

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
12. Juni 2008 (12.06.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/068181 A1

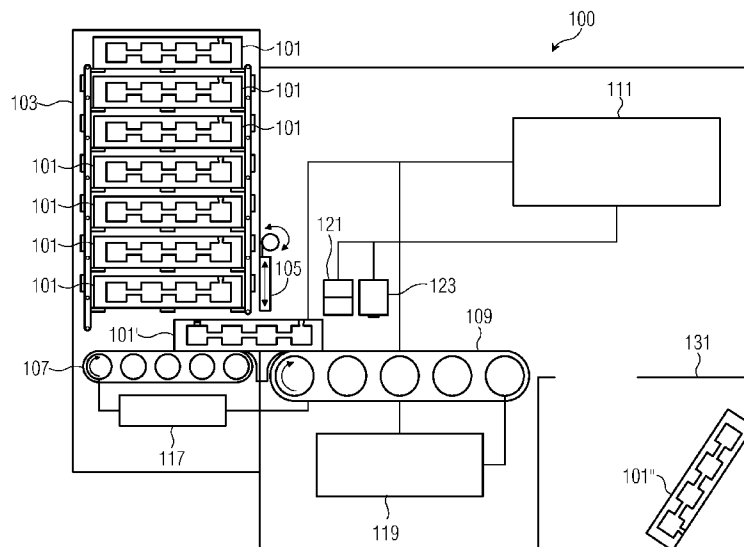
- (51) Internationale Patentklassifikation:
B01L 3/00 (2006.01) **G01N 35/02** (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/062977
- (22) Internationales Anmeldedatum:
29. November 2007 (29.11.2007)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
10 2006 057 300.5
5. Dezember 2006 (05.12.2006) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE]; Wittelsbacherplatz 2, 80333 München (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **ZILCH, Christian** [DE/DE]; Hardenbergstr. 34, 04275 Leipzig (DE). **EBBEN, Thomas** [DE/DE]; Am Weissen Berg 20, 91085 Weisendorf (DE). **SCHONECKE, Mitja** [DE/DE]; Rosenhügel 10d, 91088 Bubenreuth (DE).

- (74) Gemeinsamer Vertreter: **SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT**; Postfach 22 16 34, 80506 München (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: ARRANGEMENT FOR PROCESSING A PLURALITY OF SAMPLES FOR ANALYSIS

(54) Bezeichnung: ANORDNUNG ZUR AUFBEREITUNG EINER MEHRZAHL VON PROBEN FÜR EINE ANALYSE



(57) Abstract: An arrangement (100) is provided, comprising a magazine (103) for storing a plurality of microfluidic devices (101). The microfluidic devices (101) each comprise means for binding at least one biological molecule, wherein the means for binding the at least one biologic molecule can be displaced relative to the microfluidic device (101). A sample assumed to comprise biological molecules to be analyzed is introduced in the microfluidic device (101). The biological molecule to be analyzed is bound via the means for binding the biological molecule. The means for binding the at least one biological molecule, or of the substrate-molecule complex, can now be moved in the microfluidic device (101), for example corresponding to a predetermined course of reaction, such as by means of a magnetic field (121). The microfluidic device (101) is transported (107, 109) via the arrangement (100).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2008/068181 A1



CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(57) Zusammenfassung: Es wird eine Anordnung (100) bereitgestellt, welche ein Magazin (103) zur Bevorratung einer Mehrzahl von mikrofluidischen Vorrichtungen (101) aufweist. Die mikrofluidischen Vorrichtungen (101) enthalten jeweils Mittel zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül, wobei die Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung (101) bewegbar sind. Eine Probe, welche vermutlich zu untersuchende biologische Moleküle enthält, wird in die mikrofluidische Vorrichtung (101) eingebracht. Das zu untersuchende biologische Molekül wird durch die Mittel zum Binden des biologischen Moleküls gebunden. Das Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls, bzw. der Substrat-Molekül-Komplex kann nun in der mikrofluidischen Vorrichtung (101), z.B. einem vorgegebenem Reaktions- 20 ablauf entsprechend, bewegt werden, beispielsweise durch ein Magnetfeld (121). Die mikrofluidische Vorrichtung (101) wird durch die Anordnung (100) transportiert (107, 109).

Beschreibung

Anordnung zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse

5

Die Erfindung betrifft eine Anordnung zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse, welche eine Anordnung, mikrofluidische Vorrichtungen zur Aufnahme von Proben und Mittel zum Bewegen der mikrofluidischen Vorrichtungen in der Anordnung aufweist. Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse.

In der biotechnologischen Analytik wurden in den letzten Jahren Hochdurchsatzverfahren (high throughput screening, HTS) entwickelt, um in kurzer Zeit eine große Menge von Proben aufarbeiten zu können. Dabei kamen vorwiegend Lochplattenformate zum Einsatz, z.B. 96-Lochplatten oder 384-Lochplatten, wobei jedes Loch bzw. jede Vertiefung in einer Platte ein Reaktionsgefäß darstellt. Der Nachteil solcher Verfahren liegt darin, dass Flüssigkeiten von Vorratsgefäßen zur Platte oder von Platte zu Platte überpipettiert werden müssen, was mechanisch aufwendig ist und Kontaminationsrisiken birgt.

Es wurden daneben auch vollintegrierte mikrofluidische Analysevorrichtungen entwickelt, wobei anstatt von Reaktionsgefäßen Prozesskammern verwendet werden, welche über Leitungen bzw. Kanäle verbunden sind, wie z.B. in DE 101 11 457 A1 beschrieben. Diese Vorrichtungen können vollständig eingekapselt in einer Cartridge, einem kartenartigen Flachgebilde, enthalten sein, wobei in der Vorrichtung Prozesskammern zur Probenaufbereitung, Amplifikation von Analyten, z.B. Nukleinsäuren, und zur Detektion von Analyten, z.B. in Form von Biochips mit Nukleinsäure-Mikroarrays, vorgesehen sind. Analysevorrichtungen dieser Art haben den Vorteil, dass die Analyse vollständig in der gekapselten Analysevorrichtung ablaufen kann, so dass Kontaminationsrisiken oder Bedienungsfehler weitgehend ausgeschlossen sind.

Derartige Vorrichtungen können zur Analyse von Nukleinsäuren, z.B. DNA-Sequenzen oder RNA-Sequenzen, Proteinen und anderen Biomolekülen verwendet werden. Selbst komplexe Assay-Abläufe können in einer derartigen Analysevorrichtung in mikrofluidischen Anordnungen von Prozesskammern und Verbindungskanälen kontaminations- und fehlerfrei durchgeführt werden. Ein Nachteil dieser Systeme ist jedoch der geringe Probendurchsatz, d.h. die geringe Anzahl durchführbarer Assays pro Zeit. Insbesondere bei Nukleinsäure-basierten Systemen, welche eine Amplifikation der DNA oder RNA erfordern, ist eine Gesamtdauer des Assays von einer Stunde und mehr keine Ausnahme. Allgemein wird dabei zunächst die Probe manuell in die Analysevorrichtung eingebracht, und diese dann in ein Steuer- bzw. Auslesegerät eingeschoben, in welchem die Prozessschritte automatisch abgearbeitet werden. Am Ende des Assays wird die Analysevorrichtung manuell aus dem Steuergerät entfernt. Dieser Prozessablauf erfordert die regelmäßige manuelle Intervention durch das Bedienpersonal und schränkt den Durchsatz signifikant ein.

Theoretisch können vollintegrierte Diagnostiksysteme für komplexe Assays mit vielen biologischen Fragestellungen (z.B. Multiparameterstudien wie die Cytochrom P 450 Analyse oder CFTR) auch in Zentrallabors zum Einsatz kommen. Dabei ist jedoch der geringe Durchsatz von großem Nachteil und führt zu prohibitiv hohen Kosten. Bei etablierten Hochdurchsatzverfahren, z.B. die oben beschriebenen Verfahren auf Lochplattenformaten, ist die Aufbereitung der Proben zur Analyse aufwendig. Diese Aufbereitung kann jedoch in mikrofluidischen Vorrichtungen mit vergleichsweise geringem Aufwand durchgeführt werden, z.B. durch Aufschluss der Probe, Binden der Analyten an magnetische Substrate, sogenannte Magnetbeads, Fixieren des Substrat-Analyten-Komplexes durch ein externes Magnetfeld in der Analysevorrichtung und Entfernen von unerwünschten Probestandteilen durch Überspülen der fixierten Substrat-Analyten-Komplexe mit einer Waschflüssigkeit, so wie z.B. in

DE 101 11 520 B4 beschrieben. Derartige Verfahren sind bisher allerdings nicht hochdurchsatzfähig.

Aufgabenstellung

5

Angesichts der oben geschilderten Nachteile des Stands der Technik ist es die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Anordnung und ein Verfahren zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse bereitzustellen, welche(s) in einer vollintegrierten Analysevorrichtung durchgeführt werden kann und gleichzeitig für die Verarbeitung hoher Probenzahlen geeignet ist.

Beschreibung der Erfindung

15

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe gelöst durch eine Anordnung zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse gemäß Anspruch 1 und durch ein Verfahren gemäß Anspruch 11.

20 Die erfindungsgemäße Anordnung zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse weist folgende Merkmale auf:

a) eine Aufnahme für eine mikrofluidische Vorrichtung;
und

25

b) Mittel zum Bewegen der mikrofluidischen Vorrichtung in der Anordnung entlang mindestens einer vorgegebenen Bewegungsrichtung;

30 wobei die Anordnung mindestens ein Magazin zur Bevorratung einer Mehrzahl von mikrofluidischen Vorrichtungen aufweist.

Vorzugsweise weist die Anordnung eine Einrichtung zum Bewegen von in der mikrofluidischen Vorrichtung vorgesehenen Mitteln zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung auf. Diese Einrichtung umfasst bevorzugt einen Magnetfelderzeuger.

Der Begriff „mikrofluidische Vorrichtung“ bezieht sich auf eine Vorrichtung, in welcher Fluidvolumina im Mikroliter-Bereich manipuliert werden können, z.B. mikrofluidische Cartridges, wie sie in der Technik allgemein bekannt sind.

Bevorzugt weist die erfindungsgemäße Anordnung ferner Mittel zur Amplifikation des biologischen Moleküls in der mikrofluidischen Vorrichtung auf.

10 Ferner umfasst die erfindungsgemäße Anordnung Mittel zur Detektion des biologischen Moleküls.

Die erfindungsgemäße Anordnung, umfasst ferner bevorzugt eine Einrichtung zum Einbringen einer Probe in eine mikrofluidische Vorrichtung.

Gemäß einem bevorzugten Aspekt der Erfindung umfasst die Anordnung einen Behälter zum Sammeln verbrauchter mikrofluidischer Vorrichtungen.

Gemäß einem bevorzugten Aspekt der Erfindung umfasst die Anordnung ein stapelartiges Magazin, in welchem die mikrofluidischen Vorrichtungen stapelbar sind.

25 Gemäß einem alternativen Aspekt der Erfindung umfasst die Anordnung ein trommelartiges Magazin, in welchem die mikrofluidischen Vorrichtungen auf einer Rolle aufrollbar sind.

30 Gemäß einem weiteren bevorzugten Aspekt der Erfindung umfasst die Anordnung Mittel zum Erfassen einer Kodierung einer mikrofluidischen Vorrichtung.

Erfindungsgemäß wird eine Probe, welche vermutlich zu untersuchende biologische Moleküle enthält, in die mikrofluidische Vorrichtung eingebracht, wobei in der mikrofluidischen Vorrichtung das zu untersuchende biologische Molekül durch das Mittel zum Binden gebunden wird und somit eine Aufbereitung

der Probe ermöglicht wird. Aus dem Magazin kann eine weitere mikrofluidische Vorrichtung nachgeführt werden, und mit der nächsten Probe gefüllt werden. Alternativ können mehrere mikrofluidische Vorrichtungen vor Einbringen in die Anordnung mit den Proben befüllt werden. Die mikrofluidischen Vorrichtungen werden entlang der mindestens einen vorgegebenen Bewegungsrichtung durch die Anordnung transportiert und die Proben können auf diese Weise automatisiert nacheinander abgearbeitet werden.

10

Vorzugsweise sind die Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls als ein Substrat ausgeführt, welches mit dem zu untersuchenden biologischen Molekül zu einem Substrat-Molekül-Komplex verbindbar ist.

15

Gemäß einem Aspekt der vorliegenden Erfindung weist das Substrat eine proteinbindende Eigenschaft auf, welche vorzugsweise als Antikörper ausgeführt sein kann, welcher auf das biologische Molekül gerichtet ist.

20

Gemäß einem alternativen Aspekt der vorliegenden Erfindung weist das Substrat eine Nukleinsäure-bindende Eigenschaft auf, wobei die Nukleinsäure-bindende Eigenschaft vorzugsweise nicht sequenzspezifisch, z.B. als Silan oder als Sonden-Oligonukleotid (sequenzspezifisch) ausgeführt ist.

25

Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung weist das Substrat sowohl mindestens eine Protein-bindende Eigenschaft als auch mindestens eine Nukleinsäure-bindende Eigenschaft auf.

30

Bevorzugt umfassen die Mittel zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül wenigstens ein magnetisches Element, z.B. Magnetbead, welches durch ein Magnetfeld bewegt und/oder fixiert werden kann.

35

Bevorzugt weist die Anordnung Mittel zur Amplifikation des Moleküls auf. Dies kann z.B., falls das Molekül eine Nuklein-

säure ist, eine Amplifikationskammer in der mikrofluidischen Vorrichtung umfassen, in welcher eine Amplifikationsreaktion, z.B. die Polymerase Kettenreaktion (PCR) oder ein vergleichbares Amplifikationsverfahren stattfinden kann. In der Anordnung können zur Durchführung einer derartigen Reaktion Heiz- und/oder Kühlelemente, z.B. Peltierelemente, vorgesehen sein.

Ferner weist die erfindungsgemäße Anordnung vorzugsweise Mittel zur Detektion des Moleküls auf. Die Detektion kann z.B. durch magnetische, optische, fluoreszenzoptische, elektrochemische, gravimetrische und andere geeignete Verfahren erfolgen. In der mikrofluidischen Vorrichtung ist dazu eine Detektionskammer vorgesehen, welche z.B. ein Nukleinsäure-Mikroarray aufweisen kann, auf welchem Sonden-Oligonukleotide zum Nachweis von Nukleinsäure-Molekülen vorgesehen sind. Besonders bevorzugt ist eine elektrochemische Detektion. Dazu ist in der mikrofluidischen Vorrichtung ein elektrochemischer Sensor, z.B. in Form von Elektroden vorgesehen. In der Anordnung sind Mittel zu Messen von Strömen und/oder Spannungen vorgesehen. Ein entsprechendes Messverfahren, das hierbei verwendbar ist, ist z.B. in DE 101 26 341 A1 beschrieben. Gemäß einem alternativen Aspekt ist eine magnetische Detektion bevorzugt. Dazu kann in der Anordnung ein magnetoresistiver Sensor vorgesehen sein.

Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung umfasst die mikrofluidische Vorrichtung mindestens eine Prozesskammer, in welcher zumindest vorübergehend die Mittel zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül enthalten sind. Die mindestens eine Prozesskammer kann als eine Aufbereitungskammer zur Verwendung der Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls, als Amplifikationskammer zur Verwendung der Mittel zur Amplifikation des wenigstens einen biologischen Moleküls und/oder als Detektionskammer zur Detektion des wenigstens einen biologischen Moleküls ausgebildet sein. Bevorzugt können eine Mehrzahl von Prozesskammern vorgesehen sein, die entlang einer Reaktionsstrecke angeordnet sind und durch Leitungen zumindest zeitweise ver-

bindbar sind. Die Leitungen können als mikrofluidische Kanäle mit daran angebrachten Ventilen ausgeführt sein. Die Ventile können als einfache elastische Quetschventile oder magnetsteuerbare Ventile ausgeführt sein, um die verschiedenen Prozesskammern voneinander fluidisch zu trennen. Die Ventile können auch auf andere dem Fachmann bekannte Arten ausgeführt sein.

Gemäß einem bevorzugten Aspekt der vorliegenden Erfindung können in einer mikrofluidischen Vorrichtung eine Mehrzahl von Gruppen von Prozesskammern vorgesehen sein, wobei die Prozesskammern in einer Gruppe bevorzugt jeweils entlang einer Reaktionsstrecke angeordnet sind und die Prozesskammern einer Gruppe entlang der jeweiligen Reaktionsstrecke zumindest zeitweise durch Leitungen fluidisch verbindbar sind. Auf diese Weise können mehrere Probenstrecken z.B. parallel auf der mikrofluidischen Vorrichtung realisiert werden. An einem Ende der jeweiligen Reaktionsstrecken können sich parallel angeordnete Probenports befinden, welche durch Septen versiegelt sein können. Am anderen Ende können als Detektionsmittel z.B. entsprechend mehrere parallel angeordnete Mikroarrays oder alternativ auch ein für die einzelnen Reaktionsstrecken gemeinsamer Mikroarray zum Nachweis der Zielmoleküle in sämtlichen aufgebrauchten biologischen Proben vorgesehen sein. Die Probenports können entlang der Reaktionsstrecke über verschiedene Prozesskammern (z.B. Aufbereitungs-, Wasch- und Amplifikationskammern) und Leitungen mit den Mikroarrays verbunden sein. Eine derartige mikrofluidische Vorrichtung kann als einmal verwendbares Element in der erfindungsgemäßen Anordnung verwendet werden. Das einmal verwendbare Element kann als längliche Vorrichtung ausgebildet sein, z.B. in Form einer Cartridge, d.h. einen kartenartigen Flachgebilde. Bevorzugt sind die Kammern und Leitungen entlang der Reaktionsstrecke in der länglichen Vorrichtung entlang der mindestens einen Bewegungsrichtung ausgerichtet, mit welcher die längliche Vorrichtung durch das Steuergerät transportiert wird. Es wird angemerkt, dass in der in diesem Absatz beschriebenen mikrofluidischen Vorrichtung mit einer Mehrzahl von paralle-

len Reaktionsstrecken eine von der restlichen Anordnung unabhängige eigenständige Erfindung gesehen wird, welche ebenfalls die eingangs gestellte Aufgabe löst.

5

Ferner ist bei der Anordnung bevorzugt ein Behälter zum Sammeln der verbrauchten mikrofluidischen Vorrichtungen vorgesehen.

10

Die mikrofluidischen Vorrichtungen können nach einmaliger Verwendung verworfen und entsorgt werden. Es ist aber auch denkbar, dass sie, z.B. nach einer Reinigung oder Regeneration erneut verwendet werden können.

15

Die Anordnung kann ein stapelartiges Magazin aufweisen, in welchem die mikrofluidischen Vorrichtungen gestapelt sind. Alternativ kann beispielsweise auch ein trommelartiges Magazin vorgesehen sein, in welchem die mikrofluidischen Vorrichtungen auf einer Rolle aufgerollt sind.

20

Vorzugsweise weist die Anordnung eine Einrichtung zum Einbringen einer Probe in eine mikrofluidische Vorrichtung auf. Diese kann beispielsweise als automatisierte Pipettiervorrichtung ausgestaltet sein, welche eine Probe in die

25

mikrofluidische Vorrichtung hineinpipettieren kann. Falls auf der mikrofluidischen Vorrichtung mehrere parallele Reaktionsstrecken zur parallelen Verarbeitung von Proben vorgesehen sind, weist die Einrichtung zum Einbringen einer Probe in die

30

mikrofluidische Vorrichtung vorzugsweise eine entsprechende Anzahl von Kanälen auf, um die entsprechende Probenanzahl in einem Arbeitsschritt einzubringen.

35

In dem Steuergerät sind Mittel zum Bewegen oder Transportieren der mikrofluidischen Vorrichtung entlang mindestens einer vorgegebenen Bewegungsrichtung vorgesehen, diese Transportmittel können z.B. in Form von einem Transportband ausgeführt sein.

Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung sind ferner Mittel zum Bewegen des Substratmolekülkomplexes relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung vorgesehen, welche vorzugsweise einen Magnetfelderzeuger umfassen. Durch Bewegen der mikrofluidischen Vorrichtung relativ zu dem Magnetfelderzeuger, bzw. durch Bewegen des Magnetfelderzeugers relativ zu der mikrofluidische Vorrichtung, kann der Substrat-Molekül-Komplex, welcher Magnetbeads aufweist, relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung, also z.B. entlang des Reaktionsweges durch die Prozesskammern, bewegt werden. Dabei werden die Magnetbeads im Magnetfeld des Magnetfelderzeugers festgehalten, während die mikrofluidische Vorrichtung relativ zu dem Magnetfelderzeuger (oder umgekehrt) bewegt wird.

Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung weisen die mikrofluidischen Vorrichtung eine Markierung auf, durch welche sie kodiert werden können. Auf diese Weise ist es möglich, eine Zuordnung zwischen aufgebracht Probe und dem einmal verwendbaren Element zu erfassen. Dazu sind vorzugsweise Mittel zur Erfassung der Markierung in der Anordnung vorgesehen. Die Markierung kann eine übliche, dem Fachmann bekannte Art der Markierung umfassen, z.B. einen Barcode, ein RFID, oder ähnliches. In der Anordnung sind dann vorzugsweise entsprechende Mittel zum Auslesen der Markierung vorhanden. Ferner kann die Anordnung über Schnittstellen an ein Datenverarbeitungssystem angeschlossen sein, über welches die mikrofluidischen Vorrichtungen anhand der Markierung registriert werden und ausgelesene Daten gespeichert werden. Bevorzugt können einmal verwendete mikrofluidische Vorrichtungen über das Datenverarbeitungssystem entwertet werden, um ein mehrfaches Lesen auszuschließen.

Bei der Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse wird folgendermaßen vorgegangen:

35

Es wird eine Anordnung bereitgestellt, welches ein Magazin zur Bevorratung einer Mehrzahl von mikrofluidischen Vorrichtungen aufweist. Die mikrofluidischen Vorrichtungen enthalten

jeweils Mittel zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül, wobei die Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung bewegbar sind.

5

Eine Probe, welche vermutlich zu untersuchende biologische Moleküle enthält, wird in die mikrofluidische Vorrichtung eingebracht. Optional kann die Probe zunächst in der mikrofluidischen Vorrichtung aufgeschlossen werden, z.B.

10

durch Verwendung eines Lysepuffers. Das zu untersuchende biologische Molekül wird durch die Mittel zum Binden des biologischen Moleküls gebunden. Vorzugsweise sind die Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls als Substrat ausgeführt, welcher mit dem Molekül zu einem Substrat-Molekül-Komplex verbindbar ist. Das Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls, bzw. der Substrat-Molekül-Komplex kann nun in der mikrofluidischen Vorrichtung, z.B. einem vorgegebenem Reaktionsablauf entsprechend, bewegt werden.

20

Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung kann der Substrat-Molekül-Komplex nach dem Binden des Moleküls vom Rest der Probe getrennt werden. Dies kann geschehen, indem der Substrat-Molekül-Komplex relativ zu dem restlichen Probevolumen bewegt wird, z.B. durch magnetisches Fixieren des Substrat-Molekül-Komplexes und Wegspülen der Probe.

25

In der Anordnung können Mittel zum Pumpen vom Fluiden in die mikrofluidische Vorrichtung und/oder aus der mikrofluidischen Vorrichtung vorgesehen sein. Diese können z.B. als Leitungen, Kanäle, mit entsprechenden Befüllungs- oder Entnahmeeinrichtungen, unter Verwendung von entsprechenden Fluidtransportsystemen, z.B. Kolbenpumpen, Peristaltikpumpen und anderen dem Fachmann bekannten Pumpen ausgeführt sein.

30

Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung kann das Molekül im Lauf des Verfahrens auch wieder von dem Substrat getrennt werden, z.B. durch Auftrennen der Substrat-

Molekül-Komplexbindung, z.B. durch Erwärmung, Änderung der Salzkonzentration oder ähnliche.

5 Gemäß einem bevorzugten Aspekt der Erfindung weist das Verfahren einen zusätzlichen Schritt des Amplifizierens des Moleküls mit einer Amplifikationsreaktion auf. Ferner weist das Verfahren bevorzugt den zusätzlichen Schritt des Detektierens des Moleküls auf.

10 Das Mittel zum Binden des wenigstens einen Moleküls wird bei dem erfindungsgemäßen Verfahren bevorzugt entlang einer Reaktionsstrecke in der mikrofluidischen Vorrichtung bewegt, welche in mindestens eine Prozesskammer führt.

15 Bevorzugt sind entlang der Reaktionsstrecke mehrere Prozesskammern angeordnet. Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung werden bei dem Verfahren in der mikrofluidischen Vorrichtung mehrere Proben gleichzeitig in einer entsprechenden Anzahl von Reaktionsstrecken aufbereitet,
20 der mikrofluidischen Vorrichtung im Wesentlichen parallel angeordnet sind.

Bevorzugt werden die mikrofluidischen Vorrichtungen aus dem Magazin nachgeführt, durchlaufen die Anordnung entlang der
25 mindestens einen vorgegebenen Bewegungsrichtung und werden dann von der Anordnung ausgeworfen oder in einen Behälter zum Sammeln von verbrauchten mikrofluidischen Vorrichtungen transportiert.

30 Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse, welches die folgenden Schritte aufweist:

a) Bevorraten einer Anordnung mit einer Mehrzahl von mikrofluidischen Vorrichtungen, wobei die Anordnung
35 mindestens ein Magazin zur Bevorratung mit mikrofluidischen Vorrichtungen aufweist und wobei die mikrofluidischen Vorrichtungen jeweils Mittel

zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül enthalten;

- 5 b) Einbringen einer ersten Probe, enthaltend mindestens ein zu untersuchendes biologisches Molekül, in eine der mikrofluidischen Vorrichtungen;
- c) Binden des zu untersuchenden biologischen Moleküls durch die Mittel zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül; und
- 10 d) Wiederholen der Schritte b)- c) mit den weiteren Proben, bis alle aufzubereitenden Proben aufbereitet sind;

wobei die mikrofluidische Vorrichtung mit der eingebrachten Probe in der Anordnung entlang mindestens einer vorgegebenen Bewegungsrichtung bewegt wird.

15

Dabei sind die Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls bevorzugt relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung bewegbar.

20

Bevorzugt erfolgt das Einbringen der Proben, enthaltend zu untersuchende biologische Moleküle, in die jeweiligen mikrofluidischen Vorrichtungen vor dem Bevorraten der Anordnung mit mikrofluidischen Vorrichtungen.

25

Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens sind die Mittel zum Binden des wenigsten einen biologischen Moleküls als ein Substrat ausgeführt, das mit dem Molekül zu einem Substrat-Molekül-Komplex verbindbar ist.

30

Bevorzugt wird nach dem Binden des Moleküls an das Substrat der Substrat-Molekül-Komplex von der restlichen Probe getrennt.

35

Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens wird die Trennung des Substrat-Molekül-Komplex von der

restlichen Probe durch Bewegen des Substrat-Molekül-Komplexes relativ zu der restlichen Probe erreicht.

5 Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens umfassen die Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls wenigstens ein magnetisches Element.

10 Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein Magnetfeld zum Bewegen der Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung verwendet.

15 Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens weist das erfindungsgemäße Verfahren den zusätzlichen Schritt des Amplifizierens des biologischen Moleküls mit einer Amplifikationsreaktion auf.

20 Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens weist das erfindungsgemäße Verfahren den zusätzlichen Schritt des Detektierens des biologischen Moleküls auf.

25 Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens wird das biologische Molekül magnetisch, elektrochemisch oder optisch detektiert.

30 Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens wird das Mittel zum Binden des wenigstens einen Moleküls entlang einer Reaktionsstrecke in der mikrofluidischen Vorrichtung bewegt, welche in mindestens eine Prozesskammer führt.

35 Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens wird das Mittel zum Binden des wenigstens einen Moleküls entlang einer Reaktionsstrecke in der mikrofluidischen Vorrichtung durch mehrere Prozesskammern bewegt.

Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens ist die Reaktionsstrecke im Wesentlichen entlang der

mindestens einen vorgegebenen Bewegungsrichtung in der Anordnung ausgerichtet.

Gemäß einem bevorzugten Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens werden dabei in dem mindestens einmal verwendbaren Element mehrere Proben gleichzeitig in einer entsprechenden Anzahl von Reaktionsstrecken aufbereitet, die in der mikrofluidischen Vorrichtung im wesentlichen Parallel angeordnet sind.

10 Bevorzugt werden die mikrofluidischen Vorrichtungen aus dem Magazin nachgeführt, durchlaufen die Anordnung entlang der mindestens einen vorgegebenen Bewegungsrichtung und werden dann von der Anordnung ausgeworfen oder in einen Behälter zum Sammeln verbrauchter mikrofluidischer Vorrichtungen transportiert.

15

Ausführungsbeispiel

Weitere Aspekte, Eigenschaften und Vorteile der vorliegenden Erfindung werden verdeutlicht anhand der folgenden Beschreibung von Ausführungsbeispielen und den angehängten Zeichnungen, in denen zeigen:

20

Figur 1 eine schematische Darstellung einer ersten Ausführungsform einer mikrofluidischen Vorrichtung zur Aufnahme einer Probe der erfindungsgemäßen Anordnung;

25

Figur 2 eine zweite Ausführungsform einer mikrofluidischen Vorrichtung der erfindungsgemäßen Anordnung;

30

Figur 3 eine dritte Ausführungsform der mikrofluidischen Vorrichtung der erfindungsgemäßen Anordnung;

Figur 4 eine erste Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung in einem ersten Betriebszustand;

35

Figur 5 eine erste Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung in einem zweiten Betriebszustand;

Figur 6 eine erste Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung in einem dritten Betriebszustand; und

5 Figur 7 eine zweite Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung.

In Figur 1 ist schematisch eine mikrofluidische Vorrichtung, welche in der erfindungsgemäßen Anordnung verwendet wird, in Form einer Cartridge 1 dargestellt. Diese ist als kartenartiges Flachgebilde ausgebildet und kann z.B. als Kunststoff-Spritzgußteil hergestellt werden, wobei darin vorhandene Vertiefungen in Form von Kammern und Kanälen ausgestaltet sind. In die Cartridge können für die späteren Prozesse und Reaktionen notwendige Reagenzien, z.B. in Form von Trockenreagenzien, eingebracht werden, z.B. durch Aufspotten in den entsprechenden Kammern. Durch Versiegeln der nach oben offenen Cartridge, z.B. mit einer Kunststofffolie, wird eine geschlossene mikrofluidische Vorrichtung mit darin befindlichen Prozesskammern und Leitungen geschaffen. Die Cartridge 1 umfasst eine Aufbereitungskammer 3, eine Aufschlusskammer 5, eine Waschkammer 7, eine Amplifikationskammer 9 und eine Detektionskammer 11. Die Aufbereitungskammer 3 umfasst eine Einfüllöffnung 13, über die beispielsweise mittels einer Spritze oder Pipette die zu untersuchende Probe in die Aufbereitungskammer 3 eingebracht werden kann. Die Prozesskammern 5, 7, 9, 11 sind über einen Mikrokanal 15 mit einer Öffnung 17 verbunden, über welche in an sich bekannter Weise Wasser oder Puffer in die Prozesskammern eingebracht werden kann. Die Einfüllöffnung 13 und/oder Öffnung 17 können mit einem Septum verschlossen sein, um Sterilität zu gewährleisten und/oder Kontaminationen und Verschleppungen zu verhindern. Außer der Aufbereitungskammer 3 weist jede Prozesskammer 5, 7, 9, 11 eine Entlüftungsöffnung 19 auf, welche beispielsweise mit einer gasdurchlässigen Membran verschlossen ist. So kann sichergestellt werden, dass Gas die Prozesskammern verlassen kann, nicht jedoch Flüssigkeit. In der Aufbereitungskammer ist ein Lysereagenz 31, z.B. in trockener Form, vorge-

lagert. Durch das Einbringen der (flüssigen) Probe, z.B. Blut oder eine andere Probenflüssigkeit, wird das Lysereagenz gelöst. Biologische Strukturen, z.B. Zellen, Bakterien, Viren, werden durch das gelöste Lysereagenz lysiert und setzen darin

5 enthaltene biologische Moleküle frei. Die Probe wird nun, z.B. durch Nachspülen mit Puffer, von der Kammer 3 über die Leitung 23 in die Kammer 5 verdrängt. In der Kammer 5 sind Magnetbeads 21 in trockenem Zustand vorgelagert, durch Über-

10 führen der Probe in die Kammer 5 werden die Magnetbeads 21 suspensiert und in der Probe verteilt. Auf den Magnetbeads sind Sonden-Oligonukleotide vorgesehen, welche gesuchte Ziel-

15 moleküle, z.B. zu den Sonden-Oligonukleotiden komplementäre Nukleinsäuren, binden, so dass ein Substrat-Molekülkomplex gebildet wird, wobei die Magnetbeads das Substrat darstellen.

15 Alternativ können auf den Magnetbeads auch Antikörper vorgesehen sein, welche bestimmte Zielproteine oder Nukleinsäuren binden. Die Antikörper können polyklonale oder monoklonale Antikörper sein. Alternativ können auf den Magnetbeads auch

20 Mittel vorgesehen sein, welche Nukleinsäuren unspezifisch binden, z.B. Silane, randomisierte Oligonukleotide oder ähnliches. Weiterhin ist denkbar, dass auf den Beads andere Sub-

25 stanzen aufgebracht sind, welche bestimmte biologische Moleküle oder Strukturen, z.B. Kohlehydrate, Lipopolysaccharide und ähnliches binden.

25

Gemäß einer alternativen Ausführungsform können die Magnetbeads auch in der Kammer 3 vorgesehen sein, und Bindungseigenschaften aufweisen (z.B. Antikörper, Polysaccharide, und ähnliches), welche bestimmte biologische Strukturen in der

30 Probe, z.B. bestimmte Zellen, Bakterien oder Viren, spezifisch binden.

Die Prozesskammern sind untereinander gemäß der Reihenfolge der ablaufenden Prozessschritte durch Mikrokanäle 23, 25, 27

35 und 29 verbunden, welche derart dimensioniert sind, dass ein störender Flüssigkeitsaustausch zwischen den Prozesskammern während der Aufbereitung und Analyse weitgehend unterbunden wird und keinen störenden Einfluss hat. Die Mikrokanäle 23,

25, 27 und 29 sind andererseits ausreichend groß, um Magnet-Beads 21 mit angebondenen Strukturen bzw. Molekülen passieren zu lassen. Der Durchmesser der Mikrokanäle 23, 25, 27 und 29 ist typischerweise in der Größenordnung mehrerer μm . Alternativ ist es bei größerer Dimensionierung der Mikrokanäle auch möglich, in den Mikrokanälen 23, 25, 27, 29 Ventile vorzusehen, um die einzelnen Prozesskammern 3, 5, 7, 9, 11 während des Verfahrensablaufs fluidisch voneinander zu trennen. In der Kammer 5 kann der Aufschluss der biologischen Strukturen vervollständigt werden und durch Nachspülen mit Waschlösung oder Puffer können ungebundene Probenbestandteile von dem an das Substrat (d.h. die Magnet-Beads) gebundenen Molekülen getrennt werden.

Um eventuell noch vorhandene Zellreste und andere Verunreinigungen zu beseitigen, ist eine weitere Waschkammer 7 vorgesehen. Die Komplexe aus Magnet-Beads 21 und Nukleinsäuren (oder im Fall einer Protein-bindenden Eigenschaft der Magnet-Beads aus Magnet-Beads und Proteinen), werden durch den Mikrokanal 25 in die Waschkammer 7 bewegt. In der Waschkammer 7 können z.B. chaotrope Salze 35 gelagert sein, die zunächst in trockener Form vorliegen und durch das Füllen der Waschkammer 7 in Lösung gehen.

Für komplexe Aufbereitungs- und Analyseverfahren können zusätzliche Kammern vorgesehen sein.

Die an die Magnet-Beads 21 gebundenen DNA-Moleküle liegen in der Probe üblicherweise in einer sehr geringen Ausgangskonzentration vor, so dass zum Nachweis eine Amplifikation der Nukleinsäuren stattfinden muss. Zu diesem Zweck werden die Magnet-Beads 21 in eine Amplifikationskammer 9 bewegt, die über den Mikrokanal 27 mit der Waschkammer 7 verbunden ist. In der Amplifikationskammer 9 kann eine Amplifikation stattfinden, beispielsweise durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) oder ein anderes geeignetes Amplifikationsverfahren. Die für die Amplifikationsreaktion notwendigen Reagenzien 37 können in der Kammer 9, z. B. in trockener Form vorgelagert sein. In

der Anordnung befindet sich ein Peltier-Element, durch welches sich Temperaturzyklen für die PCR-Reaktion in der Amplifikationskammer 9 durchführen lassen. Alternativ können auch andere, dem Fachmann bekannte Heiz- und/oder Kühlelemente
5 vorhanden sein, z.B. ein Widerstandsheizelement oder eine Wasserkühlung. Der Aufbau der Anordnung ist schematisch in Figuren 4 bis 7 gezeigt, welche im Folgenden noch ausführlich diskutiert werden.

10 Bei der Temperaturerhöhung kommt es im Allgemeinen zu einer Ablösung der DNA-Moleküle von den Magnet-Beads 21. Somit sind die Nukleinsäuren dann für eine Amplifikationsreaktion und eine spätere Nachweisreaktion freigesetzt. Es ist alternativ auch möglich, die Nukleinsäuren unter Verwendung der auf den
15 Beads aufgebrachtten Oligonukleotiden als Primer für die PCR-Reaktion direkt auf den Oligonukleotiden zu amplifizieren. Dazu kann beispielsweise zusätzlich noch ein entsprechender Primer für den Gegenstrang in der Amplifikationskammer vorgesehen sein, so dass die amplifizierten Nukleinsäuren dann über
20 die Sonden-Oligonukleotide an einem Ende an die Magnet-Beads gebunden sind.

Zum Nachweis der DNA können die an die Magnet-Beads 21 gebundenen Nukleinsäuren durch einen Mikrokanal 29 in eine Detektionskammer 11 bewegt werden. In der Detektionskammer 11 sind
25 spezifische Oligonukleotide einer Detektionseinrichtung immobilisiert. Die amplifizierten Nukleinsäuren, welche an einem Ende an den Magnet-Beads immobilisiert sind, hybridisieren mit den Sonden-Oligonukleotiden auf dem Mikro-Array und werden dadurch immobilisiert. Die Detektion der gesuchten Nukleinsäure-Moleküle geschieht durch den Nachweis der immobilisierten Magnet-Beads an derjenigen Stelle der Detektionseinrichtung 39, an welcher die komplementären Oligonukleotide
30 angeordnet sind. Dazu umfasst die Detektionseinrichtung 39 einen Sensor, der das Vorhandensein der Magnet-Beads 21 an
35 Hand deren magnetischen Eigenschaften nachweisen kann, z.B. ein magnetoresistiver Sensor.

Alternativ ist es möglich, die amplifizierten und an die Sonden- Oligonukleotide des Mikro-Arrays hybridisierten Nukleinsäuren optisch, z.B. durch Fluoreszenzfarbstoffe, elektrochemisch, z.B. durch Redoxcycling, oder auf andere Weise nachzuweisen.

In Figur 2 ist eine weitere Ausführungsform einer mikrofluidischen Vorrichtung der erfindungsgemäßen Anordnung in Form einer Cartridge 1' dargestellt. Die Cartridge 1' weist vier Gruppen von Prozesskammern 2, 4, 6, 8 auf, die jeweils entlang von 4 Reaktionswegen 10, 12, 14, 16 angeordnet. Über entsprechende Einfüllöffnungen 13 werden Proben in die Cartridge eingebracht und durchlaufen entlang der Reaktionswege 10, 12, 14, 16, die jeweiligen Prozesskammern 2, 4, 6, 8. An dieser Stelle wird angemerkt, dass in Figuren 2 und 3 aus Zwecken der Übersichtlichkeit nur die Prozesskammer entlang des Reaktionswegs 10 mit den Bezugszeichen 2, 4, 6 bzw. 8 bezeichnet sind, damit sollen ebenfalls die entsprechenden Prozesskammern entlang der Reaktionswege 12, 14, 16 bezeichnet sein. In der Detektionskammer 8 ist eine Detektionseinrichtung 39 der oben beschriebenen Art vorgesehen. Auf diese Weise können in der Cartridge 1' vier Proben parallel aufbereitet und analysiert werden. Es ist auch denkbar, dass auf einer Cartridge zwei, drei, oder 5 und mehr, z.B. 10 oder 20 Probenstrecken bzw. Reaktionswege angeordnet sind.

Der Begriff „Reaktionsweg“ bezeichnet den Weg, welche die Probe bzw. die zu untersuchenden biologischen Moleküle im Verfahrensablauf durch die Vorrichtung nehmen.

In Figur 3 ist eine weitere alternative Ausführungsform einer mikrofluidischen Vorrichtung in Form einer Cartridge 1'' gezeigt. In dieser Ausführungsform sind ebenfalls 4 Gruppen von Reaktionskammern 2, 4, 6 entlang von vier Reaktionswegen 10, 12, 14, 16 angeordnet, so dass vier Proben parallel verarbeitet werden können. Die Proben werden entlang der Reaktionswege 10, 12, 14, 16 durch die jeweiligen Prozesskammern 2, 4, 6 geleitet und werden dann in eine gemeinsame Detektionskammer

18 geleitet, in welcher eine gemeinsame Detektionseinrichtung 39' vorgesehen ist.

In Figuren 4 bis 6 ist eine erfindungsgemäße Anordnung 100 in
5 verschiedenen Betriebszuständen dargestellt, welche mikroflu-
idische Vorrichtungen 101, 101', 101'', 101a, 101b, 101c,
101d enthält. In einem Magazin 103, welches stapelartig aus-
geführt ist, ist eine Mehrzahl von mikrofluidischen Vorrich-
10 tungen 101 gestapelt. Diese können vor Einbringen in das Ma-
gazin 103 bereits mit Proben befüllt werden. Durch Öffnen ei-
nes Öffnungselements 105 und Vortrieb der Transporteinrich-
tungen 107, 109 wird die mikrofluidische Vorrichtung 101' aus
dem Magazin 103 befördert. Im Vorliegenden Beispiel ist in
15 der Anordnung 100 durch die als Transportbänder 107, 109 aus-
gebildete Transporteinrichtung eine zentrale Transportstrecke
für die mikrofluidischen Vorrichtungen 101, 101' definiert,
welcher eine Aufnahme der Anordnung 100 für die mikrofluidi-
schen Vorrichtungen 101, 101' bildet. Entlang dieser Trans-
20 portstrecke sind Mittel zum Fixieren der Magnetbeads 121
(z.B. in Form eines Elektromagneten) und Detektionsmittel 123
vorgesehen. Dieser Vorgang wird durch die Steuerung 111, 117,
119 koordiniert. Eine mikrofluidische Vorrichtung 101'', wel-
ches bereits vorher verarbeitet wurde, wurde in den Sammelbe-
hälter 131 transportiert.

25
Figur 5 zeigt die erfindungsgemäße Anordnung in einem weite-
ren Betriebszustand, welcher zeitlich auf den Betriebszustand
gemäß Figur 4 folgt. Die mikrofluidische Vorrichtung 101'
wird von den Transportvorrichtungen 107, 109 unter einen Mag-
30 netfelderzeuger 121 bewegt. Der Magnetfelderzeuger 121 kann
als Permanentmagnet oder als Elektromagnet ausgebildet sein.
Die in der als Cartridge ausgebildeten Vorrichtung 101' vor-
gesehenen Prozesskammern 102, 104, 106, 108 können durch die
Transportvorrichtung 107, 109 unter dem Magnetfelderzeuger
35 121 hindurch bewegt werden. Durch selektives Anwenden des
Magnetfeldes wird der Substrat-Molekülkomplex unter dem Mag-
netfelderzeuger fixiert, während sich die mikrofluidische
Vorrichtung 101' weiter bewegt. Dadurch werden die vom Sub-

strat gebundenen Moleküle nacheinander durch die Prozesskammer 102, 104, 106, 108 hindurch bewegt. Alternativ kann aber auch ein beweglicher Magnetfelderzeuger vorgesehen werden, welcher bei einer unbewegten Cartridge die an Magnetbeads gebundene Probe relativ zur Cartridge bewegt. Falls ein Elektromagnet verwendet wird, kann die Steuerung des Magnetfeldes (z.B. ein/aus) durch die Steuerung 111 erfolgen. Die mikrofluidische Vorrichtung 101' wird durch die Transportvorrichtung 109 weiter nach rechts bewegt. Das Öffnungselement 105 ist nun wieder geschlossen. Nachdem die mikrofluidische Vorrichtung 101' unter dem Magneten 121 hindurch bewegt wurde, befindet sich nun die Detektionskammer 108 unter einem Sensor 123 (Fig. 6), welcher die Signale von der in der Detektionskammer 108 Detektionseinrichtung auslesen kann, um das Vorhandensein oder die Konzentration von zu untersuchenden biologischen Molekülen, z.B. Nukleinsäuren, zu erfassen. Die erfassten Signale können zu der Steuerung 111 geleitet werden und dort einer Datenverarbeitung zugeführt werden. Nach erfolgter Erfassung der Signale kann die mikrofluidische Vorrichtung 101' in den Sammelbehälter 131 transportiert werden. Nun kann sich der gesamte Verfahrensablauf mit der nächsten, im Magazin befindlichen mikrofluidischen Vorrichtung 101 wiederholen, bis alle Proben abgearbeitet sind. Auf diese Weise kann nach Beschickung der mikrofluidischen Vorrichtungen 101 mit den Proben und Einbringen der mikrofluidischen Vorrichtungen in 101 in das Magazin 103 die gesamte Probenzahl abgearbeitet werden, ohne dass eine weitere Intervention seitens des Bedienpersonals notwendig wäre. Somit kann die gesamte Analyse der Proben automatisiert ablaufen.

30

In Figur 7 ist eine alternative Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anordnung gezeigt. In dem Magazin 103' sind unbefüllte einmal verwendbare, als Cartridge ausgestaltete mikrofluidische Vorrichtungen 101 in aufgerollter Form bevorratet. Die mikrofluidischen Vorrichtungen können z.B. an einem flexiblen Trägerband aufgerollt sein. Zur Analyse der Proben wird zunächst eine mikrofluidische Vorrichtung 101 a von der Trommel 104 abgerollt und durch die Transporteinrichtung 107

35

zu einer Einrichtung zum Einbringen der Proben 113 transportiert. Diese Einrichtung kann z.B. in Form eines beweglichen Pipetierarms ausgestaltet sein. Die Proben werden in die mikrofluidische Vorrichtung 101 a eingebracht. Das gesamte
5 Verfahren läuft fließbandartig ab während die Proben in die mikrofluidische Vorrichtung 101 a eingebracht werden, wird die mikrofluidische Vorrichtung 101 b unter den Magneten 121 gefahren, so dass die Lyse- und Waschschriffe in den entsprechenden Prozesskammern durchgeführt werden. Die mikrofluidische Vorrichtung 101 c befindet sich bereits unter den Sensor
10 123, wo die Auslesung der Signale der Detektionseinrichtung in die mikrofluidische Vorrichtung 101 c folgt. Die mikrofluidische Vorrichtung 101 d wird in den Sammelbehälter 131 transportiert, in welchem bereits eine verbrauchte mikrofluidische Vorrichtung 101 e vorhanden ist.
15

In der dargestellten Weise kann eine hohe Anzahl von Proben automatisiert verarbeitet werden, wobei das Risiko von Kontaminationen oder Bedienungsfehlern minimiert ist. Insbesondere
20 durch Verwendung von Cartridges, auf welchem mehrere Proben parallel verarbeitet werden können, kann auf diese Weise ein hoher Probendurchsatz erreicht werden.

Es wird betont, dass die verwendeten Beispiele lediglich beispielhaft und veranschaulichend sind. Insbesondere bezüglich
25 der Anordnung von Komponenten, der Bewegungsrichtung der Cartridge durch die Anordnung, die z.B. auch kreisförmig sein könnte, und der Abfolge von Leitungen und Prozesskammern in der Cartridge sind vielerlei Variationen denkbar.

30

Patentansprüche

1. Anordnung zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse, aufweisend folgende Merkmale:

- 5 a) eine Aufnahme für eine mikrofluidische Vorrichtung;
und
- b) Mittel zum Bewegen der mikrofluidischen Vorrichtung in der Anordnung entlang mindestens einer vorgegebenen Bewegungsrichtung;
- 10

dadurch gekennzeichnet, dass die Anordnung mindestens ein Magazin zur Bevorratung einer Mehrzahl von mikrofluidischen Vorrichtungen aufweist.

15

2. Anordnung nach Anspruch 1, ferner aufweisend eine Einrichtung zum Bewegen von in der mikrofluidischen Vorrichtung vorgesehenen Mitteln zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung.

20

20

3. Anordnung nach Anspruch 2, wobei die Einrichtung zum Bewegen von in der mikrofluidischen Vorrichtung vorgesehenen Mitteln zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung einen Magnetfelderzeuger umfassen.

25

25

4. Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, ferner aufweisend Mittel zur Amplifikation des biologischen Moleküls in der mikrofluidischen Vorrichtung.

30

30

5. Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, ferner aufweisend Mittel zur Detektion des biologischen Moleküls.

35

6. Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, ferner aufweisend eine Einrichtung zum Einbringen einer Probe in eine mikrofluidische Vorrichtung.

7. Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, ferner aufweisend einen Behälter zum Sammeln verbrauchter mikrofluidischer Vorrichtungen.
- 5
8. Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das mindestens eine Magazin ein Stapel-Magazin ist, in welchem die mikrofluidischen Vorrichtungen stapelbar sind.
- 10
9. Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das mindestens eine Magazin ein Trommel-Magazin ist, in welchem die mikrofluidischen Vorrichtungen auf einer Rolle aufrollbar sind.
- 15
10. Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, ferner aufweisend Mittel zum Erfassen einer Kodierung einer mikrofluidischen Vorrichtung.
- 20
11. Verfahren zur Aufbereitung einer Mehrzahl von Proben für eine Analyse, aufweisend die Schritte:
- a) Bevorraten einer Anordnung mit einer Mehrzahl von mikrofluidischen Vorrichtungen, wobei die Anordnung mindestens ein Magazin zur Bevorratung mit
- 25 mikrofluidischen Vorrichtungen aufweist und wobei die mikrofluidischen Vorrichtungen jeweils Mittel zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül enthalten;
- b) Einbringen einer ersten Probe, enthaltend mindestens ein zu untersuchendes biologisches Molekül, in eine der mikrofluidischen Vorrichtungen;
- 30 c) Binden des zu untersuchenden biologischen Moleküls durch die Mittel zum Binden von wenigstens einem biologischen Molekül; und
- 35 d) Wiederholen der Schritte b)- c) mit den weiteren Proben, bis alle aufzubereitenden Proben aufbereitet sind;

wobei die mikrofluidische Vorrichtung mit der eingebrachten Probe in der Anordnung entlang mindestens einer vorgegebenen Bewegungsrichtung bewegt wird.

- 5 12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung bewegbar sind.
- 10 13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, wobei das Einbringen der Proben, enthaltend zu untersuchende biologische Moleküle, in die jeweiligen mikrofluidischen Vorrichtungen vor dem Bevorraten der Anordnung mit mikrofluidischen Vorrichtungen erfolgt.
- 15 14. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, wobei die Mittel zum Binden des wenigsten einen biologischen Moleküls ein Substrat aufweisen, das mit dem Molekül zu einem Substrat-Molekül-Komplex verbindbar ist.
- 20 15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei nach dem Binden des Moleküls an das Substrat der Substrat-Molekül-Komplex von der restlichen Probe getrennt wird.
- 25 16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Trennung des Substrat-Molekül-Komplexes von der restlichen Probe durch Bewegen des Substrat-Molekül-Komplexes relativ zu der restlichen Probe erfolgt.
- 30 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 16, wobei die Mittel zum Binden des wenigsten einen biologischen Moleküls wenigstens ein magnetisches Element umfassen.
- 35 18. Verfahren nach Anspruch 17, wobei ein Magnetfeld zum Bewegen der Mittel zum Binden des wenigstens einen biologischen Moleküls relativ zu der mikrofluidischen Vorrichtung verwendet wird.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 18, aufweisend den zusätzlichen Schritt des Amplifizierens des biologischen Moleküls mit einer Amplifikationsreaktion.
- 5 20. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 19, aufweisend den zusätzlichen Schritt des Detektierens des biologischen Moleküls.
21. Verfahren nach Anspruch 20, wobei das biologische Molekül
10 magnetisch detektiert wird.
22. Verfahren nach Anspruch 20, wobei das biologische Molekül optisch detektiert wird.
- 15 23. Verfahren nach Anspruch 20, wobei das biologische Molekül elektrochemisch detektiert wird.
24. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 23, wobei das
20 Mittel zum Binden des wenigstens einen Moleküls entlang einer Reaktionsstrecke in der mikrofluidischen Vorrichtung bewegt wird, welche in mindestens eine Prozesskammer führt.
- 25 25. Verfahren nach Anspruch 24, wobei das Mittel zum Binden des wenigstens einen Moleküls entlang einer Reaktionsstrecke in der mikrofluidischen Vorrichtung durch mehrere Prozesskammern bewegt wird.
- 30 26. Verfahren nach Anspruch 24 oder 25, wobei die Reaktionsstrecke im Wesentlichen entlang der mindestens einen vorgegebenen Bewegungsrichtung in der Anordnung ausgerichtet ist.
- 35 27. Verfahren nach einem der Ansprüche 24 bis 26, wobei in der mikrofluidischen Vorrichtung mehrere Proben gleichzeitig in einer entsprechenden Anzahl von Reaktionsstre-

cken aufbereitet werden, die in der mikrofluidischen Vorrichtung im wesentlichen parallel angeordnet sind.

28. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 27, wobei die
5 mikrofluidischen Vorrichtungen aus dem Magazin nachge-
führt werden, die Anordnung entlang der mindestens einen
vorgegebenen Bewegungsrichtung durchlaufen und dann von
der Anordnung ausgeworfen oder in einen Behälter zum
Sammeln verbrauchter mikrofluidischen Vorrichtungen
10 transportiert werden.

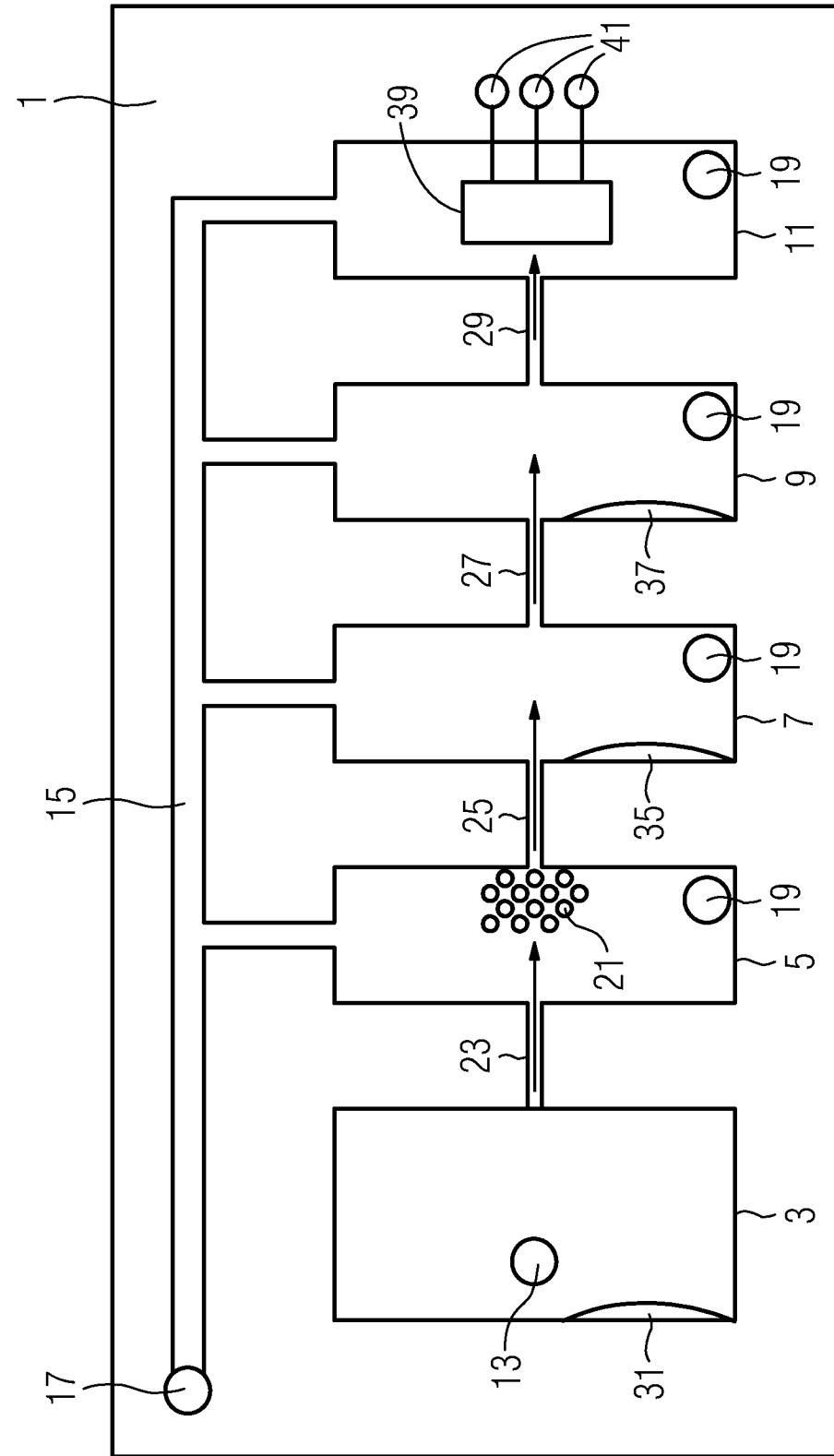


FIG 1

FIG 2

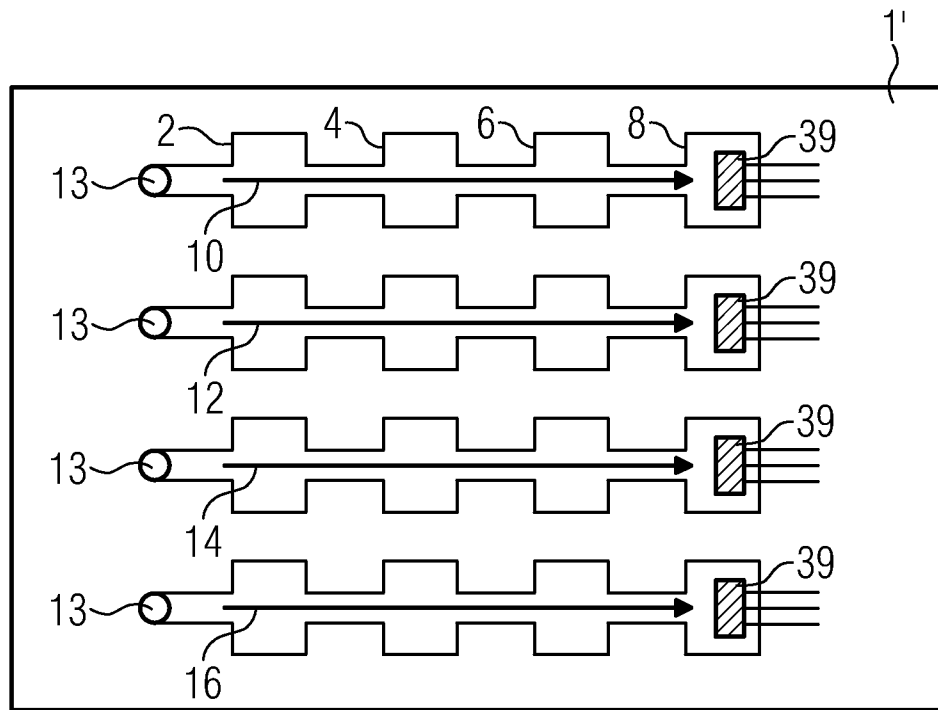
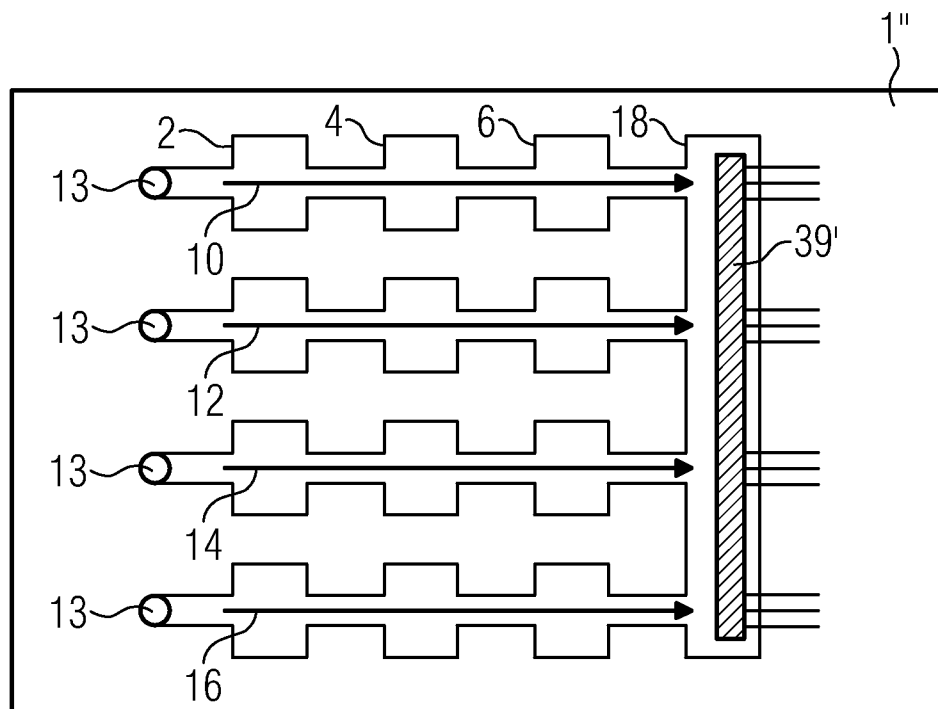


FIG 3



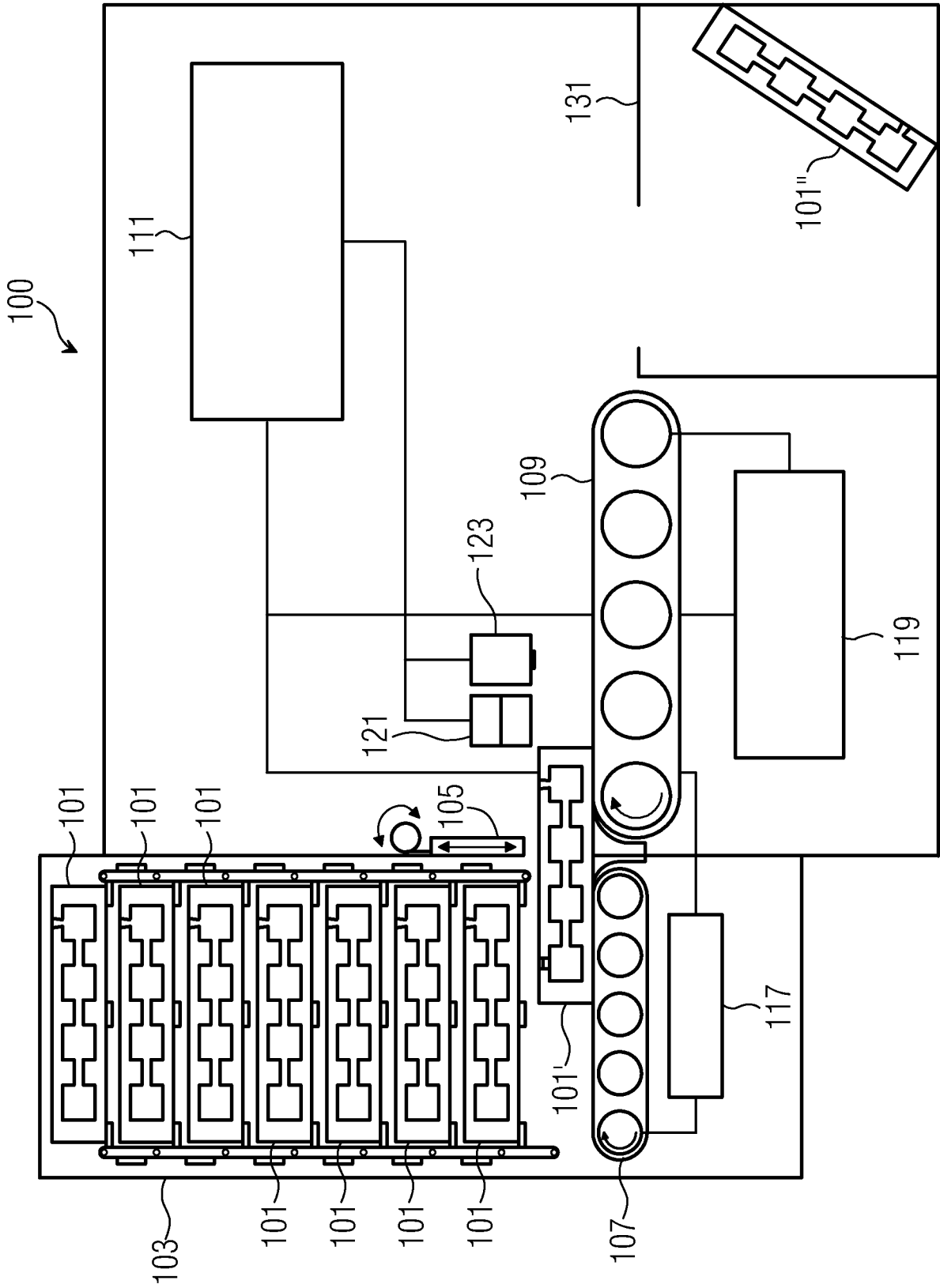


FIG 4

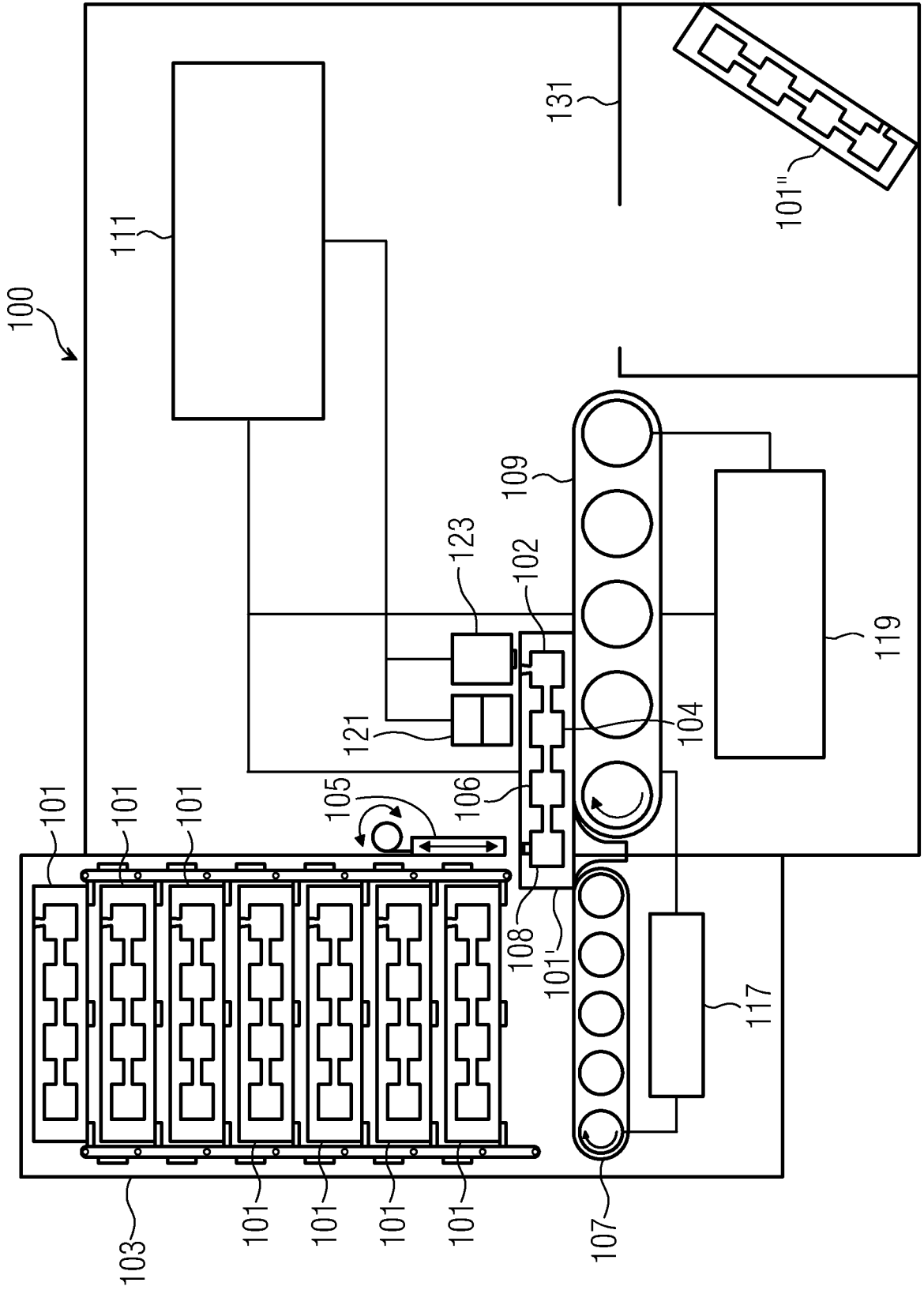


FIG 5

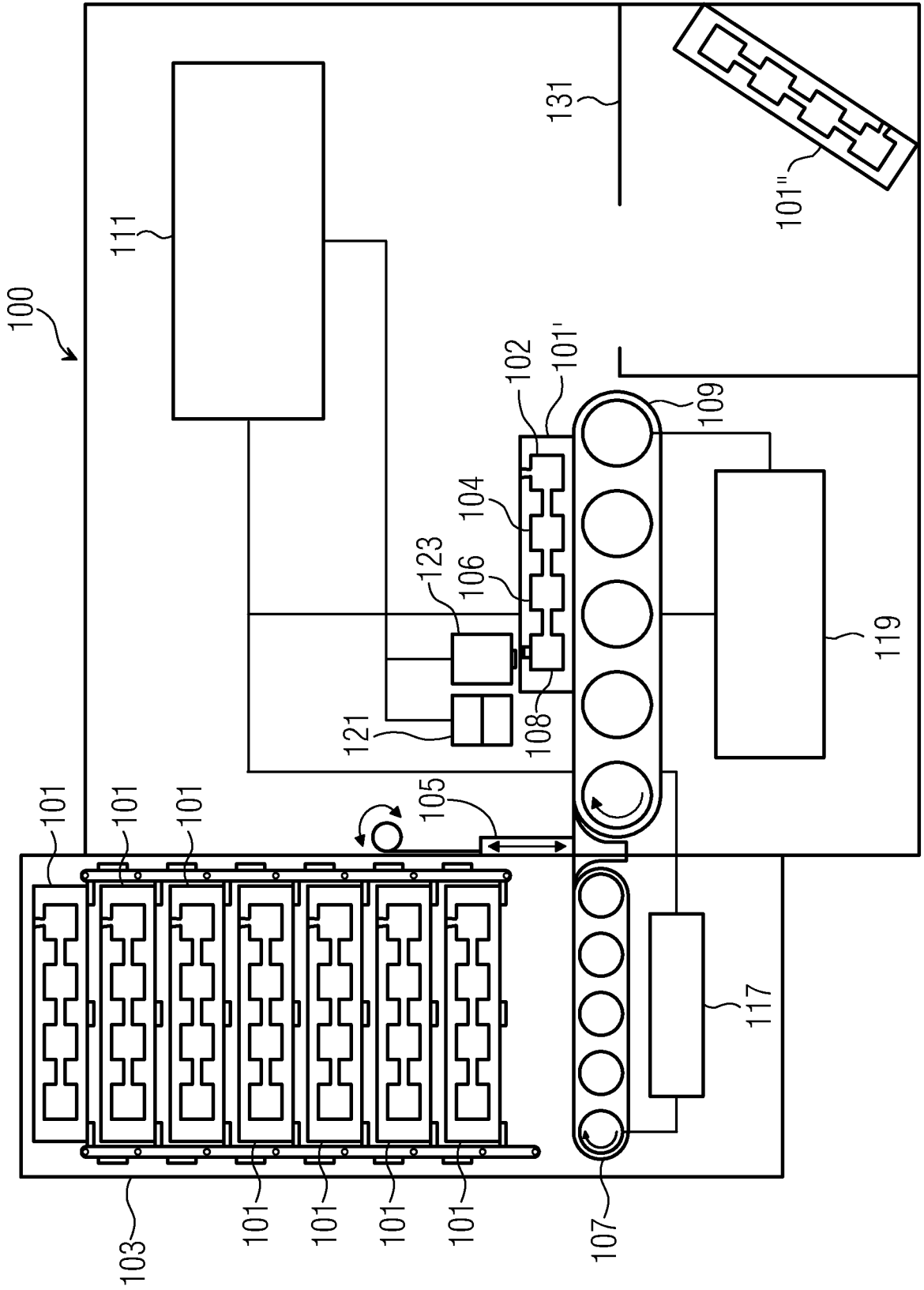
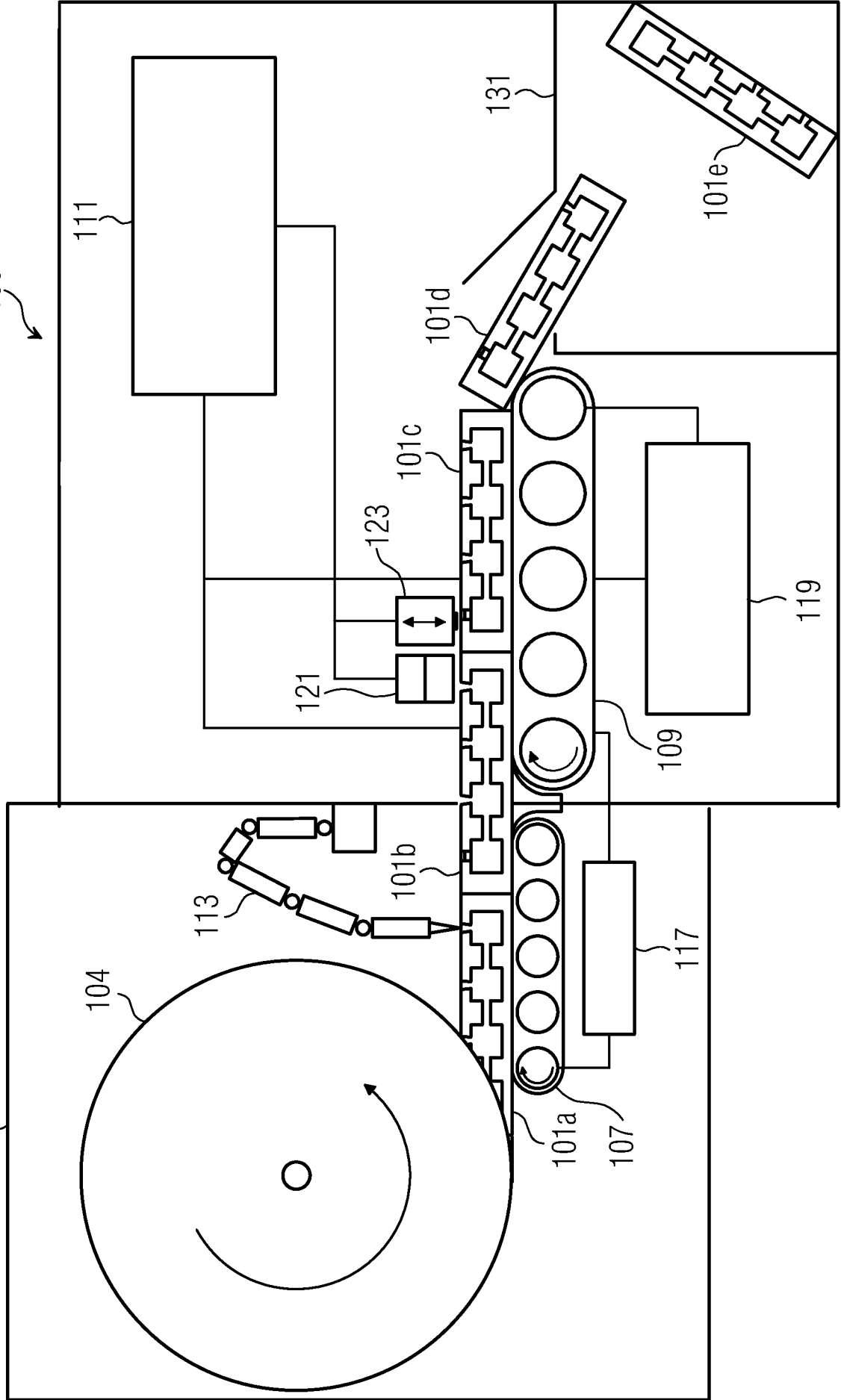


FIG 6

FIG 7

103'



100'

111

104

113

101c

101d

109

119

107

117

121

123

101a

101e

131

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/062977

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. B01L3/00 G01N35/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
B01L G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/114223 A (CALIPER LIFE SCIENCES INC [US]; GREENSTEIN MICHAEL [US]; KENNEDY COLIN) 1 December 2005 (2005-12-01) claim 1; figures 2, 3B, 4A-C	1-28
A	WO 90/10874 A (SCHULZ PETER [DE]) 20 September 1990 (1990-09-20) the whole document	1-28
A	FR 2 820 058 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 2 August 2002 (2002-08-02) the whole document	1-28
A	EP 0 826 963 A (NOKIA MOBILE PHONES LTD [FI] NOKIA CORP [FI]) 4 March 1998 (1998-03-04) the whole document	1-28
	-/--	

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 31 März 2008	Date of mailing of the international search report 14/04/2008
---	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Skowronski, Maik
---	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/062977

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 102 33 212 A1 (SIEMENS AG [DE]) 12 February 2004 (2004-02-12) the whole document -----	1-28
A	US 2003/017085 A1 (KERC SO JOSEPH A [US] ET AL KERC SO JOSEPH E [US] ET AL) 23 January 2003 (2003-01-23) the whole document -----	1-28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/062977

Patent document cited in search report	A	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005114223	A	01-12-2005	AU 2005246404 A1	01-12-2005
			CA 2567537 A1	01-12-2005
			CN 101006344 A	25-07-2007
			EP 1756586 A2	28-02-2007
<hr/>				
WO 9010874	A	20-09-1990	DE 3908123 A1	20-09-1990
			EP 0434773 A1	03-07-1991
<hr/>				
FR 2820058	A	02-08-2002	AT 276519 T	15-10-2004
			DE 60201257 D1	21-10-2004
			DE 60201257 T2	29-09-2005
			EP 1356303 A1	29-10-2003
			WO 02061438 A1	08-08-2002
			JP 2004526138 T	26-08-2004
			US 2004053418 A1	18-03-2004
<hr/>				
EP 0826963	A	04-03-1998	DE 69716543 D1	28-11-2002
			DE 69716543 T2	12-06-2003
			FI 963410 A	03-03-1998
			US 5880829 A	09-03-1999
<hr/>				
DE 10233212	A1	12-02-2004	CA 2493209 A1	26-02-2004
			WO 2004017074 A1	26-02-2004
			EP 1523682 A1	20-04-2005
			JP 2005534039 T	10-11-2005
			US 2005260592 A1	24-11-2005
<hr/>				
US 2003017085	A1	23-01-2003	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/062977

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 INV. B01L3/00 G01N35/02

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

B01L G01N

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

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

EPO-Internal, PAJ, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 2005/114223 A (CALIPER LIFE SCIENCES INC [US]; GREENSTEIN MICHAEL [US]; KENNEDY COLIN) 1. Dezember 2005 (2005-12-01) Anspruch 1; Abbildungen 2,3B,4A-C	1-28
A	WO 90/10874 A (SCHULZ PETER [DE]) 20. September 1990 (1990-09-20) das ganze Dokument	1-28
A	FR 2 820 058 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 2. August 2002 (2002-08-02) das ganze Dokument	1-28
A	EP 0 826 963 A (NOKIA MOBILE PHONES LTD [FI] NOKIA CORP [FI]) 4. März 1998 (1998-03-04) das ganze Dokument	1-28
	-/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
31. März 2008	14/04/2008

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Skowronski, Maik
---	---

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 102 33 212 A1 (SIEMENS AG [DE]) 12. Februar 2004 (2004-02-12) das ganze Dokument -----	1-28
A	US 2003/017085 A1 (KERCSO JOSEPH A [US] ET AL KERCSO JOSEPH E [US] ET AL) 23. Januar 2003 (2003-01-23) das ganze Dokument -----	1-28

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/062977

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2005114223 A	01-12-2005	AU 2005246404 A1	01-12-2005
		CA 2567537 A1	01-12-2005
		CN 101006344 A	25-07-2007
		EP 1756586 A2	28-02-2007
WO 9010874 A	20-09-1990	DE 3908123 A1	20-09-1990
		EP 0434773 A1	03-07-1991
FR 2820058 A	02-08-2002	AT 276519 T	15-10-2004
		DE 60201257 D1	21-10-2004
		DE 60201257 T2	29-09-2005
		EP 1356303 A1	29-10-2003
		WO 02061438 A1	08-08-2002
		JP 2004526138 T	26-08-2004
		US 2004053418 A1	18-03-2004
EP 0826963 A	04-03-1998	DE 69716543 D1	28-11-2002
		DE 69716543 T2	12-06-2003
		FI 963410 A	03-03-1998
		US 5880829 A	09-03-1999
DE 10233212 A1	12-02-2004	CA 2493209 A1	26-02-2004
		WO 2004017074 A1	26-02-2004
		EP 1523682 A1	20-04-2005
		JP 2005534039 T	10-11-2005
		US 2005260592 A1	24-11-2005
US 2003017085 A1	23-01-2003	KEINE	