



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) **EP 1 070 963 A2**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
24.01.2001 Patentblatt 2001/04

(51) Int. Cl.⁷: **G01N 35/10, B08B 3/00**

(21) Anmeldenummer: **00112838.8**

(22) Anmeldetag: **17.06.2000**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(72) Erfinder:
• **Zimmermann, Peter**
07747 Jena (DE)
• **Naumann, Uwe**
07747 Jena (DE)

(30) Priorität: **19.07.1999 DE 19934090**

(74) Vertreter: **Oehmke, Volker et al**
JENOPTIK AG
Patentabteilung
07739 Jena (DE)

(71) Anmelder: **CyBio Instruments GmbH**
07745 Jena (DE)

(54) **Spülwannensystem**

(57) Spülwannensystem für matrixförmig angeordnete Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln mit einer unteren Wanne (2) und einer oberen Wanne (1), wobei in den Innenraum der oberen Wanne (1) Erhebungen ragen, welche Durchgangslöcher aufweisen, die senkrecht zum Wannenboden der oberen Wanne (1) und im gleichen Rastermaß zueinander wie die Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln angeordnet sind, wobei die untere Wanne 2 zum kontinuierlichen Befüllen mit Spülflüssigkeit wenigstens einen Zulauf 10 aufweist und an der oberen Wanne 1 wenigstens ein Ablauf 9 vorhanden ist.

B-B

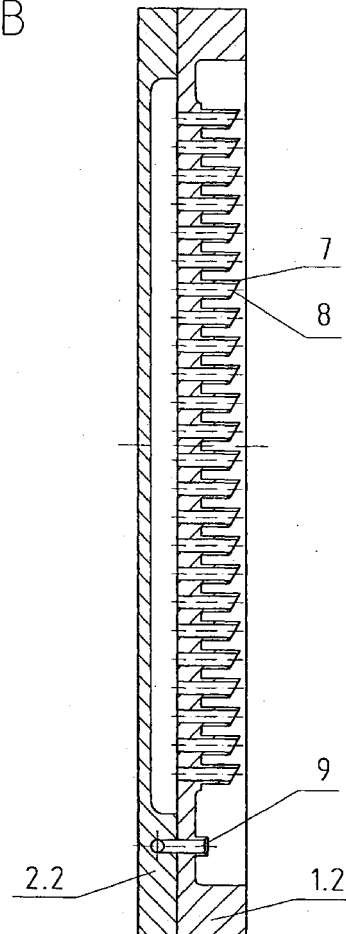


Fig.4

EP 1 070 963 A2

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Spülwannensystem zum Reinigen der Pipettenspitzen von Multipipettoren oder der Transfernadeln von Replikationssystemen mit matrixförmig angeordneten Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln.

[0002] Multipipettoren finden insbesondere in der chemischen und biochemischen Wirkstoffforschung zur Testung einer großen Vielzahl von Substanzen (Substanzbibliotheken) auf ihre Wirksamkeit für einen vorgesehenen Verwendungszweck (HTS: high throughput screening) Anwendung. Höchste Durchsätze werden dabei insbesondere mit Multipipettoren mit matrixförmig angeordneten Pipettenspitzen erreicht. Derzeit sind derartige Multipipettoren mit $8 \times 12 = 96$ und $16 \times 24 = 384$ Pipettenspitzen im Einsatz.

Als Beispiel seien die im Handel erhältlichen Multipipettoren der Firmen Robbins Scientific Sunnyvale, CA und der OpalJena GmbH (DD-PS 260571) genannt.

[0003] Dabei geht die Tendenz sowohl zu einer größer werdenden Anzahl von Testsubstanzvolumen, die auf eine Mikrotitrationsplatte (MTP) abgegeben werden, als auch zur Minimierung der einzelnen Testsubstanzvolumen.

[0004] Wurden diese Untersuchungen früher in MTPs durchgeführt, deren Vertiefungen (Wells) in einem $8 \times 12 = 96$ Well-Raster angeordnet waren und Testsubstanzvolumen bis zu $300 \mu\text{l}$ pro Well aufnehmen konnten, gewinnen zunehmend Formate im Vielfachen dieses Rasters ($16 \times 24 = 384$, $32 \times 48 = 1536$ und $64 \times 96 = 6144$) an Bedeutung. Die Außenmaße der eingesetzten MTPs sind gleich, unabhängig vom Well-Raster, so daß sich ausgehend vom Mittenabstand der Wells beim 8×12 -Raster von 9 mm für die höheren Formate Mittenabstände von 4,5 mm, 2,25 mm und 1,125 mm ergeben.

Dabei verringert sich überproportional das pro Well einbringbare Volumen.

[0005] Zur Testsubstanzübertragung werden seit einiger Zeit vermehrt auch Replikationssysteme eingesetzt, wie sie zum Beispiel von der Firma V&P Scientific Inc., CA angeboten werden.

[0006] Replikationssysteme bestehen aus zweidimensional angeordneten Transfernadeln gleichen Durchmessers und dienen ebenfalls der Testsubstanzübertragung in HTS-Anwendungen. Dabei sind die Transfernadeln vorteilhafterweise derart gestaltet, daß sich beim Eintauchen in eine Testsubstanz ausschließlich an ihrer Stirnseite meniskusförmig Testsubstanz absetzt. Dabei wird das Volumen der übertragbaren Substanz im Wesentlichen durch den Durchmesser der verwendeten Transfernadeln bestimmt und kann wesentlich geringer sein, als es mit oben genannten Multipipettoren möglich ist.

[0007] Eine gemeinsame Anforderung sowohl an Multipipettoren als auch an Replikationssysteme ist die Reinigung der Pipettenspitzen bzw. Transfernadel nach

einem Zyklus der Übertragung von Substanzen, um eine Kontamination der Testsubstanz bei der Neuaufnahme bzw. ein Übersprechen in den Nachfolgezyklus und damit die Verfälschung der Ergebnisse in nachfolgenden Zyklen zu verhindern.

[0008] Die Reinigung der Pipettenspitzen geschieht in einfachsten Fall dadurch, daß aus einem ersten Gefäß saubere Spülflüssigkeit aufgenommen und in ein benachbart angeordnetes zweites Gefäß ausgestoßen wird. Nachteilig bei einer derartigen Lösung ist zum einen, daß die beiden Gefäße im Wechsel unter den Pipettenspitzen angeordnet werden müssen bzw. die Pipettenspitzen über die Gefäße geführt werden müssen und zum anderen die äußere Oberfläche der Pipettenspitzen durch das Eintauchen in die im wesentlichen strömungsfreie Spülflüssigkeit nur unzureichend gereinigt wird, was zugleich zur Kontamination der sauberen Spülflüssigkeit mit Testsubstanz führt.

[0009] Der erstgenannte Nachteil wird mit einem Spülwannensystem für einen Multipipettor, gemäß DE 196 35 004 C1 gelöst.

Ein derartiges Spülwannensystem besteht aus einer ersten Wanne zum Aufnehmen der unverbrauchten (sauberen) Spülflüssigkeit und einer zweiten Wanne zum Aufnehmen der kontaminierten Spülflüssigkeit, wobei die erste Wanne auf der zweiten Wanne aufsitzend angeordnet ist und über ihren Boden verteilt Stege mit durchgehenden Öffnungen (Durchgangslöcher) im Rastermaß eines matrixförmigen Multipipettors vorhanden sind.

Zur Durchführung des Spülprozesses wird die erste Wanne über einen Zulauf mit der sauberen Spülflüssigkeit befüllt. Damit der Füllstand der ersten Wanne die Steghöhe nicht überschreitet und dadurch über die Durchgangslöcher in die zweite Wanne ablaufen kann, ist ein Überlauf oder ein Füllstandssensor vorgesehen. Die Pipettenspitzen werden nun in die saubere Spülflüssigkeit getaucht, mit dieser durch Ansaugen befüllt und über den Durchgangslöchern wieder entleert, so daß die mit Resten der zuvor pipettierten Testsubstanz kontaminierte Spülflüssigkeit in die zweite Wanne gelangt. Ob die erforderliche Relativbewegung durch ein Verschieben des Spülsystems oder der Pipettenspitzen erfolgt, ist dabei unerheblich. Ein derartiges Spülwannensystem weist einige erhebliche Nachteile auf:

[0010] Zwar werden die Pipettenspitzen innerlich durch wiederholtes Ansaugen und Abgeben der Spülflüssigkeit effektiv gereinigt, die äußere Oberfläche wird jedoch nur von der sauberen Spülflüssigkeit benetzt. Dadurch wird sowohl bei einer Neuaufnahme einer Testsubstanz diese mit Resten der zuvor pipettierten Testsubstanz kontaminiert, als auch die Spülflüssigkeit bei Wiederholung des Spülprozesses.

Je geringer trendgemäß die einzelnen Testsubstanzvolumen sind, desto dramatischer wirken sich auch geringfügigste Kontaminationen aus. Zwar gestattet ein derartiges Spülsystem problemlos einen vollständigen

Austausch der Spülflüssigkeit in der ersten Wanne nach jeder Aufnahme, dies ist jedoch neben dem hohen Bedarf an Spülflüssigkeit insbesondere zeitaufwendig. Eine effektive Reinigung der äußeren Oberfläche findet deshalb trotzdem nicht statt, so daß ein derartiges Spülwannensystem für die Reinigung von Transfernadel völlig ungeeignet scheint, da diese die Testsubstanz ausschließlich über ihre äußeren Oberfläche aufnehmen.

[0011] Aufgabe der Erfindung ist es, ein Spülwannensystem der im Oberbegriff des Anspruches 1 genannten Art zu schaffen, mit dem es möglich ist, matrixförmig angeordnete Pipettenspitzen oder Transfernadeln völlig rückstandsfrei effektiv zu reinigen und den Spülprozeß zeiteffektiver durchzuführen.

[0012] Diese Aufgabe wird für ein Spülwannensystem gemäß dem Oberbegriff des Anspruches 1 dadurch gelöst, daß die untere Wanne zum kontinuierlichen Befüllen mit Spülflüssigkeit wenigstens einen Zufluß aufweist und an der oberen Wanne wenigstens ein Ablauf vorhanden ist.

Es handelt sich bei dem erfindungsgemäßen Spülwannensystem um keine triviale kinematische Umkehr, da hier durch eine andere Anordnung der an sich bekannten Mittel eine völlig andere Wirkung erzielt wird und damit ein derartiges Spülwannensystem andere Merkmale als die aus dem Stand der Technik bekannten aufweist.

Erfindungswesentlich ist die kontinuierliche Befüllung der unteren Wanne mit sauberer Spülflüssigkeit, welche dabei über die Durchgangslöcher in die obere Wanne befördert und von dort aus abgeführt wird. Zur Reinigung werden die Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln in die Durchgangslöcher eingeführt. Dabei wird die äußere Oberfläche der Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln durch die in den Durchgangslöchern erzeugte Strömung von der saubereren Spülflüssigkeit umströmt und somit gesäubert. Die sich dabei lösenden Reste von Testsubstanz werden durch die Strömung, erzeugt durch die kontinuierliche Zuführung von sauberer Spülflüssigkeit, in den Durchgangslöchern nach oben befördert und jeweils über deren Rand gespült.

Als entscheidender Vorteil gegenüber dem Stand der Technik wird dadurch die Kontamination des Behältnisses für die saubere Spülflüssigkeit, zu dem im erweiterten Sinn neben der unteren Wanne die Umwandungen der Durchgangslöcher gehören, die in die obere Wanne als Erhebungen hineinragen, als auch die Kontamination der darin befindlichen sauberen Spülflüssigkeit, sicher vermieden. Die sichere Vermeidung der Kontamination der Umwandungen der Durchgangslöcher ist nicht nur wichtig um die Kontamination der darin aufsteigenden sauberen Flüssigkeit zu verhindern, sondern auch deshalb, um bei der Wiedereinführung der Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln, bei Wiederholung des Spülprozesses, diese nicht erneut bzw. zusätzlich durch Berührung mit den Umwandungen zu kontaminieren.

Da die Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln zur Reinigung in die Durchgangslöcher eingetaucht werden, brauchen deren Umwandungen im Gegensatz zum Stand der Technik nur geringfügig in den Innenraum der oberen Wanne 1 zu ragen, wodurch sie Erhebungen von geringer Höhe bilden. Das führt zu dem interessanten Nebeneffekt, daß neben der erforderlichen horizontalen Bewegung jeweils um ein halbes Rastermaß zur Aufnahme der Spülflüssigkeit in den Durchgangslöchern und zur Abgabe in die obere Wanne nur eine Vertikalbewegung erforderlich ist, nämlich das Absenken der Pipettenspitzen bzw. das Anheben des Spülwannensystems zum Eintauchen in die Durchgangslöcher. Ein Absenken bei der Abgabe der Spülflüssigkeit ist nicht unbedingt erforderlich.

Ein weiter Nebeneffekt besteht in der Möglichkeit einer engeren Anordnung der Durchgangslöcher und damit einer Erhöhung des Rastermaßes gegenüber dem Stand der Technik, da keine Entlüftungsöffnungen erforderlich sind. Mittenabstände der Durchgangslöcher von kleiner 9mm, z.B. 4,5 mm, 2,25 mm oder 1,125 mm sind realisierbar.

Ebenfalls sind kein Überlauf oder Überlaufsensor erforderlich, was zu einer konstruktiven Vereinfachung führt. Um eine gleichmäßige Strömung der Spülflüssigkeit in allen Durchgangslöchern zu erzeugen, kann deren Querschnitt seitens der unteren Wanne verjüngt sein um den Durchfluß zu drosseln.

[0013] Damit sich beim Austreten der Spülflüssigkeit aus den Durchgangslöchern keine Tropfen ausbilden und die kontinuierlich geförderte Spülflüssigkeit abfließen kann, sollte die Randfläche um die Durchgangslöcher entweder sehr schmal sein, oder eine gegenüber dem Wannenboden der oberen Wanne geneigte Planfläche darstellen.

[0014] Um eine Kontamination des Spülwannensystems zu vermeiden, ist es vorteilhaft, die mit der kontaminierten Spülflüssigkeit und den Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln in Kontakt kommenden Teile aus einem entsprechend hydrophoben Material herzustellen oder diese mit einem hydrophoben Material zu beschichten.

[0015] Die Erfindung soll nachstehend an Hand zweier Ausführungsbeispiele näher erläutert werden. In den dazugehörigen Zeichnungen zeigen:

Fig. 1 die Draufsicht auf ein erstes Ausführungsbeispiel, bei welchem die Durchgangslöcher durch Röhrchen gebildet werden

Fig. 2 die Schnittdarstellung einer Seitenansicht des in Fig. 1 dargestellten Ausführungsbeispiels

Fig. 3 die Draufsicht auf ein zweites Ausführungsbeispiel, bei welchem die Durchgangslöcher durch Stegen befindliche Durchgangsbohrungen gebildet werden.

Fig. 4 die Schnittdarstellung einer Seitenansicht des in Fig. 3 dargestellten Ausführungsbeispiels

[0016] Das in den Fig. 1 und Fig. 2 dargestellte erste Ausführungsbeispiel besteht im wesentlichen aus einer oberen Wanne 1.1, einer unteren Wanne 2.1, einer Zwischenwanne 3 und einer Vielzahl von Röhren 4, gleicher Dimensionierung, die matrixförmig angeordnet, mit einem Ende in der Zwischenwanne 3 befestigt sind. Die freien Enden der Röhren 4 ragen durch Öffnungen 5, die einen größeren Durchmesser aufweisen, als der Außendurchmesser der Röhren 4 ist, senkrecht zum Wannenboden in den Innenraum der oberen Wanne 1.1 hinein. Das befestigte Ende der Röhren 4 steht jeweils über einen Kanal 6 mit der unteren Wanne 2.1 in Verbindung. Auf eine Darstellung und Beschreibung von Details wie Verbindungselementen oder eventuellen Dichtelementen, die für das Verständnis der Funktionsweise des Spülsystems nicht erforderlich sind, soll verzichtet werden.

Derartige Maßnahmen sind für den Fachmann selbstverständlich und in ihrer Art der Ausführung ohne Einfluß auf die prinzipielle Ausführung des Spülwannensystems.

Ebenfalls nicht dargestellt ist ein mit der unteren Wanne 2.1 verbundener Zulauf 10, über den die saubere Spülflüssigkeit mittels einer Pumpe in den Innenraum der unteren Wanne 2.1 befördert wird und ein mit der Zwischenwanne 3 verbundener Ablauf 9, der mit einer weiteren Pumpe verbunden sein kann.

[0017] Während der Durchführung des Reinigungsprozesses erfolgt ein kontinuierliches Befüllen der unteren Wanne 2.1 mit sauberer Spülflüssigkeit. Die Spülflüssigkeit steigt dabei über die Kanäle 6 in den Röhren 4 nach oben und fließt über deren Rand, um anschließend durch den freien Bereich der Öffnungen 5 in die Zwischenwanne 3 abzufließen. Von hier kann die Spülflüssigkeit über den Ablauf 9 durch ihre Schwerkraft ablaufen oder aber durch Abpumpen entfernt werden.

Um in allen Röhren 4 gleiche Strömungsverhältnisse unabhängig von ihrem Abstand zum Zulauf 10 zu schaffen, sind die Innendurchmesser der Kanäle 6 deutlich kleiner gewählt, als die Innendurchmesser der Röhren 4.

Damit die aufsteigende Spülflüssigkeit die Röhren 4 ungehindert verlassen kann, werden Röhren 4 mit einer geringen Wandstärke verwendet. Die Wandstärke ist bestimmend für die Randfläche, welche die Spülflüssigkeit in horizontaler Richtung überfließen muß. Zur Verringerung dieser Randfläche können die Röhren 4 vorteilhafterweise angefast sein.

Der Reinigungsprozeß für die Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln besteht in der Regel aus der mehrmaligen Durchführung des Spülprozesses.

Der Spülprozeß beginnt, indem das Spülsystem und die matrixförmige Anordnung von Pipettenspitzen bzw.

Transfernadeln so zueinander positioniert werden, daß die einzelnen Pipettenspitzen bzw. Transfernadel jeweils in Flucht mit einem Röhren 4 über diesem angeordnet sind. Durch Anheben des Spülsystems oder Absenken der Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln werden diese in die Röhren 4 eingetaucht.

Dabei wird die äußere Oberfläche der Pipettenspitzen bzw. Transfernadel durch die in den Röhren 4 erzeugte Strömung von der sauberen Spülflüssigkeit umströmt und somit gesäubert.

[0018] In Falle der Pipettenspitzen wird während des Umspülens der äußeren Oberfläche zugleich das Pipetteninnere durch Ansaugen mit sauberer Spülflüssigkeit befüllt.

Im befüllten Zustand werden die Pipettenspitzen wieder angehoben oder das Spülsystem abgesenkt. Es folgt eine horizontale Relativbewegung, vorzugsweise um den halben Abstand zweier benachbarter Röhren 4 und die Abgabe der Pipetteninhalte in die obere Wanne 1.1.

Der Spülprozeß kann beliebig oft wiederholt werden, ohne daß ein vollständiger Austausch der sauberen Spülflüssigkeit erforderlich wäre.

Dabei hängt die Effektivität der Reinigung für die äußere Oberfläche der Pipettenspitzen bzw. Transfernadel allein von der Dauer des Umströmens durch die saubere Spülflüssigkeit und deren Strömungsgeschwindigkeit ab. Für die Effektivität der Reinigung der inneren Oberfläche der Pipettenspitzen ist die Zahl der Zyklen von Ansaugen und Ausstoßen, d.h. die mehrfache Wiederholung der Spülprozesses maßgebend.

[0019] Eine technologisch einfacher herstellbare Ausführung eines erfindungsgemäßen Spülwannensystems wird in einem zweiten Ausführungsbeispiel anhand von Fig. 3 und Fig. 4 beschrieben.

Das zweite Ausführungsbeispiel besteht aus einer oberen Wanne 1.2 und einer unteren Wanne 2.2, wobei der Boden der oberen Wanne 1.2 in Form von nebeneinander angeordneten Stegen 7 mit Durchgangsbohrungen 8 ausgebildet sind.

Analog dem ersten Ausführungsbeispiel erfolgt ein kontinuierliches Befüllen der unteren Wanne 2.2 über einen Zulauf 10 mit sauberer Spülflüssigkeit. Die Spülflüssigkeit steigt dabei über die Durchgangsbohrungen 8 in den Stegen 7 nach oben und fließt über deren Rand in das Innere der oberen Wanne 1.2. Von hier aus kann die Spülflüssigkeit über einen Ablauf 9 abgepumpt werden.

Wesentlich ist auch hier, daß die Durchgangsbohrungen 8 im gleichen Rastermaß angeordnet sind wie es die Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln sind.

[0020] Damit sich beim Austreten der Spülflüssigkeit aus den Durchgangsbohrungen 8 keine Tropfen ausbilden und die kontinuierlich geförderte Spülflüssigkeit abfließen kann, sollte der Randbereich der Stege 7 um die Durchgangsbohrungen als eine zum Wannenboden der oberen Wanne 1.2 hin geneigte Planfläche ausgebildet sein, wie in Fig. 4 dargestellt.

Die obere Wanne 1.2 ist vorteilhafterweise aus einem hydrophoben Material hergestellt oder mit einem solchen Material beschichtet, so daß sich in ihr ein zusammenhängender Flüssigkeitsstand ausbildet und damit eine gleichmäßige Absaugung der kontaminierten Spülflüssigkeit ermöglicht wird.

Bezugszeichenliste

[0021]

1	obere Wanne
2	untere Wanne
3	Zwischenwanne
4	Röhrchen
5	Öffnung
6	Kanal
7	Steg
8	Durchgangsbohrung
9	Ablauf
10	Zulauf

Patentansprüche

- Spülwannensystem für matrixförmig angeordnete Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln mit einer unteren Wanne (2) und einer oberen Wanne (1), wobei in den Innenraum der oberen Wanne (1) Erhebungen ragen, welche Durchgangslöcher aufweisen, die senkrecht zum Wannensboden der oberen Wanne (1) und im gleichen Rastermaß zueinander wie die Pipettenspitzen bzw. Transfernadeln angeordnet sind, dadurch gekennzeichnet, daß die untere Wanne (2) zum kontinuierlichen Befüllen mit Spülflüssigkeit wenigstens einen Zulauf (10) aufweist und an der oberen Wanne (1) wenigstens ein Ablauf (9) vorhanden ist. 25 30 35
- Spülwannensystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Erhebungen im Randbereich um die Durchgangslöcher sehr schmal sind. 40
- Spülwannensystem nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Erhebungen durch die Endstücken dünnwandiger Röhrchen (4) gebildet werden, die in einer Zwischenwanne (3) mit dem anderen Ende befestigt sind und durch runde Öffnungen (5) im Wannensboden der oberen Wanne (2.1) in diese hinein ragen. 45 50
- Spülwannensystem nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Öffnungen (5) einen größeren Durchmesser aufweisen, als der Außendurchmesser der Röhrchen (4) ist, wodurch sie die Abläufe (9) darstellen und die Zwischenwanne (3) einen Endab-

lauf zum Abpumpen der Spülflüssigkeit aufweist.

- Spülwannensystem nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Röhrchen (4) an ihrem Randbereich eine umlaufende Phase aufweisen. 5
- Spülwannensystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Erhebungen auf dem Wannensboden der oberen Wanne (1) ausgebildete Stege (7) darstellen und die Durchgangslöcher Durchgangsbohrungen (8) sind, wobei der Randbereich um die Durchgangsbohrungen (8) eine zum Wannensboden der oberen Wanne (1) geneigte Planfläche darstellt. 10 15
- Spülwannensystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß wenigstens die obere Wanne (1) aus einem hydrophoben Material besteht oder mit einem hydrophoben Material beschichtet ist. 20
- Spülwannensystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Rastermaß, d.h. der Mittenabstand der Durchgangslöcher kleiner 9 mm ist, insbesondere 4,5 mm, 2,25 mm oder 1,125 mm. 25 30 35 40 45 50 55

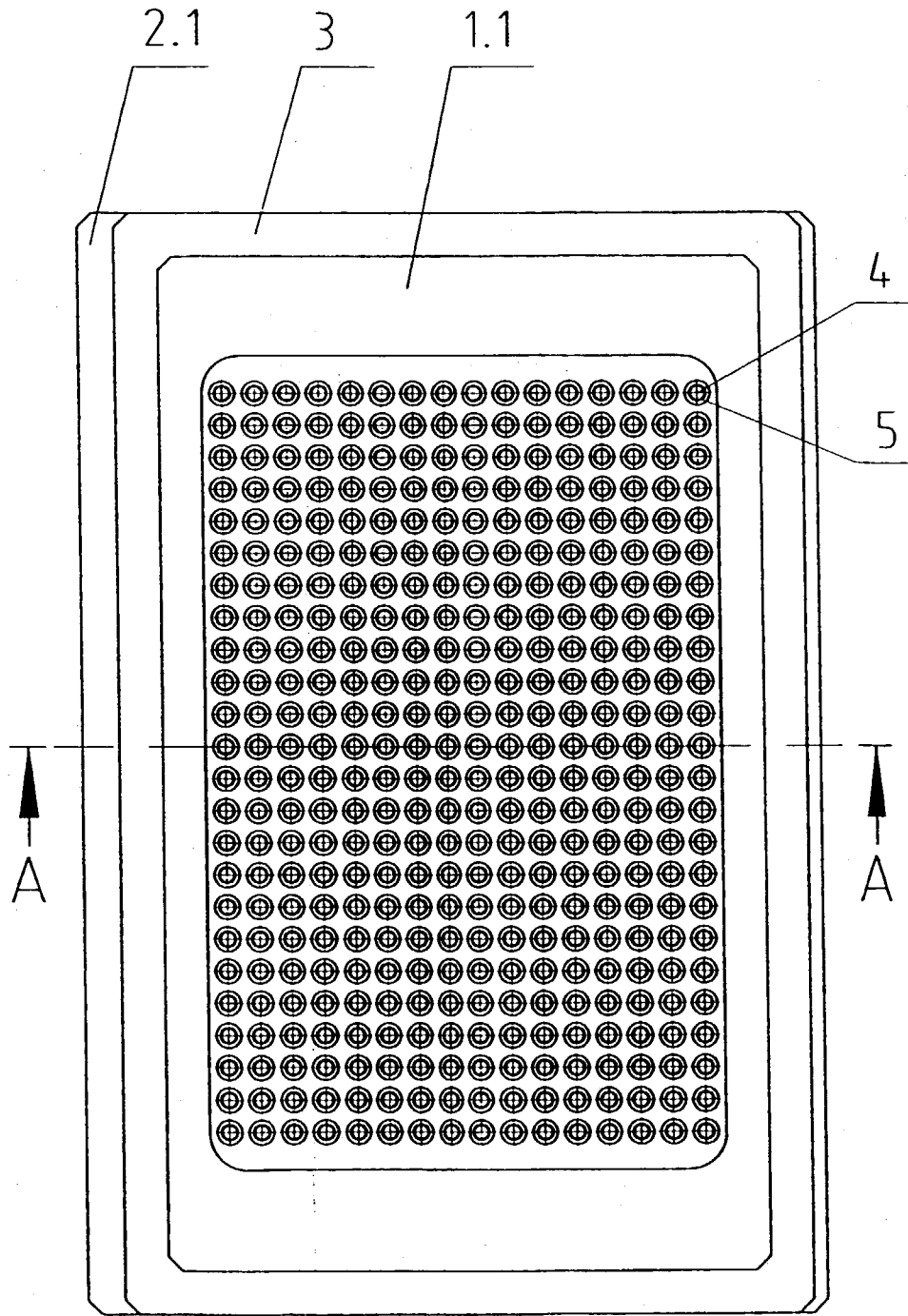


Fig.1

A-A

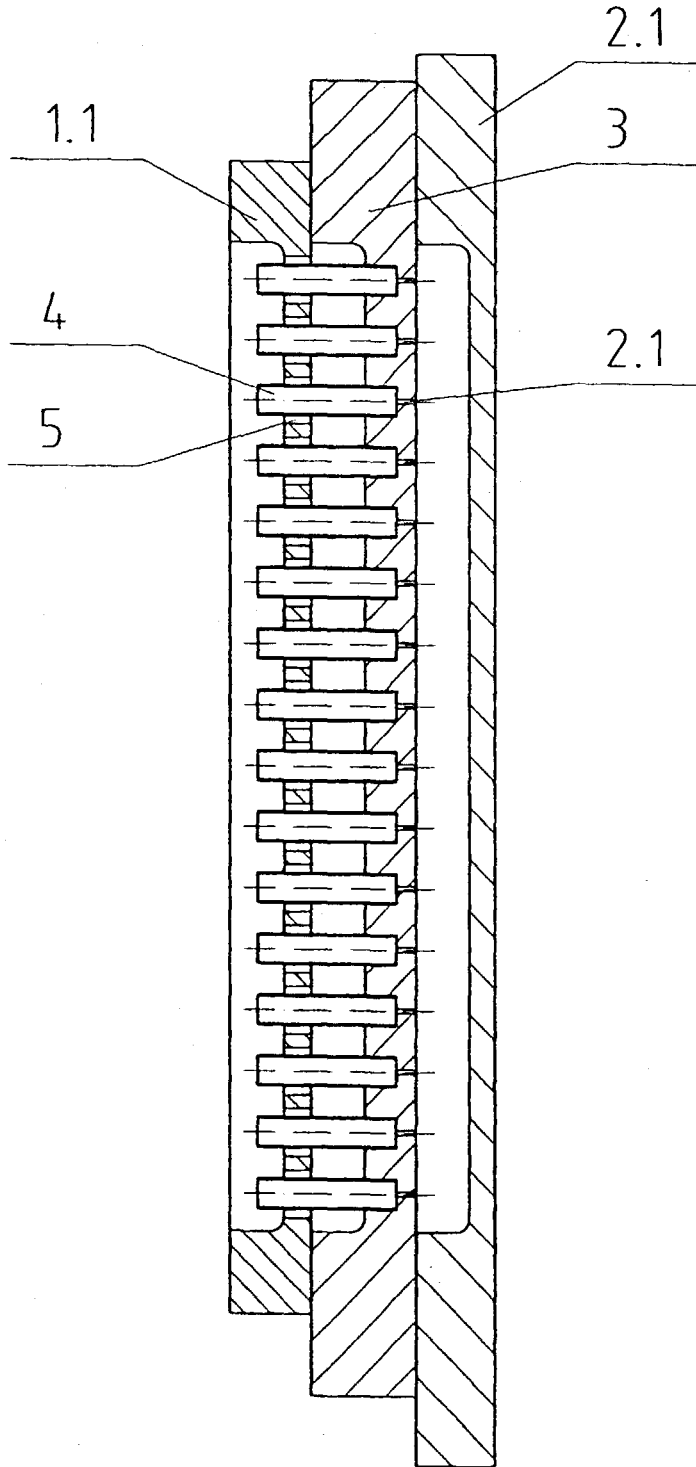


Fig.2

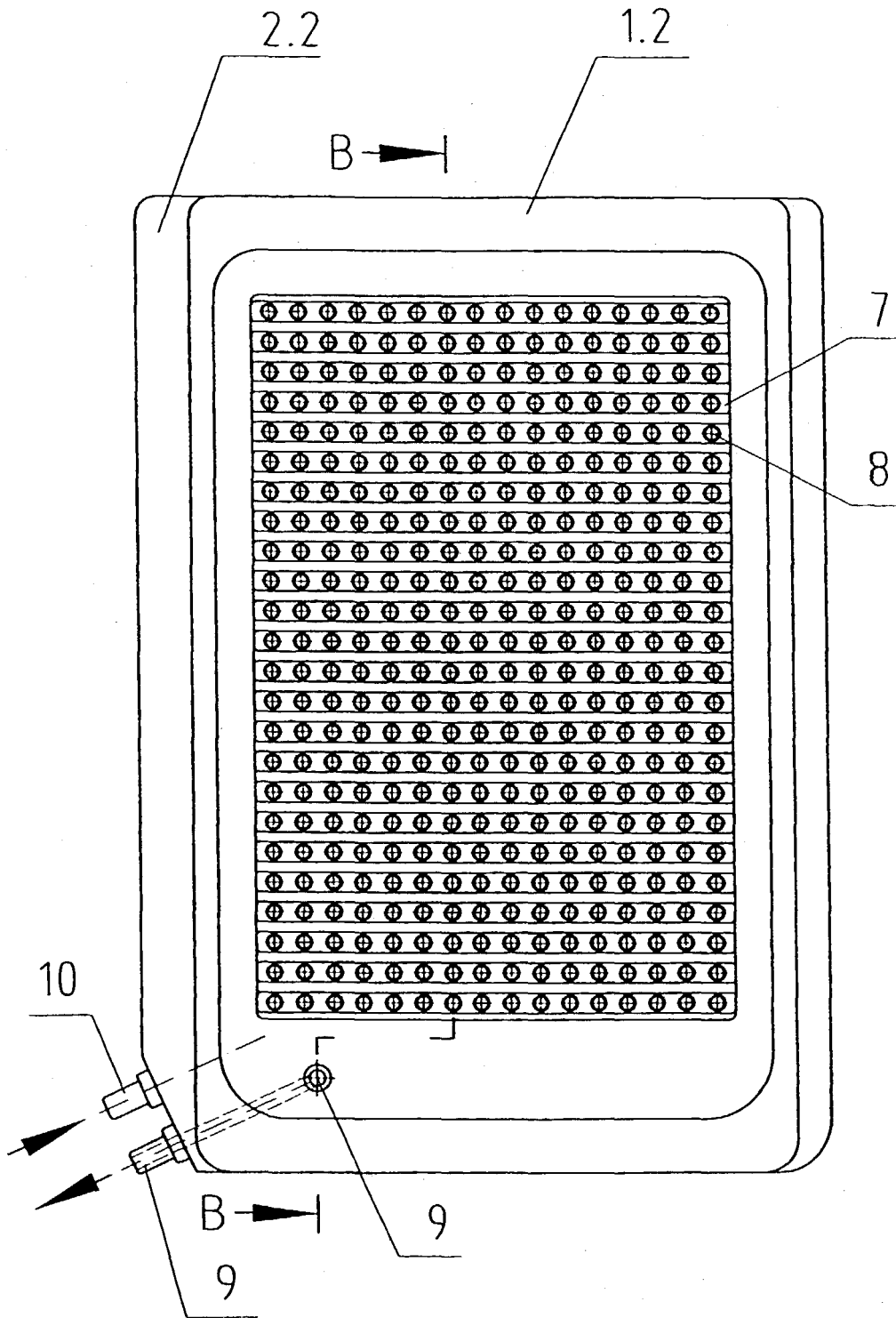


Fig.3

B-B

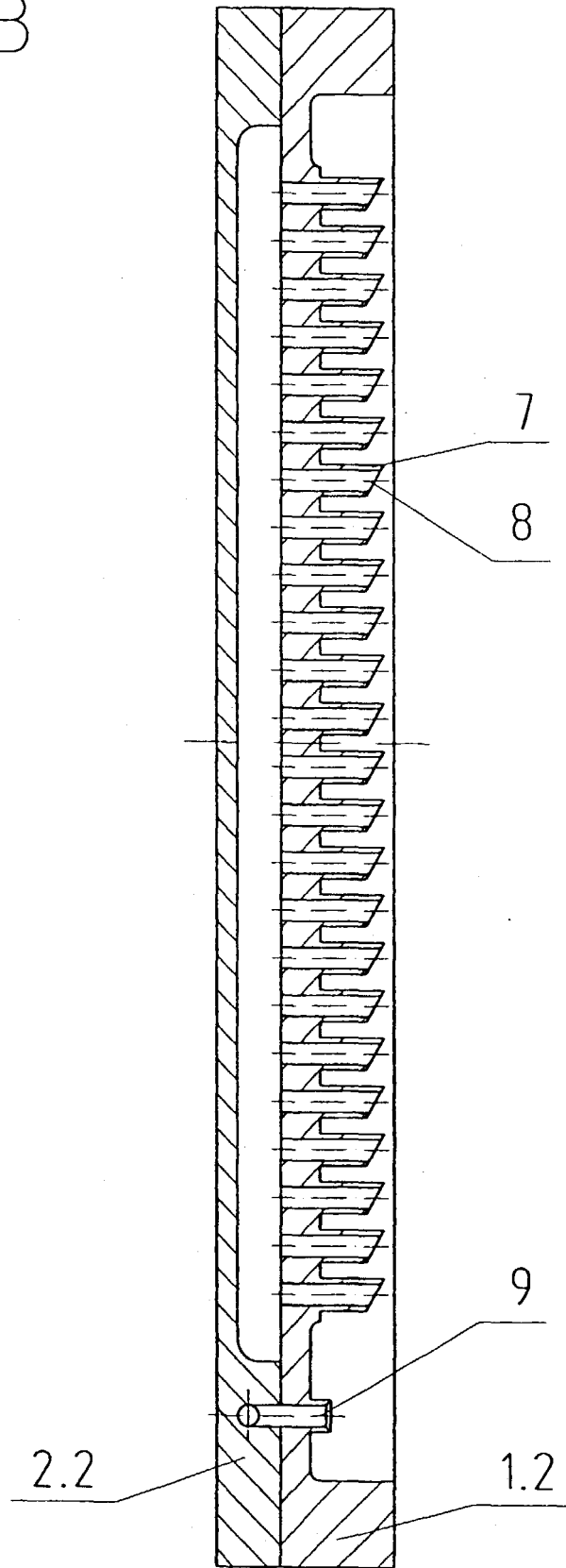


Fig.4