

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

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
27. September 2007 (27.09.2007)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/107375 A2

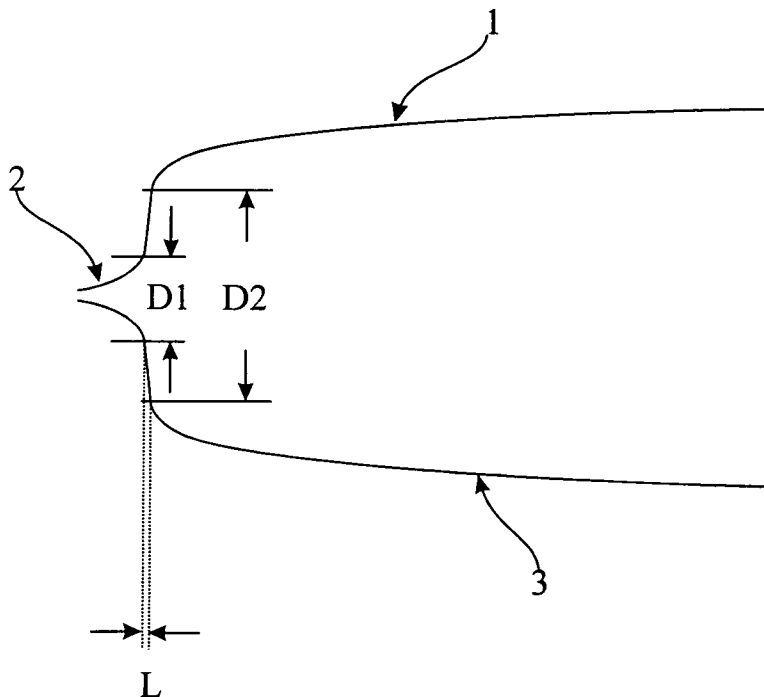
- (51) Internationale Patentklassifikation:
Nicht klassifiziert
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/002587
- (22) Internationales Anmeldedatum:
23. März 2007 (23.03.2007)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
102006014513.5 23. März 2006 (23.03.2006) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): FLYION GMBH [DE/DE]; Waldhäuserstrasse 64, 72076 Tübingen (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LEPPLE-WIENHUES, Albrecht [DE/DE]; Eckenerstrasse 18, 72070 Tübingen (DE).
- (74) Anwalt: PATENTANWÄLTE RUFF, WILHELM, BEIER, DAUSTER & PARTNER; Kronenstrasse 30, 70174 Stuttgart (DE).

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

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: GLASS PIPETTE OR GLASS CAPILLARY FOR PATCH CLAMP EXPERIMENTS

(54) Bezeichnung: GLASPIPETTE ODER GLASKAPILLARE FÜR PATCH-CLAMP-EXPERIMENTE



(57) Abstract: The invention especially relates to a glass pipette or a glass capillary (1) for patch clamp experiments, comprising a conical tip (2) and an essentially tubular section (3) adjacent to the tip (2). Said pipette or capillary is characterised in that the diameter thereof extends from a diameter D_1 at the base surface of the tip, of less than 50 μm , to a diameter D_2 of at least 100 μm in the tubular section, over a length L of less than 150 μm . The invention also relates to the use of such a pipette or capillary for carrying out patch clamp experiments, and to patch clamp measurements using such pipettes or capillaries.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft in erster Linie eine Glaspipette oder Glaskapillare (1) für Patch-Clamp-Experimente mit einer konusförmigen Spitze (2) und einem im wesentlichen röhrenförmigen Abschnitt (3), der sich an die Spitze (2) anschließt. Diese Pipette/Kapillare zeichnet sich dadurch

aus, daß sich ihr Durchmesser entlang einer Länge L von weniger als 150 μm von einem Durchmesser D_1 an der Basisfläche der Spitze, der weniger als 50 μm beträgt, auf einen Durchmesser D_2 von mindestens 100 μm im röhrenförmigen Abschnitt erweitert. Außerdem umfaßt die Erfindung die Verwendung einer solchen Pipette oder Kapillare zur Durchführung von Patch-Clamp-Experimenten sowie Patch-Clamp-Messungen mit solchen Pipetten oder Kapillaren.

WO 2007/107375 A2



Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Beschreibung

Glaspipette oder Glaskapillare für Patch-Clamp-Experimente

Die Erfindung betrifft neue Glaspipetten oder Glaskapillaren für Patch-
5 Clamp-Experimente sowie eine Verwendung von Glaspipetten oder -ka-
pillaren für Patch-Clamp-Messungen. Schließlich betrifft die Erfindung
auch Patch-Clamp-Messungen mit Glaspipetten oder -kapillaren selbst.

Bekanntlich ist das Innere lebender Zellen von einer Lipidmembran um-
10 geben, die die Abläufe im Inneren der Zelle gegenüber der äußeren
Umgebung abschottet. Diese Lipidmembranen sind für geladene Teil-
chen weitgehend undurchlässig. Dafür übernehmen spezielle Transport-
proteine, die in die Membranen eingelagert sind, den Transport der gela-
denen Teilchen (Ionen) durch die Membran hindurch. Diese Transport-
15 proteine bilden somit die Basis für eine Vielzahl von physiologischen
Funktionen.

Die zellbiologische Forschung wurde revolutioniert durch die sogenannte
Patch-Clamp-Methode, die von Sakmann und Neher 1981 entwickelt
20 wurde. Die Patch-Clamp-Technik erlaubt die direkte Messung von Strö-
men, die durch die Ionentransporter in der Membran erzeugt werden, mit
hoher zeitlicher Auflösung. Die daraus resultierenden Vorteile sind be-
kannt. So kann man beispielsweise die Wirkung von Signalmolekülen
oder pharmakologisch aktiven Substanzen auf ein Targetprotein direkt
25 feststellen. Außerdem erlaubt es die Patch-Clamp-Technik, die elektri-
sche und chemische Umgebung einer Membran exakt zu kontrollieren
und ermöglicht auch die Anwendung von Signalmolekülen, pharmakolo-
gisch aktiven Substanzen usw. auf beide Seiten einer Membran.

In Anbetracht der Tatsache, daß die Patch-Clamp-Technik dem Fach-
30 mann bekannt ist und vielfach angewendet wird, soll hier auf weitere
grundsätzliche Ausführungen verzichtet werden.

Die übliche Vorgehensweise bei der Patch-Clamp-Technik ist es, eine Glaskapillare oder Glas(mikro-)pipette einer Zelle und damit ihrer Zellmembran mechanisch anzunähern und dort durch Ansaugen zu fixieren. Dies führt zu einem elektrisch dichten Verbund zwischen Zellmembran und Spitze der Pipette. Diese elektrisch dichte Verbindung ist eine Voraussetzung für eine hochauflösende rauscharme Messung kleiner und kleinster Ströme. Die elektrisch dichte Verbindung wird häufig auch als „seal“ bezeichnet. Um vernünftige Patch-Clamp-Messungen durchzuführen, ist ein sogenanntes „Gigaseal“ erforderlich, d. h. eine elektrisch dichte Verbindung, bei der der elektrische Widerstand den Gigaohm-Bereich erreicht. Üblicherweise benötigt man Widerstände von 10 Gigaohm und mehr, um zu gewährleisten, daß auch kleine Ionen wie Protonen nicht unkontrolliert zwischen Zellmembran und Glasoberfläche hindurchtreten.

15

Die beschriebene Patch-Clamp-Technik mit der Kontaktierung der Glaspipette auf die Zellmembran „von außen“ wurde in der Vergangenheit mit Vorteil dadurch abgewandelt, daß die Zelle oder entsprechende biologische Struktur in das Innere einer Glaskapillare oder Glas(mikro-)pipette eingebracht wurde. Bezüglich der genauen Vorgehensweise wird hierzu auf die WO 02/10747 A2 verwiesen. Die damit erreichten Vorteile lassen sich ebenfalls dieser Offenlegungsschrift entnehmen.

Die Glaspipetten oder Glaskapillaren, die für Patch-Clamp-Experimente des Standes der Technik verwendet werden, besitzen in der Regel eine konusförmige Spitze und einen sich an diese Spitze anschließenden Abschnitt, der im wesentlichen röhrenförmig ist. Solche Pipetten oder Kapillaren werden in der Regel durch übliche Glasbläsertechnik hergestellt, nämlich durch das Ziehen (Pullen) von Glasröhrchen nach oder bei Aufschmelzung des Bereichs, an dem die konusförmige Verengung und Spitze erzeugt werden soll. Derartige Pipetten oder Kapillaren mit konusförmiger Spitze werden dann sowohl für diejenigen Techniken ver-

30

wendet, bei denen die Glaskapillare von außen an die Zellmembran herangeführt wird, als auch bei denjenigen Techniken, bei denen die Zelle im Inneren der Kapillare unter Ausbildung eines Gigaseals fixiert wird.

5

Bei den letztgenannten Techniken (Fixierung der Zelle im Inneren der Kapillare) kann es dann zu Schwierigkeiten kommen, wenn im Inneren der Kapillare ein, insbesondere rascher, Austausch der dort enthaltenen Lösungen erforderlich wird. Wie erwähnt, soll bei Patch-Clamp-Experimenten häufig die Wechselwirkung der Membranproteine und/oder des Inneren der Zelle mit von außen an die Membran herangebrachten Wirkstoffen oder Wirkstoffkandidaten untersucht werden. Dieses Heranbringen der entsprechenden Substanzen an die Membran soll grundsätzlich möglichst rasch erfolgen. Bei chemisch gesteuerten Vorgängen an der
10 Membran ist dies häufig sogar zwingend erforderlich.
15

Aufgrund ihrer Form und Geometrie sind die bisher bekannten Pipetten und Kapillaren für einen solchen raschen Lösungswechsel bzw. für ein rasches Heranbringen von Wirkstoffen oder Wirkstoffkandidaten an die
20 Zellmembran nicht optimal. Bei den Patch-Clamp-Techniken, bei denen die Zelle im Inneren der Kapillare fixiert wird, wollte man ja gerade, zumindest an der Stelle der Fixierung, eine möglichst enge Form der Kapillare bzw. des Konus bereitstellen.

25 Es ist zwar aus der Veröffentlichung von Miriam B. Goodman und Shawn R. Lockery (Journal of Neuroscience Methods 100 (2000), Seiten 13 bis 15) bekannt, die Spitzen von Pipetten durch sogenanntes „pressure polishing“ zu bearbeiten. Dort wird die Spitze einer üblichen Kapillare oder Pipette mit Hilfe hoher Gasdrucke erweitert. Dazu wird ein V-förmiges
30 Filament, das als punktförmige Heizquelle wirkt, mit seiner Spitze auf die Spitze der Glaspipette gerichtet. Durch das erzeugte im wesentlichen kugelförmige Wärmestrahlungsfeld wird lediglich die unmittelbare

Spitze der Pipette aufgeschmolzen und aufgeweitet. Der so erhaltene erweiterte Abschnitt am Konus der Pipette erreicht dadurch maximal einen Durchmesser von ca. 30 bis 35 μm und ist deshalb für eine Anwendung bei Techniken, die die Zelle im Inneren der Kapillare/Pipette fixieren, nicht geeignet. Dementsprechend beschäftigt sich die genannte Veröffentlichung auch ausschließlich mit den üblichen Patch-Clamp-Techniken, bei denen die Glaskapillare von außen an die Membran einer Zelle herangeführt wird.

- 5
- 10 Die Erfindung stellt sich die Aufgabe, Patch-Clamp-Techniken, bei denen eine Zelle oder eine entsprechende biologische Struktur im Inneren einer Pipette oder Kapillare unter Ausbildung eines Gigaseals fixiert wird, weiter zu verbessern. Insbesondere soll durch die Erfindung erreicht werden, daß solche Patch-Clamp-Techniken noch besser für Un-
- 15 tersuchungen eingesetzt werden können, bei denen ein rascher Stofftransport oder Stoffaustausch im Inneren der Pipette oder Kapillare an der untersuchten Membran erforderlich ist.

Diese Aufgabe wird in erster Linie gelöst durch die Glaspipette oder

20 Glaskapillare mit den Merkmalen des Anspruchs 1. Bevorzugte Ausführungsformen der erfindungsgemäßen Pipette/Kapillare sind in den abhängigen Ansprüchen 2 bis 8 definiert. Außerdem wird die beschriebene Aufgabe durch die Verwendung gemäß Anspruch 9 und das Verfahren gemäß Anspruch 11 gelöst. Bevorzugte Ausführungen hierzu sind in den

25 abhängigen Ansprüchen 10 und 12 definiert.

Der Wortlaut sämtlicher Ansprüche wird hiermit durch Bezugnahme zum Inhalt dieser Beschreibung gemacht.

Die erfindungsgemäße Glaspipette oder Glaskapillare besitzt eine

30 konusförmige Spitze, an die sich ein im wesentlichen röhrenförmiger Abschnitt anschließt. Dabei ist die Pipette/Kapillare so ausgebildet, daß sich ihr Durchmesser entlang einer Länge L, die weniger als 150 μm be-

trägt, von einem Durchmesser D_1 von weniger als 50 μm an der Basisfläche der Spitze auf einen Durchmesser D_2 von mindestens 100 μm im röhrenförmigen Abschnitt erweitert.

5 Zur Erläuterung wird noch folgendes angemerkt.

Bei einem Konus handelt es sich bekanntlich um ein Gebilde, das die Form eines Kegels oder Kegelstumpfes aufweist. Dementsprechend besitzt bei der Erfindung die Pipette/Kapillare eine Spitze mit der Form
10 eines solchen Konus. Diese Spitze ist, bedingt durch ihren Herstellungsprozeß (in der Regel Ziehen/Pullen aus einer Kapillare), geometrisch nicht exakt konusförmig, läßt sich aber im wesentlichen durch eine solche Konusform beschreiben. Da die Spitze zwingend offen, d. h. nicht geschlossen, ist, wird es sich im Falle der Erfindung in der Regel um
15 einen Konus in Form eines Kegelstumpfes handeln.

Ein Kegelstumpf ist ein Rotationskörper, der dadurch entsteht, daß man von einem geraden Kreiskegel parallel zur Basisfläche einen kleineren Kegel abschneidet. Auf diese Weise entstehen zwei parallele Kreisflächen,
20 von denen man die größere als Basisfläche und die kleinere als Deckfläche bezeichnet. Überträgt man dies wiederum auf den Fall der vorliegenden Erfindung, so schließt sich hier bei der Pipette/Kapillare der Konus der Spitze mit seiner (größeren) Basisfläche an den röhrenförmigen Abschnitt an.

25

Das entscheidende Merkmal an der erfindungsgemäßen Pipette/Kapillare ist es, daß sich ihr Durchmesser auf einer kurzen Strecke (Länge L von weniger als 150 μm) von einem Durchmesser D_1 an der Basisfläche (weniger als 50 μm) auf einen Durchmesser D_2 im röhrenförmigen
30 Abschnitt (mindestens 100 μm) erweitert. Auf diese Weise wird erreicht, daß das Volumen der Pipette/Kapillare oberhalb der Stelle, an der die Zelle im Inneren der Kapillare fixiert wird, nämlich an der Basisfläche der

Spitze, möglichst groß ist. Dies erleichtert den Herantransport von Wirkstoffen bzw. Wirkstoffkandidaten an die Zellmembran bzw. den Lösungswechsel oberhalb der Zellmembran. So läßt sich dadurch erreichen, daß Kanülen und Kapillaren, die in der Regel einen Durchmesser von mindestens 100 µm besitzen, möglichst weit in die erfindungsgemäße Pipette/Kapillare eingeführt werden können. Damit lassen sich die erwähnten Substanzen sehr nahe an die Zellmembran der an der Basisfläche fixierten Zelle heranbringen. Außerdem kann auf diese Weise verhindert werden, daß Lösungsreste bei einem Wechsel der Lösung im Bereich dieser Zellmembran verbleiben.

Bei bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung beträgt die Länge L weniger als 50 µm, vorzugsweise weniger als 30 µm. Dementsprechend erweitert sich in diesen Fällen der Durchmesser der Pipette/Kapillare entlang dieser Länge von einem Durchmesser D_1 auf einen Durchmesser D_2 .

Weiter bevorzugt ist es, wenn die Länge L weniger als 10 µm, vorzugsweise ungefähr nur 5 µm, beträgt.

Bei den Patch-Clamp-Techniken, bei denen die Zelle oder entsprechende biologische Struktur im Inneren einer Pipette oder Kapillare fixiert wird, sollen in der Regel auch möglichst kleine biologische Strukturen unter Ausbildung eines Gigaseals fixiert werden. Dementsprechend ist es erfindungsgemäß bevorzugt, wenn der Durchmesser D_1 an der Basisfläche der Spitze weniger als 20 µm, insbesondere weniger als 10 µm, beträgt. Bei solchen geringen Durchmessern können dann auch die erwähnten kleinen biologischen Strukturen fixiert werden. Hierzu kann ebenfalls auf den Offenbarungsgehalt der WO 02/10747 A2 verwiesen werden.

30

In Weiterbildung ist es bei der Erfindung bevorzugt, wenn der Durchmesser D_2 im röhrenförmigen Abschnitt mindestens 150 µm, vorzugs-

weise mindestens 200 μm , beträgt. Auf diese Weise können zum Heranbringen von Substanzen an die Zellmembran Kanülen mit entsprechenden Durchmessern in das Innere der erfindungsgemäßen Pipette oder Kapillare eingeführt werden. Dies erleichtert das Handling und damit die entsprechenden Patch-Clamp-Messungen.

In diesem Zusammenhang versteht es sich, daß der röhrenförmige Abschnitt der erfindungsgemäßen Pipette oder Kapillare über seine Länge in der Regel keinen konstanten Durchmesser D_2 besitzen wird. Dies beruht auf der Herstellungsweise der Pipette/Kapillare. Die angegebenen Werte sollen lediglich zum Ausdruck bringen, daß der Durchmesser im röhrenförmigen Abschnitt in der Regel an allen Stellen mindestens den angegebenen Wert besitzt.

Bei der Erfindung ist es bevorzugt, wenn sich der Konus der Spitze von seiner Deckfläche (Öffnung der Spitze) über eine möglichst kurze Strecke auf seine Basisfläche erweitert. Man kann dies auch so beschreiben, daß im Bereich der Spitze der Pipette/Kapillare ein möglichst stumpfer Konus angestrebt wird. Mathematisch läßt sich dies durch den sogenannten Konuswinkel darstellen. Dies ist derjenige Winkel, der verbleibt, wenn man aus einem kreisförmigen Stück Papier einen Sektor ausgeschnitten hat, so daß das Papier zu einem Kegel aufgestellt werden kann. Je größer der verbleibende Konuswinkel ist, um so „stumpfer“ wird der aufgestellte Kegel.

Dementsprechend soll erfindungsgemäß der Konus der Spitze einen großen Konuswinkel besitzen, vorzugsweise einen Konuswinkel von mindestens 240 °.

Grundsätzlich kann die erfindungsgemäße Pipette oder Kapillare aus allen Glasmaterialien gefertigt sein, die bei der Durchführung von Patch-Clamp-Experimenten Verwendung finden. Vorzugsweise handelt es sich bei dem Glas um ein Aluminiumsilikatglas oder, noch weiter bevorzugt, um ein Borosilikatglas.

Die Wandstärke der erfindungsgemäßen Pipette/Kapillare ist grundsätzlich nicht kritisch, solange sich noch Patch-Clamp-Experimente durchführen lassen, bei denen die Zelle im Inneren der Kapillare unter Ausbildung eines Gigaseals fixiert wird.

Die Gesamtlänge der erfindungsgemäßen Pipette/Kapillare ist ebenfalls nicht kritisch. Sie beträgt vorzugsweise zwischen 10 mm und 50 mm, insbesondere ca. 25 mm.

10

Die erfindungsgemäßen Pipetten/Kapillaren werden insbesondere dadurch hergestellt, daß aus röhrenförmigen Kapillaren durch Aufschmelzen konusförmige Spitzen ausgezogen (gepullt) werden. Um die Erweiterung ihres Durchmessers von einem Durchmesser D_1 auf einen Durchmesser D_2 entlang einer Länge L auszubilden, wird beispielsweise das Innere der Kapillare mit einem Gasdruck beaufschlagt, nachdem der Bereich der Spitze durch Aufschmelzen erweicht wurde.

Weiter umfaßt die Erfindung die Verwendung einer Glaspipette oder Glaskapillare mit einer konusförmigen Spitze und einem sich an die Spitze anschließenden im wesentlichen röhrenförmigen Abschnitt zur Durchführung von Patch-Clamp-Experimenten, bei denen eine Zelle oder eine ähnliche Struktur in das innere Lumen der Glaspipette eingeführt wird und dort im Bereich der Spitze unter Ausbildung eines Gigaseals zwischen Zellmembran und Innenoberfläche der Kapillare positioniert wird. Dabei erweitert sich der Durchmesser der Pipette von einem Durchmesser von weniger als 50 μm an der Basisfläche der Spitze sprungförmig, d. h. über eine geringe Länge auf einen größeren Durchmesser, insbesondere auf einen Durchmesser von mindestens 100 μm im röhrenförmigen Abschnitt.

Bei der soeben beschriebenen erfindungsgemäßen Verwendung wird vorzugsweise eine weiter oben beschriebene erfindungsgemäße Glaspipette oder Glaskapillare eingesetzt.

- 5 Schließlich umfaßt die Erfindung ein Verfahren für Messungen an Zellen oder ähnlichen Strukturen nach der Patch-Clamp-Technik, bei dem mindestens eine Zelle in das innere Lumen einer Glaspipette oder Glaskapillare eingeführt wird und im Bereich der Spitze der Glaspipette unter Ausbildung eines Gigaseals zwischen Zellmembran und Innenober-
- 10 fläche der Glaspipette positioniert wird. Die Glaspipette/Glaskapillare besitzt dabei eine konusförmige Spitze und einen sich an die Spitze anschließenden im wesentlichen röhrenförmigen Abschnitt. Die Pipette/Kapillare ist derart ausgestaltet, daß sich der Durchmesser der Pipette von einem Durchmesser von weniger als 50 µm an der Basisfläche
- 15 der Spitze sprungförmig, d. h. über eine geringe Länge, im Durchmesser erweitert, insbesondere auf einen Durchmesser von mindestens 100 µm im röhrenförmigen Abschnitt.

Das beschriebene Verfahren ist vorzugsweise so ausgestaltet, daß es sich bei der Glaspipette/Glaskapillare um eine weiter oben beschriebene

20 erfindungsgemäße Pipette/Kapillare handelt.

Weitere Merkmale der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung einer bevorzugten Ausführungsform in Verbindung mit den Unteransprüchen. Hierbei können die einzelnen Merkmale jeweils

25 für sich oder zu mehreren in Kombination miteinander verwirklicht sein. Die beschriebene Ausführungsform dient lediglich der Erläuterung und zum besseren Verständnis der Erfindung und ist in keiner Weise einschränkend zu verstehen.

30 In der Zeichnung zeigt:

Fig. 1 die Form einer erfindungsgemäßen Pipette oder Kapillare in schematischer Darstellung.

5 Beispiel

Zunächst wird aus einer dünnen Glaskapillare aus Borosilikatglas durch Aufschmelzen und Ziehen eine Glaskapillare mit konusförmiger Spitze hergestellt. Diese Glaskapillare (Glaspipette) wird in eine Vorrichtung
10 überführt, mit deren Hilfe diese Kapillare im Bereich des Konus aufgeschmolzen und im Inneren mit einem Gasdruck beaufschlagt werden kann. Auf diese Weise wird die in Fig. 1 schematisch dargestellte Glaskapillare bereitgestellt.

15 Gemäß Fig. 1 besitzt die Glaskapillare 1 eine im wesentlichen konusförmige Spitze 2 und einen sich an diese Spitze 2 anschließenden im wesentlichen röhrenförmigen Abschnitt 3. An seiner Basisfläche besitzt der Konus der Spitze einen Durchmesser D_1 , der im vorliegenden Fall ca. 40 μm beträgt. Entlang einer Länge L von ca. 12 μm erweitert
20 sich der Durchmesser der Kapillare auf einen Durchmesser D_2 von ca. 140 μm . Wie aus der Fig. 1 ebenfalls zu entnehmen ist, vergrößert sich der Durchmesser der Kapillare im röhrenförmigen Abschnitt mit zunehmendem Abstand von der Basisfläche des Konus. Entscheidend für die vorliegende Erfindung ist jedoch die sprungförmige Erweiterung des
25 Durchmessers der Kapillare vom Durchmesser D_1 auf den Durchmesser D_2 entlang einer Länge L von weniger als 150 μm , im dargestellten Fall entlang einer Länge L von ca. 12 μm .

Mit der in Fig. 1 dargestellten Kapillare kann in vorteilhafter Weise ein
30 Patch-Clamp-Experiment durchgeführt werden, wie es in der WO 02/10747 A2 erläutert ist. Die zu untersuchende Zelle wird dabei im Bereich der Basisfläche der Spitze (Durchmesser D_1) unter Ausbildung

eines Gigaseals fixiert. Wie aus der Fig. 1 zu erkennen ist, lassen sich bei der gewählten erfindungsgemäßen Form der Kapillare in einfacher Weise Kanülen oder Kapillaren mit einem Durchmesser von beispielsweise 100 µm bis in den Bereich der fixierten Zelle einführen. Dementsprechend ist ein schneller Lösungswechsel und ein schnelles Heranführen von Wirksubstanzen bzw. potentiellen Wirksubstanzen an die Zellmembran möglich.

10

Patentansprüche

1. Glaspipette oder Glaskapillare (1) für Patch-Clamp-Experimente, mit einer konusförmigen Spitze (2) und einem sich an die Spitze (2) anschließenden im wesentlichen röhrenförmigen Abschnitt (3), dadurch gekennzeichnet, daß sich der Durchmesser der Pipette entlang einer Länge L von weniger als 150 μm von einem Durchmesser D_1 von weniger als 50 μm an der Basisfläche der Spitze auf einen Durchmesser D_2 von mindestens 100 μm im röhrenförmigen Abschnitt erweitert.
2. Glaspipette nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Länge L weniger als 50 μm , vorzugsweise weniger als 30 μm beträgt.
3. Glaspipette nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Länge L weniger als 10 μm , vorzugsweise ungefähr 5 μm , beträgt.
4. Glaspipette nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchmesser D_1 weniger als 20 μm , vorzugsweise weniger als 10 μm , beträgt.
5. Glaspipette nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchmesser D_2 mindestens 150 μm , vorzugsweise mindestens 200 μm , beträgt.
6. Glaspipette nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Konus der Spitze einen großen Konuswinkel besitzt, vorzugsweise einen Konuswinkel von mindestens 240 °.

7. Glaspipette nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Pipette aus einem Aluminiumsilikatglas oder vorzugsweise aus einem Borosilikatglas gefertigt ist.
8. Glaspipette nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Gesamtlänge der Pipette zwischen 10 mm und 50 mm, vorzugsweise ca. 25 mm, beträgt.
9. Verwendung einer Glaspipette oder Glaskapillare mit einer konusförmige Spitze und einem sich an die Spitze anschließenden im wesentlichen röhrenförmigen Abschnitt, bei der sich der Durchmesser der Pipette von einem Durchmesser von weniger als 50 μm an der Basisfläche der Spitze sprungförmig, d. h. über eine geringe Länge, erweitert, insbesondere auf einen Durchmesser von mindestens 100 μm im röhrenförmigen Abschnitt, zur Durchführung von Patch-Clamp-Experimenten, bei denen eine Zelle oder eine ähnliche Struktur in das innere Lumen der Glaspipette eingeführt wird und dort im Bereich der Spitze unter Ausbildung eines Giga-Seals zwischen Zellmembran und Innenoberfläche der Kapillare positioniert wird.
10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei der Glaspipette um eine Glaspipette nach einem der Ansprüche 1 bis 8 handelt.
11. Verfahren für Messungen an Zellen oder ähnlichen Strukturen nach der Patch-Clamp-Technik, bei dem mindestens eine Zelle in das innere Lumen einer Glaspipette oder Glaskapillare, die eine konusförmige Spitze und einen sich an die Spitze anschließenden im wesentlichen röhrenförmigen Abschnitt besitzt, eingeführt wird und im Bereich der Spitze der Glaspipette unter Ausbildung eines Giga-Seals zwischen Zell-

membran und Innenoberfläche der Glaspipette oder Glaskapillare positioniert wird, dadurch gekennzeichnet, daß die Glaspipette derart ausgestaltet ist, daß sich der Durchmesser der Pipette von einem Durchmesser von weniger als 50 µm an der Basisfläche der Spitze sprungförmig, d. h. über eine geringe Länge, erweitert, insbesondere auf einen Durchmesser von mindestens 100 µm im röhrenförmigen Abschnitt erweitert.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei der Glaspipette um eine Glaspipette nach einem der Ansprüche 1 bis 8 handelt.

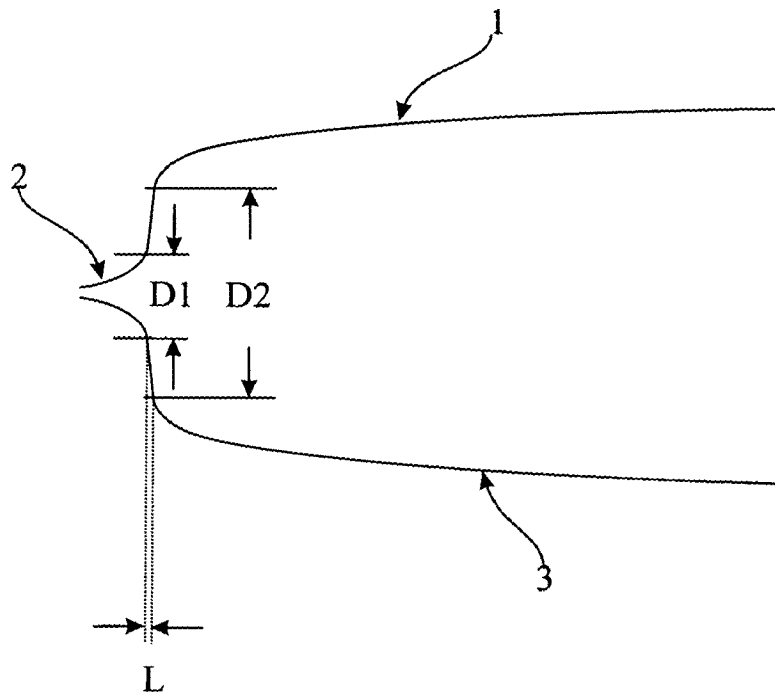


Fig.1