



(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
01.10.2014 Patentblatt 2014/40

(51) Int Cl.:
B01F 13/00 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **14162100.3**

(22) Anmeldetag: **27.03.2014**

(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

(72) Erfinder:
• **Baaske, Philipp**
80689 München (DE)
• **Duhr, Stefan**
81369 München (DE)

(30) Priorität: **27.03.2013 EP 13161448**

(74) Vertreter: **Vossius & Partner**
Siebertstrasse 4
81675 München (DE)

(71) Anmelder: **Nano Temper Technologies GmbH**
81369 München (DE)

(54) **Verfahren und Vorrichtung zur berührungslosen Durchmischung von Flüssigkeiten**

(57) Die Erfindung betrifft allgemein eine Vorrichtung sowie ein Verfahren zum Durchmischen von Flüssigkeiten (50) bzw. Partikeln mit einer Flüssigkeit (50). In einem Flüssigkeitsvolumens (50) wird eine thermische Konvektions-Strömung an zumindest einer Oberfläche des Flüssigkeitsvolumens durch Einstrahlen von IR-Strahlung

(30) in das Flüssigkeitsvolumen erzeugt. Dadurch kann eine Verarmungszone an der Oberfläche vermieden werden und Wechselwirkungen der Partikel mit der Oberfläche mittels Oberflächen basierten Messverfahren genauer gemessen werden.

(A) **Laserstrahlung antiparallel zur Gravitation**

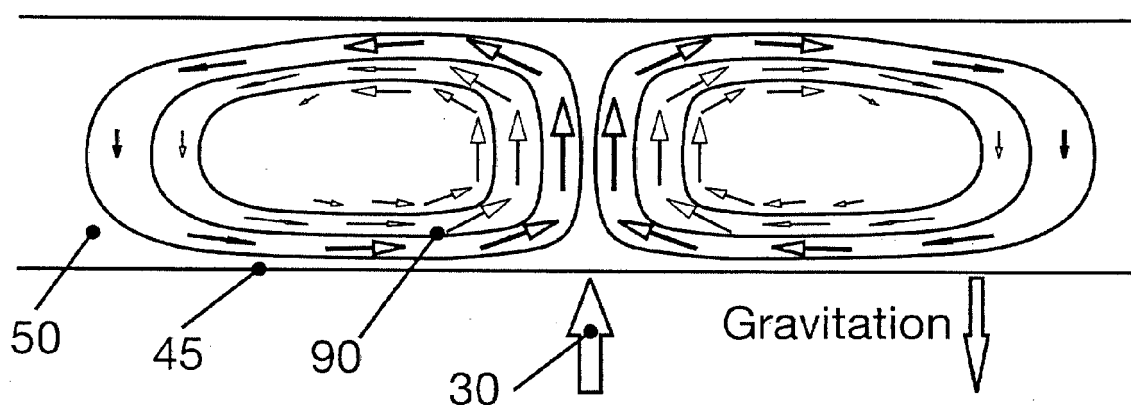


Fig. 2A

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft allgemein ein Verfahren und eine Vorrichtung zum berührungslosen Durchmischen von Flüssigkeiten bzw. zum Durchmischen von Partikeln in einer Flüssigkeit und insbesondere zum Durchmischen von wässrigen Lösungen. Erfindungsgemäß wird durch gezieltes Einstrahlen elektromagnetischer Strahlung in die Flüssigkeit eine gerichtete Flüssigkeitsbewegung erzeugt, um beispielsweise Partikel, vorzugsweise in der Flüssigkeit gelöste Partikel, zu einer Oberfläche bzw. Grenzfläche einer Probenkammer bzw. einer Oberfläche eines Flüssigkeitsvolumens zu transportieren, um für eine Durchmischung der Partikel mit der Flüssigkeit, insbesondere an der Oberfläche/Grenzfläche zu sorgen. Die Erfindung ist dahingehend vorteilhaft, dass eine "Verarmungsschicht" oder eine "Anreicherungsschicht" mit einer verminderten bzw. erhöhten Partikel-Konzentration an der Oberfläche/Grenzfläche vermieden wird, sodass Oberflächen bzw. Grenzflächen basierte Messverfahren verbessert werden können.

[0002] Die Erfindung ist auch dahingehend vorteilhaft, dass sie erlaubt kleine Volumina (Mikro-Volumina), die sich beispielsweise durch mechanische Einwirkungen wie schütteln oder rütteln schlecht durchmischen lassen, zu durchmischen.

[0003] Speziell betrifft die Erfindung auch ein Verfahren bzw. eine Vorrichtung zur Untersuchung spezifischer und unspezifischer Interaktionen bzw. Wechselwirkungen von Partikeln, die vorzugsweise in einer Flüssigkeit gelöst sind, mit Oberflächen bzw. Grenzflächen.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0004] Die Messung physikalischer, chemischer, biochemischer und/oder biologischer Vorgänge, wie Reaktionen, Bindungs- und Anlagerungsvorgänge und sonstige Wechselwirkungen von Partikeln mit Oberflächen sind von großem Interesse in den Bereichen der Qualitätskontrolle, Wirkstoffforschung, Medizin, Grundlagenforschung und molekularen Diagnostik. Zur Untersuchung dieser Vorgänge werden Methoden wie die Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIFS), Bio-Layer Interferometry (BLI), die Oberflächen Plasmonen Resonanz (Surface Plasmon Resonance, SPR), die Quarzkristall-Mikrowaagen (Quartz Crystal Microbalance, QCM), akustische Oberflächenwelle, kurz AOW, (engl. SAW für surface acoustic wave), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), oder auch Nanoporen oder Transistoren (Next Generation Sequencing) eingesetzt.

[0005] Weitere beispielhafte Methoden sind Fluoreszenzmessungen, Fluoreszenz Anisotropie Messungen, Förster-Resonanz-Energie-Transfer Messungen (FRET), Interne Totalreflexionsfluoreszenzmikroskopie (englisch total internal reflection fluorescence microscopy, TIRFM), Backscattering Interferometrie Messungen (BSI), Absorptionsmessungen, Spektroskopische Messungen, AlphaScreen® Assays, MicroScale Thermophoresis Messungen (MST), Patch Clamp Messungen.

[0006] Vorzugsweise werden die zu untersuchenden Partikel in einer Flüssigkeit, vorzugsweise einer wässrigen Lösung, bereitgestellt. Oberflächen basierende Verfahren sind generell darauf angewiesen, dass die zu untersuchenden Partikel die Oberfläche der Flüssigkeit bzw. die Oberfläche einer Probenkammer über einen längeren Zeitraum, der Messzeit bzw. Inkubations- oder Verfahrenszeit, hinweg erreichen können. Aufgrund der endlichen Konzentration der Partikel in der Flüssigkeit als auch aufgrund der begrenzten Diffusionskonstante (Diffusionsgeschwindigkeit) der Partikel, bildet sich häufig eine sogenannte "Verarmungsschicht" (englisch "*Depletionlayer*", siehe beispielsweise J. Mol. Recognit. 1999;12:293-299) an der Oberfläche bzw. Grenzfläche. Diese Verarmungsschicht kann zu einer Verfälschung der Messergebnisse bzw. zu einer Verlangsamung der Reaktion bzw. Untersuchung an der Oberfläche führen. Entsprechend kann sich bei bestimmten Anwendungen, z.B. bei der Messung der k_{off} -Rate (Dissoziationsrate), bei der gemessen wird wie und wie schnell sich vormalig an die Oberfläche gebundene Partikel (z.B. Antikörper) wieder von dieser lösen, eine "Anreicherungsschicht" der sich lösenden Partikel bilden. Diese Anreicherungsschicht kann zu einem unerwünschten sog. "Re-binding" /Rückbindung/Wiederbindung der sich lösenden Partikel führen. Sowohl die Verarmungsschicht als auch die Anreicherungsschicht können aus folgenden Gründen zu einer Verfälschung der Messergebnisse führen:

a) Bindung (Messung der Bindungsrate/Bindungskinetik), Verarmungsschicht stört. Hier gibt man eine Lösung in die Probenkammer bestehend aus Puffer und gelösten zu untersuchenden Partikeln A der Konzentration $[A]$. Die Bindungskinetik wird beschrieben durch die Rate $\gamma = k_{on} * [A] + k_{off}$ d.h. die Bindungsrate (Assoziationsrate) k_{on} kann bei Zugabe des Puffers mit Partikel A nicht unabhängig von der Dissoziationsrate k_{off} gemessen werden. Man kann nur eine apparente Rate γ messen die aber von der Konzentration $[A]$ abhängt. Man will aber oft die Konzentrationsunabhängigen Raten k_{on} und k_{off} bestimmen. Deshalb ist auch b) nötig.

Bei a) stört die Verarmungsschicht (Anbindung, Assoziation) bei b) stört die Anreicherungsschicht (Dissoziation).
b) Messung der Dissoziation/Dissoziationsrate k_{off} , Anreicherungsschicht stört (siehe bsp. auch "Blocking rebinding with soluble receptor" in J. Mol. Recognit. 1999;12:293-299).

[0007] Da man, wie in a) beschrieben die k_{on} und k_{off} nicht unabhängig messen kann ist ein zweites Experiment notwendig mit dem man k_{off} alleine bestimmen und dann zusammen mit a) bzw. einer wiederholten Messung von a) bei jeweils unterschiedlichen Konzentrationen $[A]$, die k_{on} bestimmen kann:

Hier gibt man nur den Puffer, ohne Partikel A, in die Probenkammer in der zuvor die Bindung von A gemessen wurde. In der Probenkammer liegt A gebunden an die Oberfläche vor, man versucht ihn dann mit dem Puffer "wegzuspülen" bzw. abzulösen, um die reine k_{off} von A messen zu können. Gibt man also reinen Puffer zu einer Probenkammer in der A an die Oberfläche gebunden ist (bzw. an die dort immobilisierten Moleküle B gebunden ist), dann muss sich ein neues chemisches Gleichgewicht einstellen (das zuvor eingestellte chemische Gleichgewicht hat sich für einen Puffer der A enthält eingestellt), das führt dazu dass sich die Moleküle A lösen. Transportiert man das sich lösende Molekül A schnell genug weg, dann kann es nicht wieder an die Oberfläche binden (das würde dazu führen dass man wieder γ , also k_{on} und k_{off} gleichzeitig misst) und man kann so die reine k_{off} Rate messen. Wird A nicht schnell genug abtransportiert bildet sich die Anreicherungsschicht. Die k_{on} bzw. k_{off} werden üblicherweise in den Einheiten: k_{on} : $1/([s]*[M])$ bzw. k_{off} : $1/[s]$ angegeben.

[0008] In bekannten Verfahren wird versucht, diese Verarmungsschicht bzw. Anreicherungsschicht durch einen konstanten Flüssigkeitsstrom, der beispielsweise durch äußere Pumpen erzeugt wird, zu verringern. Dieser Ansatz hat den großen Nachteil, dass durch die äußeren Pumpen, Ventile und/oder Schläuche ein großes Totvolumen entsteht und das ganze System sehr fehleranfällig ist. Zudem sind Lecks, Verschmutzung der Schläuche und Ventile, Kreuzkontamination durch alte Proben die nicht vollständig entfernt werden konnten, Ursache für weitere Messfehler. Da bei den Nutzern oft nur sehr wenig oder sehr teures Probenmaterial vorhanden ist, sind die oben diskutierten Totvolumina ein großer wirtschaftlicher Nachteil. Zudem sind meist sehr große/voluminöse, schwer zu transportierende Gerätschaften zur Steuerung und Regelung der Pumpen und Ventile und damit des Flüssigkeitsstromes vorteilhaft. Das kann unter anderem deren Einsatz in der "point of care" / "point-of-need" Diagnostik verhindern.

[0009] Ein anderes Verfahren mit dem die Verarmungsschicht vermieden werden soll bewegt bzw. "rüttelt" die Probenkammer makroskopisch gegenüber einem Oberflächensensor. Ein Problem dieses Verfahrens besteht jedoch darin, dass die Probenkammer nach außen offen sein muss und so die wässrige Lösung verdampfen kann und/oder durch äußere Einflüsse verschmutzt werden kann. Das mechanische "Rütteln" der offenen Probenkammer ist zudem problematisch, da durch das Rütteln Flüssigkeiten überlaufen/"überschwappen" und so in benachbarte offene Probenkammern eindringen können.

[0010] Daneben wird auf die Patentschrift DE 103 25 307 B3 verwiesen, in der ein Verfahren zur Durchmischung von Flüssigkeiten in einer Mikrokavität unter Ausnutzung schallinduzierte Strömungen beschrieben wird.

[0011] Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung insbesondere die oben genannten Nachteile aus dem Stand der Technik zu reduzieren bzw. zu überwinden und ein neues, vorzugsweise vorteilhafteres Verfahren sowie eine entsprechende Vorrichtung und System bereitzustellen.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0012] Die Aufgabe wird durch die Merkmale der unabhängigen Ansprüche gelöst. Weitere bevorzugte Ausführungsformen ergeben sich aus den Unteransprüchen und den folgenden Aspekten bzw. Ausführungsbeispielen.

[0013] Die Erfindung betrifft allgemein ein Verfahren zur Durchmischung von Fluiden, vorzugsweise Flüssigkeiten bzw. zur Durchmischen von Partikeln in einem Fluid bzw. einer Flüssigkeit. Vorzugsweise betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Durchmischung von in der Flüssigkeit gelösten und/oder ungelösten Partikeln. Generell betrifft die vorliegende Erfindung die Durchmischung jeglicher Art von Partikeln bzw. Teilchen wie beispielsweise (Bio)Moleküle, (Nano)Partikel, (Mikro)beads, (Bio)Polymere, Lacke, Emulgatoren, Zellen (biologischen Zellen), Viren, Bakterien, Lipiden, Vesikel, Liposomen, Nanodiscs, Pigmente, Dispergieradditive, Pasten.

[0014] Vorzugsweise wird die Flüssigkeit als Flüssigkeitsvolumen in zumindest einer Probenkammer bereitgestellt, wobei die Probenkammer offen oder verschlossen sein kann. Alternativ zu einer Probenkammer kann die Flüssigkeit auch in Form eines Tropfens bereitgestellt werden, wobei erfindungsgemäß eine thermischer Konvektions-Strömungen innerhalb des Tropfens erzeugt wird. Beispielsweise kann der Flüssigkeitstropfen auf einem geeigneten Objektträger (siehe Diskussion unten) bereitgestellt werden und beispielsweise von einer Ölschicht umgeben sein, um eine Verdunstung zu verhindern. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform reicht bereits die Bereitstellung sehr kleiner Flüssigkeitsvolumina in Glaskapillaren.

[0015] Unabhängig davon, ob die Flüssigkeit mit darin vorhandenen (gelösten oder ungelösten) Partikeln innerhalb einer Probenkammer oder innerhalb eines Tropfens für eine Messung bereitgestellt wird, wird erfindungsgemäß eine Konvektions-Strömung in dem Flüssigkeitsvolumen durch Einstrahlung von elektromagnetischer Strahlung in das Flüssigkeitsvolumen erreicht und insbesondere eine Durchmischung der Flüssigkeit mit den darin vorhandenen Partikeln an einer Oberfläche des Flüssigkeitsvolumens bzw. an einer Grenzfläche bzw. Grenzschicht zwischen dem Flüssig-

keitsvolumen und einer Materialschicht der Probenkammer erreicht. Das erfindungsgemäße Verfahren sowie die dazugehörige Vorrichtung ist somit für Messverfahren anwendbar, bei denen vorzugsweise an der Oberfläche bzw. Grenzfläche einer Flüssigkeit gemessen wird, da erfindungsgemäß eine Verarmungszone, Verarmungsschicht, Anreicherungszone, Anreicherungsschicht bzw. eine Konzentrationsverschiebung an der Oberfläche bzw. Grenzfläche vermieden wird.

[0016] Erfindungsgemäß soll insbesondere eine gute Durchmischung in Kontaktflächen zwischen Festkörper (z.B. innere Oberfläche einer Probenkammer bzw. von Glaskapillaren) und der Flüssigkeit erreicht werden. Eine erfindungsgemäße Oberfläche bzw. Kontaktfläche ist jedoch nicht auf eine ebene Fläche beschränkt, sondern kann auch dreidimensional bzw. fraktal sein, z.B. wenn Dextran oder Dendrimer beschichtete Glassubstrate verwendet werden und die Interaktion zwischen z.B. Antikörper und Antigen an/in der Dextran-Schicht stattfindet.

[0017] Vorzugsweise wird die thermische Konvektions-Strömung mit Hilfe zumindest einer elektromagnetischen Strahlungsquelle, vorzugsweise eine Lichtquelle und weiter bevorzugt einer infraroten (IR-)Strahlenquelle erzeugt. Beispielsweise kann IR-Strahlung mit bekannten IR-Strahlungsquellen erzeugt werden und vorzugsweise durch ein optisches Mittel (beispielsweise Linse und/oder Spiegel/Reflektor) in der Flüssigkeit lokal positioniert und auch fokussiert werden. Abhängig von dem erfindungsgemäßen Versuchsaufbau bzw. der Anwendung kann es auch vorteilhaft sein, wenn der IR-Strahl parallelisiert wird oder sogar defokussiert wird (divergent). Erfindungsgemäß können auch IR-Dioden, IR-LEDs bzw. IR-Laser als Strahlungsquelle verwendet werden.

[0018] Insbesondere wird die Flüssigkeit vorzugsweise lokal am Ort des eingestrahnten Strahls erwärmt und so die thermische Konvektions-Strömung erzeugt. Mit anderen Worten, die vorliegende Erfindung erzeugt Flüssigkeitsströme vorzugsweise direkt, und vorzugsweise rein optisch und insbesondere völlig berührungslos direkt in der Flüssigkeit/Lösung mit den Partikeln. Da es sich bei zu untersuchenden Flüssigkeiten häufig um wässrige Lösungen handelt, ist es in diesen Fällen besonders vorteilhaft, die elektromagnetische Strahlung im Infraroten Wellenlängenbereich auszuwählen, aufgrund des vorteilhaften Absorptionsverhaltens. Insbesondere wird vorzugsweise Infrarotstrahlung, weiter bevorzugt infrarote (IR-)Laserstrahlung verwendet, die stark von Wasser (wässrigen Lösungen) absorbiert wird (siehe auch Fig. 1).

[0019] Die Erfinder der vorliegenden Erfindung haben zudem erkannt, dass eine wässrige Lösung nicht nur die Energie der IR-Laserstrahlung absorbiert, sondern auch der Impuls der Photonen der IR-Laserstrahlung (Lichtdruck) einen Einfluss auf das Konvektionsverhalten hat (siehe Figuren 2A, 2B). Durch die Energieabsorption wird lokal am Ort, an dem die IR-Laserstrahlung in die wässrige Lösung eingestrahlt wird, die wässrige Lösung erwärmt was zu der thermischen Konvektion führt. Zusätzlich wird bei der Absorption auch der Impuls der Photonen der IR-Laserstrahlung auf die wässrige Lösung übertragen. Durch diesen Lichtdruck (bzw. Strahlendruck) kann die Strömungsgeschwindigkeit der thermischen Konvektion, je nach Ausrichtung der IR-Laserstrahlung relativ zum Vektor der Gravitation, verstärkt (antiparallel zur Gravitation) oder abgeschwächt (parallel zur Gravitation) werden. Die Laserstrahlung kann auch senkrecht, bzw. schräg zur Gravitation ausgerichtet werden.

[0020] Die Wellenlänge der bevorzugten IR-Strahlung liegt vorzugsweise im Bereich 1200 nm bis 2000 nm. Weiter bevorzugt sind die speziellen IR-Laserwellenlängen: 980 nm (+/- 10 nm); 1450 nm (+/- 20 nm); 1480 nm (+/- 20 nm); 1550 nm (+/- 20 nm) und 1920 nm (+/- 20 nm).

[0021] Die Erfindung betrifft zudem eine Vorrichtung, um das erfindungsgemäße Verfahren durchzuführen. Insbesondere wird das erfindungsgemäße Verfahren vorzugsweise in Kombination mit Oberflächen/Grenzflächen basierten Messverfahren/Messvorrichtungen eingesetzt. Dadurch können beispielsweise spezifische chemische, biochemische Interaktionen an Grenzflächen sicher und zuverlässig untersucht werden, vorzugsweise in extrem kleinen Volumina. Neben spezifischen Interaktionen von Partikeln mit Grenzflächen können auch unspezifische Effekte, wie beispielsweise "Kleben", Physisorption, Chemisorption, Sorption, Adsorption, Absorption, elektrochemische Prozesse, katalytische Prozesse usw. untersucht werden.

[0022] So kann das erfindungsgemäße Durchmischungsverfahren beispielsweise in Kombination mit Messvorrichtung zur Bestimmung von optischen Eigenschaften an einer dünnen Schicht verwendet werden, wodurch beispielsweise chemische, biochemische, medizinische und/oder physikalische Reaktionen, Bindungs- und/oder Anlagerungsvorgänge sowie sonstige Wechselwirkungen an der dünnen Schicht nachgewiesen werden können. Bei bekannten Messverfahren wird beispielsweise Licht, vorzugsweise Licht einer bestimmten Wellenlänge, auf eine zu untersuchende Probe eingestrahlt, wobei die Probe an eine dünne Schicht gebunden ist. Änderungen in der optischen Schichtdicke werden beispielsweise mittels Interferenzerscheinungen detektiert bzw. gemessen, woraus sich Rückschlüsse auf Reaktionen der untersuchten Probe mit einer entsprechend vorbehandelten dünnen Schicht ergeben.

[0023] Ein weiterer Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht beispielsweise auch darin, dass es kein Totvolumen gibt. Erfindungsgemäß kann der Volumenverbrauch von einigen 100 Mikrolitern bis einigen Milliliter auf einige Nanoliter bis einige Mikroliter reduziert werden. Vorzugsweise werden als erfindungsgemäßes Volumen Volumina von 1 Mikroliter bis 10 Mikroliter eingesetzt. Aufwändige Flusszellen, Mikrofluidiken, Pumpen, Ventile und Schläuche entfallen vorzugsweise, wodurch eine erfindungsgemäße Vorrichtung sehr robust ist und vorzugsweise nicht durch etwaige Rückstände in Schläuchen und/oder Ventilen verschmutzt werden kann und es verhindert auch den Verlust der Probe/der Partikel in der Probe durch Kleben (Adsorption/Chemisorption/Physisorption) der Partikel an den Oberflächen der Schläu-

che und Ventile (allgemeiner: an den Oberflächen der Totvolumina).

[0024] Da die Flüssigkeitsströme vorzugsweise völlig berührungslos, rein optisch erzeugt werden, kann eine Kreuzkontamination und/oder Verschmutzung der Proben vermindert und vorzugsweise sogar ausgeschlossen werden. Erfindungsgemäß können sowohl offene als abgeschlossene Probenkammern verwendet werden, wobei durch geschlossene Probenkammern zudem eine Verdampfung/Verdunstung der (wässrigen) Lösung vermieden werden kann. Dies ist beispielsweise dahingehend vorteilhaft, dass damit deutlich längere Messzeiten möglich sind.

[0025] Generell wird Konvektion durch eine Strömung hervorgerufen, die Partikel befördern kann. Ursache für die transportierende Strömung können grundsätzlich unterschiedliche Kräfte sein, wie z. B. Gewichtskraft oder Kräfte, die von Druck-, Dichte-, Temperatur- oder Konzentrationsunterschieden herrühren. Man unterscheidet dabei die erzwungene Konvektion, bei der der Teilchentransport durch äußere Einwirkung, zum Beispiel ein Gebläse oder eine Pumpe, hervorgerufen wird, und freie oder natürliche Konvektion, bei der der Teilchentransport vorzugsweise ausschließlich durch Auswirkungen des Temperaturgradienten hervorgerufen wird. Das erfindungsgemäße Verfahren erzeugt vorzugsweise eine freie bzw. natürliche Konvektion, d.h., Konvektion die durch einen Temperaturgradienten hervorgerufen wird. Die Temperaturerhöhung ist dabei vorzugsweise so gering, dass die Partikel bzw. die Probe nicht beschädigt und/oder negativ beeinflusst werden.

[0026] Eine freie Konvektion aufgrund thermischer Dichteunterschiede kann beispielsweise wie folgt beschrieben werden: Bei Erwärmung dehnen sich Stoffe in der Regel aus (Ausnahme z.B. die Dichteanomalie des Wassers). Unter Einwirkung der Gravitationskraft steigen innerhalb einer Flüssigkeit Bereiche mit geringerer Dichte gegen das Gravitationsfeld auf (Auftrieb), während Bereiche mit höherer Dichte darin absinken. Wenn beispielsweise an der Unterseite einer Probenkammer Wärme zugeführt wird und an der Oberseite die Möglichkeit zur Abkühlung besteht, so entsteht eine kontinuierliche Strömung: Die Flüssigkeit wird erwärmt, dehnt sich dabei aus und steigt nach oben. Dort angelangt kühlt die Flüssigkeit ab, zieht sich dabei wieder zusammen und sinkt ab, um unten erneut erwärmt zu werden.

[0027] Die Geschwindigkeit der Flüssigkeitsströme der erfindungsgemäßen thermischen Konvektion kann vorzugsweise mittels Variation der optischen Energie bzw. Leistung, der Fokussierung oder Defokussierung, der Intensität, der Richtung, der Parallelität (bzw. auch Konvergenz und Divergenz) und/oder der Lage des Fokus relativ zur zu untersuchenden Oberfläche/dünnen Schicht, der Anzahl der Strahlen (Laserstrahl kann aufgespalten werden um mehrere Orte gleichzeitig zu heizen), der Einstrahldauer, der Pulsweitenmodulation (Pulshöhe, Pulsdauer, Wiederholrate), der Wellenlänge, der Geschwindigkeit des bewegten Strahls, der eingestrahlt Strahlung und/oder abhängig von der Einstrahlrichtung relativ zur Gravitation verändert bzw. kontrolliert werden. Die Position der eingestrahlt Strahlung (z.B. Position des Fokus der eingestrahlt Strahlung) kann variieren, beispielsweise kann der Fokus mittels Spiegelsystemen (vgl. Laserscanner) in allen drei Raumrichtungen positioniert und mit verschiedenen Geschwindigkeiten bewegt werden. Da die vorliegende Erfindung mittels optisch erzeugter thermischer Konvektion auch Flüssigkeitsströme senkrecht zu den Oberflächen von Probenkammern erzeugen kann (im Gegensatz zu Flüssigkeitsströmen die von äußeren Pumpen erzeugt werden), ist die Durchmischung der Flüssigkeit und die Reduzierung einer Verarmungsschicht sehr effizient.

[0028] Die Geschwindigkeit der thermischen Konvektion ist unter anderem von der Kammerdicke (Höhe in Richtung Gravitation) der Probenkammer und insbesondere von der Kammergeometrie abhängig. Insbesondere können Randflächen einer Probenkammer die Geschwindigkeit der thermischen Konvektion signifikant beeinflussen. Bevorzugt sind Probenkammern die dick genug sind (beispielsweise $> 0,05\text{ mm}$), um eine gewünschte schnelle Strömungsgeschwindigkeit der thermischen Konvektion zu erreichen, um den "Depletionlayer" (die Verarmungsschicht) bzw. eine Anreicherungsschicht zu vermeiden.

[0029] Insbesondere ist es bevorzugt, erfindungsgemäß eine thermische Konvektion so zu erreichen, dass vorzugsweise eine laminare Strömung, vorzugsweise bei kleinen Reynolds-Zahlen erzeugt (Reynolds-Zahl $\text{Re} < 1000$) wird. Vorzugsweise setzt man Probenkammern (auch Flüssigkeitstropfen bzw. Wassertropfen) mit einem Volumen von $\leq 200\text{ }\mu\text{l}$ (Mikrokavität) ein. Zudem ist eine Schichtdicke von mindestens $0,05\text{ mm}$ bevorzugt, da bei geringeren Schichtdicken bzw. geringeren Dicken der Probenkammer der Konvektionseffekt zu schwach ist, um eine gewünschte Durchmischung zu erreichen. Auch ist es bevorzugt, Schichtdicken der Flüssigkeit bzw. Dicken der Probenkammer nicht größer als $11,5\text{ mm}$ (Well-Tiefe bei Multiwellplatten) zu verwenden.

[0030] Eine beispielhafte Konvektionsgeschwindigkeiten bei einer Probenkammer, die als Scheibe mit 1 mm Höhe und 5 mm Durchmesser, einem Volumen von $20\text{ }\mu\text{l}$, einer Kammer Temperatur von 52°C , einem IR-Laser mit 1480 nm bei eingestrahlt Lichtleistung von 75 mW liegt bei einer mittleren Geschwindigkeit von ca. $0,4\text{ mm/s}$. Eine typische bzw. mittlere Ausdehnung der Konvektionsströmungslinien in diesem Beispiel liegt bei ca. 2 mm Durchmesser.

[0031] Bei der folgenden Probenkammer-Geometrie: Scheibe mit $0,05\text{ mm}$ Höhe und 5 mm Durchmesser; Kammer Temperatur: 20°C ; IR-Laser: 1480 nm ; Temperaturerhöhung durch IR-Laserstrahlung: $1,25\text{ K}$; liegt die typische/mittlere Geschwindigkeit der Konvektion bei ca. $0,0005\text{ mm/s}$ wenn die IR-Laserstrahlung antiparallel zur Gravitation ausgerichtet ist, die thermische Konvektion also unterstützt.

[0032] Im Folgenden wird ein Vergleich der Konvektionsgeschwindigkeit mit der Diffusionsgeschwindigkeit der Partikel diskutiert. Dieser Vergleich zeigt beispielsweise, dass die endliche, und daher zu langsame, Diffusion zum Problem der Verarmungs- bzw. Anreicherungsschicht führen kann. Beispielhafte Diffusionskonstanten D von Biomolekülen liegen

zwischen $1 \mu\text{m}^2/\text{s}$ und $400 \mu\text{m}^2/\text{s}$.

[0033] Vorzugsweise erfolgt die Bewegung/Verschiebung/Durchmischung der Partikel aufgrund der Konvektionsströmung angepasst an die Bewegung der Partikel (Brownsche Bewegung) aufgrund ihrer Diffusion (Diffusionskonstante D). Je nach Diffusionskonstante der zu untersuchenden Partikel gibt es eine bevorzugte einzusetzende mittlere Strömungsgeschwindigkeit der thermischen Konvektion und damit beispielsweise auch vorzugsweise einzusetzende Strahlungsintensitäten bzw. Konfigurationen für die Einstrahlung der Strahlung. Aufgrund des erfindungsgemäßen sehr flexiblen und gut variierbaren und vorzugsweise rein optischen Aufbaus kann die Konvektionsströmung und damit die Vermischung bevorzugt auf die zu untersuchenden Partikel eingestellt werden, ohne dass ein neuer Aufbau speziell für jeden Partikel gebaut werden muss.

[0034] Das erfindungsgemäße Verfahren zur Durchmischung von Flüssigkeiten kann besonders vorteilhaft in der Analytik angewendet werden, insbesondere in Analytikverfahren bei denen die Bindungskinetik von Biomolekülen (beispielsweise Assoziations- und Dissoziationsratenkonstanten; k_{on} , k_{off} , auch Raten für die Hin (k_{on})- und Rückreaktion (k_{off}) genannt) und die Bindungsaffinität, beschrieben beispielsweise durch die Dissoziationskonstante $K_d = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$, von Bedeutung sein können. Diese Ratenkonstanten können beispielhaft wie folgt beschrieben werden. Angenommen sei eine chemische Reaktion von Molekül A der Konzentration $[A]$ mit Molekül B der Konzentration/Oberflächendichte $[B]$ zum Komplex D der Konzentration $[D]$. Die Kinetik dieser Reaktion, also die Kinetik der Komplexbildung, kann mit folgender Gleichung beschrieben werden, die somit auch die Bedeutung der Ratenkonstanten zeigt:

$$\frac{d}{dt}[D(t)] = k_{\text{on}} * [A(t)] * [B(t)] - k_{\text{off}} * [D(t)]$$

[0035] Weitere Beispiele für die Anwendung des erfindungsgemäßen Durchmischens ist die "Diagnostik" (Durchmischen auch bei ELISA wichtig), der Bereich der Elektrochemie, der Bereich der Katalysatoren, oder der Bereich der Qualitätskontrolle ("Kleben" an Oberflächen detektieren um es zu vermeiden). Zudem können Raten von "Kleben" von Partikeln bzw. Messen der Stärke des "Klebens" ("Kleben", Physisorption, Chemosorption, Adsorption, Absorption) gemessen werden.

[0036] Auch bei Multiwellplatten (Einsatzort: ELISA) ist das Durchmischen mittels optisch erzeugter thermischer Konvektion vorteilhaft. Bei 384 Well Platten und/oder 1536 Well Platten sind die Haftkräfte der Flüssigkeit an den Oberflächen der Wells (Mikrokavitäten) so groß, dass die Flüssigkeit in den Wells auf einem Schüttler/Rüttler nicht mehr richtig durchgemischt wird. Durchmischen mittels optisch erzeugter thermischer Konvektion kann auch bei 96 Well Platten oder auch anderen Reaktionsgefäßen vorteilhaft sein, beispielsweise wenn mechanische Schüttler oder andere Mischvorrichtungen wie z.B. magnetische Rührfische aus Gründen wie z.B. der Vermeidung von Kontaminationen nicht verwendet werden können. Mittels IR-Laser der für z.B. auch nur für jeweils einige Sekunden in jedem Well eingesetzt wird, kann eine bessere Durchmischung im Well (Volumen $< 200 \mu\text{l}$) erreicht werden. Möglich ist auch, speziell bei dieser Anwendung, die thermische Konvektion zur Durchmischung mittels IR-LEDs zu erzeugen. IR-LEDs sind günstig; man kann z.B. 384 LEDs oder 96, oder 24 oder 16 einsetzen, um viele Wells gleichzeitig zu durchmischen. IR-LEDs haben typischerweise weniger Lichtleistung als IR-Laser, da die Schichtdicke der wässrigen Lösung in den Wells aber sehr groß ist (typischerweise $> 1 \text{ mm}$) wird die IR-Strahlung sehr gut absorbiert (Gesetz von Beer-Lambert) und damit sind auch IR-LEDs leistungsstark genug.

[0037] Allgemein ist das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhaft für Reaktionskinetik Messungen bzw. Biomolekül Analytik. Insbesondere kann das erfindungsgemäße Verfahren mit NanoTemper® Kapillaren (beispielsweise Glaskapillaren mit Innendurchmesser von $0,05 \text{ mm}$ bis $0,8 \text{ mm}$) eingesetzt werden, vorzugsweise mit Innendurchmessern von $0,2 \text{ mm}$, $0,35 \text{ mm}$, $0,5 \text{ mm}$ und $0,8 \text{ mm}$ und Außendurchmessern kleiner gleich $1,0 \text{ mm}$. Vorzugsweise sind keine Flusszellen nötig und eine Befüllung der Kapillaren kann rein passiv durch Kapillarkräfte erfolgen. Die innere Oberfläche der Glaskapillare kann unbehandelt oder zumindest teilweise spezifisch beschichtet/modifiziert sein (z.B. mit Antikörper, Antigen, DNA, RNA, PNA, TNA, Proteinen, Peptiden, Zellen, Polymere etc.) oder auch nicht.

[0038] Das erfindungsgemäße Verfahren kann allgemein mit Probenkammern bzw. Objektträgern durchgeführt werden, die zumindest einen Bereich aufweisen, der transparent ist. Transparenz ist in der Physik die Fähigkeit von Materie, elektromagnetische Wellen hindurch zulassen (Transmission). Im Alltag wird der Begriff meist auf Licht, also auf den für den Menschen sichtbare Spektralbereich elektromagnetischer Strahlung, bezogen. Erfindungsgemäß ist das transparente Material vorzugsweise in einem Wellenlängenbereich zwischen 200 nm bis 2000 nm durchlässig, d.h. vorzugsweise auch für infrarotes Licht und/oder UV Licht. Vorzugsweise ist das transparente Material für Licht im Bereich von 200 nm bis 900 nm , vorzugsweise 250 nm bis 900 nm , vorzugsweise 275 nm bis 850 nm transparent. Vorzugsweise ist das transparente Material auch für Licht der folgenden Wellenlänge transparent: 940 nm bis 1040 nm (vorzugsweise $980 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$), 1150 nm bis 1210 nm , 1380 nm bis 1600 nm (vorzugsweise $1450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ and/or $1480 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ und/oder $1550 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$), 1900 nm bis 2000 nm (vorzugsweise $1930 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$).

[0039] Zudem kann es bereits ausreichen, wenn lediglich 10% des eingestrahnten Lichts durch das transparente Material durchgelassen werden, vorzugsweise mindestens 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% oder mindestens 90% oder mehr.

[0040] Das transparente Material kann beispielsweise Glas und/oder eine Polymer aufweisen. Mögliche Materialien sind auch Borosilikate bzw. Borosilikatglas wie Borosilikatglas 3.3 (beispielsweise DURAN-Glas), Quarz Glas, wie Suprasil, Infrasil, Synthetisches Quarzglas bzw. Kieselglas, Kalk-Natron Glas, Bk-7, ASTM Type 1 Class A Glas, ASTM Type 1 Class B Glas. Das Polymer kann PTFE, PMMA, Zeonor™, Zeonex™, Teflon AF, PC, PE, PET, PP (Polypropylen), PPS, PVDF, PFA, FEP, und/oder Acrylglas aufweisen].

[0041] Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch mit Pipettenspitzen, insbesondere mit zumindest teilweise transparenten Pipettenspitzen, beispielsweise aus Polypropylen, eingesetzt werden. Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch mit Reaktionsgefäßen, z.B. Reaktionsgefäßen aus Glas oder Kunststoff ("Eppis"), vorzugsweise transparentem Glas und Kunststoff, eingesetzt werden. Beispielsweise mit Reaktionsgefäßen für die "Realtime PCR (Polymerase Kettenreaktion)". Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch mit Kammern/Kapillaren für die Elektrophorese, vorzugsweise der Kapillarelektrophorese eingesetzt werden. Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch im Detektionsbereich einer HPLC/UHPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. high performance liquid chromatography, HPLC) eingesetzt werden. Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch mit Mikrofluidikkammern/Mikrofluidikchips eingesetzt werden. Das erfindungsgemäße Verfahren kann mit verschlossenen/versiegelten Multititerplatten (Multiwellplatten) die einen transparenten Boden und/oder Deckel haben eingesetzt werden. Das erfindungsgemäße Verfahren kann in verschweissten/versiegelten Ampullen, beispielsweise Glasampullen oder Kunststoffampullen, vorzugsweise transparenten Ampullen, eingesetzt werden. In den Ampullen können beispielsweise Stoffe für forensische oder diagnostische Tests eingeschlossen sein, die nicht verunreinigt werden dürfen und deshalb vorzugsweise nicht geöffnet werden sollen.

[0042] Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch mit Multititerplatten (Multiwellplatten) die einen nicht-transparenten Boden haben erfolgen. Vorzugsweise sind Multititerplatten (Multiwellplatten) zum Befüllen mit Pipetten bzw. Pipettierrobotern jedoch offen, vorzugsweise oben offen.

[0043] Das erfindungsgemäße Verfahren kann beispielsweise auch überall dort eingesetzt werden, wo ein Durchmischen / eine Strömungserzeugung mittels externem Fluss (Pumpen) und/oder mechanischem Rütteln nicht möglich (beispielsweise alle abgeschlossenen Reaktionsgefäße/Mikrokavitäten) oder sinnvoll ist, aber die wässrige Lösung optisch zugänglich ist.

[0044] Das erfindungsgemäße Verfahren kann in der Diagnostik, auch zur Durchmischung bei ELISA Platten angewendet werden. Ein weiteres beispielhaftes Anwendungsgebiet ist die Qualitätskontrolle.

[0045] Das erfindungsgemäße Verfahren zum Durchmischen kann mit einer Vielzahl verschiedener bekannter Mess- und Auslesetechniken kombiniert werden, insbesondere zur Messung spezifischer und unspezifischer Interaktionen von Partikeln an Oberflächen/Grenzflächen. Folgende typische Oberflächentechniken seien beispielhaft erwähnt: Zur Messung werden Methoden wie die Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS), Bio-Layer Interferometry (BLI), die Oberflächen Plasmonen Resonanz (englisch Surface Plasmon Resonance, SPR), die Quarzkristall-Mikrowaagen (englisch Quartz Crystal Microbalance, QCM), akustische Oberflächenwelle, kurz AOW, (engl. SAW für surface acoustic wave), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), oder auch Nanoporen oder Transistoren (Next Generation Sequencing) eingesetzt. Beispielsweise können diese Messverfahren durch eine Kombination aus z.B. Glaskapillaren bestimmter Durchmessers als Probenkammer der wässrigen Lösung mit den Partikeln, IR-Laser/LED zur Erzeugung einer thermischen Konvektion in der wässrigen Lösung in der Glaskapillaren und einer entsprechenden Mess- bzw. Versuchsanordnung verbessert werden.

[0046] Generell betrifft die vorliegende Erfindung zunächst ein Verfahren zum Durchmischen von Flüssigkeiten bzw. Partikeln mit einer Flüssigkeit mit den Schritten: Bereitstellen eines Flüssigkeitsvolumens und Erzeugen einer thermischen Konvektions-Strömung an zumindest einer Oberfläche/Grenzfläche des Flüssigkeitsvolumens durch Einstrahlen von elektromagnetischer Strahlung in das Flüssigkeitsvolumen.

[0047] Das Flüssigkeitsvolumen kann beispielsweise in einer Probenkammer bereitgestellt wird, die offen oder geschlossen ist. Vorzugsweise kann als Probenkammer eine Mikrokavität dienen, weiter bevorzugt eine Kapillare oder eine Pipettenspitze. Bevorzugt sollte eine Probenkammer zumindest einen Bereich aufweisen, der zumindest teilweise transparent ist. Vorzugsweise hat die Probenkammer eine Dicke von 0,01 mm bis 25 mm, vorzugsweise 0,05 mm bis 12 mm, vorzugsweise 0,05 mm bis 1 mm. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform haben Kapillare einem Innendurchmesser von 0,01 mm bis 3 mm, vorzugsweise 0,05 mm bis 0,8 mm wobei die Kapillare vorzugsweise zumindest teilweise aus Glas oder sonstigen zumindest teilweise transparenten Materialien hergestellt sind. Das Flüssigkeitsvolumen kann auch als Tropfen auf einem Objektträger bereitgestellt werden.

[0048] Vorzugsweise hat die Probenkammer ein Volumen von 0,001 µl bis 1000 µl, vorzugsweise von 0,1 µl bis 200 µl, vorzugsweise von 1 µl bis 10 µl, vorzugsweise von 1 µl bis 6 µl.

[0049] Die die Oberfläche des Flüssigkeitsvolumens wird vorzugsweise durch die Grenzschicht zwischen Flüssigkeitsvolumen und einer Fläche der Probenkammer gebildet oder beispielsweise durch die Grenzschicht zwischen Flüssigkeitsvolumen und einer Fläche des Objektträgers.

[0050] Bei der verwendeten Flüssigkeit handelt es sich vorzugsweise um eine wässrige Lösung, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein.

[0051] Die elektromagnetische Strahlung weist vorzugsweise IR-Strahlung auf bzw. nur Wellenlängen im IR Bereich und wird vorzugsweise von einem Laser und/oder einer LED erzeugt.

5 **[0052]** Die eingestrahlte Strahlung kann parallel und/oder antiparallel zur Gravitation gerichtet sein und/oder eine Komponente enthalten die senkrecht zur Gravitation ausgerichtet ist.

[0053] Vorzugsweise erzeugt die eingestrahlte Strahlung ein Temperaturgradient von $0,001 \text{ K}/\mu\text{m}$ ($=1 \text{ K/mm}$) bis $5 \text{ K}/\mu\text{m}$ ($=5000 \text{ K/mm}$), vorzugsweise von $0,001 \text{ K}/\mu\text{m}$ ($=1 \text{ K/mm}$) bis $2 \text{ K}/\mu\text{m}$ ($=2000 \text{ K/mm}$).

10 **[0054]** Weiter bevorzugt wird der Temperaturgradient in einem kleinen Bereich, vorzugsweise in einem Bereich von $0,00001 \text{ mm}^2$ bis 1 cm^2 erzeugt, vorzugsweise in einem Bereich von $0,0001 \text{ mm}^2$ bis 12 mm^2 erzeugt.

[0055] Ein Detektionsbereich zur Messung von Eigenschaften der Flüssigkeit bzw. der Partikeln in der Flüssigkeit kann von dem Bereich beabstandet sein, in dem die Strahlung eingestrahlt wird. Beispielsweise kann der Detektionsbereich mindestens $0,01 \text{ mm}$ von dem eingestrahlten Strahl beabstandet sein, wobei der Abstand vorzugsweise senkrecht zur Einstrahlrichtung gemessen wird.

15 **[0056]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform können der Detektionsbereich und der Einstrahlbereich auch überlappen. So ist die Detektionsfläche oft größer als ein gut fokussierter Laserstrahl (beispielsweise sind $2 \mu\text{m}$ Durchmesser bei IR erreichbar). Daher wird in dieser Ausführungsform vorzugsweise die gesamte Detektionsfläche von der Konvektionsströmung überstrichen. Der Überlapp von Detektionsbereich und Einstrahlbereich ist beispielsweise in den Aufbauten aus Fig. 5 oder Fig. 6 anwendbar. Da alles durch die gleiche Optik fokussiert wird, liegt der Heizfokus der IR Strahlung vorzugsweise innerhalb des Detektionsbereichs

20 **[0057]** Bevorzugte Strömungsgeschwindigkeiten der der Konvektions-Strömung liegen im Bereich von $0,0001 \text{ mm/s}$ bis 10 mm/s , vorzugsweise $0,0005 \text{ mm/s}$ bis 2 mm/s .

25 **[0058]** Das erfindungsgemäße Verfahren zur Durchmischung ist insbesondere vorteilhaft, wenn es mit zusätzlichen Messverfahren kombiniert wird. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung auch ein Verfahren zur Untersuchung molekularer Wechselwirkungen an und/oder in einer dünnen Schicht in einem Flüssigkeitsvolumen mit den Schritten: Bereitstellen mindestens eines Flüssigkeitsvolumens mit darin vorhandenen Partikeln auf einem Objektträger oder in einer Probenkammer und Einstrahlen elektromagnetischer Strahlung in das Flüssigkeitsvolumen zur Erzeugung der thermischen Konvektions-Strömung, Messen einer spezifischen oder unspezifischen Wechselwirkung der Partikel mit einer Oberfläche/Grenzfläche einer Probenkammer bzw. eines Objektträgers, und vorzugsweise Charakterisierung der Wechselwirkung der Partikel anhand der Messung.

30 **[0059]** Vorzugsweise wird eine Probenkammer zur Durchführung einer derartigen Messung in Form einer Kapillare, Pipettenspitze, Multiwellplatte bzw. eines Mikrofluidikchip bereitgestellt.

35 **[0060]** Die Messung der Wechselwirkung erfolgt vorzugsweise mittels Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS), Oberflächen Plasmonen Resonanz (englisch Surface Plasmon Resonance, SPR), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Quarzkristall-Mikrowaagen (Quartz Crystal Microbalance; QCM), und/oder akustischer Oberflächenwelle, (surface acoustic wave; SAW). Gemäß weiteren bevorzugten Ausführungsformen kann die die Messung der Wechselwirkung mindestens ein Verfahren sein aus der Gruppe: Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS), Bio-Layer Interferometry (BLI), Oberflächen Plasmonen Resonanz (Surface Plasmon Resonance; SPR), Quarzkristall-Mikrowaagen (Quartz Crystal Microbalance; QCM), akustische Oberflächenwelle, kurz AOW, (surface acoustic wave; SAW), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Nanoporen oder Transistoren (Next Generation Sequencing).

40 **[0061]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich auch auf eine Vorrichtung zum Durchmischen von Flüssigkeiten bzw. Partikeln mit einer Flüssigkeit, insbesondere zur Durchführung eines oben beschriebenen Verfahrens, mit: einer Einrichtung zur Aufnahme eines Flüssigkeitsvolumens; einer Quelle zum Emittieren von elektromagnetischer Strahlung und einer Einrichtung zum Einstrahlen der emittierten elektromagnetischen Strahlung in das Flüssigkeitsvolumen.

45 **[0062]** Schließlich bezieht sich die vorliegende Vorrichtung auch auf ein System mit einer Vorrichtung zur Durchmischung und einer Vorrichtung zur Messung, wobei die Messeinrichtung vorzugsweise zum Messen einer spezifischen oder unspezifischen Wechselwirkung der Partikel mit einer Oberfläche/Grenzfläche einer Probenkammer bzw. eines Objektträgers dient.

50 KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0063] Im Folgenden werden bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung unter Bezugnahme auf die Figuren ausführlich beschrieben. Es zeigen:

55 Fig. 1 ein beispielhaftes IR-Absorptionsspektrum von Wasser bzw. einer wässrigen Lösung mit eingezeichneten Absorptionsmaxima;

Fig. 2A & 2B schematisch den Einfluss der Orientierung eines eingestrahlten IR-Laserstrahls relativ zur Gravitation auf die erzeugten thermischen Konvektionen;

- Fig. 3 eine schematische Darstellung des bevorzugten Detektionsbereichs zur Messungen der spezifischen und unspezifischen Wechselwirkung von Partikeln innerhalb einer Probenkammer;
- Fig. 4 eine weitere Ausführungsform einer Anordnung für das erfindungsgemäße Verfahren bei der insbesondere der Strahlenverlauf beteiligter Lichtstrahlen schematisch eingezeichnet ist;
- 5 Fig. 5 eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Versuchsanordnung zur Messung von spezifischen bzw. unspezifischen Wechselwirkungen von Partikeln mit einer Oberfläche;
- Fig. 6 eine ähnliche schematische Darstellung wie in Fig. 5, jedoch mit einer weiter oben angeordneten Einrichtung zum Einkoppeln eines Laserstrahls zum Erzeugen der Konvektion in der Messzelle;
- Fig. 7A & 7B zeigt schematische Darstellungen des Einstrahlens von IR-Strahlung in Multiwellplatten; and
- 10 Fig. 8 zeigt eine schematische Darstellung einer beispielhaften erfindungsgemäßen Versuchsanordnung zur Messung von mehrfarbiger (Multiplexing) Fluoreszenz in einer Multiwellplatte bei der sowohl Fluoreszenzanregung, Fluoreszenzdetektion als auch die Fokussierung der IR-Strahlung durch das gleiche Optische System erfolgt.

15 DETAILLIERTE BESCHREIBUNG BEVORZUGTER AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0064] **Figur 3** zeigt beispielhaft den Detektionsbereich 80 zur Messungen der spezifischen und unspezifischen Wechselwirkung von Partikeln. Bei der dargestellten Probenkammer 45 handelt es sich beispielhaft um eine Kapillare.

20 **[0065]** Der Detektionsbereich 80 befindet sich vorzugsweise an der Oberfläche/Grenzfläche des Messvolumens innerhalb der Kapillare 45, d.h. an der Innenseite der Probenkammer 45. Der Detektionsbereich 80 kann beispielsweise so um den Bereich einer eingestrahnten IR-Strahlung 30 gewählt werden, dass er kleiner, größer oder gleich groß wie die von der thermischen Konvektion 90 überstrichene Fläche ist.

25 **[0066]** Der Detektionsbereich 80 kann beispielsweise eine dünne Schicht sein und beispielsweise Antikörper zum spezifischen Nachweis von Antigenen enthalten. Mit anderen Worten, der Detektionsbereich befindet sich an der Oberfläche der Flüssigkeit bzw. der Oberfläche der Kapillare 45. Der Detektionsbereich 80 kann beispielsweise auch aus mehreren unterschiedlichen dünnen Schichten zusammengesetzt sein, die sich beispielsweise in ihrem Brechungsindex, Polarisierbarkeit oder ihrer Fluoreszenz unterscheiden. Die Konvektion wird vorzugsweise so eingestellt, dass es im Detektionsbereich nicht zum Aufbau einer Verarmungsschicht bzw. einer Anreicherungsschicht kommt. Beispielsweise kann die thermische Konvektion so eingestellt werden, dass sie Partikel von weit außerhalb des Detektionsbereichs, beispielsweise einige Millimeter entfernt, in den Detektionsbereich transportiert.

30 **[0067]** Reihenfolge kann variiert werden, entscheidend ist, dass es einen bestimmten Abstand zwischen IR-Laser Fokus (bestimmt die "Konvektions-Walzen") und dem Ort gibt, an dem die Wechselwirkung an der Oberfläche detektiert wird. Der Abstand zwischen beiden ist wichtig, da der IR-Laser je nach Leistung und Kammerdicke und Kammergeometrie unterschiedliche thermische Konvektionsströmungen erzeugt. Man muss das Ganze so einstellen, dass man am Beobachtungsort für die Wechselwirkung die richtigen thermischen Konvektionsströmungen hat (um die Verarmungsschicht der Moleküle zu vermeiden).

35 **[0068]** **Figur 4** zeigt eine beispielhafte Anordnung in der das erfindungsgemäße Verfahren Anwendung findet. Infrarote Laserstrahlung 30 wird hier von unten in eine Probenkammer 45 mit einem Flüssigkeitsvolumen, hier einer wässrigen Lösung mit Partikeln 50, eingestrahlt und erzeugt in der Probenkammer 45 eine thermische Konvektion 90. Die Strömungsgeschwindigkeiten in der Flüssigkeit sind durch entsprechende Vektoren dargestellt. Zudem ist in diesem Beispiel eine symmetrische Konvektion um den eingestrahnten Laserstrahl 30 erkennbar. Als Detektionsmethode für die Messung der Wechselwirkung der in der Flüssigkeit gelösten Partikel 105 mit einer dünnen Schicht (schraffiert dargestellt) funktional immobilisierter Moleküle/Partikel 103 wird die reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS) Methode verwendet.

45 **[0069]** Kurz zusammengefasst handelt es sich bei RIfS um eine physikalische Methode, die auf der Interferenz von Weißlicht an dünnen Schichten beruht. Diese Methode wird in der Praxis beispielsweise dazu eingesetzt, um molekulare Wechselwirkungen zu untersuchen. Das grundlegende Messprinzip entspricht dem Fabry-Perot-Interferometer. RIfS findet vor allem als Detektionsmethode in Chemo- und Biosensoren Anwendung. Als sensitive Schichten werden meist nicht selektiv messende Polymere verwendet, die Analyten entweder anhand ihrer Größe (sog. Molekularsiebeffekt bei mikroporösen Polymeren) oder auf Grund unterschiedlicher Polaritäten (z. B. funktionalisierte Polydimethylsiloxane) sortieren. Im Bereich der Biosensoren werden beispielsweise Polymere wie Polyethylenglykole oder Dextrane auf das Schichtsystem aufgebracht und darauf Erkennungsstrukturen für Biomoleküle immobilisiert. Als Erkennungsstrukturen sind prinzipiell alle Stoffklassen verwendbar (Proteine wie z. B. Antikörper, DNA/RNA wie z. B. Aptamere, kleine organische Moleküle wie z. B. Estron, aber auch Lipide wie z. B. Phospholipid-Membranen).

55 **[0070]** In Fig. 4 ist zudem ein Träger 46 dargestellt, der Bestandteil der Probenkammer 45 sein kann. Es ist jedoch auch möglich, dass die zu untersuchende Probe als Tropfen bzw. Flüssigkeitsschicht auf dem Träger bereitgestellt wird. Der Träger 46 kann beispielsweise aus Glas oder Kunststoff hergestellt sein. Auf diesem Träger 46 ist die zu untersuchende dünne Schicht, umfassend eine Lage 103 aus funktional immobilisierten Molekülen und eine weitere Lage 102

aus Molekülen, die zwischen der Lage 103 und dem Träger 46 angeordnet ist, schematisch dargestellt. Die Lage 102 dient insbesondere der besseren Haftung der dünnen Schicht auf dem Träger 46. Die Schicht/Lage 102 aus Molekülen (z.B. PEG oder Dextran, etc.) die zwischen der Lage 103 und dem Träger 46 angeordnet ist (schematisch dargestellt) kann beispielsweise als Abstandshalter und/oder als Immobilisierungshilfe für die funktionalen Moleküle aus Schicht 103 dienen. Die Lage 102 dient insbesondere auch der besseren Haftung der Lage/dünnen Schicht 103 auf dem Träger.

[0071] An die funktional immobilisierten Moleküle/Partikel der Lage 103 können Proben-Partikel 105 anbinden. In der Folge wächst die Dicke der dünnen Schicht an, der Abstand ihrer oberen Begrenzungsfläche 104 zur Phasengrenze zwischen dünner Schicht und Träger (bzw. zur unteren Begrenzungsfläche der dünnen Schicht) wird größer. Von unten eingestrahktes Licht 31, das zur Messung dient, wird nach Anbindung der Proben-Partikel 105 nunmehr auch an der Begrenzungsfläche 104 reflektiert. Die Begrenzungsfläche 104 entsteht gegenüber der Lösung mit Partikeln 50 beispielsweise, wenn die Partikel aus der wässrigen Lösung an die funktional immobilisierten Moleküle in der dünnen Schicht 103 binden. Der reflektierte Strahl 113 an dieser Begrenzungsfläche 104 ist schematisch eingezeichnet. Zudem sind auch noch die reflektierten Strahlen 112, 111a, 111b und 110 dargestellt, die an Grenzflächen reflektiert werden, die unter der Begrenzungsfläche 104 liegen. Da das eingestrahkte Licht bis zur Begrenzungsfläche 104 eine größere Weglänge zurücklegen muss, resultiert eine Verschiebung des Interferogramms, das durch die Überlagerung der reflektierten elektromagnetischen Strahlung 110, 111a, 111b, 112 und 113 erzeugt wird. Diese Verschiebung kann zeit- aufgelöst gemessen werden, was genau Rückschlüsse auf die Schichtdickenänderung und damit auf die Wechselwirkung der gelösten Partikel 105 mit den funktional immobilisierten Partikeln 103 zulässt.

[0072] Beispielsweise handelt es sich bei den Partikeln 105 in der wässrigen Lösung um Biomoleküle wie DNA, RNA, Proteine, Antikörper, Antigene, etc. Small Molecules, Nanopartikel, Polymere, Peptide, PNA, etc. oder auch Zellen, Viren, Bakterien, Vesikel, Liposomen, Mikrobeads, Nanobeads, Nanodiscs, etc.

[0073] **Figur 5** zeigt beispielhaft die Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens in einer konkreten Versuchsanordnung, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein. Die Bezugsziffer 1 bezeichnet eine Lichtquelle die für die Messung verwendet wird. Beispielsweise kann es sich bei der Lichtquelle 1 um eine oder mehrere LED(s) handeln, ein oder mehrere Laser und/oder eine oder mehrere SLED(s) (superlumineszente LED). Das Licht der Lichtquelle 1 dient primär dazu, eine zu untersuchende Probe 50 zu bestrahlen, vorzugsweise senkrecht zu bestrahlen. Das von der Lichtquelle 1 abgestrahlte Licht kann mittels bekannter optischer Mittel verändert werden, beispielsweise mittels eines Diffusors 4 und/oder eines (nicht dargestellten) Linsensystems. Beispielsweise kann eine Diffusors 4 dazu verwendet werden, das Licht gleichmäßig zu verteilen und ein Linsensystem dazu verwendet werden, das Licht in gewünschter Weise zu bündeln. Anschließend passiert das Licht in diese Ausführungsform einen Polarisator 5, beispielsweise zur Erzeugung von linear polarisiertem Licht. Zusätzlich kann das Licht auch noch einen Filter 14 durchqueren, sodass ein Lichtstrahl 31 mit definierten Eigenschaften auf die Probe 50 gestrahlt wird. Das Filter 14 kann beispielsweise ein Wellenlängenfilter sein, beispielsweise ein Bandpassfilter, oder ein Langpassfilter oder ein Kurzpassfilter.

[0074] Der Strahlteiler 7 dient in der dargestellten Ausführungsform dazu, den Lichtstrahl in einen Messstrahl bzw. Messstrahlengang 9 und einen Referenz-Strahl bzw. Referenz-Strahlengang 11 aufzuteilen, wobei der Messstrahlengang nach unten dargestellt ist und der Referenz-Strahlengang 11 nach links zur Referenz-Detektoranordnung 19' dargestellt ist. Der Strahlteiler 7 hat vorzugsweise eine polarisierende Eigenschaft. Der Strahlteiler 7 kann in bestimmten Ausführungsformen jedoch auch weggelassen werden. Dann entfällt auch der Referenz-Strahlengang 11, bzw. der ganze Referenzzweig aus Referenz-Strahlengang 11, Referenz-Linsensystem 17', Referenz-Detektorfilter 23' und Referenz-Detektor 19'.

[0075] In der dargestellten Ausführungsform mit Referenz-Zweig kann die Referenz-Detektoranordnung 19' beispielsweise eine Photodiode, ein Photomultiplier (Photoelektronenvervielfacher, kurz Photovervielfacher, engl. photomultiplier tube, PMT), eine CCD Kamera (Charge-Coupled Device), eine CMOS (Complementary Metal Oxide Semiconductor; komplementärer Metall-Oxid-Halbleiter), ein Diodenarray oder eine Avalanche-Photodiode sein. Der Referenz-Zweig kann vor der Referenz-Detektoranordnung 19' ein Referenz-Linsensystem 17' für die Abbildung/Fokussierung auf die Referenz-Detektoranordnung 19' aufweisen und/oder einen Referenz-Detektorfilter 23', beispielsweise ein Bandpassfilter, oder ein Langpassfilter oder ein Kurzpassfilter.

[0076] Der Messstrahlengang 9 kann, bevor er auf die Probe 50 trifft, mit zusätzlichen optischen Mitteln, die nach dem Strahlteiler 7 angeordnet sind, verändert werden. Dargestellt ist beispielhaft ein Spotfilter 21 sowie ein (erstes) optisches Korrektürelement 35, um beispielsweise die Phasenverschiebung, Polarisationsänderung und/oder Strahlengangsänderung die durch den zweiten Strahlteiler 34 zum Einkoppeln der infraroten Laserstrahlung möglicherweise erzeugt wird, zu kompensieren/korrigieren. Zudem ist auch ein zweites optisches Korrektürelement 36 dargestellt, das optional mit einer Linse oder einem Linse/Linsensystem erweitert werden kann, um beispielsweise die Phasenverschiebung, Polarisationsänderung und/oder Strahlengangsänderung die durch den (zweiten) Strahlteiler 34 zum Einkoppeln der infraroten Laserstrahlung einhergehen können, zu kompensieren/korrigieren. Das zweite optische Korrektürelement 36 und oder die optionale Linse bzw. das optionale Linsensystem kann auch dazu dienen, die Strahlengänge auf die Probe 50 zu fokussieren.

[0077] Die Probe 50 kann auf einem Träger 46 als Tropfen bzw. in einer Probenkammer 45, wie in den Figuren 2 bis

4 dargestellt, bereitgestellt werden. Insbesondere kann eine Probenkammer eine Kapillare, eine Mikrokavität, ein Reaktionsgefäß ("Eppi"), eine Mikrofluidik, oder eine Pipettenspitze sein ohne darauf beschränkt zu sein. Bei der zu untersuchenden Probe 50 handelt es sich vorzugsweise um eine Flüssigkeit, vorzugsweise eine wässrige Lösung, mit darin vorhandenen Partikeln 105 (siehe Fig. 4), die in gelöster oder ungelöster Form vorliegen können.

5 **[0078]** Der Träger 46 ist vorzugsweise zumindest teilweise transparent, wobei der dargestellte Träger 46 ein aus einem Glas geformtes Objektträgerglas ist, auf dem eine dünne Schicht 103 ausgebildet ist. Die zu untersuchende dünne Schicht 103 umfasst beispielsweise eine Lage aus funktional immobilisierten Molekülen.

10 **[0079]** Die dünne Schicht 103 wird durch die zu untersuchende Probe 50 beeinflusst. Beispielsweise führt eine Wechselwirkung der Moleküle auf der dünnen Schicht 103 mit den entsprechenden Partikeln 105 in der Probe zu einer Schichtdickenänderung (siehe Fig. 4). Diese Schichtdickenänderung beeinflusst das über den Messstrahlengang 9 auf den Träger 46 geleitete und an der Oberfläche der dünnen Schicht reflektierte Licht, das durch den Strahlenteiler 7 umgelenkt und auf einer Detektoranordnung 19 abgebildet wird. Vorzugsweise ist der Messzweig (rechts vom Strahlenteiler 7) mit der Detektoranordnung 19 ähnlich oder sogar identisch wie der Referenzzweig (rechts vom Strahlenteiler 7) gestaltet. In der dargestellten Ausführungsform kann die Detektoranordnung 19 beispielsweise eine Photodiode, ein Photomultiplier (Photoelektronenvervielfacher, kurz Photovervielfacher, engl. photomultiplier tube, PMT), eine CCD Kamera (Charge-Coupled Device), eine CMOS (Complementary Metal Oxide Semiconductor; komplementärer Metall-Oxid-Halbleiter), ein Diodenarray oder eine Avalanche-Photodiode sein. Der Messzweig kann vor der Detektoranordnung 19 ein Linsensystem 17 für die Abbildung/Fokussierung auf die Detektoranordnung 19 und/oder einen Detektorfilter 23, beispielsweise ein Bandpassfilter, oder ein Langpassfilter oder ein Kurzpassfilter aufweisen.

20 **[0080]** Wie bereits in Bezug auf die Figur 4 beschrieben, wird vorzugsweise die Mehrfachreflexion an den Grenzflächen der dünnen Schicht für die Messung verwendet, wobei die reflektierten Strahlen mit den beiden Detektoranordnungen 19, 19' detektiert werden. Die beiden Detektoranordnungen 19, 19' sind mit einer Auswerteeinheit verbunden die hier nicht näher beschrieben wird.

25 **[0081]** Um in der dünnen Schicht 103 eine gute Durchmischung zu gewährleisten und eine Verarmungsschicht zu vermeiden wird erfindungsgemäß Licht eines Laser 32 in die Probe 50 eingestrahlt. Zur Einstrahlung des Laserlichts wird in Figur 5 der bereits oben erwähnte zweite Strahlenteiler 34 unterhalb des ersten Strahlteilers 7 angeordnet. In einer weiteren erfindungsgemäßen Ausführungsform gemäß Figur 6, in der gleiche Bezugszeichen auf gleiche Komponenten verweisen, ist beispielhaft der zweite Strahlenteiler 34 oberhalb des ersten Strahlteilers 7 dargestellt. Mit Hilfe des zweiten Strahlteilers 34 kann die infrarote Laserstrahlung 30, die vom Laser 32 emittiert wird und optional mit einem optischen Mittel 33, beispielsweise Linsen, bzw. Linsensystem beispielsweise Kollimator für Parallelisierung und/oder Fokussierung der infraroten Laserstrahlung, verändert wird, in den Messstrahlengang 9 eingekoppelt. Der Strahlenteiler 34 kann dem Strahlenteiler 7 ähneln, gleich sein, oder auch andere Eigenschaften aufweisen. Beispielsweise kann der Strahlenteiler 34 ein dichroischer Spiegel sein bzw. ein "Hot Mirror". Es wird hier nochmals explizit hervorgehoben, dass die eingestrahlte elektromagnetische Strahlung 31 zur Messung dient, wohingegen die eingestrahlte elektromagnetische Strahlung 30 zur Erzeugung einer Konvektion dient.

35 **[0082]** Auch wird hier explizit betont, dass die oben beschriebene Versuchsanordnung nur eines vieler erfindungsgemäßen Beispiele ist und die Erfindung keinesfalls auf eine spezielle Anordnung der oben beschriebenen optischen Mittel beschränkt ist. Insbesondere ist die Versuchsanordnung nicht auf die dargestellte Ausrichtung beschränkt. So kann das Licht anstelle von oben auch von unten links oder rechts kommen und die entsprechenden optischen Mittel entsprechend verschoben bzw. rotiert werden. Zudem ist die Reihenfolge der optischen Mittel nicht auf die dargestellte Ausführungsform beschränkt und kann entsprechend den gewünschten Eigenschaften zur Einstrahlung und Messung verändert werden. Anstelle der dargestellten Reflexion kann erfindungsgemäß auch eine Transmission gemessen werden. Ein Fachmann wird jedoch leicht erkennen, dass das erfindungsgemäße Verfahren zur Erzeugung von Konvektionen auch in einer solchen Transmissionsversuchsanordnung leicht implementiert werden kann. Auch wird in diesem Zusammenhang auf die Fig. 6 verwiesen, die eine zur Fig. 5 sehr ähnliche Versuchsanordnung zeigt, jedoch das Licht des IR-Lasers an einer anderen Stelle einstrahlt.

40 **[0083]** Figuren 2A und 2B zeigen beispielhaft den Einfluss der Orientierung eines eingestrahnten IR-Laserstrahls 30 relativ zur Gravitation auf die thermische Konvektion innerhalb einer Probenkammer 45, in der sich eine wässrige Lösung 50 mit darin gelösten Partikeln (nicht dargestellt) befindet. Eingezeichnet sind zudem die Geschwindigkeitsvektoren (Pfeile) und die Strömungslinien (Linien) der thermischen Konvektion 90.

50 **[0084]** Ist die Laserstrahlung wie in Fig. 2A dargestellt antiparallel zur Gravitation ausgerichtet, so verstärkt der Strahlendruck/Lichtdruck die thermische Konvektion, d.h. die Strömungsgeschwindigkeit ist höher als wenn die Laserstrahlung parallel oder senkrecht zur Gravitation ausgerichtet ist.

55 **[0085]** Ist die Laserstrahlung wie in Fig. 2B dargestellt parallel zur Gravitation ausgerichtet, so schwächt der Strahlendruck/Lichtdruck die thermische Konvektion ab, die Strömungsgeschwindigkeit ist geringer als wenn die Laserstrahlung antiparallel oder senkrecht zur Gravitation ausgerichtet ist.

[0086] Figuren 7A und 7B zeigen beispielhaft das Einstrahlen von Strahlung, vorzugsweise IR-Strahlung, beispielsweise von Laserstrahlung 30 in das mit einer wässrigen Lösung 50 gefüllte "Well" 45 einer Multiwellplatte, beispielsweise

einer 96er, 384er oder 1536er Well Multiwellplatte. Die eingestrahlte IR-Strahlung 30 erzeugt in der bestrahlten Probenkammer "Well" 45 eine thermische Konvektion 90.

[0087] In der **Fig. 7A** wird die IR-Strahlung 30 durch einen transparenten Boden 47 einer Multiwellplatte eingestrahlt.

[0088] In der **Fig. 7B** wird die IR-Strahlung 30 nicht durch den Boden, sondern direkt in die wässrige Lösung 50 in der Probenkammer "Well" 45 eingestrahlt, hier von oben. Beispielsweise kann diese Multiwellplatte einen nicht-transparenten Boden 48 haben, aber beispielsweise auch einen transparenten Boden oder auch einen teil-transparenten Boden.

[0089] **Figur 8** zeigt beispielhaft die Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens in einer konkreten Versuchsanordnung, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein. Wiederum sollen gleiche Bezugsziffern auf gleiche bzw. ähnliche Teile verweisen. Die Bezugsziffer 1a bezeichnet eine Lichtquelle die für die Messung verwendet wird. Beispielsweise kann es sich bei der Lichtquelle 1a um eine oder mehrere LED(s), um einen oder mehrere Laser und/oder um eine oder mehrere SLED(s) (superlumineszente LED) handeln. Die Bezugsziffer 1b bezeichnet eine Lichtquelle die für die Messung verwendet wird. Beispielsweise kann es sich bei der Lichtquelle 1b um eine oder mehrere LED(s), um einen oder mehrere Laser und/oder um eine oder mehrere SLED(s) (superlumineszente LED) handeln. Vorzugsweise hat die Lichtquelle 1b eine andere Wellenlänge bzw. einen anderen Wellenlängenbereich als die Lichtquelle 1a. Das Licht der Lichtquelle 1a und/oder 1b dient vorzugsweise dazu, eine zu untersuchende Probe 50 zu bestrahlen. Das von den Lichtquellen 1a und/oder 1b abgestrahlte Licht kann mittels bekannter optischer Mittel verändert werden, beispielsweise mittels einer Linse 26 und/oder eines (nicht dargestellten) Linsensystems oder einer (nicht dargestellten) Apertur oder eines Polarisationsfilters. Anschließend passiert das Licht der Lichtquelle 1a vorzugsweise einen Anregungsfilter 25, vorzugsweise ein Bandpassfilter, und das Licht der Lichtquelle 1b passiert vorzugsweise einen Anregungsfilter 24, vorzugsweise ein Bandpassfilter. Vorzugsweise hat der Anregungsfilter 24 einen anderen Transmissionsbereich als der Anregungsfilter 25. Bezugszeichen 23 verweist auf einen optionalen Detektorfilter, beispielsweise einen Bandpassfilter oder einen Langpassfilter oder einen Kurzpassfilter oder einen Dualpass oder Multipassfilter. Im Falle von Fluoreszenz kann der Filter 23 auch als Emissionsfilter bezeichnet werden.

[0090] Das Licht der beiden Anregungslichtquellen wird vorzugsweise kombiniert, beispielsweise mittels des Dichroidischen Spiegels 28 und anschließend vorzugsweise von einem weiteren Dichroidischen Spiegel 29 in Richtung Objektlinsensystem 38 reflektiert. Der Dichroidische Spiegel 29 wird vorzugsweise auch dazu verwendet das Anregungslicht vom Detektionslicht zu trennen. Nach der Reflektion am Dichroidischen Spiegel 29 passiert das Anregungslicht vorzugsweise einen weiteren Dichroidischen Spiegel 34 ("Hot Mirror") und wird anschließend vorzugsweise vom Objektlinsensystem 38 durch den transparenten Boden 47 der Multiwellplatte in die wässrige Lösung 50, in der Probenkammer 45, vorzugsweise ein "Well" einer Multiwellplatte, fokussiert. Dort regt das Anregungslicht die Fluoreszenz von fluoreszierenden Partikeln 105, beispielsweise Proteine mit intrinsischer Fluoreszenz und/oder fluoreszenzmarkierte Biomoleküle oder andere fluoreszierende Substanzen, an. Das Fluoreszenzlicht wird durch das Objektlinsensystem 38, vorzugsweise eine Linse, eine Kombination aus Linsen oder ein Mikroskopobjektiv, eingesammelt, passiert anschließend die Dichroidischen Spiegel 34 und 29, dann den Detektionsfilter 23, vorzugsweise eine Emissionsfilter, beispielsweise eine Bandpassfilter, Dualpassfilter oder Multipassfilter, und wird dann von einer Linse 17, beispielsweise eine Asphäre, auf den Detektor 19, beispielsweise eine Photodiode, ein PMT, eine CCD Kamera, eine CMOS Kamera, ein Diodenarray, eine Avalanche-Photodiode, fokussiert.

[0091] Mittels dieses Detektors können Intensität und/oder Phase und/oder zeitlicher Ablauf der Fluoreszenzintensität gemessen und dann elektronisch verarbeitet und abgespeichert werden.

[0092] Die infrarote Strahlung zur Erzeugung der thermischen Konvektion wird vorzugsweise mittels einer fasergekoppelten Infrarot-Lasers 32 erzeugt. Die Faser des Lasers wird beispielsweise mittels einer Fasereinkopplung 27, vorzugsweise mit kollimierender Funktionalität, in die Optik bzw. das Optische System eingekoppelt. Die infrarote Strahlung kann mittels bekannter optischer Mittel verändert werden, beispielsweise mittels einer Linse 26 und/oder eines (nicht dargestellten) Linsensystems oder einer (nicht dargestellten) Apertur oder eines Polarisationsfilters. Beispielsweise kann es durch die Linse 26, beispielsweise eine Asphäre, parallelisiert oder fokussiert werden. Anschließend wird die infrarote Strahlung durch den Dichroidischen Spiegel 34 ("Hot Mirror") in das Objektlinsensystem 38 gespiegelt. Das Objektlinsensystem 38 fokussiert dann die infrarote Strahlung 30 durch den transparenten Boden 47 der Multiwellplatte in die wässrige Lösung 50 der Probenkammer 45, vorzugsweise ein "Well" einer Multiwellplatte. Die Multiwellplatte ist vorzugsweise eine 96 Well Platte oder 384 Well Platte oder 1536 Well Platte. Dort erzeugt die infrarote Strahlung 30 je nach Fokussierung eine definierte thermische Konvektion 90 zur Durchmischung der Partikel 105 in der wässrigen Lösung 50.

[0093] Die Partikel sind beispielsweise Biomoleküle wie DNA, RNA, PNA, Proteine, Antikörper, Antigene, oder Small Molecules, Zellen, Viren, Bakterien, Mikrobeads, Nanobeads, Nanopartikel, Polymere, Peptide. Beispielsweise kann die Vorrichtung auch zur Detektion und Quantifizierung von Biomolekülaggregation beispielsweise der Aggregation von Proteinen oder therapeutischen Antikörpern eingesetzt werden.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Durchmischen von Flüssigkeiten (50) bzw. Partikeln mit einer Flüssigkeit (50) mit den Schritten:

- a. Bereitstellen eines Flüssigkeitsvolumens (50);
- b. Erzeugen einer thermischen Konvektions-Strömung an zumindest einer Oberfläche/Grenzfläche des Flüssigkeitsvolumens durch Einstrahlen von elektromagnetischer Strahlung (30) in das Flüssigkeitsvolumen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Flüssigkeitsvolumen (50)

- i) in einer Probenkammer (45) bereitgestellt wird, die offen oder geschlossen ist, vorzugsweise eine Mikrokavität ist und weiter bevorzugt eine Kapillare ist mit einem Innendurchmesser von 0,05 mm bis 0,8 mm, wobei die Kapillare vorzugsweise aus Glas hergestellt ist oder
- ii) als Tropfen auf einem Objektträger bereitgestellt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 2, Alternative i), wobei die Oberfläche des Flüssigkeitsvolumens die Grenzschicht zwischen Flüssigkeitsvolumen und einer Fläche der Probenkammer ist, oder Alternative ii), wobei die Oberfläche des Flüssigkeitsvolumens die Grenzschicht zwischen Flüssigkeitsvolumen und einer Fläche des Objektträgers ist.

4. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, wobei die Flüssigkeit (50) eine wässrige Lösung ist.

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die elektromagnetische Strahlung IR-Strahlung (30) aufweist, bzw. nur Wellenlängen im IR Bereich aufweist und vorzugsweise von einer LED oder einem Laser erzeugt wird.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Strahlung (30) parallel und/oder antiparallel zur Gravitation gerichtet ist und/oder eine Komponente enthält die senkrecht zur Gravitation ausgerichtet ist.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei mit der eingestrahlt Strahlung (30) ein Temperaturgradient von 0,001 K/ μm (=1 K/mm) bis 2 K/ μm (=2000 K/mm) erzeugt wird, und der erzeugte Temperaturgradient vorzugsweise in einem Bereich von 0,0001 mm² bis 12 mm² erzeugt wird.

8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei ein Detektionsbereich (80) zur Messung von Eigenschaften der Flüssigkeit bzw. der Partikeln in der Flüssigkeit von dem Bereich beabstandet ist, in dem die Strahlung (30) eingestrahlt wird, vorzugsweise mindestens 0.01 mm beabstandet ist.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei Strömungsgeschwindigkeiten innerhalb der Konvektions-Strömung von 0,0005 mm/s bis 2mm/s erzeugt werden.

10. Verfahren zur Untersuchung molekularer Wechselwirkungen an und/oder in einer dünnen Schicht (80) in einem Flüssigkeitsvolumen mit den Schritten:

- Bereitstellen mindestens eines Flüssigkeitsvolumens (50) mit darin vorhandenen Partikeln auf einem Objektträger oder einer Probenkammer (45) und Einstrahlen elektromagnetischer Strahlung in das Flüssigkeitsvolumen (50) gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche zur Erzeugung der thermischen Konvektions-Strömung,
- Messen einer spezifischen oder unspezifischen Wechselwirkung der Partikel mit einer Oberfläche/Grenzfläche einer Probenkammer bzw. eines Objektträgers,
- Charakterisierung der Wechselwirkung der Partikel anhand der Messung.

11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei eine Probenkammer (45) in Form einer Kapillare bzw. Multiwellplatte bzw. eines Mikrofluidikchip vorliegt.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 11, wobei

- i) die Messung der Wechselwirkung mittels Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS) erfolgt;
- ii) die Messung der Wechselwirkung mittels Oberflächen Plasmonen Resonanz (englisch Surface Plasmon Resonance, SPR) erfolgt;
- iii) die Messung der Wechselwirkung mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) erfolgt;

- iv) die Messung der Wechselwirkung mittels Quarzkristall-Mikrowaagen (Quartz Crystal Microbalance; QCM) erfolgt;
- v) die Messung der Wechselwirkung mittels akustischer Oberflächenwelle, (surface acoustic wave; SAW) erfolgt; oder
- vi) die Messung der Wechselwirkung mindestens ein Verfahren ist aus der Gruppe: Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIfS), Bio-Layer Interferometry (BLI), Oberflächen Plasmonen Resonanz (Surface Plasmon Resonance; SPR), Quarzkristall-Mikrowaagen (Quartz Crystal Microbalance; QCM), akustische Oberflächenwelle, kurz AOW, (surface acoustic wave; SAW), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Nanoporen oder Transistoren (Next Generation Sequencing).

13. Vorrichtung zum Durchmischen von Flüssigkeiten (50) bzw. Partikeln mit einer Flüssigkeit (50), insbesondere zur Durchführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 12 mit:

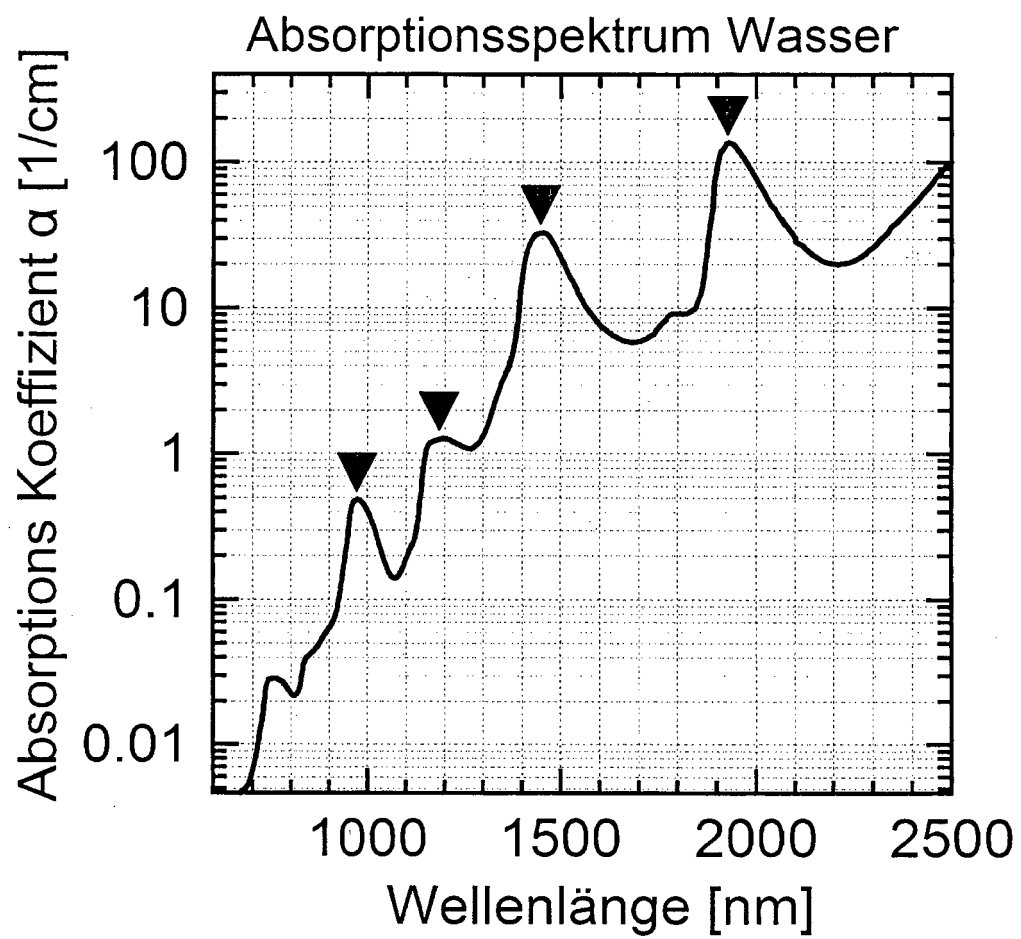
- a. einer Einrichtung zur Aufnahme eines Flüssigkeitsvolumens (50); und
- b. einer Quelle zum Emittieren von elektromagnetischer Strahlung (30);
- c. einer Einrichtung zum Einstrahlern der emittierten elektromagnetischen Strahlung (30) in das Flüssigkeitsvolumen.

14. Vorrichtung nach Anspruch 13, wobei die Einrichtung zur Aufnahme des Flüssigkeitsvolumens (50) eine Probenkammer (45) ist, die offen oder geschlossen ist, vorzugsweise eine Mikrokavität ist und weiter bevorzugt eine Kapillare ist mit einem Innendurchmesser von 0,05 mm bis 0,8 mm, wobei die Kapillare vorzugsweise aus Glas hergestellt ist, oder ein Objektträger ist.

15. Vorrichtung nach Anspruch 13 oder 14, wobei die Quelle zum Emittieren von elektromagnetischer Strahlung IR-Strahlung (30) emittiert, vorzugsweise nur Wellenlängen im IR Bereich emittiert und vorzugsweise einen Laser und/oder eine LED aufweist.

16. System mit einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 15, zusätzlich mit:

- einer Messeinrichtung zum Messen einer spezifischen oder unspezifischen Wechselwirkung der Partikel mit einer Oberfläche/Grenzfläche einer Probenkammer bzw. eines Objektträgers.

**Fig. 1**

(A) Laserstrahlung antiparallel zur Gravitation

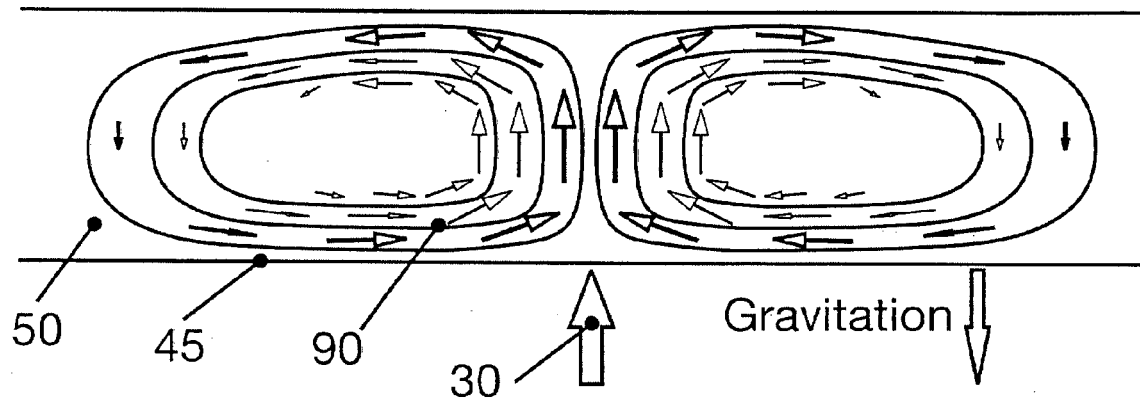


Fig. 2A

(B) Laserstrahlung parallel zur Gravitation

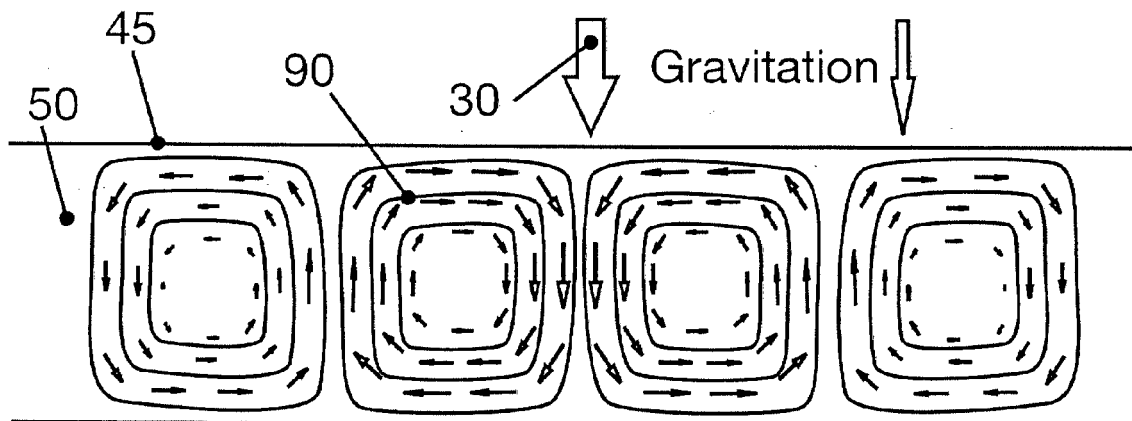


Fig. 2B

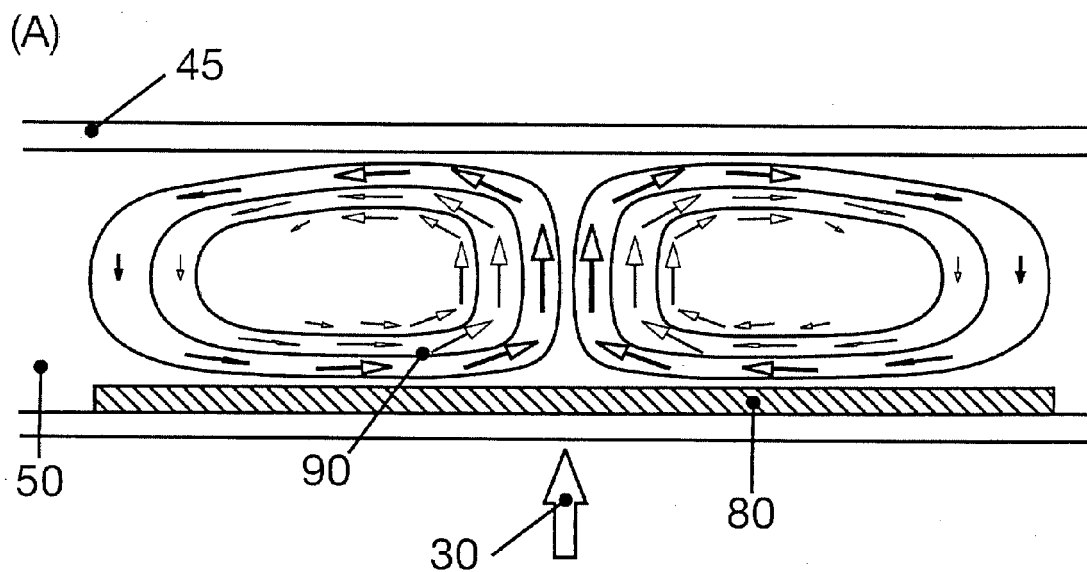


Fig. 3

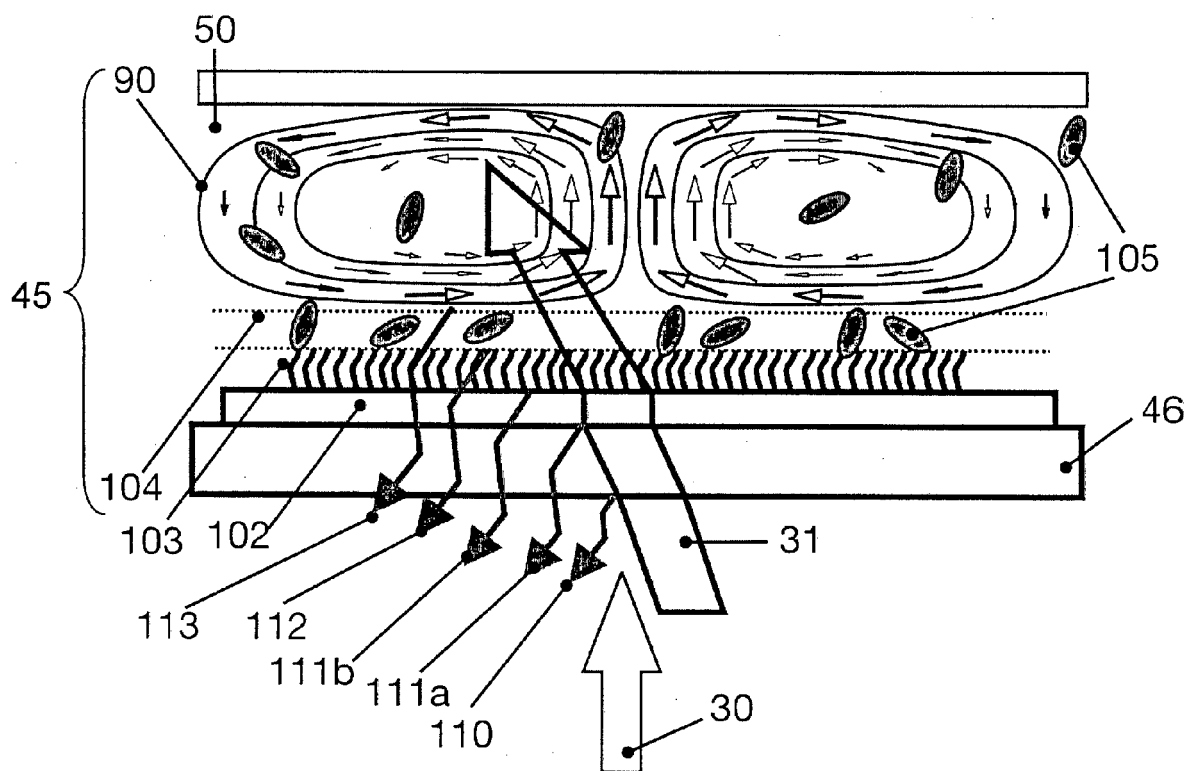


Fig. 4

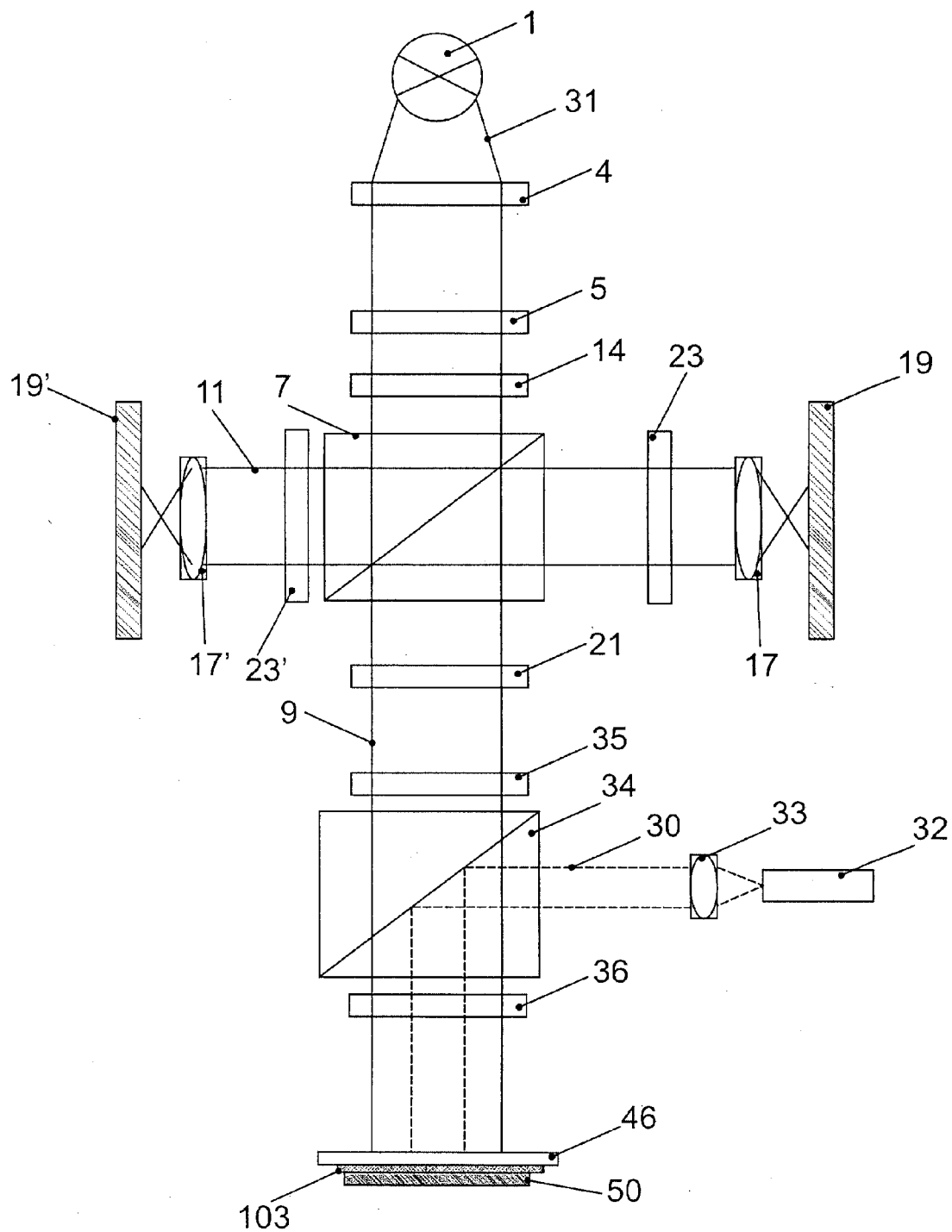


Fig. 5

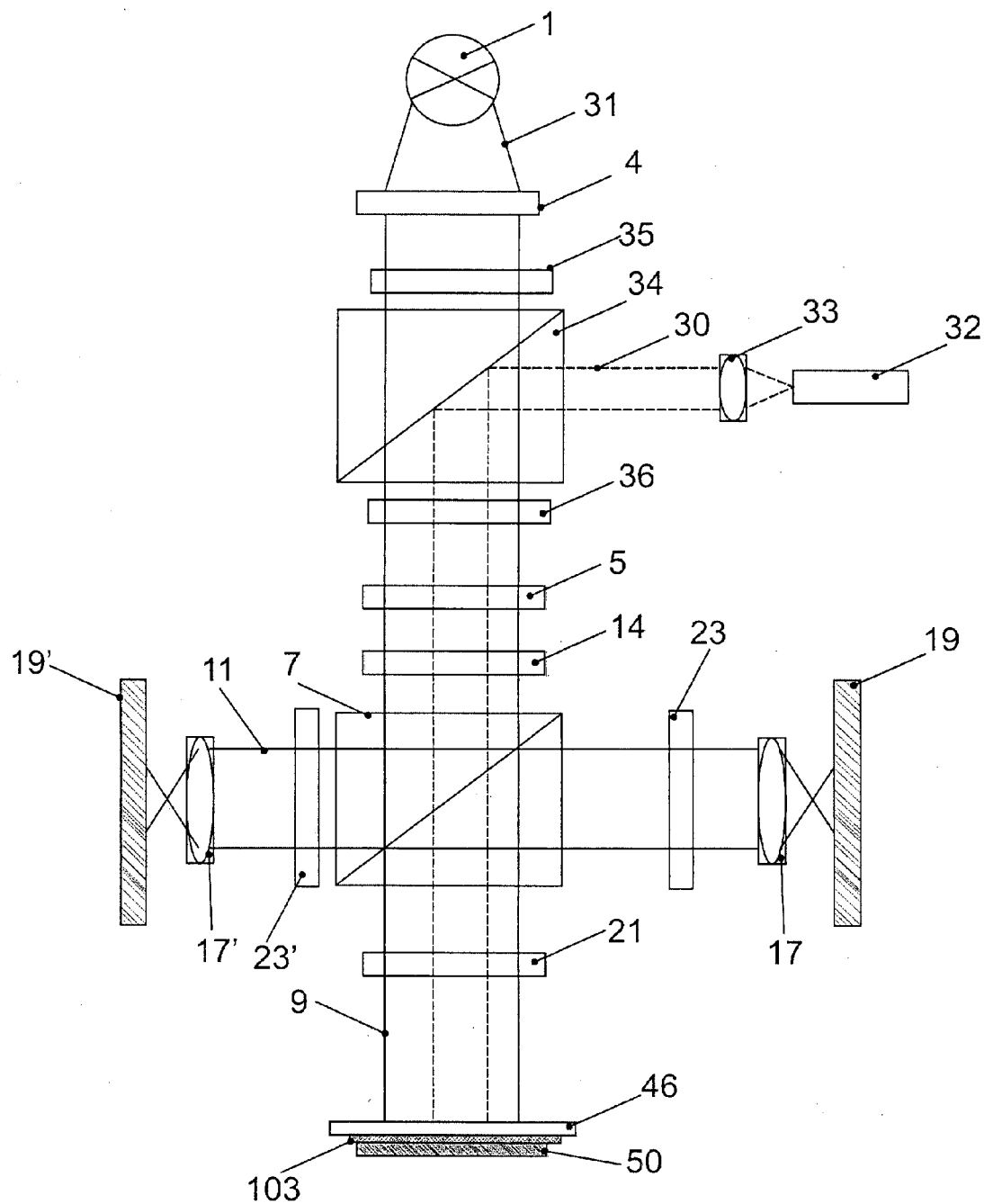
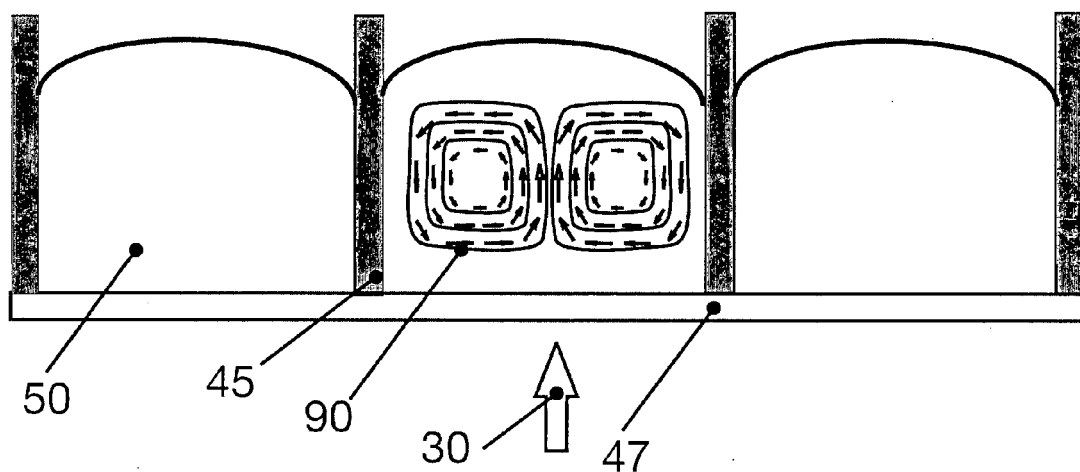


Fig. 6

(A) Multiwellplatte Bestrahlung durch Boden



(B) Multiwellplatte Bestrahlung direkt in Flüssigkeit

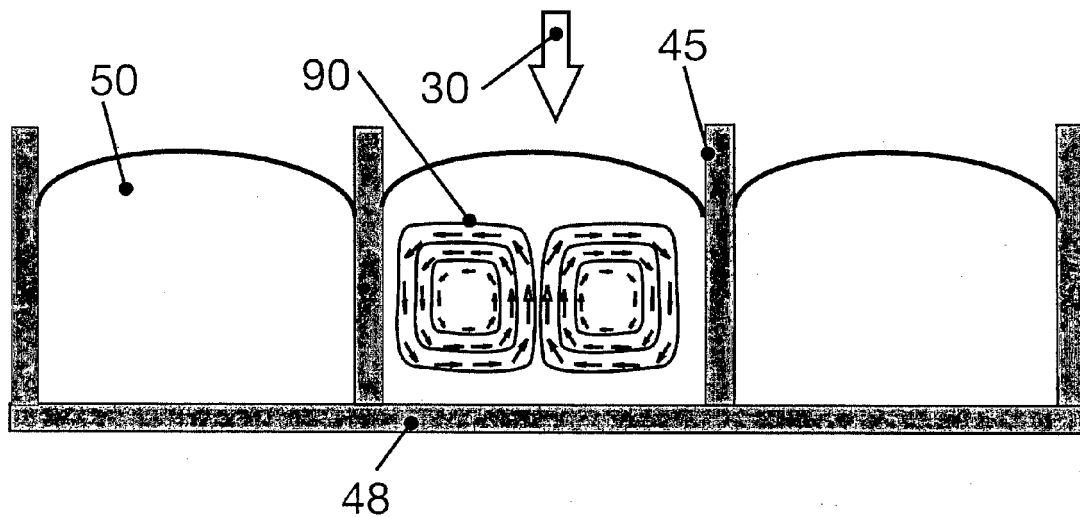


Fig. 7

Multiwellplatte Bestrahlung und Detektion durch Boden

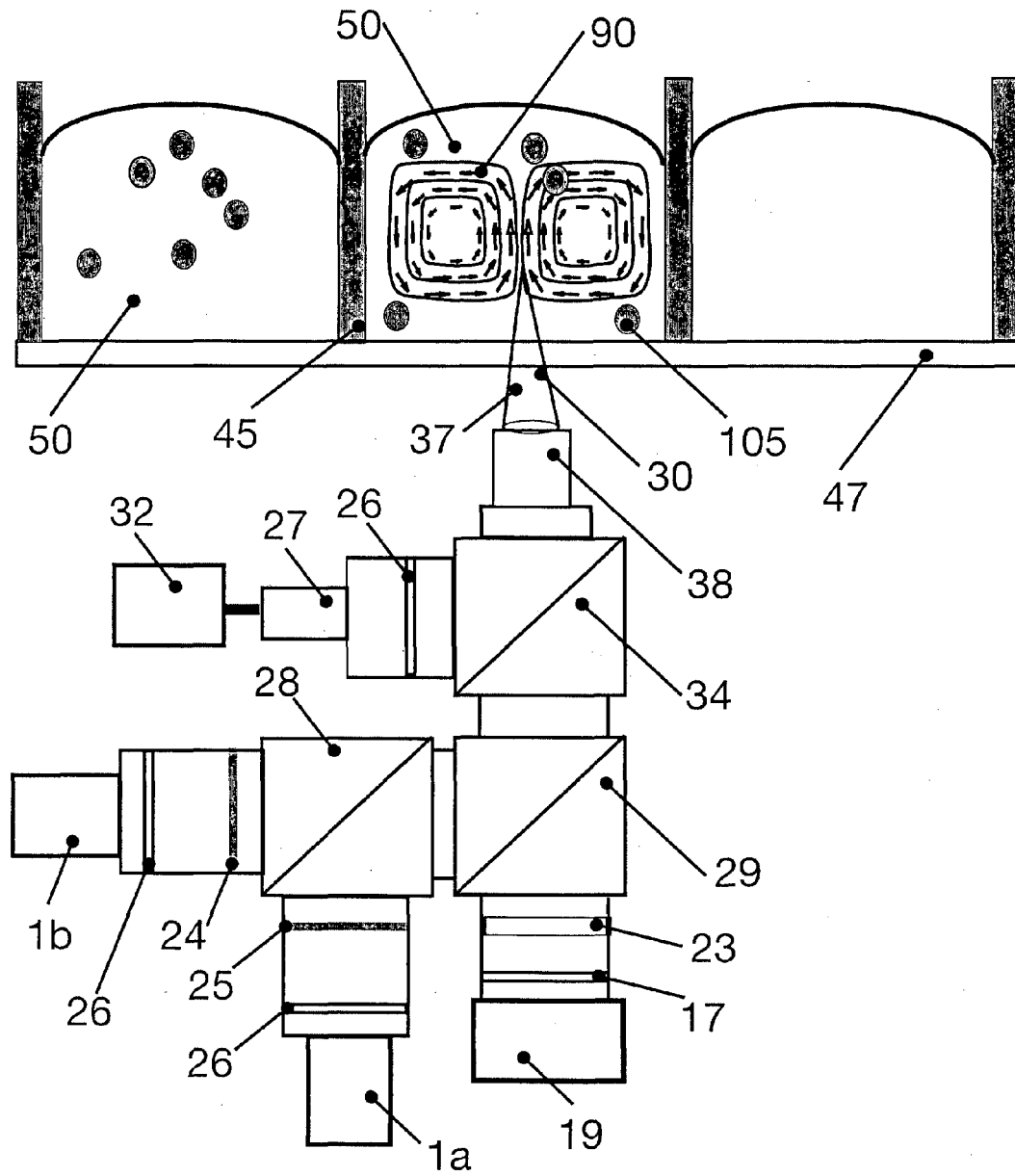


Fig. 8



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

 Nummer der Anmeldung
EP 14 16 2100

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	US 5 823 676 A (KHIJNIAK EVGUENI [US] ET AL) 20. Oktober 1998 (1998-10-20) * Spalte 1, Zeile 7 - Zeile 27 * * Spalte 2, Zeile 28 - Zeile 53 * * Spalte 3, Zeile 34 - Spalte 4, Zeile 21 * * Spalte 4, Zeile 40 - Spalte 5, Zeile 24 * * Spalte 6, Zeile 55 - Spalte 7, Zeile 13 * * Abbildungen *	1-16	INV. B01F13/00
X	EMIR VELA ET AL: "Non-contact mesoscale manipulation using laser induced convection flows", INTELLIGENT ROBOTS AND SYSTEMS, 2008. IROS 2008. IEEE/RSJ INTERNATIONAL CONFERENCE ON, IEEE, PISCATAWAY, NJ, USA, 22. September 2008 (2008-09-22), Seiten 913-918, XP031348450, ISBN: 978-1-4244-2057-5 * Zusammenfassung * * Seite 913, Spalte 2, Absatz 2 - Seite 914, Spalte 1, Absatz 2 * * Seite 915, Spalte 2, Absatz 7 - Seite 916, Spalte 2, Absatz 1 * * Abbildungen *	1-16	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) B01F B01L
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 25. Juli 2014	Prüfer Real Cabrera, Rafael
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, 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	

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

 Nummer der Anmeldung
 EP 14 16 2100

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	DUHR S ET AL: "Thermophoresis of DNA determined by microfluidic fluorescence", EUROPEAN PHYSICAL JOURNAL E. SOFT MATTER, EDP SCIENCES, IT, Bd. 15, Nr. 3, 1. November 2004 (2004-11-01), Seiten 277-286, XP002471678, ISSN: 1292-8941, DOI: 10.1140/EPJE/I2004-10073-5 * Zusammenfassung * * Seite 277, Spalte 1, Absatz 1 - Seite 278, Spalte 2, Absatz 3 * * Seite 280, Spalte 2, Absatz 4 - Seite 282, Spalte 1, Absatz 1 * * Abbildungen * -----	1-16	
A	US 7 968 117 B1 (MORRISON DENNIS R [US] ET AL) 28. Juni 2011 (2011-06-28) * Spalte 25, Zeile 32 - Zeile 67 * * Spalte 26, Zeile 35 - Zeile 54 * -----	1-16	
A	WO 2012/167221 A1 (UNIV WAYNE STATE [US]; BASU AMAR [US]; KAMALAKSHAKURUP GOPAKUMAR [US]) 6. Dezember 2012 (2012-12-06) * das ganze Dokument * -----	1-16	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort		Abschlußdatum der Recherche	
Den Haag		25. Juli 2014	
		Prüfer	
		Real Cabrera, Rafael	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
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		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, 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	

 1
 EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

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

EP 14 16 2100

5

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.

25-07-2014

10

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5823676	A	20-10-1998	KEINE		

US 7968117	B1	28-06-2011	KEINE		

WO 2012167221	A1	06-12-2012	US 2014150887	A1	05-06-2014
			WO 2012167221	A1	06-12-2012

20

25

30

35

40

45

50

55

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 10325307 B3 [0010]

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- *J. Mol. Recognit.*, 1999, vol. 12, 293-299 [0006]
- Blocking rebinding with soluble receptor. *J. Mol. Recognit.*, 1999, vol. 12, 293-299 [0006]