

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. November 2005 (10.11.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/106478 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 33/543**,
B81B 7/04, B01J 19/00, H01L 21/027

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/002941

(22) Internationales Anmeldedatum:
18. März 2005 (18.03.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 019 357.6 21. April 2004 (21.04.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **INFINEON TECHNOLOGIES AG** [DE/DE]; St.-
Martin-Str. 53, 81669 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **FREY, Alexander**
[DE/DE]; Eichenstr. 1, 82024 Taufkirchen (DE). **HOF-**
MANN, Franz [DE/DE]; Herbergstrasse 25B, 80995
München (DE). **SCHINDLER-BAUER, Petra** [DE/DE];
Zugspitzstr. 23, 85591 München (DE).

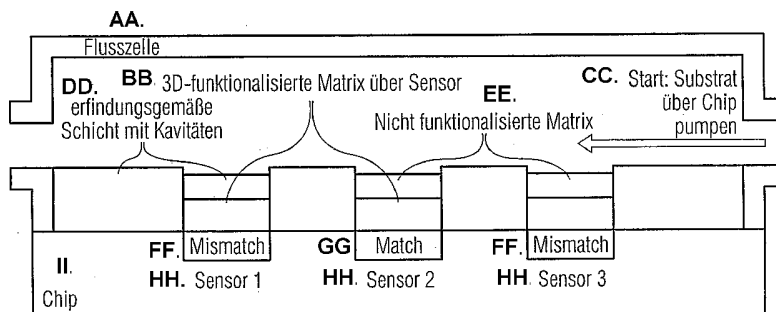
(74) **Anwalt: HOCK, Joachim**; Müller-Boré & Partner,
Grafinger Strasse 2, 81671 München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR FUNCTIONALIZING BIOSENSOR CHIPS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR FUNKTIONALISIERUNG VON BIOSENSOR-CHIPS



AA...FLOW CELL
BB...3D-FUNCTIONALIZED MATRIX OVER SENSOR
CC...START: SUBSTRATE OVER CHIP PUMPING
DD...INVENTIVE LAYER WITH CAVITIES
EE...NON-FUNCTIONALIZED MATRIX
FF...MISMATCH
GG...MATCH
HH...SENSOR...
II...CHIP

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for functionalizing biosensors, particularly those based on semiconductor chips mounted on a finished processed wafer, provided with sensor fields placed thereupon, which are usually arranged in an array, and, to be precise, for carrying out a functionalization, for example, with organic molecules such as nucleic acids like DNA, RNA and PNA or with their derivatives, proteins, sugar molecules or antibodies.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/106478 A1



(84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(57) **Zusammenfassung:** Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Funktionalisierung von Biosensoren, insbesondere solchen auf Basis von auf einem fertig prozessierten Wafer angeordneten Halbleiter-Chips mit darauf aufgetragenen Sensorfeldern, die üblicherweise im Arrayformat angeordnet sind, und zwar eine Funktionalisierung beispielsweise mit organischen Molekülen wie z.B. Nukleinsäuren wie DNA, RNA und PNA bzw. deren Derivaten, Proteinen, Zuckermolekülen oder Antikörpern.

- 1 -

Verfahren zur Funktionalisierung von Biosensor-Chips

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Funktionalisierung von Biosensor-Chips, insbesondere solchen auf Basis von auf einem fertig prozessierten Wafer angeordneten Halbleiter-Chips mit darauf aufgebracht

5 Sensorfeldern, die üblicherweise im Arrayformat angeordnet sind, und zwar eine Funktionalisierung beispielsweise mit organischen Molekülen wie z.B. Nukleinsäuren wie DNA, RNA und PNA bzw. deren Derivaten, Proteinen, Zuckermolekülen oder Antikörpern.

10

Biosensor-Arrays dienen zum Nachweis von Molekülen in einem zu untersuchenden Analyten. Solche Arrays werden zum Zwecke einer Miniaturisierung zunehmend auf Chips realisiert. Die Sensoren sind häufig in einer großen Anzahl auf einem Substrat angeordnet. Der hohe Grad an Parallelisierung ermöglicht eine zeitgleiche parallele Durchführung unterschiedlicher Tests, beispielsweise Tests auf das Vorhandensein unterschiedlicher Substanzen (z.B. Moleküle) in einem vorgegebenen Analyten. Aufgrund dieser Eigenschaft ergeben sich für derartige Sensor-Anordnungen, einschließlich entsprechendem Auswertesystem, vielfältige Anwendungen in der medizinischen Diagnostik wie z.B. im Point-of-care oder Home-care-Bereich, in der Pharmaindustrie, (z.B. für das Pharma-Screening, Pharmakogenomics, „high throughput screening“, HTS), in der chemischen Industrie, in der Lebensmittel-Analytik, in der allgemeinen Grundlagenforschung wie z.B. Gensequenzierungen, sowie der Umwelt- und Lebensmitteltechnik.

15

20

25

30

Zur Funktionalisierung solcher Biosensoren bzw. BioChips wird üblicherweise eine kleine Menge bindungsbereiter

- 2 -

Fängermoleküle die auch als Sonden bezeichnet werden, beispielsweise eine bestimmte Nukleinsäuresequenz, auf der Oberfläche eines spezifisch gestalteten Substrats (BioChip-Grundmodul) immobilisiert. Diese Immobilisierung erfolgt
5 üblicherweise entsprechend der eingesetzten Kopplungschemie derart an der Substratoberfläche, daß die Fängermoleküle auch bei Waschvorgängen auf dieser verbleiben. Das Grundprinzip vieler bekannter Sensoren beruht somit darauf, daß positionsspezifisch auf einem Chip zunächst solche
10 Fängermoleküle z.B. unter Verwendung von Mikro-Dispensiertechniken aufgebracht und unter Einsatz einer entsprechenden Bindungschemie immobilisiert werden. Das Aufbringen erfolgt vorzugsweise im Arrayformat, wobei an verschiedenen Arraypositionen beispielsweise unterschiedliche
15 Oligonukleotid-Sequenzen immobilisiert werden können. Durch möglichst kleine Abmessungen der Einzelpositionen eines Arrays kann zum einen die Arraydichte erhöht werden, zum anderen wird die Empfindlichkeit der Detektion verbessert. Mittels eines derart gebildeten DNA-Microarrays können dann
20 beispielsweise hochgradig parallele DNA-Analysen durchgeführt werden. Die zu untersuchenden Analytmoleküle wie z.B. Nukleinsäuren werden dabei üblicherweise markiert und mit den Fängermolekülen wie z.B. Nukleinsäuren auf dem Chip hybridisiert. Eine Hybridisierung erfolgt in der Regel dabei
25 nur zwischen exakt komplementären Nukleinsäuremolekülen. Die Intensität des gemessenen Signals ist üblicherweise zur Menge an hybridisierter Probe proportional.

Die vorgenannten Arrays werden in jüngster Zeit technisch
30 auch in einem Biochip mit integrierter elektronischer Auswertetechnik verwirklicht. Ein solcher Biochip ermöglicht eine schnelle, einfache und kostengünstige Analyse von Biomolekülen, wie z.B. die vorgenannten Nukleinsäuren oder Proteine, in der klinischen Diagnostik und der
35 patientenindividuellen Medizin. Ein derartiger Biochip bzw.

- 3 -

- dessen Grundmodul kann beispielsweise eine Vielzahl miniaturisierter Probenträger bzw. Sensorelemente mit in Interdigitalstruktur angeordneten Metallelektroden wie z.B. Goldelektroden, auf die jeweils Biomoleküle aufgebracht werden können, enthalten. Die Auswertung erfolgt dann über kleinste Stromverläufe. Derartige Biochips basieren auf einem Standard-CMOS-("Complementary Metal Oxide Semiconductor")-Halbleiter-Fertigungsprozeß mit zusätzlichen Goldelektroden.
- 10 Nachteilig bei der Fertigung solcher Biosensoren ist jedoch, daß bisher kein Funktionalisieren von Halbleiter-Chips, z.B. mit organischen Molekülen wie DNA oder Proteinen, auf Waferenebene möglich ist, da die Funktionsschicht, d.h. die Schicht, welche die Fängermoleküle umfasst, nicht dauerhaft
- 15 konservierbar ist und beim Vereinzeln bzw. Aussägen der Chips häufig zerstört wird. Zudem ist das Aufbringen einer definierten Menge an funktionstragenden Molekülen zur Funktionalisierung der Sensorfelder dahingehend problematisch, daß ein Auseinanderfließen der
- 20 Flüssigkeitsmenge die Konzentration verringert und ein Ineinanderfließen ein Übersprechen des Sensorsignales zur Folge hat. Ein weiterer Nachteil liegt darin, daß vor dem Funktionalisieren eine aufwändige, aber letztlich ungenügende Reinigungsprozedur durchgeführt werden muß. Ein weiteres
- 25 Problem der im Stand der Technik verfügbaren Biosensoren stellt auch das Auftreten von durch unspezifische Reaktionen hervorgerufenen Offset-Strömen beim elektrochemischen Auslesen dar.
- 30 Zur Überwindung der vorstehenden Probleme werden derzeit die Chips nach dem Vereinzeln aufwändig und von Hand einzeln gereinigt und funktionalisiert. Dieses Handling ist jedoch nicht großtechnisch realisierbar.

- 4 -

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, insbesondere ein Verfahren bereitzustellen, das ein Funktionalisieren von Biosensoren auf Waferenebene ermöglicht, ohne die vorstehend erläuterten Probleme aufzuweisen bzw.

5 hervorzurufen. Eine weitere Aufgabe liegt in der Bereitstellung eines Biochips, der insbesondere beim Einsatz in Assay-Verfahren kein Auftreten von durch unspezifische Reaktionen hervorgerufenen Offset-Strömen beim elektrochemischen Auslesen zeigen soll.

10

Diese Aufgabe wird durch die in den Ansprüchen gekennzeichneten Ausführungsformen gelöst.

15

Insbesondere wird ein Verfahren zur Funktionalisierung eines Biosensors bereitgestellt, umfassend die Schritte:

20

- (i) Bereitstellen eines Substrats, das darauf angeordnet eine Vielzahl von Sensorfeldern aufweist,
- (ii) Aufbringen einer vorbestimmt strukturierten Schicht, wodurch oberhalb der Sensorfelder eine entsprechende Kavität gebildet wird, und
- (iii) Aufbringen von Fängermolekülen auf die Sensorfelder, so daß die Fängermoleküle innerhalb der Kavität oberhalb der Sensorfelder immobilisiert werden.

25

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens werden durch das Aufbringen einer vorbestimmt strukturierten Schicht, die üblicherweise auf Basis eines organischen Polymers ist, über den zu funktionalisierenden Sensorfeldern Kavitäten gebildet, die im weiteren als Kompartimente fungieren können. In diese Kompartimente können Fängermoleküle, welche zur Funktionalisierung dienen, z.B. DNA-Moleküle, eingebracht werden.

30

Das in Schritt (i) eingesetzte Substrat kann ein Keramik-Substrat, ein Halbleitersubstrat (insbesondere ein Silizium-

35

- 5 -

Substrat, das heißt ein Silizium-Wafer oder ein Silizium-Chip), ein Glas-Substrat oder ein Kunststoff-Substrat sein.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden
5 Erfindung wird in Schritt (i) als Substrat ein fertig
prozessierter Wafer mit mindestens einem Halbleiter-Chip,
wobei mindestens ein Sensorfeld, üblicherweise jeweils zwei
oder mehrere Sensorfelder, auf dem Halbleiter-Chip angeordnet
ist bzw. sind, eingesetzt. In einer vorteilhaften
10 Ausgestaltung des Biosensors ist die elektrische
Erfassungsschaltung in dem Halbleiter-Chip integriert. Dies
hat den Vorteil, daß dadurch der gesamte Meßaufbau
vereinfacht werden kann, und eine höhere Meßempfindlichkeit
erreicht wird. Eine weitere Vereinfachung ergibt sich durch
15 eine Ausgestaltung, bei der die Sensorfelder auf dem
Halbleiter-Chip angeordnet sind.

Als Halbleiter-Chip kann prinzipiell jedes geeignete
Halbleiter-Bauelement verwenden werden. Vorzugsweise wird ein
20 Transistorchip verwendet, der ein CMOS-Chip sein kann.

Unter „Sensorfeld“ wird im Sinne der Erfindung eine Anordnung
bzw. Oberfläche verstanden, auf welcher bzw. über welche die
Fängermoleküle immobilisiert werden können, d.h. an welche
25 die Fängermoleküle durch physikalische oder chemische
Wechselwirkungen binden können bzw. gekoppelt sind. Diese
Wechselwirkungen schließen hydrophobe, hydrophile, von der
Waalsche oder ionische (elektrostatische) Wechselwirkungen
und kovalente Bindungen ein. Vorzugsweise weist das
30 Sensorfeld eine elektrisch leitende Oberfläche auf. Beispiele
für geeignete Oberflächen-Materialien, die für das Sensorfeld
verwendet werden können, sind Metalle wie beispielsweise
Gold, Platin oder Palladium oder elektrisch leitfähige
Polymere. Vorzugsweise stellt ein Sensorfeld in der
35 vorliegenden Erfindung eine Elektrode oder einen Bestandteil

- 6 -

einer Elektrode dar. Die Immobilisierung auf einem Sensorfeld kann in der Weise erfolgen, daß die gesamte Oberfläche eines Feldes zum Immobilisieren mit Fängermolekülen versehen wird. Es ist jedoch auch möglich, die Immobilisierung selektiv auf
5 einzelne Bereiche/Punkte („spots“) eines Feldes zum Immobilisieren zu beschränken. Um letzteres zu erreichen, kann das Sensorfeld entsprechend ausgestaltet sein, z.B. durch chemisch für die Immobilisierung aktivierte Bereiche. In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung sind die
10 Fängermoleküle direkt, d.h. ohne die Anordnung einer weiteren Schicht wie einer nachfolgend beschriebenen Trägerschicht, an die Sensorfläche gebunden bzw. gekoppelt.

Das Sensorfeld kann ein elektrochemisches Sensorfeld oder ein
15 Impedanz-Sensorfeld sein. Wenn das Sensorfeld ein elektrochemisches Sensorfeld ist, kann es insbesondere als Redox-Recycling-Sensorfeld eingerichtet sein. Bei einem Redox-Recycling-Sensorfeld werden zu erfassende Partikel bzw. Teilchen bzw. Targets üblicherweise mit einem Enzym-Label
20 versehen, das nach einem erfolgten Hybridisierungsereignis mit auf dem Sensorfeld immobilisierten Fängermolekülen dazu verwendet wird, eine in die Anordnung einzubringende elektrochemisch inaktive Substanz in zwei Teilmoleküle zu spalten, von denen mindestens eines elektrochemisch aktiv
25 ist. Dies führt zu einer Veränderung der elektrischen Eigenschaften der jeweiligen Sensor-Position im entsprechenden Biosensor-Array.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der
30 vorliegenden Erfindung sind die Sensorfelder als Interdigitalelektroden-Felder, vorzugsweise hergestellt aus Gold, Platin oder Palladium, eingerichtet.

In Schritt (ii) des erfindungsgemäßen Verfahrens wird die
35 vorbestimmt strukturierte Schicht üblicherweise in einer

- 7 -

Dicke im Bereich von 10 bis 300 µm aufgebracht. In Abhängigkeit von den vorgegebenen Sensorfeldern weisen die erzeugten Kavitäten bzw. Kompartiments üblicherweise einen Durchmesser im Bereich von 10 bis 300 µm auf. In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung erfolgt in Schritt(ii) zunächst das Aufbringen einer Photolackschicht über die gesamte Oberfläche des Substrats und nachfolgend ein photolithographisches Strukturieren der Photolackschicht unter Verwendung einer Photomaske mit vorbestimmtem Muster, wodurch oberhalb des Sensorfelds eine entsprechende Kavität gebildet wird. Die Art des Photolacks unterliegt keiner spezifischen Beschränkung. Vorzugsweise ist der Photolack jedoch ein negativer UV-Photoresist vom Epoxy-Typ. Derartige Photolacke sind unter den Handelsnamen SU-8 oder THB-430N erhältlich. Nach Belichtung mit einer entsprechend strukturierten Maske werden oberhalb der Sensorfelder entsprechende Kavitäten bzw. Kompartiments in einer Höhe bzw. Tiefe entsprechend der Dicke der Photolackschicht gebildet.

Alternativ kann das Aufbringen der vorbestimmt strukturierten Schicht in Form einer dreidimensional ausgebildeten organischen Polymermatrix durch Mikrokontakt-Drucken bzw. Mikrokontakt-Stempeln oder Softlithographie, wie es im Stand der Technik bekannt ist, erfolgen. Die Polymermatrix kann beispielsweise aus Epoxidharz, Polyolefinen wie Polypropylen, Poly(meth)acrylaten, Fluorpolymeren wie z.B. Teflon, Polysiloxanen oder Polyimid aufgebaut sein.

Gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann vor dem eigentlichen Funktionalisieren der Sensorfelder, d.h. vor Schritt (iii), eine Trägerschicht auf vorzugsweise Hydrogel-Basis, insbesondere auf Poly(meth)acrylamidgel-Basis, auf die Sensorfelder aufgebracht werden. Dabei kann das Aufbringen von Fängermolekülen auf die Sensorfelder in

- 8 -

Schritt (iii) insbesondere auch unter gleichzeitigem Aufbringen einer Trägerschicht auf vorzugsweise Hydrogel-Basis, insbesondere auf Poly(meth)acrylamidgel-Basis, auf die Sensorfelder erfolgen. Der Einsatz solcher Trägerschichten ist im Stand der Technik bekannt; siehe beispielsweise A.Yu. Rubina, Analytical Biochemistry, 325 (2004), Seiten 92-106. Dabei werden zunächst Acrylamidgruppen bzw. Methacrylamidgruppen z.B. in die terminale 3' oder 5'-Stellung von DNA-Moleküle eingeführt, gefolgt von der Polymerisation solcher Zwischenstufen, so daß ein Hydrogel gebildet wird, in welchem bzw. an welchem kovalent Fängermoleküle wie z.B. DNA-Moleküle gebunden sind. In einem solchen Fall sind die Fängermoleküle wie z.B. DNA-Moleküle nicht direkt an die Sensorfelder gebunden bzw. gekoppelt, sondern in einer entsprechenden Trägerschicht auf vorzugsweise Hydrogel-Basis über dem jeweiligen Sensorfeld immobilisiert.

In Schritt (iii) des erfindungsgemäßen Verfahrens erfolgt das Aufbringen von Fängermolekülen wie beispielsweise Nukleinsäuren, Proteinen, Zuckermolekülen, Antikörpern, etc., insbesondere Oligonukleotidsonden, auf die Sensorfelder, so daß die Fängermoleküle innerhalb der durch die vorbestimmt strukturierte Schicht, insbesondere einer entsprechend strukturierten Photolackschicht erzeugten Kavität oberhalb der Sensorfelder immobilisiert werden. Dies kann entweder auf einer geeigneten Sensoroberfläche oder mittels einer dreidimensionalen Matrix, z.B. Hydrogel, durchgeführt werden. In besonders vorteilhafter Weise kann dieser Vorgang automatisiert auf Waferebene erfolgen. Wenn das Sensorfeld in Form einer Goldelektrode vorgesehen wird, kann das Immobilisieren der Fängermoleküle unter Verwendung der aus der Biochemie bekannten, besonders vorteilhaften Gold-Schwefel-Kopplung realisiert werden, indem beispielsweise

- 9 -

eine Thiolendgruppe der Fängermoleküle mit der Goldelektrode chemisch gekoppelt wird.

Anzumerken ist, daß es selbstverständlich möglich ist, mit dem vorliegenden Verfahren nicht nur eine einzige Art von Nukleinsäuren in einer einzelnen Meßreihe zu erfassen. Vielmehr können mehrere Nukleinsäuren gleichzeitig oder auch nacheinander erfaßt werden. Dazu können auf den Sensorfeldern mehrere Arten von Fängermolekülen, von denen jedes eine (spezifische) Bindungsaffinität für eine bestimmte zu erfassende Nukleinsäure aufweist, gebunden werden, und/oder es können mehrere Einheiten zum Immobilisieren eingesetzt werden, wobei an jeder von diesen Einheiten nur eine Art von Fängermolekül gebunden wird. Bei diesen Mehrfachbestimmungen wird für jede zu erfassende Nukleinsäure vorzugsweise eine von den anderen Markierungen unterscheidbare Markierung verwendet, um so z.B. ungewollte Nebenreaktionen zu vermeiden.

Zum Einsatz für eine solche Mehrfachbestimmung weist der Biosensor vorzugsweise mehrere, d.h. mehr als zwei, Sensorfelder zum Immobilisieren von Nukleinsäuren in einer regelmäßigen Anordnung auf.

Nach Schritt (iii) kann optional das Aufbringen einer Verkapselungsschicht auf vorzugsweise Hydrogel-Basis, insbesondere auf Poly(meth)acrylamidgel-Basis, erfolgen.

Wenn im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens ein fertig prozessierter Wafer mit darauf angeordneten Halbleiter-Chips, wobei die Sensorfelder jeweils auf den Halbleiter-Chips angeordnet sind, eingesetzt wird, kann der nach Schritt (iii) derart funktionalisierte Wafer im upside-down-Modus auf eine in einem Sägerahmen gespannte Sägefolie, wie z.B. eine für derartige Zwecke üblicherweise verwendete Mylar®-Folie, angeordnet werden, wonach das Aussägen der einzelnen Chips

- 10 -

aus dem Wafer gemäß üblichen Techniken erfolgt. Das Sägen der Wafer erfolgt im sog. upside-down-Modus, also mit der Unterseite des Wafers nach oben. Vor der Vereinzelung der Chips kann die Folie, typischerweise nach UV-Belichtung oder Wärmebehandlung, wieder rückstandsfrei abgelöst werden, und die Funktionsschicht steht dem Anwender direkt zur Verfügung. Durch das erfindungsgemäße Aufbringen einer Photolackschicht und der daraus resultierenden Bildung von entsprechenden Kavitäten bzw. Kompartiments wird die Funktionsschicht in den Kompartimenten vor mechanischen Beschädigungen und Verunreinigungen geschützt und über einen längeren Zeitraum konserviert.

Weiterhin ist durch Verwendung des beschriebenen Verfahrens keine aufwändige chemische Reinigung der Sensorflächen (z.B. mit Cyaniden) vom Sägeschmutz mehr nötig. Ein Auseinanderfließen, resultierend in Konzentrationsverringerung, der aufzubringenden, funktionstragenden Moleküle wird ebenso durch die gemäß dem Verfahren der vorliegenden Erfindung erreichte Kompartimentierung verhindert wie ein Ineinanderfließen (Übersprechen). Durch das erfindungsgemäße Verfahren kann somit eine genau definierte Menge an funktionstragenden Molekülen in jedes Kompartiment eingebracht werden. Werden zusätzlich noch dreidimensionale Trägermaterialien wie Hydrogele verwendet, kann die Menge der funktionstragenden Moleküle pro Sensorfeld zusätzlich erhöht werden. Somit ist auch eine Verdichtung der Sensorfelder pro Fläche leichter erreichbar.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft einen Biosensor-Chip, umfassend ein Substrat mit mindestens einem Halbleiter-Chip darauf angeordnet, wobei auf dem Halbleiter-Chip wiederum mindestens ein Sensorfeld angeordnet ist, das am Boden einer Kavität vorliegt, die von einer

- 11 -

vorbestimmt strukturierten Schicht, insbesondere einer Photolackschicht, umgeben ist, die vollständig über die gesamte Fläche des Halbleiter-Chips aufgebracht ist, wobei in der Kavität über dem Sensorfeld eine Funktionsschicht, umfassend Fängermoleküle, immobilisiert ist. Ein derartiger Chip kann durch das vorstehend erläuterte Verfahren hergestellt werden. Ein solcher Biosensor-Chip kann ferner einen Steuer-Schaltkreis, eine elektrische Erfassungseinrichtung bzw. einen Auswerte-Schaltkreis aufweisen. Darüberhinaus kann, wenn erforderlich, auch eine Temperaturkontroll- und regelvorrichtung wie z.B. ein Thermofühler vorgesehen werden. Diesbezüglich wird beispielsweise auf die Offenbarung von DE 102 24 567 A1, DE 102 28 125 A1 und DE 101 12 778 A1 Bezug genommen.

Noch ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung einer mit Vertiefungen bzw. Kavitäten strukturierten, über einem Sensorfeld eines Biosensors angeordneten Schicht auf Basis eines organischen Polymers, insbesondere einer Photolackschicht, zur Immobilisierung einer Funktionsschicht, umfassend Fängermoleküle, auf bzw. über dem Sensorfeld.

Die Figuren zeigen:

Fig. 1 zeigt schematisch die Herstellung einzelner Biosensor-Chips mittels einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens.

Figuren 2, 3 und 4 zeigen schematisch das Sensorprinzip einer bevorzugten Ausführungsform eines gemäß dem Verfahren der vorliegenden Erfindung hergestellten Biosensor-Chips, wobei Fig. 2 die Draufsicht auf ein Kompartiment über einer Interdigital-Goldelektroden-Anordnung zeigt, Fig. 3 schematisch zeigt, wie bei einem Biomolekülnachweisverfahren

- 12 -

auf „Redox-Recycling“-Basis ein entsprechender Strom erzeugt wird, und Fig. 4 das bewirkte Ausgangssignal wiedergibt.

Fig. 5 zeigt schematisch das Problem der Erzeugung
5 unspezifischer Signale, wie es sich bei Biosensoren gemäß dem Stand der Technik darstellt.

Fig. 6 zeigt schematisch, wie das Problem der Erzeugung
unspezifischer Signale durch die erfindungsgemäß
10 hergestellten Biosensoren überwunden werden kann.

In Fig. 1 ist schematisch die Herstellung einzelner Biosensor-Chips mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens für den Fall gezeigt, daß im Rahmen des erfindungsgemäßen
15 Verfahrens als Substrat ein fertig prozessierter Wafer (10) mit darauf angeordneten Halbleiter-Chips (20), wobei auf den Halbleiter-Chips jeweils Sensorfelder (30) angeordnet sind, eingesetzt wird; siehe Fig. 1a). Anschließend wird über die gesamte Oberfläche des Wafers eine Photolackschicht (40)
20 beispielsweise mittels Spincoating, etc., aufgebracht; siehe Fig. 1b). Nach der Photolackstrukturierung mittels entsprechender Photomaske (siehe Fig. 1c)), wobei Sensorfelder (60) und Sägerahmen frei belichtet werden und entsprechende Kompartimente (50) über den Sensorfelder
25 gebildet werden, kann optional zunächst das Aufbringen einer Trägerschicht (60) auf z.B. Hydrogel-Basis auf die Sensorfelder (30) zur Bildung einer 3D-Matrix mittels z.B. Spotting erfolgen; siehe Fig. 1d). Anschließend erfolgt die Funktionalisierung, d.h. die Immobilisierung von
30 Fängermolekülen unter Bildung der eigentlichen Funktionsschicht (70) über den Sensorfeldern (30); siehe Fig. 1e). Optional kann sich daran das Aufbringen einer Verkapselungsschicht (80) auf z.B. Hydrogel-Basis anschließen; vgl. Fig. 1f). Das Aufbringen der Trägerschicht
35 und der Funktionsschicht kann auch gleichzeitig durchgeführt

- 13 -

werden. Anschließend wird der Wafer mit der funktionalisierten Seite nach unten (upside-down-Modus) auf eine in einem Sägerahmen (90) gespannte Sägefolie (91) angeordnet; siehe Fig. 1g). Abschließend werden die
5 Biosensor-Chips aus dem Wafer ausgesägt; siehe Fig. 1h).

Im Folgenden werden weitere Vorteile erläutert, die sich insbesondere für elektrochemische Nachweisverfahren, bei denen Konvektions- und Diffusionsvorgänge stattfinden,
10 ergeben. Ein Beispiel für ein solches Biomolekülnachweisverfahren ist das in Figur 3 dargestellte „Redox Recycling“.

Auf jeder Oberfläche eines Pixels des Sensorfeldes ist DNA
15 mit einer bestimmten Sequenz immobilisiert. Nach der Hybridisierung findet man Pixel mit doppelsträngiger DNA vor. Üblicherweise ist ein Label am Target-DNA Strang angekoppelt. Substratteilchen werden mit Hilfe des Enzymlabels in redoxaktive Spezies umgewandelt und diffundieren zu den
20 Elektroden. Durch Anlegen geeigneter Potentiale wird dort ein Redox-Prozeß initiiert, der ein spezifisches Signal liefert; siehe auch R. Thewes et al, „Sensor arrays for fully electronic DNA detection on CMOS“, Tech. Dig. International Solid-State Circuits Conference (ISSCC), 2002, Seiten 350-351
25 und 472-473 bzw. A. Frey et al., „Design of an integrated potentiostat circuit for CMOS biosensor chips“, Proc. International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS), 2003, Seiten V9-V12.

30 Es ergeben sich jedoch Probleme dahingehend, daß die Redoxteilchen nicht nur spezifisch in der Nähe der sie generierenden Label zu finden sind. Hierfür kann es mehrere Ursachen geben. Ein erster Grund für das unspezifische Vorhandensein von Redoxteilchen liegt im
35 Reaktionsgleichgewicht zwischen Substrat und Redoxteilchen.

- 14 -

So kann unter anderem eine nicht-enzymatische spontane Hydrolyse des Substrats auftreten. Ein zweiter Grund liegt im Testablauf begründet. Die Substratteilchen werden dem Sensorchip mit einer Pumpe, also im Fluß, zugeführt (siehe Figur 5a). So bald Substrat vorhanden ist, werden an den Sensorpositionen mit einem Match (d.h. Vorhandensein von Enzymlabeln) Redoxteilchen gebildet. Diese Teilchen werden in dieser Phase durch Konvektion über den gesamten Chip verteilt und sind damit ebenfalls unspezifisch (siehe Figur 5b). Ein weiterer Grund für unspezifische Redoxteilchenkonzentrationen ist die gradientengetriebene Diffusion z.B. zwischen benachbarten Pixeln mit Match und Mismatch, wie in Figur 5c) dargestellt.

Die beschriebenen unspezifischen Redoxteilchenkonzentrationen sind besonders dann kritisch, wenn sie groß gegenüber der nachzuweisenden Konzentration sind. Es resultiert eine Gesamtkonzentration von Nachweisteilchen, die sich in einen unspezifischen Sensorstromanteil übersetzt. Dieser Offset-Anteil kann die Signalauflösung begrenzen und damit den Dynamikbereich nach unten limitieren.

In Figur 6 ist dargestellt, wie mit Hilfe der erfindungsgemäß erzeugten Kavitäten das zuvor beschriebene Problem unspezifischer Signale vermieden bzw. deutlich reduziert werden kann. Figur 6a) zeigt eine in den Kavitäten befindliche erste Schicht (Trägerschicht), die als 3D-Funktionalisierungs-Matrix dient. Über dieser ersten Schicht befindet sich eine zweite Schicht (Verkapselungsschicht) als Diffusionsbarriere aus z.B. gleichem Material aber ohne Funktionalisierung (keine DNA-Fängermoleküle in dieser Schicht). Die zweite Schicht kann auch aus einem von der ersten Schicht verschiedenem Material bestehen, um bestimmte Eigenschaften vorteilhaft einstellen zu können (z.B. Diffusionskonstante für Substrat- und Redoxteilchen). Wird

- 15 -

nun das Substratmaterial über den Chip gepumpt, verzögert sich das Einsetzen der Erzeugung der Redoxteilchen aufgrund der zweiten Schicht. Die Verzögerungszeit ist in gewissem Rahmen mit Hilfe der Dicke der zweiten Schicht und

5 Materialeigenschaften, die Einfluß auf die Diffusionskonstante der Substratteilchen haben, einstellbar. Ein weiteres wichtiges Zeitintervall ist die Periode, in der sich die erzeugten Redoxteilchen noch innerhalb der Kavitäten befinden. Wird der Pumpenfluß innerhalb der Summe der zuvor

10 beschriebenen Zeiten gestoppt, wird das unspezifische Übersprechen durch Konvektion unterbunden. Ebenfalls verhindert bzw. zumindest reduziert wird das diffusionsgetriebene elektrochemische Übersprechen, wie in Figur 6c) dargestellt. Hierfür vorteilhaft sind die

15 diffusionsbehindernde Wirkung der zweiten Schicht und die geometrische Abschirmung der Kavitäten.

Neben der zuvor beschriebenen Unterdrückung unspezifischer Signale bewirken die Kavitäten zusammen mit den beiden

20 Schichten auch eine Vergrößerung des Sensorsignals, da die spezifisch erzeugten Redoxteilchen räumlich besser über dem Ort der elektrochemischen Reaktion konzentriert bleiben. Ein Signalverlust durch Diffusion wird somit reduziert. Insgesamt wird also das Signal zu Rauschverhältnis verbessert.

25 Das erfindungsgemäße Verfahren weist zusammenfassend die folgenden Vorteile auf:

- Funktionalisierung der Sensoroberflächen automatisiert auf Waferlevel möglich
- 30 - Schutz vor mechanischen Beschädigungen
- Schutz vor Verunreinigungen
- Keine aufwändige chemische Reinigungsprozedur vor dem Funktionalisieren mehr nötig
- Konservierung der Funktionsschicht über längeren Zeitraum
- 35 - Kein Auseinanderfließen der Funktionsschicht

- 16 -

- Aufbringen genau definierter Molekülmengen möglich
- Kein Ineinanderfließen der Funktionsschicht und somit kein Übersprechen des Signals
- Verringerung von Dissoziation, Diffusion und Konvektion, somit Unterdrückung des unspezifischen Signalanteils
- Optionaler Einbau einer künstlichen Diffusionsbarriere (Verkapselungsschicht)
- Verbesserung des Signal-Rauschverhältnisses
- Vergrößerung des Sensorsignals
- Verkleinerung der Sensorfelder möglich
- Reduktion des Offset-Signals
- Universelle Verwendbarkeit auf aktiven/passiven Chips im Arrayformat mit optischem oder elektronischem Auslesen und Beschichtung jeder Art
- adaptierbar sowohl für aktive und passive Chips als auch für Verfahren mit und ohne Label.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist sowohl für die industrielle oder laborspezifische Herstellung von elektrisch aktiven oder passiven Halbleiter- oder anderen Chips mit Funktionsschichten, wie z.B. Nukleinsäuren, Proteinen, Zuckern, Antikörpern oder anderen chemischen und biologischen Schichten (Chemosensoren, Biochips) einsetzbar. Ebenso können die erfindungsgemäß erzeugten Kompartimente als Mini-Reaktionsgefäße, z.B. für PCR, Zellkulturzüchtung, o.ä., gegebenenfalls ausgestattet mit Temperaturkontroll- und regelvorrichtung(en) und Mikrofluidik-Rührsystem(en), eingesetzt werden.

30

Bezugszeichenliste

10	Wafer
20	Halbleiter-Chip
35	30 Sensorfeld

- 17 -

	40	Photolack
	50	Kavität
	60	Trägerschicht auf z.B.Hydrogel-Basis
	61	Vorrichtung zum Aufbringen der Trägerschicht
5	70	Funktionsschicht, umfassend Fängermoleküle
	71	Vorrichtung zum Aufbringen der Funktionsschicht bzw. Fängermoleküle
	80	Verkapselungsschicht auf z.B.Hydrogel-Basis
	81	Vorrichtung zum Aufbringen der Verkapselungsschicht
10	90	Sägerahmen
	91	Sägefolie

Ansprüche

1. Verfahren zur Funktionalisierung eines Biosensors,
5 umfassend die Schritte:
- (i) Bereitstellen eines Substrats, das darauf angeordnet
mindestens ein Sensorfeld aufweist,
 - (ii) Aufbringen einer vorbestimmt strukturierten Schicht,
10 wodurch oberhalb der Sensorfelder eine entsprechende Kavität
gebildet wird, und
 - (iii) Aufbringen von Fängermolekülen auf das Sensorfeld, so
daß die Fängermoleküle innerhalb der Kavität oberhalb des
Sensorfelds immobilisiert werden.
- 15 2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei in Schritt (i) als
Substrat ein fertig prozessierter Wafer mit mindestens einem
Halbleiter-Chip, wobei mindestens ein Sensorfeld auf dem
Halbleiter-Chip angeordnet ist, bereitgestellt wird.
- 20 3. Verfahren gemäß Anspruch 2, wobei in dem Halbleiter-Chip
eine elektrische Erfassungsschaltung integriert ist.
4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, wobei der Halbleiter-
Chip ein CMOS-Chip ist.
- 25 5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die
Sensorfelder als Interdigitalelektroden-Felder, vorzugsweise
hergestellt aus Gold, Platin oder Palladium, eingerichtet
sind.
- 30 6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei in
Schritt(ii) zunächst das Aufbringen einer Photolackschicht
über die gesamte Oberfläche des Substrats und nachfolgend ein
photolithographisches Strukturieren der Photolackschicht
35 unter Verwendung einer Photomaske mit vorbestimmtem Muster

- 19 -

erfolgt, wodurch oberhalb des Sensorfelds eine entsprechende Kavität gebildet wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei der Photolack in einer
5 Dicke im Bereich von 10 bis 300 µm aufgebracht wird.

8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, wobei der Photolack ein negativer UV-Photoresist vom Epoxy-Typ ist.

10 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei vor dem Schritt (iii) eine Trägerschicht auf Hydrogel-Basis, insbesondere auf Poly(meth)acrylamidgel-Basis, auf die Sensorfelder aufgebracht wird.

15 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei das Aufbringen von Fängermolekülen auf die Sensorfelder in Schritt (iii) unter gleichzeitigem Aufbringen einer Trägerschicht auf Hydrogel-Basis, insbesondere auf Poly(meth)acrylamidgel-Basis, auf die Sensorfelder erfolgt.

20 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei nach Schritt (iii) das Aufbringen einer Verkapselungsschicht auf Hydrogel-Basis, insbesondere auf Poly(meth)acrylamidgel-Basis, erfolgt.

25 12. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 11, weiter umfassend die Schritte des Montierens des nach Schritt (iii) derart funktionalisierten Wafers im upside-down-Modus auf eine in einem Sägerahmen gespannte Sägefolie und Aussägen der
30 einzelnen Chips aus dem Wafer.

13. Biosensor-Chip, umfassend ein Substrat mit mindestens einem Halbleiter-Chip darauf angeordnet, wobei auf dem Halbleiter-Chip wiederum mindestens ein Sensorfeld angeordnet
35 ist, das am Boden einer Kavität vorliegt, die von einer

- 20 -

vorbestimmt strukturierten Schicht umgeben ist, die vollständig über die gesamte Fläche des Halbleiter-Chips aufgebracht ist, wobei in der Kavität über dem Sensorfeld eine Funktionsschicht, umfassend Fängermoleküle, immobilisiert ist.

14. Biosensor-Chip nach Anspruch 13, wobei das Substrat ein fertig prozessierter Si-Wafer ist.

15. Biosensor-Chip nach Anspruch 13 oder 14, wobei in dem Halbleiter-Chip eine elektrische Erfassungsschaltung integriert ist.

16. Biosensor-Chip nach Anspruch 13, 14 oder 15, wobei der Halbleiter-Chip ein CMOS-Chip ist.

17. Biosensor-Chip nach einem der Ansprüche 13 bis 16, wobei die Sensorfelder als Interdigitalelektroden-Felder, vorzugsweise hergestellt aus Gold, Platin oder Palladium, eingerichtet sind.

18. Biosensor-Chip nach einem der Ansprüche 13 bis 17, wobei die vorbestimmt strukturierte Schicht eine strukturierte Photolackschicht ist.

19. Biosensor-Chip nach einem der Ansprüche 13 bis 18, wobei die Fängermoleküle Oligonukleotidsonden sind.

20. Verwendung einer mit Vertiefungen strukturierten, über einem Sensorfeld eines Biosensors angeordneten Schicht auf Basis eines organischen Polymers, insbesondere einer Photolackschicht, zur Immobilisierung einer Funktionsschicht, umfassend Fängermoleküle, auf dem Sensorfeld.

- 21 -

21. Verwendung nach Anspruch 20, wobei der Photolack in einer Dicke im Bereich von 10 bis 300 µm aufgebracht wird.

22. Verwendung nach Anspruch 20 oder 21, wobei der Photolack
5 ein negativer UV-Photoresist vom Epoxy-Typ ist.

23. Verwendung nach Anspruch 20, 21 oder 22, wobei die Fängermoleküle Oligonukleotidsonden sind.

FIG 1A

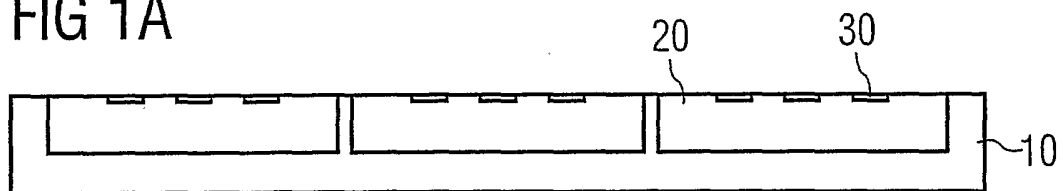


FIG 1B

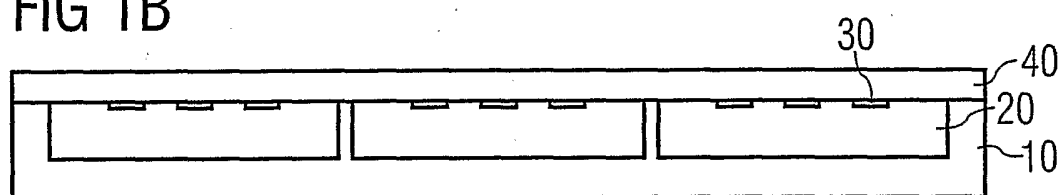


FIG 1C

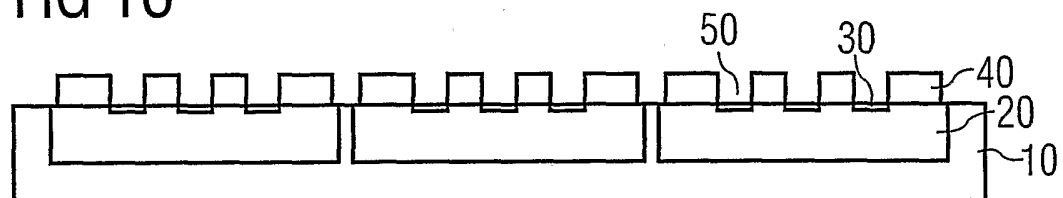


FIG 1D

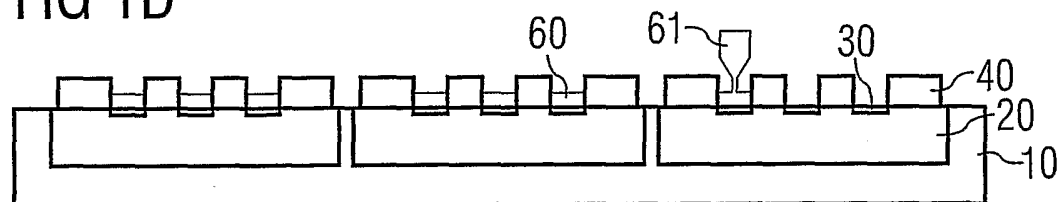


FIG 1E

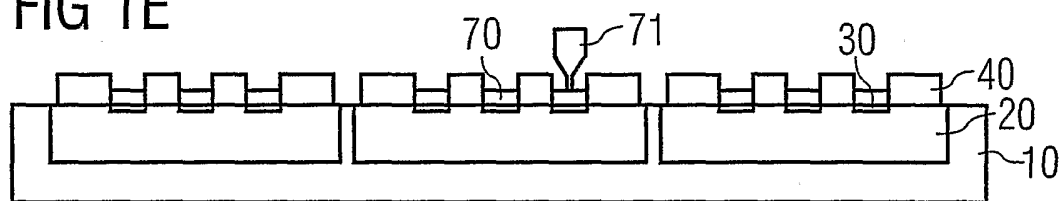


FIG 1F

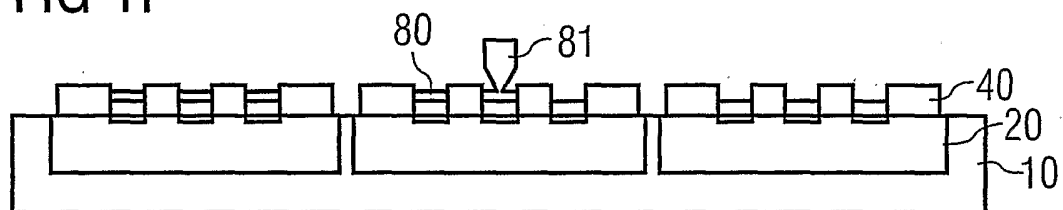


FIG 1G

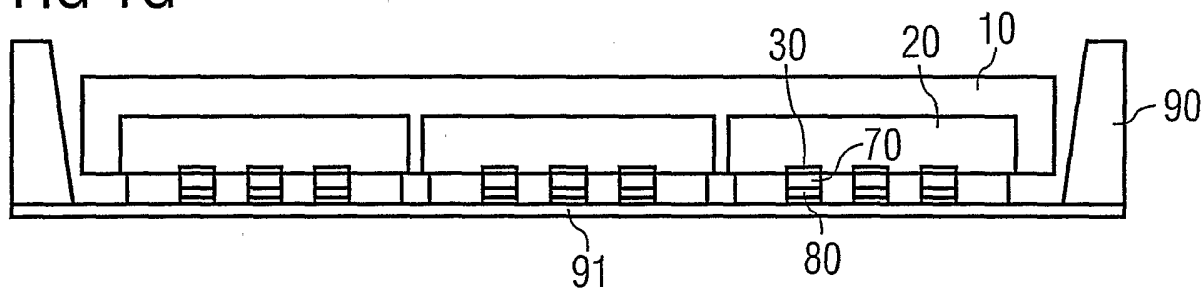
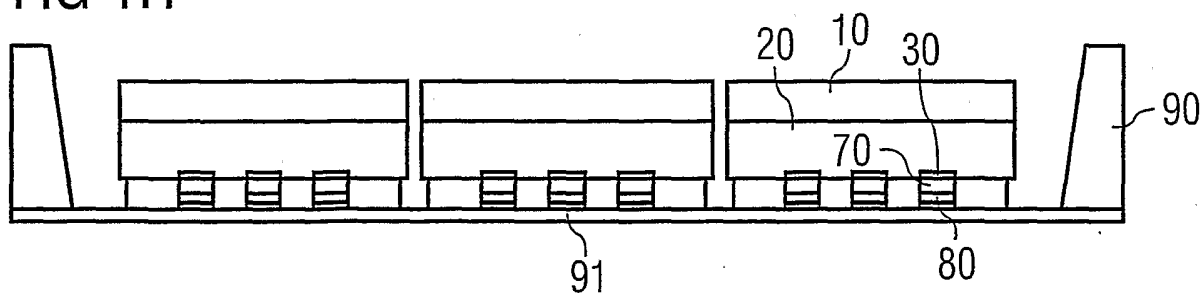


FIG 1H



3/6

FIG 2

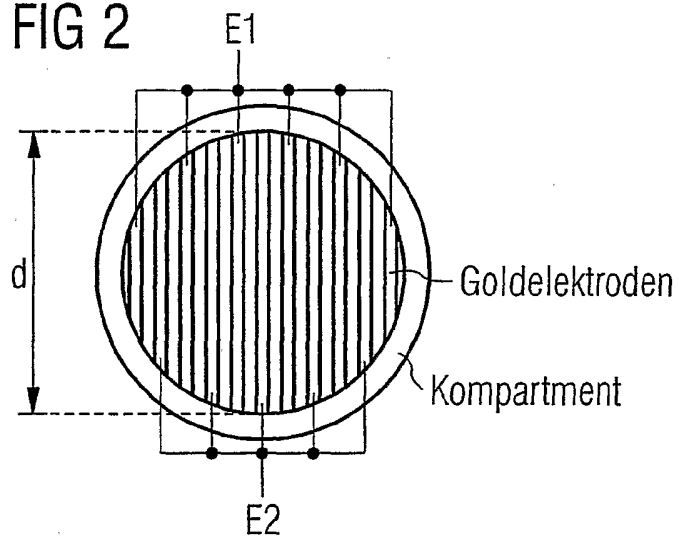


FIG 3

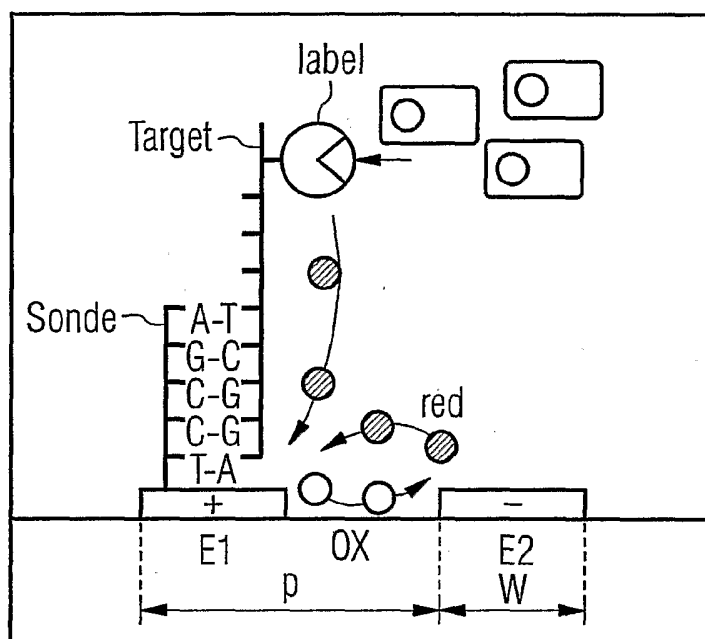
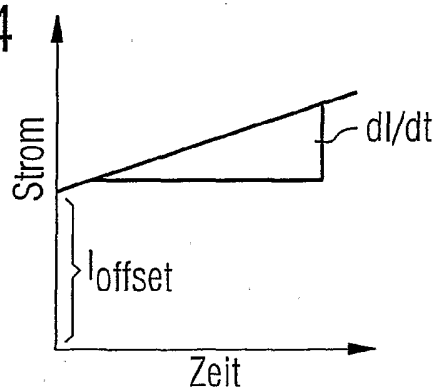
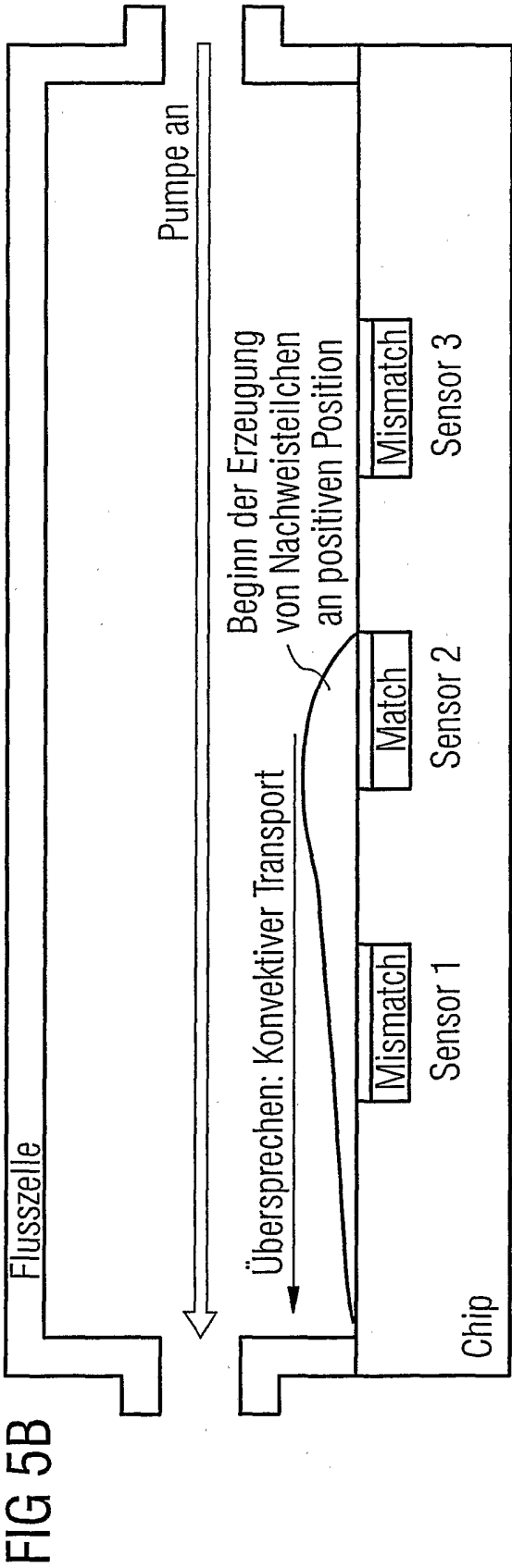
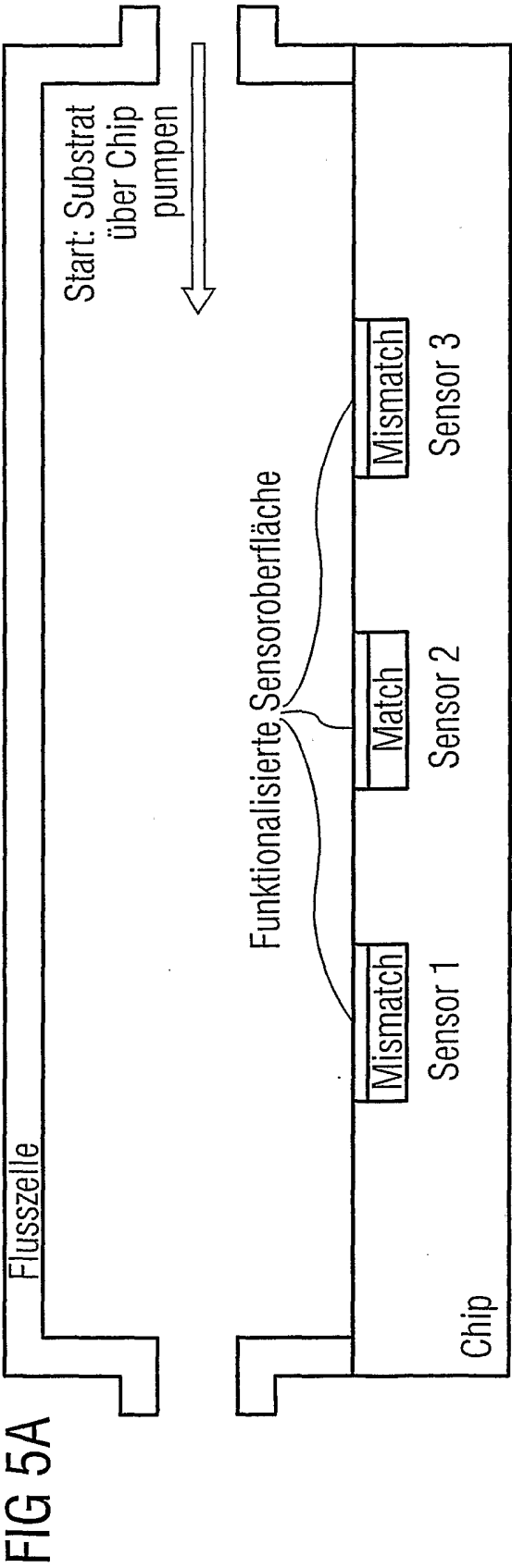
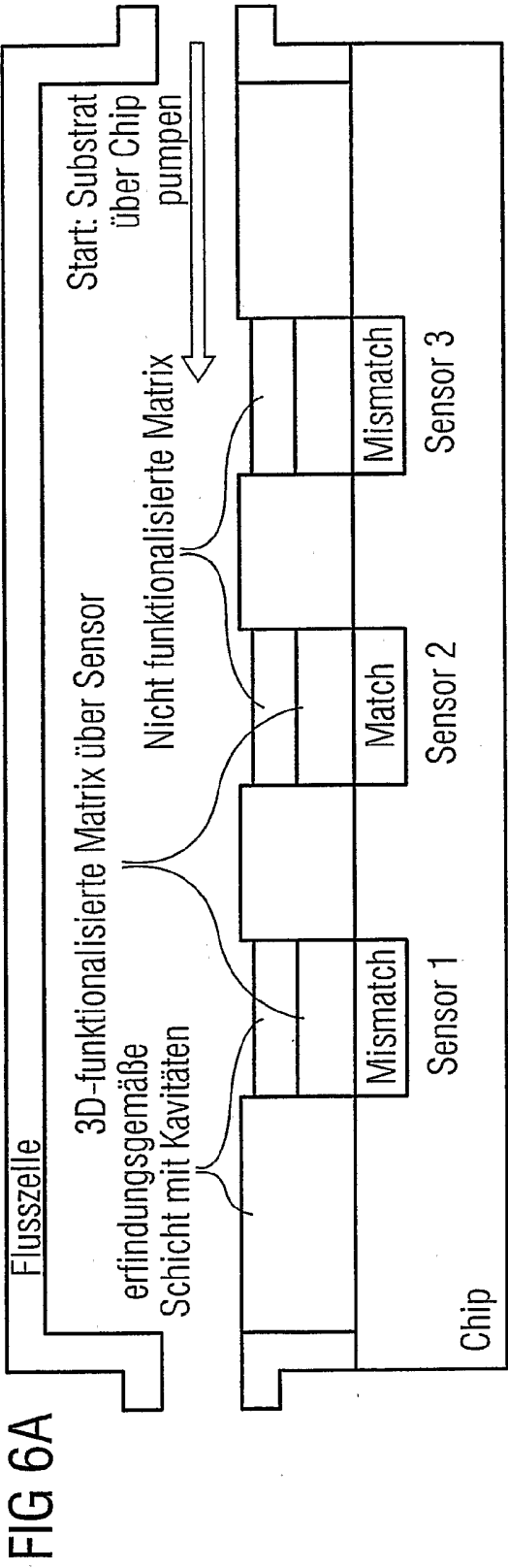
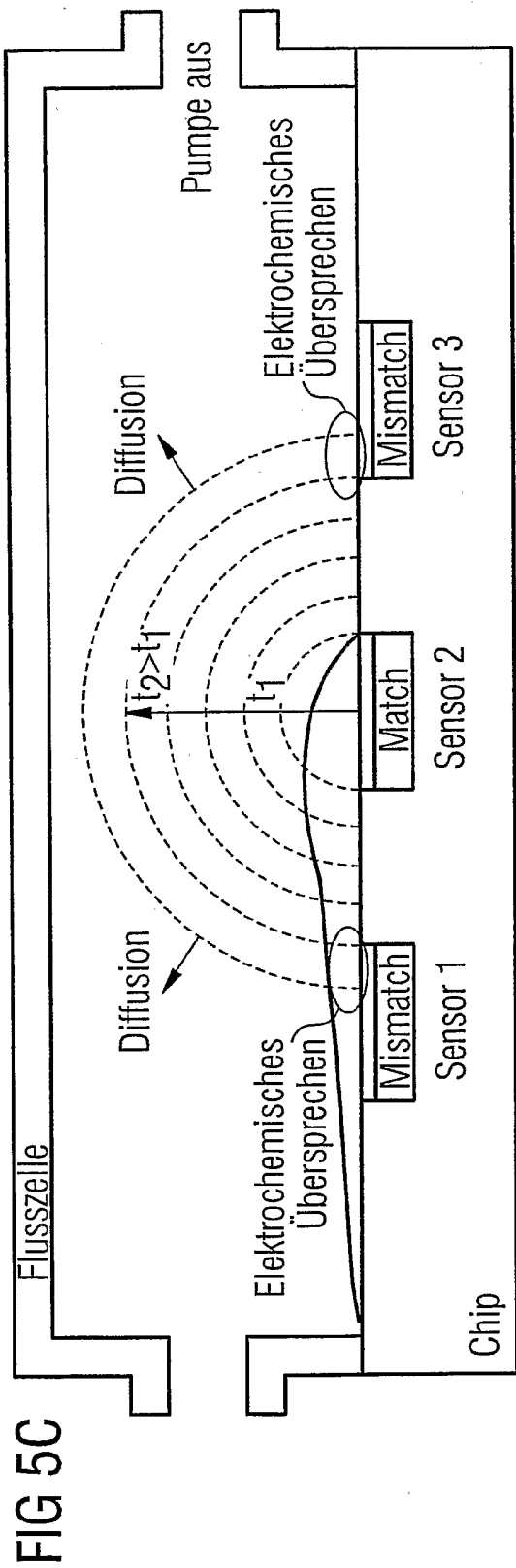
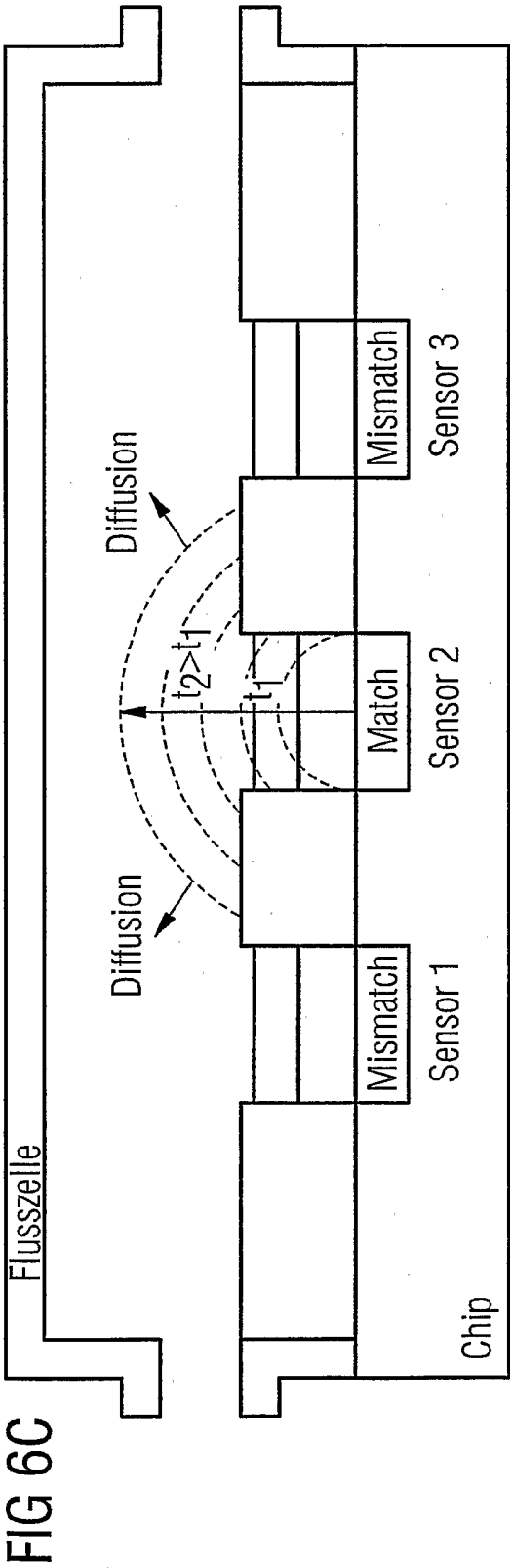
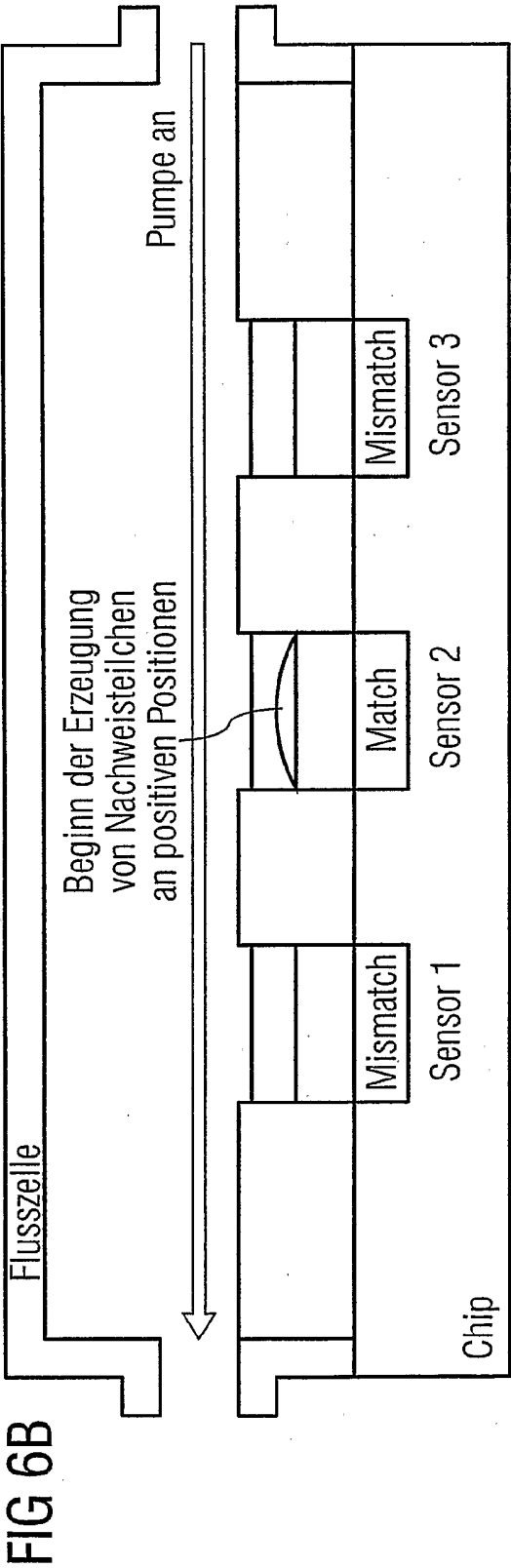


FIG 4









INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/002941

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N33/543 B81B7/04 B01J19/00 H01L21/027

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B81B B01J H01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	DE 100 52 165 A1 (GRAFINITY PHARMACEUTICAL DESIGN GMBH) 16 May 2002 (2002-05-16) column 3, paragraphs 13,14 column 4, paragraph 17 - column 5, paragraph 24 column 6, paragraph 38 column 6, paragraph 42-45 column 7, paragraph 47 column 7, paragraph 52 - column 9, paragraph 57 column 9, paragraph 62 claims 1,4,5,12,14,17,27-32; figures 2-4 ----- -/--	1,6,7, 20,21 1-23

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 August 2005

Date of mailing of the international search report

02/09/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Goetz, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/002941

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/75644 A (ZEPTOSENS AG; ABEL, ANDREAS, P; BUDACH, WOLFGANG; DUVENECK, GERT, L; E) 14 December 2000 (2000-12-14)	1,6,7, 20,21,23
Y	page 10, last paragraph - page 15, paragraph 2 page 20, last paragraph - page 21, paragraph 1 examples 1a,1b -----	1-23
X	WO 01/20330 A (THE TEXAS A & M UNIVERSITY SYSTEM; CREMER, PAUL, S; SIMANEK, ERIC, E;) 22 March 2001 (2001-03-22)	1,6,20
Y	page 7, lines 9-13 page 11, lines 1-25 page 12, line 25 - page 13, line 6 page 15, line 7 - page 16, line 32 page 20, lines 4-9 page 27, lines 7-27 figures 1,3; examples 5.1,5.3,5.4 -----	1-23
X	WO 02/086479 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE; BERGAUD, CHRISTIAN; BELI) 31 October 2002 (2002-10-31)	1,13,19, 20,23
Y	page 1, line 18 - page 5, line 6 page 9, line 27 - page 12, line 27 figures 2a-22e,3,4a-4f -----	1-23
Y	THEWES, R ET AL.: "Sensor arrays for fully-electronic DNA detection on CMOS" SOLID-STATE CIRCUITS CONFERENCE, 2002. DIGEST OF TECHNICAL PAPERS. ISSCC. 2002. IEEE INTERNATIONAL., vol. 1, 3 February 2002 (2002-02-03), pages 350-473, XP002341179 the whole document -----	1-23
X	WO 01/75150 A (INFINEON TECHNOLOGIES AG; ENGELHARDT, MANFRED; FREY, ALEXANDER; HOFMAN) 11 October 2001 (2001-10-11) page 7, line 9 - page 12, line 34 page 30, line 19 - page 35, line 16 figures 12,13 -----	1,20
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/002941

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RUBINA A Y ET AL: "Hydrogel drop microchips with immobilized DNA: properties and methods for large-scale production" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 325, no. 1, 1 February 2004 (2004-02-01), pages 92-106, XP004483538 ISSN: 0003-2697 the whole document	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/002941

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10052165	A1	16-05-2002	AU 4644701 A	03-09-2001
			CA 2400828 A1	30-08-2001
			WO 0163256 A1	30-08-2001
			EP 1259796 A1	27-11-2002
			JP 2003524178 T	12-08-2003
			US 2001026943 A1	04-10-2001
WO 0075644	A	14-12-2000	AU 5526500 A	28-12-2000
			WO 0075644 A1	14-12-2000
			EP 1190236 A1	27-03-2002
			JP 2003501654 T	14-01-2003
			US 2002074513 A1	20-06-2002
			US 2004046128 A1	11-03-2004
WO 0120330	A	22-03-2001	AU 3883301 A	17-04-2001
			CA 2385807 A1	22-03-2001
			EP 1218745 A1	03-07-2002
			WO 0120330 A1	22-03-2001
WO 02086479	A	31-10-2002	FR 2823998 A1	31-10-2002
			CA 2445285 A1	31-10-2002
			EP 1381852 A1	21-01-2004
			WO 02086479 A1	31-10-2002
			JP 2004531720 T	14-10-2004
			US 2004185592 A1	23-09-2004
WO 0175150	A	11-10-2001	WO 0175150 A2	11-10-2001
			EP 1272671 A2	08-01-2003
			JP 2003529772 T	07-10-2003
			US 2004094414 A1	20-05-2004

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/002941

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N33/543 B81B7/04 B01J19/00 H01L21/027

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N B81B B01J H01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X Y	DE 100 52 165 A1 (GRAFINITY PHARMACEUTICAL DESIGN GMBH) 16. Mai 2002 (2002-05-16) Spalte 3, Absätze 13,14 Spalte 4, Absatz 17 - Spalte 5, Absatz 24 Spalte 6, Absatz 38 Spalte 6, Absatz 42-45 Spalte 7, Absatz 47 Spalte 7, Absatz 52 - Spalte 9, Absatz 57 Spalte 9, Absatz 62 Ansprüche 1,4,5,12,14,17,27-32; Abbildungen 2-4 ----- -/-	1,6,7, 20,21 1-23

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutend anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

19. August 2005

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

02/09/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patenlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Goetz, M

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 00/75644 A (ZEPTOSENS AG; ABEL, ANDREAS, P; BUDACH, WOLFGANG; DUVECK, GERT, L; E) 14. Dezember 2000 (2000-12-14)	1,6,7, 20,21,23
Y	Seite 10, letzter Absatz - Seite 15, Absatz 2 Seite 20, letzter Absatz - Seite 21, Absatz 1 Beispiele 1a,1b -----	1-23
X	WO 01/20330 A (THE TEXAS A & M UNIVERSITY SYSTEM; CREMER, PAUL, S; SIMANEK, ERIC, E;) 22. März 2001 (2001-03-22)	1,6,20
Y	Seite 7, Zeilen 9-13 Seite 11, Zeilen 1-25 Seite 12, Zeile 25 - Seite 13, Zeile 6 Seite 15, Zeile 7 - Seite 16, Zeile 32 Seite 20, Zeilen 4-9 Seite 27, Zeilen 7-27 Abbildungen 1,3; Beispiele 5.1,5.3,5.4 -----	1-23
X	WO 02/086479 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE; BERGAUD, CHRISTIAN; BELI) 31. Oktober 2002 (2002-10-31)	1,13,19, 20,23
Y	Seite 1, Zeile 18 - Seite 5, Zeile 6 Seite 9, Zeile 27 - Seite 12, Zeile 27 Abbildungen 2a-22e,3,4a-4f -----	1-23
Y	THEWES, R ET AL.: "Sensor arrays for fully-electronic DNA detection on CMOS" SOLID-STATE CIRCUITS CONFERENCE, 2002. DIGEST OF TECHNICAL PAPERS. ISSCC. 2002 IEEE INTERNATIONAL., Bd. 1, 3. Februar 2002 (2002-02-03), Seiten 350-473, XP002341179 das ganze Dokument -----	1-23
X	WO 01/75150 A (INFINEON TECHNOLOGIES AG; ENGELHARDT, MANFRED; FREY, ALEXANDER; HOFMAN) 11. Oktober 2001 (2001-10-11) Seite 7, Zeile 9 - Seite 12, Zeile 34 Seite 30, Zeile 19 - Seite 35, Zeile 16 Abbildungen 12,13 -----	1,20
	----- -/--	

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	RUBINA A Y ET AL: "Hydrogel drop microchips with immobilized DNA: properties and methods for large-scale production" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, Bd. 325, Nr. 1, 1. Februar 2004 (2004-02-01), Seiten 92-106, XP004483538 ISSN: 0003-2697 das ganze Dokument	1-23

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/002941

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 10052165 A1	16-05-2002	AU 4644701 A	03-09-2001
		CA 2400828 A1	30-08-2001
		WO 0163256 A1	30-08-2001
		EP 1259796 A1	27-11-2002
		JP 2003524178 T	12-08-2003
		US 2001026943 A1	04-10-2001
WO 0075644 A	14-12-2000	AU 5526500 A	28-12-2000
		WO 0075644 A1	14-12-2000
		EP 1190236 A1	27-03-2002
		JP 2003501654 T	14-01-2003
		US 2002074513 A1	20-06-2002
		US 2004046128 A1	11-03-2004
WO 0120330 A	22-03-2001	AU 3883301 A	17-04-2001
		CA 2385807 A1	22-03-2001
		EP 1218745 A1	03-07-2002
		WO 0120330 A1	22-03-2001
WO 02086479 A	31-10-2002	FR 2823998 A1	31-10-2002
		CA 2445285 A1	31-10-2002
		EP 1381852 A1	21-01-2004
		WO 02086479 A1	31-10-2002
		JP 2004531720 T	14-10-2004
		US 2004185592 A1	23-09-2004
WO 0175150 A	11-10-2001	WO 0175150 A2	11-10-2001
		EP 1272671 A2	08-01-2003
		JP 2003529772 T	07-10-2003
		US 2004094414 A1	20-05-2004