

(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  
20. September 2001 (20.09.2001)

PCT

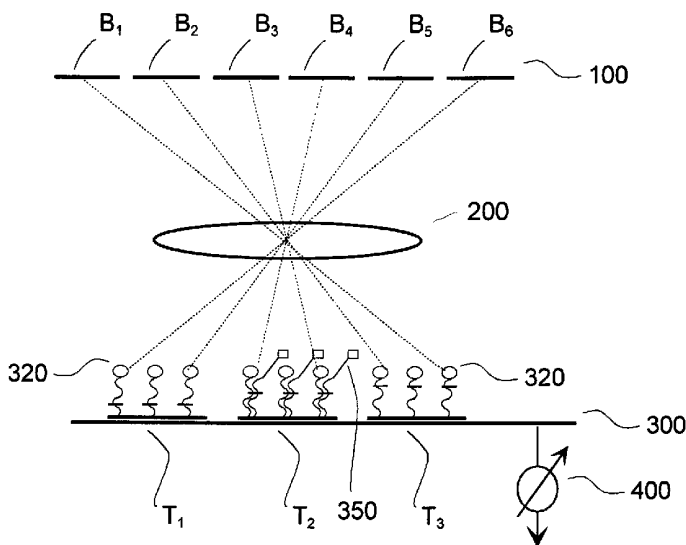
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/69210 A1**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G01N 21/64, 27/26, B01J 19/00
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/00571
- (22) Internationales Anmeldedatum: 15. Februar 2001 (15.02.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100 13 254.5 17. März 2000 (17.03.2000) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FRIZ BIOCHEM GMBH** [DE/DE]; Frauenhoferstrasse 13, 82152 Martinsried (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **HARTWICH, Gerhard** [DE/DE]; Nibelungenstrasse 10, 80639 München (DE). **LOSSAU, Harald** [DE/DE]; Preysingstrasse 20, 81667 München (DE).
- (74) Anwalt: **ZEUNER, Stefan**; Johann-Sebastian-Bach-Strasse 5, 80637 München (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, 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, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR DETECTING ORGANIC MOLECULES IN A TEST SUBSTANCE

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUM NACHWEIS ORGANISCHER MOLEKÜLE IN EINER PROBENSUBSTANZ



(57) Abstract: The invention relates to a device for detecting organic molecules, especially biomolecules and polymers, in a test substance. The inventive device comprises an examination system (300) consisting of an array of test sites (T) to which the test substance can be supplied, every test site being provided with specific probe molecules (320), an illumination system (100) for optically illuminating a sub-array of test sites (T) and a detection system (400) for identifying those test sites (T) whose probe molecules (320) interact with the organic molecules (350) to be detected. The illumination system (100) comprises an array of separately controlled illumination sources (B) that are disposed in such a manner that every test site (T) of the sub-array is correlated with at least one illumination source (B) illuminating substantially said test site.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



WO 01/69210 A1



**(84) Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

— 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.

---

**(57) Zusammenfassung:** Eine Vorrichtung zum Nachweis von organischen Molekülen, insbesondere von Biomolekülen und Polymeren, in einer Probensubstanz, umfasst ein Untersuchungssystem (300) aus einem Array von Teststellen (T), denen die Probensubstanz zuführbar ist, wobei jede Teststelle spezifische Sondenmoleküle (320) aufweist, ein Beleuchtungssystem (100) zur optischen Beleuchtung eines Teilarrays von Teststellen (T), und ein Detektionssystem (400) zum Identifizieren solcher Teststellen (T), deren Sondenmoleküle (320) mit den nachzuweisenden organischen Molekülen (350) wechselwirken, wobei das Beleuchtungssystem (100) ein Array von getrennt ansteuerbaren Beleuchtungsquellen (B) umfaßt, die so angeordnet sind, dass jede Teststelle (T) des Teilarrays zumindest einer, im wesentlichen nur sie beleuchtende Beleuchtungsquelle (B) zugeordnet ist.

## **Vorrichtung und Verfahren zum Nachweis organischer Moleküle in einer Probensubstanz**

5

### **Technisches Gebiet**

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Nachweis von organischen Molekülen, insbesondere Biomolekülen und Polymeren, in einer Probensubstanz.

10

### **Stand der Technik**

Bio-Sensor-Chips werden insbesondere in den Ausführungsformen DNA-Chip und Protein-Chip in der biotechnologischen und genetischen Forschung eingesetzt. Ihnen wird ein großes Anwendungspotential in der medizinischen Diagnostik, pharmakologischen und toxikologischen Testverfahren sowie im Agrarsektor zugesprochen.

Ein Bio-Sensor-Chip enthält typischerweise ein zweidimensionales Array von Bereichen mit organischen Molekülen (Sonden), die auf einer Oberfläche fixiert sind und die mit chemischen Substanzen aus einer Probensubstanz (Targets) spezifisch reagieren können. Ziel ist dabei der parallele Nachweis vieler Wechselwirkungen zwischen Sonden und Targets. Lichtempfindliche Bio-Sensor-Chips zeigen bei Beleuchtung eine physikalische Reaktion, die spezifisch von der Wechselwirkung zwischen Sonden und Targets abhängt.

Die Detektion dieser Wechselwirkungen geschieht beispielsweise durch optische, autoradiographische, massenspektroskopische oder elektrische Verfahren. Dabei ist eine räumliche Adressierung der verschiedenen Sonden auf dem Array erforderlich. Innerhalb der Gruppe der lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chips sind bisher insbesondere optische (Lumineszenz-) und elektrische Detektionsverfahren bekannt. Die Adressierung ist bei diesen Chips durch eine räumlich begrenzte optische Anregung erreichbar.

- 2 -

Für die optische Anregung werden bisher Laser Scanner oder konfokale Mikroskope eingesetzt. Kritische Parameter dabei sind Uniformität und Reproduzierbarkeit über den gesamten räumlichen Auslesebereich des Chips. Aufgrund dieser Anforderungen wird oft der ursprüngliche konfokale Aufbau von Minsky (US 3,013,467) als Grundlage für Auslesegeräte, wie beispielsweise in US 5,631,734 und US 5,578,832 beschrieben, verwendet. Er besteht aus einem xyz-Verschiebetisch, der unter einem konfokalen Mikroskop verschoben werden kann. In JP11094747 wird ein rotierender Tisch anstatt eines Verschiebetischs verwendet. Bei diesen Verfahren muss der Bio-Sensor-Chip den auftretenden Beschleunigungen des Tisches standhalten. Dies bestimmt letztendlich die Zeitdauer, in der der Chip ausgelesen werden kann. Beispielsweise wird für einen Scan-Bereich von 22 x 60 mm mit einer Auflösung von 10 µm für den Auslesevorgang etwa eine halbe Stunde benötigt.

Andere optische Auslesesysteme, wie beispielsweise in WO09947964A1 beschrieben, basieren auf beweglichen optischen Bauteilen, wodurch der Aufbau aufwendig und/oder störanfällig wird.

Ein spezielles Auslesesystem für lichtempfindliche Bio-Sensor-Chips mit elektrischem Ausleseverfahren ist bisher nicht bekannt.

Nachteilig an allen bekannten Abrastsystemen ist, dass sie mechanisch anfällig, relativ groß und teuer sind.

### **Darstellung der Erfindung**

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Nachweis von organischen Molekülen, insbesondere Biomolekülen und Polymeren, in einer Probensubstanz oder deren Wirkung auf ein Untersuchungssystem zu schaffen, die die Nachteile des Standes der Technik nicht aufweisen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch die Vorrichtung gemäß unabhängigem Patentanspruch 1 sowie durch das Verfahren gemäß unabhängigem Patentanspruch 12 gelöst. Bevorzugte Ausführungsformen sind in den abhängigen Ansprüchen angegeben.

- 3 -

Die erfindungsgemäße Vorrichtung umfasst ein Untersuchungssystem aus einem Array von Teststellen, denen die Probensubstanz zuführbar ist, ein Beleuchtungssystem und ein Detektionssystem.

## 5 **Untersuchungssystem**

In der vorliegenden Beschreibung wird der Begriff Bio-Sensor-Chip für ein Untersuchungssystem aus einem zweidimensionalen Array von Teststellen verwendet, wobei jede Teststelle spezifische Sondenmoleküle aufweist. Dabei sind die Sondenmoleküle auf einer Oberfläche fixiert und können mit chemischen  
10 Substanzen aus einer Probensubstanz (Targets) spezifisch reagieren. Ziel ist dabei der parallele Nachweis vieler Wechselwirkungen zwischen Sonden und Targets.

Der Begriff Sondenmoleküle umfasst insbesondere Biomoleküle, Polymere und deren Komplexe mit anderen chemischen Substanzen, insbesondere Biomolekülen, Polymeren, Farbstoffen, Metallen und redoxaktive Substanzen. Sondenmoleküle  
15 umfassen bevorzugt DNA-, RNA- oder PNA-Fragmente (DNA – Desoxyribonukleinsäure, RNA – Ribonukleinsäure, PNA – Peptidnukleinsäure: Synthetische DNA oder RNA, bei der die Zucker-Phosphat-Einheit durch eine Aminosäure ersetzt ist). Der entsprechende Bio-Sensor-Chip wird in diesen Fällen mit DNA-Chip bezeichnet. Ebenfalls bevorzugte Sondenmoleküle umfassen Proteine  
20 (Bezeichnung des entsprechenden Bio-Sensor-Chips: Protein-Chip) oder Glukoseverbindungen (Glukose-Chip). Die Sondenmoleküle können darüber hinaus insbesondere Markierungssubstanzen, insbesondere Farbstoffe oder redoxaktive Substanzen, sowie Linker (Molekülgruppen, die zur Verknüpfung oder Anbindung von Molekülteilen dienen) enthalten.

25 Unter Targets werden organische Moleküle in der Probensubstanz verstanden, insbesondere Biomoleküle, Polymere, Medikamente oder andere Wirkstoffe, die mit den Sondenmolekülen spezifisch wechselwirken können.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird ein Bio-Sensor-Chip lichtempfindlich genannt, wenn durch räumlich begrenzbar Beleuchtung eine physikalische Reaktion  
30 hervorgerufen wird, die spezifisch von der Wechselwirkung zwischen Sonden und Targets abhängt, und eine optische Adressierung der Arrayelemente (Teststellen) möglich ist.

- 4 -

Um die Probensubstanz dem Bio-Sensor-Chip zuführen zu können, wird eine Zuführvorrichtung eingesetzt. Dabei kommen sowohl getrennte Zuführvorrichtungen, insbesondere Spritzen, Pipetten, Schläuche, Kanülen, Röhrchen und Trichter, als auch mit dem Untersuchungssystem verbundene Vorrichtungen in Betracht. Letztere lassen sich in das Gehäuse des Untersuchungssystems integrieren und können einen Schutz des Untersuchungssystems vor Störfaktoren, wie beispielsweise Verunreinigungen, mechanische Beanspruchungen, Temperaturdifferenzen und Verdunstung, bewirken sowie eine sparsame Verwendung der Probensubstanz ermöglichen.

10

### **Beleuchtungssystem**

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter einem Beleuchtungssystem eine oder mehrere Beleuchtungsquellen verstanden, die geeignet sind, auf einem lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chip eine physikalische Reaktion zu initiieren.

15 Erfindungsgemäß umfasst das Beleuchtungssystem ein Array von getrennt ansteuerbaren Beleuchtungsquellen, die so angeordnet sind, dass jeder Teststelle eines Teilarrays des Untersuchungssystems mindestens eine im wesentlichen nur sie beleuchtende Beleuchtungsquelle zugeordnet ist.

20 Das Beleuchtungssystem kann außerdem ein optisches Projektionssystem zum Abbilden des Arrays der Beleuchtungsquellen auf das Untersuchungssystem enthalten, derart, dass auf jede Teststelle des Teilarrays zumindest eine ihr zugeordnete Beleuchtungsquelle abbildbar ist.

25 Unter Projektionssystem wird jedes zur optischen Abbildung geeignete System, insbesondere bestehend aus Linsen und/oder Spiegel verstanden. Das Projektionssystem kann weitere optische Komponenten, insbesondere Filter, Blenden, Polarisatoren und Strahlteiler enthalten. Im engeren Sinne wird im Rahmen dieser Erfindung unter einem Projektionssystem ein optisches System zur Abbildung von Beleuchtungsquellen auf einen lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chip verstanden.

30 Alternativ zum Vorsehen eines Projektionssystems kann das Array der Beleuchtungsquellen im wesentlichen parallel zum Untersuchungssystem und in so geringem Abstand von diesem angeordnet sein, dass die von jeder

- 5 -

Beleuchtungsquelle emittierte Strahlung im wesentlichen nur die ihr zugeordnete Teststelle beleuchtet. In diesem Fall ist ein Projektionssystem nicht erforderlich.

Das Array aus Beleuchtungsquellen kann dabei insbesondere aus einer oder mehrere der folgenden Komponenten bestehen: Elektronenstrahlröhre (CRT – *Cathode Ray Tube*), Flüssigkristallanzeige (LCD – *Liquid Crystal Device/Display*) - diese bevorzugt durch eine aktive Matrix aus Dünnschichttransistoren (TFT – *Thin Film Transistor*) angesteuert, Flächenlichtmodulator (SLM – *spatial light modulator*), insbesondere ein Mikromechanisches Spiegelarray (DMD – *Digital Mirror Device* – ein Array aus einzeln ansteuerbaren Mikrosiegeln), Leuchtdioden (LED – *Light Emitting Diode*), Polymerdisplay (OLED – *Organic LED*), Elektrolumineszenzanzeige (EL), Laser – dabei besonders bevorzugt Laserdioden und Faserlaser, Plasmabildschirm (PDP – *Plasma Display*), Feldemissionsanzeige (FED – *Field Emission Display* – Array aus miniaturisierten Kathodenstrahlröhren) und Vakuumfluoreszenzanzeige (VFD – *Vacuum Fluorescent Display*).

Erfindungsgemäß kann das Beleuchtungssystem insbesondere auch eine Kombination aus den Komponenten „Ausleuchtungssystem“ und „zweidimensionaler optischer Schalter“ enthalten. Unter Ausleuchtungssystem wird hier ein optisches System zur gleichmäßigen Ausleuchtung einer bestimmten Fläche verstanden. Dieses enthält eine oder mehrere Beleuchtungsquellen und optische Komponenten, die für eine gleichmäßige Ausleuchtung sorgen, insbesondere (Spiegel-)Reflektoren, Linsen, Integratoren sowie weiterer Komponenten, wie beispielsweise Blenden zur Begrenzung des Leuchtfeldes, Filter zur spektralen Begrenzung. Unter Integratoren werden in diesem Zusammenhang optische Komponenten verstanden, die es erlauben, ein Lichtbündel zu homogenisieren, bestehend insbesondere aus Streuscheiben, beispielsweise aus Milchglas, ein Mikrolinsensystem oder einer Kombination dieser Komponenten mit einer integrierender Hohlspiegelkugel. Insbesondere kann ein Ausleuchtungssystem vom Prinzip der Mikroskop-Beleuchtungsoptik nach Köhler (Stichwort „Mikroskop“, Fachlexikon Physik, Verlag Harry Deutsch, Frankfurt a. M. 1989) eingesetzt werden. Das Ausleuchtungssystem kann auch aus einem oder mehreren homogenen Leuchtfeldern, aufgebaut beispielsweise aus Glasfaserbündeln, bestehen (Hersteller: z.B. Schott-Fostec, Auburn, NY, USA).

- 6 -

Ein optischer Schalter ist ein optisches Element, dessen Transmission oder Reflexion von außen gesteuert werden kann. Ein zweidimensionaler optischer Schalter ist ein zweidimensionales Array aus eben solchen optischen Schaltern. Erfindungsgemäß wird dafür bevorzugt ein Flüssigkristallelement (LCD – Liquid Crystal Device) oder ein Mikromechanisches Spiegelarray (DMD, Hersteller z.B.: 5 Texas Instruments, TX, USA) verwendet.

### **Detektionssystem**

Das Detektionssystem hat die Aufgabe diejenigen Teststellen, deren 10 Sondenmoleküle mit den nachzuweisenden organischen Molekülen wechselwirken, insbesondere bei denen eine Reaktion zwischen diesen Molekülen stattgefunden hat, unter Beleuchtung zu identifizieren. Es umfasst bevorzugt einen oder mehrere Detektoren sowie Vorrichtungen zur Zuführung und Auswertung der Messsignale. Dabei wird das Detektionssystem zweckmäßig auf die Art des Ausleseverfahrens, 15 d.h. die Art der lichtinduzierten Reaktion, des eingesetzten Untersuchungssystems abgestimmt:

Für die als Untersuchungssystem besonders bevorzugt verwendeten Bio-Sensor-Chips mit elektrischem Ausleseverfahren, insbesondere DNA-Chips mit direktem elektrischen Ausleseverfahren (insbesondere basierend auf den Patentanmeldungen 20 DE 19921940, DE 19926457, DE 19945398) umfasst das Detektionssystem bevorzugt ein Messgerät zur Bestimmung der elektrischen Kommunikation zwischen den Teststellen und der leitfähigen Oberfläche des Bio-Sensor-Chips. Bevorzugt handelt es sich bei diesem Messgerät um ein Strom-, Ladungs-, Spannungs-, Potentialmessgerät, ein Cyclovoltametrie-Gerät, ein Amperometrie-Gerät oder ein 25 Leitfähigkeitsmessgerät. Ein Cyclovoltametrie-Gerät ist ein Messgerät zur Aufzeichnung von Strom-Spannungskurven, wobei die Spannung zeitlich linear, periodisch verändert wird. Ein Amperometrie-Gerät ist ein Messgerät zur Aufzeichnung von Strom-Zeitkurven. Mit einem Leitfähigkeitsmessgerät lassen sich Leitfähigkeiten messen, insbesondere durch Messen des Stroms bei fester 30 Spannung oder durch Messen der Spannung bei konstantem Strom. Bio-Sensor-Chips mit Mikroelektroden erlauben eine räumliche Begrenzung der elektrischen



- 7 -

Auslesung und damit eine räumliche Auflösung der Messung bzw. eine auf individuelle Teststellen begrenzte elektrische Auslesung.

Bei lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chips mit optischem Ausleseverfahren wird die lichtinduzierte Reaktion des Chips, insbesondere Lumineszenz, optisch detektiert.

5 Diese sind sehr verbreitet und werden beispielsweise von den Firmen Affymetrix (CA, USA), Nanogen (CA, USA), Incyte/Synteni (CA, USA) hergestellt. Werden solche optisch auslesbaren Bio-Sensor-Chips als Untersuchungssystem verwendet, umfasst das Detektionssystem zweckmäßig einen optischen Detektor zum Nachweis der lichtinduzierten Reaktion des Chips. Vorteilhaft handelt es sich bei diesem  
10 Detektor um ein CCD (*Charged Coupled Device*), ein intensified CCD (CCD mit vorgeschaltetem Photomultiplier bestehend aus vielen winzigen Metallröhrchen, wodurch insgesamt eine höhere Empfindlichkeit erreicht wird), eine CMOS-Kamera (ein in CMOS-Technologie – *Combined Metal Oxide Silicon* – hergestellter optischer Detektor, der sich durch einen großen optischen dynamischen Bereich auszeichnet),  
15 ein Photodioden-Array, ein Phototransistor-Array oder einen oder mehrere Photomultiplier (Photonendetektorröhre, in der durch Photonen Elektronen freigesetzt, verstärkt und detektiert werden).

Der gesamte optische Aufbau, bestehend aus dem Beleuchtungssystem und gegebenenfalls einem Projektionssystem und einem optischen Detektionssystem  
20 kann zusätzlich Spiegel enthalten, um den Strahlengang zu falten und dadurch eine andere Geometrie, insbesondere eine kompaktere Bauform, zu erreichen.

Insgesamt ist auch eine Kombination aus dem im Rahmen dieser Erfindung beschriebenen Beleuchtungssystem, das ein Array getrennt ansteuerbarer Beleuchtungsquellen umfasst, und einem an sich bekannten scannenden System  
25 möglich:

Dazu wird das Beleuchtungssystem so dimensioniert, dass nur ein Teil des lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chips beleuchtet wird. In einem ersten Schritt wird zunächst dieser Teil des Chips angeregt und ausgelesen. In einem Folgeschritt wird entweder der Chip über einen x-y-Verschiebetisch oder das Beleuchtungsfeld über  
30 bewegliche Umlenkspiegel um die Breite eines Feldes verschoben. Anschließend wird der dadurch neu ausgewählte Bereich des Chips angeregt und ausgelesen. Dieses Verfahren wird so lange wiederholt, bis der gesamte Chip ausgelesen wurde.

- 8 -

Bei einem Beleuchtungssystem, das aus einem Array mit begrenzter Pixelanzahl besteht, kann durch die Kombination mit einem scannenden Verfahren eine Beleuchtung des gesamten Chips mit hoher Pixeldichte erreicht werden.

Ist andererseits die Pixelanzahl des Beleuchtungssystems groß, so ist es oft  
5 zweckmäßig jeweils mehrere Beleuchtungsquellen auf eine Teststelle abzubilden.

### **Signalerfassung und Nachweisverfahren**

Das vom Detektionssystem erfasste Signal wird in einer bevorzugten Ausführungsform an ein Auswertesystem, bevorzugt einen Computer, übertragen.

10 Dadurch ist auch eine Fehlerkorrektur, insbesondere eine Korrektur von eventuellen Inhomogenitäten des Beleuchtungssystems, des Bio-Sensor-Chips oder des Detektionssystems möglich. Solche Inhomogenitäten können beispielsweise durch eine ungleichmäßige Ausleuchtung, Fertigungstoleranzen sowie durch Abschattungs- und Randeffekte verursacht sein. Zweckmäßig wird das vom  
15 Detektionssystem erfasste Signal mit dem Beleuchtungsmuster des Beleuchtungssystems und der Art sowie der Position der Teststellen auf dem Bio-Sensor-Chip korreliert.

In einer bevorzugten Ausführungsform hat das Detektionssystem keine räumliche Auflösung, so dass alle Teststellen des lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chips, an  
20 denen eine lichtinduzierte Reaktion stattgefunden hat, gemeinsam ausgelesen werden. Ein bevorzugtes Beispiel für diese Ausführungsform umfasst als Untersuchungssystem einen lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chips mit elektrischem Ausleseverfahren, bei dem alle Teststellen auf einer gemeinsamen Messelektrode aufgebracht sind. Die Adressierung der einzelnen Teststellen geschieht in dieser  
25 Ausführungsform ausschließlich durch die teststellenspezifische optische Anregung.

In einer ebenfalls bevorzugten Ausführungsform hat das Detektionssystem eine ein- oder zweidimensionale räumliche Auflösung, die insbesondere durch mehrere  
einzeln auslesbare Teilflächen (Pixel) des Detektors erreicht wird. Eine räumliche  
Auflösung des Detektionssystems kann beispielsweise bei elektrischem  
30 Ausleseverfahren mittels eines Bio-Sensor-Chips, bei dem die Teststellen auf mehreren einzeln auslesbaren leitfähigen Oberflächen aufgebracht sind, in Kombination mit einem Messgerät mit der entsprechenden Anzahl von

Messanschlüssen erreicht werden. Bei optischem Ausleseverfahren kann eine räumliche Auflösung des Detektionssystems mit einem räumlich auflösenden optischen Detektor, insbesondere einem CCD, einem intensified CCD, einer CMOS-Kamera, einem Photodioden-Array oder einem Phototransistor-Array realisiert werden. Bevorzugt haben solche Detektionssysteme mit räumlicher Auflösung die gleiche Pixelanzahl wie das Beleuchtungssystem. Anstatt der gleichen Pixelanzahl kann auch ein ganzzahliges Verhältnis der Pixelanzahl von Detektionssystem und Beleuchtungssystem zweckmäßig sein. Werden solche räumlich auflösenden Detektionssysteme verwendet, so ist neben der Korrelation des Beleuchtungsmuster des Beleuchtungssystems mit der Art und Position der Teststellen auf dem Bio-Sensor-Chip auch eine Korrelation mit dem vom Detektionssystem erfassten Signalmusters möglich.

Zum Nachweis von organischen Molekülen in einer Probensubstanz können erfindungsgemäß die im folgenden beschriebenen Verfahren eingesetzt werden:

15 Zunächst wird ein lichtempfindlicher Bio-Sensor-Chip als Untersuchungssystem bereit gestellt, der ein Array von Teststellen mit spezifischen Sondenmolekülen enthält. Diese Sondenmoleküle sind vorzugsweise spezifisch für die in der Probensubstanz nachzuweisenden Moleküle bzw. für die nachzuweisende Wechselwirkung zwischen diesen Sondenmolekülen und der Probensubstanz. Dazu wird ein passendes Beleuchtungssystem zur optischen Beleuchtung des lichtempfindlichen Bio-Sensor-Chips, umfassend ein Array von getrennt ansteuerbaren Beleuchtungsquellen, die so angeordnet sind, dass jeder Teststelle eines Teilarrays des Untersuchungssystems mindestens eine im wesentlichen nur sie beleuchtende Beleuchtungsquelle zugeordnet ist. Nachdem dem Untersuchungssystem eine Probensubstanz zugeführt wurde, werden die Teststellen durch Ansteuerung der ihnen jeweils zugeordneten Beleuchtungsquellen nach einem vorgewählten Schema beleuchtet. Gleichzeitig werden die Teststellen daraufhin untersucht, ob deren Sondenmoleküle mit den nachzuweisenden organischen Molekülen wechselwirken.

25

30 Diese Identifizierung dieser Wechselwirkung kann bevorzugt durch ein elektrochemisches Verfahren, insbesondere durch cyclische Voltametrie, Amperometrie, Leitfähigkeitsmessung oder eine sonstiges Strom-, Ladungs-,

- 10 -

Spannungs- Potentialmessung erfolgen. Bei Bio-Sensor-Chips mit elektrischem Ausleseverfahren ist eine Identifizierung der Reaktion zwischen den Sondenmolekülen und den nachzuweisenden organischen Molekülen bevorzugt dadurch möglich, dass die Teststellen auf einer leitfähigen Oberfläche angeordnet sind und die Reaktion durch eine Bestimmung der elektrischen Kommunikation zwischen den Teststellen und der leitfähigen Oberfläche nachgewiesen wird. Diese Kommunikation wird wiederum bevorzugt durch ein elektrochemisches Verfahren, insbesondere durch cyclische Voltametrie, Amperometrie, Leitfähigkeitsmessung oder eine sonstiges Strom-, Ladungs-, Spannungs- Potentialmessung nachgewiesen.

Eine ebenfalls bevorzugte Identifizierung der Reaktion zwischen den Sondenmolekülen und den nachzuweisenden organischen Molekülen basiert auf einem optischen Verfahren insbesondere der Detektion von Lumineszenz.

Während bei einem scannenden Beleuchtungsverfahren nach dem Stand der Technik, beispielsweise bei Einsatz eines Laser-Scanners, typischerweise nur eine Teststelle gleichzeitig beleuchtet werden kann, erlaubt das im Rahmen dieser Erfindung beschriebene Beleuchtungssystem, mehrere Teststellen gleichzeitig zu beleuchten. Dadurch steht eine Vielzahl möglicher Beleuchtungsschemata zur Auswahl. Für das hier beschriebene Nachweisverfahren kann ein optimales Beleuchtungsschema ausgewählt werden, das auf die Gegebenheiten der Nachweisvorrichtung abgestimmt ist. Insbesondere können mehrere Teststellen, bevorzugt solche, bei denen die Wahrscheinlichkeit einer Reaktion mit den nachzuweisenden organischen Molekülen gering ist, zunächst gleichzeitig beleuchtet und ausgelesen werden. Wird innerhalb einer solchen Gruppe keine Reaktion nachgewiesen, kann eine Reaktion für die ganze Gruppe ausgeschlossen werden und auf das weitere Auslesen der individuellen Teststellen dieser Gruppe verzichtet werden. Nur wenn eine Reaktion innerhalb einer solchen Gruppe von Teststellen festgestellt wurde oder nicht zuverlässig ausgeschlossen werden konnte, ist in einem Folgeschritt eine weitere Beleuchtung und Auslesung dieser Teststellen in einer anderen Gruppierung oder individuell notwendig. Da bei einer solchen Vorgehensweise zum Teil ganze Gruppen von Teststellen gleichzeitig ausgelesen und als nicht-reagierend eingestuft werden können, kann das Ausleseverfahren

- 11 -

insgesamt zeitlich verkürzt werden. Beispielsweise sind bei einem Chip mit  $N = 2^n$  Teststellen ( $n$  ganzzahlig), bei dem nur an einer Teststelle eine Reaktion mit der Untersuchungslösung nachweisbar ist, anstatt  $N$  Ausleseschritten nur  $2n+1$  Ausleseschritte notwendig, wenn das folgende Ausleseverfahren angewendet wird:

5 Zunächst werden alle Teststellen auf einmal ausgelesen, dann jeweils eine Hälfte davon, anschließend wird die Hälfte, in der eine Reaktion nachgewiesen wurde, wiederum in zwei Hälften eingeteilt, die beide ausgelesen werden, wobei iterativ jeweils die Hälfte, in der eine Reaktion nachgewiesen wurde, weiter solange halbiert wird, bis letztendlich die Teststelle, an die eine Reaktion nachweisbar ist, eindeutig

10 identifiziert ist. In diesem Beispiel ist dadurch auch ein Zeitersparnis um den Faktor  $N/(2n+1)$  möglich, bei einem Chip mit 1024 Testsites beispielsweise ein Zeitersparnis um den Faktor 49. Ist an mehreren Teststellen eine Reaktion nachweisbar, so ist das Zeitersparnis geringer, da sich das Iterationsverfahren verzweigen muss.

15 Das Beleuchtungsschema kann auch in Bezug auf die Abstände zwischen den Teststellen optimiert werden, insbesondere um Wechselwirkungen zwischen nahe beieinanderliegenden Teststellen beim Auslesen zu minimieren. Dabei wird beispielsweise in einem ersten Schritt nur jede zweite Teststelle einer Teststelle beleuchtet, während die übrigen Teststellen anschließend in einem zweiten Schritt

20 beleuchtet werden. Bei starken Beeinflussungen und/oder geringen Abständen der Teststellen können auch größere Zwischenräume zwischen den beleuchteten Teststellen zweckmäßig sein.

Zur Steigerung der Empfindlichkeit des Ausleseverfahren, insbesondere bei einem starkem konstanten oder zeitlich variierendem Untergrundsignal, kann beim Auslesen

25 einer Teststelle dessen Beleuchtungsstärke zeitlich variiert werden. Insbesondere ist eine Differenzmessung (Signal mit Beleuchtung – Signal ohne Beleuchtung) möglich. Darüber hinaus kann die Beleuchtung zeitlich periodisch variiert werden und das Signal (die detektierte Reaktion zwischen den Sondenmolekülen und den nachzuweisenden organischen Molekülen) frequenz- oder phasenspezifisch

30 weiterverarbeitet werden. Dazu wird das Signal in einem Verstärker mit einem phasenempfindlichen Gleichrichter (Lock-In-Verstärker) verarbeitet, der synchron mit der pulsierenden Beleuchtung getriggert wird. Das gleichgerichtete Signal am

- 12 -

Ausgang des Lock-In-Verstärkers ist ein dann Maß für die durch die Beleuchtung initiierte Reaktion. Durch ein solches Lock-In-Verfahren ist insbesondere eine Unterdrückung von konstanten Signalen oder von periodischen Signalen, deren Frequenz sich von derjenigen der Beleuchtungsfrequenz deutlich unterscheidet, 5 möglich. Die beim Lock-In-Verfahren verwendete Frequenz sollte sich von in der Umgebung des Messaufbaus eventuell vorhandenen Störfrequenzen, insbesondere der Frequenz des Stromnetzes (50 bzw. 60Hz) oder ganzzahligen Vielfachen davon, unterscheiden, muss kleiner sein als die Grenzfrequenzen des verwendeten Beleuchtungssystems und Detektionssystems und liegt bevorzugt im Bereich von 1 10 Hz bis 100 MHz liegen, wobei die obere Grenzfrequenz in miniaturisierten Auslesesystemen auch höher sein kann. Besonders bevorzugt werden Frequenzen im kHz-Bereich verwendet, beispielsweise 3 kHz.

Bei periodischer Beleuchtung der Teststellen können auch mehrere Teststellen gleichzeitig ausgelesen werden, indem verschiedene Teststellen mit 15 unterschiedlichen Frequenzen oder Phasen beleuchtet werden und die Identifizierung der Reaktion zwischen den Sondenmolekülen einer Teststelle und den nachzuweisenden organischen Molekülen mit Hilfe frequenz- oder phasenspezifischer Signalverarbeitung erfolgt.

Neben einer Steigerung der Empfindlichkeit und/oder einer Verkürzung der Messzeit 20 ist ein weiterer Vorteil der periodischen Beleuchtung und Auslesung der Teststellen eine bessere Regenerationsfähigkeit des Untersuchungssystems. Beispielsweise können durch die optische Anregung erzeugte, unerwünschte Zwischenzustände, insbesondere Triplett-Zustände, der Sonden, Targets oder anderer Moleküle in der Umgebung der gerade adressierten Teststelle in der Dunkelphase in den 25 Grundzustand relaxieren. Eine Regeneration kann auch darin bestehen, dass eventuelle, durch das Ausleseverfahren insbesondere in der Umgebung der Teststelle umgesetzte Substanzen, insbesondere Ionen bei einem elektrischen Ausleseverfahren, abtransportiert bzw. nachgeliefert werden.

30

### Kurze Beschreibung der Zeichnungen

Die Erfindung soll nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen im Zusammenhang mit den Zeichnungen näher erläutert werden. Es zeigen

5

Fig. 1 Eine schematische, perspektivische Darstellung der prinzipiellen Zuordnung von Beleuchtungsquellen zu Teststellen auf dem Untersuchungssystem.

Fig. 2 Eine schematische Darstellung des prinzipiellen Aufbaus der erfindungsgemäßen Vorrichtung.

Fig. 3 Schematische Darstellungen von Ausführungsbeispielen gemäß der Erfindung, wobei für das Beleuchtungssystem eine Flüssigkristallanzeige (LCD) verwendet wird (Ausführungsform 1).

Fig. 3A bis 3C zeigen Vorrichtungen, bei denen neben einer Beleuchtungsoptik ein Projektionssystem zum Einsatz kommt (Ausführungsform 1a).

Fig. 3D und 3E zeigen einfacher aufgebaute Vorrichtungen ohne Projektionssystem, bei denen der Bio-Sensor-Chip sehr nahe am Flüssigkristall angeordnet ist (Ausführungsform 1b).

Fig. 3A Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit LCD, Projektionssystem und elektrischer Detektion.

Fig. 3B Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit LCD, Projektionssystem und optischer Detektion mittels Strahlteiler.

Fig. 3C Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit LCD, Projektionssystem und optischer Detektion (nicht-kollinear).

Fig. 3D Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung ohne Projektionssystem mit LCD und elektrischer Detektion.

Fig. 3E Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung ohne Projektionssystem mit LCD und optischer Detektion mittels Strahlteiler.

- Fig. 4 Schematische Darstellungen von Ausführungsbeispielen gemäß der Erfindung, wobei für das Beleuchtungssystem ein Mikromechanisches Spiegelarray (DMD) verwendet wird (Ausführungsform 2).
- Fig. 4A Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit DMD, Projektionssystem und elektrischer Detektion.
- Fig. 4B Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit DMD, Projektionssystem und optischer Detektion mittels Strahlteiler.
- Fig. 4C Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit DMD, Projektionssystem und optischer Detektion (nicht-kollinear).
- Fig. 5 Schematische Darstellungen von Ausführungsbeispielen gemäß der Erfindung, wobei für das Beleuchtungssystem ein Videoprojektor verwendet wird (Ausführungsform 3).
- Fig. 5A Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit Videoprojektor, Projektionssystem und elektrischer Detektion.
- Fig. 5B Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit Videoprojektor, Projektionssystem und optischer Detektion mittels Strahlteiler.
- Fig. 5C Ein Ausführungsbeispiel gemäß der Erfindung mit Videoprojektor, Projektionssystem und optischer Detektion (nicht-kollinear).

### **Wege zur Ausführung der Erfindung**

Das Arbeitsprinzip ist zunächst anhand der Figuren 1 und 2 erläutert. Das  
5 Untersuchungssystem der Ausführungsform von Fig. 1 umfasst ein Array von Teststellen ( $T_1 - T_4$ ), wobei jede Teststelle spezifische Sondenmoleküle aufweist. Um organische Moleküle (Targets) in einer Untersuchungslösung nachzuweisen, werden diese dem Untersuchungssystem zugeführt. Das Untersuchungssystem hat die  
10 Eigenschaft, bei Beleuchtung einer beliebigen Teststelle eine physikalische Reaktion zu zeigen, die spezifisch von der Wechselwirkung zwischen den Targets und den Sonden dieser Teststelle abhängt. Ein wesentliches Merkmal dieser Erfindung ist die



- 15 -

Beleuchtung der Teststellen des Untersuchungssystems  $T_1 - T_4$  mit einem Beleuchtungssystem, das hier ein Array von Beleuchtungsquellen  $B_{11} - B_{44}$  umfasst. Dabei wird jeder Teststelle mindestens eine, im wesentlichen nur sie beleuchtende Beleuchtungsquelle zugeordnet. In der Ausführungsform von Fig. 1 sind je vier

5 Beleuchtungsquellen einer Teststelle zugeordnet, beispielsweise die Quellen  $B_{11}$ ,  $B_{12}$ ,  $B_{13}$  und  $B_{14}$  der Teststelle  $T_1$ . Exemplarisch ist deren Beleuchtung durch die aktivierte Beleuchtungsquelle  $B_{12}$  dargestellt.

Fig. 2 zeigt in schematischer Darstellung das Grundprinzip einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, enthaltend ein Beleuchtungssystem 100, Projektionssystem 200,

10 Untersuchungssystem 300 und Detektionssystem 400. Das Beleuchtungssystem 100 besteht aus den einzeln ansteuerbaren Beleuchtungsquellen  $B_1 - B_6$ , die über das Projektionssystem 200, auf die Teststellen  $T_1 - T_3$  des Untersuchungssystems 300 projiziert werden können. Die Teststellen  $T_1 - T_3$  umfassen spezifische Sondenmoleküle 320, die mit Targets 350 aus der Untersuchungslösung spezifisch

15 wechselwirken können. Exemplarisch sind Targets 350 gezeigt, die spezifisch mit den Sonden der Teststelle  $T_2$  reagieren. Bei Beleuchtung mit einer der dieser Teststelle zugeordneten Beleuchtungsquellen  $B_3$  oder  $B_4$  wird die physikalische Reaktion des Untersuchungssystems 300 mit dem Detektionssystem 400 nachgewiesen. Diese physikalische Reaktion ist beispielsweise ein erhöhter

20 Stromfluss durch die Teststelle  $T_2$ , bedingt durch eine erhöhte Leitfähigkeit des konkreten Systems Sonden+Targets verglichen mit den nicht reagierten Sondenmolekülen. Dabei befinden sich die Teststellen  $T_1 - T_3$  auf einer leitfähigen Oberfläche des Untersuchungssystems 300. Der durch die Beleuchtung induzierte Stromfluss von den angebondenen Molekülen über die leitfähige Oberfläche zu

25 Masse wird über ein Strommessgerät 400 nachgewiesen. Dabei kann die Reaktion mehrerer Teststellen  $T_1 - T_3$  gemeinsam (wie in Fig. 2) oder jeder Teststelle einzeln, beispielsweise über einzeln ansteuerbare Elektroden, detektiert werden. Werden mehrere Teststellen, wie  $T_1 - T_3$  in Fig. 2, über eine gemeinsame Elektrode ausgelesen, kann eine Teststelle, an der eine Reaktion der Sonden- mit den

30 Targetmolekülen stattgefunden hat, durch eine selektive Beleuchtung identifiziert werden:

- 16 -

In der Situation von Fig. 2 ergibt sich beispielsweise ein Stromfluss am Messgerät 400 bei Beleuchtung des Untersuchungssystems durch die Beleuchtungsquellen B<sub>3</sub> oder B<sub>4</sub>. Sind dagegen nur die Quellen B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> oder B<sub>5</sub> und B<sub>6</sub> aktiv, ergibt sich mangels erfolgter Reaktion an den Teststellen T<sub>3</sub> bzw. T<sub>1</sub> kein Stromfluss.

- 5 Bei vorgegebener Zuordnung von Beleuchtungsquellen und Teststellen kann auf diese Weise auch bei Auslesen des Untersuchungssystems mit einer gemeinsamen Elektrode eine orts aufgelöste Detektion erfolgen.

Eine Aufbringung einzelner Teststellen oder Gruppen von Teststellen auf getrennte Elektroden kann trotzdem sinnvoll sein, beispielsweise um eine bessere Selektivität  
10 und ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis zu erreichen oder die Wechselwirkung von Sonden- und Targetmolekülen durch räumlich begrenzte elektrische Felder beeinflussen zu können.

#### **Bevorzugte Ausführungsformen:**

- 15 Einige spezielle Ausführungsformen der Erfindung werden nachfolgend mit Bezug auf die Figuren 3A bis 5C näher beschrieben. Dabei können Einzelelemente der dargestellten Vorrichtungen auch auf andere Weise miteinander kombiniert werden. Prinzipiell lassen sich unterschiedliche Beleuchtungssysteme 100 mit verschiedenen Projektionssystemen 200 und Untersuchungssystemen 300 sowie für das zugehörige  
20 Ausleseverfahren geeigneten Detektionssystemen 400 kombinieren. Darüber hinaus lassen sich insbesondere zum Aufbau eines Beleuchtungssystems 100 unterschiedliche Ausleuchtungssysteme (bestehend aus den Komponenten mit den Bezugszeichen 101 – 149) mit verschiedenen zweidimensionalen optischen Schaltern (150, 160) kombinieren. Außerdem lassen sich unterschiedliche  
25 Detektoren einsetzen, insbesondere lässt sich in den Ausführungsformen mit CCD dieser durch einen anderen optischen Detektor, vorzugsweise eine intensified CCD-Kamera oder eine CMOS-Kamera, ersetzen.

#### **Ausführungsformen vom Typ 1: Beleuchtungssystem mit Flüssigkristall (LCD)**

- 30 Eine erste Gruppe von Ausführungsformen (Fig. 3A – 3E) zeichnet sich dadurch aus, dass als zweidimensionaler optischer Schalter ein Flüssigkristall-Element (LCD) 150, als Beispiel für einen transmittierenden optischen Schalter, eingesetzt wird.

- 17 -

Das Ausleuchtungssystem (101 – 132) ist an die Mikroskop-Beleuchtungsoptik nach Köhler angelehnt. Es besteht aus einer Lampe 101 mit Spiegelreflektor 102, einem optionalen Integrator 105, einem Kondensator 130 sowie Filtern 110 und Blenden 120/132. Die Lampe 101 wird in Kombination mit einem oder mehreren spektralen  
5 Filtern 110 so gewählt, dass die emittierte Strahlung spektral auf den verwendeten Bio-Sensor-Chip 301/302 abgestimmt ist. Insbesondere können dafür Glühlampen, bevorzugt Halogenlampen, oder Bogenlampen eingesetzt werden. Der Reflektor 102, bevorzugt mit parabolischer Form, ist so positioniert, dass das von der Lampe emittierte Licht parallel auf den Integrator 105 auftritt. Dieser hat die Aufgabe den  
10 Lichtstrahl zu homogenisieren und für eine gleichmäßige Ausleuchtung zu sorgen. Insbesondere können dafür Streuscheiben, beispielsweise aus Milchglas, oder ein Mikrolinsensystem verwendet werden. Die dicht hinter dem Integrator 105 angebrachte Leuchtfeldblende 120 begrenzt die Strahlung auf eine Fläche, die gerade groß genug ist, um den Flüssigkristall 150 auszuleuchten. Der Kondensator  
15 130 besteht aus einer Sammellinse oder auch einem Linsensystem und hat die Aufgabe, das von der Leuchtfeldblende 120 begrenzte homogene Strahlungsfeld auf den Flüssigkristall 150 abzubilden. Er hat eine Brennweite  $f_1$  bevorzugt im Bereich 10 bis 300 mm, im Ausführungsbeispiel von 100 mm, und ist so positioniert, dass die Leuchtfeldblende 120 scharf auf den Flüssigkristall 150 abgebildet wird.  
20 Beispielsweise wird der Kondensator 130 genau in der Mitte zwischen Leuchtfeldblende und Flüssigkristall jeweils im Abstand  $2 \times f_1$  angeordnet, wenn die laterale Ausdehnung von Leuchtfeldblende 120 und Flüssigkristall 150 gleich groß und damit eine Vergrößerung  $V=1$  gewählt wird. Bei unterschiedlichen Größen sind Vergrößerungen ungleich eins, bevorzugt im Bereich  $V=1/5$  bis 5, mit anderen  
25 Abständen gemäß den Abbildungsgleichungen des Kondensators 130 möglich.

Da das Flüssigkristall-Element 150 nur polarisiertes Licht transmittiert, kann bereits das Ausleuchtungssystem ein Polarisationsfilter 115, vorzugsweise ein verlustarmer Polarisationsfilter (*polarization recovery plate*), enthalten, bevorzugt in der Nähe der Leuchtfeldblende 120 angeordnet. Der verlustarme Polarisationsfilter lässt eine  
30 Polarisationskomponente des einfallenden Lichts durch und wirkt auf dazu senkrechte reflektierte Polarisationskomponenten, indem er deren Polarisationsrichtungen dreht und sie wieder in den Strahlengang einfügt. Dadurch

- 18 -

treten bei der Polarisierung insgesamt weniger Verluste auf, als bei einem einfachen Polarisator.

Direkt vor der Kondensorlinse 130 ist eine weitere Blende – die Kondensorblende 132 – zur Einstellung der Lichtintensität des Ausleuchtungssystems angebracht.

- 5 Als zweidimensionaler Schalter wird bei diesen Ausführungsformen ein in Transmission zu betreibender zweidimensionaler optischer Schalter, exemplarisch ein Flüssigkristallelement (LCD) 150, eingesetzt. Er hat in beiden Dimensionen eine Pixelanzahl, die mindestens der Anzahl der Matrixelemente (Teststellen) auf dem auszulesenden Bio-Sensor-Chip, bevorzugt mindestens fünfmal so vielen, entspricht.
- 10 Durch eine Computeransteuerung 180 werden die einzelnen Pixel und damit letztendlich die Helligkeit des Beleuchtungssystems an der entsprechenden Position gesteuert. Bis zu diesem Punkt sind die Ausführungsformen 1a und 1b identisch.
- Die Ausführungsformen von Fig. 3A - 3C enthalten zusätzlich ein Projektionssystem 200, das das beleuchtete LCD 150 auf den Bio-Sensor-Chip 301/302 projiziert. Das
- 15 Projektionssystem 200 besteht aus einer Sammellinse oder einem Linsensystem. Es wird in einer dem Fachmann geläufigen Weise so dimensioniert und positioniert, dass das LCD 150 scharf auf den Bio-Sensor-Chip 301/302 abgebildet und eine Vergrößerung gewählt wird, die gerade eine vollständige Beleuchtung des Chips 301/302 ermöglicht. Beispielsweise wird bei einem Bio-Sensor-Chip 301/302 der
- 20 Größe 20 mm x 20 mm und einem gleich großen LCD 150 die Vergrößerung eins gewählt, indem die Projektionsoptik 200 mit der Brennweite  $f_2$ , bevorzugt im Bereich 10 bis 300 mm, im Ausführungsbeispiel 100 mm, genau in der Mitte zwischen LCD 150 und Chip 301/302 jeweils im Abstand  $2 \times f_2$  angeordnet wird. Dabei wird der Abstand zwischen Chip 301/302 und Projektionsoptik 200 und damit auch  $f_2$
- 25 ausreichend groß gewählt, so dass zum einen der Bio-Sensor-Chip 301/302 mit seiner Halterung und eventuell damit verbundene Probenzuführungssystem Platz unter der Projektionsoptik 200 findet und leicht ausgewechselt werden kann. Zum anderen wird der Abstand bevorzugt deutlich größer gewählt als die seitliche Ausdehnung des Chips 301/302, damit der Einfallswinkel der Beleuchtungsstrahlen
- 30 an verschiedenen Positionen auf dem Chip und damit die Beleuchtungsintensität auf jeder Flächeneinheit möglichst gleich ist. Unterschiede in der Beleuchtungsintensität können jedoch auch durch die Auswertesoftware korrigiert werden.

Die Auslesung des Bio-Sensor-Chips 301/302 hängt vom verwendeten Chip-Typ ab. Bei den besonders bevorzugten elektrisch auslesbaren Bio-Sensor-Chips 301 (Fig. 3A), werden elektrische Signale gemessen und mit dem Ansteuerungsmuster des LCD 150 durch die Auswertesoftware korreliert. In diesem Fall sind keine weiteren optischen Elemente notwendig.

Bei den ebenfalls bevorzugten Bio-Sensor-Chips mit optischem Ausleseverfahren (Lumineszenz-Chips) 302 ist ein zusätzliches optisches Detektionssystem (420 – 450) erforderlich (Fig. 3B, 3C). Dieses besteht zumindest aus einem optischen Detektor 450, vorzugsweise eine CCD-Kamera bzw. intensified CCD-Kamera (Hersteller: z.B. Hamamatsu Photonics, Herrsching, D) oder einer CMOS-Kamera (Hersteller: z.B. Fraunhofer-Institut für Mikroelektronische Schaltungen und Systeme, Duisburg, D), im Ausführungsbeispiel eine CCD-Kamera. Vor dem Detektor 450 wird ein optischer Filter 430 angebracht, der spezifisch für die Lumineszenzwellenlänge des Bio-Sensor-Chips 302 ist und Streulicht unterdrückt.

Eine besonders bevorzugten Ausführungsform (Fig. 3B) enthält außerdem einen Strahlteiler 420 zwischen LCD 150 und Projektionsoptik 200, der die vom Bio-Sensor-Chip 302 emittierte Strahlung mit Hilfe der Projektionsoptik 200 auf den Detektor 450 projiziert. Haben LCD 150 und Detektor 450 in etwa die gleiche Größe, so ist dazu keine weitere Detektionsoptik erforderlich. Die CCD-Kamera 450 wird in diesem Fall direkt im über den Strahlteiler 420 umgelenkten Fokus der Projektionsoptik 200 positioniert. Bei unterschiedlichen Größen von LCD 150 und Detektor 450 wird eine Anpassung an die Detektorfläche durch eine zusätzliche Detektionsoptik – entweder in der CCD-Kamera 450 enthalten oder als externes optisches System (440, siehe unten) - mit der entsprechenden Vergrößerung gewährleistet. Eine Steigerung der Empfindlichkeit und eine Streulichtunterdrückung kann durch Verwendung eines dichroitischen Strahlteilers 420 erreicht werden, der bei der Wellenlänge des Anregungslichts eine größere Transmission hat als bei der Wellenlänge des zu detektierenden Lichts. Insgesamt ist auch eine Vertauschung der Zuordnung „Anregung = transmittiertes Strahl“ und „Detektion = reflektierter Strahl“ möglich.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform (Fig. 3C) basiert auf einer nicht-kollinearen Anordnung von Anregungs- und Detektionsstrahlengang (off-axis

- 20 -

Anordnung). Dadurch ist es möglich, eine separate Detektionsoptik 440 getrennt von der Projektionsoptik 200 anzubringen. Diese Optik 440 besteht aus einer Sammellinse, einem Linsensystem oder einer Spiegeloptik und ist so dimensioniert, dass der Bio-Sensor-Chip 302 scharf und in voller Größe auf den Detektor 450  
5 abgebildet wird. Durch einen optionalen Ablenkspiegel kann der Anregungs- und der Detektionsstrahlengang räumlich weiter voneinander getrennt werden.

Bei den Ausführungsformen von Fig. 3D und 3E wird auf das Projektionssystem 200 verzichtet. Dies ist möglich, wenn der Flüssigkristall 150 mindestens die gleiche Größe und Auflösung wie der Bio-Sensor-Chip 301/302 hat. Der Flüssigkristall 150  
10 wird in diesem Fall direkt, parallel über dem Bio-Sensor-Chip 301/302 angeordnet, so dass das Beleuchtungsmuster des LCD 150 direkt auf den Chip projiziert wird. Um eine Anregung von benachbarten Teststellen ( $T_i$ ) auf dem Chip 301/302 auszuschließen, ist in dieser Ausführungsform der Abstand  $a$  zwischen LCD 150 und Chip kleiner als der Abstand der Teststellen auf dem Chip geteilt durch den Sinus  
15 des Austrittswinkel des Anregungslichts aus dem LCD.

Diese Ausführungsform kann bevorzugt für elektrisch auslesbaren Bio-Sensor-Chips 301 eingesetzt werden, bei dem zum Nachweis der Reaktion des Chips keine weiteren optischen Komponenten (420 – 450) erforderlich sind (Fig. 3D). Bei Chips mit optischem Auslesverfahren 302 ist prinzipiell eine Detektion der Lumineszenz  
20 über einen zwischen Kondensator 130 und Leuchtfeldblende 120 integrierten Strahlteiler 420 (Fig. 3E) oder mit einer nicht-kollinearen Anordnung von Anregungs- und Detektionsstrahlengang möglich - in analoger Weise wie bei der Ausführungsform 1a beschrieben. Dabei müssen jedoch Signalverluste aufgrund des doppelten Durchgangs durch den Flüssigkristall (Anregungs- und Lumineszenzlicht),  
25 insbesondere beim schrägen Durchgang der nicht-kollinearen Anordnung, in Kauf genommen werden. Ein Vorteil bei dieser Variante ist das höhere Kontrastverhältnis aufgrund des doppelten Durchgangs durch das LCD.

### **Ausführungsformen vom Typ 2: Beleuchtungssystem mit mikromechanischem Spiegelarray (DMD)**

  
30

Die Ausführungsformen vom Typ 2 (Fig. 4A – 4C) zeichnen sich dadurch aus, dass als zweidimensionaler optischer Schalter ein Mikromechanisches Spiegelarray

- 21 -

(DMD) 160, als Beispiel für einen reflektierenden optischen Schalter, eingesetzt wird. Das DMD ist ein Array aus einzeln ansteuerbaren Mikrospiegeln, wie es insbesondere von der Firma Texas Instruments oder vom Fraunhofer-Institut für mikroelektronische Schaltungen und Systeme mittels Silizium-Chiptechnologie hergestellt wird. Durch den Einsatz eines DMD kann eine große Beleuchtungsstärke bei einem hohen Füllfaktor und einem großen Kontrastverhältnis erreicht werden. Der Füllfaktor gibt bei einem zweidimensionalen optischen Schalter das Verhältnis der effektiv schaltbaren Fläche zur Gesamtfläche an. Aufgrund von Zwischenräumen zwischen den einzelnen Matrixelementen ist der Füllfaktor generell kleiner als 1, bei einem DMD jedoch im allgemeinen größer als bei einem LCD.

Das Ausleuchtungssystem (101 – 132) besteht aus einer Lampe 101 mit Kollektorlinse 103, einem optionalen Integrator (105), einem Kondensator 130 sowie Filtern 110 und Blenden 120 und 132. Wie bei den Ausführungsformen vom Typ 1 wird die Lampe 101 in Kombination mit einem oder mehreren spektralen Filtern 110 so gewählt, dass die emittierte Strahlung spektral auf den verwendeten Bio-Sensor-Chip 301/302 abgestimmt ist. Die Kollektorlinse 103 mit einer Brennweite im Bereich 20 mm bis 200 mm, im Ausführungsbeispiel 80 mm, ist im Abstand ihrer Brennweite von der Lampe 101 entfernt, so dass ein paralleles Lichtstrahlenbündel aus ihr austritt. Dieses Strahlenbündel wird durch die Leuchtfeldblende 120 räumlich begrenzt und kann durch einen vor ihr angeordneten Integrator (105) zusätzlich homogenisiert werden.

Wie bei den Ausführungsformen vom Typ 1 besteht der Kondensator 130 aus einer Sammellinse oder auch einem Linsensystem und hat die Aufgabe, das von der Leuchtfeldblende 120 begrenzte homogene Strahlungsfeld auf das DMD 160 abzubilden. Direkt vor der Kondensatorlinse 130 ist eine weitere Blende – die Kondensatorblende 132 – angebracht. Damit ist eine Einstellung der Lichtintensität des Ausleuchtungssystems möglich.

Als zweidimensionaler Schalter wird bei den Ausführungsformen vom Typ 2 ein in Reflexion zu betreibender zweidimensionaler optischer Schalter, exemplarisch ein Mikromechanisches Spiegelarray (DMD, Hersteller: Texas Instruments) 160, eingesetzt. Er hat in beiden Dimensionen eine Anzahl von Mikrospiegeln, die mindestens der Anzahl der Teststellen ( $T_i$ ) auf dem auszulesenden Bio-Sensor-Chip

- 22 -

301/302, bevorzugt mindestens fünfmal so vielen, entspricht. Durch eine Computeransteuerung 180 können die einzelnen Mikrospiegel verkippt und damit letztendlich die Helligkeit des Beleuchtungssystems 100 an der entsprechenden Position gesteuert werden.

- 5 Im Gegensatz zu den Ausführungsformen aus Fig. 3D,E ist bei den Ausführungsformen vom Typ 2 auf jeden Fall ein Projektionssystem 200 erforderlich, das das beleuchtete DMD 160 auf den Bio-Sensor-Chip 301/302 projiziert. Alternativ zu dem in Fig. 3A-C dargestellten Projektionssystem 200 ist generell ein Projektionssystem bestehend aus Spiegeloptiken 202, 204 möglich. Das hier
- 10 einsetzbare Projektionssystem nach Offner (Optical Engineering, 14 (1975) S. 130-132) besteht aus je einem konkaven 202 und konvexen 204 Spiegel und bildet das DMD 160 auf den Bio-Sensor-Chip 301/302 im Verhältnis 1:1 ab. Der notwendige Vergrößerungsfaktor entspricht dem Größenverhältnis zwischen Bio-Sensor-Chip 301/302 und DMD 160. Aufgrund der begrenzten numerischen Apertur des
- 15 Projektionssystems 200 (z.B. NA ~ 0,08), gelangt nur das von den Mikrosiegeln des DMD einer bestimmten Orientierung (aktive Stellung) reflektierte Licht auf den Bio-Sensor-Chip. Je stärker ein Mikrospiegel verkippt wird (passive Stellung), desto mehr wird das Anregungslicht dieses Pixels ausgeblendet. Um die Ausblendung definiert zu gewährleisten, enthält das Projektionssystem eine Projektionsblende 210.
- 20 Die Auslesemöglichkeiten des Bio-Sensor-Chips bestehen wie bei den Ausführungsformen von Fig. 3A-C. Insbesondere sind Ausführungsformen mit elektrischem Ausleseverfahren (Fig. 4A) und optischem Ausleseverfahren mit Strahlteiler (Fig. 4B) oder nicht-kollinear (Fig. 4C) möglich. Im Fall der optischen Auslesung über einen Strahlteiler 420 (Fig. 4B) wird dieser zwischen DMD 160 und
- 25 Projektionssystem 200 integriert.

### **Ausführungsformen vom Typ 3: Beleuchtungssystem mit Videoprojektor**

- Für die Ausführungsformen vom Typ 3 (Fig. 5A – 5C) wird ein Videoprojektor 190 als Beleuchtungssystem eingesetzt. Dieser kann als Komplettsystem gekauft werden,
- 30 ein LCD (Hersteller: z.B. Philipps; Sanyo), ein DMD (Hersteller: z.B. Digital Projection, Manchester, UK) enthalten oder nach einem anderen Prinzip arbeiten. Bei der Auswahl sind folgende Kriterien zu beachten: Der Videoprojektor der



- 23 -

Ausführungsformen 3 hat eine Pixelanzahl (im Ausführungsbeispiel 800 x 600), die mindestens der Anzahl der Teststellen auf dem Bio-Sensor-Chip entspricht, ein hohes Kontrastverhältnis (größer 100:1), ist auf eine Fläche der Größe des Bio-Sensor-Chips (20 mm x 20 mm) fokussierbar, weist eine ausreichende räumliche und zeitliche Stabilität sowie Homogenität und eine ausreichende Beleuchtungsstärke im für den Bio-Sensor-Chip geeigneten Spektralbereich (insbesondere bei 400 nm bis 1000 nm) auf und ist durch einen Computer ansteuerbar.

Das vom Videoprojektor ausgehende Bild wird über einen Spiegel 240 (Fig. 5A, 5C) oder Strahlteiler 422 (Fig. 5B) auf den Bio-Sensor-Chip 301/302 projiziert. Ein zusätzliches Projektionssystem 230 ist erforderlich, wenn mit dem Videoprojektor selbst keine Projektion des Bildes auf die Größe des Bio-Sensor-Chips möglich ist – was bei handelsüblichen Geräten oft der Fall ist. Für Bio-Sensor-Chips mit geringer Dichte der Teststellen (Abstand benachbarter Teststellen mindestens 0,1 mm) kann das Projektionssystem 230 durch eine einzelne Sammellinse ( $f_3 = 10 \dots 300$  mm) realisiert werden (Fig. 3). Diese erzeugt ein scharfes Bild, das - im Gegensatz zum üblichen Gebrauch eines Videoprojektors - nahe ( $< 500$  mm) am Projektor 190 liegt und klein (20 mm x 27 mm) ist. An der Stelle dieses Bildes kann der Bio-Sensor-Chip 301/302 positioniert und optisch angeregt werden.

Ein kleineres Beleuchtungsfeld und damit eine höhere Pixeldichte lässt sich in an sich bekannter Weise durch zwei optische Systeme erreichen. Mit einem ersten System wird nahe ( $< 500$  mm) am Projektor ein Zwischenbild (Kantenlänge maximal 100 mm) erzeugt. Dieses wird über eine zweites System auf die Größe des Bio-Sensor-Chips 301/302 verkleinert.

Eine weitere Variante der Ausführungsformen vom Typ 3 besteht darin, das Projektionslinsensystem des Videoprojektors 190 auszutauschen bzw. kundenspezifisch anzupassen, so dass eine Projektion auf die Größe des Bio-Sensor-Chips 301/302 möglich ist.

Bei den Ausführungsformen mit Videoprojektor bestehen ebenfalls die Auslesemöglichkeiten des Bio-Sensor-Chips 301/302 wie bei den Ausführungsformen von Fig. 3A-C. Insbesondere sind Ausführungsformen mit elektrischem Ausleseverfahren (Fig. 5A) und optischem Ausleseverfahren mit Strahlteiler (Fig. 5B) oder nicht-kollinear (Fig. 5C) möglich. Im Fall der optischen

- 24 -

Auslesung über einen Strahlteiler 422 (Fig. 5B) wird in der Ausführungsform mit Videoprojektor 190 eine Detektionsoptik 460 eingesetzt um den Bio-Sensor-Chip 302 auf den optischen Detektor 450 abzubilden.

5 **Erhöhung der Auflösung bei allen drei Ausführungsformen**

Ist die Zahl der Pixel des zweidimensionalen optischen Schalters 150/160 bzw. des Videoprojektors 190 nicht ausreichend, um den Bio-Sensor-Chip 301/302 mit der gewünschten Auflösung (mindestens dem Abstand der Teststellen auf dem Chip) anzuregen, so kann der Chip zusätzlich abgescannt werden: Dazu wird das Bild des Beleuchtungssystems 100 nur auf einen Teil des Chips 301/302 verkleinert, so dass die gewünschte Auflösung erreicht wird. In einem ersten Schritt wird zunächst dieser Teil des Chips angeregt und ausgelesen. In einem Folgeschritt wird entweder der Chip über einen x-y-Verschiebetisch oder das Bild über bewegliche Umlenkspiegel um die Breite eines Bildes verschoben. Anschließend wird der dadurch neu ausgewählte Bereich des Chips angeregt und ausgelesen. Dieses Verfahren wird so lange wiederholt, bis der gesamte Chip 301/302 ausgelesen wurde.

### Patentansprüche

1. Vorrichtung zum Nachweis von organischen Molekülen, insbesondere von Biomolekülen und Polymeren, in einer Probensubstanz, umfassend
- 5 - ein Untersuchungssystem (300) aus einem Array von Teststellen (T), denen die Probensubstanz zuführbar ist, wobei jede Teststelle spezifische Sondenmoleküle (320) aufweist,
- ein Beleuchtungssystem (100) zur optischen Beleuchtung eines Teilarrays von
- 10 Teststellen (T), und
- ein Detektionssystem (400) zum Identifizieren solcher Teststellen (T), deren Sondenmoleküle (320) mit den nachzuweisenden organischen Molekülen (350) wechselwirken,
- dadurch gekennzeichnet, dass
- 15 das Beleuchtungssystem (100) ein Array von getrennt ansteuerbaren Beleuchtungsquellen (B) umfaßt, die so angeordnet sind, dass jeder Teststelle (T) des Teilarrays zumindest eine, im wesentlichen nur sie beleuchtende Beleuchtungsquelle (B) zugeordnet ist.
- 20 2. Vorrichtung nach Anspruch 1, weiter umfassend ein optisches System (200) zum Abbilden des Beleuchtungssystems (100) auf das Untersuchungssystem (300), derart, dass auf jede Teststelle (T) des Teilarrays zumindest eine ihr zugeordnete Beleuchtungsquelle (B) abbildbar ist.
- 25 3. Vorrichtung nach Anspruch 1, bei der das Beleuchtungssystem (100) im wesentlichen parallel zu dem Untersuchungssystem (300) und in so geringem Abstand von diesem angeordnet ist, dass die von jeder einer Teststelle (T) zugeordneten Beleuchtungsquelle (B) emittierte Strahlung im wesentlichen nur eine Teststelle beleuchtet.
- 30 4. Vorrichtung nach einem der vorigen Ansprüche, bei der das Beleuchtungssystem (100) ein Beleuchtungselement (150,160) umfasst, ausgewählt aus der Gruppe

- 26 -

- bestehend aus einer Elektronenstrahlröhre, einem LCD-Anzeigenelement, einem TFT-LCD-Anzeigenelement, einem Feldemissions-Anzeigenelement, einem Elektrolumineszenz-Anzeigenelement, einem Plasmabildschirm, einem Polymer-Anzeigenelement, einem LED-Array, einem beleuchteten Flächenlichtmodulator (SLM), insbesondere einem mikromechanischen Spiegelarray (DMD), einer Vakuumfluoreszenzanzeige (VFD), einem Laserarray und einem Videoprojektor.
- 5
5. Vorrichtung nach einem der vorigen Ansprüche, bei der die Teststellen (T) auf zumindest einer leitfähigen Oberfläche angeordnet sind, und bei der das Detektionssystem (400) ein Messgerät (410) zur Bestimmung der elektrischen Kommunikation zwischen jeder Teststelle und der leitfähigen Oberfläche, auf der sie angeordnet ist, umfasst.
- 10
6. Vorrichtung nach Anspruch 5, bei der das Messgerät (410) zur Bestimmung der elektrischen Kommunikation zwischen den Teststellen und der leitfähigen Oberfläche ein Strom-, Ladungs-, Spannungs-, Potentialmessgerät, ein Cyclovoltametrie-Gerät, ein Amperometrie-Gerät oder ein Leitfähigkeitsmessgerät ist.
- 15
7. Vorrichtung nach einem der vorigen Ansprüche, bei der das Detektionssystem (400) einen optischen Detektor (450) zum optischen Nachweis einer lichtinduzierten Reaktion des Untersuchungssystems (300), insbesondere zum Nachweis von aus dem Untersuchungssystem emittiertem Licht, umfasst.
- 20
8. Vorrichtung nach Anspruch 7, bei der der optische Detektor (450) ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus einem CCD, einem intensified CCD, einer CMOS-Kamera, einem Photodioden-Array, einem Phototransistor-Array und einem oder mehreren Photomultipliern.
- 25
9. Vorrichtung nach einem der vorigen Ansprüche, bei der das Teilarray von Teststellen (T) das gesamte Teststellenarray umfasst.
- 30

- 27 -

10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, bei der das Teilarray von Teststellen (T) nur eine Teilmenge der Teststellen auf dem Untersuchungssystem (300) enthält und die zusätzlich Bewegungsmittel umfasst, die eine relative Bewegung zwischen Beleuchtungssystem und Untersuchungssystem ermöglichen, insbesondere einen Verschiebetisch oder einen beweglichen Umlenkspiegel.

11. Vorrichtung nach einem der vorigen Ansprüche, die weiter ein Datenverarbeitungssystem zum Speichern, Auswerten und Darstellen der nachgewiesenen Reaktionen umfasst.

12. Verfahren zum Nachweis von organischen Molekülen, insbesondere von Biomolekülen und Polymeren, in einer Probensubstanz, mit folgenden Verfahrensschritten:

- Bereitstellen eines Untersuchungssystem (300) aus einem Array von Teststellen (T), wobei jede Teststelle spezifische Sondenmoleküle (320) aufweist;
- Bereitstellen eines Beleuchtungssystem (100) zur optischen Beleuchtung des Arrays von Teststellen, wobei das Beleuchtungssystem ein Array von getrennt ansteuerbaren Beleuchtungsquellen (B) umfasst, die so angeordnet sind, dass jeder Teststelle (T) eines Teilarrays des Untersuchungssystems (300) zumindest eine, im wesentlichen nur sie beleuchtende Beleuchtungsquelle zugeordnet ist;
- Zuführen der Probensubstanz zu dem Untersuchungssystem (300);
- Beleuchten der Teststellen (T) durch Ansteuerung der ihnen jeweils zugeordneten Beleuchtungsquellen (B) nach einem vorgewählten Schema; und
- Identifizieren solcher Teststellen (T), deren Sondenmoleküle (320) mit den nachzuweisenden organischen Molekülen (350) wechselwirken.

13. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem die Teststellen (T), deren Sondenmoleküle (320) mit den nachzuweisenden organischen Molekülen (350) wechselwirken,

- 28 -

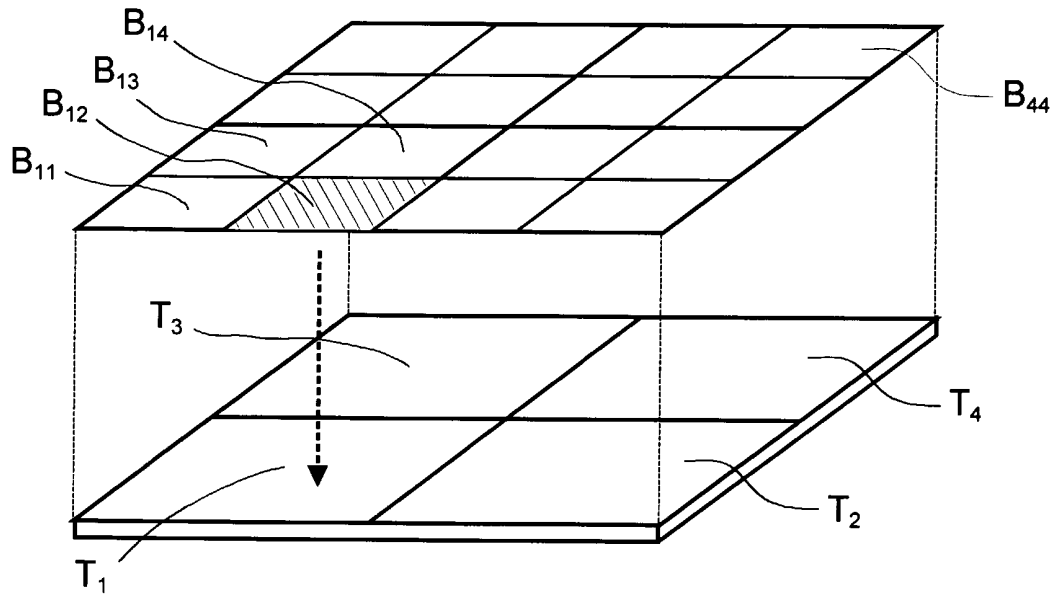
durch ein elektrochemisches Verfahren, insbesondere durch eine Strom-, Ladungs-, Spannungs-, Potentialmessung, cyclische Voltametrie, Amperometrie, oder eine Leitfähigkeitsmessung, identifiziert werden.

- 5 14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, bei dem die Teststellen (T) auf zumindest einer leitfähigen Oberfläche angeordnet sind und die Teststellen, an denen eine Reaktion zwischen den Sondenmolekülen (320) und den nachzuweisenden organischen Molekülen (350) stattgefunden hat, durch eine Bestimmung der elektrischen Kommunikation zwischen den Teststellen und der leitfähigen  
10 Oberfläche identifiziert werden.
- 15 15. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem die Teststellen (T), deren Sondenmoleküle (320) mit den nachzuweisenden organischen Molekülen (350) wechselwirken, durch ein optisches Verfahren, insbesondere durch Detektion von Lumineszenz, identifiziert werden.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 15, bei dem mehrere Teststellen (T) gleichzeitig beleuchtet und auf ihre lichtinduzierte Reaktion geprüft werden.
- 20 17. Verfahren nach Anspruch 16, bei dem das Schema zur Ansteuerung der Beleuchtungsquellen dadurch auf die Wahrscheinlichkeit der Wechselwirkung zwischen den Sondenmolekülen (320) der jeweiligen Teststelle (T) und den nachzuweisenden organischen Molekülen (350) abgestimmt wird, dass bei geringer Wechselwirkungswahrscheinlichkeit viele Teststellen (T) gleichzeitig  
25 beleuchtet werden und bei hoher Wechselwirkungswahrscheinlichkeit nur eine oder wenige Teststellen gleichzeitig beleuchtet werden.
- 30 18. Verfahren nach Anspruch 16 oder 17, bei dem das Schema zur Ansteuerung der Beleuchtungsquellen so gewählt wird, dass keine benachbarten Teststellen (T) gleichzeitig beleuchtet werden und/oder die Abstände zwischen gleichzeitig beleuchteten Teststellen möglichst groß sind.

- 29 -

19. Verfahren einem der Ansprüche 12 bis 18, bei dem die Teststellen (T) periodisch beleuchtet werden und die Identifizierung der Reaktion mit Hilfe frequenz- oder phasenspezifischer Signalverarbeitung erfolgt.
- 5 20. Verfahren nach Anspruch 16, 17 oder 18, bei dem verschiedene Teststellen (T) periodisch mit unterschiedlichen Frequenzen oder Phasen beleuchtet werden und die Identifizierung der Reaktion mit Hilfe frequenz- oder phasenspezifischer Signalverarbeitung erfolgt.
- 10 21. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 20, bei dem die detektierten Signale mittels elektronischer Datenverarbeitung ausgewertet werden, insbesondere, wobei Korrekturen mittels für die Vorrichtung charakteristische Kenngrößen vornehmbar sind.
- 15 22. Verfahren einem der Ansprüche 12 bis 21, bei dem das Teilarray von Teststellen T das gesamte Teststellenarray umfasst.
- 20 23. Verfahren einem der Ansprüche 12 bis 21, bei dem das Teilarray von Teststellen T nur eine Teilmenge der Teststellen auf dem Untersuchungssystem (300) enthält und bei dem durch eine relative Bewegung zwischen Beleuchtungssystem (100) und Untersuchungssystem (300) sukzessive alle Teststellen des Untersuchungssystems beleuchtet und auf deren lichtinduzierte Reaktion überprüft werden.

Fig. 1





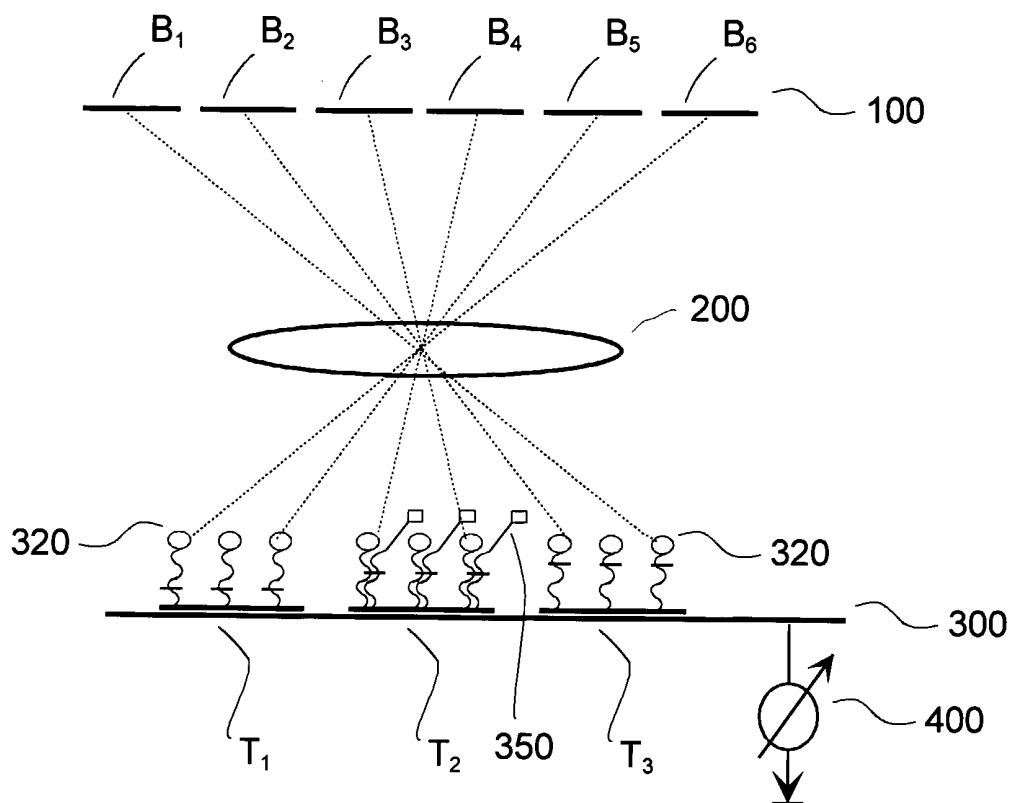


Fig. 2

Fig. 3A

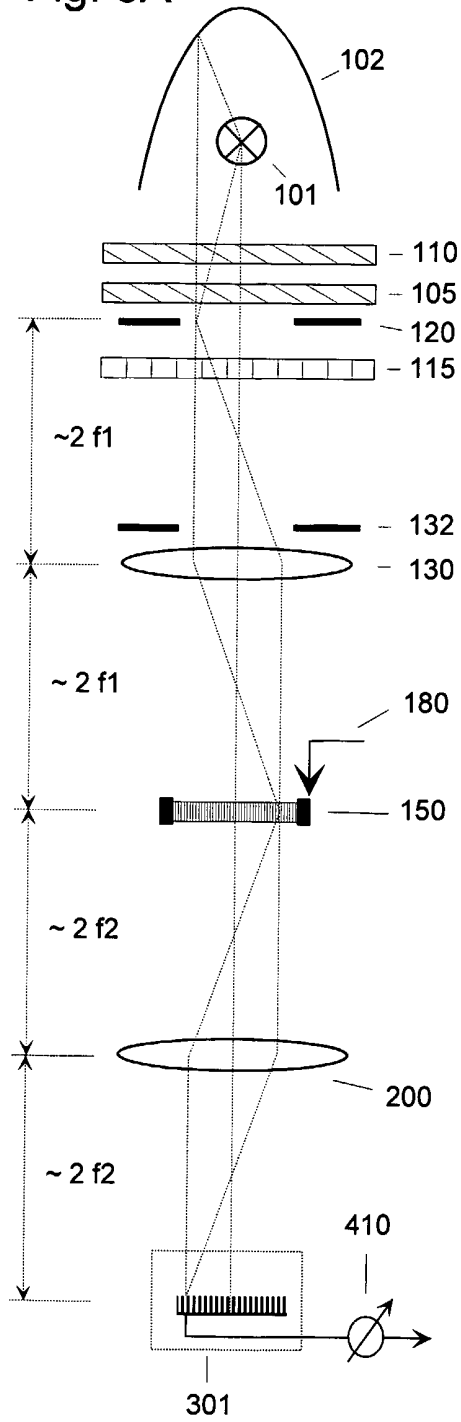


Fig. 3B

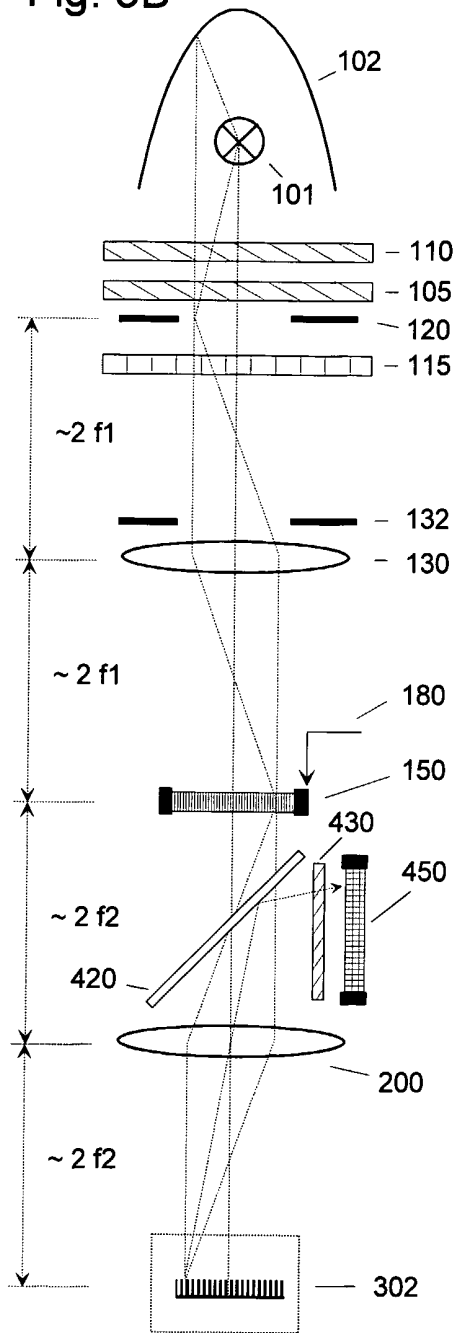


Fig. 3C

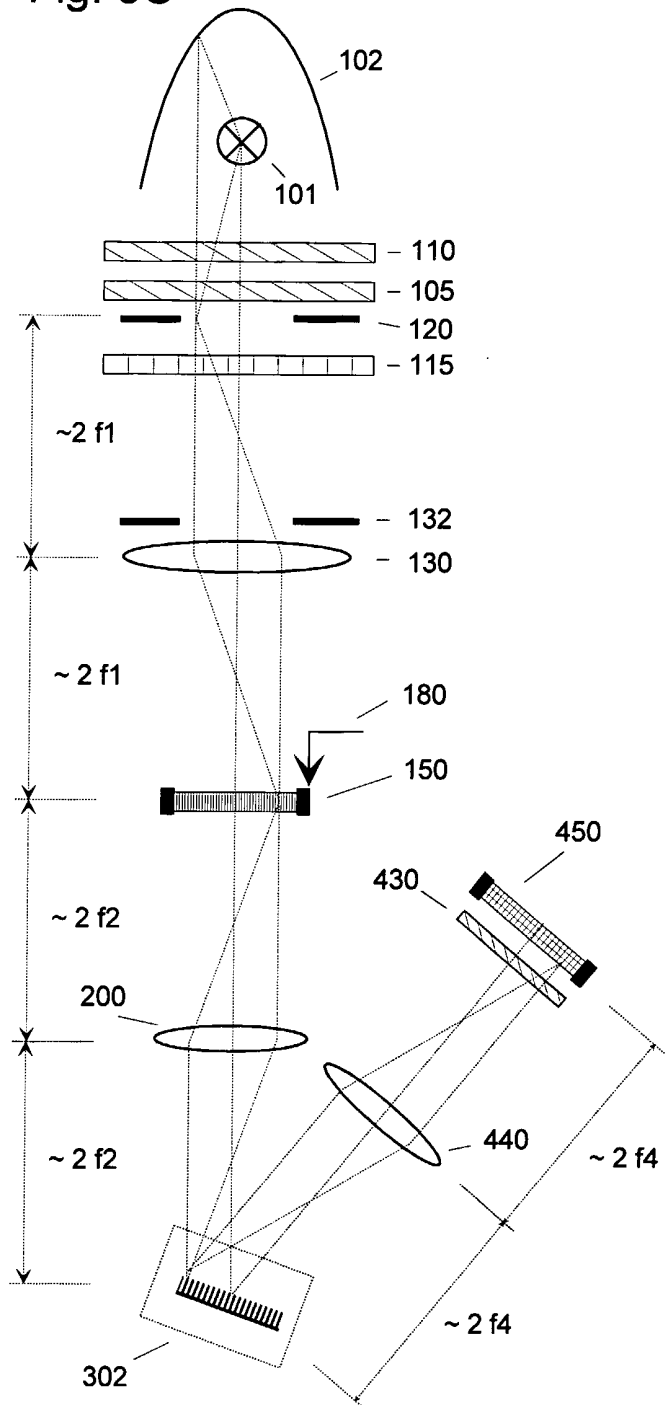


Fig. 3D

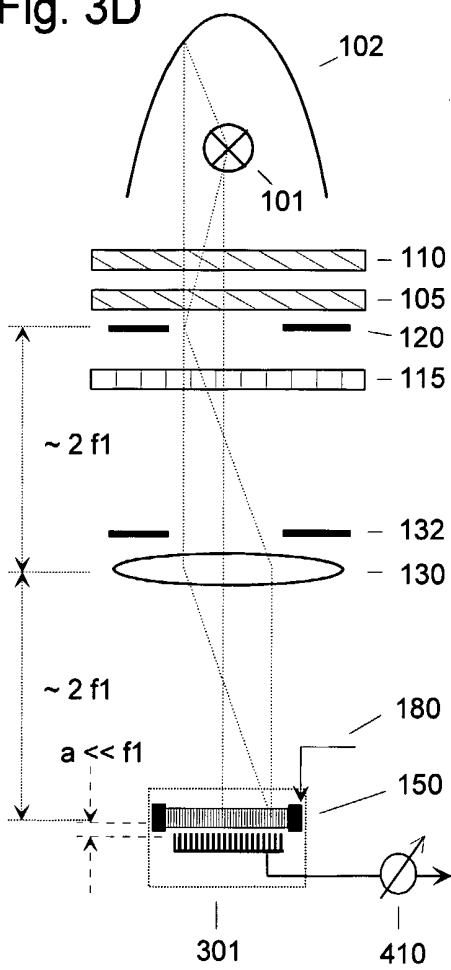


Fig. 3E

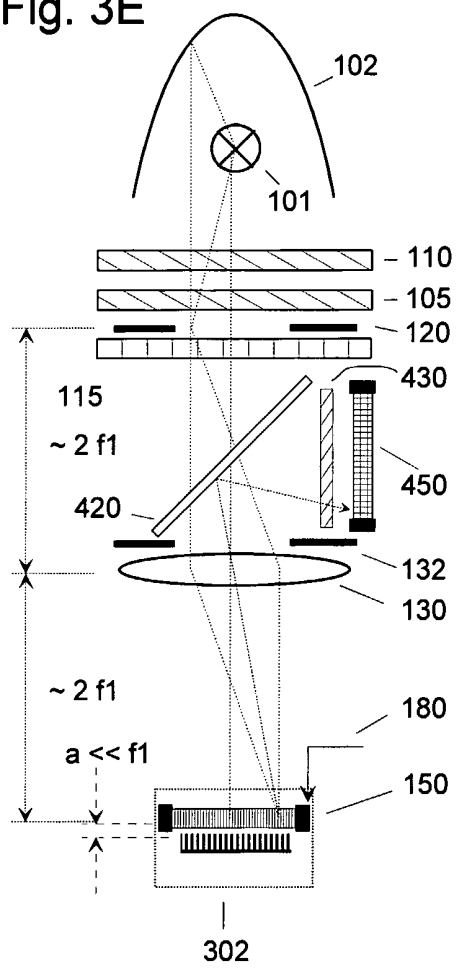


Fig. 4A

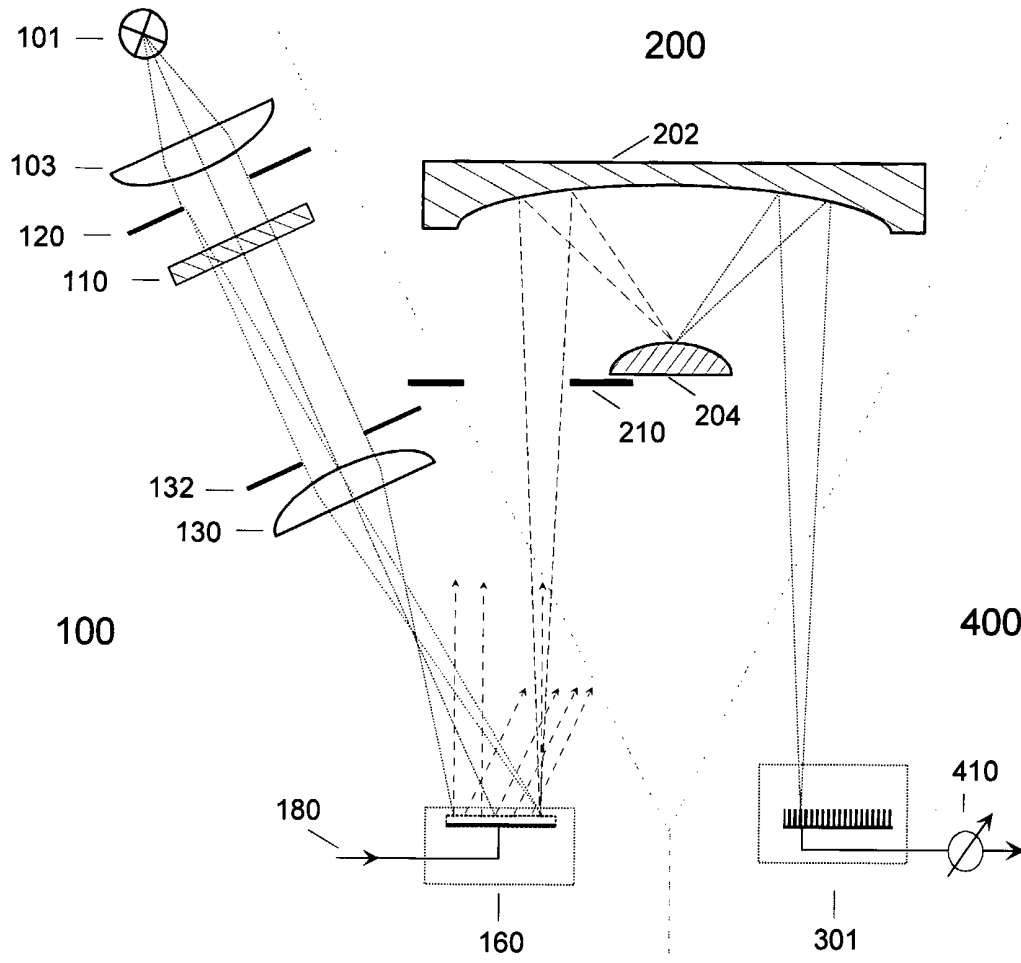


Fig. 4B

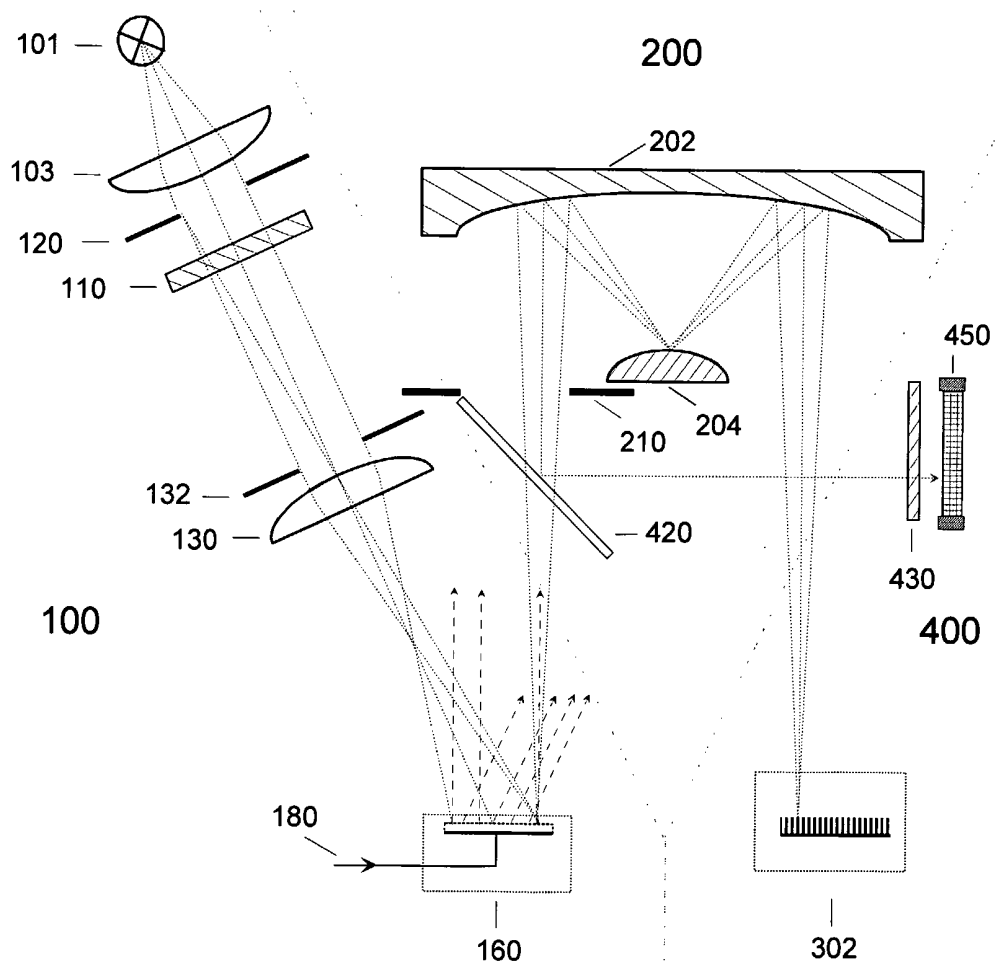


Fig. 4C

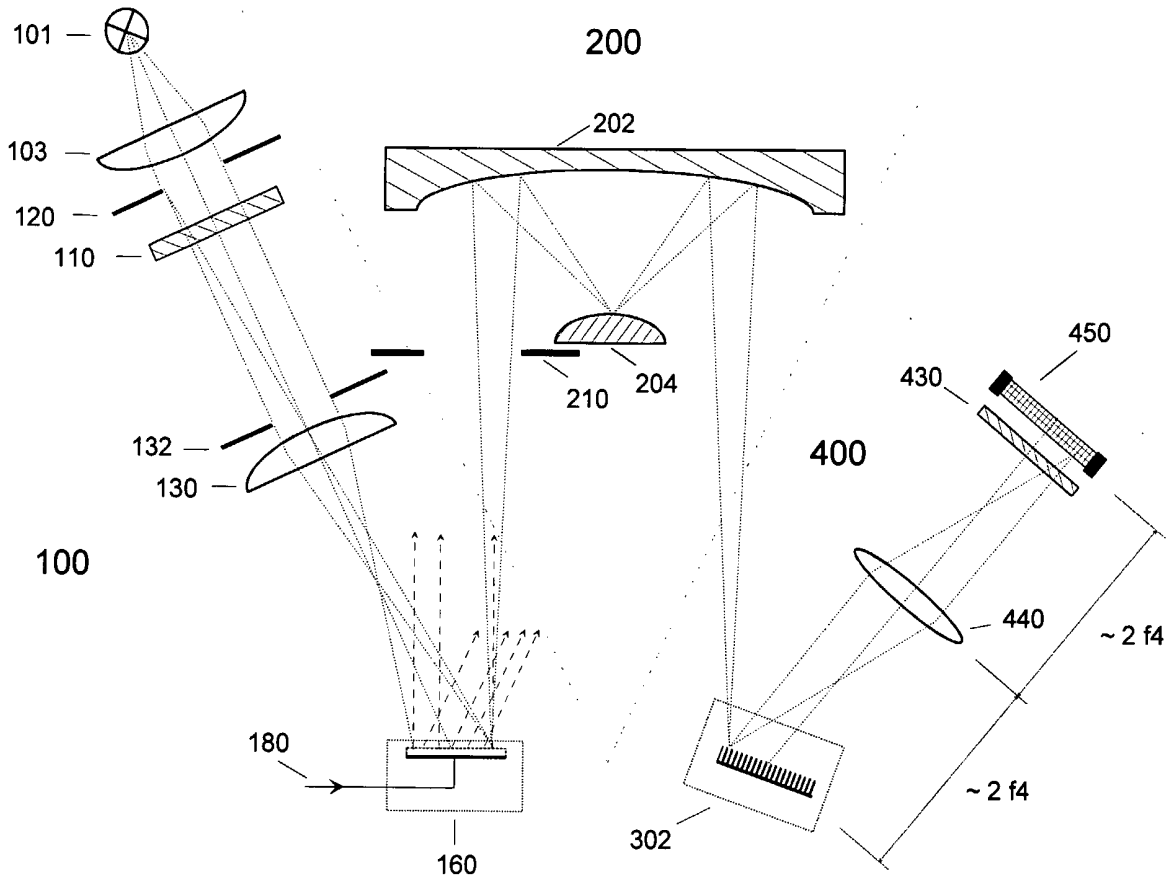


Fig. 5A

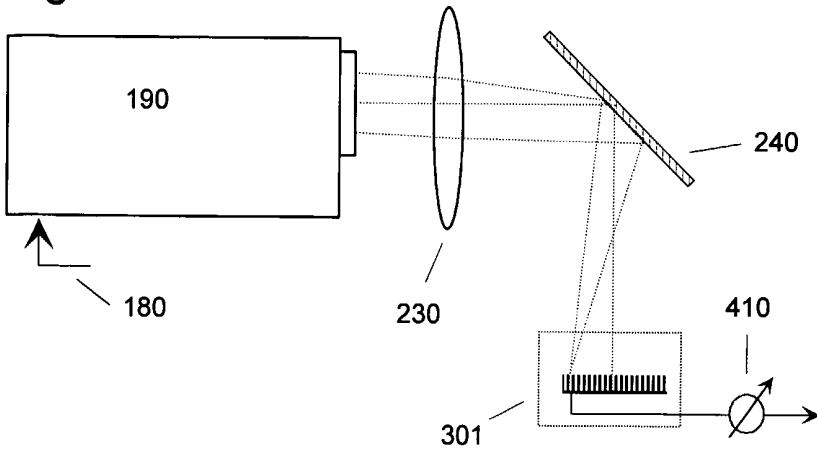


Fig. 5B

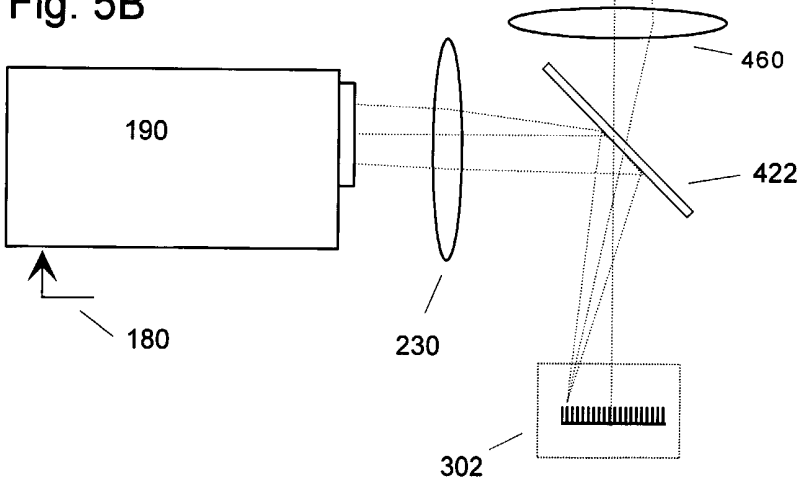
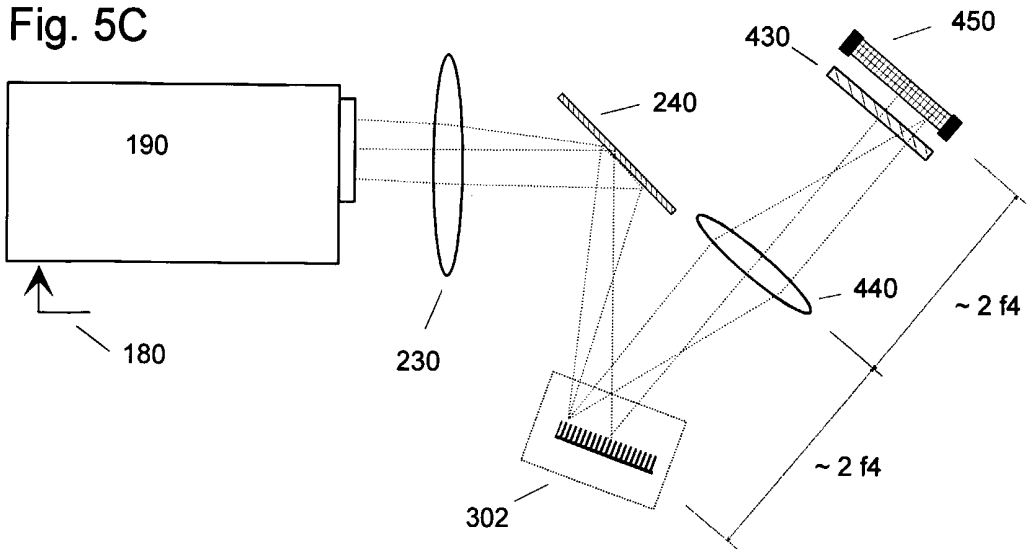


Fig. 5C





## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/DE 01/00571

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 IPC 7 G01N21/64 G01N27/26 B01J19/00

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 B01J

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)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No.          |
|------------|---|--------------------------------|
| X          | WO 00 13784 A (YU HUINAN ;MOTOROLA INC<br>(US)) 16 March 2000 (2000-03-16)<br><br>page 7, line 6 -page 8, line 20<br>page 10, line 24 -page 11, line 16<br>page 13, line 10 -page 14, line 16;<br>figures 1-3 | 1-7,<br>9-16,<br>18-23         |
| X          | US 5 936 730 A (YU HUINAN ET AL)<br>10 August 1999 (1999-08-10)<br><br>column 3, line 62 -column 4, line 29   | 1-4,<br>6-12, 15,<br>16, 18-23 |
| A          | US 5 985 568 A (KRIHAK MICHAEL ET AL)<br>16 November 1999 (1999-11-16)<br>column 3, line 59 -column 4, line 14;<br>figure 1   | 1-3                            |
|            | ---<br>-/--   |                                |

 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

20 July 2001

Date of mailing of the international search report

27/07/2001

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

Tabellion, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE 01/00571

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A          | DE 199 40 751 A (FEBIT FERRARIUS<br>BIOTECHNOLOGY) 2 March 2000 (2000-03-02)<br>column 2, line 17 - line 23<br>column 11, line 32 - line 43; figure 1<br>---  | 1,12                  |
| E          | DE 199 40 752 A (FEBIT FERRARIUS<br>BIOTECHNOLOGY) 27 April 2000 (2000-04-27)<br>column 8, line 4 - line 31<br>column 9, line 65 -column 11, line 29<br>----- | 1,2,4,7,<br>8,12,15   |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Original Application No

PCT/DE 01/00571

| Patent document<br>cited in search report |   | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 0013784                                | A | 16-03-2000          | US 6203985 B               | 20-03-2001          |
| US 5936730                                | A | 10-08-1999          | WO 0014514 A               | 16-03-2000          |
| US 5985568                                | A | 16-11-1999          | NONE                       |                     |
| DE 19940751                               | A | 02-03-2000          | AU 5625399 A               | 21-03-2000          |
|   |   |                     | AU 5742499 A               | 21-03-2000          |
|   |   |                     | AU 5971399 A               | 21-03-2000          |
|   |   |                     | DE 19940749 A              | 18-05-2000          |
|   |   |                     | DE 19940750 A              | 21-06-2000          |
|   |   |                     | DE 19940752 A              | 27-04-2000          |
|   |   |                     | DE 19940810 A              | 11-05-2000          |
|   |   |                     | WO 0012123 A               | 09-03-2000          |
|   |   |                     | WO 0013017 A               | 09-03-2000          |
|   |   |                     | WO 0013018 A               | 09-03-2000          |
|   |   |                     | EP 1115424 A               | 18-07-2001          |
|   |   |                     | AU 3157000 A               | 04-09-2000          |
|   |   |                     | WO 0049142 A               | 24-08-2000          |
| DE 19940752                               | A | 27-04-2000          | AU 3157000 A               | 04-09-2000          |
|   |   |                     | WO 0049142 A               | 24-08-2000          |
|   |   |                     | AU 5625399 A               | 21-03-2000          |
|   |   |                     | AU 5742499 A               | 21-03-2000          |
|   |   |                     | AU 5971399 A               | 21-03-2000          |
|   |   |                     | DE 19940749 A              | 18-05-2000          |
|   |   |                     | DE 19940750 A              | 21-06-2000          |
|   |   |                     | DE 19940751 A              | 02-03-2000          |
|   |   |                     | DE 19940810 A              | 11-05-2000          |
|   |   |                     | WO 0012123 A               | 09-03-2000          |
|   |   |                     | WO 0013017 A               | 09-03-2000          |
|   |   |                     | WO 0013018 A               | 09-03-2000          |
|   |   |                     | EP 1115424 A               | 18-07-2001          |

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/00571

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
 IPK 7 G01N21/64 G01N27/26 B01J19/00

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

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 7 G01N B01J

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)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr.             |
|------------|---|--------------------------------|
| X          | WO 00 13784 A (YU HUINAN ;MOTOROLA INC (US)) 16. März 2000 (2000-03-16)<br><br>Seite 7, Zeile 6 -Seite 8, Zeile 20<br>Seite 10, Zeile 24 -Seite 11, Zeile 16<br>Seite 13, Zeile 10 -Seite 14, Zeile 16;<br>Abbildungen 1-3<br>--- | 1-7,<br>9-16,<br>18-23         |
| X          | US 5 936 730 A (YU HUINAN ET AL)<br>10. August 1999 (1999-08-10)<br><br>Spalte 3, Zeile 62 -Spalte 4, Zeile 29<br>---   | 1-4,<br>6-12, 15,<br>16, 18-23 |
| A          | US 5 985 568 A (KRIHAK MICHAEL ET AL)<br>16. November 1999 (1999-11-16)<br>Spalte 3, Zeile 59 -Spalte 4, Zeile 14;<br>Abbildung 1<br>---  | 1-3                            |
|            | -/--  |                                |

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 bedeutsam 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

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. Juli 2001

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

27/07/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Tabellion, M

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/00571

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie <sup>a</sup> | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr.  |
|------------------------|--|---------------------|
| A                      | DE 199 40 751 A (FEBIT FERRARIUS<br>BIOTECHNOLOGY) 2. März 2000 (2000-03-02)<br>Spalte 2, Zeile 17 - Zeile 23<br>Spalte 11, Zeile 32 - Zeile 43; Abbildung<br>1<br>--- | 1,12                |
| E                      | DE 199 40 752 A (FEBIT FERRARIUS<br>BIOTECHNOLOGY) 27. April 2000 (2000-04-27)<br>Spalte 8, Zeile 4 - Zeile 31<br>Spalte 9, Zeile 65 -Spalte 11, Zeile 29<br>-----     | 1,2,4,7,<br>8,12,15 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE 01/00571

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 0013784 A                                       | 16-03-2000                    | US 6203985 B                      | 20-03-2001                    |
| US 5936730 A                                       | 10-08-1999                    | WO 0014514 A                      | 16-03-2000                    |
| US 5985568 A                                       | 16-11-1999                    | KEINE                             |                               |
| DE 19940751 A                                      | 02-03-2000                    | AU 5625399 A                      | 21-03-2000                    |
|  |                               | AU 5742499 A                      | 21-03-2000                    |
|  |                               | AU 5971399 A                      | 21-03-2000                    |
|  |                               | DE 19940749 A                     | 18-05-2000                    |
|  |                               | DE 19940750 A                     | 21-06-2000                    |
|  |                               | DE 19940752 A                     | 27-04-2000                    |
|  |                               | DE 19940810 A                     | 11-05-2000                    |
|  |                               | WO 0012123 A                      | 09-03-2000                    |
|  |                               | WO 0013017 A                      | 09-03-2000                    |
|  |                               | WO 0013018 A                      | 09-03-2000                    |
|  |                               | EP 1115424 A                      | 18-07-2001                    |
|  |                               | AU 3157000 A                      | 04-09-2000                    |
|  |                               | WO 0049142 A                      | 24-08-2000                    |
| DE 19940752 A                                      | 27-04-2000                    | AU 3157000 A                      | 04-09-2000                    |
|  |                               | WO 0049142 A                      | 24-08-2000                    |
|  |                               | AU 5625399 A                      | 21-03-2000                    |
|  |                               | AU 5742499 A                      | 21-03-2000                    |
|  |                               | AU 5971399 A                      | 21-03-2000                    |
|  |                               | DE 19940749 A                     | 18-05-2000                    |
|  |                               | DE 19940750 A                     | 21-06-2000                    |
|  |                               | DE 19940751 A                     | 02-03-2000                    |
|  |                               | DE 19940810 A                     | 11-05-2000                    |
|  |                               | WO 0012123 A                      | 09-03-2000                    |
|  |                               | WO 0013017 A                      | 09-03-2000                    |
|  |                               | WO 0013018 A                      | 09-03-2000                    |
|  |                               | EP 1115424 A                      | 18-07-2001                    |