

(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  
5. November 2009 (05.11.2009)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2009/132616 A2**

- (51) **Internationale Patentklassifikation:**  
*B01F 13/00* (2006.01) *B01F 15/02* (2006.01)
- (21) **Internationales Aktenzeichen:** PCT/DE2009/000528
- (22) **Internationales Anmeldedatum:**  
17. April 2009 (17.04.2009)
- (25) **Einreichungssprache:** Deutsch
- (26) **Veröffentlichungssprache:** Deutsch
- (30) **Angaben zur Priorität:**  
10 2008 021 483.3  
29. April 2008 (29.04.2008) DE
- (71) **Anmelder** (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GMBH** [DE/DE]; 52425 Jülich (DE).
- (72) **Erfinder; und**
- (75) **Erfinder/Anmelder** (nur für US): **FÜTTERER, Claus** [DE/DE]; Palanterst. 10, 50937 Köln (DE). **FRIED, Hans-Ulrich** [DE/DE]; Zülpicher Str. 191, 50937 Köln (DE). **BROMBAS, Arne** [DE/DE]; Brunkensteinstr. 4, 50935 Köln (DE).
- (81) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

**Veröffentlicht:**

- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)

(54) **Title:** SUPPLY SYSTEM

(54) **Bezeichnung:** ZULEITUNGSSYSTEM

(57) **Abstract:** The invention relates to a supply system comprising at least two supply lines that lead to a mixing chamber provided with an outlet line for the mixed fluids. Said supply system comprises a layer system having at least two layers, the first layer (7) being a flow element integrating the mixing chamber (11), at least two channels (10, 10a) that lead into the mixing chamber, and an outlet channel (12) that extends from the mixing chamber (11) to a sample or a substrate, and the second layer (8) is sealingly applied to the first layer (7). The supply system is used to perfuse tissue or cell cultures with fluids.

(57) **Zusammenfassung:** Das Zuleitungssystem umfasst mindestens zwei Zuleitungen zu einer Mischkammer, die über eine Ausgangsleitung für die gemischten Flüssigkeiten verfügt, wobei das Zuleitungssystem durch ein Schichtsystem aus mindestens zwei Schichten gebildet wird, von denen die erste Schicht (7) ein Strömungselement ist, in welche die Mischkammer (11), mindestens zwei Kanäle (10, 10a), die in die Mischkammer führen, sowie ein Ausgangskanal (12), der von der Mischkammer (11) zu einer Probe oder einem Substrat führt, eingelassen sind und die zweite Schicht (8) auf die erste Schicht (7) abdichtend aufgebracht ist. Das Zuleitungssystem findet bei der Perfusion von Gewebe oder Zellkulturen mit Flüssigkeiten Anwendung.



WO 2009/132616 A2

## B e s c h r e i b u n g

### Zuleitungssystem

---

Die Erfindung betrifft ein Zuleitungssystem, insbesondere ein Zuleitungssystem für die Perfusion.

Nach dem Stand der Technik sind Zuleitungssysteme für die Perfusion bekannt, die aus mehreren Vorratsbehältern für Flüssigkeiten bestehen, von denen jeder über eine Leitung mit einer Mischkammer verbunden ist, die die gemischte Flüssigkeit einem der Perfusion zu unterziehenden Substrat über eine Ableitung zuführt. Diese Vorrichtungen sind unübersichtlich im Aufbau, beanspruchen viel Raum, sind daher nicht einfach und ein keimfreier Betrieb kann nicht gewährleistet werden. Die Vorrichtungen nach dem Stand der Technik erfordern eine hohe experimentelle Fertigkeit beim Aufbau um die Dichtigkeit der Vorrichtungen zu gewährleisten. Weiterhin führen die Zuleitungssysteme nach dem Stand der Technik zu Kreuzkontaminationen von Flüssigkeitsvolumina aus verschiedenen Zuleitungen. Die Vorrichtungen nach dem Stand der Technik sind kostspielig im Betrieb, weil sie regelmäßig Reinigungsarbeiten unterzogen werden müssen, insbesondere um Keimfreiheit, Sauberkeit und Hygiene zu gewährleisten. Eine Berechenbarkeit der Parameter für dreidimensionale Strömungsverhältnisse ist sehr anspruchsvoll, so dass viel Rechenaufwand betrieben werden muss. Ein Betrieb der Vorrichtungen unter Überdruck ist nicht sicher gewährleistet und führt zu Lecks. Weiterhin sind diese Vorrichtungen störanfällig gegen äußere Einwirkungen. Die Temperierbarkeit der Zuleitungssysteme ist schwierig.

Es ist daher die Aufgabe der Erfindung, ein Zuleitungssystem für Flüssigkeiten, die einem Substrat zugeleitet werden sollen, zur Verfügung zu stellen, welches eine hygienische Zuleitung von Flüssigkeiten ermöglicht, einfach herzustellen beziehungsweise einfach und zuverlässig dicht aufzubauen und zu verwenden ist und zudem noch preisgünstig ist. Die Dichtigkeit der Vorrichtung soll Druckbeaufschlagungen von beispielsweise 7 bar ermöglichen, ohne dass Gas oder Flüssigkeit nach außen entweicht. Das Zuleitungssystem soll störunanfällig sein und eine einfache Berechenbarkeit der Strömungsparameter, wie Durchflussrate als Funktion des Drucks, Mischeffizienz oder Mischgeschwindigkeit ermöglichen. Kreuzkontamination von Flüssigkeitsvolumina verschiedener Zuleitungen sollen minimiert werden. Die

dem Substrat zugeführten Flüssigkeiten sollen einfach und möglichst genau zu temperieren sein.

Ausgehend vom Oberbegriff des Anspruchs 1 wird die Aufgabe gelöst durch die Merkmale des kennzeichnenden Teils des Anspruchs 1.

5 Demnach umfasst die Erfindung ein Zuleitungssystem zu einem Substrat oder einer Probe, umfassend mindestens zwei Zuleitungen zu einer Mischkammer und eine Ableitung von der Mischkammer, bei dem das Zuleitungssystem durch ein Schichtsystem aus mindestens zwei Schichten gebildet wird, von denen die erste Schicht ein Strömungselement ist, in die die Mischkammer, mindestens zwei Kanäle, die in die Mischkammer führen sowie ein Aus-  
10 gangskanal, der von der Mischkammer zu einer Probe oder einem Substrat führt, eingelassen sind und die zweite Schicht auf die erste Schicht abdichtend aufgebracht ist.

Mit dem erfindungsgemäßen Zuleitungssystem ist es nunmehr möglich, Flüssigkeiten aus verschiedenen Kanälen zu mischen oder in der Zufuhr beispielsweise alternierend oder ruckfrei zu schalten, in einfacher Weise einer Perfusion oder einem anderen Versuch zuzuführen,  
15 die Zufuhr der Flüssigkeiten keimfrei oder je nach Anforderung sauber zu betreiben. Der Betrieb ist kostengünstig und das Zuleitungssystem ist einfach herzustellen bzw. aufzubauen. Das flüssigkeitsführende Strömungselement ist leicht auszutauschen. Das erfindungsgemäße Zuleitungssystem kann mit höheren Drucken, wie beispielsweise 7 bar, beaufschlagt werden, ohne dass die Dichtigkeit und Betriebssicherheit beeinträchtigt werden. Kreuzkontamina-  
20 tionen zwischen verschiedenen Kanälen können verhindert werden. Weiterhin ist das erfindungsgemäße Zuleitungssystem robust gegen äußere Einwirkungen, und die Strömungsparameter in jedem Kanal können einfach berechnet werden. Eine Temperierbarkeit ist ebenfalls auf einfache Weise und sehr genau möglich. Durch ein einfach herzustellendes Strömungselement kann der Versuchsaufbau individuell auf die Problemstellung bzw. den gewünschten  
25 Bedingungen angepasst werden.

Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen angegeben.

Die Figuren zeigen bevorzugte Ausgestaltungen der Erfindung in schematisierter Form.

Es zeigt:

Fig. 1: Eine Seitenansicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung

Fig. 2a: Eine Aufsicht auf die erfindungsgemäße Vorrichtung

Fig. 2b: Eine vorteilhafte Ausgestaltung des Vorratsbehälters

5

10

15

20

Figur 1 zeigt ein Zuleitungssystem mit Vorratsbehältern 1, 1a, 1b, die für die Aufnahme einer Flüssigkeit bestimmt sind. Sie sind mit jeweils einer Druckquelle 2, 2a, 2b ausgestattet, welche über eine Druckregulierung 3, 3a, 3b mit den Vorratsbehältern 1, 1a, 1b verbunden sind. An den Vorratsbehältern 1, 1a, 1b, befindet sich jeweils eine Zuleitung 4, 4a, 4b welche mit einem Ventil 5, 5a, 5b ausgestattet ist. Die mit den Ventilen 5, 5a, 5b ausgestatteten Zuleitungen 4, 4a, 4b münden in ein Schichtsystem 6 mit einer als Strömungselement dienenden Schicht 7 und einer darüber angebrachten Deckschicht 8. Unter der als Strömungselement dienenden Schicht 7 ist eine weitere Schicht 9 angebracht, die die als Strömungselement dienende Schicht 7 an die Deckschicht andrückt. In die als Strömungselement dienende Schicht 7 sind Kanäle 10, 10a, 10b eingelassen, die die Zuleitungen 4, 4a, 4b mit einer Mischkammer 11 verbinden, die ebenfalls in die als Strömungselement dienende Schicht 7 eingelassen ist. Von der Mischkammer 11 führt ein ebenfalls in die Schicht 7 eingelassener Ausgangskanal 12, der zu der in der Figur nicht dargestellten Probe in der Messkammer 14 geführt wird, die der Perfusion oder einer anderen Behandlung zuzuführen ist. Bezugszeichen 13 verweist auf Temperiermittel.

In Figur 2a, die eine Aufsicht auf die erfindungsgemäße Vorrichtung zeigt, haben gleiche Vorrichtungsmerkmale dieselben Bezugszeichen.

Figur 2b zeigt in Seitenansicht eine alternative Ausgestaltung der Vorratsbehälter. Bei dieser Ausführungsform sind die verschiedenen Vorratsgefäße 1, 1a, 1b übereinander gestapelt.

25

Im Folgenden soll die Erfindung in ihrer allgemeinen Form beschrieben werden.

Erfindungsgemäß umfasst das Zuleitungssystem mindestens zwei Schichten, von denen die erste Schicht eine als Strömungselement dienende Schicht 7 ist, in die mindestens zwei

Kanäle 10, 10a, die in eine Mischkammer 11 münden, und ein Ausgangskanal 12 eingelassen sind.

Die als Strömungselement dienende Schicht 7 kann eine starre Platte sein, die gegossen wurde oder in die die Kanäle 10, 10a, die Mischkammer 11 und die Ausgangsleitung 12 eingefräst  
5 oder auf andere Weise eingelassen wurden.

Unter eingelassen im Sinne der Erfindung ist zu verstehen, dass Methoden angewendet worden sind, mit denen Vertiefungen in die das Strömungselement bildende Schicht 7 eingebracht werden, die Kanäle 10, 10a, die Mischkammer 11 sowie den Ausgangskanal 12 bilden. Diese können beispielsweise, aber nicht beschränkend, Gießen einer Schicht in Formen, Stanzen von Kanälen, der Mischkammer sowie der Ausgangsleitung oder Fräsen, Prägen derselben sein. Bekannte Verfahren sind Fotolithographie, Gießen, Präzisionsfräsen oder Drucken.  
10

Als Materialien kommen steife Materialien, wie Glas, Kunststoff, z.B. Polymethylmethacrylat (PMMA) PTFE oder andere Kunststoffe sowie Metall, vorzugsweise Stahl, in Betracht. Auf diese Schicht 7 ist die Deckschicht 8 aufgelegt, die mit der das Strömungselement bildenden Schicht 7 flüssigkeitsabdichtend verbunden ist.  
15

Die Abdichtung kann durch eine elastische Zwischenschicht aus Gummi, Silikon oder Fett gewährleistet werden.

Vorzugsweise sind die Schichten 7 und 8 durch Mittel zum Zusammenhalten der Schichten miteinander befestigt. Diese Mittel zum Zusammenhalten können Verschraubungen oder Klemmen sein.  
20

In einer bevorzugten Ausführungsform besteht die als Strömungselement dienende Schicht 7 aus einem elastischen Material wie Gummi oder Silikon, das gegossen ist. Das hat den Vorteil, dass diese Schicht für jede Anwendung aus frischem, unkontaminiertem Material unkompliziert, kostengünstig und ohne großen Aufwand einzeln hergestellt werden kann. Dabei kann die Führung der Kanäle 10, 10a, 10b nach den für den jeweiligen Versuch gewünschten Bedingungen angefertigt werden. Die Herstellung kann mit einfachen bekannten Verfahren erfolgen, insbesondere kann die Schicht gegossen aber auch gefräst werden. Es  
25

werden Reinigungsarbeiten der als Strömungselement dienenden Schicht 7 für eine Wiederverwendung erspart.

Die Verwendung eines elastischen Gussmaterials führt zu einer Abdichtung gegenüber der Deckschicht 8, so dass Abdichtmaterial eingespart werden kann.

5 Besteht die als Strömungselement dienende Schicht 7 aus einem elastischen Material, so kann diese durch eine weitere Schicht 9 gegen die Deckschicht 8 gepresst werden, damit sie gas- oder flüssigkeitsdicht gegen die Deckschicht 8 abschließt. Hierfür können die gleichen Mittel zum Zusammenhalten der Schichten 7 und 8 verwendet werden, wie bei der Ausführungsform, bei der die als Strömungselement dienende Schicht 7 aus starrem Material  
10 gebildet ist.

Für beide Ausführungsformen, nämlich der Verwendung einer starren oder elastischen Schicht als Strömungselement 7 gilt, dass diese für jede neue Anwendung individuell gemäß den Anforderungen des durchzuführenden Versuches angefertigt werden können. Die neu hergestellten, als Strömungselement dienenden Schichten 7, können keimfrei bzw. unter  
15 sterilen Bedingungen hergestellt werden. Durch die Anordnungen der Schichten 7 und 8 wird die Flüssigkeitsströmung auf eine Ebene beschränkt, so dass sich der Rechenaufwand für die Berechnung des Strömungsverhaltens erheblich reduziert. Bei gerader Führung der Kanäle 10, 10a und/oder des Ausgangskanals 12 reduziert sich der Rechenaufwand weiter. Die Strömungswiderstände können daher leicht berechnet werden. Die einfache und preiswerte  
20 Möglichkeit, eine als Strömungselement dienende Schicht 7 für jeden Gebrauch neu zu fertigen, ermöglicht eine Einmalverwendbarkeit der Schicht. Damit entfällt zusätzliche Reinigungsarbeit oder der Aufwand einer Sterilisierung. Die als Strömungselement dienende Schicht 7 ist einfach herzustellen, insbesondere wenn sie aus einem Elastomer, wie  
25 beispielsweise Polydimethylsiloxan (PDMS), gegossen wird. Durch die Austauschbarkeit der Schicht 7 kann das Zuleitungssystem an die Anforderungen jedes Experiments angepasst werden.

Die als Strömungselement dienende Schicht 7 umfasst mindestens zwei Kanäle 10, 10a, die in der Anzahl frei wählbar sind. So können je nach experimentellen Erfordernissen beispielsweise 4, 7, 9 oder mehr Kanäle 10, 10a in die Schicht 7 eingelassen sein.

In einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung können die Kanäle 10, 10a und/oder der Ausgangskanal 12 mit Mitteln zum Unterbrechen des Flüssigkeitsstromes ausgestattet sein. Diese Mittel zum Unterbrechen des Flüssigkeitsstromes können Bohrungen in der Deckschicht 8 sein, welche sich über den Kanälen 10, 10a und/oder dem Ausgangskanal 12 befinden, in die  
5 Stempel eingelassen sind, welche sich senken lassen, um den Flüssigkeitsstrom entweder zu reduzieren oder ganz zu unterbrechen. Zu diesem Zweck können Druckknöpfe oder Verschraubungen vorgesehen sein, die sich in den Bohrungen befinden und die in Richtung der Kanäle 10, 10a ... und/oder des Ausgangskanals 12 herabgelassen oder hineingedreht werden. Bei den Mitteln zum Unterbrechen des Flüssigkeitsstromes kann es sich auch um Ventile  
10 handeln, welche zum Beispiel eine Elastomerschicht über der Deckschicht 8 und dem Kanal 10, 10a, 12 und/oder der Mischkammer so nach unten drückt, dass der Kanal geschlossen wird.

Die Deckschicht 8 kann aus transparentem oder durchsichtigem Material, wie PMMA, Glas oder durchsichtigem Kunststoff gefertigt sein. Das hat den Vorteil, dass die die Kanäle 10,  
15 10a, 10b, die Mischkammer 11 und den Ausgangskanal 12 durchströmende Flüssigkeit beobachtet werden kann, um Blasenbildung festzustellen, die die Flüssigkeitströmung beeinträchtigen könnte. Damit wird ein rechtzeitiges Eingreifen in den Versuchsverlauf möglich.

Die das Strömungselement bildende Schicht 7 kann ebenfalls aus transparentem oder durchsichtigem Material bestehen. Grundsätzlich können die gleichen Materialien eingesetzt  
20 werden wie bei der Deckschicht, jedoch ist durchsichtiges bzw. transparentes Silikon besonders bevorzugt. Das hat ebenfalls zur Folge, dass die die Kanäle 10, 10a, 10b, die Mischkammer 11 und den Ausgangskanal 12 durchströmende Flüssigkeit beobachtet werden kann, um z.B. Blasenbildung festzustellen, die die Flüssigkeitsströmung beeinträchtigt.

Analog kann auch die Schicht 9 transparent oder durchsichtig sein. Die Vorteile sind die  
25 gleichen, wie bei den Schichten 7 und 8.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform kann sich hinter der Mischkammer 11 im Ausgangskanal 12 eine weitere Kammer befinden, welche die Probe aufnimmt, die der Perfusion zuzuführen ist.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann mit Detektionsmitteln ausgestattet sein, welche bestimmte Observablen der Probe in der Kammer in der Ausgangsleitung 12 detektieren, die der Perfusion zugeführt wird.

5 Hierzu kann ein optischer Detektor vorgesehen sein, der Veränderungen der sich in der Kammer befindlichen Probe detektiert und gegebenenfalls als Film speichert. In diesem Fall muss mindestens die Deckschicht 8 und/oder die untere Schicht 9 durchsichtig sein, damit eine optische Beobachtung möglich ist. Im Fall der optischen Beobachtung können auch alle Schichten 7, 8, 9 durchsichtig sein.

10 Weiterhin kann die sich im Ausgangskanal 12 befindende Kammer mit anderen Detektoren ausgestattet sein, welche elektrische oder magnetische Messungen ermöglichen.

Als Detektoren kommen dann Elektroden, Ampersonden oder Mittel zur Impedanzmessung zum Einsatz. Weiterhin können für magnetische Messungen Hall-Sensoren oder Squids zum Einsatz kommen.

15 Bei nicht-optischen Messungen an der Probe ist die durchsichtige Ausgestaltung der Schichten 7 und/oder 8 und/oder 9 fakultativ.

20 In einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung hat wenigstens ein Teil der Kanäle 10, 10a, und/oder der Ausgangskanal 12 eine Querschnittsgeometrie, bei der die Breite der eingelassenen Kanäle 10, 10a und/oder des Ausgangskanals 12 größer ist als die Tiefe. Diese Querschnittsgeometrie hat den Vorteil, dass ein besonders guter Wärmeaustausch mit der Umgebung stattfindet. Der Querschnitt der Kanäle 10, 10a, und/oder des Ausgangskanals 12 ist dann beispielsweise rechteckig, wobei die Tiefe kleiner ist als die Breite des Querschnitts oder der Querschnitt bildet eine flache Rinne mit Rundungen.

In einer Ausführungsform kann der Ausgangsbereich des Ausgangskanals 12 breit ausgelegt sein, so dass es zu einem besonders guten Wärmeaustausch kommt.

25 Diese Querschnittsgeometrie hat den Vorteil, dass ein besonders guter Wärmeaustausch mit der Umgebung stattfindet, was eine gezielte und effiziente Temperierung begünstigt.

Tiefe Kanäle 10, 10a, und/oder ein tiefer Ausgangskanal 12 haben den Vorteil, dass ein besonders guter Durchfluss möglich ist. Bei einem tiefen Kanal oder einem tiefen Ausgangskanal ist das Verhältnis zwischen Tiefe und Breite beispielsweise 1 oder größer. Der Querschnitt kann dabei auch Rundungen aufweisen. Zwischen großem Wärmeaustausch und kleinem Strömungswiderstand muss entsprechend der Anwendung abgewogen werden.

Zur Temperierung kann eine Heizplatte oder ein Kühlelement, z.B. ein Peltierelement oder andere Temperiermittel, wie temperierte Flüssigkeitsströme, eingebracht werden, die für die gewünschte Temperatur sorgen. Die Temperiermittel können beispielsweise zwischen die das Strömungselement bildende Schicht 7 und die Schicht 9, aber auch an anderen Stellen, wie beispielsweise in der Deckschicht 8 oder der unteren Schicht 9, aufgebracht oder eingelassen sein. Die Temperiermittel können je nach Wunsch im Bereich der Kanäle 10, 10a, 10b und/oder im Bereich der Mischkammer 11 und/oder im Bereich der Ausgangsleitung 12, beispielsweise zwischen der Schicht 9 und der das Strömungselement bildenden Schicht 7, angebracht sein. Es ist auch möglich, zusätzliche Leitungen in die das Strömungselement bildende Schicht 7 und/oder die Deckschicht 8 und/oder die Schicht 9 einzubringen, welche eine Zirkulation von Temperierflüssigkeiten ermöglichen. Verschiedene Kanäle 10, 10a, 10b können auch auf unterschiedlichen Temperaturen gehalten werden. Erwünschte Temperaturen sind physiologische Temperaturen, die in der Regel höher als 32°C sind, beispielsweise 37°C. Jedoch können alle interessierenden Temperaturbereiche eingestellt werden. Beispielsweise können auch Temperaturen unter 0°C, aber auch hohe Temperaturen, z. B. 80°C, gewählt werden. Werden Flüssigkeiten, beispielsweise lebende Zellen, als Substrat zugeführt, so können auch für die jeweiligen Zellen extreme Temperaturen gewählt werden, um deren Reaktion zu untersuchen.

Die Kanäle 10, 10a, 10b stehen über Zuleitungen 4, 4a, 4b mit den Vorratsbehältern 1, 1a, 1b in Verbindung.

Die Zuleitungen 4, 4a, 4b können durch die Ventile 5, 5a, 5b von den Kanälen 10, 10a, 10b...abgesperrt werden. Als Ventile werden vorzugsweise Magnetventile eingesetzt.

Die Vorratsbehälter 1, 1a, 1b können nebeneinander oder im Wesentlichen nebeneinander angeordnet sein.

In einer bevorzugten Ausführungsform sind die Vorratsbehälter 1, 1a, 1b übereinander gestapelt und weiterhin bevorzugt von einer flachen Geometrie. Die flache Geometrie hat zur Folge, dass die sich in dem Vorratsbehälter ausbildende Flüssigkeitsoberfläche vergleichsweise groß ist gegenüber einer Geometrie mit einer größeren Tiefe im Verhältnis zur Bodenfläche. Dadurch bildet die Flüssigkeit eine große Oberfläche aus, welche in optimalem Austausch mit der sie umgebenden Gasphase steht. Dadurch kann eine maximale Sättigung der Flüssigkeit mit dem sie umgebenden Gas erreicht werden. Das ist insbesondere dann vom Vorteil, wenn die Flüssigkeit definierte gelöste Gasanteile beinhalten soll. Beispiele für Gaszusammensetzungen sind Mischungen mit definiertem Sauerstoffgehalt und/oder definiertem CO<sub>2</sub>-Gehalt zur pH-Pufferung. Weitere Gase sind Schwefelwasserstoff, Schwefeldioxid, Ammoniak, Stickstoff oder künstliche Luft.

Die Ventile 5, 5a, 5b können so ausgestaltet sein, dass eine wahlweise Rückführung der zu fördernden Flüssigkeit zu den Vorratsbehältern 1, 1a, 1b möglich ist.

Die Vorratsbehälter 1, 1a, 1b sind an eine Druckquelle 2 angeschlossen. Diese Druckquelle ist vorzugsweise ein unter Druck stehender Gasvorrat oder eine Pumpe mit Druckbehälter, der mit Gas gefüllt ist. Dabei kann jeder Vorratsbehälter 1 an jeweils eine Druckquelle angeschlossen sein oder mindestens zwei Vorratsbehälter sind an eine Druckquelle angeschlossen. Der Anschluss der Vorratsbehälter an eine Gasquelle ermöglicht die Versorgung der Flüssigkeit für einen Kanal 10 mit dem jeweils gewünschten Gas, mit dem die Flüssigkeit beaufschlagt werden soll. Verschiedene Flüssigkeitsströme entsprechend verschiedenen Kanälen 10, 10a, 10b können mit unterschiedlichen Gasen und/oder Drucken beaufschlagt werden. Dafür sind als Druckquellen Gasvorratsgefäße unterschiedlicher Befüllung vorgesehen. Als Gase kommen insbesondere CO<sub>2</sub>, oder Sauerstoff, Stickstoff aber auch andere Gase in Betracht.

Zur Druckregulierung zwischen der Druckquelle 2 und den Vorratsbehältern 1, 1a sind Ventile 3, 3a, 3b vorgesehen. Auch die Ventile 3, 3a, 3b sind vorzugsweise Magnetventile. Insbesondere durch Druckregulierungsmodule, insbesondere Magnetventile, kann eine besonders genaue Druckregulierung realisiert werden. Durch eine gesteuerte Druckregulierung kann die Belastung und damit die Beeinträchtigung von Gewebe bei der Versuchsdurchführung minimiert werden. Schwankungen der Durchflussraten, insbesondere beim Umschalten von Flüs-

sigkeiten oder Gasen können so ausgeschlossen werden, so dass kontinuierliche Versuchsbedingungen aufrechterhalten werden können. Werden mindestens zwei Vorratsbehälter 1, 1a an eine Druckquelle angeschlossen, so können die diesen Vorratsbehältern 1, 1a zugeordneten Kanäle 10, 10a mit dem gleichen Gas und dem gleichen Druck beaufschlagt werden.

- 5 Die Magnetventile können angesteuert werden, so dass eine Strömungskonstanz oder eine gezielte Variation ermöglicht wird.

Das erfindungsgemäße Zuleitungssystem kann beispielsweise für folgende Anwendungen eingesetzt werden.

- 10 – Perfusion für olfaktorisches Gewebe, wobei schnell und präzise zwischen 8 oder mehr verschiedene Geruchsstoffe enthaltene Lösungen geschaltet werden soll. Die Sandwich-Struktur des Zuleitungssystem erlaubt schnelles Schalten und leichtes und sehr schnelles Auswechseln der mit der Lösung in Kontakt stehenden Komponenten (Kontamination).
- Patch-Clamp an Retina-Gewebe benötigt mind. 32 Grad Celsius, wobei CO<sub>2</sub> und O<sub>2</sub> nicht mehr ausreichend in Lösung gehalten werden können. Erhöhter Druck würde dies  
15 ermöglichen.
- Intestinalgewebe zur Untersuchung von Krebsentstehung.
- Zellkultur in Mikrosystemen.

20 Als Untersuchungsobjekte können alle möglichen interessierenden Stoffe, insbesondere biologisches Material eingesetzt werden, je nach Fragestellung.

Beispiele für Untersuchungsobjekte sind Zellkulturen, auch unter ungewöhnlichen Druck und Temperaturbedingungen, biologisches Gewebe, zu behandelnde Oberflächen, unterschiedliche organische oder anorganische Materialien, beispielsweise bei der  
25 Kristallzüchtung.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung umfasst in vorteilhafter Weise nur zwei oder drei Elemente, nämlich die Schichten 7, 8, und 9 an Stelle von einer Vielzahl von Schläuchen, welche umständlich zu handhaben sind und die die im Stand der Technik aufgeführten Nachteile besitzen. Insbesondere ist die erfindungsgemäße Vorrichtung kompakt und weist  
30 auch bei erhöhten Drucken von beispielsweise 7 bar eine gute Betriebssicherheit auf. Die Abmessungen können je nach Bedarf variieren, jedoch können die erfindungsgemäß

zusammengefügt Schichten Abmessungen in der Größenordnung im Millimeter- oder Zentimeterbereich hinsichtlich der Seitenlängen haben.

Das Strömungselement 7 kann Durchflüsse von typischerweise wenigen  $\mu\text{l}/\text{min}$  bis 100 ml/min je nach Kanalgeometrie und Druck ermöglichen.

5 Beispiel:

Der erste Teil besteht aus mehreren Vorratsbehältern, welche die Flüssigkeiten (Nährlösung, Puffer, Pharmaka etc.) enthalten. Der zweite Teil besteht aus einem sehr kompakten schichtweise aufgebauten dreikomponentigen System. Es vereint elektrisch steuerbare Ventile, eine miniaturisierte Mischkammer und eine Temperaturregulierung und kann problemlos in die verschiedensten, bereits vorhandenen Versuchsaufbauten (Patch-clamp-Setup, konfokale  
10 Mikroskope, Two-Photon-Mikroskope) integriert werden. Über die Ventile können Flüssigkeiten aus den Vorratsbehältern selektiert und in die Perfusionskammer geleitet werden.

#### **Druckregulierte Vorratsbehälter**

Die Flüssigkeiten werden durch pneumatischen Druck aus den Vorratsbehältern gepresst. Ein  
15 pneumatisches Drucksystem erlaubt eine sehr präzise Strömungsregulation und gleichzeitig die Begasung etwa mit  $\text{CO}_2\text{-O}_2$  bei 37 Grad (physiologische Bedingungen) bei erhöhtem Druck (erhöhte Gasaufnahmekapazität). Darüber hinaus ist man dadurch von der erhöht platzierten voluminösen Anordnung der traditionellen hydrostatischen Strömungskontrolle unabhängig.

#### **Perfusionssystem**

Designkriterien: Einfachheit, Kompaktheit, Schnelligkeit, Flexibilität

- Das System ist aus nur 3 Komponenten schichtartig aufgebaut: Kontrollelement,  
25 Strömungselement, Heizelement. Der Zusammenbau ist einfach.
- Die flache Anordnung der Kanäle erlaubt eine schnelle und einfache Realisierung komplexer Kanalsysteme. Dabei muss nur eine einzige Komponente hergestellt werden: das Strömungselement.
- Die flache Anordnung erlaubt direkte Integration von Perfusionssystem,  
30 Perfusionskammer und anderer Elemente.
- Die flache Anordnung erlaubt eine effiziente Simulation der Strömung und korrektes

Design vor Realisation.

- Die Elastomerschicht hat Doppelfunktion: Träger des Kanalsystems und Dichtung.
- Das Strömungselement ist bei Kontamination oder gewünschtem Kanalsystemwechsel leicht ersetzbar. Dessen Herstellung ist einfach und kann von fachfremden Personen durchgeführt werden.
- 5 - Das Kanalsystem kann beliebig gestaltet werden und mit Standardtechniken hergestellt werden.
- Um ein möglichst schnelles und artefaktfreies Schalten und Mischen zu gewährleisten, werden miniaturisierte und elektrisch steuerbare Ventile eingesetzt.
- 10 - Aufgrund der Kompaktheit und der geringen Flüssigkeitsmengen in den Mikrokanälen ist der Wärmeübertrag auf die durchfließende Lösung erheblich besser. Die Temperaturkontrolle wird daher effizienter und stabiler.
- Die Kompaktheit vereinfacht die Integration z. B. in Mikroskopaufbauten.
- Kleine Flüssigkeitsmengen lassen sich schneller und präziser schalten.
- 15 - Die Temperaturkontrolle wird daher effizienter und stabiler.
- Die Kompaktheit vereinfacht die Integration z. B. in Mikroskopaufbauten.

Aufgrund der Kompaktheit und der geringen Flüssigkeitsmengen in den Mikrokanälen ist der Wärmeübertrag auf die durchfließende Lösung besser. Der erste Teil besteht aus mehreren

20 Vorratsbehältern, welche die Flüssigkeiten (Nährlösung, Puffer, Pharmaka etc.) enthalten. Der zweite Teil besteht aus einem sehr kompakten, schichtweise aufgebauten, dreikomponentigen System. Es vereint elektrisch steuerbare Ventile, eine miniaturisierte Mischkammer und eine Temperaturregulierung und kann problemlos in die verschiedensten, bereits vorhandenen Versuchsaufbauten (Patch-clamp-Setup, konfokale Mikroskope, Two-Photon-Mikroskope)

25 integriert werden. Über die Ventile können Flüssigkeiten aus den Vorratsbehältern selektiert und in die Perfusionskammer geleitet werden.

## P a t e n t a n s p r ü c h e

- 
1. Zuleitungssystem, umfassend mindestens zwei Zuleitungen zu einer Mischkammer, die über eine Ausgangsleitung verfügt, dadurch gekennzeichnet, dass das Zuleitungssystem durch ein Schichtsystem aus mindestens zwei Schichten gebildet wird, von denen die erste Schicht (7) ein Strömungselement ist, in welches die Mischkammer (11), mindestens zwei Kanäle (10, 10a), die in die Mischkammer (11) führen, sowie ein Ausgangskanal (12), der von der Mischkammer (11) zu einer Probe oder einem Substrat führt, eingelassen sind und die zweite Schicht (8) auf die erste Schicht (7) abdichtend aufgebracht ist.
2. Zuleitungssystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die als Strömungselement dienende Schicht (7) aus einem starren Material besteht und mit Befestigungsmitteln an der Deckschicht 8 flüssigkeitsdicht befestigt ist.
3. Zuleitungssystem nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die als Strömungselement dienende Schicht (7) aus Metall, Edelstahl, Glas, Kunststoff oder PMMA besteht.
4. Zuleitungssystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die als Strömungselement dienende Schicht (7) aus einem elastischen Material besteht, und durch eine weitere Schicht (9) durch Befestigungsmittel an die Deckschicht (8) abdichtend angedrückt wird.
5. Zuleitungssystem nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die als Strömungselement dienende Schicht (7) aus Gummi, Silikon oder PDMS besteht.
6. Zuleitungssystem nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet,

- dass mindestens eine der Schichten aus der Gruppe
- als Strömungselement dienende Schicht (7),
  - Deckschicht (8)
  - weitere Schicht (9), mit der die als Strömungselement dienende Schicht (7) durch
- 5 Befestigungsmittel an die Deckschicht (8) abdichtend angedrückt wird,  
aus transparentem oder durchsichtigem Material besteht.
7. Zuleitungssystem nach einem der Ansprüche 1 bis 6,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass die Querschnitte wenigstens eines Teils der Kanäle (10, 10a) und/oder des Aus-
- 10 gangskanals in der Breite eine größere Abmessung haben als in der Tiefe.
8. Zuleitungssystem nach eine der Ansprüche 1 bis 7,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass die Querschnitte wenigstens eines Teils der Kanäle (10, 10a) und/oder des Aus-
- 15 gangskanals in der Tiefe eine größere Abmessung haben als in der Breite.
9. Zuleitungssystem nach einem der Ansprüche 1 bis 8,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass es mit Mitteln zum Temperieren von Flüssigkeitsströmen ausgestattet ist, die min-
- 20 destens einen Teil der Kanäle (10, 10a) und/oder den Ausgangskanal (12) und/oder die  
Mischkammer 11 temperieren.
10. Zuleitungssystem nach Anspruch 9,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass die Temperiermittel mindestens eine Komponente aus der Gruppe bestehend aus
- 25 Peltierelement, Heizplatte, flüssigkeitsführende Kanäle oder Leitungen ist.
11. Zuleitungssystem nach einem der Ansprüche 1 bis 10,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass mindestens ein Teil der Kanäle (10, 10a) und/oder der Ausgangskanal (12) mit
- Mitteln zum Unterbrechen des Flüssigkeitsstromes ausgestattet ist.
12. Zuleitungssystem nach einem der Ansprüche 1 bis 11,  
dadurch gekennzeichnet,

dass mindestens ein Teil der Kanäle (10, 10a) über Zuleitungen (4, 4a) mit einem Vorratsbehälter (1, 1a) verbunden ist.

13. Zuleitungssystem nach Anspruch 12,  
dadurch gekennzeichnet,  
5 dass die Zuleitungen (4, 4a) mit Ventilen (5, 5a) ausgestattet sind.
14. Zuleitungssystem nach Anspruch 13,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass die Ventile (5, 5a) eine Rückführung eines Flüssigkeitsstromes von dem Vorratsbehälter (1, 1a) zu dem Zuleitungssystem zurück in die Vorratsbehälter ermöglichen.
- 10 15. Zuleitungssystem nach einem der Ansprüche 12 bis 14,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass die Vorratsbehälter (1, 1a, 1b) eine flache Geometrie aufweisen und gestapelt sind.
16. Zuleitungssystem nach einem der Ansprüche 12 bis 15,  
dadurch gekennzeichnet,  
15 dass die Vorratsbehälter (1, 1a) an eine Druckquelle (2, 2a) angeschlossen sind.
17. Zuleitungssystem nach Anspruch 16,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
die Druckquelle (2, 2a) einen Vorratsbehälter (1, 1a) mit einem Gas- oder Flüssigkeitsvorrat umfasst.
- 20 18. Vorrichtung nach Anspruch 16 oder 17,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass alle Vorratsbehälter (1, 1a) an eine einzige Druckquelle (2) angeschlossen sind.
19. Vorrichtung nach Anspruch 16 oder 17,  
dadurch gekennzeichnet,  
25 dass mindestens zwei Vorratsbehälter (1, 1a) an verschiedene Druckquellen (2, 2a) angeschlossen sind.
20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 19,  
dadurch gekennzeichnet,

dass sich in der Ausgangsleitung (12) eine Kammer befindet, welche die Probe aufnehmen kann.

21. Vorrichtung nach Anspruch 20,

dadurch gekennzeichnet,

5 dass sie über Detektoren verfügt, welche optische und/oder elektrische und/oder magnetische Messungen an der Probe in der Kammer nach Anspruch 19 ermöglichen.

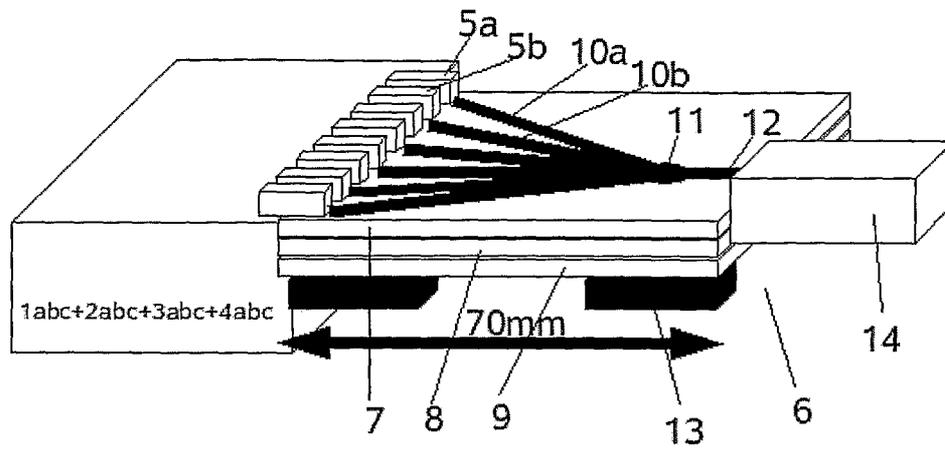


Fig. 1

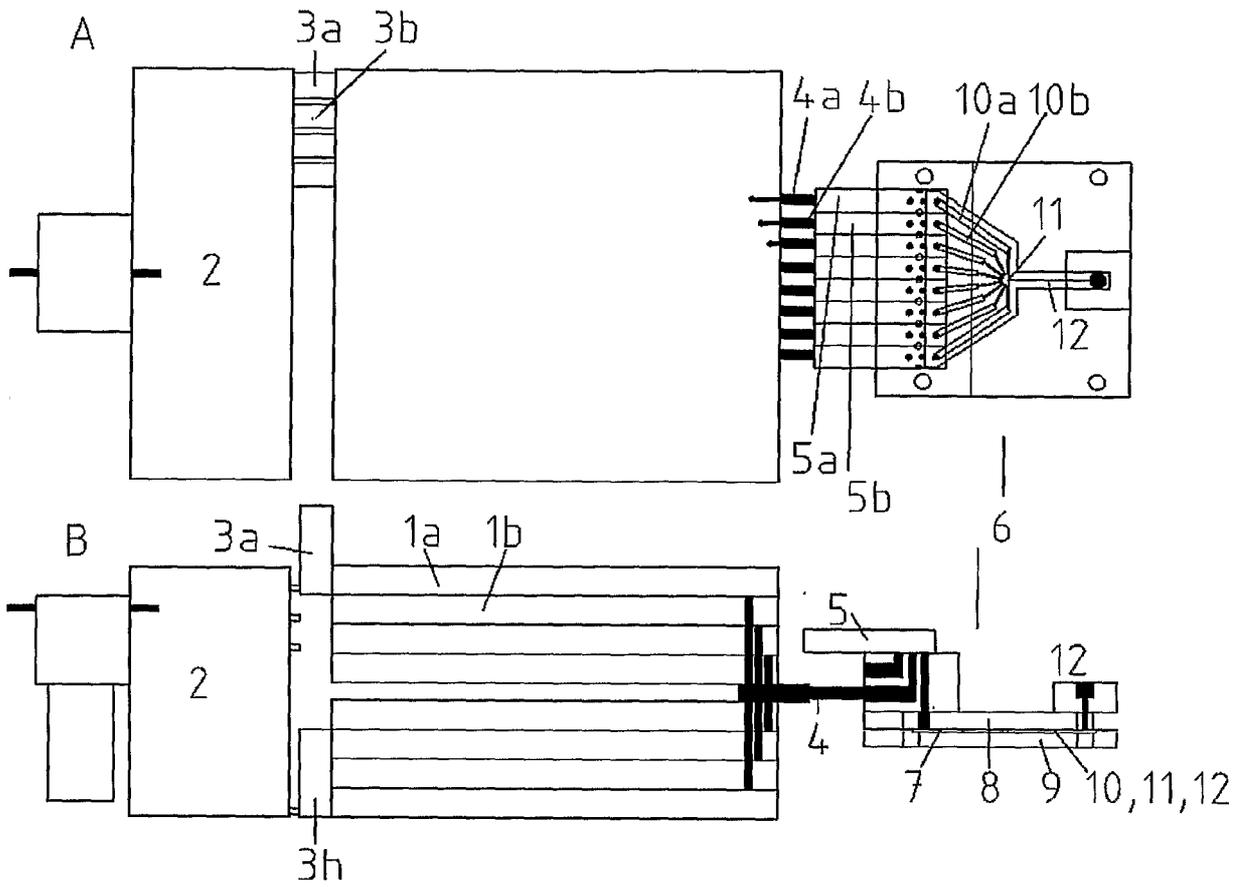


Fig. 2