



(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2019 106 699.9**
(22) Anmeldetag: **15.03.2019**
(43) Offenlegungstag: **17.09.2020**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **25.01.2024**

(51) Int Cl.: **C12M 1/38 (2006.01)**
C12Q 1/686 (2018.01)
B01L 7/00 (2006.01)

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
Analytik Jena GmbH+Co. KG, 07745 Jena, DE

(72) Erfinder:
Winter, Stefan, Dr., 07774 Dornburg-Camburg, DE

(74) Vertreter:
**Koslowski, Christine, Dr., 79576 Weil am Rhein,
DE**

(56) Ermittelter Stand der Technik:
WO 2017/ 112 836 A1

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung und Verfahren zur thermischen Behandlung von Proben**

(57) Hauptanspruch: Vorrichtung zur thermischen Behandlung von in Probengefäßen enthaltenen Proben, umfassend:

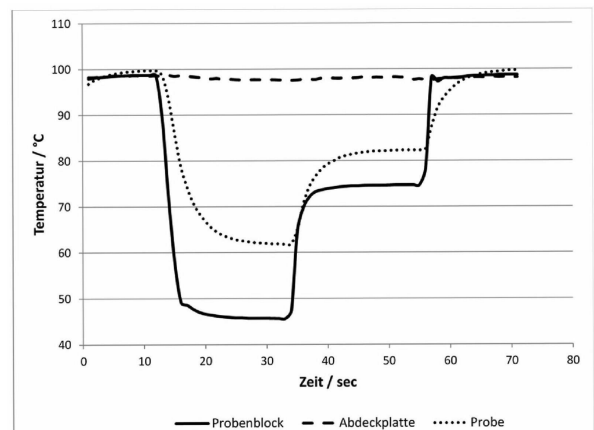
einen Probenblock (4) mit einem Aufnahmebereich für die Probengefäße (9);

eine erste Temperiervorrichtung, die mit dem Probenblock (4) thermisch gekoppelt ist und dazu eingerichtet ist, eine Temperatur des Probenblocks (4) einzustellen;

eine Abdeckplatte (2) für in dem Aufnahmebereich des Probenblocks (4) angeordnete Probengefäße (9);

eine zweite Temperiervorrichtung, die mit der Abdeckplatte (2) thermisch gekoppelt ist und dazu eingerichtet ist, eine Temperatur der Abdeckplatte (2) einzustellen; und
eine Regeleinheit (13), die mit der ersten und der zweiten Temperiervorrichtung verbunden ist, und

dazu eingerichtet ist, die erste und die zweite Temperiervorrichtung zu steuern, dadurch gekennzeichnet, dass die Regeleinheit (13) dazu eingerichtet ist, die Temperatur des Probenblocks (4) und die Temperatur der Abdeckplatte (2) mittels der ersten und der zweiten Temperiervorrichtung aufeinander abgestimmt zu regeln.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur thermischen Behandlung von in Probengefäßen enthaltenen Proben, insbesondere für die DNA-Vervielfältigung.

[0002] In der Laboranalytik gibt es eine Reihe von Anwendungen, bei denen eine Vielzahl kleiner Proben volumina gleichzeitig behandelt und untersucht werden. Ein Beispiel für eine derartige Anwendung, die in der DNA-Analytik eine große Rolle spielt, ist die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), mit der sich geringste DNA-Mengen vervielfältigen lassen. Die PCR erfordert eine thermische Behandlung der Proben, bei der diese wiederholt einen thermischen Zyklus durchlaufen. Ein solcher Zyklus besteht typischerweise aus einer Denaturierungsphase bei einer hohen Temperatur (z.B. 94 bis 100 °C), einer Primerhybridisierungsphase bei einer tiefen Temperatur (z.B. 55 bis 65 °C) und einer Elongations- oder Amplifikationsphase bei einer mittleren Temperatur (z.B. 60 bis 72 °C). Typischerweise durchlaufen die Proben diesen Zyklus ca. 30-mal.

[0003] In manchen Anwendungen wird gleichzeitig zum Vervielfältigen der Probe eine Analyse mittels optischer Messverfahren durchgeführt. Diese Anwendungen werden auch als „Real-time PCR“ bezeichnet.

[0004] Zur thermischen Behandlung von Proben gibt es eine Vielzahl an für die jeweilige Anwendung angepasster Laborgeräte. Aus dem deutschen Gebrauchsmuster G 9205824 U1 ist beispielsweise ein einfacher Metallblock-Thermostat bekannt, der die gleichzeitige thermische Behandlung mehrerer Proben erlaubt. Im Unterschied zu einem solchen einfachen Metallblock-Thermostaten ist es zur Realisierung kurzer Prozesszeiten bei der erwähnten Zahl von Behandlungszyklen, z.B. bei der PCR, erforderlich, dass Wärme möglichst schnell in die Proben übertragen oder aus ihnen entnommen werden kann. Zur Durchführung der PCR werden herkömmlich sogenannte Thermocycler eingesetzt. Diese Geräte weisen einen Thermoblock auf, auf den die Probengefäße aufgesetzt werden, und der dazu eingerichtet ist, die Probengefäße zu temperieren. Zur Steuerung der thermischen Behandlung der Proben weisen die Thermocycler eine Regelelektronik auf, die dazu eingerichtet ist, die Temperatur der Proben gemäß einem gewünschten Temperaturverlauf im Wertebereich zwischen 4 °C und 100 °C zu regeln. Für den Anwender ist es von entscheidendem Vorteil, wenn diese Temperaturwechsel mit möglichst steilen Temperaturverläufen und somit mit vielen Zyklen in möglichst kurzer Zeit ausgeführt werden können. Idealerweise werden für die oben erwähnten 30 Zyklen nur wenige Minuten benötigt.

[0005] Thermoblöcke herkömmlicher Thermocycler weisen häufig einen zur Aufnahme von Probengefäßen bestimmten Probenblock, von der Steuerelektronik steuerbare Peltier-Elemente zur Heizung und Kühlung der Probengefäße und eine mit den Peltier-Elementen in Kontakt stehende Wärmesenke, z.B. in Form von Kühlkörpern, auf. Die Peltier-Elemente sind dabei sandwichartig zwischen dem Probenblock und der Wärmesenke angeordnet, so dass die Wärmesenke entstehende Abwärme ableitet, und dadurch einen schnelleren Temperaturwechsel ermöglicht.

[0006] Der Probenblock bildet einen Aufnahmebereich für die Probengefäße. In diesem Aufnahmebereich kann der Probenblock Vertiefungen aufweisen, in die die einzelnen Probengefäße eingreifen, wenn sie im Aufnahmebereich angeordnet sind. Häufig sind die Probengefäße in einer Mikrotiterplatte zusammengefasst. In vielen Mikrotiterplatten sind die Probengefäße durch Eintiefungen (sogenannte Wells) gebildet. Üblich sind hierfür aus Polypropylen auf Spritzgussmaschinen hergestellte sogenannte 96-er und 384-er Mikrotiterplatten. Ebenfalls üblich, aber wesentlich teurer sind Mikrotiterplatten, die über einen aus einem zweiten Kunststoff oder Kunststoffgemisch umspritzten harten Rahmen verfügen und deshalb robuster in der Handhabung sind. Diese Platten werden in der Fachsprache auch mit dem englischen Begriff „hard skirted plates“ bezeichnet. Die Wells können, abhängig vom Verwendungszweck der Mikrotiterplatte, unterschiedlich ausgeformt sein. Häufig ist der Probenblock des Thermocyclers so ausgestaltet, dass er die einzelnen Wells der Mikrotiterplatte in den erwähnten Vertiefungen im Aufnahmebereich formschlüssig aufnehmen kann.

[0007] Zur Vermeidung von Probenverlusten durch Verdunstung können die einzelnen Probengefäße verschlossen bzw. abgedichtet werden. Die einzelnen Probengefäße können hierzu jeweils einen eigenen Verschluss oder einen Pfropfen aus einem isolierenden, nicht mit der Probe mischbaren Material, z.B. Wachs, aufweisen. Mikrotiterplatten können mittels einer Dichtmatte oder einer Dichtfolie (auch als Sealing-Folie bezeichnet) abgedeckt werden, die die Wells dicht verschließt. Jedoch verdunstet innerhalb eines jeden Probengefäßes stets eine geringe Menge Wasser aus der Probenflüssigkeit und schlägt sich in kühleren Bereichen des Probengefäßes durch Kondensation nieder. Dies hat mehrere Nachteile: Zum einen kann es dadurch zu einem unerwünschten Aufkonzentrieren der Probe kommen. Zum anderen kann es sein, dass durch Kondensation gebildete Tropfen an der Sealing-Folie hängen bleiben und eine optische in situ-Messung bei Real-time-PCR-Anwendungen beeinträchtigen.

[0008] Um diese Kondensation und die damit einhergehenden Nachteile zu vermeiden, wird in Thermocyclern häufig eine heizbare Abdeckplatte für die Probengefäße verwendet, die auf die Probengefäße bzw. auf eine die Probengefäße abdeckende Dichtfolie oder Dichtmatte aufgelegt und ggfs. an diese angepresst wird. Typischerweise wird die Abdeckplatte auf einer Temperatur gehalten, die etwa 5 K über der höchsten im Temperaturverlauf des Probenblocks vorkommenden Temperatur liegt. Ein solcher Thermocycler mit heizbarer Abdeckplatte ist beispielsweise in US 9,776,187 B2 beschrieben.

[0009] Nachteilig an dieser Lösung ist, dass in bestimmten Phasen des Zyklus, beispielsweise in einer Abkühlphase, ein großer Temperaturunterschied zwischen dem Probenblock und der Abdeckplatte, und mithin ein großer Temperaturgradient über die Probengefäße, auftritt. In der Abkühlphase kann der Probenblock die Probe auf Temperaturen unter 70 °C abkühlen, während die Abdeckplatte weiterhin auf einer Temperatur verbleibt, die 5 K oberhalb der Maximaltemperatur des PCR-Temperaturzyklus, also beispielsweise in der Nähe von 100 °C, liegen kann. Der hohe Temperaturgradient führt zu einem während der Abkühlphase unerwünschten Wärmeeintrag aus der Abdeckplatte in die Proben. Dies führt dazu, dass die Endtemperatur der Abkühlphase erst verzögert erreicht wird und steht einer weiteren Verringerung der Zyklusdauer im Wege.

[0010] Der Einfluss der beheizten Abdeckplatte auf die Temperatur der Proben kann mittels einer möglichst großen Kontaktfläche zwischen den Probengefäßen und dem Probenblock geringgehalten werden. Für PCR-Anwendungen werden daher häufig Mikrotiterplatten mit konisch geformten Wells und entsprechende Probenblöcke mit konisch ausgestalteten Vertiefungen im Aufnahmebereich für die Mikrotiterplatten verwendet. Diese Ausgestaltung gewährleistet eine verhältnismäßig große Kontaktfläche zwischen den Wells und dem Probenblock, was eine gute Wärmekopplung ermöglicht, so dass der Einfluss der beheizten Abdeckplatte gering bleibt und die Temperatur der Proben mit nur geringer Verzögerung dem Temperaturverlauf des Probenblocks folgt.

[0011] Als weitere Maßnahme zur Verbesserung der Wärmekopplung zwischen Probenblock und Probengefäßen schlägt die DE 69914220 T2 die Verwendung möglichst dünnwandiger Probengefäße vor. Diese Probengefäße können als Wells einer Mikrotiterplatte ausgestaltet sein, die durch Thermoformen oder Vakuumformen aus einem dünnen thermoplastischen Film erzeugt werden kann. Für die automatisierte Handhabung durch einen Roboter können die Mikrotiterplatten einen Rahmen umfassen, der die Ränder der Platten oder einzelne Vertiefungen unterstützt. Dieser Rahmen kann spritzgegossen und an die die dünnwandigen Probengefäße bildende Folie

durch eine Hitzeverbindung gefügt sein. Diese Montage von Tiefziehteilen und Spritzgussteilen ist jedoch verhältnismäßig aufwändig und entsprechend kostspielig.

[0012] DE 60026834 T2 beschreibt die Anwendung dieser speziellen Mikroplatten in einem sehr schnellen Thermocycler. Ein derartiger Thermocycler wurde auch von der Anmelderin unter der Bezeichnung speedCYCLER auf den Markt gebracht. Die oben genannten typischen 30 Zyklen können so deutlich schneller als in einer halben Stunde absolviert werden.

[0013] Ein analoger Ansatz ist in US 10,076,757 B2 beschrieben. Hier werden mehrere Temperaturblöcke verwendet, zwischen denen die extrem dünnwandige Mikrotiterplatte ihre Position wechselt. Dies erlaubt noch schnellere Temperaturwechsel. Der Positionswechsel der Mikrotiterplatten ist jeweils mit dem mechanischen Einpressen in Vertiefungen der Temperaturblöcke verbunden. Eine solche Anordnung ist jedoch mechanisch aufwändig und kann verschleißanfällig sein.

[0014] In US 9,492,825 ist eine spezielle Mikrotiterplatte für PCR-Anwendungen beschrieben, die aus unterschiedlich gut wärmeleitfähigen Materialien besteht. Sie ist im Bereich ihrer zum Kontakt mit dem Probenblock bestimmten Grundfläche aus einem relativ gut wärmeleitenden Material gebildet, während sie in einem zum Kontakt mit der Abdeckplatte bestimmten Bereich aus einem relativ wärmeisolierenden Material gebildet ist. Im Bereich des gut wärmeleitenden Materials sind zusätzlich Vertiefungen ausgebildet, die in Aufnahmen des Probenblocks hineinragen und entsprechend eine Vergrößerung der Kontaktfläche einen besseren Wärmeübergang in die Probe bewirken und damit die schnelle Durchführung von Reaktionszyklen der PCR ermöglicht. Diese Lösung erfordert jedoch eine aufwändig geformte Oberfläche des Probenblocks sowie eine aus zwei unterschiedlichen Materialien bestehende PCR-Platte. Dies macht die Herstellung des Probenblocks und der Mikrotiterplatte ebenfalls aufwändig und kostspielig.

[0015] Mit den genannten geometrischen und materialtechnischen Ausgestaltungen der Mikroplatten kann erheblich Einfluss auf die Zyklus-Geschwindigkeiten genommen werden. Trotzdem wirkt auch bei Verwendung dieser Mikroplatten die auf 5 K oberhalb der Maximaltemperatur des PCR-Temperaturzyklus temperierte Abdeckplatte gegen die Kühlzyklen des Probenblocks. Dieser Effekt wirkt sich bei relativ flachen, sehr dünnwandigen Mikroplatten, wie sie beispielsweise in DE 699 14 220 T2 beschrieben sind bzw. im oben genannten speedCycler zur Anwendung kommen, sehr deutlich aus und resultiert in einer Verringerung der möglichen Zyklusfrequenz.

[0016] Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine verbesserte Vorrichtung und ein verbessertes Verfahren zur thermischen Behandlung von in Probengefäßen enthaltenen Proben anzugeben. Insbesondere sollen die Vorrichtung bzw. das Verfahren sicherstellen, dass auch in niedrigen Probengefäßen, z.B. in Mikrotiterplatten für kleine Volumina enthaltenen Proben einen gewünschten Temperaturverlauf möglichst exakt und mit hoher Geschwindigkeit durchlaufen.

[0017] Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Vorrichtung gemäß Anspruch 1 und das Verfahren gemäß Anspruch 14. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den abhängigen Ansprüchen angegeben.

[0018] Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur thermischen Behandlung von in Probengefäßen enthaltenen Proben, umfasst:

einen Probenblock mit einem Aufnahmebereich für die Probengefäße;

eine erste Temperiervorrichtung, die mit dem Probenblock thermisch gekoppelt ist und dazu eingerichtet ist, eine Temperatur des Probenblocks einzustellen;

eine Abdeckplatte für in dem Aufnahmebereich des Probenblocks angeordnete Probengefäße;

eine zweite Temperiervorrichtung, die mit der Abdeckplatte thermisch gekoppelt ist und dazu eingerichtet ist, eine Temperatur der Abdeckplatte einzustellen; und

eine Regeleinheit, die mit der ersten und der zweiten Temperiervorrichtung verbunden ist, und dazu eingerichtet ist, die erste und die zweite Temperiervorrichtung zu steuern,

dadurch gekennzeichnet, dass die Regeleinheit dazu eingerichtet ist, die Temperatur des Probenblocks und die Temperatur der Abdeckplatte mittels der ersten und der zweiten Temperiervorrichtung aufeinander abgestimmt zu regeln.

[0019] Die Vorrichtung kann beispielsweise ein Thermocycler zur Durchführung der PCR an in den Probengefäßen enthaltenen Proben sein. Im Unterschied zu herkömmlichen Thermocyclern mit beheizbarer Abdeckplatte für die Probengefäße, bei denen die beheizbare Abdeckplatte unabhängig von der Temperatur des Probenblocks auf einer konstanten Temperatur gehalten wird, ist die erfindungsgemäße Vorrichtung dazu eingerichtet, die Temperatur der Abdeckplatte auf die Temperatur des Probenblocks abgestimmt zu regeln. Dies ermöglicht es, die Temperatur der Abdeckplatte zum einen so zu regeln, dass die unerwünschte Kondensatbildung an einer Abdeckung der Probengefäße verhindert wird, und zum anderen den Einfluss der beheizten Abdeck-

platte auf die Proben temperatur zu verringern, so dass eine schnelle und präzise Einstellung von gewünschten Proben temperaturen möglich ist.

[0020] In einer ersten Ausgestaltung kann die Regeleinheit dazu eingerichtet sein, die Temperatur der Abdeckplatte und die Temperatur des Probenblocks derart aufeinander abgestimmt zu regeln, dass die Temperatur der Abdeckplatte gleich oder größer als die Temperatur des Probenblocks ist, und dass eine Differenz zwischen der Temperatur der Abdeckplatte und des Probenblocks einen, insbesondere vorgegebenen, Höchstwert nicht überschreitet.

[0021] Indem die Regeleinheit die Temperatur des Probenblocks und der Abdeckplatte so aufeinander abgestimmt regelt, dass die Temperatur der Abdeckplatte einerseits gleich oder größer als die Temperatur des Probenblocks ist, andererseits aber die Differenz zwischen der Temperatur der Abdeckplatte und der des Probenblocks einen Höchstwert nicht überschreitet, wird einerseits die Kondensatbildung an einer die Probengefäße verschließenden Abdeckung vermieden. Andererseits wird ein sich über die Probe zwischen der Abdeckplatte und dem Probenblock ausbildender Temperaturgradient gezielt gesteuert und idealerweise möglichst gering gehalten, und so der Einfluss der Abdeckplatte auf die Proben temperatur reduziert.

[0022] Der Höchstwert der Temperaturdifferenz kann von der Art der Anwendung, z.B. von der Beschaffenheit der Probengefäße und von dem einzustellenden Temperaturverlauf der Proben, abhängen. Vorteilhaft ist der Höchstwert der Temperaturdifferenz wesentlich kleiner, als die Differenz des höchsten und des niedrigsten von der Regeleinheit einzustellenden Temperatur-Sollwerts des Probenblocks, beispielsweise kleiner als die Hälfte der Differenz des höchsten und niedrigsten Temperatur-Sollwerts des Probenblocks. Noch vorteilhafter ist der Höchstwert der Temperaturdifferenz kleiner als ein Viertel oder sogar kleiner als ein Zehntel der Differenz des höchsten und des niedrigsten Temperatur-Sollwerts des Probenblocks. In absoluten Werten kann der Höchstwert der Temperaturdifferenz zwischen der Temperatur der Abdeckplatte und des Probenblocks weniger als 10 K, insbesondere weniger als 5 K, betragen.

[0023] Die Regeleinheit kann dazu eingerichtet sein, die Temperatur der Abdeckplatte und die Temperatur des Probenblocks derart aufeinander abgestimmt zu regeln, dass sie die Temperatur der Abdeckplatte in Abhängigkeit von der Temperatur des Probenblocks regelt.

[0024] Die Regeleinheit kann beispielsweise einen ersten Regler umfassen, der dazu eingerichtet ist, mittels der ersten Temperiervorrichtung die Tempera-

tur des Probenblocks, insbesondere zyklisch, gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf zu regeln.

[0025] Sie kann weiter einen zweiten Regler umfassen, der dazu eingerichtet ist, mittels der zweiten Temperiervorrichtung die Temperatur der Abdeckplatte unter Verwendung einer Führungsgröße zu regeln, wobei die Führungsgröße von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur des Probenblocks, einer Ist-Temperatur des Probenblocks oder einer von dem ersten Regler ausgegebenen Stellgröße.

[0026] Der erste und/oder der zweite Regler können als elektrische oder elektronische Regelschaltungen ausgebildet sein. Der erste und/oder der zweite Regler können auch als Software realisiert sein, die von einem Mikrocontroller der Regeleinheit ausgeführt wird. In dieser Ausgestaltung wird die Führungsgröße für den zweiten Regler aus der Soll-Temperatur des Probenblocks, der Ist-Temperatur des Probenblocks oder von der von dem ersten Regler ausgegebenen Stellgröße ermittelt. Im einfachsten Fall kann der zweite Regler oder eine mit dem zweiten Regler verbundene weitere Komponente der Regeleinheit die Führungsgröße für den zweiten Regler durch Addieren eines die Temperaturdifferenz zwischen dem Probenblock und der Abdeckplatte repräsentierenden Werts zu der Ist-Temperatur des Probenblocks, zur Soll-Temperatur des Probenblocks oder zur Stellgröße ermitteln.

[0027] In einer alternativen Ausgestaltung kann die Regeleinheit dazu ausgestaltet sein, die Temperatur der Abdeckplatte und die Temperatur des Probenblocks derart aufeinander abgestimmt zu regeln, dass sie die Temperatur des Probenblocks in Abhängigkeit von der Temperatur der Abdeckplatte regelt.

[0028] Die Regeleinheit kann in dieser Ausgestaltung beispielsweise einen ersten Regler umfassen, der dazu eingerichtet ist, die Temperatur des Probenblocks mittels der ersten Temperiervorrichtung zu regeln. Die Regeleinheit kann zusätzlich einen zweiten Regler umfassen, der dazu eingerichtet ist, mittels der zweiten Temperiervorrichtung die Temperatur der Abdeckplatte, insbesondere zyklisch, gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf zu regeln, wobei der erste Regler dazu eingerichtet ist, die Temperatur des Probenblocks unter Verwendung einer Führungsgröße zu regeln, die von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur der Abdeckplatte, einer Ist-Temperatur der Abdeckplatte oder einer von dem zweiten Regler ausgegebenen Stellgröße.

[0029] Anders als bei der zuvor beschriebenen Ausgestaltung, bei der sich die Temperatur der Abdeckplatte nach der Temperatur des Probenblocks

bestimmt, ist es bei der hier beschriebenen alternativen Ausgestaltung die Temperatur des Probenblocks, die sich nach der Temperatur der Abdeckplatte bestimmt.

[0030] Der erste und/oder der zweite Regler können auch in dieser Ausgestaltung als elektrische oder elektronische Regelschaltungen und/oder als von einem Microcontroller der Regeleinheit ausführbare Software realisiert sein. Die Ermittlung der Führungsgröße kann in analoger Weise wie bei der zuvor beschriebenen Ausgestaltung erfolgen.

[0031] Besonders vorteilhaft kommt die erfindungsgemäße Vorrichtung zum Einsatz für die thermische Behandlung von Proben in Probengefäßen, die in einer Mikrotiterplatte für geringe Probenvolumina zusammengefasst sind.

[0032] Die Abdeckplatte kann eine planare Vorderfläche aufweisen, die dazu eingerichtet ist, gegen im Aufnahmebereich des Probenblocks angeordnete Probengefäße derart anzuliegen, dass die Probengefäße sandwichartig zwischen dem Probenblock und der Abdeckplatte angeordnet sind.

[0033] Die Abdeckplatte kann in einer vorteilhaften Ausgestaltung eine Vielzahl von Öffnungen oder Fenstern aufweisen, durch die eine optische Beobachtung der Probengefäße möglich ist, und die in einem, beispielsweise rechteckigen, zentralen Bereich der Abdeckplatte angeordnet sind. In dieser Ausgestaltung ist es möglich, die Proben in Echtzeit (real-time) simultan zur thermischen Behandlung zu analysieren (z.B. sog. Real-time PCR). Beispielsweise können jeweils zwischen zwei Behandlungszyklen optische Messwerte, z.B. Fluoreszenz-Messwerte, erfasst werden.

[0034] Die zweite Temperiervorrichtung kann mindestens ein an der Abdeckplatte angeordnetes Heizelement und mindestens ein Kühlelement umfassen, wobei das mindestens eine Kühlelement in einem den zentralen Bereich der Abdeckplatte, der die Öffnungen oder Fenster aufweist, umgebenden Peripheriebereich angeordnet ist. Vorteilhaft sind mehrere Kühlelemente im Peripheriebereich angeordnet.

[0035] Das mindestens eine Heizelement kann auf oder in zwischen den Öffnungen oder Fenstern verlaufenden Stegen der Abdeckplatte angeordnet sein.

[0036] In einer möglichen Ausgestaltung kann die Abdeckplatte aus einem pulvermetallurgisch hergestellten kupfer- oder silberhaltigen, mindestens ein Refraktärmetall umfassenden Werkstoff bestehen. Diese Materialien haben den Vorteil einer hohen Wärmeleitfähigkeit bei einer gleichzeitig vergleichsweise niedrigen Wärmekapazität. Die Wärmeleitfähigkeit des Werkstoffs, aus dem die Abdeckplatte

gebildet ist, beträgt vorteilhaft zwischen 160 und 500 W/mK und die Wärmekapazität zwischen 150 und 300 J/kgK.

[0037] Die erste Temperiervorrichtung kann mindestens ein mit dem Probenblock in Kontakt stehendes thermoelektrisches Element, z.B. ein Peltier-Element, und eine mit dem mindestens einen thermoelektrischen Element in Kontakt stehende Wärmesenke aufweisen. Vorteilhaft umfasst die Vorrichtung mehrere Peltier-Elemente.

[0038] Das erfindungsgemäße Verfahren zur thermischen Behandlung von Proben in Probengefäßen mit dem Ziel der DNA-Vermehrung umfasst die folgenden Schritte:

Anordnen der Probengefäße in einem Aufnahmebereich eines Probenblocks;

Verschließen der Probengefäße;

Abdecken der Probengefäße mit einer Abdeckplatte, derart, dass die Probengefäße zwischen dem Probenblock und der Abdeckplatte angeordnet sind;

Regeln einer Temperatur des Probenblocks mittels einer Regeleinheit und einer mit dem Probenblock thermisch gekoppelten ersten Temperiervorrichtung, die von der Regeleinheit zur Einstellung der Temperatur des Probenblocks gesteuert wird; und

Regeln einer Temperatur der Abdeckplatte mittels der Regeleinheit und einer mit dem Probenblock thermisch gekoppelten zweiten Temperiervorrichtung, die von der Regeleinheit zur Einstellung der Temperatur der Abdeckplatte gesteuert wird,

wobei die Temperatur der Abdeckplatte und die Temperatur des Probenblocks aufeinander abgestimmt geregelt werden.

[0039] Der Schritt des Verschließens der Probengefäße kann vor oder nach dem Anordnen der Probengefäße in dem Aufnahmebereich des Probenblocks durchgeführt werden. Das Verschließen der Probengefäße kann mittels einzelner, jeweils einem Probengefäß zugeordneter, vorzugsweise optisch transparenter, Verschlüsse oder, falls die Probengefäße in einer Mikrotiterplatte zusammengefasst sind, mittels einer, vorzugsweise optisch transparenten, Dichtfolie oder Dichtmatte erfolgen. Die verschlossenen Probengefäße werden mit der Abdeckplatte abgedeckt.

[0040] Um eine aufeinander abgestimmte Regelung der Temperaturen der Abdeckplatte und des Probenblocks zu erzielen, sind verschiedene Vorgehensweisen möglich. Drei Beispiele werden im Folgenden angegeben.

[0041] Zum Beispiel können die Temperatur der Abdeckplatte und die Temperatur des Probenblocks derart aufeinander abgestimmt geregelt werden, dass die Temperatur der Abdeckplatte gleich oder größer als die Temperatur des Probenblocks ist und dass eine Differenz zwischen der Temperatur der Abdeckplatte und der Temperatur des Probenblocks einen, insbesondere vorgegebenen, Höchstwert nicht überschreitet. Der Höchstwert kann von der Regeleinheit vorgegeben werden und beispielsweise in einem Speicher der Regeleinheit abgelegt sein. Wie bereits erwähnt, kann der Höchstwert beispielsweise ein Bruchteil der Differenz zwischen dem Maximalwert und dem Minimalwert des Soll-Temperaturverlaufs des Probenblocks bzw. der Proben betragen, z.B. einen Wert von wenigen Grad Kelvin.

[0042] Alternativ oder zusätzlich kann die Temperatur des Probenblocks gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf geregelt werden, wobei die Temperatur der Abdeckplatte unter Verwendung einer Führungsgröße geregelt wird, die von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur des Probenblocks, einer Ist-Temperatur des Probenblocks oder einer von der Regeleinheit zur Einstellung der Temperatur des Probenblocks an die erste Temperiervorrichtung ausgegebenen Stellgröße.

[0043] Der vorgegebene Soll-Temperaturverlauf des Probenblocks kann beispielsweise ein zyklischer Temperaturverlauf zur Durchführung der PCR in den Proben sein.

[0044] Alternativ kann die Temperatur der Abdeckplatte gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf geregelt werden, wobei die Temperatur des Probenblocks unter Verwendung einer Führungsgröße geregelt wird, die von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur der Abdeckplatte, einer Ist-Temperatur der Abdeckplatte oder einer von der Regeleinheit zur Einstellung der Temperatur der Abdeckplatte an die zweite Temperiervorrichtung ausgegebenen Stellgröße.

[0045] Eine Anordnung zur Durchführung des hier beschriebenen Verfahrens nach einer der angegebenen Ausgestaltungen und Varianten umfasst eine, beispielsweise als Thermocycler ausgestaltete, Vorrichtung nach einer der zuvor beschriebenen Ausgestaltungen und eine Vielzahl von Probengefäßen, die thermisch zu behandelnde Proben enthalten, wobei die Probengefäße in einer Mikrotiterplatte zusammengefasst sind, und wobei die Mikrotiterplatte in einem Aufnahmebereich des Probenblocks angeordnet und von der Abdeckplatte überdeckt ist. Auf diese Weise ist die Mikrotiterplatte sandwichartig zwischen dem Probenblock und der Abdeckplatte angeordnet.

[0046] Besonders vorteilhaft kommen die erfindungsgemäße Vorrichtung und das erfindungsgemäße Verfahren bei Verwendung von in Mikrotiterplatten zusammengefassten Probengefäßen für geringe Probenvolumina im niedrigen Mikroliterbereich zum Einsatz, beispielsweise solchen wie in DE 600 26 834 T2 und DE 699 14 220 T2 beschrieben. Trotz der verhältnismäßig geringen Kontaktfläche zwischen dem Heizblock und den einzelnen, in der Mikrotiterplatte gebildeten Probengefäßen und trotz des relativ geringen Abstandes der Abdeckplatte zu den in der Mikrotiterplatte enthaltenen Proben ist mit der beschriebenen Vorrichtung und dem beschriebenen Verfahren die schnelle und präzise Einstellung der Proben Temperaturen gemäß einem vorgegebenen, für die PCR erforderlichen Temperaturverlauf möglich. In einer möglichen Ausgestaltung beträgt das Volumen eines einzelnen Probengefäßes der Mikrotiterplatte oder der in einem einzelnen Probengefäß aufgenommenen Probe zwischen 10 bis 20 µl. Die Probengefäße können als Wells oder Vertiefungen der Mikrotiterplatte ausgestaltet sein. Die Wandstärke der in der Mikrotiterplatte zusammengefassten Probengefäße kann, zumindest in einem zur Aufnahme einer flüssigen Probe bestimmten Bereich, so gewählt sein, dass sie nicht mehr als 100 µm, vorteilhaft zwischen 10 und 40 µm, beträgt.

[0047] Die Erfindung wird im Folgenden anhand der in den Figuren dargestellten Ausführungsbeispiele beschrieben. Gleiche Bezugszeichen geben hier gleiche Teile der dargestellten Vorrichtung an.

[0048] Es zeigen:

Fig. 1 ein Diagramm des zeitlichen Temperaturverlaufs eines Probenblocks, einer Abdeckplatte und einer in einer Mikrotiterplatte enthaltenen, zwischen dem Probenblock und der Abdeckplatte angeordneten Probe in einem herkömmlichen Thermocycler während eines PCR-Zyklus;

Fig. 2 eine schematische Schnitt-Darstellung einer Vorrichtung für die thermische Behandlung von Proben;

Fig. 3 eine schematische Darstellung einer Aufsicht auf die Vorrichtung gemäß **Fig. 2**; und

Fig. 4 eine schematische Darstellung des zeitlichen Temperaturverlaufs des Probenblocks, der Abdeckplatte und einer Probe in der Vorrichtung gemäß **Fig. 2** und **Fig. 3**.

[0049] Wie eingangs beschrieben, weisen herkömmliche Thermocycler einen Probenblock auf, der zur Aufnahme für Probengefäße mit thermisch zu behandelnden Proben in Probegefäßen bestimmt und eingerichtet ist. Zur Durchführung von PCR-Verfahren, insbesondere auch in Real-time-PCR-Anwendungen mit gleichzeitiger Analyse der Probe,

werden die Probengefäße und eine die Probengefäße abdichtende Abdeckung, z.B. eine Dichtfolie, mit einer Abdeckplatte überdeckt, die beheizt wird, um eine Kondensatbildung an der Abdeckung zu vermeiden. Mikrotiterplatten mit Probengefäßen für geringe Probenvolumina besitzen entsprechend auch eine geringe Gesamthöhe. Die bei einer solchen Anordnung an dem Probenblock, der Abdeckplatte und in den Proben bei einem herkömmlichen Thermocycler mit einer Temperaturregelung des Probenblocks und der Abdeckplatte nach dem Stand der Technik auftretenden Temperaturen sind in dem in **Fig. 1** dargestellten Diagramm veranschaulicht.

[0050] Die Temperatur des Probenblocks (durchgezogene Linie) wird gemäß einem vorgegebenen Temperaturverlauf für einen Zyklus der PCR geregelt: In einer ersten Zeitspanne wird der Probenblock auf 95 °C geheizt (Denaturierungsphase), anschließend wird der Probenblock auf 50 °C abgekühlt (Primerhybridisierungsphase) und für eine zweite Zeitspanne auf dieser Temperatur gehalten. Anschließend wird der Probenblock wieder auf eine Temperatur von 72 °C aufgeheizt (Amplifikationsphase). Im Anschluss an diese dritte Zeitspanne wird der Probenblock erneut auf 95 °C geheizt und ein neuer Zyklus beginnt. Die Temperatur der beheizbaren Abdeckplatte (gestrichelte Linie) wird konstant auf 95 °C gehalten. Die gepunktete Linie gibt den Verlauf der Proben Temperatur wieder. Es ist ersichtlich, dass der Einfluss der beheizten Abdeckplatte auf die Temperatur der Proben dazu führt, dass die Temperatur der Proben nicht präzise dem Verlauf der Temperatur des Probenblocks folgt. Besonders nachteilig ist, dass die Proben die für die Primerhybridisierungsphase gewünschte Endtemperatur von 50 °C nicht erreichen, sondern auf einer tatsächlichen Endtemperatur von etwa 60 °C verbleiben.

[0051] In **Fig. 2** ist ein Beispiel für eine erfindungsgemäße, verbesserte Vorrichtung zur Temperierung von Proben schematisch in einer Schnitt-Darstellung gezeigt. Die Vorrichtung weist einen Probenblock 4 auf, an dessen Unterseite Temperierelemente 5 angeordnet sind, die mit dem Probenblock 4 in thermischem Kontakt stehen, um diesen zu heizen oder zu kühlen. Die Temperierelemente 5 können beispielsweise als Peltier-Elemente ausgestaltet sein. Auf ihrer vom Probenblock 4 abgewandten Rückseite stehen die Temperierelemente 5 in Kontakt mit einer Wärmesenke 6. Im vorliegenden Beispiel umfasst die Wärmesenke 6 eine Vielzahl von Kühlkörpern zur Ableitung von Wärme von den Temperierelementen 5. Die Temperierelemente 5 sind also sandwichartig zwischen dem Probenblock 4 und der Wärmesenke 6 angeordnet. Der Probenblock 4 ist aus einem Material mit hoher Wärmeleitfähigkeit, z.B. aus Silber oder aus Aluminium, ausgebildet. Dadurch wird eine schnelle Einstellbarkeit der Tem-

peratur des Probenblocks 4 mittels der Temperierelemente 5 ermöglicht.

[0052] Auf seiner Vorderseite, die der mit den Temperierelementen 5 in Kontakt stehenden Rückseite gegenüberliegt, weist der Probenblock 4 einen Aufnahmebereich für Probengefäße 9 auf. Die Probengefäße 9 sind im vorliegenden Beispiel in einer Mikrotiterplatte 3 zusammengefasst. Die hier verwendete Mikrotiterplatte 3 ist eine Mikrotiterplatte für kleine Volumina. Der Aufnahmebereich des Probenblocks 4 weist entsprechend eine gegen die Rückseite der Mikrotiterplatte 3 anliegende Oberfläche mit Vertiefungen zur Aufnahme der Probengefäße 9 auf.

[0053] Die Mikrotiterplatte 3 ist durch eine Dichtfolie 10 abgedeckt, die die einzelnen, als Wells in der Mikrotiterplatte ausgestalteten, Probengefäße 9 dicht verschließt. Die Mikrotiterplatte 3 mit der Dichtfolie 10 ist von einer Abdeckplatte 2 überdeckt. Die Abdeckplatte 2 ist thermisch mit einer Temperiervorrichtung gekoppelt, die ein oder mehrere Heizelemente 1 umfasst. Im vorliegenden Beispiel ist ein einziges, flächiges Heizelement 1 vorhanden. Das oder die Heizelemente 1 können zum Beispiel als Widerstandsheizelemente ausgestaltet sein.

[0054] In Fig. 3 ist eine Ansicht der Vorrichtung von oben schematisch dargestellt. In dieser Darstellung ist erkennbar, dass das Heizelement 1 eine Vielzahl von Öffnungen 12 aufweist, durch die optische Messungen, z.B. Fluoreszenzmessungen, an in den Probengefäßen 9 der Mikrotiterplatte 3 enthaltenen Proben möglich ist. Die Abdeckplatte 2 kann aus einem für Messstrahlung transparenten Material bestehen. Alternativ und vorteilhafterweise kann sie aus einem für die Messstrahlung nicht transparenten Material bestehen, das neben einer guten Wärmeleitfähigkeit eine geringe Wärmekapazität besitzt. Geeignete Materialien sind Refraktärmetalle und Refraktärmetall-Legierungen, z.B. pulvermetallurgisch hergestellte kupfer- oder silberhaltige, mindestens ein Refraktärmetall umfassende Werkstoffe. Als Refraktärmetalle werden üblicherweise hochschmelzende, unedle Metalle der 4., 5. und 6. Nebengruppe des Periodensystems der Elemente, z.B. Titan, Zirkonium, Hafnium, Vanadium, Niob, Tantal, Chrom, Molybdän und Wolfram, sowie auch ein oder mehrere dieser Metalle enthaltende Legierungen verstanden. Vorteilhaft für die Anwendung als Material der Abdeckplatte 2 sind solche Refraktärmetalle oder Legierungen, die eine Wärmeleitfähigkeit im Bereich zwischen 160 und 400 W/mK und eine Wärmekapazität zwischen 150 und 300 J/kgK aufweisen. In Frage kommt beispielsweise ein Wolfram-Kupfer-Sinterwerkstoff mit einer Wärmeleitfähigkeit zwischen 160 und 230 W/mK und einer Wärmekapazität zwischen 200 und 250 J/kgK. In diesem Fall weist die Abdeckplatte 2 mit den Öffnungen 12 des Heizele-

ments 1 fluchtende Öffnungen auf, durch die Messstrahlung aus den Probengefäßen der Mikrotiterplatte 3 hindurch erfasst werden kann. Die Dichtfolie 10 besteht aus einem für Messstrahlung transparenten Polymer.

[0055] Die Temperiervorrichtung für die Abdeckplatte 2 umfasst neben dem Heizelement 1 auch mehrere Kühlelemente 11. Die Kühlelemente 11 sind im vorliegenden Beispiel an der Peripherie der Abdeckplatte 2 angeordnet. Sie können beispielsweise Peltier-Elemente, Wärmerohre (engl. Fachbegriff: Heatpipes) oder Fluid-Kühlungen, z.B. Wasser- oder Luftkühlungen, umfassen.

[0056] Die Vorrichtung zur thermischen Behandlung der in der Mikrotiterplatte 3 enthaltenen Proben umfasst weiter eine Regeleinheit 13, die mit den Temperierelementen 5 zur Einstellung der Temperatur des Probenblocks 4 und mit dem Heizelement 1 und den Kühlelementen 11 zur Einstellung der Temperatur der Abdeckplatte 2 elektrisch verbunden ist. Die Regeleinheit 13 kann eine elektrische oder elektronische Regelschaltung, insbesondere mit einem Mikrocontroller mit einer Software zur Ausführung einer Temperaturregelung enthaltenden Datenspeicher, umfassen. Die Regeleinheit 13 ist dazu eingerichtet die Temperatur der Abdeckplatte 2 und die Temperatur des Probenblocks 4 aufeinander abgestimmt zu regeln. Im vorliegenden Beispiel umfasst die Regeleinheit 13 zwei Regler, nämlich einen ersten Regler 7 zur Regelung der Temperatur des Probenblocks 4 und einen zweiten Regler 8 zur Regelung der Temperatur der Abdeckplatte.

[0057] Der erste Regler 7 ist dazu eingerichtet, anhand einer Führungsgröße, die den Soll-Temperaturverlauf des PCR-Zyklus repräsentiert, und einer die aktuelle Ist-Temperatur des Probenblocks 4 repräsentierenden Regelgröße eine Stellgröße zu ermitteln und an die Temperierelemente 5 auszugeben, um die Temperatur des Probenblocks 4 auf den Wert der Führungsgröße einzustellen. Die Regelgröße kann beispielsweise von einem die aktuelle Ist-Temperatur des Probenblocks 4 erfassenden Temperaturfühler (nicht in der Fig. 2 und Fig. 3 gezeigt) zur Verfügung gestellt werden. Der erste Regler 7 ist weiter dazu eingerichtet, ein die Ist-Temperatur des Probenblocks 4 repräsentierendes Signal an den zweiten Regler 8 auszugeben. Das Signal kann beispielsweise die Führungsgröße des ersten Reglers 7, die Regelgröße des ersten Reglers 7 oder die von dem ersten Regler 7 ausgegebene Stellgröße oder ein aus einer von diesen Größen abgeleitetes Signal sein.

[0058] Der zweite Regler 8 ist dazu ausgestaltet, anhand einer aus dem von dem Regler 7 erhaltenen, die Ist-Temperatur des Probenblocks 4 repräsentierenden Signal abgeleiteten Führungsgröße und einer

die aktuelle Ist-Temperatur der Abdeckplatte 2 repräsentierenden Regelgröße eine Stellgröße zu ermitteln und an das Heizelement 1 und/oder an die Kühlelemente 11 auszugeben, um die Temperatur der Abdeckplatte 2 auf den Wert der Führungsgröße einzustellen. Die Regelgröße kann beispielsweise eine von einem (nicht in **Fig. 2** und **Fig. 3** eingezeichneten) Temperaturfühler erfasste Temperatur der Abdeckplatte 2 sein. Die Führungsgröße für den zweiten Regler 8 kann basierend auf dem von dem ersten Regler 7 zur Verfügung gestellten Signal derart ermittelt werden, dass sie einer Soll-Temperatur der Abdeckplatte 2 entspricht, die gleich der Ist-Temperatur des Probenblocks 4 ist oder um wenige Kelvin, z.B. 2 bis 10 K, höher liegt als die Ist-Temperatur des Probenblocks 4.

[0059] Im Folgenden wird ein Beispiel für ein Verfahren zur thermischen Behandlung von Proben in Probengefäßen mit dem Ziel der DNA-Vermehrung beschrieben. Im hier beschriebenen Ausführungsbeispiel wird das Verfahren mittels der in **Fig. 2** und **Fig. 3** dargestellten Vorrichtung durchgeführt. Zunächst werden die Proben enthaltende Probengefäße 9, die in der Mikrotiterplatte 3 zusammengefasst sind, in den Aufnahmebereich des Probenblocks 4 angeordnet. Zuvor oder anschließend werden die Probengefäße 9 verschlossen, z.B. mittels einer Dichtfolie 10, die auf die Mikrotiterplatte 3 aufgelegt oder aufgeklebt wird. Anschließend werden die Probengefäße 9 mit der Abdeckplatte 2 abgedeckt. Die Mikrotiterplatte 3 ist dann sandwichartig zwischen dem Probenblock 4 und der Abdeckplatte 2 angeordnet. Mittels der Regeleinheit 13 werden die Temperatur der Abdeckplatte 2 und die Temperatur des Probenblocks 4 aufeinander abgestimmt geregelt, so dass die Proben einen gewünschten, z.B. einen der DNA-Vermehrung mittels PCR dienenden, Temperaturverlauf durchlaufen. Hierzu kann die Regeleinheit 13 die Temperatur der Abdeckplatte 2 und des Probenblocks so aufeinander abgestimmt regeln, dass die Temperatur der Abdeckplatte 2 gleich oder größer als die Temperatur des Probenblocks 4 ist, und dass die Differenz zwischen der Temperatur der Abdeckplatte 2 und der Temperatur des Probenblocks einen Höchstwert nicht überschreitet. Dieser Höchstwert kann im vorliegenden Ausführungsbeispiel wenige Kelvin, z.B. 2 bis 10 K, betragen.

[0060] Im vorliegenden Ausführungsbeispiel erfolgt die Regelung der Temperatur der Abdeckplatte 2 in Abhängigkeit von der Temperatur des Probenblocks 4. Mittels des ersten Reglers 7 der Regeleinheit 13 wird zur thermischen Behandlung der Proben die Temperatur des Probenblocks 4 gesteuert, nämlich im vorliegenden Beispiel gemäß einem für die Zyklen der PCR vorgegebenen Verlauf. Hierzu regelt der erste Regler 7 die mit dem Probenblock 4 thermisch gekoppelten Temperierelemente 5 unter Verwendung einer den gewünschten Soll-Temperaturverlauf

der PCR-Zyklen entsprechenden Führungsgröße und einer mittels eines Temperaturfühlers erfassten, die aktuelle Ist-Temperatur des Probenblocks 4 repräsentierenden Regelgröße. Aus der Führungs- und der Regelgröße ermittelt der Regler 7 eine Stellgröße, die er an die Temperierelemente 5 ausgibt, um die Temperatur des Probenblocks 4 auf den Wert der Führungsgröße einzustellen.

[0061] Der erste Regler gibt außerdem ein die Ist-Temperatur des Probenblocks 4 repräsentierendes Signal an den zweiten Regler 8 aus, das beispielsweise die Führungsgröße des ersten Reglers 7, die Regelgröße des ersten Reglers 7 oder die von dem ersten Regler 7 ausgegebenen Stellgröße oder ein aus einem dieser Größen abgeleitetes Signal ist. Der zweite Regler 8 ermittelt aus dem Signal seine Führungsgröße, z.B. im einfachsten Fall durch Addition eines eine gewünschte Temperaturdifferenz zwischen dem Probenblock 4 und der Abdeckplatte 2 repräsentierenden Betrags zu dem Wert des Signals. Die so ermittelte Führungsgröße entspricht einer Soll-Temperatur der Abdeckplatte 2, die um die gewünschte Temperaturdifferenz höher ist als die aktuelle Ist-Temperatur des Probenblocks 4. Der zweite Regler regelt basierend auf der ermittelten Führungsgröße und einer die aktuelle Ist-Temperatur der Abdeckplatte 2 repräsentierenden Regelgröße, die beispielsweise mittels eines Temperaturfühlers ermittelt werden kann, die Temperatur der Abdeckplatte 2. Hierzu kann sie eine Stellgröße an das Heizelement 1 und/oder an die Kühlelemente 11 ausgeben, um die Temperatur der Abdeckplatte 2 auf den Wert der Führungsgröße einzustellen.

[0062] Die Verläufe der Temperaturen des Probenblocks 4, der Abdeckplatte 2 und einer in der Mikrotiterplatte 3 enthaltenen Probe im Laufe des beschriebenen Verfahrens sind in **Fig. 4** in einer schematischen Darstellung veranschaulicht. Die Temperatur des Probenblocks 4 (durchgezogene Linie) folgt dem vorgegebenen Temperaturverlauf für einen Zyklus der PCR. Er entspricht im Wesentlichen dem Temperaturverlauf des Probenblocks mit der Denaturierungsphase, der Primerhybridisierungsphase und der Amplifikationsphase, wie er in **Fig. 1** gezeigt ist. Im Unterschied zu dem in **Fig. 1** gezeigten Beispiel nach dem Stand der Technik bleibt die Temperatur der Abdeckplatte 2 der in den **Fig. 2** und **Fig. 3** dargestellten Vorrichtung nicht konstant auf einem hohen Wert. Vielmehr ist mittels der beschriebenen, von der Temperatur des Probenblocks 4 abhängigen Regelung die Temperatur der Abdeckplatte 2 (gestrichelte Linie) jederzeit an den Temperaturverlauf des Probenblocks 4 angepasst, so dass eine Temperaturdifferenz zwischen der Abdeckplatte 2 und dem Probenblock 4 einen Höchstwert von 10 K nicht überschreitet. Aus der **Fig. 4** ist ersichtlich, dass als Folge dieser Temperaturregelung der Abdeckplatte 2 die Temperatur der

Probe (gepunktete Linie) im Wesentlichen mit erheblich verbesserter Geschwindigkeit und Präzision dem Temperaturverlauf des Probenblocks 4 folgt. Insbesondere ist zu vermerken, dass auch während des zweiten Zeitabschnitts des Zyklus, d.h. während der Primerhybridisierungsphase, die Endtemperatur der Probe nach einer kurzen Abkühlungsphase den durch den Probenblock 4 vorgegebenen Wert erreicht.

[0063] Die Erfindung umfasst eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen des hier beschriebenen Ausführungsbeispiels. Beispielsweise ist es auch möglich, dass ein Temperaturfühler, der die aktuelle Ist-Temperatur des Probenblocks erfasst, ein die Ist-Temperatur des Probenblocks repräsentierendes Signal an den zweiten Regler der Regeleinheit ausgibt, um die Führungsgröße des zweiten Reglers abzuleiten.

[0064] In einer weiteren Abwandlung des hier ausführlich dargestellten Ausführungsbeispiels einer Vorrichtung und eines Verfahrens zur thermischen Behandlung von Proben ist es möglich, dass ein mit den Temperierelementen für den Probenblock verbundener erster Regler die Temperatur des Probenblocks in Abhängigkeit von der durch einen zweiten Regler geregelten Temperatur der Abdeckplatte regelt. In diesem Fall wird dem zweiten Regler ein den Verlauf der PCR-Zyklen wiedergebende Führungsgröße vorgegeben, während der erste Regler vom zweiten Regler ein die Ist-Temperatur der Abdeckplatte repräsentierendes Signal erhält, anhand dessen die Führungsgröße des ersten Reglers für die Temperaturregelung des Probenblocks ermittelt wird.

[0065] Eine Vielzahl weiterer Varianten ist denkbar, ohne dass vom Erfindungsgedanken abgewichen wird.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur thermischen Behandlung von in Probengefäßen enthaltenen Proben, umfassend: einen Probenblock (4) mit einem Aufnahmebereich für die Probengefäße (9); eine erste Temperiereinrichtung, die mit dem Probenblock (4) thermisch gekoppelt ist und dazu eingerichtet ist, eine Temperatur des Probenblocks (4) einzustellen; eine Abdeckplatte (2) für in dem Aufnahmebereich des Probenblocks (4) angeordnete Probengefäße (9); eine zweite Temperiereinrichtung, die mit der Abdeckplatte (2) thermisch gekoppelt ist und dazu eingerichtet ist, eine Temperatur der Abdeckplatte (2) einzustellen; und eine Regeleinheit (13), die mit der ersten und der zweiten Temperiereinrichtung verbunden ist, und

dazu eingerichtet ist, die erste und die zweite Temperiereinrichtung zu steuern, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Regeleinheit (13) dazu eingerichtet ist, die Temperatur des Probenblocks (4) und die Temperatur der Abdeckplatte (2) mittels der ersten und der zweiten Temperiereinrichtung aufeinander abgestimmt zu regeln.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Regeleinheit (13) dazu eingerichtet ist, die Temperatur der Abdeckplatte (2) und die Temperatur des Probenblocks (4) derart aufeinander abgestimmt zu regeln, dass die Temperatur der Abdeckplatte (2) gleich oder größer als die Temperatur des Probenblocks (4) ist, und dass eine Differenz zwischen der Temperatur der Abdeckplatte (2) und des Probenblocks (4) einen, insbesondere vorgegebenen, Höchstwert nicht überschreitet.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Regeleinheit (13) dazu eingerichtet ist, die Temperatur der Abdeckplatte (2) und die Temperatur des Probenblocks (4) derart aufeinander abgestimmt zu regeln, dass die Temperatur der Abdeckplatte (2) von der Temperatur des Probenblocks (4) abhängt.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Regeleinheit (13) einen ersten Regler (7) umfasst, der dazu eingerichtet ist, mittels der ersten Temperiereinrichtung die Temperatur des Probenblocks (4), insbesondere zyklisch, gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf zu regeln.

5. Vorrichtung nach Anspruch 4, wobei die Regeleinheit (13) einen zweiten Regler (8) umfasst, der dazu eingerichtet ist, mittels der zweiten Temperiereinrichtung die Temperatur der Abdeckplatte (2) unter Verwendung einer Führungsgröße zu regeln, und wobei die Führungsgröße von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur des Probenblocks (4), einer Ist-Temperatur des Probenblocks (4) oder einer von dem ersten Regler (7) ausgegebenen Stellgröße.

6. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Regeleinheit (13) dazu ausgestaltet ist, die Temperatur der Abdeckplatte (2) und die Temperatur des Probenblocks (4) derart aufeinander abgestimmt zu regeln, dass die Temperatur des Probenblocks (4) von der Temperatur der Abdeckplatte (2) abhängt.

7. Vorrichtung nach Anspruch 6, wobei die Regeleinheit (13) einen ersten Regler (7) umfasst, der dazu eingerichtet ist, die Temperatur des Probenblocks (4) mittels der ersten Temperiereinrichtung zu regeln, und wobei die Regeleinheit (13) einen zweiten Regler (8) umfasst, der dazu eingerichtet ist, mittels der zweiten Temperiereinrichtung

tung die Temperatur der Abdeckplatte (8), insbesondere zyklisch, gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf zu regeln, und wobei der erste Regler (7) dazu eingerichtet ist, die Temperatur des Probenblocks (4) unter Verwendung einer Führungsgröße zu regeln, die von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur der Abdeckplatte (2), einer Ist-Temperatur der Abdeckplatte (2) oder einer von dem zweiten Regler (8) ausgegebenen Stellgröße.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Abdeckplatte (2) eine planare Vorderfläche aufweist, und dazu eingerichtet ist, gegen im Aufnahmebereich des Probenblocks (4) angeordnete Probengefäße (9) derart anzuliegen, dass die Probengefäße (9) sandwichartig zwischen dem Probenblock (4) und der Abdeckplatte (2) angeordnet sind.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Abdeckplatte (2) eine Vielzahl von Öffnungen (12) oder Fenstern aufweist, durch die eine optische Beobachtung der Probengefäße (9) möglich ist, und die in einem, beispielsweise rechteckigen, zentralen Bereich der Abdeckplatte (2) angeordnet sind.

10. Vorrichtung nach Anspruch 9, wobei die zweite Temperiervorrichtung mindestens ein an der Abdeckplatte (2) angeordnetes Heizelement (1) und mindestens ein Kühlelement (11) umfasst, und wobei das mindestens eine Kühlelement (1) in einem den zentralen Bereich der Abdeckplatte (2), der die Öffnungen (12) oder Fenster aufweist, umgebenden Peripheriebereich angeordnet sind.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10, wobei das mindestens eine Heizelement (1) auf oder in zwischen den Öffnungen (12) oder Fenstern verlaufenden Stegen der Abdeckplatte (2) angeordnet sind.

12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, wobei die Abdeckplatte (2) aus einem pulvermetallurgisch hergestellten kupfer- oder silberhaltigen, mindestens ein Refraktärmetall umfassenden Werkstoff besteht.

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei die erste Temperiervorrichtung mindestens ein mit dem Probenblock in Kontakt stehendes thermoelektrisches Element (5) und eine mit dem mindestens einen thermoelektrischen Element in Kontakt stehende Wärmesenke (6) aufweist.

14. Verfahren zur thermischen Behandlung von Proben in Probengefäßen mit dem Ziel der DNA-Vermehrung, umfassend:
Anordnen der Probengefäße (9) in einem Aufnahmebereich eines Probenblocks (4);

Verschließen der Probengefäße (9), beispielsweise mit einer Dichtfolie (10);

Abdecken der Probengefäße (9) mit einer Abdeckplatte (2), derart, dass die Probengefäße (9) zwischen dem Probenblock (4) und der Abdeckplatte (2) angeordnet sind;

Regeln einer Temperatur des Probenblocks (4) mittels einer Regeleinheit (13) und einer mit dem Probenblock (4) thermisch gekoppelten ersten Temperiervorrichtung, die von der Regeleinheit (13) zur Einstellung der Temperatur des Probenblocks (4) gesteuert wird; und

Regeln einer Temperatur der Abdeckplatte (2) mittels der Regeleinheit und einer mit dem Probenblock (4) thermisch gekoppelten zweiten Temperiervorrichtung, die von der Regeleinheit (13) zur Einstellung der Temperatur der Abdeckplatte (2) gesteuert wird, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Temperatur der Abdeckplatte (2) und die Temperatur des Probenblocks (4) aufeinander abgestimmt geregelt werden.

15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei die Temperatur der Abdeckplatte (2) und die Temperatur des Probenblocks (4) derart aufeinander abgestimmt geregelt werden, dass die Temperatur der Abdeckplatte (2) gleich oder größer als die Temperatur des Probenblocks (4) ist und dass eine Differenz zwischen der Temperatur der Abdeckplatte (2) und der Temperatur des Probenblocks (4) einen, insbesondere vorgegebenen, Höchstwert nicht überschreitet.

16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, wobei die Temperatur des Probenblocks (4) gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf geregelt wird, und wobei die Temperatur der Abdeckplatte (2) unter Verwendung einer Führungsgröße geregelt wird, die von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur des Probenblocks (4), einer Ist-Temperatur des Probenblocks (4) oder einer von der Regeleinheit (13) zur Einstellung der Temperatur des Probenblocks (4) an die erste Temperiervorrichtung ausgegebenen Stellgröße.

17. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, wobei die Temperatur der Abdeckplatte (2) gemäß einem vorgegebenen Soll-Temperaturverlauf geregelt wird, und wobei die Temperatur des Probenblocks (4) unter Verwendung einer Führungsgröße geregelt wird, die von einer der folgenden Größen abhängt: einer Soll-Temperatur der Abdeckplatte (2), einer Ist-Temperatur der Abdeckplatte (2) oder einer von der Regeleinheit (13) zur Einstellung der Temperatur der Abdeckplatte (2) an die zweite Temperiervorrichtung ausgegebenen Stellgröße.

18. Anordnung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 14 bis 17, umfassend eine Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 und eine Vielzahl von Probengefäßen (9), die

thermisch zu behandelnde Proben enthalten, wobei die Probengefäße (9) in einer Mikrotiterplatte (3) zusammengefasst sind, und wobei die Mikrotiterplatte (3) in einem Aufnahmebereich des Probenblocks (4) angeordnet und von der Abdeckplatte (2) überdeckt ist.

Es folgen 2 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

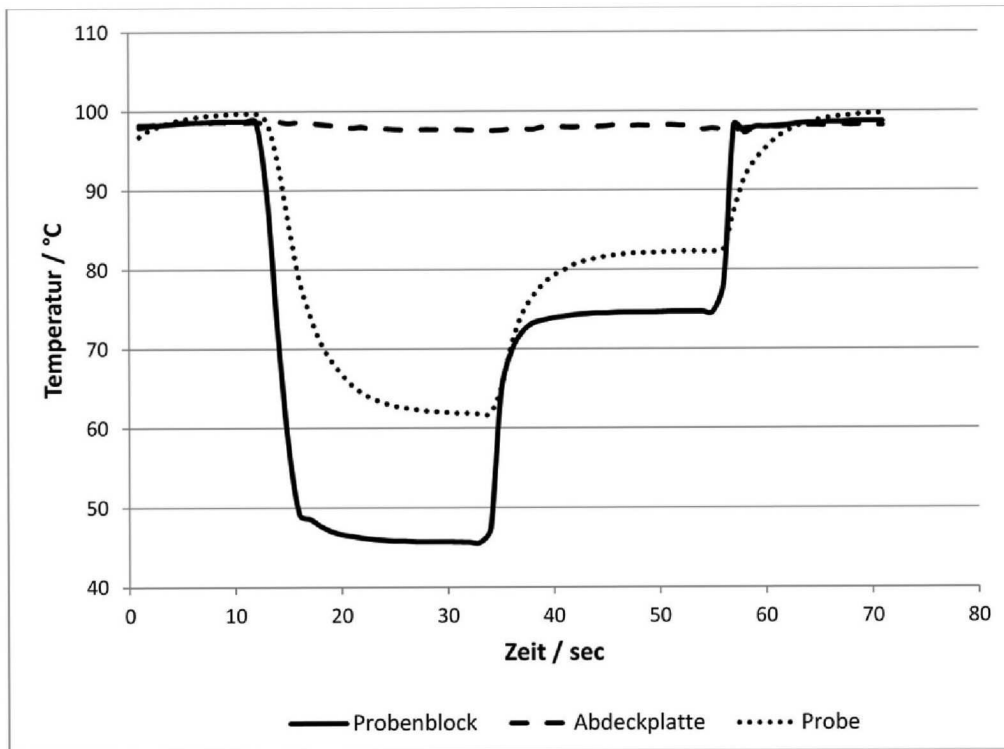


Fig. 1

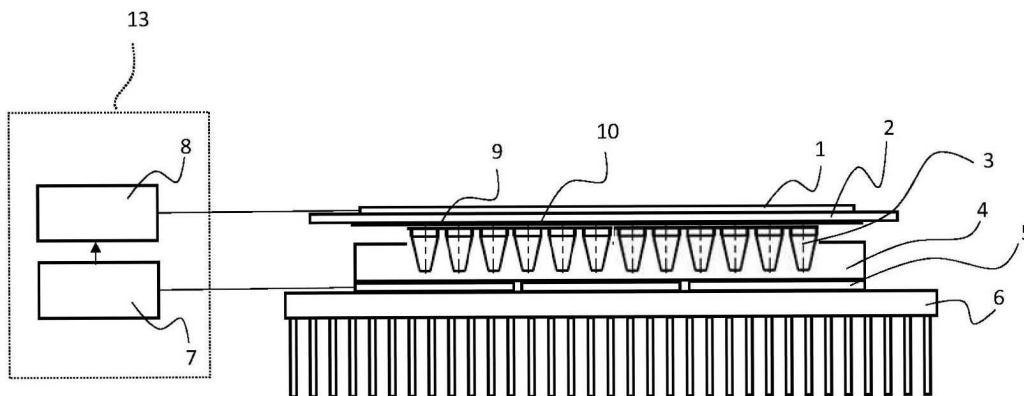


Fig. 2

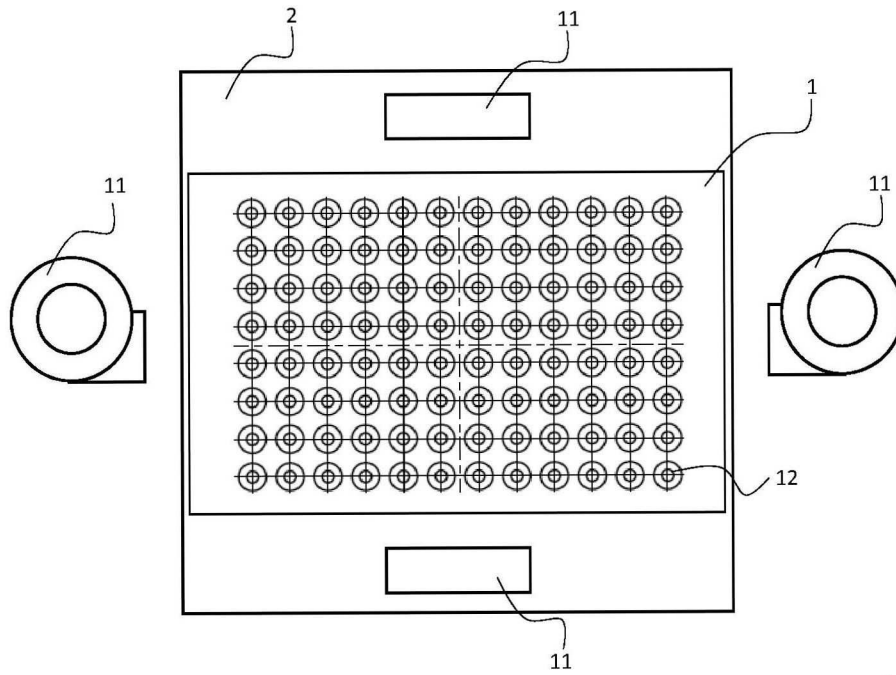


Fig. 3

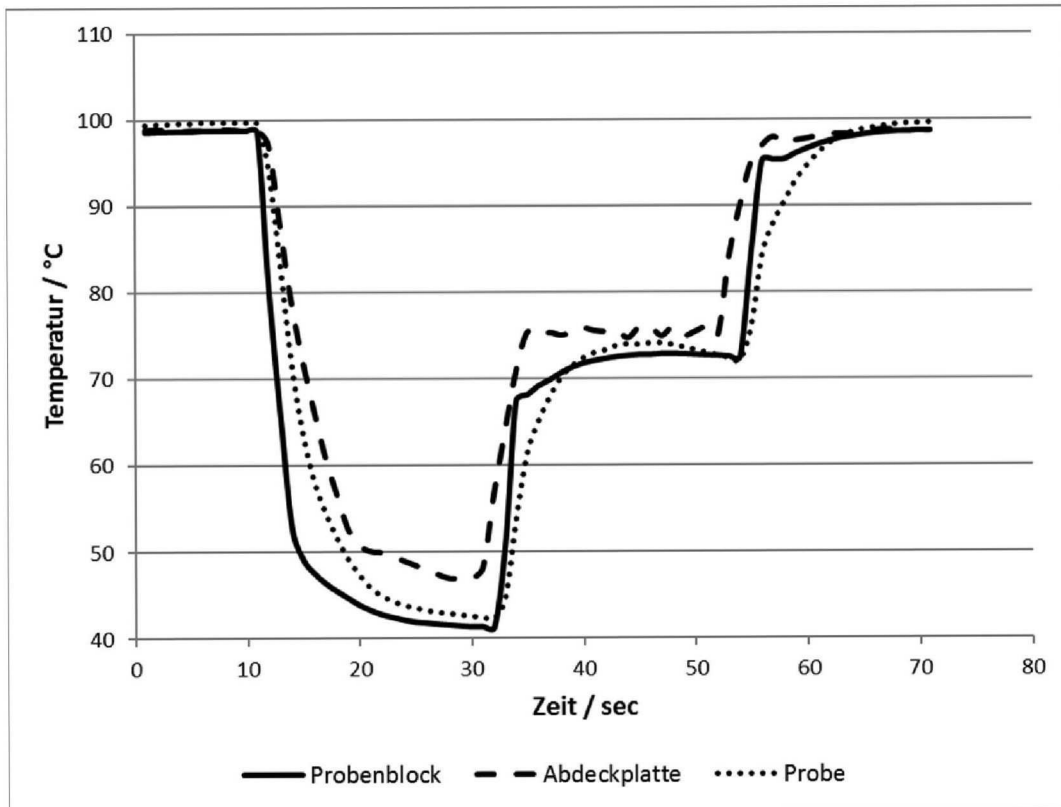


Fig. 4