



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11)

EP 1 616 619 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
18.01.2006 Patentblatt 2006/03

(51) Int Cl.:
B01F 13/00 (2006.01) **B01L 7/00** (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01) **C12Q 1/68** (2006.01)
B01D 19/00 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **05106505.0**

(22) Anmeldetag: **15.07.2005**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HU IE IS IT LI LT LU LV MC NL PL PT RO SE SI
SK TR**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL BA HR MK YU

(30) Priorität: **17.07.2004 DE 202004011272 U**
02.08.2004 US 909521

(71) Anmelder: **Tecan Trading AG**
8708 Männedorf (CH)

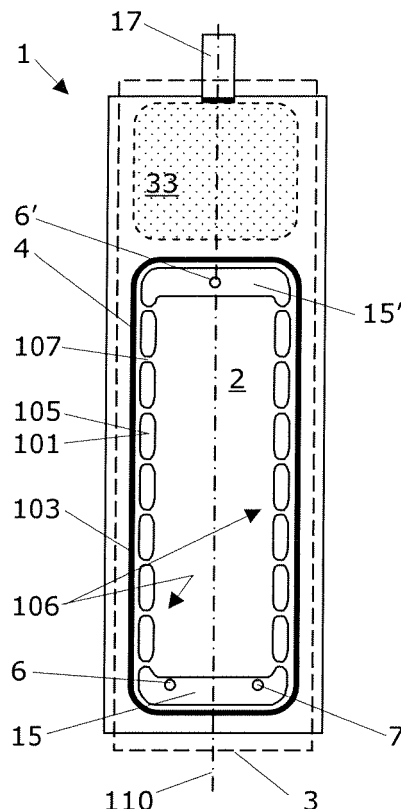
(72) Erfinder:
• **Streit, Wolfgang**
5400, Hallein (AT)
• **Wenzel, Gyoergy**
5201, Seekirchen (AT)
• **Lamprecht, Waltraud**
5020, Salzburg (AT)
• **Eglauer, Heribert**
83471, Berchtesgaden (DE)

(74) Vertreter: **OK pat AG**
Chamerstrasse 50
6300 Zug (CH)

(54) **Vorrichtung und Verfahren zum Bereitstellen einer Hybridisierkammer und zum Beeinflussen von Luftblasen in derselben**

(57) Betrifft Vorrichtungen (1), entsprechende Verfahrenseinheiten (18) bzw. Systeme (38) zum Bereitstellen eines spaltförmigen Hybridiserraums (2) für die Hybridisierung von Nukleinsäureproben, Proteinen oder Gewebeschnitten über einem Objektträger (3). Solche Vorrichtungen (1) sind gegenüber diesem Objektträger (3) bewegbar ausgebildet und umfassen eine ringförmige Dichtfläche (4) zum Abschiessen des Hybridiserraums (2) durch Beaufschlagen einer Oberfläche (5) dieses Objektträgers (3). Solche Vorrichtungen (1) umfassen zudem Leitungen (6,6') zum Zu- bzw. Ableiten von Medien in den Hybridiserraum (2) hinein bzw. aus dem Hybridiserraum (2) heraus. Ferner umfassen diese Vorrichtungen (1) eine Musterzuführung (7) und vorzugsweise auch eine Agitationseinrichtung (8) zum Bewegen von Flüssigkeiten gegenüber auf der Oberfläche (5) des Objektträgers (3) immobilisierten Proben. Die erfindungsgemässen Vorrichtungen sind dadurch gekennzeichnet, dass sie einen Hybridiserraum (2) begrenzen, der an zumindest einer gegen das Innere dieses Hybridiserraums (2) gerichteten Oberfläche (5,14) der Vorrichtung (1) und/oder des Objektträgers (3) Reliefstrukturen (101) zum Leiten und/oder Blockieren von Luftblasen (102) aufweist. Entsprechend dem erfindungsgemässen Verfahren werden im Hybridiserraum (2) anwesende Luftblasen (102) durch diese Reliefstrukturen (101) geführt und/oder gefangen.

Fig. 2A



EP 1 616 619 A1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung gemäss dem Oberbegriff des unabhängigen Anspruchs 1 sowie eine entsprechende Verfahrenseinheit gemäss Anspruch 15 und ein automatisches System gemäss dem Oberbegriff des Anspruchs 17 für die Hybridisierung von Nukleinsäureproben, Proteinen und Gewebeschnitten. Gemäss Anspruch 19 betrifft die vorliegende Erfindung zudem ein entsprechendes Verfahren.

[0002] Die Verwendung von DNA-Proben (DNA = Desoxyribosenukleinsäure) und insbesondere von Mikroarrays solcher Proben stellt der Forschung eine wichtige Technik zur gleichzeitigen bzw. simultanen Analyse von Tausenden von Genen zur Verfügung. Diese Technik umfasst die Immobilisierung von DNA-Proben aus vielen Genen auf einer festen Substrat-Oberfläche, wie z.B. auf einem gläsernen Objektträger für ein Lichtmikroskop. Die DNA-Proben werden bevorzugt in einem Array von Probenflecken oder "spots", d.h. in einem zweidimensionalen Gitter auf dem Substrat angeordnet und man kann später - ausgehend von einer bestimmten Position innerhalb eines solchen Arrays auf den Ursprung der entsprechenden DNA-Probe zurückschliessen. Die Technik umfasst typischerweise die Kontaktierung des DNA-Proben-Arrays mit RNA-Muster-Suspensionen bzw. -Lösungen (RNA = Ribosenukleinsäure) um damit spezifische Nukleotidsequenzen in den DNA-Proben nachzuweisen. Diese RNA-Muster werden oft mit einem sogenannten "tag" oder "label", d.h. einem Molekül versehen, welches z.B. ein Fluoreszenzlicht mit einer spezifischen Wellenlänge aussendet. Immobilisierte Proben können auch aminosäurehaltige (z.B. Proteine, Peptide) oder nukleinsäurehaltige (z.B. cDNA, RNA) Proben umfassen. Zu den immobilisierten Proben zugegebene Muster können beliebige Moleküle bzw. chemische Verbindungen umfassen, welche mit den immobilisierten Proben hybridisieren oder sich sonstwie mit diesen verbinden.

[0003] Unter guten experimentellen Bedingungen hybridisieren bzw. binden RNA-Muster an immobilisierten DNA-Proben und bilden mit diesen zusammen hybride DNA-RNA-Stränge. Für jede der immobilisierten DNA-Proben und für spezielle RNA-Muster kann man Unterschiede in der Hybridisierung unter den DNA-Proben durch die Messung der Intensität und der Wellenlängenabhängigkeit der Fluoreszenz jedes einzelnen Mikroarray-Elements feststellen und so herausfinden, ob der Grad der Genexpression in den untersuchten DNA-Proben variiert. Mit der Verwendung von DNA-Mikroarrays können somit über die Expression von grossen Mengen von Genen und über deren Expressionsmuster umfassende Aussagen gemacht werden, obwohl nur geringe Mengen an biologischem Material eingesetzt werden müssen.

[0004] DNA-Mikroarrays haben sich als erfolgreiche Werkzeuge etabliert und die Geräte zur Durchführung der DNA-Hybridisierung wurden laufend verbessert (vgl. z.B. US 6,238,910 oder US 2003/0013184 A1 bzw. EP 1

260 265 A1 des aktuellen Anmelders). Diese Dokumente offenbaren eine Vorrichtung zum Bereitstellen eines Hybridisiererraums für die Hybridisierung von Nukleinsäureproben auf einem Objektträger, welche gegenüber diesem Objektträger bewegbar ausgebildet ist und eine ringförmige Dichtung zum Abschiessen des Hybridisiererraums durch Beaufschlagen einer Oberfläche dieses Objektträgers umfasst. Zudem umfasst die offenbarte Vorrichtung Leitungen zum Zu- bzw. Ableiten von Medien in den Hybridisiererraum hinein bzw. aus dem Hybridisiererraum heraus sowie eine Probenzuführung. Eine verbesserte Temperaturkontrolle und eine Bewegung der Flüssigkeit mit den RNA-Mustern gegenüber den auf dem Objektträger immobilisierten DNA-Proben sind ebenfalls offenbart. Allerdings dauert es insbesondere bei einer Vorrichtung entsprechend US 6,238,910 zu lange, bis eine einigermaßen gute Verteilung der Musterflüssigkeit gegenüber den an der Oberfläche der Objektträger immobilisierten Proben erreicht wird, zudem wird der Verbrauch an Musterflüssigkeit als zu hoch betrachtet.

[0005] Es kommt einerseits immer wieder vor, dass Luftblasen beim Einfüllen von Flüssigkeiten oder auch später in der Hybridisierkammer entstehen. Andererseits wurde versucht (vgl. z.B. US 6,186,659), Luftblasen gezielt als Agitationsmittel einzusetzen, um in der Hybridisierkammer eine gründlichere Durchmischung der Reagenzien zu erzielen. Im allgemeinen sind aber im Hybridisiermedium anwesende Luftblasen nicht erwünscht, weil diese den meist sehr dünnen Flüssigkeitsfilm über den immobilisierten Proben stören. Dies kann zu einer Inhomogenität der Verteilung von Reagenzien im Hybridisiermedium und damit zu einer Verfälschung der Hybridisier-Resultate führen; schlimmstenfalls verdrängen grössere Luftblasen sogar das Hybridisiermedium von Teilen der auf dem Objektträger immobilisierten Proben.

[0006] Aus dem Stand der Technik sind zudem zahlreiche Methoden bekannt, um das spontane Auftreten von Luftblasen oder das Verbleiben derselben in der Kammer zu behindern. So wurde z.B. ein nichtparalleles Anordnen der die Hybridisierkammer definierenden Objektträger und Deckel vorgeschlagen (vgl. US 5,922,591), oder die Hybridisiermedien werden während dem ganzen Hybridisierungsprozess aus der Kammer hinaus und wieder hinein befördert. Andere mischen die Oberflächenspannung reduzierende Agenzien in das Hybridisiermedium oder behandeln die Oberflächen der Kammer mit wasserabstossenden chemischen Verbindungen.

[0007] Aus US 6,458,526 ist eine Anordnung bekannt, mir welcher in den Hybridisiererraum hineinragende "Blasenhälften" aus einem mit Lösungsmittel gesättigten Gas erzeugt werden. Es handelt sich bei diesen "Blasenhälften" eigentlich um kalottenförmige Grenzflächen von Gasräumen mit einem definierten Krümmungsradius. Diese "Blasenhälften" befinden sich an definierten Stellen der Kammer, wo sie die Hybridisierung der Proben nicht stören können. In einem vom Hybridisiererraum abgetrennten Kompartiment befindet sich ein Lösungsmit-

tel, welches im Hybridisiermedium enthalten ist. Über diesem Lösungsmittel wird eine gesättigte Atmosphäre aufrecht erhalten, welche konstant mit den Gasräumen hinter den "Blasenhälften" verbunden ist. Damit wird konstant eine mit dem Lösungsmittel gesättigte Atmosphäre an die kalottenförmigen Grenzflächen gebracht und dadurch der Partialdruck des im Hybridisiermedium anwesenden Lösungsmittel so beeinflusst, dass allenfalls vorhandene Luftblasen schrumpfen und eliminiert werden. Dieses Verfahren hat den Nachteil, dass diese kalottenförmigen Grenzflächen mittels speziellen Vorrichtungen geschaffen und aufrechterhalten werden müssen.

[0008] Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung betrifft gemäss einem ersten Aspekt das Bereitstellen einer alternativen Vorrichtung und gemäss einem zweiten Aspekt das Bereitstellen eines Verfahrens mit welcher bzw. mit welchem Luftblasen in einer Hybridisierkammer auf einfache Art und Weise beeinflusst werden können.

[0009] Diese Aufgabe gemäss dem ersten Aspekt wird mit der Merkmalskombination des unabhängigen Anspruchs 1 gelöst und ist dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung einen spaltförmigen Hybridisiererraum begrenzt, der an einer gegen das Innere dieses Hybridisiererraums gerichteten Oberfläche der Vorrichtung und/oder des Objektträgers Reliefstrukturen zum Leiten und/oder Blockieren von Luftblasen aufweist. Diese Aufgabe gemäss dem zweiten Aspekt wird dadurch gelöst, dass Luftblasen entsprechend den Merkmalen des unabhängigen Anspruchs 19 innerhalb der Hybridisierkammer bewegt und/oder gefangen werden.

[0010] Vorteilhafte Weiterbildungen und zusätzliche Merkmale der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

[0011] Der vorliegenden Erfindung liegt die Überlegung zu Grunde, dass einerseits Gasmoleküle der Umgebungsluft in die Hybridisierkammer diffundieren können und so Luftblasen gebildet werden. Andererseits können sich, z.B. in Folge einer Veränderungen der Löslichkeit von Gasen, spontan Gasblasen im Hybridisiermedium bilden. Im Zusammenhang mit dieser Erfindung werden deshalb alle Gasblasen im Hybridisiermedium - ungeachtet des Entstehungsprozesses in der Hybridisierkammer - als "Luftblasen" bezeichnet.

[0012] Die Erfindung soll nun an Hand von schematischen und beispielhaften Zeichnungen, welche den Umfang der Erfindung nicht beschränken sollen, näher erläutert werden. Dabei zeigt:

Fig. 1A einen senkrechten Längsschnitt durch eine Anordnung zum Bereitstellen einer Hybridisierkammer mit aufgeklappter Vorrichtung;

Fig. 1B einen senkrechten Längsschnitt durch die Anordnung von Fig. 1A mit heruntergeklappter Vorrichtung bzw. geschlossener Hybridisierkammer;

Fig. 2A eine schematische Ansicht einer Hybridisier-

5

Fig. 2B

10

Fig. 2C

15

20

Fig. 3A

25

Fig. 3B

30

Fig. 3C

35

40

Fig. 4A

45

Fig. 4B

50

Fig. 4C

55

kammer zwischen einer Vorrichtung und einem Objektträger, auf den diese Vorrichtung aufgesetzt ist, wobei die Vorrichtung eine Anordnung von Reliefstrukturen zum Blockieren von Luftblasen gemäss einer ersten Variante aufweist;

eine schematische Ansicht einer Hybridisierkammer gemäss Fig. 2A, wobei die Vorrichtung eine Anordnung von Reliefstrukturen zum Blockieren von Luftblasen gemäss einer zweiten und dritten Variante aufweist;

eine schematische Ansicht einer Hybridisierkammer gemäss Fig. 2A, wobei die Vorrichtung eine Anordnung von Reliefstrukturen zum Blockieren von Luftblasen gemäss einer vierten und fünften Variante aufweist;

eine schematische Ansicht einer Hybridisierkammer zwischen einer Vorrichtung und einem Objektträger, auf den diese Vorrichtung auf- gesetzt ist, wobei die Vorrichtung eine Anordnung von Reliefstrukturen zum Leiten von Luftblasen gemäss einer ersten Variante aufweist;

eine schematische Ansicht einer Hybridisierkammer, wobei die Vorrichtung eine Anordnung von Reliefstrukturen zum Leiten und zum Blockieren von Luftblasen gemäss der jeweils ersten Variante aufweist;

eine schematische Ansicht einer Hybridisierkammer, wobei die Vorrichtung eine alternative Anordnung von Reliefstrukturen zum Leiten und zum Blockieren von Luftblasen aufweist;

einen senkrechten Teilschnitt durch die Anordnung gemäss Fig. 1B mit heruntergeklappter Vorrichtung bzw. geschlossener Hybridisierkammer; wobei die Vorrichtung eine Ausbildung von Reliefstrukturen zum Leiten von Luftblasen gemäss einer ersten Variante aufweist;

einen senkrechten Teilschnitt entsprechend Fig. 4A; wobei die Vorrichtung eine Ausbildung von Reliefstrukturen zum Leiten von Luftblasen gemäss einer zweiten Variante aufweist;

einen senkrechten Teilschnitt entsprechend Fig. 4A; wobei die Vorrichtung eine Ausbildung von Reliefstrukturen zum Leiten von Luftblasen gemäss einer dritten Variante aufweist;

Fig. 4D einen senkrechten Teilschnitt entsprechend Fig. 4A; wobei die Vorrichtung eine Ausbildung von Reliefstrukturen zum Leiten von Luftblasen gemäss einer vierten Variante aufweist;

Fig. 5 eine schematische Teilansicht einer Hybridisierkammer zwischen einer Vorrichtung und einem Objektträger, auf den diese Vorrichtung aufgesetzt ist, wobei die Vorrichtung eine Anordnung von Reliefstrukturen zum Leiten und zum Blockieren von Luftblasen gemäss einer jeweils ersten Variante und eine Ausbildung dieser Reliefstrukturen gemäss der vierten Variante aufweist.

[0013] Figur 1 zeigt einen der Fig. 7 von US 2003/0013184 A1 bzw. EP 1 260 265 A1 des aktuellen Anmelders entsprechenden, senkrechten Längsschnitt durch eine Vorrichtung 1 für die Hybridisierung von Nukleinsäureproben, Proteinen und Gewebeschnitten. Diese Vorrichtung 1 ist wie ein Deckel gegenüber einem Objektträger 3 bewegbar (hier um eine Achse 34 schwenkbar ausgebildet, so dass der Hybridisiererraum 2 durch eine einfache Bewegung geöffnet (vgl. Fig. 1A) und geschlossen (vgl. Fig. 1B) werden kann. Eine ringförmige Dichtung bzw. Dichtfläche 4 dient zum Abschliessen des Hybridisiererraums 2 durch Beaufschlagen einer Oberfläche 5 dieses Objektträgers 3. Diese Dichtfläche 4 kann eine abgesetzte Oberfläche oder Stufe 104 des Deckels bzw. der Vorrichtung 1 sein, welche flach auf der Oberfläche 5 des Objektträgers 3 liegt; alternativ dazu kann z.B. auch eine Lippendichtung verwendet werden. Bevorzugt wird jedoch eine O-Ring-Dichtung 103 als Dichtfläche 4. Die Anordnung umfasst Leitungen 6,6' zum Zu- bzw. Ableiten von Medien in den Hybridisiererraum 2 hinein bzw. aus dem Hybridisiererraum 2 heraus. Solche Medien können Reagenzien zum Durchführen der Hybridisierungsreaktion, wie z.B. Waschflüssigkeiten oder Puffer-Lösungen, aber auch inerte Gase (wie z.B. Stickstoff) zum Trocknen der Hybridisierungsprodukte auf den Objektträgern 3 bzw. zum Ausblasen der Hybridisierkammern 2 und der Medienleitungen 6,6' sein. Diese Zu- bzw. Ableitungen 6,6' für Hybridisiermedien münden bevorzugt in je einen Agitationsraum 11, 11'. Die Anordnung umfasst zudem eine verschliessbare Musterzuführung 7, durch welche von Hand RNAenthaltende Flüssigkeiten oder andere Musterflüssigkeiten zupipettiert werden können. Die Musterzuführung 7 wird vorzugsweise mit einem Kunststoffpfropfen (nicht gezeigt) verschlossen. Alternativ dazu kann eine automatische bzw. robotisierte Musterzuführung vorgesehen werden, wie diese in unterschiedlichen Ausführungsformen in US 2003/0013184 A1 bzw. EP 1 260 265 A1 des aktuellen Anmelders offenbart sind, auf die hier ausdrücklich Bezug genommen wird.

[0014] Bevorzugt sind die Vorrichtungen 1 parallel zueinander und in einer Vierergruppe angeordnet, weil die-

se Anordnung gerade ein Mass für eine Temperaturkontrollplatte 20 zulässt, auf welche ein Rahmen 21 in der Grösse einer Mikroplatte mit vier parallel zu einander angeordneten Objektträgern 3 passt. Jede dieser Vierergruppen ist einer an ein Temperatusteuergerät angeschlossenen Temperaturkontrollplatte 20 zugeordnet. Eine Temperaturkontrollplatte 20 ist zur flächigen Aufnahme eines vier Objektträger 3 tragenden Rahmens 21 ausgebildet. Weil die Objektträger 3 im Rahmen 21 sanft federnd gehalten sind und weil die Temperaturkontrollplatte 20 so ausgebildet ist, dass der Rahmen ihr gegenüber etwas abgesenkt werden kann, liegen die Objektträger 3 direkt auf der Oberfläche der Temperaturkontrollplatte 20. Jede Vierergruppe einer Verfahrenseinheit 18 umfasst eine um eine Achse 34 schwenkbare und gegenüber einer Grundplatte 35 verriegelbare Halterung 36 mit vier Sitzen 37, wobei in jeden dieser Sitze 37 eine Vorrichtung 1 einlegbar ist. Jede Verfahrenseinheit 18 umfasst zudem eine Anschlussplatte 22 zum dichtenden Verbinden der Einheitsleitungen 23,23',23'' des Systems 38 mit den Leitungen 6,6',6'' der Vorrichtungen 1. Als Dichtungen für diese Verbindungen werden O-Ringe bevorzugt (nicht gezeigt).

[0015] Die Anordnung umfasst vorzugsweise eine medientrennende Agitationseinrichtung 8 zum Bewegen von Flüssigkeiten gegenüber auf der Oberfläche 5 der Objektträger 3 immobilisierten nukleinsäure- bzw. aminosäurehaltigen Proben oder Gewebeschnitten. In der in Figur 1 gezeigten Ausführungsform umfasst die Agitationseinrichtung 8 der Anordnung eine Membran 9. Diese Membran 9 trennt einen Druckraum 10, der über eine Druckleitung 6'' mit einem Druckfluid (Gas oder Flüssigkeit) befüllbar ausgebildet ist, von einem Agitationsraum 11, der über eine Agitationsleitung 12 mit dem Hybridisiererraum 2 verbunden ist. Nach dem Erreichen des thermischen Gleichgewichtes der Anordnung, dem Zugeben eines bestimmten Volumens an RNA-Musterflüssigkeit und dem Verschliessen der Musterzuführung 7 wird über die Druckleitung 6'' vorzugsweise Luft oder ein anderes Gas (es könnte aber auch eine Flüssigkeit sein) stossweise in den Druckraum 10 gebracht (Überdruckversion) oder daraus abgesogen (Unterdruckversion), so dass sich die Membran 9 im gleichen Rhythmus durchbiegt und entsprechend den Agitationsraum 11 verkleinert bzw. vergrössert. Dadurch wird die Musterflüssigkeit im gleichen Rhythmus des Über- bzw. Unterdrucks und Entspannens im Hybridisiererraum 2 gegen das eine oder das andere Ende bewegt, wo sich vorzugsweise an der gegen das Innere des Hybridisiererraums 2 gerichteten Oberfläche 14 des Deckels bzw. der Vorrichtung 1 je ein Querströmkanal 15,15' befindet.

[0016] Diese Querströmkanäle 15,15' erleichtern einerseits das Querverteilen von in der Musterlösung enthaltenen RNA-Molekülen. Dadurch wird bewirkt, dass die Musterflüssigkeit bzw. die Waschflüssigkeiten homogen über das gesamte im Hybridisiererraum 2 anwesende Volumen verteilt werden. Andererseits dienen die Querströmkanäle 15,15' auch als Flüssigkeits-Reservoir, so

dass bei der durch die in der Vorrichtung eingebauten Agitationseinrichtung 8 erzeugte Pendelbewegung der Musterlösung nicht dazuführt, dass Teile des Hybridisiererraums 2 unbeabsichtigt trocken liegen.

[0017] Vorzugsweise ist ein zweiter, ebenfalls mit einer Membran 9' versehener Agitationsraum 11' über eine zweite Agitationsleitung 12' mit dem Hybridisiererraum 2 verbunden. Wenn jetzt ein auf den Druckraum 10 abgegebener Druckstoss die erste Membran 9 in den ersten Agitationsraum 11 drückt, wird dieser Impuls über die erste Agitationsleitung 12 auf die Musterflüssigkeit im Hybridisiererraum 2 übertragen. Die Musterflüssigkeit weicht etwas gegen die zweite Agitationsleitung 12' aus (kann diese sogar zum Teil füllen) und erhöht den Druck im zweiten Agitationsraum 11'. Dadurch biegt sich die zweite Membran 9' nach oben und wird dabei elastisch gedehnt. Sobald der Überdruck im Druckraum 10 nachlässt, federn beide Membranen 9,9' in ihre Ruheposition zurück und bewegen die Musterflüssigkeit im Hybridisiererraum 2 in die entgegengesetzte Richtung. Durch diese Pendelbewegung kann mit der gezeigten Anordnung eine Musterflüssigkeit mit einem minimalen Volumen (im Bereich von ca. 100 μ l) in weniger als einer Minute praktisch homogen im Hybridisiererraum 2 verteilt werden. Vorzugsweise wird unmittelbar anschliessend an den Druckabbau im Druckraum 10 ein Unterdruck im Druckraum 10 erzeugt, so dass die dem vorangehenden Druckstoss entgegengesetzte Rückwärtsbewegung der Musterflüssigkeit im Hybridisiererraum 2 noch verstärkt wird.

[0018] Währenddem Figur 1A eine offene Halterung 36 darstellt, zeigt Figur 1B einen Vertikalschnitt durch eine Verfahrenseinheit 18 zum Hybridisieren von Nukleinsäureproben, Proteinen oder Gewebeschnitten mit geschlossener Halterung 36. Alle vier Hybridisiererräume 2 dieser Vierergruppen sind einer an ein Temperatursteuergerät angeschlossenen Temperaturkontrollplatte 20 zugeordnet. Um sicherzustellen, dass die Vorrichtungen 1 planparallel zu den Objektträgern 3 platziert werden können, weist die Halterung 36 zudem noch ein Mittelgelenk (nicht gezeigt) mit einer zur Achse 34 parallelen Beweglichkeit auf. Damit die Dichtungen 4 die Hybridisiererräume 2 zuverlässig abschliessen, wird über die Halterung 36 ein zusätzlicher Druck auf die Vorrichtungen 1 ausgeübt, dies kann über Schrauben, Kipphebel oder ähnliche bekannte Vorrichtungen (nicht gezeigt) bewerkstelligt werden. Jede Verfahrenseinheit 18 umfasst zudem eine Anschlussplatte 22 zum dichtenden Verbinden der Einheitsleitungen 23,23',23'' mit den Leitungen 6,6',6'' der Vorrichtungen 1. Als Dichtungen für diese Verbindungen werden O-Ringe bevorzugt (nicht gezeigt).

[0019] Die Figuren 2 und 3 zeigen schematische Ansichten auf die geschlossene Anordnung von Figur 1B, von unten gesehen. Dabei ist die spaltförmige Hybridisiererkammer 2 zwischen einer Vorrichtung 1 und einem Objektträger 3, auf den diese Vorrichtung 1 aufgesetzt ist, in ihrem Volumen definiert. Die O-Ring-Dichtung 103 begrenzt lateral den Hybridisiererraum 2, der an seinen einander entgegengesetzten Enden vorzugsweise je ei-

nen Querströmkanal 15,15' aufweist, welche als Vertiefung in der Oberfläche 14 des Deckels bzw. der Vorrichtung 1 vorgesehen sind. Der Objektträger 3 (hier ein Glasobjektträger für die Lichtmikroskopie) und dessen optionales Griff- und/oder Barcode-feld 33 sind gestrichelt eingezeichnet. Klar ersichtlich ist auch eine Abdrückfeder 17, welche auf das Griff-feld 33 des Objektträgers 3 drückt. Es können auch mehrere Abdrückfedern vorgesehen sein (nicht gezeigt). Zusätzlich können - bevorzugt auf den Seitenflanken der Vorrichtung - 1 Zentrierfedern angeordnet sein (nicht gezeigt) mit welchen Objektträger mit speziellen Formaten an der Vorrichtung 1 zentriert werden, so dass eine maximale Ausnützung der Objektträgeroberfläche gewährleistet ist. Beim Öffnen des Hybridisiererraums 2 erleichtert diese Abdrückfeder 17 die automatische Trennung des Objektträgers 3 vom Deckel bzw. von der Vorrichtung 1. Ebenfalls ersichtlich sind die Öffnungen der Einlassleitung 6 und der Auslassleitung 6' sowie der Musterzuführung 7, die in einen der beiden Querströmkanäle 15,15' münden.

[0020] Figur 2A zeigt eine Vorrichtung 1 mit einer Anordnung von Reliefstrukturen 101 zum Blockieren von Luftblasen 102 gemäss einer ersten Variante. Diese Reliefstrukturen 101 sind hier als Vertiefungen 105 ausgebildet und in Grenzbereichen 106 des Hybridisiererraums 2 entlang zumindest eines Teils der Dichtfläche 4 angeordnet. Wie gezeigt münden keine Leitungen 6,6',7 in diese Vertiefungen 105. Gemäss dieser bevorzugten ersten Variante sind mehrere Vertiefungen in einer Reihe links und rechts der Hybridisiererkammer 2 angeordnet, wobei diese Reihen sich über den ganzen Grenzbereich 106 zwischen den beiden endständigen Querströmkanälen 15,15' erstrecken. Die Vertiefungen 105 befinden sich in unmittelbarer Nähe des O-Rings 103, sie sind alle gleich lang und durch schmale Stege 107 unterbrochen, so dass die Luftblasen 102 in der jeweiligen Vertiefung 105 gefangen sind und sich nicht mit dem Objektträger 3 verbinden und damit ein Hybridisieren der darunter liegenden Proben verhindern oder behindern können. Zudem können sich so in den Vertiefungen 105 gefangene Luftblasen 102 nicht über den Hybridisiererraum 2 verteilen.

[0021] Figur 2B zeigt eine Anordnung von Reliefstrukturen 101 zum Blockieren von Luftblasen 102 gemäss einer zweiten und dritten Variante. Die Vertiefungen 105 befinden sich in unmittelbarer Nähe des O-Rings 103, sie sind alle gleich lang und durch schmale Stege 107 unterbrochen, so dass die Luftblasen 102 in der jeweiligen Vertiefung 105 gefangen sind. Gemäss der zweiten Variante (links) sind nur wenige, lange Vertiefungen 105 vorgesehen; es könnte auch nur eine einzige Vertiefung auf jeder Seite der Hybridisiererkammer 2 angeordnet werden (nicht gezeigt), wichtig ist, dass ein Steg 107 diese Vertiefungen 105 von den Querströmkanälen 15,15' trennt. Gemäss der dritten Variante (rechts) sind sehr viele kurze (z.B. runde) Vertiefungen 105 vorgesehen. Diese haben den Vorteil, dass sehr viele individuelle Kompartimente zum Blockieren von Luftblasen 102 ge-

schaffen werden.

[0022] Figur 2C zeigt eine Anordnung von Reliefstrukturen 101 zum Blockieren von Luftblasen 102 gemäss einer vierten und fünften Variante. Die Vertiefungen 105 befinden sich in unmittelbarer Nähe des O-Rings 103, sie weisen eine unterschiedliche Länge auf und sind durch schmale Stege 107 unterbrochen, so dass die Luftblasen 102 in der jeweiligen Vertiefung 105 gefangen sind. Gemäss der vierten Variante (links) sind nur wenige, lange Vertiefungen 105 vorgesehen, zwischen welchen kurze (z.B. runde) Vertiefungen angeordnet sein können. Gemäss der fünften Variante (rechts) sind mehrere Vertiefungen 105 mit zunehmender Länge vorgesehen. Die hier gezeigten Anordnungen haben den Vorteil, dass Kompartimente zum Blockieren von Luftblasen 102 geschaffen werden, die entsprechend von bestimmten Prozessparametern oder Kammereigenschaften individuell verteilt sind. Z.B. lassen sich so Vertiefungen vorsehen, welche entsprechend von erfahrungsgemäss auftretenden Gradienten (im Hybridisiermedium und/oder im Auftreten der Luftblasen) angeordnet sind.

[0023] Diese gezeigten Anordnungen von als Vertiefungen 105 ausgebildeten Reliefstrukturen 101 eignen sich besonders zum Blockieren von durch Diffusion durch den O-Ring 103 entstandenen Luftblasen 102 und zwar in unmittelbarer Nähe ihres Entstehungsortes. Zusätzlich zur Variation der Anzahl und Länge der als Vertiefungen 105 ausgebildeten Reliefstrukturen 101 zum Blockieren von Luftblasen 102, gehört auch die Variation der Breite und/oder Tiefe solcher Vertiefungen 105 zum Umfang der vorliegenden Erfindung. Es können auch sogenannte Fangkanäle für Luftblasen entlang der seitlichen O-Ringe vorgesehen sein. Solche Fangkanäle (nicht gezeigt) sind dann als eine einzige Vertiefung ausgebildet, welche lediglich durch je einen dünnen Steg von den beiden Querströmkanälen 15,15' getrennt ist. Dabei ist zu erwähnen, dass die erfindungsgemässen Vertiefungen 105 auch in Hybridisierkammern 2 eingesetzt werden können, welche keine Agitationseinrichtung umfasst.

[0024] Figur 3A zeigt eine Anordnung von Reliefstrukturen 101 zum Leiten von Luftblasen 102 gemäss einer ersten Variante. Die Reliefstrukturen 101 sind hier als Erhebungen 108 zum Leiten von Luftblasen 102 ausgebildet und im wesentlichen über den ganzen Hybridisierraum 2 verteilt angeordnet. Bevorzugt sind die Erhebungen 108 regelmässig und in einem verschränkten, orthogonalen Raster 109 angeordnet. Speziell bevorzugt ist ein verschränkter, orthogonaler Raster 109, der um 45 ° verdreht zu einer Fliessachse 110 angeordnet ist. Abweichungen von der orthogonalen Anordnung sind möglich, so dass durch einen kleineren Winkel zur Fliessrichtung als 45 ° (steilere Anordnung) das Abdrängen erleichtert wird. Andererseits wird durch die Wahl von grösseren Winkeln als 45 ° zur Fliessrichtung (flachere Anordnung) eine grössere Distanz beim Abdrängen erreicht.

[0025] Figur 3B zeigt eine Anordnung von Reliefstruk-

turen 101 zum Leiten und zum Blockieren von Luftblasen 102. Die blockierenden Reliefstrukturen 101 sind als Vertiefungen 105 ausgebildet und in Grenzbereichen 106 des Hybridisierraums 2 entlang zumindest eines Teils des O-Rings 103 angeordnet (vgl. Fig. 2A). Die leitenden Reliefstrukturen 101 sind als Erhebungen 108 zum Leiten von Luftblasen 102 ausgebildet und im wesentlichen über den ganzen Hybridisierraum 2 verteilt angeordnet (vgl. Fig. 3A). Die Kombination von blockierenden und leitenden Reliefstrukturen 101 ermöglicht auch das Vereinigen der bereits beschriebenen positiven Effekte dieser Reliefstrukturen. Dabei werden bevorzugt die Anordnung und die Grösse aller zum Beeinflussen von Luftblasen 102 eingesetzten Reliefstrukturen 101 einander angepasst. Wichtige Kriterien für ein solches Anpassen sind das Volumen der Hybridisierkammer (bevorzugt ca. 60 µl), der Hub der Agitationseinrichtung (bevorzugt ca. 5 µl), die Länge der Hybridisierkammer (bevorzugt ca. 50 mm) sowie die aus der Agitation resultierende Pendelstrecke der Hybridisiermedien über den immobilisierten Proben (bevorzugt ca. 5 mm). Zudem ist wünschbar, dass die Frequenz der Agitationszyklen einstellbar ist. Das heisst, es werden unterschiedlich lange Agitationszeiten mit unterschiedlichen langen Zeiten ohne Agitation abgewechselt. Die Agitationszeiten sind jedoch vorzugsweise so lange gewählt, dass sich eine grosse Zahl von Agitationsbewegungen pro Minute und dadurch eine Mehrfachdurchmischung des Kammervolumens ergibt. Mischversuche mit Farbstoffen haben gezeigt, dass nach wenigen Minuten eine praktisch 100 %ige Durchmischung stattfindet.

[0026] Figur 3C zeigt eine alternative Anordnung von Reliefstrukturen zum Leiten und zum Blockieren von Luftblasen. Die blockierenden Reliefstrukturen 101 sind als kleinere Vertiefungen 105 ausgebildet (vgl. Fig. 3B). Die leitenden Reliefstrukturen 101 sind als feinere und engmaschiger verteilte Erhebungen 108 zum Leiten von Luftblasen 102 ausgebildet (vgl. Fig. 3B).

[0027] Figur 4 zeigt senkrechte Teilschnitte durch eine Anordnung gemäss Fig. 1B mit heruntergeklappter Vorrichtung 1 bzw. geschlossener Hybridisierkammer 2. Pfeile bezeichnen die Fliessrichtung der Musterflüssigkeit gegenüber den auf dem Objektträger 3 immobilisierten Proben. Diese Bewegung der Musterflüssigkeit bewirkt in Wechselwirkung mit den gezeigten Reliefstrukturen 101 ein Abdrängen der Luftblasen 102 von der eigentlichen Fliessrichtung oder Fliessachse 110.

[0028] Figur 4A zeigt eine Ausbildung von Reliefstrukturen 101 zum Leiten von Luftblasen 102 gemäss einer ersten Variante. Diese Reliefstruktur ist als Vertiefung 105 ausgebildet, welche eine flache und eine steile Flanke aufweist. Die Flanken der Vertiefung 105 bilden je eine Schnittlinie mit der Oberfläche 14 der Vorrichtung 1. Bei konstanter Höhendifferenz und Flankenneigung der Vertiefung 105 verlaufen diese Schnittlinien parallel zu einander (vgl. Fig. 5). Bei zunehmender Höhendifferenz und konstanter Flankenneigung der Vertiefung 105 divergieren diese Schnittlinien; so kann beispielsweise

ein Fischeschuppen ähnliches Relief auf der Oberfläche 14 der Vorrichtung 1 erzeugt werden. Der Neigungswinkel der steilen Flanke und der Winkel zwischen der Fließachse 110 und der Schnittlinie zwischen der steilen Flanke und der Oberfläche 14 der Vorrichtung 1 bestimmen zusammen den Einfluss auf eine Luftblase 102, die gegen diese steile Flanke gespült wird. Diese beiden Winkel sind erfindungsgemäss so gewählt, dass der Fließwiderstand der Luftblase 102 gegenüber der steilen Flanke in Richtung der Fließachse 110 grösser ist als in Richtung der Reliefstruktur 101. Dadurch erfolgt ein Abdrängen der Luftblase 102 von der allgemeinen Fließrichtung. Dieses Abdrängen wird zusätzlich durch die von der Reliefstruktur 101 verursachte, in die gleiche Richtung abgelenkte, örtliche Mikroströmung unterstützt. Diese Mikroströmungen treten an allen in einem Winkel zur Fließachse 110 angeordneten Reliefstrukturen 101 auf und unterstützen zusätzlich eine effektivere Durchmischung der Musterflüssigkeit.

[0029] Eine weitere bevorzugte Variante (nicht gezeigt) umfasst das Ausbilden von leitenden Vertiefungen 105, die an deren einem Ende in den Vertiefungen 105 zum Blockieren der Luftblasen 102 beginnen und die bis über die Mitte des Hybridisiererraums 2 (durch die in den Fig. 2 und 3 eingezeichnete Fließachse 110 markiert) reichen. Diese leitenden Vertiefungen 105 sind ebenfalls bevorzugt unter einem Winkel von 45 ° zur Fließachse 110 orientiert und abwechselnd von der linken oder rechten Seite der Hybridisierkammer 2 ausgehend und unter 90 ° zu einander liegend angeordnet. Diese leitenden Vertiefungen 105 können gleichbleibend tief ausgebildet oder nach der Mitte des Hybridisiererraums 2 spitz zulau fend ausgebildet sein.

[0030] Figur 4B zeigt eine Ausbildung von Reliefstrukturen 101 zum Leiten von Luftblasen 102 gemäss einer zweiten Variante. Diese Reliefstruktur ist als Erhebung 108 ausgebildet, welche eine flache und eine steile Flanke aufweist. Figur 4C zeigt eine Ausbildung von Reliefstrukturen 101 zum Leiten von Luftblasen 102 gemäss einer dritten Variante. Diese Reliefstruktur ist teilweise als Vertiefung 105 und teilweise als Erhebung 108 ausgebildet und weist zwei steile und eine flache Flanke auf. Alle Bemerkungen zu Figur 4A gelten sinngemäss auch für Fig. 4B und Fig. 4C.

[0031] Figur 4D zeigt eine Ausbildung von Reliefstrukturen 101 zum Leiten von Luftblasen 102 gemäss einer vierten Variante. Diese Reliefstruktur ist als Erhebung 108 ausgebildet und weist zwei steile Flanken und eine flache (erhöhte) Oberfläche auf. Alle Bemerkungen zu Figur 4A gelten sinngemäss auch hier. Eine weitere Variante (nicht gezeigt) umfasst die Ausbildung von Reliefstrukturen 101 zum Leiten von Luftblasen 102, bei welcher diese Reliefstruktur 101 ist als Vertiefung 105 ausgebildet ist und zwei steile Flanken und eine flache (vertiefte) Oberfläche aufweist. Beiden Varianten ist gemeinsam, dass die Schnittlinien der steilen Flanken mit der Oberfläche 14 der Vorrichtung 1 einen parallelen Verlauf haben können, so dass die Höhendifferenz dieser Reli-

efstrukturen 101 konstant ist (gezeigt). Beiden Varianten ist aber auch gemeinsam, dass die Schnittlinien der steilen Flanken mit der Oberfläche 14 der Vorrichtung 1 einen divergierenden Verlauf haben können, und dass die Höhendifferenz dieser Reliefstrukturen 101 trotzdem konstant ist (nicht gezeigt).

[0032] Abweichend von den in Fig. 4 gezeigten Reliefformen werden auch als Erhebungen 108 ausgebildeten Reliefstrukturen 101 mit einem kalottenförmigen Querschnitt bevorzugt (nicht gezeigt). Mit solchen Erhebungen 108 gehen Luftblasen 102 mit einem Durchmesser von höchstens etwa 50 µm mit grösserer Wahrscheinlichkeit lediglich eine Punktberührung ein. Somit bleiben die Luftblasen schon bei relativ geringer Agitation nicht an den Erhebungen 108 hängen und werden auch bis in die Querströmkanäle 15,15' weitergespült. Falls die Luftblasen 102 nicht unterwegs in Vertiefungen 105 gefangen bleiben, werden sie in den Querströmkanälen 15,15' gesammelt.

[0033] Das Anordnen von Vertiefungen 105 wird in den meisten Fällen den Erhebungen 108 vorgezogen, weil Vertiefungen immer auch eine Zunahme der Höhe der bevorzugt ca. 60-70 µm hohen Hybridisierkammer 2 bedeuten. Dadurch wird das Risiko vermindert, dass eine Luftblase die Hybridisierung einer Probe beeinträchtigt. Besonders bevorzugt wird ein zumindest annähernder, volumenmässiger Ausgleich von Vertiefungen 105 und Erhebungen 108, so dass ein definiertes Volumen für den Spalt zwischen der Vorrichtung 1 und dem Objektträger 3 und damit ein definiertes Volumen für die Hybridisierkammer 2 eingehalten werden kann.

[0034] Das Blockieren von Luftblasen 102 mit erfindungsgemässen Vorrichtungen 1, die Reliefstrukturen 101 gemäss einem der in Figur 2 dargestellten Beispiele aufweisen, funktioniert grundsätzlich in Systemen, die mit oder ohne Agitationseinrichtung für das Bewegen der Musterlösung gegenüber den immobilisierten Proben ausgestattet sind. Ist ein solches System 38 zum Hybridisieren von Nukleinsäureproben, Proteinen oder Gewebeschnitten jedoch mit einer Agitationseinrichtung (beispielsweise wie in Fig. 1 gezeigt und beschrieben) ausgestattet, so entsteht eine Pendelbewegung der Musterflüssigkeit gegenüber den auf dem Objektträger 3 immobilisierten Proben. In einem solchen System - wie es beispielsweise in US 2003/0013184 A1 bzw. EP 1 260 265 A1 des aktuellen Anmelders offenbart ist - welches mit erfindungsgemässen Vorrichtungen 1 bestückt ist, werden im Hybridisierraum 2 spontan entstehende oder schon (durch Einschleppen) vorhandene Luftblasen 102 hin und her bewegt und durch leitende Reliefstrukturen 101 in Grenzbereiche 106 des Hybridisiererraums 2 abgedrängt, wie dies in der Folge erläutert wird. Auf die veröffentlichten Patentanmeldungen US 2003/0013184 A1 bzw. EP 1 260 265 A1 des aktuellen Anmelders wird hier ausdrücklich Bezug genommen.

[0035] Figur 5 zeigt eine schematische Teilansicht einer Hybridisierkammer 2 zwischen einer Vorrichtung 1 und einem Objektträger 3, auf den diese Vorrichtung 1

aufgesetzt ist. Die Vorrichtung 1 weist eine Anordnung von Reliefstrukturen 101 zum Leiten und zum Blockieren von Luftblasen 102 gemäss einer jeweils ersten Variante (vgl. Fig. 3B) und eine Ausbildung dieser Reliefstrukturen 101 als Erhebungen 108 gemäss der vierten Variante (vgl. Fig. 4D) auf. Die Strecke, welche die Mustermoleküle im Mittel während einer durch eine Agitationseinrichtung erzeugten Pendelbewegung zurücklegen ist mit zwei einander entgegengesetzten Pfeilen markiert. Diese Strecke kann auch wesentlich länger aber nicht viel kürzer sein, als dies in der schematischen Darstellung skizziert ist. Bevorzugt wird eine Distanz von zwei hinter einander in Agitationsrichtung liegenden, gleich gerichteten Reliefstrukturen von ca. 2/3 der Pendelbewegung oder ca. 4 mm. Der typische Weg einer Luftblase 102 beginnt an einer beliebigen Position (1) im Hybridisierungsraum 2. Diese Luftblase 102 mit einem Durchmesser von höchstens etwa 50 μm (bei einer Kammerhöhe bzw. Spalthöhe von bevorzugt 30-200 μm) wird von der (in der Skizze nach oben gerichteten) Strömung erfasst und im wesentlichen in gerader Linie mitbewegt, bis sie an eine als Erhebung 108 ausgebildete, erste Reliefstruktur 101 anstösst (2). Weil der Widerstand für ein Ausweichen der Luftblase 102 (hier: unter 45 ° nach rechts oben) erheblich kleiner ist als ein Stehen bleiben, wird sie bis an das Ende der Reliefstruktur 101 von der Strömung mitgezogen (3,4). Darauf bewegt sich die Luftblase 102 wieder geradlinig weiter, bis sie auf eine zweite Reliefstruktur 101 trifft (5), von dieser wieder abgelenkt wird (hier: unter 45 ° nach links oben) und nach dem Abbrechen der Strömung stehen bleibt (6). Nun setzt die Strömung in der Gegenrichtung ein und zieht die Luftblase 102 mit, bis sie auf die Rückseite der ersten Reliefstruktur 101 trifft (7), von dieser erneut abgelenkt wird (hier: unter 45 ° nach links unten) und in die als Vertiefung 105 ausgebildete Reliefstruktur 101 eintritt (8). In dieser Vertiefung 105 ist die Luftblase 102 dann gefangen und kann nur noch innerhalb dieser engen Grenzen der Pendelströmung folgen (9). Sind bereits andere Luftblasen in der Vertiefung 105 blockiert, so wird oft ein Aggregieren der vorhandenen Luftblasen oder sogar ein Fusionieren derselben beobachtet. Diese beiden Vorgänge erhöhen zusätzlich die Wahrscheinlichkeit, dass keine der Luftblasen die Vertiefung 105 wieder verlassen kann.

[0036] Die erfindungsgemässen Reliefstrukturen 101 (Erhebungen und Vertiefungen) am Deckel bzw. an der Vorrichtung 1 weisen bevorzugt eine Höhendifferenz zur sonst ebenen Oberfläche 14 des Deckels bzw. der Vorrichtung 1 von maximal 1/3 der bevorzugten Spalthöhe von 30 μm bis 200 μm auf. Speziell bevorzugt sind Höhendifferenzen von 30 μm bei Vertiefungen und von 20 μm bei Erhebungen. Diese Reliefstrukturen 101 können in die Vorrichtung 1 während dem Herstellungsprozess (z.B. Spritzguss, Bearbeitung von Stangenmaterial) eingeformt werden. Vertiefungen können auch nachträglich eingearbeitet (z.B. mittels Fräsen). Auch Erhebungen können nachträglich zum eigentlichen Herstellungsprozess der Vorrichtung 1 aufgebracht (z.B. mittels Kleben

bzw. Deponieren von Harzen) werden. Dies kann z.B. mittels einer Schablone oder mittels auf Haftstreifen vorgefertigten Halbfabrikaten geschehen.

[0037] Auch Objektträger 3 können mit Reliefstrukturen 101 versehen sein, seien dies nun Vertiefungen 105 und/oder Erhebungen 108. Bevorzugt werden die Reliefstrukturen 101 auf den Objektträgern 101 entsprechend den zu erwartenden Probenverteilungen auf deren Oberfläche 5 angeordnet. So können z.B. quadratische sogenannte "low density arrays" durch kanalartige Vertiefungen getrennt sein. Auch können die Objektträger 3 eine Dichtung umfassen, die ein Teil des Objektträgers ist oder die auf diesem angeordnet ist. Solche Dichtungen können z.B. im Zweikomponenten-Spritzgussverfahren mit Objektträgern aus Kunststoff hergestellt werden. Das Aufspritzen von solchen, bevorzugt weichen Dichtungen 4 auf Glasobjektträger ist ebenfalls möglich. Ergänzend kann die Vorrichtung 1, bzw. der den Hybridisierungsraum 2 abschliessende Deckel, eine harte Dichtung 4 zum Aufrechterhalten der definierten Spaltbreite bzw. Höhe des Hybridisierungsraums umfassen. Auch die Verwendung von z.B. ebenfalls im Zweikomponenten-Spritzgussverfahren hergestellten Verbunddichtungen mit einer weichen (dichtenden) Komponente und einer harten (die Spalthöhe definierenden) Komponente ist denkbar. Dabei spielt das Material der Vorrichtung 1 (vorzugsweise Polysulfon) eine eher untergeordnete Bedeutung.

[0038] Jede ringförmige Anordnung bzw. Ring mit Dichtfunktion wird im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung als O-Ring bezeichnet. So ein O-Ring kann wahlweise einen z.B. runden, elliptischen oder viereckigen Querschnitt aufweisen oder auch als Dichtlippe ausgeformt sein.

[0039] Wesentlich ist, dass zumindest im Bereich des Hybridisierungsraums 2 die Oberfläche 5 des Objektträgers 3 im Mittel planparallel zu der Oberfläche 14 der Vorrichtung 1 angeordnet ist. Grundsätzlich ist der Hybridisierungsraum 2 jedoch nicht auf eine annähernd rechteckige Grundfläche angewiesen, wie dies in den Figuren 2 und 3 gezeigt wird. In von der rechteckigen Grundfläche abweichenden Hybridisierungsräumen mit z.B. runder Form, können die Vertiefungen 105 entsprechend entlang der Dichtung 4 angeordnet werden. Auch Erhebungen 108 können entsprechend der vorliegenden Erfindung in einer z.B. tangentialen Agitationsrichtung angeordnet werden. Ebenso muss die Vorrichtung 1 für das Beeinflussen der Luftblasen nicht unbedingt transparent sein oder transparente Teile aufweisen.

[0040] Falls in einem Hybridisierungsmedium regelmässig besonders viele aber sehr kleine Blasen auftreten, deren Durchmesser wesentlich kleiner ist als der Abstand zwischen Vorrichtung 1 und Objektträger 3, können diese Luftblasen durch ein in die Oberfläche der 14 Vorrichtung 1 eingekratztes Gittermuster an der Stelle ihres Entstehens blockiert werden. So wird verhindert, dass die kleinen Luftblasen durch Aggregation oder Fusion grössere Gebilde formen, welche die Hybridisierungsreaktion irri-

tieren könnten.

[0041] Die Bezugszeichen bezeichnen jeweils gleiche Merkmale, auch wenn nicht zu jeder Figur alle Merkmale ausdrücklich benannt werden. Beliebige Abwandlungen und Kombinationen der hier offenbarten Varianten gehören mit zum Umfang der vorliegenden Erfindung. Insbesondere können die Vorrichtung 1, der Objektträger 3, oder auch beide dieser Komponenten Reliefstrukturen 101 aufweisen, seien dies nun Vertiefungen 105 und/oder Erhebungen 108.

Patentansprüche

1. Vorrichtung (1) zum Bereitstellen eines spaltförmigen Hybridisiererraums (2) für die Hybridisierung von auf einem Objektträger (3) immobilisierten Nukleinsäureproben, Proteinen oder Gewebeschnitten, wobei die Vorrichtung (1) gegenüber diesem Objektträger (3) bewegbar ausgebildet ist und eine ringförmige Dichtfläche (4) zum Abschiessen des Hybridisiererraums (2) durch Beaufschlagen einer Oberfläche (5) dieses Objektträgers (3), Leitungen (6,6') zum Zu- bzw. Ableiten von Medien in den Hybridisiererraum (2) hinein bzw. aus dem Hybridisiererraum (2) heraus sowie eine Musterzuführung (7) umfasst, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung (1) einen Hybridisiererraum (2) begrenzt, der an zumindest einer gegen das Innere dieses Hybridisiererraums (2) gerichteten Oberfläche (5,14) der Vorrichtung (1) und/oder des Objektträgers (3) Reliefstrukturen (101) zum Leiten und/oder Blockieren von Luftblasen (102) aufweist.
2. Vorrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die ringförmige Dichtfläche (4) als Ring (103) mit Dichtfunktion oder als Stufe (104) ausgebildet ist.
3. Vorrichtung (1) nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Ring (103) als O-Ring oder als Dichtlippe ausgebildet ist.
4. Vorrichtung (1) nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Stufe (104) in der Oberfläche (14) der Vorrichtung (1) oder in der Oberfläche (5) des Objektträgers (3) ausgebildet ist.
5. Vorrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** sie an ihrer gegen das Innere des Hybridisiererraums (2) gerichteten Oberfläche (14) im Bereich der beiden einander gegenüber liegenden Enden des Hybridisiererraums (2) je einen Querströmkanal (15,15') aufweist.
6. Vorrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Reliefstrukturen (101) als Vertiefungen (105) zum Blok-

kieren von Luftblasen (102) ausgebildet, in Grenzbereichen (106) des Hybridisiererraums (2) und entlang zumindest eines Teils der Dichtfläche (4) angeordnet und frei von Leitungen (6,6',7) sind.

7. Vorrichtung (1) nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vertiefungen (105) links und rechts des Hybridisiererraums (2) entlang der Dichtfläche (4) und zumindest durch Stege (107) von den Querströmkanälen getrennt angeordnet sind.
8. Vorrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** sie eine Agitationseinrichtung (8) zum Bewegen von Flüssigkeiten gegenüber auf der Oberfläche (5) des Objektträgers (3) immobilisierten Proben umfasst.
9. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Reliefstrukturen (101) als Erhebungen (108) zum Leiten von Luftblasen (102) ausgebildet und im wesentlichen über den ganzen Hybridisiererraum (2) verteilt angeordnet sind.
10. Vorrichtung (1) nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Erhebungen (108) regelmässig und in einem verschränkten Raster (109) angeordnet sind.
11. Vorrichtung (1) nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** der verschränkte Raster (109) orthogonal und um 45 ° verdreht zu einer Flissachse (110) angeordnet ist.
12. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Reliefstrukturen (101) als Vertiefungen (105) zum Blockieren und als Erhebungen (108) zum Leiten von Luftblasen (102) ausgebildet und im wesentlichen über den ganzen Hybridisiererraum (2) verteilt angeordnet sind.
13. Vorrichtung (1) nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vertiefungen (105) und Erhebungen (108) in ihrer Grösse und Verteilung aufeinander abgestimmt sind und zumindest teilweise ineinander übergehen.
14. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 8 bis 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Agitationseinrichtung (8) zumindest eine Membran (9) umfasst, welche einen Druckraum (10), der über eine Leitung (6'') mit einem Druckfluid befüllbar ausgebildet ist, von einem Agitationsraum (11), der über eine Agitationsleitung (12) mit dem Hybridisiererraum (2) verbunden ist, trennt.
15. Verfahrenseinheit (18) zum Hybridisieren von Nukleinsäureproben, Proteinen oder Gewebeschnit-

ten, welche zumindest eine an ein Temperaturregergerät angeschlossene Temperaturkontrollplatte (20) umfasst, **dadurch gekennzeichnet, dass** sie zumindest eine Vorrichtung (1) gemäss einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 14 umfasst.

16. Verfahrenseinheit (18) nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtungen (1) in Vierergruppen angeordnet sind, wobei die Temperaturkontrollplatte (20) jeder Vierergruppe zur Aufnahme eines vier Objektträger (3) tragenden Rahmens (21) ausgebildet ist. 5 10
17. System (38) zum Hybridisieren von Nukleinsäureproben, Proteinen oder Gewebeschnitten, **dadurch gekennzeichnet, dass** es zumindest eine Verfahrenseinheit (18) nach einem oder beiden der Ansprüche 15 oder 16, ein Zentralsteuergerät, einen Monitor sowie mit den Einheitsleitungen (23,23', 23'') und den Leitungen (6,6'6'') kommunizierende Behälter zum Aufbewahren von Reagenzien bzw. zum Sammeln von Abfällen umfasst. 15 20
18. System (38) nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** es einen Pipettierautomaten umfasst mit welchem Muster in Musteraufnahmegefässe der Vorrichtungen (1) abgegeben werden können, wobei der Pipettierautomat über das Zentralsteuergerät ansteuerbar bzw. regelbar ist. 25 30
19. Verfahren zum Beeinflussen von Luftblasen in einer Vorrichtung (1) zum Bereitstellen eines spaltförmigen Hybridisiererraums (2) für die Hybridisierung von auf einem Objektträger (3) immobilisierten Nukleinsäureproben, Proteinen oder Gewebeschnitten, wobei die Vorrichtung (1) gegenüber diesem Objektträger (3) bewegbar ausgebildet ist und eine ringförmige Dichtfläche (4) zum Abschliessen des Hybridisiererraums (2) durch Beaufschlagen einer Oberfläche (5) dieses Objektträgers (3), Leitungen (6,6') zum Zu- bzw. Ableiten von Medien in den Hybridisiererraum (2) hinein bzw. aus dem Hybridisiererraum (2) heraus sowie eine Musterzuführung (7) umfasst, **dadurch gekennzeichnet, dass** im Hybridisiererraum (2) vorhandene Luftblasen (102) durch Reliefstrukturen (101) geleitet und/oder blockiert werden, wobei diese Reliefstrukturen (101) an zumindest einer gegen das Innere dieses Hybridisiererraums (2) gerichteten Oberfläche (5,14) der Vorrichtung (1) und/oder des Objektträgers (3) angeordnet sind. 35 40 45 50
20. Verfahren nach Anspruch 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Luftblasen (102) durch eine Agitationseinrichtung (8) zum Bewegen von Flüssigkeiten gegenüber auf der Oberfläche (5) des Objektträgers (3) immobilisierten Proben bewegt werden, wobei diese Luftblasen (102) in Reliefstrukturen (101) in der Form von Vertiefungen (105) gefangen werden. 55

den.

21. Verfahren nach Anspruch 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Luftblasen (102) durch eine Agitationseinrichtung (8) zum Bewegen von Flüssigkeiten gegenüber auf der Oberfläche (5) des Objektträgers (3) immobilisierten Proben bewegt werden, wobei diese Luftblasen (102) durch Reliefstrukturen (101) in der Form von Erhebungen (108) geleitet und in Reliefstrukturen (101) in der Form von Vertiefungen (105) gefangen werden.

Fig. 1A

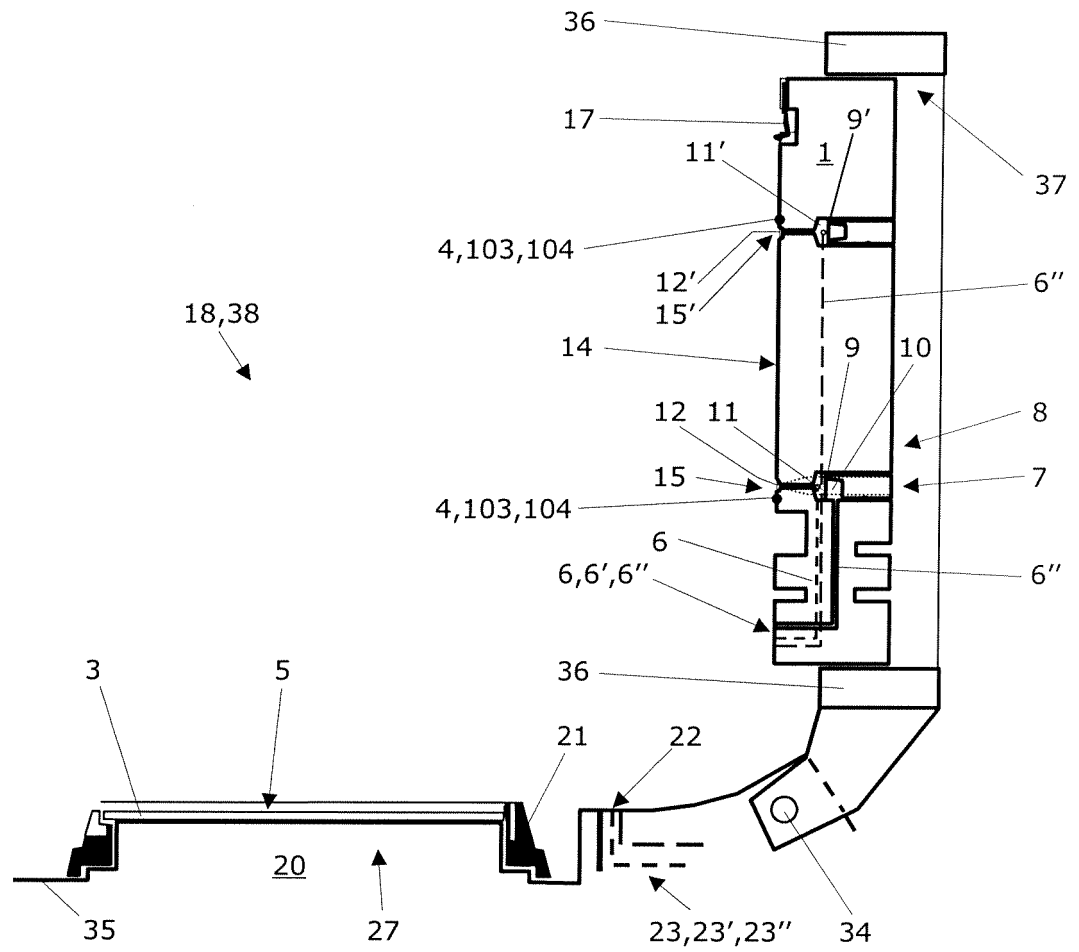


Fig. 1B

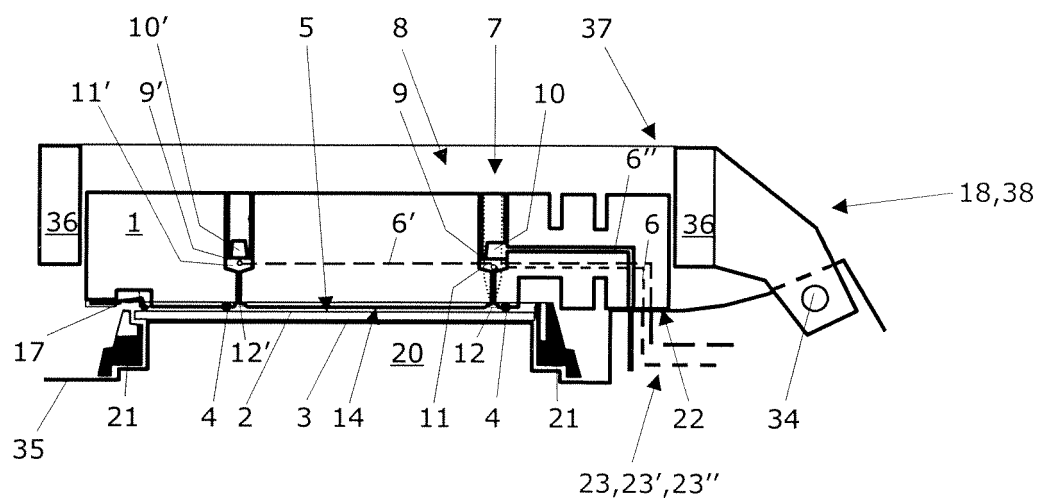


Fig. 2A

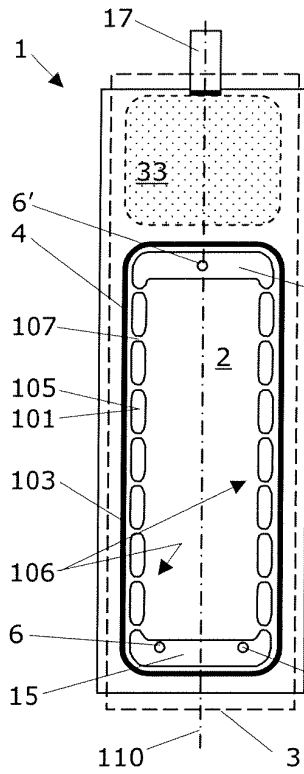


Fig. 2B

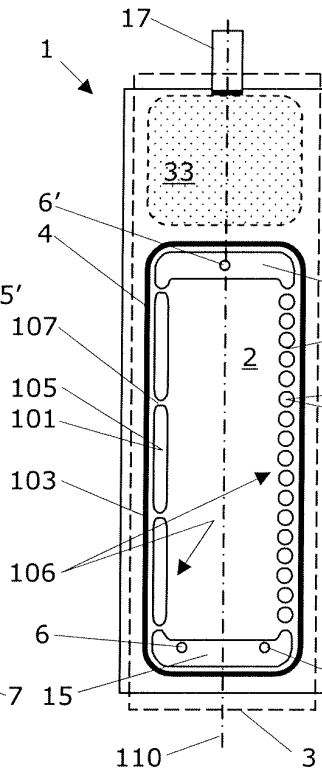


Fig. 2C

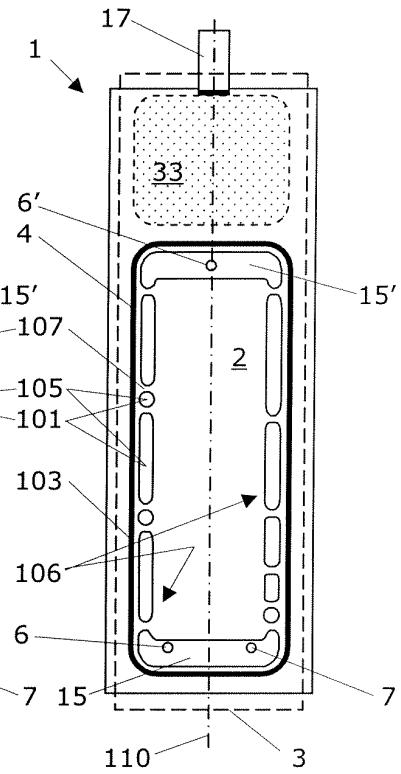


Fig. 3A

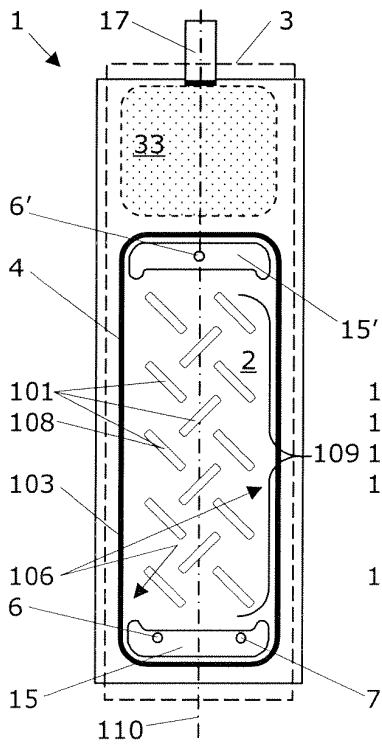


Fig. 3B

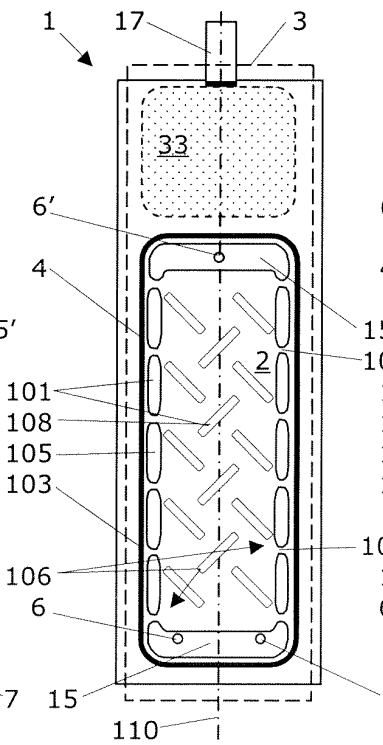


Fig. 3C

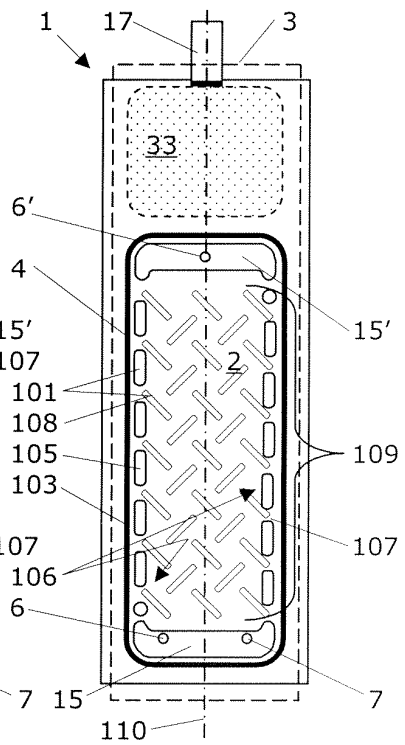


Fig. 4A

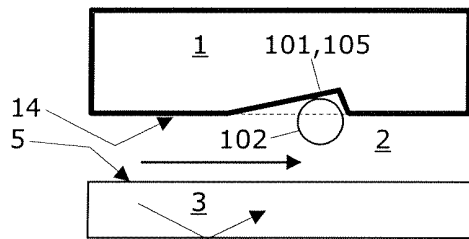


Fig. 4B

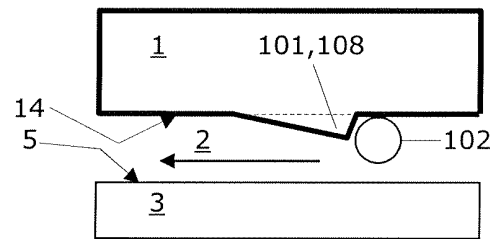


Fig. 4C

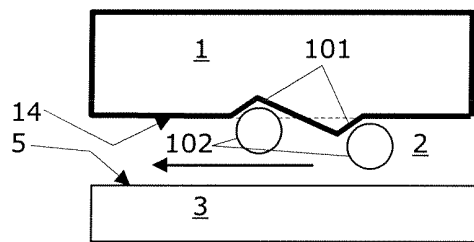


Fig. 4D

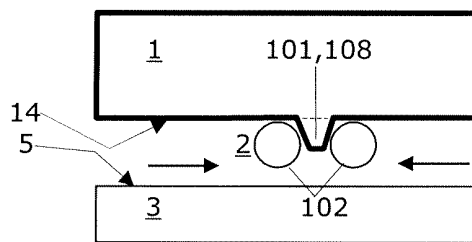
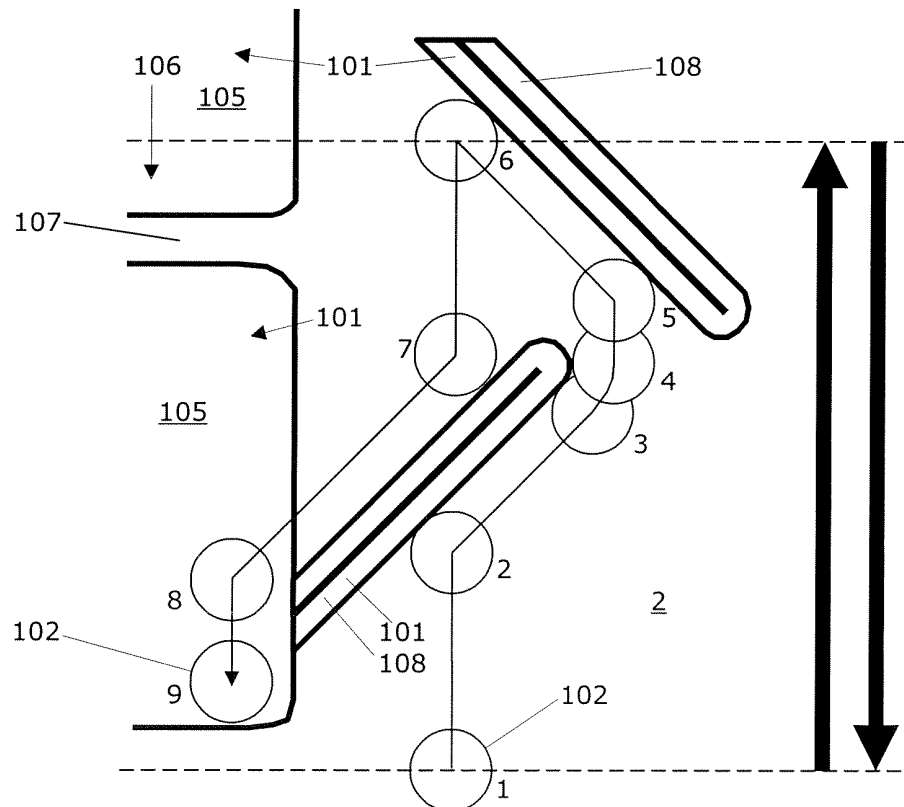


Fig. 5





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 05 10 6505

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
D,X	EP 1 260 265 A (TECAN TRADING AG) 27. November 2002 (2002-11-27)	1-18	B01F13/00 B01L7/00
Y	* Spalte 4, Zeile 7 - Spalte 5, Zeile 7; Abbildungen 7a,7b *	19,20	B01L3/00 C12Q1/68 B01D19/00
Y	----- US 5 951 952 A (O'BEAR ET AL) 14. September 1999 (1999-09-14) * Spalte 2, Zeile 56 - Zeile 64 * * Spalte 4, Zeile 19 - Zeile 41 *	19,20	
A	----- EP 0 785 433 A (BIOMERIEUX VITEK, INC) 23. Juli 1997 (1997-07-23) * Ansprüche *	1	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7)
			B01F B01L C12Q F28F B01D
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 25. Oktober 2005	Prüfer Tiede, R
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

2
EPO FORM 1503 03.92 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 05 10 6505

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am

Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

25-10-2005

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 1260265 A	27-11-2002	AT 288316 T	15-02-2005
		DE 20207612 U1	14-08-2002
		DE 50202157 D1	10-03-2005
		JP 2003057237 A	26-02-2003
		US 2003013184 A1	16-01-2003
US 5951952 A	14-09-1999	US 5932177 A	03-08-1999
EP 0785433 A	23-07-1997	AU 5207898 A	12-03-1998
		AU 686503 B2	05-02-1998
		AU 5215496 A	24-07-1997
		BR 9602273 A	27-10-1998
		CA 2176678 A1	18-07-1997
		DE 69625833 D1	20-02-2003
		DE 69625833 T2	28-08-2003
		DE 69630862 D1	08-01-2004
		DE 69630862 T2	04-11-2004
		ES 2188576 T3	01-07-2003
		ES 2210340 T3	01-07-2004
		IL 118276 A	31-12-1999
		JP 2813333 B2	22-10-1998
		JP 9196852 A	31-07-1997
		KR 171259 B1	15-05-1999

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82