



**(84) Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)

---

specification defined before the generation, processing and/or stimulation and without manual intervention. The invention further relates to a corresponding method (200).

**(57) Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein Verarbeitungssystem (100) für in Form dreidimensionaler Verbände kultivierte Zellen (10), mit einer Kultureinheit (110), die eine Anzahl von Kulturkammern (112) aufweist, die zur Aufnahme der in Form dreidimensionaler Verbände kultivierten Zellen (10) und eines Kulturmediums (20) eingerichtet sind, mit einem Mikroskop (120) und mit einer Steuereinheit (130), wobei die Steuereinheit (130) dazu eingerichtet ist, dass Verarbeitungssystem (100) zur Generierung, Verarbeitung und/oder Stimulation der Form dreidimensionaler Verbände kultivierten Zellen (10) unter dem Mikroskop (120) zumindest teilweise nach Maßgabe einer vor der Generierung, Verarbeitung und/oder Stimulation definierten Ansteuervorgabe und ohne manuellen Eingriff anzusteuern. Ein entsprechendes Verfahren (200) ist ebenfalls Gegenstand der Erfindung.

## **Verarbeitungssystem und Verarbeitungsverfahren für in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierte Zellen und Computerprogramm**

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verarbeitungssystem und ein Verarbeitungsverfahren für in dreidimensionalen Verbänden kultivierte Zellen gemäß den jeweiligen Oberbegriffen der unabhängigen Patentansprüche sowie ein  
10 entsprechendes Computerprogramm.

In dreidimensionalen Zellkulturen (3D-Zellkulturen etc., engl. 3D Cell Cultures, auch 3DCC) wachsen und interagieren Zellen in artifiziellen Umgebungen in allen drei  
Raumrichtungen. Im Gegensatz zu zweidimensionalen Umgebungen wie  
15 beispielsweise auf Petrischalen wird in dreidimensionalen Zellkulturen den Zellen also *in vitro* ein Wachstum und eine Interaktion in allen Raumrichtungen ermöglicht und damit das Wachstum und die Interaktion *in vivo* zumindest teilweise nachgebildet. Dreidimensionale Zellkulturen werden normalerweise in Bioreaktoren, kleinen Kapseln, in denen die Zellen zu Sphäroiden wachsen können, oder in Form  
20 dreidimensionaler Zellkolonien kultiviert. Beispielsweise kann in Bioreaktoren eine Vielzahl entsprechender Sphäroide kultiviert werden.

In lebendem Gewebe existieren Zellen in dreidimensionalen Mikroumgebungen mit komplexen Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen und einer komplexen  
25 Transportdynamik. Konventionelle zweidimensionale Zellkulturen bilden diese Bedingungen nur unzureichend ab, was häufig beispielsweise zu Einschränkungen bei der Zuverlässigkeit von *in vitro*-Wirksamkeits- und Toxizitätsprüfungen von Medikamenten oder Umweltchemikalien und bei deren Übertragbarkeit auf lebende Systeme führt. Dreidimensionale Zellkulturen, beispielsweise entsprechende  
30 Sphäroide, ähneln dagegen *in vivo*-Gewebe in Bezug auf die zelluläre Kommunikation und die Entwicklung der extrazellulären Matrix eher. Die extrazelluläre Matrix erlaubt es Zellen, sich in ihrem Sphäroid bewegen zu können, ähnlich wie sich Zellen in lebendem Gewebe bewegen würden. Mit dreidimensionalen Zellkulturen können somit verbesserte Modelle für die Zellmigration, die

Differenzierung von Zellen, das Überleben von Zellen und das Wachstum von Zellen geschaffen werden. Darüber hinaus bilden dreidimensionale Zellkulturen die natürliche Zellpolarisation besser ab, da Zellen in zweidimensionalen Zellkulturen nur teilweise polarisiert werden können. Dreidimensional kultivierte Zellen können  
5 außerdem eine andere Genexpression aufweisen als zweidimensional kultivierte.

Die dreidimensionale Kultivierung von Zellen kann grundsätzlich unter Verwendung von Strukturgerüsten, beispielsweise unter Verwendung von Hydrogelen unterschiedlicher Art, aber auch ohne Verwendung von Strukturgerüsten erfolgen. In  
10 letzterem Fall, den die vorliegende Erfindung insbesondere betrifft, können die Zellen beispielsweise in Form der bereits erwähnten Sphäroide, also im Wesentlichen kugelförmigen Aggregaten, kultiviert werden.

In entsprechenden Sphäroiden können beispielsweise gesunde Zellen und  
15 Tumorzellen kokultiviert wurden, um zu simulieren, wie die Tumorzellen mit den gesunden Zellen interagieren. Entsprechende Sphäroide können unter Verwendung unterschiedlicher Verfahren generiert werden. Ein gängiges Verfahren, das auch insbesondere im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung zum Einsatz  
kommen kann, ist die Verwendung von Mehrkammer-Kulturplatten mit geringer  
20 Zelladhäsion, typischerweise in bekannter 96-Well-Form, zur Massenproduktion von Sphäroidkulturen, bei der sich die Aggregate im typischerweise abgerundeten Boden der Kammern bilden. Sphäroide können auch in hängenden Tropfen kultiviert  
werden, die von der Oberfläche einer Kulturplatte herabhängen. Weitere Verfahren umfassen die Verwendung von Bioreaktoren mit rotierenden Wänden, die die Zellen  
25 im ständigen freien Fall drehen und schichtweise Aggregate bilden.

Für dreidimensionale Zellkulturen verwendete Bioreaktoren sind typischerweise in Form kleiner zylindrischer Plastikkammern ausgebildet. Hierbei werden insbesondere bioaktive Materialien wie Polyethylenterephthalat-Membranen  
30 eingesetzt, um die Sphäroidzellen in einer Umgebung zu halten, die einen hohen Nährstoffgehalt gewährleistet. Die Kammern lassen sich öffnen und schließen, so dass die Sphäroide zum Testen entnommen werden können. Die Kammern sind Teil einer größeren Anordnung, die in eine Drehbewegung versetzt werden kann, um ein gleichmäßiges Zellwachstum in jeder Richtung zu gewährleisten.

Zu weiteren Details bezüglich dreidimensionaler Zellkulturtechniken sei auf Online-Nachschlagewerke und einschlägige Fachliteratur verwiesen.

Bei Organoiden handelt es sich um miniaturisierte und vereinfachte  
5 dreidimensionale Zellverbände, die *in vitro* hergestellt werden und zumindest zum Teil hinsichtlich der Gewebestruktur bzw. -morphologie Organen lebender Organismen entsprechen. Organoide weisen also insbesondere eine realistische Mikroanatomie auf. Organoide werden aus einer oder wenigen Zellen eines Gewebes, aus embryonalen Stammzellen oder induzierten pluripotenten Stammzellen  
10 gewonnen, die sich aufgrund ihrer Selbsterneuerungs- und Differenzierungsfähigkeit in dreidimensionaler Kultur selbst organisieren können.

Die Herstellung von Organoiden umfasst typischerweise die Kultivierung von Stamm- oder Vorläuferzellen in einem Medium bzw. einer entsprechenden Matrix.  
15 Insbesondere können auch zur Herstellung von Organoiden Strukturgerüste unter Verwendung von Hydrogelen eingesetzt werden. Die Organoide können durch Einbetten von Stammzellen in eine entsprechende Matrix erzeugt werden, wobei zur Differenzierung geeignete Induktoren verwendet werden. Organoide können auch unter Verwendung von adulten Stammzellen hergestellt werden, die aus dem  
20 Zielorgan extrahiert und in einem Medium kultiviert werden.

Sowohl bei dreidimensionalen Zellkulturen in Form von Sphäroiden oder in Hydrogelen, die nicht notwendigerweise eine organartige Mikrostruktur aufweisen müssen, als auch bei Organoiden handelt es sich jeweils um Zellen, die in Form  
25 dreidimensionaler Verbände kultiviert werden bzw. wurden. Daher wird im Rahmen der vorliegenden Anmeldung der Sammelbegriff „in Form dreidimensionaler Verbände kultivierte Zellen“ verwendet. Ein Verbund kann dabei ein Zell-Zell-Verbund sein, in dem die Zellen aneinander anhaften oder miteinander verwachsen sind, aber auch ein durch ein Gerüst wie ein Hydrogel bereitgestellter Verbund. In  
30 jedem Fall sind die in Form dreidimensionaler Verbände kultivierten Zellen dabei in Aggregaten angeordnet, in jeder Raumrichtung mehrere Zellschichten aufweisen, und die Zellen haften durch wechselseitige Adhäsion oder durch eine natürliche oder künstliche Matrix aneinander an.

Dreidimensionale Zellkulturverfahren und Verfahren zur Herstellung von Organoiden, sowie Verfahren, bei denen entsprechende Zellkulturen oder Organoide eingesetzt werden, können Einschränkungen in der Skalierbarkeit, Reproduzierbarkeit, Empfindlichkeit und Kompatibilität mit bekannten Hochdurchsatz-Screening-Verfahren (engl. High Throughput Screening, HTS) aufweisen. Das Hochdurchsatz-Screening von Zellen beruht auf der schnellen Bestimmung der zellulären Reaktion auf die Interaktion mit Chemikalien und die ggf. fehlende Kompatibilität beruht darauf, dass die verfügbaren Assays und Untersuchungseinrichtungen nicht notwendigerweise für dreidimensionale Zellkulturen optimiert sind.

Die vorliegende Erfindung stellt sich insbesondere die Aufgabe, die Handhabung von in Form dreidimensionaler Verbände kultivierten Zellen, insbesondere von dreidimensionalen Zellkulturen oder Organoiden, gegenüber dem Stand der Technik zu vereinfachen und routinefähig auszugestalten.

Zur Lösung dieser Aufgabe schlägt die vorliegende Erfindung ein Verarbeitungssystem und ein Verarbeitungsverfahren für in dreidimensionalen Verbänden kultivierte Zellen gemäß den jeweiligen Oberbegriffen der unabhängigen Patentansprüche vor. Ein entsprechendes Computerprogramm ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung. Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung sind jeweils Gegenstand der abhängigen Patentansprüche und der nachfolgenden Beschreibung.

Wenn die nachfolgende Beschreibung auf ein Verarbeitungssystem Bezug nimmt, betreffen die entsprechenden Erläuterungen ein erfindungsgemäßes, insbesondere unter Verwendung eines entsprechenden Systems durchgeführtes, Verfahren und ein Computerprogramm in gleicher Weise. Entsprechend gelten auch die Erläuterungen bezüglich eines Verfahrens oder Computerprogramms für ein entsprechendes System, das gemäß der vorliegenden Erfindung bereitgestellt wird.

Werden nachfolgend anstelle des allgemeineren Begriffs „in dreidimensionalen Verbänden kultivierte Zellen“, für den insbesondere die oben angegebene Definition gelten soll, die speziellere Begriffe „dreidimensionale Zellkulturen“ oder „Organoide“

verwendet, gelten diese Erläuterungen jeweils auch für den allgemeineren Begriff oder den jeweils anderen spezielleren Begriff.

5 Zwar existieren für die einzelnen Schritte im Probenvorbereitungsstrang für in dreidimensionalen Verbänden kultivierte Zellen eine Reihe von Fachpublikationen und Durchführungsanweisungen, insbesondere für die Schritte der Generierung, Färbung und Stimulation von großen dreidimensionalen Zellkulturen, es existiert jedoch derzeit keine technische Lösung, um den gesamten Ablauf der Probenvor- und Probenverarbeitung von dreidimensionalen Zellkulturen in einem bequem durch  
10 einen Nutzer handhabbaren und reproduzierbaren Verarbeitungsstrang zusammenzufassen.

Unter der Generierung von in dreidimensionalen Verbänden kultivierten Zellen soll nachfolgend insbesondere die Bildung entsprechender Aggregate aus einer oder  
15 mehreren Einzelzellen, insbesondere durch Aggregation mehrerer Zellen oder die Teilung einer oder mehrerer Ausgangszellen, wobei die Tochterzellen im Aggregatverbund verbleiben, verstanden werden. Die Generierung von in dreidimensionalen Verbänden kultivierten Zellen erfordert typischerweise einen Austausch, vorteilhafterweise einen kontinuierlichen Austausch, eines Nährmediums  
20 bzw. eines Fluids, in dem die in dreidimensionalen Verbänden kultivierten Zellen wachsen, oder einer oder mehrerer Komponenten hiervon. Die vorliegende Erfindung erweist in diesem Zusammenhang als besonders vorteilhaft, da dieser Austausch im Rahmen der vorliegenden Erfindung nicht mehr oder nicht mehr ausschließlich manuell durchgeführt werden muss.

25 Die Färbung von in dreidimensionalen Verbänden kultivierten Zellen ist allgemein bekannt, so dass auf entsprechende Fachliteratur verwiesen werden kann. Sie erfolgt insbesondere durch Zugabe eines oder mehrerer im sichtbaren, infraroten oder ultravioletten Wellenlängenbereich detektierbarer Farbstoffe, insbesondere auch von  
30 Fluoreszenzfarbstoffen, die bei Anregung mit Licht einer Wellenlänge Licht einer anderen Wellenlänge emittieren. Insbesondere bei Verwendung mehrerer unterschiedlicher Farbstoffe zur Gegenfärbung unterschiedlicher Gewebe oder Zellstrukturen sind rein manuell durchgeführte Färbeprotokolle häufig aufwendig, wobei die vorliegende Erfindung hier ebenfalls Abhilfe schafft.

35

Die im Rahmen der vorliegenden Erfindung vorgenommene Stimulation kann insbesondere eine mechanische chemische, Temperatur- oder Strahlungsstimulation sein, die eine definierte, bekannte, unbekannte oder zu untersuchende Reaktion in den in dreidimensionalen Verbänden kultivierten Zellen hervorruft, beispielsweise  
5 eine Ausschüttung von bestimmten Signalstoffen, eine bestimmte Genexpression, eine Teilung, eine Differenzierung oder dergleichen. Die vorliegende Erfindung erweist sich dabei insbesondere in Verbindung mit einer chemischen Stimulation, die durch Zugabe eines oder mehrerer Stimulationssubstanzen einhergeht, als besonders vorteilhaft, da diese im Rahmen der vorliegenden Erfindung nicht mehr oder nicht  
10 mehr ausschließlich manuell durchgeführt werden muss.

Für sämtliche der erläuterten Schritte bzw. deren Ansteuerung kann die Steuereinheit eingerichtet sein, beispielsweise zur Ansteuerung einer oder mehrerer Pumpen zur Zudosierung bzw. Einspeisung eines oder mehrerer Fluide, zur  
15 Ansteuerung einer oder mehrerer Lichtquelle zur optischen Stimulation, zur Ansteuerung einer oder mehrerer Heiz- oder Kühleinrichtungen zur thermischen Stimulation, zur Ansteuerung einer oder mehrerer Motoren zur Positionierung, zur Ansteuerung einer oder mehrerer Kameras und dergleichen mehr.

Bei der Arbeit mit dreidimensionalen Zellkulturen ist es herkömmlicherweise erforderlich, je nach Bearbeitungsstufe unterschiedliche Zellkulturplatten zu verwenden. Dies erhöht den manuellen Aufwand beim ebenfalls typischerweise manuellen Pipettieren verschiedener Substanzen und dem Transfer der dreidimensionalen Zellkulturen in andere Plattenformate. Auch existiert derzeit kein  
25 einheitliches Protokoll für die Färbung und Behandlung von dreidimensionalen Zellkulturen, was zu unterschiedlichen und nicht robusten bzw. schwer reproduzier- und vergleichbaren Ergebnissen führt. Einzelne Schritte der Generierung, Kultivierung, Stimulation und Probenpräparation werden herkömmlicherweise unabhängig voneinander und in separaten manuellen Schritten durchgeführt. Die  
30 vorliegende Erfindung integriert und automatisiert zumindest einen Teil dieser Schritte in einem Verarbeitungssystem, wie es erfindungsgemäß vorgeschlagen wird, und das zur Durchführung eines entsprechenden Verfahrens eingerichtet ist.

Die vorliegende Erfindung schafft, mit anderen Worten, insbesondere einen  
35 zusammenhängenden Workflow bzw. Arbeitsstrang, der weitgehend automatisiert

bzw. ohne oder ohne wesentlichen Benutzereingriff nach dem Start durchgeführt werden kann. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kann der gesamte Ablauf der Probenvor- und Probenverarbeitung von dicken, dreidimensionalen zellulären Proben wie zum Beispiel von Tumorsphäroiden und Organoiden teilweise oder  
5 vollständig automatisiert werden.

Insgesamt schlägt die vorliegende Erfindung dabei ein Verarbeitungssystem für in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierte Zellen (also insbesondere die erläuterten dreidimensionale Zellkulturen und Organoide) vor. Hierbei wird eine  
10 Kultureinheit bereitgestellt, die insbesondere austauschbar und in Form einer Kulturplatte ausgebildet sein kann. Die Kultureinheit weist eine Anzahl von Kulturkammern auf, die wie nachfolgend noch im Detail erläutert ausgebildet und zur Aufnahme der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen und eines Kulturmediums eingerichtet sind. Die Kulturkammern können insbesondere in einer  
15 Anzahl und Anordnung vorhanden sein, die der Anzahl an sogenannten Wells in bekannten Multi-Well-Platten entspricht, um eine Kompatibilität beispielsweise mit handelsüblichen Multipipetten oder Pipettiereinrichtungen sowie Detektoren wie Fluoreszenzreadern zu gewährleisten.

20 Das Verarbeitungssystem umfasst ferner ein Mikroskop, wobei die Kultureinheit insbesondere derart in dem Verarbeitungssystem angeordnet oder anordenbar ist, dass die Kulturkammern und deren Inhalt durch einen Boden der Kultureinheit betrachtbar sind. Es können Positionierungsmittel bereitgestellt sein, die insbesondere dafür eingerichtet sein können, die Kultureinheit und deren  
25 Kulturkammern gegenüber einem Objektiv des Mikroskops in zwei oder drei Raumrichtungen zu positionieren und auf diese Weise den Inhalt der Kulturkammern betrachtbar und/oder elektronisch abbildbar zu machen, indem diese insbesondere in einen Strahlengang des Mikroskops eingebracht werden. Zu Details sei auf bekannte, insbesondere inverse, Mikroskope mit entsprechenden  
30 Plattenhaltern für Multi-Well-Platten ausdrücklich verwiesen, welche Teil des Verarbeitungssystems sein können.

Das erfindungsgemäß vorgeschlagene Verarbeitungssystem weist eine Steuereinheit auf, wobei die Steuereinheit dazu eingerichtet ist, das Verarbeitungssystem zur  
35 Generierung, Verarbeitung, Stimulation und/oder Dokumentation der Form

dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen unter dem Mikroskop zumindest teilweise nach Maßgabe einer bereits vor der Generierung, Verarbeitung, Stimulation und/oder Dokumentation, beispielsweise von einem Benutzer, getroffenen Ansteuervorgabe und ohne manuellen Eingriff anzusteuern

5

Die Definition der Ansteuervorgabe kann im Rahmen der vorliegenden Erfindung dabei beispielsweise nach Maßgabe eines vorgegebenen Bearbeitungsprotokolls erfolgen, wobei beispielsweise eine zeitliche Abfolge bzw. Zudosierung von unterschiedlichen Substanzen erfolgt, gegenüber denen die in Form

10

dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen exponiert werden, oder die ein Wachstum dieser Zellen sicherstellen. Die Zudosierung kann insbesondere auch zur Differenzierung, also beispielsweise zur Generierung von Organoiden, oder zur Stimulation erfolgen. Auch eine im zeitlichen Verlauf erfolgende, auch automatisierte oder teilautomatisierte Beobachtung oder Dokumentation mittels des Mikroskops in

15 vorbestimmter Reihenfolge und/oder unter Verwendung von vorbestimmten Detektionsmodalitäten kann Gegenstand der vorliegenden Erfindung sein.

Durch den Einsatz der vorliegenden Erfindung erleichtert sich die Generierung, Verarbeitung und/oder Stimulation sowie die Dokumentation von entsprechenden

20 Zellen signifikant, insbesondere weil keine oder eine reduzierte Anzahl an aufwendigen manuellen Schritten erforderlich sind bzw. ist. Durch die im Rahmen der vorliegenden Erfindung erfolgende Reduktion von Benutzereingriffen bzw. die entsprechende Automatisierung schafft die vorliegende Erfindung ferner eine höhere Reproduzierbarkeit und das Verfahren wird geschicklichkeitsneutral durchführbar.

25

Im Gegensatz zum Stand der Technik lassen sich durch den Einsatz des erfindungsgemäß vorgeschlagenen Verarbeitungssystems insbesondere an unterschiedlichen Standorten bzw. von unterschiedlichen Bearbeitern erzielte Ergebnisse besser vergleichen.

30 Die vorliegende Erfindung geht aber über eine reine Automatisierung hinaus, da mit ihr die genannten Schritte insbesondere in einer einzigen baulichen Einheit durchführbar sind und insbesondere auch ein Austausch der dabei verwendeten Kultureinheiten und ein Umpipettieren oder dergleichen wegfällt.

Wie erwähnt, kann die im Rahmen der vorliegenden Erfindung die Kultureinheit insbesondere als austauschbare Kulturplatte ausgebildet sein, wobei die Kulturkammern nebeneinander in der Kultureinheit angeordnet sind. Auf diese Weise kann durch eine Verschiebung in der Horizontalebene jede der

5 Kulturkammern in den Beobachtungsstrahlengang des Mikroskops verbracht und auf diese Weise der Inhalt beobachtet werden. Durch eine Ausbildung der Kultureinheit als austauschbare Kulturplatte kann diese nach der Verarbeitung in dem erfindungsgemäß vorgeschlagenen Bearbeitungssystem weiteren

10 Verarbeitungsschritten unterzogen werden, die zur Verarbeitung oder Lagerung entsprechend standardisierter Kulturplatten eingerichtet sind.

In dem erfindungsgemäßen Verarbeitungssystem kann zumindest eine der Kulturkammern insbesondere eine zellabweisende Beschichtung aufweisen. Auf diese Weise kann vorteilhafterweise jede Interaktion zwischen der Oberfläche der

15 Kulturkammern und den in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen verhindert werden. Beispiele für solche unerwünschten Interaktionen sind ionische und kovalente Ankopplungen sowie die Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen Biomolekülen und der Oberfläche. Beispiele für zellabweisende Beschichtungen sind dem Fachmann bekannt und kommerziell verfügbar.

20

Bei dem erfindungsgemäß vorgeschlagenen Verarbeitungssystem ist die zumindest eine Kulturkammer an einen Zufuhrkanal zum Zuführen eines oder mehrerer Fluide in die zumindest eine Kulturkammer und/oder an einen Abfuhrkanal zur Ableitung eines oder mehrerer Fluide aus der zumindest einen Kulturkammer angebunden,

25 wobei unter der „Anbindung“ eine fluidische Kopplung, nicht notwendigerweise aber eine feste mechanische Verbindung, verstanden werden soll. Für eine entsprechende Anbindung im hier verstandenen Sinn ist lediglich erforderlich, dass der Zufuhrkanal zum Zuführen des oder der Fluide in die zumindest eine Kulturkammer und/oder der Abfuhrkanal zur Ableitung des oder der Fluide verwendet werden kann,

30 beispielsweise durch eine entsprechende mechanische bzw. räumliche Anordnung. Ein Abfuhrkanal kann beispielsweise auch als Tauchröhrchen ausgebildet sein, das lediglich in die Kulturkammer eintaucht und auf diese Weise Medium vom Boden der Kulturkammer bzw. bodennah abziehen kann. Entsprechend kann ein Zufuhrkanal als Einspeiseröhrchen ausgebildet sein, das in die Kulturkammer oder oberhalb der

35 Kulturkammer mündet. Ein System aus Zufuhr- und Abfuhrkanälen kann auch als

austauschbare bzw. bewegliche Einheit separat zu der Kultureinheit bzw. einer Kulturplatte bereitgestellt werden.

5 Auf diese Weise können im Rahmen der vorliegenden Erfindung die in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen beispielsweise zur Induktion einer Differenzierung in unterschiedliche Zelltypen, zur Stimulation, Färbung, Aufhellung oder dergleichen in den jeweiligen Kulturkammern belassen werden und ein aufwendiger Transfer ist nicht erforderlich. Auf diese Weise vereinfacht sich die Durchführung entsprechender Experimente.

10

Vorteilhafterweise sind dabei die Zufuhrkanäle mehrerer Kulturkammern mit einer gemeinsamen Speiseleitung und/oder die Abfuhrkanäle mehrerer Kulturkammern mit einer gemeinsamen Entnahmeleitung verbunden. Die Speiseleitung kann dabei insbesondere an ein Reservoir für das eine oder die mehreren Fluide eingerichtet  
15 sein, wobei eine Pumpe bereitgestellt sein kann, mittels derer, insbesondere nach Maßgabe der Steuereinrichtung, das oder die Fluide gefördert werden kann bzw. können. Entsprechendes gilt für die Entnahmeleitung, die insbesondere über eine entsprechende ansteuerbare Pumpe an ein Abfallgefäß angeschlossen sein kann. Es kann auch beispielsweise eine einzige Pumpe mit unterschiedlichen Fluidkanälen,  
20 beispielsweise eine Peristaltikpumpe, eingesetzt werden.

In einer besonders vorteilhaften Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung kann oder können der oder die Zufuhrkanäle und/oder der oder die Abfuhrkanäle für eine Durchströmung eingerichtet sein, die auf Grundlage einer physiologischen  
25 Durchflussgeschwindigkeit bestimmt wird. Bei dieser physiologischen Durchflussgeschwindigkeit handelt es sich insbesondere um eine Geschwindigkeit, in der auch *in vivo* ein Fluidaustausch erfolgen würde, in der bestimmte Komponenten umgesetzt werden, oder dergleichen. Die Einstellung kann im Rahmen der vorliegenden Erfindung insbesondere durch eine entsprechende Ausbildung des oder  
30 der Zufuhrkanäle und/oder des oder der Abfuhrkanäle oder durch eine geeignete Dimensionierung und/oder Ansteuerung einer Pumpe erfolgen.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kann zumindest einer der Zufuhrkanäle und/oder der Abfuhrkanäle als ein Mikrofluidikkanal ausgebildet sein, um auf diese  
35 Weise eine besonders behutsame Dosierung zu ermöglichen. Es können auch

entsprechende mikrofluidische Misch- oder Dosiereinrichtungen bereitgestellt werden, um beispielsweise Fluide gezielt mischen oder dosieren zu können.

In dem Verarbeitungssystem gemäß der vorliegenden Erfindung ist  
5 vorteilhafterweise ein Boden zumindest eines überwiegenden Teils der Kulturkammern frei von Zufuhrkanälen und/oder Abfuhrkanälen, so dass auf diese Weise eine ungehinderte Beobachtung durch das Mikroskop ermöglicht wird. Der Begriff „frei von“ bezeichnet dabei insbesondere eine Anordnung, bei der die  
10 Durchsicht durch den Boden durch Zufuhrkanäle und/oder Abfuhrkanäle nicht oder nicht wesentlich behindert wird.

Vorteilhafterweise ist bzw. sind der oder die Zufuhrkanäle der wenigstens einen Kulturkammer, die einen Zufuhrkanal aufweist, seitlich an die wenigstens eine Kulturkammer herangeführt, wobei der oder die Abfuhrkanäle der wenigstens einen  
15 Kulturkammer, die einen Abfuhrkanal aufweist, insbesondere gegenüber des oder der Zufuhrkanäle an wenigstens eine andere der Kulturkammern herangeführt ist oder sind. Auf diese Weise wird es ermöglicht, den Boden jeweils kanalfrei zu halten. Die Abfuhrkanäle sind vorteilhafterweise jeweils unterhalb der Zufuhrkanäle, insbesondere bodennäher, angeordnet.

20

In dem erfindungsgemäßen Verarbeitungssystem weist ein Boden der zumindest einen Kulturkammer eine Dicke in einem Bereich von 5 bis 300  $\mu\text{m}$ , insbesondere in einem Bereich von 25 bis 170  $\mu\text{m}$ , auf. Auf diese Weise kann eine ausreichende Stabilität bei gleichzeitig auch für höhere Vergrößerungen gering genug  
25 ausgebildeten Distanz zur Probe sichergestellt werden.

Vorteilhafterweise ist der Boden der zumindest einen Kulturkammer transparent ausgebildet, wobei unter „transparent“ eine Durchlässigkeit für wenigstens eine Wellenlänge sichtbaren, infraroten oder ultravioletten Lichts von wenigstens 50%,  
30 60%, 70%, 80% oder 90% verstanden wird. Die Transparenz muss also nicht vollständig und für alle Wellenlängen gegeben sein. Insbesondere kann durch Verwendung von selektiv transparenten Materialien auch eine Filterwirkung bzw. ein Probenschutz gegenüber übermäßiger Lichtbelastung erzielt werden. Der Boden der zumindest einen Kulturkammer kann insbesondere aus Glas, Quarz oder einem  
35 Cycloolefin-Copolymer ausgebildet sein. Weitere Alternativen sind bekannt und

kommerziell verfügbar. Beispielsweise können Polytetrafluorethylenmaterialen, insbesondere in transparenter Form, eingesetzt werden.

In dem erfindungsgemäßen Verfahren, dessen Merkmale bereits teilweise im  
5 Rahmen der Erläuterungen zu dem erfindungsgemäßen Verarbeitungssystem und seiner Ausgestaltungen beschrieben wurde, und das zur Verarbeitung in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierter Zellen dient, werden die in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen in einer Kultureinheit generiert, verarbeitet, stimuliert und/oder dokumentiert, die eine Anzahl von Kulturkammern  
10 aufweist, in der die in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen und ein Kulturmedium aufgenommen sind. Die Generierung, Verarbeitung und/oder Stimulation der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen erfolgt unter einem Mikroskop und diese wird erfindungsgemäß zumindest teilweise nach Maßgabe einer vor der Generierung, Verarbeitung, Stimulation und/oder  
15 Dokumentation, insbesondere durch einen Benutzer, definierten Ansteuervorgabe und ohne manuellen Eingriff durchgeführt.

Vorteilhafterweise umfasst das erfindungsgemäß vorgeschlagene Verfahren eine Einbringung oder Generierung der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten  
20 Zellen in zumindest eine bzw. einer der Kulturkammern. Die Zellen können also in dort kultiviert oder nach Kultivierung eingebracht werden. Die Generierung, Verarbeitung, Stimulation und/oder Dokumentation kann insbesondere das Zuführen zumindest eines ersten Mediums durch einen Zufuhrkanal in die zumindest eine Kulturkammer und das Abführen des zumindest einen ersten Mediums oder  
25 zumindest eines zweiten Mediums durch einen Abfuhrkanal aus der zumindest einen Kulturkammer umfassen. Wie erwähnt, können auf diese Weise beispielsweise die Zellen kontinuierlich mit dem zum Wachstum benötigten Nährstoffen und dergleichen, insbesondere in physiologischer Geschwindigkeit, versorgt oder mit entsprechenden Stimulanzen beaufschlagt werden.

30 Das zumindest eine erste Medium kann im Rahmen der vorliegenden Erfindung insbesondere ein Wachstumsmedium aufweisen, das insbesondere einen oder mehrere Wirkstoffe, einen oder mehrere Farbstoffe, eine oder mehrere Aufhellungslösungen und/oder ein oder mehrere andere Stimulantien aufweist. Bei

dem zweiten Medium kann es sich insbesondere um verbrauchtes, d.h. aufgrund der physiologischen Aktivität der Zellen verändertes, erstes Medium handeln.

Die in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen können im Rahmen der vorliegenden Erfindung während der Verarbeitung vorteilhafterweise dauerhaft in derselben Kulturkammer verbleiben, so dass ein Transfer entfällt. Das Zuführen des zumindest einen ersten Mediums und/oder das Abführen des zumindest einen ersten Mediums oder des zumindest eines zweiten Mediums kann, wie erwähnt, insbesondere nach Maßgabe einer Steuervorgabe einer Steuereinheit und insbesondere nach physiologischen Anforderungen durchgeführt werden.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ferner ein Computerprogramm, das ein Verfahren wie zuvor erläutert in beliebigen Ausgestaltungen ausführt, wenn es auf einem Computer, insbesondere in einer Steuereinheit eines Verarbeitungssystems wie zuvor in unterschiedlichen Ausgestaltungen erläutert ausgeführt wird.

Einige oder alle Verfahrensschritte können im Rahmen der vorliegenden Erfindung dabei durch (oder unter Verwendung) einer Hardwarevorrichtung ausgeführt werden, wie beispielsweise einem Prozessor, einem Mikroprozessor, einem programmierbaren Computer oder einer elektronischen Schaltung. In einigen Ausführungsbeispielen können ein oder mehrere der wichtigsten Verfahrensschritte durch eine solche Vorrichtung ausgeführt werden.

Abhängig von bestimmten Implementierungsanforderungen können Ausführungsbeispiele der Erfindung in Hardware oder Software implementiert werden. Die Implementierung kann mit einem nicht-flüchtigen Speichermedium wie einem digitalen Speichermedium, beispielsweise einer Diskette, einer DVD, einem Blu-Ray, einer CD, einem ROM, einem PROM und EPROM, einem EEPROM oder einem FLASH-Speicher, durchgeführt werden, auf dem elektronisch lesbare Steuersignale gespeichert sind, die mit einem programmierbaren Computersystem so zusammenwirken (oder zusammenwirken können), dass das jeweilige Verfahren durchgeführt wird. Daher kann das digitale Speichermedium computerlesbar sein. Einige Ausführungsbeispiele gemäß der Erfindung umfassen einen Datenträger mit elektronisch lesbaren Steuersignalen, die mit einem programmierbaren

Computersystem zusammenwirken können, so dass eines der hierin beschriebenen Verfahren durchgeführt wird.

Im Allgemeinen können Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung als  
5 Computerprogrammprodukt mit einem Programmcode implementiert werden, wobei  
der Programmcode für die Ausführung eines der Verfahren wirksam ist, wenn das  
Computerprogrammprodukt auf einem Computer läuft. Der Programmcode kann  
beispielsweise auf einem maschinenlesbaren Träger gespeichert werden.  
Weitere Ausführungsbeispiele der Erfindung umfassen das Computerprogramm zur  
10 Durchführung eines der hierin beschriebenen Verfahren, das auf einem  
maschinenlesbaren Träger gespeichert ist.

Mit anderen Worten ist ein Ausführungsbeispiel der Erfindung daher ein  
Computerprogramm mit einem Programmcode zur Durchführung eines der hierin  
15 beschriebenen Verfahren, wenn das Computerprogramm auf einem Computer läuft.  
Ein weiteres Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung ist ein  
Speichermedium (oder ein Datenträger oder ein computerlesbares Medium), das ein  
darauf gespeichertes Computerprogramm zum Ausführen eines der hierin  
beschriebenen Verfahren umfasst, wenn es von einem Prozessor ausgeführt wird. Der  
20 Datenträger, das digitale Speichermedium oder das aufgezeichnete Medium sind in  
der Regel greifbar und/oder nicht übergangslos. Ein weiteres Ausführungsbeispiel  
der vorliegenden Erfindung ist eine Vorrichtung, wie hierin beschrieben, die einen  
Prozessor und das Speichermedium umfasst.

25 Ein weiteres Ausführungsbeispiel der Erfindung ist ein Datenstrom oder eine  
Signalfolge, die das Computerprogramm zur Durchführung eines der hierin  
beschriebenen Verfahren darstellt. Der Datenstrom oder die Signalfolge kann so  
konfiguriert werden, dass sie über eine Datenkommunikationsverbindung,  
beispielsweise über das Internet, übertragen werden.

30 Ein weiteres Ausführungsbeispiel umfasst ein Verarbeitungsmittel, zum Beispiel  
einen Computer oder eine programmierbare Logikvorrichtung, das konfiguriert oder  
angepasst ist, um eines der hierin beschriebenen Verfahren auszuführen. Ein  
weiteres Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung umfasst einen Computer,

auf dem das Computerprogramm zum Ausführen eines der hierin beschriebenen Verfahren installiert ist.

5 Ein weiteres Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung umfasst eine Vorrichtung oder ein System, das konfiguriert ist, um (zum Beispiel elektronisch oder optisch) ein Computerprogramm zum Ausführen eines der hierin beschriebenen Verfahren an einen Empfänger zu übertragen. Der Empfänger kann beispielsweise ein Computer, eine mobile Vorrichtung, eine Speichervorrichtung oder dergleichen sein. Die Vorrichtung oder das System kann beispielsweise einen Dateiserver zum Übertragen  
10 des Computerprogramms an den Empfänger umfassen.

In Ausführungsbeispielen kann eine programmierbare logische Vorrichtung (z.B. eine feldprogrammierbare Gatteranordnung, FPGA) verwendet werden, um einige oder alle Funktionalitäten der hierin beschriebenen Verfahren auszuführen. In  
15 einigen Ausführungsbeispielen kann eine feldprogrammierbare Gatteranordnung mit einem Mikroprozessor zusammenarbeiten, um eines der hierin beschriebenen Verfahren durchzuführen. Im Allgemeinen werden die Verfahren vorzugsweise von jedem Hardwaregerät durchgeführt.

20 Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung können jeweils auch als Organoid Management System (OMS) oder Organoidverarbeitungssystem bezeichnet werden und beinhalten ein Gesamtkonzept für die Formierung, Färbung, Stimulation und der anschließenden Überprüfung von dreidimensionalen Zellkulturen. Dies wird erreicht durch die Verwendung von standardisierten und etablierten Verbrauchsmaterialien  
25 sowie von bereits publizierten und etablierten Protokollen. Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung reduzieren den Aufwand für die einzelnen manuellen Schritte während des Arbeitsstranges auf ein Minimum und standardisieren den Prozess. Hierbei sind vor allem die zeitaufwendigen und mit vielen Fehlerquellen betroffenen Probentransfer- und Pipettierschritte gemeint. Das Ausbleiben dieser  
30 Schritte führt neben der Reduktion des Arbeitsaufwandes auch zur Kostenreduktion für die Forschung an dreidimensionalen Zellkulturen und liefert zudem reproduzierbarere und robustere Ergebnisse.

Ein Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung basiert auf die Verwendung und  
35 Modifikation bereits existierender Multiwellplatten (96- bis 384-Well-Format) mit

einem 25 bis 170  $\mu\text{m}$  dünnen Boden aus Cycloolefin-Copolymer. Andere Multiwellplattenformate sind auch möglich. Die Oberfläche der einzelnen Wells in der Platte ist durch chemische Behandlung oder entsprechende Beschichtung zellabweisend und ist sowohl in U-Form als auch in einer flachen Variante kommerziell erhältlich. Aufgrund der optischen und chemischen Eigenschaften ist die Platte sowohl gegen organische Lösungsmittel (z.B. BABB) resistent und kann zudem aufgrund der niedrigen Autofluoreszenz in der Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt werden. Über zuführende und abführende Kanäle werden Medien und Chemikalien für die Probenpräparation in die Multiwellplatten ein- bzw. abgeführt. Diese Schritte folgen festgelegten Protokollen, die in der Software des Systems hinterlegt sind und die Prozedur steuern. Dies beinhaltet die Zufuhr und Verweildauer von Chemikalien im Probenraum für Färbe-, Blocking- und Waschschriffe. Die ID der verwendeten Platte kann automatisch erfasst (Barcode, RFID o.ä.) und die Daten der verwendeten Zellen können in der Software zusammen mit dem Präparationsprotokoll abgespeichert und dokumentiert werden.

Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend nochmals mit anderen Worten beschrieben, wobei die nachfolgenden Erläuterungen jedoch vollumfänglich den obigen Erläuterungen entsprechen bzw. in deren Rahmen liegen und umgekehrt.

Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung betreffen die Automatisierung eines gesamten Probenvorbereitungs-Arbeitsstranges von dicken, dreidimensionalen zellulären Proben (zelluläre Sphäroide und Organoide).

Es gibt für die einzelnen Schritte im Probenvorbereitungsstrang vielfach publizierte Arbeiten (siehe auch Pubmed). Dies betrifft vor allem die Schritte für die Formierung, Färbung und Stimulation von großen 3DCC (dreidimensionalen Zellkulturen). Es gibt jedoch keine Lösung, um den gesamten Probenvorbereitungsstrang von 3DCC zusammenzufassen.

Bei der Arbeit mit 3DCC muss man aktuell verschiedene Zellkulturplatten für die einzelnen Schritte im Probenvorbereitungsstrang verwenden. Dies erhöht den manuellen Aufwand bei der Überführung der 3DCC-Proben in den Platten. Auch gibt es kein einheitliches Protokoll für die Färbung und Behandlung von 3DCC-Protokollen, was zu uneinheitlichen und nicht robusten Ergebnissen führt. Einzelne

Schritte der Formierung, Kultivierung und der Probenpräparation werden unabhängig voneinander und in separaten manuellen Schritten durchgeführt.

5 Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Konzept zu schaffen, welches die Automatisierung eines gesamten Probenvorbereitungs-Arbeitsstranges von dicken, dreidimensionalen zellulären Proben wie zum Beispiel von Tumorsphäroiden und Organoiden ermöglicht. Diese Aufgabe wird von Ausführungsbeispielen der vorliegenden Erfindung gelöst.

10 Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung, auch als Organoid Management System (OMS) oder Organoidverarbeitungssystem bezeichnet, beinhalten ein Gesamtkonzept für die Formierung, Färbung, Stimulation und der anschließenden Zellcheck-Überprüfung von dreidimensionalen Zellkulturen (3DCC). Dies wird erreicht durch die Verwendung eines einheitlichen Verbrauchsmaterials und  
15 angepasster Protokolle. Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung reduzieren den Aufwand für die einzelnen manuellen Schritte während des Arbeitsstranges auf ein Minimum und standardisieren den Prozess. Hierbei sind vor allem die zeitaufwendigen und mit vielen Fehlerquellen betroffenen, Probentransferschritte gemeint. Das Ausbleiben dieser Schritte führt zu einer signifikanten Reduktion des  
20 Arbeitsaufwandes und der Kosten für die Forschung an 3DCC und liefert zudem reproduzierbarere, robustere und verlässlichere Ergebnisse.

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung basiert auf einer Multiwellplatte (96- bis 384-Well-Format) mit einem 25 bis 170  $\mu\text{m}$  dünnen Boden aus Glas oder Cycloolefin-  
25 Copolymer. Andere Multiwellplattenformate sind auch möglich. Die Oberfläche der einzelnen Wells in der Platte ist durch chemische Behandlung oder entsprechende Beschichtung zellabweisend und kann sowohl als U-Form als auch als flache Variante verfügbar sein. Aufgrund der optischen und chemischen Eigenschaften ist die Platte sowohl für die Mikroskopie geeignet als auch gegen organische Lösungsmittel  
30 resistent. In den Probenraum können über zuführende und abführende Kanäle Medien und Chemikalien für die Präparation zugeführt werden. Diese Schritte folgen festgelegten Protokollen, die in der Software des Systems hinterlegt sind und die Prozedur steuern. Dies beinhaltet die Zufuhr und Verweildauer von Chemikalien im Probenraum für Färbung, Blocking und Waschschrte. Die ID der verwendeten Platte  
35 wird automatisch erfasst (Barcode, RFID o.ä.) und die Daten der verwendeten Zellen

werden beispielsweise in der Software zusammen mit dem verwendeten Präparationsprotokoll hinterlegt.

5 A) bis B) bezeichneten Absätzen, die jedoch keine Patentansprüche darstellen, zusammengefasst werden.

A) Organoidverarbeitungssystem mit folgenden Merkmalen:

a) einer Mehrzahl von Wells zur Aufnahme von dicken Proben;

10 b) wobei mindestens ein erstes Well der Mehrzahl von Wells eine zellabweisende Beschichtung aufweist; und

c) wobei das erste Well einen Zufuhrkanal zum Zuführen von Medien und einen Abfuhrkanal zur Abfuhr von Medien aufweist.

15 B) Organoidverarbeitungssystem gemäß dem vorstehenden Absatz A), wobei der Boden des Organoidverarbeitungssystem eine Dicke in einem Bereich von 5 bis 300  $\mu\text{m}$ , bevorzugt von 25 bis 170  $\mu\text{m}$  aufweist.

20 C) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) oder B), wobei der Boden des Organoidverarbeitungssystem transparent ist.

D) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) bis C), wobei der Boden des Organoidverarbeitungssystem Glas oder Cycloolefin-Copolymer aufweist.

25

E) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) bis D), wobei mindesten ein zweites Well der Mehrzahl von Wells einen Zufuhrkanal zum Zuführen von Medien und einen Abfuhrkanal zur Abfuhr von Medien aufweist, wobei der Zufuhrkanal des ersten Wells mit dem Zufuhrkanal des zweiten Wells verbunden  
30 ist und wobei der Abfuhrkanal des ersten Wells mit dem Abfuhrkanal des zweiten Wells verbunden ist.

F) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) bis E), wobei der Zufuhrkanal und der Abfuhrkanal Mikrofluidikkanäle sind.

35

G) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) bis F), wobei der Boden des Organoidverarbeitungssystem zumindest im Bereich der Mehrzahl von Wells frei von Zufuhrkanälen und Abfuhrkanälen ist.

5 H) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) bis G), wobei der Zufuhrkanal seitlich an das erste Well herangeführt ist.

I) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) bis H), wobei der Abfuhrkanal seitlich an das erste Well und gegenüberliegend dem  
10 Zufuhrkanal des ersten Wells herangeführt ist.

J) Organoidverarbeitungssystem gemäß einem der vorstehenden Absätze A) bis I),  
a) wobei alle Wells der Mehrzahl von Wells gleich dem ersten Well ausgebildet sind,  
alle Zufuhrkanäle zu den Wells der Mehrzahl von Wells miteinander verbunden sind  
15 und wobei alle Abfuhrkanäle von den Wells der Mehrzahl von Wells miteinander  
verbunden sind.

K) Organoidverarbeitungssystem, wobei die Mehrzahl von Wells mindestens 96  
Wells aufweist.

20

L) Organoidverarbeitungssystem, wobei das Organoidverarbeitungssystem eine  
Multiwellplatte ist.

M) Verfahren zur Verarbeitung eines Organoids mit folgenden Schritten:

25 a) Einfüllen oder Formieren des Organoids in einem Well einer Multiwellplatte,  
b) Zuführen eines ersten Mediums durch einen Zufuhrkanal in das Well in dem sich  
das Organoid befindet;  
c) Abführen eines zweiten Mediums durch einen Abfuhrkanal des Wells in dem sich  
das Organoid befindet.

30

N) Verfahren zur Verarbeitung eines Organoids gemäß dem vorstehenden Absatz M),  
wobei das erste Medium ein Wachstumsmedium bevorzugt mit Wirkstoffen,  
Farbstoffen, Aufhellungslösung oder anderen Stimulantien ist.

O) Verfahren zur Verarbeitung eines Organoids gemäß dem vorstehenden Absatz M) oder N), wobei das zweite Medium das verbrauchte Medium ist.

5 P) Verfahren zur Verarbeitung eines Organoids gemäß einem der vorstehenden Absätze M) bis O), wobei sich das Organoid während der Verarbeitung dauerhaft in demselben Well derselben Multiwellplatte befindet.

Die Erfindung und weitere Ausgestaltungen der Erfindung werden nachfolgend unter Bezugnahme auf die Zeichnungen erläutert, wobei

10

Figur 1 ein Verarbeitungssystem gemäß einer Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung schematisch veranschaulicht,

15

Figuren 2A bis 2C ein Verarbeitungssystem gemäß einer Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung in schematischen Teildarstellungen veranschaulichen, und

Figur 3 ein Verfahren gemäß einer Ausgestaltung der Erfindung in Form eines schematischen Ablaufplans veranschaulicht.

20

In den Figuren sind einander entsprechende Elemente ggf. mit identischen Bezugszeichen angegeben und werden lediglich der Übersichtlichkeit halber nicht wiederholt erläutert. Es versteht sich, dass vorstehend erläuterte und nachfolgend beschriebene Merkmale jeweils nicht nur in der angegebenen Kombination, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung verwendet werden können, ohne den Umfang der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

25

In Figur 1 ist ein Verarbeitungssystem gemäß einer Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung schematisch veranschaulicht und insgesamt mit 100 veranschaulicht. Die Figur 2A zeigt eine perspektivische Ansicht eines Teils des Verarbeitungssystems 30 200, Figur bis 2B eine vergrößerte Seitenansicht in Ausschnittsdarstellung und Figur 2C eine vergrößerte Draufsicht in Ausschnittsdarstellung. Die Figur 1 sowie die Figuren 2A bis 2C werden nachfolgend gemeinsam erläutert.

35

Teil des Verarbeitungssystems 100, das zur Untersuchung in Form dreidimensionaler Verbände kultivierter Zellen 10 eingerichtet ist (letztere nur teilweise bezeichnet),

weist eine Kultureinheit 110 in Form einer Kulturplatte auf, die in Figur 1 in Seitenansicht, in Figur 2A in perspektivischer Schrägansicht, in Figur 2B wieder in Seitenansicht und in Figur 2C in Draufsicht dargestellt ist.

5 Wie ersichtlich, weist die Kultureinheit 110 eine Anzahl von Kulturkammern 112 auf, die jeweils zur Aufnahme der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen 10 und eines Kulturmediums 20 eingerichtet sind. Wie ersichtlich, sind in der als insbesondere austauschbare Kulturplatte ausgebildeten Kultureinheit 110 die Kulturkammern nebeneinander in der Kultureinheit angeordnet.

10

Ein Mikroskop 120 (stark vereinfacht gezeigt und in Figur 2A als Block mit einem Mikroskopobjektiv 22 dargestellt) und eine Steuereinheit 130 (in Figur 2A als Computer und ansonsten stark vereinfacht dargestellt) sind ebenfalls Teil des Verarbeitungssystems 100, wobei die Steuereinheit 130 dazu eingerichtet ist, das  
15 Verarbeitungssystem 100 zur Generierung, Verarbeitung und/oder Stimulation der Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen 10 unter dem Mikroskop 120 zumindest teilweise nach Maßgabe einer vor der Generierung, Verarbeitung und/oder Stimulation getroffenen Ansteuervorgabe und ohne manuellen Eingriff anzusteuern. Hierbei sind zum Austausch zwischen der Steuereinheit 130, die auch in  
20 anderen Einrichtungen integriert sein kann, und dem Rest des Verarbeitungssystems 100 drahtgebundene oder drahtlose Kommunikationsstrecken 132 vorgesehen.

Einige Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung beziehen sich auf das Mikroskop 120 bzw. das Verarbeitungssystem 100, das das Mikroskop 120 umfasst,  
25 wie in Verbindung mit den Figuren 1, 2A und 2B. Das Mikroskop 120 kann integraler Teil des Systems 100 oder mit demselben verbunden sein. Das Mikroskop 120 kann insbesondere zum Aufnehmen von Bildern ausgebildet sein und ist mit der insbesondere als Computersystem ausgebildeten und nachfolgend als solches beschriebenen Steuereinheit 130 verbunden. Die Steuereinheit 130, die, wie erwähnt,  
30 insbesondere als Computersystem ausgebildet sein kann, ist ausgebildet zum Ausführen von zumindest einem Teil eines hierin beschriebenen Verfahrens. Die Steuereinheit 130 kann zum Ausführen eines Maschinelern-Algorithmus ausgebildet sein. Die Steuereinheit 130 und das Mikroskop 120 können getrennte Einheiten sein, können aber auch zusammen in einem gemeinsamen Gehäuse  
35 integriert sein. Die Steuereinheit 130 könnte Teil eines zentralen

Verarbeitungssystems des Mikroskops 120 sein und/oder das die Steuereinheit 130 könnte Teil einer Teilkomponente des Mikroskops 120 sein, wie eines Sensors, eines Aktuators, einer Kamera oder einer Beleuchtungseinheit, usw. des Mikroskops 120.

5 Die Steuereinheit 130 kann eine lokale Computervorrichtung (z.B. Personalcomputer, Laptop, Tablet-Computer oder Mobiltelefon) mit einem oder mehreren Prozessoren und einer oder mehreren Speichervorrichtungen oder kann ein verteiltes  
Computersystem (z.B. ein Cloud-Computing-System mit einem oder mehreren  
10 Prozessoren oder einer oder mehreren Speichervorrichtungen, die an verschiedenen Stellen verteilt sind, zum Beispiel an einem lokalen Client und/oder einer oder mehreren Remote-Server-Farms und/oder Datenzentren) sein. Die Steuereinheit 130 kann irgendeine Schaltung oder Kombination von Schaltungen umfassen. Bei einem  
Ausführungsbeispiel kann die Steuereinheit 130 einen oder mehrere Prozessoren  
umfassen, die von irgendeinem Typ sein können. Nach hiesigem Gebrauch kann  
15 Prozessor irgendein Typ von Rechenschaltung bedeuten, wie beispielsweise, aber nicht beschränkt auf, ein Mikroprozessor, ein Mikrocontroller, ein Mikroprozessor mit komplexem Befehlssatz (CISC), ein Mikroprozessor mit reduziertem Befehlssatz (RISC), ein Sehr-langes-Anweisungswort- (Very Long Instruction Word; VLIW)  
Mikroprozessor, ein Graphikprozessor, ein digitaler Signalprozessor (DSP), ein  
20 Multi-Core-Prozessor, ein feld-programmierbares Gate-Array (FPGA), z.B. eines Mikroskops oder einer Mikroskopkomponente (z. B. Kamera) oder irgendein anderer Typ von Prozessor oder Verarbeitungsschaltung. Andere Typen von Schaltungen, die in der Steuereinheit 130 umfasst sein können, können eine speziell angefertigte Schaltung, eine anwendungsspezifische integrierte Schaltung (ASIC) oder Ähnliches,  
25 wie eine oder mehrere Schaltungen (z. B. eine Kommunikationsschaltung) zur Verwendung bei drahtlosen Vorrichtungen wie z. B. Mobiltelefonen, Tablet-Computern, Laptop-Computern, Funksprengeräten und ähnlichen elektronischen Systemen sein. Die Steuereinheit 130 kann eine oder mehrere Speichervorrichtungen umfassen, die ein oder mehrere Speicherelemente umfassen können, die für die  
30 jeweilige Anwendung geeignet sind, wie beispielsweise einen Hauptspeicher in der Form eines Random Access Speicher (RAM), eine oder mehrere Festplatten und/oder ein oder mehrere Laufwerke, die entfernbare Medien, wie beispielsweise CDs, Flash-Speicherkarten, DVD und Ähnliches handhaben. Die Steuereinheit 130 kann auch eine Anzeigevorrichtung, einen oder mehrere Lautsprecher, und eine Tastatur  
35 und/oder Steuerung umfassen, die eine Maus, Trackball, Touchscreen,

Stimmerkennungsvorrichtung oder irgendeine andere Vorrichtung umfassen kann, die es einem Systemnutzer erlaubt, Information in die Steuereinheit 130 einzugeben und Information von derselben zu empfangen.

5 Mehrere Kulturkammern 112 sind in der hier veranschaulichten Ausgestaltung an Zufuhrkanäle 114 zum Zuführen eines oder mehrerer Fluide in die zumindest eine Kulturkammer 112 und an Abfuhrkanäle 116 zur Ableitung eines oder mehrerer  
10 Fluide aus der zumindest einen Kulturkammer 112 angebunden. Wie insbesondere in der Seitenansicht der Figur 2B veranschaulicht, sind die Abfuhrkanäle 116 unterhalb der Zufuhrkanäle 114 angeordnet bzw. tauchen in die Kulturkammern 112 ein. Die Zufuhrkanäle 114 mehrerer Kulturkammern 112 sind mit einer gemeinsamen Speiseleitung 115 und die Abfuhrkanäle 116 mehrerer Kulturkammern 112 mit einer gemeinsamen Entnahmeleitung 117 verbunden. Die Speiseleitung 115 ist wiederum über eine (Peristaltik-)Pumpe 140, die mittels der Steuereinrichtung 130 ansteuerbar  
15 ist, an ein Reservoirsystem 150 angebunden, bzw. in letzterem an ein Fluidreservoir 152. Die Entnahmeleitung 117 ist über die Pumpe 140, die mittels der Steuereinrichtung 130 ansteuerbar ist, an einen Abfallbehälter 154 in dem Reservoirsystem 150 angebunden.

20 In Figur 3 ist ein Verfahren in Form eines vereinfachten Prozessflussdiagramms veranschaulicht und mit 200 bezeichnet, das teilweise gemäß einer Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung ausgestaltet ist. Wenngleich die nachfolgenden Erläuterungen teilweise auf Elemente der Figuren 1 und 2A bis 2C und damit das System 100 Bezug nehmen, sei ausdrücklich betont, dass diese sich auch auf  
25 andersartig ausgebildete Systeme und Elemente beziehen können.

In einem Schritt 201, der notwendigerweise selbst Teil der Erfindung sein muss, trifft ein Benutzer Vorarbeiten und füllt beispielsweise ein Fluidreservoir, beispielsweise das Fluidreservoir 152 des Systems 100 mit einer gewünschten Lösung,  
30 beispielsweise mit Wachstumsmedium, Färbelösung, Waschpuffer oder Wirkstofflösung. Es versteht sich, dass auch, wenn mehrere Reservoirs vorhanden sind, diese entsprechend gefüllt werden können. Ferner wird ein Abfallbehälter, beispielsweise der Abfallbehälter 154, angeschlossen, und eine Pumpe 140 wird angebunden. Nach Einschalten der Steuereinheit 130, Start einer entsprechenden  
35 Software und Auswahl eines gewünschten Protokolls in der Software wird das System

100 beispielsweise drei mal mit einem geeigneten Waschpuffer wie phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen.

- 5 Ein paralleler oder nachfolgender Schritt 202, der ebenfalls noch nicht notwendigerweise selbst Teil der Erfindung sein muss, werden die in Form dreidimensionaler Verbände zu kultivierenden Zellen aufgeteilt, in die Kulturkammern 122 pipettiert, beispielsweise zentrifugiert und in eine Probenhalterung am Mikroskop 120 eingelegt.
- 10 In Schritt 203 erfolgt die Durchführung eines Verfahrens gemäß einer Ausgestaltung der Erfindung. Sofern nicht bereits erfolgt, werden die Proben nach Ablauf des in Schritt 201 gewählten und abgearbeiteten Protokolls und einer entsprechenden Aufnahme am Mikroskop beispielsweise drei mal mit PBS gewaschen. Über ein
- 15 Fixierungsprotokoll können die konserviert und für weitere Workflows (z.B. Clearing) verwendet werden. In einem Schritt 204, der wiederum nicht Teil des erfindungsgemäßen Verfahrens sein muss, wird das System 100 abgebaut, wobei beispielsweise Schläuche abgezogen, Behälter abgebaut und autoklaviert sowie die Software beendet und die Pumpe 140 gestoppt werden.

## Patentansprüche

5

1. Verarbeitungssystem (100) für in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierte Zellen (10), mit einer Kultureinheit (110), die eine Anzahl von Kulturkammern (112) aufweist, die zur Aufnahme der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen (10) und eines Kulturmediums (20) eingerichtet sind,  
10 mit einem Mikroskop (120) und mit einer Steuereinheit (130), wobei die Steuereinheit (130) dazu eingerichtet ist, das Verarbeitungssystem (100) zur Generierung, Verarbeitung, Stimulation und/oder Dokumentation der Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen (10) unter dem Mikroskop (120) zumindest teilweise nach Maßgabe einer vor der Generierung, Verarbeitung,  
15 Stimulation und/oder Dokumentation getroffenen Ansteuervorgabe und ohne manuellen Eingriff anzusteuern.
2. Verarbeitungssystem (100) nach Anspruch 1, bei der die Kultureinheit (110) als austauschbare Kulturplatte ausgebildet ist, wobei die Kulturkammern (112)  
20 nebeneinander in der Kultureinheit (110) angeordnet sind.
3. Verarbeitungssystem (100) nach Anspruch 1 oder 2, wobei zumindest eine der Kulturkammern (112) eine zellabweisende Beschichtung aufweist.
- 25 4. Verarbeitungssystem (100) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem die zumindest eine Kulturkammer (112) an einen Zufuhrkanal (114) zum Zuführen eines oder mehrerer Fluide in die zumindest eine Kulturkammer (112) und/oder an einen Abfuhrkanal (116) zur Ableitung eines oder mehrerer Fluide aus der zumindest einen Kulturkammer (112) angebunden ist.
- 30 5. Verarbeitungssystem (100) nach Anspruch 4, bei dem die Zufuhrkanäle (114) mehrerer Kulturkammern (112) mit einer gemeinsamen Speiseleitung (115) und/oder die Abfuhrkanäle (116) mehrerer Kulturkammern (112) mit einer gemeinsamen Entnahmeleitung (117) verbunden sind.

6. Verarbeitungssystem (100) nach Anspruch 4 oder 5, wobei der oder die Zufuhrkanäle (114) und/oder der oder die Abfuhrkanäle (117) für eine Durchströmung eingerichtet ist oder sind, die auf Grundlage einer physiologischen Durchflussgeschwindigkeit bestimmt wird.
7. Verarbeitungssystem (100) nach einem der Ansprüche 4 bis 6, bei dem zumindest einer der Zufuhrkanäle (114) und/oder der Abfuhrkanäle (117) als ein Mikrofluidikkanal ausgebildet ist.
8. Verarbeitungssystem (100) nach einem der Ansprüche 4 bis 7, bei dem ein Boden (111) zumindest eines überwiegenden Teils der Kulturkammern (112) frei von Zufuhrkanälen (114) und/oder Abfuhrkanälen (117) ist.
9. Verarbeitungssystem (100) nach einem der Ansprüche 4 bis 8, bei dem der oder die Zufuhrkanäle (114) der wenigstens einen Kulturkammer (112), die einen Zufuhrkanal (112) aufweist, seitlich an die wenigstens eine Kulturkammer (112) herangeführt ist oder sind, wobei der oder die Abfuhrkanäle (116) der wenigstens einen Kulturkammer (112), die einen Abfuhrkanal (116) aufweist, insbesondere gegenüber des oder der Zufuhrkanäle (114) an wenigstens eine andere der Kulturkammern (112) herangeführt ist oder sind.
10. Verarbeitungssystem (100) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem ein Boden der zumindest einen Kulturkammer (112) eine Dicke in einem Bereich von 5 bis 300  $\mu\text{m}$ , insbesondere in einem Bereich von 25 bis 170  $\mu\text{m}$ , aufweist.
11. Verarbeitungssystem (100) nach Anspruch 10, bei dem der Boden der zumindest einen Kulturkammer (112) transparent ausgebildet ist.
12. Verarbeitungssystem (100) nach Anspruch 10 oder 11, bei dem der Boden der zumindest einen Kulturkammer (112) Glas oder ein Cycloolefin-Copolymer aufweist.
13. Verfahren (200) zur Verarbeitung in Form dreidimensionaler Verbände kultivierter Zellen (10), bei dem die in Form dreidimensionaler Verbände kultivierten Zellen (10) in einer Kultureinheit (110) generiert, verarbeitet, stimuliert und/oder

- 5 dokumentiert werden, die eine Anzahl von Kulturkammern (112) aufweist, in der die in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen (10) und ein Kulturmedium (20) aufgenommen sind, und bei dem die Generierung, Verarbeitung und/oder Stimulation der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen (10) unter einem Mikroskop (120) zumindest teilweise nach Maßgabe einer vor der Generierung, Verarbeitung, Stimulation und/oder Dokumentation definierten Ansteuervorgabe und ohne manuellen Eingriff durchgeführt wird.
- 10 14. Verfahren (200) nach Anspruch 13, das eine Einbringung oder Generierung der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen (10) in zumindest eine der Kulturkammern (122) umfasst, wobei die Generierung, Verarbeitung, Stimulation und/oder Dokumentation der in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen (10) ferner das Zuführen zumindest eines ersten Mediums durch einen Zufuhrkanal (124) in die zumindest eine Kulturkammer (122) und das Abführen des
- 15 zumindest einen ersten Mediums oder zumindest eines zweiten Mediums durch einen Abfuhrkanal (122) aus der zumindest einen Kulturkammer (122) umfasst.
- 20 15. Verfahren (200) nach Anspruch 14, wobei als das zumindest erste Medium ein Wachstumsmedium aufweist, das insbesondere einen oder mehrere Wirkstoffe, einen oder mehrere Farbstoffe, eine oder mehrere Aufhellungslösungen und/oder ein oder mehrere andere Stimulantien aufweist.
- 25 16. Verfahren (200) nach Anspruch 14 oder 15 wobei das zweite Medium verbrauchtes erstes Medium ist.
17. Verfahren (200) nach einem der Ansprüche 14 bis 16, wobei sich die in Form dreidimensionaler Verbünde kultivierten Zellen (10) während der Verarbeitung dauerhaft in derselben Kulturkammer (122) befinden.
- 30 18. Verfahren (200) nach einem der Ansprüche 14 bis 17, wobei das Zuführen des zumindest einen ersten Mediums und/oder das Abführen des zumindest einen ersten Mediums oder des zumindest eines zweiten Mediums nach Maßgabe einer Steuervorgabe einer Steuereinheit (130) durchgeführt wird.

19. Computerprogramm, das ein Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 18 ausführt, wenn es auf einem Computer, insbesondere in einer Steuereinheit (130) eines Verarbeitungssystems (100) ausgeführt wird.

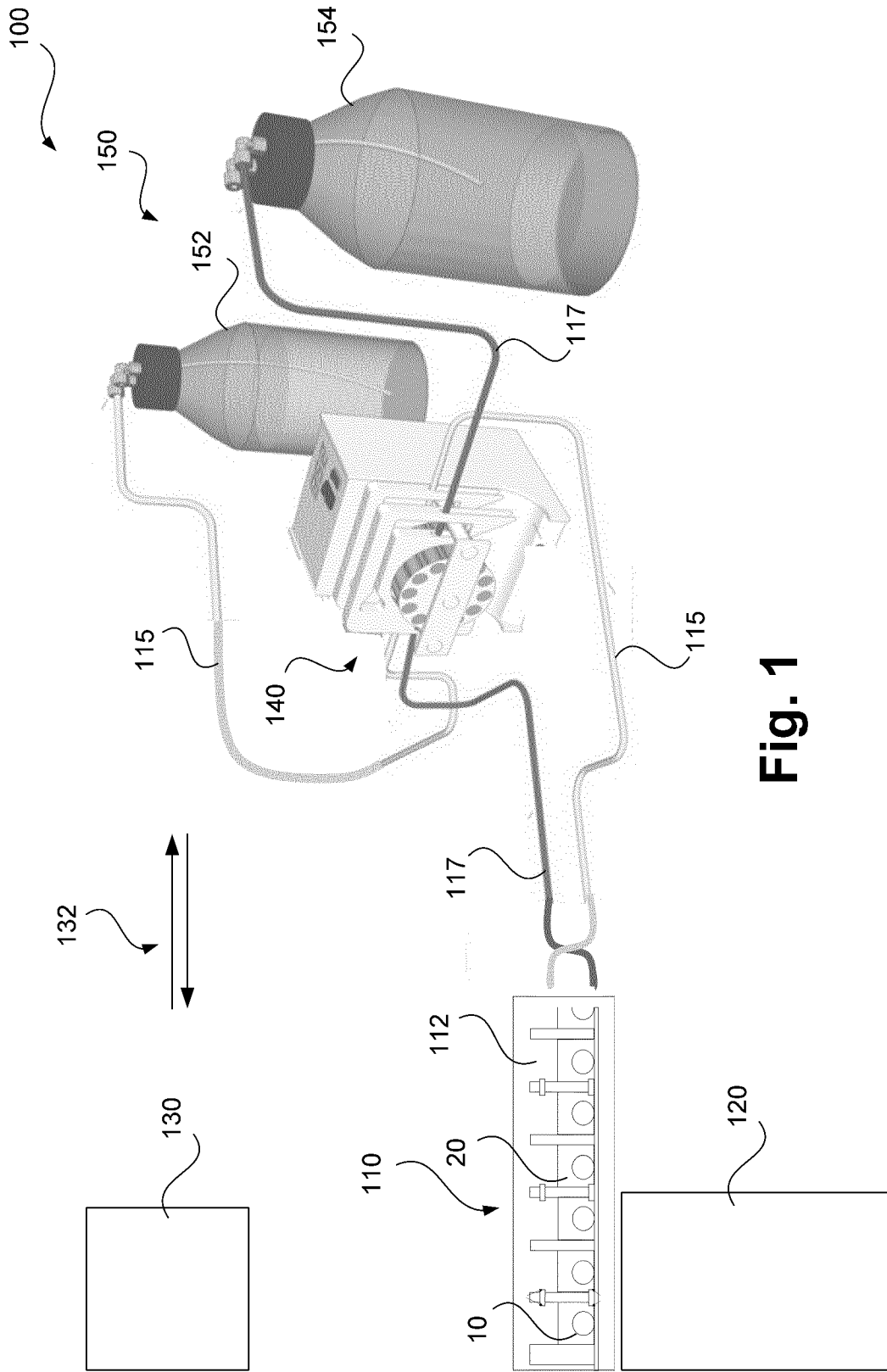


Fig. 1

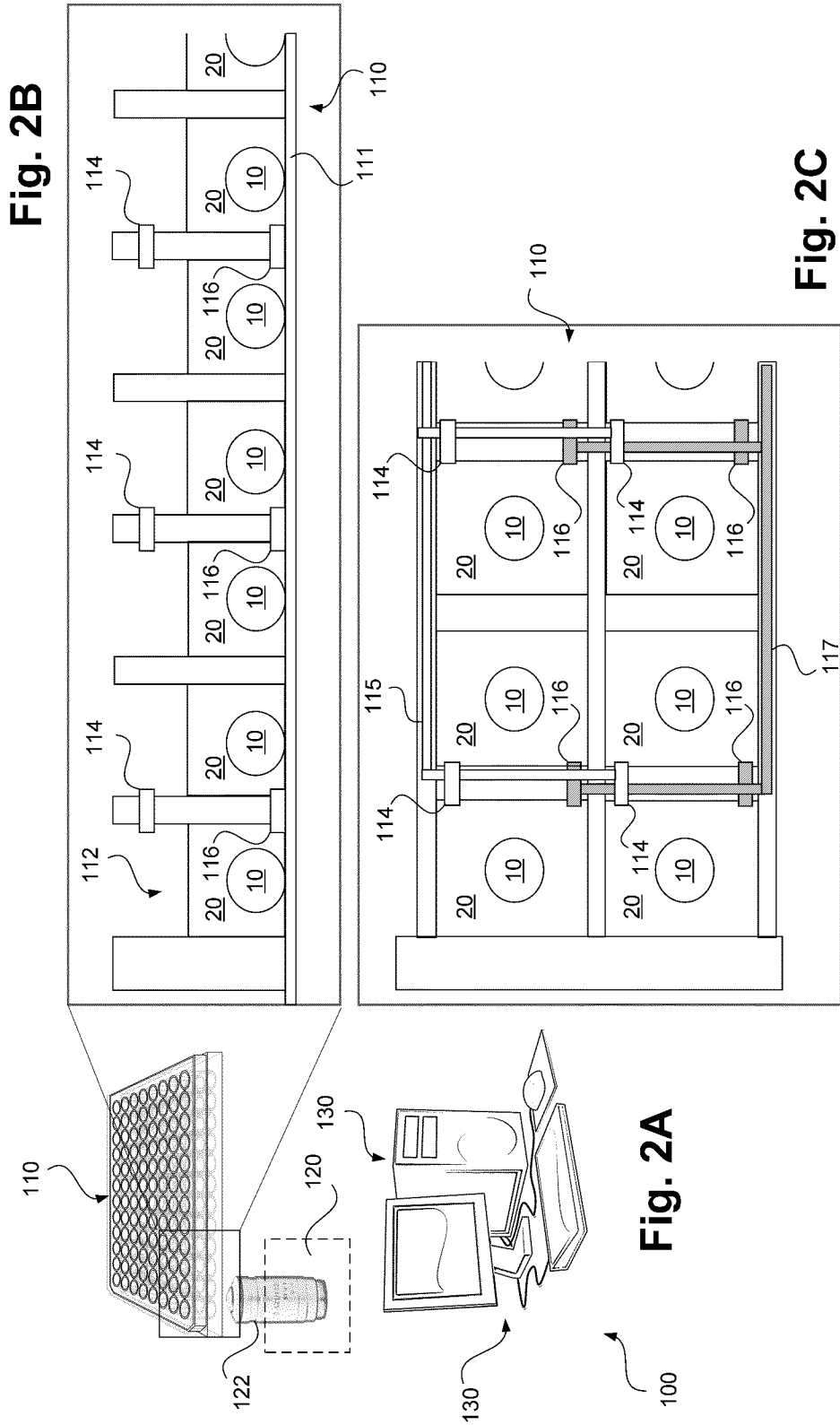
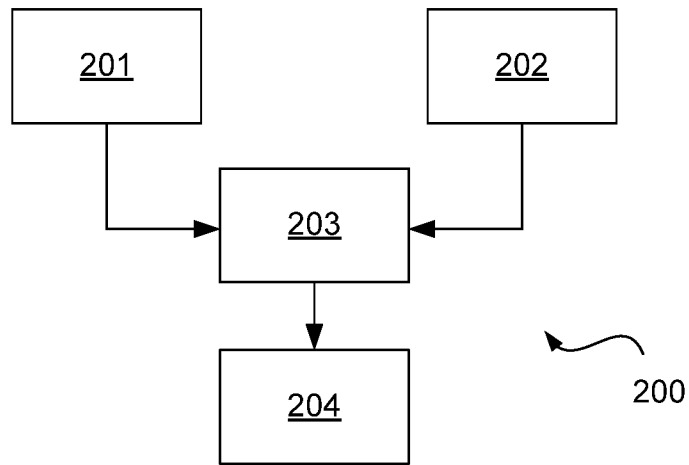


Fig. 2B

Fig. 2C

Fig. 2A

**3/3**



**Fig. 3**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/EP2020/055984**

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <i>B01L 3/00</i> (2006.01)i; <i>C12M 1/32</i> (2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>  Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) B01L; C12M  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 practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6548263 B1 (KAPUR RAVI [US] ET AL) 15 April 2003 (2003-04-15) column 13, line 50 - line 67; figure 1 column 19, line 24 - column 22, line 42; figures 4, 12 column 50, line 9 - line 36	1-19
X	US 2015247112 A1 (ORR DAVID E [US] ET AL) 03 September 2015 (2015-09-03) paragraph [0053] - paragraph [0071]; figures 1, 8, 23, 34	1,2,4-19
X	US 2003186217 A1 (BADER AUGUSTINUS [DE]) 02 October 2003 (2003-10-02) paragraph [0021] - paragraph [0049]; figures 1, 2, 6	1,2,4-9,11-18
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search <b>17 April 2020</b>		Date of mailing of the international search report <b>28 April 2020</b>
Name and mailing address of the ISA/EP <b>European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands</b> Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer <b>Ueberfeld, Jörn</b>  Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/EP2020/055984**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	6548263	B1	15 April 2003	NONE			
US	2015247112	A1	03 September 2015	EP	3114207	A1	11 January 2017
				US	2015247112	A1	03 September 2015
				WO	2015134550	A1	11 September 2015
US	2003186217	A1	02 October 2003	AT	389008	T	15 March 2008
				AU	8979101	A	02 April 2002
				DE	10046175	A1	28 March 2002
				DK	1319062	T3	14 July 2008
				EP	1319062	A2	18 June 2003
				ES	2302746	T3	01 August 2008
				PT	1319062	E	19 June 2008
				US	2003186217	A1	02 October 2003
				WO	0224861	A2	28 March 2002

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
 INV. B01L3/00 C12M1/32  
 ADD.

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )  
 B01L C12M

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, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 6 548 263 B1 (KAPUR RAVI [US] ET AL) 15. April 2003 (2003-04-15) Spalte 13, Zeile 50 - Zeile 67; Abbildung 1 Spalte 19, Zeile 24 - Spalte 22, Zeile 42; Abbildungen 4, 12 Spalte 50, Zeile 9 - Zeile 36 -----	1-19
X	US 2015/247112 A1 (ORR DAVID E [US] ET AL) 3. September 2015 (2015-09-03) Absatz [0053] - Absatz [0071]; Abbildungen 1, 8, 23, 34 -----	1,2,4-19
X	US 2003/186217 A1 (BADER AUGUSTINUS [DE]) 2. Oktober 2003 (2003-10-02) Absatz [0021] - Absatz [0049]; Abbildungen 1, 2, 6 -----	1,2,4-9, 11-18



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" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. 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 Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

17. April 2020

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

28/04/2020

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Ueberfeld, Jörn

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2020/055984

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6548263	B1	15-04-2003 KEINE	
US 2015247112	A1	03-09-2015 EP 3114207 A1	11-01-2017
		US 2015247112 A1	03-09-2015
		WO 2015134550 A1	11-09-2015
US 2003186217	A1	02-10-2003 AT 389008 T	15-03-2008
		AU 8979101 A	02-04-2002
		DE 10046175 A1	28-03-2002
		DK 1319062 T3	14-07-2008
		EP 1319062 A2	18-06-2003
		ES 2302746 T3	01-08-2008
		PT 1319062 E	19-06-2008
		US 2003186217 A1	02-10-2003
		WO 0224861 A2	28-03-2002