

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
13. April 2006 (13.04.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/037760 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

F25D 3/10 (2006.01) F17C 3/08 (2006.01)
A01N 1/00 (2006.01) G01N 1/42 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/054947

(22) Internationales Anmeldedatum:
30. September 2005 (30.09.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 047 965.8 1. Oktober 2004 (01.10.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FRAUNHOFER GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V.** [DE/DE]; Hansastrasse 27c, 80686 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **FUHR, Günter**

[DE/DE]; Kavalierstrasse 15, 13187 Berlin (DE). **ZIMMERMANN, Heiko** [DE/DE]; Paul-Linke-Strasse 20, 66113 Saarbrücken (DE). **OH, Young-Joo** [DE/DE]; Grossherzog-Friedrich-Strasse 125A, 66121 Saarbrücken (DE). **SCHÖN, Uwe** [DE/DE]; Schachenweg 5, 66540 Neunkirchen (DE).

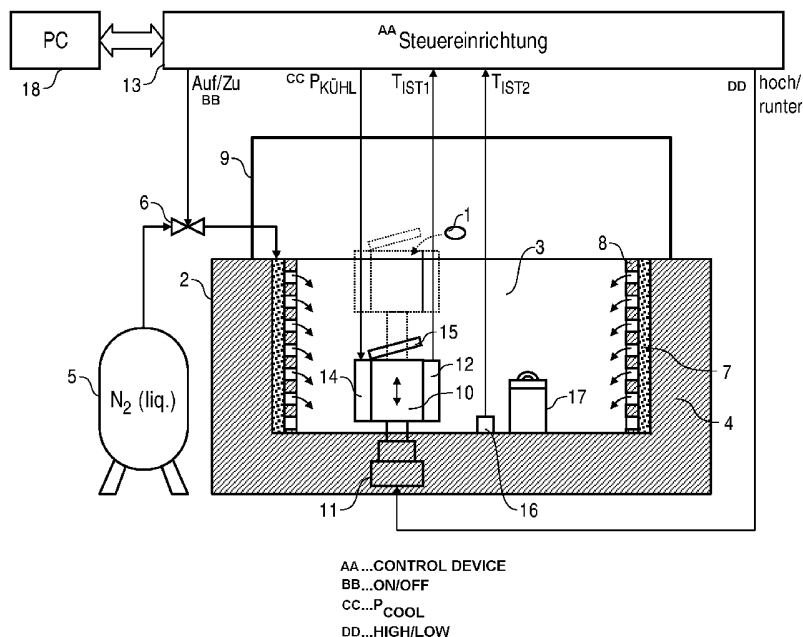
(74) **Anwalt: BEIER, Ralph**; v. Bezold & Sozien, Akademiestrasse 7, 80799 München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) **Title:** CRYO-DEVICE AND ASSOCIATED OPERATIONAL METHOD

(54) **Bezeichnung:** KRYOEINRICHTUNG UND ZUGEHÖRIGES BETRIEBSVERFAHREN



(57) **Abstract:** The invention relates to a cryo-device which is used to freeze and defrost a sample (1), in particular during the cryo-conservation of a biological sample (1), comprising a coolable cooling chamber (3) and a sample container (10) which is arranged in the cooling chamber (3) and which is used to provisionally receive the sample (1) during freezing or defrosting thereof (1). According to the invention, the sample container (10) can be tempered separately from the cooling chamber (3). The invention also relates to an associated operational method.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2006/037760 A1



(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, 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).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

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.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft eine Kryoeinrichtung zum Einfrieren und Auftauen einer Probe (1), insbesondere bei der Kryokonservierung einer biologischen Probe (1), mit einem kühlbaren Kühlraum (3) und einem in dem Kühlraum (3) angeordneten Probenbehälter (10) zur vorübergehenden Aufnahme der Probe (1) beim Einfrieren oder Auftauen der Probe (1). Es wird vorgeschlagen, dass der Probenbehälter (10) getrennt von dem Kühlraum (3) temperierbar ist. Weiterhin umfasst die Erfindung ein zugehöriges Betriebsverfahren.

BESCHREIBUNG5 **Kryoeinrichtung und zugehöriges Betriebsverfahren**

Die Erfindung betrifft eine Kryoeinrichtung zum Einfrieren und Auftauen einer Probe, insbesondere bei der Kryokonservierung einer biologischen Probe, sowie ein zugehöriges Betriebsverfahren gemäß dem Oberbegriff der nebengeordneten Ansprüche.

Bei der bekannten Kryokonservierung werden biologische Proben vitalitätserhaltend eingefroren und später bei Bedarf wieder vitalitätserhaltend aufgetaut. Anwendungsbeispiele für eine solche Kryokonservierung sind die Einlagerung von Embryonen für die Stammzellforschung oder die Aufbewahrung von Spermien für eine spätere künstliche Befruchtung. Wichtig für die Vitalitätserhaltung bei der Kryokonservierung ist es, dass sowohl beim Einfrieren als auch beim Auftauen der biologischen Proben ein vorgegebener zeitlicher Temperaturverlauf eingehalten wird.

Zur Kryokonservierung biologischer Proben werden deshalb sogenannte Einfrierautomaten eingesetzt, die als Kühlmittel meist flüssigen Stickstoff mit einem Siedepunkt von -196°C einsetzen und einen Kühlraum aufweisen, in dem die Temperatur durch eine Steuerung der Zufuhr des Kühlmittels eingestellt werden kann, um den gewünschten zeitlichen Temperaturverlauf beim Einfrieren bzw. Auftauen biologischer Proben zu erreichen.

Beim Einfrieren der biologischen Proben werden diese in den Kühlraum des Einfrierautomaten eingeführt und anschließend entsprechend dem vorgegebenen zeitlichen Temperaturverlauf von einer Starttemperatur eines Einfrierprozesses bis auf eine Zieltemperatur des Einfrierprozesses abgekühlt. Nach dem Erreichen der Zieltemperatur des Einfrierprozesses werden die eingefrorenen biologischen Proben dann aus dem Kühlraum des Einfrierautomaten entnommen und beispielsweise in einem Kryotank gelagert.

10

Beim Auftauen gefrorener biologischer Proben werden diese beispielsweise aus einem Kryotank entnommen und in den Kühlraum des Einfrierautomaten eingeführt. Anschließend wird die Temperatur der eingefrorenen biologischen Probe entsprechend einem vorgegebenen zeitlichen Temperaturverlauf von einer bestimmten Starttemperatur eines Auftauprozesses bis auf eine Zieltemperatur des Auftauprozesses angehoben. Nach dem Erreichen der Zieltemperatur des Auftauprozesses wird die aufgetaute Probe aus dem Kühlraum des Einfrierautomaten entnommen und weiter verwendet.

20

Ein Nachteil der vorstehend beschriebenen bekannten Einfrierautomaten besteht darin, dass die Probe beim Einführen in den Kühlraum und bei der Entnahme aus dem Kühlraum unerwünschten Temperatureinflüssen ausgesetzt ist, was die biologische Probe thermisch schädigen und das Ziel der Vitalitätserhaltung beeinträchtigen kann.

25

Nachteilig an den vorstehend beschriebenen bekannten Einfrierautomaten ist weiterhin die unbefriedigende Genauigkeit bei der Einstellung des vorgegebenen zeitlichen Temperaturverlaufs beim Einfrieren bzw. Auftauen, was durch das relativ große Volumen des Kühlraums und die damit verbundenen regelungstechnischen Probleme verursacht wird.

30

Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, eine verbesserte Kryoeinrichtung zum Einfrieren und/oder Auftauen einer Probe und ein entsprechendes Betriebsverfahren zu schaffen.
5

Diese Aufgabe wird durch eine Kryoeinrichtung und ein entsprechendes Betriebsverfahren gemäß dem Oberbegriff der nebengeordneten Ansprüche gelöst.

10

Die Erfindung umfasst die allgemeine technische Lehre, in dem relativ großen Kühlraum einer Kryoeinrichtung (z.B. eines Einfrierautomaten) einen Probenbehälter anzuordnen, in dem die Probe eingefroren und/oder aufgetaut wird, wobei der Probenbehälter getrennt von dem Kühlraum temperierbar ist. Dies
15 bedeutet, dass in dem Probenbehälter und in dem Kühlraum unterschiedliche Temperaturen eingestellt werden können.

Zum einen bietet die getrennte Einstellbarkeit der Temperatur in dem Probenbehälter den Vorteil, dass der für die Vitalitätserhaltung der biologischen Probe wichtige zeitliche Temperaturverlauf beim Einfrieren bzw. Auftauen nur für das kleinere Volumen innerhalb des Probenbehälters eingestellt werden muss, was regelungstechnisch wesentlich genauer möglich ist als die exakte Temperierung des gesamten Kühlraums
20 des Einfrierautomaten.
25

Zum anderen bietet die getrennte Einstellbarkeit der Temperatur in dem Probenbehälter unabhängig von dem sonstigen Kühlraum den Vorteil, dass beim Einführen und bei der Entnahme
30 der Probe die vorstehend beschriebenen störenden und vitalitätsschädigenden Temperatureinwirkungen vermeidbar sind, die durch Abweichungen von der vorgegebenen Start- bzw. Zieltemperatur resultieren.

Die erfindungsgemäße Kryoeinrichtung weist vorzugsweise eine Hebeeinrichtung auf, durch die der Probenbehälter in dem Kühlraum gesteuert oder geregelt abgesenkt und/oder angehoben
5 werden kann.

Zum einen ermöglicht diese vertikale Bewegung des Probenbehälters in dem Kühlraum eine Berücksichtigung der vertikalen Temperaturschichtung in dem Kühlraum. So nimmt die Temperatur
10 in dem Kühlraum von oben nach unten ab, so dass der Probenbehälter am Ende eines Einfrierprozesses vorzugsweise abgesenkt ist, damit die eingefrorene Probe ohne störende Temperatureinwirkungen des umgebenden Mediums innerhalb des Kühlraums entnommen werden kann. Am Ende eines Auftauprozesses ist der
15 Probenbehälter dagegen vorzugsweise in einer angehobenen Position, damit die aufgetaute Probe ohne störende Temperatureinwirkungen des am Boden des Kühlraums befindlichen, extrem kalten Mediums zu vermeiden.

Zum anderen ermöglicht die vertikale Bewegung des Probenbehälters durch die Hebeeinrichtung in einer Variante der Erfindung eine Temperierung des Probenbehälters, indem der Probenbehälter entsprechend der gewünschten Temperatur innerhalb der vertikalen Temperaturschichtung in dem Kühlraum angehoben
25 oder abgesenkt wird. Bei dieser Variante der Erfindung kann der Probenbehälter also auch ohne eine separate Kühleinrichtung getrennt von dem Kühlraum temperiert werden, indem der Probenbehälter entsprechend angehoben bzw. abgesenkt wird.

Hierbei ist es vorteilhaft, wenn der Probenbehälter einen Temperatursensor aufweist, der die Temperatur in dem Probenbehälter oder auf Höhe des Probenbehälters oder darunter bzw. darüber misst, damit die vertikale Bewegung des Probenbehälters in dem Kühlraum temperaturabhängig geregelt werden kann.

Besonders vorteilhaft ist es hierbei, wenn an dem Probenbehälter mehrere Temperatursensoren in unterschiedlichem vertikalen Abstand zu dem Probenbehälter angebracht sind, was die Ermittlung eines lokalen vertikalen Temperaturgradienten ermöglicht. Die Regelung der Aufwärts- bzw. Abwärtsbewegung des Probenbehälters kann dann sehr feinfühlig auf lokale Temperaturschwankungen in dem Kühlraum reagieren.

Es besteht jedoch alternativ auch die Möglichkeit, dass der Probenbehälter ortsfest in dem Kühlraum angeordnet ist, wobei sich der Probenbehälter vorzugsweise am Boden des Kühlraums befindet. Die Temperaturänderung an der Öffnung des Probenbehälters wird hierbei nicht durch eine Anhebung bzw. Absenkung des Probenbehälters erreicht, sondern kann beispielsweise durch eine Heizung realisiert werden, die den Kühlraum beheizt, wobei die Heizeinrichtung vorzugsweise nur einen oberen Teilbereich des Kühlraums beheizt. Die Heizeinrichtung wird dann vorzugsweise angeschaltet, wenn am Beginn eines Einfrierprozesses eine Probe in den Probenbehälter eingeführt werden soll oder wenn die Probe am Ende eines Auftauprozesses aus dem Probenbehälter entnommen wird. Die Beheizung des oberen Bereichs des Kühlraums verhindert dann vorteilhafterweise eine störende thermische Beeinträchtigung der Probe beim Einführen bzw. bei der Entnahme der Probe. Die Heizeinrichtung wird dagegen vorzugsweise abgeschaltet, wenn die Probe am Ende eines Einfrierprozesses aus dem Probenbehälter entnommen wird oder wenn die Probe zu Beginn eines Auftauprozesses in den Probenbehälter eingeführt wird. Die Abschaltung der Heizung verhindert dann ebenfalls, dass die gefrorene Probe beim Einführen bzw. bei der Entnahme thermisch beschädigt wird.

Vorzugsweise besteht in dem Kühlraum eine vertikale Temperaturschichtung mit einer unteren Kaltschicht und einer oberen

Warmschicht. Dies ist vorteilhaft, weil der Probenbehälter dabei für die Entnahme bzw. Einführung der Probe in die Temperaturschicht angehoben bzw. abgesenkt werden kann, die der aktuellen Probentemperatur am nächsten kommt und damit eine thermische Beeinträchtigung der Probe vermeidet.

Bei einer derartigen vertikalen Temperaturschichtung innerhalb des Kühlraums weist die Warmschicht vorzugsweise eine Temperatur auf, die im Wesentlichen einer vorgegebenen Starttemperatur eines Einfrierprozesses oder einer vorgegebenen Zieltemperatur eines Auftauprozesses entspricht, während die Kaltschicht eine Temperatur aufweist, die im Wesentlichen einer vorgegebenen Zieltemperatur des Einfrierprozesses oder einer vorgegebenen Starttemperatur des Auftauprozesses entspricht. Dies ist vorteilhaft, weil die beiden Temperaturschichten in dem Kühlraum dann stets die richtige Temperatur aufweisen, um bei der Entnahme der Probe bzw. beim Einführen in den Probenbehälter eine thermische Beeinträchtigung der Probe zu vermeiden.

In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung ist der Probenbehälter thermisch isoliert und weist einen Deckel auf, der zur Entnahme der Probe und zum Einführen der Probe geöffnet werden kann. Die thermische Isolation des Probenbehälters ist wichtig, wenn die Temperierung des Probenbehälters aktiv durch eine Kühlung und/oder Heizung erfolgt, da die Temperatureinstellung in dem Probenbehälter dann von der Umgebungstemperatur innerhalb des Kühlraums nur minimal beeinflusst wird.

Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass der Probenbehälter gegenüber dem Kühlraum thermisch nicht isoliert ist. Dies ist insbesondere dann sinnvoll, wenn die Temperierung des Probenbehälters nicht aktiv durch eine Heiz- bzw. Kühlein-

richtung erfolgt, sondern durch eine vertikale Bewegung des Probenbehälters innerhalb der vertikalen Temperaturschichtung des Kühlraums, wie vorstehend bereits erläutert wurde.

5 In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung ist in dem Kühlraum mindestens ein im Wesentlichen senkrecht verlaufender Schacht mit einer Wandung aus einem wärmeleitfähigen Material angeordnet, wobei der Probenbehälter in dem Schacht vertikal beweglich ist. Die gute Wärmeleitfähigkeit der
10 Schachtwandung führt hierbei vorteilhaft zu einem annähernd konstanten vertikalen Temperaturgradienten in dem Schacht, so dass jeder Höhe in dem Schacht eine bestimmte Temperatur zugeordnet werden kann. Dies ermöglicht vorteilhaft den Verzicht auf Temperatursensoren an dem Probenbehälter.

15

Ferner ist zu erwähnen, dass in dem Kühlraum vorzugsweise ein entnehmbarer, thermisch isolierter Transportbehälter angeordnet ist, um die Probe nach dem Einfrieren aus dem Kühlraum zu entnehmen oder zum Auftauen in den Kühlraum einzuführen. Zu
20 Beginn eines Auftauprozesses wird die Probe dann aus dem Transportbehälter entnommen und in den Probenbehälter überführt, wo die Probe dann aufgetaut wird. In gleicher Weise wird die Probe am Ende eines Einfrierprozesses aus dem Probenbehälter entnommen und in den Transportbehälter überführt,
25 der dann aus dem Kühlraum entnommen und beispielsweise in einem Kryotank eingelagert werden kann.

Der Kühlraum selbst ist bei der erfindungsgemäßen Kryoeinrichtung vorzugsweise wannenförmig ausgebildet und an seiner
30 Oberseite durch eine abnehmbare Schutzhaube abgedeckt, die vorzugsweise mindestens teilweise durchsichtig ist, um eine Sichtkontrolle zu ermöglichen.

Es besteht jedoch alternativ auch die Möglichkeit eines Verzichts auf eine Schutzhaube, so dass der Kühlraum nach oben hin offen ist.

5 Ferner ist zu erwähnen, dass in dem Kühlraum mehrere Ablageflächen in unterschiedlichen Höhen angeordnet sein können, die unterschiedlichen Temperaturen entsprechend der vertikalen Temperaturschichtung in dem Kühlraum entsprechen.

10 Schließlich ist noch zu erwähnen, dass die Erfindung nicht nur die vorstehend beschriebene erfindungsgemäße Kryoeinrichtung umfasst, sondern auch ein entsprechendes Betriebsverfahren, das sich aus der vorstehenden Beschreibung ergibt.

15 Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusammen mit der Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

20 Figur 1 eine schematisierte Querschnittsansicht einer erfindungsgemäßen Kryoeinrichtung zum vitalitätserhaltenden Einfrieren und Auftauen einer biologischen Probe,

25 Figur 2 eine schematisierte Querschnittsdarstellung eines abgewandelten Ausführungsbeispiels einer Kryoeinrichtung gemäß Figur 1,

30 Figur 3 eine schematisierte Querschnittsansicht eines alternativen Ausführungsbeispiels einer erfindungsgemäßen Kryoeinrichtung mit einer zusätzlichen Heizeinrichtung,

Figur 4 eine schematisierte Querschnittsansicht eines vereinfachten Ausführungsbeispiels einer derartigen Kryoeinrichtung, die im Gegensatz zu den anderen Kryoeinrichtungen keine Schutzhaube aufweist,

5

Figur 5A eine vereinfachte Querschnittsansicht eines weiteren Ausführungsbeispiels einer erfindungsgemäßen Kryoeinrichtung,

10 Figur 5B eine Querschnittsansicht einer Hebeeinrichtung der Kryoeinrichtung aus Fig. 5A zur Anhebung bzw. Absenkung der Probe,

15 Figur 6 eine vereinfachte Querschnittsansicht eines weiteren Ausführungsbeispiels einer erfindungsgemäßen Kryoeinrichtung mit mehreren Hebeeinrichtungen zum gleichzeitigen Einfrieren bzw. Auftauen mehrerer Proben unabhängig voneinander,

20 Figur 7A einen Einfrierprozess bei dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 1 in Form eines Flussdiagramms,

Figur 7B einen Auftauprozess bei dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 1 in Form eines Flussdiagramms,

25

Figur 8A einen Einfrierprozess bei dem Ausführungsbeispiel gemäß den Figuren 2 und 5A, 5B in Form eines Flussdiagramms sowie

30 Figur 8B einen Auftauprozess bei den Ausführungsbeispielen gemäß Figur 2 bzw. 5A, 5B.

Die in Figur 1 gezeigte Kryoeinrichtung ermöglicht ein vitalitätserhaltendes Einfrieren und Auftauen einer biologischen

Probe 1, indem die Probe 1 beim Einfrieren und Auftauen jeweils entsprechend einem vorgegebenen zeitlichen Temperaturverlauf abgekühlt bzw. erwärmt wird.

5 Hierzu weist die Kryoeinrichtung eine Kryowanne 2 auf, die einen Kühlraum 3 einschließt, wobei die Kryowanne 2 eine Wandung 4 aus einem thermisch isolierenden Material aufweist.

10 Die Kühlung des Kühlraums 3 erfolgt durch flüssigen Stickstoff, der in einem hier nur schematisch dargestellten Kühlmittelbehälter 5 enthalten ist und über ein steuerbares Kühlmittelventil 6 in den Kühlraum 3 eingeleitet wird.

15 Die Einleitung des flüssigen Stickstoffs in den Kühlraum 3 erfolgt hierbei indirekt über ein poröses Puffermaterial 7, mit dem die Innenseite der Wandung 4 der Kryowanne 2 verkleidet ist, wobei an der Innenseite des Puffermaterials 7 ein Gitter 8 aus einem gut wärmeleitfähigen Material (z.B. Kupfer) angeordnet ist. Das Puffermaterial 7 verhindert, dass
20 sich der zugeführte flüssige Stickstoff am Boden des Kühlraums 3 in Form eines sogenannten Stickstoffsees sammelt. Stattdessen wird der zugeführte flüssige Stickstoff von dem Puffermaterial 7 gleichmäßig durch das Gitter 8 hindurch in den Kühlraum 3 abgegeben.

25 An ihrer Oberseite ist die Kryowanne 2 durch eine abnehmbare Schutzglocke 9 abgedeckt, wobei die Schutzglocke 9 durchsichtig ist, um eine Sichtkontrolle des Kühlraums 3 zu ermöglichen.

30 In dem Kühlraum 3 befindet sich ein Probenbehälter 10, der von einer hier nur schematisch dargestellten Hebeeinrichtung 11 in dem Kühlraum 3 in vertikaler Richtung angehoben

bzw. abgesenkt werden kann, wie noch detailliert beschrieben wird.

An dem Probenbehälter 10 befindet sich ein Temperatursen-
5 sor 12, der die Temperatur T_{IST1} in dem Probenbehälter 10
misst und an eine Steuereinrichtung 13 weiterleitet, wobei
die Steuereinrichtung 13 auch das Kühlmittelventil 6 ansteuert
und damit die Temperatur in dem Kühlraum 3 einstellt.

10 Weiterhin weist der Probenbehälter 10 eine Kühleinrichtung 14
auf, die nur schematisch dargestellt ist und den Innenraum
des Probenbehälters 10 mit einer durch die Steuereinrich-
tung 13 vorgegebenen Kühlleistung $P_{KÜHL}$ kühlt, wie ebenfalls
15 noch detailliert beschrieben wird. Die Kühleinrichtung 14
kann beispielsweise den in dem Kühlmittelbehälter 5 enthalte-
nen flüssigen Stickstoff zu Kühlzwecken nutzen, jedoch sind
auch andere Kühltechniken anwendbar.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass der Probenbehälter 10 ther-
20 misch isoliert ist und einen ebenfalls thermisch isolierten,
verschließbaren Deckel 15 aufweist, wobei der Deckel 15 ge-
öffnet wird, um die Probe 1 in den Probenbehälter 10 einfüh-
ren bzw. aus dem Probenbehälter 10 entnehmen zu können.

25 Ferner ist am Boden des Kühlraums 3 ein weiterer Temperatursen-
sor 16 angeordnet, der die Temperatur T_{IST2} am Boden des
Kühlraums 3 misst und an die Steuereinrichtung 13 weiterlei-
tet. Die Steuereinrichtung regelt dann die Temperatur T_{IST2}
auf einen vorgegebenen Sollwert ein, indem das Kühlmittelven-
30 til 6 entsprechend angesteuert wird.

Darüber hinaus befindet sich am Boden des Kühlraums 3 ein
entnehmbarer Transportbehälter 17, der thermisch isoliert ist
und einen abnehmbaren Deckel aufweist. Der Transportbehäl-

ter 17 ermöglicht eine Überführung der tiefgefrorenen Probe 1 aus dem Kühlraum 3 in einem hier nicht dargestellten Kryotank, ohne dass die Probe 1 während dieser Überführung erwärmt und dadurch thermisch beschädigt wird. Darüber hinaus ermöglicht der Transportbehälter 17 die Überführung der tiefgefrorenen Probe 1 aus einem hier nicht dargestellten Kryotank in den Kühlraum 3, damit die gefrorene Probe 1 anschließend in dem Probenbehälter 10 aufgetaut werden kann, was noch detailliert beschrieben wird.

10

Die Steuereinrichtung 13 ist schließlich mit einem herkömmlichen Personal-Computer 18 verbunden, wobei an dem Personal-Computer 18 beliebige zeitliche Temperaturverläufe für den Einfrier- bzw. Auftauprozess programmiert werden können.

15

Im Folgenden wird nun unter Bezugnahme auf das Flussdiagramm in Figur 7A ein Einfrierprozess der Kryoeinrichtung gemäß Figur 1 beschrieben.

20 Dabei regelt die Steuereinrichtung 13 die Temperatur T_{IST2} am Boden des Kühlraums 3 durch eine geeignete Ansteuerung des Kühlmittelventils 6 auf die vorgegebene Zieltemperatur des Einfrierprozesses herunter.

25 Weiterhin wird der leere Probenbehälter 10 von der Hebeeinrichtung 11 in dem Kühlraum 3 nach oben in die punktiert dargestellte Position gefahren, so dass die Mündungsöffnung des Probenbehälters 10 bei einer Öffnung des Deckels 5 oberhalb der Kryowanne 2 liegt.

30

Der Deckel 15 des Probenbehälters 10 wird dann geöffnet, woraufhin die Probe 1 in den Probenbehälter 10 eingeführt und der Deckel 15 des Probenbehälters geschlossen wird. Bei diesem Einführen der Probe 1 in den Probenbehälter 10 wird die

Probe 1 thermisch kaum beeinträchtigt, da die Temperaturen in diesem Gebiet nahe der Starttemperatur des Einfrierprozesses liegen.

5 Nach dem Verschließen des Probenbehälters 10 wird dessen Innenraum dann von der Kühleinrichtung 14 gekühlt, wobei die Steuereinrichtung 13 einen vorgegebenen zeitlichen Temperaturverlauf regelt, indem die Kühleinrichtung 14 entsprechend der von dem Temperatursensor 12 gemessenen Temperatur T_{IST} die
10 Kühleinrichtung 14 ansteuert.

Nach dem Abschluss des Einfrierprozesses wird der Probenbehälter 10 dann in den Kühlraum 3 von der Hebeeinrichtung 11 heruntergefahren, wobei im unteren Bereich des Kühlraums 3
15 eine Temperatur herrscht, die im Wesentlichen der Zieltemperatur des Einfrierprozesses entspricht. Beim anschließenden Öffnen des Deckels 15 und der Entnahme der Probe 1 aus dem Probenbehälter 10 wird die gefrorene Probe 1 dann thermisch
20 kaum beeinträchtigt, da das umgebende Medium in dem Kühlraum 3 nahezu die gleiche Temperatur hat.

Die Probe 1 wird dann nach der Entnahme aus dem Probenbehälter 10 in den Transportbehälter 17 überführt, woraufhin der Transportbehälter 17 mit der darin befindlichen tiefgefrorenen Probe 1 aus dem Kühlraum 3 entnommen und beispielsweise
25 in einem Kryotank eingelagert werden kann.

Im Folgenden wird nun unter Bezugnahme auf das Flussdiagramm in Figur 7B ein Auftauprozess der Kryoeinrichtung gemäß Figur 1 beschrieben.
30

Hierbei wird der Kühlraum 3 so weit gekühlt, dass die Temperatur T_{IST2} am Boden des Kühlraums 3 im Wesentlichen der Starttemperatur des Auftauprozesses entspricht.

Anschließend wird dann der Transportbehälter 17 mit der darin befindlichen tiefgefrorenen Probe 1 aus einem hier nicht dargestellten Kryotank entnommen und auf den Boden des Kühlraums 3 gestellt.

Daraufhin wird dann der Deckel 15 des Probenbehälter 10 geöffnet, wie auch der Deckel des Transportbehälters 17 geöffnet wird.

10

Die in dem Transportbehälter 17 befindliche Probe 1 wird dann aus dem Transportbehälter 17 entnommen und in den Probenbehälter 10 überführt, woraufhin dann der Deckel 15 des Probenbehälters 10 geschlossen wird. Bei der Überführung der Probe 1 aus dem Transportbehälter 17 in den Probenbehälter 10 wird die Probe 1 thermisch kaum beeinträchtigt, da die Temperaturen am Boden des Kühlraums 3 im Wesentlichen gleich der Temperatur der Probe 1 sind.

20 Nach dem Verschließen des Probenbehälters 10 wird der Probenbehälter 10 dann von der Hebeeinrichtung 11 in dem Kühlraum 3 vertikal nach oben in die punktiert dargestellte Position gefahren.

25 Anschließend wird der Innenraum des Probenbehälters 10 dann entsprechend einem vorgegebenen zeitlichen Temperaturverlauf erwärmt, indem die Kühlleistung $P_{\text{KÜHL}}$ der Kühleinrichtung 14 verringert wird, wobei die Steuereinrichtung 13 die Kühlleistung $P_{\text{KÜHL}}$ in Abhängigkeit von der gemessenen Temperatur T_{IST1}
30 regelt, um den gewünschten zeitlichen Temperaturverlauf in dem Probenbehälter 10 beim Auftauen der Probe 1 zu erreichen.

Nach dem Ende des Auftauprozesses wird der Deckel 15 des Probenbehälters 10 dann geöffnet, woraufhin die aufgetaute Probe 1 dann aus dem Probenbehälter 10 entnommen wird.

5 Auch bei dieser Entnahme der aufgetauten Probe 1 aus dem Probenbehälter 10 wird die Probe 1 von dem umgebenden Medium thermisch kaum beeinträchtigt, da die Temperaturen in diesem Gebiet relativ hoch sind.

10 Im Folgenden wird nun das in Figur 2 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel einer ähnlichen Kryoeinrichtung beschrieben, das weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiel einer Kryoeinrichtung übereinstimmt. Zur Vermeidung von Wiederholungen wird
15 deshalb weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin,
20 dass die Kryoeinrichtung keine separate, aktiv arbeitende Kühleinrichtung 14 aufweist.

Stattdessen erfolgt die Temperierung des Probenbehälters 10 hierbei durch eine vertikale Absenkung bzw. Anhebung des Probenbehälters 10 in dem Kühlraum 3. Aufgrund der vertikalen
25 Temperaturschichtung in dem Kühlraum 3 ändert sich dann auch die Temperatur in dem Probenbehälter 10, so dass beim Auftauen bzw. Einfrieren der Probe ebenfalls vorgegebene zeitliche Temperaturverläufe eingestellt werden können. Das Absenken
30 bzw. Anheben des Probenbehälters 10 erfolgt hierbei geregelt von der Steuereinrichtung 13 in Abhängigkeit von der von dem Temperatursensor 12 gemessenen Temperatur T_{IST1} in dem Probenbehälter 10.

Im Gegensatz zu dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 1 ist der Probenbehälter 10 hierbei thermisch nicht isoliert, damit der Innenraum des Probenbehälters 10 in Abhängigkeit von seiner jeweiligen Höhe innerhalb des Kühlraums 3 die zugehörige Temperatur annehmen kann.

Der Ablauf des Einfrierprozesses ergibt sich hierbei aus dem Flussdiagramm gemäß Figur 8A, während der Ablauf eines Auftauprozesses in dem Flussdiagramm gemäß Figur 8B dargestellt ist.

Nachfolgend wird nun das in Figur 3 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Kryoeinrichtung beschrieben, das teilweise mit den vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispielen übereinstimmt, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht zunächst darin, dass der Probenbehälter 10 in dem Kühlraum 3 ortsfest am Boden des Kühlraums 3 angeordnet ist, so dass auf die Hebeeinrichtung 11 verzichtet werden kann.

Eine weitere Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass an der Innenwand des Kühlraums 3 im oberen Bereich eine Heizeinrichtung 19 angebracht ist, die den oberen Teilbereich des Kühlraums 3 beheizt.

Die Heizeinrichtung 19 wird von der Steuereinrichtung 13 angeschaltet, bevor eine Probe zu Beginn eines Einfrierprozesses in den Probenbehälter 10 eingeführt wird. Dadurch wird der obere Teilbereich des Kühlraums 3 beheizt, wodurch eine

thermische Beschädigung der Probe beim Einführen in den Probenbehälter 10 verhindert wird.

5 Darüber hinaus wird die Heizeinrichtung 19 von der Steuereinrichtung 13 auch angeschaltet, bevor eine aufgetaute Probe am Ende eines Auftauprozesses aus dem Probenbehälter entnommen wird. Auch dadurch wird verhindert, dass die aufgetaute Probe bei der Entnahme aus dem Probenbehälter 10 thermisch beschädigt wird.

10

Die Heizeinrichtung 19 wird dagegen abgeschaltet, wenn die Probe am Ende eines Einfrierprozesses aus dem Probenbehälter 10 entnommen und in den Transportbehälter 17 überführt wird.

15

Darüber hinaus wird die Heizeinrichtung 19 auch abgeschaltet, wenn die Probe zu Beginn eines Auftauprozesses aus dem Transportbehälter 17 in den Probenbehälter 10 überführt wird.

20 Diese Abschaltung der Heizeinrichtung 19 verhindert wiederum eine thermische Beeinträchtigung der tiefgekühlten Probe bei der Überführung zwischen dem Probenbehälter 10 und dem Transportbehälter 17.

25 Das in Figur 4 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel stimmt nahezu vollständig mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 3 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, wobei lediglich die Schutzglocke 9 weggelassen wurde.

30 Im Folgenden wird nun das in den Figuren 5A und 5B dargestellte alternative Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Kryoeinrichtung beschrieben, das teilweise mit den vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispielen übereinstimmt, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen teilweise auf die vor-

stehende Beschreibung verwiesen wird, wobei entsprechende Bauteile mit denselben Bezugszeichen gekennzeichnet sind.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin,
5 dass am Boden des Kühlraums 3 mehrere stufenförmige Ablage-
flächen 20 angeordnet sind, auf denen jeweils Kryosubstrate
vorübergehend abgelegt werden können. Aufgrund der vertikalen
Temperaturschichtung in dem Kühlraum 3 liegen die einzelnen
Ablageflächen 20 jeweils auf unterschiedlichen Temperaturen,
10 so dass ein stufenförmiges Temperaturprofil zeitlich aufein-
anderfolgend durchfahren werden kann, indem eine Kryoprobe
nacheinander auf den verschiedenen Ablageflächen 20 abgelegt
wird.

15 Eine weitere Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht
darin, dass im oberen Bereich des Kühlraums 3 übereinander
mehrere regalartige Ablageflächen 21 angeordnet sind, die e-
benfalls aufgrund der vertikalen Temperaturschichtung inner-
halb des Kühlraums 3 unterschiedliche Temperaturen aufweisen
20 und die Ablage einer Probe ermöglichen.

Darüber hinaus weist die Kryoeinrichtung in diesem Ausfüh-
rungsbeispiel eine Schleuse 22 auf, über die Proben in den
Kühlraum 3 eingebracht und aus dem Kühlraum 3 entnommen wer-
25 den können.

Weiterhin ist die Schutzglocke 9 mit Eingriffen 23 versehen,
über die eine Bedienungsperson Manipulationen in dem Kühl-
raum 3 vornehmen kann.

30

Die Kühlung des Kühlraums 3 erfolgt hierbei durch einen
Stickstoffsee 24, der am Boden des Kühlraums 3 erzeugt wird.

Die Temperierung der Probe 1 in Form eines Kryosubstrats innerhalb des Probenbehälters 10 erfolgt hierbei jedoch in anderer Weise, wie nachfolgend beschrieben wird.

5 Hierzu ist in dem Kühlraum 3 ein vertikal verlaufender Schacht 25 angeordnet, der aus einem gut wärmeleitfähigen Material (z.B. Kupfer) besteht und innerhalb des Schachts 25 aufgrund der guten Wärmeleitfähigkeit einen annähernd konstanten vertikalen Temperaturgradienten erzeugt.

10

Der Probenbehälter 10 kann von einem Motor 26 über eine drehbare Spindel 27 in dem Schacht 25 in vertikaler Richtung angehoben oder abgesenkt werden, um den Probenbehälter 10 entsprechend der vertikalen Temperaturschichtung in dem Kühlraum 3 zu temperieren.

15

Aus Figur 5B ist weiterhin ersichtlich, dass oberhalb und unterhalb des Probenbehälters 10 in unterschiedlichen Höhen mehrere Temperatursensoren 28-31 angeordnet sind, die einen lokalen vertikalen Temperaturgradienten messen, wobei die Temperatursensoren 28-31 mit einer Regeleinrichtung verbunden sind, die den Motor 26 so ansteuert, dass sich der Probenbehälter 10 stets in der richtigen Höhe innerhalb des Kühlraums 3 befindet, damit während des Einfrierens bzw. Auftauens der Probe 1 der gewünschte zeitliche Temperaturverlauf erreicht wird.

20

25

Weiterhin zeigt die vergrößerte Querschnittsansicht in Figur 5B, dass der schlittenförmige Probenbehälter 10 ein Kryosubstrat 32 und einen Deckel 33 und Behältnisse für die Proben 1 enthält.

30

Im Folgenden wird nun das in Figur 6 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel beschrieben, das weitgehend mit dem vor-

stehend beschriebenen und in den Figuren 5A und 5B dargestellten Ausführungsbeispiel übereinstimmt, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung dieser Figuren verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass in dem Kühlraum 3 nebeneinander mehrere Schächte 25 angeordnet sind, in denen jeweils ein Probenbehälter 10 in vertikaler Richtung angehoben bzw. abgesenkt werden kann, um entsprechend der vertikalen Temperaturschichtung in dem Kühlraum 3 die gewünschte Temperatur einzustellen. Diese Anordnung ermöglicht vorteilhaft parallele Einfrier- bzw. Auftauprozesse an mehreren Proben.

15

Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

20

Bezugszeichenliste:

- 1 Probe
- 2 Kryowanne
- 3 Kühlraum
- 4 Wandung
- 5 Kühlmittelbehälter
- 6 Kühlmittelventil
- 7 Puffermaterial
- 8 Gitter
- 9 Schutzglocke
- 10 Probenbehälter
- 11 Hebeeinrichtung
- 12 Temperatursensor
- 13 Kühleinrichtung
- 14 Kühleinrichtung
- 15 Deckel
- 16 Temperatursensor
- 17 Transportbehälter
- 18 Personal Computer
- 19 Heizeinrichtung
- 20 Ablageflächen
- 21 Ablageflächen
- 22 Schleuse
- 23 Eingriffe
- 24 Stickstoffsee
- 25 Schacht
- 26 Motor
- 27 Spindel
- 28-31 Temperatursensor
- 32 Kryosubstrat
- 33 Deckel

ANSPRÜCHE

- 5 1. Kryoeinrichtung zum Einfrieren und/oder Auftauen einer Probe (1), insbesondere bei der Kryokonservierung einer biologischen Probe (1), mit
- einem kühlbaren Kühlraum (3) und
 - einem in dem Kühlraum (3) angeordneten Probenbehälter (10)
- 10 zur vorübergehenden Aufnahme der Probe (1) beim Einfrieren oder Auftauen der Probe (1),
- dadurch gekennzeichnet, dass**
- der Probenbehälter (10) getrennt von dem Kühlraum (3) temperierbar ist.
- 15
2. Kryoeinrichtung nach Anspruch 1, **gekennzeichnet durch** eine Hebeeinrichtung (11), durch die der Probenbehälter (10) in dem Kühlraum (3) gesteuert oder geregelt abgesenkt und/oder angehoben werden kann.
- 20
3. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenbehälter (10) einen Temperatursensor (12, 28-31) aufweist, der die Temperatur in dem Probenbehälter (10) misst.
- 25
4. Kryoeinrichtung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** an dem Probenbehälter (10) mehrere Temperatursensoren (28-31) in unterschiedlichem vertikalen Abstand zu dem Probenbehälter (10) angebracht sind, um einen lokalen vertikalen Temperaturgradienten in dem Kühlraum (3) zu ermitteln.
- 30
5. Kryoeinrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenbehälter (10) ortsfest am Boden des Kühlraums (3) angeordnet ist.

6. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine Heizeinrichtung (19) zur Beheizung des Kühlraums (3).

5

7. Kryoeinrichtung nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Heizeinrichtung (19) nur einen oberen Teilbereich des Kühlraums (3) beheizt.

10

8. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine vertikale Temperaturschichtung in dem Kühlraum (3) mit einer unteren Kaltschicht und einer oberen Warmschicht.

15

9. Kryoeinrichtung nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Warmschicht eine Temperatur aufweist, die im Wesentlichen einer vorgegebenen Starttemperatur eines Einfrierprozesses oder einer vorgegebenen Zieltemperatur eines Auftauprozesses entspricht, während die Kaltschicht eine Temperatur aufweist, die im Wesentlichen einer vorgegebenen Zieltemperatur des Einfrierprozesses oder einer vorgegebenen Starttemperatur des Auftauprozesses entspricht.

20

25

10. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kühlraum (3) durch eine erste Kühleinrichtung (5, 6) kühlbar ist, während der Probenbehälter (10) durch eine zweite Kühleinrichtung (14) kühlbar ist.

30

11. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine Steuereinrichtung (12, 13), wobei die Steuereinrichtung (12, 13) ausgangsseitig mit der ersten Kühleinrichtung (5, 6) und/oder mit der zweiten Kühleinrichtung (14) verbunden ist und deren Kühlleistung ein-

stellt, während die Steuereinrichtung (12, 13) eingangsseitig mit dem Temperatursensor (12, 28-31) des Probenbehälters (10) verbunden ist.

5 12. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenbehälter (10) thermisch isoliert ist und einen Deckel (15) aufweist, der zur Entnahme der Probe (1) und zum Einführen der Probe (1) geöffnet werden kann und zur thermischen Isolation des Pro-
10 benbehälters (10) beim Abkühlen geschlossen werden kann.

13. Kryoeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenbehälter (10) thermisch gegenüber dem Kühlraum (3) unisoliert ist.

15

14. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Kühlraum (3) ein im Wesentlichen senkrecht verlaufender Schacht (25) mit einer Wandung aus einem wärmeleitfähigen Material angeordnet ist,
20 wobei der Probenbehälter (10) in dem Schacht (25) vertikal beweglich ist.

15. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Kühlraum (3) ein entnehmbarer Transportbehälter (17) angeordnet ist, um die
25 Probe (1) nach dem Einfrieren aus dem Kühlraum (3) zu entnehmen oder zum Auftauen in den Kühlraum (3) einzuführen.

16. Kryoeinrichtung nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Transportbehälter (17) am Boden des Kühlraums
30 (3) angeordnet ist.

17. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kühlraum (3) wannenför-

mig ist und an seiner Oberseite durch eine abnehmbare Schutzhaube (9) abgedeckt ist.

18. Kryoeinrichtung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Schutzhaube (9) mindestens teilweise durchsichtig ist.

19. Kryoeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Kühlraum (3) mehrere Ablageflächen (20, 21) in unterschiedlichen Höhen angeordnet sind, die unterschiedlichen Temperatur entsprechen.

20. Betriebsverfahren für eine Kryoeinrichtung, insbesondere zur Kryokonservierung einer biologischen Probe (1), mit den folgenden Schritten:

- Einführen der Probe (1) in einen Probenbehälter (10), der in einem kühlbaren Kühlraum (3) angeordnet wird,
- Temperierung der in dem Probenbehälter (10) befindlichen Probe (1),
- 20 - Entnahme der Probe (1) aus dem Probenbehälter (10),
dadurch gekennzeichnet, dass
der Probenbehälter (10) zwischen dem Einführen der Probe (1) und der Entnahme der Probe (1) getrennt von dem Kühlraum (3) temperiert wird.

25

21. Betriebsverfahren nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenbehälter (10) in dem Kühlraum (3) angehoben und/oder abgesenkt wird.

30 22. Betriebsverfahren nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenbehälter (10) temperiert wird, indem der Probenbehälter (10) in dem Kühlraum (3) gesteuert oder geregelt angehoben oder abgesenkt wird.

23. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 20 oder 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenbehälter (10) durch eine Kühleinrichtung (14) aktiv gekühlt wird.

5 24. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 23, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Kühlraum (3) eine vertikale Temperaturschichtung mit einer oberen Warmschicht und einer unteren Kaltschicht erzeugt wird.

10 25. Betriebsverfahren nach Anspruch 24, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Warmschicht auf eine Temperatur gebracht wird, die im Wesentlichen einer vorgegebenen Starttemperatur eines Einfrierprozesses oder einer vorgegebenen Zieltemperatur eines Auftauprozesses entspricht, während die Kaltschicht
15 auf eine Temperatur gebracht wird, die im Wesentlichen einer vorgegebenen Zieltemperatur des Einfrierprozesses oder einer vorgegebenen Starttemperatur des Auftauprozesses entspricht.

20 26. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 25, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kühlraum (3) aktiv beheizt wird.

25 27. Betriebsverfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kühlraum (3) nur in einem oberen Teilbereich aktiv beheizt wird.

28. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 27, **dadurch gekennzeichnet, dass**
zum Einfrieren der Probe (1)
30 - der Kühlraum (3) im unteren Bereich auf eine vorgegebene Zieltemperatur eines Einfrierprozesses abgekühlt wird,
- der Probenbehälter (10) von einer vorgegebenen Starttemperatur des Einfrierprozesses auf die Zieltemperatur des Einfrierprozesses abgekühlt wird,

- die Probe (1) nach dem Erreichen der Zieltemperatur des Einfrierprozesses in einen in dem Kühlraum (3) befindlichen Transportbehälter (17) überführt wird und
- der Transportbehälter (17) mit der darin befindlichen Probe (1) aus dem Kühlraum (3) entnommen wird.

29. Betriebsverfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 28, **dadurch gekennzeichnet, dass**

zum Auftauen der Probe (1)

- 10 - der Kühlraum (3) im unteren Bereich auf eine vorgegebene Zieltemperatur eines Einfrierprozesses abgekühlt wird,
- ein Transportbehälter (17) mit der darin befindlichen Probe (1) in den Kühlraum (3) eingeführt wird,
- die Probe (1) aus dem Transportbehälter (17) in den Pro-
15 benbehälter (10) überführt wird,
- der Probenbehälter (10) von einer vorgegebenen Starttemperatur eines Auftauprozesses auf eine vorgegebenen Zieltemperatur des Auftauprozesses erwärmt wird,
- die Probe (1) nach dem Erreichen der Zieltemperatur des
20 Auftauprozesses aus dem Probenbehälter (10) entnommen wird.

* * * * *

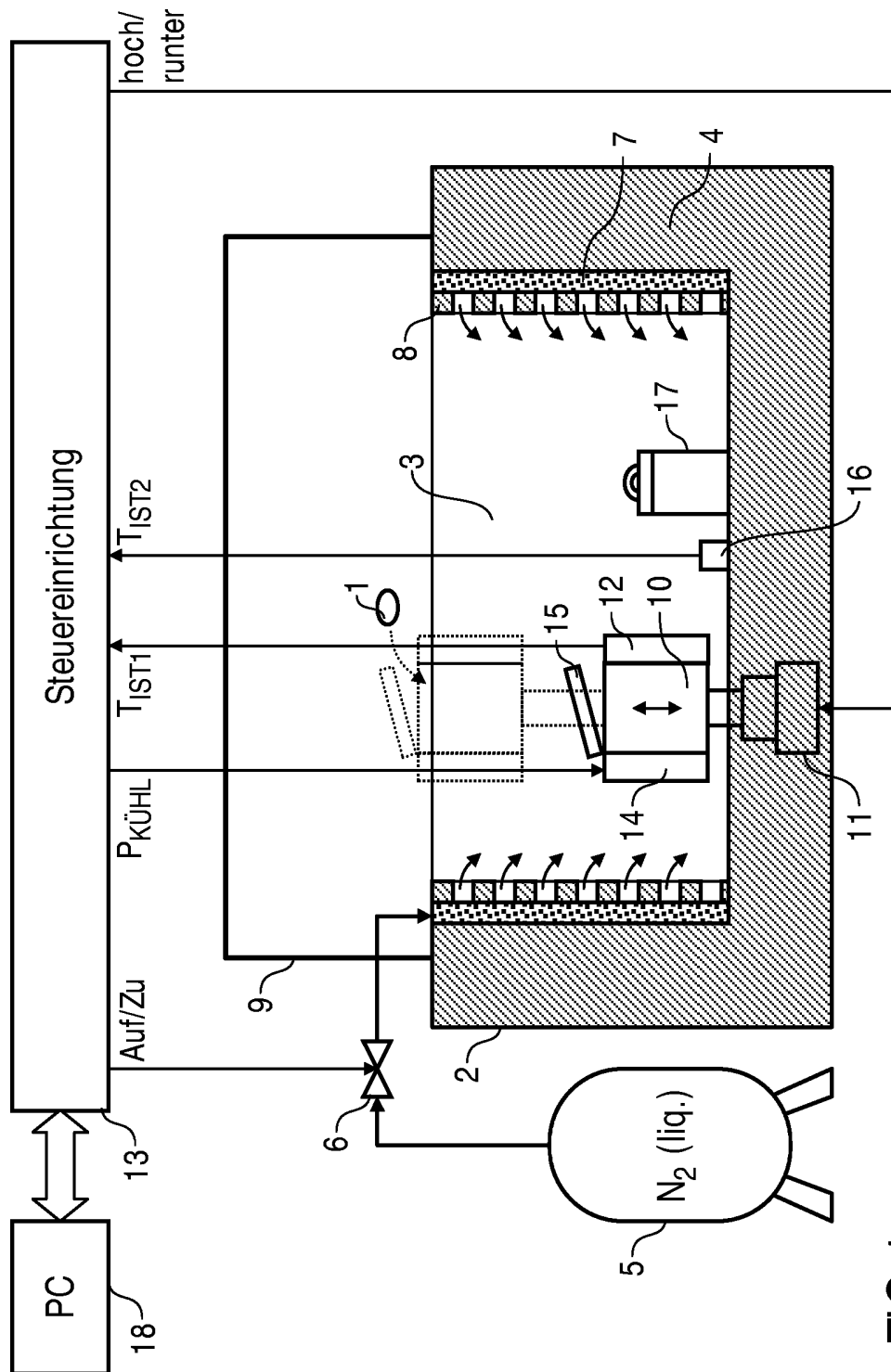


FIG 1

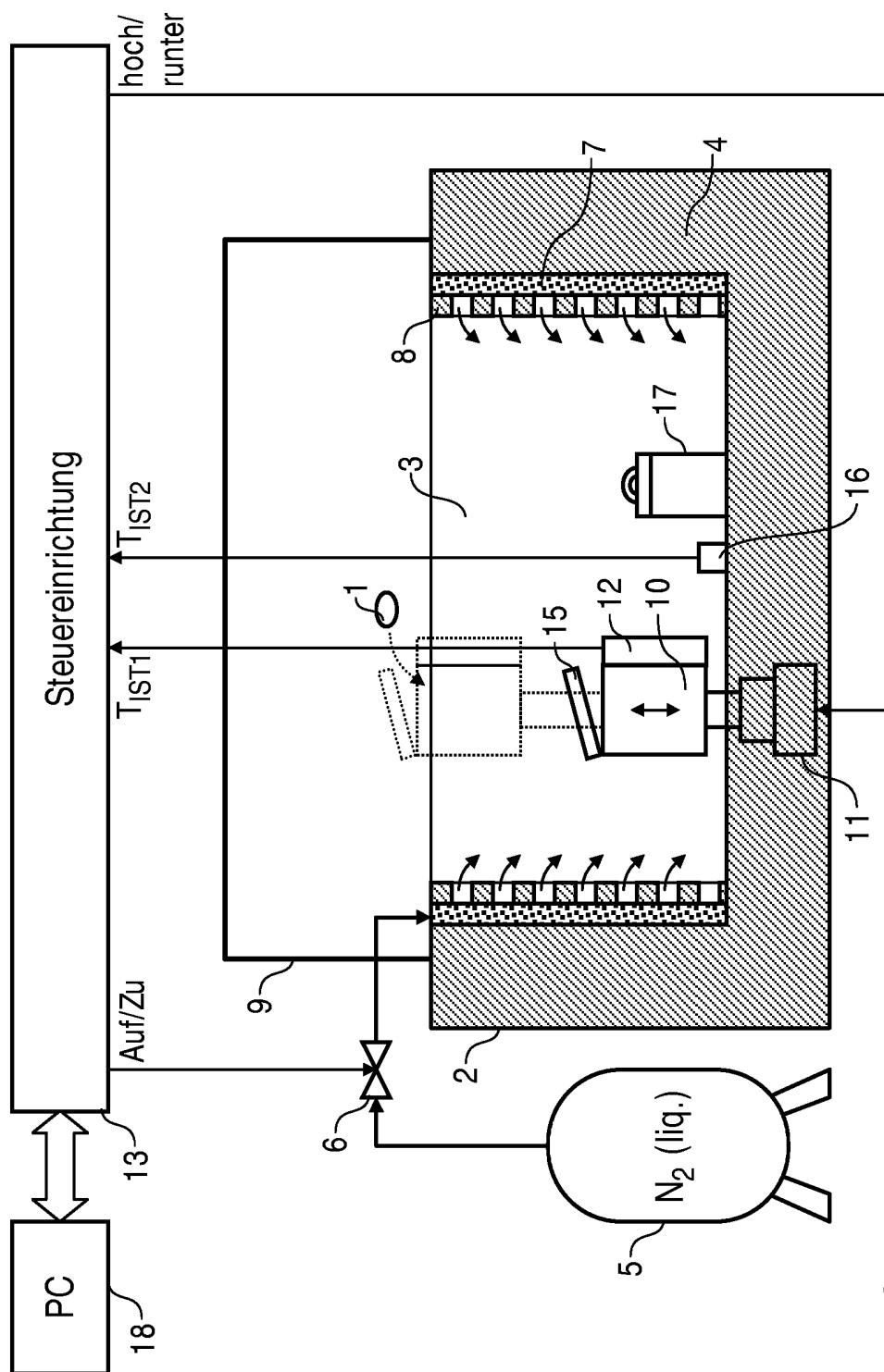


FIG 2

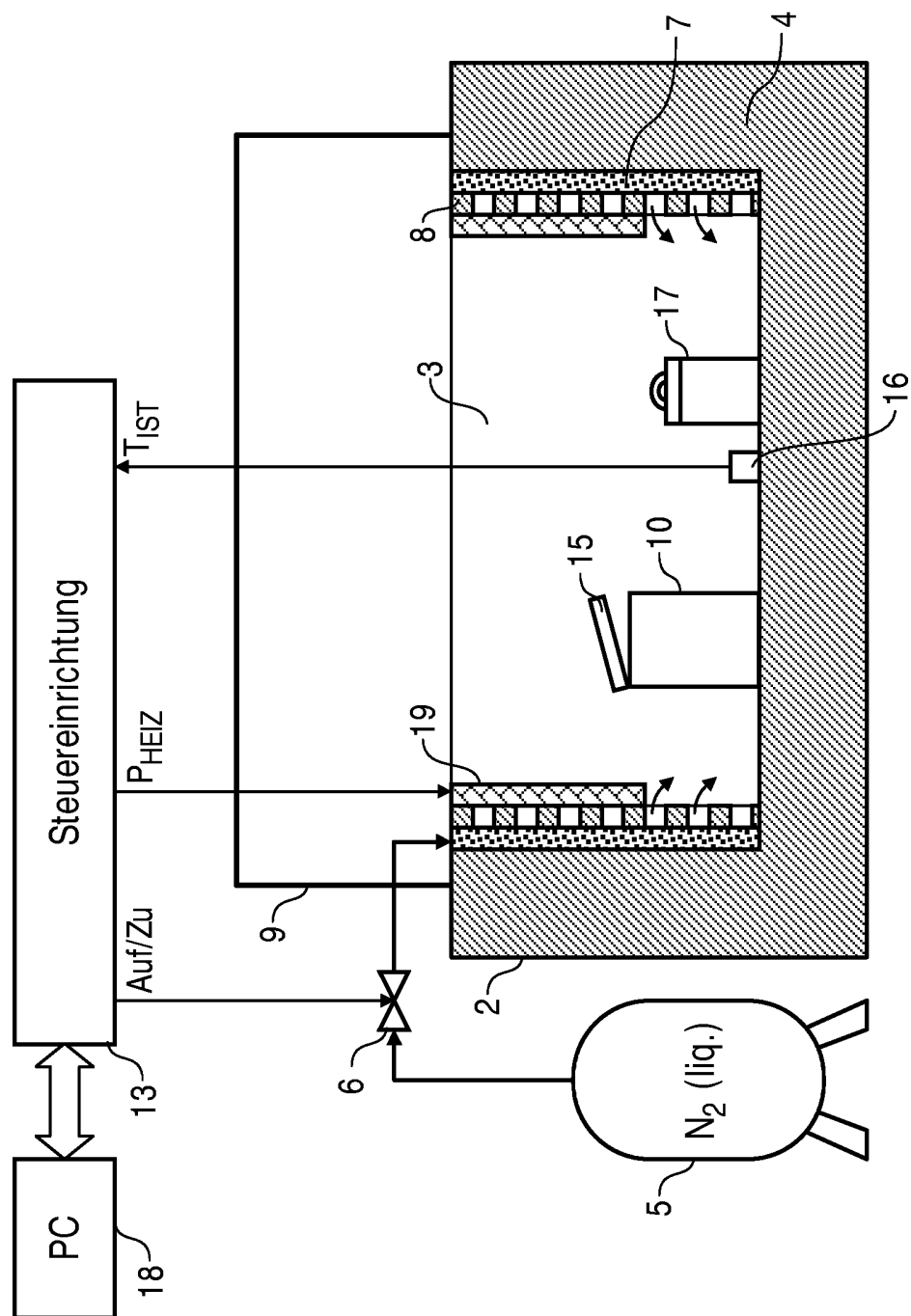


FIG 3

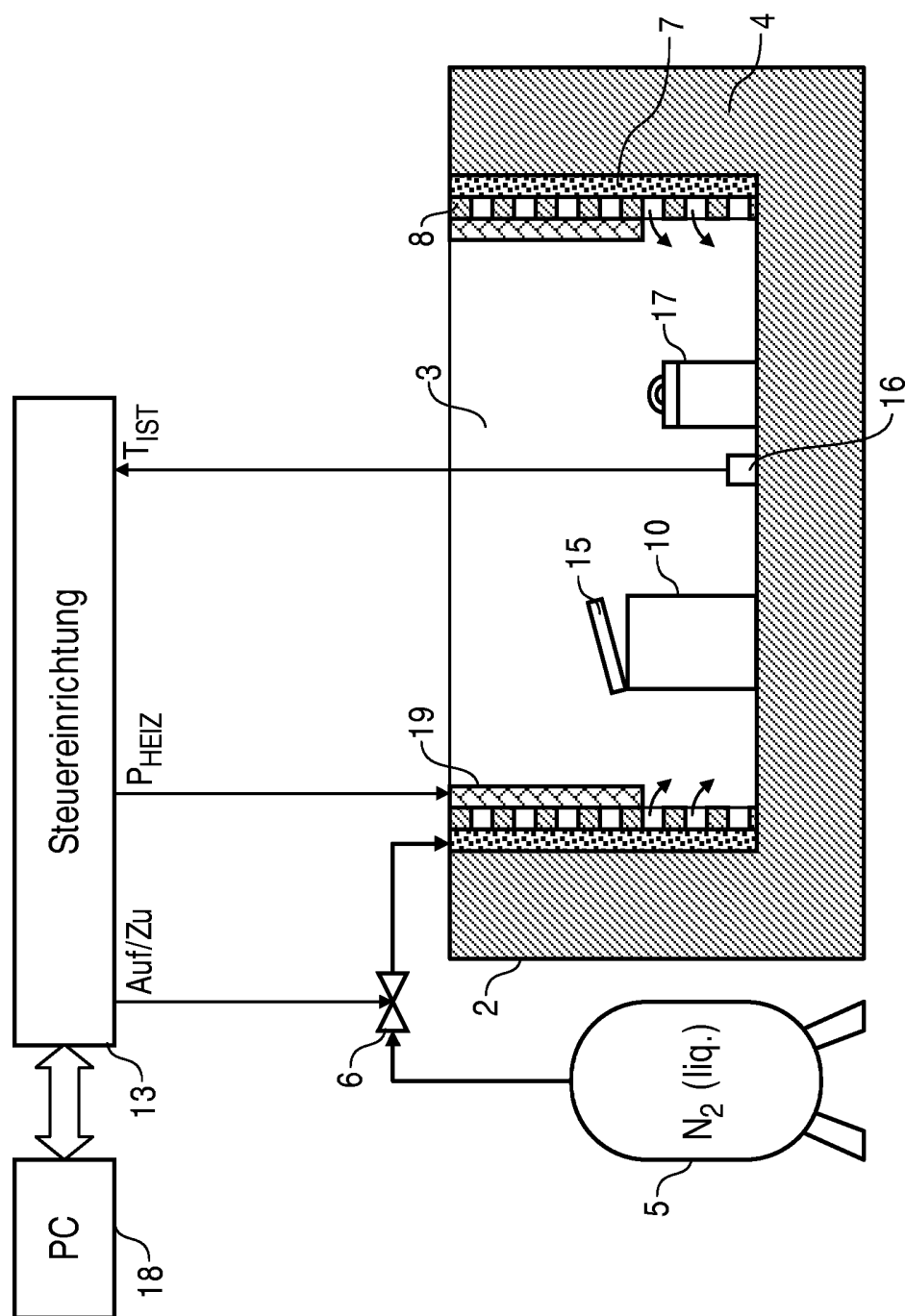


FIG 4

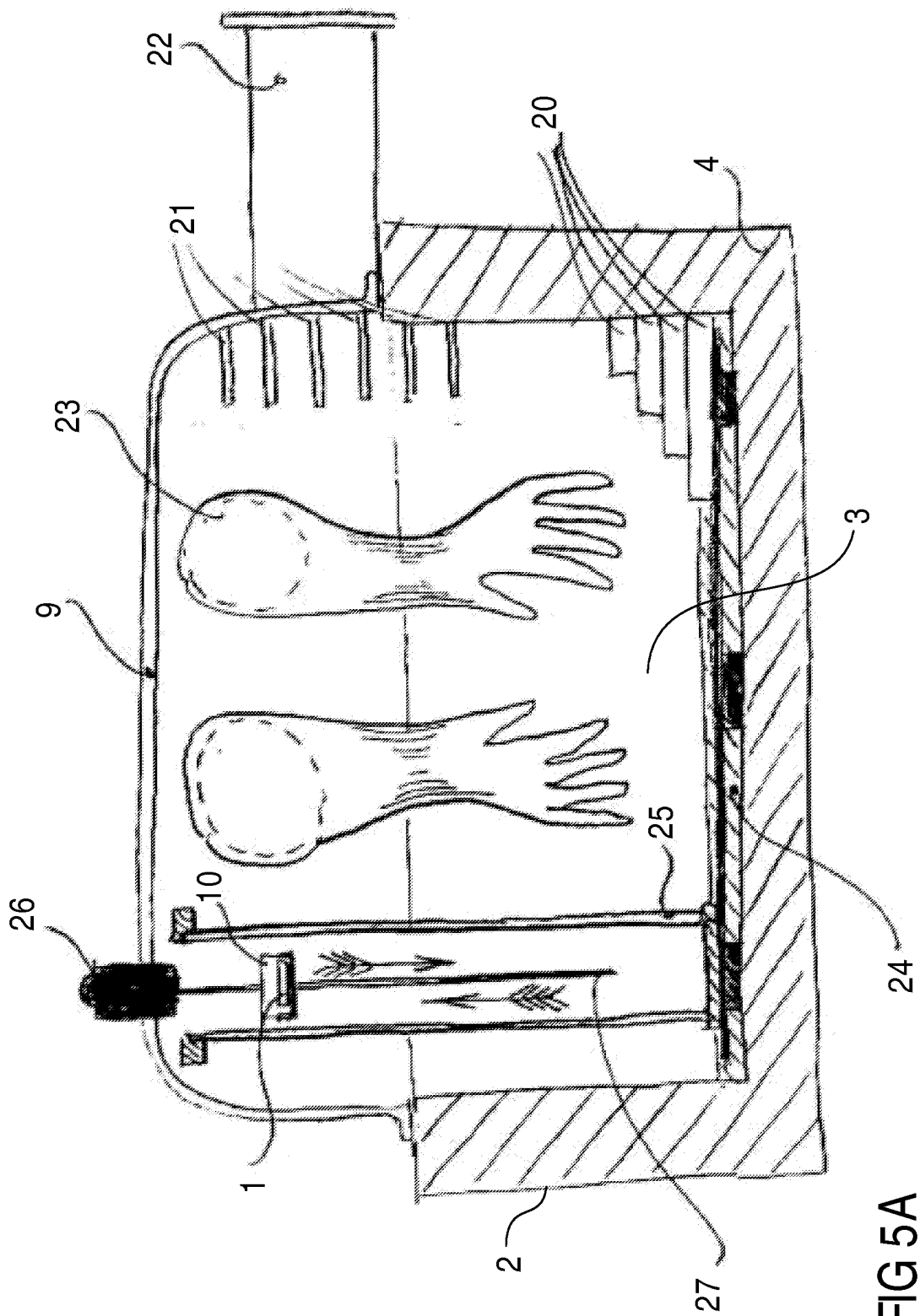


FIG 5A

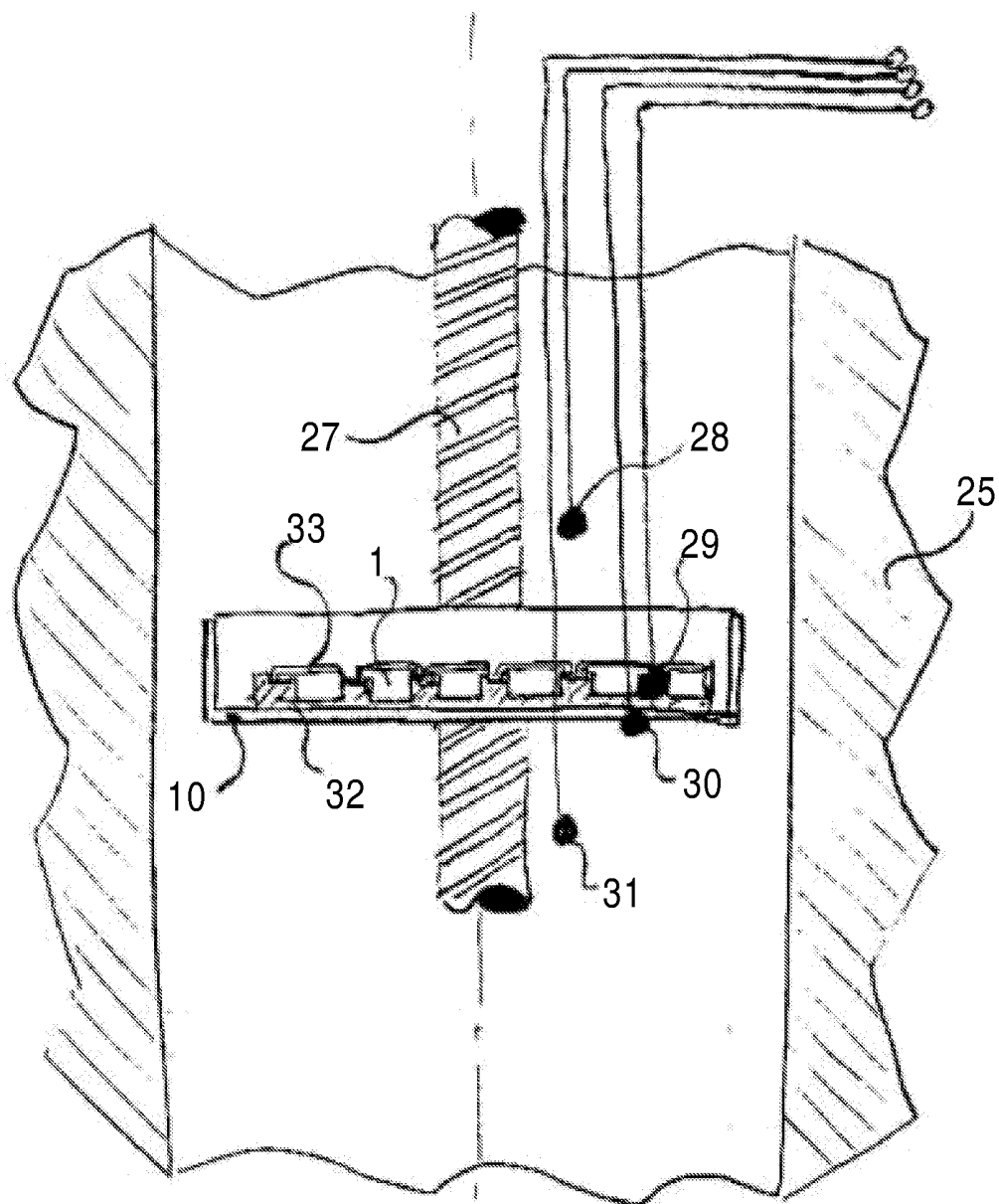


FIG 5B

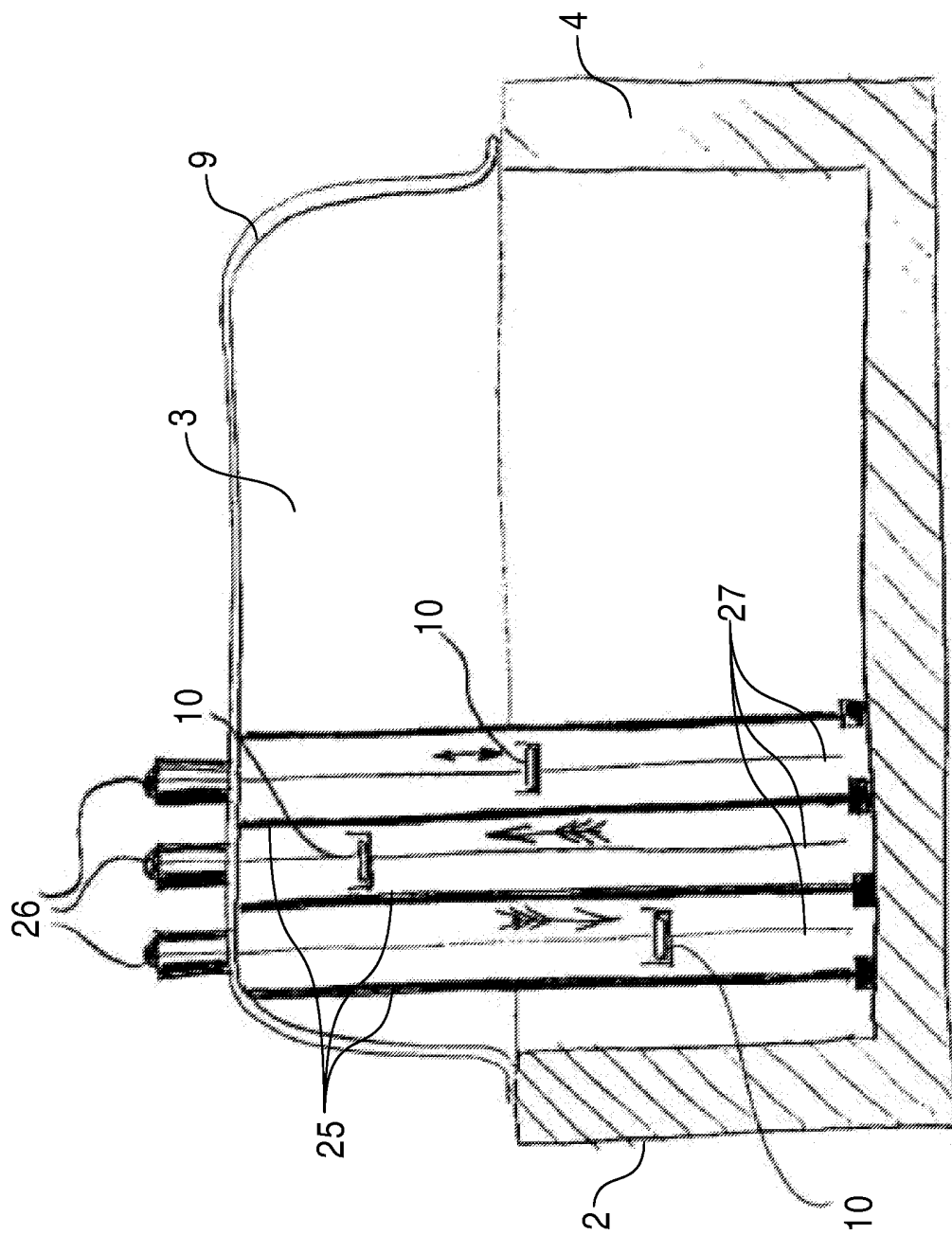


FIG 6

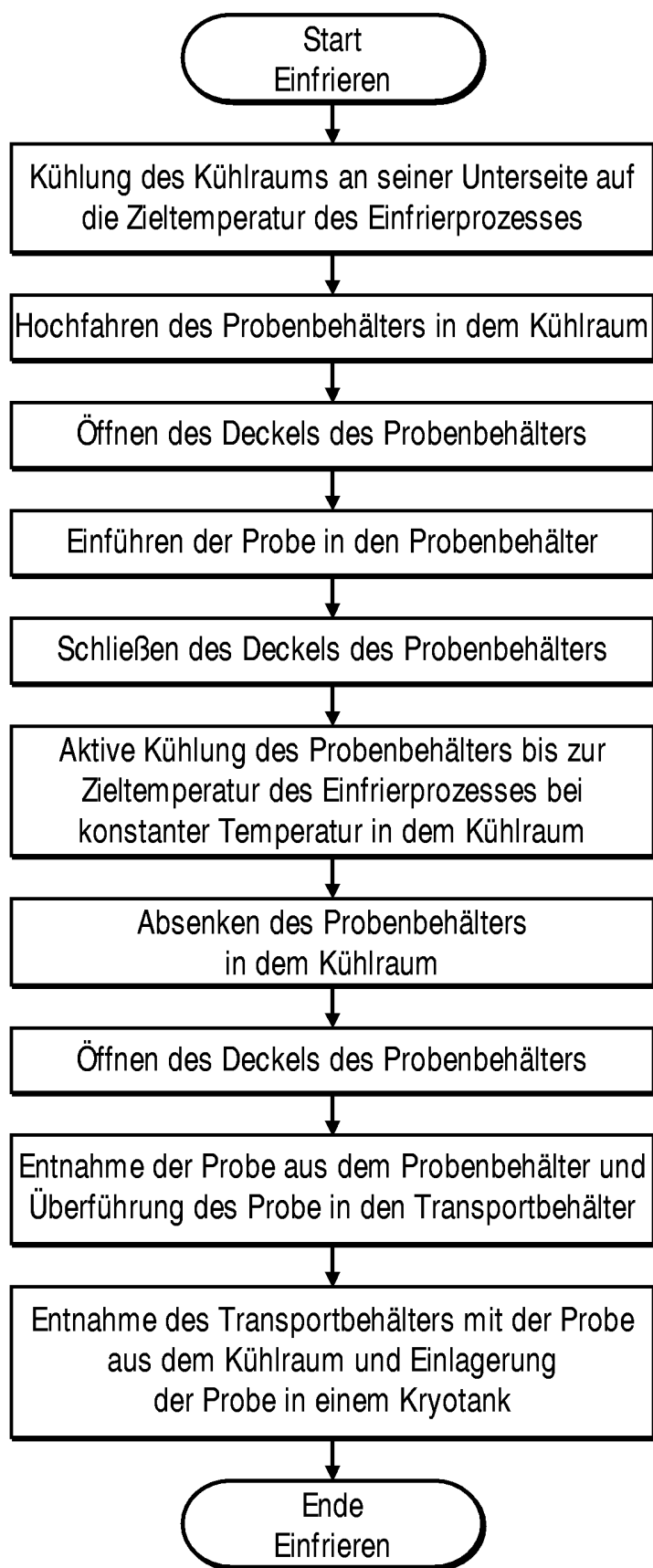


FIG 7A

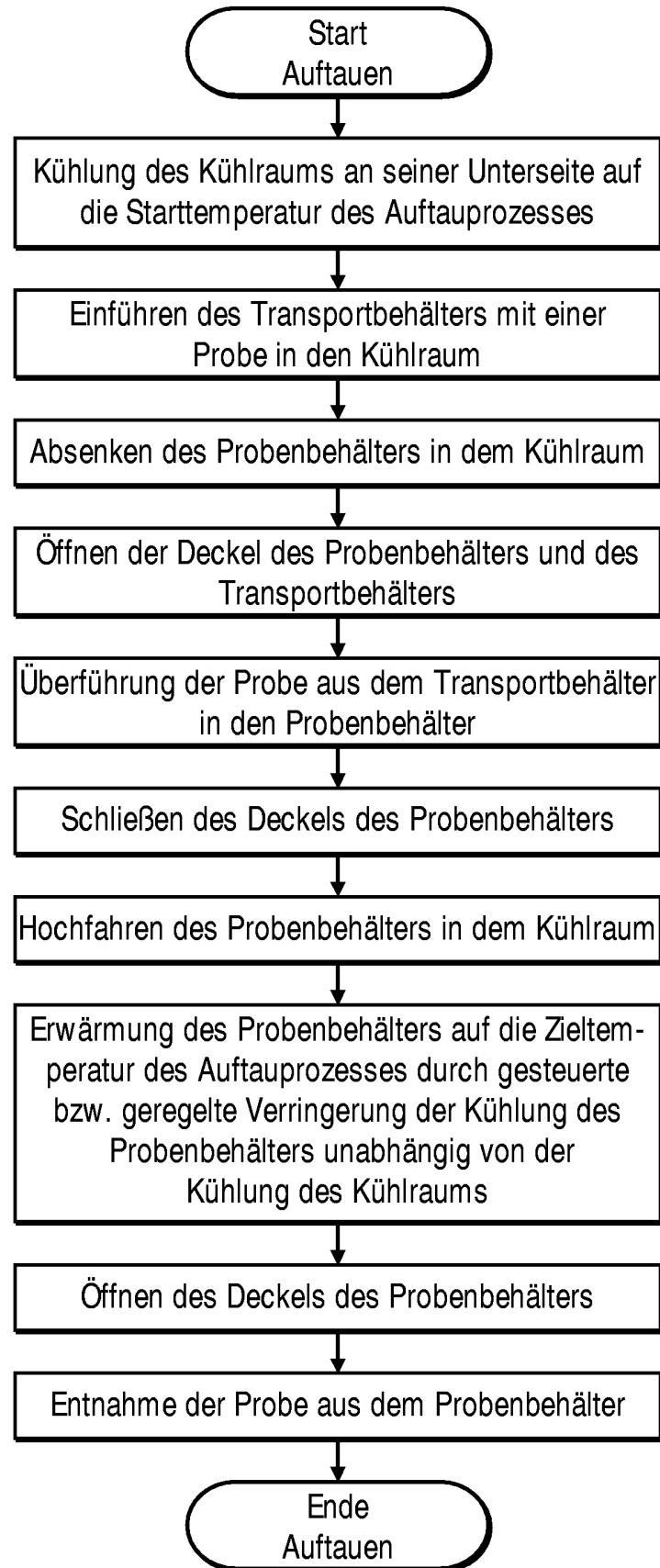


FIG 7B

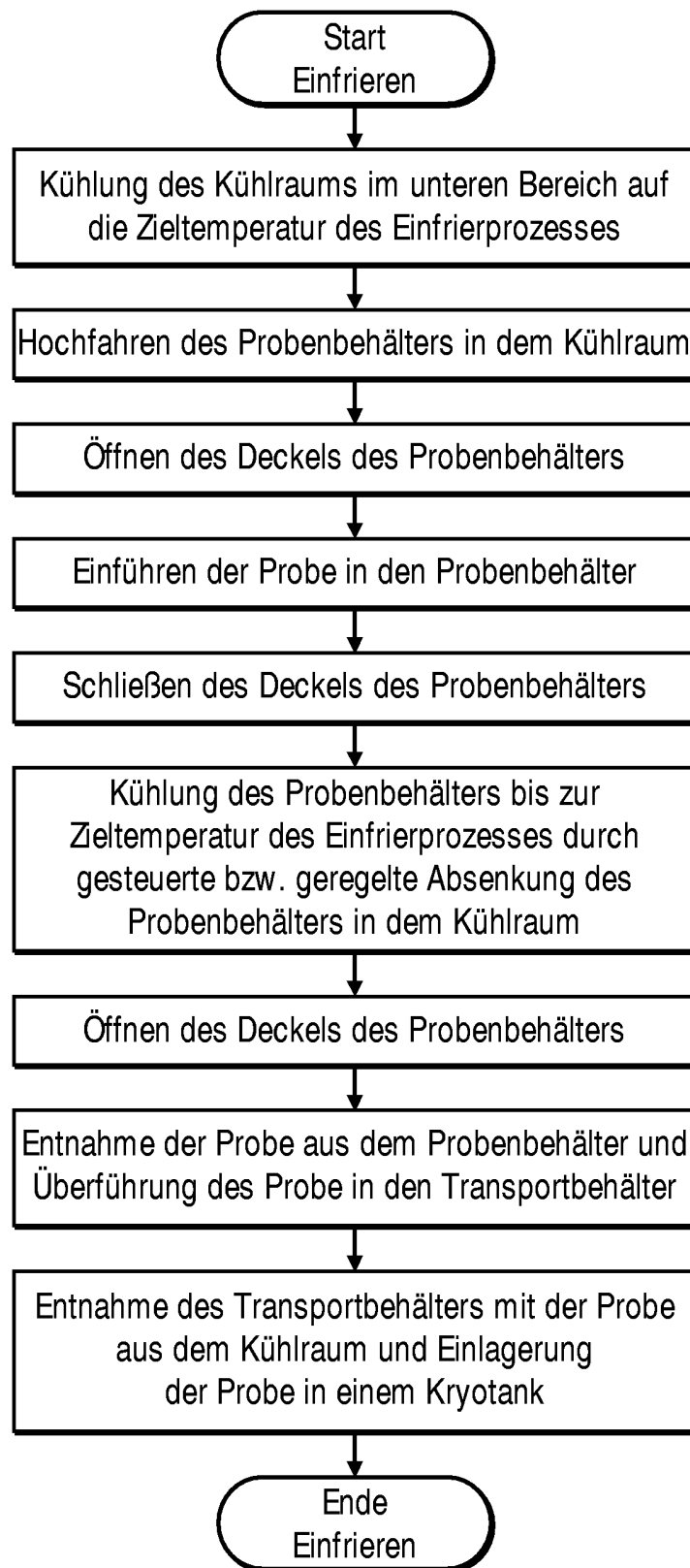


FIG 8A

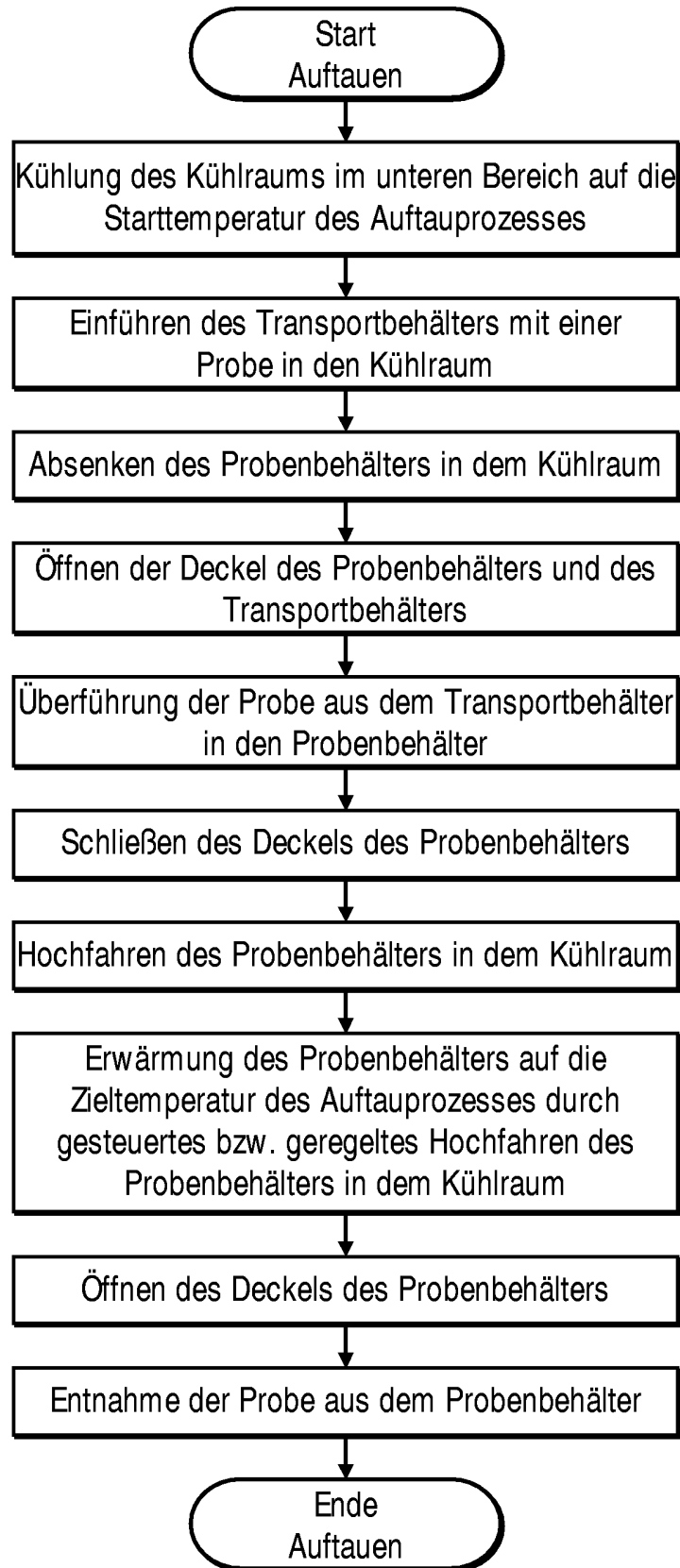


FIG 8B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/054947A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
F25D3/10 A01N1/00 F17C3/08 G01N1/42

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
F25D A01N F17C G01N

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 783 973 A (ANGELIER ET AL) 15 November 1988 (1988-11-15) column 2, line 39 - column 4, line 20; figure 1	1-3, 6, 8, 12, 17, 20-22, 24, 26
X	US 6 065 294 A (HAMMERSTEDT ET AL) 23 May 2000 (2000-05-23) column 6, line 22 - line 63; figures 5, 6	1, 3, 10-12, 17, 19-21, 23, 24
X	US 5 715 686 A (ARAV ET AL) 10 February 1998 (1998-02-10) column 2, line 24 - line 58 ----- -/--	1, 3, 10, 13, 20, 23

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 December 2005

Date of mailing of the international search report

23/12/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Jessen, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/054947

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 480 682 A (KANETA ET AL) 6 November 1984 (1984-11-06) figure 3 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/054947

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4783973	A	15-11-1988	AU 593928 B2	22-02-1990
			AU 7613287 A	04-02-1988
			CA 1303372 C	16-06-1992
			DE 3770217 D1	27-06-1991
			EP 0258092 A1	02-03-1988
			FR 2602858 A1	19-02-1988

US 6065294	A	23-05-2000	NONE	

US 5715686	A	10-02-1998	AU 4912097 A	29-05-1998
			DE 69734012 D1	22-09-2005
			EP 0953129 A1	03-11-1999
			WO 9820275 A1	14-05-1998

US 4480682	A	06-11-1984	AU 562409 B2	11-06-1987
			AU 2303484 A	19-07-1984
			CA 1217350 A1	03-02-1987
			DE 3465569 D1	01-10-1987
			EP 0117037 A1	29-08-1984
			JP 1374017 C	07-04-1987
			JP 59129057 A	25-07-1984
			JP 60000056 B	05-01-1985

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/054947

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES F25D3/10 A01N1/00 F17C3/08 G01N1/42		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) F25D A01N F17C G01N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 4 783 973 A (ANGELIER ET AL) 15. November 1988 (1988-11-15) Spalte 2, Zeile 39 - Spalte 4, Zeile 20; Abbildung 1	1-3, 6, 8, 12, 17, 20-22, 24, 26
X	US 6 065 294 A (HAMMERSTEDT ET AL) 23. Mai 2000 (2000-05-23) Spalte 6, Zeile 22 - Zeile 63; Abbildungen 5, 6	1, 3, 10-12, 17, 19-21, 23, 24
X	US 5 715 686 A (ARAV ET AL) 10. Februar 1998 (1998-02-10) Spalte 2, Zeile 24 - Zeile 58	1, 3, 10, 13, 20, 23
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/>	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist		*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 15. Dezember 2005		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 23/12/2005
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Jessen, F

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/054947

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 4 480 682 A (KANETA ET AL) 6. November 1984 (1984-11-06) Abbildung 3 -----	1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/054947

Im Recherchenbericht , angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 4783973	A	15-11-1988	AU 593928 B2	22-02-1990
			AU 7613287 A	04-02-1988
			CA 1303372 C	16-06-1992
			DE 3770217 D1	27-06-1991
			EP 0258092 A1	02-03-1988
			FR 2602858 A1	19-02-1988
US 6065294	A	23-05-2000	KEINE	
US 5715686	A	10-02-1998	AU 4912097 A	29-05-1998
			DE 69734012 D1	22-09-2005
			EP 0953129 A1	03-11-1999
			WO 9820275 A1	14-05-1998
US 4480682	A	06-11-1984	AU 562409 B2	11-06-1987
			AU 2303484 A	19-07-1984
			CA 1217350 A1	03-02-1987
			DE 3465569 D1	01-10-1987
			EP 0117037 A1	29-08-1984
			JP 1374017 C	07-04-1987
			JP 59129057 A	25-07-1984
			JP 60000056 B	05-01-1985