



(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
04.12.2013 Patentblatt 2013/49

(51) Int Cl.:
B01L 99/00 (2010.01) H01J 49/04 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **12170042.1**

(22) Anmeldetag: **30.05.2012**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AL 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 RS SE SI SK SM TR
Benannte Erstreckungsstaaten:
BA ME

(71) Anmelder: **Bruker Daltonik GmbH**
28359 Bremen (DE)

(72) Erfinder:
• **Schmid, Christian**
80939 München (DE)
• **Schürenberg, Martin**
27412 Tarmstedt (DE)

(74) Vertreter: **Kohler Schmid Möbus**
Patentanwälte
Ruppmannstraße 27
70565 Stuttgart (DE)

(54) **Bildprojektionsverfahren und -vorrichtung zur Unterstützung der händischen MALDI-Probenpräparation**

(57) Eine verbesserte Belegungshilfe für die händische Probenpräparation, insbesondere auf ebenen MALDI-Probenträgern, umfasst eine Aufnahme für einen Probenträger mit mehreren Probenorten, die an standardisierte Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption angepasst ist, eine Vorrichtung, die ein zwei-dimensionales optisches Bild, oder eine entsprechende Bildfolge, auf die die Probenorte aufweisende Vorderseite des Probenträgers wirft, wobei das Bild, oder die Bildfolge, so ausgelegt ist, dass ein ausgewählter Probenort, oder eine Gruppe von ausge-

wählten Probenorten, zumindest gegenüber dazu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten in für einen Menschen visuell wahrnehmbarer Weise hervorgehoben wird, eine Schnittstelle zur Bestätigung der Belegung von Hand und/oder eine Einrichtung zur automatisierten Erfassung eines händischen Belegungsvorgangs, und ein Leitsystem, das einen Probenort, oder eine Gruppe von Probenorten, auswählt und die Vorrichtung entsprechend ansteuert. Offenbart ist ebenfalls ein Verfahren zur Unterstützung einer händischen Belegung von Probenorten.

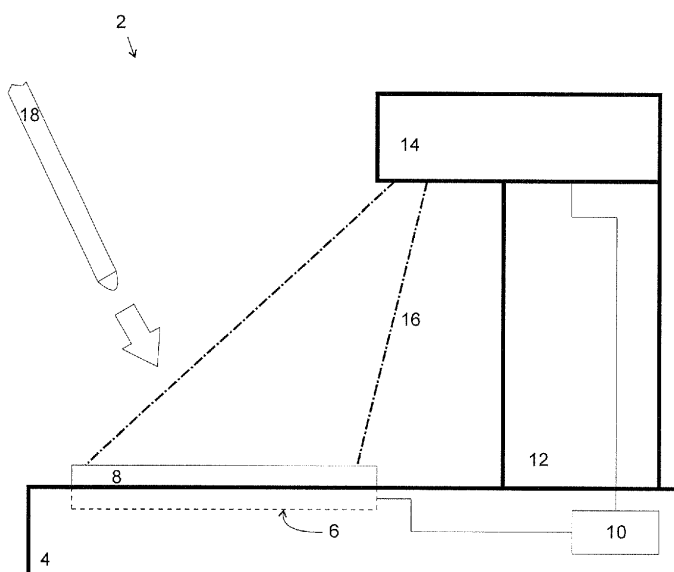


Abbildung 2a

Beschreibung

Anwendungsgebiet

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Unterstützung der händischen Präparation von Proben auf einem Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption sowie eine entsprechende Belegungshilfe.

Stand der Technik

[0002] Im Stand der Technik sind Belegungshilfen insbesondere für den Gebrauch mit Mikrotitrationsplatten bekannt geworden.

[0003] Das Gebrauchsmuster DE 20 2007 018 535 U1 beschreibt eine Pipettierhilfe für durchsichtige Mikrotitrationsplatten, die über einen Adapter in einer Basisplatte abgelegt werden. Die Basisplatte umfasst Lichtquellen, die jeweils einer Öffnung in dem Adapter und einer Kavität der durchsichtigen Mikrotitrationsplatte zugeordnet sind. Eine Schalt- oder Steuereinheit aktiviert die Lichtquellen unabhängig voneinander und zeigt mittels Beleuchtung durch den Adapter und die durchsichtige Platte an, wohin eine Probenflüssigkeit pipettiert werden soll. Das Gebrauchsmuster DE 20 2005 017 946 U1 betrifft einen ähnlichen Gegenstand.

[0004] Im Gegensatz zu Mikrotitrationsplatten sind Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption im Regelfall undurchsichtig. Dies ergibt sich durch deren elektrische Leitfähigkeit, die dazu dient, statischen Aufladungen am Probenträger, die sich während der Laserdesorption bilden können, vorzubeugen. Elektrische Leitfähigkeit ist für Mikrotitrationsplatten grundsätzlich unerwünscht, weil die Kavitäten - im Gegensatz zu den flachen, mit der übrigen Oberfläche weitgehend fluchtend ausgelegten Probenorten auf MALDI-Probenträgern - eine größere Wechselwirkungsfläche mit der eingefüllten Probenflüssigkeit bieten. Diese vergrößerte Wechselwirkungsfläche kann - bei vorhandener Leitfähigkeit und flüssigen Proben - unerwünschte Grenzflächenprozesse, beispielsweise die Ablagerung von in der Flüssigkeit gelösten Ladungsträgern wie Salzen, oder chemische Grenzflächenreaktionen fördern.

[0005] Die Patentschrift US 4,692,609 A beschreibt in ähnlicher Weise wie die oben genannten Gebrauchsmuster eine Aufnahme für eine durchsichtige Mikrotitrationsplatte, an deren Boden mehrere Lichtquellen so angeordnet sind, dass sie einen Napf der Platte von unten her ausleuchten können, um einem Anwender anzuzeigen, wohin er pipettieren soll. Alternativ dazu kann die Beleuchtung auch vorderseitig durch eine führungsfähige Lichtquelle erfolgen, wobei nicht offenbart wird, wie eine führungsfähige Lichtquelle ausgestaltet sein soll.

[0006] Die Veröffentlichung WO 2007/038521 A1 zeigt einen Aufbau mit Teleskoparm, an dessen Ende eine Lichtquelle angebracht ist. Der Arm kann mittels eines Aktuators so ausgefahren werden, dass sich die Licht-

quelle zwecks Ausleuchtung senkrecht über jedem Napf der Mikrotitrationsplatte positionieren lässt. Diese Ausgestaltung hat den Nachteil, dass beim Anfahren eines bestimmten Napfes immer die Lichtquelle selbst mitsamt der Halterung bewegt werden muss, was erhöhte Anforderungen an die mechatronischen Aktuatoren stellt.

[0007] Andere Veröffentlichungen, die sich mit der Probenpräparation auf Mikrotitrationsplatten beschäftigen sind FR 2 649 511, US 2005/0046847 A1, WO 83/00047 A1, WO 2007/071575 A1 und WO 2007/121324 A1.

[0008] Die Veröffentlichung US 2002/0191864 A1 offenbart die Verwendung einer Abbildung zur Identifikation der mit einer Probe belegten Probenareale auf dem Probenträger und Ausrichtung des Laserstrahls auf diese Bereiche. Ein Verfahren zur Unterstützung der händischen Präparation eines MALDI-Probenträgers ist hingegen nicht offenbart.

[0009] Die Veröffentlichung EP 1 763 061 A2 betrifft unter anderem die Überwachung von Belegungsvorgängen auf MALDI-Probenträgern mittels einer Abbildungs-Arbeitsstation.

[0010] Die Offenlegungsschrift DE 10 2004 020 885 A1 beschäftigt sich mit der Präparation von Proben mikrobiellen Ursprungs auf MALDI-Probenträgern mit dem Ziel, die Übertragung von biologischem Material aus Agarplatten auf Probenorten von MALDI-Probenträgern zu automatisieren. Dazu werden Agarplatten über ein Förderband zu einem Roboter transportiert und auf einem 3D-Tisch abgesetzt. Eine Bildverarbeitung erkennt Einzelkolonien auf der Agarplatte und positioniert einen Probenstab entsprechend. Ein einzelner Probenstab wird dabei nur für eine einzige Übertragung verwendet und danach ersetzt. Die Aufnahme von biologischem Material mit dem Probenstab erfolgt dadurch, dass der Probenstab aus einer Halterung gelöst wird und aus einer Höhe von einigen Millimetern auf die Kolonie fällt. Der so hergestellte Kontakt mit der Kolonie soll garantieren, dass nur biologisches Material am Probenstab haften bleibt, aber kein Agar auf den MALDI-Probenträger übertragen wird. Ist zu viel Agar auf den MALDI-Probenträger übertragen, wird die Güte der massenspektrometrischen Identifizierung herabgesetzt, da Agar die Signale der charakteristischen Proteinionen unterdrückt. Eine Feinsensorik zur Regelung des Kontaktes ist nicht vorgesehen. Allerdings vibriert der Probenstab und kann vor der Probenahme mit Wasser benetzt werden, damit eine ausreichende Menge biologischen Materials aus einer Kolonie am Probenstab haften bleibt und auf einen Probenort eines MALDI-Probenträgers übertragen werden kann.

[0011] Eine Belegungshilfe, die für ebene und undurchsichtige MALDI-Probenträger geeignet ist, wird in der deutschen Patentanmeldung 10 2010 052 976.1 (Erfinder: Markus Kostrzewa und Ulrich Weller) offenbart. Die Anmeldung betrifft insbesondere die Hervorhebung von zu belegenden Probenorten durch vorderseitiges Beleuchten oder mechanische Zeiger beziehungsweise

Lochmasken, siehe **Abbildung 1** (Oben: führbarer Lichtstrahl; Mitte: Zeiger; Unten: Lochmaske). Die mechanischen Varianten bergen jedoch fast immer die Gefahr einer Kreuzkontamination von Probenorten, wenn ein Teil der aufzutragenden Probe an dem Zeiger beziehungsweise der Lochmaske haften bleibt. Ein auf die Vorderseite geworfener, gebündelter Lichtstrahl hingegen kann wegen der üblicherweise metallischen Oberfläche des MALDI-Probenträgers zu den Anwender blendenden, störenden Lichtreflexen führen, insbesondere wenn der Einstrahlwinkel ungünstig ist.

Aufgabe der Erfindung

[0012] Es besteht also weiterhin ein Bedarf, eine verbesserte Belegungshilfe für die Probenpräparation auf Probenträgern der matrixunterstützten Laserdesorption und -ionisation zu schaffen.

Beschreibung der Erfindung

[0013] Die Erfindung schlägt eine Belegungshilfe für die händische Präparation von Proben auf einem Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption vor. Sie enthält eine Aufnahme für einen Probenträger mit mehreren Probenorten, die bevorzugt an standardisierte Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption angepasst ist. Weiterhin ist eine Vorrichtung vorgesehen, die ein zweidimensionales optisches Bild, oder eine entsprechende Bildfolge, auf die die Probenorte aufweisende Vorderseite des Probenträgers wirft, wenn der Probenträger in der Aufnahme angeordnet ist, wobei das Bild, oder die Bildfolge, so ausgelegt ist, dass ein ausgewählter Probenort, oder eine Gruppe von ausgewählten Probenorten, zumindest gegenüber dazu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten in für einen Menschen visuell wahrnehmbarer Weise hervorgehoben wird. Ferner sind eine Schnittstelle zur Bestätigung der Belegung von Hand oder eine Einrichtung zur automatisierten Erfassung eines händischen Belegungsvorgangs vorhanden. Mit einem Leitsystem können ein Probenort, oder eine Gruppe von Probenorten, ausgewählt und die Vorrichtung entsprechend angesteuert werden.

[0014] Der Begriff zweidimensionales Bild ist im Rahmen der vorliegenden Offenbarung weit zu verstehen. Es ist beispielsweise möglich, zwei zweidimensionale Bilder jeweils nacheinander in schneller Abfolge auf den Probenträger zu projizieren, so dass für einen Betrachter, gegebenenfalls unter Einsatz eines Hilfsmittels wie einer Brille, ein dreidimensionaler Bildeindruck auf der Probenträgervorderseite entsteht. Eine Komponente eines solchen "3D"-Bildes könnte jedoch ebenfalls eine zweidimensionale Abbildung sein.

[0015] Vorzugsweise weist die Vorrichtung einen Flächenlichtmodulator, einen Flüssigkristall-Projektor, oder Flüssigkristall-auf-Silizium-Projektor auf. Auf diese Weise lässt sich mit gängigen Video-Projektionsverfahren

ein sehr flexibles Bild, oder eine sehr variantenreiche Bildfolge, auf dem Probenträger generieren. Die Vorderseite des Probenträgers fungiert demnach sozusagen als "Leinwand" des projizierten Bildes. Der Ausgestaltung des Bildes sind bezüglich Farbwahl einzelner Bildelemente (Pixel), Helligkeit und/oder Bildsequenz kaum Grenzen gesetzt.

[0016] Flächenlichtmodulatoren werden insbesondere in Videoprojektoren eingesetzt, wie sie beispielsweise von Texas Instruments, Inc. (Dallas, Vereinigte Staaten von Amerika), unter dem Namen Digital Light Processing (DLP) vertrieben werden. Ein solcher Flächenlichtmodulator besteht im Wesentlichen aus matrixförmig angeordneten Mikrospiegelaktuatoren, das heißt verkipptbar spiegelnden Flächen geringer Kantenlänge, die in sehr großer Zahl auf geringem Raum wie einem Mikrochip untergebracht werden können. Die Bewegung der Aktuatoren wird durch die Kraftwirkung elektrostatischer Felder hervorgerufen. Jeder Mikrospiegel lässt sich in seinem Winkel einzeln verstellen und besitzt in der Regel zwei stabile Endzustände, zwischen denen er mit einer Frequenz von mehreren Kilohertz wechseln kann. Mittels der Schaltfrequenz lässt sich die Helligkeit eines Bildelements einstellen. Die Anzahl der Spiegel entspricht der Auflösung des projizierten Bildes, wobei ein Spiegel ein Bildelement, oder auch mehrere Bildelemente, darstellen kann. Mittlerweile sind Auflösungen bis zu 4160 mal 2080 Bildelemente möglich. Darüber hinaus können auch sehr kontrastreiche Abbildungen auf geringer Fläche erzeugt werden.

[0017] Wird eine weißes Licht ausstrahlende Projektionslampe verwendet, deren Licht von den Mikrospiegeln reflektiert wird, lässt sich zur Erzeugung eines farbigen Bildes in den Lichtweg vor dem Flächenlichtmodulator ein Farbrad schalten, auf dem Farbfilter der Grundfarben rotieren (in der Regel rot, grün und blau, teilweise aber auch noch weitere). Um bessere Helligkeitswerte im Weißen zu erreichen, kann dem Farbrad auch noch ein weißer Sektor hinzugefügt werden. Mit der Stellung des Farbfilters wechselt die Elektronik das Teilbild, das vom Modulator reflektiert wird. Auf Grund der Drehgeschwindigkeit des Farbrades und der Trägheit des menschlichen Auges werden die Teilbilder zu einem farbigen Bildeindruck addiert. Hohe Umdrehungszahlen des Farbrades oder das Vorsehen mehrerer Farbsegmente gewährleisten eine glatte, übergangslose Farbdarstellung in der Projektion.

[0018] In einer anderen Variante lässt sich die Farbdarstellung durch Zerlegung des weißen Projektionslampenlichts mittels dichroitischen Spiegel in die drei Grundfarben rot, grün und blau und deren einzelne Weiterleitung auf drei unterschiedliche Modulatoren erreichen. Die jeweilige Teilreflexion kann dann in einem dichroitischen Prisma, welches zwei gekreuzte dichroitische Spiegel enthält, wieder zum kompletten Farbbild addiert werden. Für diese Variante sind zusätzliche Mikrospiegelsätze erforderlich. In einigen Ausführungsformen kann die Farbdispersion auch durch ein dichroitisches

Prisma hervorgerufen werden.

[0019] In weiteren Ausführungsformen können statt einer einzelnen Weißlichtquelle auch einzelne farbige Lichtquellen, beispielsweise einzelne Leucht-LEDs (rot, grün, blau), verwendet werden.

[0020] In verschiedenen Ausführungsformen kann die Vorrichtung ein Bild oder eine Bildfolge generieren, wodurch an dem ausgewählten Probenort, oder der Gruppe von Probenorten, ein Helligkeits- und/oder Farbkontrast zumindest zu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten entsteht.

[0021] Besonders bevorzugt ist es, wenn die Vorrichtung eine Bildfolge erzeugt, die einen Probenort oder eine Gruppe von Probenorten blickfangmäßig hervorhebt, zum Beispiel, indem das Bild an der Stelle des hervorzuhebenden Probenorts eine Signalfarbe (wie rot, gelb oder auch grün) aufweist, die vom menschlichen Auge besonders gut wahrgenommen wird, wohingegen die anderen Teile des Bildes oder der Bildfolge gedeckte Farben (wie grau oder braun) enthalten, die üblicherweise hinter den Signalfarben zurücktreten. Mit Bildfolgen lassen sich auch Flacker- oder Blinkeffekte erzielen, wenn beispielsweise eine Reihe von projizierten Bildern wechselnde Intensitäts- und/oder Farbbereiche aufweist.

[0022] Die Aufnahme der Belegungshilfe ist, vorzugsweise geometrisch, an standardisierte Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption angepasst. Diese Anpassung kann auch mit Adapterstücken erfolgen, die in eine Aufnahme eingesetzt werden. Auf diese Weise lassen sich Probenträger verschiedener Konfigurationen oder Abmessungen in die Aufnahme einpassen. Dadurch kann eine bündige und/oder fluchtende Anordnung der Probenträger in der Aufnahme erzielt werden. Die Standardisierung der Probenträger bestimmt sich insbesondere über deren geometrische Abmessungen wie Höhe, Länge, Breite oder Fläche, die Anzahl der Probenorte und/oder deren Form und/oder deren Größe oder deren (Matrix)Anordnung, insbesondere in Reihen und Spalten. Dabei ist zu berücksichtigen, dass Probenträger, die in Flugzeitmassenspektrometern mit axialem Ioneneinschuss und Laserdesorptionsverfahren Anwendung finden, mit einer möglichst ebenen Vorderseite ausgeführt sein müssen, damit möglichst einfache Randbedingungen für in dem Raum vor der Probenträgervorderseite aufgespannte elektrische Felder bestehen. Dies erleichtert die Kontrolle des Gebietes im Phasenraum (aufgespannt durch Orts- und Impulskoordinaten), das von den bei der Laserdesorption entstehenden, interessierenden Ionen eingenommen wird. Kavitäten, wie sie in Mikrotitrationsplatten eingearbeitet sind, eignen sich dafür nicht.

[0023] Die Betriebsweise der Vorrichtung kann beinhalten, dass sie an dem ausgewählten Probenort einen Helligkeits- und/oder Farbkontrast zumindest zu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten erzeugt. Beispielsweise kann ein ausgewählter Probenort mit intensivem gelbem oder rotem Licht bestrahlt werden, während der Rest des optischen Bildes einen eher intensi-

tätsschwachen Grauton aufweist.

[0024] Das Leitsystem als Teil der Belegungshilfe lässt sich mit einer Schnittstelle für eine Dateneingabe oder Datenausgabe versehen. Dies ist insbesondere von Nutzen, wenn ein Anwender einen Belegungsplan eines zu bearbeitenden Probenträgers in das Leitsystem eingeben oder einlesen lassen möchte. Die Schnittstelle kann beispielsweise auch mittels händischer Eingabe für eine Bestätigung eines vorgenommenen Belegungsvorgangs verwendet werden. Auf diese Weise lässt sich eine Sequenz an Belegungsvorgängen prozesssicher durchführen. In einer Erweiterung kann die Schnittstelle auch eine Fernkommunikationsfunktion aufweisen, beispielsweise zum Empfang von Probenherkunftsdaten und/oder entsprechenden Identifizierungskennzeichen, die dann mit den Belegungsdaten und/oder entsprechenden Identifizierungskennzeichen der belegten Probenorte zwecks Zuordnung gespeichert werden können. Die Fernkommunikationsfunktion kann auch das Aussenden entsprechender Daten umfassen. Die Fernkommunikationsfunktion lässt sich mit bekannten Fernkommunikationsmitteln wie einer Funk-, Bluetooth-, Infrarot- oder einer sonstigen Schnittstelle einrichten.

[0025] Das Leitsystem kann überdies einen Speicher zur Zuordnung und Aufnahme von Identifizierungskennzeichen von Proben und Probenorten aufweisen. Dort sind die vorgenommenen Zuordnungen sicher aufgehoben und können für eine spätere Auswertung oder Überprüfung beliebig oft abgerufen werden.

[0026] Die Belegungshilfe kann in einer Ausführungsvariante stationär sein. Dann ist sie vorzugsweise in einem Arrangement einer Aufzuchtplattenstütze, auf der sich beispielsweise Petrischalen zur Probenentnahme anordnen lassen, und einer Probenbeschickungsstation für ein Massenspektrometer mit einer Laserdesorptionseinrichtung derart angeordnet, dass eine möglichst zeitsparende Übertragung der Proben von einer Aufzuchtplatte in der Aufzuchtplattenstütze auf einem Probenträger in der Belegungshilfe und von dort zu der Beschickungsstation möglich ist.

[0027] In einer weiteren Variante kann die Belegungshilfe aber auch portabel ausgebildet sein. Als portables Handgerät beispielsweise kann die Belegungshilfe von einem Anwender wie eine Malerpalette auf beziehungsweise an der Hand getragen werden. In diesem Fall weist die Belegungshilfe vorzugsweise eine Halteeinrichtung wie einen Griff, an die Finger einer menschlichen Hand angepasste Sacklöcher, oder ein Halteband auf, mit dem sie an einem Arm eines Anwenders festschnallbar ist. Die Portabilität lässt sich aber auch dadurch erzielen, dass die Belegungshilfe in der Art eines Bauchladens ausgestaltet, also zum Beispiel mit wenigstens einem Schulter- beziehungsweise Nackenriemen versehen ist, so dass sie von einem Anwender vor dem Bauch oder der Brust getragen werden kann. Diese Variante hat den Vorteil, dass der Anwender beide Hände frei hat. Durch die Portabilität wird die Handhabung der Belegungshilfe flexibler, ist insbesondere nicht mehr örtlich einge-

schränkt.

[0028] Zusammen mit der Ausbildung der Belegungshilfe als portables Gerät, insbesondere Handgerät, kann eine Andockstation vorgesehen werden, die vorzugsweise stationär ist und eine Aufnahme für die Belegungshilfe aufweist. Ein Anwender kann, wenn er die nötige Freiheit benötigt, die am Körper oder in der Hand getragene portable Belegungshilfe in der Aufnahme absetzen und sich weiteren Arbeiten, bei denen die Belegungshilfe nicht erforderlich ist, widmen. In der Andockstation kann die Belegungshilfe Daten einer ausgeführten Belegungssequenz auf einen stationären, in der Station befindlichen Rechner übertragen. Ebenso wäre es möglich und sinnvoll, eine elektrische Verbindung herzustellen, um etwaige Akkumulatoren der Belegungshilfe, die die Energie für deren Betrieb liefern, wiederaufzuladen.

[0029] Falls eine Einrichtung zur automatisierten Erfassung vorhanden ist, umfasst sie bevorzugt einen Streulichtsensor. Der Streulichtsensor ist vorzugsweise über der Aufnahme angeordnet und dient insbesondere dazu, Änderungen des Streulichtverhaltens, die auf einen händischen Belegungsvorgang hindeuten, an der Vorderseite eines in der Aufnahme befindlichen Probenträgers, insbesondere orts aufgelöst, zu erkennen. Neben der Variante der orts aufgelösten Erfassung kann auch gezielt nach einem Streulichtsignal von dem für den nächsten anstehenden Belegungsvorgang vorgesehenen (und hervorgehobenen) Probenort gesucht werden. In dieser zweiten Variante wäre die zeitliche Korrelation beziehungsweise Synchronisation der visuellen Hervorhebung mit der Detektion eines Streulichtereignisses eine wichtige Kenngröße. Das Streulicht kann grundsätzlich von dem optischen Bild und/oder von einem separat erzeugten und auf den Probenträger (gegebenenfalls auf den hervorgehobenen Probenort auf dem Probenträger) geworfenen Lichtstrahl stammen. Für die orts aufgelöste Erkennung einer händischen Belegung kann vor der Belegung ein ausgewählter Probenort einzeln beleuchtet und das davon ausgehende Streulicht mit einem integral messenden Streulichtsensor gemessen werden. Die Streulichtmessung kann nach der Bestätigung der händischen Belegung durch den Anwender oder in zeitlichen Abständen automatisch wiederholt werden. Aus den Unterschieden der Streulichtintensitäten bzw. deren Ausbleiben kann auf eine korrekte bzw. fehlerhafte Belegung des ausgewählten Probenortes geschlossen werden. Für eine Gruppe von ausgewählten Probenorten kann die Streulichtmessung nacheinander jeweils für die verschiedenen Probenorte der Gruppe einzeln durchgeführt werden. Das Licht für die Ausleuchtung der einzelnen ausgewählten Probenorte wird bevorzugt mit der Vorrichtung erzeugt, die das zwei-dimensionale optische Bild auf den Probenträger wirft, kann aber auch durch eine entsprechende zweite Vorrichtung erzeugt werden, insbesondere in dem für den Anwender nicht visuell wahrnehmbaren infraroten Spektralbereich. Eine Bildfolge kann bei der Auswertung des Streulichtsignals mittels Frequenzfiltern hilfreich sein.

[0030] Zusätzlich oder alternativ zu dem Streulichtsensor kann auch eine Kamera mit Bilderkennung für eine automatische Erfassung der Belegung zum Einsatz kommen.

[0031] Insbesondere auf den metallisch scheinenden Oberflächen eines MALDI-Probenträgers können Änderungen des Streulichtverhaltens sehr verlässlich detektiert werden. Ist der Sensor auf einen zu belegenden Probenort ausgerichtet, wird durch den Belegungsvorgang zunächst ein stark variierendes Streulichtsignal zu erwarten sein, wenn der Anwender seine Pipette oder seinen Impfstempel beispielsweise durch den Lichtkegel des zweidimensionalen optischen Bildes oder den Lichtstrahl der separaten Lichtquelle bewegt. Wird der Impfstempel zurückgezogen, ergeben sich die Änderungen des Streulichtverhaltens an dem frisch belegten Probenort aus der abgelegten Probe (oder eben nicht, falls die Belegung nicht erfolgreich war oder an der falschen Stelle erfolgte).

[0032] Werden mehr als nur der demnächst zur Belegung vorgesehene Probenort von dem Sensor überwacht, kann gegebenenfalls auch eine Fehlbelegung erkannt werden, wenn nämlich eine Streulichtänderung an einem anderen als dem für die nächste Belegung vorgesehenen Probenort aufscheint. Ebenfalls ist es möglich, über Änderungen des Streulichtverhaltens eines Teils der Oberfläche des Probenträgers eine Belegung von Hand zu bestätigen. So kann auf der Vorderseite des Probenträgers, alternativ auch im Randbereich der Aufnahme, ein bestimmter Bereich für die Belegungsbestätigung ausgewiesen sein, in dem sich keine Probenorte befinden und der mit dem Streulichtsensor überwacht wird. Nach erfolgter Belegung kann der Anwender mit dem Impfstempel über den ausgewiesenen Bereich fahren und somit ein temporäres Streulichtänderungssignal erzeugen, das einen angeschlossenen Prozessor dazu bringt, mit dem nächsten Probenort einer Belegungssequenz fortzufahren. Der Begriff Randbereich ist weit zu verstehen und soll nicht nur Areale der Aufnahme selbst beschreiben, sondern kann auch (zumeist randständige) Bereiche des Probenträgers einschließen.

[0033] In weiteren Ausführungsformen kann das Bild, oder die Bildfolge, in einen den ausgewählten Probenort, oder die ausgewählten Probenorte, hervorhebenden Bereich und in einen dem Anwender Informationen anzeigenden Bereich aufgeteilt ist. Der Anzeigebereich kann zum Beispiel eine Textanzeige mit Informationen über die aufzubringende Probe umfassen.

[0034] Die Erfindung offenbart überdies ein Verfahren zur Unterstützung der händischen Präparation von Proben auf einem ebenen Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption. Zunächst wird ein Probenträger mit mehreren Probenorten bereitgestellt. Dann wird ein Auswahlkriterium definiert, oder es werden mehrere Auswahlkriterien definiert, nach dem beziehungsweise nach denen eine Belegungssequenz erfolgen soll. Nach dem einen Auswahlkriterium, oder den mehreren Auswahlkriterien, wird eine Menge von

Probenorten ausgewählt. Es wird ein zwei-dimensionales optisches Bild, oder eine entsprechende Bildfolge, auf die die Probenorte aufweisende Vorderseite des ebenen Probenträgers geworfen, wobei das Bild, oder die Bildfolge, so ausgelegt ist, dass ein ausgewählter Probenort, oder eine Gruppe von ausgewählten Probenorten, zumindest gegenüber dazu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten in für einen Menschen visuell wahrnehmbarer Weise hervorgehoben wird. Sodann wird eine Probe oder eine Substanz zur Präparation einer Probe (z.B. eine Lösung mit einer MALDI-Substanz) händisch auf dem hervorgehobenen Probenort abgelegt. Die erfolgte Belegung wird von Hand bestätigt und/oder von einem Sensorium automatisch erfasst. Falls die Menge weitere unbearbeitete Probenorte, oder Gruppen von Probenorten, enthält, können die Schritte des Hervorhebens und händischen Belegens mit dem nächsten Probenort der Menge, oder der nächsten Gruppe von Probenorten, wiederholt werden. Anderenfalls wäre die Belegungssequenz vorläufig beendet.

[0035] Ein Anwender, der eine händische Präparation eines Probenträgers durchführen möchte, wird durch die für ihn visuell erkennbare Hervorhebung mittels des Bildes oder der Bildfolge darin unterstützt, die einem Nährmedium - beispielsweise Agarplatte, Bouillon- oder Blutkultur- entnommene oder daraus aufbereitete Probe am richtigen Ort zu deponieren. Die Gefahr von Belegungsfehlern, die im Wesentlichen dadurch entsteht, dass im Regelfall das übertragene Probenmaterial auf Grund seiner geringen Menge visuell kaum wahrnehmbar ist, lässt sich auf diese Weise verringern.

[0036] Die Hervorhebung soll dabei insbesondere reversibel, also aktivierbar und deaktivierbar, sein und sich wieder rückgängig machen lassen, beispielsweise indem das projizierte Bild wahlweise an- oder ausgeschaltet (oder auch gewechselt) wird. Die Arbeit einer Fachkraft soll insbesondere auch dadurch erleichtert werden, dass das Auswählen und das Hervorheben (halb-) automatisch mit elektronisch gestützten Mitteln erfolgen. Ein geringer Verfahrensaufwand lässt sich erreichen, wenn die Hervorhebung des ausgewählten Probenortes auf die dazu unmittelbar benachbarten nicht-ausgewählten Probenorte beschränkt wird, beispielsweise indem der hervorzuhebende Probenort mit einem Bereich des Bildes von heller Farbe oder hoher Lichtintensität belegt wird, wohingegen die unmittelbar anliegenden nicht hervorzuhebenden Probenorte von einem Bereich des Bildes mit dunkler Farbe oder geringer Lichtintensität abgedeckt sind. Der Hervorhebungseffekt kann durch Vergrößerung der Menge an nicht-ausgewählten Probenorten verstärkt werden, im äußersten Fall derart, dass der ausgewählte Probenort gegenüber allen übrigen nicht-ausgewählten Probenorten hervorgehoben wird. In diesem Fall wird das Bild oder die Bildfolge im Wesentlichen auf die gesamte Vorderseite des Probenträgers geworfen.

[0037] Im Folgenden wird MALDI als bevorzugte Ionisierungsart angegeben, bei der Ionen während der durch Laser bewirkten Desorption entstehen. Es versteht sich

jedoch, dass vorliegend lediglich die Laserdesorption zum Überführen der Analytsubstanzen - mithin Proteine oder Proteinketten - in die Gasphase von Bedeutung ist. Die Art der Ionisierung kann je nach Anwendung frei gewählt werden. Die Laserdesorption kann beispielsweise mit einer chemischen Ionisierung durchgeführt werden (*laser desorption chemical ionisation* - LDCI). Aber auch andere Ionisierungsarten können Anwendung finden. Entsprechend weit ist der Begriff Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption zu verstehen.

[0038] Der Probenort lässt sich danach auswählen, dass er unbelegt ist. Das Verfahren bietet eine gewisse Flexibilität in verschiedenen Stadien einer Belegungssequenz. Es ist ebenso möglich, eine geometrische Auswahlvorgabe zu machen, zum Beispiel in der Art, dass nur jeder *n*-te - zum Beispiel jeder zweite - Probenort zu belegen ist. Dies kann dann sinnvoll sein, wenn die Gefahr einer Kreuzkontamination durch Ausgasen einer Probe und Übergang der ausgegasteten Probenteilchen in der Gasphase auf einen anderen Probenort bei geringem räumlichen Abstand der belegten Probenorte erhöht ist. In einer Variante kann die Auswahl durch ein elektronikgestütztes technisches Leitsystem, beispielsweise indem alle unbelegten Probenorte belegt werden, alternativ auch durch einen Anwender des Verfahrens erfolgen.

[0039] Es können mehrere Probenorte ausgewählt und die Hervorhebung in einem Belegungsprozess wiederholt ausgeführt werden, wobei mit jeder Wiederholung ein anderer ausgewählter Probenort, oder eine andere Gruppe von ausgewählten Probenorten, hervorgehoben wird. Das Verfahren eignet sich somit insbesondere für eine sequenzielle Abarbeitung verschiedener Proben, die aus verschiedenen Kolonien auf einer Aufzuchtplatte stammen und auf einen Probenträger gebracht werden sollen. Bevorzugt ist bei einer solchen sequenziellen Abarbeitung die Verwendung eines Überwachungs- und Kontrollsystems, das den Anwender des Verfahrens bei der Auswahl der zu übertragenden Proben unterstützt.

[0040] Es wird weiterhin ein Verfahren zur händischen Präparation einer Probe auf einem Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption vorgeschlagen, in dem die Probe und die Probenorte jeweils mit Identifizierungskennzeichen versehen sind, bei dem ein Probenort gemäß einem oben beschriebenen Verfahren ausgewählt und hervorgehoben wird, die Probe auf den ausgewählten Probenort aufgebracht wird und die Identifizierungskennzeichen einander zugeordnet und gespeichert werden. Auf diese Weise lässt sich nach erfolgter Belegung des Probenträgers nachvollziehen und überprüfen, welche Proben mit welcher Herkunft auf einen bestimmten Probenort übertragen wurden. Dies ermöglicht eine nachträgliche Prozesskontrolle und kann zum Beispiel einen Fehler aufzeigen, wenn eine Probe bestimmter Herkunft auf zwei Probenorte abgelegt wurde, obwohl für jede Probe der entsprechenden Herkunft lediglich ein Probenort vorgesehen war.

[0041] Das Zuordnen und Speichern kann in einem kombinierten Verfahrensschritt gemeinsam oder separat durchgeführt werden. Die Zuordnung kann beispielsweise vor dem eigentlichen Belegungsvorgang, das Speichern nach dem Abschluss des Belegungsvorgangs durchgeführt werden. Eine bestimmte zeitliche Abfolge des Zuordnens und Speicherns während des Verfahrens ist grundsätzlich nicht zwingend. Bevorzugt werden jedoch die Identifizierungskennzeichen nach dem Belegungsvorgang zugeordnet und gespeichert, da so eine Fehlzuordnung beziehungsweise Fehlbelegung leichter erkannt werden kann.

[0042] Als Proben sind insbesondere solche mikrobiellen Ursprungs geeignet. Vorzugsweise werden darunter die Mikroorganismen selbst in unbehandelter Form verstanden, wie sie in oder auf einem Nährmedium gezüchtet wurden.

[0043] Das Identifizierungskennzeichen der Probe kann von einer Kennzeichnung des Probengefäßes - beispielsweise einer Petrischale - abgeleitet werden, aus dem die Probe stammt. Auf diese Weise wird ein hohes Maß an Sicherheit bei der Probenrückverfolgung gewährleistet. Ebenso ist es möglich, ein Identifizierungskennzeichen zu generieren oder zu ergänzen, indem eine Kamera die Probenquelle, insbesondere das flächige Nährmedium in einer Petrischale, aufnimmt und in der Aufnahme die Koordinaten des Probenherkunftsorts mittels Bildauswertung bestimmt und der Probe zugewiesen werden. Zusätzlich oder alternativ zu einer optischen Abbildung des flächigen Nährmediums kann der Probenherkunftsort auch durch eine Messung der Kapazitätsänderung an dem flächigen Nährmedium im Vergleich vor der Probenentnahme zu nach der Probenentnahme identifiziert werden.

[0044] In einer Variante können die Probenherkunftsdaten und/oder Identifizierungskennzeichen über Fernkommunikationsmittel zum Probenpräparations-Instrumentarium übermittelt werden, um dort nach erfolgter Belegung eines Probenortes auf einem Probenträger zusammen mit den Belegungskoodinaten und/oder Identifizierungskennzeichen des Probenträgers beziehungsweise Probenortes gespeichert zu werden. Auf diese Weise ist eine besonders detaillierte Probennachverfolgung möglich.

Kurzbeschreibung der Abbildungen

[0045] Im Folgenden wird die Erfindung an Hand von Ausführungsbeispielen in Verbindung mit der beigefügten Zeichnung beschrieben. In der Zeichnung zeigen:

Abbildung 1 drei Belegungshilfen in schematischer Darstellung, wie sie in der deutschen Patentanmeldung 10 2010 052 976.1 offenbart werden,

Abbildung 2a-c ein schematischer Aufbau einer Belegungshilfe nach Prinzipien der Erfindung,

Abbildung 3 eine detailliertere (schematische) Darstellung eines Projektionsverfahrens,

Abbildung 4 ein Beispiel eines projizierten Bildes,

Abbildung 5A-C ein Beispiel einer projizierten Bildfolge und

Abbildung 6 eine Flussdiagramm-Darstellung von Verfahren gemäß Prinzipien der Erfindung.

Bevorzugte Ausführungsbeispiele

[0046] Die **Abbildung 2a** zeigt schematisch den Aufbau einer Belegungshilfe 2 nach den Prinzipien der Erfindung. Eine Grundplatte 4 enthält eine Aufnahme 6, deren innere Abmessungen vorzugsweise an die standardisierten äußeren Abmessungen eines LDI-Probenträgers 8 (insbesondere MALDI-Probenträgers) angepasst sind. In bestimmten Fällen können Adapterstücke (nicht gezeigt) zum Einsatz kommen, die eine erforderliche räumliche Konfiguration einstellen.

[0047] In der **Abbildung 2a** ist ein Probenträger 8 in der Aufnahme 6 angeordnet. Im Bodenund/oder Seitenbereich der Aufnahme 6 kann ein Sensor (nicht gezeigt) integriert sein, der die Anwesenheit eines Probenträgers erfasst und ein entsprechendes Informationssignal an ein Leitsystem 10, beispielsweise einen in den Aufbau integrierten Mikroprozessor, weiterleitet. Der Sensor kann zum Beispiel aus einem einfachen Druckknopf bestehen, der beim Einlegen des Probenträgers 8 in die Aufnahme 6 betätigt wird. Es sind aber auch andere, insbesondere berührungslose Sensorvarianten (Ultraschall-Näherungssensor, Lichtschranke,...) denkbar.

[0048] Eine Aufnahme der Belegungshilfe kann aber auch als Rahmen ausgebildet sein (nicht dargestellt). Ein Rahmen, der den Probenträger an den Schmalseiten fixiert, hat den Vorteil, dass sowohl die Vorderseite als auch die Rückseite des Probenträgers für ein Mess- beziehungsweise Untersuchungsinstrumentarium (gegebenenfalls Sensorium) zugänglich sind. Dies erleichtert die Handhabung der Belegungshilfe, insbesondere wenn sie portabel ist.

[0049] An einer Seite der Grundplatte 4 erhebt sich ein Arm oder Träger 12 in die Höhe, an dem eine Abbildungsvorrichtung 14 angeordnet ist. Die Abbildungsvorrichtung 14 kann beispielsweise in der Art eines Videoprojektors ausgebildet sein, wie weiter unten näher erläutert werden wird. Die Abbildungsvorrichtung 14 ist so angeordnet und ausgerichtet, dass sie ein zweidimensionales optisches Bild 16, oder eine entsprechende Bildfolge, auf die Vorderseite eines in der Aufnahme 6 befindlichen Probenträgers 8 werfen kann. Die Abbildungsvorrichtung 14 kommuniziert mit dem Leitsystem 10 und wird von diesem angesteuert, zum Beispiel um anzugeben, welches Bild zur Hervorhebung eines Probenortes, oder einer Gruppe von Probenorten, projiziert werden soll. Die Abbildungsvorrichtung 14 enthält vorzugsweise diverse

Optiken, die dafür sorgen, dass das Bild oder die Bildfolge, obwohl es beziehungsweise sie seitlich unter einem bestimmten Winkel auf die Probenträgervorderseite geworfen wird, unverzerrt dargestellt werden.

[0050] Die Abbildungsvorrichtung 14 ist so angeordnet, dass es einem Anwender möglich ist, weitgehend ungehindert mit einem Impfstempel 18 oder ähnlichem Ubentragsgeiät eine mikrobiologische Probe, zum Beispiel Zellen einer mikrobiellen Kolonie, die auf einer Agarplatte angezüchtet wurde, auf einen Probenort auf dem Probenträger 8 zu übertragen.

[0051] Es ist möglich, dass das Leitsystem 10 eine Schnittstelle (nicht gezeigt) aufweist, mittels der ein Anwender eine erfolgte händische Belegung eines Probenortes von Hand bestätigen kann. Der Begriff Bestätigung von Hand ist hierbei weit zu verstehen und kann auch das Eingeben von Identifikationsdaten der nächsten zu präparierenden Probe umfassen, zum Beispiel mittels Einscannen eines Strichcodes auf einer Agarplatte.

[0052] Ebenfalls nicht gezeigt ist eine Variante, bei der das Leitsystem 10 mit einem Sensorium zur automatisierten Erfassung von Belegungsvorgängen ausgestattet ist, und somit der Vollzug einer Belegung eines Probenortes automatisch erkannt und an das Leitsystem 10 gemeldet wird. Das automatisierte Erfassen kann natürlich auch das Erkennen von Fehlbelegungen umfassen, wenn also eine Probe auf einem anderen als dem vorgesehenen Probenort abgelegt worden ist.

[0053] Beispiele für ein derartiges Sensorium sind in der deutschen Patentanmeldung 10 2010 052 975.3 der Patentanmelderin beschrieben, welche hiermit durch Verweis in die vorliegende Offenbarung einbezogen sein soll. Zum Beispiel kann an einem Probenort die Probenmenge sondiert oder der Belegungszustand des Probenorts an Hand einer Veränderung mindestens einer der folgenden chemo-physikalischen Eigenschaften bestimmt werden: Resonanzfrequenz eines piezoelektrischen Materials, Dichte, geometrische Abmessung, Laufzeit von Ultraschall oder elektromagnetischen Wellen, elektrische Kapazität, elektrischer Widerstand, Induktivität, Permittivität, Magnetisierbarkeit, Lichtstreuung, Lichtabsorption, Lichtreflektion oder Lumineszenz. Doch auch Varianten mit sich über den Probenorten kreuzenden Lichtschrankenstrahlen, wodurch ein Überwachungsnetz aufgebaut wird, sind denkbar.

[0054] Das Leitsystem 10 kann über eine weitere telekommunikative Verbindung zu dem Probenträger 8 bestimmte Konfigurationsdaten des Probenträgers 8 erfassen, beispielsweise Anzahl, Anordnung und Position der einzelnen Probenorte. In einem Beispiel kann ein an dem Probenträger 8 angebrachter Mikrochip, der die entsprechenden Konfigurationsdaten enthält, ausgelesen werden. Alternativ dazu kann das Leitsystem 10 auch eine Kamera und ein optisches Bilderkennungssystem aufweisen (nicht gezeigt), beziehungsweise mit diesem kommunizieren, mit dem die Vorderseite des Probenträgers 8 aufgenommen und darauf erkennbare Merkmale der Probenorte für das Aufbringen von Probenmaterial

geortet werden. Diese erkennbaren Merkmale können als Markierungen, beispielsweise ringförmige Einrahmungen, an der Vorderseite ausgebildet sein.

[0055] Die Kommunikation mit der Vorrichtung 14 ermöglicht dem Leitsystem 10 in diesem Beispiel auch, einen Videoprojektor zur Erzeugung eines optischen Bildes auf der Probenträgervorderseite zu (de-)aktivieren, das Bild zu wechseln und gegebenenfalls verschiedene Bildformate auszuwählen. Über eine Schnittstelle können das Erfassen der Konfigurationsdaten, die Auswahl eines Bildes (oder einer Bildfolge) sowie die (De-)Aktivierung des Projektors in einigen Ausführungsformen auch per Hand erfolgen.

[0056] Ein Anwender der Belegungshilfe kann in einer halbautomatischen Ausführungsform dem Leitsystem 10 den Belegungszustand des Probenträgers 8 eingeben oder einlesen lassen, beispielsweise über eine Schnittstelle. Er kann dabei gleichzeitig das Kriterium vorgeben, nach dem die Probenorte ausgewählt werden sollen. Dies kann beispielsweise ein unbelegter Zustand sein. Das Leitsystem 10 prüft dann, welche der Probenorte für eine Belegung in Frage kommen, wählt davon einen aus (gegebenenfalls auch eine Gruppe), um den entsprechenden Probenort hervorzuheben, wählt das zu projizierende Bild entsprechend aus, beziehungsweise generiert es, und aktiviert den Videoprojektor. Ein Bild oder eine Bildfolge wird dann auf die Vorderseite des Probenträgers 8 geworfen, wobei ein Probenort und gegebenenfalls die ihn umgebende Fläche der Probenträgervorderseite in für einen Menschen visuell wahrnehmbarer Weise gegenüber den anderen Flächen des Probenträgers mit nicht-ausgewählten Probenorten ausgezeichnet wird.

[0057] Der Hervorhebungseffekt kann durch eine auf Verstärkung der visuellen Wirkung ausgerichtete Auslegung des Probenträgermaterials verstärkt werden, beispielsweise indem Partikel in das Material des Probenträgers 8 eingearbeitet sind, die bei Beleuchtung einen Glitzer-oder Farbeffekt hervorrufen. Auch eine Art helle Grundierung mit weißen Partikeln kann nützlich sein, um Farbunterschiede in den verschiedenen Bildelementen besser hervortreten zu lassen.

[0058] Unterstützt durch diese Hervorhebung kann der Anwender seine Probe auf den korrekten Probenort aufbringen, und dann beispielsweise von Hand über die Schnittstelle die erfolgte Belegung bestätigen. Dies kann dann zur Deaktivierung der Hervorhebung, in diesem Beispiel also dem Ausschalten der Projektion, oder zum Wechsel des dargestellten Bildes führen. In anderen Ausführungsformen kann auch ein Sensorium zur automatisierten Erfassung von händischen Belegungsvorgängen zum Einsatz kommen.

[0059] Um den Anwender bei der Arbeit nicht zu irritieren, kann die Probenträgervorderseite mit einer Antiglantzbeschichtung versehen sein. Dies vermag blenden- den Lichtreflexen, die bei der Projektion des Bildes oder der Bildfolge auftreten könnten, vorzubeugen. Grundsätzlich ist jedoch die Gefahr einer Blendung bei Ver-

wendung eines Projektors zur Bilderzeugung auf dem Probenträger im Gegensatz zu gebündelten Lichtstrahlen gering.

[0060] Das Leitsystem 10 lässt sich mit einem Speicher (nicht gezeigt) zur Zuordnung und Aufnahme von Identifizierungskennzeichen von Proben und Probenorten versehen. Diese Informationen können gegebenenfalls durch einen Anwender über die Schnittstelle eingegeben oder eingelesen werden; alternativ auch per automatischer Datenübertragung.

[0061] An dem Träger 12 kann gemäß einer weiteren Ausführungsform auch ein Streulichtsensor 19 angeordnet sein (wie in **Abbildung 2b** angedeutet), der die Vorderseite des Probenträgers 8 orts aufgelöst überwacht, um Änderungen des Streulichtverhaltens erkennen und räumlich einem Areal auf dem Probenträger, zum Beispiel einem Probenort, zuordnen zu können. Die Ortsauflösung lässt sich beispielsweise mit einem *charge-coupled device* (CCD) und entsprechend vorgeschalteter Optik erzielen. Das Licht, das auf der Oberfläche des Probenträgers 8 gestreut und dann detektiert wird, kann von dem Projektor der Abbildungsvorrichtung 14 oder auch von einer separaten Lichtquelle (nicht gezeigt) stammen. Der Streulichtsensor (19) kann aber auch das integrale (nicht orts aufgelöste) Streulicht messen, das von einem Probenort stammt, wenn dieser von der Abbildungseinrichtung 14 oder der separaten Lichtquelle einzeln ausgeleuchtet wird.

[0062] Auf dem Probenträger 8 kann weiterhin ein bestimmtes Areal 21 (**Abbildung 2c**) zur Bestätigung eines erfolgten Belegungsvorgangs ausgewiesen sein. Nach dem Aufbringen der Probe kann der Anwender mit dem Impfstempel über das Areal 21 wischen und somit einen Streulichtpuls auslösen, der den Abschluss eines Belegungsvorgangs anzeigt und somit zur Fortsetzung einer Belegungssequenz führt. Dies ist ein Beispiel für eine Schnittstelle zur Bestätigung einer Belegung. Es versteht sich, dass das Areal 21 auf einer Seite des Probenträgers platziert sein sollte, von der aus ein Anwender nicht auf die Probenorte zugreift, um unnötige Fehlsignale zu vermeiden. In alternativen Ausführungsformen kann das Areal nicht auf dem Probenträger selbst, sondern in einem Randbereich der Aufnahme angeordnet sein.

[0063] Die **Abbildung 3** zeigt etwas detaillierter ein Ausführungsbeispiel einer Belegungshilfe 2* nach Prinzipien der Erfindung.

[0064] Die Vorrichtung zum Hervorheben weist in diesem Beispiel einen Flächenlichtmodulator auf, der in einem Gehäuse 20 angeordnet ist. Das Gehäuse 20 wird von einem Träger oder Halter gestützt (hier zwecks Vereinfachung der Darstellung nicht gezeigt). Flächenlichtmodulatoren sind nur ein Beispiel für eine Videoprojektionstechnik. Ebenso können Flüssigkristall-Projektoren oder Flüssigkristall-auf-Silizium-Projektoren zum Einsatz kommen. Solche Projektoren haben den Vorteil, dass sie ein sehr flexibles Bild 16. oder eine sehr variantenreiche Bildfolge, auf dem Probenträger 8 generieren können. Der Ausgestaltung des Bildes 16 sind be-

züglich Farbwahl einzelner Bildelemente (Pixel), Helligkeit und/oder Bildsequenz kaum Grenzen gesetzt.

[0065] Schematisch in dem Gehäuse 20 dargestellt ist ein Mikrospiegelaktuator 22, auf den von einer geeigneten Projektionslampe 24 über eine abbildende Optik 26A Licht geworfen wird. Von dem Mikrospiegel 22 gelangt das Bild über eine weitere abbildende Optik 26B auf die Vorderseite eines Probenträgers 8. Mikrospiegelaktuatoren 22 können in sehr großer Zahl auf geringem Raum wie einem Mikrochip untergebracht werden. Jeder Mikrospiegel 22 lässt sich in seinem Winkel einzeln verstellen und besitzt in der Regel zwei stabile Endzustände, zwischen denen er mit einer Frequenz von mehreren Kilohertz wechseln kann. Mittels der Schaltfrequenz lässt sich die Helligkeit eines Bildelements einstellen. Die Anzahl der Spiegel entspricht der Auflösung des projizierten Bildes 16, wobei ein Spiegel ein Bildelement, oder auch mehrere Bildelemente, darstellen kann. Es sind Auflösungen bis zu 4160 mal 2080 Bildelemente und damit sehr kontrastreiche Abbildungen auf geringer Fläche möglich. Für die Praxis kann aber auch eine Auflösung von 480 mal 320 Bildelementen befriedigende Ergebnisse liefern. Es können natürlich auch noch geringere Auflösungen gewählt werden, wenn es die konkrete Anwendung zulässt.

[0066] Zur Erzeugung eines farbigen Bildes ist in diesem Beispiel in den Lichtweg vor dem Mikrospiegelaktuator 22 ein Farbrad 28 geschaltet, auf dem Farbfiler der Grundfarben (in der Regel rot, grün und blau, teilweise aber auch noch weitere) rotiert werden. Um bessere Helligkeitswerte im Weißen zu erreichen, kann dem Farbrad 28 auch noch ein weißer Sektor hinzugefügt werden. Mit der Stellung des Farbfilters wechselt die Elektronik das Teilbild, das vom Modulator 22 reflektiert wird. Auf Grund der Drehgeschwindigkeit des Farbrads 28 und der Trägheit des menschlichen Auges werden die Teilbilder zu einem farbigen Bildeindruck addiert. Hohe Umdrehungszahlen des Farbrades 28 oder das Vorsehen mehrerer Farbsegmente gewährleisten eine glatte, Übergangslose Farbdarstellung in der Projektion. In einigen Ausführungsformen kann die Farbdispersion auch durch ein dichroitische Prisma hervorgerufen werden.

[0067] In einer anderen, nicht dargestellten Variante lässt sich die Farbdarstellung durch Zerlegung des Projektionslampenlichts mittels dichroitische Spiegel in die drei Grundfarben rot, grün und blau und deren einzelne Weiterleitung auf drei unterschiedliche Modulatoren erreichen. Die jeweilige Teilreflexion kann dann beispielsweise in einem dichroitischen Prisma, welches zwei gekreuzte dichroitische Spiegel enthält, wieder zum kompletten Farbbild addiert werden.

[0068] Selbstverständlich ist es auch möglich, statt einer einzelnen Weißlichtquelle einzelne farbige Lichtquellen, beispielsweise einzelne Leucht-LEDs (rot, grün, blau), zu verwenden.

[0069] Die **Abbildung 4** zeigt ein einfaches Beispiel eines projizierten Bildes, das einen Probenort auf einem Probenträger gegenüber anderen hervorhebt. Der Pro-

beneträger weist in diesem Beispiel 9×9 Probenorte in Matrixanordnung auf (Spalten A bis I und Zeilen 1 bis 9). Das projizierte Bild deckt in diesem Fall die gesamte Fläche der Probenträgervorderseite ab. In manchen Ausführungsformen können auch nur Teilflächen des Probenträgers als "Leinwand" des Bildes dienen. In anderen Varianten reicht das Bild oder die Bildfolge über die Kanten des Probenträgers hinaus. An der Stelle des Probenortes G4 weist das optische Bild einen hohen Helligkeits- und/oder Farbkontrast zu den anderen Probenorten auf dem Probenträger auf. Ein Farbkontrast lässt sich beispielsweise mit der Farbe gelb gegenüber einem schwachen grau (schraffiert) erzielen. Ein Helligkeitskontrast würde sich zum Beispiel ergeben, wenn die Intensität weißen Lichts auf dem ausgewählten Probenort G4 höher ist (in einem Beispiel zehnmal höher) als in den umliegenden Bereichen. Das zu projizierende Bild kann selbsttätig von einem Leitsystem gemäß den erfassten Konfigurationsdaten des Probenträgers erzeugt werden. Alternativ kann es von einem Anwender auch vorgegeben werden.

[0070] Mit einer Farbkodierung der Hervorhebung kann einem Anwender auch angezeigt werden, ob ein ausgewählter Probenort mit einer Probe oder mit welcher Substanz ein ausgewählter Probenort in einem nächsten Verfahrensschritt zu belegen ist. Alternativ könnte eine bestimmte Farbe auch auf den Belegungszustand des ausgewählten Probenorts hinweisen. Ein helles weiß könnte zum Beispiel für einen unbelegten Probenort stehen, gelb für einen mit einer Mikrobenprobe belegten Probenort, rot für ein Aufschluss- oder Extraktionsmittel und grün für eine Matrixlösung. Der Vielseitigkeit des vorliegenden Verfahrens sind diesbezüglich kaum Grenzen gesetzt.

[0071] Die **Abbildungen 5A, 5B und 5C** zeigen ein Ausführungsbeispiel, bei dem eine Bildfolge auf eine Probenträgervorderseite geworfen wird. Die Bildfolge umfasst zwei jeweils senkrecht zueinander angeordnete (jeweils einander entgegengesetzt zeigende) Pfeilpaare, die mit ihren Spitzen auf einen ausgewählten Probenort D5 deuten. In der Bildfolge können die Pfeile von einer weiter außen liegenden Position mit jedem nachfolgenden Bild der Bildfolge immer weiter an die Stelle des Probenorts D5 wandern, bis die Pfeilspitzen die äußeren Umrisse des Probenorts D5 scheinbar berühren. Es versteht sich, dass sich auch ein Einzelbild wie in **Abbildung 5C** ohne Animation zur Hervorhebung des Probenorts D5 verwenden lässt.

[0072] Die **Abbildung 6** zeigt in einer Flussdiagramm-Darstellung einen bevorzugten Ablauf eines erfindungsgemäßen Verfahrens: Ein Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption mit mehreren Probenorten wird bereitgestellt. Dabei kann es sich um einen MALDI-Probenträger handeln, der nicht durchsichtig zu sein braucht. Es kann sich dabei um eine ebene metallische Platte oder eine Platte aus einem leitfähigen Kunststoff oder einem dotierten Halbleiter, wie Silizium, handeln. Weiterhin wird eine Petrischale bereitgestellt,

die ein flächiges Nährmedium enthält, auf dem Kolonien von Mikroorganismen herangewachsen sind. Es können aber mittels einer Zentrifugation oder Filtration gewonnene Pellets als Probenquellen dienen. Die hier beispielhaft genannte Petrischale kann mit einem Barcode als Identifizierungskennzeichen versehen sein, der in einem optionalen Verfahrensschritt eingelesen, zum Beispiel optisch abgetastet, wird. Zusätzlich oder alternativ wäre auch (wenngleich mit erhöhtem Aufwand) ein RFID-Chip als Träger eines Identifizierungskennzeichens denkbar, der sich per Funk auslesen ließe. Die Anordnung der Kolonien auf dem Nährmedium kann mit einer Kamera aufgenommen und auf die genaue Positionierung der einzelnen Kolonien ausgewertet werden, zum Beispiel auf die XY-Koordinaten der einzelnen Kolonien auf dem flächigen Nährmedium. Mit diesen Informationen lässt sich das Identifizierungskennzeichen des Nährmedium-trägers, insbesondere der Petrischale, probenweise beziehungsweise kolonieweise ergänzen und damit detaillierter spezifizieren.

[0073] Als nächstes kann ein Auswahlkriterium - oder auch mehrere Auswahlkriterien - definiert werden, nach dem die Belegungssequenz erfolgen soll. Kriterien für die Auswahl können zum Beispiel sein: eine Auswahl nach der Zählweise (beispielsweise Belegung jedes *n*-ten [unbelegten] Probenortes), Zufallsauswahl, Berücksichtigung einer Ausschlussliste mit bereits präparierten Probenorten. Die Reihenfolge, in der die Kriterien erfüllenden und damit ausgewählten Probenorte zu belegen sind, kann grundsätzlich beliebig vorgegeben werden, beispielsweise kann sie einer Durchnummerierung der in Frage kommenden Probenorte auf dem Probenträger von kleineren zu größeren Ziffern folgen.

[0074] Auf den Probenträger wird nun ein optisches Bild oder eine Bildfolge projiziert, das beziehungsweise die so ausgestaltet ist, dass der erste ausgewählte Probenort - in einer Variante auch mehrere Probenorte - gegenüber anderen Probenorten hervorgehoben ist. Dieser kann nun händisch von einer Fachkraft belegt werden. Optional kann zwischen diesen Schritten ein Identifizierungskennzeichen des hervorgehobenen Probenortes eingelesen werden, um später eine Zuordnung zu dem Probenherkunftsort zu ermöglichen. Zum Abschluss des Belegungsvorgangs kann die Hervorhebung beendet werden, im Falle einer Videoprojektion kann diese beispielsweise ausgeschaltet werden. Alternativ kann auch das projizierte Bild gewechselt werden. Optional lassen sich dann die Identifizierungskennzeichen einander zuordnen und auf einem geeigneten Speichermedium, insbesondere einem elektronischen Speicher, ablegen. Wenn mehr als ein Probenort die Auswahlkriterien erfüllten, können nun alle weiteren ausgewählten Probenorte iterativ bearbeitet werden, bis keiner der ausgewählten Probenorte übrig ist. Es versteht sich, dass ein weiteres, nicht explizit dargestelltes Kriterium für den Abbruch der Iterationen darin besteht, dass es keine Proben mehr zum Übertragen auf den Probenträger gibt.

[0075] Zusammenfassend schlägt die Erfindung vor:

Eine verbesserte Belegungshilfe für die händische Probenpräparation, insbesondere auf ebenen MALDI-Probenträgern, umfasst eine Aufnahme für einen Probenträger mit mehreren Probenorten, die an standardisierte Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption angepasst ist, eine Vorrichtung, die ein zwei-dimensionales optisches Bild, oder eine entsprechende Bildfolge, auf die die Probenorte aufweisende Vorderseite des Probenträgers wirft, wobei das Bild, oder die Bildfolge, so ausgelegt ist, dass ein ausgewählter Probenort, oder eine Gruppe von ausgewählten Probenorten, zumindest gegenüber dazu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten in für einen Menschen visuell wahrnehmbarer Weise hervorgehoben wird, eine Schnittstelle zur Bestätigung der Belegung von Hand und/oder eine Einrichtung zur automatisierten Erfassung eines händischen Belegungsvorgangs, und ein Leitsystem, das einen Probenort, oder eine Gruppe von Probenorten, auswählt und die Vorrichtung entsprechend ansteuert. Offenbart ist ebenfalls ein Verfahren zur Unterstützung einer händischen Belegung von Probenorten.

Patentansprüche

1. Belegungshilfe für die händische Präparation von Proben auf einem Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption, aufweisend:

- eine Aufnahme für einen Probenträger mit mehreren Probenorten;
- eine Vorrichtung, die ein zwei-dimensionales optisches Bild, oder eine entsprechende Bildfolge, auf die die Probenorte aufweisende Vorderseite eines in der Aufnahme angeordneten Probenträgers wirft, wobei das Bild, oder die Bildfolge, so ausgelegt ist, dass ein ausgewählter Probenort, oder eine Gruppe von ausgewählten Probenorten, zumindest gegenüber dazu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten in für einen Menschen visuell wahrnehmbarer Weise hervorgehoben wird;
- eine Schnittstelle zur Bestätigung der Belegung von Hand und/oder eine Einrichtung zur automatisierten Erfassung eines händischen Belegungsvorgangs; und
- ein Leitsystem, das einen Probenort, oder eine Gruppe von Probenorten, auswählt und die Vorrichtung entsprechend ansteuert.

2. Belegungshilfe nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung einen Flächenlichtmodulator, einen Flüssigkristall-Projektor, oder Flüssigkristall-auf-Silizium-Projektor aufweist.

3. Belegungshilfe nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch**

gekennzeichnet, dass die Vorrichtung ein Bild oder eine Bildfolge generiert, wodurch an dem ausgewählten Probenort, oder der Gruppe von Probenorten, ein Helligkeits- und/oder Farbkontrast zumindest zu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten entsteht.

4. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung eine Bildfolge erzeugt, die einen Probenort oder eine Gruppe von Probenorten blickfangmäßig hervorhebt.

5. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet, dass** das zwei-dimensionale optische Bild oder die Bildfolge im Wesentlichen die gesamte Vorderseite des Probenträgers bedeckt.

6. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Leitsystem eine Schnittstelle für eine Dateneingabe oder Datenausgabe aufweist.

7. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Leitsystem einen Speicher zur Zuordnung und Aufnahme von Identifizierungskennzeichen von Proben und Probenorten aufweist.

8. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** Adapterstücke in der Aufnahme zum Einpassen standardisierter Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption vorgesehen sind.

9. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Einrichtung zur automatisierten Erfassung einen Streulichtsensor umfasst, der dazu ausgelegt ist, Änderungen des Streulichtverhaltens, die auf einen händischen Belegungsvorgang hindeuten, an der Vorderseite eines in der Aufnahme befindlichen Probenträgers zu erkennen.

10. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Schnittstelle zur Bestätigung der Belegung einen Streulichtsensor umfasst, der auf ein Areal im Randbereich eines in der Aufnahme angeordneten Probenträgers ausgerichtet ist und händisch hervorgerufene Änderungen des Streulichtverhaltens in diesem Areal erfasst.

11. Belegungshilfe nach einem der Ansprüche 1 bis 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Bild, oder die Bildfolge, in einen den ausgewählten Probenort, oder die ausgewählten Probenorte, hervorhebenden Bereich und in einen dem Anwender Informa-

tionen anzeigenden Bereich aufgeteilt ist.

12. Verfahren zur Unterstützung der händischen Präparation von Proben auf einem Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption, bei dem: 5
 - (a) ein Probenträger mit mehreren Probenorten bereitgestellt wird, 10
 - (b) wenigstens ein Auswahlkriterium definiert wird, nach dem eine Belegungssequenz erfolgen soll, 10
 - (c) nach dem wenigstens einen Auswahlkriterium eine Menge von Probenorten ausgewählt wird, 15
 - (d) ein zwei-dimensionales optisches Bild, oder eine entsprechende Bildfolge, auf die die Probenorte aufweisende Vorderseite des Probenträgers geworfen wird, wobei das Bild, oder die Bildfolge, so ausgelegt ist, dass ein ausgewählter Probenort, oder eine Gruppe von ausgewählten Probenorten, zumindest gegenüber dazu benachbarten nicht-ausgewählten Probenorten in für einen Menschen visuell wahrnehmbarer Weise hervorgehoben wird, 20 25
 - (e) eine Probe händisch auf dem hervorgehobenen Probenort abgelegt, die erfolgte Belegung von Hand bestätigt und/oder von einem Sensorium automatisch erfasst wird und, 30
 - (f) falls die Menge weitere unbearbeitete Probenorte, oder Gruppen von Probenorten, enthält, die Schritte (d) und (e) mit dem nächsten Probenort der Menge, oder der nächsten Gruppe von Probenorten, wiederholt werden. 35
13. Verfahren nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Probenort danach ausgewählt wird, dass er unbelegt ist. 35
14. Verfahren zur händischen Präparation einer Probe auf einem Probenträger für die Ionisierung mit matrix-unterstützter Laserdesorption, wobei die Probe mit einem Identifizierungskennzeichen versehen ist, bei dem ein ebenfalls mit einem Identifizierungskennzeichen versehener Probenort gemäß einem Verfahren nach Anspruch 12 oder 13 ausgewählt und hervorgehoben wird, die Probe auf den ausgewählten Probenort aufgebracht wird und die Identifizierungskennzeichen einander zugeordnet und gespeichert werden. 40 45 50
15. Verfahren nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Identifizierungskennzeichen der Probe von einer Kennzeichnung des Probengefäßes abgeleitet wird, aus dem die Probe stammt. 55

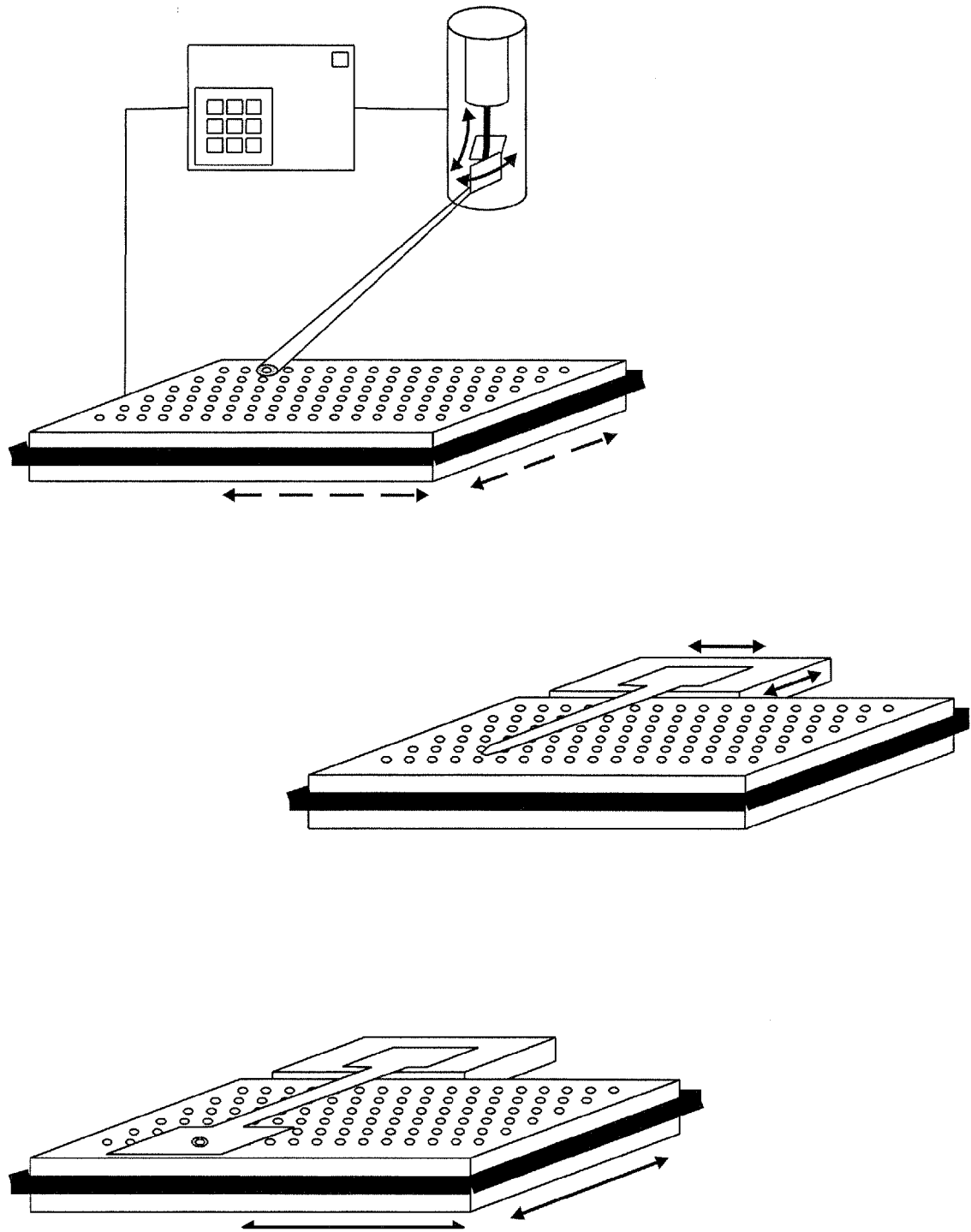


Abbildung 1

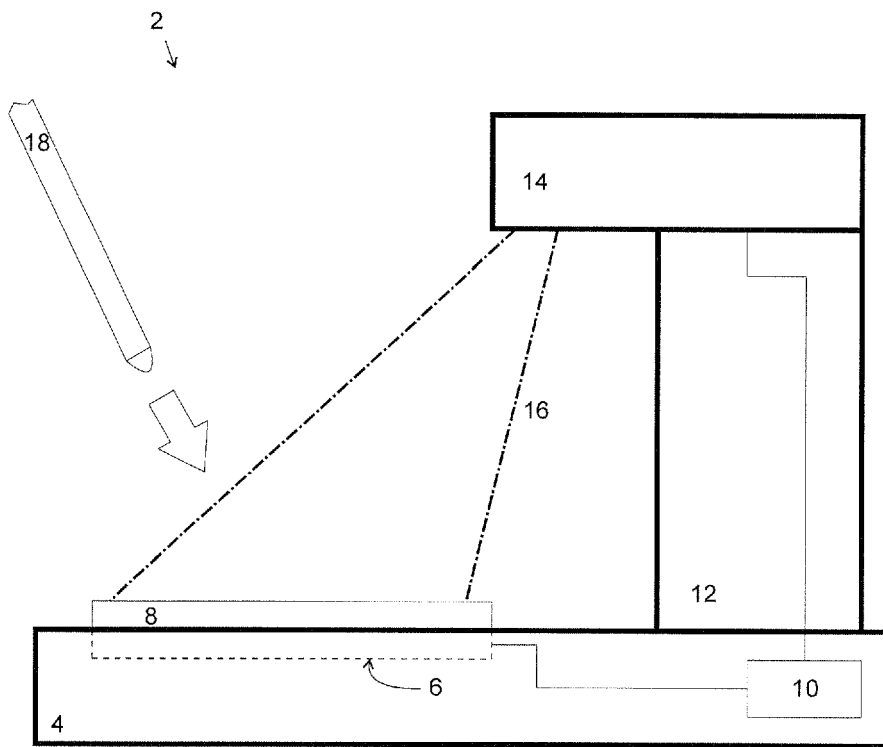


Abbildung 2a

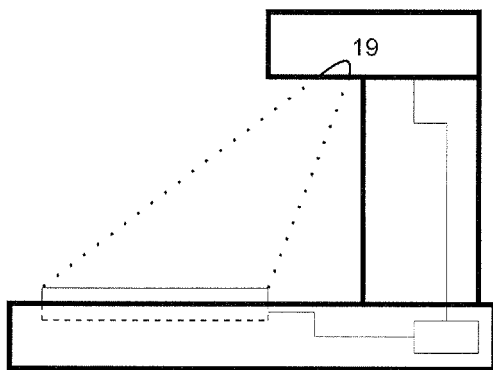


Abbildung 2b



Abbildung 2c

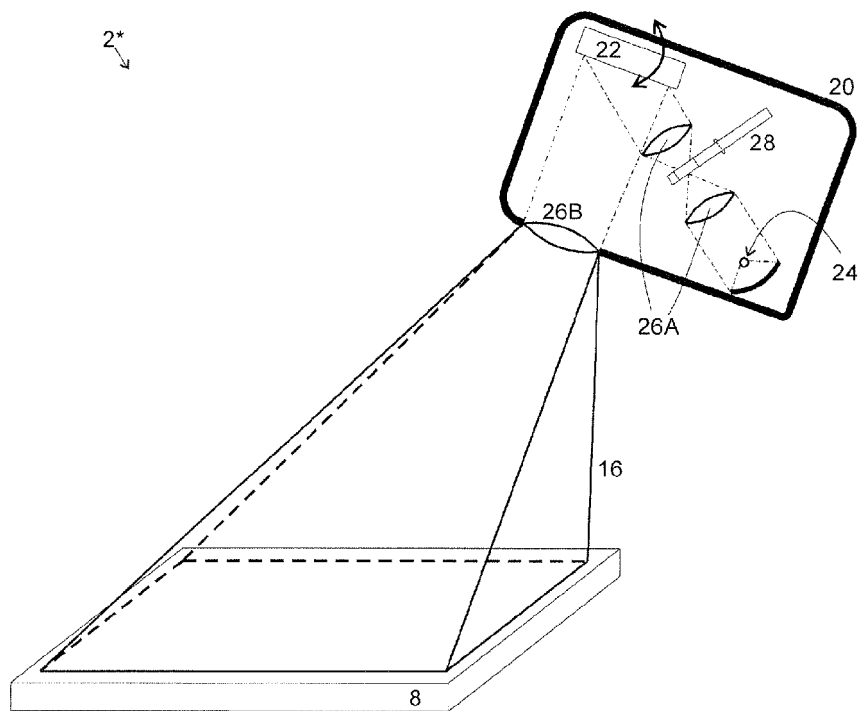


Abbildung 3

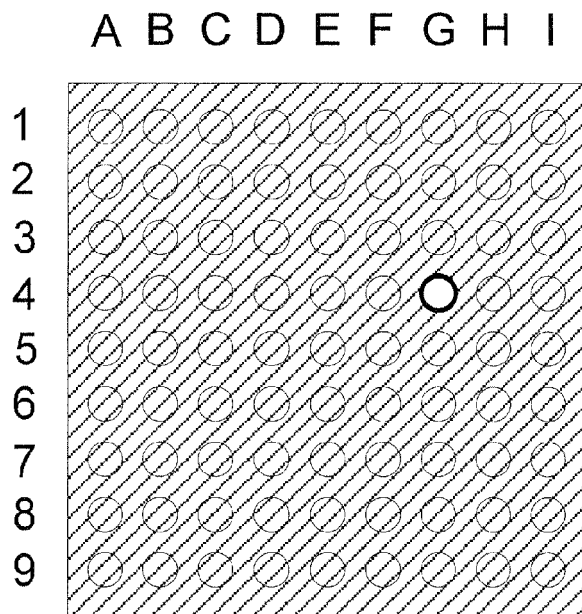


Abbildung 4

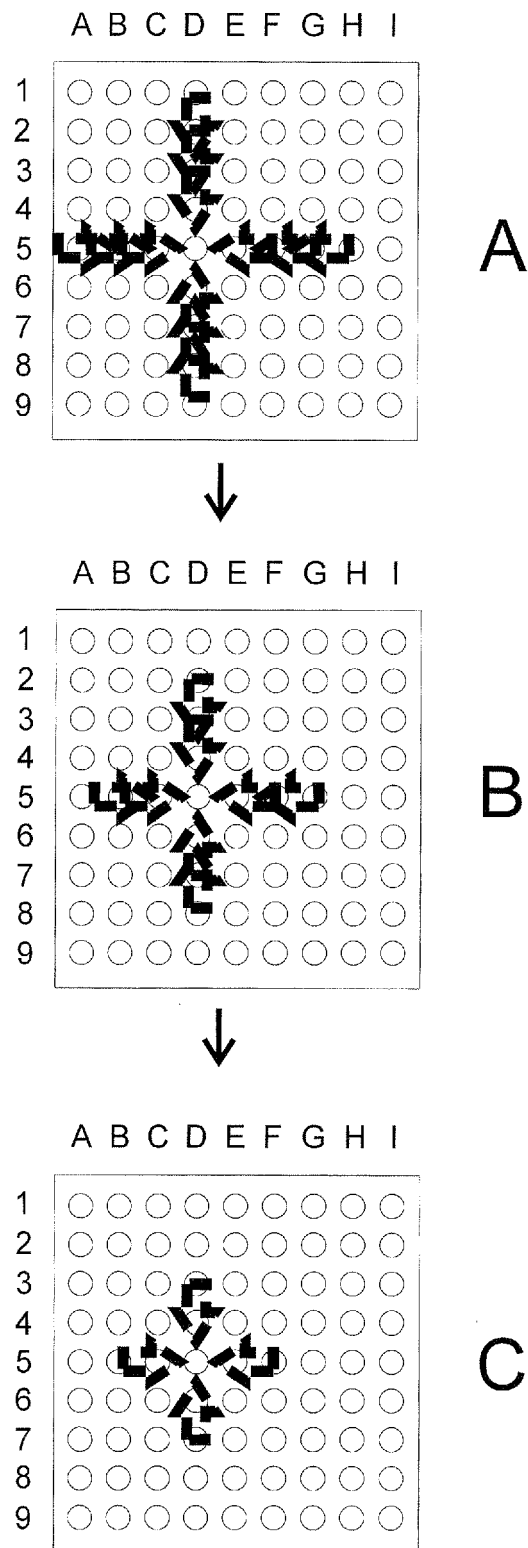


Abbildung 5

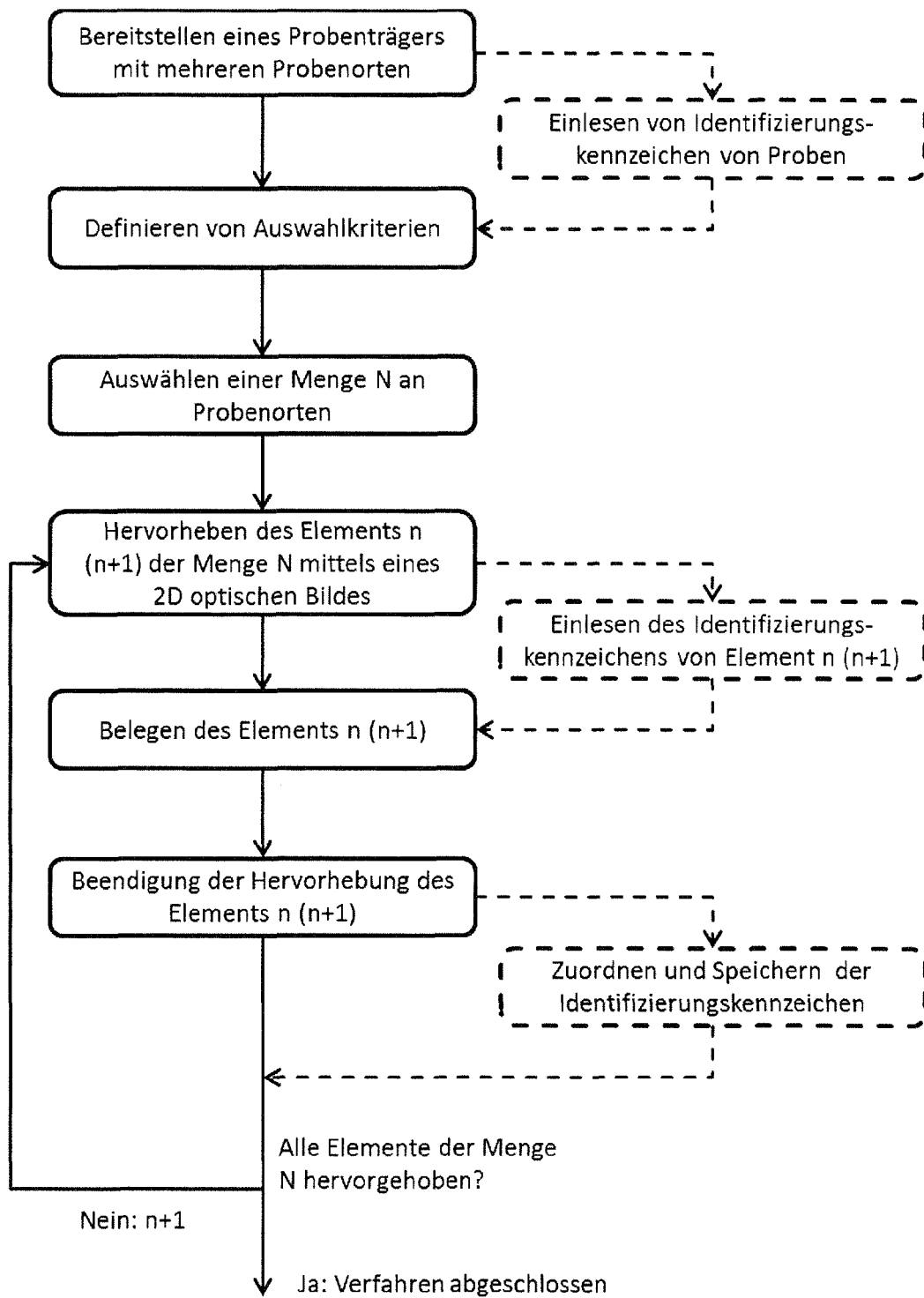


Abbildung 6



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

 Nummer der Anmeldung
EP 12 17 0042

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
E	DE 10 2010 052975 A1 (BRUKER DALTONIK GMBH [DE]) 31. Mai 2012 (2012-05-31) * das ganze Dokument *	1-15	INV. B01L99/00 H01J49/04
E	DE 10 2010 052976 A1 (BRUKER DALTONIK GMBH [DE]) 31. Mai 2012 (2012-05-31) * das ganze Dokument *	1-15	
X	US 2005/102056 A1 (DU PING [US]) 12. Mai 2005 (2005-05-12) * Absätze [0090], [0098]; Ansprüche 1-9; Abbildungen 1c, 3 *	1-15	
A	US 2007/072168 A1 (RYLE MATTHEW [US]) 29. März 2007 (2007-03-29) * das ganze Dokument *	1-15	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
			B01L H01J
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort München		Abschlußdatum der Recherche 2. Oktober 2012	Prüfer Skowronski, Maik
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

 2
EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 12 17 0042

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

02-10-2012

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 102010052975 A1	31-05-2012	DE 102010052975 A1	31-05-2012
		WO 2012072467 A2	07-06-2012

DE 102010052976 A1	31-05-2012	DE 102010052976 A1	31-05-2012
		WO 2012072468 A1	07-06-2012

US 2005102056 A1	12-05-2005	KEINE	

US 2007072168 A1	29-03-2007	CA 2620381 A1	05-04-2007
		EP 1928606 A1	11-06-2008
		JP 2009510441 A	12-03-2009
		US 2007072168 A1	29-03-2007
		WO 2007038521 A1	05-04-2007

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

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

- DE 202007018535 U1 **[0003]**
- DE 202005017946 U1 **[0003]**
- US 4692609 A **[0005]**
- WO 2007038521 A1 **[0006]**
- FR 2649511 **[0007]**
- US 20050046847 A1 **[0007]**
- WO 8300047 A1 **[0007]**
- WO 2007071575 A1 **[0007]**
- WO 2007121324 A1 **[0007]**
- US 20020191864 A1 **[0008]**
- EP 1763061 A2 **[0009]**
- DE 102004020885 A1 **[0010]**
- DE 102010052976 **[0011]**
- DE 102010052975 **[0053]**