



(10) **DE 10 2011 010 307 A1** 2012.08.09

(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2011 010 307.4**

(22) Anmeldetag: **03.02.2011**

(43) Offenlegungstag: **09.08.2012**

(51) Int Cl.: **C40B 60/14 (2006.01)**

C40B 99/00 (2006.01)

(71) Anmelder:
**Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 79098,
Freiburg, DE**

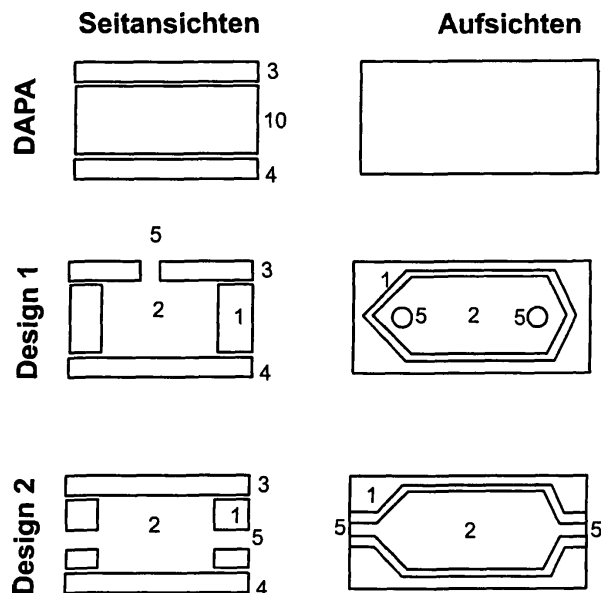
(72) Erfinder:
Erfinder wird später genannt werden

(74) Vertreter:
HERTIN Anwaltssozietät, 10707, Berlin, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung und Verfahren zur Erzeugung von Protein-Mikroarrays**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und Verfahren zur Herstellung eines Molekül-Mikroarrays, welches auf einer ersten Auflagefläche ein Nukleinsäure-Mikroarray für ein Enzymatisches System bereitstellt, welches aus der Nukleinsäure die Moleküle synthetisiert, so dass die erzeugten Moleküle aus dem Nukleinsäure-Mikroarray auf einer zweiten Auflagefläche als entsprechendes Mikroarray immobilisiert sind, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Auflagefläche indirekt über eine mit einer Molekül-permeablen Flüssigkeit gefüllten Spalt in Kontakt mit der ersten Auflagefläche steht.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Erzeugung von Protein-Mikroarrays und stellt eine technische Umsetzung und Verbesserung des „DAPA-Systems“ [1] dar.

[0002] Beim DAPA-System wird ein DNA-Array über eine Membran mit einer weiteren zweiten Oberfläche in Kontakt gebracht. Die Membran enthält ein „zellfreies Expressionssystem“, welches so beginnt aus der DNA entsprechende Proteine herzustellen. Diese diffundieren durch die Membran und binden dann an der zweiten Oberfläche, wodurch ein Protein-Mikroarray entsteht.

[0003] Diese Ausführung der Protein-Mikroarrayerzeugung weist jedoch einige nachteilige Eigenschaften auf, die in der Membran selbst liegen. Der physikalische Kontakt der Membran mit den Oberflächen zerstört diese durch Kratzer und Abrieb. Das inhomogene Material der Membran sorgt ebenfalls für Inhomogenitäten auf dem erzeugten Protein-Mikroarray. Die biochemische Reaktion startet bereits beim Auflegen der Membran. Somit ist die Montage und der Start der Reaktion gekoppelt. Dies erlaubt nur einen sehr vage definierten Start der Reaktion. Der Einbau der Membran ist anspruchsvoll, da die Protein-Erzeugung umso besser ist, je dünner die Membran ist. Dünne Membranen sind jedoch schwer zu handhaben. Beim Zusammenbau dürfen keine Luftblasen zwischen der Membran und den Oberflächen eingeschlossen werden. Die Erzeugungsapparatur ist sehr komplex und fehleranfällig bei der Montage zur Erzeugung der Proteine und benötigt mehr als 3 Stunden für die Herstellung einer Protein-Kopie.

[0004] Die Herstellung von Protein-Mikroarrays erfolgt in klassischer Weise durch Erzeugung der Proteine in Zellen, Aufreinigung jedes einzelnen Proteins gefolgt von einem Transfer auf das Mikroarray. Dieser Transfer-Schritt wird mittels eines „Druckersystems“ gewährleistet. Diese Techniken sind bereits seit Jahrzehnten in der Anwendung. Die aufwendige Herstellung der Proteine durch Aufreinigung von Zellkulturen sorgt dafür, dass die entsprechenden Protein-Mikroarrays um die 1.000 € pro Array kosten. Eine chemische Synthese der Proteine scheidet aufgrund der ungenügenden Reinheiten der chemischen Synthese selbst aus. Kurze Protein-Fragmente, sogenannte Peptide, sind synthetisch zugänglich und erlauben die Herstellung von Peptid-Mikroarrays. Jedoch ist die biochemische Aussagekraft von Peptid-mikroarrays deutlich geringer als von Protein-Mikroarrays.

[0005] Neuere Ansätze erzeugen Protein-Mikroarrays aus sehr viel einfacher herstellbaren DNA-Mikroarrays. Der im Februar 2010 erschienene Review [2] zeigt sehr detailliert die einzelnen Varianten und bis-

her realisierten Möglichkeiten, um aus einem DNA-Mikroarray ein Protein-Mikroarray herzustellen. Damit aus der DNA überhaupt Protein entstehen kann, muss die DNA über gewisse Erkennungssequenzen verfügen, um so „expression ready“ zu sein.

[0006] 2001 veröffentlichten He und Taussig das PISA-System [3]. Hierbei wird die DNA direkt vor der Verwendung mit dem zellfreien Expressionssystem gemischt und dann auf eine Oberfläche dispensiert. In diesem kleinen Flüssigkeitstropfen wird dann Protein erzeugt. Das Protein enthält ein His-Tag, welches an die Nickel-NTA-Oberfläche bindet. Sobald genug Protein an die Oberfläche des Mikroarrays gebunden ist, wird es gewaschen. Die DNA und alle Proteine ohne His-Tag werden dabei abgewaschen. Nur das His-Tag-Protein bleibt „gereinigt“ an der Oberfläche zurück. Das Mikroarray wird dann direkt für Bindungsmessungen eingesetzt. 2006 wurde mit dieser Technik ein Protein-Mikroarray mit 13.000 Proteinen veröffentlicht [4].

[0007] Zwar umgeht man so das aufwendige Aufreinigen der einzelnen Proteine (im Vergleich zu den klassischen Techniken), der Aufwand beim unverzüglich Mischen der einzelnen DNA-Sequenzen mit dem zellfreien Expressionssystem direkt vor dem Transfer auf das Mikroarray ist jedoch enorm und sollte für jeden einzelnen Spot des Mikroarrays unter identischen Konzentrations- und Zeitparametern stattfinden.

[0008] 2004 veröffentlichte LaBear das NAPPA-System [5]. Hierbei wird zunächst eine Oberfläche hergestellt, die Streptavidin und einen Antikörper gegen eine Proteinsequenz (hier His-Tag) trägt. Auf diese Oberfläche druckt man DNA, welche über ein Biotin an das Streptavidin bindet. Diese DNA-Mikroarrays lassen sich nun für 1 bis 2 Jahre lagern. Die Haltbarkeit des gesamten NAPPA-Mikroarray ist nur durch die Lagerbarkeit des Antikörpers begrenzt. Direkt vor Gebrauch wird das komplette Mikroarray mit zellfreiem Expressionssystem überschichtet.

[0009] Es bildet sich an jedem DNA-Spot ein anderes Protein, welches frei in den Raum diffundiert. Da das Protein eine Sequenz enthält, die an den Antikörper bindet, wird es rein statistisch mit hoher Wahrscheinlichkeit auf dem Spot oder in der direkten Umgebung des Spots gebunden. Nach einem Waschschritt kann das Mikroarray verwendet werden. Es bleibt nur die DNA und das gebildete Protein auf der Oberfläche. 2008 wurde auf diese Weise ein Mikroarray mit etwas über 1.000 Proteinen hergestellt [6].

[0010] Der enorme Vorteil das NAPPA gegenüber dem PISA ist, dass man eine beliebige Anzahl an DNA-Mikroarrays anfertigen und einlagern kann. Erst kurz vor Gebrauch stellt man das Protein her. Das doppelte Bindungssystem aus Streptavidin und Anti-

körpern (Kostenfaktor) und das Verbleiben der DNA auf der Oberfläche (stört nachfolgenden Assay), erweisen sich als nachteilig.

[0011] 2008 veröffentlichte Taussig mit dem DAPA-System [1] eine Methode, die es erlaubt, von einer DNA-Mikroarray-Vorlage eine beliebige Anzahl an Protein-Mikroarrays zu generieren. Hierbei wird zunächst die codierende DNA auf eine Epoxy-funktionalisierte Oberfläche gespottet. Man erzeugt so ein klassisches DNA-Mikroarray. Auf dieses DNA-Mikroarray wird eine dünne Membran gelegt, die mit Zellfreiem Expressionssystem getränkt ist. Sobald der Kontakt zustande kommt und das Mikroarray benetzt wird, werden die Proteine hergestellt und diffundieren ungerichtet in die Membran. Auf die Rückseite dieses „Sandwich“ wird daher sofort eine Oberfläche gelegt, an die die Proteine binden. Sobald die Proteine durch die Membran diffundiert ist, bindet dieses an die Oberfläche und bildet ein Protein-Mikroarray. Nach ca. 3 bis 4 Stunden öffnet man das Sandwich und reinigt das DNA- sowie das Protein-Mikroarray. Danach kann das Protein-Mikroarray für die Bindungsmessungen verwendet und das DNA-Mikroarray bis zur Herstellung des nächsten Protein-Mikroarrays wieder eingelagert werden.

[0012] Klare Vorteile des DAPA-Systems sind, dass die erzeugten Protein-Mikroarrays keine kontaminierende DNA enthalten und das originale DNA-Mikroarray jederzeit wiederverwendet werden kann. Die Wiederverwendbarkeit des DNA-Mikroarrays stellt einen deutlichen Fortschritt gegenüber aller früheren Methoden dar. Nachteilig ist jedoch, dass sich das Auflegen der getränkten Membran nicht klar definiert durchführen lässt und die Membran selbst ein nicht-gewobenes und damit ebenfalls undefiniertes Material darstellt. Zudem beschädigt der physikalische Kontakt zwischen der Membran und den Oberflächen sowohl das DNA- als auch das Protein-Mikroarray. Dies erschwert die Wiederholgenauigkeit der Methode, schmälert aber nicht die Genialität des grundsätzlichen Gedankens des DAPA-Systems von einer DNA-Mikroarray-Vorlage beliebig viele Protein-Mikroarray-Kopien anzufertigen.

[0013] Es gibt einige mikrofluidische Ansätze um Proteine aus entsprechender DNA in Kombination mit zellfreiem Expressionssystem darzustellen. Der Fokus der Autoren (mit Ausnahme des DAPA-Systems von Taussig) lag jedoch mehr auf der Erzielung einer erhöhten Proteinausbeute und ein paralleles Herstellen der Proteine im Blickfeld, als die Herstellung eines Proteinmikroarrays. Jedoch besitzen all diese Fluidiken das Potential um aus DNA-Mikroarrays prinzipiell Protein-Mikroarrays herzustellen und werden daher der Vollständigkeit halber aufgeführt.

[0014] Das DAPA-System [1] auf einem „Sandwich“ aus einem DNA-Array, einer Membran und einer Fän-

geroberfläche. Die Membran wird vor dem Einlegen mit zellfreiem Expressionssystem getränkt und zwischen 2 Platten fixiert. Zwar funktioniert das DAPA-System grundsätzlich, führt aber aufgrund des undefinierten „Auflegens“ der Membran zu einer schlechten Reproduzierbarkeit. Der Startzeitpunkt der Reaktion ist nicht klar definiert, die Membran beschädigt durch Kontakt sowohl das DNA- als auch das Protein-Mikroarray und weist unter anderem Vorzugsrichtungen für die Diffusion auf.

[0015] Bei den bekannten Verfahren ist die verwendete Membran sehr nachteilig für die Reproduzierbarkeit, die Lebensdauer des DNA-Mikroarrays und des Proteinarrays.

[0016] Aufgabe der Erfindung ist es daher ein Verfahren und eine Vorrichtung bereitzustellen, wodurch die aufgeführten Nachteile vermieden werden.

[0017] Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch eine Vorrichtung und ein Verfahren gelöst, indem das DNA-Mikroarray von der Protein-Array-Oberfläche durch einen dünnen fluidischen Spalt separiert ist. Je nach Auslegung kann hierbei das DNA- oder das Protein-Array über eine Mikrostrukturierung verfügen, um diesen Spalt zu realisieren, oder der Spalt über einen Abstandshalter realisiert ist. Dies erlaubt dann das Einlegen der Arrays im üblichen Format eines Objektträgers. **Abb. 11** zeigt die Skizze, die als erstes für diesen Ansatz angefertigt wurde. Wichtige Merkmale sind:

Das DNA- und das Protein-Mikroarray sind über einen fluidischen Spalt getrennt.

[0018] Der Spalt kann realisiert werden über 1) eine Mikrostruktur im DNA-Array, 2) eine Mikrostruktur im Protein-Array, 3) einen mikrostrukturierten Abstandshalter, der zwischen die Arrays geklemmt wird (bevorzugte Auslegung).

[0019] Die Montage und der Start der biochemischen Reaktion sind entkoppelt.

[0020] Die Montage wird durch Zusammenklemmen des Abstandshalters mit den Arrays realisiert (bevorzugte Auslegung).

[0021] Abhängig von dem im fluidischen Spalt vorliegenden enzymatischen System kann anstelle des Protein-Array auch ein DNA-Array oder ein RNA-Array erzeugt werden. Somit wird entsprechend der jeweilig im enzymatischen System eingesetzten Polymerase entweder DNA oder RNA aus der im ersten Array vorgelegten Nucleinsäure erzeugt.

Ausführungsbeispiele

[0022] Es wurden entsprechende aufgebaute Prototypen realisiert. Anstelle der Membran wird einfach

ein Spalt zwischen zwei Oberflächen verwendet, der sich mittels Kapillarkräfte befüllt. Ein 65 µm dicker Abstandhalter sorgt bei Prototyp 1 (Design 1) und 2 (Design 2), [Abb. 1](#) bis [Abb. 5](#) für einen definierten Abstand und eine fluidische „Führung“ des zellfreien Expressionssystems beim Einfüllen. Das Handgerät erlaubt eine einfache und schnelle Montage und Fixierung zweier Objektträgers aufeinander. Erst nach dem kompletten Zusammenbau wird das zellfreie Expressionssystem entweder über eine Bohrung (Prototyp 1) (Design 1) oder über eine kleine seitliche Öffnung im Abstandhalter (Prototyp 2) (Design 2) eingefüllt. Im Vergleich zum bisherigen Auflegen der Membran im DAPA-System, erlaubt das Handgerät einen definierte biochemische Reaktion, insbesondere in Hinsicht den Startzeitpunkt der Reaktion, die verwendeten Volumina und Konzentrationen.

[0023] Die Reaktion startet somit nicht wie beim DAPA-System schon beim Zusammenbau, sondern erst bei der Zugabe des zellfreien Expressionssystems. Nach dem Befüllen wird das Handgerät für aktuell 25 min bis 45 min in den Brutschrank gelegt. Das gesamte Handgerät hat ein sehr geringes Gewicht und entsprechend geringe Wärmekapazität. Nach der Inkubation werden die Mikroarrays voneinander getrennt und gewaschen. In ersten Versuchen mit dem Handgerät gute Ergebnisse erzielt worden.

[0024] Prototyp 3, [Abb. 6](#), ist eine komplexere Kartusche, die in einen Fluidikstand integriert werden kann und von einer Seite über ein Peltier-Element beheizt wird. Hierdurch ist ein beliebiges Einstellen einer Prozesstemperatur möglich. Weiterhin liegt die Seite des Protein-Mikroarrays frei und erlaubt so eine Detektion der Protein-Erzeugung. Der angeschlossene Prototyp wird über Spritzenpumpen befüllt, entleert und gewaschen. Prototyp 4, [Abb. 7](#), besteht aus einer PDMS-Struktur, auf die das DNA-Mikroarray gespotet wird. Die Struktur selbst ist nur ein dünner wenige 10 µm hoher Rahmen, der den Reaktionsraum umschließt und eine Zu- sowie Ableitung für Flüssigkeiten enthält. Das Protein-Mikroarray ist ein Objektträger. Durch einfaches „Aufkleben“ bildet das PDMS zusammen mit dem Objektträger den fluidischen Spalt. Durch die Zuleitung kann das gesamte Konstrukt mit Flüssigkeit befüllt werden. Einfache Klammern fixieren die Arrays aufeinander für die Dauer der Reaktion. Ein identisches Layout ist auf Seite des Protein-Mikroarrays ebenfalls realisierbar. Dieses PDMS lässt sich mit einem „Protein-Fänger-System“ wie Nickel-NTA beschichten und das DNA-Mikroarray ist ein Objektträger. Prototyp 5, [Abb. 8](#), ist eine PDMS-Struktur, in welche das Protein- und das DNA-Mikroarray wie in einer Schublade eingeschoben werden. Das PDMS und die Gläser bilden zusammen den fluidischen Spalt. Vorteilhaft an diesem Prototyp ist, dass die Zu- und Ableitung der Fluide über das PDMS erfolgen (deutlich weniger Leckagen) und sowohl DNA- als auch Protein-Mikroarray ein Ob-

jektträger sind (kein Bedarf an „speziell“ strukturierten DNA- oder Protein-Mikroarray-Trägern und damit höhere Akzeptanz im Labor). In [Abb. 9](#) sind verschiedene Layouts des Abstandhalters dargestellt.

[0025] Das Halterungssystem bietet folgende Vorteile:

Das DNA- und das Protein-Mikroarray sind über einen fluidischen Spalt getrennt. Es gibt keinen physikalisch „harten“ Kontakt zwischen DNA- und Protein-Mikroarray und damit weder Kratzer noch Beschädigungen. Dies gewährleistet erhöhte Lebensdauer des DNA-Mikroarrays und verbesserte Qualität des Protein-Mikroarrays.

[0026] Die Montage und der Reaktionsstart sind entkoppelt. Hierdurch kann jederzeit montiert und zu jedem späteren Zeitpunkt die Reaktion sehr definiert gestartet werden. Dies ergibt einen Handhabungsvorteil (Entkopplung Montage und Reaktionsstart) und deutlich reproduzierbare Reaktionsbedingungen, sowie beliebiger Start-Punkt der Reaktion, Vereinfachte Montage kann realisiert werden über:
eine Mikrostruktur im DNA-Array,
eine Mikrostruktur im Protein-Array
einen mikrostrukturierten Abstandhalter, der zwischen die Arrays geklemmt wird (bevorzugte Auslegung).

[0027] Im Falle des Abstandhalters können sowohl das DNA- als auch das Protein-Mikroarray ein Objektträger sein und es werden keine zusätzlichen Dichtungen benötigt, da der Abstandhalter selbst als solche fungiert und somit eine einfache Handhabung ermöglicht.

[0028] Der einfache Aufbau erlaubt eine schnelle Prozessführung. So wird die Zeit für die Herstellung einer Proteinkopie von ca. 3 Stunden auf ca. 30 min verkürzt und ermöglicht somit sehr schnelle Taktzeiten.

[0029] Vorteile der erfinderischen Vorrichtung und Verfahrens sind: Austausch der störenden Membran durch den fluidischen Spalt unter Beibehaltung der vollen Funktionalität: Protein- bzw. RNA bzw. DNA-Erzeugung; Übertragung der Proteine vom DNA-Array auf das Protein-Array; Entkopplung der Montage und des Reaktionsstarts.

[0030] Es entfallen die Nachteile der bisher üblichen Verfahren: schwierige Handhabung der nassen dünnen Membran; Luftblaseneinschlüsse beim Auflegen der Membran, direkter Reaktionsstart beim Auflegen der Membran; physikalische Abnutzung des DNA-Mikroarrays;

Literatur

[0031] [1] M. He, O. Stoevesandt, E. A. Palmer, F. Khan, O. Ericsson, and M. J. Taussig, "Printing protein arrays from DNA arrays," *Nature Methods*, vol. 5, no. 2, pp. 175–177, Feb. 2008.

[0032] [2] H. Chandra and S. Srivastava, "Cell-free synthesis-based protein microarrays and their applications," *Proteomics*, vol. 10, no. 4, pp. 717–730, Feb. 2010.

[0033] [3] M. Y. He and M. J. Taussig, "Single step generation of protein arrays from DNA by cellfree expression and in situ immobilisation (PISA method)," *Nucleic Acids Research*, vol. 29, no. 15, p. art-e73, Aug. 2001.

[0034] [4] J. Sobek, K. Bartscherer, A. Jacob, J. D. Hoheisel, and P. Angenendt, "Microarray technology as a universal tool for high-throughput analysis of biological systems," *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, vol. 9, no. 5, pp. 365–380, June 2006.

[0035] [5] N. Ramachandran, E. Hainsworth, B. Bhullar, S. Eisenstein, B. Rosen, A. Y. Lau, J. C. Walter, and J. LaBaer, "Self-assembling protein microarrays," *Science*, vol. 305, no. 5680, pp. 86–90, July 2004.

[0036] [6] N. Ramachandran, S. Srivastava, and J. LaBaer, "Applications of protein microarrays for biomarker discovery," *Proteomics Clinical Applications*, vol. 2, no. 10–11, pp. 1444–1459, Oct. 2008.

Abbildungen

[0037] [Abb. 1](#): DAPA, Design 1 und Design 2

[0038] [Abb. 2](#): Handgerät für Design 1

[0039] [Abb. 3](#): Handgerät für Design 2

[0040] [Abb. 4](#): Prototyp 1

[0041] [Abb. 5](#): Prototyp 2

[0042] [Abb. 6](#): Prototyp 3

[0043] [Abb. 7](#): Prototyp 4

[0044] [Abb. 8](#): Prototyp 5

[0045] [Abb. 9](#): Design der Kammer

Bezugszeichenliste

1	Spacer
2	fluidischer Spalt
3	DNA-Fläche
4	Protein-Fläche
5	Öffnung zum Befüllen/Entlüften
6	obere Halterung
7	untere Halterung
8	seitliche Halterung
9	Verschluss
10	Membran

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- H. Chandra and S. Srivastava, "Cell-free synthesis-based protein microarrays and their applications," *Proteomics*, vol. 10, no. 4, pp. 717–730, Feb. 2010 [0032]
- M. Y. He and M. J. Taussig, "Single step generation of protein arrays from DNA by cellfree expression and in situ immobilisation (PISA method)," *Nucleic Acids Research*, vol. 29, no. 15, p. art-e73, Aug. 2001 [0033]
- J. Sobek, K. Bartscherer, A. Jacob, J. D. Hoheisel, and P. Angenendt, "Microarray technology as a universal tool for high-throughput analysis of biological systems," *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, vol. 9, no. 5, pp. 365–380, June 2006 [0034]
- N. Ramachandran, E. Hainsworth, B. Bhullar, S. Eisenstein, B. Rosen, A. Y. Lau, J. C. Walter, and J. LaBaer, "Self-assembling protein microarrays," *Science*, vol. 305, no. 5680, pp. 86–90, July 2004 [0035]
- N. Ramachandran, S. Srivastava, and J. LaBaer, "Applications of protein microarrays for biomarker discovery," *Proteomics Clinical Applications*, vol. 2, no. 10–11, pp. 1444–1459, Oct. 2008 [0036]

Patentansprüche

1. Vorrichtung und Verfahren zur Herstellung eines Molekül-Mikroarrays, welches auf einer ersten Auflagefläche ein Nukleinsäure-Mikroarray für ein Enzymatisches System bereitstellt, welches aus der Nukleinsäure die Moleküle synthetisiert, so dass die erzeugten Moleküle aus dem Nukleinsäure-Mikroarray auf einer zweiten Auflagefläche als entsprechendes Mikroarray immobilisiert sind, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zweite Auflagefläche indirekt über eine mit einer Molekül-permeablen Flüssigkeit gefüllten Spalt in Kontakt mit der ersten Auflagefläche steht.

2. Vorrichtung und Verfahren nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Protein-Mikroarrays, welches auf einer ersten Auflagefläche ein Nukleinsäure-Mikroarray für ein zellfreies Proteinsynthesystem bereitstellt und diese Proteinsynthese durch Transkription und Translation ermöglicht, so dass die exprimierten Proteine aus dem Nukleinsäure-Mikroarray auf einer zweiten Auflagefläche als entsprechendes Mikroarray immobilisiert sind, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Auflagefläche indirekt über einen mit einer Proteinpermeablen Flüssigkeit gefüllten Spalt in Kontakt mit der ersten Auflagefläche steht.

3. Vorrichtung und Verfahren nach Anspruch 1 in dem das Enzymsystem eine DNA-Polymerase ist und das erzeugte Molekül somit DNA. Es wird ein DNA-Array erzeugt.

4. Vorrichtung und Verfahren nach Anspruch 1 in dem das Enzymsystem eine RNA-Polymerase und das erzeugte Molekül RNA. Es wird ein RNA-Array erzeugt.

5. Vorrichtung und Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Breite des Spaltes mit der Molekül-permeable Flüssigkeit durch Abstandshalter zwischen der ersten und zweiten Auflagefläche bestimmt wird.

6. Vorrichtung und Verfahren nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die durch die Abstandshalter bewirkte Breite des mit der Molekül-permeable Flüssigkeit gefüllten Spaltes kleiner 100 Mikrometer, bevorzugt kleiner 40 Mikrometer ist.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Abb. 1

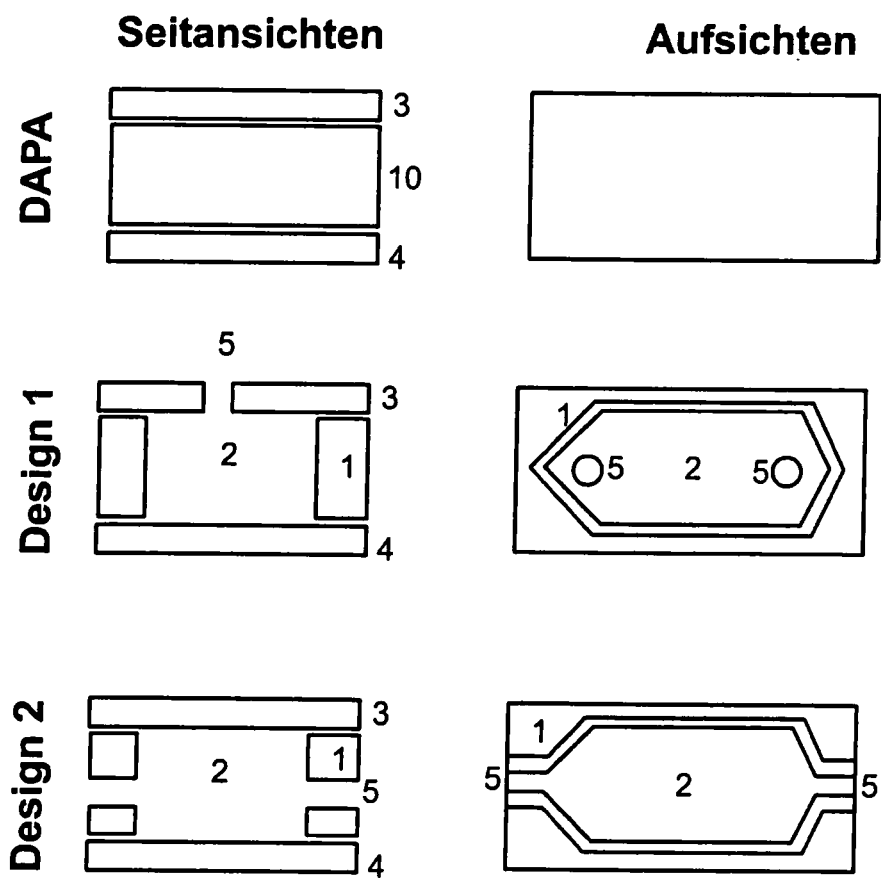


Abb. 2:

Handgerät für Design 1

Design: Polyesterfolie auf Objektträger

Befüllung: seitlich

Aufbau: Glas -Spacer-Glas

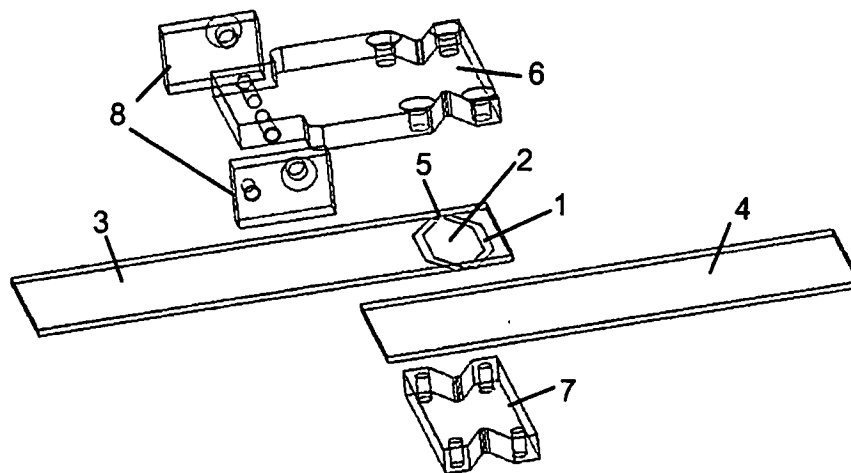


Abb. 3:

Handgerät zum Design 2

Design: Polyesterfolie auf Objektträger

Befüllung: durch Glas hindurch

Aufbau: Glas -Spacer-Glas

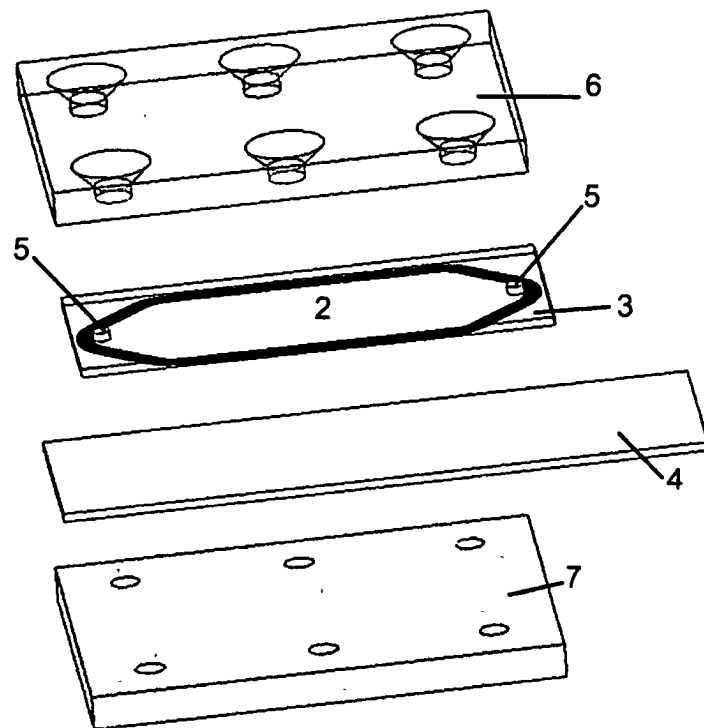
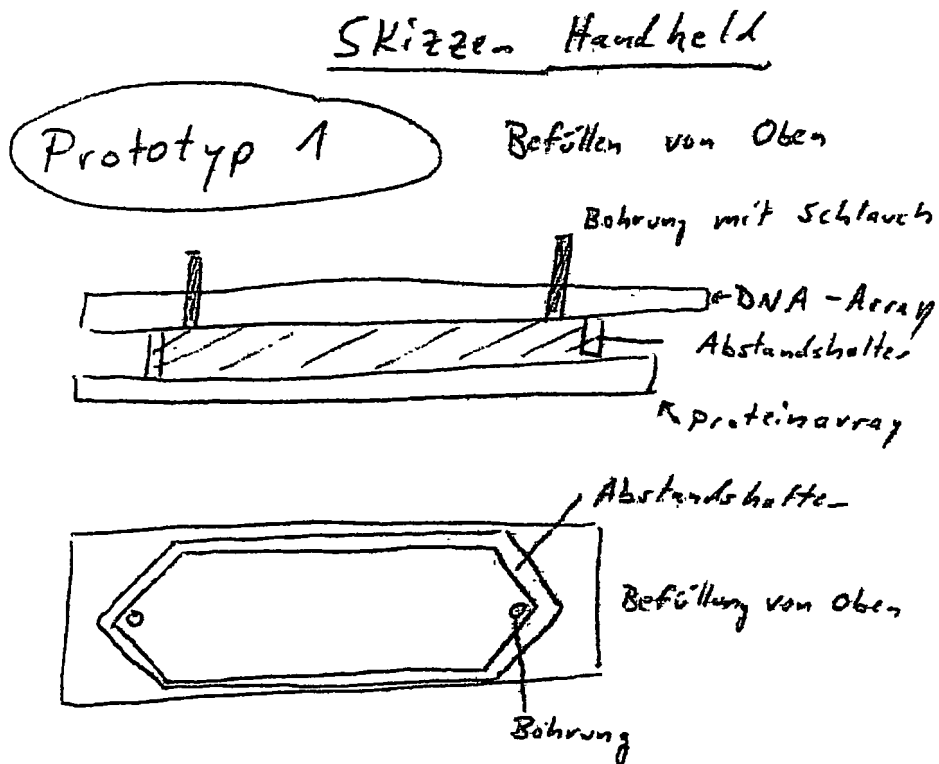


Abb. 4:

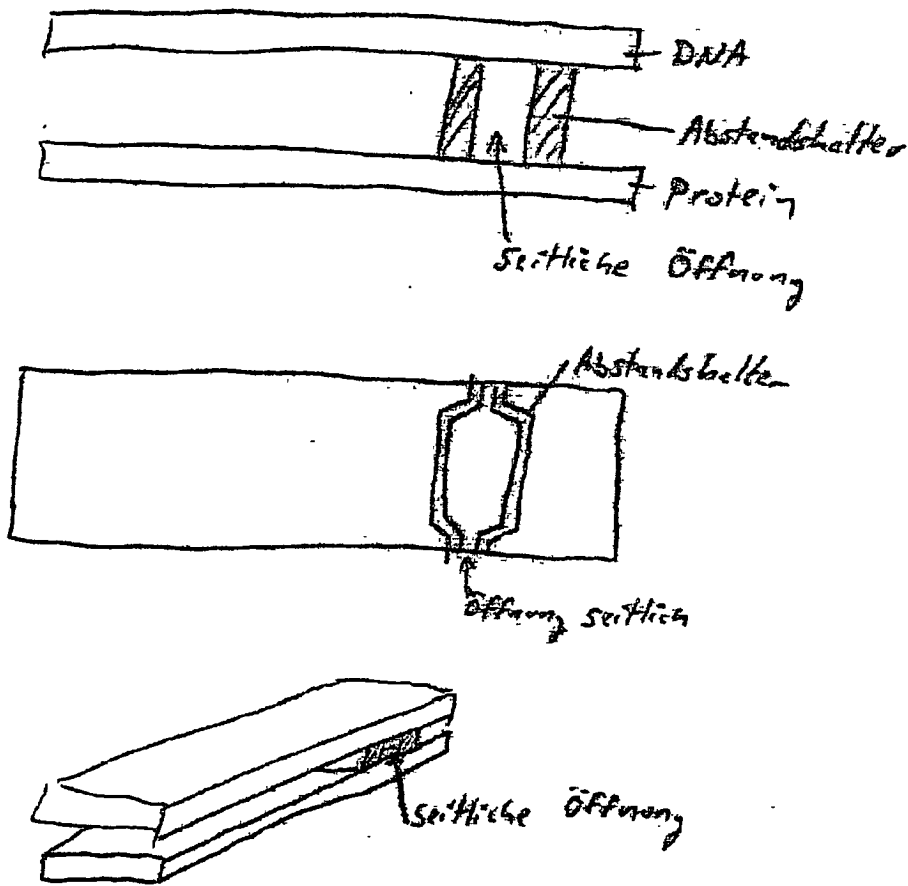


1. DNA - Array wird durchbohrt
2. Zusammenlegen : DNA - Array , Abstandshalter , Protein-Array

Abb. 5:

SKIZZEN Handheld

Prototyp 2 Befüllen seitlich



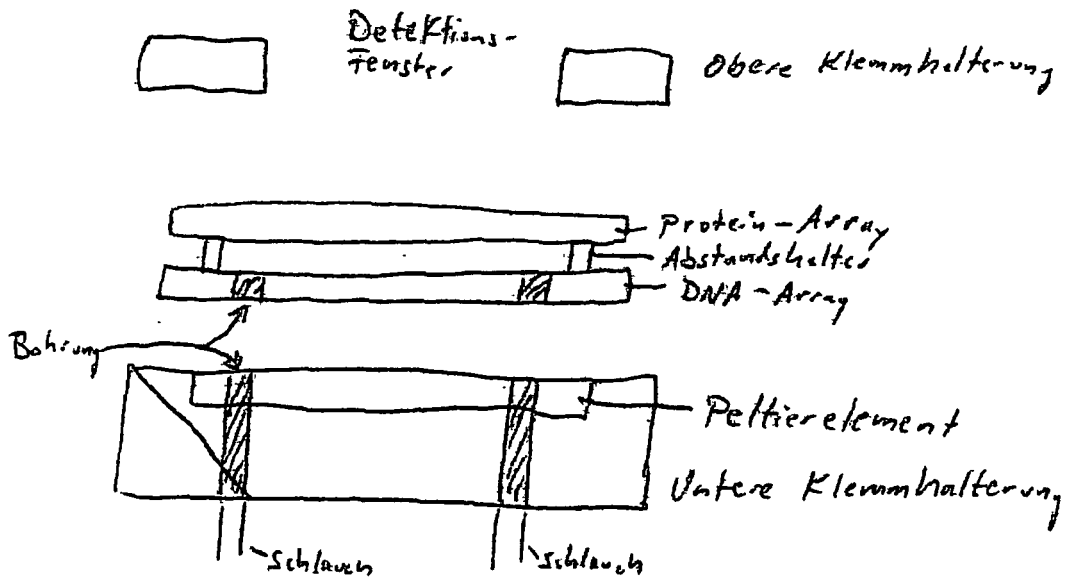
1. Direktes Zusammenbauern
2. Befüllen durch seitlichen Spalt, der im Abstandshalter ist.

Abb. 6:

Skizzen Handheld

Prototyp 3

Einbau in Fluidikautomat zum automatisierten Befüllen, Entleeren & Waschen



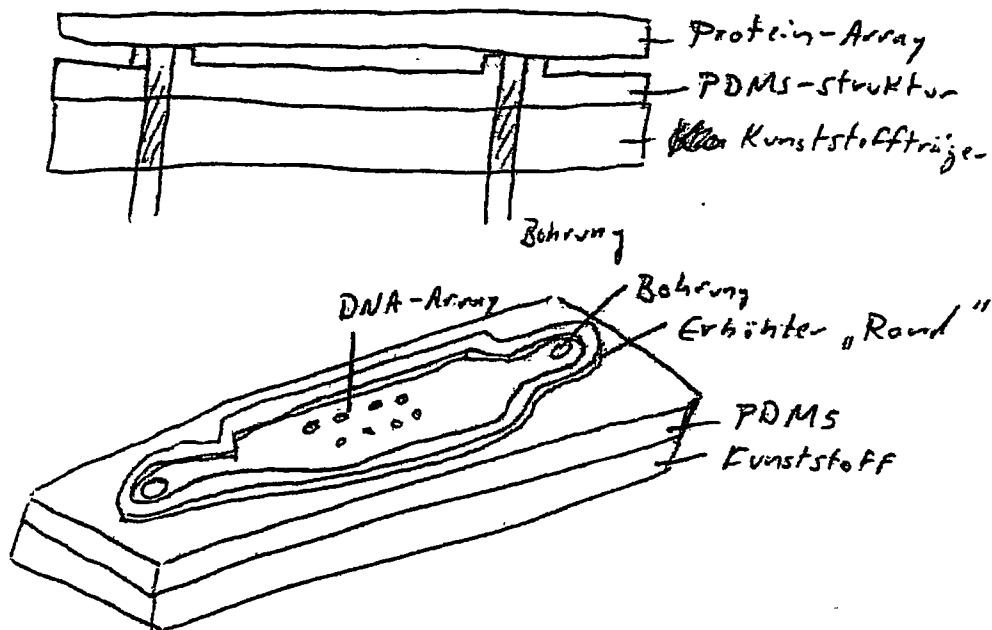
1. Design analog zu Prototyp 1
2. Kompatibel zu einer größeren Halterung für eine Automation

Abb. 7:

Skizzen Handheld

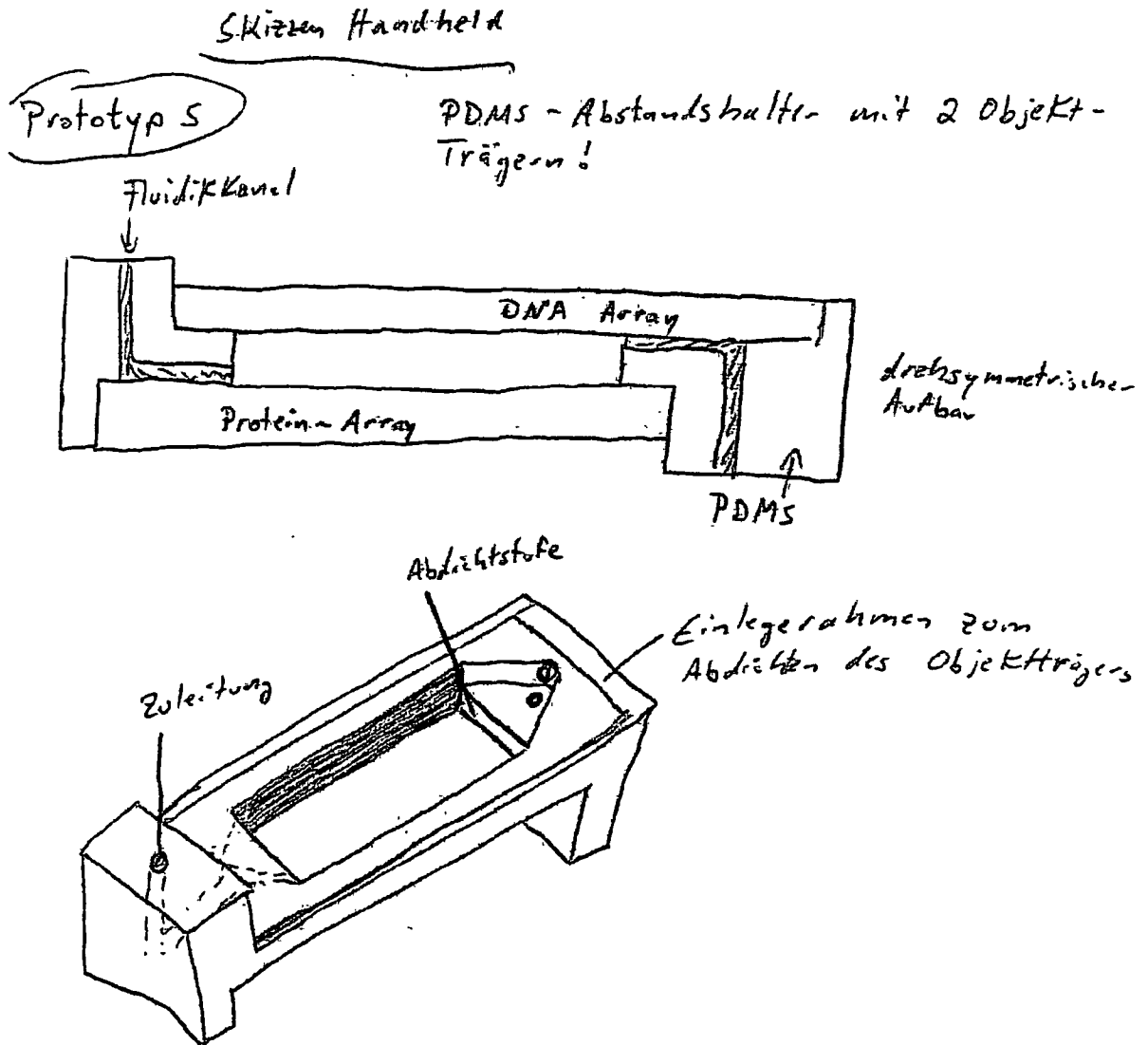
Prototyp 4

Befüllung durch DNA-Array
Abstandshalter in DNA-Array integriert



1. DNA-Array ist auf strukturierendem PDMS
= Fusion von DNA-Array und Abstandshalter
2. Befüllung durch DNA-Array

Abb.8:



1. Der Abstandhalter ist drehsymmetrisch aufgebaut.
2. Ein Glas dichtet den Einlaß, das andere den Auslaß.
3. Ein stabiler Einlegerahmen stabilisiert den gesamten Träger

Abb. 9:

Skizzen Handheld

Design der Kammer

