

---

Octrooiraad



⑩ A **Terinzagelegging** ⑪ **7905221**

Nederland

⑲ NL

---

- ⑤4 **Inrichting en werkwijze voor luminescentiebepaling van de concentratie van een te analyseren stof in een monster.**
- ⑤1 Int.Cl.<sup>3</sup>: G01N21/52.
- ⑦1 Aanvrager: University of Birmingham te Birmingham, Groot-Brittannië.
- ⑦4 Gem.: Ir. G.F. van der Beek c.s.  
NEDERLANDSCH OCTROOIBUREAU  
Joh. de Wittlaan 15  
2517 JR 's-Gravenhage.

- 
- ②1 Aanvraag Nr. 7905221.
- ②2 Ingediend 4 juli 1979.
- ③2 --
- ③3 --
- ③1 --
- ②3 --
- ⑥1 --
- ⑥2 --

- 
- ④3 Ter inzage gelegd 6 januari 1981.

De aan dit blad gehechte afdruk van de beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en) bevat afwijkingen ten opzichte van de oorspronkelijk ingediende stukken; deze laatste kunnen bij de Octrooiraad op verzoek worden ingezien.

---

N.O.27.983

University of Birmingham, te Birmingham, Groot-Brittannië.

Inrichting en werkwijze voor luminescentiebepaling van de  
concentratie van een te analyseren stof in een monster.

Het is bekend om in bijvoorbeeld medische en biomedische onderzoeken, routine onderzoek en diagnostiek de concentratie van diverse substanties in een monster te meten, hierna te analyseren stof genoemd, door zulk een te analyseren stof deel te laten nemen in een luminescentiereactie met andere voorafbepaalde substanties, die zodanig zijn gekozen, dat de luminescentie bij de reactie on-  
dubbelzinnig verband houdt met de concentratie van de te analyse-  
ren stof. Metingen zijn uitgevoerd, in het bijzonder op substan-  
ties die in een fluïdum aanwezig zijn, bijvoorbeeld hormonen, me-  
dicamenten en bloedbestanddelen.

5

10

Onder publikaties waarin zulke metingen zijn beschreven, vallen het Britse octrooischrift 1.461.877, het Belgische octrooi-  
schrift 856.182 en het tijdschrift "Proceedings of the First  
International Symposium on Analytical Applications of Biolumines-  
cence and Chemiluminescence", Brussel 6-8 september 1978.

15

Oudere methoden zijn niet steeds geschikt gebleken voor routine diagnostiek in een laboratorium en de uitvinding heeft ten doel tegemoet te komen aan de behoefte van zulk een routine-werk.

Volgens een eerste aspect van de uitvinding heeft een in-  
richting voor de luminescentiebepaling van de hoeveelheid of con-  
centratie van een te analyseren stof in een monster een orgaan met  
een aantal cellen die elk een monster kunnen bevatten en elk een  
venster hebben waardoor licht de cel kan verlaten; een onderzoek-  
kamer die ten minste een deel van het orgaan dat een cel bevat kan  
opnemen; een fotodetector die het licht kan ontvangen, dat uit een  
cel wordt uitgezonden, die zich bevindt op een onderzoekplaats in  
de onderzoekkamer, welke fotodetector een uitgangssignaal levert

20

25

afhankelijk van het uitgezonden licht; en een transportmiddel dat de cellen achtereenvolgens naar de onderzoekplaats kan bewegen.

Volgens een ander aspect van de uitvinding is voorzien in een werkwijze voor het bepalen van de hoeveelheid of concentratie van een te analyseren stof in een monster, waarbij een luminescentie reactie wordt tot stand gebracht, waarvan de licht-opbrengst afhankelijk is van de hoeveelheid of concentratie, waarbij de licht-opbrengst wordt gebruikt voor het bepalen van de hoeveelheid of concentratie, waarbij de te analyseren stof uit het monster en een bekende hoeveelheid van dezelfde te analyseren stof voorzien van een etiket met een etiketterende substantie in reactie wordt gebracht met een bepaald reagens, teneinde een reactieproduct te bereiden en waarbij de hoeveelheid of concentratie van de wel dan niet gereageerde, geëtiketteerde te analyseren stof, de etiketterende substantie kunnen worden bepaald en dus de geëtiketteerde te analyseren stof door het meten van de licht-opbrengst uit een luminescentiereactie, waaraan de etiketterende substantie deelneemt.

Met de hierboven gebruikte term "bepaald reagens" wordt bedoeld een reagens dat reageert met de bepaalde te analyseren stof waarvan de concentratie moet worden bepaald. Bijvoorbeeld kan de te analyseren stof een antigeen zijn, in welk geval het bepaalde reagens een antistof kan zijn, of omgekeerd.

De luminescentiereactie kan een chemische luminescentiereactie of een bioluminescentiereactie zijn.

De uitvinding zal hierna nader worden toegelicht aan de hand van de tekening, waarin :

Fig. 1 een aanzicht van een inrichting volgens de uitvinding toont, waarbij het bovenste gedeelte van de inrichting is weggelaten;

fig. 2 een zijaanzicht van de in fig. 1 getoonde onderdelen weergeeft;

fig. 3 een deeldoorsnede langs de lijn III-III van fig.1 illustreert; en

fig. 4 een deeldoorsnede langs de lijn IV-IV van fig.1 toont.

De inrichting kan worden gebruikt bij het bepalen van de hoeveelheid of concentratie van een te analyseren stof in een fluidummonster. De te analyseren stof kan een antigeen zijn, bijvoorbeeld proteïne of deze kan een nucleotide zijn, bijvoorbeeld nicotineamide adenine dinucleotide (NAD) of adenosine trifosfaat (ATP) of een substraat waaruit deze kan worden bereid. In het geval de te analyseren stof een antigeen is wordt het monster en een bekende hoeveelheid van een gemerkt antigeen in reactie gebracht met een antistof voor het antigeen en het produkt van deze reactie wordt gescheiden, bijvoorbeeld door neerslag uit het niet-gereageerde antigeen. Het gemerkte antigeen wordt bereid, doordat aan een antigeen dat identiek is met de te analyseren stof, een molecuul wordt toegevoegd dat kan bijdragen aan een luminescentie-reactie. Het merk-molecuul kan een luminescentiereagens zijn, bijvoorbeeld lumini, maar is bij voorkeur een enzym dat een luminescentiereactie kan katalyseren. Een voorbeeld van zulk een enzym is peroxidase.

De oplossing die overblijft na scheiding van het produkt van de reactie van het antigeen met de antistof bevat zowel gemerkt antigeen als de te analyseren stof, waarbij de verhouding afhankelijk is van de hoeveelheid van de te analyseren stof die aanwezig is in het oorspronkelijke monster. Zulke oplossingen verkregen uit verschillende oorspronkelijke monsters, worden in bijbehorende cellen van de in de tekening getoonde inrichting geplaatst.

De inrichting omvat een orgaan in de vorm van een blok van aluminium of een ander materiaal, dat een goede thermische geleider is. Het blok heeft een aantal cellen voor het opnemen van respectievelijke oplossingen die moeten worden getest. In het bepaalde geïllustreerde voorbeeld wordt elke cel gevormd door een in de handel verkrijgbaar element van doorzichtig kunststofmateriaal, in het algemeen cuvet genoemd. De cuvetten zijn opgenomen in bijbehorende zakken die in een rij zijn gerangschikt aangrenzend aan een laterale grens van het blok en kunnen gemakkelijk worden verwijderd voor het reinigen, bewaren of wegwerpen en kunnen worden vervangen door nieuwe cuvetten. Aangrenzend aan één wand

van elke cuvet is het blok voorzien van een bijbehorende opening 12 waardoorheen licht uit de cel kan ontsnappen.

De inrichting omvat voorts een onderzoekkamer 13, die het gehele blok 10 kan opnemen, waarin de cuvetten 11 zijn ondersteund. Aan één uiteinde van de kamer 13 is een opening 14 aanwezig, waar- 5  
doorheen het blok kan worden ingestoken in de kamer. Bij een on-  
derzoekplaats is in een zijwand van de kamer een venster of ope-  
ning 15 aanwezig, waardoorheen door een cel uitgezonden licht de  
kamer kan verlaten en een fotodetector kan bereiken die aangrenzend  
aan een zijwand van de kamer is gemonteerd en over de opening 15 10  
ligt. De fotodetector is bij voorkeur een foto-vermenigvuldigbuis  
16. Nabij de opening 14 zijn lichtafsluitingen in de kamer aange-  
bracht om te verhinderen dat licht de kamer binnenkomt tussen het  
blok 10 en de wanden van de kamer. Een lichtval is eveneens aange-  
bracht tussen de opening 15 en de afdichting bij opening 14. De 15  
kamer is in het algemeen voor licht afgesloten, met uitzondering  
van de opening 15. Een door een veer gespannen flap 17 is aange-  
bracht, die in de normale toestand de kamer afsluit in een positie  
tussen de opening 14 en de opening 15, wanneer het blok 10 niet  
in de kamer aanwezig is. Deze flap verhindert dat omgevingslicht 20  
de foto-vermenigvuldigbuis bereikt. Wanneer het blok 10 in de kamer  
is ingestoken, is de flap 17 naar een niet-werkzame, in fig. 2  
getoonde positie geduwd.

Een transportmiddel is aanwezig voor de stapsgewijze bewe-  
ging van het blok 10 langs de kamer 13 om de cuvetten 11 achtereen- 25  
volgens in de onderzoekplaats in te stellen. Het transportmiddel  
omvat een elektromotor 18 die een van een rubberen oppervlak voor-  
ziene rol 19 aandrijft via een riem en een riemschijfaandrijving  
20. De motor en rol zijn gemonteerd op een ondersteuning 21 die om  
een verticale as 22 kan scharnieren en die door een veer 23 wordt 30  
gedwongen om zijn scharnieras te bewegen in een zodanige richting  
dat de rol 19 tegen een lateraal oppervlak van het blok 10 wordt  
gedrukt, wanneer het laatstgenoemde zich in de kamer 13 bevindt.  
De nok 24 doet dienst als een aanslagorgaan om een extreme schraap-  
werking van de rol 19 op het blok 10 te verhinderen, wanneer 35  
laatstgenoemde is ingebracht of uitgetrokken. In een voorafbepaalde

positie ten opzichte van elke cuvet 11 is in het blok 10 een bijbehorende dwarsboring 26 gevormd. Voor het detecteren van de aankomst van elke cuvet op de onderzoekplaats, is in de kamer 13 aan een zijde van het blok 10 een bron van infraroodlicht 27 aanwezig en aan de tegenover gelegen zijde van het blok een fototransistor 28. Wanneer een cuvet op de onderzoekplaats is aangebracht in lijn met de opening 15, zijn de bron van infraroodlicht en de fototransistor in lijn met een bijbehorende boring 26. De motor 18 is een gelijkstroom servomotor die het blok 10 nauwkeurig kan positioneren met een cuvet op de onderzoekplaats.

Voor het toevoeren van een luminescentiereagens in elke cel is een reagens-injector aangebracht, bestaande uit een buis 29 (fig.4) die verbonden is met een automatische afleverpipet (niet getoond) en is gemonteerd voor een heen en weer gaande beweging langs een verticale baan die zich in bovenwaartse richting van de onderzoekplaats af uitstrekt. De buis is op de zuiger van een uit een zuiger en cilinder bestaande pneumatische eenheid 30 bevestigd, die de buis naar beneden kan brengen van de rustpositie die met getrokken lijnen in fig. 4 is aangegeven, naar de injectiepositie aangegeven door een streep-puntlijn in fig. 4 en daarna de buis omhoog kan brengen naar zijn rustpositie, waarbij deze geheel boven het niveau van de cuvet 11 en het blok 10 ligt. In de injectiepositie strekt deze zich uit tot in een cuvet op de onderzoekplaats tot op een korte afstand van de bodem van de cel, die daardoor is bepaald.

Lucht wordt aan de eenheid 30 toegevoerd via een elektrisch bediende klep (niet getoond) die in een elektrische keten van een besturingsmiddel 32 is opgenomen en die op zichzelf bekend is. De fototransistor 28 en de motor 18 zijn eveneens opgenomen in de keten van het besturingsmiddel. Het besturingsmiddel 32 is zodanig instelbaar, dat een voorsafbepaalde cyclustijd wordt opgewekt, die kan variëren van 1 seconde tot 10 minuten. Het besturingsmiddel voorziet in een visuele indicatie van de positie van het blok 10 om de bepaalde cel te identificeren, die in lijn ligt met de foto-vermenigvuldigbuis.

In het geval elke te onderzoeken oplossing een antigeen

bevat dat door het enzym peroxydase of een ander geschikt enzym  
 is gemerkt, wordt een bekende hoeveelheid van de oplossing tezamen  
 met een eerste luminescentiereagens en mogelijkerwijze een ver-  
 dunningsmiddel in een van de cuvetten 11 ingebracht, terwijl het  
 blok 10 uit de kamer 13 wordt verwijderd. Oplossingen afgenomen 5  
 uit andere monsters kunnen op dezelfde wijze in de andere cuvetten  
 worden ingebracht. Het blok wordt daarna in trilling gebracht om  
 de oplossingen grondig te mengen en de oplossingen worden op een  
 voorafbepaalde temperatuur gebracht door een in het blok 10 inge- 10  
 bed temperatuurregelmiddel. Het regelmiddel kan bijvoorbeeld een  
 verwarmingsselement omvatten, een circulatiebuis voor kool- of  
 verwarmingsfluidum, of een elektrisch koel- of verwarmingsselement  
 van Peltier; alle bestuurbaar door een thermostaat. Het blok wordt  
 daarna naar de kamer 13 getransporteerd en in de kamer ingestoken  
 totdat deze tegen de rol 19 aankomt. Het besturingsmiddel van de 15  
 inrichting wordt daarna bekrachtigd om de cyclische werking van de  
 inrichting tot stand te brengen om beurtelings de oplossingen te  
 onderzoeken die in elke cel aanwezig zijn. Wanneer een cel op de  
 onderzoekplaats is gebracht, wordt de buis 29 naar beneden ge-  
 bracht tot in die cel en een voorafbepaald volume van een tweede 20  
 luminescentiereagens wordt in de cel geïnjecteerd met een snelheid  
 die zo hoog is, dat de vloeistoffen in de cel snel worden gemengd.  
 Hierdoor kan de luminescentiereactie plaatsvinden en wordt licht  
 vanaf de cel uitgezonden via het venster gevormd door de doorzich-  
 tige wand van de cuvet en de opening 12. De foto-vermenigvuldig- 25  
 buis 16 levert een uitgangssignaal afhankelijk van het door de cel  
 uitgezonden licht. Nadat een gekozen interval is verlopen, wordt de  
 buis 29 omhoog gebracht naar zijn rustpositie en de volgende cel  
 wordt op de onderzoekplaats gebracht.

In het geval het eerste reagens waterstofperoxide is kan 30  
 het tweede luminescentiereagens luminol zijn. De concentratie van  
 het enzym in elke cel hangt af van de hoeveelheid van de te ana-  
 lyseren stof in het monster die behoort bij die cel. Variaties in  
 de hoeveelheid van de te analyseren stof in de verschillende mon-  
 sters resulteren in overeenkomstige variaties in de snelheid waar- 35  
 bij de luminescentiereactie optreedt binnen de verschillende cellen

7905221

en dit heeft overeenkomstig verschillende lichtopbrengsten uit de cellen tot gevolg.

Hoewel het mogelijk zou zijn één van de reactiecomponenten als een merk op het antigeen te gebruiken, wordt de voorkeur gegeven aan het gebruik van het enzym als een merk. Aangezien de hoeveelheid van het aanwezige enzym niet afneemt als de luminescentiereactie voortschrijdt, wordt een relatief constante opbrengst uit de foto-vermenigvuldigbuis verkregen na een beginfase gedurende welke de opbrengst snel toeneemt. Voorts verhindert de aanwezigheid van een proteïne op het enzym gewoonlijk niet de katalysatiewerking van het enzym; terwijl de aanwezigheid van een proteïne op luminol resulteert in een sterische verhindering of inactivatie, waardoor de snelheid van de luminescentiereactie afneemt en derhalve de gevoeligheid van het proces voor variaties met betrekking tot de hoeveelheid van de te analyseren stof die in het oorspronkelijke monster aanwezig is.

Het uitgangssignaal van de foto-vermenigvuldigbuis 16 kan grafisch worden weergegeven door een kaart-registratie-inrichting, geïntegreerd over de periode gedurende welke het door een cel uitgezonden licht wordt gedetecteerd door de buis 16, of over een gekozen gedeelte van zulk een periode, of op een of andere wijze verwerkt.

De inrichting kan worden toegepast bij het bepalen van de concentratie van ATP in een monster. ATP reageert met glimworm luciferine bij aanwezigheid van het enzym glimworm luciferase, teneinde adenosine monofosfaat (AMP) te verkrijgen. Licht wordt uitgezonden, wanneer deze reactie optreedt. Een voorafbepaald volume van het monster dat ATP en een oplossing van glimworm luciferase bevat, wordt in een cuvet 11 gebracht en door schudden gemengd, waarbij de temperatuur van de oplossing op een voorafbepaalde waarde wordt ingesteld. De in het blok 10 ondersteunde cuvet wordt daarna op de onderzoekplaats gebracht, waar een voorafbepaald volume van een oplossing van glimworm luciferine wordt geïnjecteerd in de oplossing via de buis 29, zodanig dat de oplossingen snel worden gemengd. Het tijdens de reactie uitgezonden licht wordt gedetecteerd door de foto-vermenigvuldigbuis 16, waarvan het uitgangssignaal wordt gebruikt om de concentratie van

ATP in het monster te bepalen. Een geschikte variant van de werkwijze kan worden gebruikt om de concentratie te bepalen in een monster van een substraat waaruit ATP kan worden bereid.

De inrichting kan eveneens worden toegepast bij de analyse van een vast monster, waarbij dit monster in een cuvet wordt geplaatst, waarin via de buis 29 een reactiecomponent wordt toegevoegd, die een luminescentiereactie van het monster bevordert.

Een elektronische halfgeleiderinrichting of een foelie kan worden gebruikt als fotodetector in plaats van de foto-vermenigvuldigbuis.

In het algemeen wordt de voorkeur gegeven aan het merken van het antigeen, de antistof of een specifiek bindend proteïne met een enzym, dat een katalysator voor een luminescentiereactie vormt. Het merk zou een reactiecomponent kunnen zijn, die meewerkt in een luminescentiereactie of een voorloper van zulk een reactiecomponent of een katalysator van een luminescentiereactie. Bijvoorbeeld zou een antigeen kunnen worden gemerkt met alifatische aldehyde (bijvoorbeeld tetradecylaldehyde, dodecylaldehyde) via een fotochemische reactie van het aldehyde met 4-fluor-3 nitrofenylazide en een daaropvolgende nucleofiel reactie van het reactieproduct met het antigeen. Het gemerkte antigeen zou daarna kunnen worden bepaald door middel van een bioluminescentiereactie, waarbij bacteriële luciferase/FMN reductase wordt toegepast.

Voor het handhaven van de uniformiteit van de temperatuur zullen de inhoud van de verschillende cellen of cuvetten 11, is de volgende werkwijze van de inrichting voordelig gebleken. Het blok 10 wordt via de opening 14 ingebracht om aan te liggen tegen de rol 19, waardoor deze volledig en ononderbroken in de onderzoekkamer 13 wordt gebracht, totdat deze een grensschakelaar 31 bedient, die deel uitmaakt van het besturingsmiddel 32 van de inrichting. De bediening van deze schakelaar keert de motor 18 om om het blok 10 uit de onderzoekkamer terug te bewegen, waarbij de hierboven genoemde cyclische werking wordt gevolgd om de monsters in elke cuvet 11 om de beurt te onderzoeken. Op deze wijze kunnen de monsters nadelig worden beïnvloed door omgevingstemperatuur slechts nadat zij zijn onderzocht.

In deze beschrijving wordt met de term "licht" bedoeld een elektromagnetische straling en niet slechts een optische maar ook met golflengten in het infrarood en ultraviolet gebied; deze straling kan ook worden uitgebreid tot een straling met golflengten in het radio- en röntgengebied.

C O N C L U S I E S

1. Inrichting voor luminescentiebepaling van de hoeveelheid of concentratie van een te analyseren stof in een monster, g e k e n m e r k t door een orgaan (10) dat een aantal cellen (11) omvat, die elk een monster kunnen bevatten en die elk een venster (12) hebben waardoorheen licht de cel (11) kan verlaten; een onderzoekkamer (13) die het orgaan (10) kan opnemen, dat ten minste één cel (11) bevat; een fotodetector (16) die het door een cel (11) uitgezonde licht ontvangt, die op een onderzoekplaats in de onderzoekkamer (13) is aangebracht en die een uitgangssignaal levert afhankelijk van het uitgezonden licht; en transportmidde- len (18, 19, 20) die de cellen (11) achtereenvolgens naar de on- derzoekplaats bewegen. 5 10
2. Inrichting volgens conclusie 1, m e t h e t k e n- m e r k, dat elke cel (11) een doorzichtig wandgedeelte heeft, dat het venster (12) van de cel vormt. 15
3. Inrichting volgens conclusie 1 of 2, m e t h e t k e n m e r k, dat elke cel (11) wordt gevormd door een element dat van het orgaan (10) kan worden verwijderd voor het reinigen, opslag of het wegwerpen. 20
4. Inrichting volgens één van de voorafgaande conclusies, m e t h e t k e n m e r k, dat het transportmiddel een elektro- motor (18) omvat, die het orgaan (10) aandrijft via een riem en riemschijf (20), alsmede een van een rubberen oppervlak voorziene rol (19) die tegen het lichaam (10) aanligt. 25
5. Inrichting volgens één van de voorafgaande conclusies, m e t h e t k e n m e r k, dat de temperatuur van de inhoud van de cel in het orgaan (10) kan worden geregeld door een tempe- ratuur-regelmiddel dat in het orgaan is ingebed.
6. Inrichting volgens één van de voorafgaande conclusies, m e t h e t k e n m e r k, dat een licht-blokkeringsmiddel aanwezig is dat verhindert dat omgevingslicht de onderzoekkamer (13) via een opening daarin kan binnenkomen. 30
7. Inrichting volgens conclusie 6; m e t h e t k e n- m e r k, dat het blokkeringsmiddel bestaat uit een door een veer gespannen flap (17) die met het orgaan (10) samenwerkt, wanneer het orgaan zich ten minste gedeeltelijk in de onderzoekkamer (13) 35

7905221

bevindt.

8. Inrichting volgens één van de voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat een aflevermiddel (29) aanwezig is voor het toevoeren van een voorafbepaalde hoeveelheid reagens aan een cel (11) op de onderzoekplaats. 5

9. Inrichting volgens conclusie 8, met het kenmerk, dat het aflevermiddel bestaat uit een reagens-injector (29, 30) die heen en weer kan bewegen in en uit een cel (11) en die het reagens kan toevoeren aan de cel wezenlijk aan de bodem daarvan. 10

10. Inrichting volgens conclusie 8 of 9, met het kenmerk, dat een instelbaar besturingsmiddel aanwezig is voor het besturen van het transportmiddel (18, 19, 20) en het aflevermiddel (29) om een cyclisch bedrijf tot stand te brengen, waarbij een cyclus bestaat uit het bewegen van een cel (11) naar de onderzoekplaats, het toevoeren van reagens aan de cel, het detecteren van de lichtopbrengst uit de cel gedurende een voorafbepaalde periode, en tenslotte het bewegen van de cel van de onderzoekplaats af. 15

11. Inrichting volgens conclusie 10, met het kenmerk, dat het besturingsmiddel wordt bediend door een fotogevoelig middel (28) dat door een bron van infrarood licht (27) wordt belicht via een boring (26) in het orgaan (10), wanneer een cel (11) zich op de testplaats bevindt. 20

12. Inrichting volgens conclusie 10 of 11, met het kenmerk, dat het besturingsmiddel eerst het orgaan (10) volledig en ononderbroken tot in de onderzoekkamer (13) beweegt en daarna het orgaan (10) uit de onderzoekkamer (13) beweegt volgens het genoemde cyclische bedrijf. 25

13. Werkwijze voor het bepalen van de hoeveelheid of concentratie van een te analyseren stof in een monster, waarbij een luminescentiereactie wordt uitgevoerd waarvan de lichtopbrengst afhankelijk is van de hoeveelheid of concentratie, met het kenmerk, dat de te analyseren stof van het monster en een bekende hoeveelheid van dezelfde stof die gemerkt is met een merksubstantie, in reactie worden gebracht met een bekende hoeveelheid van een specifiek reagens, teneinde een reactieproduct te bereiden; 30  
35

7905221

en dat de hoeveelheid of concentratie van de gereageerde of niet-gereageerde gemerkte te analyseren stof wordt bepaald, waarbij de merksubstantie kan worden bepaald en dus de gemerkte te analyseren stof, doordat de lichtopbrengst uit een luminescentiereactie wordt gemeten, waaraan de merksubstantie deelneemt. 5

14. Werkwijze volgens conclusie 13, met het kenmerk, dat het reactieproduct wordt afgescheiden van de niet-gereageerde gemerkte te analyseren stof alvorens de hoeveelheid of concentratie van de gereageerde of niet-gereageerde gemerkte te analyseren stof wordt bepaald. 10

15. Werkwijze volgens conclusie 13 of 14, met het kenmerk, dat de merksubstantie een enzym is dat een katalysator voor de luminescentiereactie is.

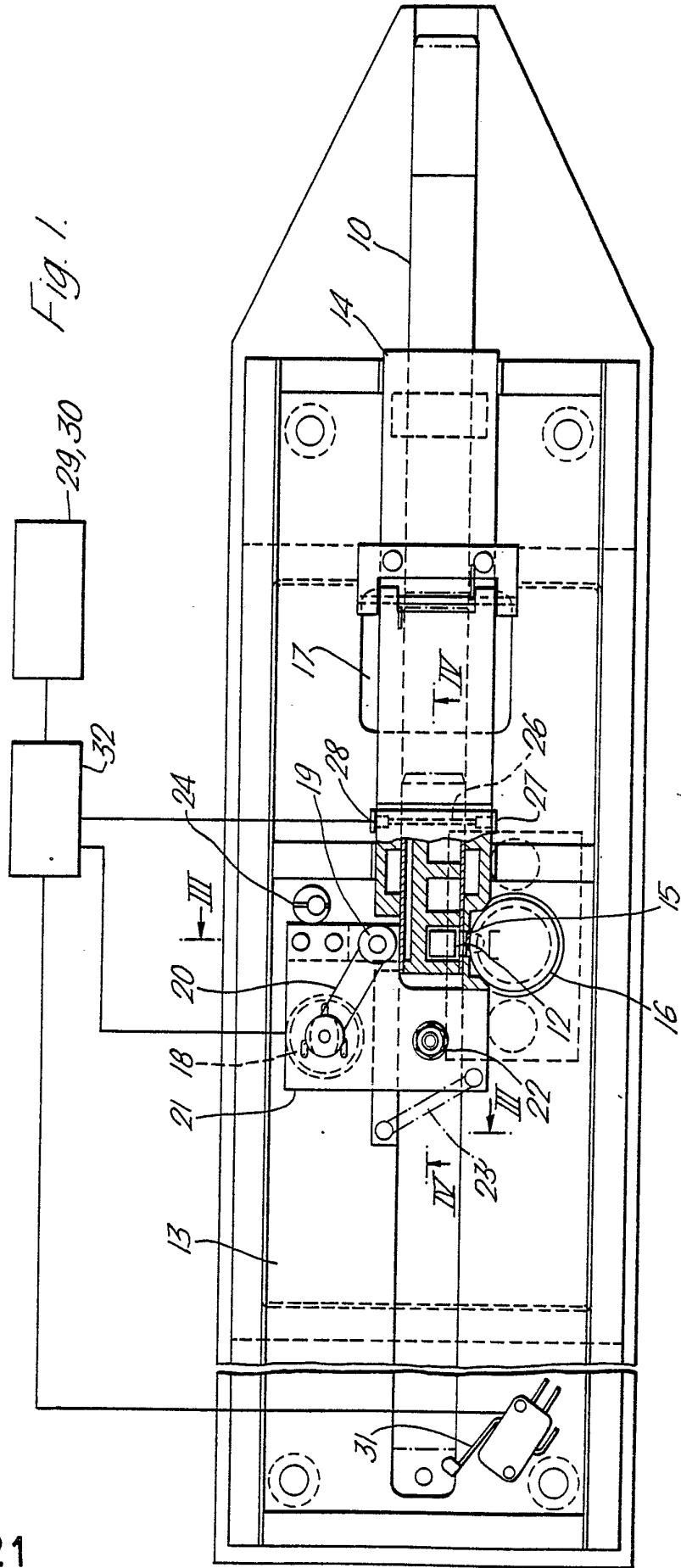
16. Werkwijze volgens conclusie 15, met het kenmerk, dat het enzym peroxydase is. 15

17. Werkwijze volgens conclusie 13 of 14, met het kenmerk, dat de merksubstantie een reactiecomponent of een katalysator van een luminescentiereactie is, die aan een luminescentiereactie deelneemt, of een voorloper van zulk een reactiecomponent is. 20

18. Werkwijze volgens conclusie 17, met het kenmerk, dat een te analyseren stof wordt gemerkt met een alifatisch aldehyde via een fotochemische reactie van het aldehyde met 4-fluor-3 nitrofenylazide en een daaropvolgende nucleofiel reactie van het reactieproduct met de te analyseren stof; gevolgd door het bepalen van de te analyseren stof via een bioluminescentiereactie, waarbij bacterieel luciferase of FMV-reductase wordt toegepast. 25

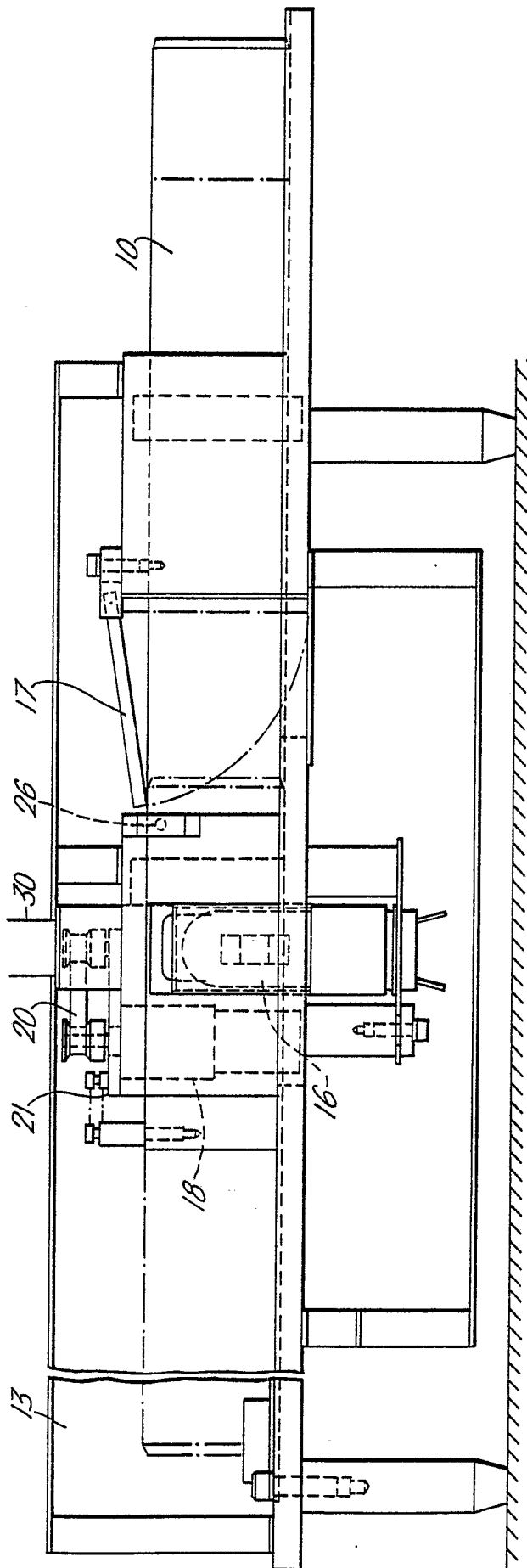
=====

Fig. 1.



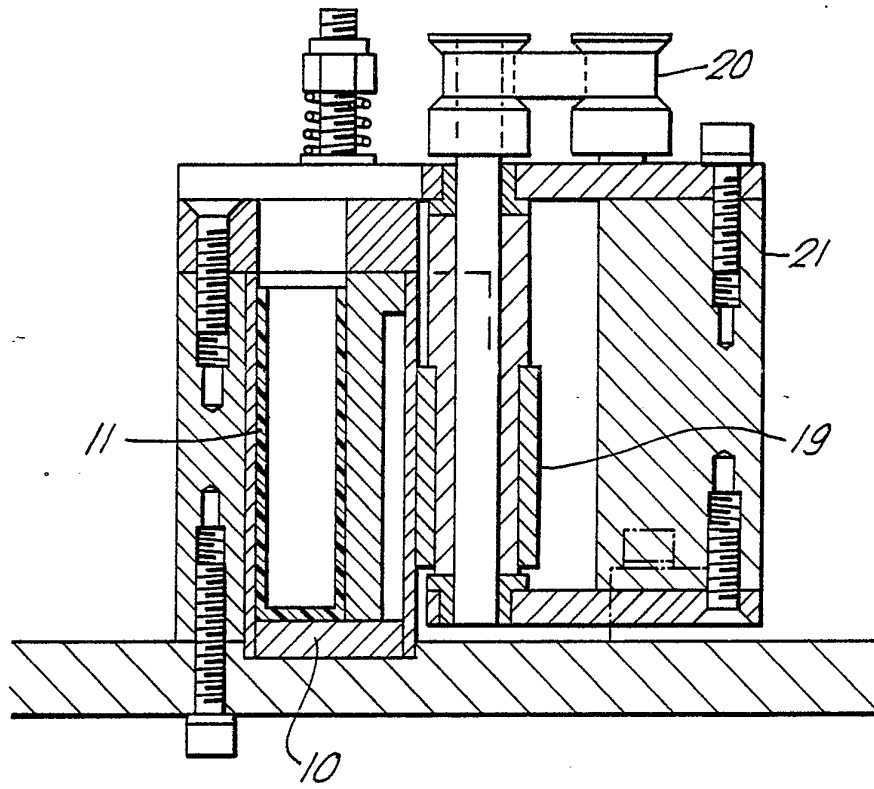
7905221

Fig. 2.



790 52 21

Fig. 3.



7905221

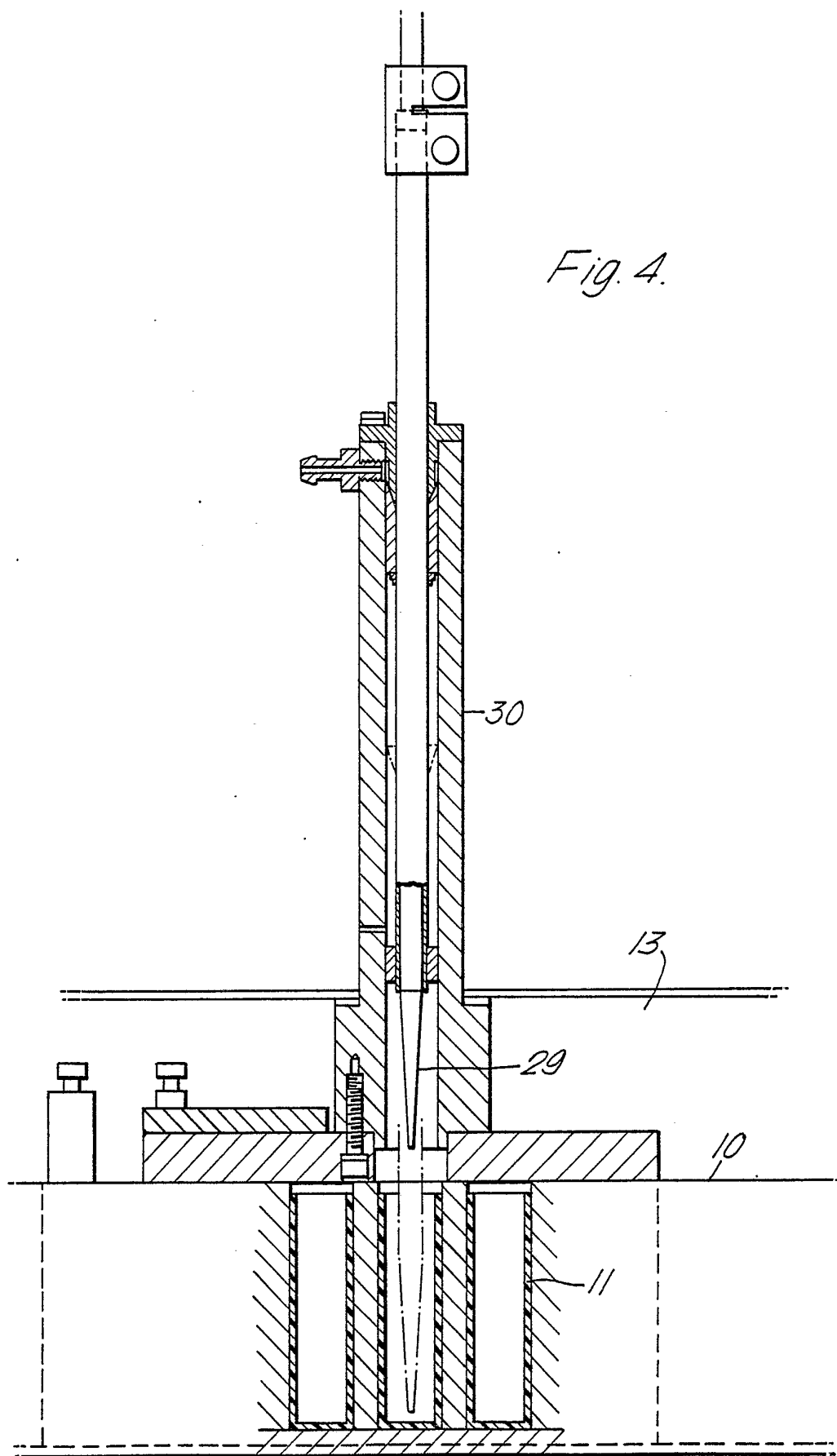


Fig. 4.

7905221