

(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. November 2003 (20.11.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/096018 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 33/543, C12Q 1/68
- (74) Gemeinsamer Vertreter: ZEPTOSENS AG; Benkenstrasse 254, CH-4108 Witterswil (CH).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/04717
- (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, 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, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (22) Internationales Anmeldedatum:
6. Mai 2003 (06.05.2003)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
791/02 13. Mai 2002 (13.05.2002) CH
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): ZEPTOSENS AG [CH/CH]; Benkenstrasse 254, CH-4108 Witterswil (CH).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): DUVENECK, Gert, L. [DE/DE]; Ezmattenweg 34, 79189 Bad Krozingen (DE). OROSZLAN, Peter [HU/CH]; Wielandplatz 10, CH-4054 Basel (CH). PAWLAK, Michael [DE/DE]; Andelsbachstrasse 5, 79275 Laufenburg (DE).
- Veröffentlicht:
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- 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.

(54) Title: KIT FOR ASSAY DEVELOPMENT AND SERIAL ANALYSIS

(54) Bezeichnung: KIT ZUR ASSAY-ENTWICKLUNG UND FÜR SERIEN-ANALYSEN

(57) Abstract: The invention relates to a kit for assay development and for carrying out a plurality of analyses, comprising: a carrier substrate and a placement body jointly forming an arrangement of a plurality of sample containers, consisting of said carrier substrate as a base plate, in addition to a plurality of immobilized bonding partners for the detection of one or several analytes in one or several samples in a bioaffinity assay, said bonding partners being arranged and immobilized on the carrier substrate inside the sample containers in respective two-dimensional arrays of discrete measuring areas, wherein respectively at least one measuring area of an array or a partial surface inside an array or sample container is provided on the carrier substrate for referencing purposes, and the surface density of the immobilized bonding partners, in relation to the surface of the measuring areas, is less than the surface density of a full, i.e. extensive, mono layer of said bonding partners. The composition of the inventive kit is such that, surprisingly, it enables a full series of measurements to be carried out on an individual carrier substrate. The invention also relates to an analytical system wherein the inventive kit is used, and to analytical detection methods based thereon and the use thereof.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft einen Kit zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen, umfassend - ein Trägersubstrat und - einen Aufsatzkörper, welche zusammen eine Anordnung einer Vielzahl von Probenbehältnissen, mit besagtem Trägersubstrat als Grundplatte, bilden, sowie - eine Vielzahl immobilisierter Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben in einem Bioaffinitätsassay, wobei besagte Bindungspartner auf dem Trägersubstrat innerhalb der Probenbehältnisse jeweils in zweidimensionalen Arrays von diskreten Messbereichen angeordnet immobilisiert sind, wobei - jeweils mindestens ein Messbereich eines Arrays oder eine Teilfläche innerhalb eines Arrays bzw. Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat zu einer Referenzierung vorgesehen ist und - die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, weniger als der Oberflächendichte einer vollständigen, d.h. flächenhaften, Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht. Diese Zusammensetzung des erfindungsgemässen Kits ermöglicht überraschenderweise die Durchführung kompletter Messreihen auf einem einzigen Trägersubstrat. Die Erfindung betrifft auch ein analytisches System, in dem ein erfindungsgemässer Kit verwendet wird, sowie darauf basierende analytische Nachweisverfahren und deren Verwendung.



WO 03/096018 A2

Kit zur Assay-Entwicklung und für Serien-Analysen

Die Erfindung betrifft einen Kit zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen, umfassend

- ein Trägersubstrat und
- einen Aufsatzkörper,

welche zusammen eine Anordnung einer Vielzahl von Probenbehältnissen, mit besagtem Trägersubstrat als Grundplatte, bilden, sowie

- eine Vielzahl immobilisierter Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben in einem Bioaffinitätsassay, wobei besagte Bindungspartner auf dem Trägersubstrat innerhalb der Probenbehältnisse jeweils in zweidimensionalen Arrays von diskreten Messbereichen angeordnet immobilisiert sind, wobei

- jeweils mindestens ein Messbereich eines Arrays oder eine Teilfläche innerhalb eines Arrays bzw. Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat zu einer Referenzierung vorgesehen ist und
- die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, weniger als der Oberflächendichte einer vollständigen, d.h. flächenhaften, Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht.

Diese Zusammensetzung des erfindungsgemässen Kits ermöglicht überraschenderweise die Durchführung kompletter Messreihen auf einem einzigen Trägersubstrat.

Die Erfindung betrifft auch ein analytisches System, in dem ein erfindungsgemässer Kit verwendet wird, sowie darauf basierende analytische Nachweisverfahren und deren Verwendung.

Zur Bestimmung einer Vielzahl von Analyten oder Untersuchung einer Vielzahl von Proben sind gegenwärtig, vor allem in industriellen Analytiklabors, Verfahren verbreitet, in denen in sogenannten Mikrotiterplatten der Nachweis unterschiedlicher Analyten in diskreten Probenbehältnissen oder "Wells" dieser Platten erfolgt. Am weitesten verbreitet sind dabei Platten mit einem Raster von 8 x 12 Wells auf einer Grundfläche von typischerweise ca. 8 cm x 12 cm, wobei zur Füllung eines einzelnen Wells ein Volumen von einigen hundert Mikrolitern erforderlich ist. Für zahlreiche Anwendungen wäre es jedoch wünschenswert, mehrere Analyten in einem einzigen Probenbehältnis, unter Einsatz eines möglichst kleinen Probenvolumens, gleichzeitig zu bestimmen.

In der US-P 5747274 werden Messanordnungen und Verfahren zur Früherkennung eines Herzinfarkts, durch die Bestimmung von mindestens drei Herzinfarktmarkern beschrieben, wobei die Bestimmung dieser Marker in individuellen oder in einem gemeinsamen Probenbehältnis erfolgen kann, wobei im letzteren Falle, der gegebenen Beschreibung folgend, ein einziges Probenbehältnis als ein durchgehender Flusskanal ausgebildet ist, dessen eine Begrenzungsfläche beispielsweise eine Membran bildet, auf der Antikörper für die drei verschiedenen Marker immobilisiert sind. Es gibt jedoch keine Hinweise auf eine Bereitstellung von mehreren derartigen Probenbehältnissen oder Flusskanälen auf einem gemeinsamen Träger. Ausserdem werden keine geometrischen Angaben über die Grössen der Messflächen gegeben.

In den WO 84/01031, US-P 5807755, US-P 5837,551 und US-P 5432,099 wird die Immobilisierung für den Analyten spezifischer Erkennungselemente in Form kleiner "Spots" mit teilweise deutlich unter 1 mm² Fläche auf festen Trägern vorgeschlagen, um durch Bindung eines nur kleinen Teils vorhandener Analytmoleküle eine nur von der Inkubationszeit abhängige, aber – in Abwesenheit eines kontinuierlichen Flusses - vom absoluten Probenvolumen im wesentlichen unabhängige Konzentrationsbestimmung des Analyten vornehmen zu können. Die in den zugehörigen Ausführungsbeispielen beschriebenen Messanordnungen beruhen auf Fluoreszenznachweisen in konventionellen Mikrotiterplatten. Dabei werden auch Anordnungen beschrieben, in denen Spots von bis zu drei unterschiedlichen fluoreszenzmarkierten Antikörpern in einem gemeinsamen Mikrotiterplattenwell ausgemessen werden. Den in diesen Patentschriften dargelegten theoretischen Überlegungen folgend, wäre eine Minimierung der Spotgrösse

wünschenswert. Limitierend wirke jedoch die minimale Signalhöhe, die noch vom Untergrundsignal unterschieden werden könne.

In den genannten Patentschriften werden jedoch keine Hinweise auf eine Referenzierung der gemessenen Signale innerhalb von Arrays gegeben.

In der WO 98/22799 werden neben einer Vielzahl weiterer Vorrichtungen für die Ausgestaltung von Probenbehältnissen für Messanordnungen zur Bestimmung der im evaneszenten Feld eines planaren Wellenleiters angeregten Lumineszenz auch solche Vorrichtungen vorgeschlagen, welche der Form bekannter Mikrotiterplatten entsprechen. Die Bestimmung mehrerer Analyten durch Bindung an verschiedene innerhalb eines einzelnen Probenbehältnisses immobilisierte Erkennungselemente ist jedoch hier nicht vorgesehen.

In der US 5525466 und US 5738992 wird ein optischer Sensor, basierend auf Fluoreszenzanregung im evaneszenten Feld eines selbsttragenden Multimode-Wellenleiters, vorzugsweise faseroptischer Art, beschrieben. Einkopplung von Anregungslicht und Auskopplung von in den Multimode-Wellenleiter rückgekoppeltem Fluoreszenzlicht erfolgen über Stirnflächenein- und -auskopplung. Das dabei detektierte Fluoreszenzsignal zum Analytnachweis ergibt sich aufgrund des Funktionsprinzips solcher Multimode-Wellenleiter als ein einziger integraler Wert für die ganze mit der Probe wechselwirkende Fläche. Vorwiegend zur Normalisierung der Signale, beispielweise zur Berücksichtigung von signalverändernden Oberflächendefekten, sind auf der Sensoroberfläche neben den biochemischen oder biologischen Erkennungselementen zur spezifischen Erkennung und Bindung eines nachzuweisenden Analyten fluoreszente Referenzmaterialien co-immobilisiert. Aufgrund des zugrunde liegenden Sensorprinzips ist jedoch keine ortsaufgelöste, sondern nur eine auf den einzelnen, integralen Messwert wirkende Normalisierung möglich. Folglich kann auch der Nachweis unterschiedlicher Analyten nur mittels Verwendung von Labeln unterschiedlicher Anregungswellenlängen oder sequentiell, nach Entfernung vorangehend gebundener Analyten, erfolgen. Aus diesen Gründen erscheinen diese Anordnungen, zusammen mit dem beschriebenen Referenzierungsverfahren, für den gleichzeitigen Nachweis einer Vielzahl von Analyten gar nicht oder nur wenig geeignet.

In der WO 97/35181 werden Verfahren zur gleichzeitigen Bestimmung eines oder mehrerer Analyten beschrieben, indem in einem im Wellenleiter ausgebildeten "Well" Patches mit unterschiedlichen Erkennungselementen aufgebracht sind, welche mit einer einen oder mehrere Analyten enthaltenden Probenlösung kontaktiert werden. Zu Kalibrationszwecken werden gleichzeitig Lösungen mit definierten Analytkonzentrationen in weitere Wells mit gleichartigen Patches gegeben. Als Beispiel werden je 3 Wells (zur Messung mit Kalibrationslösungen niedriger und hoher Analytkonzentration sowie der aktuellen Probe) mit diskreten und von Patch zu Patch verschiedenen immobilisierten Erkennungselementen zur gleichzeitigen Bestimmung mehrerer Analyten vorgestellt. Hinweise auf Referenzierungsmessungen, beispielsweise zur Bestimmung der in den Messbereichen verfügbaren Anregungslichtintensität, werden jedoch auch hier nicht gegeben.

In Analytical Chemistry, Vol. 71 (1999), 4344 – 4352 wird ein Multianalyt-Immunoassay auf einem Silicium-Nitrid-Wellenleiter vorgestellt. Es werden bis zu drei Analyten gleichzeitig, auf drei kanalförmig ausgebildeten Erkennungsbereichen (Messbereichen) mit jeweils unterschiedlichen biologischen Erkennungselementen, beschrieben. Analyten und Tracer-Antikörper werden als Mischung in eine die drei Messfelder überdeckende Probenzelle gegeben. Der Background wird jeweils zuvor mit einer spezifisch dafür hergestellten Lösung ohne Analyt gemessen. Aus der Beschreibung ist nicht ersichtlich, ob die Background-Bestimmung orts aufgelöst oder summarisch für die verschiedenen Messbereiche durchgeführt wird. Da eine Regenerierung der Sensorplattform nicht vorgenommen wird, müssen zur Erstellung einer Kalibrationskurve eine Vielzahl von Einzelmessungen mit immer wieder neuen Sensorplattformen durchgeführt werden. Dieses durch die nur geringe Anzahl von Messfeldern auf einer Sensorplattform sowie durch das Assay-Design bedingte Vorgehen ist als nachteilig anzusehen, da die Genauigkeit durch die Verwendung unterschiedlicher Sensorplattformen verringert wird und sich zusätzlich die Dauer des Verfahrens deutlich verlängert.

In Analytical Chemistry, Vol. 71 (1999), 3846 – 3852 wird ebenfalls ein Multianalyt-Assay zur gleichzeitigen Bestimmung dreier verschiedener Analyten vorgestellt. Als Beispiel gleichzeitig zu bestimmender Analyten aus den Gruppen Bakterien, Viren und

Proteine werden Bacillus globigii, MS2-Bakteriophagen und "Staphylococcal enderotoxin B" benutzt, wobei in jeweils zwei zueinander parallelen Reihen (Kanälen) Antikörper gegen diese Analyten auf einem als (selbsttragendem Multimode-) Wellenleiter dienendem Glasplättchen immobilisiert wurden. In dem nachfolgend beschriebenen Multianalyt-Assay wird eine Flusszelle mit zu den immobilisierten Reihen von Erkennungselementen gekreuzten Fliesskanälen auf das Glasplättchen aufgesetzt. Die Sandwich-Immunoassays werden unter sequentieller Zugabe von Waschlösung (Puffer), Probe mit einem oder mehreren Analyten, Waschlösung (Puffer), Tracer-Antikörper (einzeln oder als Cocktail) und Waschlösung (Puffer) durchgeführt. Die lokal gemessenen Fluoreszenzintensitäten werden korrigiert mittels Subtraktion des neben den Messfeldern beobachteten Hintergrundsignals. Hinweise auf eine Berücksichtigung lokaler Variationen der Anregungslichtintensität werden auch hier nicht gegeben. Auch diese Anordnung ermöglicht jedoch nicht, eine ganze Messreihe zur gleichzeitigen Bestimmung mehrerer Analyten, zusammen mit den notwendigen Kalibrationen, durchzuführen, sondern erfordert dafür entweder die Verwendung mehrerer verschiedener Sensorplattformen oder repetitive, sequentielle Messungen auf einer Plattform mit zwischenzeitlicher Regenerierung, was besonders im Falle von Immunoassays in vielen Fällen nur in begrenztem Umfang möglich und nur sehr zeitraubend ausführbar ist.

In der PCT/EP 00/07529 wird ein Array von Probenbehältnissen beschrieben, in denen jeweils zweidimensionale Arrays immobilisierter biologischer oder biochemischer oder synthetischer Erkennungselemente für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten innerhalb eines Arrays, auf einem optischen Wellenleiter als Träger, immobilisiert sind. Es ist auch vorgesehen, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche einer Referenzierung dienen. Hinsichtlich der Oberflächendichte der immobilisierten Erkennungselemente gibt es in dieser Anmeldeschrift jedoch ebenso wenig eine Angabe wie in der PCT/EP 00/12668, in der Arrays von Flusszellen mit darin angeordneten Messbereichen und speziellen Reservoirs zur Aufnahme austretender Flüssigkeit beschrieben sind.

In der PCT/EP 01/05995 wird ein Kit mit einer als Dünnschichtwellenleiter ausgebildeten Sensorplattform und darauf angeordneten Arrays von Messbereichen beschrieben, wobei Vorkehrungen für eine orts aufgelöste Referenzierung der in den Messbereichen

verfügbaren Anregungslichtintensität sowie optional zusätzlich für eine Kalibration eines erzeugten Lumineszenzsignals getroffen sind. Auch hier wird jedoch nicht auf die Bedeutung der Immobilisierungsdichte der Erkennungselemente zur Analytbindung eingegangen.

Der erfindungsgemässe Kit bietet dagegen die folgenden Möglichkeiten, welche die aus dem Stand der Technik bekannten Anordnungen oder Verfahren nicht in einer einzigen gemeinsamen Lösung bereitstellen:

- Gleichzeitige Bestimmung mehrerer Analyten auf einem gemeinsamen Trägersubstrat mit möglichst tiefen Nachweisgrenzen. Hierdurch werden Einflüsse der Variationen zwischen verschiedenen Trägersubstraten auf die Analyse-Resultate vermieden.
- Durchführung dieser Analysen in einer Vielzahl von Probenbehältnissen auf dem gemeinsamen Trägersubstrat, welche jeweils Arrays von Messbereichen mit immobilisierten Bindungspartnern zur Analytikbestimmung in Bioaffinitätsassays beinhalten. Dieses ermöglicht einerseits eine sehr grosse Zahl unterschiedlicher Arten von Untersuchungen, die parallel und / oder sequentiell auf einem gemeinsamen Trägersubstrat durchgeführt werden, und andererseits die gleichzeitige Bestimmung einer Vielzahl von Analyten oder Untersuchung einer Vielzahl von Proben unter gleichen Bedingungen.
- Direkte Vergleichbarkeit von Messungen in verschiedenen Probenbehältnissen auf dem gemeinsamen Trägersubstrat dadurch, dass innerhalb jedes Arrays von Messbereichen innerhalb eines Probenbehältnisses mindestens ein Messbereich für Referenzierungszwecke vorgesehen ist
- Vermeidung sterischer Behinderungen bei Bindung des Analyten oder seiner Bindungspartner in einem Bioaffinitätsassay dadurch, dass die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, weniger als die Oberflächendichte einer vollständigen, d.h. flächendeckenden, Monoschicht besagter Bindungspartner beträgt.

Die letztgenannten Eigenschaft des erfindungsgemässen Kits, die im genannten Stand der Technik grundsätzlich nicht in Betrachtung gezogen wird, ist aus folgenden Gründen von

hoher Bedeutung: Zur Erreichung möglichst tiefer Nachweisgrenzen ist es erwünscht, auf kleinem Raum möglichst viele Erkennungselemente derart zu immobilisieren, dass in dem späteren Nachweisverfahren dann möglichst viele Analytmoleküle einer Sorte gebunden werden können. Zugleich ist es erwünscht, bei der Immobilisierung die Reaktivität und biologische oder biochemische Funktionalität der Erkennungselemente in möglichst hohem Masse zu erhalten, d.h. jegliche Denaturierungserscheinungen infolge der Immobilisierung zu minimieren. Eine zu hohe Dichte der immobilisierten Erkennungselemente in den damit erzeugten Messbereichen kann ungewollt limitierend auf die maximale Anzahl von Analytmolekülen wirken, welche an die Oberfläche gebunden werden können, beispielsweise infolge sterischer Behinderung.

Erster Gegenstand der Erfindung ist ein Kit zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen, umfassend

- ein Trägersubstrat und
- einen Aufsatzkörper,

welche zusammen eine Anordnung einer Vielzahl von Probenbehältnissen, mit besagtem Trägersubstrat als Grundplatte, bilden, sowie

- eine Vielzahl immobilisierter Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben in einem Bioaffinitätsassay, wobei besagte Bindungspartner auf dem Trägersubstrat innerhalb der Probenbehältnisse jeweils in zweidimensionalen Arrays von diskreten Messbereichen angeordnet immobilisiert sind, wobei

- jeweils mindestens ein Messbereich eines Arrays oder eine Teilfläche innerhalb eines Arrays bzw. Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat zu einer Referenzierung vorgesehen ist und

die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, weniger als der Oberflächendichte einer vollständigen, d.h. flächendeckenden Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht.

Im Sinne der vorliegenden Erfindung sollen räumlich getrennte oder diskrete Messbereiche (d) durch die geschlossene Fläche definiert werden, die dort immobilisierte

Bindungspartner, zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben in einem Bioaffinitätsassay, einnehmen. Diese Flächen können dabei eine beliebige Geometrie, beispielsweise die Form von Kreisen, Rechtecken, Dreiecken, Ellipsen etc., haben.

Bei den immobilisierten Bindungspartnern kann es sich um den einen oder die mehreren Analyten selbst handeln, welche in einer nativen Probenmatrix oder in einer in einem oder mehreren Probenaufbereitungsschritten modifizierten Form der nativen Probenmatrix auf dem Trägersubstrat als Grundplatte aufgebracht sind. Beispielsweise kann es sich hierbei um Analyten aus Zellextrakten, insbesondere um Zellproteine, oder um Antikörper oder andere Proteine in Serum als nativer Matrix handeln.

Unterschiedliche derartige Messbereiche können beispielsweise verschiedene Fraktionen einer einzigen aufgetrennten Probe umfassen, oder es kann sich um eine Vielzahl unterschiedlicher, auf dem Trägersubstrat aufgetragener Proben oder um aufgetragene unterschiedliche Verdünnungen einer oder mehrerer Proben handeln. Im Falle von in Fraktionen aufgetrennten Proben kann die Auftrennung mit beliebigen bekannten Trennverfahren, wie beispielsweise Flüssig-Chromatographie (LC), HPLC, Dünnschicht-Chromatographie, Gel-Chromatographie, Kapillarelektrophorese etc. oder durch Kombination dieser Trennverfahren erfolgt sein. Das Material für die diskreten Messbereiche kann auch durch selektive Mikropräparationen, wie beispielsweise das selektive Herauslösen einzelner Zellen aus einem Zellverband durch „Laser Capture Micro Dissection“ bereitgestellt sein.

Allgemeiner kann die native Probenmatrix mit den darin nachzuweisenden Analyten aus der Gruppe stammen, welche Zellextrakte, Gewebextrakte, natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin, Speichel, Gewebeflüssigkeiten, Eigelb und Eiweiss, biologische Gewebeteile, optisch trübe Flüssigkeiten, Boden- und Pflanzenextrakte sowie Bio- und Syntheseprozessbrühen umfasst.

In einem Messbereich können mehrere, unterschiedliche Bindungspartner gleichzeitig immobilisiert sein. In dem genannten Fall, dass die nachzuweisenden Analyten selbst auf

dem Trägersubstrat immobilisiert sind, ist das Nachweisverfahren so gestaltet, dass in einem Bioaffinitätsassay biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente mit diesen immobilisierten Analyten in Kontakt gebracht werden. Insbesondere bei dieser Assay-Architektur, bei der in der Regel jeder Messbereich mehrere nachzuweisende Analyten enthält, werden zum Nachweis unterschiedlicher Analyten diese in unterschiedlichen Messbereichen mit entsprechend unterschiedlichen biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen in Kontakt gebracht. In der Regel erfolgt dieses bei dieser Assay-Architektur in unterschiedlichen Probenbehältnissen. Der Nachweis unterschiedlicher, immobilisierter Analyten kann aber auch so erfolgen, dass sequentiell ein- und demselben Probenbehältnis sequentiell unterschiedliche Erkennungselemente zugeführt werden, wobei gegebenenfalls nach einem erfolgten Analyt-Nachweisschritt der Komplex aus immobilisiertem Analyten und einem daran gebundenen Erkennungselement unter Einwirkung sogenannter chaotroper Reagentien (beispielsweise saurer oder basischer Lösungen) dissoziiert wird, bevor in einem nachfolgenden Schritt des Bioaffinitätsassays die nächste Sorte von Erkennungselementen, zum Nachweis eines anderen Analyten, zugeführt wird.

Eine andere, bevorzugte Ausführungsform eines erfindungsgemässen Kits ist dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem einen oder den mehreren immobilisierten Bindungspartnern um biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren zuzuführenden Proben handelt.

Die immobilisierten Bindungspartner können ausgewählt sein aus der Gruppe, die von Proteinen, beispielsweise mono- oder polyklonalen Antikörpern und Antikörperfragmenten, Peptiden, Enzymen, Aptameren, synthetischen Peptidstrukturen, Glycopeptiden, Oligosacchariden, Lektinen, Antigenen für Antikörper (z. B. Biotin für Streptavidin), mit zusätzlichen Bindungsstellen funktionalisierten Proteinen („Tag-Proteinen“, wie beispielsweise „Histidin-Tag-Proteinen“) und deren Komplexbildungspartnern sowie Nukleinsäuren (beispielsweise DNA, RNA, Oligonukleotiden) und Nukleinsäureanalogen (z. B. PNA) sowie deren Derivaten mit künstlichen Basen gebildet wird.

Die immobilisierten Bindungspartner können auch aus der Gruppe stammen, die von löslichen, membrangebundenen und aus einer Membran isolierten Proteinen, wie beispielsweise Rezeptoren und deren Liganden, gebildet wird.

Ausserdem kommen als immobilisierte Bindungspartner, beispielsweise für Screeningverfahren in der Pharmaforschung und Entwicklung, Verbindungen aus der Gruppe in Frage, die von Acetylenen, Alkaloiden (beispielsweise Alkaloide mit Pyridinen, Piperidinen, Tropanen, Chinolinen, Isochinolinen, Tropilidenen, Imidazolen, Indolen, Purinen, Fenantridinen enthaltenden Ringstrukturen), Alkaloidglycosiden, Aminen, Benzofuranen, Benzophenonen, Naphthochinonen, Betainen, Kohlenhydraten (z. B. Zucker-, Stärke- und Cellulosederivaten), Carbolinen, Cardenoliden, Catecholen, Chalkonen, Cumarinen, zyklischen Peptiden und Polypeptiden, Depsipeptiden, Diketopiperazinen, Diphenylethern, Flavenen, Flavonen, Isoflavanonen, Flavonoid-Alkaloiden, Furanochinolin-Alkaloiden, Gallocatechinen, Glycosiden, Antrachinonen, Flavonoiden, Lactonen, Phenolen, Hydrochinonen, Indolen, Indolochinonen, Alginsäuren, Lipiden (zum Beispiel Ölen, Wachsen und anderen Fettsäurederivaten), Macroliden, Oligopeptiden, Oligostilbenen, Peroxiden, Phenylglycosiden, Phloroglucinen, Polyethern, "Polyether-Antibiotica", Pterocarpinen, Pyranocumarinen, Pyrrolen, Quassinen, Chinolinen, Saframycinen, Terpenen (Mono-, Di-, und Triterpenen), Sesquiterpenen, Sesquiterpen-Dimeren, Sesquiterpen-Lactonen, Sesquiterpen-Chinonen, Sesterterpenen, Staurosporinen, Steroiden (wie beispielsweise Steroid-Hormonen, Sterolen, Gallensäuren), Sulfolipiden, Tanninen (z. B. Catechol und Pyrogallol), Vitaminen, ätherischen Ölen und Xanthonen (z. B. 9-Oxoxanthenon) gebildet wird.

Es wird bevorzugt, dass die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, einem Zehntel bis der Hälfte der Dichte einer vollständigen Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht.

Vorzugsweise wird eine kontrollierte Oberflächendichte immobilisierter Erkennungselemente als Bindungspartner dadurch gewährleistet, dass die Messbereiche eine Mischung der biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente, zur spezifischen Erkennung und Bindung eines oder mehrerer

Analyten aus einer zugeführten Probe, mit gegenüber diesen Analyten oder seinen Nachweisstoffen „chemisch neutralen“, d.h. diese nicht bindenden, Komponenten, vorzugsweise in einem kontrollierten Mischungsverhältnis, umfassen. Dabei wird ausserdem bevorzugt, dass die Oberflächendichte der in den diskreten Messbereichen immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente und der gegenüber den Analyten „chemisch neutralen“ Komponenten, bezogen auf die Fläche dieser Messbereiche, für beide Arten von Komponenten zusammen mindestens zwei Dritteln der Dichte einer vollständigen molekularen Monoschicht entspricht.

Vorzugsweise umfasst der erfindungsgemässe Kit zusätzlich Reagentien zu Zwecken einer Referenzierung. Diese können in immobilisierter Form, in den dafür vorgesehenen Messbereichen auf dem Trägersubstrat, vorliegen, oder auch erst im Laufe eines Bioaffinitätsassays mit den zur Referenzierung vorgesehenen Messbereichen in Kontakt gebracht werden, um dann ein gewünschtes Referenzsignal auszulösen.

Bevorzugt ist eine Vielzahl von Probenbehältnissen, als Teil eines erfindungsgemässen Kits, als ein zweidimensionales Array von Probenbehältnissen angeordnet ist.

Für die Erzeugung der Probenbehältnisse aus dem Trägersubstrat und dem Aufsatzkörper gibt es eine Vielzahl von Möglichkeiten. Das Trägersubstrat als Grundplatte und der Aufsatzkörper können reversibel oder irreversibel zusammengefügt sein. Der Aufsatzkörper kann aus einem einzigen Teil bestehen oder auch aus mehreren Teilen zusammengesetzt sein, wobei die zusammengefügten Bestandteile des Aufsatzkörpers dann vorzugsweise eine irreversibel zusammengefügte Einheit bilden.

Zur Erzeugung der Probenbehältnisse zwischen dem Trägersubstrat als Grundplatte und dem damit zusammengebrachten Aufsatzkörper können Ausnehmungen in der Grundplatte (Trägersubstrat) ausgebildet sein. Entsprechende Ausnehmungen können auch in besagtem Aufsatzkörper ausgebildet sein.

Vorzugsweise haben die Ausnehmungen zwischen dem Trägersubstrat als Grundplatte und dem Aufsatzkörper eine nur geringe Tiefe, beispielsweise zwischen 1 μm und 1000 μm ,

um die Diffusionswege bis zur Oberfläche der Grundplatte kurz zu halten. Besonders bevorzugt wird eine Tiefe zwischen 20 μm und 200 μm . Die Grundflächen der Ausnehmungen können einheitlich oder auch unterschiedlich sein und eine beliebige Geometrie haben. Beispielsweise können sie eine rechteckförmige oder polygonförmige Form haben und eine Fläche von 0.1 mm^2 bis 200 mm^2 haben. Typischerweise beträgt die Fläche zwischen 1 mm^2 und 100 mm^2 je Ausnehmung.

Vorzugsweise ist das Trägersubstrat als Grundplatte im wesentlichen planar.

Der mit dem Trägersubstrat zusammenzubringende Aufsatzkörper kann zusätzlich hilfsweise Vorkehrungen, wie z. B. optische oder mechanische Markierungen, Anschlagskanten etc. umfassen, welche das Zusammenfügen mit dem Trägersubstrat als Grundplatte erleichtern.

Es wird bevorzugt, dass auf dem gemeinsamen, durchgehenden Trägersubstrat 2 – 2000, vorzugsweise 2 – 400, besonders bevorzugt 2 – 100 Probenbehältnisse angeordnet sind.

Besonders bevorzugt wird, dass die Probenbehältnisse in einem Raster, d.h. einer Aufeinanderfolge in Zeilen und / oder Spalten angeordnet sind, welches kompatibel ist mit dem Raster von Standard-Mikrotiterplatten. Als industrieller Standard ist dabei eine Anordnung von 8 x 12 Wells mit einem (Zentrum-zu-Zentrum) Abstand von ca. 9 mm etabliert. Hiermit kompatibel sind kleinere Arrays mit beispielsweise 3, 6, 12, 24 und 48 Probenbehältnissen in gleichem Abstand. Es können auch mehrere solche kleineren Arrays von Probenbehältnissen derart zusammengefügt werden, dass nach deren Zusammenfügung der gegenseitige Abstand ein ganzzahliges Vielfaches des Abstands von ca. 9 mm beträgt.

Seit einiger Zeit werden auch Platten mit 384 und 1536 Wells, als ganzzahligem Vielfachen von 96 Wells auf gleicher Grundfläche mit entsprechend reduziertem Wellabstand (ca. 4.5 mm bzw. 2.25 mm), verwendet, welche ebenfalls als Standardmikrotiterplatten bezeichnet werden sollen. Die Anordnung von Probenbehältnissen als Teil des erfindungsgemässen Kits kann auch an diese Geometrie angepasst sein.

Durch die Anpassung des Rasters der Probenbehältnisse an diese Standards können eine Vielzahl kommerziell eingeführter und erhältlicher Laborpipetten und Laborroboter für die Probenzugabe verwendet werden.

Eine mögliche Ausführungsform der Probenbehältnisse als Teil des erfindungsgemässen Kits besteht darin, dass die Probenbehältnisse auf der dem Trägersubstrat als Grundplatte gegenüberliegenden Seite offen sind.

Kennzeichen einer anderen möglichen Ausführungsform ist, dass die Probenbehältnisse auf der dem Trägersubstrat als Grundplatte gegenüberliegenden Seite, mit Ausnahme von Ein- und / oder Auslassöffnungen für die Zufuhr oder den Auslass von Proben und gegebenenfalls zusätzlichen Reagentien, geschlossen sind. Besonders bevorzugt wird, dass mindestens eine Auslassöffnung jedes Probenbehältnisses mit einem Ablauf verbunden ist, welcher in ein mit besagtem Probenbehältnis fluidisch verbundenes Reservoir führt, welches aus besagtem Probenbehältnis austretende Flüssigkeit aufnimmt. Dabei wird ausserdem bevorzugt, dass das Reservoir zur Aufnahme aus dem Probenbehältnis austretender Flüssigkeit als eine Vertiefung in der Aussenwand des mit der Grundplatte zusammengebrachten Aufsatzkörpers ausgebildet ist. Zwecks Kompatibilität mit Standard-Pipetten und Laborrobotern sind dann die Zuläufe der Probenbehältnisse in einem Raster der oben genannten Standard-Mikrotiterplatten angeordnet.

Wenn sequentiell unterschiedliche Proben- oder Reagensflüssigkeiten in eine Flusszelle gefüllt werden, wird typischerweise ein Vielfaches des Zellvolumens an Flüssigkeit eingesetzt, um die vorangehend zugegebene Flüssigkeit und darin enthaltene Bestandteile möglichst vollständig zu verdrängen. Daher wird bevorzugt, dass das Aufnahmevermögen des mit einem, wie oben beschrieben, als Flusszelle ausgebildeten Probenbehältnis verbundenen Reservoirs grösser, vorzugsweise mindestens 5-mal grösser als das Innenvolumen der Flusszelle ist.

Das Innenvolumen eines Probenbehältnisses kann, in Abhängigkeit von der Anwendung, innerhalb weit gesteckter Grenzen, beispielsweise zwischen 0.1 μl und 1000 μl , gewählt werden. Vorzugsweise beträgt es zwischen 1 μl und 50 μl .

Die Probenbehältnisse können auf der dem Trägersubstrat als Grundplatte gegenüberliegenden Seite durch einen zusätzlichen Abschluss, beispielsweise eine Folie, Membran oder eine Deckplatte, abgeschlossen sein.

Vorzugsweise sind die Probenbehältnisse thermostatisierbar.

Die Materialien des Trägersubstrats als Grundplatte, des mit der Grundplatte zusammengebrachten Körpers sowie eines optionalen zusätzlichen Abschlusses können ausgewählt sein aus der Gruppe von form-, spritz-, präg- und / oder fräsbaaren Kunststoffen, wie beispielsweise Polycarbonaten, Polyimiden, Acrylaten, insbesondere Polymethylmethacrylaten, Polystyrolen, Cyclo-Olefinpolymeren, Cyclo-Olefin-Copolymeren, Metallen, Metalloxiden, Silikaten, wie zum Beispiel Glas, Quarz oder Keramiken oder deren Kombinationen (Mischungen und / oder Schichtungen).

Innerhalb eines Probenbehältnisses können in einer zweidimensionalen Anordnung bis zu 50 000 diskrete Messbereiche angeordnet sein. Ein einzelner Messbereich kann eine Fläche von 10^{-4} mm^2 – 10 mm^2 einnehmen. Auf dem gesamten Trägersubstrat können in einer 2-dimensionalen Anordnung bis zu 10 000 000 diskrete Messbereiche angeordnet sein. Die Messbereiche können in einer Dichte von mehr als 10, bevorzugt von mehr als 100, besonders bevorzugt von mehr als 1000 Messbereichen pro Quadratcentimeter angeordnet sein. Die erzielbare Dichte wird wesentlich bestimmt von der Methode, mit der die diskreten Messbereiche auf dem Trägersubstrat erzeugt werden. Mittels mechanischer Aufbringmethoden können gegenwärtig beispielsweise Dichten bis zu 10 000 Messbereichen pro Quadratcentimeter, mit photolithographischen Methoden bis zu grössenordnungsmässig etwa 1 000 000 Messbereichen pro Quadratcentimeter erzeugt werden.

Der erfindungsgemässe Kit ist dadurch gekennzeichnet, dass diskrete Messbereiche durch räumlich selektive Aufbringung von biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen oder von Proben, welche den einen oder die mehreren Analyten in einer nativen Probenmatrix oder in einer oder in mehreren Probenvorbereitungsschritten modifizierten Form der nativen Probenmatrix enthalten, auf der Oberfläche des

Trägersubstrats oder auf einer zusätzlich darauf aufgetragenen Haftvermittlungsschicht erzeugt werden, vorzugsweise unter Verwendung eines oder mehrerer Verfahren aus der Gruppe von Verfahren, die von "Ink jet spotting", mechanischem Spotting mittels Stift, Feder oder Kapillare, „Micro contact printing“, fluidischer Kontaktierung der Messbereiche mit den biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen durch deren Zufuhr in parallelen oder gekreuzten Mikrokanälen, unter Einwirkung von Druckunterschieden oder elektrischen oder elektromagnetischen Potentialen sowie photochemischen oder photolithographischen Immobilisierungsverfahren gebildet wird.

Vorzugsweise werden Bereiche zwischen den diskreten Messbereichen, zur Minimierung unspezifischer Bindung von Analyten oder deren Nachweissubstanzen oder anderen Bindungspartnern, „passiviert“. Dazu werden zwischen den räumlich getrennten Messbereichen Verbindungen aufgebracht, welche gegenüber den Analyten oder gegenüber deren Nachweissubstanzen oder anderen Bindungspartnern „chemisch neutral“, d. h. nicht-bindend, sind.

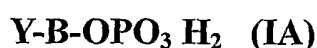
Besagte gegenüber den Analyten oder deren Nachweissubstanzen oder anderen Bindungspartnern „chemisch neutralen“, d.h. diese nicht bindenden, Komponenten können ausgewählt sein aus den Gruppen, die von Albuminen, insbesondere Rinderserumalbumin oder Humanserumalbumin, Casein, unspezifischen, polyklonalen oder monoklonalen, artfremden oder empirisch für den oder die nachzuweisenden Analyten unspezifischen Antikörpern (insbesondere für Immunoassays), Detergentien – wie beispielsweise Tween 20 -, nicht mit zu analysierenden Polynukleotiden hybridisierender, fragmentierter natürlicher oder synthetischer DNA, wie beispielsweise ein Extrakt von Herings- oder Lachssperma (insbesondere für Polynukleotid-Hybridisierungsassays), oder auch ungeladenen, aber hydrophilen Polymeren, wie beispielsweise Polyethylenglycolen oder Dextranen, gebildet werden.

Die einfachste Form der Immobilisierung der Bindungspartner für den Analytnachweis besteht in physikalischer Adsorption, beispielsweise infolge hydrophober Wechselwirkungen zwischen den Bindungspartnern und der Grundplatte. Diese Wechselwirkungen können jedoch durch die Zusammensetzung des Mediums und dessen

physikalisch-chemische Eigenschaften, wie beispielsweise Polarität und Ionenstärke, in ihrem Ausmass stark verändert werden. Insbesondere im Falle sequentieller Zugabe verschiedener Reagentien in einem mehrstufigen Assay ist das Haftvermögen der Bindungspartner nach rein adsorptiver Immobilisierung auf der Oberfläche oft unzureichend.

Vorzugsweise werden die Bindungspartner daher auf einer auf dem Trägersubstrat aufgebrachtten Haftvermittlungsschicht immobilisiert. Es wird bevorzugt, dass die Haftvermittlungsschicht eine Stärke von weniger als 200 nm, vorzugsweise von weniger als 20 nm, hat. Für die Herstellung der Haftvermittlungsschicht eignen sich eine Vielzahl von Materialien. Ohne jegliche Einschränkung wird bevorzugt, dass die Haftvermittlungsschicht Verbindungen umfasst aus der Gruppe von Silanen, funktionalisierten Silanen, Epoxiden, funktionalisierten, geladenen oder polaren Polymeren und "selbstorganisierten passiven oder funktionalisierten Mono- oder Mehrfachschichten", Alkylphosphaten und -phosphonaten, multifunktionellen Block-Copolymeren, wie beispielsweise Poly(L)ysin/Polyethylenglycolen.

Die Haftvermittlungsschicht kann auch Verbindungen umfassen aus der Gruppe von Organophosphorsäuren der allgemeinen Formel I (A)



oder von Organophosphonsäuren der allgemeinen Formel I (B)



und deren Salzen, in denen B einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Aryl-, Aralkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest und Y Wasserstoff oder eine funktionelle Gruppe aus der Reihe Hydroxy, Carboxy, Amino, gegebenfalls durch Niederalkyl substituiertes Mono- oder Dialkylamino, Thiol, oder eine negative Säuregruppe aus der Reihe Ester, Phosphat, Phosphonat, Sulfat, Sulfonat, Maleimid, Succinimydyl, Epoxy oder Acrylat bedeutet, wobei an B oder Y ein biologisches, biochemisches oder synthetisch herstellbares Erkennungselement durch Additions- oder Substitutionsreaktion angedockt sein kann, wobei auch Verbindungen angelagert sein können, die der Substratoberfläche eine

Resistenz gegen Proteinadsorption und/oder Zelladhäsion verleihen und in B in der Kette gegebenenfalls anstelle einer oder mehrerer $-CH_2-$ Gruppen eine oder mehrere Ethylenoxidgruppen enthalten sein können.

In der WO 00/65352 werden Beschichtungen von bioanalytischen Sensorplattformen oder Implantaten für medizinische Anwendungen mit Pfropf-Copolymeren („graft copolymers“) mit einer polyionischen, z. B. an einen Träger (elektrostatisch) bindenden Hauptkette und „nicht interaktiven“ (adsorptionresistenten) Seitenketten beschrieben.

Die immobilisierten Bindungspartner, als Teil eines erfindungsgemässen Kits, können an das freie Ende oder nahe dem freien Ende eines ganz oder teilweise funktionalisierten, „nicht interaktiven“ (adsorptionsresistenten, ungeladenen) Polymeren gebunden sein, wobei besagtes „nicht interaktive“ (adsorptionsresistente, ungeladene) Polymer als Seitenkette an ein geladenes, polyionisches Polymer als Hauptkette gebunden ist und mit diesem zusammen ein polyionisches, multifunktionales Co-Polymer bildet.

Gewisse derartige Varianten sind dabei dadurch gekennzeichnet, dass die polyionische Polymerenhauptkette bei annähernd neutralem pH kationisch (positiv) geladen ist. Sie kann beispielsweise ausgewählt sein aus der Gruppe von Polymeren, welche Aminosäuren mit positiver Ladung bei annähernd neutralem pH, Polysaccharide, Polyamine, Polymere von quarternären Aminen und geladene synthetische Polymere umfasst. Die kationische Polymerenhauptkette kann auch ein oder mehr Molekulargruppen aus der Gruppe umfassen, welche Lysin, Histidin, Arginin, Chitosan, partiell deacetyliertes Chitin, Aminhaltige Derivate neutraler Polysaccharide, Polyaminostyrol, Polyaminacrylate, Polyaminmethacrylate, Polyethylenimine, Polyaminoethylene, Polyaminostyrole und deren N-Alkyl-Derivate umfasst.

Weitere geeignete molekulare Gruppen als Bestandteil einer polyionischen Hauptkette sind in der WO 00/65352 beschrieben, welche hier vollumfänglich als Bestandteil dieser Beschreibung eingeführt wird.

Kennzeichen einer anderen Gruppe von Ausführungsformen ist, dass die polyionische Polymerenhauptkette bei annähernd neutralem pH anionisch (negativ) geladen ist.

Innerhalb dieser Gruppe kann die kationische Hauptkette ausgewählt sein aus der Gruppe von Polymeren umfassend Aminosäuren mit daran geknüpften Gruppen mit negativer Ladung bei annähernd neutralem pH, Polysaccharide und geladene synthetische Polymere mit negativ geladenen Gruppen.

Die kationische Polymerenhauptkette kann ein oder mehr Molekülgruppen aus der Gruppe umfassen, welche Polyasparaginsäure, Polyglutaminsäure, Alginsäure oder deren Derivate, Pektin, Hyaluronsäure, Heparin, Heparinsulfat, Chondroitinsulfat, Dermatansulfat, Dextransulfat, Polymethylmethacrylsäure, oxidierte Zellulose, Carboxymethylierte Zellulose, Maleinsäure und Fumarsäure umfasst.

Der „nicht interaktive“ (ungeladene) Polymer“ als Seitenkette kann ausgewählt sein aus der Gruppe umfassend Poly(alkylenglycole), Poly(alkylenoxide), neutrale wasserlösliche Polysaccharide, Polyvinylalkohole, Poly-N-Vinylpyrrolidone, Phosphorylcholin-Derivate, nicht-kationische Poly(meth)acrylate und deren Kombinationen.

Es wird bevorzugt, dass die immobilisierten Bindungspartner an die „nicht interaktive“ Seitenkette an deren freiem Ende oder nahe zu deren freiem Ende über reaktive Gruppen gebunden sind. Besonders bevorzugt wird, dass besagte reaktive Gruppen ausgewählt sind aus der Gruppe umfassend Hydroxy (-OH), Carboxy (-COOH), Ester (-COOR), Thiole (-SH), N-Hydroxysuccinimid, Maleimidyl, Chinon, Vinylsulfon, Nitrilotriacetische Säure („nitrilo triacetic acid“, NTA) und deren Kombinationen.

Eine Vielzahl weiterer geeigneter Polymeren und bevorzugter Ausführungsformen sind in der WO 00/65352 zusätzlich beschrieben.

Das Trägersubstrat als Grundplatte kann mehrere Schichten mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften umfassen. Beispielsweise kann das Trägersubstrat eine Metalloxidschicht, mit Brechungsindex n_1 , auf einer darunterliegenden weiteren Schicht, mit Brechungsindex $n_2 < n_1$, umfassen. Dabei wird bevorzugt, dass das Metalloxid ausgewählt ist aus der Gruppe, welche TiO_2 , Ta_2O_5 oder Nb_2O_5 umfasst.

Eine andere Variante eines erfindungsgemässen Kits ist dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat eine dünne Metallschicht, gegebenenfalls auf einer darunter befindlichen Zwischenschicht mit Brechungsindex vorzugsweise < 1.5 , wie beispielsweise Siliciumdioxid oder Magnesiumfluorid, umfasst, wobei die Dicke der Metallschicht und der eventuellen Zwischenschicht so ausgewählt ist, dass ein Oberflächenplasmon bei der Wellenlänge eines eingestrahnten Anregungslichts und / oder bei der Wellenlänge einer erzeugten Lumineszenz angeregt werden kann. Dabei wird bevorzugt, dass das Metall ausgewählt ist aus der Gruppe, welche Gold und Silber umfasst. Die Dicke der Metallschicht beträgt zwischen 10 nm und 1000 nm, bevorzugt zwischen 30 nm und 200 nm.

Charakteristisch für andere bevorzugte Varianten eines erfindungsgemässen Kits ist, dass das Trägersubstrat mindestens bei der Wellenlänge eines eingestrahnten Anregungslichts oder Messlichts transparent ist.

Unter einem eingestrahnten „Anregungslicht“ soll dabei verstanden werden, dass dieses Licht als Energiequelle für eine Sekundäremission (zusammenfassend bezeichnet als „Emissionslicht“), wie beispielsweise Fluoreszenz oder Lumineszenz oder eine Ramanstrahlung oder beispielsweise zur Anregung eines Oberflächenplasmons in einer Metallschicht, dient, welche mit einem geeigneten Detektor gemessen werden kann. Unter einem eingestrahnten „Messlicht“ soll verstanden werden, dass dieses ebenfalls der Wechselwirkung mit dem Trägersubstrat und / oder mit darauf nachzuweisenden Analyten oder deren Bindungspartnern zwecks eines Analytnachweises dient, dass aber keine spektralen Änderungen dieses Messlichts oder einer Sekundäremission zu untersuchen sind, sondern beispielsweise Änderungen der Einstellparameter (wie beispielsweise des Resonanzwinkels für die Einkopplung in eine Gitter-Wellenleiter-Struktur, siehe unten) oder der Ausbreitungsparameter dieses Lichts (wie beispielsweise der Phasendifferenz zwischen Lichtanteilen, welche unterschiedliche optische Wege, wie den Messpfad eines Interferometers und den Referenzpfad, ohne Wechselwirkung mit einer Probe, durchlaufen) gemessen werden.

Vorteilhaft ist, wenn das Trägersubstrat, als Teil eines erfindungsgemässen Kits, als ein durchgehender optischer Wellenleiter ausgebildet ist oder diskrete wellenleitende Bereiche

umfasst. Besonders bevorzugt wird, dass das Trägersubstrat als ein optischer Schichtwellenleiter ausgebildet ist, mit einer, den Ausnehmungen der Probenbehältnisse zugewandten, ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a). Es ist bekannt, beispielsweise aus den Anmeldungen WO 95/33197, WO 95/33198 und WO 96/35940, dass mit Sensorplattformen basierend auf Dünnschichtwellenleitern in Kombination mit der Detektion von Fluoreszenz, welche im evaneszenten Feld eines im Wellenleiter geführten Lichts angeregt wird, besonders tiefe Nachweisgrenzen für einen Analytnachweis erreicht werden können.

Dabei kann die zweite optisch transparente Schicht (b) ein Material aus der Gruppe umfassen, die von Silikaten, z. B. Glas oder Quarz, transparenten thermoplastischen oder spritzbaren Kunststoffen, beispielsweise Polycarbonaten, Polyimiden, Acrylaten, insbesondere Polymethylmethacrylaten, oder Polystyrolen gebildet wird.

Es wird bevorzugt, dass der Brechungsindex der ersten optisch transparenten Schicht (a) grösser als 1.8 ist. Es wird auch bevorzugt, dass die erste optisch transparente Schicht (a) ein Material aus der Gruppe von Silicium-Nitrid, TiO_2 , ZnO , Nb_2O_5 , Ta_2O_5 , HfO_2 , und ZrO_2 , besonders bevorzugt aus TiO_2 , Ta_2O_5 oder Nb_2O_5 umfasst.

Bei gegebenem Material der Schicht (a) und gegebenem Brechungsindex ist die Empfindlichkeit bis zu einem unteren Grenzwert der Schichtdicke umso grösser, je geringer die Schichtdicke ist. Der untere Grenzwert wird bestimmt durch den Abbruch der Lichtleitung bei Unterschreiten eines von der Wellenlänge des zu führenden Lichts abhängigen Wert sowie einem zu beobachtenden Anstieg der Ausbreitungsverluste bei sehr dünnen Schichten mit weiterer Schichtdickenabnahme. Es wird bevorzugt, dass das Produkt aus der Dicke der Schicht (a) und ihrem Brechungsindex ein Zehntel bis ein Ganzes, bevorzugt ein Drittel bis zwei Drittel, der Wellenlänge eines in die Schicht (a) einzukoppelnden Anregungslichts oder Messlichts beträgt.

Sofern eine Eigenfluoreszenz der Schicht (b) nicht auszuschliessen ist, insbesondere wenn diese aus einem Kunststoff wie beispielsweise Polycarbonat besteht, oder auch um den Einfluss der Oberflächenrauigkeit der Schicht (b) auf die Lichtleitung in der Schicht (a)

zu vermindern, kann es von Vorteil sein, wenn zwischen den Schichten (a) und (b) eine Zwischenschicht aufgebracht ist. Daher besteht eine weitere Ausführungsform des Trägersubstrats als Bestandteil eines erfindungsgemässen Kits darin, dass sich zwischen den optisch transparenten Schichten (a) und (b) und in Kontakt mit Schicht (a) eine weitere optisch transparente Schicht (b') mit niedrigerem Brechungsindex als dem der Schicht (a) und einer Stärke von 5 nm - 10000 nm, vorzugsweise von 10 nm - 1000 nm, befindet.

Für die Einkopplung von Anregungslicht oder Messlicht in einen optischen Wellenleiter sind eine Vielzahl von Methoden bekannt. Im Falle einer relativ dicken wellenleitenden Schicht bis hin zu einem selbsttragenden Wellenleiter ist es möglich, das Licht unter Verwendung von Linsen geeigneter numerischer Apertur so in eine Stirnfläche des Wellenleiters zu fokussieren, dass es über innere Totalreflexion geleitet wird. Im Falle von Wellenleitern mit grösserer Stirnbreite als Wellenleiterschichtdicke werden dafür bevorzugt Zylinderlinsen verwendet. Dabei können die Linsen sowohl räumlich entfernt vom Wellenleiter angeordnet als auch direkt mit diesem verbunden sein. Im Falle geringerer Wellenleiterschichtdicken ist diese Form der Stirnflächenkopplung weniger geeignet. Besser eingesetzt werden kann dann die Kopplung über Prismen, die bevorzugt zwischenraumfrei an den Wellenleiter angefügt oder über eine brechungsindexanpassende Flüssigkeit mit dem Wellenleiter verbunden sind. Es ist auch möglich, das Anregungslicht über eine optische Faser an den optischen Wellenleiter heranzuführen oder das in einen anderen Wellenleiter eingekoppelte Licht in den Wellenleiter überzukoppeln, indem beide Wellenleiter einander so nahe gebracht werden, dass ihre evaneszenten Felder überlappen und damit eine Energieübertragung stattfinden kann. Bestandteil der Erfindung sind daher solche Ausführungsformen, bei denen der erfindungsgemässe Kit ein oder mehrere optische Koppellemente zur Einkopplung von Anregungs- oder Messlicht zu den Messbereichen auf dem als optischer Wellenleiter ausgebildeten Trägersubstrat umfasst, wobei besagte optische Koppellemente ausgewählt sein können aus der Gruppe von Prismenkopplern, evaneszenten Kopplern mit zusammengebrachten optischen Wellenleitern mit überlappenden evaneszenten Feldern, Stirnflächenkopplern mit vor einer Stirnseite der wellenleitenden Schicht angeordneten fokussierenden Linsen, vorzugsweise Zylinderlinsen, oder optischen Fasern als Lichtleitern, und Koppelgittern, und wobei

besagte Koppellemente mit dem Trägersubstrat verbunden oder von diesem getrennt angeordnet sein können.

Vorzugsweise umfasst das Trägersubstrat zur Einkopplung von Anregungslicht oder Messlicht zu den Messbereichen eine oder mehrere Gitterstrukturen (c) als Koppelgitter, welche als diffraktive Gitter in der optisch transparenten Schicht (a) moduliert sind. Hierbei kann es sich um Reliefgitter mit beliebigem Profil, beispielsweise mit Rechteck-, Dreieck-, Sägezahn-, halbkreis- oder sinusförmigem Profil, oder um Phasen- oder Volumengitter mit einer periodischen Modulation des Brechungsindex in der im wesentlichen planaren Schicht (a) handeln. Vorzugsweise sind Gitterstrukturen (c) als Oberflächenreliefgitter ausgebildet.

Eine weitere Variante des erfindungsgemässen Kits ist dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat zur Auskopplung von in der Schicht (a) geführtem Licht eine oder mehrere Gitterstrukturen (c) oder eine zweite Gruppe von einer oder mehreren Gitterstrukturen (c') als Auskoppelgitter umfasst. Vorzugsweise sind auch diese als Oberflächenreliefgitter in der optisch transparenten Schicht (a) moduliert. Dabei können Gitterstrukturen (c) und (c') gleiche oder unterschiedliche Periode haben und parallel oder nicht parallel zueinander ausgerichtet sein. Gitterstrukturen (c) und (c') können wechselseitig als Ein- und / oder Auskoppelgitter verwendet werden.

Die Gitterstrukturen (c) und /oder (c') können mono- oder multidiffraktiv sein und eine Tiefe von 2 nm – 100 nm, bevorzugt von 10 nm – 30 nm, haben sowie eine Periode von 200 nm – 1000 nm, bevorzugt von 300 nm – 700 nm, haben. Das Verhältnis der Stegbreite der Gitterlinien zur Gitterperiode kann zwischen 0.01 und 0.99 betragen, wobei ein Verhältnis zwischen 0.2 und 0.8 bevorzugt wird.

Eine Gruppe von Ausführungsformen eines erfindungsgemässen Kits ist dadurch gekennzeichnet, dass dieser einen Nachweis eines oder mehrerer Analyten durch Bindung in Lösung bereitgestellter Bindungspartner an die in diskreten Messbereichen immobilisierten Bindungspartner aufgrund einer resultierenden Änderung des effektiven Brechungsindex im Bereich dieser Messbereiche ermöglicht. Wie bereits vorangehend ausgeführt, kann es sich bei den immobilisierten Bindungspartnern um die

nachzuweisenden Analyten selbst, beispielsweise in einer nativen Probenmatrix, handeln, welche im Laufe eines Nachweisverfahrens mit biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen in Kontakt gebracht werden, oder es kann sich hierbei um immobilisierte Erkennungselemente handeln, die mit einer die Analyten enthaltenden Probe in Kontakt gebracht werden.

Vorzugsweise sind dabei die zweidimensionalen Arrays von Messbereichen jeweils auf einer gemeinsamen Gitterstruktur (c) angeordnet.

Zur Erfüllung der Aufgabe der Referenzierung sind für die Ausführungsformen des erfindungsgemässen Kits, welche auf der Detektion von Änderungen des effektiven Brechungsindex beruhen, wiederum mehrere Varianten möglich.

Eine Variante besteht darin, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgebracht, gegenüber den Analyten oder deren Nachweisstoffen oder anderen Bindungspartnern „chemisch neutralen“ Komponenten einer Referenzierung dienen.

Diese Art der Referenzierung ist besonders dann geeignet, wenn als Trägersubstrat eines erfindungsgemässen Kits eine Gitter-Wellenleiter-Struktur zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen des effektiven Brechungsindex verwendet wird, wie sie in der PCT/EP 01/00605 beschrieben worden ist. Diese Anmeldeschrift wird hiermit vollumfänglich als Bestandteil der vorliegenden Beschreibung eingeführt.

Bildgebende Detektionsverfahren für Änderungen des effektiven Brechungsindex durch Änderungen der Massenbelegung auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur oder auf der Metallschicht einer Anordnung zur Erzeugung einer Oberflächenplasmonenresonanz können dadurch realisiert werden, dass ein aufgeweitetes, paralleles Anregungs- bzw. Messlichtbündel grossflächig auf die zu untersuchende Fläche mit gegebenenfalls darauf erzeugten, diskreten Messbereichen (vorzugsweise in einem zweidimensionalen Array) bei oder nahe den Resonanzbedingungen für die Lichteinkopplung in die wellenleitende Schicht bzw. zur Anregung der Oberflächenplasmonenresonanz eingestrahlt wird. Diese zu erfüllenden Resonanzbedingungen können der entsprechende Resonanzwinkel, bei

Variation des Einstrahlwinkels und konstanter eingestrahler Wellenlänge, oder die Resonanzwellenlänge, bei Variation der Einstrahlungswellenlänge unter konstantem Einstrahlwinkel, sein. Mit einem ortsauflösenden Detektor können dann lokale Unterschiede der Massenbelegung auf dieser Fläche, anhand der lokalen Variation des Grades der Erfüllung der entsprechenden Resonanzbedingungen, die beispielsweise zu entsprechenden lokalen Unterschieden der in Transmissions- oder Reflexionsanordnung zu verzeichnenden Lichtmengen führen, gemessen werden.

Im Falle einer solchen bildgebenden Gitterwellenleiterstruktur oder Anordnung zur Anregung von Oberflächenplasmonenresonanz kann mithilfe der in diskreten Messbereichen immobilisierten gegenüber den Analyten oder deren Nachweisstoffen oder anderen Bindungspartnern „chemisch neutralen“ Komponenten eine kontrollierte unterschiedliche Massenbelegung der Oberfläche erreicht werden, welche sich in entsprechenden Unterschieden des effektiven Brechungsindex ausdrückt. Damit ist es möglich, Änderungen des effektiven Brechungsindex im Falle der Bindung eines Analyten oder eines seiner Nachweisstoffe oder Bindungspartner in den für den Analytnachweis vorgesehenen Messbereichen anhand des bekannten Wertes der Signaländerung bei kontrolliert unterschiedlicher Massenbelegung zu skalieren und damit die unbekannte Oberflächenbelegungsmassenänderung beim Analytnachweis zu berechnen.

In ähnlicher Weise ist es möglich, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgebrauchten Komponenten als Massenlabeln (z. B. Molekülkomplexen, insbesondere aus den Erkennungslabeln und den nachzuweisenden Analyten, oder Teilchen bzw. Beads) bekannter Menge und bekanntem Molekulargewichts einer Kalibration und / oder Referenzierung dienen.

Es ist auch möglich, dass eine oder mehrere Teilflächen innerhalb eines Arrays bzw. eines Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat, welche durch Aufbringung von gegenüber den Analyten oder deren Nachweissubstanzen „chemisch neutralen“ Komponenten „passiviert“ wurden, einer Referenzierung dienen.

Eine andere grosse Gruppe von Ausführungsformen eines erfindungsgemässen Kits ist dadurch gekennzeichnet, dass dieser einen Nachweis eines oder mehrerer Analyten durch

Bindung in Lösung bereitgestellter Bindungspartner an die in diskreten Messbereichen immobilisierten Bindungspartner zum Analytnachweis aufgrund einer resultierenden Änderung eines Lumineszenzsignals, beispielsweise von an den Analyten oder an einen seiner Bindungspartner bzw. Nachweissubstanzen gebundenen lumineszenzfähigen Molekülen, im Bereich dieser Messbereiche, ermöglicht.

Für diese Gruppe von Ausführungsformen besteht eine mögliche Variante darin, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren Anregungslichtintensität in jeweils ein oder mehreren Messbereichen des Arrays lumineszenzfähige, die Analyten oder deren Nachweissubstanzen nicht bindende Moleküle als Lumineszenzlabel immobilisiert sind. Im Falle eines als optischer Wellenleiter mit einer wellenleitenden optisch transparenten Schicht (a) ausgebildeten Trägersubstrats entspricht der Intensität des in dem Bereich des Arrays verfügbaren Licht die Intensität des dort in der darunterliegenden wellenleitenden Schicht (a) geführten Lichts.

Dabei wird bevorzugt, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) bei einer anderen Wellenlänge emittieren als solche lumineszenzfähigen Moleküle bzw. Lumineszenzlabel, welche einem Analytnachweis dienen.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass nicht speziell ausgewiesene Messbereiche ausschliesslich für Referenzierungszwecke vorgesehen sind, sondern dass lumineszenzfähige Moleküle als Lumineszenzlabel zu Referenzierungszwecken in denselben Messbereichen aufgebracht sind, in denen auch die Bindungspartner für den Analytnachweis immobilisiert sind. Unter der Voraussetzung, dass die für Referenzierungszwecke eingesetzten Lumineszenzlabel in einer bekannten Anzahl oder in einem bekannten Mischungsverhältnis mit den übrigen in einem Messbereich immobilisierten Molekülen vorliegen, kann die Referenzierung dabei der Bestimmung unterschiedlicher Parameter dienen. Einerseits lässt sich so wieder die in dem Messbereich verfügbare Anregungslichtintensität bestimmen. Andererseits kann, im Falle einer bekannten lokalen Anregungslichtintensität und des bekannten Mischungsverhältnisses mit immobilisierten Bindungspartnern, aus dem Lumineszenzsignal dieser Label die Immobilisierungsdichte bestimmt werden. Dieses bedeutet zusammenfassend, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren (bzw. in der wellenleitenden

Schicht (a) eines als optischer Wellenleiter ausgebildeten Trägersubstrats geführten) Anregungslichtintensität oder der Oberflächendichte der in einem Messbereich immobilisierten Bindungspartner in diesen Messbereichen, in denen auch besagte Bindungspartner immobilisiert sind, lumineszenzfähige Moleküle als Lumineszenzlabel aufgebracht sind.

Es ist auch möglich, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) an die immobilisierten Bindungspartner oder an einen bekannten prozentualen Anteil dieser immobilisierten Bindungspartner gebunden sind.

Besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) können auch in einer Mischung, in einem bekannten Mischungsverhältnis, mit den immobilisierten Bindungspartnern in den dafür ausgewiesenen Messbereichen vorliegen.

Es wird bevorzugt, dass als besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) Lumineszenzfarbstoffe oder lumineszente Nanopartikel dienen, welche bei einer Wellenlänge zwischen 300 nm und 1100 nm angeregt werden können und / oder emittieren.

Von Vorteil ist, wenn ein erfindungsgemässer Kit, nach einer der genannten Ausführungsformen, zusätzlich Reagentien zur Assaydurchführung umfasst.

Diese zusätzlichen Reagentien zur Assaydurchführung können beispielsweise ausgewählt sein aus der Gruppe, welche Assay-Puffer, Hybridisierungspuffer, Waschlösungen und Lösungen von lumineszenzmarkierten „Tracer-Proben“ (z. B. Antikörper in Immunoassays oder einzelsträngige Nukleinsäuren in Nukleinsäure-Hybridisierungsassays) sowie Lösungen zur Biokomplex-Dissoziation (z. B. sogenannte „chaotrope“ Reagentien mit einem hohen Salzgehalt / hoher Ionenstärke und / oder stark sauren Charakters zur Dissoziation von Antigen-Antikörper-Komplexen oder Harnstoff-Lösungen zur Dissoziation von hybridisierten Nukleinsäure-Strängen) umfasst.

Es ist möglich, dass besagte zusätzliche Reagentien zur Assaydurchführung von extern den Probenbehältnissen zugeführt werden.

Eine andere Variante besteht darin, dass besagte zusätzliche Reagentien in Behältnissen des Aufsatzkörpers integriert sind und, gegebenenfalls nach einer Benetzung, während eines Assays den Probenbehältnissen zugeführt werden.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein analytisches System zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen auf einem gemeinsamen, durchgehenden Trägersubstrat, umfassend

- einen Kit nach einer der genannten Ausführungsformen
- eine Aufnahmevorrichtung zum Einsatz des von dem Trägersubstrat und dem Aufsatzkörper gebildeten Körpers, mit den in den Probenbehältnissen in zweidimensionalen Arrays von Messbereichen immobilisierten Bindungspartnern und den diesen Probenbehältnissen zugeführten Proben und gegebenenfalls zusätzlichen Reagentien
- mindestens einen Detektor zum Nachweis des von den Bereichen der Arrays und insbesondere von den Messbereichen ausgehenden Lichts.

Es wird bevorzugt, dass es sich bei dem mindestens einen Detektor um einen ortsauflösenden Detektor handelt, welcher vorzugsweise ausgewählt ist aus der Gruppe, welche CCD-Kameras, CCD-Chips, Photodioden-Arrays, Avalanche-Dioden-Arrays, Multichannel-Plates und Vielkanal-Photomultiplier umfasst.

Vorzugsweise umfasst das analytische System ausserdem mindestens eine Anregungslichtquelle zur Aussendung eines den Arrays und deren Messbereichen zuzuführenden Anregungs- oder Messlichts. Dabei handelt es sich vorzugsweise um eine spektral schmalbandige oder sogar monochromatische Lichtquelle, wie beispielsweise einen Laser. Das erfindungsgemässe analytische System kann auch spezielle optische Komponenten umfassen, mit denen die Einstrahlung eines im wesentlichen monochromatischen Anregungslichts oder Messlichts zu den Messbereichen ermöglicht wird.

Für eine Reihe möglicher Ausführungsformen des erfindungsgemässen analytischen Systems ist es erforderlich, den Winkel des eingestrahelten Lichts zum Trägersubstrat und

den Auftreffort des Lichts auf dem Trägersubstrat genau einzustellen. Daher wird ebenfalls bevorzugt, dass das analytische System zusätzlich eine oder mehr Justierkomponenten zur Justierung des Einstrahlwinkels eines eingestrahnten Anregungslichts oder Messlichts zum Trägersubstrat umfasst.

Im optischen Weg zwischen der einen oder mehreren Anregungslichtquellen und dem Trägersubstrat und /oder zwischen besagtem Trägersubstrat und dem einen oder mehreren Detektoren können optische Komponenten aus der Gruppe verwendet werden, welche Linsen oder Linsensysteme zur Formgestaltung der übertragenen Lichtbündel, planare oder gekrümmte Spiegel zur Umlenkung und gegebenenfalls zusätzlich zur Formgestaltung von Lichtbündeln, Prismen zur Umlenkung und gegebenenfalls zur spektralen Aufteilung von Lichtbündeln, dichroische Spiegel zur spektral selektiven Umlenkung von Teilen von Lichtbündeln, Neutralfilter zur Regelung der übertragenen Lichtintensität, optische Filter oder Monochromatoren zur spektral selektiven Übertragung von Teilen von Lichtbündeln oder polarisationsselektive Elemente zur Auswahl diskreter Polarisationsrichtungen des Anregungs- oder Messlichts und / oder gegebenenfalls eines Lumineszenzlichts umfasst.

Vielfach ist es notwendig, Messungen bei einer konstanten und oft auch genau definierten, vorgegebenen Temperatur durchzuführen. Beispielweise sind reaktions- oder bindungskinetische Daten grundsätzlich immer auf eine bestimmte Temperatur bezogen, und die Empfindlichkeit refraktiver Messungen (beispielsweise basierend auf dem Resonanzwinkel für Lichteinkopplung in eine wellenleitende Schicht oder zur Anregung eines Oberflächenplasmons) kann durch Temperaturschwankungen begrenzt sein, aufgrund der Temperaturabhängigkeit des Brechungsindex. Daher umfasst das erfindungsgemäße analytische System vorzugsweise auch Vorkehrungen, welche eine Thermostatisierung der Probenbehältnisse ermöglichen.

Die Einstrahlung des Anregungslichts oder Messlichts zu den Messbereichen kann in einer Auflicht- oder einer Transmissionsanordnung erfolgen. Eine mögliche Konfiguration ist dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungs- oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts auf gegenüberliegenden Seiten des Trägersubstrats erfolgen.

Bevorzugt wird, dass die Einstrahlung des Anregungslichts oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts auf der gleichen Seite des Trägersubstrats, vorzugsweise von der den Probenbehältnissen gegenüberliegenden Aussenseite des Trägersubstrats aus, erfolgen. Dieses hat den Vorteil, dass ein Durchgang des Anregungs- oder Messlichts durch die Probenflüssigkeit (im Falle einer zugeführten flüssigen Probe) vor der Wechselwirkung mit den an die Trägersubstratoberfläche gebundenen Analytmolekülen oder deren Nachweissubstanzen vermieden werden kann. Im Falle einer Wechselwirkung im evaneszenten Feld einer in einer wellenleitenden Schicht des Trägersubstrats geführten Welle oder eines Oberflächenplasmons in einem auf dem Trägersubstrat befindlichen Metallfilm kann durch diese Konfiguration ein Durchgang des Anregungs- oder Messlichts durch die Probenlösung sogar nahezu gänzlich (abgesehen von der Eindringtiefe des evaneszenten Feldes) vermieden werden.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass die Einstrahlung des Anregungslichts oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts in einer konfokalen Anordnung erfolgen.

Das Anregungs- oder Messlicht kann kontinuierlich, aber auch gepulst eingestrahlt werden. So kann das erfindungsgemässe analytische System Komponenten umfassen, welche die Einstrahlung des Anregungslichts oder Messlichts in Pulsen mit einer Dauer zwischen 1 fsec und 10 Minuten ermöglichen. Eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemässen analytischen Systems ist dadurch gekennzeichnet, dass dieses Komponenten umfasst, welche eine zeitlich aufgelöste Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts ermöglichen.

Es wird bevorzugt, dass das analytische System optische Komponenten umfasst, mit denen die Einstrahlung eines im wesentlichen parallelen Anregungs- oder Messlichtbündels zu den Messbereichen ermöglicht wird. Von besonderem Vorteil ist, wenn das analytische System optische Komponenten zur Strahlaufweitung umfasst, welche ein im wesentlichen paralleles Strahlenbündel erzeugen, welches grossflächig auf die Messbereiche eingestrahlt wird.

Eine besondere Gruppe von Ausführungsformen des erfindungsgemässen analytischen Systems ist dadurch gekennzeichnet, dass dieses eine Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Anregung eines Oberflächenplasmons in einer Metallschicht als Bestandteil des Trägersubstrats ermöglicht. Bei konstanter eingestrahelter Anregungswellenlänge kann die zu beobachtende Änderung der Resonanzbedingungen in der Änderung des Resonanzwinkels des eingestrahltten Anregungslichts zur Flächennormalen des Trägersubstrates, zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht, bestehen. Dazu wird beispielsweise ein nahezu paralleles Anregungslichtbündel eingestrahlt, und bei Erreichen des Resonanzwinkels ergibt sich ein Minimum in der Reflexion oder Transmission.

Es ist auch möglich, das Anregungslicht unter einem konstanten Winkel einzustrahlen und die Anregungswellenlänge nahe der Erfüllung der Resonanzbedingungen zu variieren (beispielsweise unter Verwendung eines spektral durchstimmbaren Lasers). Dann besteht also die zu beobachtende Änderung der Resonanzbedingungen in der Änderung der Resonanzwellenlänge eines unter einem konstanten Winkel eingestrahltten Anregungslichts, zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht.

Dabei wird eine solche Ausführungsform des analytischen Systems bevorzugt, welche eine orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht ermöglicht.

Eine andere Gruppe von bevorzugten Ausführungsformen eines erfindungsgemässen analytischen Systems ist dadurch gekennzeichnet, dass dieses eine Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts oder Messlichts in die wellenleitende Schicht (a) über eine Gitterstruktur (c) oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts über eine Gitterstruktur (c) oder (c') ermöglicht.

Die Änderung der Resonanzbedingungen kann wiederum in der Änderung eines Resonanzwinkels, hier zur Ein- oder Auskopplung eines Anregungslichts oder Messlichts oder eines in der wellenleitenden Schicht (a) geführten, im wesentlichen monochromatischen Lichts konstanter Wellenlänge bestehen. Sie kann auch in der

Änderung der Resonanzwellenlänge zur Einkopplung eines unter einem konstanten Winkel eingestrahltten Anregungslichts oder Messlichts in die wellenleitende Schicht (a) bestehen.

Es werden wiederum solche Ausführungsformen eines entsprechenden erfindungsgemässen analytischen Systems bevorzugt, welche eine orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts oder Messlichts in die wellenleitende Schicht (a) über eine Gitterstruktur (c) oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts über eine Gitterstruktur (c) oder (c') ermöglichen. Hierfür als Teil erfindungsgemässer analytischer Systeme geeignete optische Systeme sind in der PCT/EP 01/00605 beschrieben, welche hiermit vollumfänglich als Bestandteil der vorliegenden Anmeldung eingeführt wird.

Kennzeichen einer anderen Gruppe bevorzugter Ausführungsformen eines erfindungsgemässen analytischen Systems ist, dass es eine orts aufgelöste Erfassung und Messung von Lumineszenzlicht ermöglicht, welches aus dem Bereich der Arrays, insbesondere der Messbereiche, abgestrahlt wird. Eine besonders bevorzugte Ausführungsform ist dabei dadurch gekennzeichnet, dass das analytische System Komponenten umfasst, mit denen das Anregungslicht unter dem Resonanzwinkel zur Einkopplung in die wellenleitende Schicht (a) über eine in dieser Schicht modulierte Gitterstruktur (c), als Bestandteil des Trägersubstrats, eingestrahlt wird, so dass das eingekoppelte Anregungslicht in der Schicht (a) geführt wird und dabei Lumineszenzlabel innerhalb der Eindringtiefe des evaneszenten Feldes in den Raum der Probenbehältnisse zur Lumineszenz angeregt werden, und dass abgestrahlte Lumineszenz mit einer Sammeloptik gesammelt und einem oder mehreren Detektoren zugeführt und das Detektorsignal von einem Speichermedium aufgezeichnet wird.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen auf einem gemeinsamen, durchgehenden Trägersubstrat, dadurch gekennzeichnet, dass die auf einen oder auf mehrere Analyten zu untersuchenden Proben direkt oder nach Mischung und Inkubation mit weiteren Reagentien und gegebenenfalls weiteren Probenvorbereitungsschritten in Kontakt gebracht

werden mit biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen in ein oder mehreren Probenbehältnissen, welche Bestandteile eines Kits sind, umfassend

- ein Trägersubstrat und
- einen Aufsatzkörper,

welche zusammen eine Anordnung einer Vielzahl von Probenbehältnissen, mit besagtem Trägersubstrat als Grundplatte, bilden, sowie

- eine Vielzahl immobilisierter Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben in einem Bioaffinitätsassay,

wobei besagte Bindungspartner auf dem Trägersubstrat innerhalb der Probenbehältnisse jeweils in zweidimensionalen Arrays von diskreten Messbereichen angeordnet immobilisiert sind, wobei

- jeweils mindestens ein Messbereich eines Arrays oder eine Teilfläche innerhalb eines Arrays bzw. Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat zu einer Referenzierung vorgesehen ist und
- die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, weniger als der Oberflächendichte einer vollständigen Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht,

dass gegebenenfalls weitere Reagentien den Probenbehältnissen zugeführt werden, dass das Trägersubstrat mit den zusammen mit einem Aufsatzkörper erzeugten, mit Proben und gegebenenfalls zusätzlichen Reagentien gefüllten Probenbehältnissen in eine Aufnahmevorrichtung eines erfindungsgemässen analytischen Systems nach einer der genannten Ausführungsformen eingesetzt wird, dass das von den Bereichen der Arrays in den Probenbehältnissen und insbesondere von den Messbereichen ausgehende Licht mit mindestens einem Detektor gemessen und dass die Detektorsignale von einem Speichermedium aufgezeichnet werden.

Dabei wird bevorzugt, dass besagte Vielzahl von Probenbehältnissen als ein zweidimensionales Array von Probenbehältnissen angeordnet ist.

Bei den immobilisierten Bindungspartnern kann es sich um den einen oder die mehreren Analyten selbst handeln, welche in einer nativen Probenmatrix oder in einer in einem oder in mehreren Probenaufbereitungsschritten modifizierten Form der nativen Probenmatrix auf dem Trägersubstrat als Grundplatte aufgebracht sind.

Dabei kann die native Probenmatrix mit den darin nachzuweisenden Analyten aus der Gruppe stammen, welche Zellextrakte, Gewebeextrakte, natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin, Speichel, Gewebeflüssigkeiten, Eigelb und Eiweiss, biologische Gewebeteile, optisch trübe Flüssigkeiten, Boden- und Pflanzenextrakte sowie Bio- und Syntheseprozessbrühen umfasst.

Für diese Ausführungsform des Verfahrens ist charakteristisch, dass zum Nachweis des einen oder der mehreren immobilisierten Analyten in einem Bioaffinitätsassay biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente mit besagten immobilisierten Analyten in einem oder mehreren Messbereichen in Kontakt gebracht werden.

Dabei wird bevorzugt, dass zum Nachweis unterschiedlicher Analyten in unterschiedlichen Messbereichen diese mit unterschiedlichen biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen in Kontakt gebracht werden. Dieses geschieht vorzugsweise zum Nachweis unterschiedlicher Analyten in unterschiedlichen Probenbehältnissen. Der Nachweis unterschiedlicher, immobilisierter Analyten kann aber auch so erfolgen, dass ein- und demselben Probenbehältnis sequentiell unterschiedliche Erkennungselemente zugeführt werden, wobei gegebenenfalls nach einem erfolgten Analyt-Nachweisschritt der Komplex aus immobilisiertem Analyten und einem daran gebundenen Erkennungselement unter Einwirkung sogenannter chaotroper Reagentien (beispielsweise saurer oder basischer Lösungen) dissoziiert wird, bevor in einem nachfolgenden Schritt des Bioaffinitätsassays die nächste Sorte von Erkennungselementen, zum Nachweis eines anderen Analyten, zugeführt wird.

Eine andere bevorzugte Gruppe von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch charakterisiert, dass es sich bei den immobilisierten Bindungspartnern um biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren zuzuführenden Proben handelt.

Zur Gewährleistung einer kontrollierten Oberflächendichte der immobilisierten Erkennungselemente entsprechend weniger als einer Monoschicht wird bevorzugt, dass die Messbereiche eine Mischung der biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente, zur spezifischen Erkennung und Bindung eines oder mehrerer Analyten aus einer zugeführten Probe, mit gegenüber diesen Analyten oder deren Nachweisstoffen oder weiteren Bindungspartnern „chemisch neutralen“, d.h. diese nicht bindenden, Komponenten, vorzugsweise in einem kontrollierten Mischungsverhältnis, umfassen.

Für diese Variante wird weiterhin bevorzugt, dass die Oberflächendichte der in den diskreten Messbereichen immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente und der gegenüber den Analyten „chemisch neutralen“ Komponenten, bezogen auf die Fläche dieser Messbereiche, für beide Arten von Komponenten zusammen mindestens zwei Dritteln der Dichte einer vollständigen molekularen Monoschicht entspricht.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist dann typischerweise so gestaltet, dass die immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente in den Probenbehältnissen mit einer oder mehreren, den einen oder mehrere Analyten enthaltenden Proben und gegebenenfalls weiteren Reagentien sequentiell oder in einem einzigen Zugabeschritt, nach Mischung der einen oder mehrerer Proben mit den optionalen zusätzlichen Reagentien, in Kontakt gebracht werden.

Ausserdem wird bevorzugt, dass innerhalb eines Arrays in einem Probenbehältnis eine Vielzahl von Analyten nach Zugabe einer einzelnen Probe bestimmt wird.

In dem erfindungsgemässen Verfahren ist es von Vorteil, wenn die Probenbehältnisse auf der dem Trägersubstrat als Grundplatte gegenüberliegenden Seite, mit Ausnahme von Ein- und / oder Auslassöffnungen für die Zufuhr oder den Auslass von Proben und gegebenenfalls zusätzlicher Reagentien, geschlossen sind und die Proben, direkt oder nach Mischung und Inkubation mit weiteren Reagentien und gegebenenfalls weiteren Probenvorbereitungsschritten, und gegebenenfalls zusätzliche Reagentien lokal adressiert in die Probenbehältnisse gefüllt werden. Ausserdem wird bevorzugt, dass mindestens eine

Auslassöffnung jedes Probenbehältnisses mit einem Ablauf verbunden ist, welcher in ein mit besagtem Probenbehältnis fluidisch verbundenes Reservoir führt, dass die Proben, direkt oder nach Mischung und Inkubation mit weiteren Reagentien und gegebenenfalls weiteren Probenvorbereitungsschritten, und gegebenenfalls zusätzliche Reagentien lokal adressiert in die Probenbehältnisse gefüllt werden und dass aus Probenbehältnissen austretende Flüssigkeit von besagten Reservoirs aufgenommen wird.

Dabei ist vorteilhaft, wenn das Aufnahmevolumen eines mit einem Probenbehältnis fluidisch verbundenen Reservoirs grösser, vorzugsweise mindestens 5-mal grösser als das Innenvolumen besagten Probenbehältnisses ist.

Insbesondere im Falle der Durchführung des Verfahrens bei erhöhter Temperatur, z. B. im Falle von Nukleinsäure-Hybridisierungsassays, wird ausserdem bevorzugt, dass die Probenbehältnisse nach Befüllung auf der dem Trägersubstrat als Grundplatte gegenüberliegenden Seite durch einen zusätzlichen Abschluss, beispielsweise eine Folie, Membran oder eine Deckplatte, abgeschlossen werden. Es ist ausserdem vorteilhaft, wenn die Probenbehältnisse thermostatisierbar sind.

Das erfindungsgemässe Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass diskrete Messbereiche durch räumlich selektive Aufbringung von biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen oder von Proben, welche den einen oder die mehreren Analyten in einer nativen Probenmatrix oder in einer in einem oder in mehreren Schritten modifizierten Form der nativen Probenmatrix enthalten, auf der Oberfläche des Trägersubstrats oder auf einer zusätzlich darauf aufgebrachtten Haftvermittlungsschicht erzeugt werden, vorzugsweise unter Verwendung eines oder mehrerer Verfahren aus der Gruppe von Verfahren, die von "Ink jet spotting", mechanischem Spotting mittels Stift, Feder oder Kapillare, „Micro contact printing“, fluidischer Kontaktierung der Messbereiche mit den biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen durch deren Zufuhr in parallelen oder gekreuzten Mikrokanälen, unter Einwirkung von Druckunterschieden oder elektrischen oder elektromagnetischen Potentialen sowie photochemischen oder photolithographischen Immobilisierungsverfahren gebildet wird.

Das Verfahren zeichnet sich dadurch aus, dass innerhalb eines Probenbehältnisses in einer 2-dimensionalen Anordnung bis zu 50 000 diskrete Messbereiche angeordnet sein können. Auf dem gesamten Trägersubstrat können sich in einer zweidimensionalen Anordnung bis 10 000 000 diskrete Messbereiche befinden. Die Messbereiche können in einer Dichte von mehr als 10, bevorzugt mehr als 100, besonders bevorzugt mehr als 1000 Messbereichen pro Quadratzentimeter angeordnet sein.

Es wird bevorzugt, dass Bereiche zwischen den diskreten Messbereichen zur Minimierung unspezifischer Bindung von Analyten oder deren Nachweissubstanzen "passiviert werden", d.h. dass zwischen den räumlich getrennten Messbereichen gegenüber den Analyten oder gegenüber deren Nachweissubstanzen oder anderen Bindungspartnern "chemisch neutrale" Komponenten aufgebracht werden.

Ausserdem ist es von Vorteil, wenn vor der Immobilisierung der Bindungspartner auf dem Trägersubstrat eine Haftvermittlungsschicht aufgetragen wird. Diese Haftvermittlungsschicht hat vorzugsweise eine Dicke von weniger als 200 nm, besonders bevorzugt von weniger als 20 nm.

Mögliche Auswahlen für besagte „chemisch neutrale“ Komponenten sind, ebenso wie die Wahl geeigneter Verbindungen für eine Haftvermittlungsschicht sowie die Palette möglicher zu immobilisierender Bindungspartner zur Analytbestimmung in einem Bioaffinitätsassay bereits vorangehend genannt worden.

Das Anregungs- oder Messlicht kann zu den Messbereichen in einer Aufsicht- oder einer Transmissionslichtanordnung eingestrahlt werden.

Das Verfahren kann so gestaltet sein, dass die Einstrahlung des Anregungs- oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts auf gegenüberliegenden Seiten des Trägersubstrats erfolgen.

Vorteilhaft ist jedoch für viele Anwendungen, wenn die Einstrahlung des Anregungs- oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen

ausgehenden Lichts auf der gleichen Seite des Trägersubstrats, vorzugsweise von der den Probenbehältnissen gegenüberliegenden Aussenseite des Trägersubstrats aus, erfolgen.

Es wird bevorzugt, dass mithilfe geeigneter optischer Komponenten, wie beispielsweise monochromatisch emittierender Lichtquellen (z. B. Laser) oder spektral selektiver Komponenten (z. B. Interferenzfilter oder Monochromatoren) ein annähernd monochromatisches Anregungs- oder Messlicht erzeugt wird, welches zu den Messbereichen eingestrahlt wird.

Von Vorteil ist auch, wenn mithilfe geeigneter optischer Komponenten ein annähernd paralleles Anregungs- oder Messlichtbündel erzeugt wird, welches zu den Messbereichen eingestrahlt wird.

Besonders bevorzugt wird, dass mithilfe geeigneter optischer Komponenten zur Strahlaufweitung ein im wesentlichen paralleles Strahlenbündel erzeugt wird, welches grossflächig auf die Messbereiche eingestrahlt wird.

Eine spezielle Gruppe von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass der Nachweis des einen oder der mehreren nachzuweisenden Analyten auf der Änderung der Resonanzbedingungen zur Anregung eines Oberflächenplasmons in einer dünnen Metallschicht, als Bestandteil des Trägersubstrats, aufgrund der Bindung des einen oder der mehreren Analyten an ein biologisches oder biochemisches oder synthetisches Erkennungselement oder einen oder mehrere weitere Bindungspartner in einem Bioaffinitätsassay, an der Oberfläche besagten Trägersubstrats, gegebenenfalls auf einer darauf aufgetragenen Haftvermittlungsschicht, beruht. Die Änderung der Resonanzbedingungen kann in der Änderung des Resonanzwinkels eines eingestrahnten, im wesentlichen monochromatischen Anregungslichtbündels zur Flächennormalen des Trägersubstrats, zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht, bestehen. Die Änderung der Resonanzbedingungen kann auch in der Änderung der Resonanzwellenlänge eines unter einem konstanten Winkel eingestrahnten, im wesentlichen parallelen Anregungslichts, zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht, bestehen.

Eine bevorzugte Variante aus dieser Gruppe von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass mittels grossflächiger Einstrahlung eines aufgeweiteten, parallelen Anregungslichtbündels zu den Messbereichen auf dem Trägersubstrat und / oder mittels Scannen des Trägersubstrats bezüglich des Anregungslichtbündels eine orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Anregung von Oberflächenplasmonen in der Metallschicht eines Trägersubstrats erfolgt.

Eine weitere bevorzugte Gruppe von Ausführungsformen des Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat als ein durchgehender optischer Wellenleiter ausgebildet ist oder diskrete wellenleitende Bereiche umfasst.

Dabei wird besonders bevorzugt, dass das Trägersubstrat als ein optischer Schichtwellenleiter ausgebildet ist, mit einer den Ausnehmungen der Probenbehältnisse zugewandten ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a).

Geeignete Materialien für die optisch transparenten Schichten (a) und (b) und deren erwünschte Eigenschaften sind bereits vorangehend beschrieben worden.

Es ist oft vorteilhaft, wenn sich zwischen den optisch transparenten Schichten (a) und (b) und in Kontakt mit Schicht (a) eine weitere optisch transparente Schicht (b') mit niedrigerem Brechungsindex als dem der Schicht (a) und einer Stärke von 5 nm - 10000 nm, vorzugsweise von 10 nm - 1000 nm, befindet.

Es wird bevorzugt, dass das Anregungs- oder Messlicht einer oder mehrerer Lichtquellen mittels eines oder mehrerer optischer Koppellemente in die wellenleitende Schicht des Trägersubstrats eingekoppelt und zu den Messbereichen auf dem als optischer Wellenleiter ausgebildeten Trägersubstrat geleitet wird, wobei besagte optische Koppellemente ausgewählt sein können aus der Gruppe von Prismenkopplern, evaneszenten Kopplern mit zusammengebrachten optischen Wellenleitern mit überlappenden evaneszenten Feldern, Stirnflächenkopplern mit vor einer Stirnseite der wellenleitenden Schicht angeordneten fokussierenden Linsen, vorzugsweise

Zylinderlinsen, oder optischen Fasern als Lichtleitern, und Koppelgittern, und wobei besagte Koppellemente mit dem Trägersubstrat verbunden oder von diesem getrennt angeordnet sein können.

Besonders bevorzugt wird, dass das Anregungs- oder Messlicht einer oder mehrerer Lichtquellen mittels einer oder mehrerer Gitterstrukturen (c) als Koppelgitter, welche als Oberflächenreliefgitter in der optisch transparenten Schicht (a) moduliert sind, in die Schicht (a) eingekoppelt und zu den Messbereichen geleitet wird.

Eine mögliche Variante des Verfahrens besteht darin, dass in der Schicht (a) des Trägersubstrat geführtes Licht mittels einer oder mehrerer Gitterstrukturen (c) oder mittels einer zweiten Gruppe von einer oder mehreren Gitterstrukturen (c') als Auskoppelgitter ausgekoppelt wird, welche als Oberflächenreliefgitter in der optisch transparenten Schicht (a) moduliert sind, wobei Gitterstrukturen (c) und (c') gleiche oder unterschiedliche Periode haben und parallel oder nicht parallel zueinander ausgerichtet sind.

Kennzeichnen einer bevorzugten Gruppe von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens ist, dass der Nachweis des einen oder der mehreren nachzuweisenden Analyten auf der Änderung des effektiven Brechungsindex im Bereich der von den immobilisierten Bindungspartnern gebildeten, in zweidimensionalen Arrays angeordneten Messbereiche, aufgrund der Bindung des einen oder der mehreren Analyten an biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente oder an einen oder mehrere weitere Bindungspartner in einem Bioaffinitätsassay, an der Oberfläche des Trägersubstrats, gegebenenfalls auf einer darauf aufgetragenen Haftvermittlungsschicht, beruht.

Es wird dabei bevorzugt, dass die zweidimensionalen Arrays von Messbereichen jeweils auf einer gemeinsamen Gitterstruktur (c) angeordnet sind.

Eine mögliche Variante aus dieser Gruppe von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens besteht darin, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgetragenen, gegenüber den Analyten oder deren Nachweisstoffen bzw. Bindungspartnern „chemisch neutralen“ Komponenten einer Referenzierung dienen.

Eine andere Möglichkeit ist, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgebrauchten Komponenten als Massenlabeln (z. B. Molekülkomplexen, insbesondere aus den Erkennungsetiketten und den nachzuweisenden Analyten, oder Teilchen bzw. Beads) bekannter Menge und bekanntem Molekulargewicht einer Kalibration und / oder Referenzierung dienen. Es können auch eine oder mehrere Teilflächen innerhalb eines Arrays bzw. eines Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat, welche durch Aufbringung von gegenüber den Analyten oder deren Nachweissubstanzen „chemisch neutralen“ Komponenten „passiviert“ wurden, einer Referenzierung dienen.

Diese Möglichkeiten der Referenzierung, als Teil des erfindungsgemässen Verfahrens, sind vorangehend bereits genauer erläutert worden.

Eine weitere bevorzugte Gruppe von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass der Nachweis des einen oder der mehreren nachzuweisenden Analyten auf der Änderung eines Lumineszenzsignals, beispielsweise von an den Analyten oder an einen seiner Bindungspartner bzw. Nachweissubstanzen gebundenen lumineszenzfähigen Molekülen als Lumineszenzlabeln, aufgrund der Bindung des einen oder der mehreren Analyten an ein biologisches oder biochemisches oder synthetisches Erkennungselement oder einen oder mehrere weitere Bindungspartner in einem Bioaffinitätsassay, an der Oberfläche besagten Trägersubstrats, gegebenenfalls auf einer darauf aufgebrauchten Haftvermittlungsschicht, beruht.

Eine Möglichkeit besteht dann darin, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren Anregungslichtintensität in jeweils ein oder mehreren Messbereichen des Arrays lumineszenzfähige, die Analyten oder deren Nachweissubstanzen nicht bindende Moleküle oder lumineszente Nanopartikel als Lumineszenzlabel immobilisiert sind.

Es wird dabei bevorzugt, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) bei einer anderen Wellenlänge emittieren als solche lumineszenzfähigen Moleküle bzw. Lumineszenzlabel, welche einem Analytnachweis dienen.

Eine andere Möglichkeit ist, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren Anregungslichtintensität oder der Oberflächendichte der in einem Messbereich als Bindungspartner immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente in diesen Messbereichen, in denen auch besagte Erkennungselemente immobilisiert sind, lumineszenzfähige Moleküle als Lumineszenzlabel aufgebracht sind.

Es wird bevorzugt, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) an die immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente oder an einen bekannten prozentualen Anteil dieser immobilisierten Erkennungselemente gebunden sind.

Eine andere mögliche Variante besteht darin, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) in einer Mischung, in einem bekannten Mischungsverhältnis mit den immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen in den dafür ausgewiesenen Messbereichen vorliegen.

Ausserdem wird bevorzugt, dass die als Lumineszenzlabel für Zwecke einer Referenzierung eingesetzten Lumineszenzfarbstoffe oder lumineszenten Nanopartikel bei einer Wellenlänge zwischen 300 nm und 1100 nm angeregt werden können und emittieren.

Eine Weiterentwicklung des erfindungsgemässen Verfahrens besteht darin, dass der eingesetzte erfindungsgemässe Kit zusätzlich die Benutzung von Reagentien zur Assaydurchführung umfasst. Diese zusätzlichen Reagentien zur Assaydurchführung können ausgewählt sein aus der Gruppe, welche Assay-Puffer, Hybridisierungspuffer, Waschlösungen und Lösungen von lumineszenzmarkierten „Tracer-Proben“ (z. B. Antikörper in Immunoassays oder einzelsträngige Nukleinsäuren in Nukleinsäure-Hybridisierungsassays) sowie Lösungen zur Biokomplex-Dissoziation (z. B. sogenannte „chaotrope“ Reagentien mit einem hohen Salzgehalt / hoher Ionenstärke und / oder stark sauren Charakters zur Dissoziation von Antigen-Antikörper-Komplexen oder Harnstoff-Lösungen zur Dissoziation von hybridisierten Nukleinsäure-Strängen) umfasst.

Dabei ist es möglich, dass besagte zusätzliche Reagentien zur Assaydurchführung von extern zu den Probenbehältnissen zugeführt werden. Eine andere mögliche Variante besteht darin, dass besagte zusätzliche Reagentien in Behältnissen des Aufsatzkörpers integriert sind und, gegebenenfalls nach einer Benetzung, während eines Assays den Probenbehältnissen zugeführt werden.

Eine besonders bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens zeichnet sich dadurch aus, dass besagtes Trägersubstrat als optischer Schichtwellenleiter ausgebildet ist mit einer ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a), dass weiterhin Anregungslicht mithilfe einer oder mehrerer Gitterstrukturen, welche in der optisch transparenten Schicht (a) ausgeprägt sind, in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelt und zu darauf befindlichen Messbereichen als geführte Welle geleitet wird, und dass weiterhin die im evaneszenten Feld besagter geführter Welle erzeugte Lumineszenz von lumineszenzfähigen Molekülen mit einem oder mehreren Detektoren erfasst und die relative Konzentration oder Menge eines oder mehrerer Analyten aus der Intensität dieser Lumineszenzsignale bestimmt wird.

Es können (1) die isotrop abgestrahlte Lumineszenz oder (2) in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelte und über die Gitterstruktur (c) ausgekoppelte Lumineszenz oder Lumineszenzen beider Anteile (1) und (2) gleichzeitig gemessen werden.

Es wird bevorzugt, dass auch zur Erzeugung der Lumineszenz zum Analytnachweis ein Lumineszenzfarbstoff oder lumineszentes Nanopartikel als Lumineszenzlabel verwendet wird, das bei einer Wellenlänge zwischen 300 nm und 1100 nm angeregt werden kann und emittiert.

Ausserdem wird bevorzugt, dass Lumineszenzlabel zu Zwecken des Analytnachweises an den Analyten oder in einem kompetitiven Assay an einen Analogen des Analyten oder in einem mehrstufigen Assay an einen der Bindungspartner der immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente oder an die biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente gebunden sind.

Eine Abwandlung des Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass ein zweites oder noch weitere Lumineszenzlabel mit gleicher oder unterschiedlicher Anregungswellenlänge wie das erste Lumineszenzlabel und gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.

Eine mögliche Variante besteht dabei darin, dass das zweite oder noch weitere Lumineszenzlabel bei der gleichen Wellenlänge wie das erste Lumineszenzlabel angeregt werden können, aber bei anderen Wellenlängen emittieren.

Für bestimmte Applikationen ist es jedoch vorteilhaft, wenn die Anregungsspektren und Emissionsspektren der eingesetzten Lumineszenzlabel nur wenig oder gar nicht überlappen.

Eine spezielle Variante ist dadurch gekennzeichnet, dass zum Nachweis von Analyten Ladungs- oder optischer Energietransfer von einem als Donor dienenden ersten Lumineszenzfarbstoff zu einem als Akzeptor dienenden zweiten Lumineszenzfarbstoff verwendet wird.

Eine weitere mögliche Variante des erfindungsgemässen Verfahrens zeichnet sich dadurch aus, dass neben der Bestimmung einer oder mehrerer Lumineszenzen Änderungen des effektiven Brechungsindex auf den Messbereichen bestimmt werden.

Zur Verbesserung der Empfindlichkeit kann es von Vorteil sein, wenn die einen oder mehreren Lumineszenzen und / oder Bestimmungen von Lichtsignalen bei der Anregungswellenlänge polarisationsselektiv vorgenommen werden. Es wird bevorzugt, dass die einen oder mehreren Lumineszenzen bei einer anderen Polarisation als der des Anregungslichts gemessen werden.

Das erfindungsgemässe Verfahren, nach einer der genannten Ausführungsformen, wird beansprucht zur gleichzeitigen und / oder sequentiellen, quantitativen und / oder qualitativen Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe, die von Proteinen, beispielsweise mono- oder polyklonalen Antikörpern und Antikörperfragmenten,

Peptiden, Enzymen, Aptameren, synthetischen Peptidstrukturen, Glycopeptiden, Oligosacchariden, Lektinen, Antigenen für Antikörper (z. B. Biotin für Streptavidin), mit zusätzlichen Bindungsstellen funktionalisierten Proteinen („Tag-Proteinen“, wie beispielsweise „Histidin-Tag-Proteinen“) und deren Komplexbildungspartnern, Nukleinsäuren (beispielsweise DNA, RNA, Oligonukleotiden) und Nukleinsäureanalogen (z. B. PNA) sowie deren Derivaten mit künstlichen Basen, und von löslichen, membrangebundenen und aus einer Membran isolierten Proteinen, wie beispielsweise Rezeptoren und deren Liganden, gebildet wird.

Das Verfahren ist auch geeignet zur gleichzeitigen und / oder sequentiellen, quantitativen und / oder qualitativen Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe, die von Acetylenen, Alkaloiden (beispielsweise Alkaloide mit Pyridinen, Piperidinen, Tropanen, Chinolinen, Isochinolinen, Tropilidenen, Imidazolen, Indolen, Purinen, Fenantridinen enthaltenden Ringstrukturen), Alkaloidglycosiden, Amininen, Benzofuranen, Benzophenonen, Naphthochinonen, Betainen, Kohlenhydraten (z. B. Zucker-, Stärke- und Cellulosederivaten), Carbolinen, Cardenoliden, Catecholen, Chalkonen, Cumarinen, zyklischen Peptiden und Polypeptiden, Depsipeptiden, Diketopiperazinen, Diphenylethern, Flavenen, Flavonen, Isoflavanonen, Flavonoid-Alkaloiden, Furanochinolin-Alkaloiden, Gallocatechinen, Glycosiden, Antrachinonen, Flavonoiden, Lactonen, Phenolen, Hydrochinonen, Indolen, Indolochinonen, Alginsäuren, Lipiden (zum Beispiel Ölen, Wachsen und anderen Fettsäurederivaten), Macroliden, Oligopeptiden, Oligostilbenen, Peroxiden, Phenylglycosiden, Phloroglucinen, Polyethern, „Polyether-Antibiotica“, Pterocarpinen, Pyranocumarinen, Pyrrolen, Quassinen, Chinolinen, Saframycinen, Terpenen (Mono-, Di-, und Triterpenen), Sesquiterpenen, Sesquiterpen-Dimeren, Sesquiterpen-Lactonen, Sesquiterpen-Chinonen, Sesterterpenen, Staurosporinen, Steroiden (wie beispielsweise Steroid-Hormonen, Sterolen, Gallensäuren), Sulfolipiden, Tanninen (z. B. Catechol und Pyrogallol), Vitaminen, ätherischen Ölen und Xanthonen (z. B. 9-Oxoxanthenon) gebildet wird.

Ein Kennzeichen des erfindungsgemässen Verfahrens ist, dass die zu untersuchenden Proben natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten, wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin oder Gewebeflüssigkeiten, oder Eigelb oder optisch trübe Flüssigkeiten oder

Oberflächenwasser oder gelöste Boden- oder Pflanzenextrakte oder Bio- oder Syntheseprozessbrühen sind oder aus biologischen Gewebeteilen entnommen sind.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung eines Kits und / oder eines analytischen Systems und / oder eines analytischen Verfahrens, jeweils nach einer der genannten Ausführungsformen, zu quantitativen und / oder qualitativen Analysen zur Bestimmung chemischer, biochemischer oder biologischer Analyten in Screeningverfahren in der Pharmaforschung, der Kombinatorischen Chemie, der Klinischen und Präklinischen Entwicklung, zu Echtzeitbindungsstudien und zur Bestimmung kinetischer Parameter im Affinitätscreening und in der Forschung, zu qualitativen und quantitativen Analytbestimmungen, insbesondere für die DNA- und RNA-Analytik und die Bestimmung von genomischen oder proteomischen Unterschieden im Genom, wie beispielsweise Einzelnukleotid-Polymorphismen, zur Messung von Protein-DNA-wechselwirkungen, zur Bestimmung von Steuerungsmechanismen für die m-RNA-Expression und für die Protein(bio)synthese, für die Erstellung von Toxizitätsstudien sowie für die Bestimmung von Expressionsprofilen, insbesondere zur Bestimmung von biologischen und chemischen Markerstoffen, wie mRNA, Proteinen, Peptiden oder niedermolekularen organischen (Boten-)Stoffen, sowie zum Nachweis von Antikörpern, Antigenen, Pathogenen oder Bakterien in der pharmazeutischen Produktforschung und -entwicklung, der Human- und Veterinärmedizin, der Agrochemischen Produktforschung und -entwicklung, der symptomatischen und präsymptomatischen Pflanzendiagnostik, zur Patientenstratifizierung in der pharmazeutischen Produktentwicklung und für die therapeutische Medikamentenauswahl, zum Nachweis von Pathogenen, Schadstoffen und Erregern, insbesondere von Salmonellen, Prionen, Viren und Bakterien, insbesondere in der Lebensmittel- und Umweltanalytik.

Anhand der nachfolgenden Beispiele soll die Erfindung weiter erläutert werden.

Ausführungsbeispiele

Kurzbeschreibung der Abbildungen:

Figur 1 zeigt eine lineare Anordnung von 5 Arrays von Messbereichen auf einer Grundplatte mit darauf befindlichen Gitterstrukturen (c) zur Einkopplung von Anregungslicht zu den Messbereichen. Die Ausbreitungsrichtung des Lichts im Gebiet der Arrays ist durch einen Pfeil gekennzeichnet.

Figur 2 zeigt Mittelwerte von Fluoreszenzsignalen, nach Hintergrund- und Referenzierungskorrektur, in einem Verfahren zum Nachweis von humanem Interleukin 4 (*hIL-4*), für verschiedene Konzentrationen der auf der Grundplatten aufgebracht Lösungen zur Immobilisierung von anti- *hIL-4*-Antikörpern als spezifischen Bindungspartnern.

Figur 3 zeigt die Steigung der Regressionsgeraden aus Figur 2 als Funktion der Konzentration des anti- *hIL-4*-Antikörpers in der Immobilisierungslösung.

Figur 4 zeigt die geometrische Anordnung eines Arrays von „Referenz-Spots“ (mit Cy5-BSA) und „Erkennungselement-Spots“, erzeugt aus einer 75-prozentigen Lösung von Serum mit unterschiedlichen Konzentrationen von Interferon Gamma.

Figur 5 zeigt Mittelwerte von Fluoreszenzsignalen, nach Hintergrund- und Referenzierungskorrektur, in einem Verfahren zum Nachweis von humanem Interferon Gamma mithilfe des Arrays aus Figur 4 für verschiedene Konzentrationen von Interferon Gamma in der 75 % Serum enthaltenden Immobilisierungslösung.

Beispiel 1: Kit zum gleichzeitigen quantitativen Nachweis des menschlichen Zytokins IL-4 mit unterschiedlichen, definiert eingestellten Oberflächendichten der als Bindungspartner in diskreten Messbereichen immobilisierten anti-IL-4-Antikörper, analytisches System basierend auf einem erfindungsgemässen Kit und damit ausgeführtes Nachweisverfahren

a) Erfindungsgemässer Kit

Als Trägersubstrat in dem erfindungsgemässen Kit dient ein planarer optischer Dünnschichtwellenleiter mit den Abmessungen 16 mm Breite x 48 mm Länge x 0.7 mm Dicke, bestehend aus einem Glassubstrat (AF 45) und einer darauf aufgebracht, 150-nm dünnen, hochbrechenden Schicht aus Tantalpentoxid. In dem Trägersubstrat sind, parallel zur Breite, Oberflächenreliefgitter (Gitterperiode: 320 nm, Gittertiefe: (12 +/- 2) nm) im Abstand von 9 mm moduliert. Bei der nachfolgenden Auftragung der hochbrechenden Schicht wurden diese Strukturen, die als diffraktive Gitter der Lichteinkopplung in die hochbrechend Schicht dienen sollen, in die Oberfläche der Tantalpentoxidschicht übertragen.

Nach sorgfältiger Reinigung wird auf der Oberfläche der Metalloxidschicht als Haftvermittlungsschicht eine Monoschicht aus Mono-Dodecylphosphat (DDP) durch spontane Selbstorganisation erzeugt, mittels Abscheidung aus wässriger Lösung (0.5 mM DDP). Diese Oberflächenmodifikation der zuvor hydrophilen Metalloxidoberfläche führt zu einer hydrophoben Oberfläche (mit einem Kontaktwinkel von etwa 100° gegenüber Wasser), zur Vorbereitung der Immobilisierung der Bindungspartner für den Analytnachweis.

Auf dem mit der hydrophoben Haftvermittlungsschicht versehenen planaren optischen Wellenleiter als Grundplatte werden 5 identische Arrays von je 77 Messbereichen (Spots), ihrerseits in einer Anordnung von jeweils 11 Reihen und 7 Spalten, mit einem Inkjet-Plotter, Modell NP1C (Firma GeSiM mbH, Grosserkmannsdorf, DE) aufgetragen. Jeder Spot wurde durch die Auftragung eines einzelnen Tröpfchens von 400 pL Volumen auf die Grundplatte generiert.

Als Erkennungselement zum Nachweis von menschlichem Interleukin-4 (*hIL-4*) als Analyt dient ein kommerzieller, monoklonaler Maus-Antikörper (MAB604, Firma R&D-Systems, Abingdon, UK), der zur Erzeugung unterschiedlicher Oberflächendichten bei der Immobilisierung in verschiedenen Konzentrationen von 5, 10, 20, 50 und 100 µg/ml in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, pH 7.4) gelöst wird.

Zusätzlich zu den Messbereichen mit darin immobilisierten Erkennungselementen („Erkennungselement-Spots“) für Interleukin-4 enthält jedes Array weitere Messbereiche mit darin immobilisiertem Cy5-fluoreszenzmarkiertem Rinderserumalbumin (Cy5-BSA), die zur Referenzierung von lokalen und / oder zeitlichen Variationen der Anregungslichtintensität bei der Messung verwendet werden („Referenz-Spots“). Cy5-BSA wird in einer Konzentration von 300 pM in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, pH 7.4) aufgetragen (Labelrate: 3 Cy5-Moleküle pro BSA-Molekül).

Nach Aufbringen der Erkennungselement- und Referenz-Spots werden die freien, nicht protein-bedeckten, hydrophoben Oberflächenbereiche der Grundplatte mit Rinderserumalbumin (BSA) abgesättigt, indem die Oberfläche mit einer Lösung von BSA (30 mg/ml) in einer mit Imidazol (10 mM) gepufferten Kochsalzlösung inkubiert wird. Danach wird die Grundplatte mit den darauf erzeugten Messbereichen mit Wasser gewaschen und anschliessend in einem Stickstoffstrom getrocknet.

Die Geometrie der Anordnung der Spots innerhalb eines Arrays und eine lineare Anordnung von fünf Arrays auf einer Grundplatte sind in Figur 1 dargestellt. Der Durchmesser der Spots, mit einem Abstand (Zentrum-zu-Zentrum) von 500 µm, beträgt etwa 120 µm. Ein Einzelarray umfasst jeweils fünf verschiedene Oberflächendichten der in diskreten Spots aufgebrauchten Erkennungselemente, entsprechend der Aufbringung aus den Antikörperlösungen unterschiedlicher Konzentration, sowie zusätzlich als Kontrolle für unspezifische Bindung entsprechende Messbereiche, in denen die reine Pufferlösung aufgebracht wird, ohne darin gelöste anti-IL-4-Antikörper. Die Erkennungselement-Spots sind als sechs Reihen mit jeweils vier Replikaten gleicher Konzentration angeordnet. Die Reihen mit den jeweils vier Replikaten sind senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in der hochbrechenden, wellenleitenden Schicht zu führenden Anregungslichts bei dem später auszuführenden Nachweisverfahren ausgerichtet, um aus jeder Einzelmessung pro

zuzuführender Probe bereits Daten zur statistischen Assayreproduzierbarkeit zu gewinnen. Die Referenz-Spots (graue Punkte in Figur 1) sind parallel zu den Reihen der Antikörperspots derart angeordnet, dass sich immer ein Erkennungselement-Spot in Nachbarschaft von mindestens zwei Referenz-Spots in Ausbreitungsrichtung des Anregungslichtes befindet. Referenz-Spots dienen der Referenzierung des in den benachbarten Messbereichen zum Analytnachweis verfügbaren Anregungslichts.

Das Anregungslicht wird im späteren Nachweisverfahren jeweils über eine Gitterstruktur (c) in die hochbrechende Schicht eingekoppelt, in der es dann in Pfeilrichtung gemäss Figur 1 geführt wird.

Die so präparierte Grundplatte wird mit einem Aufsatzkörper aus schwarzem Polycarbonat, mit einer linearen Anordnung von fünf zur Grundplatte geöffneten Ausnehmungen, mit je einer zur gegenüberliegenden Seite des Aufsatzkörpers gerichteten Einlass- und Auslassöffnung, so verbunden, dass mit der Grundplatte zusammen eine lineare Anordnung von fünf Probenbehältnissen, ausgebildet jeweils als Durchflusszellen, erzeugt wird. Die Abmessungen der Ausnehmungen sind dabei so gewählt, dass sich innerhalb eines Probenbehältnisses, nahe einer Begrenzungswand, jeweils ein Koppelgitter (c) befindet, dem innerhalb des Probenbehältnisses ein Array von Messbereichen nachfolgt (in Ausbreitungsrichtung des geführten Lichts, d.h. Pfeilrichtung gemäss Figur 1). Die Probenbehältnisse haben jeweils ein Aufnahmevolumen von 50 µl.

b) Analytisches System mit einem erfindungsgemässen Kit

Ein erfindungsgemässer Kit, bestehend aus der Grundplatte aus Beispiel 1.a) mit den darauf erzeugten Arrays von Messbereichen und dem mit der Grundplatte kombinierten Aufsatzkörper, welche zusammen eine lineare Anordnung von Probenbehältnissen bilden, ist auf einer computergesteuerten Justiereinheit montiert, welche die Translation parallel und senkrecht zu den Gitterlinien sowie eine Rotation um eine Drehachse parallel zu den Gitterlinien der Grundplatte erlaubt. Unmittelbar nach dem als Anregungslichtquelle benutzten Laser befindet sich im Lichtweg ein Shutter, um den Lichtweg zu blockieren, wenn keine Messdaten aufgenommen werden sollen. Zusätzlich können Neutralfilter oder Polarisatoren an dieser Stelle oder auch anderen Positionen in den weiteren Weg des

Anregungslichts zu dem planaren optischen Wellenleiter als Grundplatte gestellt werden, um die Anregungsintensität stufenweise oder kontinuierlich zu variieren.

Der Anregungslichtstrahl eines Helium-Neon-Lasers bei 632.8 nm (Melles-Griot 05-LHP-901, 1.1 mW) wird mit einer Zylinderlinse in einer Dimension aufgeweitet und durch eine spaltförmige Blende (0.5 mm x 7 mm Öffnung) geleitet, um so ein Lichtbündel von annähernd rechteckigem Querschnitt und annähernd homogener Querschnittsintensität zu erzeugen. Dabei ist die Polarisation des Laserlichts parallel zu den Gitterlinien der Sensorplattform ausgerichtet, zur Anregung des TE_0 -Modes unter Einkoppelbedingungen. Das Anregungslicht wird von der Rückseite der Sensorplattform, d.h. durch die optisch transparente Substratschicht mit niedrigerem Brechungsindex hindurch auf das Einkoppelgitter innerhalb eines der fünf Probenbehältnisse gerichtet. Der Winkel zwischen der Sensorplattform und dem eingestrahlteten Anregungslichtbündel wird durch Rotation um die vorgenannte Drehachse auf maximale Einkopplung in die hochbrechende, wellenleitende Schicht justiert. Unter den genannten Bedingungen beträgt der Resonanzwinkel für die Einkopplung in Luft etwa -10° (bezogen auf die Flächennormale der Grundplatte).

Als ortsauflösender Detektor dient eine CCD-Kamera (Ultra Pix 0401E, Astrocam, Cambridge, UK) mit Peltier-Kühlung (Betriebstemperatur -30°C), mit einem Kodak-CCD-Chip KAF 0401 E-1. Die Signalerfassung und Fokussierung auf den CCD-Chip erfolgt mit Hilfe eines Computar-Tandem-Objektivs ($f = 50$ mm, 1:1.3). Dabei wird das in Richtung der transparenten Substratschicht abgestrahlte und durch diese hindurchtretende Licht erfasst. Zwischen den beiden Hälften des Tandem-Objektivs befinden sich, auf einem Filterwechsler montiert, 2 Interferenzfilter (Omega, Brattleborough, Vermont) mit Zentralwellenlänge von 680 nm und 40 nm Bandbreite, sowie entweder ein Neutralfilter (zur Transmission des abgeschwächten, gestreuten Anregungs- und sehr viel schwächeren Lumineszenzlichts von den Messbereichen) oder ein Neutralfilter in Kombination mit einem Interferenzfilter (zur Transmission des abgeschwächten, von den Messbereichen gestreuten Anregungslichts). Die Signale bei der Anregungs- und der Lumineszenzwellenlänge können alternierend gemessen werden. Die Auswertung der Daten erfolgt durch kommerziell erhältliche Bildverarbeitungssoftware (ImagePro Plus) oder durch eine selbstentwickelte Bildverarbeitungssoftware (ZeptoView).

c) Verfahren zur Assayentwicklung / Analytisches Nachweisverfahren mit einem erfindungsgemässen Kit

Zur spezifischen Erkennung des nachzuweisenden Analyten IL-4 wird das Format eines Sandwich-Assays gewählt.

Probenvorbereitung:

Von dem zu quantifizierenden Interleukin-4 (hIL-4) werden 5 Kalibrationslösungen von je 100 µl in mit Imidazol (50 mM) gepufferter Kochsalzlösung (NaCl 100 mM, pH7.4), mit 0.1% BSA und 0.05% Tween 20, hergestellt, welche jeweils 0, 10, 50, 250 und 500 pg/ml des hIL-4 enthalten. Diese Kalibrationslösungen sind vorgesehen für die Erstellung von Kalibrationskurven mittels Applikation auf dafür ausgewiesenen Arrays auf dem Sensorchip.

Die Kalibrationslösungen werden anschliessend mit jeweils 100 µl einer Lösung gemischt, welche den sekundären, polyklonalen Nachweisantikörper enthält: 100 pM biotinylierter anti-hIL-4-Antikörper (BAF204, R&D-Systems, Abingdon, UK) in mit Imidazol (50 mM) gepufferter Kochsalzlösung (NaCl 100 mM, pH7.4), mit 0.1% BSA und 0.05% Tween 20. Diese Mischungen von jeweils 200 µl Volumen werden im Verhältnis 1:1 gemischt mit je 200 µl einer Cy5-Streptavidin-Lösung (2×10^{-9} M, Amersham Biosciences, Dübendorf, CH) in mit Imidazol (50 mM) gepufferter Kochsalzlösung (NaCl 100 mM, pH7.4), mit 0.1% BSA und 0.05% Tween 20.

Es folgt eine einstündige Inkubation der hergestellten Kalibrationslösungen bei Raumtemperatur im Dunkeln, bevor die Inkubate (je 100 µl) in die Probenbehältnisse des erfindungsgemässen Kits injiziert werden. Die Kalibrationslösungen werden dabei in aufsteigender Konzentration jeweils in eines der fünf linear angeordneten Probenbehältnisse eingefüllt. Nach weiterer, zweistündiger Inkubation bei 37°C im Dunkeln werden die Bindungssignale aus den Arrays von Messbereichen mit dem erfindungsgemässen analytischen System ausgelesen.

Auslesen der Arrays:

Zum Auslesen der Fluoreszenzsignale aus den Messbereichen der Arrays wird der erfindungsgemässe Kit aus Beispiel 1.a) , bestehend aus der Grundplatte mit den darauf erzeugten Arrays von Messbereichen und dem mit der Grundplatte kombinierten Aufsatzkörper, welche zusammen eine lineare Anordnung von Probenbehältnissen bilden, auf einer computergesteuerten Justiereinheit innerhalb des vorangehend beschriebenen analytischen Systems montiert. Zur Bestimmung der Fluoreszenzsignale aus jedem Array wird jeweils auf maximale Einkopplung des Anregungslichts über die dem jeweiligen Array zugeordnete Gitterstruktur justiert, was mit Position des Filterwechslers für die Anregungswellenlänge kontrolliert wird, in einem Feedbackverfahren mittels Messung des am in Ausbreitungsrichtung des geführten Anregungslichts nachfolgenden Gitter ausgekoppelten Lichts durch eine Photodiode und Maximierung des resultierenden Photodioden-Signals unter Nachjustierung der Positionierungseinheit. Anschliessend wird die Intensität des Fluoreszenzlichts aus den Messbereichen (Spots) der Arrays mit Position des Filterwechslers für die Lumineszenzwellenlänge gemessen. Das Auslesen der Arrays in den verschiedenen Probenbehältnissen erfolgt sequentiell, mittels Translation des Kits von einer Arrayposition zur nächsten.

Auswertung und Referenzierung

Die Bildanalyse erfolgt mit einer selbstentwickelten Bildverarbeitungssoftware (ZeptoView). Dazu wird in jedem Array der integrale Fluoreszenzintensitätswert eines jeden Messbereichs („Spots“) bestimmt, von dem ein aus den umgebenden Bereichen ohne immobilisierte Erkennungselemente bestimmter, gemittelter Hintergrundwert subtrahiert wird. Für die sechs verschiedenen Erkennungselementdichten liegen demnach pro Array jeweils vier integrale hintergrundkorrigierte Fluoreszenzintensitätswerte vor, von denen zu statistischen Zwecken anschliessend die Mittelwerte sowie die Standardabweichungen berechnet werden.

Zusätzlich werden zu jedem Erkennungselement-Spot die in Ausbreitungsrichtung benachbart (d.h. davor und dahinter) liegenden zwei Referenz-Spots gleichermassen ausgewertet und deren mittlere Signalintensitäten bestimmt. Unter der Annahme, dass

diese Referenz-Spots eine konstante Signalintensität bei konstant gehaltenen äusseren Bedingungen zeigen (proportional zur Anregungslichtintensität), dienen die so gemittelten Referenzwerte jeweils zur Korrektur (mittels Division durch den gemittelten Referenzwert) der jeweiligen Lumineszenzsignale aus den in der gleichen Reihe befindlichen Messbereichen für die Analytbestimmung (Erkennungselement-Spots).

Figur 2 zeigt die für das Interleukin-4 erzeugten, konzentrationsabhängigen Signalstandardkurven dieses Immunoassays. Es sind die integralen, aus jeweils 4 Spots gemittelten Werte der Fluoreszenzintensität bei unterschiedlicher Oberflächendichte der zum Analytnachweis immobilisierten Bindungspartner (monoklonaler Maus-Antikörper MAB604, entsprechend dessen Konzentration in den zur Immobilisierung verwendeten Lösungen) in Abhängigkeit von der hIL-4 Konzentration aufgetragen. Die durchgezogenen Geraden stellen die linearen Fits (Regressionsgeraden) dieser korrigierten Daten dar.

Für jede dieser 5 Messkurven wurde die Steigung der zugehörigen Regressionsgeraden bestimmt. Diese Steigungen sind in Figur 3 als Funktion der Konzentration des anti-hIL-4-Antikörpers in den verschiedenen für dessen Immobilisierung verwendeten Spottinglösungen aufgetragen. Im Konzentrationsbereich zwischen 0 $\mu\text{g/ml}$ und 50 $\mu\text{g/l}$ wachsen die Steigungen linear an. Die Konzentration von 50 $\mu\text{g/ml}$ erscheint wie eine Schwellwertkonzentration, bei der ein Maximum der Steigung approximiert wird. Die weitere Erhöhung der Konzentration der Immobilisierungslösung (Spottinglösung) auf 100 $\mu\text{g/ml}$ hat keine weitere signifikante Erhöhung der Steigung der zugehörigen Messkurve mehr zur Folge. Hieraus wird geschlossen, dass die Oberflächendichte von bindungsfähigen Primärantikörpern MAB604 als immobilisierte Bindungspartner durch eine Konzentrationserhöhung der Spottinglösung auf mehr als 50 $\mu\text{g/ml}$ nicht weiter erhöht werden kann.

Abschätzung der Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner

Bei der Schwellwertkonzentration von 50 $\mu\text{g/ml}$ entspricht die Anzahl an Primärantikörpern (MAB604, Molekulargewicht etwa 150000 D), die mit einem Tröpfchen von 400 pL Volumen innerhalb der Fläche eines einzelnen Spots deponiert

wurden, etwa 10^8 Antikörper-Molekülen. Unter der Annahme einer vollständigen Oberflächenbedeckung eines Messbereichs (Spots) mit Antikörpern bei dieser Schwellwertkonzentration, mit einem Spotdurchmesser von etwa $120\ \mu\text{m}$, ergibt sich als Flächenbedarf für einen einzelnen, auf der Oberfläche immobilisierten Primärantikörper ein Wert von $100\ \text{nm}^2$ - $120\ \text{nm}^2$, entsprechend einer Ausdehnung von 10-11 nm. Dieser Flächenbedarf korreliert sehr gut mit den Angaben zur Grösse von Antikörpern in gängigen Lehrbüchern und auch mit entsprechenden experimentellen Daten der Atomkraftmikroskopie, mit der ein vergleichbarer Wert für den Platzbedarf eines Antikörpers auf einer Mica- bzw. Glasoberfläche bestimmt wurde (Fritz, J., Anselmetti, D., Jarchow, J. and Fernandez-Busquets, X., J. Struc. Biol. 1997, 119, 165-171). Aufgrund dieser guten Übereinstimmung kann davon ausgegangen werden, dass unter den beschriebenen experimentellen Bedingungen im Plateaubereich von Figur 3 (bei einer Konzentration der Immobilisierungslösung von mehr als $50\ \mu\text{g/ml}$) tatsächlich eine vollkommen dichte (also komplette Monolage) Belegung der Spotfläche mit Primärantikörpern vorliegt. In Schlussfolgerung werden also alle Analytsignale des beschriebenen Experiments bei Konzentrationen der Spottinglösung unterhalb von $50\ \mu\text{g/ml}$ unter Bedingungen von Sub-Monolagenbelegungen mit Primärantikörpern in den Spots gemessen.

Beispiel 2: Kit, dadurch gekennzeichnet, dass als immobilisierte Bindungspartner die Analyten selbst in ihrer nativen Probenmatrix (Serum) auf der Grundplatte besagten Kits aufgebracht sind, und damit durchgeführtes Nachweisverfahren.

a) Erfindungsgemässer Kit

Als Trägersubstrat wird ein optischer Dünnschichtwellenleiter verwendet, wie er in Beispiel 1.a) beschrieben wurde. Darauf wird ebenfalls als Haftvermittlungsschicht eine Monoschicht aus Mono-Dodecylphosphat (DDP) durch spontane Selbstorganisation erzeugt.

Als Analyt dient humanes Interferon-gamma (*hIFN- γ*), welches gelöst in Kälberserum als Beispiel einer nativen Probenmatrix selbst als spezifischer Bindungspartner auf der Grundplatte des Kits aufgetragen werden soll. Dazu werden Lösungen aus 75% Kälberserum (Newborn-Calf Serum, Anawa, Zürich, Schweiz) in zehnpromzentiger phosphatgepuffelter Kochsalzlösung (PBS, pH 7.4) hergestellt, denen humanes Interferon-gamma (*hIFN- γ*) als spezifischer Analyt in Konzentrationen von 0, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.0, 2.0 und 5.0 $\mu\text{g/ml}$ zugegeben wird.

Auf dem mit der hydrophoben Haftvermittlungsschicht versehenen planaren optischen Wellenleiter als Grundplatte werden 5 identische Arrays von je 143 Messbereichen (Spots), ihrerseits in einer Anordnung von jeweils 11 Reihen und 13 Spalten, mit einem Inkjet-Plotter, Modell NP1C (Firma GeSiM mbH, Grosserkmannsdorf, DE) aufgetragen.

Zusätzlich zu den Messbereichen mit dem in diesem Beispiel in einer nur wenig modifizierten Form einer nativen Probenmatrix selbst immobilisierten Analyten enthält jedes Array Referenz-Spots mit darin immobilisiertem Cy5-fluoreszenzmarkiertem Rinderserumalbumin (Cy5-BSA). Cy5-BSA wird in einer Konzentration von 6 nM (Markierungsrate 3 Cy5-Moleküle pro BSA-Molekül) in zehnpromzentiger phosphatgepuffelter Kochsalzlösung (PBS, pH 7.4), welche zusätzlich 200 $\mu\text{g/ml}$ unmarkiertes BSA enthält, aufgetragen.

Nach Aufbringen der Erkennungselement- und Referenz-Spots werden die freien, nicht protein-bedeckten, hydrophoben Oberflächenbereiche der Grundplatte mit Rinderserumalbumin (BSA) abgesättigt, indem die Oberfläche mit einer Lösung von BSA (30 mg/ml) in einer mit Imidazol (10 mM) gepufferten Kochsalzlösung (10 mM, pH 7.4) inkubiert wird. Danach wird die Grundplatte mit den darauf erzeugten Messbereichen mit Wasser gewaschen und anschliessend in einem Stickstoffstrom getrocknet.

Der Durchmesser der Spots, mit einem Abstand (Zentrum-zu-Zentrum) von 500 μm , beträgt ca. 120 μm . Ein Einzelarray umfasst jeweils Erkennungselement-Spots mit neun verschiedenen Oberflächendichten von immobilisierten Bindungspartnern, die durch Zugabe des *hIFN- γ* in den genannten Konzentrationen zu den Spottinglösungen erzeugt wurden.

Die Erkennungselement-Spots sind als neun Reihen mit jeweils fünf Replikaten gleicher Konzentration des zugegebenen *hIFN- γ* angeordnet. Die Reihen mit den jeweils fünf Replikaten sind senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in der hochbrechenden, wellenleitenden Schicht zu führenden Anregungslichts bei dem später auszuführenden Nachweisverfahren ausgerichtet, um aus jeder Einzelmessung pro zuzuführender Probe bereits Daten zur statistischen Assayreproduzierbarkeit zu gewinnen. Die Referenz-Spots (durchgehende Spalten leuchtender Spots in Figur 4) sind derart angeordnet, dass sich immer ein Erkennungselement-Spot in Nachbarschaft von mindestens zwei Referenz-Spots, in Ausbreitungsrichtung des Anregungslichtes, befindet. Referenz-Spots dienen der Referenzierung des in den benachbarten Messbereichen zum Analytnachweis verfügbaren Anregungslichts.

Die so präparierte Grundplatte wird in gleicher Weise, wie in Beispiel 1.a) beschrieben, mit einem Aufsatzkörper aus schwarzem Polycarbonat verbunden, um so wiederum ein lineares Array von Probenbehältnissen mit den darin befindlichen Arrays von Messbereichen zu erzeugen.

Es wird das gleiche analytische System und Ausleseverfahren, wie es in Beispiel 1.b) beschrieben wurde, zur Messung verwendet. Die einzelnen Arrays wurden jeweils mit rotem Laserlicht (633 nm) angeregt. Die Belichtungszeit für die Bildaufnahme beträgt 3 Sekunden.

b) Analytisches Nachweisverfahren mit einem erfindungsgemässen Kit

Zur spezifischen Erkennung des nachzuweisenden *hIFN- γ* wird das Assayformat der direkten Detektion der Bindung eines fluoreszenzmarkierten anti- *hIFN- γ* -Antikörpers an die in den Messbereichen immobilisierten Analytmoleküle gewählt. Dazu wird eine Detektionslösung aus mit Imidazol (50 mM) gepufferter Kochsalzlösung (NaCl 100 mM, pH7.4, mit 0.1% BSA und 0.05% Tween20) hergestellt, welche einen polyklonalen biotinylierten Antikörper gegen *hIFN- γ* (3 nM 285-IF-100, R&D-Systems, Abingdon, UK) sowie 5 nM Cy5-Streptavidin (Amersham Biosciences, Dübendorf, CH) enthält. Durch

Bindung des fluoreszenzmarkierten Streptavidin an den biotinylierten Antikörper erhält man den benötigten Cy5-markierten Nachweisantikörper gegen *hIFN- γ* .

Die Detektionslösung wird in die Probenbehältnisse des erfindungsgemässen Kits gefüllt. Nach zweistündiger Inkubation bei 37°C im Dunkeln werden die Arrays mit dem erfindungsgemässen analytischen System gemäss Beispiel 1.b) ausgelesen.

Auswertung und Referenzierung:

Die Bildanalyse erfolgt mit einer selbstentwickelten Bildverarbeitungssoftware (ZeptoView). Dazu wird in jedem Array der integrale Fluoreszenzintensitätswert eines jeden Messbereichs („Spots“) bestimmt, von dem ein aus den umgebenden Bereichen ohne immobilisierte Erkennungselemente bestimmter, gemittelter Hintergrundwert subtrahiert wird. Für die neun verschiedenen Erkennungselementdichten in den Messbereichen für den Analytnachweis liegen demnach pro Array jeweils fünf integrale hintergrundkorrigierte Fluoreszenzintensitätswerte vor, von denen zu statistischen Zwecken anschliessend die Mittelwerte sowie die Standardabweichungen berechnet werden.

Zusätzlich werden zu jedem Erkennungselement-Spot die in Ausbreitungsrichtung benachbart (d.h. davor und dahinter) liegenden zwei Referenz-Spots gleichermassen ausgewertet und deren mittlere Signalintensitäten bestimmt. Unter der Annahme, dass diese Referenz-Spots eine konstante Signalintensität bei konstant gehaltenen äusseren Bedingungen zeigen (proportional zur Anregungslichtintensität), dienen die so gemittelten Referenzwerte jeweils zur Korrektur (mittels Division durch den gemittelten Referenzwert) der jeweiligen Lumineszenzsignale aus den in der gleichen Reihe befindlichen Messbereichen für die Analytbestimmung (Erkennungselement-Spots).

Figur 5 zeigt die gemittelten Fluoreszenzintensitätswerte, die in Abhängigkeit der *hIFN- γ* - Konzentration in der Spottinglösung aufgetragen sind. Die Fehlerbalken entsprechen den Standardabweichungen aus 5 Replikas.

Bestimmung des minimal detektierbaren Verhältnisses von Analyt zur Totalproteinkonzentration in einer nativen Probenmatrix

Die Totalproteinkonzentration des verwendeten Serums wird nach einer geläufigen Standardmethode (nach Bradford) bestimmt und beträgt demnach 15 mg/ml. Im Falle der hier vorgenommenen Verdünnung der Immobilisierungslösung auf 75% Serumgehalt liegt also ein Totalproteingehalt von 11.3 mg/ml vor. Die minimal detektierbare Menge an Analyt in dieser Proteinmatrix wird aus Figur 5 bestimmt. Die Detektionsgrenze wird bestimmt aus dem Fluoreszenzsignal, welches der Summe aus dem Hintergrundsignal und dessen zweifacher Standardabweichung entspricht. Die minimal detektierbare Analytkonzentration beträgt danach 0.5 µg/ml. Das minimale Massenverhältnis von Analyten zur Totalproteinkonzentration in der Probenmatrix beträgt hier somit 1:22600. Aus dem Vergleich mit den Ergebnissen aus Beispiel 1.c) wird geschlossen, dass in diesem zweiten Beispiel die Oberflächendichte der in den Messbereichen immobilisierten Bindungspartner nur ein geringer Bruchteil einer Monolage ist.

Patentansprüche

1. Kit zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen, umfassend

- ein Trägersubstrat und
- einen Aufsatzkörper,

welche zusammen eine Anordnung einer Vielzahl von Probenbehältnissen, mit besagtem Trägersubstrat als Grundplatte, bilden, sowie

- eine Vielzahl immobilisierter Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben in einem Bioaffinitätsassay, wobei besagte Bindungspartner auf dem Trägersubstrat innerhalb der Probenbehältnisse jeweils in zweidimensionalen Arrays von diskreten Messbereichen angeordnet immobilisiert sind, wobei

- jeweils mindestens ein Messbereich eines Arrays oder eine Teilfläche innerhalb eines Arrays bzw. Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat zu einer Referenzierung vorgesehen ist und
- die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, weniger als der Oberflächendichte einer vollständigen, d.h. flächenhaften, Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht.

2. Kit nach Anspruch 1, zusätzlich umfassend Reagentien zu Zwecken einer Referenzierung.

3. Kit nach einem der Ansprüche 1 - 2, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Vielzahl von Probenbehältnissen als ein zweidimensionales Array von Probenbehältnissen angeordnet ist.

4. Kit nach einem der Ansprüche 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat als Grundplatte im wesentlichen planar ist.

5. Kit nach einem der Ansprüche 1 - 4, dadurch gekennzeichnet, dass auf dem gemeinsamen, durchgehenden Trägersubstrat 2 – 2000, vorzugsweise 2 – 400, besonders bevorzugt 2 – 100 Probenbehältnisse angeordnet sind.

6. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenbehältnisse auf der dem Trägersubstrat als Grundplatte gegenüberliegenden Seite, mit Ausnahme von Ein- und / oder Auslassöffnungen für die Zufuhr oder den Auslass von Proben und gegebenenfalls zusätzlichen Reagentien, geschlossen sind.
7. Kit nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine Auslassöffnung jedes Probenbehältnisses mit einem Ablauf verbunden ist, welcher in ein mit besagtem Probenbehältnis fluidisch verbundenes Reservoir führt, welches aus besagtem Probenbehältnis austretende Flüssigkeit aufnimmt.
8. Kit nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Reservoir zur Aufnahme aus dem Probenbehältnis austretender Flüssigkeit als eine Vertiefung in der Aussenwand des mit der Grundplatte zusammengebrachten Aufsatzkörpers ausgebildet ist.
9. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Materialien des Trägersubstrats als Grundplatte, des mit der Grundplatte zusammengebrachten Körpers sowie eines optionalen zusätzlichen Abschlusses ausgewählt sind aus der Gruppe von form-, spritz-, präg- und / oder fräsbaren Kunststoffen, wie beispielsweise Polycarbonaten, Polyimiden, Acrylaten, insbesondere Polymethylmethacrylaten, Polystyrolen, Cyclo-Olefinpolymeren, Cyclo-Olefin-Copolymeren, Metallen, Metalloxiden, Silikaten, wie zum Beispiel Glas, Quarz oder Keramiken oder deren Kombinationen (Mischungen und / oder Schichtungen).
10. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, einem Zehntel bis der Hälfte der Dichte einer vollständigen Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht.
11. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 10, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem einen oder den mehreren immobilisierten Bindungspartnern um den einen oder um die mehreren Analyten selbst handelt, welche in einer nativen Probenmatrix oder in einer in einem oder in mehreren Probenaufbereitungsschritten modifizierten Form der nativen Probenmatrix auf dem Trägersubstrat als Grundplatte aufgebracht sind.

12. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 11, dadurch gekennzeichnet, dass in einem Messbereich mehrere, unterschiedliche Bindungspartner immobilisiert sind.
13. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 12, dadurch gekennzeichnet, dass die native Probenmatrix mit den darin nachzuweisenden Analyten aus der Gruppe stammt, welche Zellextrakte, Gewebeextrakte, natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin, Speichel, Gewebeflüssigkeiten, Eigelb und Eiweiss, biologische Gewebeteile, optisch trübe Flüssigkeiten, Boden- und Pflanzenextrakte sowie Bio- und Syntheseprozessbrühen umfasst.
14. Kit nach einem der Ansprüche 11 – 13, dadurch gekennzeichnet, dass zum Nachweis des einen oder der mehreren immobilisierten Analyten in einem Bioaffinitätsassay biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente mit besagten immobilisierten Analyten in einem oder mehreren Messbereichen in Kontakt gebracht werden.
15. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 10, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem einen oder den mehreren immobilisierten Bindungspartnern um biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren zuzuführenden Proben handelt.
16. Kit nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Messbereiche eine Mischung der biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente, zur spezifischen Erkennung und Bindung eines oder mehrerer Analyten aus einer zugeführten Probe, mit gegenüber diesen Analyten oder seinen Nachweisstoffen „chemisch neutralen“, d.h. diese nicht bindenden, Komponenten, vorzugsweise in einem kontrollierten Mischungsverhältnis, umfassen.
17. Kit nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberflächendichte der in den diskreten Messbereichen immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente und der gegenüber den Analyten „chemisch neutralen“ Komponenten, bezogen auf die Fläche dieser Messbereiche, für beide Arten von

Komponenten zusammen mindestens zwei Dritteln der Dichte einer vollständigen molekularen Monoschicht entspricht.

18. Kit nach einem der Ansprüche 1 - 17, dadurch gekennzeichnet, dass Bereiche zwischen den diskreten Messbereichen zur Minimierung unspezifischer Bindung von Analyten oder deren Nachweissubstanzen oder anderen Bindungspartnern "passiviert werden", d.h. dass zwischen den räumlich getrennten Messbereichen gegenüber den Analyten oder gegenüber deren Nachweissubstanzen oder anderen Bindungspartnern "chemisch neutrale" Komponenten aufgebracht sind, wobei besagte gegenüber den Analyten oder deren Nachweissubstanzen oder anderen Bindungspartnern „chemisch neutrale“, d.h. diese nicht bindende, Komponenten vorzugsweise ausgewählt sind aus den Gruppen, die von Albuminen, insbesondere Rinderserumalbumin oder Humanserumalbumin, Casein, unspezifischen, polyklonalen oder monoklonalen, artfremden oder empirisch für den oder die nachzuweisenden Analyten unspezifischen Antikörpern (insbesondere für Immunoassays), Detergentien – wie beispielsweise Tween 20 -, nicht mit zu analysierenden Polynukleotiden hybridisierender, fragmentierter natürlicher oder synthetischer DNA, wie beispielsweise ein Extrakt von Herings- oder Lachssperma (insbesondere für Polynukleotid-Hybridisierungsassays), oder auch ungeladenen, aber hydrophilen Polymeren, wie beispielsweise Polyethylenglycolen oder Dextranen, gebildet werden.

19. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 18, dadurch gekennzeichnet, dass besagte immobilisierte Bindungspartner ausgewählt sind aus der Gruppe, die von Proteinen, beispielsweise mono- oder polyklonalen Antikörpern und Antikörperfragmenten, Peptiden, Enzymen, Aptameren, synthetischen Peptidstrukturen, Glycopeptiden, Oligosacchariden, Lektinen, Antigenen für Antikörper (z. B. Biotin für Streptavidin), mit zusätzlichen Bindungsstellen funktionalisierten Proteinen („Tag-Proteinen“, wie beispielsweise „Histidin-Tag-Proteinen“) und deren Komplexbildungspartnern sowie Nukleinsäuren (beispielsweise DNA, RNA, Oligonukleotiden) und Nukleinsäureanaloge (z. B. PNA) sowie deren Derivaten mit künstlichen Basen gebildet wird.

20. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 18, dadurch gekennzeichnet, dass besagte immobilisierte Bindungspartner ausgewählt sind aus der Gruppe, die von löslichen,

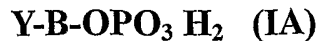
membrangebundenen und aus einer Membran isolierten Proteinen, wie beispielsweise Rezeptoren und deren Liganden, gebildet wird.

21. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 18, dadurch gekennzeichnet, dass besagte immobilisierte Bindungspartner ausgewählt sind aus der Gruppe, die von Acetylenen, Alkaloiden (beispielsweise Alkaloide mit Pyridinen, Piperidinen, Tropanen, Chinolinen, Isochinolinen, Tropilidenen, Imidazolen, Indolen, Purinen, Fenantridinen enthaltenden Ringstrukturen), Alkaloidglycosiden, Aminen, Benzofuranen, Benzophenonen, Naphthochinonen, Betainen, Kohlenhydraten (z. B. Zucker-, Stärke- und Cellulosederivaten), Carbolinen, Cardenoliden, Catecholen, Chalkonen, Cumarinen, zyklischen Peptiden und Polypeptiden, Depsipeptiden, Diketopiperazinen, Diphenylethern, Flavenen, Flavonen, Isoflavanonen, Flavonoid-Alkaloiden, Furanochinolin-Alkaloiden, Gallocatechinen, Glycosiden, Antrachinonen, Flavonoiden, Lactonen, Phenolen, Hydrochinonen, Indolen, Indolochinonen, Alginsäuren, Lipiden (zum Beispiel Ölen, Wachsen und anderen Fettsäurederivaten), Macroliden, Oligopeptiden, Oligostilbenen, Peroxiden, Phenylglycosiden, Phloroglucinen, Polyethern, "Polyether-Antibiotica", Pterocarpinen, Pyranocumarinen, Pyrrolen, Quassinen, Chinolinen, Saframycinen, Terpenen (Mono-, Di-, und Triterpenen), Sesquiterpenen, Sesquiterpen-Dimeren, Sesquiterpen-Lactonen, Sesquiterpen-Chinonen, Sesterterpenen, Staurosporinen, Steroiden (wie beispielsweise Steroid-Hormonen, Sterolen, Gallensäuren), Sulfolipiden, Tanninen (z. B. Catechol und Pyrogallol), Vitaminen, ätherischen Ölen und Xanthonen (z. B. 9-Oxoxanthenon) gebildet wird.

22. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 21, dadurch gekennzeichnet, dass die immobilisierten Bindungspartner auf einer auf dem Trägersubstrat aufgetragenen Haftvermittlungsschicht aufgetragen sind.

23. Kit nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Haftvermittlungsschicht Verbindungen umfasst aus der Gruppe von Silanen, funktionalisierten Silanen, Epoxiden, funktionalisierten, geladenen oder polaren Polymeren und "selbstorganisierten passiven oder funktionalisierten Mono- oder Mehrschichten", Alkylphosphaten und -phosphonaten, multifunktionellen Block-Copolymeren, wie beispielsweise Poly(L)lysin/Polyethylenglycolen.

24. Kit nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Haftvermittlungsschicht Verbindungen umfasst aus der Gruppe von Organophosphorsäuren der allgemeinen Formel I (A)



oder von Organophosphonsäuren der allgemeinen Formel I (B)



und deren Salzen, in denen B einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Aryl-, Aralkyl-, Hetaryl- oder Hetarylalkylrest und Y Wasserstoff oder eine funktionelle Gruppe aus der Reihe Hydroxy, Carboxy, Amino, gegebenenfalls durch Niederalkyl substituiertes Mono- oder Dialkylamino, Thiol, oder eine negative Säuregruppe aus der Reihe Ester, Phosphat, Phosphonat, Sulfat, Sulfonat, Maleimid, Succinimydyl, Epoxy oder Acrylat bedeutet, wobei an B oder Y ein biologisches, biochemisches oder synthetisch herstellbares Erkennungselement durch Additions- oder Substitutionsreaktion angedockt sein kann, wobei auch Verbindungen angelagert sein können, die der Substratoberfläche eine Resistenz gegen Proteinadsorption und/oder Zelladhäsion verleihen und in B in der Kette gegebenenfalls anstelle einer oder mehrerer $\text{-CH}_2\text{-}$ Gruppen eine oder mehrere Ethylenoxidgruppen enthalten sein können.

25. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 23, dadurch gekennzeichnet, dass die immobilisierten Bindungspartner an das freie Ende oder nahe dem freien Ende eines ganz oder teilweise funktionalisierten, „nicht interaktiven“ Polymeren gebunden sind.

26. Kit nach Anspruch 325, dadurch gekennzeichnet, dass besagtes „nicht interaktives“ Polymer als Seitenkette an ein geladenes, polyionisches Polymer als Hauptkette gebunden ist und mit diesem zusammen ein polyionisches, multifunktionales Co-Polymer bildet.

27. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 26, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat mehrere Schichten mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften umfasst.

28. Kit nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat eine Metalloxidschicht, mit Brechungsindex n_1 , auf einer darunterliegenden weiteren Schicht, mit Brechungsindex $n_2 < n_1$, umfasst.
29. Kit nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass das Metalloxid ausgewählt ist aus der Gruppe, welche TiO_2 , Ta_2O_5 oder Nb_2O_5 umfasst.
30. Kit nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat eine dünne Metallschicht, gegebenenfalls auf einer darunter befindlichen Zwischenschicht mit Brechungsindex vorzugsweise < 1.5 , wie beispielsweise Siliciumdioxid oder Magnesiumfluorid, umfasst, wobei die Dicke der Metallschicht und der eventuellen Zwischenschicht so ausgewählt ist, dass ein Oberflächenplasmon bei der Wellenlänge eines eingestrahnten Anregungslichts und / oder bei der Wellenlänge einer erzeugten Lumineszenz angeregt werden kann.
31. Kit nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass das Metall ausgewählt ist aus der Gruppe, welche Gold und Silber umfasst.
32. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 31, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat mindestens bei der Wellenlänge eines eingestrahnten Anregungslichts oder Messlichts transparent ist.
33. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 32, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat als ein durchgehender optischer Wellenleiter ausgebildet ist oder diskrete wellenleitende Bereiche umfasst.
34. Kit nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat als ein optischer Schichtwellenleiter ausgebildet ist mit einer, den Ausnehmungen der Probenbehältnisse zugewandten, ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a).
35. Kit nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite optisch transparente Schicht (b) ein Material aus der Gruppe umfasst, die von Silikaten, z. B. Glas oder Quarz,

transparenten thermoplastischen oder spritzbaren Kunststoffen, beispielsweise Polycarbonaten, Polyimiden, Acrylaten, insbesondere Polymethylmethacrylaten, oder Polystyrolen gebildet wird.

36. Kit nach einem der Ansprüche 34 - 35, dadurch gekennzeichnet, dass der Brechungsindex der ersten optisch transparenten Schicht (a) grösser als 1.8 ist.

37. Kit nach einem der Ansprüche 34 - 36, dadurch gekennzeichnet, dass die erste optisch transparente Schicht (a) ein Material aus der Gruppe von Silicium-Nitrid, TiO_2 , ZnO , Nb_2O_5 , Ta_2O_5 , HfO_2 , und ZrO_2 , besonders bevorzugt aus TiO_2 , Ta_2O_5 oder Nb_2O_5 umfasst.

38. Kit nach einem der Ansprüche 34 - 37, dadurch gekennzeichnet, dass sich zwischen den optisch transparenten Schichten (a) und (b) und in Kontakt mit Schicht (a) eine weitere optisch transparente Schicht (b') mit niedrigerem Brechungsindex als dem der Schicht (a) und einer Stärke von 5 nm - 10000 nm, vorzugsweise von 10 nm - 1000 nm, befindet.

39. Kit nach einem der Ansprüche 34 - 38, dadurch gekennzeichnet, dass besagtes Trägersubstrat zur Einkopplung von Anregungslicht oder Messlicht zu den Messbereichen eine oder mehrere Gitterstrukturen (c) als Koppelgitter umfasst, welche als Oberflächenreliefgitter in der optisch transparenten Schicht (a) moduliert sind.

40. Kit nach einem der Ansprüche 34 - 39, dadurch gekennzeichnet, dass besagtes Trägersubstrat zur Auskopplung von in der Schicht (a) geführtem Licht eine oder mehrere Gitterstrukturen (c) oder eine zweite Gruppe von einer oder mehreren Gitterstrukturen (c') als Auskoppelgitter umfasst, welche als Oberflächenreliefgitter in der optisch transparenten Schicht (a) moduliert sind, wobei Gitterstrukturen (c) und (c') gleiche oder unterschiedliche Periode haben und parallel oder nicht parallel zueinander ausgerichtet sind.

41. Kit nach einem der Ansprüche 28 - 40, dadurch gekennzeichnet, dass dieser einen Nachweis eines oder mehrerer Analyten durch Bindung in Lösung bereitgestellter

Bindungspartner an die in diskreten Messbereichen immobilisierten Bindungspartner zum Analytnachweis aufgrund einer resultierenden Änderung des effektiven Brechungsindex im Bereich dieser Messbereiche ermöglicht.

42. Kit nach Anspruch 41, dadurch gekennzeichnet, dass die zweidimensionalen Arrays von Messbereichen jeweils auf einer gemeinsamen Gitterstruktur (c) angeordnet sind.

43. Kit nach einem der Ansprüche 41 - 42, dadurch gekennzeichnet, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgebrachten, gegenüber den Analyten oder deren Nachweisstoffen „chemisch neutralen“ Komponenten einer Referenzierung dienen.

44. Kit nach einem der Ansprüche 41 - 43, dadurch gekennzeichnet, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgebrachten Komponenten als Massenlabeln (z. B. Molekülkomplexen, insbesondere aus den Erkennungslabeln und den nachzuweisenden Analyten, oder Teilchen bzw. Beads) bekannter Menge und bekannten Molekulargewichts einer Kalibration und / oder Referenzierung dienen.

45. Kit nach einem der Ansprüche 41 - 44, dadurch gekennzeichnet, dass eine oder mehrere Teilflächen innerhalb eines Arrays bzw. eines Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat, welche durch Aufbringung von gegenüber den Analyten oder deren Nachweissubstanzen „chemisch neutralen“ Komponenten „passiviert“ wurden, einer Referenzierung dienen.

46. Kit nach einem der Ansprüche 32 – 40, dadurch gekennzeichnet, dass dieser einen Nachweis eines oder mehrerer Analyten durch Bindung in Lösung bereitgestellter Bindungspartner an die in diskreten Messbereichen immobilisierten Bindungspartner zum Analytnachweis aufgrund einer resultierenden Änderung eines Lumineszenzsignals, beispielsweise von an den Analyten oder an einen seiner Bindungspartner bzw. Nachweissubstanzen gebundenen lumineszenzfähigen Molekülen, im Bereich dieser Messbereiche, ermöglicht.

47. Kit nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren (bzw. in der wellenleitenden Schicht (a) eines als optischer Wellenleiter ausgebildeten Trägersubstrats geführten) Anregungslichtintensität in jeweils einem oder mehreren Messbereichen des Arrays lumineszenzfähige, die Analyten oder deren Nachweissubstanzen nicht bindende Moleküle als Lumineszenzlabel immobilisiert sind.

48. Kit nach Anspruch 47, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) bei einer anderen Wellenlänge emittieren als solche lumineszenzfähigen Moleküle bzw. Lumineszenzlabel, welche einem Analytnachweis dienen.

49. Kit nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren (bzw. in der wellenleitenden Schicht (a) eines als optischer Wellenleiter ausgebildeten Trägersubstrats geführten) Anregungslichtintensität oder der Oberflächendichte der in einem Messbereich immobilisierten Bindungspartner in diesen Messbereichen, in denen auch besagte Bindungspartner immobilisiert sind, lumineszenzfähige Moleküle als Lumineszenzlabel aufgebracht sind.

50. Kit nach Anspruch 49, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) an die immobilisierten Bindungspartner oder an einen bekannten prozentualen Anteil dieser immobilisierten Bindungspartner gebunden sind.

51. Kit nach Anspruch 49, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) in einer Mischung, in einem bekannten Mischungsverhältnis, mit den immobilisierten Bindungspartnern in den dafür ausgewiesenen Messbereichen vorliegen.

52. Kit nach einem der Ansprüche 1 – 51, dadurch gekennzeichnet, dass dieser zusätzlich Reagentien zur Assaydurchführung umfasst.

53. Kit nach Anspruch 52, dadurch gekennzeichnet, dass besagte zusätzliche Reagentien zur Assaydurchführung ausgewählt sind aus der Gruppe, welche Assay-Puffer, Hybridisierungspuffer, Waschlösungen und Lösungen von lumineszenzmarkierten „Tracer-Proben“ (z. B. Antikörper in Immunoassays oder einzelsträngige Nukleinsäuren in Nukleinsäure-Hybridisierungsassays) sowie Lösungen zur Biokomplex-Dissoziation (z. B. sogenannte „chaotrope“ Reagentien mit einem hohen Salzgehalt / hoher Ionenstärke und / oder stark sauren Charakters zur Dissoziation von Antigen-Antikörper-Komplexen oder Harnstoff-Lösungen zur Dissoziation von hybridisierten Nukleinsäure-Strängen) umfasst.

54. Kit nach einem der Ansprüche 52 - 53, dadurch gekennzeichnet, dass besagte zusätzliche Reagentien in Behältnissen des Aufsatzkörpers integriert sind und, gegebenenfalls nach einer Benetzung, während eines Assays den Probenbehältnissen zugeführt werden.

55. Analytisches System zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen auf einem gemeinsamen, durchgehenden Trägersubstrat, umfassend

- einen Kit nach einem der Ansprüche 1 – 54
- eine Aufnahmevorrichtung zum Einsatz des von dem Trägersubstrat und dem Aufsatzkörper gebildeten Körpers, mit den in den Probenbehältnissen in zweidimensionalen Arrays von Messbereichen immobilisierten Bindungspartnern und den diesen Probenbehältnissen zugeführten Proben und gegebenenfalls zusätzlichen Reagentien
- mindestens einen Detektor zum Nachweis des von den Bereichen der Arrays und insbesondere von den Messbereichen ausgehenden Lichts.

56. Analytisches System nach Anspruch 55, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem mindestens einen Detektor um einen ortsauflösenden Detektor handelt, welcher vorzugsweise ausgewählt ist aus der Gruppe, welche CCD-Kameras, CCD-Chips, Photodioden-Arrays, Avalanche-Dioden-Arrays, Multichannel-Plates und Vielkanal-Photomultiplier umfasst.

57. Analytisches System nach einem der Ansprüche 55 – 56, zusätzlich umfassend mindestens eine Anregungslichtquelle zur Aussendung eines den Arrays und deren Messbereichen zuzuführenden Anregungs- oder Messlichts.
58. Analytisches System nach Anspruch 57, dadurch gekennzeichnet, dass dieses zusätzlich eine oder mehr Justierkomponenten zur Justierung des Einstrahlwinkels eines eingestrahlten Anregungslichts oder Messlichts zum Trägersubstrat umfasst.
59. Analytisches System nach einem der Ansprüche 57 - 58, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungslichts oder Messlichts zu den Messbereichen in einer Auflicht- oder einer Transmissionsanordnung erfolgt.
60. Analytisches System nach einem der Ansprüche 57 - 58, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungslichts oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts auf gegenüberliegenden Seiten des Trägersubstrats erfolgen.
61. Analytisches System nach einem der Ansprüche 57 - 58, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungslichts oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts auf der gleichen Seite des Trägersubstrats, vorzugsweise von der den Probenbehältnissen gegenüberliegenden Aussenseite des Trägersubstrats aus, erfolgen.
62. Analytisches System nach einem der Ansprüche 57 – 61, dadurch gekennzeichnet, dass es optische Komponenten zur Strahlaufweitung umfasst, welche ein im wesentlichen paralleles Strahlenbündel erzeugen, welches grossflächig auf die Messbereiche eingestrahlt wird.
63. Analytisches System nach einem der Ansprüche 57 – 62, dadurch gekennzeichnet, dass dieses eine Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Anregung eines Oberflächenplasmons in einer Metallschicht als Bestandteil des Trägersubstrats ermöglicht.

64. Analytisches System nach einem Anspruch 63, dadurch gekennzeichnet, dass dieses eine orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht ermöglicht.

65. Analytisches System nach einem der Ansprüche 57 – 62, dadurch gekennzeichnet, dass dieses eine Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts oder Messlichts in die wellenleitende Schicht (a) über eine Gitterstruktur (c) oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts über eine Gitterstruktur (c) oder (c') ermöglicht.

66. Analytisches System nach Anspruch 65, dadurch gekennzeichnet, dass dieses eine orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts oder Messlichts in die wellenleitende Schicht (a) über eine Gitterstruktur (c) oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts über eine Gitterstruktur (c) oder (c') ermöglicht.

67. Analytisches System nach einem der Ansprüche 57 – 62, dadurch gekennzeichnet, dass dieses eine orts aufgelöste Erfassung und Messung von Lumineszenzlicht ermöglicht, welches aus dem Bereich der Arrays, insbesondere der Messbereiche, abgestrahlt wird.

68. Verfahren zur Assay-Entwicklung und zur Durchführung einer Vielzahl von Analysen auf einem gemeinsamen, durchgehenden Trägersubstrat, dadurch gekennzeichnet, dass die auf einen oder auf mehrere Analyten zu untersuchenden Proben direkt oder nach Mischung und Inkubation mit weiteren Reagentien und gegebenenfalls weiteren Probenvorbereitungsschritten in Kontakt gebracht werden mit biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen in einem oder mehreren Probenbehältnissen, welche Bestandteile eines Kits sind, umfassend

- ein Trägersubstrat und
- einen Aufsatzkörper,

welche zusammen eine Anordnung einer Vielzahl von Probenbehältnissen, mit besagtem Trägersubstrat als Grundplatte, bilden, sowie

- eine Vielzahl immobilisierter Bindungspartner für den Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben in einem Bioaffinitätsassay,

wobei besagte Bindungspartner auf dem Trägersubstrat innerhalb der Probenbehältnisse jeweils in zweidimensionalen Arrays von diskreten Messbereichen angeordnet immobilisiert sind, wobei

- jeweils mindestens ein Messbereich eines Arrays oder eine Teilfläche innerhalb eines Arrays bzw. Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat zu einer Referenzierung vorgesehen ist und
- die Oberflächendichte der immobilisierten Bindungspartner, bezogen auf die Fläche der Messbereiche, weniger als der Oberflächendichte einer vollständigen, d.h. flächenhaften, Monoschicht besagter Bindungspartner entspricht,

dass gegebenenfalls weitere Reagentien den Probenbehältnissen zugeführt werden, dass das Trägersubstrat mit den zusammen mit einem Aufsatzkörper erzeugten, mit Proben und gegebenenfalls zusätzlichen Reagentien gefüllten Probenbehältnissen in eine Aufnahmevorrichtung eines analytischen Systems nach einem der Ansprüche 55 - 67 eingesetzt wird,

dass das von den Bereichen der Arrays in den Probenbehältnissen und insbesondere von den Messbereichen ausgehende Licht mit mindestens einem Detektor gemessen und dass die Detektorsignale von einem Speichermedium aufgezeichnet werden.

69. Verfahren nach Anspruch 68, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Vielzahl von Probenbehältnissen als ein zweidimensionales Array von Probenbehältnissen angeordnet ist.

70. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 69, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den immobilisierten Bindungspartnern um den einen oder die mehreren Analyten selbst handelt, welche in einer nativen Probenmatrix oder in einer in einem oder in mehreren Probenaufbereitungsschritten modifizierten Form der nativen Probenmatrix auf dem Trägersubstrat als Grundplatte aufgebracht sind.

71. Verfahren nach Anspruch 70, dadurch gekennzeichnet, dass die native Probenmatrix mit den darin nachzuweisenden Analyten aus der Gruppe stammt, welche Zellextrakte, Gewebeextrakte, natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin, Speichel, Gewebeflüssigkeiten, Eigelb und Eiweiss, biologische

Gewebeteile, optisch trübe Flüssigkeiten, Boden- und Pflanzenextrakte sowie Bio- und Syntheseprozessbrühen umfasst.

72. Verfahren nach einem der Ansprüche 70 – 71, dadurch gekennzeichnet, dass zum Nachweis des einen oder der mehreren immobilisierten Analyten in einem Bioaffinitätsassay biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente mit besagten immobilisierten Analyten in einem oder mehreren Messbereichen in Kontakt gebracht werden.

73. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 69, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den immobilisierten Bindungspartnern um biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren zuzuführenden Proben handelt.

74. Verfahren nach Anspruch 73, dadurch gekennzeichnet, dass die immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente in den Probenbehältnissen mit einer oder mehreren, den einen oder mehrere Analyten enthaltenden Proben und gegebenenfalls weiteren Reagentien sequentiell oder in einem einzigen Zugabeschritt, nach Mischung der einen oder mehrerer Proben mit den optionalen zusätzlichen Reagentien, in Kontakt gebracht werden.

75. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 - 74, dadurch gekennzeichnet, dass diskrete Messbereiche durch räumlich selektive Aufbringung von biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen oder von Proben, welche den einen oder die mehreren Analyten in einer nativen Probenmatrix oder in einer in einem oder in mehreren Schritten modifizierten Form der nativen Probenmatrix enthalten, auf der Oberfläche des Trägersubstrats oder auf einer zusätzlich darauf aufgebracht Haftvermittlungsschicht erzeugt werden, vorzugsweise unter Verwendung eines oder mehrerer Verfahren aus der Gruppe von Verfahren, die von "Ink jet spotting", mechanischem Spotting mittels Stift, Feder oder Kapillare, „Micro contact printing“, fluidischer Kontaktierung der Messbereiche mit den biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen durch deren Zufuhr in parallelen oder gekreuzten Mikrokanälen, unter Einwirkung von Druckunterschieden oder elektrischen

oder elektromagnetischen Potentialen sowie photochemischen oder photolithographischen Immobilisierungsverfahren gebildet wird.

76. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 75, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungs- oder Messlichts zu den Messbereichen in einer Aufsicht- oder Transmissionslichtanordnung stattfindet.

77. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 75, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungs- oder Messlichts zu den Messbereichen und die Erfassung des von den Messbereichen ausgehenden Lichts auf der gleichen Seite des Trägersubstrats, vorzugsweise von der den Probenbehältnissen gegenüberliegenden Aussenseite des Trägersubstrats aus, erfolgen.

78. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 77, dadurch gekennzeichnet, dass mithilfe geeigneter optischer Komponenten, wie beispielsweise monochromatisch emittierender Lichtquellen (z. B. Laser) oder spektral selektiver Komponenten (z. B. Interferenzfilter oder Monochromatoren) ein annähernd monochromatisches Anregungs- oder Messlicht erzeugt wird, welches zu den Messbereichen eingestrahlt wird.

79. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 77, dadurch gekennzeichnet, dass mithilfe geeigneter optischer Komponenten ein annähernd paralleles Anregungs- oder Messlichtbündel erzeugt wird, welches zu den Messbereichen eingestrahlt wird.

80. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 77, dadurch gekennzeichnet, dass mithilfe geeigneter optischer Komponenten zur Strahlaufweitung ein im wesentlichen paralleles Strahlenbündel erzeugt wird, welches grossflächig auf die Messbereiche eingestrahlt wird.

81. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 80, dadurch gekennzeichnet, dass der Nachweis des einen oder der mehreren nachzuweisenden Analyten auf der Änderung der Resonanzbedingungen zur Anregung eines Oberflächenplasmons in einer dünnen Metallschicht, als Bestandteil des Trägersubstrats, aufgrund der Bindung des einen oder der mehreren Analyten an ein biologisches oder biochemisches oder synthetisches Erkennungselement oder einen oder mehrere weitere Bindungspartner in einem

Bioaffinitätsassay, an der Oberfläche besagten Trägersubstrats, gegebenenfalls auf einer darauf aufgebracht Haftvermittlungsschicht, beruht.

82. Verfahren nach Anspruch 81, dadurch gekennzeichnet, dass die Änderung der Resonanzbedingungen in der Änderung des Resonanzwinkels eines eingestrahnten, im wesentlichen monochromatischen Anregungslichtbündels zur Flächennormalen des Trägersubstrats, zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht, besteht.

83. Verfahren nach Anspruch 81, dadurch gekennzeichnet, dass die Änderung der Resonanzbedingungen in der Änderung der Resonanzwellenlänge eines unter einem konstanten Winkel eingestrahnten, im wesentlichen parallelen Anregungslichts, zur Anregung eines Oberflächenplasmons in der Metallschicht, besteht.

84. Verfahren nach einem der Ansprüche 81 – 83, dadurch gekennzeichnet, dass mittels grossflächiger Einstrahlung eines aufgeweiteten, parallelen Anregungslichtbündels zu den Messbereichen auf dem Trägersubstrat und / oder mittels Scannen des Trägersubstrats bezüglich des Anregungslichtbündels eine orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Anregung von Oberflächenplasmonen in der Metallschicht eines Trägersubstrats erfolgt.

85. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 80, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat als ein durchgehender optischer Wellenleiter ausgebildet ist oder diskrete wellenleitende Bereiche umfasst.

86. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 - 80, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägersubstrat als ein optischer Schichtwellenleiter ausgebildet ist, mit einer, den Ausnehmungen der Probenbehältnisse zugewandten, ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a).

87. Verfahren nach Anspruch 86, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungs- oder Messlicht einer oder mehrerer Lichtquellen mittels einer oder mehrerer Gitterstrukturen (c) als Koppelgitter, welche als Oberflächenreliefgitter in der optisch transparenten

Schicht (a) moduliert sind, in die Schicht (a) eingekoppelt und zu den Messbereichen geleitet wird.

88. Verfahren nach Anspruch 86, dadurch gekennzeichnet, dass in der Schicht (a) des Trägersubstrat geführtes Licht mittels einer oder mehrerer Gitterstrukturen (c) oder mittels einer zweiten Gruppe von einer oder mehreren Gitterstrukturen (c') als Auskoppelgitter ausgekoppelt wird, welche als Oberflächenreliefgitter in der optisch transparenten Schicht (a) moduliert sind, wobei Gitterstrukturen (c) und (c') gleiche oder unterschiedliche Periode haben und parallel oder nicht parallel zueinander ausgerichtet sind.

89. Verfahren nach einem der Ansprüche 81 - 88, dadurch gekennzeichnet, dass der Nachweis des einen oder der mehreren nachzuweisenden Analyten auf der Änderung des effektiven Brechungsindex im Bereich der von den immobilisierten Bindungspartnern gebildeten, in zweidimensionalen Arrays angeordneten Messbereiche, aufgrund der Bindung des einen oder der mehreren Analyten an biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente oder an einen oder mehrere weitere Bindungspartner in einem Bioaffinitätsassay, an der Oberfläche des Trägersubstrats, gegebenenfalls auf einer darauf aufgetragenen Haftvermittlungsschicht, beruht.

90. Verfahren nach Anspruch 89, dadurch gekennzeichnet, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgetragenen, gegenüber den Analyten oder deren Nachweisstoffen bzw. Bindungspartnern „chemisch neutralen“ Komponenten einer Referenzierung dienen.

91. Verfahren nach Anspruch 89, dadurch gekennzeichnet, dass innerhalb der Arrays jeweils ein oder mehrere Messbereiche mit dort aufgetragenen Komponenten als Massenlabeln (z. B. Molekülkomplexen, insbesondere aus den Erkennungslabeln und den nachzuweisenden Analyten, oder Teilchen bzw. Beads) bekannter Menge und bekannten Molekulargewichts einer Kalibration und / oder Referenzierung dienen.

92. Verfahren nach Anspruch 89, dadurch gekennzeichnet, dass eine oder mehrere Teilflächen innerhalb eines Arrays bzw. eines Probenbehältnisses auf dem Trägersubstrat,

welche durch Aufbringung von gegenüber den Analyten oder deren Nachweissubstanzen „chemisch neutralen“ Komponenten „passiviert“ wurden, einer Referenzierung dienen.

93. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 80, dadurch gekennzeichnet, dass der Nachweis des einen oder der mehreren nachzuweisenden Analyten auf der Änderung eines Lumineszenzsignals, beispielsweise von an den Analyten oder an einen seiner Bindungspartner bzw. Nachweissubstanzen gebundenen lumineszenzfähigen Molekülen als Lumineszenzlabeln, aufgrund der Bindung des einen oder der mehreren Analyten an ein biologisches oder biochemisches oder synthetisches Erkennungselement oder einen oder mehrere weitere Bindungspartner in einem Bioaffinitätsassay, an der Oberfläche besagten Trägersubstrats, gegebenenfalls auf einer darauf aufgebracht Haftvermittlungsschicht, beruht.

94. Verfahren nach Anspruch 93, dadurch gekennzeichnet, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren Anregungslichtintensität in jeweils ein oder mehreren Messbereichen des Arrays lumineszenzfähige, die Analyten oder deren Nachweissubstanzen nicht bindende Moleküle oder lumineszente Nanopartikel als Lumineszenzlabel immobilisiert sind.

95. Verfahren nach Anspruch 94, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) bei einer anderen Wellenlänge emittieren als solche lumineszenzfähigen Moleküle bzw. Lumineszenzlabel, welche einem Analytnachweis dienen.

96. Verfahren nach Anspruch 93, dadurch gekennzeichnet, dass zur Referenzierung der im Bereich eines Arrays verfügbaren Anregungslichtintensität oder der Oberflächendichte der in einem Messbereich als Bindungspartner immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente in diesen Messbereichen, in denen auch besagte Erkennungselemente immobilisiert sind, lumineszenzfähige Moleküle als Lumineszenzlabel aufgebracht sind.

97. Verfahren nach Anspruch 96, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) an die immobilisierten biologischen oder

biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente oder an einen bekannten prozentualen Anteil dieser immobilisierten Erkennungselemente gebunden sind.

98. Verfahren nach Anspruch 96, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Lumineszenzlabel (benutzt für Zwecke einer Referenzierung) in einer Mischung, in einem bekannten Mischungsverhältnis mit den immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen in den dafür ausgewiesenen Messbereichen vorliegen.

99. Verfahren nach einem der Ansprüche 93 - 98, dadurch gekennzeichnet, dass besagtes Trägersubstrat als optischer Schichtwellenleiter ausgebildet ist mit einer ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a), dass weiterhin Anregungslicht mithilfe einer oder mehrerer Gitterstrukturen, welche in der optisch transparenten Schicht (a) ausgeprägt sind, in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelt und zu darauf befindlichen Messbereichen als geführte Welle geleitet wird, und dass weiterhin die im evaneszenten Feld besagter geführter Welle erzeugte Lumineszenz von lumineszenzfähigen Molekülen mit einem oder mehreren Detektoren erfasst und die relative Konzentration oder Menge eines oder mehrerer Analyten aus der Intensität dieser Lumineszenzsignale bestimmt wird.

100. Verfahren nach Anspruch 99, dadurch gekennzeichnet, dass (1) die isotrop abgestrahlte Lumineszenz oder (2) in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelte und über die Gitterstruktur (c) ausgekoppelte Lumineszenz oder Lumineszenzen beider Anteile (1) und (2) gleichzeitig gemessen werden.

101. Verfahren nach einem der Ansprüche 93 - 100, dadurch gekennzeichnet, dass neben der Bestimmung einer oder mehrerer Lumineszenzen Änderungen des effektiven Brechungsindex auf den Messbereichen bestimmt werden.

102. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 - 101 zur gleichzeitigen und / oder sequentiellen, quantitativen und / oder qualitativen Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe, die von Proteinen, beispielsweise mono- oder polyklonalen Antikörpern und Antikörperfragmenten, Peptiden, Enzymen, Aptameren, synthetischen

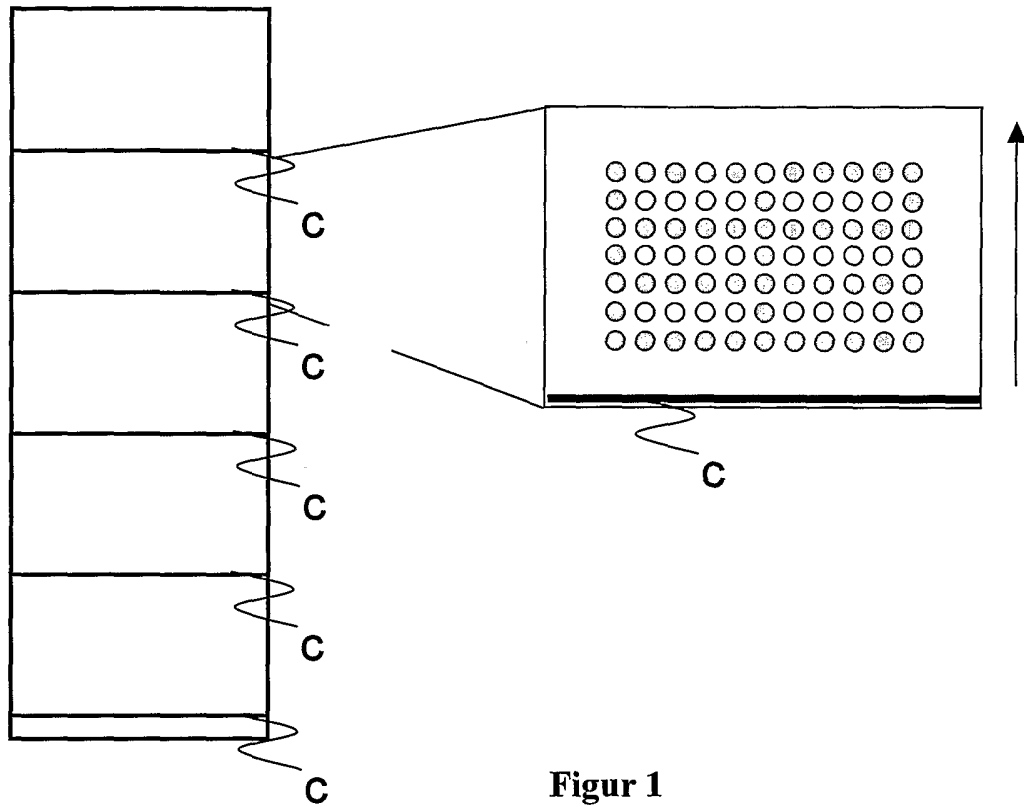
Peptidstrukturen, Glycopeptiden, Oligosacchariden, Lektinen, Antigenen für Antikörper (z. B. Biotin für Streptavidin), mit zusätzlichen Bindungsstellen funktionalisierten Proteinen („Tag-Proteinen“, wie beispielsweise „Histidin-Tag-Proteinen“) und deren Komplexbildungspartnern, Nukleinsäuren (beispielsweise DNA, RNA, Oligonukleotiden) und Nukleinsäureanalogen (z. B. PNA) sowie deren Derivaten mit künstlichen Basen, und von löslichen, membrangebundenen und aus einer Membran isolierten Proteinen, wie beispielsweise Rezeptoren und deren Liganden, gebildet wird.

103. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 – 101 zur gleichzeitigen und / oder sequentiellen, quantitativen und / oder qualitativen Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe, die von Acetylenen, Alkaloiden (beispielsweise Alkaloide mit Pyridinen, Pyperidinen, Tropanen, Chinolinen, Isochinolinen, Tropolidenen, Imidazolen, Indolen, Purinen, Fenantridinen enthaltenden Ringstrukturen), Alkaloidglycosiden, Aminen, Benzofuranen, Benzophenonen, Naphthochinonen, Betainen, Kohlenhydraten (z. B. Zucker-, Stärke- und Cellulosederivaten), Carbolinen, Cardenoliden, Catecholen, Chalkonen, Cumarinen, zyklischen Peptiden und Polypeptiden, Depsipeptiden, Diketopiperazinen, Diphenylethern, Flavenen, Flavonen, Isoflavanonen, Flavonoid-Alkaloiden, Furanochinolin-Alkaloiden, Gallocatechinen, Glycosiden, Antrachinonen, Flavonoiden, Lactonen, Phenolen, Hydrochinonen, Indolen, Indolochinonen, Alginsäuren, Lipiden (zum Beispiel Ölen, Wachsen und anderen Fettsäurederivaten), Macroliden, Oligopeptiden, Oligostilbenen, Peroxiden, Phenylglycosiden, Phloroglucinen, Polyethern, „Polyether-Antibiotica“, Pterocarpinen, Pyranocumarinen, Pyrrolen, Quassinen, Chinolinen, Saframycinen, Terpenen (Mono-, Di-, und Triterpenen), Sesquiterpenen, Sesquiterpen-Dimeren, Sesquiterpen-Lactonen, Sesquiterpen-Chinonen, Sesterterpenen, Staurosporinen, Steroiden (wie beispielsweise Steroid-Hormonen, Sterolen, Gallensäuren), Sulfolipiden, Tanninen (z. B. Catechol und Pyrogallol), Vitaminen, ätherischen Ölen und Xanthonen (z. B. 9-Oxoxanthenon) gebildet wird.

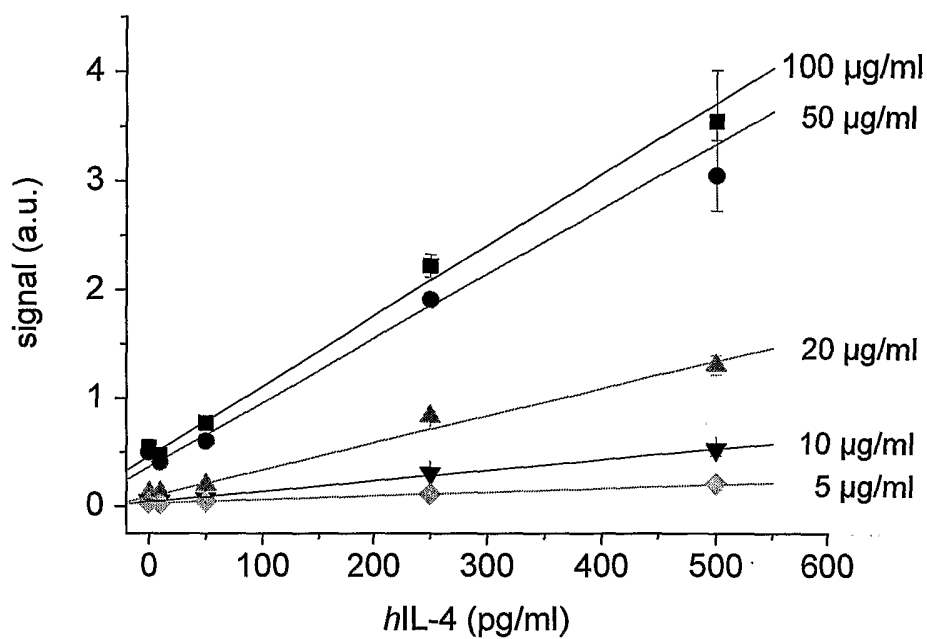
104. Verfahren nach einem der Ansprüche 68 - 103, dadurch gekennzeichnet, dass die zu untersuchenden Proben natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten, wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin oder Gewebeflüssigkeiten, oder Eigelb oder optisch trübe Flüssigkeiten oder Oberflächenwasser oder gelöste Boden- oder Pflanzenextrakte oder

Bio- oder Syntheseprozessbrühen sind oder aus biologischen Gewebeteilen entnommen sind.

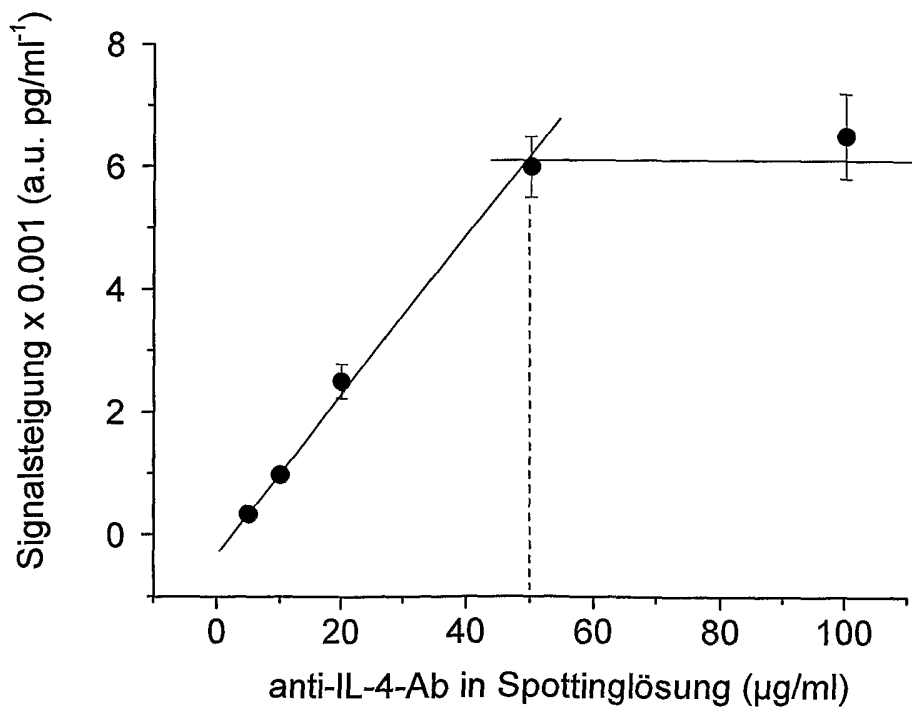
105. Verwendung eines Kits nach einem der Ansprüche 1 – 54 und / oder eines analytischen Systems nach einem der Ansprüche 55 –67 und / oder eines analytischen Verfahrens nach einem der Ansprüche 68 – 104 zu quantitativen und / oder qualitativen Analysen zur Bestimmung chemischer, biochemischer oder biologischer Analyten in Screeningverfahren in der Pharmaforschung, der Kombinatorischen Chemie, der Klinischen und Präklinischen Entwicklung, zu Echtzeitbindungsstudien und zur Bestimmung kinetischer Parameter im Affinitätsscreening und in der Forschung, zu qualitativen und quantitativen Analytbestimmungen, insbesondere für die DNA- und RNA-Analytik und die Bestimmung von genomischen oder proteomischen Unterschieden im Genom, wie beispielsweise Einzelnukleotid-Polymorphismen, zur Messung von Protein-DNA-wechselwirkungen, zur Bestimmung von Steuerungsmechanismen für die m-RNA-Expression und für die Protein(bio)synthese, für die Erstellung von Toxizitätsstudien sowie für die Bestimmung von Expressionsprofilen, insbesondere zur Bestimmung von biologischen und chemischen Markerstoffen, wie mRNA, Proteinen, Peptiden oder niedermolekularen organischen (Boten-)Stoffen, sowie zum Nachweis von Antikörpern, Antigenen, Pathogenen oder Bakterien in der pharmazeutischen Produktforschung und -entwicklung, der Human- und Veterinärmedizin, der Agrochemischen Produktforschung und -entwicklung, der symptomatischen und präsymptomatischen Pflanzendiagnostik, zur Patientenstratifizierung in der pharmazeutischen Produktentwicklung und für die therapeutische Medikamentenauswahl, zum Nachweis von Pathogenen, Schadstoffen und Erregern, insbesondere von Salmonellen, Prionen, Viren und Bakterien, insbesondere in der Lebensmittel- und Umweltanalytik.



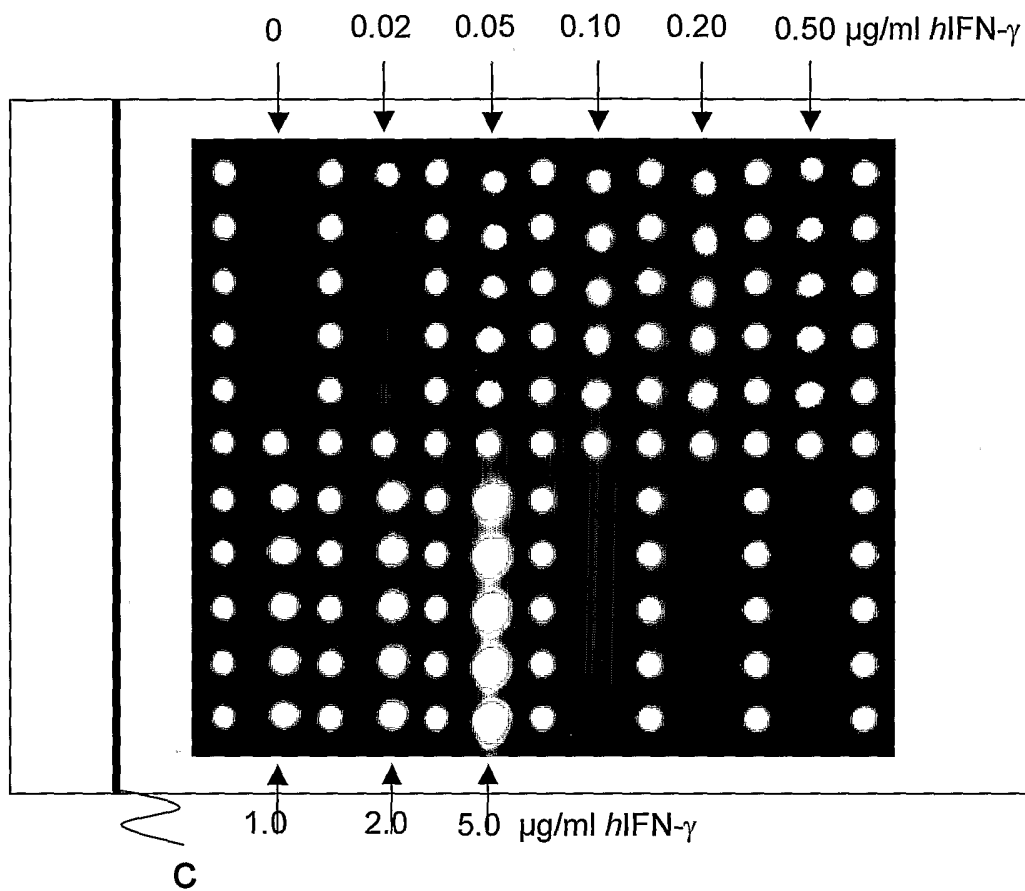
Figur 1



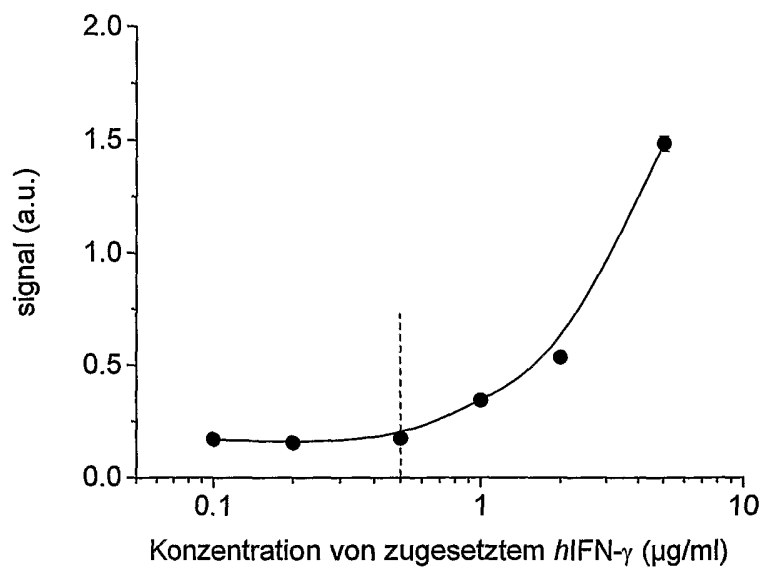
Figur 2



Figur 3



Figur 4



Figur 5.