



(19)
 Bundesrepublik Deutschland
 Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2006 035 072 B4** 2009.03.12

(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2006 035 072.3**
 (22) Anmeldetag: **28.07.2006**
 (43) Offenlegungstag: **31.01.2008**
 (45) Veröffentlichungstag
 der Patenterteilung: **12.03.2009**

(51) Int Cl.⁸: **G01N 15/12 (2006.01)**
G01N 13/18 (2006.01)

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 48149 Münster, DE

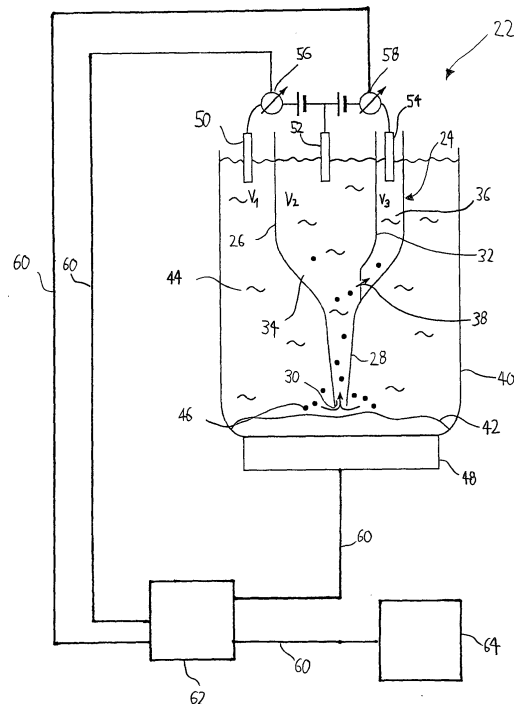
(74) Vertreter:
BOEHMERT & BOEHMERT, 80336 München

(72) Erfinder:
Schäffer, Tilman, Dr., 48149 Münster, DE; Fuchs, Harald, Prof., Dr., 48301 Nottuln, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:
DE 34 29 265 A1
WO 2006/0 63 872 A1
Nakan, J.J., et al.: "Nanopore sensors for nucleic acid analysis". In: J.Phys.: Condens. Matter 15: (2003), S. R1365-R1393; Chen, P., et al.: "Probing Single DNA Molecule Transport Using Fabricated Nanopores". In: Nano Lett. 4, No. 11, (2004) S. 2293-2298; Bayley, H., Martin C.R.: "Resistive-Pulse Sensing - From Microbes to Molecules". In: Chem. Rev. 100, (2000) S. 2575-2594;

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung und Verfahren zum Erfassen von Partikeln mit Pipette und Nanopore**

(57) Hauptanspruch: Vorrichtung (22, 66) zum Erfassen und/oder Charakterisieren von Partikeln (46), die folgendes umfaßt:
 mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126),
 eine Spannungsquelle zum Erzeugen eines elektrischen Potentialunterschiedes zwischen den beiden Seiten der mindestens einen Nanopore (38, 98, 104, 126), um einen Ionenstrom durch die Nanopore (38, 98, 104, 126) zu erzeugen, wenn die Nanopore (38, 98, 104, 126) von einem Elektrolyten (44) umgeben ist; und
 eine Meßeinrichtung (58, 114, 116), die geeignet ist, eine Änderung der Impedanz der mindestens einen Nanopore (38, 98, 104, 126) bezüglich des Ionenstromes zu erfassen, wenn eines oder mehrere von zu erfassenden Partikeln (46), die in dem Elektrolyten (44) enthalten sind, die mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126) durchquert bzw. durchqueren, gekennzeichnet durch
 eine Pipette (24, 86) mit einem Endabschnitt (28), in dem eine Öffnung (30) ausgebildet ist,
 Mittel zum Erzeugen eines Partikelflusses von den zu erfassenden Partikeln...



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Erfassen und/oder Charakterisieren von Partikeln, die folgendes umfaßt: mindestens eine Nanopore, eine Spannungsquelle zum Erzeugen eines elektrischen Potentialunterschieds zwischen den beiden Seiten der mindestens einen Nanopore, um einen Ionenstrom durch die Nanopore zu erzeugen, wenn die Nanopore von einem Elektrolyten umgeben ist, und eine Meßeinrichtung, die geeignet ist, eine Änderung der Impedanz der mindestens einen Nanopore bezüglich des Ionenstroms zu erfassen, wenn eines oder mehrere von zu erfassenden Partikeln, die in dem Elektrolyt enthalten sind, die mindestens eine Nanopore durchquert bzw. durchqueren. Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Erfassen und/oder Charakterisieren von Partikeln nach dem Oberbegriff des Anspruchs 21.

[0002] Nanoporen sind Poren mit Durchmessern im Nanometerbereich. Nanoporen werden zunehmend für die Detektion, Analyse und Sequenzierung von Einzelmolekülen verwendet, wie dies beispielsweise in Nakan, J. J., et al. „Nanopore sensors for nucleic acid analysis“ J. Phys.: Condens. Matter 15: R1365–R1393 beschrieben ist. Mit Hilfe von Nanoporen ist es möglich, Informationen über die Zusammensetzung und Struktur der untersuchten Partikeln zu erhalten, bei denen es sich typischerweise um Moleküle handelt. Eine Vorrichtung der eingangs genannten Art ist in [Fig. 1](#) schematisch dargestellt. Die Vorrichtung von [Fig. 1](#) umfaßt zwei Kammern **10**, **12**, die durch eine Membran **14** getrennt sind. In der Membran ist eine Nanopore **16** ausgebildet. In beiden Kammern **10** und **12** befindet sich ein Elektrolyt. In der in der Darstellung von [Fig. 1](#) linken Kammer **10** befinden sich außerdem Partikel **18**. Mit dem Begriff „Partikel“ werden in der vorliegenden Schrift sämtliche kleinen Materialmengen bezeichnet, die dem beschriebenen Verfahren zum Erfassen und/oder Charakterisieren prinzipiell zugänglich sind, insbesondere Moleküle, Molekülkomplexe, Makromoleküle wie Proteine und Nukleinsäuren etc.

[0003] Die Nanopore **16** bildet den einzigen Durchgang für den Elektrolyten und die Partikel **18** zwischen den Kammern **10** und **12**. Wird nun eine Spannung zwischen den Kammern **10**, **12** angelegt, fließt ein Ionenstrom durch die mit dem Elektrolyten gefüllte Pore **16**. Wenn die Partikel **18** geladen sind, werden sie ebenfalls elektrophoretisch durch die Nanopore **16** getrieben. Falls die Partikel **18** ungeladen sind, können sie durch einen Druckgradienten oder durch elektroosmotischen Fluß durch die Pore getrieben werden.

[0004] Bei der Vorrichtung von [Fig. 1](#) wird der Ionenstrom durch die Nanopore **16** mit einer Strommeßeinrichtung **20** gemessen. Beim Durchgang ei-

nes oder mehrerer Partikel **18** durch die Nanopore **16** wird diese kurzzeitig blockiert, was zu einem vorübergehenden Abfall im gemessenen Ionenstrom führt. Durch die Häufigkeit, Dauer und Form des Abfalls läßt sich auf die Konzentration und die Eigenschaften (z. B. Größe und Aufbau) der Partikel schließen. Die Strommeßeinrichtung **20** ist somit ein Beispiel für eine Meßeinrichtung, die geeignet ist, eine Änderung der Impedanz der Nanopore **16** bezüglich des Ionenstroms zu erfassen, wenn eines oder mehrere von den zu erfassenden Partikeln **18** die Nanopore **16** durchquert.

[0005] In [Fig. 2](#) sind Stromsignale gezeigt, die beim Durchgang von Partikeln (hier DNA) durch die Nanopore **16** erhalten werden. Die Messungen sind aus Chen, P., et al. (2004), „Probing Single DNA Molecule Transport Using Fabricated Nanopores“, Nano Lett. 4 (11): 2293–2298 entnommen. Das linke Stromsignal zeigt einen Stromabfall im Millisekundenbereich, wenn ein DNA-Molekül „gestreckt“ durch die Nanopore **16** tritt. Das rechte Signal zeigt einen Fall, in dem das DNA-Molekül im teilweise gefalteten Zustand durch die Nanopore **16** tritt. Wie im rechten Stromsignal zu erkennen ist, fällt der Strom während des Durchgangs des DNA-Moleküls auf zwei unterschiedlich tiefe Niveaus ab, die für den Grad der Blockierung der Nanopore **16** kennzeichnend sind.

[0006] Die in [Fig. 1](#) schematisch gezeigte Vorrichtung ist unter dem Namen „Coulter“-Zähler bekannt und beispielsweise in Bayley, H. und C. R. Martin (2000), Chem. Rev. 100: 2575–2594 beschrieben.

[0007] Der bekannte Coulter-Zähler von [Fig. 1](#) wird üblicherweise für quantitative Messungen von Größen und Konzentrationen von Makromolekülen in einem Reservoir verwendet, das in der Darstellung von [Fig. 1](#) durch die linke Kammer **10** gebildet wird. Eine weitere Anwendung, an der gegenwärtig gearbeitet wird, besteht darin, DNA-Sequenzen mit Hilfe des Coulter-Zählers zu entschlüsseln. Da das Ausmaß des Stromabfalls ein Maß für die physikalische Größe desjenigen Teils des DNA-Moleküls ist, welches sich im engsten Teil der Pore **16** befindet, und da die Nukleotide des DNA-Moleküls leicht unterschiedliche Größen haben, sollte man in der Lage sein, die genetische Information der Nukleotide eines DNA-Moleküls durch zeitaufgelöste Messung des Ionenstroms durch die Nanopore, d. h. die zeitabhängige Variation der Impedanz der Nanopore **16** beim Durchtritt eines DNA-Moleküls zu entschlüsseln. Gegenwärtige Anwendungen des Coulter-Zählers von [Fig. 1](#) beschränken sich also auf die Analyse von Partikeln, die ungeordnet in einem Reservoir enthalten sind.

[0008] Eine Vorrichtung nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1 und ein Verfahren nach dem Oberbegriff des Anspruchs 21 sind aus der WO 2006/063872 A1 bekannt. Darüber hinaus zeigt die vorbekannte Vor-

richtung eine Nanopore mit veränderbarer Größe, die entweder durch einen Kanal in einem flexiblen Material gebildet wird, der durch mechanische Einwirkung auf das flexible Material vereng- und erweiterbar ist, oder als Nanopore in einer Membran angeordnet ist, wobei ihr Querschnitt durch Dehnung der Membran veränderbar ist.

[0009] In der DE 3429265 A1 ist eine Messkammer zur Messung und Beobachtung von Partikeln beschrieben, die aus zwei über eine Öffnung miteinander verbundenen Räumen besteht, in deren in Strömungsrichtung eines Trägermediums vor der Öffnung gelegenen Raum ein Partikel-Zuführungsröhrchen hineinragt. Die Messkammer ist einteilig als leicht gebogenes Röhrchen ausgebildet, das an der Biegestelle innen eine die genannte Öffnung bildende Verengung und außen im Bereich der Biegung Beobachtungsflächen aufweist. Die Messkammer ist so ausgebildet, dass Messungen und Beobachtungen mit Objektiven hoher Apertur und Vergrößerung möglich sind. Ferner gestattet diese Messkammer, dass gleichzeitig an einer Stelle der Bewegungsbahn der Partikel durch die Messkammer mehrere Messungen und/oder Beobachtungen durchgeführt werden können.

[0010] Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die Vorrichtung und das Verfahren der eingangs genannten Art weiterzuentwickeln, um sie bzw. es für weitere Anwendungen, jenseits der oben beschriebenen Analyse von Partikeln nutzbar zu machen.

[0011] Diese Aufgabe wird bei der Vorrichtung der eingangs genannten Art dadurch gelöst, daß die Vorrichtung ferner eine Pipette mit einem Endabschnitt umfaßt, in dem eine Öffnung ausgebildet ist, daß sie Mittel zum Erzeugen eines Partikelflusses von den zu erfassenden Partikeln von außerhalb der Pipette durch die Öffnung und durch die Nanopore umfaßt und daß sie Mittel zum Bewegen der Pipette relativ zu einer Probe umfaßt.

[0012] Ferner wird die Aufgabe durch ein Verfahren nach Anspruch 21 gelöst.

[0013] Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung werden somit die zu erfassenden Partikel durch die Öffnung im Endabschnitt der Pipette aufgenommen. Da die Pipette relativ zu einer Probe bewegt werden kann, können mit Hilfe der erfindungsgemäßen Vorrichtungen Partikel ortsaufgelöst erfaßt und/oder charakterisiert werden, wie unten anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert wird.

[0014] Außerdem ermöglicht es die Pipette die erfaßten und/oder charakterisierten Partikel „einzufangen“. Dadurch können einmal gemessene Partikel aufbewahrt und gegebenenfalls noch einmal gemessen

werden. Dies ist ein wesentlicher Unterschied zu dem Coulter-Zähler von [Fig. 1](#), bei dem Partikel **18**, die von der linken Kammer **10** durch die Nanopore **16** in die rechte Kammer **12** gelangen, ungehindert durch die gesamte rechte Kammer **12** diffundieren und nicht gezielt weiteren Messungen unterzogen werden können.

[0015] Die Mittel zum Erzeugen des Partikelflusses können zumindest teilweise durch die genannte Spannungsquelle gebildet werden. Dies bietet sich insbesondere dann an, wenn die zu erfassenden Partikel geladen sind und ähnlich wie die Ionen des Elektrolyten durch Elektrophorese in die Pipette hinein und durch die Nanopore getrieben werden. Jedoch kann auch bei ungeladenen Partikeln ein Partikelfluß als sogenannter elektroosmotischer Fluß in Folge des elektrischen Potentialunterschiedes zwischen den beiden Seiten der mindestens einen Nanopore erzeugt werden.

[0016] Falls die zu erfassenden Partikel nicht geladen sind, umfaßt die Vorrichtung vorzugsweise Mittel zum Erzeugen eines Druckunterschiedes zwischen einem Abschnitt im Inneren und einem Abschnitt im Äußeren der Pipette.

[0017] In einer vorteilhaften Weiterbildung hat die mindestens eine Nanopore eine veränderbare Größe. Die Nanopore veränderbarer Größe gestattet es, die Vorrichtung für das Erfassen und/oder Charakterisieren von Partikeln unterschiedlicher Größe zu verwenden. Durch Ändern der Größe der Nanopore ist es außerdem möglich, die Partikel nach ihrer Größe zu diskriminieren und sogar zu sortieren. Auch kann die Größe der Nanopore in Abhängigkeit von den Eigenschaften der zu erfassenden Teilchen so eingestellt werden, daß sich ein optimales Signal-zu-Rauschen-Verhältnis ergibt.

[0018] In einer vorteilhaften Ausführungsform wird die mindestens eine Nanopore veränderbarer Größe durch einen Kanal in einem flexiblen Material gebildet, dessen Querschnitt durch Druck auf das flexible Material verengbar ist. In einer anderen vorteilhaften Ausführungsform ist die mindestens eine Nanopore in einer Membran angeordnet und der Querschnitt der Nanopore durch Dehnung der Membran veränderbar.

[0019] Vorzugsweise umfaßt die Vorrichtung einen Probenbehälter zum Aufnehmen des Elektrolyten und Bewegungsmittel zum Bewegen der Pipette und des Probenbehälters relativ zueinander. Der Begriff „Probe“ bezeichnet in der vorliegenden Schrift allgemein jeden Gegenstand oder jedes Objekt, das mit der Vorrichtung und dem Verfahren der Erfindung untersucht werden kann. Beispielsweise kann eine Probe einfach durch einen Elektrolyten gebildet werden, in dem sich zu erfassende Partikel befinden, oder

durch ein biologisches System wie beispielsweise lebende Zellen, die von einem Elektrolyten umgeben sind.

[0020] In einer vorteilhaften Weiterbildung sind die Bewegungsmittel dazu ausgelegt, den Endabschnitt der Pipette derart in ein der Öffnung im Endabschnitt gegenüberliegendes nachgiebiges Material zu drücken, daß sich die effektive Öffnungsfläche der Öffnung verringert, um dadurch eine Nanopore veränderbarer Größe zu bilden. Gemäß dieser Weiterbildung wird die Nanopore also dadurch gebildet, daß die Öffnung im Endabschnitt der Pipette teilweise verschlossen bzw. zugedeckt wird, wenn der Endabschnitt der Pipette in das nachgiebige Material gedrückt wird. In einer vorteilhaften Ausführungsform kann das nachgiebige Material durch eine Fläche aus einem Polymermaterial, insbesondere aus Poly-(dimethylsiloxan) gebildet werden. Das nachgiebige Material kann aber auch durch die Probe selbst, beispielsweise eine Zelle gebildet werden, in die der Endabschnitt der Pipette gedrückt wird.

[0021] In einer besonders vorteilhaften Ausführungsform umfassen die Bewegungsmittel einen XYZ-Scanner. Dabei umfaßt die Vorrichtung ferner vorzugsweise eine Steuerungseinrichtung zum Ansteuern des XYZ-Scanners zum Abtasten der Oberfläche einer Probe, in dem der Endabschnitt der Pipette in einem konstanten Abstand über die Oberfläche der Probe gefahren wird. Gemäß dieser vorteilhaften Ausführungsform wird die Pipette somit zu einem Rastersondenmikroskop weitergebildet. Dadurch kann eine Probe abgetastet werden, und gleichzeitig können die Partikel orts aufgelöst durch die Öffnung der Pipette aufgenommen und mit Hilfe der Nanopore erfaßt bzw. charakterisiert werden.

[0022] Vorzugsweise umfaßt die Vorrichtung eine Datenverarbeitungseinrichtung, die so programmiert ist, daß sie die beim Abtasten der Oberfläche der Probe durchgeführten Relativbewegungen zwischen dem Endabschnitt der Pipette und der Probe aufzeichnet und daraus ein topographisches Bild der Probe und/oder ein Bild erzeugt, das die Messungen der Partikel in Abhängigkeit vom Ort der Pipettenöffnung repräsentiert.

[0023] In einer vorteilhaften Ausführungsform wird der Abstand zwischen dem Endabschnitt der Pipette und der Probe basierend auf einem Ionenstrom durch die Öffnung im Endabschnitt der Pipette eingestellt. Gemäß dieser Weiterbildung nimmt die Vorrichtung zusätzlich die Funktion eines Raster-Ionenleitfähigkeits-Mikroskops an, wie unten anhand eines Ausführungsbeispiels erläutert wird. In einer anderen Ausführungsform kann der Abstand zwischen dem Endabschnitt der Pipette und der Probe basierend auf Scherkräften eingestellt werden, die auf den Endabschnitt der Pipette wirken, wie ebenfalls unten an-

hand eines Ausführungsbeispiels näher erläutert wird.

[0024] Vorzugsweise hat der Innenraum der Pipette eine erste Kammer, die direkt mit der Öffnung im Endabschnitt der Pipette verbunden ist, und eine zweite Kammer, die von der ersten Kammer durch eine Trennwand getrennt ist, in welcher die mindestens eine Nanopore ausgebildet ist. Vorzugsweise enthält die Pipette ferner eine dritte Kammer, die von der ersten Kammer durch eine Trennwand getrennt ist, in welcher ebenfalls mindestens eine Nanopore ausgebildet ist. Dabei haben die Nanopore in der Trennwand zwischen der ersten Kammer und der zweiten Kammer und die Nanopore in der Trennwand zwischen der ersten Kammer und der dritten Kammer vorzugsweise eine unterschiedliche Öffnungsfläche. Dies ermöglicht es beispielsweise, zu erfassende Partikel nach ihrer Größe zu sortieren und/oder Messungen an Partikeln unterschiedlicher Größe simultan durchzuführen.

[0025] Zusätzlich oder alternativ hat die Differenz zwischen den elektrischen Potentialen der zweiten Kammer und der ersten Kammer ein anderes Vorzeichen als die Differenz zwischen den elektrischen Potentialen der dritten Kammer und der ersten Kammer. Dadurch können die zu erfassenden Partikel auch ihrer Ladung nach differenziert und sortiert werden.

[0026] Weitere Vorteile und Merkmale der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung, in der die Erfindung anhand mehrerer Ausführungsbeispiele unter Bezugnahme auf die beigefügten Zeichnungen erläutert wird, von denen

[0027] [Fig. 1](#) eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zum Erfassen und/oder Charakterisieren von Partikeln nach dem Stand der Technik zeigt;

[0028] [Fig. 2](#) Stromsignale zeigt, die eine Änderung der Impedanz einer Nanopore bezüglich eines Ionenstroms charakterisieren, wenn ein Partikel eine Nanopore durchquert;

[0029] [Fig. 3](#) eine schematische geschnittene Darstellung einer Vorrichtung gemäß einer Weiterbildung der Erfindung zeigt;

[0030] [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) das Verhältnis zwischen dem Ionenstrom und dem Abstand zwischen einer Pipettenöffnung und einer Probe zeigen;

[0031] [Fig. 6](#) eine Schnittansicht einer Vorrichtung nach einer anderen Weiterbildung der Erfindung zeigt;

[0032] [Fig. 7](#) bis [Fig. 9](#) unterschiedliche Ausführungsformen von Pipetten für Vorrichtungen nach

Weiterbildungen der Erfindung zeigen;

[0033] [Fig. 10](#) eine schematische Darstellung von Momentaufnahmen beim Ausbilden einer Nanopore veränderlicher Größe zeigt, indem der Endabschnitt einer Pipette in ein nachgiebiges Material gedrückt wird; und

[0034] [Fig. 11](#) und [Fig. 12](#) Beispiele für Nanoporen unterschiedlicher Größe.

[0035] In [Fig. 3](#) ist eine Vorrichtung **22** zum Erfassen oder Charakterisieren von Partikeln schematisch dargestellt. Die Vorrichtung **22** umfaßt eine Pipette **24** mit einem Körperabschnitt **26** und einem Endabschnitt **28**, in dem eine Öffnung **30** ausgebildet ist. Die Pipette **24** wird auch als „Nanopipette“ bezeichnet. Sie ist beispielsweise aus einem Glas-Röhrchen mit einem Innendurchmesser von typischerweise 1 bis 2 mm hergestellt, dessen eines Ende erhitzt und langgezogen wird, um den Endabschnitt **28** zu bilden. In dem ausgezogenen Endabschnitt **28** verringert sich der Innendurchmesser der Pipette **24** über eine Strecke von typischerweise einigen Millimeter auf einen minimalen Durchmesser bei der Öffnung **30**, der zwischen 40 nm und einigen Mikrometern betragen kann.

[0036] Im Körperabschnitt **26** der Pipette **24** ist eine Trennwand **32** ausgebildet. Die Trennwand **32** trennt eine erste Kammer **34** des Innenraums der Pipette **24**, die mit der Öffnung **30** verbunden ist, von einer zweiten Kammer **36**. In der Trennwand **32** ist eine Nanopore **38** ausgebildet, die die einzige Verbindung zwischen der ersten und der zweiten Kammer **34**, **36** bildet.

[0037] Die Nanopore **38** hat einen Querschnitt bzw. eine Öffnungsfläche, die so gewählt ist, daß sie sich zum Erfassen und Charakterisieren von Partikeln nach dem Coulter-Prinzip eignet, welches im Zusammenhang mit [Fig. 1](#) beschrieben wurde. Der Durchmesser der Nanopore **38** hängt in der konkreten Anwendung daher von der Größe der Partikel ab, die zu detektieren sind. In einer typischen Anwendung ist der Durchmesser der Nanopore **38** kleiner als 30 nm (entsprechend einer Öffnungsfläche von ca. 700 nm²) und vorzugsweise kleiner als 15 nm (entsprechend einer Öffnungsfläche von rund 200 nm²). Bei dieser Gelegenheit wird darauf hingewiesen, daß bei der Pipette **24** in manchen Ausführungsformen die Öffnung **30** selbst im Nanometerbereich liegt und daher als „Nanopore“ bezeichnet werden könnte. Jedoch ist die Öffnung **30** im gezeigten Ausführungsbeispiel deutlich größer als die Nanopore **38**, und sie erfüllt auch nicht die Funktion einer Nanopore im Sinne des Coulter-Prinzips. Wenn nämlich der Endabschnitt **28** der Pipette **24** so stark ausgezogen wäre, daß die Öffnung **30** beispielsweise auf einen Durchmesser von einigen Nanometern verengt würde, wäre der Wi-

derstand für den Ionenfluß durch den Endabschnitt **28**, d. h. den Halsabschnitt der Pipette **24**, zu hoch, als daß sich mit den gegenwärtig bekannten Meßvorrichtungen Coulter-Messungen guter Qualität erreichen ließen.

[0038] Die Pipette **24** ist in einen Behälter **40** getaucht, auf dessen Boden sich eine Probe **42** befindet, bei der es sich beispielsweise um lebende Zellen handelt. Der Behälter **40** ist mit einem Elektrolyten **44** gefüllt, der in der Darstellung von [Fig. 3](#) durch Wellensymbole angedeutet ist. In dem Elektrolyten **44** befinden sich ferner Partikel **46**, beispielsweise Moleküle oder Molekülkomplexe, die in [Fig. 3](#) durch Punkte dargestellt sind, von denen eines exemplarisch mit Bezugszeichen **46** bezeichnet ist.

[0039] Das Gefäß **40** ist auf einem XYZ-Scanner **48** angeordnet, mit dem es relativ zur Pipette **24** in allen drei Raumrichtungen bewegt werden kann. Alternativ könnte auch ein XYZ-Scanner vorgesehen sein, mit dem die Pipette **24** relativ zum Gefäß **40** und der darin enthaltenen Probe **42** bewegt würde.

[0040] Eine erste Elektrode **50** ist außerhalb der Pipette **24** in den Elektrolyten **44** getaucht und hält den Elektrolyten **44** in dem Gefäß **40** auf einem ersten Potential V_1 . In der ersten Kammer **34** der Pipette **24** befindet sich eine zweite Elektrode **52**, die den Elektrolyten in der ersten Kammer **34** auf einem Potential V_2 hält. Schließlich befindet sich in der zweiten Kammer **36** eine dritte Elektrode **54**, die den Elektrolyten in der zweiten Kammer **36** auf einem dritten Potential V_3 hält. Eine erste Strommeßvorrichtung **56** mißt im wesentlichen (d. h. bis auf den Strom, der durch die Nanopore in die zweite Kammer **36** fließt) den Ionenstrom des Elektrolyten zwischen dem Behälter **40** und der ersten Kammer **34**. Eine zweite Strommeßvorrichtung **58** mißt den Ionenstroms des Elektrolyten zwischen der ersten Kammer **34** und der zweiten Kammer **36**. Die von den Strommeßvorrichtungen **56** und **58** gemessenen Ströme werden über Signalleitungen **60** zu einem Computer **62** übertragen. Der Computer **62** ist über eine weitere Signalleitung **60** mit dem XYZ-Scanner **48** verbunden, über die er diesen ansteuern kann. Ferner ist der Computer **62** über eine weitere Signalleitung **60** mit einem Ausgabegerät, beispielsweise einem Bildschirm verbunden.

[0041] Im folgenden wird die Funktion der Vorrichtung **22** von [Fig. 3](#) beschrieben. Der Computer **62** steuert den XYZ-Scanner **48** derart an, daß der Endabschnitt **28** der Pipette **24** in einem konstanten Abstand über die Oberfläche der Probe gefahren wird. Der Abstand zwischen dem Endabschnitt der Pipette **24** und der Probe **42** wird dabei nach einem Prinzip eingestellt, welches per se von sogenannten Raster-Ionenleitfähigkeits-Mikroskopen bekannt ist. Aufgrund des Unterschiedes zwischen den Potentialen V_1 und V_2 fließt ein Ionenstrom zwischen dem Behäl-

ter **40** und der ersten Kammer **34**. Dieser Ionenstrom wird mit der Strommeßvorrichtung **56** gemessen. Wenn sich die Öffnung **30** der Probe **42** nähert, tritt ab einer bestimmten Entfernung ein sogenannter „Abschnüreffekt“ auf, aufgrund dessen der Durchtritt von Ionen durch die Öffnung **30** erschwert wird, was zu einem Abfall des mit der Vorrichtung **56** gemessenen Ionenstroms führt.

[0042] [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) zeigen das Verhältnis zwischen dem Abstand zwischen dem Endabschnitt **28** der Pipette **24** und der Probe **42** einerseits und dem gemessenen Ionenstrom durch die Öffnung **30** andererseits. In den Diagrammen von [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) ist auf der Abszisse die vertikale Bewegung (d. h. Bewegung in Z-Richtung) des Behälters **40** durch den XYZ-Scanner aufgetragen und auf der Ordinate der mit der Strommeßvorrichtung **56** gemessene Strom. [Fig. 5](#) zeigt einen vergrößerten Ausschnitt der Messung von [Fig. 4](#). In beiden Diagrammen ist die Strom-Abstandskurve sowohl für das Annähern der Pipette **24** an die Probe als auch für deren Zurückziehen gezeigt. Die Abweichung der beiden Kurven voneinander demonstriert eine Hysterese des beschriebenen „Abschnüreffekts“.

[0043] In einer Ausführungsform wird die Pipette **24** so über die Probe **42** gefahren, daß der mit der Strommeßvorrichtung **56** gemessene Strom auf einem konstanten Wert gehalten wird. Der gemessene Strom entspricht nahezu dem Ionenstrom durch die Öffnung **30**, vermindert um den Ionenstrom durch die Nanopore **38**, der aber aufgrund der geringen Größe der Nanopore **38** nur einen kleineren Anteil ausmacht. Der Computer **62** steuert den XYZ-Scanner so an, daß der Ionenstrom und damit der Abstand zwischen Pipette **24** und Proben **42** beim Abrastern konstant gehalten wird. Die beim Abtasten der Oberfläche der Probe **42** durchgeführten Bewegungen des XYZ-Scanners werden vom Computer **62** aufgezeichnet, und aus ihnen wird ein topographisches Bild der Oberfläche erzeugt, welches an die Ausgabevorrichtung **64** ausgegeben wird. Alternativ zum beschriebenen Verfahren könnte die Pipette **24** auch zumindest abschnittsweise auf einem konstanten horizontalen Niveau (d. h. bei einem konstanten Z-Wert des XYZ-Scanners **48**) über die Probe **42** gefahren werden und der Abstand zwischen der Öffnung **30** und der Probe **42** durch Änderungen im gemessenen Strom unter Zuhilfenahme der Diagramme von [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) gemessen werden, um dadurch ebenfalls ein topographisches Bild bzw. Relief der Probe **42** zu erzeugen.

[0044] In der Ausführungsform von [Fig. 3](#) sind die zu erfassenden Partikel **46** geladen, und sie werden aufgrund der Unterschiede zwischen den Potentialen V_1 , V_2 und V_3 von außerhalb der Pipette **24** durch die Öffnung **30** und durch die Nanopore **38** in die zweite Kammer **36** bewegt. Beim Durchtritt der Partikel **46**

durch die Nanopore **38** wird die Impedanz der Nanopore **38** bezüglich des Ionenstroms des Elektrolyten variiert, was bei der Strommeßvorrichtung **58** zu Stromsignalen von der Art führt, wie sie in [Fig. 2](#) gezeigt sind. Durch Analyse der Stromsignale der Strommeßvorrichtung **58** können die Partikel **46** auf ähnliche Weise erfaßt und charakterisiert werden, wie dies im Zusammenhang mit dem Coulter-Zähler von [Fig. 1](#) erläutert wurde.

[0045] Es wird jedoch deutlich, daß die Funktion der Vorrichtung von [Fig. 3](#) weit über diejenige des herkömmlichen Coulter-Zählers von [Fig. 1](#) hinausgeht. Da der Partikelfluß der Partikel **46** durch die Öffnung **30** der Pipette **24** geht, können die Partikel je nach gegenwärtiger Position der Pipette **24** bezüglich der Probe **42** orts aufgelöst erfaßt und charakterisiert werden. Wenn die Probe **42** beispielsweise eine lebende Zelle ist, in deren Zellmembran Kanäle ausgebildet sind, durch die Partikel **46** hindurchtreten, können die austretenden Partikel orts aufgelöst detektiert werden. Z. B. können die Kanäle durch eine lokal erhöhte Konzentration der Partikel „sichtbar“ gemacht werden. Auch können Partikel, die durch Öffnungen zwischen Zellen einer Zellschicht hindurchtreten, erfaßt und charakterisiert werden. Ähnliche Untersuchungen können bisher nur durch Markierung von Molekülen durchgeführt werden. Die Vorrichtung von [Fig. 3](#) hingegen gestattet eine markierungsfreie Detektion von Molekülen, insbesondere Biomolekülen. Auch kann durch Analyse der Stromsignale an der Strommeßvorrichtung **58** die Größe, Zusammensetzung und/oder Struktur der Partikel analysiert werden.

[0046] Ein weiterer funktioneller Unterschied zwischen der Vorrichtung von [Fig. 3](#) und einem herkömmlichen Coulter-Zähler besteht darin, daß die Partikel nach dem Durchtritt durch die Nanopore **38** nicht unkontrolliert durch ein großes Reservoir diffundieren. Statt dessen befinden sich die Partikel **46** nach dem Durchtritt durch die Nanopore **38** in der räumlich eng begrenzten zweiten Kammer **36**, und sie können aus dieser zur weiteren Analyse entnommen werden. Auch besteht die Möglichkeit, ein Partikel durch Umpolen der Spannung zwischen den Elektroden **52** und **54** mindestens zweimal durch die Nanopore **38** hin und her zu treiben, wodurch weitere Information über das Partikel gewonnen werden kann. Allgemein gestattet der Aufbau mit der Pipette **24** und insbesondere mit deren Kammern es, die zu untersuchenden oder bereits untersuchten Partikel einzuschließen, um sie für weitere Untersuchungen verfügbar zu machen.

[0047] Die von der Strommeßvorrichtung **58** gemessenen Signale werden vom Computer **62** verarbeitet. Der Computer **62** kann ein Bild erzeugen, das die Messungen der Partikel, beispielsweise deren Konzentration, in Abhängigkeit vom Ort der Pipetten-

öffnung **30** repräsentiert.

[0048] In [Fig. 6](#) ist eine alternative Ausführungsform einer Vorrichtung **66** nach einer Weiterbildung der Erfindung gezeigt. Gleiche oder ähnliche Bestandteile der Vorrichtung **66** werden mit denselben Bezugszeichen bezeichnet wie in [Fig. 3](#). Die Vorrichtung **66** umfaßt eine Pipette **24**, deren Aufbau mit derjenigen von [Fig. 3](#) identisch ist und daher nicht noch einmal beschrieben wird. Die Vorrichtung **66** umfaßt ebenfalls einen Behälter **40**, in dem ein Elektrolyt **44** und zu erfassende Partikel **46** enthalten sind, eine Probe **42**, die im Ausführungsbeispiel von [Fig. 6](#) durch eine biologische Membran gebildet ist, und einen XYZ-Scanner **48**. Die Membran **42** ist zwischen Magneten **68** und einem Eisenring **70** eingespannt und wird dadurch gehalten.

[0049] Der Hauptunterschied zwischen den Vorrichtungen von [Fig. 3](#) und [Fig. 6](#) besteht in der Abstandsmessung zwischen dem Endabschnitt **28** der Pipette **24** und der Probe **42**. Bei der Vorrichtung **66** von [Fig. 6](#) wird der Abstand durch Scherkräfte bestimmt, die auftreten, wenn sich der Endabschnitt der Pipette **24** der Probe **42** nähert. Dazu wird der Endabschnitt **28** der Pipette **24** mit einem Piezoaktor **72** in Schwingungen versetzt. Ein Laser **74** erzeugt einen Laserstrahl **76**, der auf den Endabschnitt **28** der Pipette **24** fokussiert ist. Der Laserstrahl **76** trifft auf einen positionsempfindlichen Sensor, beispielsweise einen segmentierten Fotodetektor **78**. Wenn sich der Endabschnitt **28** der Pipette **24** der Probe **42** nähert, treten Scherkräfte auf, die die Vibration des Endabschnitts **28** dämpfen. Die Modulation der Vibration des Endabschnitts **28**, die für die Scherkräfte charakteristisch ist, wird vom Fotodetektor **78** detektiert.

[0050] Die Membran (Probe) **42** von [Fig. 6](#) hat Öffnungen **80**, durch die die zu erfassende Partikel **46** hindurchtreten können. Wenn die Pipette **24** der Vorrichtung **66** über die Membran **42** gerastert wird, werden einerseits die Öffnungen **80** durch Modulation in der Scherkraft detektiert, andererseits werden die Öffnungen durch lokale Konzentrationsänderungen in den erfaßten Partikeln **46** detektiert, und die Partikel können darüber hinaus orts aufgelöst charakterisiert werden.

[0051] In [Fig. 7](#) ist eine alternative Ausführungsform **82** einer Vorrichtung nach einer Weiterbildung der Erfindung gezeigt. Die Vorrichtung **82** umfaßt eine Pipette **24**, die in ihrem Aufbau denjenigen von [Fig. 3](#) und [Fig. 6](#) entspricht. Die Vorrichtung von [Fig. 7](#) umfaßt Mittel (nicht gezeigt) zum Erzeugen eines Druckunterschiedes zwischen dem Druck p_1 im Behälter **40** außerhalb der Pipette **24** und einem Druck p_2 in der ersten Kammer **34** der Pipette **24** wobei $p_2 < p_1$. Durch diesen Druckunterschied wird auch bei nicht-geladenen zu untersuchenden Partikeln **46** ein Partikelfluß von außerhalb der Pipette **24** durch die

Öffnung **30** hindurch in die erste Kammer **34** der Pipette erzeugt. Der Druck p_3 in der zweiten Kammer **36** ist noch geringer als der Druck p_2 in der ersten Kammer **34**, so daß zumindest ein Teil des Partikelflusses durch die Nanopore **38** geführt wird.

[0052] Der Druckunterschied kann beispielsweise dadurch hergestellt werden, daß an den Kammern **34** und **36** gesaugt wird, wie durch den Pfeil **84** in [Fig. 7](#) schematisch angedeutet ist. Aufgrund des Druckunterschiedes ist der Pegel in der ersten Kammer **34** in der Darstellung von [Fig. 7](#) gegenüber dem Pegel des Elektrolyten in dem Behälter **40** erhöht. Obwohl der Druck p_3 in der zweiten Kammer **36** noch geringer ist als p_2 , ist in der Darstellung von [Fig. 7](#) der Elektrolytpegel in der zweiten Kammer **36** nicht sichtbar erhöht, weil der Elektrolyt- und Partikelfluß durch die Nanopore **38** aufgrund deren geringen Querschnitts vergleichsweise gering ist.

[0053] [Fig. 8](#) und [Fig. 9](#) zeigen alternative Ausführungsformen der Pipette. [Fig. 8](#) zeigt eine Pipette **86** mit einem Körperabschnitt **26**, einem Endabschnitt **28** und einer Öffnung **30**. Die Pipette **86** umfaßt eine erste Kammer **88** und eine zweite Kammer **90**, die durch eine Trennwand **92** voneinander getrennt sind. Die erste und die zweite Kammer **88**, **90** sind beide mit der Öffnung **30** verbunden. Die Pipette **86** umfaßt ferner eine dritte Kammer **94**, die von der ersten Kammer **88** durch eine Trennwand **96** getrennt ist, in der eine erste Nanopore **98** ausgebildet ist. Außerdem umfaßt die Pipette **86** eine vierte Kammer **100**, die von der zweiten Kammer **90** durch eine Trennwand **102** getrennt ist, in der eine zweite Nanopore **104** ausgebildet ist. In der ersten Kammer **88** ist eine erste Elektrode **106** angeordnet, die die erste Kammer auf einem Potential V_1 hält, in der zweiten Kammer **90** eine zweite Elektrode **108**, die die zweite Kammer **90** auf einem Potential V_2 hält, in der dritten Kammer **94** eine dritte Elektrode **110**, die die dritte Kammer **94** auf einem Potential V_3 hält und in der vierten Kammer **100** eine vierte Elektrode **112**, die die vierte Kammer **100** auf einem Potential V_4 hält. Bezüglich der Potentiale V_1 bis V_4 gilt die folgende Beziehung: $V_3 > V_1 > V_2 > V_4$. Außerhalb der Pipette **24** ist außerdem eine Badelektrode **113** in den Elektrolyten **44** getaucht, die sich auf einem Potential V_0 befindet, wobei $V_1 > V_0 > V_2$.

[0054] Bei der Pipette **86** von [Fig. 8](#) können zu erfassende Partikel **46** unterschiedlicher Ladung getrennt und separat erfaßt und charakterisiert werden. Negativ geladene Partikel **46** werden durch die Öffnung **30** in die erste Kammer **88** transportiert, und ein Teil von ihnen fließt weiter durch die erste Nanopore **98** in die dritte Kammer **94**. Beim Durchtritt durch die erste Nanopore **98** können mit Hilfe einer Strommeßvorrichtung **114** Änderungen der Impedanz der ersten Nanopore **98** gemessen werden, wodurch die Partikel **46** wie oben beschrieben erfaßt und charak-

terisiert werden können. Auf ähnliche Weise gelangen positive zu erfassende Partikel **46** durch die Öffnung **30** in die zweite Kammer **90** und weiter durch die zweite Nanopore **104** in die vierte Kammer **100**, wobei die positiven Partikel mit Hilfe einer Strommeßvorrichtung **116** auf oben beschriebene Weise erfaßt und charakterisiert werden können. Mit Hilfe der Strommeßvorrichtungen **118** und/oder **120** kann ferner der Abstand zwischen dem Endabschnitt **28** der Pipette **86** und der Probe **42** auf die oben beschriebene Weise gemessen werden, so daß auch die Pipette **86** als Rastersonde verwendbar ist.

[0055] **Fig. 9** zeigt dieselbe Pipette **86** wie **Fig. 8**, bei der lediglich die Elektroden **106**, **108**, **110** und **112** anders geschaltet sind. Der Übersichtlichkeit halber sind in **Fig. 9** alle Bezugszeichen weggelassen, die mit denjenigen von **Fig. 8** identisch sind. Der Hauptunterschied zwischen **Fig. 8** und **Fig. 9** besteht darin, daß bei der Vorrichtung von **Fig. 9** der Strom gemessen wird, der zwischen der ersten Kammer **88** und der zweiten Kammer **90** fließt. Dazu wird eine Strommeßvorrichtung **122** verwendet, die zwischen die erste Elektrode **106** und die zweite Elektrode **108** geschaltet ist. Der Ionenstrom zwischen der ersten Kammer **88** und der zweiten Kammer **90** fließt um das in der Darstellung von **Fig. 9** untere Ende der Trennwand **92** herum.

[0056] Dieser Ionenstrom wird beim Annähern der Pipette **86** an die Probe **42** abgeschnürt, so daß er sich zur Abstandsmessung eignet.

[0057] **Fig. 8** und **Fig. 9** zeigen nur beispielhafte Weiterentwicklungen der Pipette, die für die erfindungsgemäße Vorrichtung und das erfindungsgemäße Verfahren verwendbar sind, und viele weitere Modifikationen sind möglich. Beispielsweise könnten die erste und die zweite Nanopore **98**, **104** unterschiedliche Größen haben, um die zu erfassenden Partikel **46** nach ihrer Größe zu charakterisieren oder zu sortieren. Auch könnte man sich die Trennwand **92** in **Fig. 8** und **Fig. 9** wegdenken und sich statt dessen eine Vielzahl von Kammern vorstellen, die jeweils durch eine Nanopore unterschiedlicher Größe mit einer Hauptkammer verbunden sind, die ihrerseits mit der Öffnung **30** verbunden ist.

[0058] Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird im Zusammenhang mit **Fig. 10** beschrieben. **Fig. 10** zeigt Momentaufnahmen des äußersten Endes eines Endabschnittes **28** einer Pipette, der in ein nachgiebiges Material **124** gedrückt wird. Bei dem nachgiebigen Material **124** kann es sich beispielsweise um eine Polymermaterialschiicht, beispielsweise eine Schicht aus Poly-dimethylsiloxan handeln, die extra zu diesem Zweck bereitgestellt ist. Bei dem nachgiebigen Material **124** kann es sich aber auch um eine Probe handeln, beispielsweise eine Zelle. Die Mittel zum Bewegen der Pipette relativ zu

einer Probe, wie beispielsweise der XYZ-Scanner **48** der vorhergehenden Figuren, sind dazu ausgelegt, den Endabschnitt **28** der Pipette **24** derart in das nachgiebige Material **124** zu drücken, daß sich die effektive Öffnungsfläche der Öffnung **30** verringert. Diese Verringerung der Öffnungsfläche ist in der Abfolge von Momentaufnahmen a bis c zu erkennen, bei der die effektive Öffnung der Öffnung **30** nach und nach sichelförmig eingeengt wird. Dadurch wird die Öffnung **30** zu einer Nanopore mit veränderbarer Größe.

[0059] In dem Beispiel von **Fig. 10** ist die Pipette schräg zu der Oberfläche des nachgiebigen Materials gerichtet, wodurch sich die sichelförmige Einschnürung der effektiven Öffnungsfläche ergibt. Die Pipette könnte jedoch auch senkrecht zur Oberfläche gerichtet sein und dafür das Ende der Pipette abgelenkt sein.

[0060] Wie eingangs erwähnt wurde, bildet die Öffnung **30** der Pipette bei den hier im Detail beschriebenen Ausführungsformen selbst nicht die Nanopore für die Erfassung und Charakterisierung von Partikeln nach dem Coulter-Prinzip. Vielmehr ist die Öffnung **30** hier größer, als dies für die Coulter-Messungen zweckdienlich wäre, damit der Widerstand für den Ionenstrom durch den Endabschnitt der Pipette nicht zu groß wird. Statt dessen waren bei den Ausführungsformen von **Fig. 3** und **Fig. 6** bis **Fig. 9** die Nanoporen in einer Trennwand im Inneren der Pipette angeordnet.

[0061] Die Ausführungsform von **Fig. 10** gibt eine Möglichkeit an, die Nanopore gewissermaßen während des Betriebs der Vorrichtung auszubilden, indem die Pipettenöffnung **30** auf die in **Fig. 10** gezeigte Weise verengt wird, um dadurch die für die beabsichtigte Messung geeignete Nanopore zu erzeugen. Die Vorrichtung benötigt dann keine weitere Nanopore im Inneren der Pipette mehr.

[0062] Beim Betrieb der Vorrichtung nach dieser Weiterbildung kann die Pipette, ähnlich wie im Zusammenhang mit **Fig. 3** beschrieben, über eine Probe gerastert werden, wobei der Abschnüreffekt zur Abstandsmessung verwendet wird. Dann kann die Pipette zum Zwecke der Partikelmessung weiter auf die Probe zu bewegt werden, um dadurch die effektive Öffnungsfläche der Öffnung **30** zu verringern. Bei derart verringerter effektiver Öffnungsfläche kann die teilweise verdeckte Öffnung **30** als Nanopore **126** für die Coulter-Messung verwendet werden. Dabei kann die effektive Öffnungsfläche der Öffnung **30** variiert werden, um die Partikel noch genauer zu charakterisieren. Die Größe der effektiven Öffnungsfläche kann beispielsweise über die Stärke eines Ionenstroms in Gegenwart eines bekannten Elektrolyten eingestellt werden, der zwischen den Durchgängen von Partikeln durch die Öffnung **30** fließt.

[0063] Auch die Nanoporen **38**, **98**, **104** aus den **Fig. 3** und **Fig. 6** bis **Fig. 9** können einen veränderbaren Querschnitt haben. Beispiele für Nanoporen mit veränderbarem Querschnitt sind in **Fig. 11** und **Fig. 12** gezeigt. **Fig. 11** zeigt eine Nanopore **128**, die durch einen Kanal **130** gebildet wird, der in einem flexiblen Material **132** ausgebildet ist. Der Kanal **130** kann beispielsweise mit konventioneller Mikrokontakt-Printing-Technologie hergestellt werden. Ein Piezoaktor **134** ist so angeordnet, daß er das flexible Material **132** zusammendrücken und dadurch den Kanal **130** verengen kann, um dadurch den Querschnitt der Nanopore **128** zu verengen. Wenn der Piezoaktor **134** sich wieder zusammenzieht, weitet sich der Kanal **130** wieder. Somit ist die Verstellung der Größe der Nanopore **128** reversibel. In **Fig. 11** deuten die schraffierten Bereiche Abschnitte einer Trennwand oder Membran an, in der die Nanopore **128** angeordnet ist, bei denen es sich beispielsweise um Abschnitte der Trennwand **32** von **Fig. 3** handeln könnte.

[0064] **Fig. 12** zeigt eine Nanopore **136**, die in einer flexiblen Membran **138** ausgebildet ist. Durch Zug auf die Membran, wie er durch die Pfeile in **Fig. 12** schematisch angedeutet ist, verformt sich die Membran **138**, und die Größe der Nanopore **136** verändert sich. Der Zug kann beispielsweise durch Piezoaktoren (nicht gezeigt) bewerkstelligt werden.

[0065] Die in der vorstehenden Beschreibung, den Ansprüchen und den Figuren offenbarten Merkmale können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in ihren verschiedenen Ausführungen von Bedeutung sein.

Bezugszeichenliste

10	erste Kammer
12	zweite Kammer
14	Trennwand
16	Nanopore
18	Partikel
20	Strommeßvorrichtung
22	Vorrichtung nach einer Weiterbildung der Erfindung
24	Pipette
26	Körperabschnitt
28	Endabschnitt
30	Öffnung
32	Trennwand
34	erste Kammer
36	zweite Kammer
38	Nanopore
40	Behälter
42	Probe
44	Elektrolyt
46	zu erfassende Partikel
48	XYZ-Scanner
50–54	Elektroden

56 und 58	Strommeßvorrichtungen
60	Signalleitungen
62	Computer
64	Ausgabeeinheit
66	Vorrichtung nach einer Weiterbildung der Erfindung
68	Magneten
70	Eisenring
72	Piezo-Aktuator
74	Laser
76	Laserstrahl
78	Fotodetektor
80	Membranöffnungen
82	Vorrichtung nach einer Weiterbildung der Erfindung
84	Saugrichtung
86	Pipette
88	erste Kammer
90	zweite Kammer
92	Trennwand
94	dritte Kammer
96	Trennwand
98	Nanopore
100	vierte Kammer
102	Trennwand
104	Nanopore
106 bis 113	Elektroden
114 bis 120	Strommeßvorrichtungen
122	Strommeßvorrichtung
124	nachgiebiges Material
126	Nanopore veränderlicher Größe
128	Nanopore veränderlicher Größe
130	Kanal
132	flexibles Material
134	Piezoaktor
136	Nanopore veränderbarer Größe
138	Membran

Patentansprüche

1. Vorrichtung (**22**, **66**) zum Erfassen und/oder Charakterisieren von Partikeln (**46**), die folgendes umfaßt:
 mindestens eine Nanopore (**38**, **98**, **104**, **126**), eine Spannungsquelle zum Erzeugen eines elektrischen Potentialunterschiedes zwischen den beiden Seiten der mindestens einen Nanopore (**38**, **98**, **104**, **126**), um einen Ionenstrom durch die Nanopore (**38**, **98**, **104**, **126**) zu erzeugen, wenn die Nanopore (**38**, **98**, **104**, **126**) von einem Elektrolyten (**44**) umgeben ist; und
 eine Meßeinrichtung (**58**, **114**, **116**), die geeignet ist, eine Änderung der Impedanz der mindestens einen Nanopore (**38**, **98**, **104**, **126**) bezüglich des Ionenstromes zu erfassen, wenn eines oder mehrere von zu erfassenden Partikeln (**46**), die in dem Elektrolyten (**44**) enthalten sind, die mindestens eine Nanopore (**38**, **98**, **104**, **126**) durchquert bzw. durchqueren, gekennzeichnet durch
 eine Pipette (**24**, **86**) mit einem Endabschnitt (**28**), in

dem eine Öffnung (30) ausgebildet ist, Mittel zum Erzeugen eines Partikelflusses von den zu erfassenden Partikeln (46) von außerhalb der Pipette (24, 86) durch die Öffnung (30) und durch die Nanopore (38, 98, 104, 126); und Mittel (48) zum Bewegen der Pipette (24, 86) relativ zu einer Probe (42).

2. Vorrichtung (22, 66) nach Anspruch 1, bei der die Mittel zum Erzeugen des Partikelflusses zumindest teilweise durch die genannte Spannungsquelle gebildet sind.

3. Vorrichtung (22, 66) nach Anspruch 1 oder 2, bei der die Mittel zum Erzeugen des Partikelflusses Mittel zum Erzeugen eines Druckunterschiedes zwischen einem Abschnitt im Inneren und einem Abschnitt im Äußeren der Pipette (24, 86) umfassen.

4. Vorrichtung (22, 66) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126) eine Öffnungsfläche von weniger als 2000 nm², vorzugsweise weniger als 700 nm² und insbesondere weniger als 200 nm² hat.

5. Vorrichtung (22, 66) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126) eine veränderbare Größe hat.

6. Vorrichtung (22, 66) nach Anspruch 5, bei der die mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126) durch einen Kanal in einem flexiblen Material gebildet wird, dessen Querschnitt durch Druck auf das flexible Material verengbar ist.

7. Vorrichtung (22, 66) nach Anspruch 5, bei der die mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126) in einer Membran angeordnet ist und der Querschnitt der Nanopore durch Dehnung der Membran veränderbar ist.

8. Vorrichtung (22, 66) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, mit einem Probenbehälter (40) zum Aufnehmen des Elektrolyten (44) und mit Bewegungsmitteln (48) zum Bewegen der Pipette (24, 86) und des Probenbehälters (40) relativ zueinander.

9. Vorrichtung nach Anspruch 8 in Abhängigkeit von Anspruch 5, bei der die Bewegungsmittel (48) dazu ausgelegt sind, den Endabschnitt (28) der Pipette derart in ein der Öffnung (30) im Endabschnitt (28) gegenüberliegendes nachgiebiges Material (124) zu drücken, daß sich die effektive Öffnungsfläche der Öffnung (30) verringert, um dadurch die Nanopore (126) veränderbarer Größe zu bilden.

10. Vorrichtung nach Anspruch 9, bei der das nachgiebige Material durch eine Fläche aus einem Polymermaterial, insbesondere aus Poly-(Dimethyl-

siloxan) gebildet wird.

11. Vorrichtung (22, 66) nach einem der Ansprüche 8 bis 10, bei der die Bewegungsmittel einen XYZ-Scanner (48) umfassen.

12. Vorrichtung (22, 66) nach Anspruch 11, mit einer Steuerungseinrichtung (62) zum Ansteuern des XYZ-Scanners (48) zum Abtasten der Oberfläche einer Probe (42), indem der Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) in einem konstanten Abstand über die Oberfläche der Probe (42) gefahren wird.

13. Vorrichtung (22, 66) nach Anspruch 12, mit einer Datenverarbeitungseinrichtung (62), die so programmiert ist, daß sie die beim Abtasten der Oberfläche der Probe (42) durchgeführten Relativbewegungen zwischen dem Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) und der Probe (42) aufzeichnet und daraus ein topographisches Bild der Probe (42) und/oder ein Bild erzeugt, das die Messungen der Partikel (46) in Abhängigkeit vom Ort der Pipettenöffnung (30) repräsentiert.

14. Vorrichtung (22, 66) nach Anspruch 12 oder 13, bei der der Abstand zwischen dem Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) und der Probe (42) basierend auf einem Ionenstrom durch die Öffnung (30) im Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) eingestellt wird.

15. Vorrichtung (22, 66) nach einem der Ansprüche 12 bis 14, bei der der Abstand zwischen dem Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) und der Probe (42) basierend auf Scherkräften eingestellt wird, die auf den Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) wirken.

16. Vorrichtung (22, 66) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der der Innenraum der Pipette (24, 86) eine erste Kammer (34, 88) hat, die direkt mit der Öffnung (30) im Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) verbunden ist, und eine zweite Kammer (36, 94), die von der ersten Kammer (34, 88) durch eine Trennwand (32, 96) getrennt ist, in welcher die mindestens eine Nanopore (38, 98) ausgebildet ist.

17. Vorrichtung nach Anspruch 16, bei der der Innenraum der Pipette (24, 86) eine dritte Kammer (100) enthält, die von der ersten Kammer (90) durch eine Trennwand (102) getrennt ist, in welcher mindestens eine Nanopore (104) ausgebildet ist.

18. Vorrichtung nach Anspruch 17, bei der die Nanopore (98) in der Trennwand (96) zwischen der ersten Kammer (88) und der zweiten Kammer (94) und die Nanopore (104) in der Trennwand (102) zwischen der ersten Kammer (90) und der dritten Kammer (100) eine unterschiedliche Öffnungsfläche haben.

19. Vorrichtung nach Anspruch 17 oder 18, bei der die Differenz zwischen den elektrischen Potentialen der zweiten Kammer und der ersten Kammer ein anderes Vorzeichen hat als die Differenz zwischen den elektrischen Potentialen der dritten Kammer und der ersten Kammer.

20. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Partikel einzelne Moleküle sind oder aus Molekülkomplexen bestehen.

21. Verfahren zum Erfassen und/oder Charakterisieren von Partikeln, bei dem mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126) in einem Elektrolyten (44) angeordnet wird, in welchem zu detektierende Partikel (46) enthalten sind; ein elektrischer Potentialunterschied zwischen den beiden Seiten der Nanopore (38, 98, 104, 126) hergestellt wird, um einen Ionenstrom durch die Nanopore (38, 98, 104, 126) zu erzeugen; und Änderungen der Impedanz der mindestens einen Nanopore (38, 98, 104, 126) bezüglich des Ionenstroms erfaßt werden, wenn eines oder mehrere der zu erfassenden Partikel (46) die mindestens eine Nanopore (38, 98, 104, 126) durchquert bzw. durchqueren; dadurch gekennzeichnet, daß ein Partikelfluß von den zu detektierenden Partikeln (46) von außerhalb einer Pipette (24, 86) durch eine Öffnung (30) in einem Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) und durch die Nanopore (38, 98, 104, 126) hindurch erzeugt wird und daß die Pipette (24, 86) relativ zu einer Probe (46) bewegt wird.

22. Verfahren nach Anspruch 21, bei dem die Größe der mindestens einen Nanopore (38, 98, 104, 126) verändert wird.

23. Verfahren nach Anspruch 22, bei dem der Endabschnitt (28) der Pipette derart in ein der Öffnung (30) im Endabschnitt (28) gegenüberliegendes nachgiebiges Material (124) gedrückt wird, daß sich die effektive Öffnungsfläche der Öffnung (30) verringert, um dadurch eine Nanopore (126) veränderbarer Größe zu bilden.

24. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 23, bei dem der Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) in einem konstanten Abstand über die Oberfläche einer Probe (42) gefahren wird und die beim Abtasten der Oberfläche der Probe (42) durchgeführten Relativbewegungen zwischen dem Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) und der Probe (42) aufgezeichnet werden und daraus ein topographisches Bild der Probe (42) und/oder ein Bild erzeugt wird, das die Messungen der Partikel (46) in Abhängigkeit vom Ort der Pipettenöffnung (30) repräsentiert.

25. Verfahren nach Anspruch 24, bei dem der Abstand zwischen dem Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) und der Probe (42) basierend auf einem Ionenstrom durch die Öffnung (30) im Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) eingestellt wird.

nenstrom durch die Öffnung (30) im Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) eingestellt wird.

26. Verfahren nach Anspruch 24 oder 25, bei dem der Abstand zwischen dem Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) und der Probe (42) basierend auf Scherkräften eingestellt wird, die auf den Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) wirken.

27. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 26, bei dem der Innenraum der Pipette (24, 86) eine erste Kammer (34, 88) hat, die direkt mit der Öffnung (30) im Endabschnitt (28) der Pipette (24, 86) verbunden ist, und eine zweite Kammer (36, 94), die von der ersten Kammer (34, 88) durch eine Trennwand (32, 96) getrennt ist, in welcher die mindestens eine Nanopore (38, 98) ausgebildet ist.

28. Verfahren nach Anspruch 27, bei dem der Innenraum der Pipette (24, 86) eine dritte Kammer (100) enthält, die von der ersten Kammer (90) durch eine Trennwand (102) getrennt ist, in welcher mindestens eine Nanopore (104) ausgebildet ist.

29. Verfahren nach Anspruch 28, bei dem die Nanopore (98) in der Trennwand (96) zwischen der ersten Kammer (88) und der zweiten Kammer (94) und die Nanopore (104) in der Trennwand (102) zwischen der ersten Kammer (90) und der dritten Kammer (100) eine unterschiedliche Öffnungsfläche haben.

30. Verfahren nach Anspruch 28 oder 29, bei dem in der ersten Kammer ein erstes Potential angelegt wird, in der zweiten Kammer ein zweites Potential angelegt wird und in der dritten Kammer ein drittes Potential angelegt wird und die Differenz zwischen dem zweiten Potential und dem ersten Potential ein anderes Vorzeichen hat als die Differenz zwischen dem dritten Potential und dem ersten Potential.

Es folgen 8 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

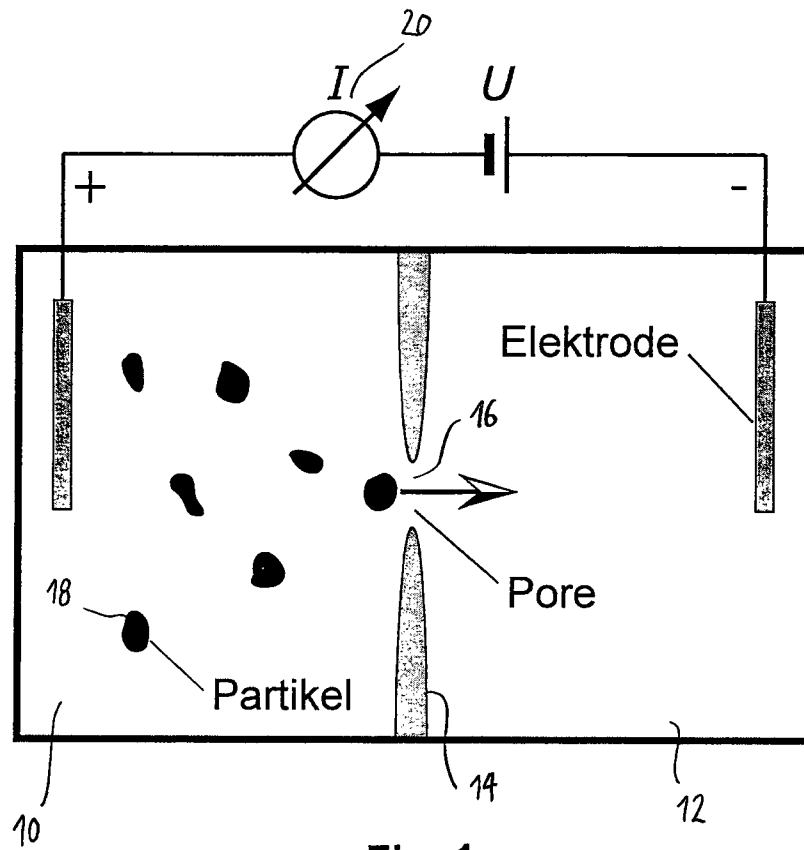


Fig. 1

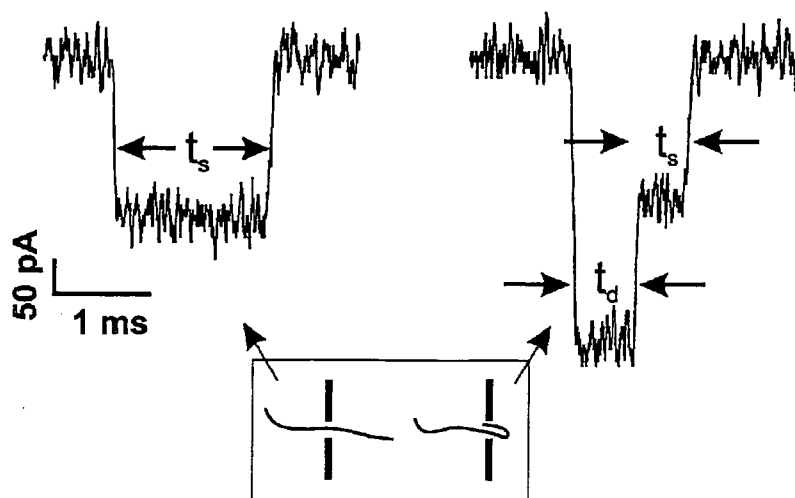


Fig. 2

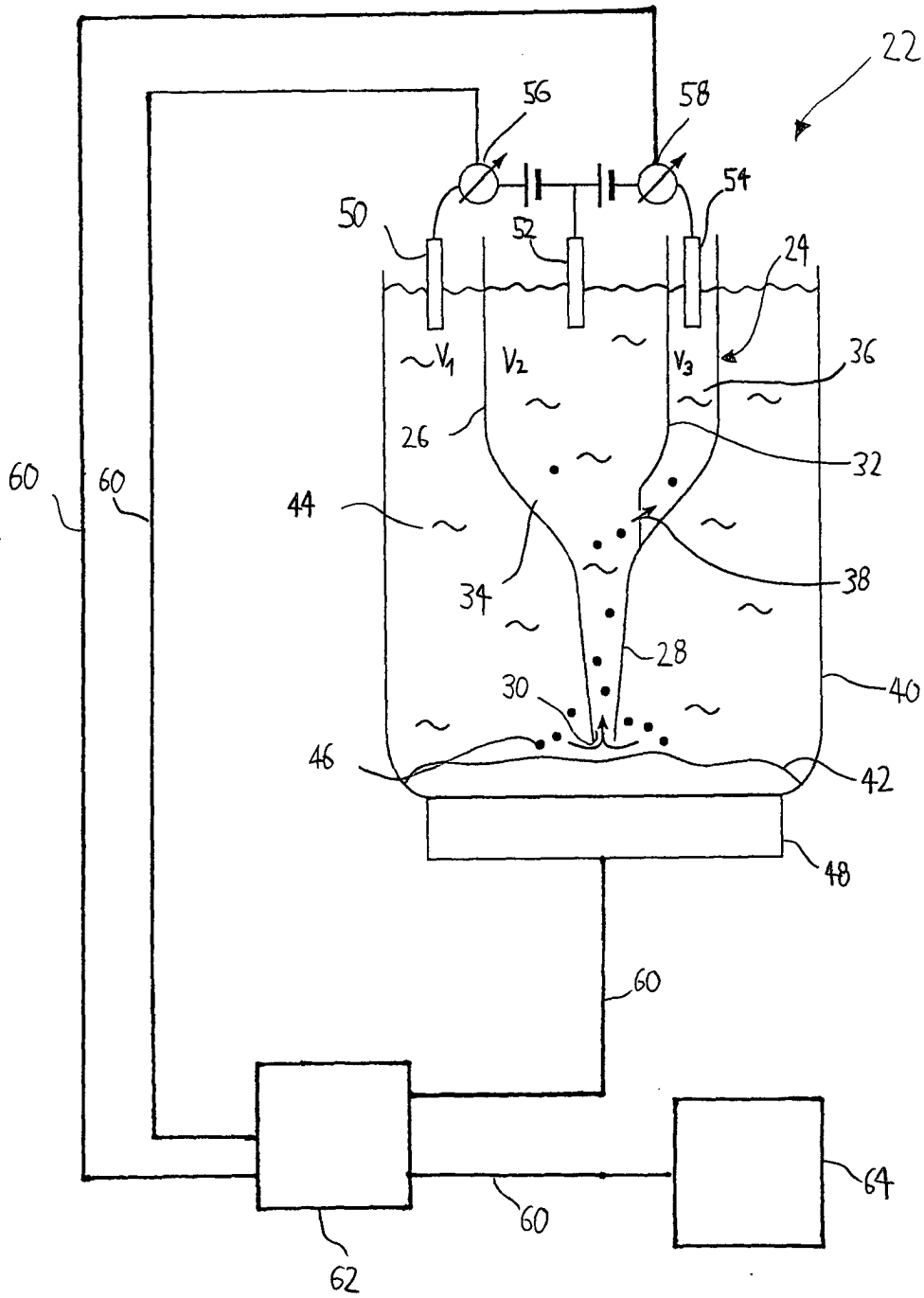


Fig. 3

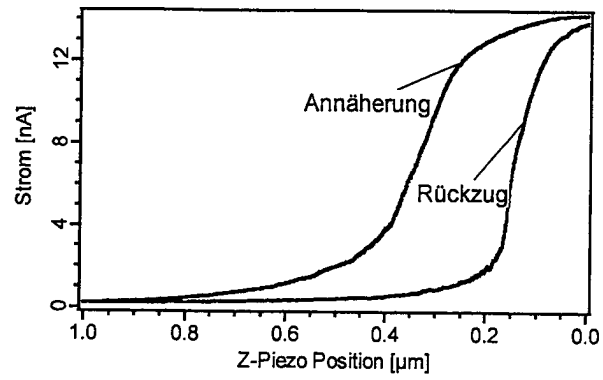


Fig. 4

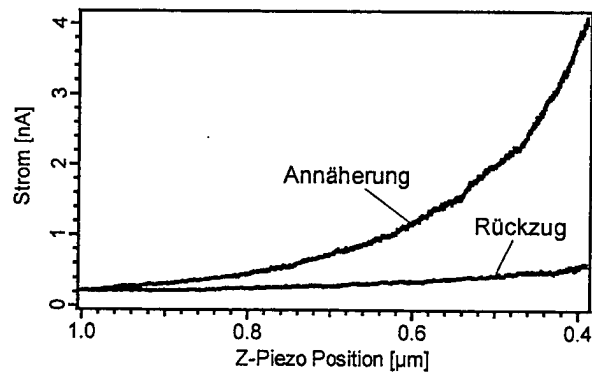


Fig. 5

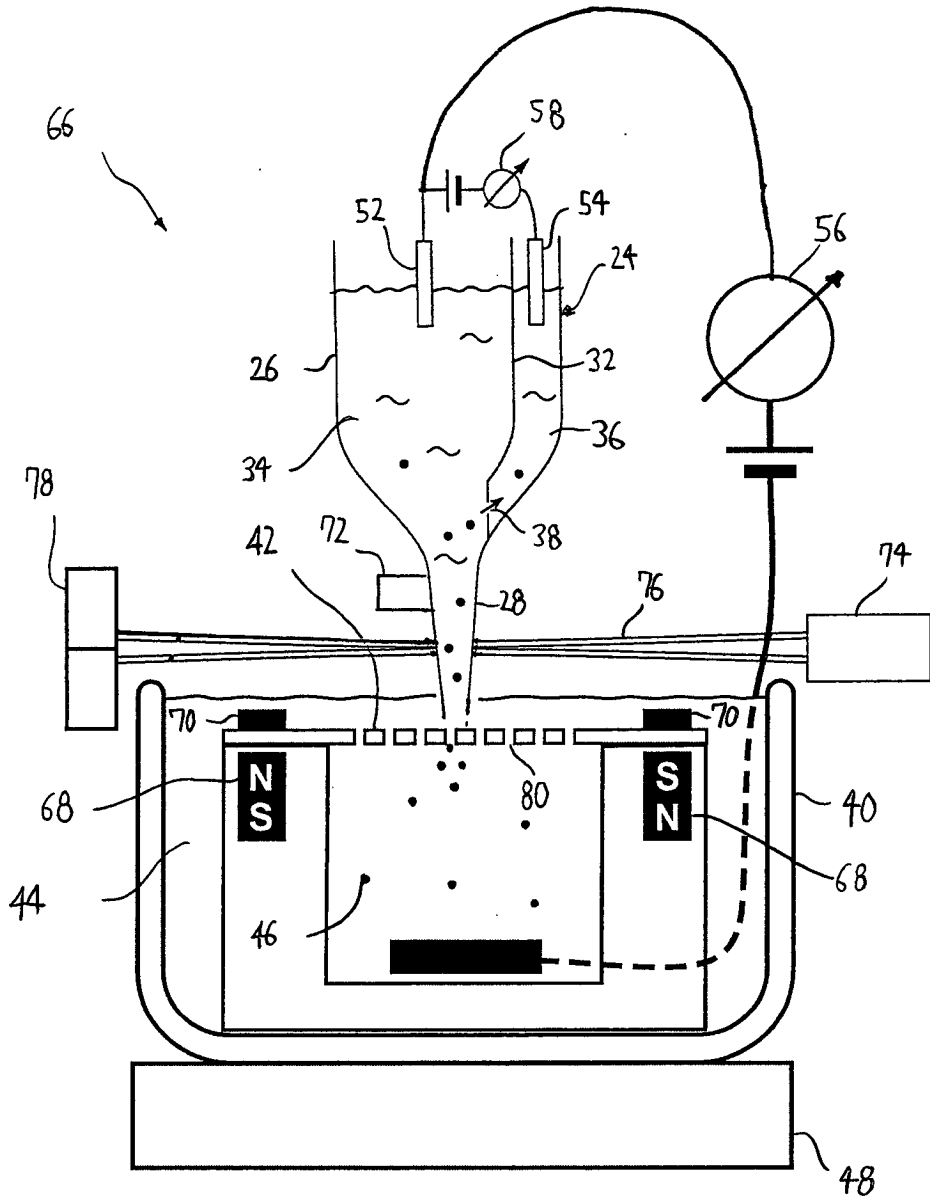


Fig. 6

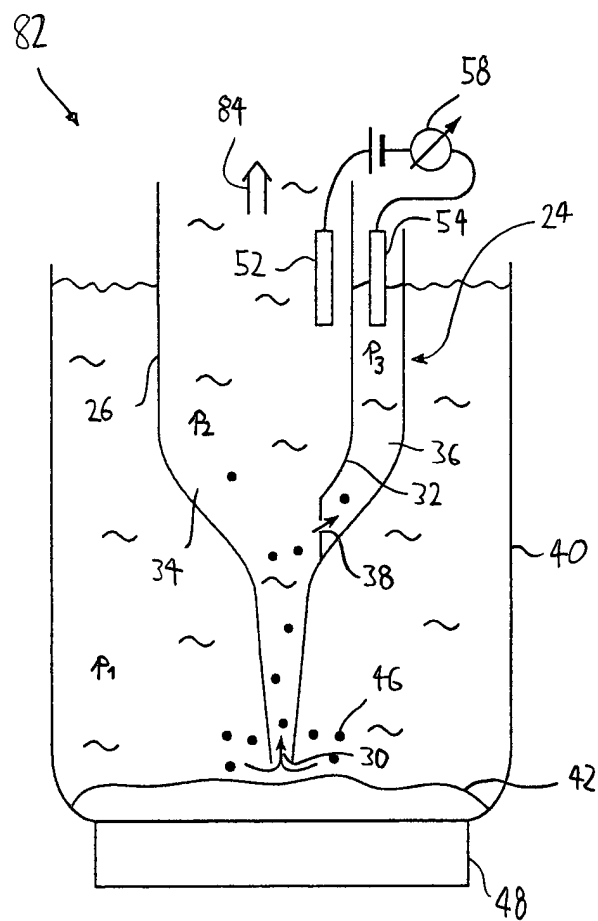


Fig. 7

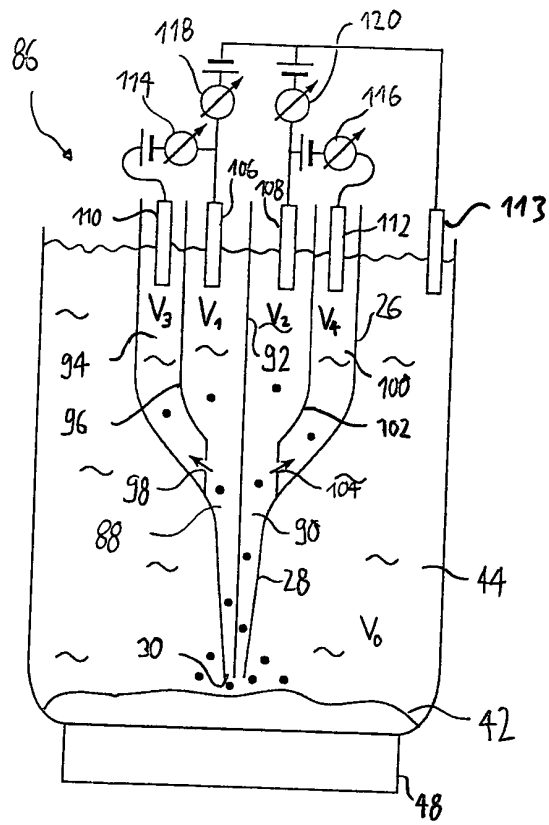


Fig. 8

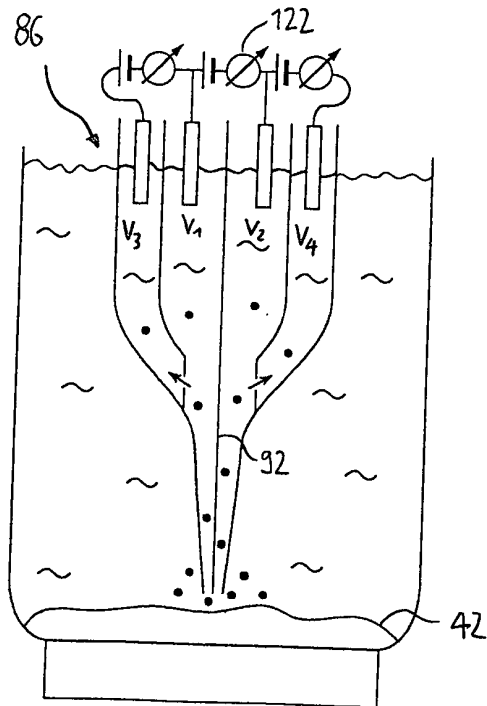


Fig. 9

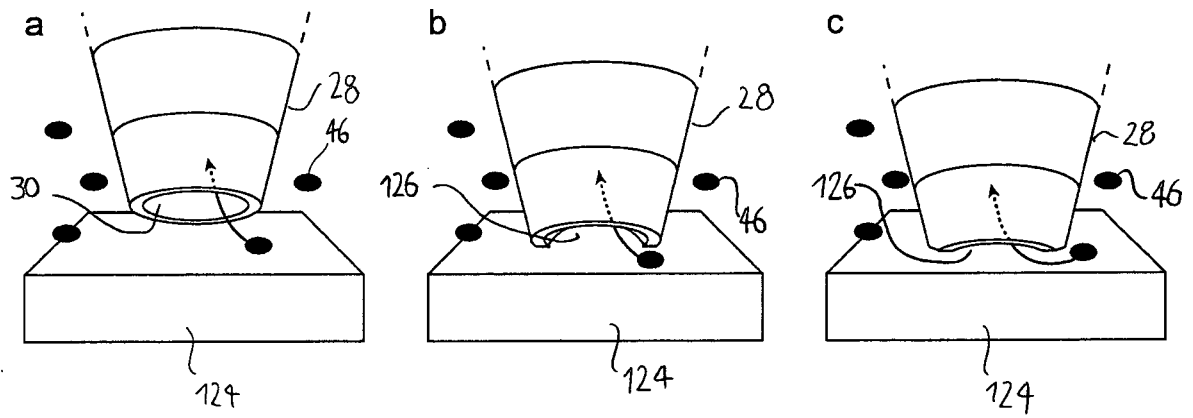


Fig. 10

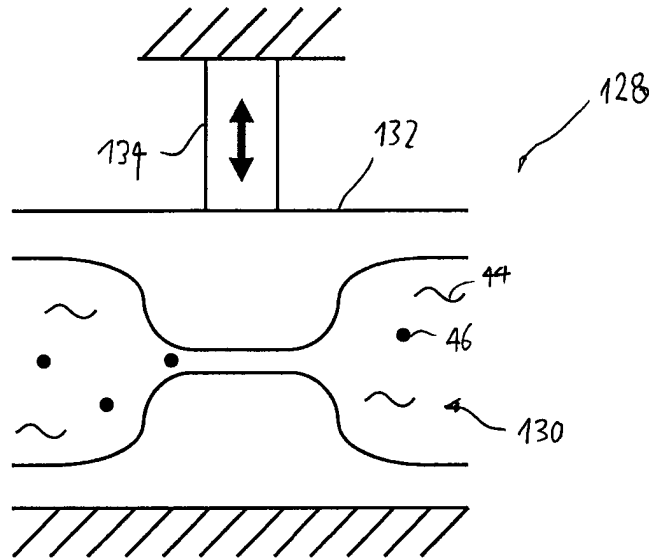


Fig. 11

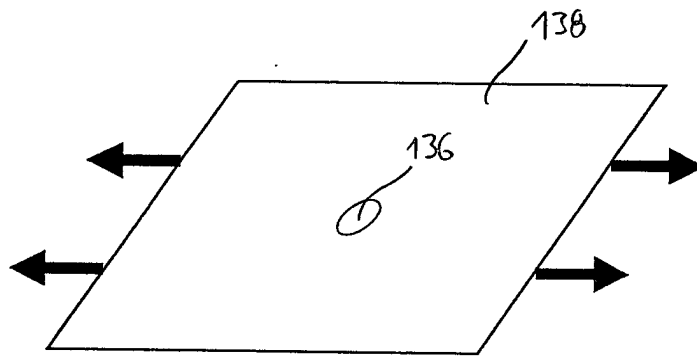


Fig. 12