

(19)



(11)

EP 2 280 778 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung:
25.07.2018 Patentblatt 2018/30

(51) Int Cl.:
B01L 3/00 (2006.01) G01N 35/10 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **09753828.4**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP2009/056231

(22) Anmeldetag: **22.05.2009**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 2009/144173 (03.12.2009 Gazette 2009/49)

(54) TITERPLATTE UND VERFAHREN ZUR DETEKTION EINES ANALYTEN

TITER PLATE AND METHOD FOR DETECTING AN ANALYTE

PLAQUE DE TITRATION EN PROCÉDÉ DE DÉTECTION D'UN ANALYTE

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL
PT RO SE SI SK TR**

(30) Priorität: **30.05.2008 DE 102008025992**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
09.02.2011 Patentblatt 2011/06

(73) Patentinhaber: **Boehringer Ingelheim Vetmedica
GmbH
55216 Ingelheim am Rhein (DE)**

(72) Erfinder:
• **GUMBRECHT, Walter
91074 Herzogenaurach (DE)**
• **PAULICKA, Peter
91341 Röttenbach (DE)**

(74) Vertreter: **Von Rohr Patentanwälte Partnerschaft
mbB
Rüttenscheider Straße 62
45130 Essen (DE)**

(56) Entgegenhaltungen:
**WO-A-03/087410 WO-A-2007/076023
WO-A-2007/111347**

EP 2 280 778 B1

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt kann jedermann nach Maßgabe der Ausführungsordnung beim Europäischen Patentamt gegen dieses Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine Titerplatte zur Detektion eines Analyten gemäß Anspruch 1. Weiterhin bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zur Detektion eines Analyten gemäß Anspruch 12.

[0002] Die WO 03/087410 A1 offenbart eine Vorrichtung und ein Verfahren zur direkten Durchführung biochemischer Prozesse auf einem Substrat. Das Substrat umfasst eine Karte, die lösbar mit dem Substrat verbunden ist, wobei ein Reaktionselement ebenfalls lösbar auf der Oberseite des Substrats angeordnet ist.

[0003] Die WO 2007/076023 A1 betrifft eine Multi-Well-Analyseplatte mit einem Plattenkörper und einer Vielzahl darin definierter Wells, wobei die Wells eine Bindungsfläche mit einem darauf immobilisierten Abfangreagenz und ein Trockenreagenz aufweisen.

[0004] Die WO 2007/111347 A1 offenbart eine Vorrichtung zur Behandlung einer Multi-Well-Platte, wobei die Vorrichtung mindestens einen Düsenkopf zur Abgabe und Aufnahme innerhalb der jeweiligen Wells aufgenommener Flüssigkeiten aufweist.

[0005] Mittels molekular diagnostischer Analysen werden z.B. virale Belastungen von HI Viren, Hepatitis C und Hepatitis B Viren bestimmt. In einem Zentral-Labor werden heute derartige Analysen häufig auf Pipettier-Roboter-Anlagen durchgeführt. Als Reaktionsgefäße werden Mikrotiterplatten, insbesondere sogenannte 96er Platten mit beispielsweise 8 Reihen zu je 12 Vertiefungen, eingesetzt. Diese Vertiefungen sind in standardisierten Abständen von etwa 0,9 cm voneinander angeordnet. Probenmaterial und Reagenzien werden vom Pipettier-Roboter frei programmierbar mittels Pipettenspitzen aus Plastik oder waschbaren, wieder verwendbaren Spitzen in vorbestimmte Vertiefungen bzw. Wells der Titerplatten pipettiert. Außerdem werden in der Pipettier-Roboter-Anlage einige Arbeitsschritte wie Inkubation bei bestimmter Temperatur, Misch-Vorgänge oder zum Beispiel magnetische Trennvorgänge durchgeführt.

[0006] Ein nahezu unverzichtbares Verfahren der Molekular diagnostik ist eine Amplifikation eines sogenannten Targets - des Analyten - durch eine Thermozyklisierungsreaktion wie z.B. einer sogenannten Polymerase-Chain-Reaktion - kurz PCR. Dabei werden kleinste, nicht direkt nachweisbare Mengen an Analyt-Molekülen exponentiell auf nachweisbare Mengen vervielfältigt.

[0007] Ein Manipulieren von zu amplifizierenden bzw. amplifizierten Proben ist äußerst kritisch. Kleinste Kontaminationen, zum Beispiel über eine Aerosolbildung, mit ggf. sogar nur einzelnen Molekülen würden zu Probenmaterial mit falsch positiven oder erhöhten quantitativen Ergebnissen führen. Deshalb ist es in der Molekular diagnostik üblich, Probenvorbereitung und Amplifikation in getrennten Räumen durchzuführen. Dies ist jedoch sehr aufwendig und benötigt die Bearbeitung der Proben durch Labormitarbeiter.

[0008] Ein Lösungsweg besteht in einem hermeti-

schen Versiegeln der Titerplatte mit Laminierfolie vor Durchführung der PCR wie in der DE 10 2005 059 535 A1 beschrieben. Die Titerplatte darf anschließend im gleichen Raum nicht mehr geöffnet werden. Diese Maßnahme der getrennten Räume steht dem Trend entgegen, Analysenprozesse zu integrieren und zu automatisieren.

[0009] Um das entstandene PCR-Produkt mitsamt dem amplifizierten Analyten zu analysieren, kommen beispielsweise optische Verfahren auf Basis von sogenannten Real-Time-PCR in Frage. Es gibt jedoch Messverfahren in der Molekular diagnostik zur elektrischen Detektion, bei welchen Hybridisierungsreaktionen durchgeführt werden. Ein gattungsgemäßes Verfahren ist aus der WO 99/07879 A1 bekannt. Dazu wird das entstandene PCR-Produkt aus dem Reaktionsgefäß in ein weiteres Gefäß für die Hybridisierung überführt. Eine Lösung für einen kontaminationsfreien Transfer liegt in einer hermetischen Integration der Gefäße für die PCR und die Hybridisierung in einer geschlossenen Kassette, wie z.B. in einer sogenannten quicklab® Point of Care-Kassette. Diese Lösung ist jedoch für eine routinemäßige, vielfältige Anwendung oft zu teuer und erlaubt nur vergleichsweise geringe Durchsätze.

[0010] Für eine effiziente Detektion kann ein Produkt der Hybridisierungsreaktion mit dem amplifizierten Analyten elektrisch erfasst werden. Das exemplarisch genannte quicklab® ist zum Beispiel in der DE 102 33 212 A1 offenbart. Eine weitere Anordnung für einen Biochip ist aus der DE 100 58 397 A1 bekannt. Die DE 101 26 341 A1 lehrt einen Biochip, der durch Hybridisierung mit einem Analyten eine elektrisch erfassbare Eigenschaft ändert. Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Titerplatte anzugeben, die eine verbesserte automatisierte Handhabung der amplifizierten Proben ermöglicht.

[0011] Diese Aufgabe wird mit technisch einfachen Mitteln gemäß Anspruch 1 gelöst.

[0012] Die Erfindung umfasst insbesondere eine erste Ausführungsform einer Titerplatte gemäß Anspruch 1.

[0013] Die erfindungsgemäße Titerplatte weist vorzugsweise Vertiefungen auf, die in Abständen angeordnet sind, die den Abständen bei einer Standard-Mikrotiterplatte entsprechen, damit die erfindungsgemäße Titerplatte von einem Pipettier-Roboter bedient werden kann. Dieser Standard-Abstand beträgt z.B. 9mm. Darüber hinaus weist die Titerplatte vorzugsweise die Länge und die Breite einer Standard-Titerplatte auf, z.B. entspricht sie bevorzugt dem Standard-Titerplattenformat mit 12x8 Vertiefungen. Die Dicke der erfindungsgemäßen Titerplatte ist bevorzugt größer, um die Wand zu beherbergen, die jeweils einen Biochip und mehrere Vertiefungen umgibt, wie weiter unten noch genauer beschrieben.

[0014] Die erfindungsgemäße Titerplatte kann bevorzugt durch einen Pipettier-Roboter bedient werden, der über einen Vorrat an frischen Pipettenspitzen verfügt. Diese kann er greifen, an eine beliebige der z.B. 12x8=96

Positionen der Vertiefungen auf einer Standard-Titerplatte verfahren, sie dort absenken und aus der Vertiefung Flüssigkeit absaugen oder einspritzen. Darüber hinaus kann er eine gebrauchte Pipettenspitze in einem Abfallbehälter ablegen, eine neue, saubere Pipettenspitze greifen und mit dieser weiterarbeiten.

[0015] Zur Detektion des Analyten ist erfindungsgemäß zumindest ein Biochip auf der Titerplatte angeordnet. Unter "Biochip" wird ein Chip verstanden, der zur Detektion eines Analyten, z.B. einer bestimmten DNA, geeignet ist und insbesondere bei Anwesenheit des Analyten ein elektrisches Signal erzeugt. Typischerweise weist der Biochip eine oder mehrere sensitive Flächen mit Fängermolekülen auf, die jeweils spezifisch an einen Analyten binden. Es können an einem Biochip mehrere sensitive Flächen mit verschiedenen Fängermolekülen angeordnet sein, z.B. 8 bis 400, besonders bevorzugt 64 oder 128 sensitive Flächen bzw. "Spots". Bei dem Biochip handelt es sich z.B. um einen CMOS Chip mit universellen Zip-Code Fängern. Bevorzugt sind mehrere Biochips, insbesondere 6 bis 24, vorzugsweise 12 Biochips auf einer Titerplatte vorhanden, so dass z.B. 12 Random Access Multiplex Assays durchgeführt werden können.

[0016] Wenn Analytmoleküle an die Fängermoleküle anbinden, z.B. mit ihnen hybridisieren, wird z.B. eine Änderung der Kapazität an der sensitiven Fläche bewirkt, die elektrisch ausgelesen werden kann. Dies geschieht vorzugsweise wie folgt: Die Analyt bzw. das Target ist biotinyliert. Nachdem Analytmoleküle an die Fängermoleküle gebunden haben, wird ein Label-Enzym wie z.B. Streptavidin oder AG Phosphatase beigefügt. Dieses Enzym bindet an das Biotin des Targets. Wenn daraufhin ein Substrat beigefügt wird, entsteht ein Reaktionsprodukt, welches ein elektrisches Signal erzeugt, das vom Biochip ausgelesen werden kann. Besonders bevorzugt ist der Biochip zur Detektion von DNA mittels Hybridisierung an geeignete Fängermoleküle ausgelegt.

[0017] Vorzugsweise ist/sind die sensitive Fläche(n) des Biochips auf einer Seite, insbesondere der Oberseite des Biochips angeordnet, während die Kontakte, an denen das elektrische Signal ausgelesen werden kann, auf einer hierzu gegenüberliegenden Seite des Biochips angeordnet sind. Vorzugsweise sind 5 bis 100, insbesondere 8 bis 12 sensitive Flächen und entsprechend viele Kontakte an einem Biochip angeordnet, so dass gleichzeitig auf mehrere verschiedene Analyten getestet werden kann.

[0018] Der Biochip ist vorzugsweise in die Titerplatte eingebettet, z.B. ist der Biochip in einen Kunststoffring eingelassen, der wiederum in eine geeignete Vertiefung der Titerplatte eingesetzt ist, so dass Proben- oder Reaktionsmaterial in Kontakt mit den bevorzugt nach oben weisenden sensitive Flächen des Biochips gebracht werden kann. Bevorzugt ist der Biochip auf der Seite der sensitive Flächen - z.B. nach oben hin - mit einer Dichtung versehen, welche verhindert, dass Verunreinigungen an die Fängermoleküle dringen können. Die Dichtung ist z.B. eine Abdeckung aus einem elastomeren

und/oder thermoplastischen Material.

[0019] Der Biochip erstreckt sich dabei vorzugsweise über einen Bereich, auf dem bei einer Standard-Titerplatte eine feste Anzahl wie z.B. 2, 4, 6 oder 8 Vertiefungen angeordnet sind. An der Standard-Position einer Vertiefung kann ein Pipettier-Roboter anhalten und Material ansaugen oder abgeben. Dadurch kann der Biochip von Pipettier-Robotern mit Probenmaterial, Reaktionsmaterial oder mit Label-Enzymen und Substrat befüllt werden.

[0020] Neben jedem DNA-Chip sind jeweils mehrere Vertiefungen bzw. Löcher angeordnet, in denen z.B. eine Amplifikation des Targets z.B. mittels einer PCR Reaktion durchgeführt werden kann oder andere Reagenzien bereitgestellt werden. Somit bilden ein Biochip und mehrere der Vertiefungen jeweils eine Einheit, innerhalb derer eine bestimmte Analyse durchgeführt wird. Diese Einheit ist von einer Wand umfriedet. In der Einheit können alle notwendigen Schritte zur Detektion durchgeführt werden. Durch die räumliche Abtrennung der Einheiten können viele Einheiten auf sehr kleiner Fläche untergebracht werden, ohne das Kontaminieren der einzelnen Proben zu riskieren. Eine massiv parallele Untersuchung von sehr vielen Proben ist schnell und kostengünstig möglich.

[0021] Zu einer von einer Wand umgebenen Einheit gehören z.B. 2, 4, 6, 8, oder 10 Vertiefungen und ein, zwei oder drei Biochips. Besonders bevorzugt bilden 4 Vertiefungen und 1 Biochip eine Einheit, wobei der Biochip eine Fläche belegt, die bei einer Standard-Titerplatte ebenfalls von 4 Vertiefungen eingenommen wird. Eine bevorzugte Einheit entspricht somit 8 Vertiefungen und weist somit 8 Positionen auf, in denen ein Pipettier-Roboter eine Pipettenspitze handhaben kann. Eine Titerplatte im Standard 12x8 Format weist somit 12 Einheiten auf, die jeweils durch eine Wandung voneinander abgetrennt sind.

[0022] Die erfindungsgemäße Titerplatte ist beispielsweise ein Block von ca. 20-70mm, vorzugsweise von 45 ± 10 mm Höhe, wobei die Wandung zwischen den einzelnen Einheiten dadurch gebildet wird, dass jede Einheit in einer Art Ausnehmung in dem Block angeordnet ist. Die Vertiefungen und der Biochip sind am Grund der Ausnehmung angeordnet. Der Pipettier-Roboter kann innerhalb der Ausnehmung eine Pipettenspitze von einer Vertiefung zur nächsten Vertiefung bzw. zu dem Biochip verschieben. Die Wand, die den Biochip und mehrere Vertiefungen umgibt, ist die Wand der Ausnehmung und ist bevorzugt etwa so hoch wie die Höhe der Titerplatte also bevorzugt ca. 20-70mm, vorzugsweise 45 ± 10 mm hoch. Dadurch wird wirkungsvoll verhindert, dass beim Pipettieren einzelne Tröpfchen von einer Einheit in eine daneben liegende Einheit gelangen können. Somit weist die Titerplatte vorzugsweise so viele Ausnehmungen auf wie Einheiten aus jeweils mehreren Vertiefungen und einem Biochip.

[0023] Eine derartige Ausnehmung ist bevorzugt lediglich zu einer ersten Seite, insbesondere der Oberseite

der Titerplatte, hin offen. In jede Einheit kann eine Pipette über die Ausnehmung eingebracht werden und verbleibt während des Transfers der Probe z.B. von einer Vertiefung zum Biochip innerhalb des umfriedeten Raumes der Einheit. Die der ersten Seite gegenüberliegende Seite, vorzugsweise die Unterseite, der Titerplatte stellt eine Aufnahme für den Biochip bereit und ist mit Auswölbungen versehen, welche jeweils einer Vertiefung entsprechen.

[0024] Besonders bevorzugt sind die Ausnehmungen jeweils in Form eines Langlochs ausgebildet und weisen für jede Einheit beispielsweise in etwa eine "E" Form auf. Dabei sind die Ausnehmungen dem Bewegungsablauf eines Pipettier-Roboters angepasst. Das Langloch erstreckt sich über alle vier Vertiefungen und zumindest eine Position über dem Biochip. Es bildet quasi eine einzige Verbindungslinie zwischen den Vertiefungen und dem Biochip. Dies hat den Vorteil, dass nicht nur zwischen den einzelnen Einheiten, sondern teilweise auch zwischen den einzelnen Vertiefungen innerhalb einer Einheit Wandungen angeordnet sind. Kommt eine Pipettenspitze einmal mit Probenmaterial in Kontakt, kann die Spitze innerhalb dieser Einheit belassen werden. Anders als bei bekannten Titerplatten können kleinste Tröpfchen nicht in andere Analyseeinheiten geraten und diese kontaminieren, da eine benutzte Pipettenspitze nicht über andere Vertiefungen, bzw. Chips herausgeführt wird. Die Ausnehmung ist nach einer Weiterbildung so ausgebildet, dass eine oder mehrere Pipettenspitzen hierin verbleiben können.

[0025] Die Titerplatte ist bevorzugt aus Kunststoff hergestellt. Da sie bevorzugt mit Ausnehmungen ausgestattet ist, die zu einer Seite hin offen sind, ist es möglich, die Titerplatte (ohne Biochips) im Spritzguss-Verfahren herzustellen. Vorzugsweise sind die Wände bzw. Ausnehmungen und die Vertiefungen als ein einstückiges Kunststoff-Spritzgussteil gefertigt, in dass später die Biochips eingebettet werden. Alternativ kann die Titerplatte auch als eine flache Platte mit Vertiefungen und Aufnahmen für die Biochips ausgebildet werden, auf die Wandelemente zwischen den einzelnen Einheiten aufgesetzt werden. Da in diesem Fall für eine Dichtung zwischen Wandelemente und Platte gesorgt werden muss, ist diese Ausführungsform jedoch nicht bevorzugt.

[0026] Der Biochip ist bevorzugt derart in die Titerplatte eingebettet, dass jede Ecke des Biochips an der entsprechenden Position einer Vertiefung auf der Mikrotiterplatte im Standardformat liegt. An zumindest einer dieser Positionen ist ein Einfüllport in einer elastomeren Abdeckung oder Dichtung des Biochips vorhanden. Die elastomere Dichtung dient dazu, die sensitiven Flächen des Biochips vor Kontamination zu schützen. Sie kann z.B. in einem Zweikomponenten-Spritzgussverfahren bei der Herstellung der Titerplatte in diese integriert werden. Alternativ ist die Dichtung bzw. Abdeckung durch einen Kunststoffring aufgespannt, in den der Biochip eingelassen ist. Besonders bevorzugt ist die elastomere Dichtung leicht von der sensitiven Fläche des Biochips beabstan-

det, wodurch dazwischen eine Biochipkammer gebildet wird, welche in einer Flüssigkeitsverbindung mit den sensitiven Flächen des Biochips steht.

[0027] Über den Einfüllport kann bevorzugt Flüssigkeit in die Biochipkammer eingespritzt werden, die dann in Kontakt mit den Fängermolekülen gelangt und somit vom Biochip analysiert wird. Da der Einfüllport des Biochips quasi mit einer der Standard-Positionen der Vertiefungen einer Titerplatte "fluchtet", kann eine Pipette mittels des Pipettier-Roboters automatisch eine Probe auf den Biochip transferieren.

[0028] Besonders bevorzugt sind oberhalb der elastomeren Dichtung des Biochips zumindest eine und bevorzugt zwei Ablagepositionen für eine Pipettenspitze vorgesehen, und zwar an einer oder bevorzugt zwei der z. B. 4 Positionen, die jeweils einer Vertiefung auf einer Standard-Titerplatte entsprechen und somit durch einen Pipettier-Roboter erreichbar sind. Eine mit Probenmaterial in Kontakt gekommene Pipette kann an dieser Stelle abgelegt werden und somit innerhalb der Einheit verbleiben, auch wenn ggf. frische Pipettenspitzen in der Einheit verwendet werden. Darüber hinaus können weitere 4 Pipettenspitzen an den Positionen der 4 Vertiefungen verbleiben.

[0029] Ferner ist bevorzugt ein Überlaufreservoir für jede Einheit vorgesehen, um überschüssige Flüssigkeit aufzunehmen. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Überlaufreservoir direkt mit der Biochipkammer verbunden bzw. verbindbar. Somit läuft Flüssigkeit, die in die Biochipkammer eingefüllt wird, direkt weiter in das Überlaufreservoir. Da der Biochip bevorzugt in den Boden der Titerplatte eingelassen ist, befindet sich das Überlaufreservoir bevorzugt oberhalb der Biochipkammer. Daher ist das Überlaufreservoir vorzugsweise mit einem Docht oder einem anderen saugfähigen Material ausgestattet, das die Flüssigkeit aus der Chipkammer zieht. Auf diese Weise wird sämtliche Flüssigkeit, die durch die Chipkammer gedrückt wird, von dem Überlaufreservoir aufgenommen. Das Überlaufreservoir fasst bevorzugt 0,5 ml bis 5 ml, besonders bevorzugt 1-2 ml. Ferner ist das Überlaufreservoir vorzugsweise mit einer Überlaufwand ausgestattet, die ein Zurückfließen von Flüssigkeit in die Biochipkammer verhindert. Alternativ könnte das Überlaufreservoir auch z.B. durch einen Einlass an einer der Standard-Positionen befüllt werden, die den Vertiefungen auf einer Standard-Titerplatte entsprechen.

[0030] Gemäß einer alternativen Ausführungsform umfasst die Erfindung eine Titerplatte zur Detektion eines Analyten, mit zumindest einem Biochip, wobei der zumindest eine Biochip zur Detektion eines Analyten ausgelegt ist und von einer Wand umgeben ist, wobei eine Dichtung, bevorzugt eine elastomere Dichtung, auf dem zumindest einen Biochip (14) aufgebracht ist, welche gemeinsam mit dem Biochip eine Biochipkammer definiert und mit einem Überlaufreservoir direkt mit der Biochipkammer verbunden bzw. verbindbar ist. Somit läuft Flüssigkeit, die in die Biochipkammer eingefüllt wird, direkt

weiter in das Überlaufreservoir. Da der Biochip bevorzugt in den Boden der Titerplatte eingelassen ist, befindet sich das Überlaufreservoir bevorzugt oberhalb der Biochipkammer. Daher ist das Überlaufreservoir vorzugsweise mit einem Docht oder einem anderen saugfähigen Material ausgestattet, das die Flüssigkeit aus der Chipkammer zieht. Auf diese Weise wird sämtliche Flüssigkeit, die durch die Chipkammer gedrückt wird, von dem Überlaufreservoir aufgenommen. Gemäß dieser Alternativen Ausführungsform sind keine weiteren Vertiefungen in der Titerplatte notwendig, so dass die gesamte Grundfläche der Titerplatte komplett mit Biochips belegt werden kann. Sämtliche weitere bevorzugten Erfindungsmerkmale, die in Zusammenhang mit der ersten Ausführungsform der Erfindung gemäß Anspruch 1 genannt sind, können auch bei der alternativen Ausführungsform der erfindungsgemäßen Titerplatte vorgesehen werden.

[0031] Optional kann die erfindungsgemäße Titerplatte von zumindest einer Bohrung durchdrungen sein. Diese Bohrung verläuft quer zum Trägermaterial der Titerplatte und mündet vorzugsweise zwischen den Vertiefungen und dem Biochip. Darüber kann ein Unterdruck angelegt werden, um eventuelle Tröpfchenverunreinigungen aus dem Raum über der Titerplatte abzusaugen. Vorzugsweise ist jede Einheit bzw. Ausnehmung mit einer eigenen Bohrung ausgestattet.

[0032] Des Weiteren ist die Offenbarung auf eine Leseeinrichtung für eine Titerplatte angegeben, die dazu ausgelegt ist, eine weitere Verbesserung der automatischen Handhabung der Proben zu gewährleisten. Die Leseeinrichtung stellt mindestens eine elektrische Kontakt- bzw. Auslesefläche für den Biochip bereit. Bevorzugt ist die Auslesefläche beheizbar, da das Ausleseergebnis des Biochips in der Regel erst nach geeigneter Wärmebehandlung auslesbar ist.

Die Leseeinrichtung umfasst zudem Wannen für die Vertiefungen, die vorzugsweise als beheizbare Aufnahmen (Thermoblocke) konzipiert sind. Beim Aufsetzen der Titerplatte auf die Leseeinrichtung wird jeweils eine Vertiefung in einer Wanne aufgenommen, vorzugsweise ist die Vertiefung möglichst eng von der Wanne umschlossen, um einen guten Wärmetransfer zu gewährleisten. Vorzugsweise bilden jeweils so viele Wannen, wie Vertiefungen in einer Einheit ausgebildet sind, eine unabhängige Thermozyklus-Einheit, im Folgenden auch Thermoblock genannt. Durch geeignetes Beheizen der Wannen kann in den Vertiefungen z.B. eine PCR durchgeführt werden.

Bevorzugt weist eine Leseeinrichtung voneinander unabhängigen Einheiten zu je vier Wannen und einer Kontaktfläche auf.

[0033] Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein verbessertes Verfahren zur Detektion eines Analyten mittels eines Biochips anzugeben. Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren gemäß Anspruch 12 gelöst. Durch den Einsatz einer erfindungsgemäßen Titerplatte kann ein sogenanntes "Liquid Handling" mittels Pipettier-Roboter erfolgen.

[0034] Das Verfahren umfasst neben einem Einbringen der Probe in eine der Vertiefungen der Titerplatte bevorzugt eine Amplifikation des Analyten und bietet den Vorteil einer räumlichen Integration eines Hybridisierungsbereichs des Biochips in einem gemeinsamen Raum. Eine Kontamination von anderen Probenmaterialien wird wirksam vermieden, da die Pipettenspitze in diesem Raum verbleibt.

[0035] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens können für jede Einheit mehrere Pipettenspitzen durch den Pipettier-Roboter verwendet werden, die nach der Verwendung jeweils innerhalb der Einheit verbleiben. Dies hat den Vorteil, dass benachbarte Einheiten nicht mit amplifiziertem Material kontaminiert werden können, wenn die Pipettenspitze über sie hinweg abtransportiert wird. Besonders bevorzugt werden gebrauchte Pipettenspitzen auf den Ablagepositionen auf der Abdeckung oder Dichtung des Biochips abgelegt.

[0036] Beispielsweise werden nicht nur eine, sondern mehrere Proben, z.B. von verschiedenen Geweben des gleichen Patienten, in die verschiedenen Vertiefungen einer Einheit eingebracht. Nach einer PCR können nacheinander die Reaktionsgemische aus den verschiedenen Vertiefungen mit verschiedenen Pipettenspitzen in die Biochipkammer transferiert und der Biochip ausgelesen werden. Die Pipettenspitze wird dabei über der Biochipkammer vollständig entleert, wobei überschüssige Flüssigkeit in das Überlaufreservoir fließt. Danach wird die Pipettenspitze vorzugsweise auf derselben Vertiefung abgelegt, von der das PCR-Reaktionsgemisch transferiert wurde. Für weitere Manipulationen wird eine frische Pipettenspitze verwendet, die wiederum in der Einheit bzw. Ausnehmung verbleibt.

[0037] Vorzugsweise wird nach dem Transferieren des PCR-Reaktionsproduktes eine weitere Flüssigkeit insbesondere eine Label-Flüssigkeit, mit einer Pipettenspitze auf den Biochip bzw. in die Biochipkammer transferiert. Der Label ist z.B. Streptavidin oder AG Phosphatase, welche an den biotinilylierten Analyten bindet. Die Pipettenspitze, mit der der Label transferiert wurde, ist noch nicht entleert, da sie ggf. für weitere Proben nochmals verwendet wird, und wird daher auf einer der Ablage- oder Parkpositionen geparkt.

[0038] Daraufhin wird mit einer weiteren Pipettenspitze bevorzugt ein Substrat in die Biochipkammer pipettiert. Dieses bildet ein Reaktionsprodukt, welches auf dem Biochip ein elektrisches Signal auslöst. Die Pipettenspitze, mit der das Substrat transferiert wurde, ist noch nicht entleert, da sie ggf. für weitere Proben nochmals verwendet wird, und wird daher auf einer zweiten Ablage- oder Parkpositionen geparkt.

[0039] Somit zeichnet sich das bevorzugte Verfahren darin aus, dass mehrere Pipettenspitzen z.B. auf verschiedenen Ablagepositionen oder in den Vertiefungen innerhalb der Ausnehmung verbleiben.

[0040] Zur Amplifikation des Analyten wird vorzugsweise eine Thermozyklisierungsreaktion eingesetzt. Dabei kommen nach einer Weiterbildung des erfindungs-

gemäßen Verfahrens eine Polymerase-Kettenreaktion - kurz PCR -, eine allelspezifische Primer Expression - kurz ASPE - und/oder ein sogenanntes Amplification Refractory Mutation System - kurz ARMS in Betracht.

[0041] Neben einer temperaturgesteuerten Amplifizierung des Analyten ist hierbei auch eine temperaturgesteuerte Hybridisierung mittels des Biochips vorgesehen.

[0042] Eine verbesserte Detektion des Analyten wird zudem durch eine temperaturgesteuerte elektrische, insbesondere elektrochemische, Detektion erreicht.

[0043] Des Weiteren wird zur Verbesserung der automatischen Handhabung der Proben eine Analysegerät aus einer Kombination aus Leseeinrichtung und Titerplatte angegeben. Diese Kombination ist an handelsübliche Pipettier-Roboter angepasst.

[0044] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Offenbarung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen Titerplatte. Die Vertiefungen einer Einheit können mit vier verschiedenen Vergleichskonzentrationen für quantitative Bestimmungen eingesetzt werden. Dies ist für Expressionsexperimente in der integrierten DNA Technik oder multiples Multiplexing bei sogenannten Single Nukleotide Polymorphism - kurz SNP - denkbar.

Mit Bezug auf die beiliegenden Zeichnungen werden nunmehr bevorzugte Ausführungsbeispiele beschrieben.

In den Zeichnungen zeigen:

- Fig. 1 eine perspektivische Ansicht eines Ausführungsbeispiels einer erfindungsgemäßen Titerplatte;
- Fig. 2 eine perspektivische Ansicht eines Beispiels einer Leseeinrichtung für eine Titerplatte;
- Fig. 3 eine perspektivische Ansicht einer Kombination einer Titerplatte gemäß Fig. 1 mit einer Leseeinrichtung gemäß Fig. 2;
- Fig. 4 eine Draufsicht auf einen Ausschnitt der Oberseite der erfindungsgemäßen Titerplatte;
- Fig. 5 einen Längsschnitt durch einen Ausschnitt einer Titerplatte und eines Lesegeräts gemäß einer zweiten Ausführungsform;
- Fig. 6 einen Ablaufplan eines erfindungsgemäßen Verfahrens.

[0045] Im Folgenden werden die Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung unter Bezugnahme auf die Zeichnungen beschrieben.

[0046] Figur 1 zeigt eine Titerplatte 10 zur Detektion eines Analyten von der Unterseite 22. Die Titerplatte 10 weist mehrere in Reihen angeordnete Vertiefungen 12 auf, die von der Unterseite 22 als Auswölbungen 12' sichtbar sind. Dabei sind die Vertiefungen 12 derart voneinander beabstandet und ausgerichtet, dass ein Pipettier-Roboter mit einer Pipettenspitze erforderliche Reagenzien, Lösungsmittel und/oder eine auf den Analyten zu prüfende Probe in die Vertiefungen 12 einbringen kann.

[0047] Neben je zwei Reihen von Vertiefungen 12 ist eine Reihe von Biochips 14 angeordnet. Die Biochips 14 sind ebenfalls in Bezug auf die Vertiefungen 12 derart positioniert, dass der Roboter die Pipettenspitze dorthin automatisch programmgesteuert verfahren kann. Diese Biochips 14 sind dazu ausgelegt, z.B. eine DNA mittels Hybridisierung zu detektieren, wobei sich mindestens eine elektrische Eigenschaft des Biochips 14 verändert. Derartige Biochips 14 können ggf. auch ein Chipkartenlabor beinhalten.

[0048] Die Titerplatte 10 ist modular aufgebaut, sie umfasst einen Block, z.B. ein Spritzgussteil, aus Kunststoff, in den die Vertiefungen 12 bzw. Auswölbungen 12' ausgeformt sind, und die Biochips 14. Diese sind in Aufnahmen 14' in dem Block aufgenommen. Unter den Biochips 14 ist bevorzugt eine Dichtung aus einem thermoplastischen Elastomer angeordnet, die die Aufnahme 14' zur Oberseite der Titerplatte (in Fig. 1 unten liegend) hin abdichtet. In der Dichtung sind vorzugsweise trichterförmige Öffnungen angeordnet, die einen Einlassport, einen Auslass und ggf. Ablagepositionen bilden. Ferner können die Biochips 14 jeweils in einen Kunststoffring gefasst sein, der in der Aufnahme 14' befestigt ist, z.B. aufgeklebt oder geschweißt.

[0049] Um mehrere Proben auf einer Titerplatte 10 untersuchen zu können, sind jeweils mehrere - hier vier - Vertiefungen 12 mit je einem Biochip 14 zu einer Einheit 21 zusammengefasst, die in Fig. 1 durch eine strichpunktierte Linie umrandet ist. Zumindest entlang dieser Linie 21 verläuft eine Wand 16, die vier Vertiefungen 12 und einen Biochip 14 umfriedet und vor Kontaminationen schützt. Hierzu weist das Spritzgussteil eine Dicke d - also eine Wandhöhe - von etwa 50mm bis etwa 60mm auf. Die Titerplatte 10 weist 16 derartige Einheiten 21 auf.

[0050] Figur 2 zeigt ein Beispiel einer Leseeinrichtung 26 für eine Titerplatte 10. Auf der Leseeinrichtung 26 sind zum einen eine Reihe von Wannen 13 angeordnet, die als beheizbare Aufnahmen für die Vertiefungen 12 der Titerplatte dienen. Insbesondere passen die in Figur 1 gezeigten Auswölbungen 12' in die Wannen 13. Die vier Wannen 13 einer Einheit 21 sind jeweils zu einem Thermoblock 11 zusammengefasst und bevorzugt unabhängig von einander und insbesondere von den anderen Thermoblocken 11 beheizbar. Die dargestellte Leseeinrichtung 26 umfasst somit 12 unabhängige 4er Thermoblocke 11.

Mit einem Thermoblock 11 kann ein Analyt in den Vertiefungen 12 mittels einer Amplifizierungsreaktion auf eine gut zu detektierende Menge vervielfältigt werden. Die Leseeinrichtung 26 stellt weiterhin einige elektrische Auslese- bzw. Kontaktflächen 15 für die Biochips 14 bereit. Jeweils ein Biochip 14 liegt auf einer Auslesefläche 15 auf, so dass die entsprechenden Kontakte am Biochip 14 kontaktiert und ausgelesen werden. Vorzugsweise kann die Temperatur der Ausleseflächen 15 kontrolliert werden. Auf einer Auslesefläche 15 sind z.B. 8 elektrische Kontakte angeordnet.

Die Kontaktflächen 15 und Wannen 13 sind von einer Umrandung 17 umgeben, die eine in Figur 1 gezeigte

Titerplatte 10 auf der Leseeinrichtung 26 ausrichten und halten kann.

[0051] Die Grundfläche und Höhe der Leseeinrichtung 26 ist vorzugsweise kompatibel mit dem bekannten STARlet® System, die Maße betragen also z.B. 150x110x110 mm³ und passen in einen 7-track Träger. Die Leseeinrichtung 26 umfasst bevorzugt 12 unabhängige 4er Thermoblöcke bzw. Thermocycler 11, mit denen eine beliebig programmierbare PCR durchgeführt werden kann, sowie 12 unabhängige Temperaturkontrollierte elektrische Biochip-Ausleseblöcke. Die integrierte Elektronik weist vorzugsweise ein Kommunikations-Interface, 24 unabhängige Temperaturkontrollereinheiten sowie 12 unabhängige digitale Schnittstellen für die Biochip-Auslesung auf.

[0052] In Fig. 3 ist die Titerplatte 10 der Fig. 1 von der Oberseite gezeigt, wie sie auf eine Leseeinrichtung 26 gemäß Fig. 2 aufgesetzt ist. Dabei ist die Titerplatte 10 von der Umrandung 17 abgestützt. In der Oberseite 20 der Titerplatte 10 sind 16 Ausnehmungen 18 erkennbar, die jeweils die Form eines etwa E-förmigen Langlochs aufweisen. Die Ausnehmungen 18 gehen bis auf den Boden der Titerplatte 10 durch, sind also wie in einen Block "eingefräst". Jede Ausnehmung 18 ist daher von relativ dicken Wänden 16 begrenzt, die bis zu den Vertiefungen 12 in der Titerplatte 10 reichen. Die Wände 16 stellen eine Umfriedung der einzelnen Einheiten aus Vertiefungen 12 und dem Biochip 14 bereit. Diese sind am Grund 19 der Ausnehmung 18 angeordnet und sind mittels Pipettier-Roboter erreichbar. Der Pipettier-Roboter bewegt eine Pipettenspitze 40 zum Umfüllen einer amplifizierten Probenmischung von der Vertiefung 12 in den Biochip 14 entlang des Langlochs 18.

[0053] In Figur 4 ist schematisch eine Draufsicht auf eine einzelne Einheit 21 - umfassend einen Biochip und vier Vertiefungen - einer Titerplatte 10 von der Oberseite 20 dargestellt. In die Titerplatte 10 ist eine Ausnehmung 18 eingebracht. Die Ausnehmung 18 ist als Langloch ausgebildet und von den Wänden 16 umschlossen. Zur Oberseite 20 hin ist die Ausnehmung 18 offen.

[0054] Durch die Ausnehmung 18 sieht man auf den Grund 19 der Titerplatte 10, in dem vier rechts gezeigte Vertiefungen 12 eingelassen sind. Auf der linken Seite liegt der Biochip 14 unterhalb der gestrichelten Linie. Der Biochip 14 ist z.B. von einer Dichtung 30 bedeckt, in der bei 32 ein Einfüllport eingelassen ist, durch den mittels einer Pipettenspitze eine Probe in Kontakt mit dem Biochip 14 gebracht werden kann. An den Positionen 33 und 35 ist die Dichtung 30 auf dem Biochip 14 nicht durchlässig, jedoch mit einer kleinen Aufnahme für eine Pipettenspitze versehen. Diese Aufnahme kann z.B. eine kleine Vertiefung in der Dichtung 30 sein, in der eine Pipettenspitze aufgenommen werden kann. Derartige Vertiefungen sind jedoch nicht unbedingt notwendig. Jedemfalls kann an den Positionen 33 und 35 eine Pipettenspitze abgelegt werden. Deshalb sind auch diese Positionen 33, 35 mit dem Langloch 18 verbunden. Dabei wird die Öffnung der Pipettenspitze durch das elastome-

re Material der Dichtung 30 abgedichtet, so dass die Pipettenspitze noch mit z.B. Substrat oder Label-Enzym gefüllt sein kann, wenn sie an einer dieser Ablagepositionen 33 oder 35 geparkt wird. An der Position 34 ist eine Öffnung eines Überlaufreservoirs angeordnet. Diese Position ist nicht mit dem Langloch 18 verbunden, da es nicht notwendig ist, an diese Position eine Pipettenspitze zu verfahren.

[0055] Zur Handhabung einer Probe in den Vertiefungen 12 ist die Ausnehmung 18 in Form eines mehrgliedrigen Langlochs ausgelegt, das unter anderem die vier Vertiefungen quasi "von oben" zugänglich macht. Das heißt, dass Pipettenspitzen 40 mittels eines Pipettier-Roboters über das Langloch 18 eingebracht und verschoben werden können. Die eingeführte Pipettenspitze erreicht, ohne die Ausnehmung 18 verlassen zu müssen sowohl alle Vertiefungen 12 als auch den Biochip 14. Eine das Target enthaltende amplifizierte Probe kann von der Pipette aus einer der Vertiefungen 12 aufgenommen und über den Einfüllport 32 in den Biochip 14 transferiert werden. Der Einfüllport 32 durchdringt die elastomere Dichtung oder Beschichtung 30, die zum Schutz auf dem Biochip 14 aufgebracht ist.

[0056] Über den Einfüllport 32 läuft die flüssige Probe aus einer Pipettenspitze 40 in eine Biochipkammer 36, die angrenzend an die sensitiven Flächen des Biochips 14 angeordnet ist und insbesondere zwischen Biochip 14 und Dichtung 30 verläuft. Von der Biochipkammer 36 geht ein Überlaufreservoir 24 ab, welches zur Oberseite hin offen ist. In dem Überlaufreservoir 24 ist ein Dichtelement 31 angeordnet, in diesem Fall ein zylinderförmiges Stück aus absorbierendem Material, z.B. Schaumstoff oder Watte. Aus der Biochipkammer 34 läuft die flüssige Probe aus einer Pipettenspitze 40 somit weiter in das Überlaufreservoir 24.

[0057] Eine Pipettenspitze kann nach Benutzung innerhalb der Ausnehmung 18 an 6 verschiedenen Positionen verbleiben: Ist die Pipettenspitze noch gefüllt, z.B. mit Label oder Substrat, insbesondere mit einer Flüssigkeit, die später nochmals benötigt werden wird, kann sie auf einer der beiden Ablagepositionen 33, 35 geparkt werden, wo ihre Öffnung durch die Dichtung 30 verschlossen wird. Eine leere, gebrauchte Pipettenspitze, z.B. nach dem Pipettieren von PCR-Produkt von einer der Vertiefungen 12 über den Einfüllport 32 in die Biochipkammer 36, kann in der jeweiligen Vertiefung 12 abgelegt werden. Nach dem Transfer von PCR-Produkt in die Biochipkammer 36 kann die Pipettenspitze völlig entleert werden, da die Biochipkammer 36 direkt mit dem Überlaufreservoir 24 verbundene ist, in das alle überschüssige Flüssigkeit abgesogen wird.

[0058] Die Figur 5 zeigt eine Kombination von einer Titerplatte 10 mit einer Leseeinrichtung 26 im Längsschnitt, wobei wiederum nur eine Einheit 21 dargestellt ist. Die Titerplatte 10 umfasst mehrere Vertiefungen 12, deren Auswölbungen 12' in Wannen 13 eines Thermoblocks 11 eingebracht sind. Das eingebrachte Probenmaterial wird mittels einer Thermozyklisierungsreaktion

wie einer PCR mehrfach kopiert. Um eine Kontamination von Probenmaterial aus anderen Vertiefungen 12 zu vermeiden, ist ein Sperrmedium 28 - hier ein Mineralölfilm - in einer der Vertiefungen 12 vorgesehen. An die Vertiefungen 12 schließen sich Wände 16 an, die zur ersten Seite 20 offen sind. Somit können Pipettenspitzen 40 von einem Pipettier-Roboter eingebracht die Vertiefungen 12 erreichen. Jeweils zwischen den beiden Vertiefungen 12 und der linken Vertiefung 12 und der Biochip 14 ist die Wand 14 nicht geschnitten, sondern in Draufsicht erkennbar.

[0059] Der Biochip 14 ist von einem Kunststoffring 41 umrandet, der vorzugsweise eine Dichtlippe aufweist und den Biochip 14 gegen die Titerplatte 10 bzw. die Dichtung 30 abdichtet. Nach oben weist der Biochip 14 als Kontaminationsschutz eine Dichtung 30 z.B. aus Polypropylen auf. Zwischen der Dichtung 30 und der Fläche mit Fängermolekülen für den Analyten auf dem Biochip 14 ist eine Biochipkammer 36 gebildet, in die eine Probe aufgenommen werden kann. Die amplifizierte Probe kann mit der Pipettenspitze 40 über einen Einfüllport 32 in die Biochipkammer 36 übertragen werden, wobei die umgrenzte Ausnehmung 18 nicht verlassen wird.

[0060] Zwischen den Vertiefungen 12 und dem Einfüllport 32 ist eine Bohrung 38 angeordnet. Diese Bohrung 38 durchdringt die gesamte Titerplatte 10. Durch Applizieren eines Unterdrucks oder Vakuums kann ein stetiger Luftstrom erzeugt werden, der die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination mit Probenmaterial weiter verringert. Der Luftstrom tritt hierbei über die erste Seite 20 in die Titerplatte 10 ein. Ein Aerosol, Tröpfchen oder dergleichen wird sodann mit dem Luftstrom über die Bohrung 38 abgeführt. Es steht somit ein sogenanntes Extraktionssystem für die erfindungsgemäße Titerplatte 10 zur Verfügung. Die Bohrung 38 kann zudem mit einem Filtermaterial 39 belegt sein.

[0061] Die Probe tritt über den Einfüllport 32 in die Chipkammer 36 über den Biochip 14 ein. Falls zuviel Flüssigkeit in die Biochipkammer 36 eingefüllt wird, läuft dieses über den Auslass 34 in der Dichtung 30 in ein Überlaufreservoir 24. Damit einmal in dem Überlaufreservoir 24 befindliche Flüssigkeit nicht zurücklaufen kann, ist eine Zwischenwand 37 als Überlaufschutz vorgesehen wie in Figur 5 gezeigt. Im Zwischenraum zwischen der Zwischenwand 37 und der Wandung 16 befindet sich beispielsweise ein Saugdocht, der überschüssige Probenflüssigkeit aufnehmen kann und diese mittels Kapillarkräften in das Überlaufreservoir 24 leitet, welches ca. 1,3ml Flüssigkeit aufnehmen kann.

[0062] Gemäß einer anderen, nicht dargestellten Ausführungsform ist das Überlaufreservoir 24 direkt oberhalb des Auslasses 34 angeordnet, jedoch über einen Spalt von der Biochipkammer 36 getrennt. Das Überlaufreservoir 24 ist fast vollständig mit einem Dochtelement ausgefüllt, wie in Fig. 4 dargestellt, der etwa 1-2ml Flüssigkeit halten kann. Am Auslass 34 auftretende Flüssigkeit wird vom Docht aufgenommen. Aufgrund des Spaltes reißt der Flüssigkeitsstrom sofort ab, wenn keine

Flüssigkeit mehr nachgeliefert wird. Auf diese Weise entsteht kein Rücklaufstrom, auch nicht durch Kapillarkräfte.

[0063] Mit der Titerplatte 10 kann das erfindungsgemäße Verfahren zur Detektion eines Analyten mittels eines Biochips 14 durchgeführt werden. Der Biochip 14 ist in eine Titerplatte 10 integriert wie vorstehend beschrieben. Das Verfahren umfasst folgende Schritte: Ein Einbringen einer Probe in eine der Vertiefungen 12 der Titerplatte 10 und ein Einbringen von Reagenzien in die Vertiefungen 12. Anschließend erfolgt ein Durchführen einer Amplifizierungsreaktion mit der mit Reagenzien versetzten Probe, wobei eine PCR-Reaktion, eine ASPE- und/oder eine ARMS-Reaktion in Betracht kommen. Danach erfolgt das Transferieren des entstandenen Reaktionsgemisches auf den Biochip 14, und Auslesen des Biochips 14, der durch Hybridisierung mit dem Analyten mindestens eine elektrisch erfassbare Eigenschaft verändert. Das erfindungsgemäße Verfahren zeichnet sich dadurch aus, dass das Flüssigkeiten mittels eines Pipettier-Roboters mit der Pipettenspitze 40 transferiert werden und die Pipettenspitze 40 innerhalb des umfriedeten Raums 18 verbleibt. Hierzu wird sie in einer der Vertiefungen 12 oder auf einer der Ablagepositionen 33, 35 abgelegt.

[0064] Durch den Einsatz von Pipettier-Robotern wird das Analyseverfahren erheblich beschleunigt, ist weniger fehlerbehaftet und zudem kostengünstiger. Insbesondere wird die Verwendung für quantitative Bestimmungen, eine integrierte DNA Technik - kurz IDT oder ein multiples Multiplexing im Rahmen von SNP möglich.

[0065] Ein erfindungsgemäßes Verfahren zur Detektion eines Analyten mittels Biochips 14 ist in Figur 6 als Ablaufplan dargestellt. Es umfasst zunächst das Einbringen 102 einer oder mehrerer zu untersuchenden Probe(n) in eine oder mehrere der Vertiefungen 12 einer Titerplatte 10. Diese Titerplatte 10 ist vorzugsweise eine erfindungsgemäße Titerplatte 10 wie vorstehend beschrieben. Die mit der Probe in Kontakt gebrachte Pipettenspitze 40 kann danach von einem Pipettier-Roboter auf gewöhnliche Art entsorgt werden.

[0066] In einem weiteren Verfahrensschritt 104 werden die für eine Amplifizierungsreaktion des Analyten benötigten Reagenzien in die Vertiefungen 12 eingebracht. Hierzu wird eine weitere Pipettenspitze 40 vom Pipettier-Roboter in die Ausnehmung 18 eingebracht und bevorzugt danach auf die übliche Weise außerhalb der Ausnehmung entsorgt. Optional kann die Probe vor der Amplifizierungsreaktion mit Mineralöl überschichtet werden. Nach Zusammenführen der Reagenzien und der Probe wird ein Temperaturprogramm 106 durchgeführt, um eine PCR Reaktion ablaufen zu lassen. Das Reaktionsgemisch enthält anschließend den Analyten in massenweise kopierter Form zur besseren Detektion.

[0067] Der Pipettier-Roboter nimmt daraufhin eine neue, saubere Pipettenspitze 40 auf, Schritt 108. Mit dieser Pipettenspitze wird in Schritt 110 das Reaktionsgemisch mit der amplifizierten Probe von einer ersten der Vertiefungen 12 in den Biochip 14 transferiert. Das Re-

aktionsgemisch wird in die Biochipkammer 36 eingelassen. Eventuell zuviel aufgenommenes Reaktionsgemisch läuft durch den Auslass 34 in das Überlaufreservoir 24. Die benutzte Pipettenspitze wird nach vollständiger Entleerung an der ersten Vertiefung 12 abgelegt, Schritt 114, d.h. sie verbleibt innerhalb der Ausnehmung 18.

[0068] Daraufhin nimmt der Pipettier-Roboter zunächst eine weitere neue, saubere Pipettenspitze 40 auf, Schritt 116. Mit dieser Pipettenspitze wird in Schritt 118 ein Label-Enzym aus einem außerhalb der Ausnehmung 18 befindlichem Vorratsbehälter aufgenommen und in den Biochip 14 transferiert. Die Pipettenspitze 40 ist danach noch nicht leer und wird daher an der ersten Ablageposition 33 abgelegt, Schritt 120, d.h. sie verbleibt innerhalb der Ausnehmung 18.

[0069] Danach nimmt der Pipettier-Roboter eine weitere neue, saubere Pipettenspitze 40 auf, Schritt 122. Mit dieser Pipettenspitze wird in Schritt 124 ein Substrat aus einem außerhalb der Ausnehmung 18 befindlichem Vorratsbehälter aufgenommen und in den Biochip 14 transferiert. Die Pipettenspitze 40 ist danach noch nicht leer und wird daher an der zweiten Ablageposition 35 abgelegt, Schritt 126, d.h. sie verbleibt innerhalb der Ausnehmung 18.

[0070] Danach kann der Biochip 14 ausgelesen werden, Schritt 128.

[0071] Die Schritte 110 bis 128 können noch mehrmals wiederholt werden, und zwar mit den anderen Reaktionsgemischen aus den anderen Vertiefungen 12. Die Pipettenspitze, die zum Pipettieren des Reaktionsgemisches aus der Vertiefung 12 benutzt wird, wird in die jeweilige Vertiefung 12 zurückgestellt und verbleibt dort, bis sie gemeinsam mit der Titerplatte 10 entsorgt wird. Die Pipettenspitzen, mit denen Label-Enzym und Substrat transferiert wurden, werden wieder verwendet und danach wieder an den Ablagepositionen 33, 35 geparkt.

[0072] Die Erfindung erlaubt es somit, benutzte Pipettenspitzen nicht über andere Ausnehmungen 18, in denen andere Proben untersucht werden, hinweg entsorgen zu müssen und vermindert damit das Kontaminationsrisiko.

Patentansprüche

1. Titerplatte (10) zur Detektion eines Analyten, mit mehreren Vertiefungen (12) und mit zumindest einem Biochip (14),
dadurch gekennzeichnet,
dass der zumindest eine Biochip (14) zur Detektion eines Analyten ausgelegt und neben den Vertiefungen (12) angeordnet ist, wobei jeweils mehrere der Vertiefungen (12) und ein Biochip (14) eine Einheit (21) bilden und am Grund (19) einer Ausnehmung (18) der Titerplatte (10) angeordnet sind, die von einer Wand (16) umgeben ist.

2. Titerplatte (10) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** sie mehrere Ausnehmungen (18) aufweist.

3. Titerplatte (10) nach einem der Ansprüche 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zumindest eine Ausnehmung (18) zu einer ersten Seite (20) der Titerplatte (10) hin offen ist, wobei die gegenüberliegende Seite (22) mit einer Aufnahme (14') für den Biochip (14) und mit einer Auswölbung (12') der Vertiefung (12) versehen ist.

4. Titerplatte (10) nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zumindest eine Ausnehmung (18) als ein Langloch (24) ausgebildet ist, das sich über alle Vertiefungen (12) und den Biochip (14) erstreckt, die von der Wand (16) umgeben sind.

5. Titerplatte (10) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** eine elastomere Dichtung (30) auf dem zumindest einen Biochip (14) aufgebracht ist, welche einen Einfüllport (32) aufweist.

6. Titerplatte (10) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** auf der elastomeren Dichtung (30) des Biochips (14) zumindest eine Ablageposition für eine Pipettenspitze (40) vorgesehen ist.

7. Titerplatte (10) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** eine Biochipkammer (36) in Flüssigkeitsverbindung mit einer sensitiven Fläche des Biochips (14) steht.

8. Titerplatte (10) nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Biochipkammer (36) mit einem Überlaufreservoir (24) verbindbar ist, um eine Flüssigkeit aus der Biochipkammer (36) aufzunehmen.

9. Titerplatte (10) nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Überlaufreservoir (24) ein Dochtelement (31) zum Aufsaugen von Flüssigkeit aus der Biochipkammer (36) angeordnet ist.

10. Titerplatte (10) nach einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** innerhalb einer Vertiefung (18) eine die Titerplatte (10) durchdringende Bohrung (38) vorhanden ist.

11. Titerplatte (10) nach einem der Ansprüche 1 bis 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Biochip (14) zur Detektion von DNA mittels Hybridisierung ausgelegt ist.

12. Verfahren zur Detektion eines Analyten mittels eines Biochips (14), der in eine Titerplatte (10) nach einem

der Ansprüche 1 bis 11 integriert ist mit folgenden Schritten:

- Transferieren (110) eine Substanz, insbesondere einer Flüssigkeit, aus einer der Vertiefungen (12) auf den Biochip (14),

dadurch gekennzeichnet,

dass die Substanz mittels eines Pipettier-Roboters mit einer Pipettenspitze (40) auf den Biochip (14) transferiert wird und die Pipettenspitze (40) nach dem Transfer der Substanz innerhalb der Ausnehmung (18) verbleibt.

13. Verfahren nach Anspruch 12, **gekennzeichnet durch** folgende Schritte:

- a) Einbringen (102) einer Probe in eine der Vertiefungen (12); Einbringen von Reagenzien in zumindest eine der Vertiefungen (12);
- b) Einbringen von Reagenzien in zumindest eine der Vertiefungen (12);
- c) Durchführen einer Amplifizierungsreaktion mit der mit Reagenzien versetzten Probe;
- d) Transferieren (11) des entstandenen Reaktionsgemisches auf den Biochip (14); und
- e) Auslesen des Biochips (14), der durch Hybridisierung mit dem Analyten mindestens eine elektrisch erfassbare Eigenschaft verändert;

wobei das Reaktionsgemisch und/oder die Probe mittels eines Pipettier-Roboters mit einer Pipettenspitze (40) eingebracht bzw. auf den Biochip (14) transferiert wird und dass die Pipettenspitze (40) innerhalb der Ausnehmung (18) verbleibt.

14. Verfahren nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** nach Schritt d) eine Flüssigkeit, insbesondere eine Label-Flüssigkeit, mit einer Pipettenspitze (40) auf den Biochip (14) transferiert wird.

15. Verfahren nach Anspruch 13 oder 14, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Schritte a) bis e) mit einer weiteren Probe durchgeführt werden.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** mehrere Pipettenspitzen (40) innerhalb der Ausnehmung (18) verbleiben.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 16, **dadurch gekennzeichnet, dass** eine Pipettenspitze (40) nach dem Pipettieren, insbesondere nach dem Transferieren (110) des entstandenen Reaktionsgemisches von einer der Vertiefungen (12) auf den Biochip (14), in der jeweiligen Vertiefung (12) abgestellt wird, von der Flüssigkeit transferiert wurde.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** eine Pipettenspitze (40) nach dem Pipettieren, insbesondere nach dem Transferieren von Label-Flüssigkeit auf den Biochip (14), auf einer Ablageposition (33, 35) innerhalb der Ausnehmung (18) abgestellt wird, welche die Pipettenspitze (40) nach unten abdichtet, so dass keine Flüssigkeit aus der Pipettenspitze (40) austreten kann.

Claims

1. Titer plate (10) for detecting an analyte, having multiple recesses (12) and having at least one biochip (14), **characterized in that** the at least one biochip (14) is designed for detecting an analyte and is arranged next to the recesses (12), wherein, respectively, multiple recesses (12) and one biochip (14) form a unit (21) and are arranged at the base (19) of a clearance (18) of the titer plate (10), which is surrounded by a wall (16).
2. Titer plate (10) according to claim 1, **characterized in that** it has multiple clearances (18).
3. Titer plate (10) according to claim 1 or 2, **characterized in that** the at least one clearance (18) is open toward a first side (20) of the titer plate (10), wherein the opposite side (22) is provided with a receptacle (14') for the biochip (14) and with a bulge (12') of the recess (12).
4. Titer plate (10) according to any one of claims 1 to 3, **characterized in that** the at least one clearance (18) is formed as an elongated hole (24) which extends over all recesses (12) and the biochip (14), which are surrounded by the wall (16).
5. Titer plate (10) according to any one of the preceding claims, **characterized in that** one elastomeric seal (30) is applied on the at least one biochip (14) and has one filling port (32).
6. Titer plate (10) according to any one of the preceding claims, **characterized in that**, on the elastomeric seal (30) of the biochip (14), at least one deposit position is provided for a pipette tip (40).
7. Titer plate (10) according to any one of the preceding claims, **characterized in that** one biochip chamber (36) is in fluid communication with a sensitive surface of the biochip (14).
8. Titer plate (10) according to claim 7, **characterized in that** the biochip chamber (36) is connectable with an overflow reservoir (24) in order to collect a liquid

from the biochip chamber (36).

9. Titer plate (10) according to claim 8, **characterized in that** a wick element (31) for soaking up liquid from the biochip chamber (36) is arranged in the overflow reservoir (24).

10. Titer plate (10) according to any one of claims 1 to 9, **characterized in that** a hole (38) penetrating the titer plate (10) is present within the clearance (18).

11. Titer plate (10) according to any one of claims 1 to 10, **characterized in that** the biochip (14) is designed for detecting DNA by means of hybridization.

12. Method for detecting an analyte by means of a biochip (14) which is integrated into a titer plate (10) according to any one of claims 1 to 11, having the following steps:

- transferring (110) a substance, in particular a liquid, from one of the recesses (12) onto the biochip (14),

characterized in

that the substance is transferred onto the biochip (14) by means of a pipetting robot with a pipette tip (40) and the pipette tip (40) remains within the clearance (18) after the transfer of the substance.

13. Method according to claim 12, **characterized by** the following steps:

- a) introducing (102) a sample into one of the recesses (12);
- b) introducing reagents into at least one of the recesses (12);
- c) carrying out an amplification reaction with the sample with reagents added;
- d) transferring (110) the resulting reaction mix onto the biochip (14); and
- e) reading the biochip (14), which changes at least one electrically recordable property owing to hybridization with the analyte;

wherein the reaction mix and/or the sample is introduced, and/or transferred onto the biochip (14), by means of a pipetting robot with a pipette tip (40) and that the pipette tip (40) remains within the clearance (18).

14. Method according to claim 13, **characterized in that**, after step d), a liquid, in particular a labeling liquid, is transferred onto the biochip (14) with a pipette tip (40).

15. Method according to claim 13 or 14, **characterized in that** steps a) to e) are carried out with a further

sample.

16. Method according to any one of claims 12 to 15, **characterized in that** multiple pipette tips (40) remain within the clearance (18).

17. Method according to any one of claims 12 to 16, **characterized in that**, after pipetting, in particular after transferring (110) the resulting reaction mix from one of the recesses (12) onto the biochip (14), a pipette tip (40) is placed down in the respective recess (12) from which liquid was transferred.

18. Method according to any one of claims 12 to 17, **characterized in that** after pipetting, in particular after transferring labeling liquid onto the biochip (14), a pipette tip (40) is placed down on a deposit position (33, 35) within the clearance (18), said deposit position sealing the pipette tip (40) to the bottom so that no liquid can escape from the pipette tip (40).

Revendications

1. Plaque titre (10) servant à détecter un analyte, avec plusieurs renforcements (12) et avec au moins une biopuce (14),

caractérisée en ce

que l'au moins une biopuce (14) est configurée pour détecter un analyte et est disposée à côté des renforcements (12), dans laquelle respectivement plusieurs des renforcements (12) et une biopuce (14) forment une unité (21) et sont disposés au niveau du fond (19) d'un évidement (18) de la plaque titre (10), qui est entouré d'une paroi (16).

2. Plaque titre (10) selon la revendication 1, **caractérisée en ce qu'elle** présente plusieurs évidements (18).

3. Plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, **caractérisée en ce que** l'au moins un évidement (18) est ouvert en direction d'un premier côté (20) de la plaque titre (10), dans laquelle le côté (22) opposé est pourvu d'un logement (14') pour la biopuce (14) et d'un bombement (12') du renforcement (12).

4. Plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, **caractérisée en ce que** l'au moins un évidement (18) est réalisé sous la forme d'un trou oblong (24), qui s'étend au-delà de tous les renforcements (12) et de la biopuce (14), qui sont entourés par la paroi (16).

5. Plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisée en ce qu'un** joint d'étanchéité (30) élastomère est appliqué sur

l'au moins une biopuce (14), lequel présente un port de remplissage (32).

6. Plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisée en ce qu'**au moins une position de rangement pour une pointe de pipette (40) est prévue sur le joint d'étanchéité (30) élastomère de la biopuce (14). 5
7. Plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisée en ce qu'**une chambre de biopuce (36) est en communication fluide avec une surface sensible de la biopuce (14). 10
8. Plaque titre (10) selon la revendication 7, **caractérisée en ce que** la chambre de biopuce (36) peut être reliée à un réservoir de débordement (24) pour recevoir un liquide provenant de la chambre de biopuce (36). 15
9. Plaque titre (10) selon la revendication 8, **caractérisée en ce qu'**un élément de mèche (31), servant à aspirer du liquide provenant de la chambre de biopuce (36), est disposé dans le réservoir de débordement (24). 20
10. Plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, **caractérisée en ce qu'**un alésage (38) traversant la plaque titre (10) est présent à l'intérieur d'un renforcement (18). 25
11. Plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, **caractérisée en ce que** la biopuce (14) est configurée pour détecter l'ADN au moyen d'une hybridation. 30
12. Procédé servant à détecter un analyte au moyen d'une biopuce (14), qui est intégrée dans une plaque titre (10) selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, avec des étapes qui suivent: 35
 - le transfert (110) d'une substance, en particulier d'un liquide, provenant d'un des renforcements (12) sur la biopuce (14), 40

caractérisé en ce
que la substance est transférée au moyen d'un robot de pipetage avec une pointe de pipette (40) sur la biopuce (14) et la pointe de pipette (40) reste à l'intérieur de l'évidement (18) après le transfert de la substance. 45
13. Procédé selon la revendication 12, **caractérisé par** des étapes qui suivent : 50
 - a) l'introduction (102) d'un échantillon dans un des renforcements (12) ;
 - b) l'introduction d'agents réactifs dans au moins 55

un des renforcements (12) ;
 c) la réalisation d'une réaction d'amplification avec l'échantillon mélangé aux agents réactifs ;
 d) le transfert (110) du mélange réactionnel obtenu sur la biopuce (14) ; et
 e) la lecture de la biopuce (14), qui modifie par hybridation avec l'analyte au moins une propriété pouvant être détectée de manière électrique ;

dans lequel le mélange réactionnel et/ou l'échantillon sont introduits au moyen d'un robot de pipetage avec une pointe de pipette (40) ou sont transférés sur la biopuce (14), et en ce que la pointe de pipette (40) reste à l'intérieur de l'évidement (18).

14. Procédé selon la revendication 13, **caractérisé en ce qu'**après l'étape d), un liquide, en particulier un liquide étiqueté, est transféré sur la biopuce (14) avec une pointe de pipette (40).

15. Procédé selon la revendication 13 ou 14, **caractérisé en ce que** les étapes a) à e) sont réalisées avec un autre échantillon.

16. Procédé selon l'une quelconque des revendications 12 à 15, **caractérisé en ce que** plusieurs pointes de pipette (40) restent à l'intérieur de l'évidement (18).

17. Procédé selon l'une quelconque des revendications 12 à 16, **caractérisé en ce qu'**une pointe de pipette (40) est déposée après le pipetage, en particulier après le transfert (110) du mélange réactionnel depuis l'un des renforcements (12) sur la biopuce (14), dans le renforcement (12) respectif à partir duquel le liquide a été transféré.

18. Procédé selon l'une quelconque des revendications 12 à 17, **caractérisé en ce qu'**une pointe de pipette (40) est déposée après le pipetage, en particulier après le transfert de liquide étiqueté sur la biopuce (14), sur une position de rangement (33, 35) à l'intérieur de l'évidement (18), qui étanchéifie la pointe de pipette (40) vers le bas de sorte qu'aucun liquide ne peut sortir de la pointe de pipette (40).

FIG 1

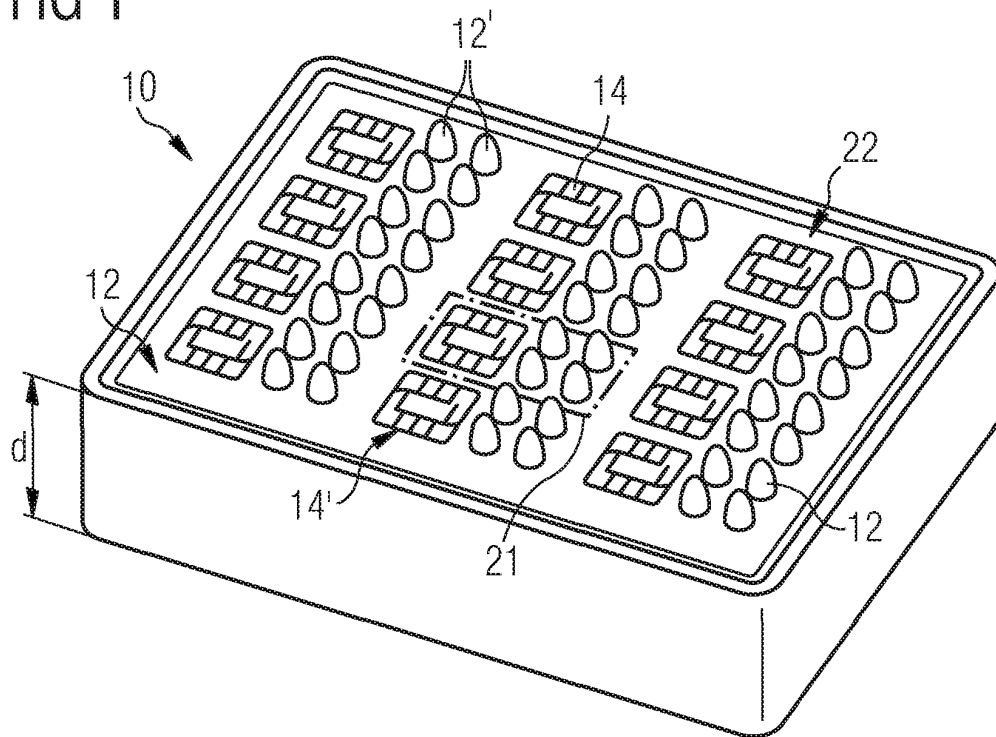


FIG 2

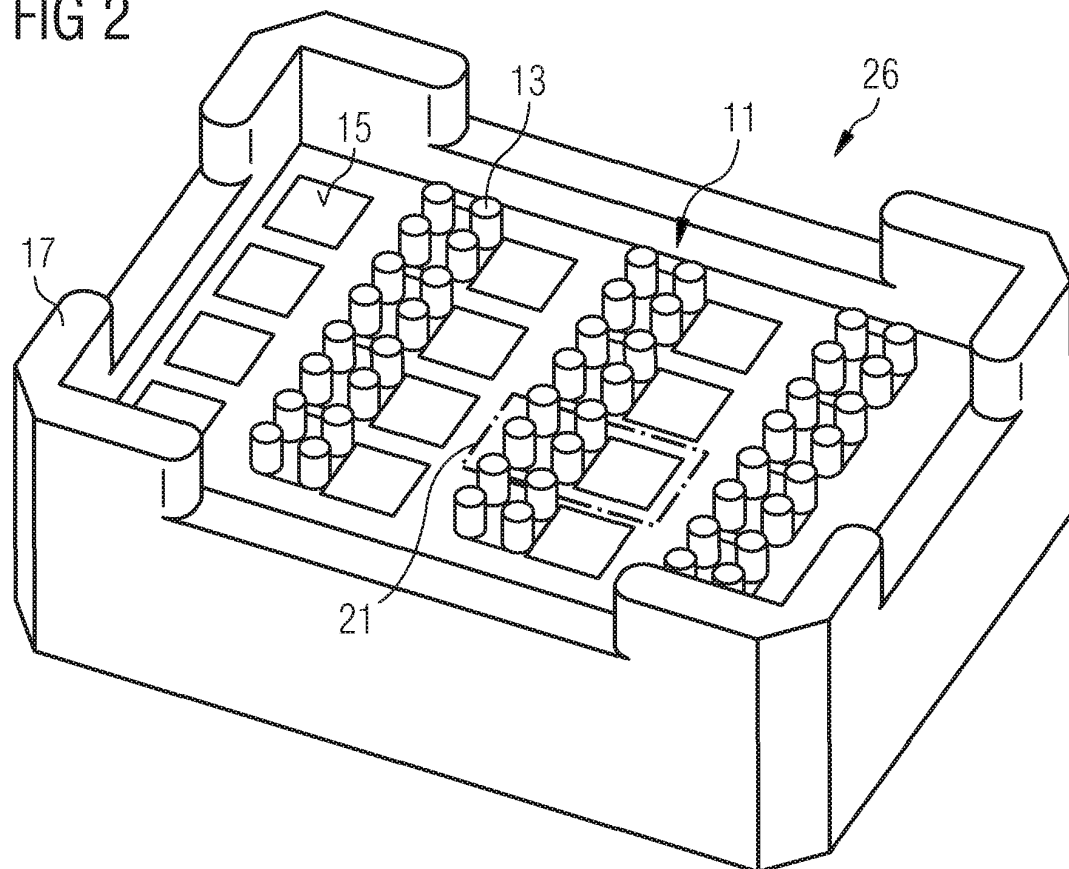


FIG 3

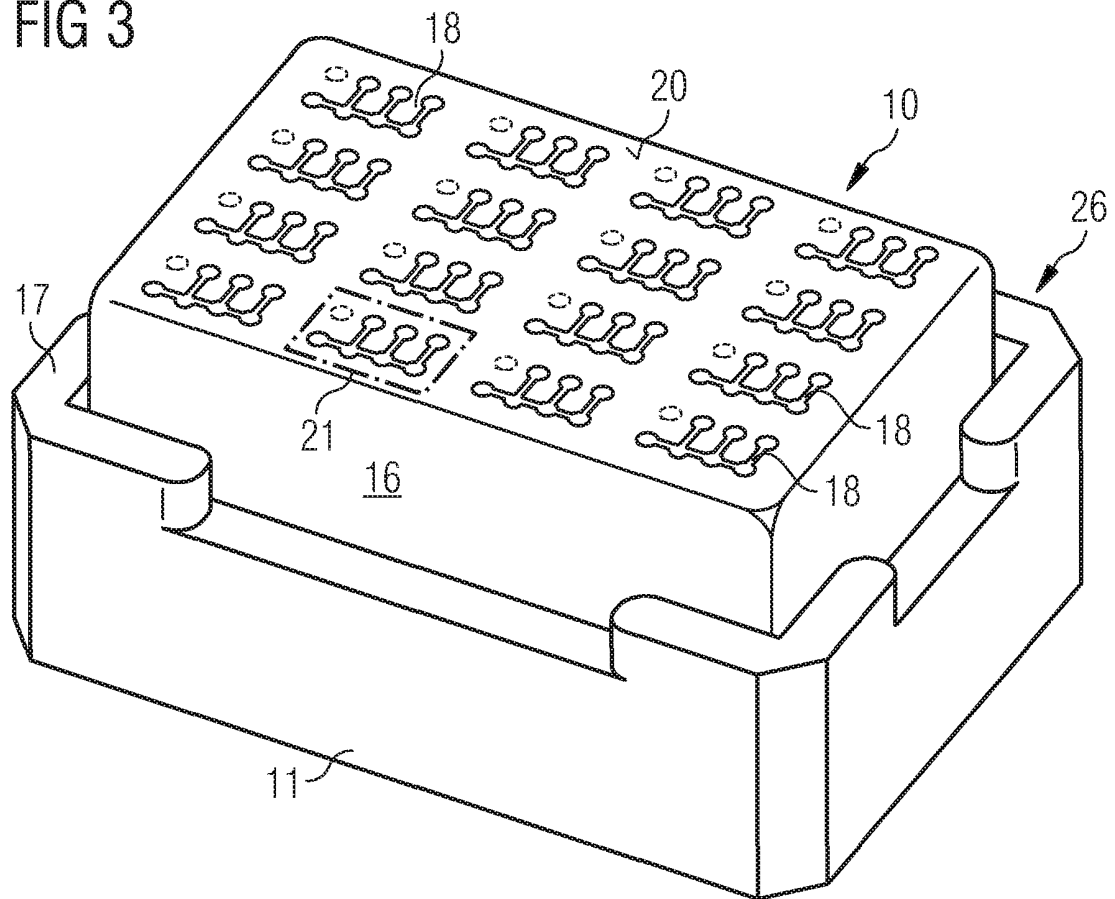


FIG 4

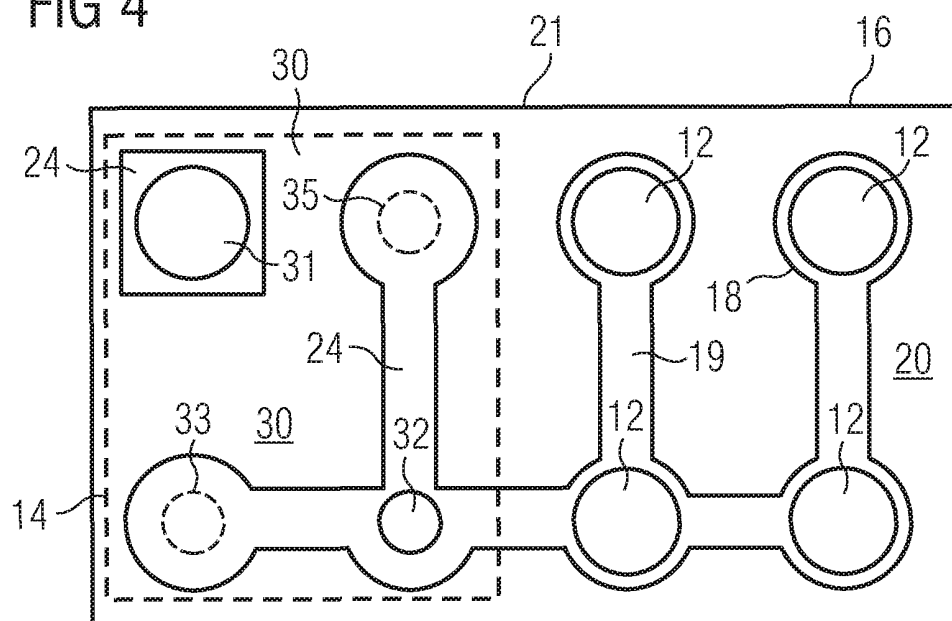


FIG 5

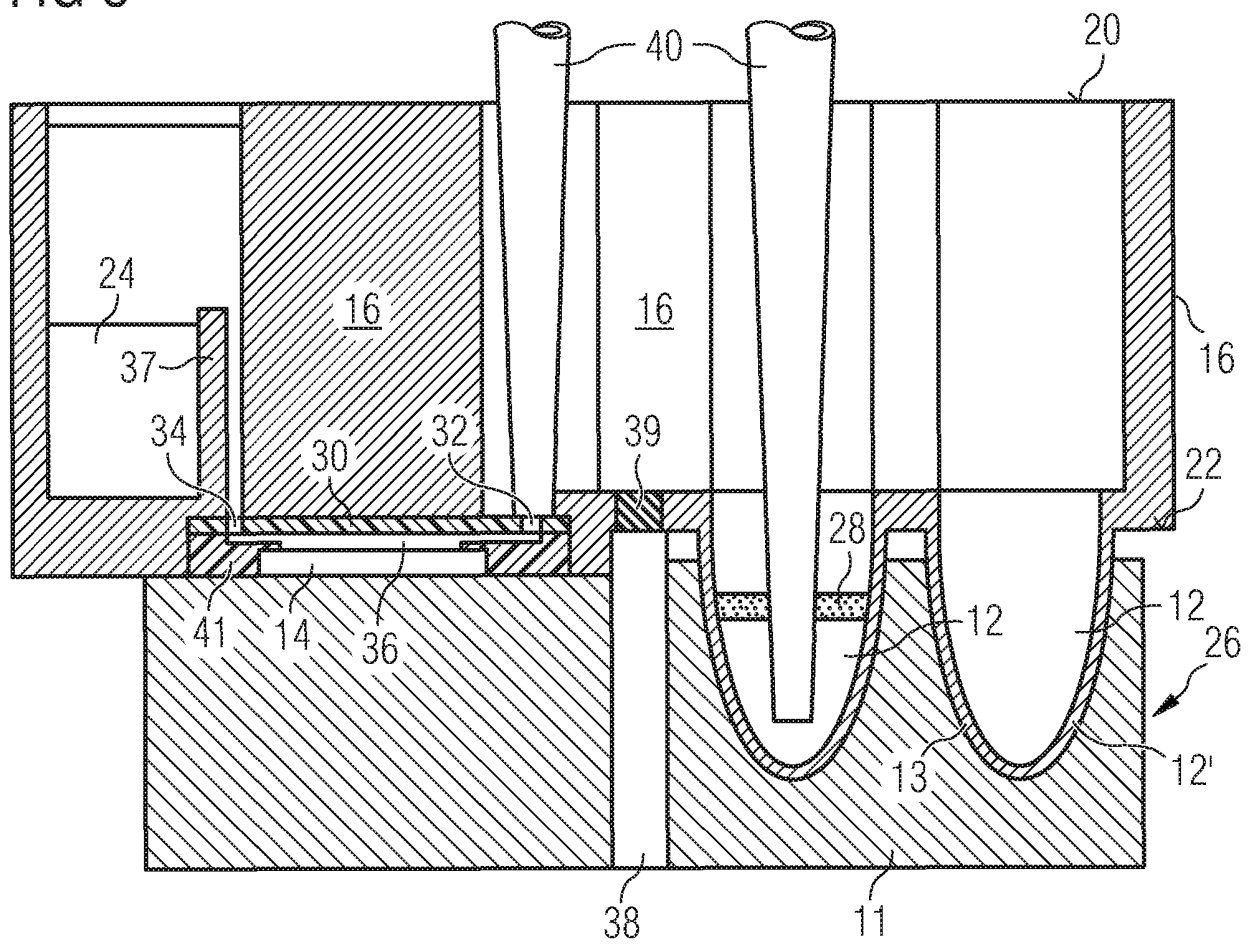
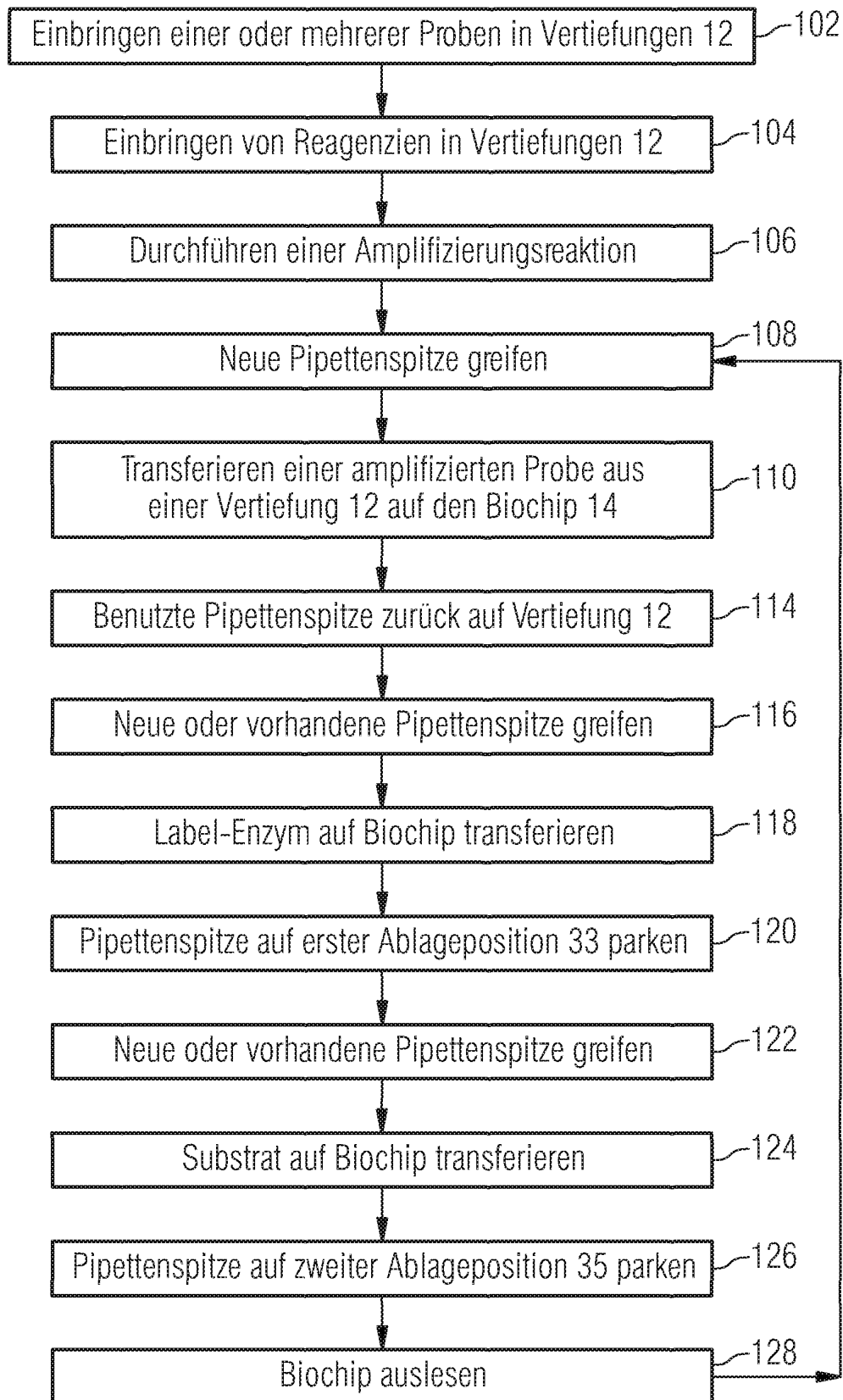


FIG 6



IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- WO 03087410 A1 **[0002]**
- WO 2007076023 A1 **[0003]**
- WO 2007111347 A1 **[0004]**
- DE 102005059535 A1 **[0008]**
- WO 9907879 A1 **[0009]**
- DE 10233212 A1 **[0010]**
- DE 10058397 A1 **[0010]**
- DE 10126341 A1 **[0010]**