Behältern 2 mit wenigstens einem Analysenbereich 33 in einer solchen Weise angeordnet, dass jeder Analysenbereich 33 leicht durch eine optische Vorrichtung 38 zugänglich ist. Eine Möglichkeit betrifft eine im Wesentlichen kreisrunde Anordnung der Behälter 2 um eine drehbare Vorrichtung 38. Alternativ können die Behälter 2 in vertikalen oder horizontalen Reihen eines entsprechenden Trägers untergebracht sein, und die optische Vorrichtung 38 oder der Träger mit der Reihe der Behälter 2 werden manuell oder automatisch in eine Position verschoben, in welcher der Analysenbereich 33 durch die optische Vorrichtung 38 zugänglich ist.

[0057] Sowohl der Behälter 2 als auch der flache Polymerfilm 14 können dem Verwender jeweils als getrennte Komponenten geliefert werden, die noch zusammengesetzt werden müssen, wenn die Aufarbeitung einer biologischen Probe 9 beginnen soll. Bei einer alternativen Ausführungsform können jedoch diese zwei Komponenten als Kartusche 40 geliefert werden. In diesem Fall umfasst die Kartusche beides, Behälter 2 und flachen Polymerfilm 14, die zum Beispiel durch Kleben oder Schweißen oder andere geeignete Mittel zur festen Verbindung dieser zwei Komponenten aneinander befestigt wurden.

[0058] Vorzugsweise umfasst der Behälter 2 oder die Kartusche 40 einen Deckel 43 zum Schutz der Schächte 6,6' und ihres Inhalts gegen äussere Einflüsse. Ein solcher Deckel 43 kann in dichtender Weise an der Oberseite 7 des Behälters 2 befestigt sein. Die Befestigung kann reversibel sein. Bei einer bevorzugten Variante ist der Deckel 43 eine dünne Folie, die wahlweise aus einem durchstechbaren Material besteht. Auf diese Weise können die Schächte 6,6' des Behälters 2 vorbeladen werden. Durch Anbringen des Foliendeckels 43 auf dem Behälter 2 wird eine sichere Aufbewahrung ermöglicht. Erst bei Beginn der Probenaufarbeitung wird der Foliendeckel 43 aufgestochen und sind die Schächte 6,6' des Behälters 2 für den Benutzer zugänglich. Zusätzlich können der Behälter 2 oder die Kartusche 40 ebenfalls mit einem Deckel 43 abgedeckt sein.

[0059] In einem zweiten Aspekt bezieht sich die vorliegende Erfindung auf eine Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist diese Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 dafür ausgebildet, in dem Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben gemäss dem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung verwendet zu werden. Jedoch lässt sich die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 unabhängig vom Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben verwenden.

[0060] Die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 gemäss dem zweiten Aspekt der vorliegenden Erfindung umfasst wenigstens ein Array von Elektroden 21 zur Auslösung einer Bewegung eines Flüssigkeitströpfchens durch Elektrodenetzung. Die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 umfasst ausserdem ein Substrat 22 zum Tragen des Elektroden-Arrays 21 und eine Steuereinheit 23. Die Steuereinheit 23 umfasst wenigstens einen Elektrodenwähler 34, der mit wenigstens einer Spannungsregelung 29 verbunden ist. Der Elektrodenwähler 34 ist dafür ausgeführt, jede Elektrode 35 des Elektroden-Arrays 21 individuell anzusteuern. Überdies ist der Elektrodenwähler 34 dafür ausgeführt, die angesteuerte Elektrode 35 mit einer Spannung zu beliefern, die von der Spannungsregelung 29 geregelt wird. Zumindest der Elek-

trodenwähler 34 und die Spannungsregelung 29 werden von einem Hauptprozessor 36 gesteuert, der in der Steuereinheit 23 enthalten ist. Der Hauptprozessor 36 ist dafür ausgebildet, den Elektrodenwähler 34 und die Spannungsregelung 29 zu steuern, um wenigstens eine Elektrode 35 individuell anzusteuern und die angesteuerte Elektrode 35 mit einem individuellen Spannungsimpuls zu beliefern. Vorzugsweise ist der individuelle Spannungsimpuls aus einer Gruppe ausgewählt, die eine Erdspannung und eine Antriebsspannung umfasst. Mit der Wahl und Lieferung eines individuellen Spannungsimpulses wird die angesteuerte Elektrode 35 als eine Antriebselektrode 35' oder als eine Masseelektrode 35'' definiert.

[0061] Die Elektroden 35 des Elektroden-Arrays 21 können verschiedene Formen aufweisen. Allgemein werden jene Formen von Elektroden 35 bevorzugt, die sich dafür eignen, ein Array dieser Elektroden 35 zu bilden. Fig. 3A - 3D zeigen einige Beispiele für bevorzugte Elektrodenformen. Wie in Fig. 3A zu erkennen ist, können die Elektroden 35 eine rechteckige Form aufweisen. Hier besitzen die Elektroden 35 eine quadratische Form; jedoch können auch andere rechteckige Formen zweckmässig sein. In Fig. 3B sind Elektroden 35 mit einer sechseckigen Form dargestellt, in Fig. 3C mit einer kreisrunden Form und in Fig. 3D mit einer dreieckigen Form. Jedoch können sich auch andere Formen eignen, solange die Elektroden 35 ein Array bilden können und über Elektrodenkontaktierungsleitungen zugänglich sind.

[0062] Vorzugsweise umfasst der Hauptprozessor 36 aktivierbare Software 37. Diese Software 37 ermöglicht dem Hauptprozessor 36 die Steuerung des Elektrodenwählers 34 und der Spannungsregelung 29 zwecks individueller Ansteuerung wenigstens einer Elektrode 35 und Belieferung der angesteuerten Elektrode 35 mit einem individuellen Spannungsimpuls.

[0063] Die Steuereinheit 23 umfasst vorzugsweise eine Stromversorgung 44. Diese Stromversorgung 44 beliefert wenigstens den Hauptprozessor 36 und die Spannungsregelung 29 mit elektrischem Strom. Je nach der Ausführungsform anderer Elemente wie z.B. des Elektrodenwählers 34 kann die Stromversorgung 44 zusätzlich auch elektrischen Strom an andere Elemente liefern.

[0064] Die Steuereinheit 23 ist imstande, durch die Ansteuerung einer Reihe aufeinander-folgender Antriebselektroden 35' einen Pfad für eine gelenkte Bewegung eines Flüssigkeitströpfchens 19 zu definieren. Hierbei wird unter der Kontrolle der Steuereinheit 23 nacheinander entlang dem Pfad wenigstens eine dieser angesteuerten Antriebselektroden 35' mit einem Antriebsspannungsimpuls beliefert. Überdies ist die Steuereinheit 23 dafür ausgeführt, im Wesentlichen gleichzeitig wenigstens eine Elektrode 35'', die an die gepulste Antriebselektrode 35' angrenzt und sich von der angesteuerten Antriebselektrode 35' des Pfads unterscheidet, mit einem Erdspannungsimpuls zu beliefern.

[0065] Ein solcher Pfad für eine gelenkte Bewegung des Flüssigkeitströpfchens ist jeweils in Fig. 3A bis 3D dargestellt. Die nacheinander angesteuerten Antriebselektroden 35' sind gekennzeichnet. Die gerade aktive Antriebselektrode 35' ist als die Elektrode 35 dargestellt, auf der sich das Flüssigkeitströpfchen 19 befindet. Die Richtung der geplanten gelenkten Bewegung des Flüssigkeitströpfchens 19 ist mit einem Pfeil angegeben. In dieser Richtung werden aufeinanderfolgende Elektroden 35' entlang dem Pfad mit einem Antriebsspannungsimpuls beliefert werden.

[0066] Vorzugsweise überschreitet die Grösse beziehungsweise der Durchmesser des Flüssigkeitströpfchens 19 geringfügig den Durchmesser einer Elektrode 35. Meistbevorzugt berührt bei der gelenkten Bewegung durch Elektrobenetzung das Flüssigkeitströpfchen nicht nur die gerade aktive Antriebselektrode 35', sondern gleichzeitig auch leicht die darauffolgende Elektrode 35', welche die nächste aktive Antriebselektrode 35' werden wird. Allerdings gehört die Anpassung der Elektrodengrösse im Verhältnis zu Flüssigkeitströpfchengrössen zum Kenntnisstand des Fachmanns und soll hier nicht wiederholt werden. Jedoch müssen die tatsächliche Grösse und Gestaltung der Elektroden und die gewünschte Grösse der Flüssigkeitströpfchen 19 einander und der Praxis der Elektrobenetzung entsprechen.

[0067] Gemäss dem zweiten erfinderischen Aspekt erzeugt die Anwesenheit wenigstens einer Masseelektrode 35'' neben dem zu bewegendem Flüssigkeitströpfchen 19 eine stabilisierende Wirkung auf dessen Bewegung. Fig. 3A-3D zeigen jene Elektroden 35'', die mit einem Erdspannungsimpuls beliefert werden könnten. Diese Masseelektroden 35'' grenzen vorzugsweise an die gepulsten Antriebselektroden 35' an und unterscheiden sich von den angesteuerten Antriebselektroden 35' des Pfads. Die Lieferung des Erdspannungsimpulses erfolgt vorzugsweise im Wesentlichen gleichzeitig mit der Lieferung des Antriebsspannungsimpulses. Alternativ ist die Lieferung des Erdspannungsimpulses gleichzeitig mit der Lieferung des Antriebsspannungsimpulses durchzuführen.

[0068] Gemäss einer bevorzugten Variante der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 ist die Steuereinheit 20 dafür ausgeführt, wenigstens zwei Elektroden 35'', die an die gepulste Antriebselektrode 35' angrenzen und sich von der angesteuerten Antriebselektrode 35' des Pfads unterscheiden, mit einem Erdspannungsimpuls zu beliefern. Vorzugsweise sind diese wenigstens zwei angesteuerten Masseelektroden 35'' aufeinanderfolgende Elektroden 35 auf derselben Seite des Pfads.

[0069] Wie in Fig. 3A-3B dargestellt, können die Masseelektroden 35'' aus Elektroden 35 entlang dem Pfad, angrenzend an den Pfad und angrenzend an das Flüssigkeitströpfchen 19 ausgewählt werden. Vorzugsweise liegen die angesteuerten Masseelektroden Elektroden 35'' auf derselben Seite des Pfads. Wenn eine Gruppe von drei oder mehr Elektroden 35'' im Wesentlichen gleichzeitig mit einem Erdspannungspotential zu beliefern ist, werden vorzugsweise wenigstens zwei erste Elektroden 35'' von einer Seite des Pfads angesteuert. Die übrigen Elektroden 35'' dieser Gruppe können jedoch von jener Seite des Pfads gewählt werden, die den ersten zwei Masseelektroden 35'' dieser Gruppe gegenüberliegt. Aber auch wenn eine Gruppe von Masseelektroden 35'' von zwei Seiten des Pfads angesteuert wird, werden diese im Wesentlichen gleichzeitig oder gleichzeitig mit der gepulsten Antriebselektrode 35' mit dem Erdspannungsimpuls beliefert. Wenn eine

Gruppe von Elektroden 35'' gleichzeitig mit einem Erdspannungsimpuls beliefert wird, können die anderen Elektroden 35'' an den Pfad angrenzen und sich vor dem Flüssigkeitströpfchen 19 befinden, an den Pfad angrenzen und sich hinter dem Flüssigkeitströpfchen 19 befinden oder beides.

[0070] Bei einer Variante der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 kann eine Gruppe von 2 oder mehr Elektroden 35 im Wesentlichen gleichzeitig mit einem Antriebsspannungsimpuls beliefert werden. In diesem Fall kann ein Flüssigkeitströpfchen 19 von grösserem Volumen bewegt werden. Jedoch wird bei dieser Variante bevorzugt, dass im Wesentlichen gleichzeitig oder gleichzeitig eine Gruppe von 2 oder mehr Elektroden 35 mit einem Erdspannungsimpuls beliefert wird, um das Flüssigkeitströpfchen 19 mit dem grösseren Volumen ausreichend zu unterstützen.

[0071] Bei einer bevorzugten Variante der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 ist die Steuereinheit dafür ausgeführt, wenigstens eine angesteuerte Elektrode mit einem Stoppspannungsimpuls zu beliefern, um eine Stoppelektrode 35''' zu erzeugen. Vorzugsweise unterscheidet sich der gelieferte Stoppspannungsimpuls von dem Antriebsspannungsimpuls und dem Erdspannungsimpuls. Die Spannungsimpulse zur Definition einer angesteuerten Elektrode 35 als Antriebslektrode betragen vorzugsweise zwischen 20 und 100 V. Die Spannungsimpulse zur Definition einer angesteuerten Elektrode 35 als Stoppelektrode betragen vorzugsweise zwischen -50 V und +50 V. Wie in Fig. 3A-3D dargestellt, grenzen die angesteuerten Stoppelektroden 35''' an den Pfad an, unterscheiden sich von der angesteuerten Antriebslektrode 35' des Pfads und unterscheiden sich von der wenigstens einen angesteuerten, an den Pfad angrenzenden Masselektrode 35''. Überdies werden Stoppelektroden 35''' aus solchen an den Pfad angrenzenden Elektroden 35 ausgewählt, bei denen der Pfad für die Bewegung des Flüssigkeitströpfchens 19 einen Richtungswechsel vorsieht. Eine Stoppelektrode 35''' unterstützt den Richtungswechsel der Bewegung des Flüssigkeitströpfchens entlang dem Pfad.

[0072] Fig. 3A-3D zeigen exemplarisch mögliche Positionen von Stoppelektroden 35''' entlang dem Pfad. Vorzugsweise wird wenigstens eine Elektrode 35''' entlang dem Pfad an einem Ort der Richtungsänderung mit einem Stoppspannungsimpuls beliefert. Jedoch kann, wie in Fig. 3D dargestellt, mehr als eine Elektrode 35''' in diesem Bereich angesteuert werden, um mit einem Stoppspannungsimpuls beliefert zu werden. Hier werden zwei oder mehr Elektroden am Punkt der Richtungsänderung als Stoppelektrode 35''' angesteuert, um die Bewegung des Flüssigkeitströpfchens zu unterstützen.

[0073] Fig. 3B und 3C zeigen exemplarisch ein virtuelles Gitter des Elektroden-Arrays 21. Jeder Gitterpunkt 39 des virtuellen Gitters wird von dem geometrischen Mittelpunkt jeder Elektrode 35 des Elektroden-Arrays 21 gebildet. Fig. 3B zeigt ein hexagonales Gitter entsprechend der sechseckigen Form und dichten Packung jeder Elektrode 35 des Elektroden-Arrays 21. Fig. 3C zeigt ein orthogonales Gitter basierend auf der orthogonalen Anordnung von Elektroden 35, die diesmal eine im Wesentlichen kreisrunde Form aufweisen. Vorzugsweise werden aufeinanderfolgende Elektroden zur Definition des Pfads, aufeinanderfolgende angesteuerte Masselektroden 35'' und/oder aufeinanderfolgende angesteuerte Stoppelektroden 35''' durch den kürzesten Abstand zwischen zwei Gitterpunkten 39 des virtuellen Gitters definiert. Auf diese Weise kann eine kontinuierliche Bewegung des Flüssigkeitströpfchens gewährleistet werden. Wegen des höheren Freiheitsgrades wird die hexagonale Anordnung des Elektroden-Arrays 21 der orthogonalen Anordnung vorgezogen.

[0074] Fig. 1 zeigt exemplarisch die Position der Elektroden 35 in Bezug auf das Substrat 22. Vorzugsweise sind die Elektroden 35 des Elektroden-Arrays 21 so in Bezug auf das Substrat 22 angeordnet, dass die Oberseiten der Elektroden 35 im Wesentlichen bündig mit der Oberseite des Substrats 22 ausgerichtet sind. Alternativ sind die Elektroden 35 des Elektroden-Arrays innerhalb des Substrats 22 angeordnet und werden von diesem umschlossen (siehe linke Seite von Fig. 1). Es wird bevorzugt, die Elektroden 35 so nah wie möglich an den Flüssigkeitströpfchen 19 zu platzieren, um die zur Elektrobenetzung erforderliche Spannung zu reduzieren. So werden Elektroden 35, die mit der Oberseite des Substrats 22 fluchten, und sehr dünne Polymerfilme besonders bevorzugt. Als Material für die dünnen Polymerfilme können z.B. Nahrungsmittelverpackungen und dehnbare Wachsfolien verwendet werden.

[0075] Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 gemäss der vorliegenden Erfindung dafür ausgeführt, einen Behälter 2 zur Aufarbeitung grosser Volumina aufzunehmen und gleichzeitig einen flachen Polymerfilm 14 mit einer hydrophoben Oberseite 16 aufzunehmen. Wenn ein Behälter 2 zur Aufarbeitung grosser Volumina und ein flacher Polymerfilm 14 mit einer hydrophoben Oberseite 16 an der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 angebracht werden, wird ein System gebildet, das sich zur Probenaufarbeitung einer in dem Behälter 2 platzierten biologischen Probe 9 eignet. Ein solches System entspricht vorzugsweise dem Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben gemäss dem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung.

[0076] Bei einer anderen Variante ist die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 gemäss der vorliegenden Erfindung dafür ausgeführt, eine Kartusche 40 aufzunehmen. Diese Kartusche umfasst einen Behälter 2 und einen flachen Polymerfilm 14, wie sie hierin zuvor beschrieben wurden. Behälter 2 und Film 14 der Kartusche 40 sind durch Kleben oder Schweißen oder durch andere geeignete Mittel zur festen Verbindung des Behälters 2 und des Films 14 aneinander befestigt worden. Wenn eine solche Kartusche 40 an dieser Variante der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 angebracht wird, kann ein Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben gemäss dem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung gebildet werden.

[0077] Bei einer Variante umfasst die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 wenigstens zwei oder mehr Elektroden-Arrays 21. Vorzugsweise sind die Elektroden-Arrays 21 im Wesentlichen horizontal im Flüssigkeitströpfchen-Manipulationssystem 20 angeordnet. Bei dieser Variante ist die Vorrichtung 20 dafür ausgeführt, wenigstens zwei oder mehr Behälter 2 zusammen mit zwei oder mehr flachen Polymerfilmen 14 aufzunehmen oder wenigstens zwei oder mehr Kartu-

schen 40 aufzunehmen. Vorzugsweise können der Behälter 2 und der Film 14 oder die Kartusche 40 im Wesentlichen über dem Elektroden-Array angeordnet werden. Es ist jedoch auch möglich, diese Komponenten im Wesentlichen seitwärts oder seitlich zu positionieren, wenn die Elektroden-Arrays nicht im Wesentlichen horizontal, sondern im Wesentlichen vertikal ausgerichtet sind.

[0078] Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst das Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben gemäss dem ersten Aspekt der vorliegenden Erfindung eine Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 gemäss dem zweiten Aspekt der vorliegenden Erfindung und wie sie oben ausführlich erörtert wurde. Die Ausführungsform der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 sowie die Ausführungsform des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben können gewählt werden, indem die verschiedenen oben erörterten Merkmale je nach der angestrebten Fragestellung ausgewählt werden. Falls nicht anders angegeben, können die verschiedenen in dieser Anmeldung dargelegten Merkmale sämtlich miteinander kombiniert werden.

[0079] In Fig. 1 ist ein Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben mit einer Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 dargestellt. Die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 umfasst ein Aufnahmeelement 46 zur sicheren Aufnahme des Behälters 2 und des Films 14. Bei der dargestellten Ausführungsform werden die Positionierungselemente 25 der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 von dem Aufnahmeelement 46 umfasst.

[0080] Fig. 3A zeigt ein Elektroden-Array 21 gemäss einer solchen besonders bevorzugten Ausführungsform eines Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben. Diese Figur zeigt eine vergrösserte Draufsicht eines einzelnen Bereichs von Fig. 1, der mit einer gestrichelten Linie als Rechteck markiert ist. Die Position des wenigstens einen Schachts 6 zur Platzierung einer biologischen Probe 9 in Bezug auf den definierten Pfad auf dem Elektroden-Array 21 ist in Fig. 3A durch eine kreisrunde gestrichelte Linie angegeben. Die Öffnung 11 am Boden des wenigstens einen Schachts 6, der Durchgang des Kanals 12 bzw. die Ausflussöffnung 13 an der Unterseite 4 des Behälters 2 sind als Innenkreis aus einer gestrichelten Linie eingezeichnet. Eine Flüssigkeit 18 oder ein Flüssigkeitströpfchen 19 wird aus dem Schacht 6 durch den Kanal 12 auf die hydrophobe Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 befördert, und zwar über dem Elektroden-Array 21 der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20. In der Mitte des dargestellten Elektroden-Arrays 21 ist eine Flüssigkeitsmenge eingezeichnet. Diese Flüssigkeitsmenge bedeckt wenigstens eine angesteuerte Antriebselektrode 35' des Elektrodenpfads. Vorzugsweise bedeckt die Flüssigkeitsmenge wenigstens teilweise aufeinanderfolgende Elektroden 35' des Pfads. Gemäss Fig. 3A bedeckt die Flüssigkeitsmenge ausserdem Elektroden 35'', die angesteuert werden, um mit einem Erdspannungsimpuls beliefert zu werden. Durch Lieferung eines Antriebsspannungsimpulses an die Elektrode 35', die entlang dem Pfad auf die erste Antriebselektrode 35' folgt, wird ein Flüssigkeitströpfchen 19 von der Flüssigkeitsmenge abgetrennt. Das Flüssigkeitströpfchen 19 wird dann entlang dem Pfad in eine erste Richtung gelenkt und nach einem Richtungswechsel in eine zweite Richtung. An der Stelle des Richtungswechsels wird eine Stoppelektrode 35''' erzeugt, um den Richtungswechsel zu stabilisieren.

[0081] Nachdem z.B. ein Lyseschritt in einem Schacht 6 des Behälters durchgeführt und eine Flüssigkeitsmenge, die vorzugsweise wenigstens Teile der biologischen Probe 9 des Schachts umfasst, verlagert wurde, kann auf der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 eine weitere Aufarbeitung erfolgen. Zur Aufarbeitung eines Flüssigkeitströpfchens 19 mit einem DNA-Aufreinigungsschritt wird die Verwendung von Magnetperlen besonders bevorzugt. In diesem Fall umfasst die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben vorzugsweise wenigstens einen Magneten 41. Dieser Magnet 41 steuert die Magnetperlen während der Aufarbeitung in dem Spalt 17 auf der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14. Geeignete Magneten können Elektromagneten oder Permanentmagneten sein. Der Magnet 41 ist vorzugsweise auf jener Seite des Substrats 22 der Vorrichtung angeordnet, die nicht von einem Elektroden-Array 21 bedeckt wird. Der Magnet 41 ist alternativ vorzugsweise auf jener Seite des Substrats 22 der Vorrichtung 20 angeordnet, die nicht an dem flachen Polymerfilm 14 anliegt.

[0082] Zur Aufarbeitung eines Flüssigkeitströpfchens 19, das vorzugsweise eine biologische Probe 9 enthält, mit einem wärmeabhängigen Aufarbeitungsschritt wie einer PCR umfasst die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben vorzugsweise wenigstens ein Heizelement 42. Dieses Heizelement 42 ist vorzugsweise auf jener Seite des Substrats 22 der Vorrichtung 20 angeordnet, die der Seite des Substrats 22 gegenüberliegt, an welcher der flache Polymerfilm 14 anliegt. Das wenigstens eine Heizelement 42 ist dafür ausgeführt, auf der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 wenigstens eine Temperaturzone mit einer vorbestimmten Temperatur bereitzustellen. Wenn die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung 20 ein Heizelement 42 umfasst, kann eine PCR durchgeführt werden, indem das eine biologische Probe 9 enthaltende Flüssigkeitströpfchen 19 in der einzigen Temperaturzone gehalten wird, während die Temperatur in dieser einzigen Zone entsprechend verändert wird. Wenn zwei Heizelemente 42 verwendet werden, kann eine PCR erfolgen, indem das eine biologische Probe 9 enthaltende Flüssigkeitströpfchen 19 zwischen den zwei Zonen bewegt wird, während die Temperatur jeder Zone der für die Zyklisierungsschritte erforderlichen Temperatur entsprechend gewählt wird. Bei Aufarbeitung eines Flüssigkeitströpfchens 19 mit einer biologischen Probe 9 durch PCR umfasst das Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben bei einer besonders bevorzugten Variante wenigstens drei Heizelemente 42 zur Bereitstellung von wenigstens drei verschiedenen Temperaturzonen auf der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14. Fig. 1 zeigt ein Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben mit drei Heizelementen 42 unterhalb des Trägersubstrats 22 und der Seite gegenüberliegend, an welcher der flache Polymerfilm 14 anliegt. Jede Temperaturzone hat eine vordefinierte Temperatur, um die Durchführung einer PCR auf der hydrophoben Oberseite 16 des flachen Polymerfilms 14 zu ermöglichen. Meistbevorzugt umfasst eine Temperaturzone eine

Temperatur zur Denaturierung doppelsträngiger Nucleinsäure, umfasst eine Temperaturzone eine Temperatur, welche das Annealing vorgewählter Primer ermöglicht, und umfasst eine Temperaturzone eine Temperatur, welche einer Polymerase die Verlängerung der annealten Primer zum vollständigen Strang ermöglicht. Zusätzlich kann das Aufarbeitungssystem 1 für biologische Proben ein viertes Heizelement 42 umfassen, das eine Temperatur von etwa 4 °C liefert. Die Verwendung von wenigstens drei Heizelementen 42 unterhalb des Trägersubstrats 22 hat den Vorteil, dass die gewählten Temperaturen über die gesamte Reaktionszeit konstant gehalten werden können und die Tröpfchen von einem Temperaturbereich in einen anderen bewegt werden können. Diese Bewegung ermöglicht schnelle Temperaturwechsel in den Tröpfchen 19, die viel schneller sind als jene, die durch eine Temperaturänderung des Heizelements 42 erreichbar sind, während das Tröpfchen 19 an Ort und Stelle gehalten wird.

[0083] Bei einer weiteren Variante des Aufarbeitungssystems 1 für biologische Proben verbindet eine Schicht aus einer Flüssigkeit mit niedrigem Dampfdruck die Unterseite 15 des flachen Polymerfilms 14 mit der Oberseite des wenigstens einen Elektroden-Arrays 21, um dazwischen die Bildung von Luftblasen zu reduzieren. Vorzugsweise ist die Flüssigkeit mit niedrigem Dampfdruck Siliconöl; es können jedoch auch andere Flüssigkeiten mit niedrigem Dampfdruck verwendet werden.

[0084] Gleiche Bezugszeichen verweisen auf gleiche Teile, sofern sie nicht ausdrücklich im Einzelnen erörtert werden.

Liste der Bezugszeichen:

[0085]

- 1 Aufarbeitungssystem für biologische Proben
- 2 Behälter
- 3 Oberseite des Behälters
- 4 Unterseite des Behälters
- 5 Vorsprünge des Behälters
- 6, 6' Schacht des Behälters
- 7 Oberseite des Schachts
- 8 Öffnung an der Bodenseite des Schachts
- 9 biologische Probe
- 10 Reaktionsreagenz
- 11 Öffnung des Schachts
- 12 Kanal des Behälters
- 13 Ausflussöffnung des Behälters
- 14 flacher Polymerfilm
- 15 Unterseite des Films
- 16 hydrophobe Oberseite des Films
- 17 Spalt
- 18 Flüssigkeit
- 19 Flüssigkeitströpfchen
- 20 Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung
- 21 Elektroden-Array
- 22 Substrat der Vorrichtung
- 23 Steuereinheit
- 24 festes Substrat, das die biologische Probe enthält
- 25 Positionierungselement

26	elektrisch isolierendes Material
27	elektrisch leitendes Material
28	äussere Seitenfläche des Behälters
29	Spannungsregelung
30	Mittel zur Identifikation
31	Rückhaltemittel
32	Systemflüssigkeit
33	Analysenbereich
34	Elektrodenwähler
35	Elektroden
35'	Antriebselektrode
35''	Masseelektrode
35'''	Stoppelektrode
36	Hauptprozessor
37	Software
38	optische Mittel
39	Gitterpunkt
40	Kartusche
41	Magnet
42	Heizelement
43	Deckel
44	Stromversorgung
45	Stützrand
46	Aufnahmeelement
47	Düse
d	Abstand zwischen der Oberseite des Films und der Unterseite des Behälters

Patentansprüche

1. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben, umfassend:
einen Behälter (2) zur Aufarbeitung grosser Volumina, der eine Oberseite (3) und eine Unterseite (4) aufweist und wenigstens einen Schacht (6) umfasst, der an der Oberseite (3) offen ist, um darin eine biologische Probe (9) und/oder ein Reaktionsreagenz (10) zu platzieren, wobei der wenigstens eine Schacht (6) eine Bodenseite (8) mit wenigstens einer Öffnung (11) umfasst, wobei der Behälter (2) ausserdem einen Kanal (12) umfasst, der die Schachtöffnung (11) mit einer Ausflussöffnung (13) an der Unterseite (4) des Behälters (2) verbindet, und wobei die Unterseite (4) des Behälters (2) darauf verteilte Vorsprünge (5) umfasst;
einen flachen Polymerfilm (14) mit einer Unterseite (15) und einer hydrophoben Oberseite (16), die durch die Vorsprünge (5) in einem Abstand d zur Unterseite (4) des Behälters (2) gehalten wird, wobei der Abstand d wenigstens einen Spalt (17) definiert, wenn der Behälter (2) auf dem Film (14) angeordnet ist, wobei er mit seinen Vorsprüngen (5) an letzterem anliegt; und
eine Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20), umfassend: wenigstens ein Elektroden-Array (21) zur Auslösung von Bewegungen von Flüssigkeitströpfchen;
ein Substrat (22), welches das wenigstens eine Elektroden-Array (21) trägt; und

eine Steuereinheit (23), die wenigstens einen Elektrodenwähler (34) umfasst, der mit wenigstens einer Spannungsregelung (29) verbunden ist, wobei der wenigstens eine Elektrodenwähler (34) dafür ausgeführt ist, jede Elektrode (35) des wenigstens einen Elektroden-Arrays (21) individuell anzusteuern und die angesteuerte Elektrode (35) mit einer von einer Spannungsregelung (29) geregelten Spannung zu beliefern; wobei der Behälter (2) und der Film (14) reversibel an der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) angebracht sind und die Unterseite (15) des flachen Polymerfilms (14) somit an dem wenigstens einen Elektroden-Array (21) anliegt, wobei das System (1) die Verschiebung von wenigstens einem Flüssigkeitströpfchen (19) aus dem wenigstens einen Schacht (6) durch den Kanal (12) des Behälters (2) auf die hydrophobe Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) und über dem wenigstens einen Elektroden-Array (21) ermöglicht; und wobei die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) dafür ausgeführt ist, eine gelenkte Bewegung dieses Flüssigkeitströpfchens (19) auf der hydrophoben Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) durch Elektrobenetzung zu steuern und die biologische Probe (9) dort aufzuarbeiten.

2. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei der Behälter (2) und die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) jeweils wenigstens ein Positionierungselement (25) für eine formschlüssige Anbringung des Behälters (2) an der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) umfassen.
3. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei der wenigstens eine Schacht (6) zur Platzierung einer biologischen Probe (9) dafür ausgelegt ist, ein festes Substrat (24) aufzunehmen, das die biologische Probe (9) trägt.
4. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 3, wobei das feste Substrat (24) ein Tupferkopf ist.
5. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei die biologische Probe (9) in einer Flüssigkeit (18) enthalten ist.
6. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei die biologische Probe (9) eine Nucleinsäure ist.
7. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei wenigstens ein Schacht (6') als Speicher für ein Reaktionsreagenz (10) ausgebildet ist, wobei das gespeicherte Reaktionsreagenz (10) Reagenzien umfasst, die aus einer Gruppe ausgewählt sind, welche Reagenzien zur Durchführung von Zellyse, Reagenzien zur Durchführung einer Nucleinsäureaufreinigung, Reagenzien zur Durchführung einer Nucleinsäureamplifikation und Reagenzien zur Durchführung einer Sequenzierung von Nucleinsäuren umfasst.
8. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei der Spalt (17) zwischen der hydrophoben Oberseite (16) des Films (14) und der Unterseite (4) des Behälters (2) kleiner als 2 mm oder kleiner als 1 mm ist.
9. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei der Behälter (2) durch Spritzguss eines elektrisch isolierenden oder elektrisch leitenden Materials (26, 27) hergestellt ist.
10. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei der Behälter (2) Mittel zur Identifikation (30) umfasst.
11. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei der wenigstens eine Schacht (6) des Behälters (2) Rückhaltemittel (31) umfasst, um zu verhindern, dass das feste Substrat (24) die Öffnung (11) des Schachts (6) blockiert, wobei die Rückhaltemittel (31) aus einer Gruppe ausgewählt sind, die einen Filter, eine Fritte und Reliefstrukturen auf der Bodenseite (8) des Schachts (6) umfasst.
12. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, wobei das wenigstens eine Flüssigkeitströpfchen (19) in dem Spalt (17) in einer nicht mischbaren Systemflüssigkeit bewegt wird.
13. Kartusche (40) zur Verwendung in einem Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, umfassend einen Behälter (2) und einen flachen Polymerfilm (14) wobei der Behälter (2) und der Film (14) durch Kleben oder Schweißen aneinander befestigt worden sind.
14. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20), umfassend: wenigstens ein Array von Elektroden (21) zur Auslösung einer Bewegung eines Flüssigkeitströpfchens (19) durch Elektrobenetzung; ein Substrat (22), welches das wenigstens eine Elektroden-Array (21) trägt; und eine Steuereinheit (23), die wenigstens einen Elektrodenwähler (34) umfasst, der mit wenigstens einer Spannungsregelung (29) verbunden ist, wobei der wenigstens eine Elektrodenwähler (34) dafür ausgeführt ist, jede Elektrode (35) des wenigstens einen Elektroden-Arrays (21) individuell anzusteuern und die angesteuerte Elektrode (35) mit einer von der Spannungsregelung (29) geregelten Spannung zu beliefern; wobei die Steuereinheit (23) ausserdem einen Hauptprozessor (36) zur Steuerung des Elektrodenwählers (34) und der Spannungsregelung (29) umfasst, um wenigstens eine Elektrode (35) individuell anzusteuern und die wenigstens eine angesteuerte Elektrode (35) mit einem individuellen Spannungsimpuls zu beliefern, der aus einer Gruppe ausgewählt ist, die eine Erdspannung und eine Antriebsspannung umfasst, wodurch die angesteuerte Elektrode als eine Antriebselektrode (35') oder eine Masselektrode (35'') definiert wird; wobei die Steuereinheit (23) instande ist, durch die Ansteuerung aufeinanderfolgender Antriebselektroden (35') einen Pfad für eine gelenkte Bewegung des Flüssigkeitströpfchens (19) zu definieren und jede dieser angesteuerten Antriebselektroden (35') entlang dem Pfad mit einem Antriebsspannungsimpuls zu beliefern; und

die Steuereinheit (23) dafür ausgeführt ist, im Wesentlichen gleichzeitig wenigstens eine Elektrode (35), die an die gepulste Antriebselektrode (35') angrenzt und sich von der angesteuerten Antriebselektrode (35') des Pfads unterscheidet, mit einem Erdspannungsimpuls zu beliefern.

15. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 14, wobei die Steuereinheit (23) dafür ausgeführt ist, im Wesentlichen gleichzeitig wenigstens zwei oder mehr Elektroden (35''), die an die gepulste Antriebselektrode (35') angrenzen und sich von der angesteuerten Antriebselektrode (35') des Pfads unterscheiden, mit einem Erdspannungsimpuls zu beliefern.
16. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 15, wobei die zwei oder mehr Elektroden (35'') auf derselben Seite des Pfads liegen.
17. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 14, wobei die Steuereinheit (23) dafür ausgeführt ist, wenigstens eine angesteuerte Elektrode (35) mit einem Stoppspannungsimpuls zu beliefern, um eine Stoppelektrode (35''') zu erzeugen.
18. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 14, wobei aufeinanderfolgende Elektroden (35) durch den kürzesten Abstand zwischen zwei Gitterpunkten (39) eines virtuellen Gitters definiert werden, das von dem wenigstens einen Elektroden-Array (21) definiert wird, wobei jeder Gitterpunkt (39) durch den Mittelpunkt jeder Elektrode (35) gebildet wird.
19. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 14, wobei die Elektroden (35) des wenigstens einen Elektroden-Arrays (21) in Bezug auf das Substrat (22) derart angeordnet sind, dass die Oberseite der Elektrode (35) im Wesentlichen bündig mit der Oberseite des Substrats (22) ausgerichtet ist, und/oder die Elektroden (35) des Elektroden-Arrays innerhalb des Substrats (22) angeordnet sind und von diesem umschlossen werden.
20. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 14, die dafür ausgeführt ist, einen Behälter (2) zur Aufarbeitung grosser Volumina und einen flachen Polymerfilm (14) mit einer hydrophoben Oberseite (16) aufzunehmen.
21. Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 14, die dafür ausgeführt ist, eine Kartusche (40) nach Anspruch 13 aufzunehmen, welche einen Behälter (2) und einen Film (14) umfasst.
22. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 1, das eine Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) nach Anspruch 14 umfasst.
23. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 22, wobei die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) wenigstens einen Magneten (41) umfasst, um während der Flüssigkeitsmanipulation und/oder Aufarbeitung einer biologischen Probe in dem Spalt (17) auf der hydrophoben Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) magnetische Perlen zu lenken.
24. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 22, wobei die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) wenigstens ein Heizelement (42) umfasst, um auf der hydrophoben Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) wenigstens eine Temperaturzone mit einer vorbestimmten Temperatur bereitzustellen.
25. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 22, wobei die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) wenigstens drei Heizelemente (42) umfasst, um auf der hydrophoben Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) wenigstens drei verschiedene Temperaturzonen bereitzustellen, wobei jede Temperaturzone eine vorbestimmte Temperatur aufweist, wodurch die Durchführung einer Polymerasekettenreaktion auf dieser Oberfläche (16) des flachen Polymerfilms (14) ermöglicht wird.
26. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 22, wobei der Behälter (2) zur Aufarbeitung grosser Volumina einen ausgeschnittenen Bereich umfasst, der einen Analysenbereich (33) definiert, welcher durch optische Mittel (38) zugänglich ist.
27. Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben nach Anspruch 22, wobei eine Schicht aus einer Flüssigkeit mit niedrigem Dampfdruck die Unterseite (15) des flachen Polymerfilms (14) mit der Oberseite des wenigstens einen Elektroden-Arrays (21) verbindet, um dazwischen die Bildung von Luftblasen zu reduzieren.
28. Verfahren zur Aufarbeitung einer biologischen Probe (9) mit einem Aufarbeitungssystem (1) für biologische Proben, wobei das System umfasst:
einen Behälter (2) zur Aufarbeitung grosser Volumina, der eine Oberseite (3) und eine Unterseite (4) aufweist und wenigstens einen Schacht (6) umfasst, der an der Oberseite (3) offen ist, um darin eine biologische Probe (9) und/oder ein Reaktionsreagenz (10) zu platzieren, wobei der wenigstens eine Schacht (6) eine Bodenseite (8) mit wenigstens einer Öffnung (11) umfasst, wobei der Behälter (2) ausserdem einen Kanal (12) umfasst, der die Schachttöffnung (11) mit einer Ausflussöffnung (13) an der Unterseite (4) des Behälters (2) verbindet, und wobei die Unterseite (4) des Behälters (2) darauf verteilte Vorsprünge (5) umfasst; einen flachen Polymerfilm (14) mit einer Unterseite (15) und einer hydrophoben Oberseite (16), die durch die Vorsprünge (5) in einem Abstand d zur Unterseite (4) des Behälters (2) gehalten wird, wobei der Abstand d wenigstens einen Spalt (17) definiert, wenn der Behälter (2) auf dem Film (14) angeordnet ist, wobei er mit seinen Vorsprünge (5) an letzterem anliegt; und

eine Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20), umfassend: wenigstens ein Elektroden-Array (21) zur Auslösung von Bewegungen von Flüssigkeitströpfchen;
ein Substrat (22), welches das wenigstens eine Elektroden-Array (21) trägt; und
eine Steuereinheit (23), die wenigstens einen Elektrodenwähler (34) umfasst, der mit wenigstens einer Spannungsregelung (29) verbunden ist, wobei der wenigstens eine Elektrodenwähler (34) dafür ausgeführt ist, jede Elektrode (35) des wenigstens einen Elektroden-Arrays (21) individuell anzusteuern und die angesteuerte Elektrode (35) mit einer von einer Spannungsregelung (29) geregelten Spannung zu beliefern; wobei der Behälter (2) und der Film (14) reversibel so an der Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) angebracht sind, dass die Unterseite (15) des flachen Polymerfilms (14) an dem wenigstens einen Elektroden-Array anliegt, und wenigstens ein Flüssigkeitströpfchen (19) aus dem wenigstens einen Schacht (6) durch den Kanal (12) des Behälters (2) auf die hydrophobe Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) und über dem wenigstens einen Elektroden-Array (21) verschoben wird, und wobei das Flüssigkeitströpfchen (19) durch eine gelenkte Bewegung auf der hydrophoben Oberseite (16) des flachen Polymerfilms (14) durch Elektrobenetzung, die durch die Flüssigkeitströpfchen-Manipulationsvorrichtung (20) gesteuert wird, aufgearbeitet wird.

Fig. 1

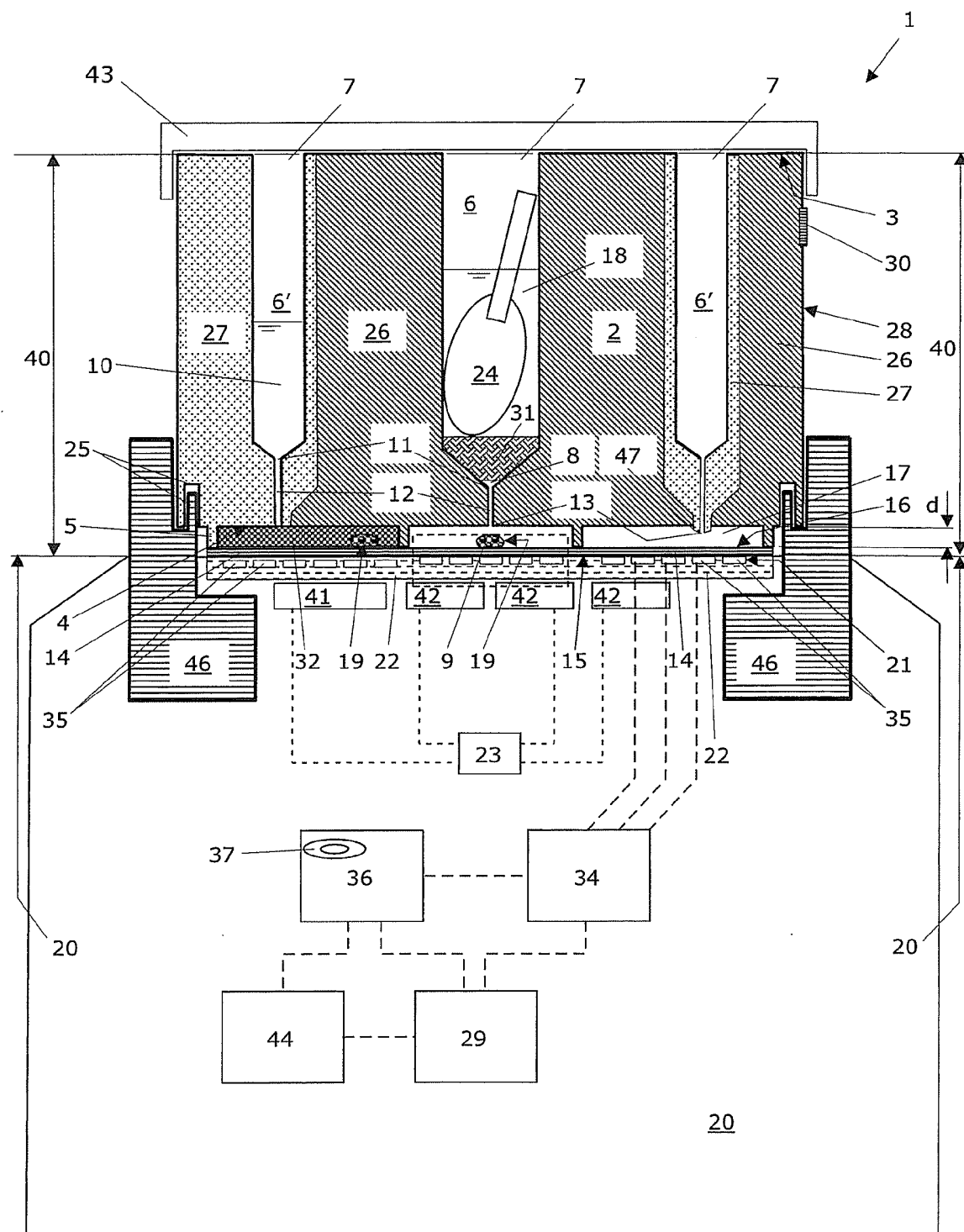


Fig. 2A

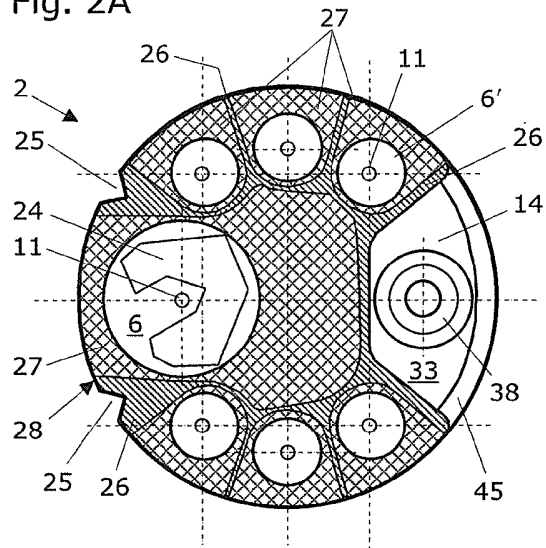


Fig. 2B

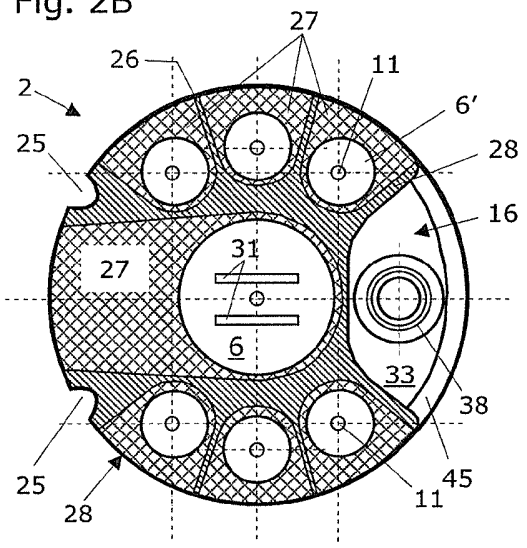


Fig. 3A

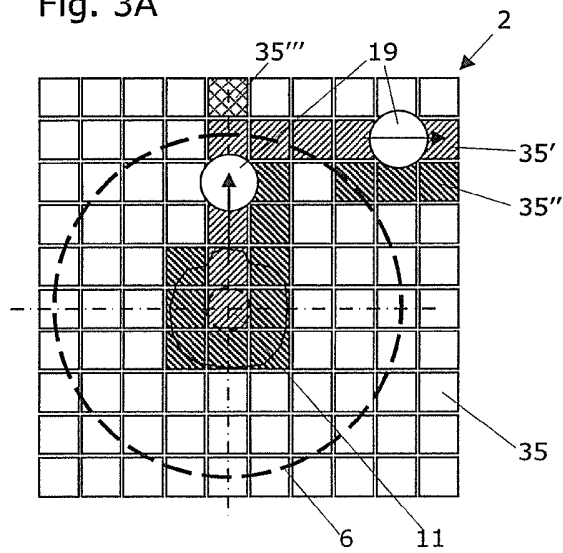


Fig. 3B

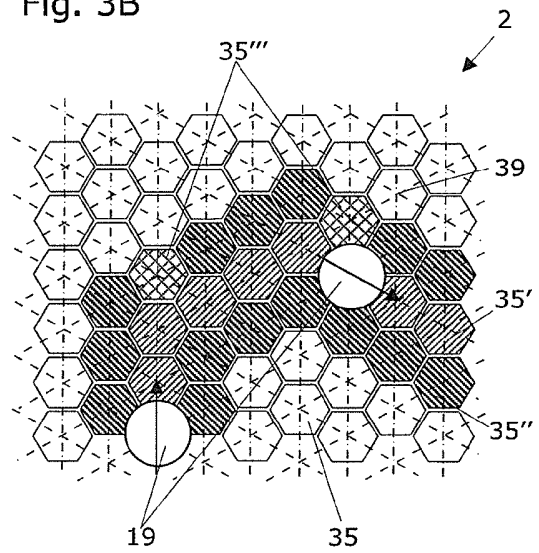


Fig. 3C

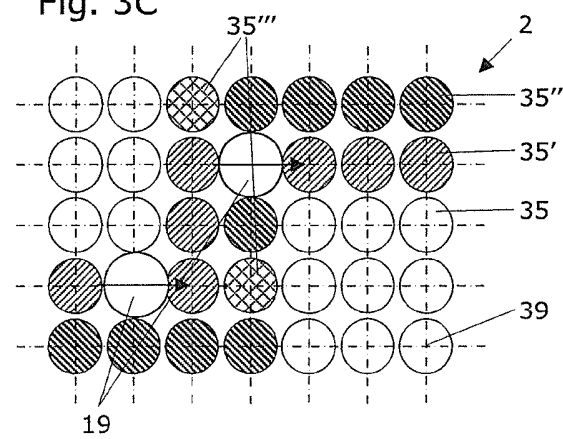
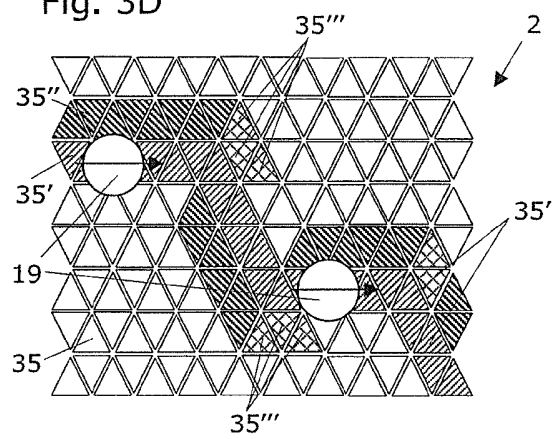


Fig. 3D



**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

KENNZEICHNUNG DER NATIONALEN ANMELDUNG		AKTENZEICHEN DES ANMELDERS ODER ANWALTS	
		TC-0401P-CH	
Nationales Aktenzeichen		Anmeldedatum	
1979/2008		17-12-2008	
Anmeldeland		Beanspruchtes Prioritätsdatum	
CH			
Anmelder (Name)			
Tecan Trading AG			
Datum des Antrags auf eine Recherche internationaler Art		Nummer, die die internationale Recherchenbehörde dem Antrag auf eine Recherche internationaler Art zugeteilt hat	
06-05-2009		SN 52131	
I. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (treffen mehrere Klassifikationssymbole zu, so sind alle anzugeben)			
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder sowohl nach der nationalen Klassifikation als auch nach der IPC			
C12Q1/68			
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE			
Recherchierter Mindestprüfstoff			
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole		
IPC	B01J	B01L	G01N
	C12Q		
Recherchierte, nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen			
III. ☐ EINIGE ANSPRÜCHE HABEN SICH ALS NICHT RECHERCHIERBAR ERWIESEN (Bemerkungen auf Ergänzungsbogen)			
IV. ☐ MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG (Bemerkungen auf Ergänzungsbogen)			

Formblatt PCT/ISA 201 a (11/2000)

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Nr. der Anfrage auf Recherche

CH 19792008

A. KLASSTIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. C12Q1/68

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

B01J B01L G01N C12Q

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

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank, ggf. evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE VERÖFFENTLICHUNGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Seit. Anspruch Nr.
X	WO 2007/061943 A (APPLERA CORP [US]; VANN CHARLES S [US]; GREENSTEIN MICHAEL [US]; CHANG) 31. Mai 2007 (2007-05-31) in der Anmeldung erwähnt	13
A	das ganze Dokument	1, 13, 14, 28
A	US 5 486 337 A (OHKAWA TIIHIRO [US]) 23. Januar 1996 (1996-01-23) in der Anmeldung erwähnt Spalte 1, Zeile 63 - Spalte 2, Zeile 61 Ansprüche; Abbildung	1, 13, 14, 28
A	US 6 565 727 B1 (SHENDEROV ALEXANDER DAVID [US]) 20. Mai 2003 (2003-05-20) in der Anmeldung erwähnt Spalte 2 - Spalte 3 Ansprüche	1, 13, 14, 28
-/-		

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentansätze

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik deckt, aber nicht als besonders bedeutsam angesehen ist

"P" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"I" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum eines anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll, oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"C" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis der der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipie oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann alles aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger 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

"S" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des tatsächlichen Abschusses der Recherche internationaler Art

29. Juli 2009

Absenddatum des Berichts über die Recherche internationaler Art

- 2. 08. 2009

Name und Postanschrift der internationalen Rechercheabteilung

Europäisches Patentamt, P.O. Box 55115 Patentamt 2
NL - 2280 LV Hilversum
Tel. (+31-70) 940-2040;
Fax: (+31-70) 940-2016

Bevollmächtigter Beauftragter

Böhm, Ingo

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Nr. des Antrags auf Recherche

CH 19792008

C. (Fortsetzung): ALS WESENTLICH ANGESEHENE VERÖFFENTLICHUNGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bez. Anspruch Nr.
A	US 2007/217956 A1 (PAMULA VANSEE K [US] ET AL) 20. September 2007 (2007-09-20) Absatz [0017] - Absatz [0034]; Ansprüche	1, 13, 14, 28
A	EP 1 666 149 A (NGK INSULATORS LTD [JP]) 7. Juni 2006 (2006-06-07) Absatz [0010] - Absatz [0022] Ansprüche; Abbildungen	1, 13, 14, 28
A	EP 1 143 252 A (NGK INSULATORS LTD [JP]) 10. Oktober 2001 (2001-10-10) Absatz [0013] - Absatz [0032] Ansprüche; Abbildungen	1, 13, 14, 28
A	WO 2007/136386 A (UNIV CALIFORNIA [US]; WHEELER AARON R [CA]; GARRELL ROBIN L [US]; KIM) 29. November 2007 (2007-11-29) Seite 3 - Seite 5 Ansprüche; Abbildungen	1, 13, 14, 28
A	EP 1 094 120 A (NGK INSULATORS LTD [JP]) 25. April 2001 (2001-04-25) Absatz [0010] - Absatz [0026] Ansprüche; Abbildungen	1, 13, 14, 28

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Nr. des Auftrags auf Recherche

CH 19792008

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2007061943	A	31-05-2007	CN 101365781 A 11-02-2009
		EP 1951860 A2	06-08-2008
US 5486337	A	23-01-1996	KEINE
US 6565727	B1	20-05-2003	US 2004031688 A1 19-02-2004
US 2007217956	A1	20-09-2007	KEINE
EP 1666149	A	07-06-2006	KEINE
EP 1143252	A	10-10-2001	AT 382426 T 15-01-2008
		DE 60037628 T2	24-12-2008
		EP 1093855 A2	25-04-2001
		EP 2027914 A2	25-02-2009
		WO 0129561 A1	26-04-2001
		JP 3599329 B2	08-12-2004
		JP 2008151798 A	03-07-2008
		US 6656432 B1	02-12-2003
		US 6753144 B1	22-06-2004
WO 2007136386	A	29-11-2007	KEINE
EP 1094120	A	25-04-2001	JP 2001186881 A 10-07-2001
		US 6365378 B1	02-04-2002