



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 29 777 T2 2004.07.15**

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 768 519 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 29 777.9**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 307 500.7**

(96) Europäischer Anmeldetag: **15.10.1996**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **16.04.1997**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **03.09.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **15.07.2004**

(51) Int Cl.7: **B01L 3/02**

B01L 3/00

(30) Unionspriorität:

5467 16.10.1995 US

(73) Patentinhaber:

**Ortho-Clinical Diagnostics, Inc., Rochester, N.Y.,
US**

(74) Vertreter:

BOEHMERT & BOEHMERT, 80336 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, IT, LI, NL

(72) Erfinder:

**Belly, Robert Troconis, Webster, New York 14580,
US; Chemelli, John Benjamin, Webster, New York
14580, US; Steinmann, Michele McWilliams,
Rochester, New York 14607, US**

(54) Bezeichnung: **Gefäß zum Färben von Zellen und Geweben in Verbindung mit einer Rolle und einem Halter**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Erfindung betrifft das Gebiet von flexiblen Gefäßen für Reagentien, die verwendet werden, um Färbungsreaktionen bereitzustellen, und speziell um lediglich die Mengen bereitzustellen, die tatsächlich benötigt werden, ohne exponierte, nicht verwendete Reagentien für längere Zeitdauern zu lagern.

[0002] Bei Naßassayanalysatoren ist es üblich gewesen, flüssige Reagentien in Flaschen bereitzustellen und dann Reagentien in Pipetten anzusaugen, welche diese in Küvetten verteilen, welche Patientenprobe enthalten, oder auf irgendeine andere Art eines Probenhalters. Ein Problem unter anderen ist, daß die Reagenzflaschen mit einer Überfülle geliefert werden, und, sobald sie geöffnet sind, dazu tendieren, lediglich eine begrenzte geeignete Lebensdauer zu haben. Als ein Ergebnis muß überschüssiges, nicht verwendetes Reagenz verworfen werden, wenn eine geöffnete Flasche über ihre angegebene Lebensdauer gealtert ist. Dies ist insbesondere ein Problem für teure Reagentien, wie Antikörper.

[0003] Noch ein weiteres Problem mit solchen Analysatoren ist deren Ungeeignetheit zur Handhabung von Zellfärbungsoperationen gewesen, wobei tatsächlich ein Zellfärben gewöhnlicherweise auf Glasobjektträgern durchgeführt wird. Obwohl die US-A-3,654,091 an Binnings einen Analysator zur Bearbeitung von Glasobjektträgern offenbart, verwendet sie doch das nicht zufriedenstellende Flaschenreagenzkonzept, das in dem vorherigen Absatz beschrieben wurde.

[0004] Es stimmt, daß Gefäße auf dem Fachgebiet bekannt sind, welche Reagentien aufweisen, die darin in anfänglich getrennten Fächern vorabgeschieden sind, beispielsweise wie es in der US-A-5,290,518 beschrieben wird. Obwohl solche Reagentien zum Zeitpunkt des Tests (für Reagenzstabilität) innerhalb des Gefäßes an einer Kammer stromabwärts von seinen vorübergehend abgedichteten Fächern vermischt werden können, arbeitet ein solches Vermischen aufgrund a) der großen Volumina, die involviert sind, und b) der äußerlichen Manipulation, die mit der Mischungskammer möglich ist. Wenn, was häufig der Fall ist, keine dieser beiden Bedingungen vorliegt, mischen sich jede kleinen Volumina, die zu einer inneren Mischungskammer zugefügt werden, nicht einheitlich, sondern werden (in einem einzigen Fluß) als getrennt identifizierbare Ströme gehalten. Somit sind die Gefäße aus dem Stand der Technik nicht in allen Fällen zum Vermischen zweier Reagentien darin geeignet gewesen.

[0005] Die US-A-4,659,677 offenbart eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Bilden eines Tropfens aus zwei Flüssigkeiten, die jeweils von einer getrennten Plattform herabhängen und zum Bewegen der Plattformen von einer beabstandeten Position zu einer, in welcher die Tropfen sich zusammen berühren und vereinigen, während sie noch von den Plattfor-

men herabhängen.

[0006] Die US-A-4,040,420 offenbart eine Vorrichtung zum Lagern und Verteilen einer Vielzahl von ungleichen, reagierbaren Fluidmaterialien, so daß die Fluide zusammengemischt, miteinander verbunden oder getrennt gehalten werden können, bis sie durch Nadelpunktöffnungen injiziert werden.

[0007] Die US-A-4,978,336 offenbart ein Spritzensystem zum Liefern eines ersten und zweiten Fluids in eine gemischte Zusammensetzung.

[0008] Wir haben ein Reagenzgefäß und ein Verfahren zur Verwendung entwickelt, welche die oben erwähnten Probleme lösen.

[0009] Insbesondere wird gemäß einer Erscheinung der Erfindung ein flexibles Gefäß bereitgestellt, das vorabgeschiedene Reagentien enthält, umfassend: eine Vielzahl an vorübergehend abgedichteten, zerbrechlichen Fächern, die in dem Gefäß verteilt sind, wobei jedes Fach ein für Immunassays nützliches Reagenz enthält und jedes Fach entgegengesetzte, begrenzende Wände aufweist, wobei zumindest eine von diesen ausreichend flexibel ist, um ein Zusammendrücken des Faches in der Gegenwart einer entsprechenden äußeren Kraft zu ermöglichen, äußere Auslässe in dem Gefäß für die Inhalte der Fächer, Durchgänge, die sich von jedem der Fächer zu den Auslässen erstrecken, wobei jeder der Auslässe in einer Plattform endet, welche einen Tropfen von mindestens 10 µl als einen herabhängenden Tropfen hält,

wobei die Plattformen von mindestens zwei der Auslässe benachbart zueinander sind, so daß zwischen ihnen ein äußerer Winkel in Bezug zueinander gebildet wird, der ausreichend ist, um zu bewirken, daß Tropfen, die davon herabhängen, sich im wesentlichen einheitlich vermischen.

[0010] Gemäß einer weiteren Erscheinung der Erfindung wird ein Verfahren zum Abscheiden von Reagentien auf eine Zellprobe zum Immenfärben der Probe bereitgestellt, welches die Schritte umfaßt:

- a) Bereitstellen der Reagentien in aufbrechbaren Fächern, von denen jedes sich über einen Durchgang zu einem äußeren Auslaß entleert,
- b) selektives Aufbrechen der Fächer in einer vorgegebenen Reihenfolge, um zu erzwingen, daß die Inhalte über die Durchgänge und aus den Auslässen ausgestoßen werden, und
- c) Veranlassen, daß die Inhalte von zwei benachbarten Fächern sich im wesentlichen einheitlich an ihren Auslässen vermischen, vor der Abscheidung auf die Zellprobe.

[0011] Demzufolge ist es ein vorteilhaftes Merkmal der Erfindung, daß ein Gefäß und ein Verfahren bereitgestellt werden, die das automatisierte Färben von Zellen auf einem Glasobjektträger mit einem Minimum an Abfallreagenz ermöglichen.

[0012] Es ist ein verwandtes vorteilhaftes Merkmal der Erfindung, daß ein Gefäß und ein Verfahren zum Liefern von Reagentien für jede Art der Verarbeitung

bereitgestellt werden, welche eine Verschwendung vermeiden, die auftritt, wenn sie in Flaschenform geliefert werden, und noch ein adequates Mischen von bestimmten Reagentien bereitgestellt wird, bevor sie von dem Gefäß ausgelöst werden.

[0013] Andere vorteilhafte Merkmale werden offensichtlich werden unter Verweis auf die folgende "detaillierte Beschreibung", wenn sie im Lichte der beigefügten Zeichnungen gelesen wird, in denen:

[0014] **Fig. 1** eine Aufsicht eines Gefäßes und einer verbundenen Vorrichtung ist, die gemäß der Erfindung konstruiert sind;

[0015] **Fig. 2** eine vergrößerte, fragmentarische Aufsicht auf den Bereich des Gefäßes ist, der als II in **Fig. 1** identifiziert ist;

[0016] **Fig. 3** eine Ansicht ist, die ähnlich ist zu derjenigen aus **Fig. 2**, welche jedoch eine alternative Ausführungsform der Erfindung veranschaulicht;

[0017] **Fig. 4** eine Schnittansicht ist, die entlang der Linie IV-IV aus **Fig. 2** verläuft; und

[0018] **Fig. 5** eine Schnittansicht entlang der Linie V-V aus **Fig. 1** ist.

[0019] Die anschließende Diskussion ist für die bevorzugten Ausführungsformen, wobei ein Färben von Zellen auf einem Halter durchgeführt wird, welcher Glasobjektträger umfaßt, und wobei das Gefäß eine bestimmte bevorzugte Konstruktion mit Fächern aufweist, welche bevorzugte Reagentien enthalten. Zusätzlich ist die Erfindung geeignet für jede diagnostische Anwendung, einschließlich solcher unter Verwendung von Reagentien jeder Art (in dem Gefäß), solcher, die auf einen Halter jeder Art aufgetragen werden, und wobei das Gefäß andere Konstruktionen mit zusätzlichen Fächern, welche andere Reagentien oder Spülungen enthalten, aufweist.

[0020] Ein Immunfärben von Zellen kann herkömmlich durch die folgenden Schritte betrieben werden:

- 1) Eine Quelle von Zellen, wie eine Gewebekultur, wird auf einen Halter, wie einem Glasobjektträger, abgeschieden und fixiert.
- 2) Eine Proteinblockierlösung wird aufgetragen und die Zellen plus der Blockierung werden inkubiert.
- 3) Überschüssige Blockierlösung wird entfernt.
- 4) Ein Antikörper zu dem Antigen, das detektiert wird, wird auf die Zellen auf dem Objektträger aufgetragen und inkubiert.
- 5) Die Zellen werden einmal oder zweimal gespült.
- 6) Verknüpfungslösung wird dann aufgetragen und inkubiert. Avidin mit vier Bindungsstellen ist als eine solche Verknüpfung geeignet, wenn sowohl der Antikörper als auch die Markierung biotinyliert sind.
- 7) Ein Spülen findet wieder wie in Schritt 5) statt.
- 8) Eine Markierung wird dann aufgetragen, beispielsweise ein Enzym, gefolgt von einer Inkubation.
- 9) Ein Spülen wird wiederum durchgeführt, wie es in Schritt 5) der Fall ist.

10) Eine Chromogenlösung wird dann aufgetragen, um mit jeder Markierung zu reagieren, die mit dem Antikörper fest verbleibt, der mit dem Zielantigen einen Komplex gebildet hat, und wird inkubiert.

11) Ein Spülen wird erneut durchgeführt, gefolgt von einem Abtupfen, um überschüssiges Wasser zu entfernen.

12) Ein Gegenfärbemittel wird aufgetragen, gefolgt von einer Spülung und einer Auftragung einer geeigneten basischen Lösung.

13) Eine weitere Spülung wird aufgetragen und, sofern ein permanenter Objektträger gewünscht wird, werden eine Haltelösung und ein Deckgläschen aufgetragen.

[0021] Das gesamte Verarbeiten ist herkömmlich und wird nicht weiter beschrieben. Fachleute auf diesem Gebiet werden erkennen, daß geeignete Enzymmarkierungen solche Materialien wie Meerrettichperoxidase, Beta-Galactosidase, Glucoseoxidase und alkalische Phosphatase einschließen. Geeignete Markierungen, welche andere sind als Enzyme, schließen Fluorophore ein.

[0022] Zusätzlich zum Immunfärben können andere Färbungsreaktionen unter Verwendung einer enzymatischen Detektion mit diesem Gefäß durchgeführt werden. Beispielsweise können eine in situ-Hybridisierung und andere Verstärkungssysteme verwendet werden. Eine in situ-Hybridisierung bringt eine DNA- oder RNA-Sonde, direkt oder indirekt markiert mit einem Enzym, wobei die Sonde mit einem Nukleinsäureziel, das in den Zielzellen vorhanden ist, hybridisiert. Details für eine solche Hybridisierungsdetektion von Zellen werden beispielsweise in "Methods of Enzymology", Band 168, herausgegeben von P. Conn., 1989, Seiten 753-761, gefunden.

[0023] Es ist der Vorteil dieser Erfindung, daß Lösungen der entscheidenden Reagentien, beispielsweise die Proteinblockierung, der Antikörper, die Verknüpfung und die Markierung, aus einem vorgefertigten, wegwerfbaren Gefäß aufgetragen werden, welches lediglich die erforderliche Menge liefert und keinen beträchtlichen Überschuß, der gelagert werden muß, exponiert in der Vorrichtung zurückläßt.

[0024] Insbesondere wird gemäß einer Erscheinung der Erfindung ein flexibles Gefäß **10**, **Fig. 1**, bereitgestellt, welches gegenüberliegende Bögen aus Kunststoff umfaßt, die zusammen abgedichtet sind, um Fächer **12**, **14**, **16**, **18** und **20** innerhalb des Rands **8** des Gefäßes zu bilden, und Durchgänge **22**, **24**, **26**, **28** bzw. **30**, welche von den Fächern zu dem Rand **8** führen.

[0025] Spezieller, **Fig. 4**, werden gegenüberliegende Bögen **32** und **34** zusammen abgedichtet, außer die eingesperrten Fächer und Durchgänge, die oben erwähnt werden. Abgedichtete Oberflächen sind getüpfelt gezeigt, **Fig. 1-3**. Bevorzugt umfaßt jeder Bogen **32** und **34** eine Doppelschicht aus Kunststoff, nämlich eine äußere Schicht **36** und eine innere

Schicht **38**. Jedes flexible Material kann verwendet werden, vorausgesetzt, daß Bögen **32** und **34** sich nach innen biegen können, wenn ein äußerer Druck von wenigstens 34 kPa beaufschlagt wird. Beispielsweise kann die äußere Schicht einen orientierten Polyester- oder "Nylon" (TM)-Film umfassen, und die innere Schicht einen Polyethylen- oder einen Polypropylenbogen. Eine Barrierschicht kann zugefügt werden, wie eine Schicht aus Ethylen-Vinylalkohol, oder ein metallisierter Polyester.

[0026] Somit quert die abgedichtete Kante den gesamten Rand **8** außer an den Auslässen der Durchgänge. Auslässe **42** und **44** sind vergrößert in **Fig. 2** und **3** gezeigt, und es sind die Auslässe der Durchgänge **22** bzw. **24**, und wie in **Fig. 1** gezeigt ist, sind sie die ersten und zweiten Auslässe, die von Ende **46** auf der linken Seite kommen. Jeder Auslaß ist von einem Bereich des Rands **8** umgeben, der eine Plattform **50** zum Halten eines herabhängenden Tropfens der Lösung, die an dem Auslaß vorliegt, bildet. Die Größe des Tropfens, wie er gehalten wird, kann variiert werden, abhängig von den beabsichtigten Lösungsvolumina, die zu verteilen sind. An einem Minimum ist jedoch die Plattform geformt und weist eine Größe auf, um einen Tropfen zu halten und dann zu verteilen, mit einem Volumen von wenigstens 10 µl. Beispielsweise können die Dimensionen L_1 , L_2 und L_3 der Plattform **50** wie folgt sein: L_1 und $L_3 = 0,9$ mm (0,035 Inch) jeweils, und $L_2 = 1,5$ mm, für D1 von Durchgang **22** und **24** von jeweils 1,5 mm. Die gesamte Plattformdicke (in der Dimension der Seite) ist 0,2 mm (0,008"). Eine solche Plattform ermöglicht es, einen Tropfen zu halten, der davon mit einem Volumen von 10 µl herabhängt, wenn jedoch die Flüssigkeit, die von dem Auslaß bzw. den Auslässen der Plattform verteilt wird, größer ist als 30 µl, wird solche Flüssigkeit hinunterfallen, ohne daß sie ausgelöst werden muß. Somit werden Tropfen, die so klein sind wie 10 µl, bevorzugt von einer solchen Plattform auf Halter **120** ausgelöst, **Fig. 5**.

[0027] Die Auslässe und die Plattformen der Durchgänge **22** und **24** unterscheiden sich von den anderen, **Fig. 2**, als daß der Bereich **50'** der Plattform zwischen diesen, benachbart zu den Auslässen der Durchgänge **22** und **24**, einen äußeren Winkel alpha bildet, wie es in **Fig. 2** gezeigt ist, der ausreichend ist, um zu bewirken, daß Tropfen, die von jedem der zwei Durchgänge ausgestoßen werden, sich im wesentlichen einheitlich vermischen. Dies ist als gestrichelte Tropfen D_1 und D_2 , wie ausgeströmt, gezeigt, die sich zusammenbinden, um einen vermischten vereinigten Tropfen D_3 (ebenfalls gestrichelt) zu bilden.

[0028] Beide Fächer **12** und **14** leeren sich zur gleichen Zeit aufgrund von Rolle **80**, die im folgenden beschrieben wird, welche über diese zusammen vorrückt, wie es gestrichelt, **Fig. 1**, gezeigt ist. Jedoch werden Fächer **16**, **18** und **20** jeweils getrennt von den anderen aufgebrochen.

[0029] Für die beabsichtigte Verwendung ist der Winkel alpha bevorzugt zwischen 180° , **Fig. 2**, und

330° , **Fig. 3**. Wenn alpha 180° übersteigt, stellt er einen Vorteil eines Punkts **60** und einer Neigung an jedem der zwei Auslässe bereit, was bewirkt, daß die einzelnen Tropfen D_1 und D_2 (gezeigt als durchgezogene Linien, **Fig. 3**) aufeinander zulaufen, um sich in der Nähe von Punkt **60** zu vermischen. L_1' , L_2' und L_3' können in einem solche Falle die gleichen sein wie L_1 , L_2 und L_3 , so daß die tatsächlichen Plattformgrößen etwas größer für **50'** sind.

[0030] Als Vergleichsbeispiele ist gefunden worden, daß eine Konstruktion des Winkels alpha, der kleiner ist als 180° , versagt, da eine solche eine Neigung erzeugt, welche die Tropfen anregt, voneinander wegzuzießen, beispielsweise weg von Bereich **50'**, und somit vermischen sie sich nicht.

[0031] Am bevorzugtesten ist, wenn der Winkel alpha 180° ist, daß dann die Plattform **50** vielmehr orientiert ist, um bei Verwendung horizontal zu sein, als daß sie einen gewissen nicht horizontalen Winkel zeigt, **Fig. 2**.

[0032] Es wird jedoch klar sein, daß jedes der Fächer **12**, **14**, **16**, **18** und **20** anfänglich vorübergehend an deren Durchgängen abgedichtet sind, beispielsweise bei **62** für Fach **12**, **Fig. 1**, **64** für **14** usw., was verhindert, daß die Inhalte des Fachs vorzeitig freigegeben werden. Die Abdichtung, die verwendet wird, um einen Fluß in den Durchgang (**62** für Fach **12**) zu blockieren, ist nicht so robust wie die Abdichtungen um den Rand der Fächer und Durchgänge. Das heißt, Abdichtungen **62**, **64**, **66**, **68** und **70** sind entworfen, um bei etwas Kraft, wie 40 kPa (6+ psi) zu brechen, was jedoch nicht Randabdichtungen bei **8** brechen wird. Eine solche vorübergehende Abdichtung wird herkömmlicherweise für die Kunststoffe der Bögen **32** und **34** erreicht, die oben genannt sind, durch Erzeugen der vorübergehenden Abdichtung bei einer niedrigeren Abdichtungstemperatur oder verminderter Abdichterverbreitungszeit oder verminderter Abdichterdruck oder irgendeiner Kombination aller dieser Variablen, um eine ablösbare Grenzflächenabdichtung zu erzeugen, verglichen mit einer vollständig festen Klebebindung, die anderswo an dem Gefäß verwendet wird. Die Form der vorübergehenden Abdichtungen ist bevorzugt diejenige, die in Abdichtungen **46** und **56** in **Fig. 1** der US 5,254,479 gezeigt ist, welche hierin spezifisch durch Bezugnahme eingeschlossen ist.

[0033] Die äußere Kraft zum Aufbrechen dieser Abdichtungen wird, wie im folgenden beschrieben werden wird, beaufschlagt.

[0034] Die Inhalte jedes der Fächer **12**, **14**, **16**, **18** und **20** hängen ab von der Art der Färbung, die durchgeführt wird, und der Art der Lösungen, die verwendet werden. Hochbevorzugt ist jedoch das folgende: Fächer **20** enthalten einen primären Antikörper, beispielsweise für das interessierende Antigen; **18** enthält die Verknüpfungslösung, beispielsweise eine Anti-Immunglobulinlösung; **16** enthält eine Markierungslösung, beispielsweise eine Peroxidase; **14** enthält ein Chromogen, wie ein Substrat für das En-

zym; und **12** enthält Wasserstoffperoxid, welches nicht mit dem Chromogen vor der Verwendung gelagert werden kann.

[0035] Alternativerweise enthält Fach **20** eine Proteinblockierlösung, **18** enthält einen primären Antikörper, **16** enthält einen Enzym-markierten Antikörper, gerichtet auf die Spezies, welche den primären Antikörper erzeugt, bevorzugt Peroxidase-markiert; und **14** und **12** verbleiben wie oben beschrieben.

[0036] Noch weiter kann Blase **16** ausgelassen werden, wenn **20** eine Proteinblockierlösung und **18** einen primären Antikörper mit einer Enzym-Markierung enthält.

[0037] Bevorzugt ist keine Probe vorhanden, da diese auf einem Halter, der unten beschrieben wird, aufgetragen wird.

[0038] Um die äußere Kraft zu liefern, die notwendig ist, um Abdichtungen **62**, **64**, **66**, **68** und **70** zu zerbrechen, wird eine Rolle **80** in Kombination mit Gefäß **10**, **Fig. 1** und **Fig. 5**, verwendet. Die Rolle **80** ist für eine Drehung um eine Achse **82** montiert, um so die Rolle **80** in der Richtung des Pfeils **84**, wenn sie rollt, zu bewegen. Zusätzlich ist sie bevorzugt für eine Translation montiert, Pfeil **86**.

[0039] Diese Bewegungsgrade können durch eine Vielzahl von Anordnungen erreicht werden. Beispielsweise kann ein Achsbolzen **90** die Rolle **80** entlang Achse **82** an einen Rahmen **92** anbinden, welcher über ein Schraubengewinde an eine Verstellerschraubenspindel **94** angebunden ist, die durch einen Schrittmotor, nicht gezeigt, angetrieben wird. Dies bewirkt eine Translationsbewegung, Pfeil **86**, des Rahmenbauteils **92** und der Rolle **80**. Die Schraube **94** wird durch ein Rahmenbauteil **96** getragen, in welchem ein zweiter Achsbolzen **98** gelagert ist, der darauf konzentrisch montiert bewegliche Ritzel **100** aufweist, die sich entlang gegenüberliegender Gestelle (nicht gezeigt) bewegen, um die direktionale Bewegung des Achsbolzens **98** und des Rahmens **92** zu ergeben (in welchem Achsbolzen **98** gelagert ist).

[0040] Noch ein weiterer Mechanismus zum Vorrücken der Rolle ist derjenige, der in der US 5,089,233 gezeigt ist, außer daß lediglich eine Rolle an dem Achsbolzen montiert ist, ohne irgendwelche Erwärmungs- und Kühlmittel, und der gesamte Mechanismus ist 90° gedreht, um so in einer vertikalen, nicht horizontalen Ebene zu arbeiten.

[0041] Das Gefäß **10** wird dann vertikal durch irgendeine geeignete Klammer (nicht gezeigt) immobilisiert, bevorzugt gegen einen starren Halter **102**, **Fig. 5**, so daß Rolle **80** vorrücken kann, Pfeil **84**, über das ausgewählte Fach, um seine Abdichtung aufzubrechen und die enthaltene Flüssigkeit auszutreiben, damit sie an seinem Auslaß ausgegeben wird, gestrichelt gezeigt. Es wird somit offensichtlich sein, daß ebenfalls in der Kombination ein Halter **120** verwendet wird, wie ein Glasobjektträger, auf welchen die Inhalte der Fächer verteilt werden (nachdem zunächst eine Zellprobe auf Halter **120** fixiert worden ist).

[0042] Somit bewirkt durch Positionierung von Rolle **80**, wie es gestrichelt gezeigt ist, **Fig. 1**, so daß sie, wenn sie rollt, beide Fächer **12** und **14** gleichzeitig zusammendrückt, der Betreiber, daß die Inhalte dieser zwei Fächer sich im wesentlichen einheitlich vermischen, wenn sie über Auslässe **42** bzw. **44** ausgestoßen werden.

[0043] Zwischen einem Ausstoß der Inhalte aus jedem Auslaß wird eine Zwischenbewegung, Pfeil **130**, **Fig. 1**, zwischen Halter **120** und Gefäß **10** geliefert. Beispielsweise kann Halter **120** horizontal per Hand oder durch irgendeinen geeigneten Schiebermechanismus bewegt werden. Dies gewährleistet, daß jeder Durchgangsauslaß über dem Punkt auf dem Halter **120** ausgerichtet wird, welche die Zellprobe trägt, wenn der Durchgang Flüssigkeit an den Auslaß liefert.

Patentansprüche

1. Flexibles Gefäß (**10**), das vorabgeschiedene Reagentien enthält, mit einer Vielzahl an vorübergehend abgedichteten, zerbrechlichen Fächern (**12**, **14**, **16**, **18**, **20**), die im Gefäß verteilt sind, wobei jedes Fach ein für Immunasays nützliches Reagenz enthält und jedes Fach entgegengesetzte, begrenzende Wände aufweist, wobei zumindest eine von diesen ausreichend flexibel ist, um ein Zusammendrücken des Faches in der Gegenwart einer entsprechenden äußeren Kraft zu ermöglichen, gekennzeichnet durch äußere Auslässe in dem Gefäß für die Inhalte der Fächer, Durchgänge (**22**, **24**, **26**, **28**, **30**), die sich von jedem der Fächer zu den Auslässen erstrecken, wobei jeder der Auslässe von einem Randabschnitt (**8**) des Gefäßes umgeben ist, der eine Plattform (**50**) bildet, die einen Tropfen von mindestens 10 µL als einen herabhängenden Tropfen hält, wobei die Plattformen von mindestens zwei der Auslässe benachbart zueinander sind, so dass zwischen ihnen ein äußerer Winkel (alpha) in Bezug zueinander gebildet wird, der ausreichend ist, um zu bewirken, dass Tropfen davon herabhängen, um einen vermischten, kombinierten Tropfen zu bilden.

2. Gefäß nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Plattformen zwischen sich einen äußeren Winkel (alpha) bilden, der größer ist als 180° und bevorzugt kleiner ist als 330°.

3. Gefäß nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Plattformen der mindestens zwei Auslässe die erste und die zweite Position der Verteilung in dem Gefäß einnehmen, gemessen von einer ersten äußeren Kante des Gefäßes.

4. Gefäß nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass alle Fächer und Durchgänge frei sind von irgendeiner Probe, die getestet

wird.

5. Gefäß nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Wand sich biegen wird in der Gegenwart eines äußeren Druckes von mindestens 34 kPa (5 psi).

6. Gefäß nach einem der Ansprüche 1 bis 5, und weiter einschließend eine Rolle (**80**) und Mittel, die die Rolle befestigen, um sie zu veranlassen, die Fächer des Gefäßes selektiv zusammenzudrücken, und einen Halter (**120**) zum Aufnehmen der Inhalte der Fächer, wenn sie an den Auslässen aus dem Gefäß ausgestoßen werden.

7. Gefäß nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass eines der Fächer eine Proteinblockierlösung und ein anderes der Fächer eine Lösung eines Antikörpers, der für ein Oberflächenantigen von biologischen Zellen spezifisch ist, enthält.

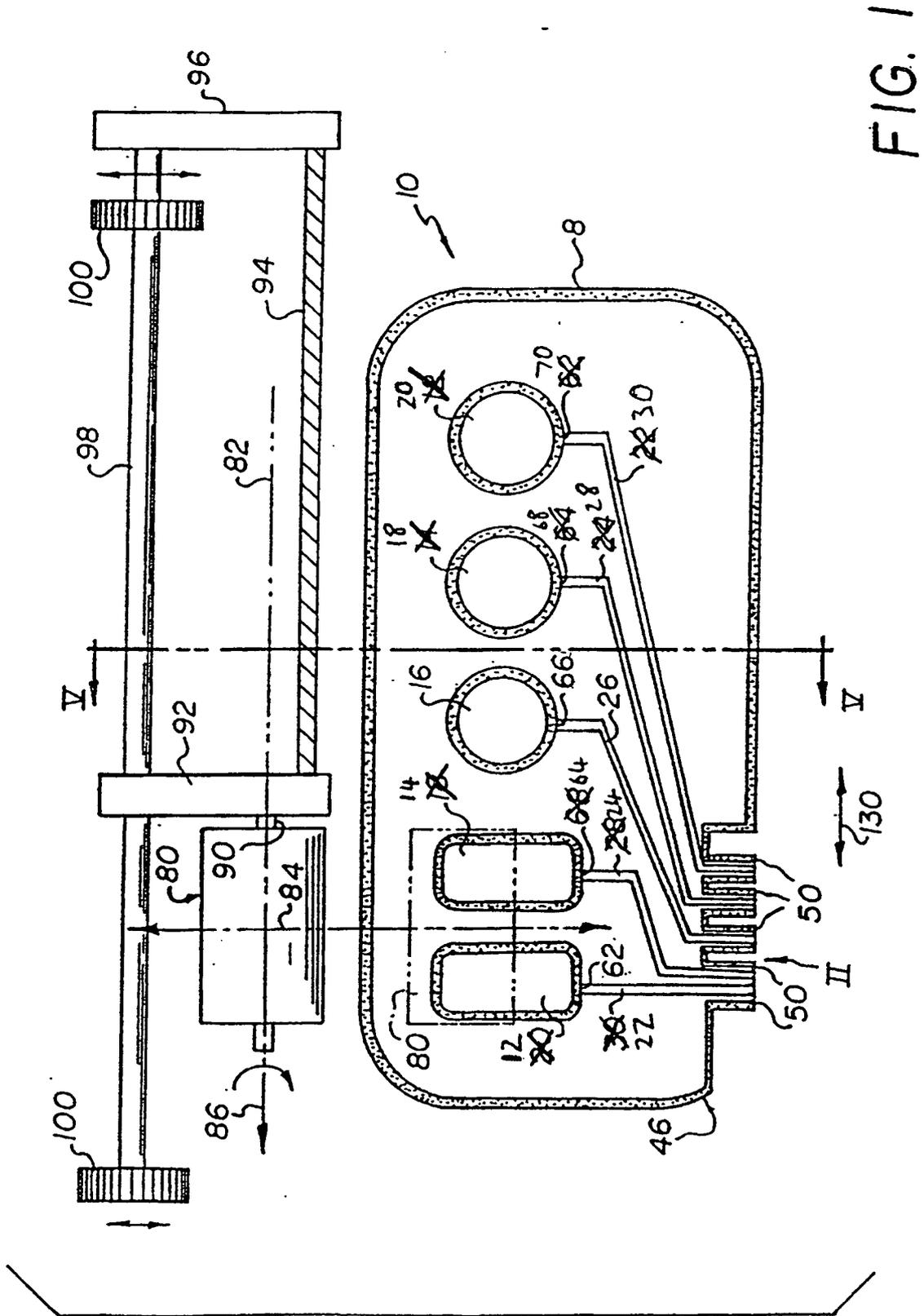
8. Gefäß nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass eines der Fächer eine Lösung eines Antikörpers, der für ein Antigen von biologischen Zellen spezifisch ist, und ein anderes der Fächer eine Verknüpfungslösung enthält.

9. Verfahren zum Abscheiden von Reagentien auf eine Zellprobe zum Immunfärben der Probe, dadurch gekennzeichnet, dass es die folgenden Schritte aufweist:

- a) Bereitstellen eines flexiblen Gefäßes (**10**), das die Reagentien in aufbrechbaren Fächern (**12, 14, 16, 18, 20**) enthält, wobei sich jedes von diesen über einen Durchgang (**22, 24, 26, 28, 30**) aus einem äußeren Auslaß des Gefäßes entleert,
- b) selektives Aufbrechen der Fächer in einer vorgegebenen Reihenfolge, um zu erzwingen, dass die Inhalte über die Durchgänge und aus den Auslässen ausgestoßen werden, und
- c) Veranlassen, dass die Inhalte von zwei benachbarten Fächern (**12, 14**) einen vermischten, kombinierten Tropfen an ihren benachbarten Auslässen vor dem Abscheiden auf die Zellprobe bilden.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass der Schritt b) ein Aufbrechen in folgender Reihenfolge umfaßt: ein Fach, das eine Proteinblockierlösung als ein Reagenz enthält, ein Fach, das einen Antikörper enthält, der spezifisch ist für ein Oberflächenantigen einer Zellprobe, ein Fach, das eine Verknüpfungslösung enthält, und schließlich ein Fach, das eine Markierungslösung enthält.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen



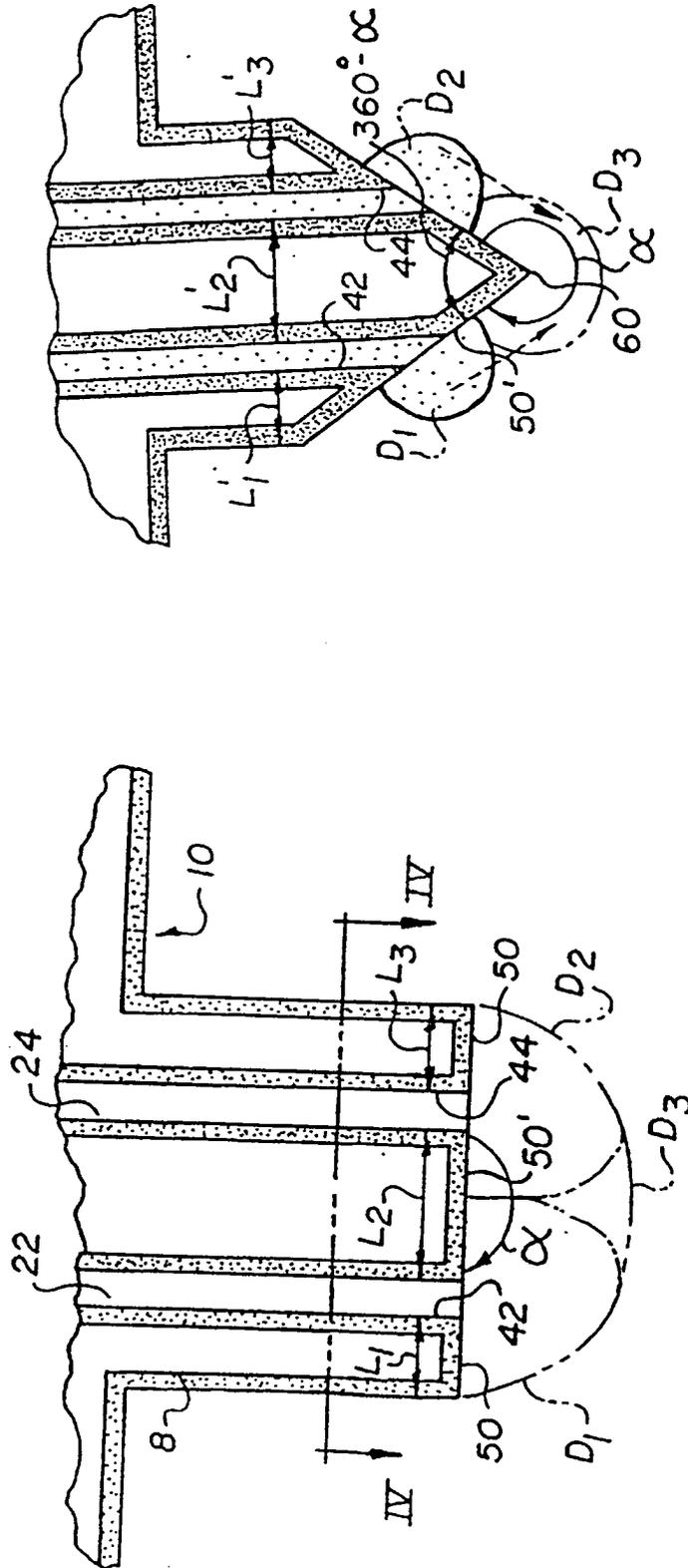


FIG. 3

FIG. 2

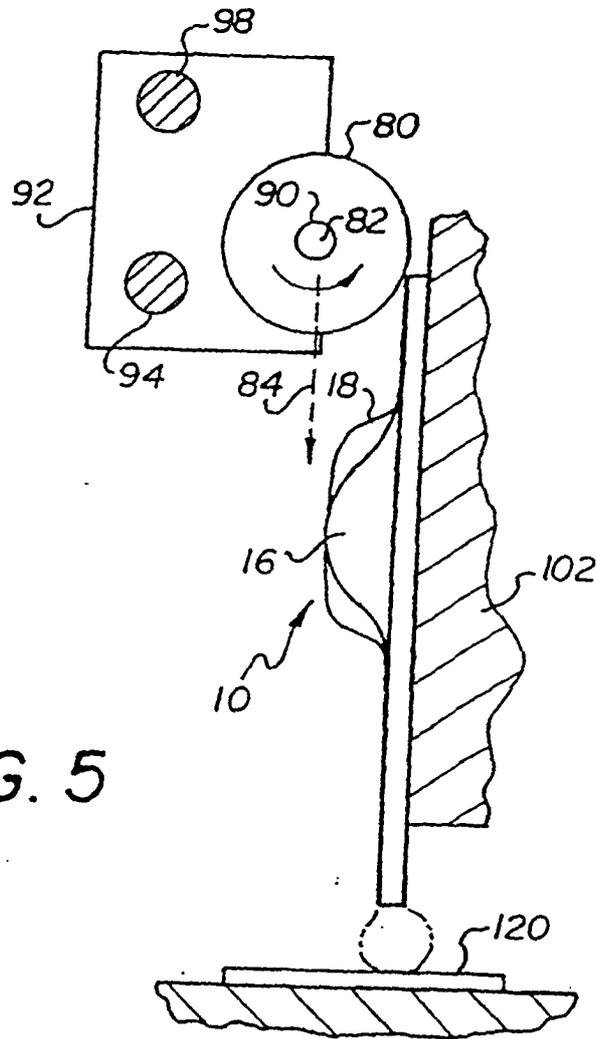


FIG. 5

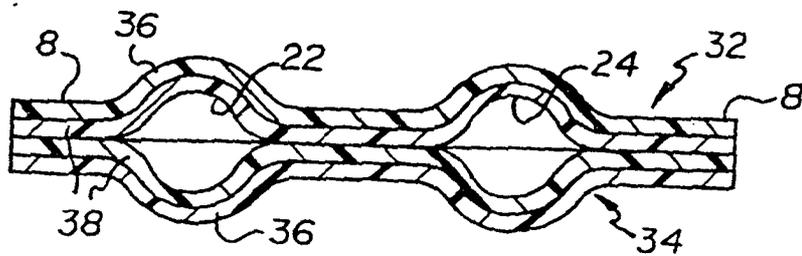


FIG. 4