



(10) **DE 10 2011 083 555 A1** 2013.03.28

(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2011 083 555.5**  
 (22) Anmeldetag: **27.09.2011**  
 (43) Offenlegungstag: **28.03.2013**

(51) Int Cl.: **G01N 35/02 (2011.01)**  
**B01L 3/00 (2011.01)**

(71) Anmelder:  
**ASPRE AG, Appenzell, CH**

(74) Vertreter:  
**Patentanwälte Freischem, 50677, Köln, DE**

(72) Erfinder:  
**Sacher, Friedrich-Josef, 53842, Troisdorf, DE**

**DE 198 48 515 A1**  
**DE 10 2005 032 452 A1**  
**DE 10 2006 024 149 A1**  
**DE 10 2008 042 071 A1**  
**DE 10 2009 052 271 A1**  
**DE 10 2010 002 915 A1**  
**US 2010 / 0 144 052 A1**  
**US 6 028 189 A**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
 gezogene Druckschriften:

**DE 102 12 266 C1**  
**DE 198 02 367 C1**  
**DE 197 19 862 A1**  
**DE 197 40 806 A1**

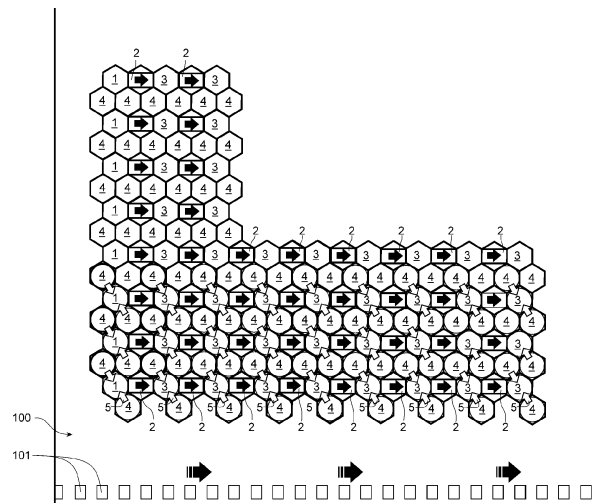
Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

(54) Bezeichnung: **Analyseverfahren und Analysevorrichtung**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Analyse einer Flüssigkeit, bei dem die Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird. Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren und eine Vorrichtung zu schaffen, die die schnelle und kostengünstige Durchführung einer Vielzahl von Analysen in Flüssigkeiten, insbesondere von DNA-Analysen ermöglichen, in Micro-Arrays ermöglicht.

Diese Aufgabe wird dadurch gelöst, dass die Flüssigkeit einer transparenten Analyseplatte (100) zugeführt wird, welche eine Matrix mit mehreren zueinander benachbart angeordneten und zumindest einseitig geschlossenen Aufnahmekammern (3) aufweist, wobei die Flüssigkeit mittels beweglicher Elemente der Analyseplatte (100) auf die Aufnahmekammern (3) aufgeteilt wird.



## Beschreibung

**[0001]** Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Analyse einer Flüssigkeit, bei dem die Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird.

**[0002]** Insbesondere betrifft die Erfindung ein neuartiges Verfahren und eine Vorrichtung durch Durchführung gentechnischer Analysen. Sie kann aber auch in Verbindung mit beliebigen anderen Analyseverfahren angewendet werden, bei denen eine zu untersuchende Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird um nach bestimmten chemischen, thermischen oder sonstigen Behandlungsschritten auf bestimmte Merkmale überprüft zu werden.

**[0003]** Bei dem praktischen Einsatzgebiet gentechnischer Analysen wird die Polymerase-Kettenreaktion (englisch Polymerase Chain Reaction, PCR) eingesetzt. Dies ist ein Verfahren, bei dem in vitro die Erbsubstanz DNA vervielfältigt wird. Zu diesem Zweck wird ein Enzym (DNA-Polymerase) verwendet, welches in Lebewesen dazu dient, die DNA zu verdoppeln. Dabei wird die Flüssigkeit in der Regel in mehreren Zyklen auf eine Temperatur von bis zu 96°C erhitzt. Für dieses Verfahren werden insbesondere thermostabile DNA-Polymerasen verwendet, die auch bei Temperaturen von annähernd 100°C ihre Polymerase-Aktivität behalten.

**[0004]** Zur Durchführung einer Polymerase-Kettenreaktion sind mehrere Komponenten erforderlich, beispielsweise

- die Original-DNA, die den zu vervielfältigenden DNA-Abschnitt enthält;
- Primer, welche auf den Einzelsträngen der DNA jeweils einen Startpunkt der DNA-Synthese festlegen, wodurch der zu vervielfältigende Bereich von beiden Seiten begrenzt wird;
- thermostabile DNA-Polymerase, die den festgelegten Abschnitt repliziert (z. B. Taq-Polymerase)
- Desoxyribonucleosidtriphosphate, aus denen der durch die DNA-Polymerase synthetisierten DNA-Strang gebildet wird;
- Mg<sup>2+</sup>-Ionen;
- Pufferlösungen, die eine geeignete Umgebung für die DNA-Polymerase schaffen.

**[0005]** Für die Durchführung der Polymerase-Kettenreaktion wird ein sogenannter Thermocycler verwendet. Ein Thermocycler beaufschlagt die in einem Reaktionsgefäß befindliche Flüssigkeit mit dem zu replizierenden DNA-Strang mit verschiedenen Temperaturen, die in den jeweiligen Schritten der Polymerase-Kettenreaktion erforderlich sind. Die Flüssigkeit wird in verschiedenen Schritten auf Temperaturen von beispielsweise 60°C, 75°C und 96°C erhitzt.

**[0006]** Sowohl in der Patentliteratur als auch in der gentechnischen Fachliteratur sind Analysever-

fahren unter Verwendung der Polymerase-Kettenreaktion umfangreich beschrieben. Ein Beispiel für ein Verfahren zur Amplifikation und Sequenzierung von DNA-Molekülen ist der Europäischen Patentschrift EP 0 849 364 B1 zu entnehmen. Ein Thermocycler und Probenbehälter für die schnelle DNA-Amplifikation ist zum Beispiel in der Druckschrift WO 2009/105499 A1 offenbart.

**[0007]** Insbesondere hat sich die quantitative Echtzeit-PCR (Real-Timequantitative-PCR) als zur Quantifizierung der gewonnenen DNA durchgesetzt. Die Quantifizierung wird mit Hilfe von Fluoreszenz-Messungen, das heißt Lichtmessung, durchgeführt, die während eines PCR-Zyklus erfasst wird. Die Fluoreszenz nimmt proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu. Am Ende mehrerer Zyklen wird anhand der Fluoreszenzsignale die Quantifizierung in der exponentiellen Phase der PCR durchgeführt. Nur in der exponentiellen Phase der PCR (die wenige Zyklen in einem Lauf dauert) ist die korrekte Quantifizierung möglich, da während dieser Phase die optimalen Reaktionsbedingungen herrschen. Diese Methode unterscheidet sich somit von anderen quantitativen PCR-Methoden (qPCR), die erst nach Ablauf der PCR eine quantitative Auswertung (z. B. Kompetitive PCR), meist unter Einbeziehung einer gelelektrophoretischen Auftrennung der PCR-Fragmente, vornehmen.

**[0008]** Die Druckschrift US 2006/0094027 beschreibt beispielsweise ein System zur Analyse von Flüssigkeiten in sogenannten Micro-Arrays. Micro-Arrays sind Felder (Arrays) oder Matrizen, welche eine Vielzahl von diskreten sehr geringen Flüssigkeitsmengen im Nanoliter-Bereich auf kleiner Fläche aufweisen. In der US 2006/0094027 werden die Micro-Arrays durch Durchgangslöcher mit unterschiedlichen hydrophilen/hydrophoben Oberflächen eigenschaften gebildet. Die Druckschrift beschreibt unterschiedliche Verwendungen von Micro-Arrays. Verfahren zur Herstellung von Micro-Arrays unter anderem auf Glasoberflächen gehen aus den Druckschriften US 5,807,522 und US 2010/024993 A1 hervor. Die Micro-Arrays werden in der Regel dadurch gebildet, dass mit Laserstrahlen Durchgangslöcher gebrannt werden.

**[0009]** Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren und eine Vorrichtung zu schaffen, die die schnelle und kostengünstige Durchführung einer Vielzahl von Analysen in Flüssigkeiten, insbesondere von DNA-Analysen ermöglichen, in Micro-Arrays ermöglicht.

**[0010]** Diese Aufgabe wird in Bezug auf das Verfahren durch die Gesamtheit der Merkmale des Patentanspruchs 1 gelöst.

**[0011]** Es wird ein Verfahren zur Analyse einer Flüssigkeit, bei dem die Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse

nisse aufgeteilt wird, vorgeschlagen, bei dem die Flüssigkeit einer transparenten Analyseplatte zugeführt wird, welche eine Matrix mit mehreren zueinander benachbart angeordneten und einseitig geschlossenen Aufnahmekammern aufweist, wobei die Flüssigkeit mittels beweglicher Elemente der Analyseplatte auf die Aufnahmekammern aufgeteilt wird.

**[0012]** Hintergrund der Erfindung ist ein neues Fertigungsverfahren zur Bearbeitung von Glas und Saphir, welches von dem Fraunhofer-Institut für Lasertechnik ILT in Aachen entwickelt wurde und als selektives Laserätzen (Involume Selective Laser Etching ISLE) bezeichnet wird. Bei diesem Verfahren wird ultrakurz gepulste Laserstrahlung innerhalb eines transparenten Werkstücks fokussiert und nur im Fokusvolumen absorbiert. In diesem Fokusvolumen wird das transparente Material rissfrei in seinen optischen und chemischen Eigenschaften derart verändert, dass es selektiv chemisch ätzbar wird. Durch Bewegen des Fokus mit Hilfe eines Mikroscoopers werden jene Bereiche belichtet, die nachfolgend durch nass-chemisches Ätzen entfernt werden sollen. Somit können Mikrokanäle, Formbohrungen, strukturierte Bauteile und sogar komplexe zusammengesetzte mechanische Systeme in Glas hergestellt werden. Nähere Informationen über das selektive Laserätzen sind der Veröffentlichung in der Zeitschrift Mikroproduktion 06/2010 des Carl Hanser Verlags, München, Seite 10–13, ISSN 1614-4538 zu entnehmen. Aspekte dieser Fertigungstechnologie sind in dem Aufsatz von Maren Hörstmann-Jungemann, Jens Gottmann and Dirk Wortmann mit dem Titel „Nano- and Microstructuring of SiO<sub>2</sub> and Sapphire with Fs-laser Induced Selective Etching“, in JLMN-Journal of Laser Micro/Nanoengineering Vol. 4, No. 2, 2009, pages 135–140 zu entnehmen. Die Herstellung von Mikrofluidkanälen wird von Osellame et al in der Zeitschrift „Laser Photonics Review 5, No. 3, S. 442–463 (2011) beschrieben.

**[0013]** Die Strukturen der neuartigen Vorrichtung zur Durchführung des neuartigen Verfahrens werden bevorzugt durch selektives Laserätzen aus transparenten Platten herausgetrennt. Insbesondere ist es durch dieses Verfahren möglich, eine zumindest auf einer Seite geschlossene transparente Analyseplatte mit Aufnahmekammern zu versehen, wobei mindestens ein bewegliches Element der Analyseplatte die Flüssigkeit in die Aufnahmekammer einfüllt. Dadurch, dass die Aufnahmekammern auf mindestens einer Seite geschlossen sind, wird die Gefahr vermieden, dass Flüssigkeit aus den Aufnahmekammern während des Analysevorgangs austritt. Dies garantiert ein erfolversprechendes Analyseergebnis. Dies reduziert auch die Gefahr der Kontamination der Umgebung mit der zu analysierenden Flüssigkeit, was insbesondere bei der Untersuchung giftiger oder gefährlicher Stoffe sehr vorteilhaft ist. Durch das bewegliche Element kann eine Volumenänderung der Auf-

nahmekammer oder eines damit verbundenen Volumens erzielt werden. Dadurch wird die Befüllung der Aufnahmekammer mit Flüssigkeit bewirkt. Die Verwendung beweglicher Elemente ermöglicht die zuverlässige Zufuhr präziser Flüssigkeitsvolumen, die äußerst klein sein können, z.B. wenige Nanoliter oder Milliliter.

**[0014]** Es kann eine transparente Platte mit Durchgangslöchern geätzt werden, die zumindest einseitig mit einer Deckplatte oder einer sonstigen Deckschicht verschlossen wird. Selektives Laserätzen ist auch bei transparentem Kunststoff durchführbar, so dass alternativ die Analyseplatte aus einer Kunststoffplatte hergestellt werden kann, in die die Durchgangslöcher eingätzt sind.

**[0015]** Die nachfolgende Beschreibung beschreibt summarisch sämtliche Entwicklungsaspekte des neuen Analyseverfahrens nach dem aktuellen Entwicklungsstand. Der sich an das Ende anschließende Satz Patentansprüche bezieht sich dagegen nur auf einen Teil der neuen Merkmale der Erfindung. Weitere Erfindungsmerkmale sind Gegenstand weiterer Patentanmeldungen.

**[0016]** Es ist zu beachten, dass sämtliche Merkmale und Teilmerkmale der nachfolgenden Beschreibung in Bezug auf die Erfindung vorteilhaft sind. Die in der nachfolgenden Beschreibung erläuterten Merkmale, Teilmerkmale und Funktionen der Erfindung können dabei auf beliebige sinnvolle Weise miteinander kombiniert werden. Insbesondere sind in Verbindung mit einem anderen Merkmal oder einer konkreten Ausführungsform beschriebene Merkmale, Teilmerkmale und Funktionen nicht an das genannte andere Merkmale oder die genannte Ausführungsform gekoppelt. Alle Merkmale, Teilmerkmale und Funktionen der nachfolgenden Beschreibung sind selbstständig dazu geeignet, die Erfindung vorteilhaft weiterzubilden.

**[0017]** Aus einer massiven Glas- oder Kunststoffplatte mit einer Dicke von beispielsweise 1 bis 8 mm wird eine Matrix mehrerer zueinander benachbart angeordneter Aufnahmekammern derart herausgeätzt, dass sie zumindest auf einer Seite geschlossen oder verschließbar sind. Beispielsweise können sechseckige Aufnahmekammern in der Analyseplatte nach Art einer Bienenwabe hergestellt werden. Der Abstand zweier paralleler Ränder einer sechseckigen Aufnahmekammer kann in der Größenordnung von 1 mm liegen.

**[0018]** Auf diese Weise lassen sich Aufnahmekammern (auch gelegentlich Reaktorkammern genannt) bilden, welche ein sehr geringes Volumen haben. So kann das Volumen einer einzigen Kammer weit unter 1 µl betragen.

**[0019]** Da die Analyseplatte mit den Aufnahmekammern selbst transparent ist, kann die darin enthaltene Flüssigkeit ohne Umfüllen innerhalb ihrer Reaktorkammer zunächst behandelt und anschließend analysiert werden. Insbesondere können durch das transparente Material der Platte hindurch Lichtstrahlungen aufgenommen werden, die von der Flüssigkeit in der Aufnahmekammer ausgehen. Dies trifft insbesondere für Fluoreszenz-Messungen im Rahmen der quantitativen Echtzeit-PCR zu. Die Bestrahlung der fluoreszenten Stoffe in der Aufnahmekammer mit Licht kann durch die transparente Analyseplatte hindurch erfolgen, wie auch das von den fluoreszenten Stoffen abgestrahlte Licht durch eine Lage der transparenten Platte hindurch geleitet werden kann.

**[0020]** Durch die Verwendung einer transparenten Analyseplatte mit einer Matrix an Aufnahmekammern wird ein äußerst effizientes Analyseverfahren geschaffen. Die Analyseplatte mit den Aufnahmekammern kann verschiedenen Behandlungs- und Analysestationen zugeführt werden, wobei die zu analysierende Flüssigkeit in der Aufnahmekammer abgeschlossen ist. Die Aufprägung der Temperatur auf die Flüssigkeit in jeder Aufnahmekammer erfolgt dabei durch die Wand der Aufnahmekammer hindurch. Hierzu können beispielsweise den einzelnen Aufnahmekammern zugeordnete Stempel oder Stößel verwendet werden.

**[0021]** Die Flüssigkeit in der Aufnahmekammer kann aus der Analyseplatte nicht austreten. Folglich muss lediglich die Analyseplatte als Sondermüll entsorgt werden. Die Gerätschaften werden nicht mit der Flüssigkeit kontaminiert. Es besteht keine Gefahr, beispielsweise in der Flüssigkeit enthaltene gefährliche Viren freizusetzen. Eine Vorrichtung zur Analyse der Flüssigkeit in den Aufnahmekammern der transparenten Analyseplatte kann somit nacheinander mit einer beliebigen Anzahl an Analyseplatten beschickt werden, in deren Aufnahmekammern die Flüssigkeit enthalten ist.

**[0022]** In der Praxis kann die Analyseplatte Strömungskanäle aufweisen, welche in die Aufnahmekammern münden. Auch diese Strömungskanäle können aus der Analyseplatte herausgearbeitet sein, insbesondere durch das selektive Laserätzen. Die Strömungskanäle können die Aufnahmekammern untereinander oder mit Befüllvorrichtungen verbinden.

**[0023]** Die Aufnahmekammern und/oder die Strömungskanäle sind zumindest auf einer Seite geschlossen, so dass die Analyseplatte eine durchgehende transparente Deckschicht aufweist. Die transparente Deckschicht verschließt die Aufnahmekammern und/oder Strömungskanäle auf dieser Seite und vermeidet so das Austreten von Flüssigkeit aus den Aufnahmekammern oder den Strömungskanä-

len. Sie kann zumindest teilweise transparent ausgebildet sein, damit Lichtstrahlung hindurchtreten kann.

**[0024]** Die Aufnahmekammern und/oder die Strömungskanäle können durch bewegliche Kolben verschlossen werden, welche die beweglichen Elemente bilden. Durch Bewegen der Kolben kann das Volumen der Aufnahmekammer und/oder der Strömungskanäle verändert werden. Die Volumenänderungen sind insbesondere während des Befüllens der Aufnahmekammern von besonderer Bedeutung. Dieser Vorgang wird weiter unten näher beschrieben.

**[0025]** Ferner können die Kolben transparent sein. Insbesondere können die Kolben aus der transparenten Analyseplatte mit dem oben beschriebenen Verfahren des selektiven Laserätzens herausgebildet werden. Dabei können die Kolben aus dem Material der Aufnahmeplatte herausgeätzt werden, wobei Materialhinterschneidungen die Kolben in der Aufnahmeplatte halten können.

**[0026]** Die Flüssigkeit kann in eine Befüllkammer in der transparenten Analyseplatte eingefüllt werden, aus der sie in einen Strömungskanal geleitet wird, der die Flüssigkeit in mindestens eine Aufnahmekammer leitet. Die Befüllkammer kann eine obere Öffnung aufweisen, welche nach dem Einfüllen der Flüssigkeit mit einem Stopfen abgedichtet wird. Der Stopfen muss nicht notwendigerweise aus dem transparenten Material der Analyseplatte gefertigt sein. Der Stopfen kann durch elastische Verformung in der Öffnung fixiert werden. Alternativ kann der Stopfen durch ein Bindemittel oder einen Kleber in der Öffnung verklebt werden.

**[0027]** Axial verschiebbare Stößel können gegen eine Wand einer Aufnahmekammer und insbesondere gegen die Kolben bewegbar sein. Insbesondere kann die Aufnahmekammer an der der transparenten Deckschicht gegenüberliegenden Seite mit einem verschiebbaren Verschlusskolben verschlossen sein. Ein axial verschiebbarer Stößel kann gegen die Unterseite des Verschlusskolbens schiebbar sein.

**[0028]** Zum Bewegen des Stößels gegen die Wand der Aufnahmekammer kann vorzugsweise ein elektronisch ansteuerbarer Mikro-Linearantrieb vorgesehen sein, mit dem der Stößel gekoppelt wird. Insbesondere kann der Mikro-Linearantrieb ein Stellglied oder ein damit verbundenes Teil aufweisen, das auf einer Gleitbahn läuft, welche Bewegungen des Stellglieds in vertikale Hub- oder Absenkbewegungen umsetzt. Ein derartiger Mikro-Linearantrieb geht beispielsweise aus der internationalen Patentanmeldung PCT/EP 2011/003090 hervor, deren Inhalt durch Bezugnahme in die vorliegende Patentanmeldung eingebunden wird. Das Stellglied ist vorzugsweise ein piezoelektrisches Stellglied, das durch Anlegen einer Spannung seine Dimensionen ändert.

Mit dem Stellglied kann ein keilförmiger Schlitten verbunden sein, auf den sich der Stößel abstützt. Alternativ können zwei zueinander drehbare Teile mit wendelförmiger Gleitbahn vorgesehen sein, von denen das bewegliche Teil mit dem Stellglied gekoppelt ist. Die Aktivierung des piezoelektrischen Stellglieds (Piezoaktor) bewegt das bewegliche Teil entlang der Gleitbahn, wodurch sich ein Anheben oder Absenken ergibt. Der damit gekoppelte Stößel folgt dieser Bewegung. Ein derartiger Mikrolinearantrieb kann mit sehr kleinen Abmessungen zu geringen Kosten hergestellt werden.

**[0029]** Der axial verschiebbare Stößel kann mit einer Heizvorrichtung verbunden sein, die den axial verschiebbaren Stößel auf einen vorgegebenen Temperaturwert beheizt. Wenn der axial verschiebbare Stößel über den Mikrolinearantrieb gegen die Wand der Aufnahmekammer bewegt wird, prägt der axial verschiebbare Stößel der Aufnahmekammer und der darin befindlichen Flüssigkeit eine vorgegebene Temperatur auf. Auf diese Weise werden die Temperaturzyklen innerhalb der Aufnahmekammern erzeugt, die für die Polymerase-Kettenreaktion erforderlich sind. Ferner können Kühlvorrichtungen zum Abkühlen der Aufnahmekammern vorgesehen sein, um die Aufnahmekammern einem definierten Temperaturzyklus auszusetzen. Insbesondere können in den an die Aufnahmekammer angrenzenden Bauelementen der Analyseplatte Kühlkanäle vorgesehen werden, durch welche Kühlluft geleitet wird.

**[0030]** Ähnlich zu den axial verschiebbaren Verschlusskolben kann im Bereich eines Strömungskanals ein axial verschiebbarer Trennkolben verwendet werden, der gegen die Decke des Strömungskanals bewegt werden kann, um den Flüssigkeitsfilm aus dem Strömungskanal auszutreiben und zu trennen. Die Flüssigkeit wird zunächst aus der Befüllkammer, vorzugsweise ebenfalls mit einem axial verschiebbaren Kolben ausgetrieben und über einen ersten Strömungskanal in eine erste Aufnahmekammer und in dahinterliegende Strömungskanäle und Aufnahmekammern verschoben. Nach dem vollständigen Entleeren der Befüllkammer kann ein axial verschiebbarer Trennkolben gegen die Decke des an die Befüllkammer grenzenden Strömungskanals gedrückt werden. Der Trennkolben drückt die Flüssigkeit vollständig aus dem Strömungskanal heraus. Die neben dem Strömungskanal liegende Aufnahmekammer ist mit Flüssigkeit befüllt. An die Aufnahmekammer schließt sich ein zweiter Strömungskanal an, in dem sich eine gewisse Menge der Flüssigkeit befindet. Durch Verschieben eines weiteren Trennkolbens gegen die Decke dieses zweiten Strömungskanals wird die erste Aufnahmekammer an der zweiten Seite verschlossen, und es wird in dieser Aufnahmekammer ein fest definiertes Flüssigkeitsvolumen eingeschlossen. Das Flüssigkeitsvolumen kann sehr klein sein und in der Größenordnung von weniger als

1  $\mu\text{l}$  (z.B. 0,4  $\mu\text{l}$ ) oder weniger nl (Nanoliter) liegen. Der Trennkolben kann in einer Kolbenkammer unterhalb eines Strömungskanals verschiebbar sein, wobei Trennkolben und Kolbenkammer komplementäre Rasten und Rastaufnahmen aufweisen, die miteinander verrasten, wenn der Trennkolben gegen die Decke des Strömungskanals anliegt. Auf diese Weise wird der Trennkolben in der gegen die Decke des Strömungskanals anliegenden Position arretiert. Die Rasten und Rastaufnahmen können ebenfalls durch selektives Laserätzen aus dem Material der Analyseplatte herausgearbeitet werden. Der Strömungskanal wird von dem oberhalb des Trennkolbens liegenden Bereich der Kolbenkammer gebildet. Diese Rastvorrichtung ist vorteilhaft aber nicht zwingend. Wenn der Trennkolben und die Kolbenkammer, in der der Trennkolben aufgenommen ist, mit hinreichend kleinen Toleranzen gefertigt werden, haftet der mit einem Stößel gegen die Decke des Strömungskanals gedrückte Trennkolben an der Decke und wird allein durch die Schwerkraft nicht wieder davon gelöst.

**[0031]** In der Praxis können sich an jede Befüllkammer z.B. acht Aufnahmekammern anschließen, wobei jede Befüllkammer mit der ersten Aufnahmekammer über einen ersten Strömungskanal verbunden ist. Die Aufnahmekammern sind mit den darauf folgenden Aufnahmekammern jeweils mit einem Strömungskanal verbunden. Jeder der Strömungskanäle ist durch einen arretierbaren Trennkolben verschließbar. Nachdem ausgehend von dem an die Befüllkammer angrenzenden Strömungskanal sukzessive alle Trennkolben gegen die Decke des dazugehörigen Strömungskanals geschoben worden sind, befindet sich in jeder der Aufnahmekammern das genannte kleine Flüssigkeitsvolumen. Durch Aufprägen der vorgegebenen Temperaturen auf die Aufnahmekammern kann die Flüssigkeit den für die Analyse erforderlichen Temperaturzyklen unterworfen werden. Anschließend kann die Flüssigkeit in der transparenten Analyseplatte optisch analysiert werden. Das optische Analyseverfahren wird weiter unten beschrieben.

**[0032]** An der Oberseite des Trennkolbens kann eine Schneide vorgesehen sein, die gegen die Decke des Strömungskanals gedrückt wird, um den Flüssigkeitsfilm in dem Strömungskanal zu trennen. Auch die Schneide kann durch das selektive Laserätzen aus dem Glasmaterial der Analyseplatte gebildet werden. Die Schneide kann verschiebbar in dem Trennkolben angeordnet sein und beim Schieben des Trennkolbens gegen die Decke des Strömungskanals in den Trennkolben eingeschoben werden. Die Schneide durchtrennt den Flüssigkeitsfilm in dem Strömungskanal an einer vorgegebenen Stelle. Aufgrund der Tatsache, dass der Strömungskanal einen sehr dünnen Querschnitt (1 mm und kleiner) aufweist, spielen Oberflächenkräfte beim Befüllen der Aufnahmekammern eine erhebliche Rolle. Die Schneide auf der

Oberseite des Trennkolbens stellt sicher, dass der Flüssigkeitsfilm in dem Strömungskanal zuverlässig getrennt wird und sich zwei separate Flüssigkeitsmengen zu beiden Seiten der Schneide bilden.

**[0033]** Die Aufnahmekammern können zumindest im Bereich der Oberfläche des Verschlusskolbens und der dieser Oberfläche gegenüberliegenden Decke der Aufnahmekammer eine hydrophile Oberfläche aufweisen, die durch Wasser gut benetzt wird. Ebene Glasflächen sind in der Regel hydrophil. Durch das selektive Laserätzen können sehr glatte Flächen erzeugt werden, an denen Wasser sehr gut anhaftet. Zusätzlich oder alternativ können die Flächen glatt gelasert werden, um optimale hydrophile Eigenschaften aufzuweisen. Dabei können zunächst durch Laserätzen raue, hydrophobe Flächen erzeugt werden, die in einem zweiten Schritt mit Laserstrahlen bestrahlt werden, wobei Unebenheiten abgetragen werden, um hydrophil zu werden.

**[0034]** Dagegen können zumindest die Seitenwände der Aufnahmekammern und/oder die Wände der Strömungskanäle mit einer hydrophoben Oberfläche versehen werden. Hydrophobe Oberflächen entstehen beispielsweise durch eine hohe Oberflächenrauigkeit. Auch eine derartige Oberflächenrauigkeit lässt sich durch selektives Laserätzen realisieren. Alternativ oder zusätzlich können die hydrophoben Oberflächen mit einer hydrophoben Substanz wie PT-FE beschichtet werden. Dadurch, dass die Seitenwände der Aufnahmekammern und/oder die Wände der Strömungskanäle, einschließlich der die Strömungskanäle nach unten begrenzenden Oberseiten der Verschlusskolben, hydrophob, also wasserabstoßend, ausgebildet sind, bildet das geringe Flüssigkeitsvolumen (unter 1  $\mu\text{l}$ ) innerhalb der Aufnahmekammer einen Tropfen, der an der Oberseite der Aufnahmekammer und der Oberfläche des Verschlusskolbens anhaftet, von den restlichen Wänden der Aufnahmekammer aber abgestoßen wird und aufgrund der Oberflächenspannung einen starken Zusammenhalt innerhalb der Aufnahmekammer hat. Hierdurch wird das Flüssigkeitsvolumen zuverlässig innerhalb der Aufnahmekammer eingeschlossen und legt den Verschlusskolben mit innigem Kontakt zur Flüssigkeit innerhalb der Aufnahmekammer fest. Die verschiebbaren Verschlusskolben können sogar an ihrer Außenseite Luftkanäle aufweisen. Dies ermöglicht das Ausströmen von Luft während des Befüllvorgangs der Aufnahmekammern. Aufgrund des Anhaftens der Flüssigkeit an der hydrophilen Oberfläche des Aufnahmekolbens, wird dieser in seiner das Flüssigkeitsvolumen abgrenzenden Position fixiert. Aufgrund der Oberflächenspannung besteht ferner nicht die Gefahr, dass Flüssigkeit durch die Luftkanäle mit wenigen Mikrometern Durchmesser austritt. Auch im Bereich der Luftkanäle kann die Oberfläche des Verschlusskolbens hydrophob ausgebildet sein, um ei-

nem Eindringen von Flüssigkeit aus der Aufnahmekammer entgegenzuwirken.

**[0035]** In die Aufnahmekammern und/oder die Befüllkammern können Reagenzien, insbesondere Enzyme, Marker sowie die weiteren zur Durchführung einer Polymerase-Kettenreaktion erforderlichen Komponenten eingefüllt werden. Zu diesem Zweck können den Aufnahmekammern und/oder den Befüllkammern zugeordnete Reserviors in der Analyseplatte vorgesehen sein, welche mit den Aufnahmekammern und/oder Befüllkammern in Fluidverbindung stehen. Z.B. kann ein Kanal aus dem Reservoir in die Befüll- oder Aufnahmekammer führen. In den Reserviors können Ausstoßkolben angeordnet sein, die das Volumen mit den Reagenzien begrenzen. Durch Verschieben der Ausstoßkolben werden die Reagenzien aus dem Reservoir durch den Kanal in die Aufnahmekammer / Befüllkammer gedrückt. Der Aufbau der Reserviors ähnelt folglich dem Aufbau der Aufnahmekammer oder des Strömungskanals, wobei die Reserviors bei der Herstellung der Analyseplatte befüllt werden können, wogegen die zu analysierende Flüssigkeit unmittelbar vor der Analyse über die Befüllkammer in die Aufnahmekammern eingefüllt wird. Folglich entsprechen die Ausstoßkolben auch den Verschlusskolben in den Aufnahmekammern oder den Trennkolben in den Strömungskanälen.

**[0036]** Ein Verfahren zur Analyse einer Flüssigkeit, die auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird, kann folgende Schritte umfassen:

- A) die Flüssigkeit wird einer transparenten Analyseplatte zugeführt, welche eine Matrix mit mehreren Reihen zueinander benachbart angeordneter und einseitig geschlossener Aufnahmekammern aufweist, in welche die Flüssigkeit auf die Aufnahmekammern aufgeteilt wird,
- B) jeder Aufnahmekammer in der Analyseplatte wird zu einem ersten Zeitraum durch eine Wand der Aufnahmekammer hindurch eine erste Temperatur aufgeprägt,
- C) jeder Aufnahmekammer der Analyseplatte wird in einem zweiten Zeitraum durch eine Wand der Aufnahmekammer hindurch eine zweite Temperatur aufgeprägt.

**[0037]** Wie Eingangs erläutert, bildet die transparente Analyseplatte eine Matrix mit einer Vielzahl von Aufnahmekammern, in denen die zu analysierende Flüssigkeit von der Umgebung abgeschlossen aufgenommen ist. Durch das Aufprägen unterschiedlicher Temperaturen können die einzelnen Aufnahmekammern den Temperaturzyklen ausgesetzt werden, die für die Analyse, insbesondere der Polymerase-Kettenreaktion, erforderlich sind. Das Aufprägen der Temperatur kann dadurch erfolgen, dass auf einem bestimmten Temperaturwert aufgeheizte Stößel in Kontakt mit einer Wand der jeweiligen Aufnahmekammer

gebracht werden. Insbesondere kann ein Stößel in der Praxis gegen die Bodenwand gedrückt werden und dieser die Temperatur aufprägen. Nach Beendigung des ersten Zeitraumes, in dem die erste Temperatur aufgeprägt wird, kann die Analyseplatte durch eine Transportvorrichtung in eine andere Position transportiert werden, in der die Aufnahmekammer mit einem zweiten Stößel mit einer zweiten Temperatur kontaktiert wird. Die Analyseplatte kann sukzessive derart transportiert werden, dass ihre Aufnahmekammern nacheinander unterschiedlichen Temperaturen aufgesetzt werden. Beispielsweise kann eine Stößelmatrix vorgesehen sein, die der Matrix der Aufnahmekammern entspricht. Die Analyseplatte wird jeweils um den Abstand einer Stößelreihe vorwärts bewegt, sodass die Reihen von Aufnahmekammern nacheinander unterschiedlichen Stößelreihen zugeführt werden. Die Analyseplatte kann auch vorwärts und rückwärts transportiert werden, sodass eine bestimmte Reihe der Aufnahmekammern zunächst einer ersten Stößelreihe, anschließend einer zweiten Stößelreihe, danach einer dritten Stößelreihe und anschließend wieder der ersten Stößelreihe zugeführt werden. Jede der Stößelreihen kann auf eine bestimmte Temperatur vorgeheizt sein. Auf diese Weise können die Aufnahmekammern der Analyseplatte nacheinander unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt werden.

**[0038]** Ferner können geeignete Kühlvorrichtungen, wie beispielsweise Gebläse, vorgesehen werden, welche nach der Beendigung der Kontaktierung der Aufnahmekammern durch die Stößel ein Absinken der Temperatur in den Aufnahmekammern hervorrufen. Die Stößel können insbesondere mit dem oben beschriebenen Mikrolinearantrieb in Kontakt mit den Aufnahmekammern gebracht werden. Die Gebläse können insbesondere Kühlluft durch Kühlkanäle im Bereich der Aufnahmekammern treiben. Natürlich kann auch auf einer Seite der Analyseplatte ein Unterdruck erzeugt werden, der Umgebungsluft durch Kühlkanäle in der Analyseplatte saugt. Die Kühlluft umströmt dabei den Stößel und vermeidet somit eine Wärmeübertragung, solange kein physischer Kontakt zwischen dem Stößel und der Analyseplatte besteht.

**[0039]** Wie weiter oben erwähnt, wird das Analyseverfahren vorzugsweise durch Erfassung optischer Signale durchgeführt. Hierzu wird die Analyseplatte mindestens einer Reihe optischer Sensoren, insbesondere Fotosensoren zugeführt, sodass jeder optische Sensor einer der Aufnahmekammern räumlich zugeordnet ist. Die optischen Sensoren in der Reihe weisen zueinander einen Abstand auf, der dem Abstand zwischen zwei Aufnahmekammern in einer Reihe von benachbarten Aufnahmekammern der Analyseplatte entspricht. In einer praktischen Ausführungsform sind die optischen Sensoren in mehreren Reihen angeordnet, sodass eine Matrix von optischen Sensoren entsteht, die der Matrix der Aufnahmekammern einer Analyseplatte entspricht. Es kann

auch eine Matrix an Fotosensoren vorgesehen werden, die einem Teil der Matrix der Aufnahmekammern, beispielsweise der Hälfte der Aufnahmekammern oder eines Drittels der Aufnahmekammern, entsprechen. Zur Analyse werden dann entsprechende Teilbereiche der Analyseplatte nacheinander der Matrix an optischen Sensoren mittels einer Transportvorrichtung zugeführt. Die optischen Sensoren können oberhalb der Aufnahmekammern angeordnet sein. Die Analyseplatte weist an ihrer geschlossenen Seite die transparente Deckschicht auf, wobei die optischen Sensoren ein photographisches Abbild der Flüssigkeit in der Aufnahmekammern durch die transparente Deckschicht der Analyseplatte hindurch aufnehmen.

**[0040]** Ferner kann die Analyseplatte einer Reihe von Lichtquellen zugeführt werden, wobei jede Lichtquelle jeweils einer Aufnahmekammer räumlich zugeordnet ist. Auch die Lichtquelle ist vorzugsweise oberhalb der transparenten Deckschicht der Aufnahmekammer angeordnet. In der Praxis kann die Lichtquelle zu dem Fotosensor benachbart angeordnet sein. Folglich sind die Lichtquellen ebenfalls in einer Matrix angeordnet, wobei die Analyseplatte durch eine Transportvorrichtung in eine Position transportiert wird, in der die gesamte Matrix der Aufnahmekammern oder zumindest ein Teil dieser Matrix unterhalb der Fotosensoren und der benachbarten Lichtquellen angeordnet ist. Durch die Lichtquellen können die Aufnahmekammern beleuchtet werden. Die Fotosensoren nehmen das fluoreszente Nachleuchten der Flüssigkeit in den Aufnahmekammern auf. Insbesondere können kombinierte Fotosensor/Lichtquellen-Paarungen in Form einer Matrix angeordnet werden, die der Matrix der Aufnahmekammern entspricht. Jeweils eine Paarung aus Fotosensor und Lichtquelle ist einer der Aufnahmekammern zugeordnet. Die Analyseplatte mit den Aufnahmekammern kann mit einer Transportvorrichtung in eine Position gebracht werden, in der jede Aufnahmekammer direkt unter einer Lichtquelle und einem Fotosensor liegt.

**[0041]** Als Lichtquellen können Leuchtdioden (LEDs) insbesondere organische Leuchtdioden (OLEDs) verwendet werden. Als Fotosensoren können beispielsweise CMOS-Bildsensoren verwendet werden.

**[0042]** Die von jedem Fotosensor aufgenommenen Signale können in der Praxis einer Datenbank zugeführt werden. In dieser Datenbank können die Messwerte für alle Aufnahmekammern einer Analyseplatte abgelegt werden. Auf diese Weise werden Datensätze erzeugt, die die Analyseergebnisse für alle Aufnahmekammern einer Analyseplatte enthalten.

**[0043]** Die Analyseplatte kann auch durch eine geeignete Transportvorrichtung nach einer vorgegebenen

nen Anzahl thermischer Zyklen zu den Fotosensoren und gegebenenfalls Lichtquellen transportiert werden, sodass eine Aufnahme nach einer ersten Anzahl thermischer Zyklen durchgeführt wird. Nach dieser Aufnahme kann die Analyseplatte wieder zu der Vorrichtung für die thermische Behandlung transportiert werden und nach einem weiteren Temperaturzyklus erneut den Fotosensoren zur Messwertaufnahme zugeführt werden.

**[0044]** Gegenstand der Erfindung ist ferner eine Vorrichtung zur Analyse einer Flüssigkeit, wobei die Vorrichtung mehrere Behältnisse aufweist, auf die die Flüssigkeit aufteilbar ist. Die Vorrichtung umfasst mindestens eine transparente Analyseplatte, welche eine Matrix mit mehreren zueinander benachbart angeordneten und einseitig geschlossenen Aufnahmekammern aufweist, auf welche die Flüssigkeit aufteilbar ist. Zwischen je zwei Aufnahmekammern kann ein Strömungskanal in der Analyseplatte vorgesehen sein.

**[0045]** Aufnahmekammern und/oder Strömungskanäle sind durch eine durchgehende transparente Deckschicht abgedeckt. Die Analyseplatte kann ferner bewegliche Elemente zum Abdichten der Aufnahmekammern und/oder der Strömungskanäle aufweisen. Die beweglichen Elemente können verschiebbare Befüllkolben, Verschlusskolben oder Trennkolben sein, die ebenfalls vorzugsweise zumindest teilweise transparent sind. Die Analyseplatte mit den Aufnahmekammern und den beweglichen Elementen kann aus einer transparenten Platte durch selektives Laserätzen hergestellt werden. Die transparente Platte kann in der Praxis aus Glas bestehen. Es kann aber auch eine transparente Platte aus Kunststoff verwendet werden. Die Analyseplatte kann mindestens eine Befüllkammer aufweisen, aus der ein Strömungskanal in mindestens eine Aufnahmekammer führt. Vorzugsweise weist die Analyseplatte an einem Rand eine Mehrzahl von in konstantem Abstand aufeinanderfolgenden Befüllkammern auf. An jede Befüllkammer kann sich eine Reihe Aufnahmekammern anschließen. Über jede Befüllkammer kann eine Reihe Aufnahmekammern mit der zu analysierenden Flüssigkeit befüllt werden.

**[0046]** Die Befüllkammer kann eine obere Öffnung aufweisen, in welche Flüssigkeit eingefüllt wird. Nach dem Einfüllen der Flüssigkeit in die Befüllkammer kann die obere Öffnung mit einem Stopfen abgedichtet werden.

**[0047]** Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann ferner wie weiter oben beschrieben axial verschiebbaren Stößel aufweisen, die gegen eine Wand der Aufnahmekammer bewegbar sind, wobei jeder Stößel mit einem elektronisch ansteuerbaren Mikrolinearantrieb gekoppelt sein kann. Die axialverschiebbaren Stößel können auf einen vorgegebenen Temperatur-

wert beheizt werden und diese Temperatur über die Kammerwand auf die Flüssigkeit in der Aufnahmekammer übertragen.

**[0048]** Die Analyseplatte der Vorrichtung kann ferner die oben beschriebenen Trennkolben, Rasten, Rastaufnahmen, Schneiden umfassen. In die Aufnahmekammern der Analyseplatten für das Flüssigkeitsanalyseverfahren erforderliche Reagenzien, insbesondere Enzyme und die weiteren für die Polymerase-Kettenreaktion erforderlichen Komponenten eingebracht werden. Hierzu kann die Analyseplatte Reservoirs aufweisen, in denen die Reagenzien aufgenommen sind und die mit einer Befüllkammer oder einer Aufnahmekammer in Fluidverbindung stehen. In den Reservoirs können Ausstoßkolben vorgesehen sein, die die Reagenzien aus den Reservoirs ausstoßen.

**[0049]** Die Vorrichtung kann ferner geeignete Heizvorrichtungen umfassen, welche den Aufnahmekammern vorgegebene Temperaturen aufprägen. Insbesondere können diese Heizvorrichtungen in Reihen angeordnete Stößel sein.

**[0050]** Ferner kann die Vorrichtung eine Transportvorrichtung aufweisen, welche die transparente Analyseplatte derart den Heizvorrichtungen zuführt, dass die Heizvorrichtungen auf die Aufnahmekammern der Analyseplatte wirken können.

**[0051]** Schließlich kann die Vorrichtung optische Sensoren (Fotosensoren) und/oder Lichtquellen umfassen, wobei die Transportvorrichtung die Analyseplatte zu den Fotosensoren und/oder Lichtquellen ausrichten können. In der ausgerichteten Position liegt vorzugsweise eine Aufnahmekammer unterhalb eines Fotosensors bzw. unterhalb einer Lichtquelle.

**[0052]** Ausführungsformen werden nachfolgend unter Bezugnahme auf die beigefügten Zeichnungen beschrieben.

**[0053]** [Fig. 1](#) zeigt eine schematische geschnittene Draufsicht auf eine erfindungsgemäße Analysevorrichtung und [Fig. 1a](#) zeigt einen vergrößerten Ausschnitt eines Abschnittes der Analyseplatte.

**[0054]** [Fig. 2](#) zeigt eine schematische Schnittdarstellung der Analyseplatte aus [Fig. 1](#).

**[0055]** [Fig. 3](#) zeigt sechs Ansichten einer Befüllvorrichtung für die Befüllkammern der Analyseplatte der Analysevorrichtung.

**[0056]** [Fig. 4](#) zeigt zehn Ansichten, welche den Befüllvorgang der Analyseplatte erläutern, in geschnittener Darstellung.



[0057] **Fig. 5** zeigt drei Ansichten eines vergrößerten Ausschnitts der Analyseplatte während des Befüllvorgangs.

[0058] **Fig. 6** zeigt die befüllte Analyseplatte während der Durchführung thermischer Behandlungsschritte in drei Darstellungen in geschnittener schematischer Ansicht.

[0059] **Fig. 7** zeigt Details der Analyseplatte während der thermischen Behandlung.

[0060] **Fig. 8** zeigt eine geschnittene Darstellung der Analyseplatte, welche das Kühlsystem der Platte erläutert.

[0061] **Fig. 9** zeigt eine vergrößerte Darstellung eines Ausschnitts aus **Fig. 8**.

[0062] **Fig. 10** zeigt einen Mikroantrieb für die Stößel der erfindungsgemäßen Analysevorrichtung und **Fig. 10a)** zeigt eine vergrößerte dreidimensionale Darstellung des Mikroantriebs.

[0063] **Fig. 11a** zeigt eine schematische Darstellung einer Auflagefläche für die Analyseplatte und **Fig. 11b** zeigt die Matrix von Stößeln unterhalb der Auflagefläche.

[0064] **Fig. 12** zeigt eine schematische Darstellung einer Transportvorrichtung für die Analyseplatte der Analysevorrichtung.

[0065] In der **Fig. 1** ist eine Matrix der verschiedenen Hohlräume einer Analyseplatte **100** für die erfindungsgemäße Analysevorrichtung zu erkennen. Das Grundmaterial der Analyseplatte **100** ist transparent und vorzugsweise Glas oder auch Kunststoff. Die **Fig. 1** zeigt eine Draufsicht auf die Analyseplatte **100** ohne die darauf aufgebrachte Deckschicht. Durch Laserätzen ist aus dem Grundmaterial der Analyseplatte **100** eine bienenwabenförmige Struktur herausgeätzt.

[0066] Im linken Bereich der Analyseplatte **100** sind Befüllkammern **1** vorgesehen. Jede Befüllkammer **1** besteht aus einer Wabe der bienenwabenförmigen Struktur der Analyseplatte **100**. Jede Befüllkammer **1** ist über Fluidverbindungen **5** mit zwei angrenzenden Reservoirs **4** verbunden, welche Reagenzien enthalten. Durch einen Ausstoßkolben können die Reagenzien aus jedem der Reservoirs **4** selektiv in die angrenzende Befüllkammer **1** eingefüllt werden. Die Fluidverbindung **5** durch Kanäle ist für die untersten drei Befüllkammern **1** schematisch durch die weißen Pfeile dargestellt.

[0067] An jede Befüllkammer **1** schließt sich auf der rechten Seite eine Kammer an, welche einen Strömungskanal **2** bildet. Nur die Strömungskanäle **2** in

der unteren Reihe und in der mittleren Reihe sind in **Fig. 1** mit dem Bezugszeichen **2** markiert. Ansonsten sind die Strömungskanäle in **Fig. 1** durch schwarze Pfeile, die nach rechts weisen, dargestellt. An jeden Strömungskanal **2** schließt sich auf der rechten Seite eine Aufnahmekammer **3** an. Dann folgen im Wechsel auf jede Aufnahmekammer **3** ein Strömungskanal **2** und wiederum eine Aufnahmekammer **3**. Jede Aufnahmekammer **3** ist analog zu den Befüllkammern **1** mit jeweils zwei Reservoirs **4** verbunden. Jedes Reservoir **4** besteht wiederum aus einer Wabe der Bienenwabenstruktur der Analyseplatte **100**. Für die unteren vier Reihen der Aufnahmekammern **3** sind die Fluidverbindungen **5** der Reservoirs zu den benachbarten Aufnahmekammern **3** als weiße Pfeile dargestellt. Die Bezugszeichen **5** sind nun in der unteren Reihe der Reservoirs **4** in **Fig. 1** sowie in der vergrößerten Darstellung in **Fig. 1a** zu erkennen. Insgesamt ist nur ein L-förmiger Ausschnitt der wabenförmigen Struktur dargestellt. Die Struktur setzt sich zumindest soweit fort, dass die Matrix an Aufnahmekammern **3** ein vollständiges Quadrat von acht mal acht Aufnahmekammern **3** bildet. Es können aber auch größere Strukturen gebildet werden, je nach Notwendigkeit und Einsatzzweck.

[0068] In der **Fig. 1** ist ferner zu erkennen, dass die Analyseplatte **100** an mindestens einem seitlichen Rand Perforationen **101** aufweist, die dem Transport der Analyseplatte **100** mittels einer geeigneten Transportvorrichtung dienen.

[0069] In der vergrößerten Darstellung der **Fig. 1a** ist zu erkennen, dass jede Aufnahmekammer **3** mit zwei Strömungskanälen **2** verbunden ist, durch die die zu untersuchende Flüssigkeit einströmt und ausströmt, und dass jede Aufnahmekammer **3** ferner mit zwei Reservoirs **4** verbunden ist, aus denen Reagenzien in die Aufnahmekammer eingefüllt werden können.

[0070] Sowohl die Befüllkammer **1** als auch die Strömungskanäle **2** und die Aufnahmekammern **3** weisen eine lichte Weite von weniger als 1 mm zwischen den zueinander parallelen Wandungen auf.

[0071] Der in **Fig. 1** unten liegende Rand der Analyseplatte **100** ist mit Perforationen **101** versehen, ähnlich den Perforationen zum Transport eines Filmes. Vorzugsweise sind am oberen Rand der Analyseplatte entsprechende Perforationen angeordnet. Mittels der Perforationen kann die Analyseplatte **100** mit Zahnrädern in vorgegebenen Positionen transportiert werden.

[0072] In **Fig. 2** ist die vollständige Analyseplatte **100** mit acht nebeneinander angeordneten Aufnahmekammern **3** dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Strömungskanäle **2** und die Aufnahmekammern **3** durch eine Deckschicht **102** abgedeckt sind. So ist die Analyseplatte **100** der Analysevorrichtung ein-

seitig verschlossen. Die Deckschicht kann auf die Wabenstruktur der Analyseplatte **100** aufgeklebt werden, nachdem die Befüllkammern **1**, Strömungskanäle **2**, Aufnahmekammern **3** und Reserviors **4** sowie die Fluidverbindungen **5** geätzt wurden.

**[0073]** Die **Fig. 3** zeigt schematisch den Befüllvorgang der Befüllkammern **1**. In einem Einfüllzylinder **105** ist ein Einfüllkolben **6** aufgenommen. Der Einfüllzylinder **105** ist mit einer Flüssigkeit **7** befüllt. Dem Einfüllkolben **6** gegenüber liegend und oberhalb der Befüllkammer **1** der Analyseplatte **100** ist an dem Einfüllzylinder **105** eine Austrittsöffnung vorgesehen, die mit einer Mikrosperre **8** für die Flüssigkeit versehen ist.

**[0074]** Die Mikrosperre **8** weist einen engen Durchtrittskanal auf. Der Durchtrittskanal weist eine wasserabweisende (hydrophobe) Oberfläche auf. Wenn sich die Durchtrittsöffnung der Mikrosperre **8** oberhalb einer Befüllkammer **1** befindet, wird der Einfüllkolben **6** um eine definierte Strecke nach unten bewegt. Hierdurch tritt eine festgelegte Flüssigkeitsmenge **9** aus und wird in die Befüllkammer **1** der Analyseplatte **100** eingefüllt.

**[0075]** Links von dem Einfüllzylinder **105** ist ein Magazin **35** für Verschlussstopfen **10** zu erkennen. Unterhalb des Magazins **35** ist ein Trennmesser **36** angeordnet. Nach dem Einfüllen der festgelegten Flüssigkeitsmenge **9** in die Befüllkammer **1** wird das Trennmesser **36** betätigt, so dass dessen Schneide einen Verschlussstopfen **10** von der Anzahl Verschlussstopfen **10** in dem Magazin **36** trennt.

**[0076]** Die Analyseplatte **100** mit den Befüllkammern **1** wird dann relativ zu dem Einfüllzylinder **105** bewegt, bis die Mikrosperre **8** sich oberhalb der nächsten Befüllkammer **1** befindet (siehe **Fig. 3b–d**). Dabei drückt der hintere Abschnitt des Trennmessers **36** den Verschlussstopfen in die bereits befüllte Befüllkammer **1**. Hierdurch wird die Befüllkammer **1** verschlossen.

**[0077]** Durch Herabbewegen des Einfüllkolbens **6** wird dann die genannte nächste Befüllkammer **1** befüllt. Beim Weitertransport der Analyseplatte **100** mit den Befüllkammern **1** wird die eingefüllte Flüssigkeitsmenge **9** von der Flüssigkeit **7** in dem Einfüllzylinder **105** abgeschert (siehe **Fig. 3e**). In dem Durchtrittskanal der Mikrosperre **8** verbleibt aufgrund der hydrophoben Beschichtung keine Flüssigkeit, solange kein Druck auf die Flüssigkeit **7** in dem Einfüllzylinder **105** ausgeübt wird.

**[0078]** Nach dem Befüllen der Befüllkammer **1** wird die Flüssigkeitsmenge **9** aus der Befüllkammer **1** in die Aufnahmekammern **3** geleitet. Dieser Vorgang ist in den Darstellungen der **Fig. 4** zu erkennen. Die Befüllkammer **1** ist unten mit einem beweglichen Element, nämlich einem Befüllkolben **11** abgeschlossen.

In **Fig. 4a**) befindet sich der Befüllkolben **11** in der unteren Stellung. Der Befüllkolben **11** wird in die Befüllkammer **1** eingeschoben. Der Befüllkolben **11** drückt dabei die Flüssigkeitsmenge **9** aus der Befüllkammer **1** in den angrenzenden Strömungskanal **2** (**Fig. 4b**). Von dort aus strömt die Flüssigkeit in die angrenzende Aufnahmekammer **8**. Die Flüssigkeitsmenge **9** fließt dann weiter in die darauffolgenden Strömungskanäle **2** und Aufnahmekammern **3**.

**[0079]** In **Fig. 4b**) ist der Zustand bei vollständig entleerter Befüllkammer **1** dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Flüssigkeitsmenge **9** nur etwa die Hälfte der Befüllkammern **3** und Strömungskanäle **2** füllt.

**[0080]** In **Fig. 4** ist zu erkennen, dass unterhalb jedes Strömungskanals **2** eine Kolbenkammer **12** angeordnet ist, in der sich ein Trennkolben **13** befindet. Der Trennkolben **13** bildet ein bewegliches Element für den Weitertransport der Flüssigkeit in dem Strömungskanal **2**. Es sei angemerkt, dass in **Fig. 4a**) lediglich die Bezugszeichen für die Strömungskanäle **2** und die Aufnahmekammern **3** dargestellt sind wogegen die **Fig. 4f**) die Bezugszeichen für die Trennkolben **13** und die Verschlusskolben **14** zeigt. Nur die äußerst rechte Kolbenkammer **12** ist in **Fig. 4f**) aus Gründen der Übersichtlichkeit mit einem Bezugszeichen versehen.

**[0081]** Die Kolbenkammer **12** und der Trennkolben **13** können beide ebenfalls aus dem Glasmaterial der Analyseplatte **100** herausgeätzt sein. Durch Drücken des ersten, äußerst linken Trennkolbens **13** gegen die Decke des ersten Strömungskanals **2** wird die Flüssigkeit aus dem Strömungskanal **2** herausgedrückt. Dieser Zustand ist für den ganz linken Strömungskanal **2** in **Fig. 4c**) dargestellt. Zum Herausdrücken der Flüssigkeit wird ein Stößel **19** von unten gegen den Trennkolben **13** gedrückt. Wird der zweite Trennkolben **13** gegen die Decke des ihm zugeordneten Strömungskanals **2** gedrückt, wird auch die Flüssigkeit aus diesem zweiten Strömungskanal herausgetrieben (**Fig. 4d**). Eine kleine Menge der Flüssigkeit ist dann in der Aufnahmekammer **3** zwischen den zwei Trennkolben **13** eingeschlossen. Beim Verschließen dieser äußerst linken Aufnahmekammer **3** wird gegen den Verschlusskolben **14**, der diese Aufnahmekammer begrenzt, ein Stößel **19** bewegt. Der Stößel **19** definiert in der Aufnahmekammer **3** ein vorgegebenes Volumen, so dass beim Verschließen der Aufnahmekammer **3** durch den rechts davon gelegenen Trennkolben **13** in der Aufnahmekammer **3** ein bestimmtes Flüssigkeitsvolumen verbleibt.

**[0082]** Nacheinander werden alle Trennkolben **13** durch die darunter liegenden Stößel **19** gegen die Decken der ihnen zugeordneten Strömungskanäle **2** gedrückt (**Fig. 4e–Fig. 4j**), wobei der jeweils links von dem Trennkolben **13** liegende Verschlusskolben **14** durch den ihn zugeordneten Stößel **19** in der vorge-

gebenen Position arretiert wird. Nach Abschluss dieses Vorgangs befindet ist die Flüssigkeitsmenge **9** aus der Befüllkammer **1** gleichmäßig auf die Aufnahmekammern **3** aufgeteilt (siehe **Fig. 4j**).

**[0083]** Im unteren Bereich ist jede Aufnahmekammer **3** der Analyseplatte **100** durch einen Verschlusskolben **14** verschlossen. Der Verschlusskolben **14** ist verschiebbar in der Aufnahmekammer **3** angeordnet. Er ermöglicht eine Volumenänderung der Aufnahmekammer **3**. So ist gewährleistet, dass die Aufnahmekammer **3** zum einen gegen Austritt von Flüssigkeit verschlossen ist, zum anderen aber ein veränderliches Volumen aufweist, sodass das Volumen der Aufnahmekammer **3** während des Befüllvorgangs und bei sich ändernder Temperatur jederzeit dem Volumen der eingefüllten Flüssigkeit entspricht.

**[0084]** Die **Fig. 5** zeigt drei vergrößerte Darstellungen mehrerer Strömungskanäle **2** und angrenzender Aufnahmekammern **3**. Es ist zu erkennen, dass die Trennkolben **13** an ihrer Oberseite jeweils eine Schneide **15** aufweisen. Die Schneide **15** wird beim axialen Verschieben des Trennkolbens **13** nach oben in eine Schneidenaufnahme **16** im Bereich der Deckschicht **102** hineinbewegt. Die Schneide **15** durchtrennt den Flüssigkeitsfilm in dem Strömungskanal **2**. Die Oberfläche des Trennkolbens **13** sowie die Deckwand des Strömungskanals **2** sind vorzugsweise hydrophob ausgebildet. Hierzu kann sie entweder mit einer geeigneten Oberflächenrauigkeit gefertigt werden oder hydrophob beschichtet werden.

**[0085]** Ferner ist in den **Fig. 5a–Fig. 5c** zu erkennen, dass jeder Trennkolben **13** seitliche Rasten **17** aufweist, die federnd am Trennkolben **13** befestigt sind und in komplementäre Rastaufnahmen (nicht dargestellt) der Analyseplatte **100** im Bereich der Wandung der Kolbenkammern **12** einrasten. Hierdurch wird jeder Trennkolben **13** in seiner Absperrposition arretiert, in der er gegen die obere Wandung des Strömungskanals **2** anliegt. In diesen Figuren ist ferner zu erkennen, dass die Krümmung der Oberseite des Trennkolbens **13** größer als die Krümmung der Decke des Strömungskanals **2**. Mit anderen Worten entsteht bei gegen die Decke des Strömungskanals **2** geschobenem Trennkolben **13** ein von der Mitte nach außen sich erweiternder Spalt. Dieser Spalt vermeidet, dass beim Verschließen des Strömungskanals **2** Flüssigkeitsmengen zwischen der Decke des Strömungskanals **2** und der Oberseite des Trennkolbens **13** eingeschlossen werden.

**[0086]** Die Verschlusskolben **14** weisen an ihrem Umfang Kühlkanäle **18** auf (siehe **Fig. 5**), durch welche ein kühlendes Medium, insbesondere Kühlluft, geleitet werden kann. Diese Kühlkanäle **18** dienen der Kühlung der Flüssigkeitstropfen **21** in der Aufnahmekammer **3**, damit die Flüssigkeit möglichst exakt einem vorgegebenen Temperaturverlauf folgt, bei

dem auf eine Erhitzungsphase eine Abkühlungsphase folgen kann. Die Kühlkanäle **18** münden in die Aufnahmekammer **3** selbst, so dass Kühlluft unmittelbar in die Aufnahmekammer **3** einströmen und wieder herausströmen kann. Die Kühlkanäle **18** wirken dabei mit weiteren luftdurchlässigen Mikrokanälen zusammen, wie in Verbindung mit den **Fig. 8** und **Fig. 9** weiter unten näher erläutert wird.

**[0087]** Die **Fig. 6** zeigt die Mittel zur Beheizung der Flüssigkeit in den Aufnahmekammern **3**. Unterhalb der Verschlusskolben **14** für die Aufnahmekammern **3** sind Stößel **19** angeordnet, die durch einen Mikrolinearantrieb angehoben werden können. Jeder Stößel **19** ist auf einen vorgegebenen Temperaturwert erhitzt. Wird ein Stößel **19** durch einen Mikrolinearantrieb angehoben, kontaktiert er den Kolbenboden des Verschlusskolbens **14** und überträgt über diesen Kolbenboden seine Temperatur auf den Flüssigkeitstropfen **21** in der entsprechenden Aufnahmekammer **3**. Die verschiedenen Stößel **19** können unterschiedliche Temperaturwerte aufweisen, sodass nacheinander der Flüssigkeit in jeder Aufnahmekammer **3** unterschiedliche Temperaturen aufgeprägt werden. Die Analyseplatte **100** wird über eine Matrix von Stößeln **19** transportiert. Die Transportrichtung ist dabei durch den Pfeil **20** gekennzeichnet. Nach jedem schrittweisen Vorschub der Analyseplatte kann ein anderer Stößel **19** mit einem anderen Temperaturwert gegen den Verschlusskolben **14** einer bestimmten Aufnahmekammer **3** gedrückt werden. Auf diese Weise werden vorgegebene Temperaturzyklen realisiert.

**[0088]** Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind weitgehend nur in der oberen **Fig. 6a**) Bezugszeichen eingetragen.

**[0089]** Die Beheizung mittels Stößeln ist noch einmal vergrößert in **Fig. 7** dargestellt. Der linke Stößel **19** ist gegen den Boden des Verschlusskolbens **14** gedrückt und überträgt die Temperatur auf den Flüssigkeitstropfen **21** in der Aufnahmekammer **3**. Der rechte Stößel **19** ist nach unten zurückgezogen, sodass der Flüssigkeitstropfen **21** in der rechten Aufnahmekammer **3** nicht erhitzt wird.

**[0090]** Die **Fig. 7** zeigt ferner eine Anordnung zur Erzeugung und Aufnahme optischer Signale, insbesondere Fluoreszenzsignale in den Flüssigkeitstropfen **21**. Oberhalb der Deckschicht **102** der Analyseplatte **100** befindet sich eine Blendenplatte **23**, in die Lochblenden **24** eingearbeitet sind. Die Lochblenden **24** sind derart angeordnet, dass jeweils eine Lochblende **24** zu einer Aufnahmekammer **3** ausgerichtet ist. Oberhalb jeder Lochblende **24** befindet sich ein optischer Sensor **25**, zum Beispiel ein CMOS-Bildsensor oder CCD-Bildsensor. Die Grundfläche jedes Bildsensors kann beispielsweise  $1 \times 1$  mm betragen. Das Loch der Lochblende **24** wird auf der dem Aufnahmeraum zugewandten Seite von einer Lichtquel-

le 26 umgeben, welche vorzugsweise aus lichtemittierenden Dioden (LED), insbesondere organischen LEDs, besteht. Durch die LEDs kann Licht in den Flüssigkeitstropfen 21 in jeder Aufnahmekammer 3 eingestrahlt werden. Anschließend können durch den optischen Sensor 25 die fluoreszenten Lichtemissionen des Flüssigkeitstropfens 21 in jeder Aufnahmekammer 3 aufgenommen werden.

[0091] Die Fig. 8 und Fig. 9 zeigen eine Kühlvorrichtung für die Flüssigkeitstropfen 21 in den Aufnahmekammern 3. In der oberen Deckschicht 102 der Analyseplatte 100 sind Kühlkanäle 27 angeordnet, durch welche Luft geblasen werden kann. In der Praxis kann ein Kühlelement, beispielsweise ein Peltier-Element oberhalb der Kühlkanäle 27 angeordnet sein. Durch ein Gebläse oder durch eine Saugvorrichtung unterhalb der Analyseplatte 100 kann ein Druckgefälle erzeugt werden, welches dafür sorgt, dass Luft durch die Analyseplatte 100 hindurch strömt. Die Kühlkanäle 18 der Verschlusskolben 14 und weitere Kühlkanäle in den Trennkolben 13 und den Wänden der Kolbenkammern 12 leiten den Luftstrom durch die Aufnahmekammern 3 zur Unterseite der Analyseplatte 100. Die Decke der Aufnahmekammern 3 sowie die den Flüssigkeitstropfen 21 in der Aufnahmekammer 3 zugewandten Kolbenwände des Verschlusskolbens 14 sind vorzugsweise hydrophil und folglich gut von dem Flüssigkeitstropfen 21 in der Aufnahmekammer 3 benetzt. Die Seitenwände der Aufnahmekammern 3 sind vorzugsweise hydrophob ausgebildet, sodass sie den Flüssigkeitstropfen 21 in der Aufnahmekammer 3 abstoßen. Durch die Oberflächenspannung des Flüssigkeitstropfens 21 in der Aufnahmekammer 3 und die äußerst geringen Querschnitte der Kühlkanäle wird vermieden, dass die Flüssigkeit von der Kühlluft mitgerissen wird und durch die Kühlkanäle austritt.

[0092] Es ist zu erkennen, dass der Kühlluftstrom auch die Stößel 19 umströmt. Dadurch ist sichergestellt, dass eine relevante Wärmeübertragung nicht durch Konvektion nur durch Kontakt der Stirnfläche eines Stößels 19 mit der Bodenwand der Aufnahmekammer 3 erfolgt, welche durch den Kolbenboden des Verschlusskolbens 14 gebildet wird. Sobald der Stößel 19 zurückgezogen wird und den Kolbenboden nicht mehr kontaktiert, verhindert der Kühlluftstrom um den Stößel 19 eine weitere Wärmeübertragung von dem Stößel 19 auf den Verschlusskolben 14.

[0093] Die Fig. 10 und Fig. 10a) zeigt einen Mikrolinearantrieb 29 für die Stößel 19. Ein ringförmiges Element 30 weist zwei schräge Gleitbahnen 31 auf. Ein Piezoaktor 32 bewirkt eine Drehung des ringförmigen Elements 30 und über die Gleitbahn 31 ein Anheben des ihm zugeordneten Stößel 19. Die Bewegung des Piezoaktors 32 kann auch auf andere Weise, z.B. hydraulisch, auf die Stößel 19 übertragen werden.

[0094] Fig. 11a zeigt ein Gehäuse 40 einer Analysevorrichtung mit einer Auflagefläche 39, über die die Analyseplatte bewegt wird. Die Auflagefläche 39 weist ein gleichmäßiges Raster von Bohrungen 37 auf, welche von darunterliegenden den Stößeln 19 durchragt werden. Die Fig. 11b zeigt das Gehäuse 40 ohne Auflagefläche, so dass schematisch die Matrix von Stößeln 19 zu erkennen ist, die jeweils mit einem derartigen Mikrolinearantrieb gekoppelt sind.

[0095] Die Fig. 12 zeigt eine Transportvorrichtung 33 für eine Analyseplatte 100 mit Aufnahmekammern 3. Die Transportvorrichtung 33 weist mehrere Transportzahnrad 34 auf, welche mit den perforierten Randbereichen (Fig. 1) der Analyseplatte 100 kämmen und die Analyseplatte 100 exakt positionieren. Der Abstand zwischen zwei Transportzahnrad 34 in Transportrichtung ist geringer, als die Länge der Analyseplatte 100. Oberhalb der Transportzahnrad 34 sind Andrückrollen 38 vorgesehen, die die Analyseplatte 100 gegen die Auflagefläche drücken.

[0096] Wesentliche Aspekte der Erfindung werden nachfolgend nach Nummern geordnet noch einmal angeführt:

1. Verfahren zur Analyse einer Flüssigkeit, bei dem die Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit einer transparenten Analyseplatte (100) zugeführt wird, welche eine Matrix mit mehreren zueinander benachbart angeordneten und zumindest einseitig geschlossenen Aufnahmekammern (3) aufweist, wobei die Flüssigkeit mittels beweglicher Elemente der Analyseplatte (100) auf die Aufnahmekammern (3) aufgeteilt wird.
2. Verfahren nach Nummer 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit durch Strömungskanäle (2) fließt, welche zu den Aufnahmekammern (3) führen.
3. Verfahren nach Nummer 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufnahmekammern (3) und/oder die Strömungskanäle (2) mit einer durchgehenden transparenten Deckschicht (102) abgedeckt werden.
4. Verfahren nach einer der vorangehenden Nummern, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufnahmekammern (3) und/oder die Strömungskanäle (2) durch bewegliche Elemente begrenzt werden, wobei durch Bewegen der Elemente das Volumen der Aufnahmekammern (3) und/oder des Strömungskanals (2) verändert wird.
5. Verfahren nach Nummer 4, dadurch gekennzeichnet, dass die beweglichen Elemente Befüllkolben (11), Verschlusskolben (14) oder Trennkolben (13) sind.
6. Verfahren nach Nummer 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, dass die beweglichen Elemente transparent sind.



7. Verfahren nach einer der vorangehenden Nummern, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit in eine Befüllkammer (1) in der transparenten Analyseplatte (100) eingefüllt wird und aus der Befüllkammer (1) in einen Strömungskanal (2) geleitet wird, der die Flüssigkeit in mindestens eine Aufnahmekammer leitet.

8. Verfahren nach Nummer 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Befüllkammer (1) eine obere Öffnung aufweist, welche nach dem Einfüllen der Flüssigkeit mit einem Verschlussstopfen (10) abgedichtet wird.

9. Verfahren nach einer der vorangehenden Nummern, dadurch gekennzeichnet, dass axial verschiebbare Stößel (19) gegen eine Wand einer Aufnahmekammer (3) bewegbar sind.

10. Verfahren nach Nummer 9, dadurch gekennzeichnet, dass jeder Stößel (19) mit einem elektronisch ansteuerbaren Mikrolineartrieb (29) gekoppelt wird.

11. Verfahren nach Nummer 10, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikrolineartrieb (29) ein Stellglied oder ein damit verbundenes Teil aufweist, das auf einer Gleitbahn läuft, welche Bewegungen des Stellgliedes in vertikale Hub- oder Absenkbewegungen umsetzt.

12. Verfahren nach einer der Nummern 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die axial verschiebbaren Stößel (19) auf einen vorgegebenen Temperaturwert beheizbar sind.

13. Verfahren nach einer der Nummern 9 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass jede Aufnahmekammer (3) von einem ein axial verschiebbaren Verschlusskolben (14) begrenzt wird, gegen dessen von der Flüssigkeit abgewandten Kolbenboden ein Stößel (19) mit einem vorgegebenen Temperaturwert bewegt wird.

14. Verfahren nach einer der Nummern 7 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass ein axial verschiebbarer Trennkolben (13) gegen die Decke des Strömungskanals (2) gedrückt wird und den Flüssigkeitsfilm in dem Strömungskanal (2) trennt.

15. Verfahren nach Nummer 14, dadurch gekennzeichnet, dass der Trennkolben (13) in einer Kolbenkammer (12) verschiebbar ist, wobei Trennkolben (13) und Kolbenkammer (12) komplementäre Rasten (17) und Rastaufnahmen aufweisen, die miteinander Verrasten, wenn der Trennkolben (13) gegen die Decke des Strömungskanals (2) anliegt.

16. Verfahren nach Nummer 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, dass an der Oberseite des Trennkolbens (13) eine Schneide (15) vorgesehen ist, die zum Trennen des Flüssigkeitsfilms gegen die Decke des Strömungskanals (2) gedrückt wird.

17. Verfahren nach Nummer 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Schneide (15) verschiebbar in dem Trennkolben (13) angeordnet ist und beim Schieben des Trennkolbens (13) gegen die Decke

des Strömungskanals (2) in den Trennkolben (13) eingeschoben wird.

18. Verfahren nach einer der vorangehenden Nummern, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufnahmekammern (3) zumindest im Bereich der Oberfläche des Verschlusskolbens (14) und der dieser Oberfläche gegenüberliegenden Decke der Aufnahmekammer (3) mit einer hydrophilen Oberfläche versehen werden.

19. Verfahren nach Nummer 18, dadurch gekennzeichnet, dass die seitlichen Wände der Aufnahmekammern (3) und/oder die Wände der Strömungskanäle (2) mit einer hydrophoben Oberfläche versehen werden.

20. Verfahren nach einer der vorangehenden Nummern, dadurch gekennzeichnet, dass Reagenzien, insbesondere Enzyme, aus Reservoirs (4) der Analyseplatte (100) in mindestens eine der folgenden Kammern eingefüllt werden:

- Befüllkammern (1);
- Aufnahmekammern (3).

21. Verfahren nach Nummer 20, dadurch gekennzeichnet, dass ein Ausstoßkolben in den Reservoirs (4) bewegt wird, um die Reagenzien in die genannte Kammer einzufüllen.

22. Verfahren nach einer der vorangehenden Nummern, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (100) mit Kühlkanälen (18, 27) versehen wird, durch die ein Kühlmedium strömt.

23. Verfahren nach Nummer 22, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eines der folgenden Bauelemente mit Kühlkanälen (18, 27) versehen wird:

- die Deckschicht (102);
- die Wand der Kolbenkammer (12);
- der Trennkolben (13);
- der Verschlusskolben (14).

24. Verfahren zur Analyse einer Flüssigkeit, bei dem die Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird, gekennzeichnet durch folgende Schritte:

A) die Flüssigkeit wird einer transparenten Analyseplatte (100) zugeführt, welche eine Matrix mit mehreren Reihen zueinander benachbart angeordneter Aufnahmekammern (3) aufweist, in welche die Flüssigkeit auf die Aufnahmekammern (3) aufgeteilt wird,

B) jeder Aufnahmekammer (3) in der Analyseplatte (100) wird zu einem ersten Zeitraum durch eine Wand der Aufnahmekammer (3) hindurch eine erste Temperatur aufgeprägt,

C) jeder Aufnahmekammer (3) der Analyseplatte (100) wird in einem zweiten Zeitraum durch eine Wand der Aufnahmekammer (3) hindurch eine zweite Temperatur aufgeprägt.

25. Verfahren nach Nummer 24, dadurch gekennzeichnet, dass Schritt C) wiederholt wird, so dass jeder Aufnahmekammer (3) sukzessive hintereinander vorgegebene Temperaturen aufgeprägt werden.

26. Verfahren nach Nummer 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Temperatur mittels eines auf eine vorgegebene Temperatur aufgeheizten Stößels (19) aufgeprägt wird, wobei die Analyseplatte (100) vorzugsweise durch eine Transportvorrichtung von einer ersten Position in eine zweite Position transportiert wird und in eine Aufnahmekammer (3) in der ersten Position von einem ersten Stößel (19) kontaktiert wird und in der zweiten Position von einem zweiten Stößel (19) kontaktiert wird.

27. Verfahren nach einer der Nummern 24 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (100) mindestens einer Reihe optische Sensoren (25) zugeführt wird, so dass jeder optischer Sensor (25) einer Aufnahmekammer (3) zugeordnet ist, wobei die optischen Sensoren (25) einen Abstand zueinander aufweisen, der dem Abstand zwischen Aufnahmekammern (3) in einer Reihe von Aufnahmekammern (3) entspricht.

28. Verfahren nach Nummer 27, dadurch gekennzeichnet, dass der optische Sensor (25) oberhalb der Aufnahmekammer (3) angeordnet ist.

29. Verfahren nach Nummer 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (100) mindestens eine Reihe Lichtquelle (26) zugeführt wird, so dass jede Lichtquelle (26) einer Aufnahmekammer (3) zugeordnet ist, wobei die Lichtquellen (26) einen Abstand zueinander aufweisen, der dem Abstand zwischen Aufnahmekammern (3) in einer Reihe von Aufnahmekammern (3) entspricht.

30. Verfahren nach Nummer 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtquelle (26) oberhalb der Aufnahmekammer (3) angeordnet ist.

31. Verfahren nach Nummer 29 oder 30, dadurch gekennzeichnet, dass jeweils mindestens eine Lichtquelle (26) in unmittelbarer Nähe zu einem optischen Sensor (25) angeordnet ist.

32. Vorrichtung zur Analyse einer Flüssigkeit, mit mindestens einer Analyseplatte (100), die mehrere Behältnisse aufweist, auf die die Flüssigkeit aufteilbar ist, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (100) transparent ist, dass die Analyseplatte (100) eine Matrix mit mehreren zueinander benachbart angeordneten Aufnahmekammern (3) aufweist und dass die Analyseplatte (100) mindestens ein bewegliches Element aufweist, mit dem die Flüssigkeit auf die Aufnahmekammern (3) aufgeteilt wird.

33. Vorrichtung nach Nummer 32, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (100) Strömungskanäle (2) aufweist, welche zu den Aufnahmekammern (3) führen.

34. Vorrichtung nach Nummer 32 oder 33, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufnahmekammern (3) und/oder die Strömungskanäle (2) der Analyseplatte (100) mit einer durchgehenden transparenten Deckschicht (102) abgedeckt sind.

35. Vorrichtung nach einer der Nummern 32 bis 34, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (100) verschiebbare Kolben (13, 14) aufweist, welche die Aufnahmekammern (3) und/oder der Strömungskanäle (2) begrenzen.

36. Vorrichtung nach Nummer 35, dadurch gekennzeichnet, dass die Kolben (13, 14) aus transparentem Material bestehen.

37. Vorrichtung nach einer der Nummern 32 bis 36, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (100) mindestens eine Befüllkammer (1) aufweist, aus der ein Strömungskanal (2) in mindestens eine Aufnahmekammer (3) führt.

38. Vorrichtung nach Nummer 37, dadurch gekennzeichnet, dass die Befüllkammer (1) eine obere Öffnung aufweist, welche nach dem Einfüllen der Flüssigkeit mit einem Verschlussstopfen (10) abdichtbar ist.

39. Vorrichtung nach einer der Nummern 32 bis 38, gekennzeichnet durch axial verschiebbare Stößel (19), die gegen eine Wand einer Aufnahmekammer (3) bewegbar sind.

40. Vorrichtung nach Nummer 39, dadurch gekennzeichnet, dass jeder Stößel (19) mit einem elektronisch ansteuerbaren Mikrolineartrieb (29) gekoppelt ist.

41. Vorrichtung nach Nummer 40, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikrolineartrieb (29) ein Stellglied oder ein damit verbundenes Teil aufweist, das auf einer Gleitbahn läuft, welche Bewegungen des Stellgliedes in vertikale Hub- oder Absenkbewegungen umsetzt.

42. Vorrichtung nach einer der Nummern 39 bis 41, dadurch gekennzeichnet, dass die axial verschiebbaren Stößel (19) mit mindestens einer Heizvorrichtung gekoppelt sind, welche die Stößel (19) auf einen vorgegebenen Temperaturwert aufheizt.

43. Vorrichtung nach einer der Nummern 39 bis 42, dadurch gekennzeichnet, dass jede Aufnahmekammer (3) von einem axial verschiebbaren Verschlusskolben (14) begrenzt ist, gegen dessen von der Flüssigkeit abgewandten Kolbenboden ein Stößel (19) mit einem vorgegebenen Temperaturwert bewegbar ist.

44. Vorrichtung nach einer der Nummern 35 bis 43, gekennzeichnet durch einen axial verschiebbaren Trennkolben (13), der gegen die Decke des Strömungskanals (2) bewegbar ist.

45. Vorrichtung nach Nummer 44, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberseite des Trennkolbens (13) und die Decke des Strömungskanals (2) eine hydrophobe Oberfläche aufweisen.

46. Vorrichtung nach Nummer 44 oder 45, dadurch gekennzeichnet, dass der Trennkolben (13) in einer Kolbenkammer (12) verschiebbar ist, wobei Trennkolben (13) und Kolbenkammer (12) komplementäre Rasten (17) und Rastaufnahmen aufweisen, die miteinander Verrasten.

47. Vorrichtung nach Nummer 44, 45 oder 46, dadurch gekennzeichnet, dass an der Oberseite des Trennkolbens **(13)** eine Schneide **(15)** vorgesehen ist, die zum Trennen des Flüssigkeitsfilms gegen die Decke des Strömungskanals **(2)** drückbar ist.

48. Vorrichtung nach einer der Nummern 44 bis 47, dadurch gekennzeichnet, dass die Schneide **(15)** verschiebbar in dem Trennkolben **(13)** angeordnet ist.

49. Vorrichtung nach einer der Nummern 32 bis 48, gekennzeichnet durch Reserviors **(4)** in der Analyseplatte **(100)**, in welche Reagenzien, insbesondere Enzyme, einfüllbar sind und die mit mindestens einer der folgenden Kammern in Fluidverbindung stehen:

- Befüllkammern **(1)**;
- Aufnahmekammern **(3)**.

50. Vorrichtung nach Nummer 49, dadurch gekennzeichnet, dass in den Reserviors **(4)** Ausstoßkolben zum Einfüllen der Reagenzien in die genannte Kammer angeordnet sind.

51. Vorrichtung nach einer der Nummern 32 bis 49, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte **(100)** mit Kühlkanälen **(18, 27)** versehen ist.

52. Vorrichtung nach Nummer 50, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eines der folgenden Bauelemente Kühlkanäle **(18, 27)** aufweist:

- die Deckschicht **(102)**;
- die Wand der Kolbenkammer **(12)**;
- der Trennkolben **(13)**;
- der Verschlusskolben **(14)**.

53. Vorrichtung zur Analyse einer Flüssigkeit, insbesondere nach einer der Nummern 32 bis 52, bei dem die Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird, gekennzeichnet durch folgende Merkmale:

A) eine transparente Analyseplatte **(100)**, welche eine Matrix mit mehreren Reihen zueinander benachbart angeordneter Aufnahmekammern **(3)** zur Aufnahme eines bestimmten Volumens der Flüssigkeit aufweist,

B) eine erste Reihe axial verschiebbarer Stößel **(19)**, deren Abstand dem Abstand der Aufnahmekammern **(3)** entspricht und die mittels einer Heizvorrichtung auf eine vorgegebene Temperatur aufgeheizt werden,

C) eine Transportvorrichtung, welche die Analyseplatte **(100)** zu einer ersten Position bewegt, in der die Reihe axial verschiebbarer Stößel **(19)** einer Reihe Aufnahmekammern **(3)** gegenüberliegt und jeder Stößel **(19)** der Reihe jeweils gegen eine Wandung einer Aufnahmekammer **(3)** bewegbar ist, wobei der Flüssigkeit in der Aufnahmekammer **(3)** die Temperatur des Stößels **(19)** aufgeprägt wird.

54. Vorrichtung nach Nummer 53, dadurch gekennzeichnet, dass die Transportvorrichtung dazu ausgebildet ist, die Analyseplatte **(100)** zu weiteren Positionen zu transportieren, in denen an-

dere axial verschiebbare Stößel **(19)** mit anderen Temperaturen gegen die Wandung der Aufnahmekammer **(3)** bewegbar sind.

55. Vorrichtung nach Nummer 54, dadurch gekennzeichnet, dass die Transportvorrichtung dazu ausgebildet ist, die Analyseplatte **(100)** zurück in die erste Position zu bewegen.

55. Vorrichtung nach einer der Nummern 53 bis 55, dadurch gekennzeichnet, dass sie mindestens eine Reihe optischer Sensoren **(25)** aufweist, deren Abstand zueinander dem Abstand zwischen Aufnahmekammern **(3)** in einer Reihe von Aufnahmekammern **(3)** der Analyseplatte **(100)** entspricht.

57. Vorrichtung nach Nummer 56, dadurch gekennzeichnet, dass der optische Sensor **(25)** oberhalb der Aufnahmekammer **(3)** angeordnet ist.

58. Vorrichtung nach Nummer 56 oder 57, dadurch gekennzeichnet, dass sie mindestens eine Reihe Lichtquellen **(26)** aufweist, deren Abstand zueinander dem Abstand zwischen Aufnahmekammern **(3)** in einer Reihe von Aufnahmekammern **(3)** der Analyseplatte **(100)** entspricht.

59. Vorrichtung nach Nummer 58, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtquelle **(26)** oberhalb der Aufnahmekammer **(3)** angeordnet ist.

60. Verfahren nach Nummer 58 oder 59, dadurch gekennzeichnet, dass jeweils mindestens eine Lichtquelle **(26)** in unmittelbarer Nähe zu einem optischen Sensor **(25)** angeordnet ist.

61. Verfahren zur Herstellung einer Analyseplatte **(100)**, insbesondere für eine Vorrichtung gemäß einer der Nummern 32 bis 60, dadurch gekennzeichnet, dass eine transparente Platte, insbesondere aus Glas, durch einen fokussierten Laserstrahl bestrahlt wird, so dass in dem Fokusvolumen das transparente Material durch Ätzen entfernbar ist.

62. Verfahren nach Nummer 60, dadurch gekennzeichnet, dass durch Bewegen des Fokus mit Hilfe eines Laserscanners das Focusvolumen derart durch die transparente Analyseplatte **(100)** bewegt wird, dass mindestens eine der folgenden Strukturen ausgebildet wird:

- mehrere zueinander benachbart angeordnete Aufnahmekammern **(3)**;
- Strömungskanäle **(2)**, welche mehrere Aufnahmekammern **(3)** miteinander verbinden;
- verschiebbare Trennkolben **(13)** oder Verschlusskolben **(14)**, welche die Aufnahmekammern **(3)** und/oder Strömungskanäle **(2)** begrenzen;
- mindestens eine Befüllkammer **(1)**;
- eine Kolbenkammer **(12)**;
- komplementäre Rasten **(17)** und Rastaufnahmen an Trennkolben **(13)** und Kolbenkammer **(12)**, die miteinander Verrasten;
- eine Schneide **(15)** an der Oberseite des Trennkolbens **(13)**, die vorzugsweise verschiebbar ist;

- Kühlkanäle (18, 27). **100** Analyseplatte
- 63. Verfahren nach Nummer 61 oder 62, dadurch **101** Perforation
- gekennzeichnet, dass verschiedene Oberflächen- **102** Deckschicht
- rauigkeiten erzeugt werden, wobei insbesondere **105** Einfüllzylinder
- glatte hydrophile Oberflächen und raue hydrophobe Oberflächen erzeugt werden.
- 64. Verfahren nach Nummer 63, dadurch gekennzeichnet, dass eine hydrophobe Oberfläche mit hoher Oberflächenrauigkeit durch selektives Lasersätzen erzeugt wird.
- 65. Verfahren nach Nummer 64, dadurch gekennzeichnet, dass eine hydrophile Oberfläche durch Glätten einer hydrophoben Oberfläche mittels eines Laserstrahls erzeugt wird.

#### Bezugszeichenliste

- |           |                                   |
|-----------|-----------------------------------|
| <b>1</b>  | Befüllkammer                      |
| <b>2</b>  | Strömungskanal                    |
| <b>3</b>  | Aufnahmekammer                    |
| <b>4</b>  | Reservoir                         |
| <b>5</b>  | Fluidverbindung                   |
| <b>6</b>  | Einfüllkolben                     |
| <b>7</b>  | Flüssigkeit                       |
| <b>8</b>  | Mikrosperre                       |
| <b>9</b>  | Flüssigkeitsmenge                 |
| <b>10</b> | Verschlussstopfen                 |
| <b>11</b> | bewegliches Element, Befüllkolben |
| <b>12</b> | Kolbenkammer                      |
| <b>13</b> | bewegliches Element, Trennkolben  |
| <b>14</b> | Verschlusskolben                  |
| <b>15</b> | Schneiden                         |
| <b>16</b> | Schneidenaufnahme                 |
| <b>17</b> | Raste                             |
| <b>18</b> | Kühlkanal                         |
| <b>19</b> | Stößel                            |
| <b>20</b> | Transportrichtung                 |
| <b>21</b> | Flüssigkeitstropfen               |
| <b>22</b> | Laserdioden                       |
| <b>23</b> | Blendenplatte                     |
| <b>24</b> | Lochblende                        |
| <b>25</b> | optischer Sensor                  |
| <b>26</b> | Lichtquelle, LED                  |
| <b>27</b> | Kühlkanal                         |
| <b>28</b> | Peltierelement                    |
| <b>29</b> | Mikrolinearantrieb                |
| <b>30</b> | ringförmiges Element              |
| <b>31</b> | Gleitbahn                         |
| <b>32</b> | Piezoaktor                        |
| <b>33</b> | Transportvorrichtung              |
| <b>34</b> | Transportzahnrad                  |
| <b>35</b> | Magazin                           |
| <b>36</b> | Trennmesser                       |
| <b>37</b> | Bohrung                           |
| <b>38</b> | Andrückrolle                      |
| <b>39</b> | Auflagefläche                     |
| <b>40</b> | Gehäuse                           |



## ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

*Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.*

### Zitierte Patentliteratur

- EP 0849364 B1 [[0006](#)]
- WO 2009/105499 A1 [[0006](#)]
- US 2006/0094027 [[0008](#)]
- US 5807522 [[0008](#)]
- US 2010/024993 A1 [[0008](#)]
- EP 2011/003090 [[0028](#)]

### Zitierte Nicht-Patentliteratur

- Mikroproduktion 06/2010 des Carl Hanser Verlags, München, Seite 10–13, ISSN 1614-4538 [[0012](#)]
- „Nano- and Microstructuring of SiO<sub>2</sub> and Sapphire with Fs-laser Induced Selective Etching“, in JLMN-Journal of Laser Micro/Nano-engineering Vol. 4, No. 2, 2009, pages 135–140 [[0012](#)]
- „Laser Photonics Review 5, No. 3, S. 442–463 (2011) [[0012](#)]

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Analyse einer Flüssigkeit, bei dem die Flüssigkeit auf mehrere Behältnisse aufgeteilt wird, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Flüssigkeit einer transparenten Analyseplatte (**100**) zugeführt wird, welche eine Matrix mit mehreren zueinander benachbart angeordneten und zumindest einseitig geschlossenen Aufnahmekammern (**3**) aufweist, wobei die Flüssigkeit mittels beweglicher Elemente der Analyseplatte (**100**) auf die Aufnahmekammern (**3**) aufgeteilt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit durch Strömungskanäle (**2**) fließt, welche zu den Aufnahmekammern (**3**) führen.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufnahmekammern (**3**) und/oder die Strömungskanäle (**2**) durch bewegliche Elemente begrenzt werden, wobei durch Bewegen der Elemente das Volumen der Aufnahmekammern (**3**) und/oder des Strömungskanals (**2**) verändert wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass die beweglichen Elemente Befüllkolben (**11**), Verschlusskolben (**14**) oder Trennkolben (**13**) sind.

5. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit in eine Befüllkammer (**1**) in der transparenten Analyseplatte (**100**) eingefüllt wird und aus der Befüllkammer (**1**) in einen Strömungskanal (**2**) geleitet wird, der die Flüssigkeit in mindestens eine Aufnahmekammer leitet.

6. Verfahren nach Anspruch 5, gekennzeichnet durch mindestens eins der folgenden Merkmale:

- die Befüllkammer (**1**) weist eine obere Öffnung auf, welche nach dem Einfüllen der Flüssigkeit mit einem Verschlussstopfen (**10**) abgedichtet wird;
- die Flüssigkeit wird durch Befüllkolben (**11**) aus der Befüllkammer (**1**) heraus gedrückt.

7. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass jede Aufnahmekammer (**3**) von einem ein axial verschiebbaren Verschlusskolben (**14**) begrenzt wird, gegen dessen von der Flüssigkeit abgewandten Kolbenboden ein Stößel (**19**) bewegt wird.

8. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche 2 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass ein axial verschiebbarer Trennkolben (**13**) gegen die Decke des Strömungskanals (**2**) gedrückt wird und den Flüssigkeitsfilm in dem Strömungskanal (**2**) trennt.

9. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass Reagenzien, insbesondere Enzyme, aus Reservoirs (**4**) der Analyseplatte (**100**) in mindestens eine der folgenden Kammern eingefüllt werden:

- Befüllkammern (**1**);
- Aufnahmekammern (**3**).

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass ein Ausstoßkolben in den Reservoirs (**4**) bewegt wird, um die Reagenzien in die genannte Kammer einzufüllen.

11. Vorrichtung zur Analyse einer Flüssigkeit, mit mindestens einer Analyseplatte (**100**), die mehrere Behältnisse aufweist, auf die die Flüssigkeit aufteilbar ist, dadurch gekennzeichnet, dass die Analyseplatte (**100**) transparent ist, dass die Analyseplatte (**100**) eine Matrix mit mehreren zueinander benachbart angeordneten Aufnahmekammern (**3**) aufweist und dass die Analyseplatte (**100**) mindestens ein bewegliches Element aufweist, mit dem die Flüssigkeit auf die Aufnahmekammern (**3**) aufgeteilt wird.

12. Vorrichtung nach Anspruch 11, gekennzeichnet durch mindestens eins der folgenden Merkmale:

- die Analyseplatte (**100**) weist Strömungskanäle (**2**) auf, welche zu den Aufnahmekammern (**3**) führen;
- die Aufnahmekammern (**3**) und/oder die Strömungskanäle (**2**) der Analyseplatte (**100**) sind mit einer durchgehenden transparenten Deckschicht (**102**) abgedeckt;

- die Analyseplatte (**100**) weist verschiebbare Kolben (**13**, **14**) auf, welche die Aufnahmekammern (**3**) und/oder der Strömungskanäle (**2**) begrenzen;
- die Analyseplatte (**100**) mindestens eine Befüllkammer (**1**) aufweist, aus der ein Strömungskanal (**2**) in mindestens eine Aufnahmekammer (**3**) führt;
- Reservoirs (**4**) in der Analyseplatte (**100**), in welche Reagenzien, insbesondere Enzyme, einfüllbar sind und die mit mindestens einer der folgenden Kammern in Fluidverbindung stehen:
  - Befüllkammern (**1**);
  - Aufnahmekammern (**3**).
- ein Ausstoßkolben wird in den Reservoirs (**4**) bewegt, um die Reagenzien in die genannte Kammer einzufüllen.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

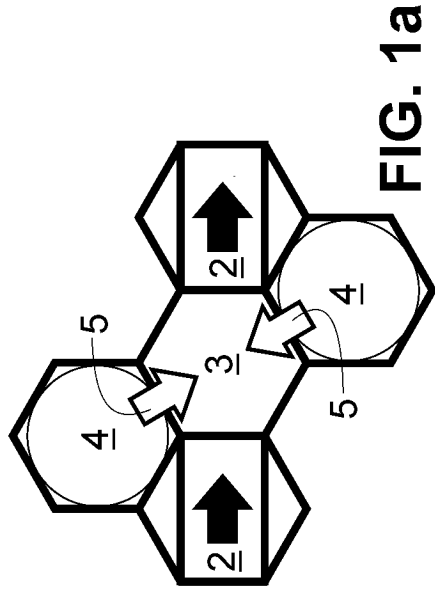


FIG. 1a

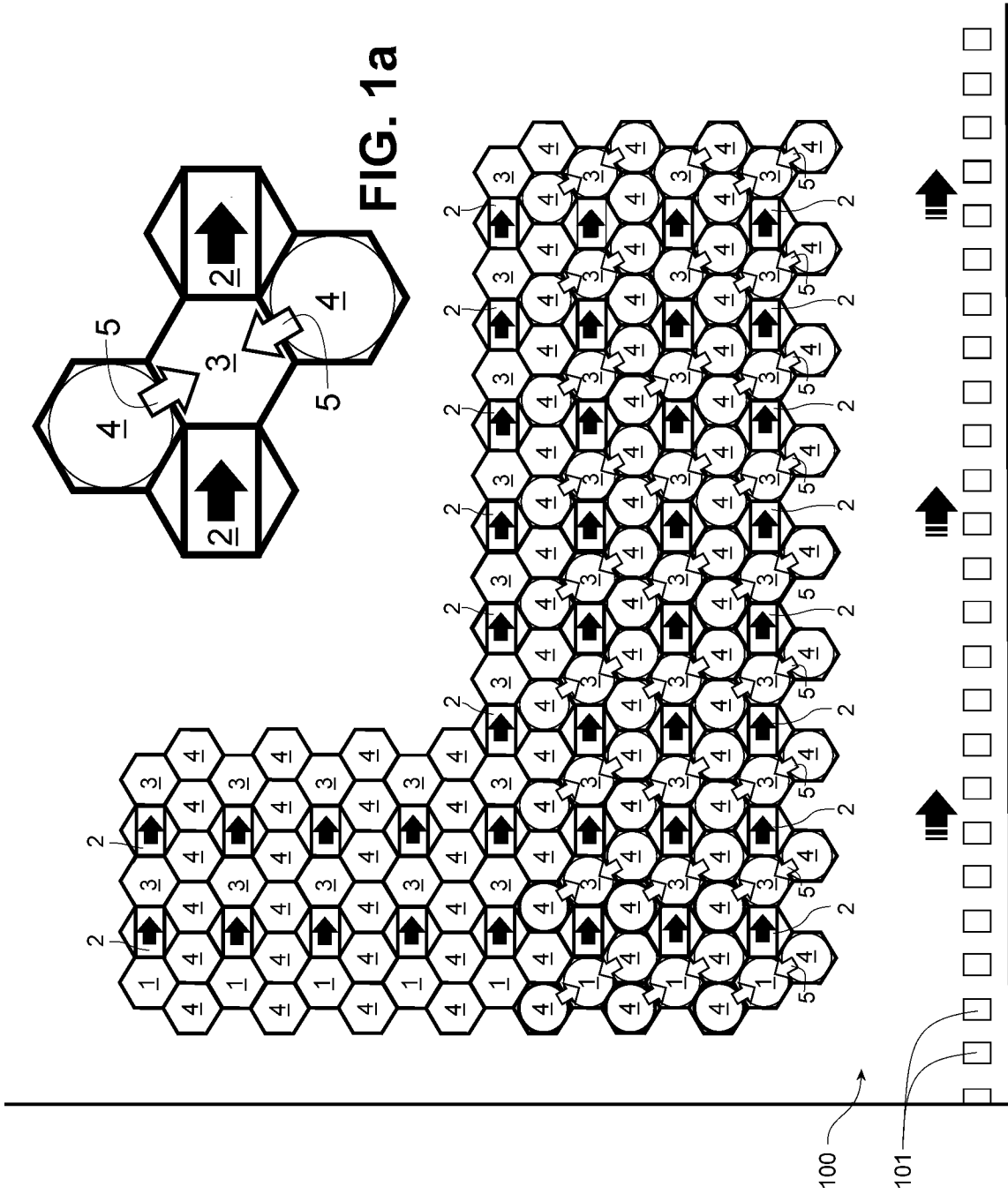
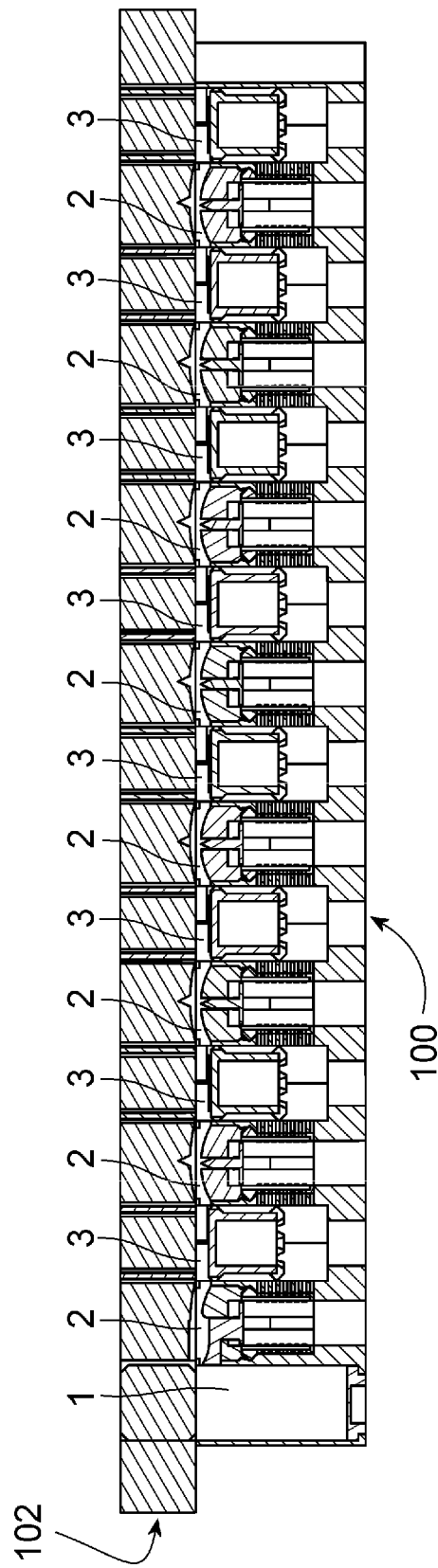


FIG. 1



**FIG. 2**

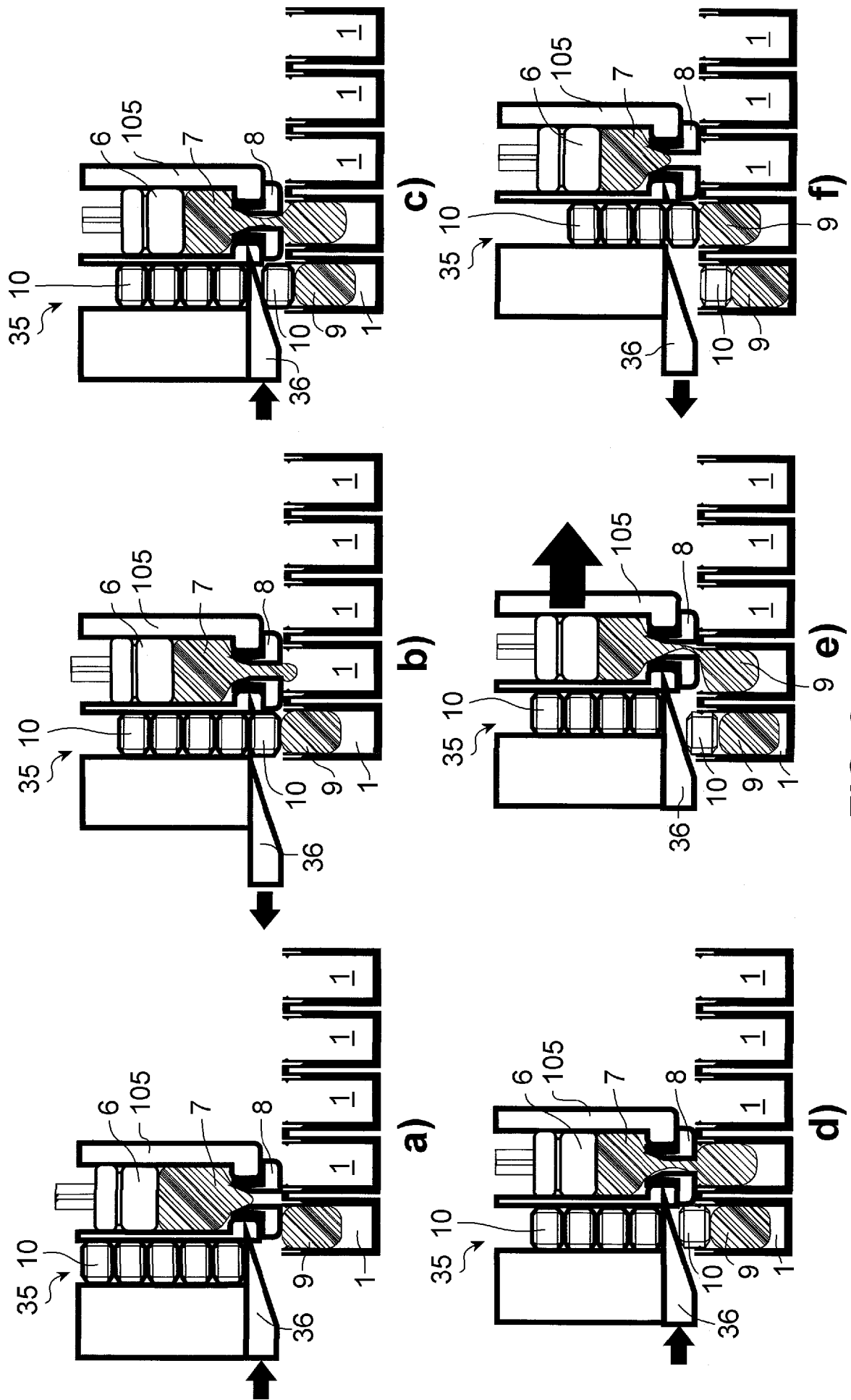


FIG. 3

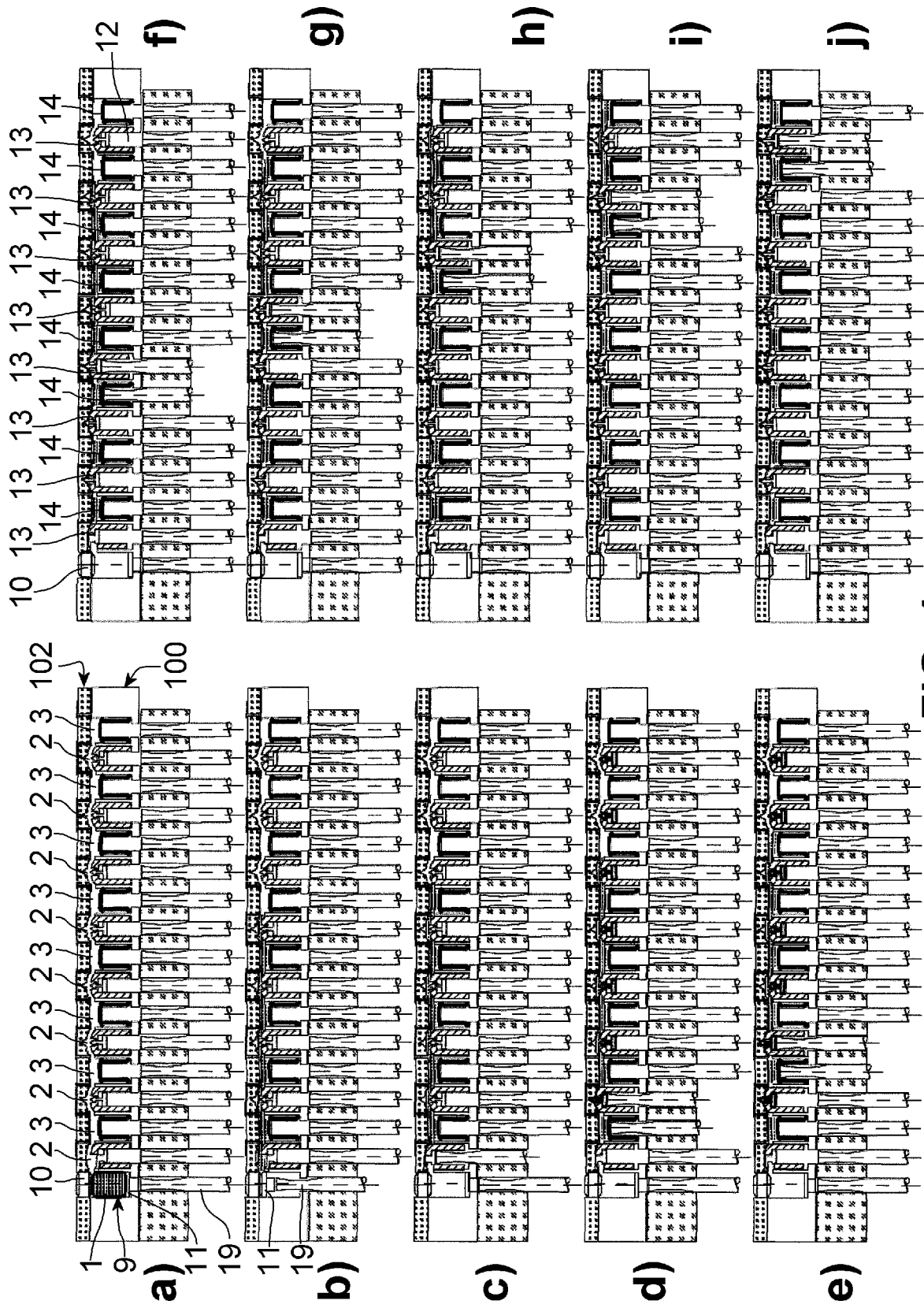
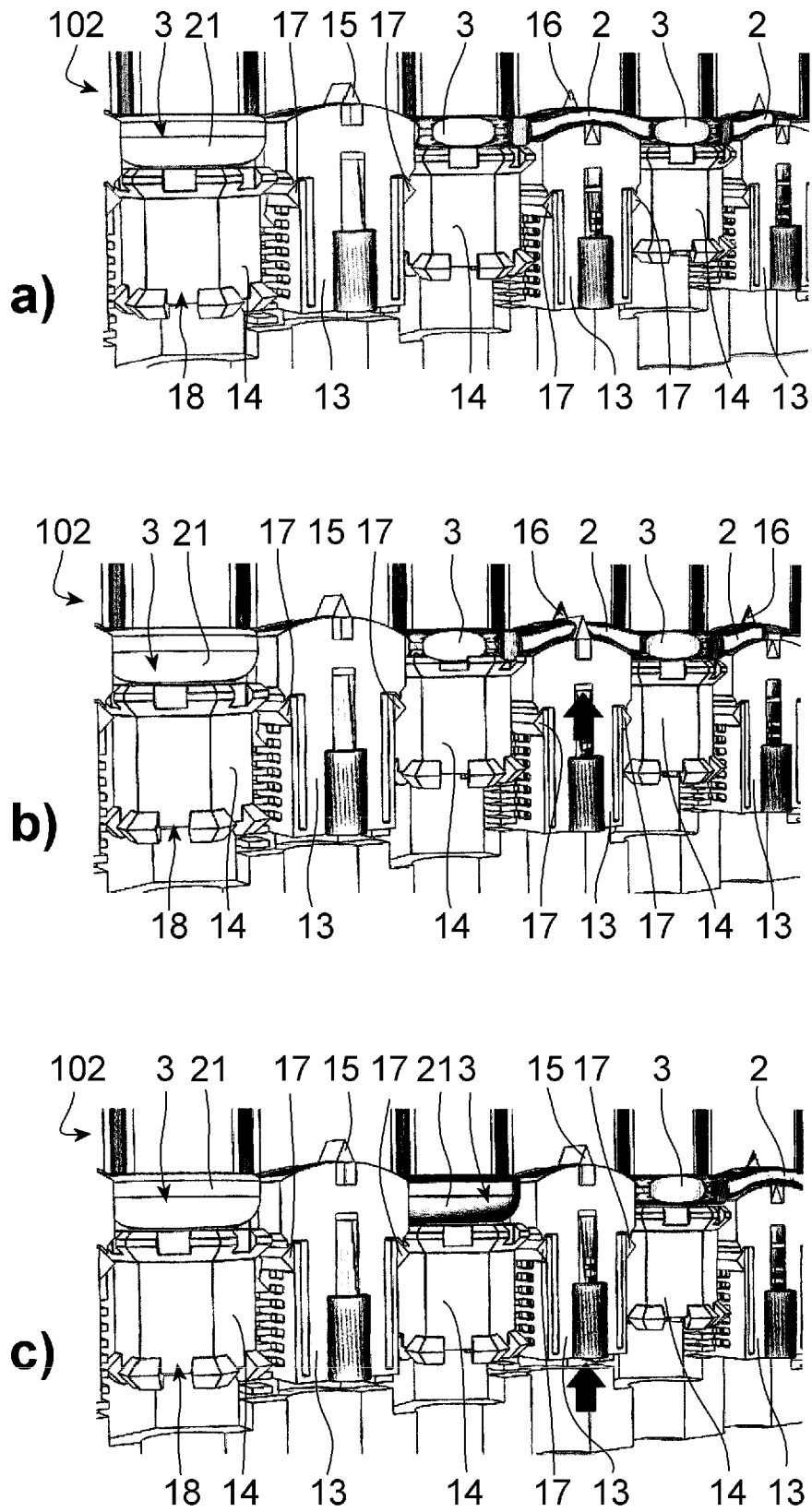


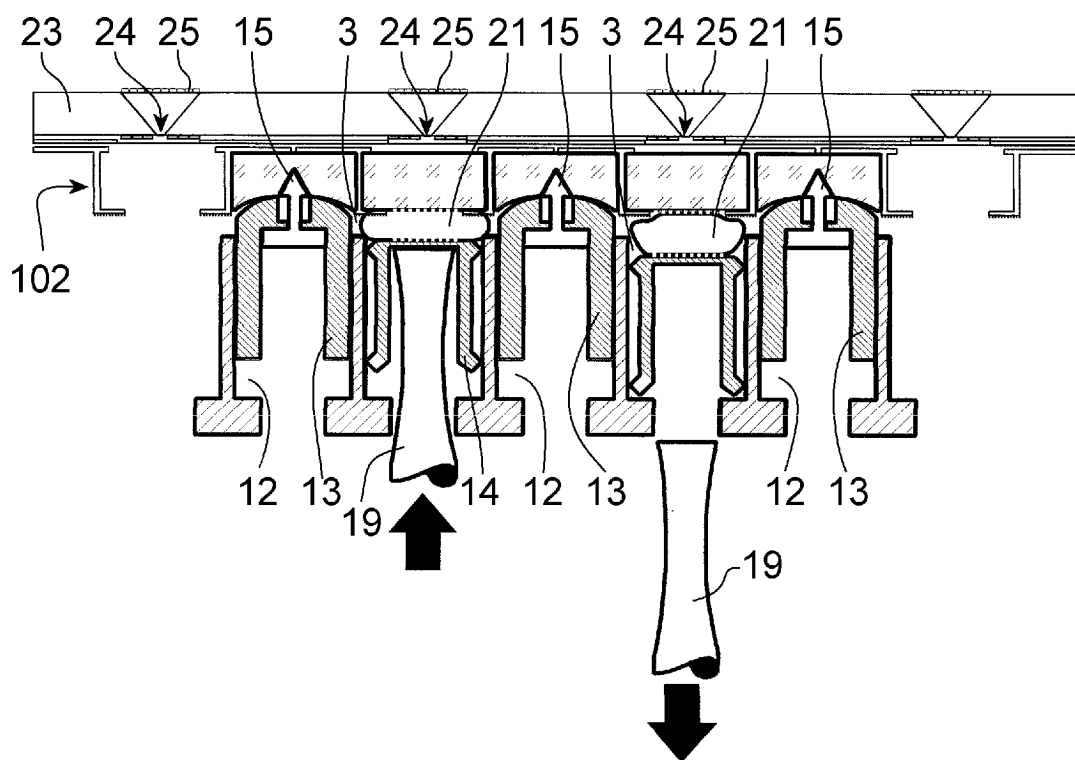
FIG. 4



**FIG. 5**







**FIG. 7**

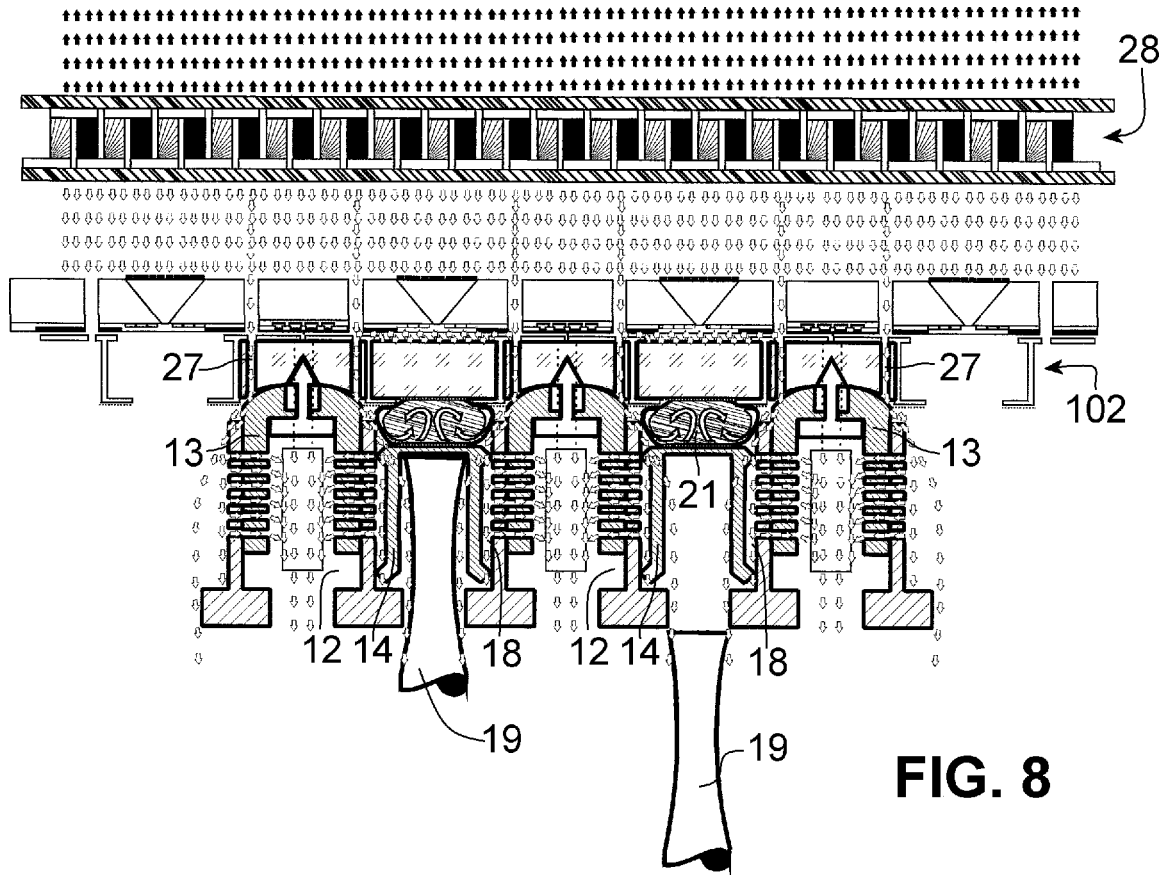


FIG. 8

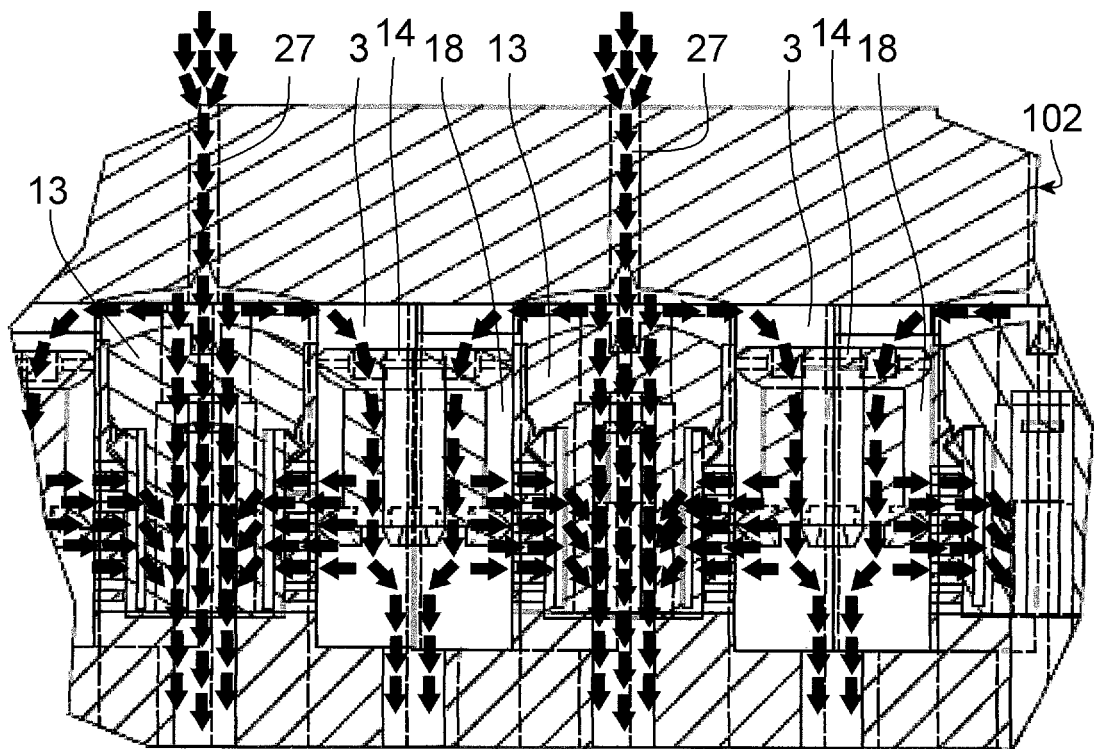
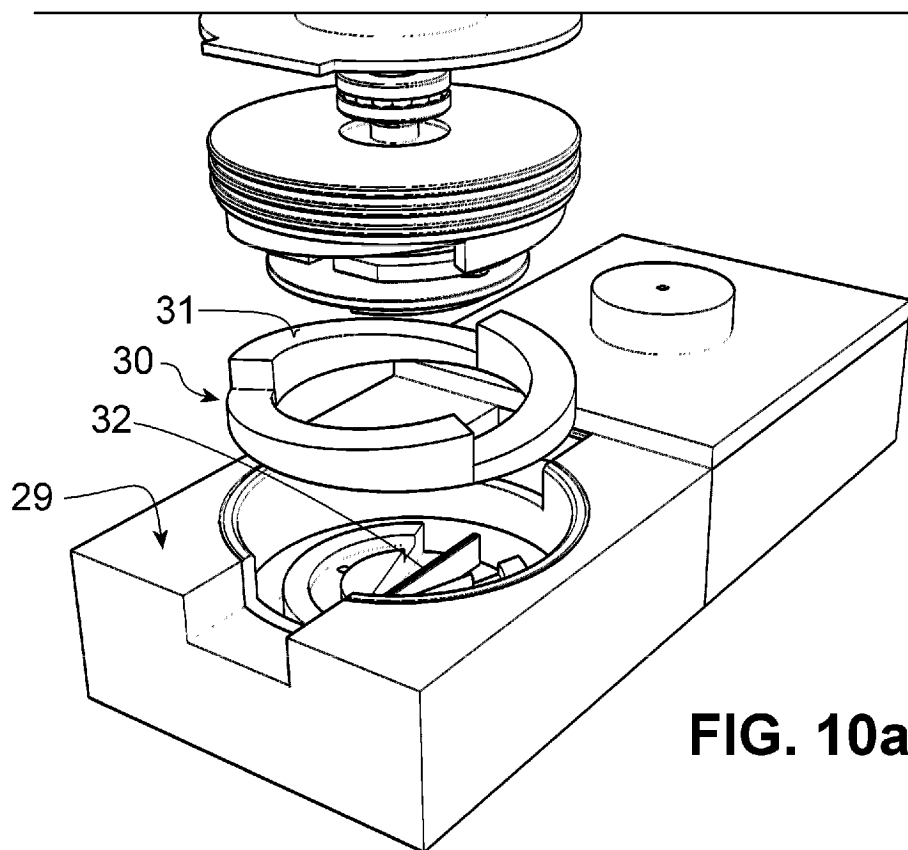
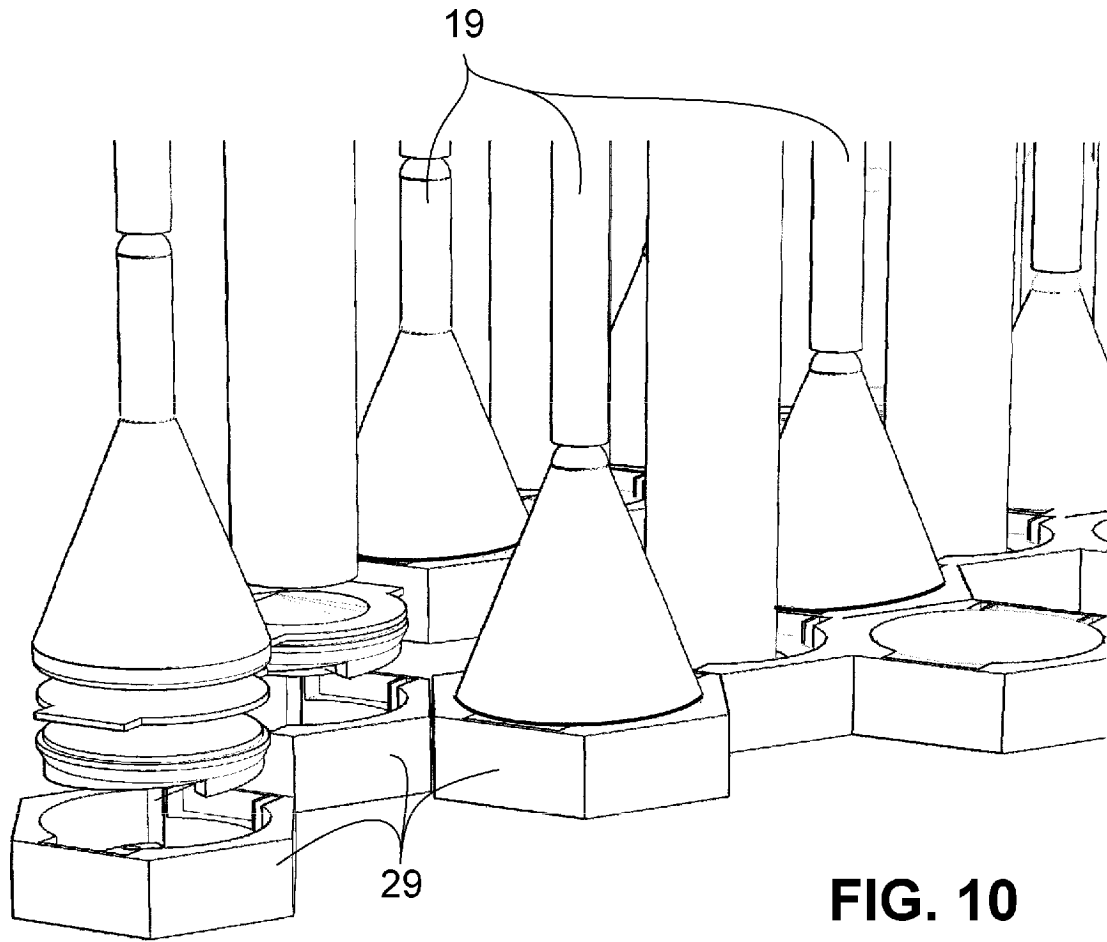
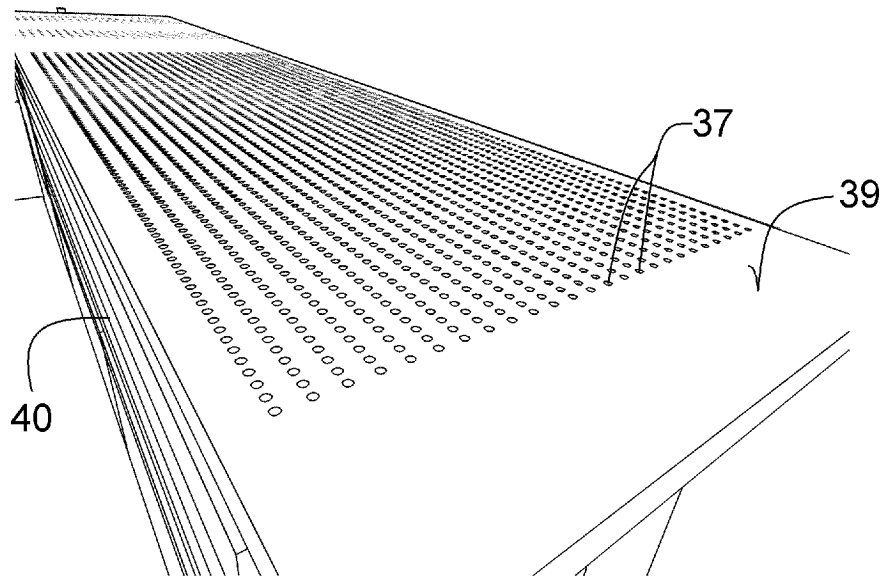
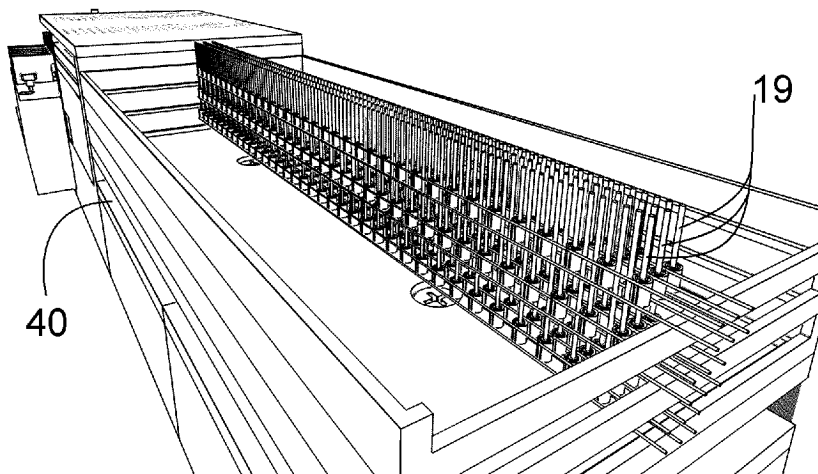


FIG. 9

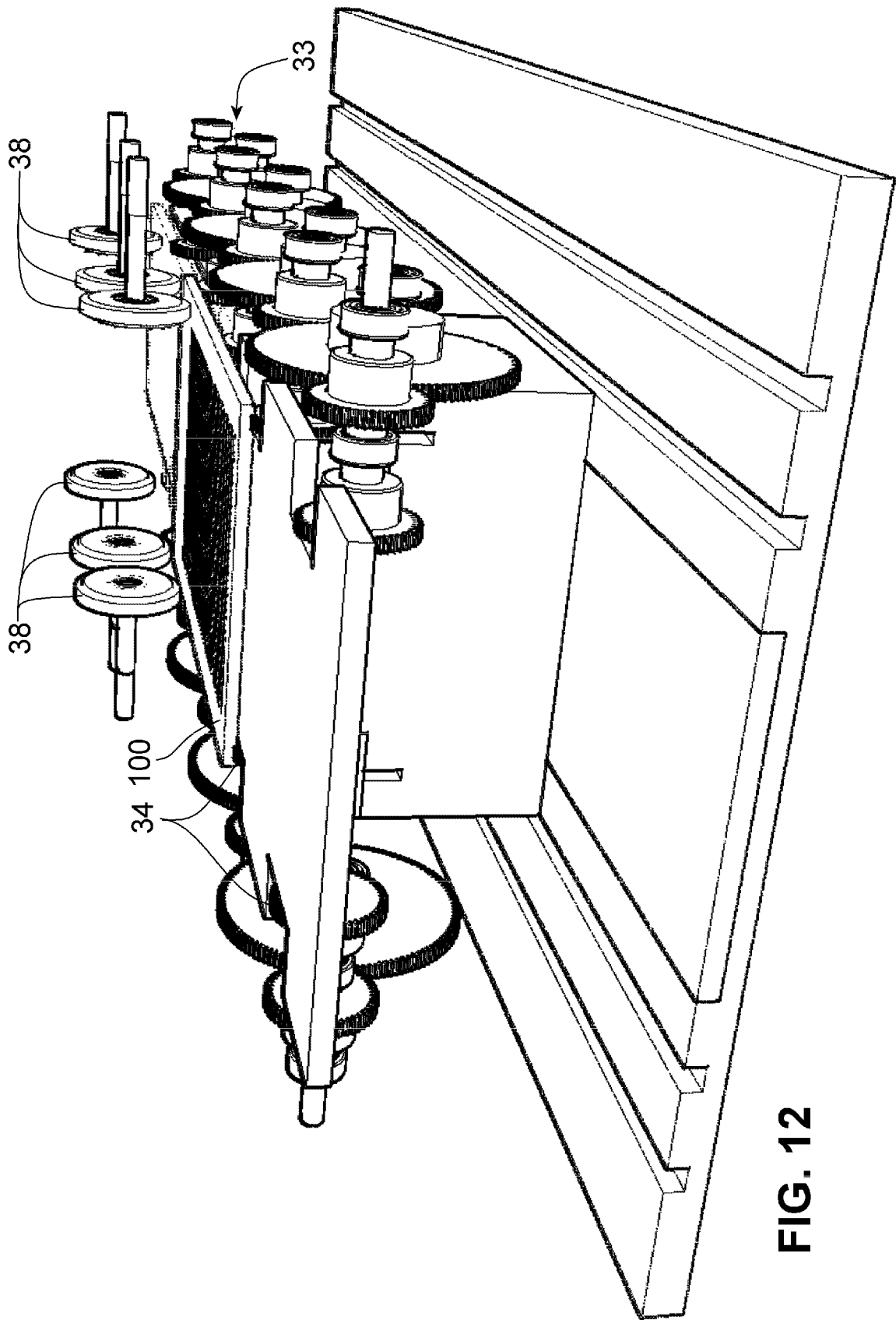




**FIG. 11a**



**FIG. 11b**



**FIG. 12**