

(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
22. September 2022 (22.09.2022)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2022/194543 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 35/10 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2022/055182

(22) Internationales Anmeldedatum:
01. März 2022 (01.03.2022)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2021 202 518.8
15. März 2021 (15.03.2021) DE

(71) Anmelder: LPKF LASER & ELECTRONICS AG
[DE/DE]; Osteriede 7, 30827 Garbsen (DE).

(72) Erfinder: KRÜGER, Robin A.; Werningeroder Weg 24,
30419 Hannover (DE). VAN AALST, Jan; Adolf-Meyer-
Straße 7, 30890 Barsinghausen (DE). WOLLER, Mo-
ritz; Gneisenaustraße 46, 30175 Hannover (DE).

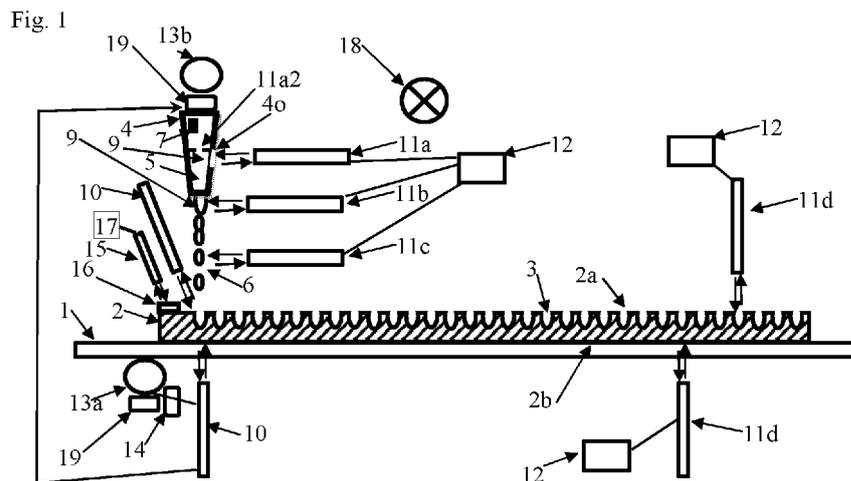
(74) Anwalt: TARUTTIS, Stefan; Aegidientorplatz 2b, 30159
Hannover (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(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).

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR DEPOSITING LIQUID ON A CARRIER

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUM ABSETZEN VON FLÜSSIGKEIT AUF TRÄGER



(57) Abstract: The invention relates to a device for depositing drops of liquid on a carrier, comprising a drop generator, a holding device for the carrier, a detector which is configured to detect a signal for each liquid portion or drop, a transport device for the relative movement of the holding device to the drop generator, and preferably a store connected to the detector.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung beschreibt eine Vorrichtung zum Absetzen von Flüssigkeitstropfen auf einen Träger, die einen Tropfenerzeuger und eine Halteinrichtung für den Träger aufweist, sowie einen Detektor, der zur Detektion eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt bzw. Tropfen eingerichtet ist, und eine Transporteinrichtung zur Relativbewegung der Halteinrichtung zum Tropfenerzeuger und bevorzugt einen mit dem Detektor verbundenen Speicher aufweist.



WO 2022/194543 A1

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)

Vorrichtung und Verfahren zum Absetzen von Flüssigkeit auf Träger

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Absetzen von Flüssigkeit auf einen Träger, sowie die Verwendung der Vorrichtung als Dosiervorrichtung von Flüssigkeit auf einen Träger. Die Flüssigkeit enthält bevorzugt zumindest eine Substanz, die bevorzugt zumindest eine Art von Partikeln oder eine Mischung von zumindest zwei Arten von Partikeln ist, die insbesondere biologische Zellen sind. Die Partikel, insbesondere biologische Zellen, sind in der Flüssigkeit suspendiert, bevorzugt in Form vereinzelter Zellen. Biologische Zellen können solche von Mikroorganismen, z.B. Bakterien, Hefe oder Pilze sein, pflanzliche oder tierische Zellen, insbesondere Humanzellen, jeweils aus einer Kultur oder biologischen Probe, z.B. einer Blutprobe oder aus Gewebe stammen.

Die Vorrichtung und das damit durchführbare Verfahren haben den Vorteil, mit hoher Geschwindigkeit Tropfen der Flüssigkeit auf einen Träger abzusetzen, wobei jedem Tropfen der Messwert mindestens einer Detektion zugeordnet wird, so dass jedem Tropfen sein Gehalt an Substanz bzw. Partikeln oder eine andere Eigenschaft als Messwert zugeordnet wird. Bevorzugt weist der Träger Näpfe auf und die

Vorrichtung ist eingerichtet, die Tropfen, bevorzugt jeweils einzelne Tropfen oder eine vorgegebene Anzahl an Tropfen, in einzelne Nöpfe abzusetzen.

Stand der Technik

Die EP 2 546 656 B1 beschreibt eine Vorrichtung zum Ausstoßen von Tropfen mit einem optischen Detektor, der auf einen Überwachungsabschnitt der Vorrichtung gerichtet ist, in dem eine auszustoßende Flüssigkeit enthalten ist, mit einer Steuervorrichtung, die den Zustand von Partikeln in dem Überwachungsabschnitt ändert, indem sie einen Aktuator zum Ausstoßen ansteuert.

Die EP 2 577 254 B1 beschreibt zum Absetzen von Tropfen eine Vorrichtung, die zum Erzeugen von Tropfen aus einer Flüssigkeit mit einem Piezo angetrieben ist, der abhängig von der Detektion der Flüssigkeit in einem Kanalabschnitt gesteuert ist. Aus dem Kanal ausgestoßene Tropfen werden gesteuert an eine von zwei Positionen gelenkt.

Die DE 10 2015 000 920 A1 beschreibt zum Absetzen von Tropfen das Steuern einer Stelleinrichtung, die mit einer Dispensiereinheit gekoppelt ist, mit zwei Kameras, die Koordinaten für die Steuerung der Stelleinrichtung liefern sollen.

Die DE 10 2015 202 574 A1 beschreibt zum gezielten Abgeben von Tropfen eine Düse, in der ein gesteuerter Schallgeber Flüssigkeit gezielt mit Schwingungen beaufschlagen kann, um einzelne Tropfen abzugeben.

Die WO 2007/102785 A1 beschreibt zur Aufnahme von Flüssigkeitströpfchen einen Träger mit durchgehenden Bohrungen, die eine Verjüngung aufweisen.

Die WO 2010/004627 A1 beschreibt, dass zum Absetzen einzelner Volumen eine Flüssigkeit in einer Kapillare mit Licht bestrahlt werden kann und anschließend durch eine Düse abgesetzt werden kann, wobei das abgesetzte Volumen abhängig von der Konzentration von Partikeln gesteuert wird.

Die vorgenannten Vorrichtungen haben den Nachteil einer geringen Absetzrate von Tropfen auf einem Träger.

Aufgabe der Erfindung

Der Erfindung stellt sich die Aufgabe, eine alternative Vorrichtung und ein alternatives Verfahren zum Absetzen von Tropfen auf einen Träger bereitzustellen, um ein schnelleres Absetzen von Tropfen zu erlauben. Bevorzugt sind Vorrichtung und Verfahren eingerichtet, dass die Messwerte für die in den Tropfen enthaltenen Partikel den Tropfen zugeordnet sind.

Beschreibung der Erfindung

Die Erfindung löst die Aufgabe mit den Merkmalen der Ansprüche, insbesondere durch Bereitstellen einer Vorrichtung zum Absetzen von Flüssigkeitstropfen auf einen Träger, die

- einen Tropfenerzeuger, der zur Erzeugung von Tropfen aus einer Flüssigkeit eingerichtet ist, und eine Halteeinrichtung, die zur Aufnahme eines Trägers eingerichtet ist,
- zumindest einen Detektor, der zur Detektion eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt, aus dem der Tropfenerzeuger einen Tropfen bildet, und/oder zur Detektion eines Signals für jeden erzeugten Tropfen und/oder abgesetzte Tropfen eingerichtet ist, z.B. eingerichtet ist, eine in Tropfen enthaltene Substanz, die bevorzugt ein Partikel aufweist oder ein Partikel ist, zu detektieren, wobei bevorzugt der zumindest eine Detektor mit einem Speicher verbunden ist, der eingerichtet ist, von dem zumindest einen Detektor aufgenommene Signale den Bereichen relativ zur Halteeinrichtung zuzuordnen, in denen aus Flüssigkeitsabschnitten erzeugte Tropfen abgesetzt und/oder auf dem Träger angeordnet sind, wobei die Bereiche z.B. voneinander beabstandete Oberflächenbereiche eines Trägers sind, insbesondere in einem Träger gebildete Näpfe,
- und optional einen Speicher, bevorzugt einen elektronischen Speicher, der eingerichtet ist, Signale des zumindest einen Detektors den Bereichen relativ zur Halteeinrichtung zuzuordnen, in denen die jeweiligen Flüssigkeitsabschnitte bzw. Tropfen auf einem Träger angeordnet sind,
- wobei der Tropfenerzeuger bevorzugt eingerichtet ist, Tropfen unabhängig von der Detektion zu erzeugen,
- wobei der Tropfenerzeuger bevorzugt zur ausschließlich kontinuierlichen Erzeugung von Tropfen eingerichtet ist,
- eine Transporteinrichtung zur Relativbewegung der Halteeinrichtung zum Tropfenerzeuger, bevorzugt zur Relativbewegung mit einem Abstand zwischen Halteeinrichtung und Tropfenerzeuger, wobei die Transporteinrichtung zur Bewegung

der Halteeinrichtung oder zur Bewegung des Tropfenerzeugers eingerichtet ist, und wobei die Bewegung der Transporteinrichtung optional allein abhängig von der Rate der Tropfenerzeugung und/oder abhängig von der Eingabe von Daten für die Anordnung von Nöpfen eines auf der Halteeinrichtung anzuordnenden Trägers gesteuert ist,

- optional eine mit der Transporteinrichtung verbundene Steuereinrichtung, die eingerichtet ist, die Relativposition der Halteeinrichtung zum Tropfenerzeuger, insbesondere die Relativposition eines an der Halteeinrichtung angeordneten Trägers zum Tropfenerzeuger zu detektieren und die Transporteinrichtung zu steuern,
- wobei optional die Steuereinrichtung einen auf die Halteeinrichtung gerichteten Positionsdetektor aufweist, der eingerichtet ist, die Relativposition der Halteeinrichtung zum Tropfenerzeuger zu detektieren und abhängig von der Detektion die Position die Transporteinrichtung zu steuern, wobei die Transporteinrichtung insbesondere eingerichtet ist, die Halteeinrichtung oder den Tropfenerzeuger gesteuert zu bewegen, um nacheinander Bereiche, die beabstandet sind und in denen bevorzugt Nöpfe eines auf der Halteeinrichtung anzuordnenden Trägers angeordnet sind, passend zum Tropfenerzeuger zu positionieren,
- wobei optional, insbesondere zusätzlich zu einem mit dem Detektor verbundenen Speicher oder ohne einen mit dem Detektor verbundenen Speicher, der Tropfenerzeuger abhängig von dem zumindest einen Detektor gesteuert ist und die Transporteinrichtung, insbesondere eine mit dieser verbundene Steuereinrichtung, eingerichtet ist, die Halteeinrichtung oder den Tropfenerzeuger erst dann zu bewegen, wenn vom Detektor zumindest ein, bevorzugt genau ein vorbestimmtes Signal detektiert ist,

aufweist oder daraus besteht.

Die Vorrichtung ist eingerichtet, dass jeder einzelne Tropfen oder eine Mehrzahl von Tropfen vereinzelt auf Bereiche eines Trägers, bevorzugt jeweils in einen einzelnen Napf eines Trägers abgesetzt werden. Vorrichtung und Verfahren sind eingerichtet, dass die Messwerte für die in den Tropfen enthaltene Substanz den Tropfen und deren Anordnung auf einem Träger zugeordnet sind und diese Zuordnung bevorzugt in einem Speicher gespeichert wird. Generell kann die Vorrichtung eingerichtet sein, dass die Transporteinrichtung die Halteeinrichtung oder den Tropfenerzeuger zumindest zweimal bewegt, um zumindest einen Anteil der Nöpfe oder alle Nöpfe des Trägers zumindest zweimal passend zum

Tropfenerzeuger auszurichten und zumindest einen weiteren Tropfen derselben Flüssigkeit in den Anteil der Näpfe oder in alle Näpfe abzusetzen.

Generell kann der Tropfenerzeuger einzelne oder eine Mehrzahl von Tropfen mit einem beliebigen Verfahren erzeugen. Ohne Anspruch auf Vollständigkeit kann die Erzeugung elektromechanisch, piezoelektrisch, durch mechanische Auslenkung, pneumatisch, thermisch durch Dampfbildung, durch thermische Ausdehnung, durch elektrostatische Abstoßung oder Anziehung, akustisch, optisch und/oder mittels Ventilen stattfinden.

Generell ist die Transporteinrichtung für eine Relativbewegung der Halteeinrichtung, auf der ein Träger anzuordnen ist, zu dem Tropfenerzeuger eingerichtet. Dabei kann die Transporteinrichtung zur Bewegung der Halteeinrichtung eingerichtet und der Tropfenerzeuger ortsfest sein, und/oder die Halteeinrichtung kann ortsfest und die Transporteinrichtung zur Bewegung des Tropfenerzeugers eingerichtet sein. Alternativ können sowohl Halteeinrichtung als auch Tropfenerzeuger an einer Transporteinrichtung zur relativen Bewegung zueinander angeordnet sein.

Generell kann die Vorrichtung eingerichtet sein, an jedem Bereich der Halteeinrichtung bzw. des darauf angeordneten Trägers, an dem zumindest ein Tropfen abgesetzt wird, vor und/oder nach dem Absetzen von Tropfen zumindest einen Tropfen zumindest einer zweiten Flüssigkeit abzusetzen. Die zweite Flüssigkeit weist dabei eine andere Zusammensetzung als die partikelhaltige Flüssigkeit auf. Die zweite Flüssigkeit kann z.B. ein Kultivierungsmedium für Zellen, eine ein Reagenz enthaltende Flüssigkeit, eine einen Farbstoff enthaltende Flüssigkeit, eine ein Biomolekül oder mehrere verschiedene Biomoleküle enthaltende Flüssigkeit sein. Dabei kann die Vorrichtung eingerichtet sein, zunächst Tropfen einer zweiten Flüssigkeit auf Bereiche, insbesondere Näpfe, eines Trägers abzusetzen, anschließend Tropfen der Flüssigkeit, die Partikel enthält, abzusetzen, und optional anschließend Tropfen einer dritten Flüssigkeit auf dieselben Bereiche abzusetzen. Die dritte Flüssigkeit kann dieselbe Zusammensetzung aufweisen wie die zweite Flüssigkeit oder eine andere Zusammensetzung aufweisen. Generell kann die Vorrichtung eingerichtet sein, eine zweite Flüssigkeit und/oder dritte Flüssigkeit unabhängig voneinander in dieselben vorbestimmten Bereiche, insbesondere vorbestimmte Näpfe eines Trägers, in Form von Tropfen abzusetzen und in übrigen Bereichen, insbesondere Näpfen, keine zweite Flüssigkeit und/oder dritte Flüssigkeit in Form von Tropfen abzusetzen. Dabei kann die Vorrichtung eingerichtet sein,

jeden der Tropfenerzeuger mit unterschiedlicher Frequenz zur Tropfenerzeugung und/oder unterschiedlicher Druckbeaufschlagung zu steuern. Dies ist nicht auf zwei oder drei Flüssigkeiten beschränkt, sondern kann auf beliebig viele Flüssigkeiten angewendet werden.

In Ausführungsformen, in denen die Vorrichtung eingerichtet ist, zusätzlich zu einer partikelhaltigen Flüssigkeit noch eine zweite und/oder eine dritte Flüssigkeit in dieselben vorbestimmten Bereiche, insbesondere Näpfe, in Form von Tropfen abzusetzen, weist sie bevorzugt jeweils zumindest einen separaten zweiten Tropfenerzeuger für die zweite Flüssigkeit und optional einen separaten dritten Tropfenerzeuger für die dritte Flüssigkeit auf. Optional kann die Vorrichtung weitere Tropfenerzeuger aufweisen. Alle Tropfenerzeuger, z.B. ein zweiter und/oder ein dritter Tropfenerzeuger, können voneinander beabstandet, z.B. in einem Abstand zum Tropfenerzeuger für die partikelhaltige Flüssigkeit fixiert sein und optional nur gemeinsam durch die Transporteinrichtung beweglich geführt oder alle ortsfest sein. Alternativ kann die Vorrichtung eingerichtet sein, dass ein zweiter Tropfenerzeuger und weiter optional ein dritter Tropfenerzeuger mit derselben oder jeweils unterschiedlicher Geschwindigkeit relativ zur Halteeinrichtung bzw. zum darauf angeordneten Träger bewegt wird, für jeweils dieselbe oder jeweils unterschiedliche Frequenzen der Tropfenerzeugung gesteuert wird, und/oder mit jeweils demselben oder unterschiedlichem Druck beaufschlagt wird.

Dabei kann die Vorrichtung weiter optional eingerichtet sein, jeweils eine vorbestimmte Anzahl von Tropfen in jedem Bereich der Halteeinrichtung bzw. eines darauf angeordneten Trägers, insbesondere in jedem Napf, abzusetzen, wobei die Anzahl z.B. als das Gesamtvolumen dieser Tropfenanzahl vorbestimmt ist, das im Mittel zumindest oder genau einen Partikel enthält. In dieser Ausführungsform kann die Vorrichtung ohne einen mit dem Detektor verbundenen Speicher sein. Optional kann die Vorrichtung in dieser Ausführungsform auch ohne einen Detektor sein, so dass die Vorrichtung eingerichtet ist, die vorbestimmte Anzahl von Tropfen auf beabstandete Bereiche einer Halteeinrichtung bzw. auf beabstandete Bereiche eines auf der Halteeinrichtung angeordneten Trägers abzusetzen, ohne einen Detektor aufzuweisen und ohne einen mit dem Detektor verbundenen Speicher.

In jeder Ausführungsform ist die Vorrichtung eingerichtet, Tropfen mit einer hohen Rate auf einen Träger, insbesondere auf beabstandete Bereiche eines Trägers bzw. in Näpfe eines Trägers abzusetzen, während die Halteeinrichtung, auf der der Träger angeordnet ist, und/oder

der Tropfenerzeuger mittels einer Transporteinrichtung bewegt wird, , insbesondere relativ zur Positionierung der Nöpfe zum Tropfenerzeuger bewegt wird. Dadurch, dass die Vorrichtung eingerichtet ist, alle Tropfen auf einem Träger, insbesondere in dessen Nöpfe, abzusetzen, entfällt das abhängig von der Detektion von Partikeln in der Flüssigkeit gesteuerte Bewegen der Düse über dem Träger, so dass die Vorrichtung ein schnelles Absetzen von Tropfen auf den Träger erlaubt, insbesondere in Nöpfe des auf der Halteinrichtung angeordneten Trägers. Dadurch, dass die Transporteinrichtung allein abhängig von der Rate der Tropfenerzeugung und/oder optional zusätzlich zum Absetzen einer vorbestimmten Anzahl Tropfen je Bereich gesteuert ist, ist die Relativbewegung von Halteinrichtung bzw. daran angeordnetem Träger zum Tropfenerzeuger vom Ergebnis der Detektion eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt, aus dem der Tropfenerzeuger einen Tropfen bildet, und/oder eines Signals für jeden erzeugten Tropfen bevorzugt unabhängig. Insbesondere bevorzugt ist die Transporteinrichtung unabhängig von der Detektion von Substanz in Tropfen gesteuert. Im Verfahren kann in der Flüssigkeit, die in Tropfen vereinzelt und auf dem Träger abgesetzt werden soll, die Konzentration von Partikeln so eingestellt werden, dass je Volumen eines zu erzeugenden Tropfens oder je vorbestimmte Anzahl von Tropfen statistisch eine vorbestimmte Anzahl von Partikeln, z.B. maximal genau 1 Partikel, z.B. statistisch 0,2 bis 0,9 Partikel, oder genau 2, 3, 4 oder mehr Partikel enthalten sind.

Der zumindest eine Detektor, der zur Detektion eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt, aus dem der Tropfenerzeuger einen Tropfen bildet, und/oder der zur Detektion eines Signals für jeden erzeugten Tropfen eingerichtet ist, ist bevorzugt auf zumindest einen Bereich gerichtet, in dem ein Flüssigkeitsabschnitt einer kontinuierlichen Flüssigkeitsphase angeordnet ist, aus dem der Tropfenerzeuger einen Tropfen erzeugt, z.B. ein Bereich im Innenvolumen, z.B. einem Leitungsabschnitt, des Tropfenerzeugers ist oder ein kontinuierlicher Flüssigkeitsabschnitt, der sich unmittelbar am Tropfenerzeuger ausbildet, oder der ein Bereich ist, der in einem Abstand vom Tropfenerzeuger angeordnet ist, in dem aus einer Flüssigkeit Tropfen gebildet sind, und/oder der ein Bereich ist, in dem auf einem an der Halteinrichtung angeordneten Träger Tropfen angeordnet sind, z.B. auf beabstandeten Oberflächenbereichen eines Trägers oder in Nöpfen eines Trägers angeordnete Tropfen. Generell kann das Signal spezifisch für eine in der Flüssigkeit enthaltene Substanz sein, die insbesondere ein Partikel, z.B. Zelle oder synthetischer Partikel aus Kunststoff, Metall, Keramik oder Glas, und/oder ein zugesetztes Markierungsreagenz ist.

Ein Detektor kann eine photoelektrische Zelle, eine Photoverstärkerröhre, ein digitaler Photosensor, z.B. eine Digitalkamera, sein, optional mit vorgeschalteter Optik, z.B. einer Mikroskopoptik. Der elektronische Speicher kann eine digitale Bildverarbeitungseinheit aufweisen, die optional unmittelbar oder durch Datenübertragungsmittel mit dem Detektor gekoppelt ist. Das vom Detektor detektierte Signal kann entsprechend die Intensität einer bestimmten Wellenlänge sein, z.B. einer Wellenlänge, bei der ein mit einem Partikel verbundenes Markierungsreagenz fluoresziert oder bei der Partikel Licht absorbieren oder streuen. Das vom Detektor detektierte Signal kann ein mikroskopisches Bild sein, z.B. im Hellfeld oder Phasenkontrast oder Fluoreszenzbild oder Dunkelfeld. Das mikroskopische Bild kann mehrere Näpfe gleichzeitig enthalten. Das mikroskopische Bild kann aus mehreren Bildern zusammengesetzt sein, um ein 3D-Abbild des Inhalts der Näpfe zu erhalten. Ein Detektor zur Aufnahme von mikroskopischen Bildern kann unterhalb des Trägers angeordnet sein und genutzt werden, um nach der Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens den Inhalt der Näpfe abzubilden, bevorzugt im Vergleich mit oder als Differenzbild mit einem mikroskopischen Bild, das vom Träger vor der Durchführung des Verfahrens aufgenommen wurde.

Die Anordnung und Ausrichtung eines Detektors auf Flüssigkeit in einem Flüssigkeitsabschnitt, in dem die Flüssigkeit eine kontinuierliche Phase bildet, der insbesondere ein Bereich innerhalb des Tropfenerzeugers oder stromabwärts von dessen Auslassöffnung in einem Bereich kontinuierlicher Flüssigkeit ist, hat den Vorteil, dass der Detektor auf einen quasistationären Bereich strömender Flüssigkeit gerichtet ist. Insbesondere in dieser Ausführungsform kann der Detektor ein Leitfähigkeitssensor sein. Bei Ausrichtung eines Detektors auf einen Bereich innerhalb des Tropfenerzeugers, z.B. durch dessen optisch transparente Wandbereiche, ergibt sich der Vorteil, dass die Brechung von Anregungsstrahlung, die in den Tropfenerzeuger eingestrahlt wird, mittels der Wandbereiche eingestellt werden kann.

In Ausführungsformen, in der die Vorrichtung zusätzlich zu einem mit dem Detektor verbundenen Speicher oder ohne einen mit dem Detektor verbundenen Speicher der Tropfenerzeuger abhängig von dem zumindest einen Detektor gesteuert ist, kann die Transporteinrichtung, insbesondere eine mit dieser verbundene Steuereinrichtung, eingerichtet sein, den Tropfenerzeuger erst dann relativ zur Halteeinrichtung oder die Halteeinrichtung erst dann relativ zum Tropfenerzeuger zu bewegen, wenn zumindest ein,

bevorzugt genau ein vorbestimmtes Signal detektiert ist, das z.B. die Anwesenheit eines Partikels, insbesondere einer Zelle, in einem Tropfen anzeigt. Ein solches vorbestimmtes Signal kann z.B. die Anwesenheit zumindest eines Partikels, der eine Zelle oder ein synthetischer Partikel ist, die Anwesenheit oder Abwesenheit eines Markierungsreagenzes oder ein markiertes spezifisches Bindemolekül sein, z.B. ein markierter Antikörper oder ein markiertes DNA- oder RNA-Molekül, eine markierte Zellwand oder Farbstoff für eine farbliche Markierung von Zellorganellen oder dem Zytosol. In diesen Ausführungsformen kann die Vorrichtung optional ohne einen Speicher sein, der zur Speicherung von Signalen des zumindest einen Detektors eingerichtet ist.

In der Ausführungsform, in der ein Detektor auf einen Bereich gerichtet ist, in dem auf einem an der Halteeinrichtung angeordneten Träger Tropfen angeordnet werden, z.B. auf beabstandeten Oberflächenbereichen eines ebenen Trägers oder in Näpfen eines Trägers angeordnete Tropfen, kann der Detektor unabhängig vom Tropfenerzeuger auf die Halteeinrichtung bzw. auf den darauf angeordneten Träger gerichtet sein. Dabei kann ein Detektor aus der Richtung auf die Halteeinrichtung bzw. auf einen auf einer Halteeinrichtung angeordneten Träger gerichtet sein, aus der der Tropfenerzeuger Flüssigkeit abgesetzt hat. Z.B. kann der Detektor in einer Richtung auf eine Halteeinrichtung gerichtet sein, in der der Detektor auf die Seite eines auf der Halteeinrichtung angeordneten Trägers gerichtet ist, von der sich Näpfe in den Träger erstrecken, bzw. auf die offenen Querschnitte der Näpfe. Dies hat den Vorteil, dass in Näpfen des Trägers abgesetzte Tropfen unmittelbar bzw. ohne Beeinträchtigung durch Material des Trägers vom Detektor erfasst werden können. Zur Anregung von Strahlung, die von Tropfen bzw. darin enthaltenen Substanzen abgegeben wird, kann die Vorrichtung eine Anregungslichtquelle aufweisen, die auf die Halteeinrichtung bzw. auf einen darauf angeordneten Träger gerichtet ist. Eine Anregungslichtquelle kann von derselben Seite wie der Detektor auf die Halteeinrichtung bzw. auf einen darauf angeordneten Träger gerichtet sein, oder von der dem Detektor gegenüberliegenden Seite.

Die Vorrichtung kann einen Detektor oder zumindest zwei oder drei Detektoren aufweisen, die auf einen dieser Bereiche gerichtet sind.

Optional ist der zumindest eine Detektor und der mit diesem verbundene, bevorzugt elektronische Speicher eingerichtet, die Signale des zumindest einen Detektors der Position der Halteeinrichtung relativ zum Tropfenerzeuger zuzuordnen, insbesondere die Signale des

zumindest einen Detektors der Position von Nöpfen zuzuordnen, die an der Halteeinrichtung angeordnet sind. Diese Zuordnung kann in Bezug zu einem auf dem Träger angebrachten Referenzpunkt erfolgen.

Der zumindest eine Detektor kann ein optischer Detektor sein, bevorzugt in Kombination mit einer Lichtquelle, die eingerichtet ist, den Bereich zu bestrahlen, auf den der Detektor gerichtet ist. Alternativ kann ein Detektor ein Leitfähigkeitssensor sein, der eingerichtet ist, Änderungen der Leitfähigkeit bei Anwesenheit eines Partikels zu messen, z.B. bei Durchgang einer partikelhaltigen Flüssigkeit durch einen Abschnitt des Tropfenerzeugers. Generell bevorzugt ist ein Detektor eingerichtet, die Anwesenheit eines Partikels zu bestimmen und/oder die Anwesenheit eines der Flüssigkeit zugesetzten Markierungsreagenzes, das z.B. ein markiertes spezifisches Bindemolekül sein kann, z.B. ein markierter Antikörper oder ein markiertes DNA- oder RNA-Molekül, eine markierte Zellwand oder Farbstoff für eine farbliche Markierung von Zellorganellen oder dem Zytoplasma sein kann, wobei unabhängig vom Bindemolekül oder Markierungsbereich die Markierung generell z.B. ein Nanopartikel, ein Farbstoff oder eine funktionelle Gruppe sein kann, oder das Markierungsreagenz aus einer Markierung bestehen kann.

Der Detektor kann eingerichtet sein, die Anordnung von Tropfen auf den Träger zu detektieren und bevorzugt die detektierte Anordnung von Tropfen auf dem Träger in einem Speicher abzulegen, weiter bevorzugt zusätzlich den Tropfen zugeordnete Signale für die Anwesenheit einer in Tropfen enthaltenen Substanz. Dabei kann die Transporteinrichtung eingerichtet sein, den Tropfenerzeuger oder die Halteeinrichtung unabhängig von dem Träger und von der Anordnung von Nöpfen auf dem Träger zu bewegen. In dieser Ausführungsform ist der Tropfenerzeuger eingerichtet, einen oder mehrere Tropfen unabhängig vom Träger oder von Nöpfen auf dem Träger abzusetzen und der Detektor ist eingerichtet, die Position des auf dem Träger abgesetzten Tropfens oder die Anordnung der auf dem Träger abgesetzten Tropfen zu detektieren, diese detektierte Position oder Anordnung einem Referenzpunkt des Trägers zuzuordnen und diese Daten in einem Speicher abzulegen, bevorzugt zusätzlich den Tropfen zugeordnete Signale für die Anwesenheit einer in Tropfen enthaltenen Substanz. Die Substanz kann zur einfacheren Identifikation dieser Tropfen dienen, z.B. in Form eines Markierungsreagenzes, insbesondere eines Färbemittels.

Generell kann jeder Träger einen Referenzpunkt aufweisen, z.B. eine Kodierung. Generell kann der Referenzpunkt auf dem Träger, auf der Halteeinrichtung oder an einer beliebigen Stelle angeordnet sein.

Der Positionsdetektor der Steuereinrichtung kann auf einen dem Tropfenerzeuger gegenüberliegenden Bereich der Halteeinrichtung oder auf einen dem Tropfenerzeuger zugewandten Bereich der Halteeinrichtung gerichtet sein. Generell ist bevorzugt, dass die Steuereinrichtung eingerichtet ist, die Position von Näpfen eines auf der Halteeinrichtung angeordneten Trägers zu bestimmen und die Transporteinrichtung zu steuern, z.B. zu steuern, dass Näpfe zur Aufnahme von Tropfen passend zum Tropfenerzeuger oder ein Tropfenerzeuger passend zu Näpfen positioniert werden, insbesondere nur abhängig von der Frequenz der Tropfenerzeugung positioniert werden.

Der optionale Positionsdetektor kann eingerichtet sein, die Position der Halteeinrichtung, bevorzugt eines darauf angeordneten Trägers relativ zum Tropfenerzeuger, während der Dauer der Bewegung der Transporteinrichtung kontinuierlich, in einem Intervall oder zu zumindest zwei zeitlich beabstandeten Intervallen, oder nur zu Beginn des Betriebs des Tropfenerzeugers und/oder nur zu Beginn der Bewegung und/oder zum Ende der Bewegung der Transporteinrichtung aufzunehmen. Dabei kann ein Intervall ein oder mehrere, zeitlich beabstandete festgelegte zeitliche Abschnitte der Bewegung der Transporteinrichtung und/oder des Betriebs des Tropfenerzeugers sein, oder eine Anzahl von Näpfen, die passend zum Tropfenerzeuger positioniert sind.

Die Transporteinrichtung kann einen Korrekturantrieb aufweisen, z.B. Piezoaktoren, der vom Positionsdetektor gesteuert ist. Dabei kann die Bewegung der Transporteinrichtung, insbesondere mittels eines Korrekturantriebs, ein Beschleunigen oder Abbremsen der Bewegung der Transporteinrichtung und/oder eine Bewegung orthogonal zur Bewegung der Transporteinrichtung sein, optional parallel oder orthogonal zur Ebene der Halteeinrichtung oder zur Oberfläche eines darauf anzuordnenden Trägers. Dabei wirkt der Korrekturantrieb auf die Transporteinrichtung, um die Bewegung der Halteeinrichtung oder des Tropfenerzeugers abhängig vom Positionsdetektor zu steuern. Ein Korrekturantrieb kann zwischen der Transporteinrichtung und der davon zur Bewegung angetriebenen Halteeinrichtung oder dem Tropfenerzeuger angebracht sein. Alternativ kann der die Transporteinrichtung eingerichtet sein, eines von Halteeinrichtung und Tropfenerzeuger zu

bewegen und der Korrekturantrieb kann eingerichtet sein, das andere von Halteeinrichtung und Tropfenerzeuger zu bewegen, das nicht von der Transporteinrichtung bewegt wird.

Die Bewegung der Transporteinrichtung kann insbesondere abhängig vom Positionsdetektor gesteuert sein, z.B. bei Einrichtung des Positionsdetektors zur kontinuierlichen Detektion der Relativposition der Halteeinrichtung bzw. eines daran angeordneten Trägers zum Tropfenerzeuger. Die Transporteinrichtung kann abhängig vom Positionsdetektor gesteuert sein, die Halteeinrichtung oder den Tropfenerzeuger zu bewegen.

Optional weist die Vorrichtung zumindest zwei Tropfenerzeuger auf, die in einem Abstand voneinander angeordnet sind, der z.B. senkrecht oder parallel zur Bewegungsrichtung der Transporteinrichtung liegt.

Bevorzugt ist der Tropfenerzeuger in einem Abstand zur Halteeinrichtung angeordnet, um den der Tropfenerzeuger bei Anordnung eines Trägers auf der Halteeinrichtung von dieser beabstandet ist, dass aus dem Tropfenerzeuger austretende Flüssigkeit den Abstand des Tropfenerzeugers vom Träger als frei fallende Tropfen queren. Alternativ kann der Tropfenerzeuger in einem Abstand von der Halteeinrichtung angeordnet sein, in dem der Tropfenerzeuger bei Anordnung eines Trägers auf der Halteeinrichtung von dieser beabstandet ist, dass aus dem Tropfenerzeuger austretende Flüssigkeit den Träger kontaktiert, bevor die Flüssigkeit den Kontakt zum Tropfenerzeuger verliert, z.B. in einem Abstand gleich dem oder kleiner als der Durchmesser austretender Flüssigkeit. Der Durchmesser austretender Flüssigkeit bzw. von Tropfen kann abhängig von Parametern wie der Oberflächenspannung, der Viskosität, Temperatur, dem Druckniveau im Tropfenerzeuger, der Größe der Auslassöffnung, der Frequenz und Amplitude des tropfenerzeugenden Energieeintrags des Tropfenerzeugers bestimmt werden.

Der Tropfenerzeuger kann eine Leitung mit einer Auslassöffnung oder eine Düse zur Erzeugung von Tropfen sein, optional mit einem transparenten Bereich, auf den ein optischer Detektor gerichtet ist. Der Tropfenerzeuger ist mit einer Quelle für die Flüssigkeit verbunden, aus der Tropfen erzeugt werden sollen. Dabei kann die Quelle mit Druck beaufschlagt sein oder eine Pumpe kann in der Leitung zwischen der Quelle und dem Tropfenerzeuger angeordnet sein. Zur Erzeugung von Tropfen kann der Tropfenerzeuger einen Schwingungserzeuger aufweisen, z.B. einen gesteuert mit elektrischen Spannungsimpulsen

beaufschlagbaren Piezokristall. Der Schwingungserzeuger ist eingerichtet, Frequenz, auch als Rate bezeichnet, und Amplitude des tropfenerzeugenden Energieeintrags auf den Flüssigkeitsstrom im Tropfenerzeuger aufzubringen.

Optional sind zumindest zwei Tropfenerzeuger mit einer Quelle für Flüssigkeit verbunden, wobei die Tropfenerzeuger auf eine Halteeinrichtung gerichtet sind und eingerichtet sind, gleichzeitig Tropfen der Flüssigkeit auf genau einen Träger, insbesondere in dessen Näpfe, abzusetzen.

Die Halteeinrichtung, an der der Träger anzuordnen ist, kann durch die Transporteinrichtung und/oder den Korrekturantrieb in zumindest einer Richtung, bevorzugt in einer Ebene gesteuert verfahrbar sein, z.B. ein XY-Tisch, oder in drei Dimensionen verfahrbar sein, z.B. ein XYZ-Tisch.

Der Träger weist bevorzugt eine einteilige oder mehrteilige Platte aus Glas und/oder Silizium und/oder Kunststoff und/oder Metall auf und hat optional in regelmäßiger oder unregelmäßiger Anordnung Näpfe oder weist eine ebene Oberfläche auf, auf die in beabstandeten Bereichen Tropfen abgesetzt werden können, oder besteht daraus. Bevorzugt haben die Näpfe nur eine Querschnittsöffnung, alternativ können die Näpfe Durchgangslöcher sein, die sich durch die vollständige Dicke des Trägers erstrecken und weisen einen Querschnitt auf, der Tropfen aus der abgesetzten Flüssigkeit durch Kapillarkräfte hält, z.B. einen runden Querschnitt von 10 bis 500 μm Durchmesser. Die Näpfe können einen Abstand von 5 μm bis 500 μm oder mehr haben. Die Näpfe können eine Tiefe von 15 μm bis 500 μm oder mehr haben. Das Verhältnis von Tiefe zu Durchmesser kann bevorzugt zwischen 1 und 50 sein.

Optional kann die Vorrichtung eingerichtet sein, die Anzahl und/oder Abfolge der Tropfen bzw. Anordnung der Näpfe, für die die Abwesenheit eines Signals des Detektors für die Anwesenheit einer Substanz, insbesondere eines Partikels detektiert wurde, zu bestimmen und dem Träger als Identifikationsmuster zuzuordnen.

Die Transporteinrichtung kann zur Positionsbestimmung und als Antrieb z.B. einen Referenzschalter und Schrittmotor aufweisen, einen mechanischen Anschlag und einen

gesteuerten Servomotor, oder einen geregelten Glasmaßstab, z.B. mit elektrooptischer Abtastung, mit Linearachsenantrieb.

Generell kann die Steuereinrichtung eingerichtet sein, dass Daten für die Anordnung von Nöpfen eingegeben werden können und die Steuereinrichtung die Transporteinrichtung zur Positionierung des Tropfenerzeugers oder der Halteeinrichtung nach der eingegebenen Anordnung bewegt. Dabei kann die Anordnung eine regelmäßige, z.B. ein Raster der Nöpfe sein, oder eine unregelmäßige Anordnung der Nöpfe. Die Vorrichtung kann einen Sensor für die Eingabe von Daten für die Anordnung der Nöpfe aufweisen, z.B. ein Mikroskop, das als Eingabe für Daten die Anordnung der Nöpfe als Bild aufnimmt oder einen optischen Sensor, der zur Erfassung einer Kodierung von Trägern eingerichtet ist, wobei die Kodierung z.B. ein QR-Code auf dem Träger ist. Dabei ist die Kodierung mit Daten für die Anordnung der Nöpfe gekoppelt, wobei die Daten für diese Anordnung aus einem Speicher übernommen werden können. Alternativ oder zusätzlich kann die Steuereinheit eingerichtet sein, den Tropfenerzeuger, insbesondere dessen Druckbeaufschlagung und/oder dessen Schwingungserzeuger, und/oder die Transporteinrichtung abhängig von der eingegebenen Anordnung von Nöpfen zu steuern, um Tropfen gezielt in die Nöpfe der Anordnung abzusetzen.

Der Tropfenerzeuger kann eingerichtet sein, insbesondere unabhängig von Signalen des Detektors für die Anwesenheit einer Substanz in Tropfen eingerichtet sein, eine Abfolge von Tropfen zu erzeugen, bei der zumindest zwei Tropfen in kürzerem zeitlichen Abstand erzeugt werden, als ein längerer zeitlicher Abstand zum anschließend erzeugten Tropfen beträgt. Bei dieser Abfolge von Tropfen ist die Transporteinrichtung eingerichtet, die Halteeinrichtung und den Tropfenerzeuger relativ zueinander auszurichten, dass ein Napf eines auf der Halteeinrichtung anzuordnenden Trägers passend zum Tropfenerzeuger positioniert ist, um die zumindest zwei Tropfen innerhalb des kürzeren zeitlichen Abstands darin abzusetzen und die Transporteinrichtung eingerichtet ist, die Halteeinrichtung und den Tropfenerzeuger während des längeren zeitlichen Abstands zum anschließend erzeugten Tropfen relativ zueinander zu bewegen, um einen weiteren Napf passend zum Tropfenerzeuger zu positionieren. Auch in dieser Ausführungsform ist der Tropfenerzeuger bevorzugt eingerichtet, die Abfolge der Tropfen unabhängig vom Signal eines Detektors für die Anwesenheit einer Substanz in Tropfen zu erzeugen. Alternativ kann der Tropfenerzeuger eingerichtet sein, Tropfen in kürzerem zeitlichen Abstand zu erzeugen, bis zumindest ein

Signal für die Anwesenheit einer Substanz in einem Tropfen detektiert wird und den unmittelbar anschließenden Tropfen in längerem zeitlichen Abstand zu erzeugen. Dabei kann der Tropfenerzeuger, z.B. dessen Schwingungserzeuger oder dessen Druckbeaufschlagung abhängig vom Signal des Detektors für die Anwesenheit einer Substanz gesteuert sein.

Generell kann die Vorrichtung eingerichtet sein, im Anschluss an eine erste Bewegung der Transporteinrichtung zur Ausrichtung jedes Napfs eines auf der Halteeinrichtung angeordneten Trägers relativ zum Tropfenerzeuger, den Tropfenerzeuger oder die Halteeinrichtung nochmal mittels der Transporteinrichtung ausschließlich mit denjenigen Nöpfen passend zum Tropfenerzeuger zu positionieren, für die durch den Detektor die Abwesenheit der vorbestimmten Anzahl von Partikeln, insbesondere das Fehlen von Partikeln, detektiert wurde. Im Verfahren kann der Tropfenerzeuger abhängig von den durch den Detektor aufgenommenen Signalen passend zu den Nöpfen bewegt werden, für die die Abwesenheit der vorbestimmten Anzahl von Partikeln, insbesondere das Fehlen von Partikeln, detektiert wurde.

Optional ist die Vorrichtung eingerichtet, bei Detektion eines vorbestimmten Signals durch einen Detektor das Verfahren abubrechen, z.B. bei Detektion eines Signals, das die Abwesenheit eines Trägers oder von Nöpfen anzeigt, um keine Flüssigkeit austreten zu lassen, wenn kein Träger oder ein Träger in falscher Orientierung an der Halteeinrichtung angeordnet ist. Ein Signal, bei dessen Detektion das Verfahren abgebrochen wird, kann eines sein, das die Abwesenheit von Flüssigkeit in einem der Tropfenerzeuger anzeigt, ein Signal, das eine Tropfenfrequenz außerhalb eines vorbestimmten Bereichs anzeigt, oder ein Signal, das die Anwesenheit von Tropfen außerhalb von Nöpfen eines Trägers anzeigt, z.B. ein durch einen auf den Träger gerichteten Detektor oder Positionssensor aufgenommenes Signal.

Das unter Verwendung der Vorrichtung durchführbare Verfahren zum Absetzen von Tropfen auf einen Träger hat den Vorteil, Tropfen mit einer hohen Rate auf einem auf der Halteeinrichtung angeordneten Träger abzusetzen, insbesondere in einzelne Nöpfe eines Trägers abzusetzen, und das Signal des zumindest einen Detektors den Tropfen bzw. den einzelnen Nöpfen, in die die Tropfen abgesetzt sind, zuzuordnen. Die Vorrichtung erzeugt eine Anordnung von Tropfen, insbesondere von einzelnen Tropfen, auf einem Träger bzw. in Nöpfen eines Trägers, jeweils mit Zuordnung des Signals des Detektors zu den Tropfen bzw. zu den Nöpfen. Daher ist eine Identifikation der Nöpfe einfach, die genau einen oder eine

vorbestimmte Anzahl Tropfen mit einer ein Detektorsignal erzeugenden Substanz bzw. mit einem Partikel enthalten. Die Rate des Absetzens von einzelnen Tropfen in jeweils einzelne Näpfe kann z.B. 1 bis 6.000 Hz, z.B. 20 bis 200 Hz, z.B. 40 bis 60 Hz betragen und ist bevorzugt gleich der Rate der Erzeugung von Tropfen. Generell beschreibt die Einrichtung der Vorrichtung bzw. deren Teilen die entsprechenden Schritte des Verfahrens.

Die Transporteinrichtung kann zur Relativbewegung mit derselben Geschwindigkeit zwischen Tropfenerzeuger und Halteeinrichtung eingerichtet, wenn ein Napf passend zum Tropfenerzeuger positioniert ist und auch wenn kein Napf passend zum Tropfenerzeuger positioniert ist. Generell ist bevorzugt, dass die Transporteinrichtung zur kontinuierlichen Bewegung mit konstanter Geschwindigkeit eingerichtet ist und während dieser Bewegung der Tropfenerzeuger zum kontinuierlichen Erzeugen bzw. Absetzen von Tropfen gesteuert ist. Dabei kann der Tropfenerzeuger eingerichtet sein, bei passender Positionierung zu Nöpfen in diese eine vorbestimmte Anzahl von Tropfen mit höherer Rate abzusetzen, als bei Positionierung neben einem Napf, z.B. zum Absetzen von Tropfen bei höherer Rate in passend positionierte Nöpfe als bei nicht passender Positionierung des Tropfenerzeugers, insbesondere bei Positionierung neben Nöpfen.

Generell beschreibt die Einrichtung der Vorrichtung und die Einrichtung von deren Elementen auch das Verfahren, und das Verfahren beschreibt auch die Einrichtung der Vorrichtung und von deren Elementen zu den Verfahrensschritten.

Das Verfahren weist die Schritte

- mittels eines Tropfenerzeugers, Erzeugen von Tropfen aus einer Flüssigkeit, die zumindest eine Substanz enthält, die bevorzugt Partikel sind, und Absetzen von Tropfen auf einem Träger, bevorzugt Absetzen einzelner Tropfen in jeweils einzelne Nöpfe eines Trägers oder auf beabstandete Bereiche einer ebenen Oberfläche eines Trägers, während der Träger an einer Halteeinrichtung angeordnet ist,
- Detektieren eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt, aus dem ein Tropfen gebildet wird und/oder Detektieren eines Signals für jeden Tropfen mittels zumindest eines Detektors, und/oder Detektieren eines Signals für jeden Napf mittels eines Detektors, wobei die Signale die Anwesenheit oder Abwesenheit der Substanz anzeigen,

- und bevorzugt Zuordnen der Signale zu Bereichen des Trägers, auf denen Tropfen abgesetzt sind, bevorzugt Zuordnen der Signale zu den Näpfen eines Trägers, in die einzelne Tropfen abgesetzt wurden, und Speichern der Signale mit Zuordnung zu den Bereichen des Trägers bzw. Zuordnung der Signale zu den Näpfen eines Trägers in einem Speicher, der ein elektronischer Speicher sein kann,
- Bewegen des Trägers mittels einer Transporteinrichtung in einem Abstand zum Tropfenerzeuger relativ zum Tropfenerzeuger,
- bevorzugt Detektieren, bevorzugt mittels eines Positionsdetektors, der Relativposition des Trägers zum Tropfenerzeuger und, mittels einer durch eine Steuereinrichtung gesteuerten Transporteinrichtung, Positionieren bzw. Bewegen des Trägers, um nacheinander beabstandete Oberflächenbereiche, insbesondere Näpfe des Trägers passend zum Tropfenerzeuger zu positionieren, insbesondere Positionieren jeweils eines separaten Napfs für jeden einzelnen Tropfen oder für eine vorbestimmte Anzahl von Tropfen, passend zum Tropfenerzeuger,
- bevorzugt Detektieren der Position des Trägers mittels eines Korrekturantriebs, der abhängig von einem Positionsdetektor gesteuert ist, und Positionieren des Trägers relativ zum Tropfenerzeugers, wobei die Transporteinrichtung eines von Halteeinrichtung bzw. Träger und Tropfenerzeuger bewegt und der Korrekturantrieb das andere von Halteeinrichtung bzw. Träger und Tropfenerzeuger zu bewegen, das nicht von der Transporteinrichtung bewegt wird, oder der Korrekturantrieb mit der Transporteinrichtung verbunden ist,

auf oder besteht daraus.

Der zumindest eine Detektor kann auf einen Flüssigkeitsabschnitt gerichtet sein, aus dem anschließend ein Tropfen gebildet wird, z.B. ein kontinuierlicher Abschnitt der Flüssigkeit innerhalb des Tropfenerzeugers oder innerhalb eines Leitungsabschnitts vor dessen Auslassöffnung oder unmittelbar angrenzend an die Auslassöffnung des Tropfenerzeugers. Alternativ oder zusätzlich kann der zumindest eine Detektor auf einen Bereich gerichtet sein, der in einem Abstand vom Tropfenerzeuger angeordnet ist und in dem separate Tropfen, insbesondere als freier Tropfenstrom vorliegen bzw. sich in Richtung auf den Träger bewegen. Diese Ausführungsform hat den Vorteil, dass der zeitliche Abstand zwischen der Detektion und dem Absetzen der Tropfen auf dem Träger geringer ist, als bei Detektion von Abschnitten des kontinuierlichen Flüssigkeitsstroms innerhalb oder direkt angrenzend an den Tropfenerzeuger.

Alternativ oder zusätzlich kann der zumindest eine Detektor auf einen Bereich gerichtet sein, in dem der Träger auf der Transporteinrichtung angeordnet wird, bzw. der Detektor kann auf den Träger gerichtet sein, z.B. auf dessen Oberseite, von der sich Nöpfe in den Träger erstrecken, oder von der gegenüberliegenden Unterseite, die der Seite gegenüberliegt, auf die Tropfen abgesetzt wurden. Dabei erlaubt ein Detektor, der auf den Träger gerichtet ist, die Detektion und Zuordnung der detektierten Signale mit zeitlichem und räumlichen Abstand vom Absetzen der Tropfen auf dem Träger und insbesondere die Detektion und Zuordnung der detektierten Signale ohne zeitlichen Abstand zwischen der Detektion von Tropfen und dem Absetzen der Tropfen auf dem Träger, so dass die Korrektheit der Zuordnung z.B. gegenüber der Detektion im kontinuierlichen Flüssigkeitsstrom oder im freien Tropfenstrom erhöht ist. Ein Detektor, der auf den Bereich gerichtet ist, in dem die Oberseite eines darauf angeordneten Trägers liegt, kann in festem Abstand mit dem Tropfenerzeuger verbunden sein, und auf die Halteeinrichtung bzw. auf einen Träger darauf gerichtet und weiter optional mittels der Transporteinrichtung parallel mit dem Tropfenerzeuger beweglich sein.

In einer Ausführungsform kann der Detektor steuern, dass die Transporteinrichtung erst dann den Träger relativ zum Tropfenerzeuger bewegt, wenn der Detektor ein Signal für zumindest einen oder genau einen Partikel oder für eine vorbestimmte Anzahl von Partikeln, z.B. für ein Markierungsreagenz, detektiert, so dass auf einen Bereich, insbesondere in einen Napf, eines Trägers Tropfen abgesetzt werden, bis der Detektor ein solches Signal detektiert. Dabei kann die Transporteinrichtung mittels der Steuereinrichtung abhängig vom Detektor zur Positionierung der Halteeinrichtung relativ zum Tropfenerzeuger gesteuert sein. Auch in dieser Ausführungsform ist die Vorrichtung bevorzugt eingerichtet, die Transporteinrichtung abhängig von der Eingabe von Daten für die Anordnung von Nöpfen eines auf der Halteeinrichtung anzuordnenden Trägers zu steuern und die Nöpfe dieser Anordnung unmittelbar nacheinander passend zum Tropfenerzeuger anzuordnen. In dieser Ausführungsform kann das Verfahren optional ohne einen Schritt des Speicherns von Signalen des Detektors und/oder ohne einen Schritt des Zuordnens von Signalen des Detektors zur Positionierung des Trägers bzw. der Transporteinrichtung ablaufen.

Generell kann vorgesehen sein, dass in die Steuereinrichtung Daten für die Anordnung von Nöpfen eingegeben werden können und die Steuereinrichtung die Transporteinrichtung zur Positionierung des Tropfenerzeugers oder der Halteeinrichtung nach der eingegebenen Anordnung bewegt. Dabei kann die Anordnung eine regelmäßige, z.B. ein Raster der Nöpfe

sein, oder eine unregelmäßige Anordnung der Näpfe. Über einen Sensor können Daten für die Anordnung der Näpfe eingegeben werden, wobei der Sensor z.B. ein Mikroskop, das als Eingabe für Daten die Anordnung der Näpfe als Bild aufnimmt, oder ein optischen Sensor ist, der zur Erfassung einer Kodierung von Trägern eingerichtet ist, wobei die Kodierung z.B. ein QR-Code auf dem Träger ist. Dabei ist die Kodierung mit Daten für die Anordnung der Näpfe gekoppelt und die Daten für diese Anordnung können aus einem Speicher übernommen werden. Alternativ oder zusätzlich kann die Steuereinheit den Tropfenerzeuger, insbesondere dessen Druckbeaufschlagung und/oder dessen Schwingungserzeuger, und/oder die Transporteinrichtung abhängig von der eingegebenen Anordnung von Näpfen steuern, um Tropfen gezielt in die Näpfe der Anordnung abzusetzen.

In einer alternativen Ausführungsform wird das Verfahren ohne Detektion der Flüssigkeit ausgeführt, sondern es wird die Anzahl von Tropfen vorbestimmt, die ein Volumen umfasst, das im statistischen Mittel eine bestimmte Anzahl von Partikeln enthält, z.B. zumindest oder genau 1, 2, 3, 4, 5, 6 oder mehr Partikel. Die Anzahl von Tropfen für ein Volumen, das eine vorbestimmte Anzahl von Partikeln umfasst, kann aus der Konzentration der Partikel in der Flüssigkeit vorbestimmt werden.

Optional kann im Verfahren vorgesehen sein, dass an jedem Bereich des Trägers, an dem zumindest ein Tropfen abgesetzt wird, vor und/oder nach dem Absetzen von Tropfen zumindest ein Tropfen zumindest einer zweiten Flüssigkeit abgesetzt wird. Die zweite Flüssigkeit weist eine andere Zusammensetzung als die partikelhaltige Flüssigkeit auf. Die zweite Flüssigkeit kann z.B. ein Kultivierungsmedium für Zellen, eine ein Reagenz enthaltende Flüssigkeit, eine einen Farbstoff enthaltende Flüssigkeit, eine ein Biomolekül oder mehrere verschiedene Biomoleküle enthaltende Flüssigkeit sein. Dabei können im Verfahren zunächst Tropfen einer zweiten Flüssigkeit auf Bereiche, insbesondere Näpfe, eines Trägers abgesetzt werden, anschließend Tropfen der Flüssigkeit, die Partikel enthält, und optional anschließend Tropfen einer dritten Flüssigkeit. Die dritte Flüssigkeit kann dieselbe Zusammensetzung aufweisen, wie die zweite Flüssigkeit, oder eine andere Zusammensetzung aufweisen.

Weiter optional kann die Transporteinrichtung gesteuert sein, einen Anteil der Näpfe eines Trägers passend zu zumindest einem Tropfenerzeuger auszurichten, bis Tropfen in diesen Anteil der Näpfe abgesetzt sind, während ein anderer Anteil der Näpfe des Trägers nicht

passend zum Tropfenerzeuger ausgerichtet wird und in diese kein Tropfen abgesetzt wird. Weiter optional kann der Träger unterschiedlich große Näpfe aufweisen, die Daten zur Anordnung der Näpfe auch Daten zur unterschiedlichen Größe der Näpfe enthalten, und davon abhängig die Transporteinrichtung gesteuert sein. Dabei kann die Transporteinrichtung gesteuert sein, Näpfe abhängig von ihrer Größe passend zum Tropfenerzeuger auszurichten, bis eine von der Größe des Napfs abhängige Anzahl von Tropfen abgesetzt und/oder zusätzlich passend zu einem zweiten und/oder dritten Tropfenerzeuger auszurichten, bis daraus eine von der Napfgröße abhängige Anzahl von Tropfen abgesetzt ist.

Weiter kann der Tropfenerzeuger gesteuert sein, abhängig von der Größe der Näpfe Tropfen mit anderer Frequenz zu erzeugen.

Optional kann die Positionsdetektion genutzt werden, um bei zu großen Abweichungen von einer Soll-Position, die durch die Position der Näpfe bestimmt ist, um das Verfahren während der Ausführung zu unterbrechen oder abzubrechen.

Die Erfindung wird nun genauer anhand eines Beispiels und mit Bezug auf die Figuren beschrieben, die schematisch in

- Fig. 1 eine erfindungsgemäße Vorrichtung und
- Fig. 2 eine Ausführungsform der Vorrichtung zeigen.

Die Figur 1 zeigt als Halteeinrichtung 1 einen XY-Tisch, der in der horizontalen XY-Ebene gesteuert verfahrbar ist. Auf dem XY-Tisch ist ein Träger 2, z.B. aus Kunststoff oder Glas oder Silizium oder Metall, angeordnet, der als beabstandete Oberflächenbereiche Näpfe 3 aufweist, z.B. in Reihen und/oder Zeilen angeordnete Näpfe 3, die sich von nur einer Seite, hier als Oberseite 2a bezeichnet, als Ausnehmungen in den Träger 2 erstrecken. Ein Tropfenerzeuger 4 in Form einer Düse ist in einem Abstand von dem XY-Tisch angeordnet, so dass bei Anordnung des Trägers 2 an dem XY-Tisch die Düse als Tropfenerzeuger 4 so beabstandet ist, dass sich aus der aus der Düse austretenden Flüssigkeit 5 ein freier Tropfenstrom 6 ausbildet, oder dass aus der Düse austretende Flüssigkeit 5 bereits in Kontakt mit dem Träger 2 kommt, während sie noch Kontakt mit der Düse hat. Der Tropfenerzeuger 4 in Form der Düse weist einen optionalen Schwingungserzeuger 7 auf, z.B. einen mit Spannungsimpulsen beaufschlagten Piezokristall. Ein Positionsdetektor 10 ist auf die Halteeinrichtung 1 bzw. den XY-Tisch 1 gerichtet, insbesondere auf die der Düse 4

zugewandte Oberseite 2a des Trägers 2 oder auf die der Düse 4 gegenüberliegende Unterseite 2b des Trägers 2, um die Position der Nöpfe 3 zu detektieren und die Nöpfe 3 passend zum Tropfenerzeuger 4 zu positionieren. Die Halteeinrichtung 1 ist mittels einer Transporteinrichtung 13a beweglich und mittels einer Steuereinrichtung 14 abhängig vom Signal des Positionsdetektors 10 gesteuert, der die Position der Nöpfe 3 in dem Träger 2 aufnimmt. Alternativ oder zusätzlich zu einer Transporteinrichtung 13a, die die Halteeinrichtung 1 bewegt, weist die Vorrichtung eine Transporteinrichtung 13b auf, die zur gesteuerten Bewegung des Tropfenerzeugers 4 entlang der Halteeinrichtung 1 eingerichtet ist. Zur Eingabe von Daten für die Anordnung von Nöpfen 3 eines auf der Halteeinrichtung 1 anzuordnenden Trägers 2 weist die Vorrichtung einen Sensor 15 auf, der zur Erfassung der Anordnung der Nöpfe 3 oder zur Erfassung einer Kodierung 16 eines auf der Halteeinrichtung 1 angeordneten Trägers 2 eingerichtet ist. Die Kodierung 16 ist z.B. mit einem Speicher 17 verbunden, der mit der Kodierung 16 verknüpfte Daten zur Anordnung von Nöpfen 3 eines Trägers 2 enthält. Eine Lichtquelle 18 ist zur Beleuchtung des Trägers 2 und ggf. einer daran angebrachten Kodierung 16 auf die Halteeinrichtung 1 gerichtet.

Der zumindest eine Detektor 11a kann auf einen Flüssigkeitsabschnitt 9 innerhalb des Tropfenerzeugers 4 gerichtet sein. Dabei kann der Detektor 11a2 als Durchlass mit Leitfähigkeitssensor im Innenvolumen der Düse 4 ausgebildet sein und eingerichtet sein, eine Leitfähigkeitsänderung bei Durchtritt eines Partikels als Signal zu bestimmen. Alternativ kann der Detektor 11a ein optischer Detektor sein, der durch einen optisch durchlässigen Wandabschnitt 4o der Düse 4 auf deren Innenvolumen gerichtet ist, optional mit einer Anregungslichtquelle, die auf denselben Flüssigkeitsabschnitt 9 bzw. dasselbe Innenvolumen gerichtet ist.

Zusätzlich oder alternativ kann der zumindest eine Detektor 11b auf einen Bereich unmittelbar angrenzend an die Auslassöffnung 4a der Düse 4 gerichtet sein, in dem ein kontinuierlicher Flüssigkeitsstrom 5 austritt, oder der Detektor 11c kann auf einen Bereich stromabwärts der Auslassöffnung 4a der Düse 4 gerichtet sein, in dem ein freier Tropfenstrom 6 ausgebildet ist.

Zusätzlich oder alternativ kann der zumindest eine Detektor 11d auf den Träger 2 bzw. auf die Nöpfe 3 gerichtet sein, von der Oberseite 2a und/oder von der Unterseite 2b des Trägers 2. Generell kann jeder Detektor eine Quelle für Beleuchtung und/oder Anregungsstrahlung bzw.

Anregungslicht aufweisen, die auf den zu detektierenden Bereich gerichtet ist. Generell sind in der Figur für die Detektoren 11a, 11b, 11c, 11d, 11a2 eingestrahlte Anregungsstrahlung und detektierbare Strahlung, die vom Detektor aufgenommen und zu einem Signal verarbeitet werden kann, als entgegengesetzt gerichtete parallele Pfeile dargestellt.

Die Fig. 1 zeigt einen Korrekturantrieb 19, einmal zwischen der Transporteinrichtung 13a und der davon zur Bewegung angetriebenen Halteeinrichtung 1 angebracht, und als Alternative einmal zwischen der Transporteinrichtung 13b und dem davon zur Bewegung angetriebenen Tropfenerzeuger 4 angebracht. Der Korrekturantrieb 19 ist abhängig vom Positionsdetektor 10 gesteuert.

Die Fig. 2 zeigt eine Ausführungsform, die zusätzlich einen zweiten Tropfenerzeuger 8a und einen dritten Tropfenerzeuger 8b aufweist, die gemeinsam mit dem Tropfenerzeuger 4 mittels der Transporteinrichtung 13b entlang der Halteeinrichtung 1 bewegt werden, oder die gemeinsam mit dem Tropfenerzeuger 4 ortsfest angebracht sind, während die Halteeinrichtung 1 mittels der Transporteinrichtung 13a bewegt wird.

Beispiel: Absetzen von Zellen, Zellclustern oder synthetischen Partikeln, die in Medium suspendiert sind, in Näpfe eines Trägers

Stellvertretend für eine in einer Flüssigkeit enthaltene Substanz wurden als Partikel in Kulturmedium suspendierte kultivierte tierische Einzelzellen mittels einer Düse als Tropfenerzeuger 4 auf einen Träger 2 getropft. Die suspendierten Zellen wurden aus einem Vorratsbehälter mit einer Fließrate durch eine Düse gefördert, die Tropfen mit einem Volumen von jeweils ca. 100 bis 50 μL bei einer Rate von ca. 50 Hz erzeugte, während unterhalb der Düse mittels eines gesteuerten XY-Tischs, der die Transporteinrichtung 13a und die Halteeinrichtung 1 bildete, eine Glasplatte mit Nöpfen 3 als Träger 2 entlang bewegt wurde. Der XY-Tisch war in einem Abstand von der Düsenöffnung angeordnet, in dem die Glasplatte ca. 50 bis 150 μm von der Düsenöffnung beabstandet war. Die Nöpfe wiesen ein Innenvolumen von ca. 200 μL auf und waren rasterförmig angeordnet. Der XY-Tisch war gesteuert, dass jeweils ein Napf beim Absetzen eines einzelnen Tropfens aus der Düse unterhalb der Düse angeordnet war. Die Nöpfe der Glasplatte wurden mit einer Kamera als Positionsdetektor bestimmt, dessen Signal zur Steuerung des XY-Tischs zur Positionierung der Nöpfe verwendet wurde.

Bei einer Konzentration von jeweils einer Zelle in nur 20% der abgesetzten Tropfen bei einer Tropfenerzeugungsrate von 50 Hz ergab sich eine Leistung von 10 Hz einzeln abgesetzter Zellen, umgerechnet 2500 Nöpfe mit Tropfen, davon 500 Nöpfe mit vereinzelt Zellen, innerhalb von 50 s.

Mit Absetzen von zumindest zwei Tropfen bei dieser Zellkonzentration und größeren Nöpfen oder bei einer höheren Zellkonzentration kann der Anteil vereinzelt in Nöpfen abgesetzter Zellen erhöht werden, bzw. der Anteil von Nöpfen ohne Zelle verringert werden.

Als Beispiel für Zellen wurden kultivierte und in Medium suspendierte pflanzliche oder tierische Zellen verwendet oder Blutzellen, z.B. aus Vollblut isolierte kernhaltige Zellen. Als Alternative wurden zusammengeballte kultivierte tierische Zellen, sogenannte Zellcluster, verwendet. Als Beispiel für Bakterien wurden kultivierte E. coli eingesetzt. Als Beispiel für synthetische Partikel wurden kugelförmige Glas- oder Kunststoffpartikel einer mittleren Größe von 15 µm verwendet. Die Einrichtung der Vorrichtung bzw. eingestellte Verfahrensparameter sind nachfolgend zusammengefasst:

Parameter	Beispielartikel 1	Beispielartikel 2	Beispielartikel 3	Beispielartikel 4
Partikel	Tierische Zellen (z.B. Immunzellen), Pflanzenzellen	Zellcluster	Bakterien	Synthetische Partikel (Beads)
Tropfenvolumen	50 pl	70 nl	50 pl	35 pl
Tropfenrate	50 Hz	10 Hz	100 Hz	1 Hz
Bewegung	Träger	Träger	Träger	Düse
Düse	Glaskapillare	Glaskapillare	Glaskapillare	SiJet
Abstand Düse Napf	0,2 mm	0,5 mm	0,2 mm	5 mm
Durchmesser Napf	150 µm	1000 µm	150 µm	500 µm
Tiefe Napf	300 µm	300 µm	300 µm	100 µm
Volumen Napf (ca.)*	5,3 nl	235 nl	5,3 nl	19,6 nl
Positionsdetektor und Transporteinrichtung	Referenzschalter + Schrittmotor	Mechanischer Anschlag + Servomotor	Geregelte Linearachse mit Glasmaßstab	Geregelte Linearachse mit Glasmaßstab
Partikelkonzentration in Flüssigkeit	1.000.000/ml	10.000/ml	500.000/ml	500.000/ml
Anzahl Tropfen pro Napf	1	1	10	50
Anzahl Näpfe auf Träger	200.000	500	100.000	500
Anteil der Näpfe mit einer Zelle nach Poisson-Verteilung	ca. 5%	ca. 35%	ca. 19%	ca. 37%
Material des Trägers	Glas	Metall mit Glasboden	Kunststoff mit Glasboden	Silizium mit Glasboden
Speicher	Externe Bildverarbeitungseinheit	Externe Bildverarbeitungseinheit	Direkt auf der Kamera	Externe Bildverarbeitungseinheit
Vom Detektor detektiertes Signal	Fluoreszenzangeregtes Foto jedes Tropfens	Hellfeldfoto jedes Tropfens	Partikel ja/nein	Hellfeldfoto jedes Tropfens

* zylindrische Form zur Näherung angenommen

Die Tropfenrate und das Tropfenvolumen wurden durch die Frequenz eines Piezokristalls erzeugt, der an der Düse angebracht war, und mittels der Fließrate und des Drucks der Flüssigkeit in der als Tropfenerzeuger eingesetzten Düse.

Die Nöpfe hatten einen im Wesentlichen zylindrischen Querschnitt und waren in Rasteranordnung in einem plattenförmigen Träger aus Glas mit einer Größe von ca. 127 mm x 85 mm, Dicke ca. 0,5 mm ausgebildet.

Der Anteil der Nöpfe mit einer Zelle nach Poisson-Verteilung gibt den statistischen Anteil der Nöpfe mit einer Zelle von der Gesamtzahl der Nöpfe an. Die Werte nach Poisson-Verteilung wie in der Tabelle angegeben sind theoretisch berechnete Werte und berücksichtigen Effekte realer Experimente, z.B. Sedimentation von Partikeln vor dem Absetzen von Tropfen nicht.

Die Transporteinrichtung war jeweils durch den angegebenen Positionsdetektor gesteuert und bewegte für die Beispielpartikel 1, 2 und 3 den Träger durch Verfahren eines XY-Tischs, der die Transporteinrichtung bildete, während die als Tropfenerzeuger eingesetzte Glaskapillare ortsfest oberhalb des XY-Tischs bzw. des Trägers fixiert war. Bei Beispielpartikel 4 wurde als Düse ein in einer Ebene gesteuert verfahrbarer Druckkopf für Flüssigkeiten (SiJet) eingesetzt, während der Träger ortsfest unterhalb fixiert war.

Der Detektor mit Speicher war eingerichtet, die im Flüssigkeitsbereich detektierten Signale aufzunehmen, der jeweils aufgenommenen Position der Transporteinrichtung bzw. des Trägers zuzuordnen und diese Zuordnung zu speichern. Diese Zuordnung erlaubte ein anschließendes einfaches Auffinden von Nöpfen, die die gewünschte Anzahl, z.B. genau ein Partikel enthielten. Alternativ wurde der Detektor nicht auf den freien Tropfenstrom oder auf einen kontinuierlichen Flüssigkeitsstrom im Tropfenerzeuger gerichtet, sondern nach Absetzen der Tropfen wurde der Detektor auf den Träger gerichtet, um die in die Nöpfe abgesetzten Tropfen zu detektieren.

Bezugszeichen:

1 Halteeinrichtung

2 Träger

3 Napf

3a Oberseite

3b Unterseite

4 Tropfenerzeuger

4a optisch durchlässiger Wandabschnitt

5 Flüssigkeit

6 freier Tropfenstrom, Tropfen

7 Schwingungserzeuger

8a zweiter Tropfenerzeuger

8b dritter Tropfenerzeuger

9 Flüssigkeitsabschnitt

10 Positionsdetektor

11a, 11b, 11c, 11d, 11a2 Detektor

12 Speicher

13a, 13b Transporteinrichtung

14 Steuereinrichtung

15 Sensor

16 Kodierung, Referenzpunkt

17 Speicher

18 Lichtquelle

19 Korrekturantrieb

Ansprüche

1. Vorrichtung zum Absetzen von Flüssigkeitstropfen auf einen Träger (2), die
 - einen Tropfenerzeuger (4), der zur Erzeugung von Tropfen aus einer Flüssigkeit eingerichtet ist,
 - eine Halteeinrichtung (1), die zur Aufnahme eines Trägers (2) eingerichtet ist,
 - zumindest einen Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2), der zur Detektion eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt, aus dem der Tropfenerzeuger (4) einen Tropfen bildet, und/oder zur Detektion eines Signals für jeden erzeugten Tropfen eingerichtet ist, wobei der zumindest eine Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) mit einem Speicher (12) verbunden ist, der eingerichtet ist, von dem zumindest einen Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) aufgenommene Signale den Bereichen, auf die der Tropfenerzeuger (4) gerichtet ist, zuzuordnen und zu speichern,
 - wobei der Tropfenerzeuger (4) eingerichtet ist, Tropfen unabhängig von Signalen des Detektors (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) zu erzeugen, und
 - eine Transporteinrichtung (13a, 13b), die zur Bewegung der Halteeinrichtung (1) oder des Tropfenerzeugers (4) eingerichtet ist, aufweist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine Steuereinrichtung (14) mit einem auf die Halteeinrichtung (1) gerichteten Positionsdetektor (10), der eingerichtet ist, die Relativposition von Näpfen (3) eines an der Halteeinrichtung (1) angeordneten Trägers (2) zum Tropfenerzeuger (4) zu detektieren und die Transporteinrichtung (13a, 13b) zur Relativbewegung von Halteeinrichtung (1) und Tropfenerzeuger (4) zu steuern, um die Näpfe (3) passend zum Tropfenerzeuger (4) zu positionieren.
3. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Detektor (11d) ausschließlich eingerichtet ist, ein Signal für auf einem Träger (3) abgesetzte Tropfen zu detektieren und die Signale den Bereichen, auf die der Detektor (11d) gerichtet ist, zuzuordnen.
4. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass sie einen Positionsdetektor (10) aufweist, der eingerichtet ist, die Relativposition der Halteeinrichtung (1) zum Tropfenerzeuger (4) zu detektieren und dass sie einen

- Korrekturantrieb (19) aufweist, der vom Positionsdetektor (10) abhängig gesteuert und eingerichtet ist, die Halteeinrichtung (1) oder den Tropfenerzeuger (4) zu bewegen.
5. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Korrekturantrieb (19) eingerichtet ist, eine Bewegung orthogonal zur Bewegung der Transporteinrichtung (13a, 13b) auszuführen.
 6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 4 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Korrekturantrieb (19) eingerichtet ist, nur eines von Halteeinrichtung (1) und Tropfenerzeuger (4) zu bewegen und die Transporteinrichtung (13a, 13b) eingerichtet ist, nur das andere von Halteeinrichtung (1) und Tropfenerzeuger (4) zu bewegen.
 7. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen Positionsdetektor (10), der eingerichtet ist, Nöpfe (3) oder eine Kodierung (16) und/oder einen Referenzpunkt für die Anordnung von Nöpfen (3) eines auf der Halteeinrichtung (1) angeordneten Trägers (3) zu detektieren.
 8. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Steuereinrichtung (14) einen auf die Transporteinrichtung (1) gerichteten Positionsdetektor (10) aufweist, wobei die Steuereinrichtung (14) eingerichtet ist, die Relativbewegung der Transporteinrichtung (1) relativ zum Tropfenerzeuger (4) zu steuern, um nacheinander Bereiche, in denen Nöpfe (3) eines auf der Transporteinrichtung (1) anzuordnenden Trägers (2) angeordnet sind, passend zum Tropfenerzeuger (4) zu positionieren.
 9. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Steuereinrichtung (14) eingerichtet ist, für die Relativbewegung der Transporteinrichtung (1) relativ zum Tropfenerzeuger (4) die Transporteinrichtung (1) zu bewegen.
 10. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Positionsdetektor (10) eingerichtet ist, die Position der Halteeinrichtung (1) oder eines auf der Halteeinrichtung (1) angeordneten Trägers (2), relativ zum Tropfenerzeuger (4) während der Dauer der Bewegung der Transporteinrichtung (13a, 13b) kontinuierlich, in einem Intervall oder zu zumindest zwei zeitlich beabstandeten Intervallen, oder nur zu Beginn des Betriebs des Tropfenerzeugers (4) und/oder nur zu

Beginn der Bewegung und/oder zum Ende der Bewegung der Transporteinrichtung (13a, 13b) aufzunehmen.

11. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Bereiche, auf die der Tropfenerzeuger (4) gerichtet ist, die Oberflächenbereiche, insbesondere Näpfe (3), eines auf der Transporteinrichtung (1) anzuordnenden Trägers (2) sind, auf die der Tropfenerzeuger (4) ausgerichtet ist, um darauf die aus Flüssigkeitsabschnitten erzeugten Tropfen abzusetzen.
12. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Speicher (12) eingerichtet ist, vom Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) aufgenommene Signale Oberflächenbereichen eines auf der Halteeinrichtung (1) angeordneten Trägers (2) zuzuordnen.
13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 8 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberflächenbereiche Näpfe (3) sind.
14. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Transporteinrichtung (13a, 13b) zur Relativbewegung zwischen Tropfenerzeuger (4) und Halteeinrichtung (1) gesteuert ist, während ein auf der Halteeinrichtung (1) angeordneter Träger (2) in einem Abstand vom Tropfenerzeuger (4) angeordnet ist, der gleich dem oder kleiner als der Durchmesser aus dem Tropfenerzeuger (4) austretender Flüssigkeit ist.
15. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der zumindest eine Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) eingerichtet ist, eine in tropfenförmiger oder kontinuierlicher Flüssigkeit enthaltene Substanz, die ein Partikel aufweist oder ein Partikel ist, zu detektieren und dafür ein Signal zu erzeugen.
16. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich, dem Signale relativ zur Transporteinrichtung (1) zuzuordnen sind, in dem ein aus einem Flüssigkeitsabschnitt erzeugter Tropfen auf dem Träger (2) angeordnet wird, in einem Träger (2) ausgebildete Näpfe (3) sind.
17. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen Sensor (15), der zur Eingabe von Daten für die Anordnung von Näpfen (3) eines auf

der Halteeinrichtung (1) anzuordnenden Trägers (2), zur Erfassung der Anordnung der Näpfe (3) eines auf der Halteeinrichtung (1) anzuordnenden Trägers (2) oder zur Erfassung einer Kodierung (16) eines auf der Halteeinrichtung (1) anzuordnenden Trägers (2) eingerichtet ist, wobei der Sensor (15) mit einem Speicher (17) verbunden ist, der eine Zuordnung der Kodierung (16) zu einer Anordnung von Näpfen (3) enthält, wobei die Transporteinrichtung (13a, 13b) abhängig von den eingegebenen Daten gesteuert ist.

18. Vorrichtung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Sensor (15) ein Mikroskop ist.
19. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Tropfenerzeuger (4) zumindest einen gesteuerten Piezokristall (7) zur Erzeugung von Tropfen aufweist.
20. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Transporteinrichtung (13a, 13b) allein abhängig von der Rate der Tropfenerzeugung gesteuert ist, um jeweils genau 1 Napf eines auf der Halteeinrichtung (1) angeordneten Trägers (2) für jeden einzelnen Tropfen oder für jeweils zumindest 2 Tropfen passend zum Tropfenerzeuger (4) zu positionieren.
21. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Transporteinrichtung (1) und der Tropfenerzeuger (4) vom Signal des zumindest einen Detektors (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) unabhängig sind.
22. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der zumindest eine Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) auf einen der Bereiche gerichtet ist, in dem ein Flüssigkeitsabschnitt einer kontinuierlichen Flüssigkeitsphase innerhalb des Tropfenerzeugers (4) oder angrenzend an die Auslassöffnung (4a) des Tropfenerzeugers (4) vorliegt, oder der in einem Abstand vom Tropfenerzeuger (4) angeordnet ist, in dem aus einer Flüssigkeit Tropfen gebildet sind, und/oder der ein Bereich ist, in dem auf einem an der Halteeinrichtung (1) angeordneten Träger (2) Tropfen angeordnet sind.

23. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen zweiten Tropfenerzeuger (8a), der zum Absetzen von Tropfen einer zweiten Flüssigkeit in dieselben Bereiche, auf die der Tropfenerzeuger (4) gerichtet ist, eingerichtet ist, und/oder gekennzeichnet durch weitere Tropfenerzeuger (8b), die zum Absetzen von Tropfen weiterer Flüssigkeiten in dieselben Bereiche, auf die der Tropfenerzeuger (4) gerichtet ist, eingerichtet sind.
24. Vorrichtung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass der Tropfenerzeuger (4), der zweite Tropfenerzeuger (8a) und/oder die weiteren Tropfenerzeuger (8b) ortsfest fixiert sind und die Transporteinrichtung (1) eingerichtet ist, einen daran angeordneten Träger (2) zu bewegen.
25. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Tropfenerzeuger (4) zur kontinuierlichen Erzeugung von Tropfen eingerichtet ist und die Transporteinrichtung (1) abhängig vom Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) gesteuert ist, an jedem Bereich, an dem ein an der Transporteinrichtung (1) angeordneter Träger (2) einen Napf (3) aufweist, so lange Tropfen abzusetzen, bis vom Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) zumindest ein Signal für die Anwesenheit eines Partikels detektiert ist und die Transporteinrichtung (13a, 13b) eingerichtet ist, den Tropfenerzeuger (4) unmittelbar nacheinander auf jeweils unmittelbar benachbarte Näpfe (3) eines Trägers (2) auszurichten.
26. Vorrichtung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass sie keinen Speicher aufweist, der eingerichtet ist, eine Zuordnung von Signalen, die vom Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) detektiert wurden, zu Näpfen (3) zu speichern.
27. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass sie keinen Detektor (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2) zur Detektion eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt aufweist, wobei die Vorrichtung eingerichtet ist, eine vorbestimmte Anzahl von Tropfen an jedem Bereich der Transporteinrichtung (1) abzusetzen, an dem ein daran angeordneter Träger (2) einen Napf (3) aufweist.
28. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Transporteinrichtung (13a, 13b) zur Relativbewegung zwischen Tropfenerzeuger (4) und Halteinrichtung (1) mit konstanter Geschwindigkeit eingerichtet ist.

29. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Tropfenerzeuger (4) eingerichtet ist, bei passender Positionierung zu Näpfen (3) in diese eine vorbestimmte Anzahl von Tropfen mit höherer Rate abzusetzen, als bei Positionierung neben einem Napf (3).
30. Verfahren zum Absetzen von Tropfen auf einem Träger, insbesondere mittels einer Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, mit den Schritten
- mittels eines Tropfenerzeugers (4), Erzeugen von Tropfen aus einer Flüssigkeit (5), die zumindest eine Substanz enthält, und Absetzen von Tropfen auf einem Träger (2),
 - Detektieren eines Signals für jeden Flüssigkeitsabschnitt, aus dem ein Tropfen gebildet wird und/oder eines Signals für jeden Tropfen mittels zumindest eines Detektors (11a, 11b, 11c, 11d, 11a2),
 - Zuordnen der Signale zu Bereichen des Trägers (2), auf denen Tropfen abgesetzt sind und Speichern der Signale mit Zuordnung zu den Bereichen des Trägers (2) in einem Speicher (12),
 - Bewegen des Trägers (2) mittels einer Transporteinrichtung (1) in einem Abstand zum Tropfenerzeuger (4) relativ zum Tropfenerzeuger (4),
 - mittels eines Positionsdetektors (10) Detektieren der Relativposition der Transporteinrichtung (1) zum Tropfenerzeuger (4) und mittels einer Positioniereinrichtung (13) gesteuertes Positionieren des Trägers (2) mittels der Transporteinrichtung (1), um nacheinander Näpfe (3) des Trägers (2) passend zum Tropfenerzeuger (4) zu positionieren, auf.
31. Verfahren nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass die Substanz in der Flüssigkeit suspendierte Partikel, insbesondere Zellen sind.
32. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass das Absetzen einzelner Tropfen in jeweils einzelne Näpfe (3) eines Trägers (4) erfolgt.
33. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass das Zuordnen der Signale zu Bereichen des Trägers (2), auf denen Tropfen abgesetzt sind, ein Zuordnen der Signale zu den Näpfen (3) eines Trägers (2) ist, in die einzelne

Tropfen abgesetzt wurden und die Zuordnung der Signale zu den Nöpfen (3) eines Trägers (2) in dem Speicher (12) gespeichert wird.

34. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass das Positionieren des Trägers das Positionieren jeweils eines separaten Napfs (3) für jeden einzelnen Tropfen passend zum Tropfenerzeuger (4) ist.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2022/055182

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>G01N 35/10</i> (2006.01) 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) 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 practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 2017274689 A1 (RODRIGUEZ MIGUEL [DE] ET AL) 28 September 2017 (2017-09-28) paragraph [0009] - paragraph [0033]; figures 1-4 paragraph [0040] - paragraph [0046]	1-16,19-34 17,18
X A	EP 3552706 A1 (TOSHIBA TEC KK [JP]) 16 October 2019 (2019-10-16) paragraph [0007]; figures 1-12 paragraph [0058] - paragraph [0109]	1-3,7,11-13,16, 17,21-24,28-30,32 4-6,8-10,14,15,18- 20,25-27,31,33,34
X A	Andre Gross ET AL. "Single-Cell Printer: Automated, On Demand, and Label Free" <i>Journal of Laboratory Automation Society for Laboratory Automation and Screening</i> , 01 December 2013 (2013-12-01), pages 504-518, Retrieved from the Internet: http://jla.sagepub.com/content/18/6/504.full.pdf [retrieved on 2016-05-31] XP055276802 page 505 - page 508; figures 1, 2	1-3,7,8,10-22,28-34 4-6,9,23-27
<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>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 16 June 2022		Date of mailing of the international search report 27 June 2022
Name and mailing address of the ISA/EP European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer Werth, Jochen Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/EP2022/055182

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2017274689	A1	28 September 2017	EP	3222353	A1	27 September 2017
				US	2017274689	A1	28 September 2017
EP	3552706	A1	16 October 2019	CN	110369009	A	25 October 2019
				EP	3552706	A1	16 October 2019
				JP	2019184495	A	24 October 2019
				US	2019315139	A1	17 October 2019
				US	2020114669	A1	16 April 2020
				US	2020114670	A1	16 April 2020

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
INV. G01N35/10		
ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)		
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, 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 2017/274689 A1 (RODRIGUEZ MIGUEL [DE] ET AL) 28. September 2017 (2017-09-28)	1-16,
A	Absatz [0009] - Absatz [0033]; Abbildungen 1-4	19-34
	Absatz [0040] - Absatz [0046]	17, 18

X	EP 3 552 706 A1 (TOSHIBA TEC KK [JP]) 16. Oktober 2019 (2019-10-16)	1-3, 7,
		11-13,
		16, 17,
		21-24,
		28-30, 32
A	Absatz [0007]; Abbildungen 1-12	4-6,
	Absatz [0058] - Absatz [0109]	8-10, 14,
		15,
		18-20,
		25-27,
		31, 33, 34

	-/--	
<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" 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		Absdtedatum des internationalen Recherchenberichts
16. Juni 2022		27/06/2022
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 Werth, Jochen

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>Andre Gross ET AL: "Single-Cell Printer: Automated, On Demand, and Label Free", Journal of Laboratory Automation Society for Laboratory Automation and Screening, 1. Dezember 2013 (2013-12-01), Seiten 504-518, XP055276802, Gefunden im Internet: URL: http://jla.sagepub.com/content/18/6/504.full.pdf [gefunden am 2016-05-31]</p>	<p>1-3, 7, 8, 10-22, 28-34</p>
A	<p>Seite 505 - Seite 508; Abbildungen 1, 2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	<p>4-6, 9, 23-27</p>

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2022/055182

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2017274689 A1	28-09-2017	EP 3222353 A1	27-09-2017
		US 2017274689 A1	28-09-2017

EP 3552706 A1	16-10-2019	CN 110369009 A	25-10-2019
		EP 3552706 A1	16-10-2019
		JP 2019184495 A	24-10-2019
		US 2019315139 A1	17-10-2019
		US 2020114669 A1	16-04-2020
		US 2020114670 A1	16-04-2020
