

(19)



(11)

EP 4 552 743 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
14.05.2025 Patentblatt 2025/20

(51) Internationale Patentklassifikation (IPC):
B01L 7/00 ^(2006.01) **B01L 9/06** ^(2006.01)

(21) Anmeldenummer: **24211668.9**

(52) Gemeinsame Patentklassifikation (CPC):
B01L 7/52; B01L 9/06; B01L 2200/025;
B01L 2200/147; B01L 2300/0829; B01L 2300/1805;
B01L 2300/1822; B01L 2300/1855

(22) Anmeldetag: **08.11.2024**

(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 ME MK MT NL
NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR**
Benannte Erstreckungsstaaten:
BA
Benannte Validierungsstaaten:
GE KH MA MD TN

(72) Erfinder:
• **Weidhase, Frieder**
01326 Dresden (DE)
• **Lehmann, Werner**
03205 Bronkow (DE)
• **Fischer, Gerd**
01809 Heidenau (DE)
• **Opperskalski, Stephan**
03205 Bronkow (DE)

(30) Priorität: **10.11.2023 DE 102023131381**

(74) Vertreter: **Gulde & Partner**
Patent- und Rechtsanwaltskanzlei mbB
Berliner Freiheit 2
10785 Berlin (DE)

(71) Anmelder: **Attomol GmbH Molekulare
Diagnostika**
03205 Bronkow (DE)

(54) **KOMPAKTER PRÄZISIONS-THERMOCYCLER MIT WÄRMESPEICHER UND VERFAHREN ZUR SCHNELLEN TEMPERIERUNG VON PROBEN**

(57) Die Erfindung betrifft einen kompakten Präzisions-ThermoCycler mit Wärmereservoir und ein Verfahren zur schnellen Temperierung von Proben zum beschleunigten, miniaturisierten Kühlen und Heizen vorzugsweise in der medizinischen Diagnostik und Bioanalytik.

Aufgabe ist es einen kompakten Präzisions-ThermoCycler mit Wärmereservoir und ein Verfahren zur schnellen Temperierung von Proben zu schaffen, wobei das Verfahren eine höhere Geschwindigkeit der PCR- bzw. mRNA-Analyse ermöglicht, präzisere genau definierbare schnell regelbare Temperaturverläufe garantiert, einfach handhabbar ist und sich energieökonomisch betreiben lässt.

Erfindungsgemäß ist im ThermoCycler ein erstes metallisches Wärmereservoir 1 angeordnet, so dass mittels einer Temperaturregelung und separaten Heizelementen, wie Peltier-Elemente 7, dieses auf eine optimierte Temperatur eingestellt werden kann. In dem ersten Wärmereservoir 1 sind Kavitätenleisten 10 angeordnet. In den Kavitätenleisten 10 sind wiederum durchgehend offene Probenaufnahmeöffnungen 14 oder planare

Auflagenflächen verteilt angeordnet. Auf diesem Wärmereservoir 1 können wahlweise ein, zwei oder mehrere Kühlblöcke 2 aufgebracht sein. Dabei sind das Wärmereservoir 1 und der/die Kühlblöcke 2 thermisch gekoppelt. Im Versorgungs- und Regelblock 3 ist ein Mikrorechner 4 integriert. An jeder Kavitätenleiste 10 sind ein, zwei oder mehrere geschlossene Kanäle oder thermisch angekoppelte Heat-Pipes 6 angeordnet. Im oder am Wärmereservoir 1 oder an den Kavitätenleisten 10 sind je ein, zwei oder mehrere Temperatursensoren 11 angeordnet. Alle Teile können auf einem zwei- oder dreiaxsig verfahrbaren geführten xyz-Objekttisch 12 sowie dem Objekttisch-Adapter 8 angeordnet sein. Beim Verfahren werden die Kavitätenleisten 10 kraftschlüssig mit Reaktionsräumen, die mindestens die Reaktionslösung und/oder eine Probe enthalten, bestückt. Die Temperierung erfolgt über wärmeschlüssig verbundene Wärmeleiter multidirektional zwischen Probe, Peltier-Element 7, Wärmereservoir 1 und einem Umgebungsmedium energiesparend, steuerbar transportiert, so dass während aufeinanderfolgender Heiz- und Kühlzyklen eine Rekuperation erfolgt

EP 4 552 743 A1

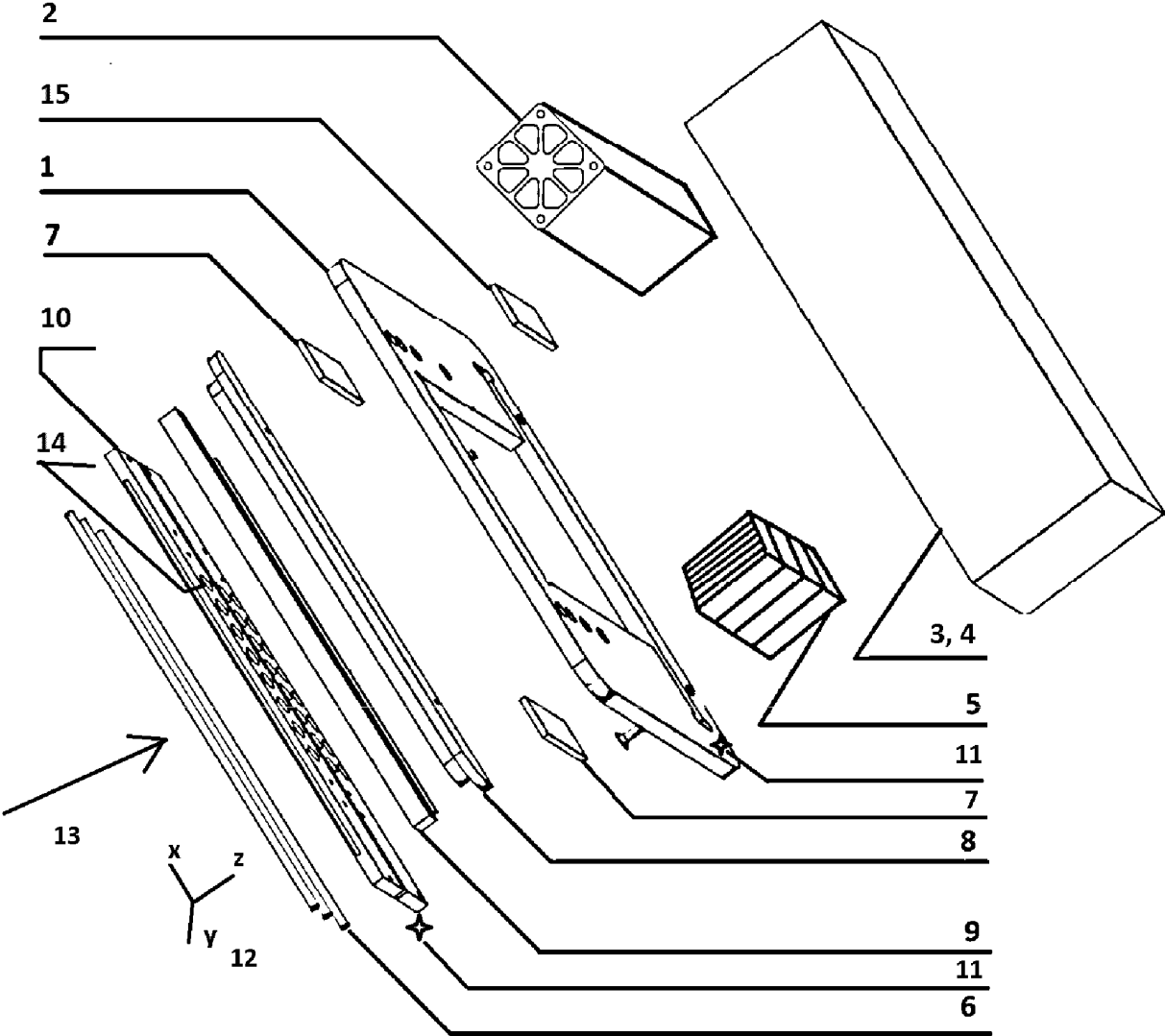


Fig. 1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft einen kompakten, schnellen, ThermoCycler mit Wärmereservoir und ein Verfahren zur schnellen Temperierung von Proben zum beschleunigten, miniaturisierten Kühlen und Heizen vorzugsweise in der medizinischen Diagnostik und Bioanalytik, insbesondere in der Fluoreszenzmikroskopie, um enzymatische Reaktionen und molekulare Interaktionen thermisch zu starten, zu steuern oder zu beenden. Beispielhaft ist hier die Polymerasekettenreaktion (PCR) benannt, welche Nukleinsäuren (Ribonukleinsäure [RNS/RNA], Desoxyribonukleinsäure [DNS/DNA]) - Abschnitte vervielfältigt und auf diese Weise dem Nachweis u. a. von Viren, Bakterien und bestimmten Genabschnitten, Messenger-RNA oder Micro-RNA dient.

[0002] Klassischerweise sind eine Reihe unterschiedlicher Anordnungen zum Aufbau von ThermoCyclern bekannt. Immer wieder wurden Lösungsideen zum beschleunigten, miniaturisierten Kühlen und Heizen publiziert, ohne dass der Wunsch nach noch höherer Geschwindigkeit sowie Präzision der Temperaturverläufe und die Exaktheit der Temperatursteuerung vollumfänglich erfüllt wurden. Zur Erhöhung der Geschwindigkeit wurden zur PCR-Analyse, sowie des damit einhergehenden Fertigungsaufwandes in der Vergangenheit zahlreiche Lösungen entwickelt und teilweise auch schutzrechtlich gesichert. So gibt es ULTRA FAST PCR -Geräte, welche dünne Röhrchen oder Kanäle in Verbindung mit temperierten Flächen zur Wärmeübertragung einsetzen. Solche sind beispielsweise unter der Adresse <https://www.nextgenpcr.com/> im Internet zu finden.

[0003] Ein weiterer Lösungsansatz nutzt nano-Partikel zur Umhüllung der PCR- bzw. mRNA-Substanz und zu deren abwechselnder schneller Kühlung und Erwärmung. Dies ist zu finden unter der Adresse https://www.eurekalert.org/pub_releases/2020-12/ifbs-doh120720.php.

[0004] Schnelle Temperaturwechsel lassen sich des Weiteren auch mit geeigneten zirkulierenden kalten und warmen Flüssigkeiten erreichen, wie in der Lösung gemäß der EP 000002535427 A2 vorgeschlagen.

[0005] Als sogenannter Goldstandard hat sich der Einsatz von Peltier-Elementen zum Heizen und Kühlen etabliert, da sich damit die Temperaturverläufe und die Exaktheit der Temperatursteuerung am besten beherrschen lassen. Der Einsatz von Peltier-Elementen, welche sich seit langem bekanntermaßen durch hervorragende Regelbarkeit auszeichnen, ist bereits seit 1987 aus dem Patent US 4,639,883 bekannt. Eine andere bekannte Lösung besteht im Einsatz diskreter Peltier-Elemente, welche nach dem Stand der Technik mittels Wärmeleitpasten oder Wärmeleitklebern mit den weiteren separaten Komponenten des ThermoCyclers verbunden sind. So setzt beispielsweise die EP 1 090 141 B1 einen Heizblock und separate Peltier-Elemente sowie einem Kühlkörper ein. Für klassische ThermoCycler wurden verschiedene physikalische Effekte zum Heizen und

Kühlen vorgeschlagen, welche teilweise auch großtechnisch genutzt werden. Im Zuge des Wunsches nach immer kürzeren Zeiten des Amplifikationszeitraums er mangelt es insbesondere neueren, relativ schnell arbeitenden Lösungen trotzdem an Sensitivität und präziser Quantifizierbarkeit.

[0006] In der CN111521805 B ist beispielsweise als anderweitige technische Lösung ein neuartiges 2019-Coronavirus-Antigen-Nachweisreagenz und ein zugehöriges Herstellungsverfahren beschrieben. Das Nachweisreagenz besteht aus einem Probenpad, einem Konjugatpad, einer NC-Membran und einem Absorptionspad. Das Produkt ist einfach und bequem zu bedienen, hat eine kurze Erkennungszeit, eine hohe Empfindlichkeit und eignet sich gut für groß angelegte Voruntersuchungen primärer medizinischer Einrichtungen und zentraler Ausbruchsgebiete epidemischer Situationen. Allerdings ist die isothermale Amplifikation weniger empfindlich als die diagnostischen klassischen quantifizierbaren QPCR-Tests. Weiterhin ist bei derartigen Tests nachteilig, dass die falsch-negativen Ergebnisse relativ hoch sind und keine quantitativen Ct-Werte geliefert werden.

[0007] Ein anderer Schnelltest nach der isothermalen DNA-Amplifikation ist aus der US7829691 B2 bekannt. Dabei erfolgt eine zielspezifische Hybriderfassung (TSHC) als eine Nukleinsäure-Nachweismethode, die nicht nur schnell und empfindlich ist, sondern auch hochspezifisch und in der Lage ist, hoch homologe Nukleinsäure-Zielsequenzen zu unterscheiden. Die Methode erzeugt DNA/RNA-Hybride, die mit verschiedenen Methoden nachgewiesen werden können. Diese isothermale PCR-Testung ist weniger empfindlich als die diagnostischen klassischen quantifizierbaren QPCR-Tests. Falsch-negative Ergebnisse liegen dabei im Bereich von 5%.

[0008] Als weitere Literaturstellen zum Stand der Technik werden folgende genannt:

1. Rödiger, S, Schierack, P, Böhm, A, Nitschke, J, Berger, E, Frömmel, U, Schmidt, C, Ruhland, M, Schimke, I, Roggenbuck, D, Lehmann, W and Schröder, C (2012) A Highly Versatile Microscope Imaging Technology Platform for the Multiplex RealTime Detection of Biomolecules and Autoimmune Antibodies. Adv Biochem Engin/Biotechnol. DOI: 10.1007/10_2011_132
2. Rödiger, S, Lehmann, W, Schröder, C, Schierack, P (2013) Bead-Technologien. Mikropartikelsysteme für die Nukleinsäurediagnostik. BIOSpektrum, 153-156.
3. Hanschmann, H, Rödiger, S, Kramer, T, Hanschmann, K, Steidle, M, Fingerle, V, Schmidt, C, Lehmann, W, and Schierack, P (2021) LoopTag FRET Probe System for Multiplex qPCR Detection of Borrelia Species. Life 2021, 11, 1163. <https://doi.org/10.3390/life11111163>

[0009] Der Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, einen kompakten Präzisions-ThermoCycler mit Wärmereservoir und ein Verfahren zur schnellen Temperierung von Proben, d. h. zum schnellen, miniaturisierten Kühlen und Heizen zu schaffen, wobei der ThermoCycler eine lange Lebensdauer besitzt, das Verfahren eine höhere Geschwindigkeit der PCR- bzw. mRNA-Analyse ermöglicht, präzisere genau definierbare schnell regelbare Temperaturverläufe garantiert, die Exaktheit der Temperatursteuerung verbessert, der ThermoCycler ein kleines Volumen beansprucht, einfach handhabbar ist, welcher sich energieökonomisch betreiben lässt und welcher sich insbesondere in der Fluoreszenzmikroskopie einsetzen lässt.

[0010] Die Aufgabe wird mit den Merkmalen des Oberbegriffs und des kennzeichnenden Teils des ersten und vierzehnten Patentanspruches gelöst. Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den abhängigen rückbezüglichen Unteransprüchen beschrieben. Erfindungsgemäß ist in dem neuartigen kompakten Präzisions-ThermoCycler zum beschleunigten, miniaturisierten Kühlen und Heizen in der medizinischen Diagnostik ein erstes metallisches Wärmereservoir 1, welches in der Regel als plattenförmige Trägerbasis ausgebildet ist, eingebaut und angeordnet, so dass mittels einer Temperaturregelung und separaten Heizelementen, wie Peltier-Elemente 7, dieses auf eine optimierte Temperatur (z.B. 40° C) eingestellt werden kann. In dem ersten Wärmereservoir 1 sind eine, zwei oder mehrere Kavitätenleisten 10 angeordnet. In den Kavitätenleisten 10 sind wiederum mehrere durchgehend offene Probenaufnahmeöffnungen 14 oder planare Auflagenflächen verteilt angeordnet. Auf diesem Wärmereservoir 1 können wahlweise mindestens ein, zwei oder mehrere Kühlblöcke 2 aufgebracht sein. Dabei sind das Wärmereservoir 1 und der/die Kühlblöcke 2 thermisch gekoppelt. In dem Versorgungs- und Regelblock 3 ist mindestens ein Mikrorechner 4 integriert. Im Inneren jeder Kavitätenleiste 10 oder anordenbaren Entwärmungsleisten sind ein, zwei oder mehrere thermisch angekoppelte Heat-Pipes 6 angeordnet. Das Wärmereservoir 1 ist direkt mit einer flächigen Seite der Peltier-Elemente 7 verbunden. Die andere flächige Seite der Peltier-Elemente 7 ist thermisch direkt mit den Kavitätenleisten 10 verbunden. Im oder am Wärmereservoir 1 und an den Kavitätenleisten 10 sind je ein, zwei oder mehrere Temperatursensoren 11 angeordnet. Das erste Wärmereservoir 1 oder weitere angeordnete Wärmereservoires können in Richtung eines verfahrbaren xyz-Objekttisches 12 thermisch isoliert ausgebildet sein. Bei mehreren angeordneten Kavitätenleisten 10 können verschiedene Temperaturzonen ausbildbar sein. Die Kavitätenleisten 10 anderer Temperaturzonen werden durch einen Isolator 9, welcher streifenförmig ausgebildet sein kann, voneinander getrennt sein. Alle Teile sind auf einem zwei- oder dreiaxsig verfahrbaren geführten Objektisch-Adapter 8 angeordnet.

[0011] Erfindungsgemäß können beim kompakten Präzisions-ThermoCycler neben dem ersten Wärmere-

servoir 1 bevorzugt auch ein zweites Wärmereservoir 5 oder zusätzliche weitere Wärmereservoires angeordnet werden, um die Thermozyklen an eine erforderliche probenspezifische möglichst schnelle Temperierung anzupassen.

[0012] Vorteilhafterweise kann die erfindungsgemäße Lösung auf zwei- oder dreiaxsig verfahrbaren xyz-Objekttische 12 oder Objektisch-Adapter 8 marktüblicher Fluoreszenzmikroskope oder eines Pipettierautomaten in Kopplung mit einem Fluoreszenzmikroskop mit Blickrichtung 13 aufgesetzt werden.

[0013] Des Weiteren besteht das erste Wärmereservoir 1 und/oder die Kavitätenleiste 10 aus schnell wärmeleitenden Materialien wie aus Silber, Kupfer oder Aluminium und das zweite Wärmereservoir 5 besteht aus Nichtmetallen mit Phasenübergang (PCM-Material), welches eine hohe Wärmespeicherefähigkeit besitzt und mit einer vergrößerten Oberfläche ausgebildet ist.

[0014] Beim kompakten Präzisions-ThermoCycler sind die durchgehend offenen Probenaufnahmeöffnungen 14 in der/den Kavitätenleisten 10 kegelförmig ausgebildet, wobei in diese transparente, thermostabile Reaktionsgefäße mit planarem Boden kraftschlüssig einsteckbar sind oder auf die planare Auflagefläche transparente, planare, thermostabile Objektträger oder Biochips auflegbar sind. Das ermöglicht die Analyse unterschiedlichster Proben mit verschiedenen Arten von Probenbehältern.

[0015] In einer besonderen Ausführung kann über der/den Kavitätenleisten 10 eine beheizbare Beschwerungsplatte angeordnet werden, um einer Kondensatbildung entgegen zu wirken.

[0016] Beim kompakten Präzisions-ThermoCycler bestehen das oder die Peltier-Elemente 7 aus Keramik- oder Metall-Platten, welche durch Löten, Kleben oder Pressen mit der/den Kavitätenleisten 10 und andererseits zum Wärmereservoir 1 zur Gewährleistung eines schnellen und verlustarmen Wärmefflusses kraft- und wärmeschlüssig verbunden sind. Vorteilhafterweise ist zwischen den verschiedenen Temperaturzonen eine zusätzliche Isolation 9 anzuordnen.

[0017] Es ist möglich, dass im Inneren der Kavitätenleiste 10, des Wärmereservoirs 1, oder anordenbaren Entwärmungsleisten Wärmeleiter Heat-Pipes 6, Wärmeisolierten, Wärmeleitpasten, Heat-Spreader und/oder Vapor-Chambers eingebettet werden.

[0018] Beim erfindungsgemäßen kompakten Präzisions-ThermoCycler können bei Bedarf beidseitig der Kavitätenleisten 10 Peltier-Elemente 7 angeordnet werden um den Wärmeeintrag oder die Wärmeabführung zu verbessern.

[0019] Vorteilhafterweise können beim kompakten Präzisions-ThermoCycler eine oder mehrere Kavitätenleisten 10 eine Temperaturzone bilden, welche streifenförmig verteilt sind und durch thermische Isolatoren 9 voneinander getrennt sind. Im Inneren einer Kavitätenleiste 10 können mehrere Heat-Pipes 6, Heat-Spreader und/oder Vapor-Chambers eingebettet sein, um den

Wärmeübergang zum Wärmereservoir 1 und die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Wärmeströme beim Heizen und Kühlen zu beschleunigen.

[0020] Kompakte Präzisions-ThermoCycler können in einer Gerätekonfiguration mit einem automatisierten inversen oder aufrechten Licht- oder Fluoreszenzmikroskop arbeiten, wobei die Gerätekonfiguration aus einem kompakten Präzisions-ThermoCycler mit angeordneten Mikroskopadapter, einer licht- oder fluoreszenzmikroskopischen Optik, einer Kamera, einem zwei oder dreiaxsig verfahrbaren, motorisierten xyz-Objekttisch 12 und einer verbundenen und angeschlossenen Steuer- und Auswertesoftware besteht, um Proben automatisiert in Abstimmung mit dem vollautomatischen Mess- und Auswerteprozess zu temperieren.

[0021] Kompakte Präzisions-ThermoCycler können in einer Gerätekonfiguration mit einem automatisierten inversen oder aufrechten Licht- oder Fluoreszenzmikroskop arbeiten, wobei eine vorgelagerte Station zur Probenbestückung in die Kavitäten (Probenaufnahmeöffnungen 14), eine Transportvorrichtung (Tray, Fließband) zum gezielten Verfahren und Positionieren eines, oder zweier oder mehrerer kompakter Präzisions-ThermoCycler angeordnet ist und zur Analyse eine zweite Station mit mindestens einem Mikroskop, und einer Auswerteeinrichtung, wie bzw. einer Kamera ausgestattet ist.

[0022] Beim erfindungsgemäßen Verfahren zur schnellen und präzisen Temperierung von Proben in Reaktionsräumen zur Durchführung und Auswertung von Polymerasekettenreaktionen (PCR-Tests) mit einem kompakten Präzisions-ThermoCycler werden die Kavitätenleisten 10 kraftschlüssig mit Reaktionsräumen, die mindestens die Reaktionslösung und/oder eine Probe enthalten, bestückt. Die Temperierung erfolgt über wärmeschlüssig verbundene Wärmeleiter multidirektional zwischen Probe, Kavitätenleiste 10, Peltier-Element 7, Wärmereservoir 1 und einem ggf. zweiten Wärmereservoir 5 energiesparend und steuerbar, so dass während aufeinanderfolgender Heiz- und Kühlzyklen eine Rekuperation erfolgt. Dadurch ist es möglich, dass bedarfsangepasst Wärme beschleunigt passiv oder aktiv an ein Umgebungsmedium, wie beispielsweise die Umgebungsluft abgegeben werden kann. Im Prinzip kann aber auch unter einem anderen Schutzmedium analysiert werden. Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren werden Reaktionslösungen, Reaktionsgele, Reaktionsfestkörper oder Reaktionsgase thermocyclisch, isothermal oder durch einen Temperaturgradienten qualitativ und quantitativ schnell temperiert, um chemische und oder enzymatische Reaktionen, Kristallisationen, molekulare Interaktion bzw. Konformationsänderungen, das Wachstum von Zellen, Geweben oder

[0023] Mikroorganismen, Fluoreszenzmessvorgänge, Phasenübergänge, Lösungsvorgänge, Ablösungsvorgänge, Hybridisierungen oder Dehybridisierungen, Antikörper-/Antigenbindungen bzw. -dissoziationen thermisch zu starten, zu steuern oder zu beenden. Der

erfindungsgemäße kompakte Präzisions-ThermoCycler ermöglicht es, Reaktionslösungen thermisch zu starten, geeignet zu steuern oder verfahrensgenau zu beenden, um Polymerasekettenreaktionen, Ligasekettenreaktionen, isothermale Nukleinsäureamplifikationen, sowie Schmelzkurvenanalysen von Nukleinsäuren und Proteinen durchzuführen. Im integrierten Mikrorechner 4 ist eine Steuerungssoftware mit umfassenden Algorithmen hinterlegt, welche das Verfahren so steuert, dass die Wärme sehr verlustarm und schnell aus dem Wärmereservoir 1 über das Wärmeleitsystem und aus dem Peltier-Element 7 in die Probe eingetragen und wieder zurück in das Wärmereservoir 1 oder die jeweils angeordneten Wärmereservoire abgeführt werden kann, um schnelle Thermozyklen in der Probe möglichst energiesparend zu realisieren.

[0024] Vorteilhafterweise wird beim erfindungsgemäßen Verfahren das Wärmereservoir 1 und 5 auf eine Temperatur zwischen dem oberen Temperaturniveau (Denaturierung bei 94-96° C) und der Raumtemperatur (bei 25° C) eingestellt und die geringen zu überbrückenden Temperaturdifferenzen werden mittels Peltier-Elementen 7 geregelt.

[0025] Der Vorteil der erfindungsgemäßen Lösung liegt insbesondere darin, dass die beim Betrieb der Peltier-Elemente 7 auftretende Verlustwärme nicht wie bisher bei jedem Zyklus durch intensives Kühlen abgeführt wird, sondern direkt im ThermoCycler zwischen gespeichert wird, denn es ist aufwendig und teuer, größere Wärmemengen immer wieder abzuführen (Kühlen) und nachfolgend erneut wieder zuzuführen (Heizen). Diese Wärmeströme zum Wärmereservoir 1 hin und vom Wärmereservoir 1 weg in Verbindung mit einer direkten Zwischenspeicherung verringern die zum Betrieb erforderliche Energie erheblich, so dass ein Rekuperationseffekt auftritt. Neben einer Energieeinsparung kann die gesamte Anordnung zudem erheblich verkleinert und sehr kompakt ausgeführt werden. Außerdem verringert sich durch die offenbarte Erfindung die thermische Materialbelastung aller Komponenten insbesondere der Peltier-Elemente 7. Neben dem Nutzen durch Energie- und Kosteneinsparung vergrößert sich zusätzlich die Lebensdauer, wenn der kompakte Präzisions-ThermoCycler in ein durch ein Gehäuse geschlossenes mikroskopisches Messinstrument integriert wird, welches bekanntermaßen empfindlich auf Temperaturschwankungen reagiert. Je höher der Energieeintrag in das Messgerät ausfällt, umso aufwändiger wird die aktive Kühlung des Messgerätes durch zusätzliche Kosten bei der Konstruktion und des Betriebs. Im Routinelabor sind die negativen Auswirkungen auf das Arbeitsumfeld durch Abwärme und Lüftergeräusche wohlbekannte Störungen.

[0026] Durch die erfolgte Verkleinerung der von den Peltier-Elementen zu überstreichenden Temperaturunterschiede steigt deren Wirkungsgrad. Das Wärmereservoir 1 kann in einfacher Art und Weise auf eine optimierte Temperatur eingestellt werden. Die optimale Temperatur

(z.B. 40°C) ergibt sich jeweils aus der Dauer der Heiz- und Kühlzyklen sowie den erforderlichen Temperaturdifferenzen unter dem Aspekt eines minimalen Wärmetransfers. Der Effekt der Rekuperation entfaltet seine Wirkung vor allem bei optimaler Temperaturregelung, d. h. bis zu dem vom Wirkungsgrad der Peltier-Elemente 7 begrenzten Maß beim Kühlen.

[0027] Ein weiterer wesentlicher Vorteil ist, dass die beim Kühlen auftretenden Verlustleistungsspitzen schnell in ein metallisches (beispielsweise aus Silber, Kupfer oder Aluminium) Wärmereservoir 1 abgeführt werden können. Im Bestreben nach noch schnelleren Temperaturwechseln kann eine weitere Steigerung der Wärmespeicherkapazität durch Einsatz eines zweiten Wärmereservoirs 5, bestehend aus PCM-Material (Phase Change Material), erreicht werden. Hierbei nimmt das metallische Wärmereservoir 1 insbesondere die kurzzeitigen Leistungsspitzen schnell auf, während das zweite PCM-Wärmereservoir 5 relativ größere Wärmemengen zwischenspeichert. Dabei ergibt sich ein insgesamt besseres Leistungs-/ Masse-Verhältnis, da das PCM-Material gegenüber metallischen Ausführungen im relevanten Temperaturbereich wesentlich mehr Wärmeenergie auf- bzw. abgeben kann.

[0028] Das PCM-Material lässt sich jeweils nach der optimal erforderlichen Wärmereservoir-Temperatur auswählen. Um trotz der langsameren Wärmespeicherung im zweiten Wärmereservoir 5 genügend Energie aus dem ersten Wärmereservoir 1 abzuleiten, wird die Kontaktfläche zwischen beiden Reservoiren erhöht, indem Metallzapfen oder -rippen des ersten Wärmereservoirs 1 weit in das PCM hineinreichen. Das metallische erste Wärmereservoir 1 bestimmt maßgeblich die Geschwindigkeit und Wirksamkeit der Gesamtanordnung.

[0029] Darüber hinaus kann die Wärmeausbreitungsgeschwindigkeit durch ein System von miteinander verbundenen Wärmeleitern durch Einsatz von Heat-Pipes 6, Heat-Spreaders, Wärmefolien oder Vapor-Chambers und metallischen konstruktiven Elementen, wie die Kavitätenleisten, metallische Peltierelemente, Lötverbindungen wesentlich beschleunigt werden. Zum kompletten Aufbau des ThermoCyclers gehören die Führung zum verfahrbaren Objektisch-Adapter 8, Befestigungselemente und der Isolation zwischen den Temperaturzonen 9 und mehrere Kavitätenleisten 10. Außerdem kann noch eine thermische Isolation in Richtung des xyz-Objektisches 12 angeordnet sein, damit beispielsweise ein Mikroskop nicht erwärmt wird.

[0030] Die kompakte Bauweise und die geringen Abmessungen erlauben den einfachen Einsatz in einer Vielzahl handelsüblicher Mikroskope. Im erfindungsgemäßen Verfahren erfolgt die Kombination bevorzugt mit automatisierten Mikroskopen, so dass die Temperierung und der Messprozess vollautomatisch softwaregesteuert und aufeinander abgestimmt ausgeführt werden kann. Neben der bevorzugten mikroskopischen Auswertung der Probe ist es ebenso möglich, den kompakten Präzisions-ThermoCycler selbst mit entsprechender Mess-

technik basierend auf optischer oder elektrischer Sensorik zu versehen. Diese Messtechnik kann vollständig integriert werden, wird aber bevorzugt über den Mikroskopadapter als unabhängiges Readermodul angeschlossen.

[0031] Die Kombination der schnellen thermocyclischen Temperierung von Reaktionsräumen mit der Mikroskop-optischen Auswertung und insbesondere der Mehrfarben-Fluoreszenzmikroskopie erlaubt eine Reihe von Untersuchungen an mikroskopischen Strukturen bei gleichzeitiger Temperierung des Reaktionsraumes und somit auch der Mikrostrukturen, die bislang nicht möglich oder zumindest nicht optimal möglich waren. Dies betrifft insbesondere fluoreszenzgekoppelte, thermocyclische oder isothermale Reaktionen wie Multiplex-Realtime-PCR oder LAMP auf Biochips und Beadassays z.B. zum Nachweis verschiedener Mikroorganismen oder molekularer Tumormarker. Solche Multiplex-Nachweise können zusätzlich mit Schmelzkurvenanalysen kombiniert werden, um die Bindungsstärke von Analyten wie z.B. die Avidität von Antikörpern zu messen oder um Single Nucleotid Polymorphisms (SNP) in Genen zu analysieren. Zur Durchführung von Schmelzkurvenanalysen werden Stufengradienten oder lineare Gradienten bei gleichzeitiger stufenweiser oder kontinuierlicher Auswertung der Reaktion angewendet. Durch das offenbarte Verfahren der Kopplung der eversen oder bevorzugt der inversen Mehrfarben-Fluoreszenzmikroskopie mit einer thermischen Reaktionsführung können Zellen, Gewebe bzw. Biomoleküle einzeln oder kombiniert in Multiplexsystemen bis hin zur Einzelmolekülauflösung, also der optischen Auflösung von Nanostrukturen, untersucht werden. Es ist ebenso möglich, die Mikroskopoptik so einzusetzen, dass die o.g. Reaktionen wahlweise auch summativ ohne optische Auflösung der Mikro- und Nanostrukturen im Reaktionsraum gemessen werden können. Alternativ ist es möglich, die Auswertung ähnlich, wie beim Stand der Technik im einfachsten Falle durch eine Kombination von LED, optischen Filtern und Photodioden durch eine einfache Fluoreszenzoptik zu gestalten und in Kombination mit der erfindungsgemäßen Lösung und dem zugehörigen erfindungsgemäßen Verfahren zur schnellen Temperierung von Proben z.B. PCR-Tests oder isothermale Amplifikationsreaktionen, ohne bildgebende und bildanalysierende Verfahren anzuwenden und auszuwerten.

[0032] Der Gedanke der bildgebenden Auswertung thermozyklisch gesteuerter Reaktionen wurde erstmals von Lehmann et al. (EP2167964) beschrieben und als Funktionsmuster von Rödiger et al. (2012) am Beispiel eines Einkavitätenzyklers umgesetzt. Für das moderne molekularbiologische Labor ist die Auswertung einzelner Proben jedoch nicht ausreichend, um im Routinebetrieb eingesetzt werden zu können. Rödiger et al. (2013) konnten zeigen, dass es möglich war, mit erheblichem konstruktiven Aufwand bei der Wärmeabführung durch externe Kühlkörper einen ThermoCycler für eine Kavitätenleiste mit 8 Kavitäten konstruktiv und baulich umzu-

setzen. Diese Art des Wärmemanagements schloss jedoch eine weitere Integration von mindestens drei jeweils 8 Kavitäten umfassenden Kavitätenleisten in einem ThermoCycler aus. Durch den erfindungsgemäßen Aufbau des kompakten Präzisions-ThermoCyclers und das offenbarte Verfahrens eines Wärmemanagements für ThermoCycler kann nun erstmals die Integration von einer hinreichenden Anzahl von mikroskopierbaren Kavitätenleisten 10 in einem ThermoCycler baulich umgesetzt werden, ohne die Standardmaße der Mikrottestplatten-Objektaufnahme eines Mikroskops zu überschreiten. Durch die Verwendung von 4 Kavitätenleisten 10 mit jeweils 3 x 8 Kavitäten wird das 96-Wellformat erreicht, welches üblicherweise in Routinelabors zum Einsatz kommt. Jede dieser Kavitätenleisten 10 kann individuell in Form einer Temperaturzone temperiert werden.

[0033] Die erfindungsgemäße Vorrichtung soll an Hand der Fig. 1 und 2 in ihrem Aufbau und ihrer Wirkungsweise näher erläutert werden. Fig. 1 zeigt die Explosionszeichnung eines kompakten Präzisions-ThermoCyclers mit einem Wärmereservoir 1. Zur Abführung überschüssiger Verlustwärme dient der Kühlblock 2, welcher vorteilhafterweise als ein Aggregat, bestehend aus einem Alu-Vierkant-Profil mit integriertem Ventilator konstruiert ist. Damit das erste Wärmereservoir 1 schnell die optimale Betriebstemperatur erreicht, ist das erste Wärmereservoir 1 mit einer Bedarfsheizung 15 verbunden.

[0034] Sofern eine höhere Wärmespeicherfähigkeit und damit eine höhere Wärme-Rekuperation (Wärmerückgewinnung) gewünscht ist, kann dem schnell wirkenden metallischen Wärmereservoir 1 ein oder mehrere Wärmereservoirs aus PCM-Material 5 nachgeschaltet werden. In Kombination von einem ersten Wärmereservoir 1 und mindestens einem zweiten Wärmereservoir 5 ergibt sich ein sehr wirksames komplexes Wärmereservoir, welches die Eigenschaften hoher Volumen- und Gewichtseffizienz, hohe Wärmeenergie-Speicherfähigkeit mit schneller Wärmeleistungsaufnahme verbindet. Die an sich relativ langsame Lade- und Entladegeschwindigkeit des PCM-Wärmespeichers 5 kann durch Vergrößerung der Kontaktfläche zwischen beiden Reservoirs erheblich erhöht werden. Vorteilhafterweise wird dieser Effekt durch angeordnete Metallzapfen oder -rippen des ersten Wärmereservoirs 1 erreicht, indem diese konstruktiv so ausgebildet sind, dass diese weit in das PCM-Wärmereservoir 5 hineinreichen. Gleichzeitig wird auf diese Weise gegenüber einer naheliegenden separaten Gestaltung der Wärmereservoirs eine unerwünschte Wärmedurchgangsfläche eliminiert.

[0035] Die Kavitätenleisten 10 enthalten konische Öffnungen (Kavitäten) zur Aufnahme der Probengefäße, wie z.B. Nucleolink-Module (Nunc). Der Winkel der Konen (z.B. 17,2°) ist so gewählt, dass die Probengefäße bei den zyklischen Temperaturveränderungen durch Reibung selbsthemmend und kraftschlüssig in der Kavitätenleiste 10 gehalten werden. Damit wird eine gute, stabile Wärmeübertragung zwischen den Proben über die Probengefäße und den Kavitätenleisten 10 ge-

währleistet.

[0036] Zur Kühlung und Heizung werden entsprechend dem Goldstandard der klassischen PCR-Technik Peltier-Elemente 7 eingesetzt. Der Kennlinienverlauf der Temperatur in der Fig. 2 belegt die realisierte, hervorragende Exaktheit der Temperaturregelung ohne nennenswerte Überschwingungen in den Temperaturverläufen. Zur Verkürzung der Temperatur-Übergangszeiten werden im Inneren der Kavitätenleisten 10 zusätzlich Heat-Pipes 6 eingebettet. Damit wird die Geschwindigkeit der Temperaturübergänge real um eine Größenordnung erhöht.

[0037] Die an beiden Enden der Heat-Pipes 6 positionierten Peltier-Elemente 7 können bei Bedarf die Wärmeübertragungsfähigkeit der Heat-Pipes 6 im Vergleich zum Einsatz einer einseitig temperierten Heat-Pipe 6 bis zu vierfach, d.h. ganz erheblich vergrößern. Und zwar indem von beiden Seiten ein Wärmestrom in die Kavitätenleisten 10 eingebracht und zusätzlich der Weg des Wärmestromes halbiert wird.

[0038] Zur exakten Steuerung der Temperaturverläufe sind mehrere Temperatursensoren 11 angeordnet, welche zumindest in jeder Kavitätenleiste 10 an einer Temperaturzone und am Wärmereservoir 1 geeignet befestigt sind. Die Steuerung der Energiezuführung in die Peltier-Elemente 7 erfolgt durch einen aufgesetzten Energieversorgungs- und Regelblock 3. Vorteilhafterweise sind die entsprechenden Algorithmen in Form digitaler Regelung mittels eines in den Energieversorgungs- und Regelblock 3 integrierten Mikrorechners 4 realisiert.

[0039] Auf Grund der kompakten sehr kleinen Bauweise kann der erfindungsgemäße ThermoCycler direkt auf einen in die drei räumlichen Dimensionen verfahrbaren xyz-Objekttisch 12 eines üblichen Fluoreszenzmikroskops (in Figur 1 nur schematisch angedeutet) montiert werden. Mit einem realisierbaren Eigengewicht des erfindungsgemäßen ThermoCyclers von ca. nur 1,5 kg lassen sich dem Stand der Technik entsprechende xyz-Tische von Standardmikroskopen mit hoher Beschleunigungsrate und damit respektive sehr geringer Fahrzeit nutzen.

[0040] Fig. 1 zeigt die bevorzugte Blickrichtung eines Mikroskops 13, d. h. die Betrachtungsrichtung des Mikroskops 13 ist von unten auf den Boden der Probengefäße und damit durch diese hindurch auf die Proben gerichtet. Diese Blickrichtung erschließt den Vorteil, dass sich bildgebende Partikel der Proben (z.B. Beads bei der Auswertung von Beadassays, siehe Rödiger et al. 2012, Rödiger et al. 2017, Hanschmann et al. 2021), welche sich am Boden der Probenbehälter sammeln und absetzen, somit in der Regel die Entfernung der Partikel zum Mikroskop in engen Rahmen konstant ist. Damit wird eine wesentliche Voraussetzung für die quantitative hochwertige PCR-Analyse durch Bereitstellung von scharfen, kontrastreichen Bildern in Echtzeit erfüllt, aus denen letztlich die Extraktion der Daten für die Auswertung von z.B. PCR- oder Schmelzkurvenanalysen

erfolgt. Die hiermit beschriebene optische Anordnung bezieht sich in erster Linie auf inverse Mikroskope. Im Prinzip können mit der erfindungsgemäßen Lösung aber auch aufrecht stehende Mikroskope eingesetzt werden, wenn dies z.B. für In situ-Untersuchungen an lebenden Zellen vorteilhaft ist. Es kann auch gänzlich oder wahlweise auf die Bildgebung bei der Auswertung verzichtet werden.

[0041] Bei temperierten Untersuchungen von Biochips, ggf. in Kombination mit einer Amplifikation, können die Biochips auf die obere Auflagefläche der Kavitätenleisten 10 aufgelegt werden. Durch die Öffnungen in den Kavitätenleisten 10 können dann je nach Skalierung bis zu 96 Beobachtungspunkte genutzt werden. Weitere Ausgestaltungsmöglichkeiten dieses Ansatzes sind die Auflage von geeigneten Objektträgern und die Anordnung von Biochips und Objektträgern an der Unterseite der Kavitätenleisten 10 mittels einer einfachen geeigneten Andrück- bzw. Ansaugoption.

[0042] Einen typischen Temperaturverlauf, welcher mit dem kompakten Präzisions-ThermoCycler und mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens für PCR-Zyklen erreicht wurde, zeigt Fig. 2. Die drei Temperaturphasen des PCR-Zyklus werden in der erfindungsgemäßen Lösung sehr schnell und nahezu ohne Überspringen der Temperatur angefahren und somit sehr stabil gehalten:

1. **Denaturierung bei 94-96°C:** Die komplementären Doppelstränge werden bei dieser hohen Temperatur entlang der Wasserstoffbrückenbindungen voneinander getrennt, also denaturiert, sodass sie als Einzelstränge vorliegen.

2. **Hybridisierung bei 50-70°C:** Die Spiegelbildkopie des charakteristischen Abschnitts der nachzuweisenden DNA-Sequenz lagert sich an die Einzelstränge an, indem Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den komplementären Nukleinbasen ausgebildet werden.

3. **Polymerisation bei 70-74°C:** Bei dieser Temperatur synthetisiert z.B. eine DNA-Polymerase den neuen Strang optimal, indem sich die komplementär bindenden Nukleotide verknüpfen.

[0043] Fig. 2 zeigt im Temperaturbereich von 28° C bis 32° C (untere durchgehende Linie) die nur sehr geringfügigen Schwankungen der Temperatur des Wärmereservoirs 1 mit einem erfindungsgemäßen kompakten Präzisions-ThermoCycler in Folge der Aufnahme bzw. Abgabe von Wärmeenergie beim Heizen bzw. Kühlen.

Bezugszeichenliste zum kompakten Präzisions-ThermoCycler

[0044]

- | | |
|---|------------------------------------|
| 1 | erstes Wärmereservoir metallisch |
| 2 | Kühlblock |
| 3 | Energieversorgungs- und Regelblock |

- | | |
|----|---|
| 4 | Integrierter Mikrorechner |
| 5 | zweites Wärmereservoir aus PCM-Material |
| 6 | Heat-Pipe |
| 7 | Peltier-Element |
| 8 | Objekttisch-Adapter |
| 9 | Thermischer Isolator zwischen Temperaturzonen |
| 10 | Kavitätenleiste |
| 11 | Temperatursensor |
| 12 | verfahrbare xyz-Objekttisch |
| 13 | Blickrichtung eines Mikroskops |
| 14 | Probenaufnahmeöffnung (Kavität) |
| 15 | Bedarfsheizung für erstes Wärmereservoir |

Patentansprüche

1. Kompakter Präzisions-ThermoCycler mit Wärmespeicher

und mindestens einem darauf angeordneten und verbundenen Peltier-Element (7) und einem Versorgungs- und Regelblock (3),

dadurch gekennzeichnet,

dass ein oder zwei oder mehrere Wärmereservoirs angeordnet sind,

diese Wärmereservoirs untereinander koppelbar ausgebildet sind,

dass ein erstes metallisches Wärmereservoir (1) als Trägerbasis für den ThermoCycler ausgebildet ist,

eine, zwei oder mehrere Kavitätenleisten (10) über Peltier-Elemente (7) mit dem ersten Wärmereservoir (1) verbunden und angeordnet sind,

in den Kavitätenleisten (10) mehrere durchgehend offene Probenaufnahmeöffnungen (14) und/oder planare Auflagenflächen angeordnet sind,

auf diesem ersten Wärmereservoir (1) mindestens ein, zwei oder mehrere Kühlblöcke (2) angeordnet sind,

das erste Wärmereservoir (1) und die weiteren Wärmereservoirs und der/die Kühlblöcke (2) thermisch gekoppelt sind,

in den Versorgungs- und Regelblock (3) mindestens ein Mikrorechner (4) integriert ist,

an oder innen in jeder Kavitätenleiste (10) ein, zwei oder mehrere thermisch angekoppelte Heat-Pipes (6) angeordnet sind,

das erste Wärmereservoir (1) oder weitere in Richtung eines verfahrbaren xyz-Objekttisches (12) thermisch isoliert ausgebildet sind,

im oder am Wärmereservoir (1) und in oder an den Kavitätenleisten (10) je ein, zwei oder mehrere Temperatursensoren (11) angeordnet sind,

die Kavitätenleisten (10) einer Temperaturzone von Kavitätenleisten (10) anderer Temperaturzonen durch einen Isolator (9) voneinander getrennt sind,

und alle Teile auf einem zwei- oder dreiaxsig verfahrbaren geführten xyz-Objekttisch (12) oder Objekttisch-Adapter (8) platzierbar sind.

2. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass zwei Wärmereservoir (1 und 5) angeordnet sind,
diese untereinander koppelbar ausgebildet sind,

dass ein erstes metallisches Wärmereservoir (1) als Trägerbasis für den ThermoCycler ausgebildet ist,

eine, zwei oder mehrere Kavitätenleisten (10) über Peltier-Elemente (7) mit dem ersten Wärmereservoir (1) verbunden und angeordnet sind,

in den Kavitätenleisten (10) mehrere durchgehend offene Probenaufnahmeöffnungen (14) oder planare Auflagenflächen angeordnet sind, auf diesem ersten Wärmereservoir (1) mindestens ein, zwei oder mehrere Kühlblöcke (2) angeordnet sind,

das erste Wärmereservoir (1) und das zweite Wärmereservoir (5) und der/die Kühlblöcke (2) thermisch gekoppelt sind,

in den Versorgungs- und Regelblock (3) mindestens ein Mikrorechner (4) integriert ist, an oder innen in jeder Kavitätenleiste (10) ein, zwei oder mehrere thermisch angekoppelte Heat-Pipes (6) eingebettet sind,

die Wärmereservoir (1 und 5) in Richtung eines verfahrbaren xyz-Objekttisch (12) thermisch isoliert ausgebildet sind,

im oder am Wärmereservoir (1) und in oder an den Kavitätenleisten (10) je ein, zwei oder mehrere Temperatursensoren (11) angeordnet sind, die Kavitätenleisten (10) einer Temperaturzone von Kavitätenleisten (10) anderer Temperaturzonen durch einen Isolator (9) voneinander getrennt sind,

und alle Teile auf einem zwei- oder dreiaxsig verfahrbaren geführten xyz-Objekttisch (12) sowie dem Objekttisch-Adapter (8) anordenbar sind.

3. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass neben dem ersten Wärmereservoir (1) ein zweites Wärmereservoir (5) oder weitere Wärmereservoir (5) angeordnet sind.

4. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass der zwei- oder dreiaxsig verfahrbare xyz-Objekttisch (12) als ein Tisch eines Fluoreszenzmikroskopes oder eines Pipettierautomaten mit Fluoreszenzmikroskop ausgebildet ist.

5. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass das erste Wärmereservoir (1) und/oder die Kavitätenleiste (10) aus schnell wärmeleitenden Materialien wie aus Silber, Kupfer oder Aluminium besteht und das zweite Wärmereservoir (5) aus Nichtmetallen mit Phasenübergang (PCM-Material) besteht,
eine hohe Wärmespeicherfähigkeit besitzt und mit einer vergrößerten Oberfläche ausgebildet ist.

6. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass die durchgehend offenen Probenaufnahmeöffnungen (14) in der/den Kavitätenleisten (10) kegelförmig ausgebildet sind,
in die transparente, thermostabile Reaktionsgefäße mit planarem Boden kraftschlüssig einsteckbar sind,
oder auf die planare Auflagefläche transparente, planare, thermostabile Objektträger oder Biochips auflegbar sind.

7. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass über der/den Kavitätenleisten (10) eine beheizbare Beschwerungsplatte angeordnet ist.

8. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass das oder die Peltier-Elemente (7) aus Keramik- oder Metall-Platten bestehen, welche durch Löten, Kleben oder Pressen mit der/den Kavitätenleisten (10) und andererseits zum Wärmereservoir (1) zur Gewährleistung eines schnellen und verlustarmen Wärmeflusses kraft- und wärmeschlüssig verbunden sind.

9. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass im Inneren der Kavitätenleiste (10), des Wärmereservoirs (1) und anordenbaren Entwärmungsleisten Wärmeleiter, Heat-Pipes (6), Wärmefolien, Wärmeleitpasten, Heat-Spreader und/oder Vapor-

Chambers eingebettet sind.

10. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass beidseitig der Kavitätenleiste (10) Peltier-Elementen (7) angeordnet sind. 5
11. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
dass eine oder mehrere Kavitätenleisten (10) Temperaturzonen bilden, welche streifenförmig verteilt ausgebildet sind und durch thermische Isolatoren (9) voneinander getrennt sind, an oder innen in der Kavitätenleiste (10) ein oder mehrere Heat-Pipes(6), Heat-Spreader und/oder Vapor-Chambers angeordnet sind und diese unmittelbar mit dem Wärmereservoir (1) gekoppelt sind, wobei dabei der Wärmeübergang zum Wärmereservoir (1) und die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Wärmeströme beim Heizen und Kühlen beschleunigt sind. 10 15 20 25
12. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1 in einer Gerätekonfiguration mit einem automatisierten inversen oder aufrechten Licht- oder Fluoreszenzmikroskop, **dadurch gekennzeichnet,**
dass die Gerätekonfiguration aus einem kompakten Präzisions-ThermoCycler mit angeordneten Mikroskopadapter, einer licht- oder fluoreszenzmikroskopischen Optik, einer Kamera, einem zwei- oder dreiaxsig verfahrbaren, motorisierten xyz-Objekttisch (12) und einer verbundenen und angeschlossenen Steuer- und Auswertesoftware besteht, um Proben automatisiert in Abstimmung mit dem vollautomatischen Mess- und Auswerteprozess zu temperieren. 30 35 40
13. Kompakter Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1 in einer Gerätekonfiguration mit einem automatisierten inversen oder aufrechten Licht- oder Fluoreszenzmikroskop nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet,**
dass eine vorgelagerte Station zur Probenbestückung in die Kavitäten (Probenaufnahmeöffnungen 14), eine Transportvorrichtung (Tray, Fließband) zum gezielten Verfahren und Positionieren eines, oder zweier oder mehrerer kompakter Präzisions-ThermoCycler angeordnet ist und zur Analyse eine zweite Station mit mindestens einem Mikroskop, und einer Auswerteeinrichtung, wie bzw. einer Kamera ausgestattet ist. 45 50 55
14. Verfahren zur schnellen und präzisen Temperierung von Proben in Reaktionsräumen zur Durchführung

und Auswertung von Polymerasekettenreaktionen (PCR-Tests) mit einem kompakten Präzisions-ThermoCycler nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,

dass die Kavitätenleisten (10) kraftschlüssig mit Reaktionsräumen, die mindestens die Reaktionslösung und/oder eine Probe enthalten, bestückt werden,
die Temperierung über wärmeschlüssig verbundene Wärmeleiter multidirektional zwischen Probe, Peltier-Element (7), Wärmereservoir (1) und einem Umgebungsmedium energiesparend, steuerbar transportiert werden und
dass während aufeinanderfolgender Heiz- und Kühlzyklen eine Rekuperation erfolgt.

15. Verfahren nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet,
dass Wärmereservoir (1, 5) auf eine Temperatur zwischen dem oberen Temperaturniveau (Denaturierung bei 94-96° C) und der Raumtemperatur (bei 25° C) eingestellt werden und somit von den Peltier-Elementen (7) geringere Temperaturdifferenzen zu überbrücken sind.

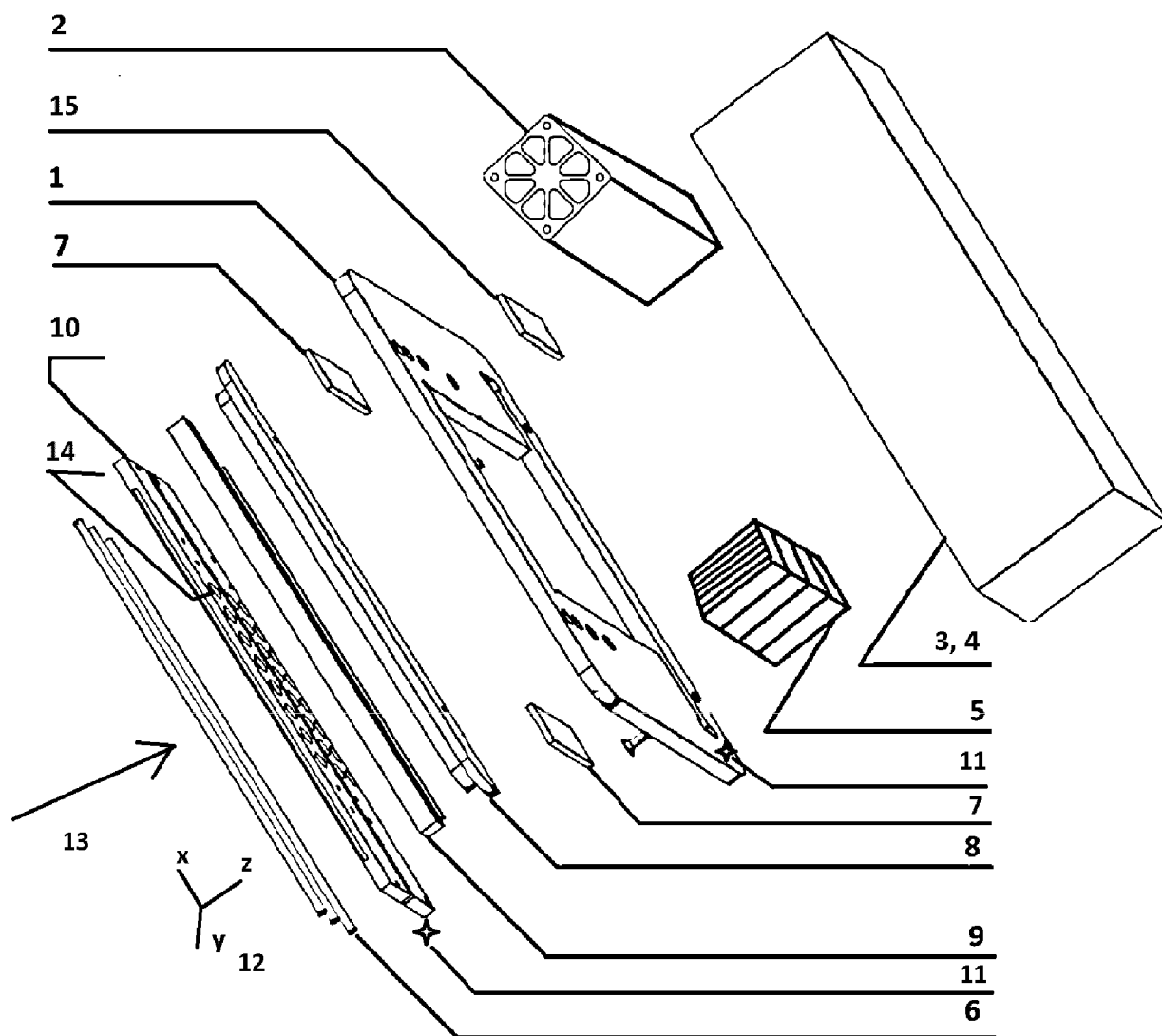
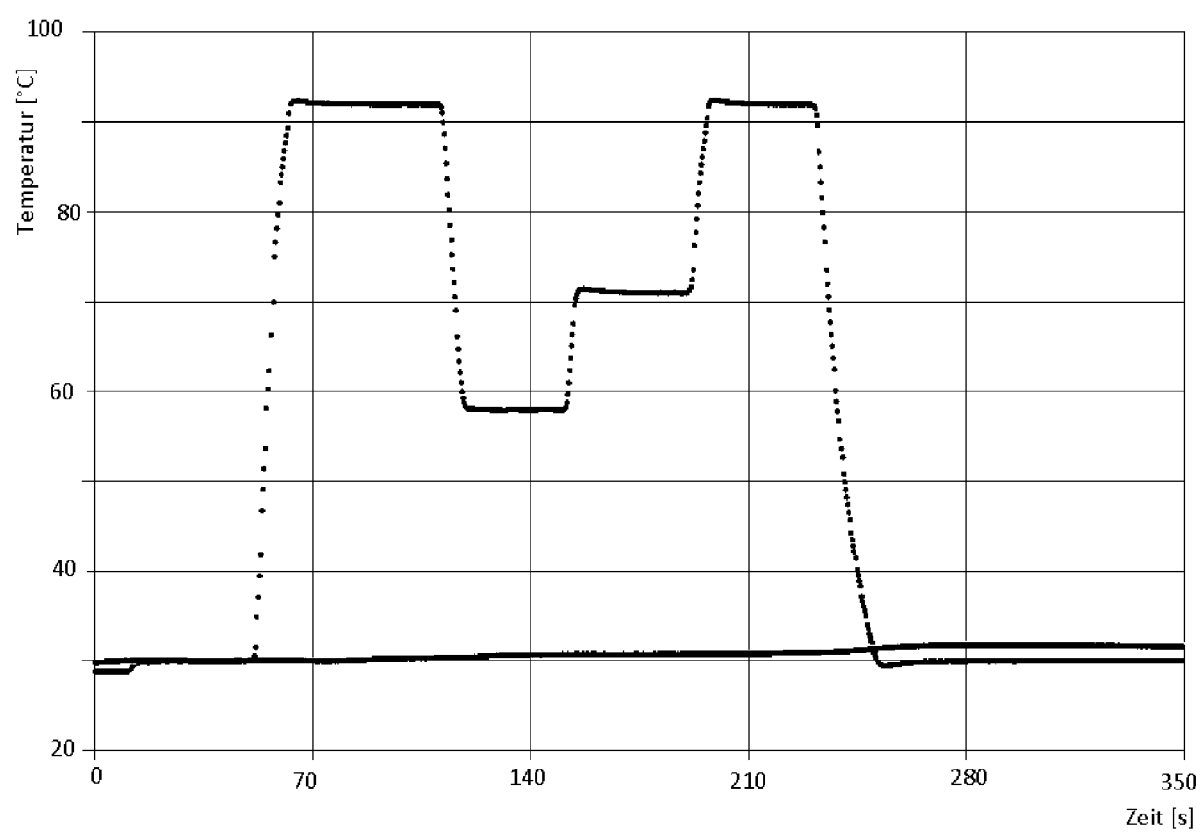


Fig. 1

**Fig. 2**



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 24 21 1668

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

1

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
Y	US 2014/038192 A1 (BUSE DAVID [US] ET AL) 6. Februar 2014 (2014-02-06) * Absatz [0001] * * Absatz [0012] *	1-15	INV. B01L7/00 B01L9/06
Y	DE 10 2022 109312 A1 (WEIDHASE FRIEDER [DE]) 10. November 2022 (2022-11-10) * Absatz [0001] * * Absatz [0012] *	1-15	
Y	US 2008/274511 A1 (TAN LIM HI [SG] ET AL) 6. November 2008 (2008-11-06) * Absatz [0092] - Absatz [0093] *	1-15	
Y	EP 1 710 017 A1 (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 11. Oktober 2006 (2006-10-11) * Absatz [0008] * * Absatz [0018] * * Absatz [0039] *	1-15	
Y	WO 2008/070198 A2 (CALIFORNIA INST OF TECHN [US]; MALTEZOS GEORGE [US] ET AL.) 12. Juni 2008 (2008-06-12) * Absatz [0105] *	5	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) B01L
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 28. März 2025	Prüfer Ueberfeld, Jörn
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 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	

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

EP 24 21 1668

5 In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente 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.

28-03-2025

10	Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
	US	2014038192 A1	06-02-2014	AU	2013202793 A1	20-02-2014
				CN	104619622 A	13-05-2015
15				CN	107649228 A	02-02-2018
				CN	111889158 A	06-11-2020
				CN	111889159 A	06-11-2020
				CN	111889160 A	06-11-2020
				CN	111889161 A	06-11-2020
20				CN	111889162 A	06-11-2020
				EP	2879981 A2	10-06-2015
				EP	3560866 A1	30-10-2019
				EP	3564166 A1	06-11-2019
				EP	3566986 A1	13-11-2019
				EP	3778448 A1	17-02-2021
25				EP	3778449 A1	17-02-2021
				EP	3778450 A1	17-02-2021
				EP	3778451 A1	17-02-2021
				EP	4309790 A2	24-01-2024
				HK	1207048 A1	22-01-2016
30				JP	6539581 B2	03-07-2019
				JP	6744967 B2	19-08-2020
				JP	6744968 B2	19-08-2020
				JP	6745958 B2	26-08-2020
				JP	6940561 B2	29-09-2021
				JP	6972069 B2	24-11-2021
35				JP	7346503 B2	19-09-2023
				JP	7608524 B2	06-01-2025
				JP	2015524663 A	27-08-2015
				JP	2017189175 A	19-10-2017
				JP	2019193671 A	07-11-2019
40				JP	2019193672 A	07-11-2019
				JP	2019193673 A	07-11-2019
				JP	2019193674 A	07-11-2019
				JP	2019195341 A	14-11-2019
				JP	2019198328 A	21-11-2019
45				JP	2021168704 A	28-10-2021
				JP	2021180672 A	25-11-2021
				JP	2023115147 A	18-08-2023
				JP	2023115148 A	18-08-2023
				JP	2024032960 A	12-03-2024
				JP	2024032961 A	12-03-2024
50				US	2014038192 A1	06-02-2014
				US	2018230517 A1	16-08-2018
				US	2019127779 A1	02-05-2019
				US	2019284614 A1	19-09-2019
				US	2021002704 A1	07-01-2021
55				US	2021002705 A1	07-01-2021

EPO FORM P0461

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

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

EP 24 21 1668

5 In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente 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.

28-03-2025

10	Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
			US 2021017576 A1	21-01-2021
			US 2021032681 A1	04-02-2021
15			US 2021062245 A1	04-03-2021
			US 2023416811 A1	28-12-2023
			US 2024035079 A1	01-02-2024
			US 2024150822 A1	09-05-2024
			US 2024150823 A1	09-05-2024
20			WO 2014022532 A2	06-02-2014
	DE 102022109312 A1	10-11-2022	KEINE	
	US 2008274511 A1	06-11-2008	AU 2007292329 A1	13-03-2008
25			CN 101583708 A	18-11-2009
			CN 104328028 A	04-02-2015
			EP 2061870 A2	27-05-2009
			EP 2898952 A1	29-07-2015
			JP 2010502228 A	28-01-2010
			JP 2015133990 A	27-07-2015
30			JP 2017104134 A	15-06-2017
			JP 2017104135 A	15-06-2017
			JP 2019107027 A	04-07-2019
			US 2008274511 A1	06-11-2008
			US 2014273182 A1	18-09-2014
			WO 2008030914 A2	13-03-2008
35	EP 1710017 A1	11-10-2006	AU 2006232801 A1	12-10-2006
			BR PI0607686 A2	22-09-2009
			CA 2603208 A1	12-10-2006
			CN 101155641 A	02-04-2008
40			EP 1710017 A1	11-10-2006
			EP 1868724 A1	26-12-2007
			EP 2495046 A2	05-09-2012
			ES 2401437 T3	19-04-2013
			ES 2410596 T3	02-07-2013
			JP 2008534935 A	28-08-2008
45			KR 20070118683 A	17-12-2007
			US 2009203082 A1	13-08-2009
			US 2011129914 A1	02-06-2011
			US 2019070611 A1	07-03-2019
			US 2022168744 A1	02-06-2022
50			WO 2006105919 A1	12-10-2006
	WO 2008070198 A2	12-06-2008	EP 2027251 A2	25-02-2009
			EP 2535427 A2	19-12-2012
			JP 2009537152 A	29-10-2009
55			WO 2008070198 A2	12-06-2008

EPO FORM P0461

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

ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.

EP 24 21 1668

5 In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten
Patentdokumente 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.

28-03-2025

10	Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
15	-----			
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

- EP 000002535427 A2 [0004]
- US 4639883 A [0005]
- EP 1090141 B1 [0005]
- CN 111521805 B [0006]
- US 7829691 B2 [0007]
- EP 2167964 A, von Lehmann [0032]

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- RÖDIGER, S ; SCHIERACK, P ; BÖHM, A ; NITSCHKE, J ; BERGER, E ; FRÖMMEL, U ; SCHMIDT, C ; RUHLAND, M ; SCHIMKE, I ; ROGGENBUCK, D. A Highly Versatile Microscope Imaging Technology Platform for the Multiplex Real-Time Detection of Biomolecules and Autoimmune Antibodies. *Adv Biochem Engin/Biotechnol.*, 2012 [0008]
- RÖDIGER, S ; LEHMANN, W ; SCHRÖDER, C ; SCHIERACK, P. Bead-Technologien. Mikropartikel-systeme für die Nukleinsäurediagnostik. *BIOSpekt-rum*, 2013, 153-156 [0008]
- HANSCHMANN, H ; RÖDIGER, S ; KRAMER, T ; HANSCHMANN, K ; STEIDLE, M ; FINGERLE, V ; SCHMIDT, C ; LEHMANN, W ; SCHIERACK, P. LoopTag FRET Probe System for Multiplex qPCR Detection of *Borrelia* Species. *Life*, 2021, vol. 11, 1163, <https://doi.org/10.3390/life11111163> [0008]