

(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
2. August 2001 (02.08.2001)

PCT

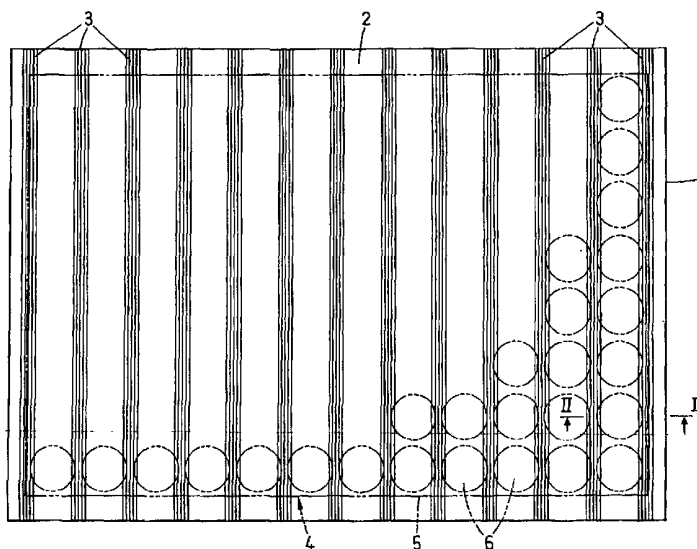
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/55691 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N (72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DUVENECK, Gert [DE/DE]; Ezmattenweg 34, 79189 Bad Krozingen (DE). PAWLAK, Michael [DE/DE]; Andelsbachstrasse 5, 79725 Laufenburg (DE). MAISENHÖLDER, Bernd [DE/CH]; Schindlersteig 1, CH-8006 Zürich (CH). EDLINGER, Johannes [AT/AT]; Letzestrasse 1, A-6820 Frastanz (AT). HEINE, Claus [DE/CH]; Rabengasse 10, CH-7000 Chur (CH).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/00782
- (22) Internationales Anmeldedatum:
25. Januar 2001 (25.01.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
2000 0160/00 27. Januar 2000 (27.01.2000) CH (74) Gemeinsamer Vertreter: ZEPTOSENS AG; Benkenstrasse 254, CH-4108 Witterswil (CH).
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): ZEPTOSENS AG [CH/CH]; Benkenstrasse 254, CH-4108 Witterswil (CH). (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, 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, NO, NZ, PL,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: WAVEGUIDE PLATE AND SENSOR PLATFORMS BASED THEREON, ARRANGEMENTS OF SAMPLE CONTAINERS AND DETECTION METHODS

(54) Bezeichnung: WELLENLEITERPLATTE SOWIE DARAUF BASIERENDE SENSORPLATTFORMEN, ANORDNUNGEN VON PROBENBEHÄLTNISSSEN UND NACHWEISVERFAHREN



(57) Abstract: The invention relates to a waveguide plate comprised of a glass substrate (1) covered with a waveguide layer. The waveguide plate is provided with consecutive interspaced coupler grating strips with which the coupling angle varies in a linearly parallel manner by no greater than $0.1^\circ/\text{cm}$, preferably by no greater than $0.05^\circ/\text{cm}$. The deviation from its mean value over the entire waveguide plate is no greater than 0.3° , preferably no greater than 0.15° . The waveguide plate is suited as a component of a sensor platform and of an arrangement of sample containers for examinations carried out by chemical or biological analysis. The invention also relates to different embodiments of a sensor platform based on the inventive waveguide plate, to methods based on this sensor platform which are provided for detecting one or more analytes, and to the use thereof.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



WO 01/55691 A2



PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

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

Veröffentlicht:

— 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.

(57) Zusammenfassung: Eine Wellenleiterplatte aus einem mit einer Wellenleiterschicht bedeckten Glassubstrat (1) weist mit Abstand aufeinanderfolgende Koppelgitterstreifen auf, bei welchen sich der Koppelwinkel linienparallel um höchstens $0,1^\circ/\text{cm}$, vorzugsweise höchstens $0,05^\circ/\text{cm}$ ändert. Die Abweichung von seinem Mittelwert beträgt über die gesamte Wellenleiterplatte höchstens $0,3^\circ$, vorzugsweise höchstens $0,15^\circ$. Sie eignet sich als Bestandteil einer Sensorplattform und einer Anordnung von Probenbehältnissen für chemo- und bioanalytische Untersuchungen. Die Erfindung betrifft auch verschiedene Ausführungsformen einer auf der erfindungsgemässen Wellenleiterplatte basierenden Sensorplattform sowie auf dem Einsatz dieser Sensorplattform basierende Verfahren zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten und deren Verwendung.

**WELLENLEITERPLATTE SOWIE DARAUF BASIERENDE SENSORPLATT-
FORMEN, ANORDNUNGEN VON PROBENBEHÄLTNISSEN UND
NACHWEISVERFAHREN**

Die Erfindung betrifft eine Wellenleiterplatte und verschiedene Ausführungsformen einer
5 auf einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte basierenden Sensorplattform sowie
Anordnungen von Probenbehältnissen mit einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte
oder Sensorplattform als einer Begrenzungsfläche besagter Anordnung von Probenbehält-
nissen. Die Erfindung betrifft ausserdem auf dem Einsatz dieser Wellenleiterplatte oder
Sensorplattform basierende optische Systeme und Verfahren zum Nachweis eines oder
10 mehrerer Analyten und deren Verwendung, z. B. für analytische Zwecke im biochemi-
schen und medizinischen Bereich.

Aus der US-A-5 675 691 ist eine gattungsgemässe Wellenleiterplatte bekannt, bei der
Koppelgitter hergestellt werden, indem auf ein Substrat aus Glas, insbesondere Quarzglas,
15 Keramik oder vorwiegend organischem Material eine Wellenleiterschicht aus TiO_2 ,
 Ta_2O_5 , HfO_2 , Y_2O_3 , Al_2O_3 , Nb_2O_5 , Nitrid oder Oxynitrid von Al, Si oder Hf aufgebracht
wird, wobei eine Zwischenschicht von 20 nm Dicke z. B. aus SiO_2 vorgesehen sein kann,
und durch Ablation oder Veränderung des Brechungsindex mittels Belichtung durch zwei
überlagerte Strahlen eines Excimer-Lasers oder durch einen von einer Maske modifizier-
20 ten Strahl besagte Koppelgitter strukturiert werden. Stattdessen kann auch eine Zwischen-
schicht, z. B. aus TiO_2 , bei der die Ablationsschranke tiefer liegt, strukturiert werden, die
entweder auf die Wellenleiterschicht oder direkt auf das Substrat aufgebracht und in
letzterem Fall nach der Strukturierung mit der Wellenleiterschicht überlagert wird. Die
Gitterkonstanten liegen beispielsweise bei 375 nm oder 440 nm. Die Gitterfläche ist frei
25 wählbar und kann z. B. 1 mm \times 1 mm oder 8 mm \times 8 mm betragen.

Aus US-A-5 822 472 ist eine Wellenleiterplatte für chemische Analysen bekannt, die auf
einem Träger aus Kunststoff, Glas oder Quarz eine Wellenleiterschicht von 40 nm bis
160 nm Dicke aus TiO_2 , ZnO , Nb_2O_5 , Ta_2O_5 , HfO_2 oder ZrO_2 trägt. Dazwischen kann
eine Zwischenschicht aus nicht lumineszierendem Material von niedrigem Brechungs-

index, z. B. Quarz von beispielsweise 100 nm Dicke angeordnet sein, die zugleich als Haftvermittler dient. Es sind ein Einkoppelgitter und ein Auskoppelgitter vorgesehen, welche mit bekannten photolithographischen oder holographischen und Aetzverfahren entweder im Träger oder in der Wellenleiterschicht angelegt sind und eine Gitterkonstante
5 von zwischen 200 nm und 1'000 nm aufweisen. Die Gitter können Dimensionen von 2 mm (linienparallel) \times 4 mm aufweisen bei einer Gesamtfläche der Wellenleiterplatte von 12 mm \times 20 mm.

Aus J. Dübendorfer, R. E. Kunz: 'Compact integrated optical immunosensor using replicated chirped grating coupler sensor chips', Applied Optics 37/10 (1. 4. 1998) ist
10 eine Wellenleiterplatte bekannt mit einer Trägerplatte aus Polycarbonat, in welche ein moduliertes Einkoppelgitter mit zwischen 420 nm und 422,8 nm variierender Gitterkonstante und ein Auskoppelgitter mit zwischen 595,1 nm und 600,8 nm variierender Gitterkonstante eingeprägt wurde. Anschliessend wurde mittels Niedertemperatur-DC-Magnetron-Sputterns eine Wellenleiterschicht aus TiO₂ mit einer Dicke von 137 nm und
15 einem Brechungsindex von 2,346 aufgebracht und schliesslich die Wellenleiterplatte silanisiert. Der Einkoppelwinkel liegt bei -9,5°, der Auskoppelwinkel bei 22,5°.

US-A-5 738 825 ist eine Mikrotiterplatte entnehmbar, an deren Unterseite eine Wellenleiterschicht von 20 nm bis 1'000 nm, vorzugsweise 30 nm bis 500 nm Dicke aus TiO₂, Ta₂O₅, HfO₂, ZrO₂, SiO₂, Si₃N₄, Al₂O₃, Nb₂O₅, Nitrid oder Oxynitrid von Al, Si oder Hf
20 angebracht und von einer Kunststoffschicht bedeckt ist. Unterhalb jeder Kavität sind Einkoppel- und Auskoppelgitter angebracht. Die Gitter weisen eine Gitterkonstante von zwischen 330 nm und 1'000 nm, insbesondere ca. 400 nm bis 800 nm auf und sind mit lithographischen oder mechanischen Methoden hergestellt.

Aus der CH-A-688 165 ist eine Wellenleiterplatte bekannt mit einem Substrat aus Kunststoff, z. B. Polycarbonat, dessen Oberfläche mechanisch - durch Tiefziehen, Prägen oder beim Spritzgiessen desselben - strukturiert, insbesondere mit einem Koppelgitter versehen wurde und eine durch ein PVD-Verfahren aufgebrachte Wellenleiterschicht aus TiO₂, Ta₂O₅, ZrO₂, Al₂O₃, SiO₂-TiO₂, HfO₂, Y₂O₃, Nb₂O₅, Siliziumnitrid, Oxinitrid, SiO_xN_y, HfO_xN_y, AlO_xN_y, TiO_xN_y, MgF₂ oder CaF₂ trägt. Zur Verminderung der Dämpfungsverluste ist eine vor der Wellenleiterschicht auf das Substrat aufgebrachte ca. 20 nm dicke
30

Zwischenschicht aus einem anorganischen dielektrischen Material wie SiO_2 vorgesehen, die zugleich als Haftvermittler dient.

Alle oben beschriebenen Wellenleiterplatten sind nach Verfahren hergestellt, mit denen keine befriedigende Gleichmässigkeit des Koppelgitters zu erzielen ist, so dass der Koppelwinkel verhältnismässig stark schwankt. Dies führt dazu, dass beim Gebrauch die relative Winkellage des Belichtungsgeräts und der Wellenleiterplatte bei jedem Schritt aufwendig optimiert werden muss. Einige der beschriebenen Herstellungsverfahren sind auch sehr aufwendig oder gestatten keine sehr grossen Stückzahlen bei gleichbleibender Qualität.

- 10 Aus EP-A-0 602 829 ist ein Verfahren zur Herstellung einer Gitterstruktur auf einem Substrat z. B. für einen DBR-Halbleiterlaser bekannt, bei welchem zuerst eine Phasenmaske hergestellt wird und anschliessend das Substrat, z. B. InP, unter dem Lithrowinkel durch die Phasenmaske hindurch belichtet wird. Die Belichtung kann mittels einer Hg-Xe-Bogenlampe mit einem Durchmesser der Lichtquelle von 0,25 mm erfolgen, wobei drei Linien von um 365 nm Wellenlänge herausgefiltert werden. Das Substrat befindet sich im Nahfeld der Phasenmaske, d. h. in einer Entfernung von höchstens 10 μm .

- Zur Herstellung der Phasenmaske wird ein Quarzsubstrat mit drei Schichten, einer Photoresistschicht, einer dünnen Germaniumschicht und schliesslich einer Schicht eines elektronenstrahlempfindlichen Resist bedeckt. Anschliessend wird die oberste Schicht durch Elektronenstrahlschreiben, Entwicklung der obersten Schicht und Entfernen der nichtbelichteten Teile strukturiert. Die Struktur wird durch reaktives Ionenätzen, zuerst mit CF_3Br und dann O_2 auf die darunterliegenden Schichten übertragen und schliesslich durch einen weiteren Schritt reaktiven Ionenätzens auf das Quarzsubstrat selbst übertragen, worauf die Reste der Schichten entfernt werden. Die Gitterkonstante kann z. B. zwischen 190 nm und 250 nm liegen. Die Phasenmaske kann mehrere Zentimeter lang sein und das Gitter kann sich über ihre ganze Länge erstrecken. Die Länge der Linien beträgt allerdings in der Regel nur 5-20 μm . Grössere Längen sind möglich, erfordern aber sehr lange Bearbeitungszeiten. In der Praxis sind Gitter von mehr als 1 mm^2 kaum

mit vernünftigem Aufwand und guter Genauigkeit herzustellen. Insbesondere sind Versetzungsfehler beim Elektronenstrahlschreiben nicht zu vermeiden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, eine Wellenleiterplatte bereitzustellen,
5 welche mit geringem Aufwand durchführbare rasche Analysen gestattet. Diese Aufgabe wird durch eine erfindungsgemässe Wellenleiterplatte mit einem plattenförmigen Glassubstrat (1), welches eine Wellenleiterschicht (2) trägt, mit, auf der die Wellenleiterschicht (2) tragenden Oberfläche, mindestens einem Koppelgitter, welches als Linien-
10 gitter mit einer Periode zwischen 150 nm und 1'000 nm ausgebildet ist, dessen Ausdehnung linienparallel mindestens 5 cm beträgt, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Koppelwinkel (Θ) entlang der Linie um höchstens $0,1^\circ/\text{cm}$ ändert und der Absolutbetrag der Abweichung des Koppelwinkels (Θ) von einem Sollwert auf der Wellenleiterplatte $0,5^\circ$ nicht überschreitet.

Ausserdem sollen eine auf einer solchen Wellenleiterplatte beruhende Sensorplattform
15 sowie Anordnung von Probenbehältnissen bereitgestellt werden. Diese Aufgaben werden durch die nachfolgend beschriebenen Ausführungsformen von Sensorplattformen und Anordnungen von Probenbehältnissen gelöst.

Durch die auch bei grossen Gitterlängen engen Grenzen, innerhalb welcher der Koppelwinkel schwankt, ist es möglich, grössere Teile der Wellenleiterplatte oder Sensorplattform
20 form und Anordnung von Probenbehältnissen gleichzeitig zu belichten, d.h. Anregungslicht dort hinzuführen, und auszulesen, d.h. das von dort ausgehende Licht mit einem oder mehreren Detektoren zu erfassen. Auch nacheinander erfolgende Belichtungen verschiedener Teile der Wellenleiterplatte oder Sensorplattform und Anordnung von Probenbehältnissen sind vereinfacht, da eine Neuoptimierung der relativen Winkellage derselben und
25 der Belichtungseinheit nicht erforderlich oder jedenfalls sehr erleichtert ist.

Des weiteren liegt der Erfindung die Aufgabe zu Grunde, ein Verfahren zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben bereitzustellen, welches die Bestimmung einer Vielzahl von Proben innerhalb kurzer Zeit, d. h. wirtschaftlich günstig,

und ohne die Notwendigkeit zusätzlicher aufwendiger Systemjustierungen zwischen aufeinanderfolgenden Einzelmessungen erlaubt. Dieses wird erfindungsgemäss ermöglicht durch die Anlage grosser, insbesondere linienparallel langer Gitter mit grosser Präzision, was zugleich Gestaltungsfreiheit bezüglich der Anordnung der Gitter gibt und
5 dabei einfach und wirtschaftlich ist.

Erster Gegenstand der Erfindung ist eine Wellenleiterplatte mit einem plattenförmigen Glassubstrat (1), welches eine Wellenleiterschicht (2) trägt, mit, auf der die Wellenleiterschicht (2) tragenden Oberfläche, mindestens einem Koppelgitter, welches als Liniengitter mit einer Periode zwischen 150 nm und 1'000 nm ausgebildet ist, dessen
10 Ausdehnung linienparallel mindestens 5 cm beträgt, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Koppelwinkel (Θ) entlang der Linie um höchstens $0,1^\circ/\text{cm}$ ändert und der Absolutbetrag der Abweichung des Koppelwinkels (Θ) von einem Sollwert auf der Wellenleiterplatte $0,5^\circ$ nicht überschreitet.

Dabei wird bevorzugt, dass die Ausdehnung des Koppelgitters entlang der Linie
15 mindestens 1 cm beträgt.

Ausserdem wird bevorzugt, dass sich der Koppelwinkel (Θ) entlang der Linie um höchstens $0,05^\circ/\text{cm}$ ändert.

Es wird weiterhin bevorzugt, dass der Absolutbetrag der Abweichung des Koppelwinkels (Θ) von seinem Mittelwert auf der Wellenleiterplatte $0,3^\circ$, vorzugsweise $0,15^\circ$ nicht
20 überschreitet.

Der Brechungsindex der Wellenleiterschicht (2) liegt vorzugsweise zwischen 1.65 und 2.80. Die Wellenleiterschicht (2) kann beispielsweise aus Ta_2O_5 , Nb_2O_5 , TiO_2 , ZrO_2 , Al_2O_3 , $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$, HfO_2 , Y_2O_3 , SiO_xN_y , Si_3N_4 , HfO_xN_y , AlO_xN_y , TiO_xN_y , MgF_2 oder CaF_2 bestehen. Die Dicke der Wellenleiterschicht (2) beträgt bevorzugt zwischen 50 nm
25 und 200 nm. Es ist vorteilhaft, wenn das das Nut-Steg-Verhältnis des mindestens einen Koppelgitters zwischen 0,3:1 und 3:1, vorzugsweise zwischen 0,7:1 und 1,5:1 liegt. Ausserdem wird bevorzugt, dass die Gittertiefe des mindestens einen Koppelgitters zwischen 5 nm und 75 nm liegt.

Für viele Anwendungen ist es vorteilhaft, wenn das mindestens eine Koppelgitter nur einen Teil der Oberfläche der Wellenleiterplatte bedeckt, während ein verbleibender Teil frei bleibt. Dabei wird insbesondere bevorzugt, dass die Wellenleiterplatte mindestens ein Koppelgitter aufweist, das als Koppelgitterstreifen (3) ausgebildet ist, der sich

5 linienparallel im wesentlichen über die ganze Breite oder Länge der Wellenleiterplatte erstreckt. Vorzugsweise sind dabei mehrere Koppelgitterstreifen (3) mit Abstand parallel zueinander angeordnet.

Die erfindungsgemässe Wellenleiterplatte kann vielfach abgewandelt werden, ohne dass der Grundgedanke der Erfindung verlassen würde. Beispielsweise können auch variable

10 Gitter mit z. B. linear veränderlichem Linienabstand hergestellt werden und als Koppelgitter auf der Wellenleiterplatte angeordnet sein.

Auch bezüglich der Anordnung der Koppelgitter gibt es weitere mögliche Ausführungsformen der erfindungsgemässen Wellenleiterplatte, welche vorteilhaft für spezifische Applikationen sein können.

15 Beispielsweise müssen mehrere Koppelgitter einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte nicht parallel, sondern können beispielsweise auch senkrecht zueinander angeordnet sein. Es können auch zwei oder mehrere Koppelgitter einander überlagert sein. Für viele Anwendungen wird es bevorzugt, dass die Koppelgitter monodiffraktiv sind; für spezifische Anwendungen jedoch, beispielsweise zur Einkopplung von Anregungslicht unterschied-

20 licher Wellenlängen von mehreren Lichtquellen in die Wellenleiterschicht (2), kann es vorteilhaft sein, wenn ein oder mehrere Koppelgitter multidiffraktiv sind.

Eine bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemässen Wellenleiterplatte ist dadurch gekennzeichnet, dass ein Koppelgitter im wesentlichen die ganze Oberfläche der Wellenleiterplatte bedeckt. Hierunter ist zu verstehen, dass in dieser bevorzugten Ausführungs-

25 form beispielsweise Randgebiete der Wellenleiterplatte oder / und Gebiete zwischen grösseren mit einem Koppelgitter versehenen Bereichen (mit einer Fläche in der Grössenordnung von Quadratzentimetern) frei von Koppelgittern sein können.

Die erfindungsgemässe Wellenleiterplatte ist dadurch gekennzeichnet, dass darauf angeordnete Koppelgitter der Einkopplung von Anregungslicht von ein oder mehreren Lich-

tquellen in die Wellenleiterschicht (2) und / oder der Auskopplung von in der Wellenleiterschicht (2) geführtem Licht dienen.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine spezielle Sensorplattform enthaltend eine Wellenleiterplatte nach einer der genannten Ausführungsformen, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass direkt auf der Wellenleiterschicht (2) oder auf einer zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragenen Haftvermittlungsschicht biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente zur spezifischen Erkennung und / oder Bindung eines oder mehrerer Analyten und / oder zur spezifischen Wechselwirkung mit besagten Analyten immobilisiert sind.

10 Dabei wird bevorzugt, dass eine Vielzahl gleicher oder unterschiedlicher, biologischer oder biochemischer oder synthetischer Erkennungselemente in mindestens einem Array diskreter Messbereiche direkt auf der Wellenleiterschicht (2) oder auf einer zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragenen Haftvermittlungsschicht immobilisiert ist.

15 Im Sinne der vorliegenden Erfindung sollen räumlich getrennte („diskrete“) Messbereiche durch die geschlossene Fläche definiert werden, die dort immobilisierte biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente zur Erkennung eines Analyten aus einer flüssigen Probe einnehmen. Diese Flächen können dabei eine beliebige Geometrie, beispielsweise die Form von Punkten, Kreisen, Rechtecken, Dreiecken, Ellipsen oder Streifen, haben.

20 Eine gegebenenfalls auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragene Haftvermittlungsschicht sollte, ebenso wie die Wellenleiterschicht (2) und das Glassubstrat (1), wenigstens im spektralen Bereich eines eingestrahnten Anregungslichts und gegebenenfalls eines nachzuweisenden Lumineszenzlichts, transparent sein. Dabei kann sich der genannte transparente Spektralbereich zwischen dem Ultravioletten und dem Infraroten befinden.

25 Mit dem Begriff „Lumineszenz“ wird hierin die spontane Emission von Photonen im ultravioletten bis infraroten Bereich nach optischer oder nichtoptischer, wie beispielsweise elektrischer oder chemischer oder biochemischer oder thermischer Anregung, bezeichnet. Beispielsweise sind Chemilumineszenz, Biolumineszenz, Elektrolumineszenz

und insbesondere Fluoreszenz und Phosphoreszenz unter dem Begriff "Lumineszenz" mit eingeschlossen.

Die Haftvermittlungsschicht sollte nicht über die Eindringtiefe des evaneszenten Feldes aus der Wellenleiterschicht (2) in das darüber liegende Medium hinausragen. Sie kann
5 beispielsweise eine Dicke von weniger als 200 nm, besonders bevorzugt von weniger als 20 nm haben.

Eine auf der Wellenleiterschicht (2) aufgebrachte Haftvermittlungsschicht umfasst vorzugsweise eine chemische Verbindung aus den Gruppen, die Silane, funktionalisierte Silane, Epoxide, funktionalisierte, geladene oder polare Polymere und "selbstorganisierte
10 passive oder funktionalisierte Mono- oder Mehrfachsichten" umfassen.

Bevorzugt wird eine Ausführungsform einer erfindungsgemässen Sensorplattform, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass als besagte biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente direkt auf der Wellenleiterschicht (2) oder oder auf einer zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgebrachten Haftvermittlungsschicht
15 Komponenten aus der Gruppe immobilisiert sind, die von Nukleinsäuren (beispielsweise DNA, RNA, Oligonukleotiden) und Nukleinsäureanalogen (z. B. PNA, „peptide nucleic acids“), Proteinen, insbesondere mono- oder polyklonalen Antikörpern, Peptiden, Enzymen, Aptameren, synthetischen Peptidstrukturen, löslichen, membrangebundenen und aus einer Membran isolierten Proteinen, wie beispielsweise Membranrezeptoren,
20 deren Liganden, Antigenen für Antikörper, "Histidin-Tag-Komponenten" und deren Komplexbildungspartnern, durch chemische Synthese erzeugten Aushöhlungen zur Aufnahme molekularer Imprints, etc. gebildet wird.

Unter der letztgenannten Art von Erkennungselementen sind Aushöhlungen zu verstehen, die in einem Verfahren hergestellt werden, welches als "molecular imprinting" in der
25 Literatur beschrieben wurde. Dazu wird, meistens in organischer Lösung, der Analyt oder ein Analogon des Analyten, in einer Polymerenstruktur eingekapselt. Man bezeichnet ihn dann als "Imprint". Dann wird der Analyt oder sein Analogon unter Zugabe geeigneter Reagentien aus der Polymerenstruktur wieder herausgelöst, so dass er dort eine leere Aushöhlung zurücklässt. Diese leere Aushöhlung kann dann als eine Bindungsstelle mit
30 hoher sterischer Selektivität in einem späteren Nachweisverfahren eingesetzt werden.

Es ist auch möglich, dass als biochemische oder biologische Erkennungselemente ganze Zellen oder Zellfragmente aufgebracht werden.

In vielen Fällen wird die Nachweisgrenze eines analytischen Verfahrens limitiert durch
5 Signale sogenannter unspezifischer Bindung, d. h. durch Signale, welche durch Bindung
des Analyten oder anderer zum Nachweis des Analyten eingesetzter Verbindungen er-
zeugt werden, welche nicht nur im Bereich der eingesetzten immobilisierten biologischen
oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen, sondern auch in davon
unbedeckten Bereichen einer Sensorplattform gebunden werden, beispielsweise durch
10 hydrophobe Adsorption oder durch elektrostatische Wechselwirkungen.

Daher ist es von Vorteil, wenn Bereiche zwischen den immobilisierten biologischen oder
biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen auf der Wellenleiterschicht (2)
oder auf einer zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgebrachten Haftvermittlungs-
schicht oder / und zwischen den räumlich getrennten Messbereichen, zur Minimierung
15 unspezifischer Bindung von Analyten oder deren Nachweissubstanzen, "passiviert sind",
indem hierzu in den besagten Zwischenbereichen gegenüber dem Analyten "chemisch
neutrale" Verbindungen aufgebracht sind, vorzugsweise beispielsweise bestehend aus den
Gruppen, die von Albuminen, insbesondere Rinderserumalbumin oder Humanserum-
albumin, Casein, unspezifischen, polyklonalen oder monoklonalen, artfremden oder
20 empirisch für den oder die nachweisenden Analyten unspezifischen Antikörpern (insbe-
sondere für Immunoassays), Detergentien – wie beispielsweise Tween 20 -, synthetischen
und natürlichen Lipiden, nicht mit zu analysierenden Polynukleotiden hybridisierender,
fragmentierter natürlicher oder synthetischer DNA, wie beispielsweise ein Extrakt von
Herings- oder Lachssperma (insbesondere für Polynukleotid-Hybridisierungsassays), oder
25 auch hydrophilen Polymeren, wie beispielsweise Polyethylenglycolen oder Dextranen,
gebildet werden.

Es wird bevorzugt, dass eine erfindungsgemässe Wellenleiterplatte bzw. Sensorplattform
mit einer Anordnung von vorzugsweise im wesentlichen geschlossenen Probenbehältnis-
sen versehen ist, zur Einbringung einer oder mehrerer zu untersuchender flüssiger Proben.
30 Gegenstand der Erfindung ist dabei eine Anordnung von ein oder mehr Probenbehältnis-
sen, umfassend eine erfindungsgemässe Wellenleiterplatte oder eine erfindungsgemässe

Sensorplattform als Grundplatte und einen damit derart zusammengebrachten Körper, dass zwischen der Grundplatte und besagtem Körper eine oder mehrere räumliche Aussparungen zur Erzeugung einer oder mehrerer gegeneinander fluidisch abgedichteter Flusszellen mit jeweils mindestens einem Zulauf und mindestens einem Ablauf erzeugt
5 werden.

Bevorzugt wird dabei eine Anordnung von Probenbehältnissen in einem ein- oder zweidimensionalen Array, umfassend eine erfindungsgemäße Wellenleiterplatte oder eine erfindungsgemäße Sensorplattform als Grundplatte und einen damit derart zusammengebrachten Körper, dass zwischen der Grundplatte und besagtem Körper ein Array von
10 räumlichen Aussparungen zur Erzeugung eines Arrays von gegeneinander fluidisch abgedichteten Flusszellen mit jeweils mindestens einem Zulauf und mindestens einem Ablauf erzeugt wird.

Eine spezielle Ausführungsform der erfindungsgemässen Anordnung von Probenbehältnissen ist dadurch gekennzeichnet, dass auf der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte räumliche Strukturen im Raster des Arrays der zu erzeugenden
15 Flusszellen ausgebildet sind.

Es wird bevorzugt, dass zur Erzeugung der räumlichen Aussparungen zwischen der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte und dem damit zusammengebrachten Körper Ausnehmungen in besagtem Körper ausgebildet sind.
20

Aus fertigungstechnischen Gründen kann es von Vorteil sein, wenn der mit der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte zusammengebrachte Körper aus mehreren Teilen zusammengesetzt ist, wobei die zusammengefügte Bestandteile
25 besagten Körpers vorzugsweise eine irreversibel zusammengefügte Einheit bilden.

Dabei wird bevorzugt, dass der mit der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte zusammengebrachte Körper hilfsweise Vorkehrungen umfasst, welche das Zusammenfügen besagten Körpers und der Grundplatte erleichtern.
30

Eine erfindungsgemässe Anordnung von Probenbehältnissen kann beispielsweise 2 – 2000, vorzugsweise 2 – 400, besonders bevorzugt 2 – 100 Flusszellen umfassen.

Es wird bevorzugt, dass das Raster (Aufeinanderfolge in Zeilen und / oder Spalten) der
5 Zuläufe der Flusszellen dem Raster der Wells einer industriellen Standardplatte entspricht.

Eine spezielle Ausführungsform einer erfindungsgemässen Anordnung von Probenbehältnissen betrifft beispielsweise 2 bis 8 Probenbehältnissen in einer Spalte oder beispielsweise 2 bis 12 Probenbehältnissen in einer Zeile, welche ihrerseits mit einem Träger
10 (“Metaträger”) mit den Abmessungen von industriellen Standardplatten derart zusammengefügt werden, dass das Raster (Aufeinanderfolge in Zeilen oder Spalten) der Zuläufe der Flusszellen dem Raster der Wells einer industriellen Standardplatte entspricht.

15 Für viele Anwendungen, beispielsweise im Laufe von Nukleinsäure-Hybridisierungsassays mit Denaturierungsschritten bei erhöhter Temperatur (z. B. auf 80°C) kann es von Vorteil sein, wenn die erfindungsgemässe Anordnung von Probenbehältnissen durch einen zusätzlichen Abschluss, beispielsweise eine Folie, Membran oder eine Deckplatte, abgeschlossen wird. Damit kann beispielsweise eine Verdunstung von Flüssigkeit aus den
20 Zu- und Ablauföffnungen der Probenbehältnisse verhindert werden.

In einer erfindungsgemässen Anordnung von Probenbehältnissen kann typischerweise das Innenvolumen jeder Flusszelle 0.1 µl – 1000 µl, bevorzugt 1 µl – 20 µl betragen.

25 Es wird bevorzugt, dass die Tiefe der Ausnehmungen zwischen der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte und dem damit zusammengefügteten Körper 1 – 1000 µm, bevorzugt 20 – 200 µm beträgt.

Typischerweise betragen die Grundflächen der Ausnehmungen zwischen der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte und dem damit zusammengefügteten
30 Körpers jeweils 0.1 mm² – 200 mm², bevorzugt 1 mm² - 100 mm², wobei die Grösse der Ausnehmungen eines Arrays einheitlich oder unterschiedlich sein kann und die Grund-

flächen eine beliebige, vorzugsweise rechteck- oder polygonförmige oder auch andere Geometrie haben.

Eine erfindungsgemäße Anordnung von Probenbehältnissen nach einer der genannten
5 Ausführungsformen ist dadurch gekennzeichnet, dass die Materialien des mit der Wellen-
leiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte zusammengebrachten Körpers sowie
eines optionalen zusätzlichen Abschlusses ausgewählt sind aus der Gruppe von form-,
spritz- oder fräsbaren Kunststoffen, Metallen, Silikaten, wie zum Beispiel Glas, Quarz
oder Keramiken.

10

Weitere Ausführungsformen von geeigneten Anordnungen von Probenbehältnissen sind
in der PCT/EP 00/12668 beschrieben. In Kombination mit einer erfindungsgemäßen
Wellenleiterplatte sind die dort beschriebenen Anordnungen von Probenbehältnissen
ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

15

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein optisches System zur Bestimmung einer
oder mehrerer Lumineszenzen, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer erfindungsgemäßen Wellenleiterplatte oder einer erfindungsgemäßen

20

Sensorplattform oder einer erfindungsgemäßen Anordnung von

Probenbehältnissen, jeweils nach einer der genannten Ausführungsformen sowie

- mindestens einem Detektor zur Erfassung des von der Wellenleiterplatte oder
der Sensorplattform und von gegebenenfalls darauf befindlichen
Messbereichen ausgehenden Lichts.

25

Eine mögliche Ausführungsform eines erfindungsgemäßen optischen Systems ist
dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht in einer Auflicht- oder
Transmissionslichtanordnung zu den Messbereichen eingestrahlt wird.

30

Es wird bevorzugt, dass die Detektion des Lumineszenzlichts derart erfolgt, dass das von
einem Koppelgitter ausgekoppelte Anregungs- oder Lumineszenzlicht vom Detektor mit
erfasst wird.

Eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemässen optischen Systems ist dadurch gekennzeichnet, dass das von der mindestens einen Lichtquelle ausgesandte Anregungslicht weitgehend parallel ist und unter dem Resonanzwinkel zur Einkopplung in die Wellenleiterschicht (2), über ein Koppelgitter, auf ein Koppelgitter der Wellenleiterplatte
5 oder der Sensorplattform oder der Anordnung von Probenbehältnissen eingestrahlt wird.

Unter einem „im wesentlichen parallelen“ Lichtbündel soll dabei verstanden werden, dass dessen Konvergenz oder Divergenz weniger als 1° beträgt. Entsprechend soll „im wesentlichen orthogonal“ oder „im wesentlichen normal“ eine Abweichung von einer entsprechenden orthogonalen bzw. normalen Ausrichtung von weniger als 1° bedeuten.
10

Für die meisten Ausführungsformen (mit Ausnahme derjenigen, welche auf einer polychromatischen Lichtquelle beruhen) wird ausserdem bevorzugt, dass das Anregungslicht im wesentlichen monochromatisch eingestrahlt wird. Unter einem „im wesentlichen
15 monochromatischen“ Anregungslicht soll dabei verstanden werden, dass seine spektrale Bandbreite weniger als 1 nm beträgt.

Weiterhin wird bevorzugt, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Wellenleiterschicht (2) geführten TE_0 - oder TM_0 -Modes.
20

Für bestimmte Anwendungen wird bevorzugt, dass als Anregungslichtquellen zwei oder mehr Lichtquellen mit gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden. Vorzugsweise handelt es sich dabei um kohärente Lichtquellen.

25 Kennzeichen einer speziellen Ausführungsform eines erfindungsgemässen optischen Systems ist, dass das Anregungslicht von mindestens einer Lichtquelle mit einer Aufweitungsoptik zu einem im wesentlichen parallelen Strahlenbündel aufgeweitet wird und auf einen oder mehrere Messbereiche auf einem Koppelgitter eingestrahlt wird, wobei dieses bevorzugt unter dem Resonanzwinkel zur Einkopplung in die Wellenleiterschicht
30 (2) erfolgt.

Eine andere spezielle Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von der mindestens einen Lichtquelle durch ein oder, im Falle mehrerer Lichtquel-

len, gegebenenfalls mehrere diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Dammann-Gitter, oder refraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen-Arrays, in eine Vielzahl von Einzelstrahlen möglichst gleicher Intensität der von einer gemeinsamen Lichtquelle stammenden Teilstrahlen zerlegt wird, welche jeweils im wesentlichen
5 parallel zueinander auf ein oder mehrere Koppelgitter und gegebenenfalls darauf oder daneben befindliche, voneinander räumlich getrennte Messbereiche eingestrahlt werden.

Für einige Anwendungen, beispielsweise zur Erstellung von Expressionsprofilen in der Nukleinsäure-Analytik, wird bevorzugt, dass als Anregungslichtquellen zwei oder
10 mehrere Lichtquellen mit gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.

Dabei kann das Anregungslicht von 2 oder mehr Lichtquellen gleichzeitig oder sequentiell aus verschiedenen Richtungen auf zwei oder mehr einander überlagerte Koppelgitter
15 (als Bestandteil einer speziellen Ausführungsform einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte oder Sensorplattform oder Anordnung von Probenbehältnissen) eingestrahlt werden, welche vorzugsweise unterschiedliche Periodizität haben.

Es wird bevorzugt, dass zur Detektion mindestens ein ortsauflösender Detektor verwendet
20 wird, beispielsweise aus der Gruppe, die von CCD-Kameras, CCD-Chips, Photodioden-Arrays, Avalanche-Dioden-Arrays, Multichannelplates und Vielkanal-Photomultiplier gebildet wird.

In einem optischen System nach einer der genannten Ausführungsformen können im
25 optischen Weg zwischen der einen oder mehreren Anregungslichtquellen und einer Komponente aus der Gruppe von Komponenten, welche gebildet wird von einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte, einer erfindungsgemässen Sensorplattform und einer erfindungsgemässen Anordnung von Probenbehältnissen, jeweils nach einer der genannten Ausführungsformen, und / oder im optischen Weg zwischen besagter Gruppe von
30 Komponenten und dem einen oder mehreren Detektoren optische Komponenten aus der Gruppe verwendet werden, die von Linsen oder Linsensystemen zur Formgestaltung der übertragenen Lichtbündel, planaren oder gekrümmten Spiegeln zur Umlenkung und gegebenenfalls zusätzlich zur Formgestaltung von Lichtbündeln, Prismen zur Umlenkung

und gegebenenfalls zur spektralen Aufteilung von Lichtbündeln, dichroischen Spiegeln zur spektral selektiven Umlenkung von Teilen von Lichtbündeln, Neutralfiltern zur Regelung der übertragenen Lichtintensität, optischen Filtern oder Monochromatoren zur spektral selektiven Übertragung von Teilen von Lichtbündeln oder polarisationsselektiven
5 Elementen zur Auswahl diskreter Polarisationsrichtungen des Anregungs- oder Lumineszenzlichts gebildet wird.

Eine spezifische Ausführungsform eines erfindungsgemässen optischen Systems ist dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungslichts in Pulsen mit einer
10 Dauer zwischen 1 fsec und 10 Minuten erfolgt und das Emissionslicht aus den Messbereichen zeitlich aufgelöst gemessen wird.

Es wird bevorzugt, dass zur Referenzierung Lichtsignale aus der Gruppe gemessen werden, die von Anregungslicht am Ort der Lichtquellen oder nach ihrer Aufweitung oder
15 nach ihrer Unterteilung in Teilstrahlen, Streulicht bei der Anregungswellenlänge oder Emissionslicht bei einer anderen Wellenlänge als derjenigen eines verwendeten Lumineszenzlichts zum Nachweis eines Analyten aus dem Bereich der einen oder mehreren räumlich getrennten Messbereiche, und über ein Koppelgitter neben den Messbereichen ausgekoppeltem Licht der Anregungswellenlänge gebildet werden.

20 Dabei ist es von besonderem Vorteil, wenn die Messbereiche zur Bestimmung des Emissionslichts und des Referenzsignals identisch sind.

Die Einstrahlung des Anregungslichts und Detektion des Emissionslichts von einem oder
25 mehreren Messbereichen können gleichzeitig oder auch sequentiell für einzelne oder mehrere Messbereiche erfolgen.

Es wird bevorzugt, dass sequentielle Anregung und Detektion unter Verwendung beweglicher optischer Komponenten erfolgt, die aus der Gruppe von Spiegeln, Umlenk-
30 prismen und dichroischen Spiegeln gebildet wird.

Dabei ist eine spezielle Ausführungsform eines erfindungsgemässen optischen Systems dadurch gekennzeichnet, dass sequentielle Anregung und Detektion unter Verwendung eines im wesentlichen winkel- und fokusgetreuen Scanners erfolgt.

- 5 Eine andere Variante für sequentielle Anregung und Detektion der Emission von einzelnen oder mehreren Messbereichen besteht darin, dass die Wellenleiterplatte oder Sensorplattform oder Anordnung von Probenbehältnissen zwischen Schritten der sequentiellen Anregung und Detektion bewegt wird.

10

- Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum gleichzeitigen qualitativen und / oder quantitativen Nachweis einer Vielzahl von Analyten mit einer Komponente aus der Gruppe von Komponenten, welche gebildet wird von einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte, einer erfindungsgemässen Sensorplattform und einer erfindungsgemässen Anordnung von Probenbehältnissen, und / oder unter Verwendung eines
- 15 erfindungsgemässen optischen Systems, jeweils nach einer der genannten Ausführungsformen, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass eine oder mehrere auf besagte Analyten zu untersuchende flüssige Proben mit den Messbereichen auf einer der besagten Komponenten in Kontakt gebracht werden, Anregungslicht zu den Messbereichen eingestrahlt
- 20 wird und mindestens ein Lichtanteil von (A) und (B), (A) von den besagten Messbereichen ausgehendem Licht und (B) gegebenenfalls einer oder mehrerer im Nahfeld der Wellenleiterschicht (2) erzeugter Lumineszenzen aus den mit besagter Probe oder besagten Proben in Kontakt gebrachten Messbereichen, als Folge der Bindung eines oder mehrerer Analyten an die in besagten Messbereichen immobilisierten biologischen oder bio-
- 25 chemischen oder synthetischen Erkennungselemente oder der Wechselwirkung zwischen besagten Analyten und besagten immobilisierten Erkennungselementen, gemessen wird.

- Wiederum wird bevorzugt, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist. Besonders von Vorteil ist dabei, wenn
- 30 das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten TE_0 - oder TM_0 -Modes.

Besonders bevorzugt wird für eine Vielzahl von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens, dass das Anregungslicht von mindestens einer Lichtquelle mit einer Aufweitungsoptik möglichst homogen zu einem im wesentlichen parallelen Strahlenbündel aufgeweitet wird und zu dem einen oder den mehreren Messbereichen eingestrahlt
5 wird. Dabei wird bevorzugt, dass der Durchmesser des eingestrahnten Anregungslichtbündels mindestens in einer Dimension mindestens 2 mm, bevorzugt mindestens 10 mm beträgt.

Eine andere Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von der mindestens einen Lichtquelle durch ein oder,
10 im Falle mehrerer Lichtquellen, gegebenenfalls mehrere diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Dammann-Gitter, oder refraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen-Arrays, in eine Vielzahl von Einzelstrahlen möglichst gleicher Intensität der von einer gemeinsamen Lichtquelle stammenden Teilstrahlen zerlegt wird, welche jeweils im
15 wesentlichen parallel zueinander zu räumlich getrennten Messbereichen eingestrahlt werden.

In einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens wird bevorzugt, dass als Anregungslichtquellen zwei oder mehr kohärente Lichtquellen mit gleicher oder
20 unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.

Es wird bevorzugt, dass das Anregungslicht zu den Messbereichen über ein oder mehrere Koppelgitter in die Wellenleiterschicht (2) eingekoppelt wird.

25 Das erfindungsgemässe Nachweisverfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass (a) die isotrop abgestrahlte Lumineszenz oder (b) in die Wellenleiterschicht (2) eingekoppelte und über Koppelgitter ausgekoppelte Lumineszenz oder Lumineszenzen beider Anteile (a) und (b) gleichzeitig gemessen werden.

30 Das erfindungsgemässe Verfahren ist auch dadurch gekennzeichnet, dass zur Erzeugung der Lumineszenz ein Lumineszenzfarbstoff oder lumineszentes Nanopartikel als Lumineszenzlabel verwendet wird, das bei einer Wellenlänge zwischen 300 nm und 1100 nm angeregt werden kann und emittiert.

Kennzeichen einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist, dass das Lumineszenzlabel 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

5 Erkennungselementen oder an die biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente gebunden ist.

Eine spezielle Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass ein zweites oder noch weitere Lumineszenzlabel mit gleicher oder unterschiedlicher Anregungswellenlänge wie

10 das erste Lumineszenzlabel und gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden

Dabei wird bevorzugt, dass das zweite oder noch weitere Lumineszenzlabel bei der gleichen Wellenlänge wie das erste Lumineszenzlabel angeregt werden kann, aber bei

15 anderen Wellenlängen als das erste Lumineszenzlabel emittieren.

Für spezifische Anwendungen ist es demgegenüber von Vorteil, wenn die Anregungsspektren und Emissionsspektren der eingesetzten Lumineszenzlabel nur wenig oder gar nicht überlappen.

20

Eine andere spezielle Ausführungsform des erfindungsgemässen Nachweisverfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass zum Nachweis des Analyten Ladungs- oder optischer Energietransfer von einem als Donor dienenden ersten Lumineszenzlabel zu einem als Akzeptor dienenden zweiten Lumineszenzlabel verwendet wird.

25

Beispielsweise zur Verringerung des Beitrags von Untergrundsignal bei der Anregungswellenlänge zum erfassten Messsignal kann es vorteilhaft sein, wenn die einen oder mehreren Lumineszenzen und / oder Bestimmungen von Lichtsignalen bei der Anregungswellenlänge polarisationsselektiv vorgenommen werden, wobei vorzugsweise

30 die einen oder mehreren Lumineszenzen bei einer anderen Polarisation als der des Anregungslichts gemessen werden.

Eine weitere spezielle Ausführungsform eines erfindungsgemässen Nachweisverfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass neben der Bestimmung einer oder mehrerer Lumineszenzen Änderungen des effektiven Brechungsindex auf den Messbereichen bestimmt werden.

5

Diese Weiterentwicklung, als ein kombiniertes Verfahren einer Bestimmung des effektiven Brechungsindex und einer orts aufgelösten Lumineszenzmessung, ermöglicht es beispielsweise, die Bindung eines Liganden als Analyten an ein in einem oder mehreren Messbereichen immobilisiertes biologisches oder biochemisches oder synthetisches

10 Erkennungselement als Rezeptor anhand der Änderung des effektiven Brechungsindex zu bestimmen und eine funktionale Antwort dieses Liganden-Rezeptor-Systems anhand einer Lumineszenzänderung aus besagten Messbereichen zu bestimmen.

Beispielsweise kann es sich bei besagtem Rezeptor-Liganden-System um ein Trans-

15 membranrezeptorprotein handeln, an welches ein entsprechender Ligand aus einer zugeführten Probe bindet. Eine funktionale Antwort dieses Rezeptor-Liganden-Systems kann beispielsweise in der Öffnung eines Ionenkanals bestehen, mit der Folge einer lokalen Veränderung des pH oder / und der Ionenkonzentration. Eine solche lokale Änderung kann beispielsweise unter Verwendung eines Lumineszenzfarbstoffes mit pH-abhängiger
20 oder / und ionenabhängiger Lumineszenzintensität und / oder spektraler Emission detektiert werden.

Das erfindungsgemässe Nachweisverfahren nach einer der vorgenannten Ausführungsformen eignet sich zur gleichzeitigen oder sequentiellen, quantitativen oder qualitativen

25 Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe von Antikörpern oder Antigenen, Rezeptoren oder Liganden, Chelatoren oder "Histidin-tag-Komponenten", Oligonukleotiden, DNA- oder RNA-Strängen, DNA- oder RNA-Analoga, Enzymen, Enzymcofaktoren oder Inhibitoren, Lektinen und Kohlehydraten.

30 Das erfindungsgemässe Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass die zu untersuchenden Proben beispielsweise wässrige Lösungen, wie insbesondere Pufferlösungen, natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin oder Eigelb oder optisch trübe Flüssigkeiten oder Gewebeflüssigkeiten oder Oberflächenwas-

ser oder Boden- oder Pflanzenextrakte oder Bio- oder Syntheseprozessbrühen sind oder aus biologischen Gewebeteilen oder aus Zellkulturen oder -extrakten entnommen sind.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung einer Komponente aus der Gruppe von Komponenten, welche gebildet wird von einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte, einer erfindungsgemässen Sensorplattform sowie einer erfindungsgemässen Anordnung von Probenbehältnissen jeweils nach einer der genannten Ausführungsformen, und / oder die Verwendung eines erfindungsgemässen optischen Systems und / oder eines erfindungsgemässen Nachweisverfahrens zu quantitativen 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, für die Erstellung von Toxizitätsstudien sowie für die Bestimmung von Gen- oder Protein-Expressionsprofilen sowie zum Nachweis von Antikörpern, Antigenen, Pathogenen oder Bakterien in der pharmazeutischen Produktentwicklung und -forschung, der Human- und Veterinärmedizin, der Agrochemischen Produktentwicklung und -forschung, der symptomatischen und präsymptomatischen Pflanzendiagnostik, zur Patientenstratifikation in der pharmazeutischen Produktentwicklung und für die therapeutische Medikamentenauswahl, zum Nachweis von Pathogenen, Schadstoffen und Erregern, insbesondere von Salmonellen, Prionen, Viren und Bakterien, in der Lebensmittel- und Umweltanalytik.

Beispiele

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert. Es zeigen

Fig. 1 eine Aufsicht auf eine erfindungsgemässe Wellenleiterplatte mit gestrichelt angedeutetem Aufsatz, der sie zu einer Anordnung von Probenbehältnissen, in diesem Beispiel entsprechend dem Raster der Grundflächengeometrie von industriellen Standardplatten, ergänzt,

Fig. 2 einen Schnitt längs II-II in Fig. 1 und

Fig. 3 schematisch den Einsatz des an die Wellenleiterplatte oder Sensorplattform angrenzenden Teils einer Anordnung von Probenbehältnissen mit einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte oder darauf basierenden Sensorplattform als einer Begrenzungsfläche.

Beispiel 1: Design einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte und damit erzeugbare mögliche Anordnung von Probenbehältnissen

Die erfindungsgemässe Wellenleiterplatte besteht (Fig. 1, 2, die Darstellungen sind schematisch und nicht massstäblich) aus einem Glassubstrat 1, z. B. aus AF 45 der Schott DESAG mit Abmessungen von 102 mm × 72 mm und einer Dicke von 0,7 mm, das einseitig eine Wellenleiterschicht 2 aus Ta₂O₅ von 150 nm Dicke trägt. Ihr Brechungsindex beträgt bei einer Wellenlänge von 633 nm, in Abhängigkeit vom Herstellungsverfahren, beispielsweise 2,11. Als Material für die Wellenleiterschicht kommen neben Ta₂O₅ auch andere Substanzen in Frage, insbesondere Nb₂O₅, TiO₂, ZrO₂, Al₂O₃, SiO₂-TiO₂, HfO₂, Y₂O₃, SiO_xN_y, Si₃N₄, HfO_xN_y, AlO_xN_y, TiO_xN_y, MgF₂ oder CaF₂.

Auf der die Wellenleiterschicht 2 tragenden Oberfläche sind mehrere parallele, voneinander beabstandete Koppelgitterstreifen 3 angelegt, welche sich linienparallel jeweils über die ganze Breite der Wellenleiterplatte erstrecken. Die Breite jedes der Koppelgitterstreifen 3 beträgt 0,5 mm. Die Gitterperiode beträgt $\Lambda = 360$ nm, das Nut-Steg-Verhältnis ist ca. 1:1, die Gittertiefe ca. 20 nm. Die das Gitter definierenden Parameter sind jeweils über die ganze Länge des Koppelgitterstreifens sehr genau eingehalten. Dadurch halten sich Änderungen des Koppelwinkels Θ , unter dem ein von unten durch das Glassubstrat 1 gegen den Koppelgitterstreifen 3 gerichteter Lichtstrahl, insbesondere einer Wellenlänge von ca. 633 nm, mit maximaler Koppel-effizienz in die Wellenleiterschicht 2 eingekoppelt wird, in sehr engen Grenzen. Längs den Linien eines Koppelgitterstreifens 3 ändert er sich höchstens um 0,05°/cm. Auf der gesamten Wellenleiterplatte bleibt die Abweichung des Koppelwinkels Θ von einem Mittelwert (im beschriebenen Fall 2,31°), unter 0,15°.

Wie in Fig. 3 dargestellt und in Fig. 1 angedeutet, wird die Wellenleiterplatte für den Einsatz zur chemischen Analyse insbesondere biologischer Substanzen durch einen wabenartigen Aufsatz 4, beispielsweise aus Kunststoff, zu einer Anordnung von Probenbehältnissen, beispielsweise mit den Grundabmessungen einer industriellen Standardplatte, 5 ergänzt.

Soll der Inhalt einer Kavität 8 auf die Konzentration bestimmter Moleküle untersucht werden, so wird in an sich bekannter Weise ein benachbarter Koppelgitterstreifen 3 der Wellenleiterplatte 2 mittels einer geeigneten Lichtquelle unter dem Koppelwinkel Θ mit Licht einer bestimmten Wellenlänge, im Beispiel mittels eines He-Ne-Lasers mit Licht 10 von 633 nm Wellenlänge, belichtet. Das durch die Wellenleiterschicht 2, welche den Boden der Kavität 8 bildet, in diesem die Allgemeinheit der Erfindung nicht beschränkenden Beispiel zum benachbarten Koppelgitterstreifen 3' geleitete und dort wieder ausgekoppelte Licht regt Moleküle in der Kavität 8 zu Fluoreszenz an, welche von einer Optik 9 registriert und dann analysiert wird. Die hohe Genauigkeit, mit der der Koppelwinkel Θ 15 über die Länge des Koppelgitterstreifens 3 eingehalten wird, erlaubt eine gleichzeitige Untersuchung der längs desselben angeordneten Kavitäten mit hoher Effizienz. Da der Koppelwinkel Θ über die gesamte Wellenleiterplatte 2 nur wenig vom Mittelwert abweicht, ist jedoch auch für die Untersuchung der nächsten Reihe von Kavitäten 8 keine aufwendige Optimierung desselben erforderlich.

20

Beispiel 2: Charakterisierung einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte

Untersucht wird eine erfindungsgemässe Wellenleiterplatte gemäss Beispiel 1 (Wellenleiterschicht aus Ta_2O_5 ; Brechungsindex $n = 2.11$ bei 633 nm). Die Wellenleiterplatte ist vorgesehen als Grundplatte für eine Anordnung von 96 Probenbehältnissen (ausgebildet 25 als Durchflusszellen) in einer Geometrie entsprechend Figur 1 (8 Reihen x 12 Spalten von Probenbehältnissen). Zur Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften der Wellenleiterplatte sollen die folgenden Parameter erfasst werden: (a) Koppelwinkel und (b) Halbwertsbreite dieses Resonanzwinkels für maximale Einkopplung, (c) laterale Position („x-Position“) für optimale Einkopplung auf einem Koppelgitterstreifen und (d) dessen

Halbwertsbreite, (e) Einkoppeleffizienz, (f) Anzahl und Grösse der Streuzentren pro Flächeneinheit des Bereichs eines Probenbehältnisses, Analyse des (g) Anregungslichtprofils für die Bereiche der Probenbehältnisse, (h) Lumineszenzuntergrund bei der Wellenlänge der Lumineszenzmessung für eine später durchzuführende Analytbestimmung.

- 5 Der Abstand zur Anregungslichteinstrahlung und Erfassung des Messlichts von Messpositionen für Probenbehältnisse in benachbarten Reihen und Spalten beträgt in diesem Beispiel jeweils 9 mm.

Optisches System zur Charakterisierung

- 10 Das optische System zur Bestimmung der genannten Parameter zur Charakterisierung einer Wellenleiterplatte umfasst drei Laser bzw. Laserdioden als alternative Anregungslichtquellen, mit Emission bei 635 nm, 532 nm und 492 nm. Das Anregungslicht der verschiedenen Laser wird über ein System von Linsen und Blenden (zur Strahlformung) sowie Spiegeln jeweils auf die Koppelgitter der Wellenleiterplatte geleitet. Der letzte Spiegel im Strahlengang vor dem Auftreffen des Lichts auf der Wellenleiterplatte ist auf einem Goniometer (Auflösung in diesem Beispiel 0.01°) montiert, um eine genaue Einstellung des Koppelwinkels oder die Umlenkung des Anregungslichts zur Bestimmung der gesamten auf die Wellenleiterplatte eingestrahlten Anregungsintensität (I_0) sowie der Summe (I_r) aus reflektiertem und parallel dazu wieder ausgekoppeltem Licht zu ermöglichen. Die Justierung der lateralen Position der Einstrahlung des Anregungslichts auf die Wellenleiterplatte (x: senkrecht zu den Koppelgitterstreifen, y: parallel zu den Koppelgitterstreifen) erfolgt durch Verschiebung der Wellenleiterplatte mithilfe von Translations-
20 elementen (Auflösung in diesem Beispiel ca. $20 \mu\text{m}$).

- Die Justierung für maximale Einkopplung erfolgt mittels Maximierung des von einer Photodiode (mit nachgeschaltetem Verstärker) erfassten Signals des, in Ausbreitungs-
25 richtung des in die Wellenleiterschicht eingekoppelten Lichts, am nachfolgenden Koppelgitter ausgekoppelten Lichts. Bei der Optimierung in einem vom Benutzer definierbaren Justierbereich mit ebenfalls variabler, definierbarer Auflösung werden, in Abhängigkeit vom Einkoppelwinkel (als Winkel zur Flächennormalen der Wellenleiterplatte)

und zur Position (in x-Richtung) des Anregungslichtspots auf einem Koppelgitter, die von der Photodiode erfassten Intensitäten des ausgekoppelten Lichts (I_{out}) gemessen. Aus diesen Intensitätsprofilen werden dann die Optimalwerte für maximale Einkopplung sowie die Halbwertsbreiten dieser Koppelkurven (Resonanzkurven) bestimmt.

- 5 Zur Bestimmung der relativen Einkoppeleffizienz (e) werden, mit geeichten Photodioden mit nachgeschalteten Verstärkern, die Intensitäten des durch die Wellenleiterplatte ungebeugt hindurchtretenden, transmittierten Lichts (I_{tr}) sowie des eingestrahltten Anregungslichts (I_0) sowie der Summe aus reflektiertem und parallel dazu (d.h. vom reflektiertem Licht nicht unterscheidbar) am Einkoppelgitter wieder ausgekoppeltem Licht (I_r), erfasst.
- 10 Die Einkoppeleffizienz ergibt sich dann aus dem Quotienten $(I_0 - I_{tr} - I_r)/I_0$.

Zur Bestimmung der übrigen Charakterisierungsparameter (f) bis (h) wird das von dem zu untersuchenden Bereich der Wellenleiterplatte abgestrahlte Licht mit einem Abbildungssystem (Kombination von Objektiven) auf einen ortsauflösenden Detektor, z. B. eine Kamera oder einen CCD-Chip, abgebildet. Zur Bestimmung der Parameter (f) und (g)

15 erfolgt die Messung ebenfalls bei der jeweiligen Anregungswellenlänge (d.h. gegebenenfalls unter Verwendung eines Neutralfilters zur Intensitätsabschwächung, aber ohne spektral selektiven Filter), während die Bestimmung des Lumineszenzuntergrunds (h) unter Verwendung eines entsprechenden Interferenzfilters erfolgt, montiert in einem im Strahlengang zur Erfassung dieses Messlichts drehbaren Filterrad.

- 20 Zur Bestimmung der (f) Anzahl und Grösse der Streuzentren wird aus der Aufnahme (bei der Anregungswellenlänge) zunächst ein Durchschnittswert der Signalintensität (aller Pixel) des gesamten zu untersuchenden Bereichs bestimmt. Dabei ist zu beachten, dass bei dieser Durchschnittsbildung der Bereich des Koppelgitters oder unmittelbar daran angrenzender Bereiche nicht erfasst wird und selbstverständlich keine Reflexionen auf dem
- 25 Detektor auftreten. Dann wird eine Schwellwertintensität definiert, welcher deutlich oberhalb des Grenzbereichs des Rauschens dieses Durchschnittssignals liegt (vom Benutzer festlegbar, z.B. Durchschnittssignal + dessen 10-fache Standardabweichung). Alle Pixelsignale oberhalb dieses Schwellwertes werden eingestuft als bedingt durch Streuzentren, und es wird eine Tabelle erstellt, wieviele dieser Pixel in einem (zweidimensionalen)
- 30 zusammenhängenden Bereich Signale oberhalb des Schwellwertes (Grösse der

Streuzentren) liefern. Die vollständige Streuzentrenanalyse ergibt sich dann in Form eines „Histogramms“ mit der Anzahl der Streuzentren als Funktion von deren Grösse.

Zur (g) Bestimmung des Anregungslichtsprofils eines zu untersuchenden Bereichs auf der Wellenleiterplatte werden Linienprofile der gemessenen Pixelwerte für streifenförmige
5 Bildausschnitte von entsprechenden Bereiche (in y-Richtung, parallel zu den Gitterlinien) der Wellenleiterplatte erstellt. Aus diesen Linienprofilen kann bestimmt werden, ob beispielsweise aufgrund von Defekten der Koppelgitter an bestimmten Stellen (in y-Richtung) keine oder verminderte Lichteinkopplung auftritt oder ob (aufgrund von weiter in x-Richtung lokalisierten Defekten) die Ausbreitung des eingekoppelten, geführten Lichts
10 unterbrochen oder beeinträchtigt wird. Es können Schwellwerte für die Homogenität (in y-Richtung, z. B. Ausmass des Rauschens oder prozentuale Abweichung vom gemessenen Durchschnittswert) der gemessenen Intensitäten definiert werden, bei deren Überschreiten eine Wellenleiterplatte verworfen wird.

Der Lumineszenzuntergrund wird, wie erwähnt, unter Verwendung eines geeigneten
15 spektralen Filters für die jeweils relevante Lumineszenzwellenlänge bestimmt. Es können sowohl lokale, lumineszente Kontaminationen bestimmt werden, beispielsweise in einer zur Streuzentrenanalyse analogen Weise, als auch gesamthaft (als Integral) aller für die Analyse relevanten Pixelwerte Lumineszenzintensitäten für den zu untersuchenden Gesamtbereich bestimmt werden. Zum empirischen Vergleich mit den gemessenen Lumineszenzintensitäten vergleichbarer Wellenleiterplatten werden die gemessenen Werte
20 vorzugsweise korrigiert bzw. referenziert mit der verfügbaren Anregungslichtintensität. Ebenso wie für alle vorangehend genannten Parameter können auch hier Schwellwerte definiert werden, bei deren Über- oder Unterschreiten eine Wellenleiterplatte zu verwerfen ist.

25 Vorzugsweise erfolgen alle beschriebenen Schritte der Charakterisierung der Wellenleiterplatte vollständig automatisiert / computergesteuert, besonders bevorzugt mit einem automatisch erstellten Protokoll, welches beispielsweise Tabellen der bestimmten Parameter und gegebenenfalls entsprechende graphische Darstellungen umfasst. Auch die Einstufung der untersuchten Wellenleiterplatten und deren Ablage nach verschiedenen,
30 vom Benutzer definierbaren Kategorien erfolgt vorzugsweise in automatisierter Form.

Ergebnisse

Als Beispiel für ein Teilergebnis der Charakterisierung einer erfindungsgemässen Wellenleiterplatte sind in der nachfolgenden Tabelle die Mittelwerte der ermittelten Koppelwinkel bei 635 nm und 532 nm Anregungslicht, jeweils längs eines Koppelgitterstreifens (Spalte; 8 Messpunkte), sowie die maximalen Abweichungen ($\Delta_{\max-}$, $\Delta_{\max+}$) jeweils entlang eines Koppelgitterstreifens („Spalte“; Abstand zwischen dem ersten und letzten Messpunkt einer Spalte: 63 mm) zusammengestellt.

Auf allen Koppelgitterstreifen (Spalten, siehe Tabelle 1) beträgt die Änderung des Koppelwinkels für beide Anregungswellenlängen jeweils weniger als $0.1^\circ/\text{cm}$, auf der gesamten Wellenleiterplatte die Abweichung vom Mittelwert weniger als 0.5° .

Spalte (Koppelgitterstreifen) Nr.	Anregung: 635 nm Koppelwinkel [°]			Anregung: 532 nm Koppelwinkel [°]		
	AVG	$\Delta_{\max-}$	$\Delta_{\max+}$	AVG	$\Delta_{\max-}$	$\Delta_{\max+}$
1	-13.39	-0.15	+0.28	11.72	-0.22	+0.27
2	-13.34	-0.15	+0.23	11.77	-0.20	+0.31
3	-13.26	-0.13	+0.22	11.84	-0.17	+0.26
4	-13.21	-0.11	+0.21	11.94	-0.22	+0.28
5	-13.13	-0.17	+0.29	12.00	-0.19	+0.31
6	-13.10	-0.18	+0.28	12.03	-0.20	+0.30
7	-13.08	-0.18	+0.27	12.07	-0.21	+0.27
8	-13.07	-0.16	+0.24	12.09	-0.23	+0.34
9	-13.06	-0.19	+0.29	12.08	-0.21	+0.27
10	-13.06	-0.16	+0.27	12.07	-0.21	+0.28
11	-13.08	-0.16	+0.28	12.05	-0.19	+0.28
12	-13.10	-0.15	+0.28	12.03	-0.20	+0.32
Ganze Platte	-13.15	-0.39	+0.38	11.98	-0.48	+0.45

Tabelle 1: Durchschnittliche Koppelwinkel auf benachbarten Koppelgitterstreifen („Spalten“) und maximale positive und negative Abweichung der Koppelwinkel innerhalb eines Koppelgitterstreifens. Letzte Reihe: Durchschnittswerte und maximale Abweichungen auf der gesamten Wellenleiterplatte.

Bezugszeichenliste

1	Glassubstrat
2	Wellenleiterschicht
3	Koppelgitterstreifen
5 4	Aufsatz
5	Deckplatte
6	Öffnung
7	Rohrabschnitt
8	Kavität
10 9	Optik

PATENTANSPRÜCHE

1. Wellenleiterplatte mit einem plattenförmigen Glassubstrat (1), welches eine Wellenleiterschicht (2) trägt, mit, auf der die Wellenleiterschicht (2) tragenden Oberfläche, mindestens einem Koppelgitter, welches als Liniengitter mit einer
5 Periode zwischen 150 nm und 1'000 nm ausgebildet ist, dessen Ausdehnung linienparallel mindestens 5 cm beträgt, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Koppelwinkel (Θ) entlang der Linie um höchstens $0,1^\circ/\text{cm}$ ändert und der Absolutbetrag der Abweichung des Koppelwinkels (Θ) von einem Sollwert auf der Wellenleiterplatte $0,5^\circ$ nicht überschreitet.
- 10 2. Wellenleiterplatte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Ausdehnung des Koppelgitters entlang der Linie mindestens 1 cm beträgt.
3. Wellenleiterplatte nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Koppelwinkel (Θ) entlang der Linie um höchstens $0,05^\circ/\text{cm}$ ändert.
4. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet,
15 dass der Absolutbetrag der Abweichung des Koppelwinkels (Θ) von seinem Mittelwert auf der Wellenleiterplatte $0,3^\circ$, vorzugsweise $0,15^\circ$ nicht überschreitet.
5. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Brechungsindex der Wellenleiterschicht (2) zwischen 1,65 und 2,80 liegt.
6. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet,
20 dass die Wellenleiterschicht (2) aus Ta_2O_5 , Nb_2O_5 , TiO_2 , ZrO_2 , Al_2O_3 , $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$, HfO_2 , Y_2O_3 , SiO_xN_y , Si_3N_4 , HfO_xN_y , AlO_xN_y , TiO_xN_y , MgF_2 oder CaF_2 besteht.
7. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicke der Wellenleiterschicht (2) zwischen 50 nm und 200 nm beträgt.

8. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Nut-Steg-Verhältnis des mindestens einen Koppelgitters zwischen 0,3:1 und 3:1, vorzugsweise zwischen 0,7:1 und 1,5:1 liegt.
9. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet,
5 dass die Gittertiefe des mindestens einen Koppelgitters zwischen 5 nm und 75 nm liegt.
10. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass das mindestens eine Koppelgitter nur einen Teil der Oberfläche der Wellenleiterplatte bedeckt, während ein verbleibender Teil frei bleibt.
- 10 11. Wellenleiterplatte nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass sie
mindestens ein Koppelgitter aufweist, das als Koppelgitterstreifen (3) ausgebildet
ist, der sich linienparallel im wesentlichen über die ganze Breite oder Länge der
Wellenleiterplatte erstreckt.
12. Wellenleiterplatte nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass mehrere
15 Koppelgitterstreifen (3) mit Abstand parallel zueinander angeordnet sind.
13. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 11, dadurch gekennzeichnet,
dass mehrere Koppelgitter nicht parallel, beispielsweise senkrecht zueinander
angeordnet sind.
14. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 13, dadurch gekennzeichnet,
20 dass zwei oder mehr Koppelgitter einander überlagert sind.
15. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 14, dadurch gekennzeichnet,
dass ein oder mehrere Koppelgitter multidiffraktiv sind.
16. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 15, dadurch gekennzeichnet,
25 dass ein Koppelgitter im wesentlichen die ganze Oberfläche der Wellenleiterplatte
bedeckt.

17. Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 16, dadurch gekennzeichnet, dass darauf angeordnete Koppelgitter der Einkopplung von Anregungslicht von ein oder mehreren Lichtquellen in die Wellenleiterschicht (2) und / oder der Auskopplung von in der Wellenleiterschicht (2) geführtem Licht dienen.
- 5 18. Sensorplattform mit einer Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 17, dadurch gekennzeichnet, dass direkt auf der Wellenleiterschicht (2) oder auf einer zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragenen Haftvermittlungsschicht biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente zur spezifischen Erkennung und / oder Bindung eines oder mehrerer Analyten und /
10 oder zur spezifischen Wechselwirkung mit besagten Analyten immobilisiert sind.
19. Sensorplattform nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass eine Vielzahl gleicher oder unterschiedlicher, biologischer oder biochemischer oder synthetischer Erkennungselemente in mindestens einem Array diskreter Messbereiche direkt auf der Wellenleiterschicht (2) oder auf einer zusätzlich auf der
15 Wellenleiterschicht (2) aufgetragenen Haftvermittlungsschicht immobilisiert ist.
20. Sensorplattform nach einem der Ansprüche 18 – 19, dadurch gekennzeichnet, dass eine zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragene Haftvermittlungsschicht eine Dicke von weniger als 200 nm, besonders bevorzugt von weniger als 20 nm hat.
- 20 21. Sensorplattform nach einem der Ansprüche 18 – 20, dadurch gekennzeichnet, dass eine zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragene Haftvermittlungsschicht vorzugsweise eine chemische Verbindung aus den Gruppen umfasst, die Silane, funktionalisierte Silane, Epoxide, funktionalisierte, geladene oder polare Polymere und “selbstorganisierte passive oder funktionalisierte Mono- oder
25 Mehrfachschichten” umfassen.
22. Sensorplattform nach einem der Ansprüche 18 – 21, dadurch gekennzeichnet, dass als besagte biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente direkt auf der Wellenleiterschicht (2) oder auf einer zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragenen Haftvermittlungsschicht Komponenten aus der

- Gruppe immobilisiert sind, die von Nucleinsäuren (beispielsweise DNA, RNA, Oligonucleotiden) und Nucleinsäureanaloge (z. B. PNA), Proteinen, insbesondere mono- oder polyklonalen Antikörpern, Peptiden, Enzymen, Aptameren, synthetischen Peptidstrukturen, löslichen, membrangebundenen und aus einer Membran isolierten Proteinen, wie beispielsweise Membranrezeptoren, deren Liganden, Antigenen für Antikörper, "Histidin-Tag-Komponenten" und deren Komplexbildungspartnern, durch chemische Synthese erzeugten Aushöhungen zur Aufnahme molekularer Imprints, etc. gebildet wird, oder dass als biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente ganze Zellen, Zellbestandteile, Zellmembranen oder deren Fragmente immobilisiert sind.
23. Sensorplattform nach einem der Ansprüche 18 – 22, dadurch gekennzeichnet, dass Bereiche zwischen den immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen auf der Wellenleiterschicht (2) oder auf einer zusätzlich auf der Wellenleiterschicht (2) aufgetragenen Haftvermittlungsschicht oder / und zwischen den räumlich getrennten Messbereichen, zur Minimierung unspezifischer Bindung von Analyten oder deren Nachweissubstanzen, "passiviert sind", indem hierzu in den besagten Zwischenbereichen gegenüber dem Analyten "chemisch neutrale" Verbindungen aufgetragene sind, vorzugsweise beispielsweise bestehend 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 –, synthetischen und natürlichen Lipiden, nicht mit zu analysierenden Polynucleotiden hybridisierender, fragmentierter natürlicher oder synthetischer DNA, wie beispielsweise ein Extrakt von Herings- oder Lachssperma (insbesondere für Polynucleotid-Hybridisierungsassays), oder auch hydrophilen Polymeren, wie beispielsweise Polyethylenglycolen oder Dextranen, gebildet werden.
24. Anordnung von ein oder mehr Probenbehältnissen, umfassend eine Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder eine Sensorplattform nach einem der Ansprüche 13 bis 23 als Grundplatte und einen damit derart zusammenge-

brachten Körper, dass zwischen der Grundplatte und besagtem Körper eine oder mehrere räumliche Aussparungen zur Erzeugung einer oder mehrerer gegeneinander fluidisch abgedichteter Flusszellen mit jeweils mindestens einem Zulauf und mindestens einem Ablauf erzeugt werden.

5

25. Anordnung von Probenbehältnissen, gemäss Anspruch 24, in einem ein- oder zweidimensionalen Array, umfassend eine Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder eine Sensorplattform nach einem der Ansprüche 13 bis 23 als Grundplatte und einen damit derart zusammengebrachten Körper, dass
10 zwischen der Grundplatte und besagtem Körper ein Array von räumlichen Aussparungen zur Erzeugung eines Arrays von gegeneinander fluidisch abgedichteten Flusszellen mit jeweils mindestens einem Zulauf und mindestens einem Ablauf erzeugt wird.
- 15 26. Anordnung von Probenbehältnissen nach einem der Ansprüche 24 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass auf der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte räumliche Strukturen im Raster des Arrays der zu erzeugenden Flusszellen ausgebildet sind.
- 20 27. Anordnung von Probenbehältnissen nach einem der Ansprüche 24 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass zur Erzeugung der räumlichen Aussparungen zwischen der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte und dem damit zusammengebrachten Körper Ausnehmungen in besagtem Körper ausgebildet sind.
- 25 28. Anordnung von Probenbehältnissen nach einem der Ansprüche 24 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass das Raster (Aufeinanderfolge in Zeilen und / oder Spalten) der Zuläufe der Flusszellen dem Raster der Wells einer industriellen Standardplatte entspricht.
- 30 29. Anordnung von Probenbehältnissen nach einem der Ansprüche 24 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Materialien des mit der Wellenleiterplatte oder der Sensorplattform als Grundplatte zusammengebrachten Körpers sowie eines optionalen zusätzlichen Abschlusses ausgewählt sind aus der Gruppe von form-, spritz- oder

fräsbaeren Kunststoffen, Metallen, Silikaten, wie zum Beispiel Glas, Quarz oder Keramiken.

30. Verfahren zum gleichzeitigen qualitativen und / oder quantitativen Nachweis einer
5 Vielzahl von Analyten mit einer Komponente aus der Gruppe von Komponenten, welche gebildet wird von einer Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 17 oder einer Sensorplattform nach einem der Ansprüche 18 bis 23 oder einer Anordnung von Probenbehältnissen nach einem der Ansprüche 24 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass eine oder mehrere auf besagte Analyten zu untersuchende
10 flüssige Proben mit den Messbereichen auf einer der besagten Komponenten in Kontakt gebracht werden, Anregungslicht zu den Messbereichen eingestrahlt wird und mindestens ein Lichtanteil von (A) und (B), (A) von den besagten Messbereichen ausgehendem Licht und (B) gegebenenfalls einer oder mehrerer im Nahfeld der Wellenleiterschicht (2) erzeugter Lumineszenzen aus den mit besagter
15 Probe oder besagten Proben in Kontakt gebrachten Messbereichen, als Folge der Bindung eines oder mehrerer Analyten an die in besagten Messbereichen immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente oder der Wechselwirkung zwischen besagten Analyten und besagten immobilisierten Erkennungselementen, gemessen wird.
- 20 31. Verfahren nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist.
- 25 32. Verfahren nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Wellenleiterschicht (2) geführten TE₀- oder TM₀-Modes.
- 30 33. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 - 32, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Lichtquelle mit einer Aufweitungsoptik möglichst homogen zu einem im wesentlichen parallelen Strahlenbündel aufgeweitet wird und zu dem einen oder den mehreren Messbereichen eingestrahlt wird.

34. Verfahren nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchmesser des eingestrahlten Anregungslichtbündels mindestens in einer Dimension mindestens 2 mm, bevorzugt mindestens 10 mm beträgt.
- 5 35. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 - 32, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von der mindestens einen Lichtquelle durch ein oder, im Falle mehrerer Lichtquellen, gegebenenfalls mehrere diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Dammann-Gitter, oder refraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen-Arrays, in eine Vielzahl von Einzelstrahlen möglichst gleicher
10 Intensität der von einer gemeinsamen Lichtquelle stammenden Teilstrahlen zerlegt wird, welche jeweils im wesentlichen parallel zueinander zu räumlich getrennten Messbereichen eingestrahlt werden.
- 15 36. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 - 35, dadurch gekennzeichnet, dass als Anregungslichtquellen zwei oder mehr kohärente Lichtquellen mit gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.
- 20 37. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 - 36, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht zu den Messbereichen über ein oder mehrere Koppelgitter in die Wellenleiterschicht (2) eingekoppelt wird.
- 25 38. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 37, dadurch gekennzeichnet, dass (a) die isotrop abgestrahlte Lumineszenz oder (b) in die Wellenleiterschicht (2) eingekoppelte und über Koppelgitter ausgekoppelte Lumineszenz oder Lumineszenzen beider Anteile (a) und (b) gleichzeitig gemessen werden.
- 30 39. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 38, dadurch gekennzeichnet, dass zur Erzeugung der Lumineszenz ein Lumineszenzfarbstoff oder lumineszentes Nanopartikel als Lumineszenzlabel verwendet wird, das bei einer Wellenlänge zwischen 300 nm und 1100 nm angeregt werden kann und emittiert.
40. Verfahren nach Anspruch 39, dadurch gekennzeichnet, dass das Lumineszenzlabel 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 Erkennungselementen oder an die biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente gebunden ist.

5

41. Verfahren nach einem der Ansprüche 39 bis 40, 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.

10

42. Verfahren nach Anspruch 41, dadurch gekennzeichnet, dass zum Nachweis des Analyten Ladungs- oder optischer Energietransfer von einem als Donor dienenden ersten Lumineszenzlabel zu einem als Akzeptor dienenden zweiten Lumineszenzlabel verwendet wird.

15

43. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 42, dadurch gekennzeichnet, dass die einen oder mehreren Lumineszenzen und / oder Bestimmungen von Lichtsignalen bei der Anregungswellenlänge polarisationsselektiv vorgenommen werden, wobei vorzugsweise die einen oder mehreren Lumineszenzen bei einer anderen Polarisation als der des Anregungslichts gemessen werden.

20

44. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 43, dadurch gekennzeichnet, dass neben der Bestimmung einer oder mehrerer Lumineszenzen Änderungen des effektiven Brechungsindex auf den Messbereichen bestimmt werden.

25

45. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 44 zur gleichzeitigen oder sequentiellen, quantitativen oder / und qualitativen Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe, welche Antikörper oder Antigene, Rezeptoren oder Liganden, Chelatoren oder "Histidin-tag-Komponenten", Oligonukleotide, DNA- oder RNA-Stränge, DNA- oder RNA-Analoga, Enzyme, Enzymcofaktoren oder Inhibitoren, Lektine und Kohlehydrate umfasst.

30

46. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 45, dadurch gekennzeichnet, dass die zu untersuchenden Proben beispielsweise wässrige Lösungen, wie insbesondere Pufferlösungen, natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin oder Eigelb oder optisch trübe Flüssigkeiten oder Gewebeflüssigkeiten oder Oberflächenwasser oder Boden- oder Pflanzenextrakte oder Bio- oder Syntheseprozessbrühen sind oder aus biologischen Gewebeteilen oder aus Zellkulturen oder -extrakten entnommen sind.
47. Verwendung einer Komponente aus der Gruppe von Komponenten, welche gebildet wird von einer Wellenleiterplatte nach einem der Ansprüche 1 – 17, einer Sensorplattform nach einem der Ansprüche 18 bis 23, einer Anordnung von Probenbehältnissen nach einem der Ansprüche 24 bis 29, und / oder eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 30 bis 46 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, für die Erstellung von Toxizitätsstudien sowie für die Bestimmung von Gen- oder Protein-Expressionsprofilen sowie zum Nachweis von Antikörpern, Antigenen, Pathogenen oder Bakterien in der pharmazeutischen Produktentwicklung und -forschung, der Human- und Veterinärdiagnostik, der Agrochemischen Produktentwicklung und -forschung, der symptomatischen und präsymptomatischen Pflanzendiagnostik, zur Patientenstratifikation in der pharmazeutischen Produktentwicklung und für die therapeutische Medikamentenauswahl, zum Nachweis von Pathogenen, Schadstoffen und Erregern, insbesondere von Salmonellen, Prionen, Viren und Bakterien, in der Lebensmittel- und Umweltanalytik.

