



(10) **DE 10 2009 015 869 B4** 2011.03.03

(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2009 015 869.3**
(22) Anmeldetag: **01.04.2009**
(43) Offenlegungstag: **21.10.2010**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **03.03.2011**

(51) Int Cl.⁸: **B01L 7/00 (2006.01)**
B01L 3/00 (2006.01)

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
Schneckenburger, Herbert, Prof. Dr., 73431 Aalen, DE

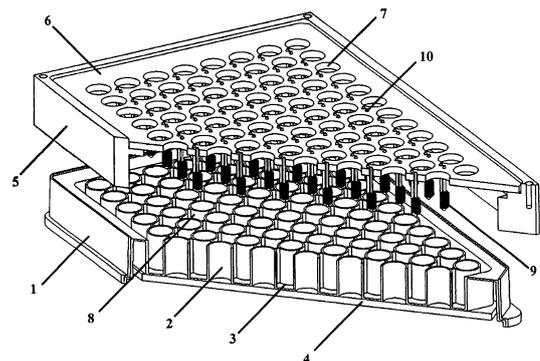
(72) Erfinder:
Bruns, Thomas, 28832 Achim, DE;
Schneckenburger, Herbert, 73431 Aalen, DE

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

DE	102 28 431	B4
DE	100 43 323	A1
US	61 71 850	B1
EP	05 42 422	A1
WO	99/16 549	A1
WO	02/47 821	A1
WO	01/72 424	A1

(54) Bezeichnung: **Mikrotiterplatte mit Heizeinrichtung**

(57) Zusammenfassung: Mikrotiterplatte mit Heizeinrichtung zum Temperieren von zweidimensional angeordneten Proben mit elektrischen Widerstandselementen und Temperatursensoren, sowie einem Wärme leitenden Medium, wobei die Mikrotiterplatte zweidimensional angeordnete Kavitäten für Proben aufweist, ferner zwischen den Kavitäten angeordnete Kompartimente, welche im Betrieb mit dem Wärme leitenden Medium ausgefüllt sind, wobei die Heizeinrichtung als an die Mikrotiterplatte angepasster Beisatz ausgebildet ist, wobei der Beisatz elektrische Widerstandselemente aufweist, welche im Betrieb in die Kompartimente eintauchen, wobei die elektrischen Widerstandselemente an einer Platte angeordnet sind, die korrespondierend zu den Kavitäten mit Löchern versehen ist, so dass sich die Temperatur der Proben in den Kavitäten einstellen lässt und während oder nach der Einstellung der Temperatur sensorische, insbesondere optische Messungen von Probenparametern durchführbar sind.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine temperierbare Vorrichtung für handelsübliche Mikrotiterplatten, deren einzelne Proben in Kavitäten zweidimensional angeordnet sind. Die in den einzelnen Kavitäten befindlichen Proben, beispielsweise Proteine oder lebende Zellen, weisen in der Regel eine Umgebungs- bzw. Gerätetemperatur auf, die oft beträchtlichen Schwankungen unterworfen ist und vergleichbare Untersuchungen verhindert. Daher ist eine definiert einstellbare Temperatur der Proben ohne störenden oder verfälschenden Einfluss der Umgebungs- oder Gerätetemperatur für quantitative Untersuchungen temperaturabhängiger Probenparameter wesentlich. Gelingt es außerdem, eine schnelle und homogene Temperierung zu realisieren oder einen definierten Temperaturgradienten zwischen den Kavitäten einer Mikrotiterplatte einzustellen, erschließt sich eine große Anzahl von Applikationen, z. B. bei optischen Untersuchungen temperaturabhängiger Reaktionen in der Diagnostik, Serologie, Zellkultur oder immunologischen Forschung. Die industriell geforderten Genauigkeiten liegen im Bereich von $\pm 0,5^\circ\text{C}$ bis $\pm 1^\circ\text{C}$ (siehe Dissertation: Schnelle homogene Temperierung von Mikrotiterplatten zur photometrischen Messung von Analysengut; M. Bethge; TU Ilmenau (2002)). Hierbei kommt es zum einen darauf an, eine gewisse Temperatur überhaupt zu erreichen und zum anderen, diese möglichst genau einzustellen und zu stabilisieren. Dabei darf in der Regel ein bestimmter Temperaturwert nicht überschritten werden, um die Proben nicht zu schädigen, und außerdem sollten auch während des Aufheizvorgangs sensorische, insbesondere optische Messungen von Probenparametern möglich sein.

[0002] Die bisher verwendeten technischen Lösungen zum Temperieren von Mikrotiterplatten nutzen die Übertragung von Wärme, die in externen Heizelementen erzeugt wird, auf die Proben durch Leitung oder Konvektion, häufig mittels Luft. Dies erfordert zumeist eine komplett geschlossene Kammer und ermöglicht somit keine oder nur stark eingeschränkte gleichzeitige Messungen von Probenparametern. Für viele Anwendungen sind inakzeptabel lange Anheizzeiten bis zum Erreichen der Solltemperatur notwendig. Diese betragen z. B. für das Aufheizen von Umgebungstemperatur auf 37°C bis zu 20 Minuten, wobei die Messunsicherheit bei $\pm 0,2^\circ\text{C}$ und die Homogenität über die Fläche der Mikrotiterplatte bei $\pm 0,4^\circ\text{C}$ liegt (siehe o. a. Dissertation). Allerdings wird keine Aussage darüber gemacht, nach welcher Zeit die angegebene Homogenität von $\pm 0,4^\circ\text{C}$ erreicht wird. Außerdem werden erhebliche Inhomogenitäten der Temperatur über die Fläche der Mikrotiterplatte beim Erwärmen der Proben beobachtet. Des Weiteren können mit den bestehenden Ansätzen keine definierten Temperaturgradienten zwischen den Kavitäten einer Mikrotiterplatte realisiert werden.

[0003] Zum Heizen von Mikrotiterplatten sind mehrere patentrechtliche Ansätze bekannt, von denen ein Großteil die Umgebungsluft zur Temperierung nutzt. Ferner sind Ansätze bekannt, die einen eigenen temperierbaren Körper vorsehen und nicht für handelsübliche Mikrotiterplatten geeignet sind. Des Weiteren sind bei dem Großteil der Ansätze keine optischen Untersuchungen von Probenparametern während der Heizphase möglich. Außerdem fehlt allen bisher bekannten Ansätzen die Möglichkeit einer partiellen Beheizung der Mikrotiterplatte. In der DE 39 41 168 A1 wird ein temperierter Wärmeübertragungskörper mit Fortsätzen auf einer Keramikplatte und Heizelementen unterhalb der Mikrotiterplatte vorgeschlagen. Infolge der indirekten Beheizung über die Luft ist der Zeitraum bis zum Erreichen der Solltemperatur jedoch relativ groß. Außerdem wird durch den geometrischen Aufbau die Nutzung handelsüblicher Mikrotiterplatten ebenso verhindert wie ein direkter (mechanischer, optischer oder elektrischer) Zugang zur Unterseite der Mikrotiterplatte. In der EP 0 408 280 A2 wird ein kompletter heizbarer Block mit Rundboden vorgesehen. Ferner ist aus der DE 42 17 868 C2 ein Ansatz bekannt, welcher die Geschwindigkeit des Wärmeübergangs und die Temperaturhomogenität verbessert, indem ein kontrolliert temperierbarer metallischer Körper mit bestimmten Heizstrukturen zur formschlüssigen Aufnahme mehrerer so genannter Nunc-Strips Verwendung findet. In beiden Ansätzen findet jedoch keine Nutzung handelsüblicher Mikrotiterplatten statt. Außerdem sind optische Messungen während des Heizens nicht möglich, da sich die Probe in optisch nicht transparenten Vertiefungen des Temperaturübertragungskörpers befindet. Die JP 01-180 435 A beschreibt die Wärmeleitung über eine von unten und eine von oben an die Mikrotiterplatte gepresste beheizte Platte. Der luftdichte Abschluss verhindert zwar die Verdunstung der Probe, macht jedoch optische Messungen wiederum unmöglich. Die Wahl einer gleichen Temperatur der oberen und der unteren Platte verhindert zwar vertikale Temperaturgradienten, jedoch kann wegen der für die Wärmeleitung kleinen nutzbaren Querschnittsfläche keine geringe Aufheizzeit erreicht werden.

[0004] Weiterhin kann Wasser vorteilhaft in einem Umlaufthermostat als Wärme übertragendes Medium verwendet werden, wie in EP 03 39 710 A2 und US 55 08 197 A (letzteres für PCR) beschrieben. Hier kann die nötige Anheizzeit gegenüber Luft drastisch verringert werden, jedoch ist man auf die Verwendung von Mikrotiterplatten mit von unten frei zugänglichen Kavitätenmantelflächen angewiesen, damit die Erwärmung nicht ausschließlich über den Boden erfolgt. Ferner ist eine gleichmäßige Umspülung aller Kavitäten nötig. Hierfür geeignete Mikrotiterplatten stellen ebenfalls Spezialanfertigungen dar und erlauben keine Messungen von Probenparametern während des Heizens. Andere Vorschläge, wie

in DE 39 38 565 A1, US 53 07 144 A, US 56 81 492 A und WO 91/06369 A2 beschrieben, beruhen auf der Verwendung von Luft als Wärme übertragendes Medium mit oder ohne Gebläse unter Verwendung von zusätzlichen Hilfsmitteln wie Wärmeleitung von einer temperierten metallischen Platte. Diese Lösungen gestatten durchweg keine optischen Untersuchungen während der Temperierung und besitzen inakzeptabel lange Aufheizzeiten.

[0005] Eine Vorrichtung zur Temperierung zweidimensional angeordneter Proben über an einem Beisatz angeordnete Heizspulen ist in DE 102 28 431 B4 beschrieben. Diese Vorrichtung ist allerdings nur für Einzelproben definierter Geometrie, nicht jedoch für handelsübliche Mikrotiterplatten geeignet. Dasselbe gilt für die in WO 01/72 424 A1 und DE 100 43 323 A1 beschriebenen Vorrichtungen, die darüber hinaus optische Untersuchungen von Probenparametern nicht oder nur sehr eingeschränkt erlauben. Heizvorrichtungen für Mikrotiterplatten sind hingegen in WO 99/16 549 A1 und WO 02/47821 A1 beschrieben, jedoch handelt es sich in der WO 99/16 549 A1 nur um eine Auftauvorrichtung und in der WO 02/47 821 A1 um eine Vorrichtung ohne individuelle Temperaturregelung der Einzelproben. Eine Temperierung der Einzelproben durch direkte Einführung von Heizelementen in die Proben wird in US 6 171 850 B1 beschrieben. Diese Anordnung verhindert aber gleichzeitige sensorische, insbesondere optische Untersuchungen und erlaubt außerdem eine Kontaminierung der Proben durch den direkten Kontakt mit den Heizelementen sowie eine Beschädigung, insbesondere Verschmutzung, letzterer durch den Kontakt mit den Proben. Eine derartige Kontaminierung der Proben oder Beschädigung der Heizelemente wird in EP 0 542 422 A1 verhindert, wo in jeder 2. Vertiefung einer Probenplatte die jeweilige Probe durch ein Heizelement ersetzt wird. Dadurch wird jedoch die Zahl der zu untersuchenden Proben stark verringert und eine individuelle Temperierung der Einzelproben wegen der großen Abstände von den Heizelementen erschwert. Somit kann die in EP 0 542 422 A1 beschriebene Anordnung nicht vorteilhaft für eine individuelle Temperierung größerer Probezahlen eingesetzt werden.

[0006] Der vorliegenden Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung anzugeben mit der die Temperatur möglichst aller Einzelproben in handelsüblichen Mikrotiterplatten individuell einstellbar ist und hinreichend schnell variiert werden kann. Diese Aufgabe wird durch eine Mikrotiterplatte mit Heizeinrichtung mit den in Anspruch 1 angegebenen Merkmalen gelöst. Hierbei wird ein Wärme leitendes flüssiges Medium, insbesondere Wasser, oder ein anderes, insbesondere festes Medium, insbesondere Silikon, in den den einzelnen Proben naheliegenden, insbesondere den dazwischen liegenden Bereichen angebracht. Ebenso werden zweidimensional ange-

ordnete Widerstandselemente an einem angepassten Beisatz in diesen Bereichen angebracht, um eine Einstellung der gewünschten Temperatur möglichst aller Einzelproben zu erreichen. Handelt es sich bei dem Wärme leitenden Medium um eine Flüssigkeit, so werden die Widerstandselemente mit selbiger umhüllend in Kontakt gebracht, handelt es sich hingegen um ein anderes, insbesondere festes Medium, so werden sie gemeinsam mit diesem Medium eingebracht. Temperatursensoren werden entweder in den den einzelnen Proben naheliegenden, insbesondere den dazwischen liegenden Bereichen oder in definierten Probenbereichen angebracht und ermöglichen eine Regulierung der Temperatur möglichst jeder Probe durch individuelle Stromanpassung einzelner Widerstände. Zwischen den Widerstandselementen und den Proben besteht kein direkter Kontakt, so dass keine Kontaminierung der Proben durch die Widerstandselemente und keine Beanspruchung, insbesondere Beschädigung der Widerstandselemente durch die Proben möglich ist. Die Bodengeometrie der Mikrotiterplatte kann neben den handelsüblichen Flach-, Rund- und V-förmigen Böden insbesondere auch eine Glas- oder Kunststoffplatte umfassen. Alle Proben der Mikrotiterplatte sind für sensorische, insbesondere optische Untersuchungen der Probenparameter von oben und unten zugänglich. Hierbei vergrößert sich die Bauhöhe der Mikrotiterplatte durch den Beisatz zur Temperierung üblicherweise nur geringfügig, typischerweise um 4 bis 6 mm. Vielfältige Beschaltungsgeometrien der Widerstandselemente ermöglichen sowohl eine individuelle Temperatureinstellung als auch die Einstellung definierter Temperaturgradienten, sowie ein reihenselektives, ringselektives oder homogenes Temperieren der Mikrotiterplatte. Vorteilhafte Weiterbildungen sind Gegenstand der Unteransprüche.

[0007] Im Folgenden wird die Vorrichtung an Hand der [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) näher erläutert. Es zeigen:

[0008] [Fig. 1](#) eine perspektivische Schnittbild-Ansicht der erfindungsgemäßen Temperierungsvorrichtung für Mikrotiterplatten,

[0009] [Fig. 2](#) einen Verschaltungsplan,

[0010] [Fig. 3](#) einen Detailausschnitt einer perspektivischen Schnittbild-Ansicht der erfindungsgemäßen Temperierungsvorrichtung für Mikrotiterplatten.

[0011] Die Mikrotiterplatte **1** umfasst die zweidimensional angeordneten Kavitäten **2** mit den Proben, die jeweils von einem Zwischenraum **8** umschlossen werden. Der Zwischenraum **8** kann durch Stege in einzelne Kompartimente **3** unterteilt sein. Der Boden **4** der Mikrotiterplatten kann neben den üblichen Flach-, Rund- und V-förmigen Böden auch aus einer Glas- oder Kunststoffplatte bestehen. Der Beisatz zur Temperierung besteht aus einem Rahmen

5, vorzugsweise aus Kunststoff oder Metall, und einer Platte **6**, vorzugsweise aus elektrisch isolierendem Material mit Löchern **7** entsprechend der geometrischen Anordnung der Kavitäten **2**. Auf der Platte **6** sind entsprechend der geometrischen Anordnung und Anzahl der Kompartimente **3** elektrische Widerstände **9** derart angeordnet, dass sie innerhalb der Kompartimente **3** der Mikrotiterplatte zu liegen kommen. Die Widerstände **9** sind über elektrische Leiterbahnen **10** mit einer Anschlussleiste **11** verbunden. Über eine externe Beschaltung **12** lassen sich die elektrischen Widerstände einzeln oder in Gruppen individuell über Gleich- oder Wechselstrom ansprechen. Zur Messung **13** der aktuellen Temperatur und zur Regulierung der Solltemperatur werden temperaturabhängige Widerstände **14** verwendet, die ebenfalls über Leiterbahnen mit der Anschlussleiste **11** verbunden werden können.

Patentansprüche

1. Mikrotiterplatte (**1**) mit Heizeinrichtung zum Temperieren von zweidimensional angeordneten Proben mit elektrischen Widerstandselementen (**9**) und Temperatursensoren (**14**), sowie einem Wärme leitenden Medium, wobei die Mikrotiterplatte (**1**) zweidimensional angeordnete Kavitäten (**2**) für Proben aufweist, ferner zwischen den Kavitäten (**2**) angeordnete Kompartimente (**3**), welche im Betrieb mit dem Wärme leitenden Medium ausgefüllt sind, wobei die Heizeinrichtung als an die Mikrotiterplatte (**1**) angepasster Beisatz (**6, 7, 9**) ausgebildet ist, wobei der Beisatz elektrische Widerstandselemente (**9**) aufweist, welche im Betrieb in die Kompartimente (**3**) eintauchen, wobei die elektrischen Widerstandselemente (**9**) an einer Platte (**6**) angeordnet sind, die korrespondierend zu den Kavitäten (**2**) mit Löchern (**7**) versehen ist, so dass sich die Temperatur der Proben in den Kavitäten (**2**) einstellen lässt und während oder nach der Einstellung der Temperatur sensorische, insbesondere optische Messungen von Probenparametern durchführbar sind.

2. Mikrotiterplatte (**1**) mit Heizeinrichtung nach Anspruch 1, wobei das Wärme leitende Medium eine Flüssigkeit, insbesondere Wasser, oder eine mit dem Beisatz (**6, 7, 9**) in Kontakt stehende andere, insbesondere feste Substanz, insbesondere Silikon ist, die formschlüssig die den einzelnen Proben nahe liegenden Bereiche der Kompartimente (**3**) ausfüllt.

3. Mikrotiterplatte (**1**) mit Heizeinrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei kein direkter Kontakt zwischen den elektrischen Widerstandselementen (**9**) und den einzelnen Proben besteht, und somit keine Kontamination der Proben durch die Widerstandselemente (**9**) und keine Beanspruchung, insbesondere Beschä-

digung der Widerstandselemente (**9**) durch die Proben möglich ist.

4. Mikrotiterplatte (**1**) mit Heizeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die elektrischen Widerstandselemente (**9**) mit Gleichstrom oder mit Wechselstrom betreibbar sind.

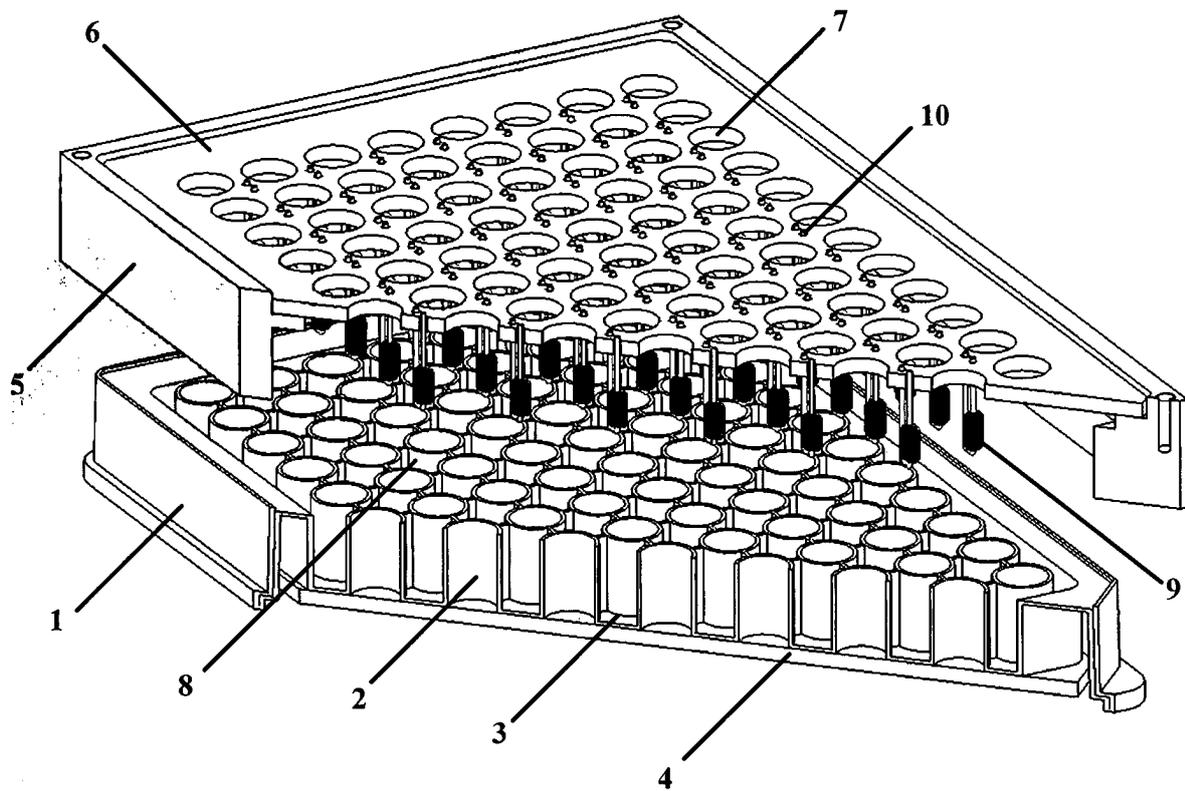
5. Mikrotiterplatte (**1**) mit Heizeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei Temperatursensoren (**14**) sowohl in den den Proben nahe liegenden Kompartimenten (**3**) als auch in definierten Probenbereichen angebracht sind und eine Regulierung der Temperatur möglichst jeder Probe durch individuelle Stromanpassung einzelner Widerstandselemente (**9**) ermöglicht ist.

6. Mikrotiterplatte (**1**) mit Heizeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei der Beisatz (**6, 7, 9**) einen Rahmen (**5**), vorzugsweise aus Kunststoff oder Metall, aufweist.

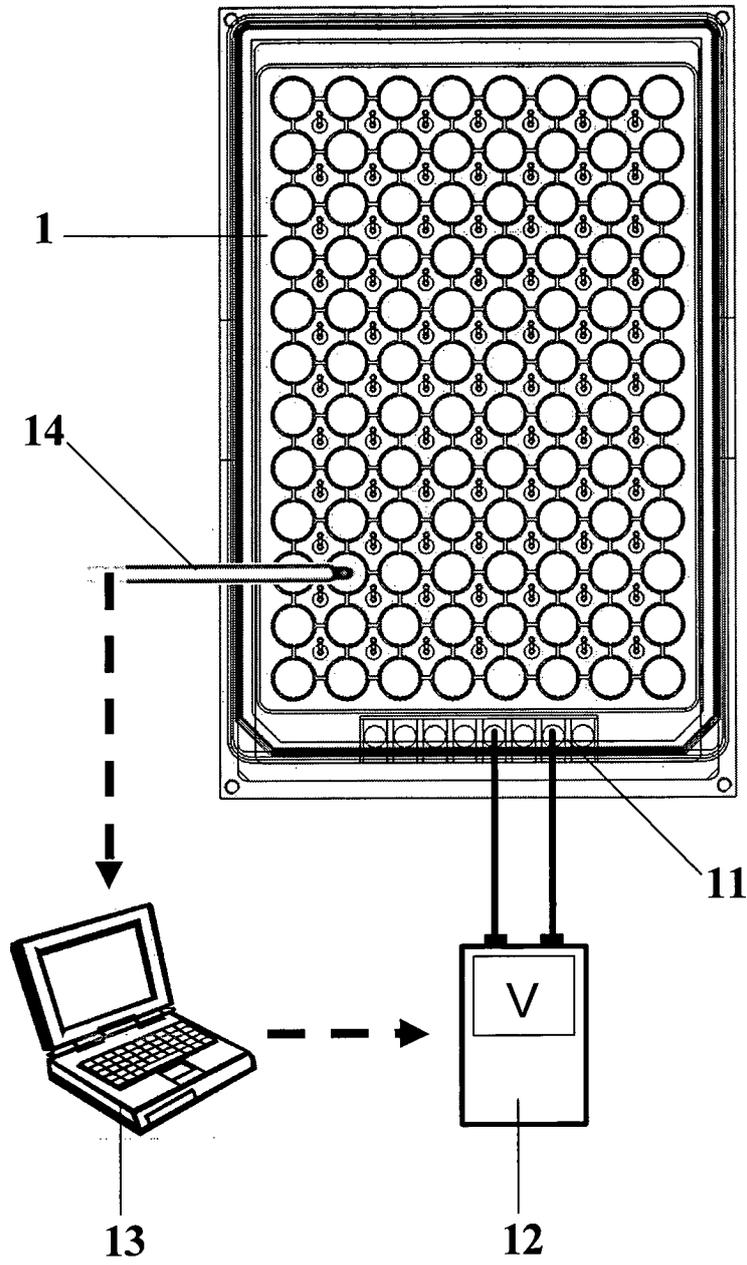
7. Mikrotiterplatte (**1**) mit Heizeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die Mikrotiterplatte einen Boden aufweist.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

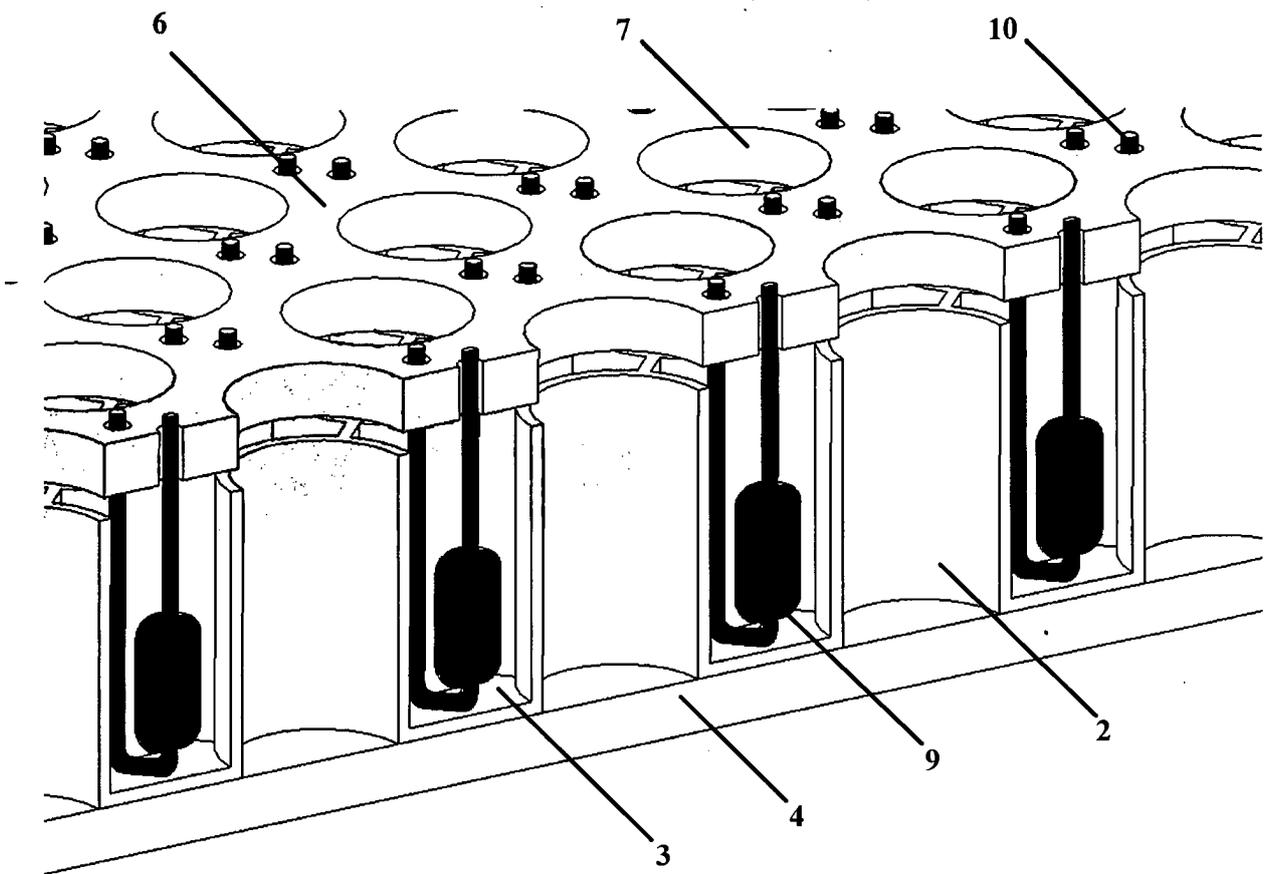
Anhängende Zeichnungen



Figur 1



Figur 2



Figur 3