

(12)

Gebrauchsmusterschrift

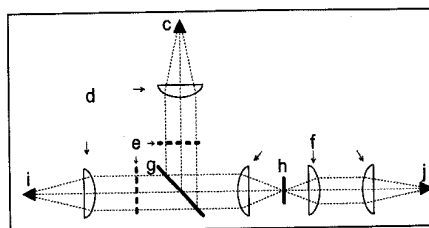
(21) Anmeldenummer: GM 302/2009
(22) Anmeldetag: 11.05.2009
(24) Beginn der Schutzdauer: 15.02.2011
(45) Veröffentlicht am: 15.04.2011

(51) Int. Cl. : **G01N 33/569** (2006.01)

(73) Gebrauchsmusterinhaber:
TECHNISCHE UNIVERSITÄT WIEN
A-1040 WIEN (AT)

(54) VORRICHTUNG ZUR IDENTIFIKATION VON ZELLEN

(57) Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Identifizierung von Zellen in einer Probe durch Messung des Infrarot-Absorptionsvermögens der Probe bei zumindest zwei Wellenlängen, wobei die Vorrichtung umfasst: eine Lichtquelle, die Infrarotstrahlung bei den zumindest zwei Wellenlängen emittiert und zumindest eine Leuchtdiode (LED) (c, i) umfasst, eine im Strahlengang der Lichtquelle angeordnete Probenhalterung (h), eine Photodiode (j) als Detektor, eine Optik (d, f) zur Parallelrichtung des von der Lichtquelle emittierten Lichtstrahls zur Fokussierung desselben auf die Probe sowie des aus der Probe austretenden Lichtstrahls auf den Detektor (j), sowie eine mit dem Detektor (j) verbundene Recheneinheit zur Aufnahme, Speicherung, Umrechnung und Ausgabe der gemessenen bzw. umgerechneten Daten.



Figur 2

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Messgerät zur Identifizierung von Zellen in einer Probe durch Messung des Infrarot-Absorptionsvermögens.

[0001] Bezüglich der Identifizierung von Zellen mittels Infrarotspektroskopie ist aus Arbeiten zahlreicher Autoren, in jüngerer Vergangenheit u.a. von Fabian et al., Biochim. Biophys. Acta 1758, 874-882 (2006), sowie von Maziak et al., Cancer Detect. Prev. 31, 244-253 (2007), bekannt, dass eine Unterscheidung zwischen normalem oder gesundem Gewebe und pathologischem, z.B. kanzerösem, Gewebe mittels FTIR-Spektroskopie durch Vergleich der Intensitäten charakteristischer Banden möglich ist. Veränderungen der Zellen bewirken nämlich, dass das Ausmaß bzw. die Art der durch Infrarotstrahlung angeregten Schwingungen von Molekülen oder funktionellen Gruppen in bestimmten Regionen oder Abschnitten von Körperzellen variiert.

[0002] In Fig. 1 ist ein Beispiel für einen solchen Vergleich anhand von gesundem und malignem Ösophagus-Gewebe dargestellt (Quelle: Maziak et al., s.o.), wobei gut zu erkennen ist, dass das maligne Gewebe in den Wellenzahl-Bereichen von etwa 1000-1600 cm^{-1} und rund um 3000 cm^{-1} besonders stark von den Absorbanzwerten des normalen Gewebes abweicht. Diese Absorbanzunterschiede können durch mathematische Ableitung der Messkurven für ausgewählte Abschnitte des Spektrums gegebenenfalls noch weiter verdeutlicht werden.

[0003] Trotz der erwiesenen generellen Nützlichkeit von FTIR-Spektroskopie zur Diagnose sind die Verfahren nach dem Stand der Technik dennoch mit mehreren Nachteilen behaftet. Zum einen sind die verwendeten Spektrometer in der Regel ortsgebunden, d.h. nicht oder nur schwer transportierbar. Zum anderen ist eine aufwändige Kühlung der Messanordnung, z.B. mit flüssigem Stickstoff oder Helium, erforderlich, um reproduzierbare Messwerte zu erhalten. Darüber hinaus sind die Geräte in Anschaffung und Betrieb sehr teuer. Oftmals ist das untersuchte Gewebe einem oder mehreren Markierungs- oder Färbeschritten zu unterziehen, woraus verhältnismäßig hohe Kosten für jedes einzelne, damit aufgenommene Spektrum und die anschließende Diagnose resultieren.

[0004] Ziel der Erfindung war daher die Bereitstellung einer Vorrichtung, mittels derer auf wirtschaftlichere, einfachere und raschere Weise zwischen unterschiedlichen Gewebearten unterschieden werden kann und die nicht zwangsläufig ortsgebunden sein sollte.

[0005] Im Zuge ihrer diesbezüglichen Forschungen haben die Erfinder des vorliegenden Anmeldungsgegenstandes herausgefunden, dass es nicht erforderlich ist, das IR-Spektrum von Zellen über einen mehr oder weniger breiten Wellenlängenbereich aufzunehmen, sondern dass es vielmehr ausreicht, lediglich Messungen bei wenigen, konkret zumindest zwei, diskreten Wellenlängen durchzuführen, um aus dem in der Folge ermittelten Verhältnis der erhaltenen Messwerte zueinander Korrelationen mit der Art oder dem Zustand der untersuchten Zellen anstellen zu können. Dies wird dadurch ermöglicht, dass die Verhältnisse der Absorbanzen bei spezifischen Wellenlängen für individuelle Zelltypen charakteristische Werte annehmen.

[0006] Derartige Messungen bei diskreten Wellenlängen können freilich mit einer deutlich einfacher aufgebauten Vorrichtung als einem herkömmlichen FTIR-Spektrometer vorgenommen werden, mit der die obigen Nachteile des Standes der Technik teilweise oder sogar gänzlich vermieden werden können.

[0007] Die vorliegende Erfindung stellt daher eine Vorrichtung zur Identifizierung von Zellen in einer Probe durch Messung des Infrarot-Absorptionsvermögens der Probe bei zumindest zwei Wellenlängen bereit, wobei die Vorrichtung Folgendes umfasst:

[0008] eine Lichtquelle, die Infrarotstrahlung bei den zumindest zwei Wellenlängen emittiert und zumindest eine Leuchtdiode (LED) umfasst,

[0009] eine im Strahlengang der Lichtquelle angeordnete Probenhalterung,

[0010] eine Photodiode als Detektor,

[0011] eine Optik zur Parallelrichtung des von der Lichtquelle emittierten Lichtstrahls, zur Fokussierung desselben auf die Probe sowie des aus der Probe austretenden Lichtstrahls auf den Detektor und

[0012] eine mit dem Detektor verbundene Recheneinheit zur Aufnahme, Speicherung, Umrechnung und Ausgabe der gemessenen bzw. umgerechneten Daten.

[0013] Mittels einer solchen Vorrichtung können bei den zumindest zwei vorgegebenen Wellenlängen Messwerte für die Absorbanz der Probe erhalten und in Beziehung zueinander gesetzt werden, um für den jeweiligen Zelltyp charakteristische Absorbanzverhältnisse bei diesen Wellenlängen zu erhalten. Aufgrund der Verwendung einer oder mehrerer Infrarot-Leuchtdioden als Lichtquelle und deren äußerst geringer Wärmeentwicklung in Betrieb ist eine externe Kühlung der Messvorrichtung nicht zwingend erforderlich, so dass die Messungen bei Raumtemperatur erfolgen können. Darüber hinaus können die Dimensionen einer solchen erfindungsgemäßen Vorrichtung klein gehalten oder miniaturisiert werden, so dass bei Einbau der Letzteren in ein entsprechendes Gehäuse ein leicht transportables Messgerät zur Verfügung steht, das beispielsweise Abmessungen in der Größenordnung nur weniger Dezimeter oder sogar Zentimeter aufweisen kann.

[0014] Die Definition der zumindest zwei Messwellenlängen kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Zum einen kann die Lichtquelle mehrere LEDs umfassen, deren Emissionsmaxima bei den gewünschten Messwellenlängen liegen. Andererseits, d.h. zusätzlich oder alternativ dazu, kann die Emissionswellenlänge einer oder mehrerer LEDs durch geeignete, im Strahlengang derselben liegende optische Bauteile, wie z.B. Filter, Gitter, Prismen oder dergleichen, zu einer gewünschten Messwellenlänge hin verschoben werden. Diese optischen Bauteile sind vorzugsweise austauschbar im Strahlengang der jeweiligen LED angeordnet und sind besonders bevorzugt Schmalband-Passfilter (NBPs), deren Transmissionsmaxima bei den gewünschten Messwellenlängen liegen.

[0015] Solche Schmalband-Passfilter sind vorzugsweise nur für Licht in einem möglichst engen Wellenlängenbereich, noch bevorzugter für Licht nur einer bestimmten Wellenlänge, durchlässig, was die Genauigkeit der Messungen weiter erhöht. Die übrige Optik kann ganz herkömmlich ausgeführt sein und kann daher beispielsweise einen Satz plankonvexer Linsen umfassen, ohne jedoch speziell darauf beschränkt zu sein. Vielmehr sind jegliche der Messgenauigkeit zuträglich optische Bauteile wie Linsen, Spiegel, Blenden, Prismen, Planplatten, Filter, Gitter usw. einsetzbar, wobei wiederum besonderes Augenmerk auf den Raumbedarf der Komponenten zu legen ist.

[0016] Wenn mehr als eine LED als Lichtquelle vorgesehen ist, umfasst die Optik vorzugsweise weiters einen oder mehrere Strahlteiler zur Fokussierung der von den weiteren LEDs emittierten Lichtstrahlen auf denselben Punkt der Probe wie den aus der ersten LED emittierten Lichtstrahl.

[0017] Die Art der mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung messbaren Probe ist nicht speziell eingeschränkt, solange eine ausreichende Anzahl und Dichte der zu untersuchenden Zellen gewährleistet ist. So können beispielsweise sowohl flüssige Zellsuspensionen als auch feste Proben, wie z.B. Gewebeschnitte oder eigens gezüchtete Zell(mono)schichten, gemessen werden. Diese können etwa mittels entsprechender, bei der Messung inerten Küvetten oder Objektträger (z.B. aus Quarzglas, CaF_2 , KBr oder dergleichen) in die Probenhalterung eingeführt werden.

[0018] Die Messungen erfolgen vorzugsweise an mehreren Stellen der Probe unter anschließender Mittelwertbildung durch die Recheneinheit, um so die Messgenauigkeit zu erhöhen. Dazu kann die Position der Probe in oder mitsamt der Probenhalterung verändert oder der Fokus des Strahlengangs auf unterschiedliche Stellen der Probe gerichtet werden, oder auch beides. Weiters werden vorzugsweise die LEDs pulsierend betrieben, was nachstehend ausführlicher beschrieben wird, und die von der Photodiode empfangenen Messwerte werden während eines Pulses gemittelt, was die Messgenauigkeit und die Reproduzierbarkeit der Daten weiter erhöht.

[0019] In bevorzugten Ausführungsformen ist die erfindungsgemäße Vorrichtung in der Lage, Messungen bei zumindest zwei weiteren Wellenlängen vorzunehmen, wobei aus diesen Messwerten entweder zusätzliche, für den Zelltyp charakteristische Verhältnisse ermittelt werden können oder die Messwerte zur Kalibrierung der Vorrichtung herangezogen werden können, z.B. zur Normalisierung und/oder Grundlinienkorrektur der sonstigen Messwerte. So kann beispielsweise bei insgesamt vier Wellenlängen gemessen werden, indem in der Vorrichtung der Erfindung entweder vier LEDs mit entsprechenden Emissionsmaxima oder nur eine einzige LED mit vier - vorzugsweise austauschbar - im Strahlengang vorgesehenen optischen Bauteilen, wobei NBPs erneut bevorzugt sind, oder eine Kombination davon vorgesehen sind, z.B. zwei LEDs mit passenden Emissionsmaxima und eine LED mit zwei zugehörigen NBPs.

[0020] Zwar kann in einer einfachen Ausführungsform der Erfindung lediglich ein austauschbar montierter NBP im Strahlengang der zumindest einen LED vorgesehen sein, der nach Durchführung der Messung bei der ersten Wellenlänge entfernt und gegen den zweiten Filter ausgetauscht wird, oder es können zwei (oder mehrere) NBPs auf einem linear verschiebbaren Träger angeordnet sein. Aufgrund des geringeren Platzbedarfs sind jedoch zumindest zwei NBPs vorzugsweise auf jeweils einem Filterrad vorgesehen, was deren Position leicht veränderbar macht, um zwischen den beiden Messwellenlängen hin- und herschalten zu können. Das Filterrad kann dabei zum Austausch der NBPs im Strahlengang der zugehörigen LED manuell oder auch mittels eines Elektromotors rotierbar sein.

[0021] Die zumindest eine LED der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist in bevorzugten Ausführungsformen pulsierend betreibbar, was ermöglicht, die Absorbanzen bei mehreren Wellenlängen in kontinuierlicher Weise abwechselnd mit nur einer Photodiode zu messen, wodurch die Auswirkungen etwaiger Änderungen der Umgebungsbedingungen während der Messungen sich in den berechneten Verhältnissen nicht niederschlagen. Dazu liegt die Pulsdauer besonders bevorzugt im Bereich von wenigen Mikrosekunden. Der Pulsbetrieb verringert zudem die Wärmeentwicklung der LEDs signifikant.

[0022] Zur weiteren Abschirmung der LEDs und/oder der Photodiode vor äußeren Einflüssen sind diese vorzugsweise in einem eigenen Gehäuse untergebracht, was ebenfalls die Messgenauigkeit erhöht. Aus demselben Grund ist in manchen bevorzugten Ausführungsformen zwischen dem Detektor und der Recheneinheit zusätzlich ein Verstärker des Detektorsignals vorgesehen.

[0023] Obwohl die Vorrichtung der Erfindung keine äußere Kühlung zwingend erfordert, kann in bestimmten Ausführungsformen dennoch zumindest ein Kühlelement zum Kühlen von Bauteilen der Vorrichtung, vor allem natürlich der LEDs und der Photodiode, vorgesehen sein. Auf diese Weise können die Auswirkungen sowohl äußerer Wärmeeinflüsse als auch der inneren Wärmeentwicklung minimiert oder gänzlich vermieden und folglich die Temperatur in der Vorrichtung konstant gehalten werden. Dazu ist jeweils ein Kühlelement besonders bevorzugt am oder im Gehäuse der LEDs und der Photodiode untergebracht. Jegliche Kühlelemente können aus thermoelektrischen Kühlern, Wärmerohren (Heatpipes) und Ventilatoren ausgewählt sein, wobei aus Gründen des Raumbedarfs thermoelektrische Kühler, d.h. eine so genannte Stromkühlung, besonders bevorzugt werden.

[0024] An die Recheneinheit der erfindungsgemäßen Vorrichtung kann ein Anzeigeelement angeschlossen sein, um die Messwerte und die daraus ermittelten Verhältnisse direkt am Messgerät ablesen zu können. Dabei kann es sich beispielsweise um ein herkömmliches LCD-Display handeln, das erneut sehr klein ausgeführt werden kann.

[0025] Weiters kann an die Recheneinheit ein beliebiges Speicherelement angeschlossen sein. Dieses ist nicht speziell eingeschränkt, so dass jegliche herkömmliche Speicher, wie z.B. magnetische, optische oder magnetooptische Speichermedien, z.B. Festplatten, CD- bzw. DVD-Writer und dergleichen, in Frage kommen. Vorzugsweise wird aber ein Halbleiterspeicher eingesetzt, der etwa ein Speicherchip oder eine Solid State Disk (SSD) sein kann, da so erneut der Platzbedarf, aber auch der Strombedarf minimiert wird. Letzterer ist besonders in Ausführungsformen zu berücksichtigen, in denen die Vorrichtung nicht mittels Netzstrom, sondern mittels

Akkus betrieben wird.

KURZBESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0026] Fig. 1 zeigt, wie bereits erwähnt, beispielhaft das IR-Spektrum gesunder im Vergleich zu jenem von kanzerösen Ösophaguszellen.

[0027] Fig. 2 zeigt schematisch das optische Konzept einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung mit zwei LEDs in einer in den Ausführungsbeispielen verwendeten Messanordnung, d.h. Vorrichtung.

[0028] Fig. 3 zeigt die Lage der Messwellenlängen in einem Ausschnitt des IR-Spektrums von in den Ausführungsbeispielen untersuchten Zellen.

[0029] Fig. 4 zeigt denselben Bereich des IR-Spektrums wie Fig. 3, jedoch nach Normalisierung und Grundlinienkorrektur für zwei untersuchte Zelllinien.

[0030] Die Erfindung wird nachstehend anhand von nicht einschränkenden Beispielen näher beschrieben.

BEISPIELE

[0031] Die Bau- und Wirkungsweise einer erfindungsgemäßen Vorrichtung wird anhand von Messungen des Verhältnisses zwischen dem Ausmaß der symmetrischen und der antisymmetrischen Streckschwingungen von CH_2 -Gruppen im Lipid-Anteil von Zellmembranen demonstriert, wenngleich auch eine Reihe anderer charakteristischer Verhältniszahlen zur Identifizierung der Zellen herangezogen werden kann, die beispielsweise aus dem in Fig. 1 dargestellten IR-Spektrum oder aus IR-Datenbanken ableitbar sind.

[0032] Die in Fig. 2 schematisch dargestellte Vorrichtung bestand durchwegs aus im Handel erhältlichen Bauteilen, nämlich aus zwei LEDs c und i mit Emissionsmaxima bei $3,4\text{ }\mu\text{m}$ bzw. $3,65\text{ }\mu\text{m}$ (d.h. Wellenzahlen von 2940 bzw. 2740 cm^{-1}) und einer Photodiode j mit einer Peakwellenlänge von $3,35\text{ }\mu\text{m}$ und einem Cutoff von $3,7\text{ }\mu\text{m}$, die alle drei jeweils in ein selbst als Kühlkörper dienendes Gehäuse ("heat sink housing") eingebaut waren; vier Schmalband-Passfiltern e mit Durchlässigkeiten bei $3,33$, $3,42$, $3,51$ und $3,57\text{ }\mu\text{m}$ (d.h. bei Wellenzahlen von 3000 , 2920 , 2850 und 2800 cm^{-1}); sowie einer aus fünf plankonvexen Linsen d und f und einem Strahlteiler g bestehenden Optik.

[0033] Die LEDs c und i wurden abwechselnd pulsend betrieben, wobei Pulse einer Dauer von $8\text{ }\mu\text{s}$ bei einer Trägerfrequenz von 2 kHz abgegeben wurden und die Pulsemissionen der LEDs jeweils an der oberen bzw. unteren Flanke des Trägersignals erfolgten. Dazu waren die Trägersignale beider LED-Treiber - wie auch das verstärkte Photodioden-Signal - an eine mittels Matlab-Script programmierbare Messwerterfassungskarte eines herkömmlichen PCs als Recheneinheit gekoppelt.

[0034] Die Strahlen aus den beiden LEDs c und i wurden mittels jeweils einer plankonvexen Linse d der Optik gebündelt und durch je einen von jeweils zwei auf einem Filterrad montierten NBPs e geleitet. Auf dem ersten Filterrad waren die NBPs e mit Durchlässigkeiten um eine zentrale Wellenlänge von $3,33$ und $3,42\text{ }\mu\text{m}$ (3000 und 2920 cm^{-1}) montiert, auf dem anderen jene um $3,51$ und $3,57\text{ }\mu\text{m}$ (2850 und 2800 cm^{-1}).

[0035] Die Strahlen aus den NBPs e wurden mittels des Strahlteilers g und einer weiteren plankonvexen Linse f auf eine $1,5\text{ mm}$ große Apertur in der Ebene der Probenhalterung h fokussiert, wobei für jede Probe auf vier unterschiedliche $1,5\text{-mm}$ -Aperturen fokussiert wurde und die jeweiligen Mittelwerte dieser Messungen gebildet wurden. In die im Wesentlichen aus zwei vertikalen Schienen aufgebaute Probenhalterung h wurden herkömmliche Objektträger aus CaF_2 eingeschoben, auf denen zuvor Zellmonoschichten der zu messenden Zelllinien aufkultiviert worden waren, wie nachstehend näher beschrieben wird.

[0036] Die aus den Proben austretenden Strahlen wurden mittels zweier weiterer plankonvexer

Linsen f gebündelt und auf den Detektor, d.h. die Photodiode, j fokussiert. Das Messsignal aus der Photodiode j wurde mittels eines Spannungsverstärkers verstärkt und wie oben beschrieben an die Messwerterfassungskarte der Recheneinheit weitergeleitet, dort gespeichert, umgerechnet und an eine Ausgabe weitergegeben.

In den Beispielen wurden die folgenden Zelllinien auf die CaF_2 -Objektträger aufkultiviert und getestet.

BEISPIEL 1:

[0037] gesunde Madin-Darby-Hundenieren-Zellen (MDCK; ATCC CCL-34)

BEISPIEL 2:

[0038] Zellen von humanem epitheliale Nierenzellkarzinom A498 (ATCC HTB-44)

BEISPIEL 3:

[0039] Zellen von humanem Nierenkarzinom Caki-1 (ATCC HTB-46)

[0040] Die Kultivierung erfolgte jeweils bei 37 °C und 5 % CO_2 in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), ergänzt mit 2 mM L-Glutamin, 10 % fötalem Kälberserum (FBS) und Antibiotika (100 U/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin und 0,25 µg/ml Amphotericin B), die allesamt von Lonza erhalten wurden. Die Objektträger wurden vor den Messungen zweimal mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen, um jegliche abgelöste Zellen und Komponenten des Mediums zu entfernen, und anschließend 3 h lang in einem sterilen Laminarströmungsbox getrocknet, um den Wasseranteil zu entfernen.

[0041] Auf diese Weise wurden mittels der alternierenden Pulse der LEDs zunächst gleichzeitige Messungen der Absorbanz bei der höchsten und der niedrigsten Wellenlänge durchgeführt, anhand derer die Grundlinie für die Messung der charakteristischen CH_2 -Streckschwingungen definiert wurde, wie dies in Fig. 3 dargestellt ist. Dabei wurden die Werte nichtfunktioneller Absorbanz unterhalb der Grundlinie berechnet, die von den späteren Probenmessungen subtrahiert wurden.

[0042] Zusätzlich wurde eine Blindprobe, d.h. ein leerer Objektträger ohne Zellen, gemessen und das Ergebnis von allen weiteren Messungen subtrahiert. Darüber hinaus stellen sämtliche Messungen aller Beispiele Mittelwerte von vier Einzelwerten - genauer gesagt vom zweithöchsten bis zum fünfhöchsten gemessenen Spannungswert - von 10 Messwerten pro Puls dar, und insgesamt wurden 500 Pulse pro Wellenlänge aufgezeichnet. Da, wie zuvor erwähnt, an vier Messpunkten pro Probe gemessen wurde, wurden somit insgesamt 8000 Pulse für jede Wellenlänge zur Berechnung herangezogen, was eine ausgezeichnete Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen gewährleistete.

[0043] Nach der Definition der Grundlinie wurden die beiden Filterräder weitergedreht, so dass die beiden NBPs mit Durchlässigkeiten um 3,42 bzw. 3,51 µm im Strahlengang lagen. Danach wurde gleichzeitig die Absorbanz bei diesen Wellenlängen gemessen, von denen die obigen Grundlinienwerte subtrahiert wurde, um so die charakteristischen Werte für die antisymmetrischen (3,42 µm) und die symmetrischen (3,51 µm) CH_2 -Streckschwingungen des Lipidanteils der Zellmembranen zu erhalten.

[0044] Diese Werte wurden von der Recheneinheit auf den Absorbanzwert der antisymmetrischen Schwingungen bei 3,42 µm normalisiert, d.h. dieser wurde in jedem Beispiel als 1 angenommen, wie in Fig. 4 dargestellt, um für die jeweiligen symmetrischen Schwingungen bei 3,51 µm, die durchwegs numerisch kleinere Absorbanzwerte aufweisen, eine Verhältniszahl < 1 zu erhalten.

[0045] Zur Überprüfung, ob die Messwerte sich im Lauf der Zeit verändern würden, so dass nur frisch gewonnene Zellproben für die Beurteilung herangezogen werden könnten, wurden die Messungen sechs Tage später wiederholt. Während dieser Zeit wurden die Objektträger in einem verschlossenen Polystyrol-Behälter bei Raumtemperatur aufbewahrt.

[0046] Auf diese Weise wurden die folgenden Werte für die Verhältniszahlen ($\text{CH}_2_{\text{symm.}} / \text{CH}_2_{\text{antisym.}}$) erhalten:

	Zelllinie	Verhältniszahl	Verhältniszahl nach 6 d
Beispiel 1	MDCK	0,47	0,49
Beispiel 2	A-498	0,62	0,59
Beispiel 3	Caki-1	0,73	0,71

[0047] Aus diesen Werten geht nicht nur klar hervor, dass die beiden kanzerösen Zelllinien ein deutlich (nämlich um rund 32 % bzw. 55 %) höheres Verhältnis zwischen den symmetrischen und den antisymmetrischen Streckschwingungen aufweisen als gesunde Nierenzellen, sondern auch, dass sich die beiden Zelllinien in diesem Verhältnis signifikant (nämlich um rund 18 %) voneinander unterscheiden. Darüber hinaus veränderten sich die Werte innerhalb von sechs Tagen bei Raumtemperatur nur geringfügig (nämlich um maximal 5 %), was zeigt, dass die Messungen nicht nur an frisch gewonnenen oder tiefgefrorenen Zellproben durchgeführt werden können.

[0048] Somit ist es beispielsweise möglich, unter Verwendung einer relativ einfach aufgebauten IR-Spektroskopie-Vorrichtung gemäß vorliegender Erfindung eine Datenbank derartiger charakteristischer Schwingungsdaten und Verhältniszahlen derselben anzulegen, um anhand dieser Datenbank nach Durchführung rascher und einfacher Messungen, z.B. an Gewebeschnitten als Proben, fundierte Aussagen bezüglich der Herkunft einer (mitunter unbekannten) Zell- oder Gewebeprobe und/oder bezüglich des Zustands einer solchen Probe treffen zu können. Unter anderem kann eine Feststellung getroffen werden, ob die getesteten Zellen/Gewebe mit hoher Wahrscheinlichkeit pathologisch verändert sind oder nicht.

[0049] Die vorliegende Erfindung stellt daher eine relativ kostengünstige Vorrichtung bereit, die beispielsweise als mobiles Schnelltestgerät für Gewebeuntersuchungen und Erstdiagnosen einsetzbar ist.

LEGENDE ZU DEN ZEICHNUNGEN:

Figur 1

- a: normale Zellen
- b: maligne Zellen

Figur 2

- c: Leuchtdiode
- d: plankonvexe Linsen
- e: Schmalband-Passfilter
- f: plankonvexe Linsen
- g: Strahlteiler
- h: Probenhalterung
- i: Leuchtdiode
- j: Photodiode

Figur 3

- k: antisymmetrische CH_2 -Streckschwingungen
- l: symmetrische CH_2 -Streckschwingungen
- m: Grundlinie

Figur 4

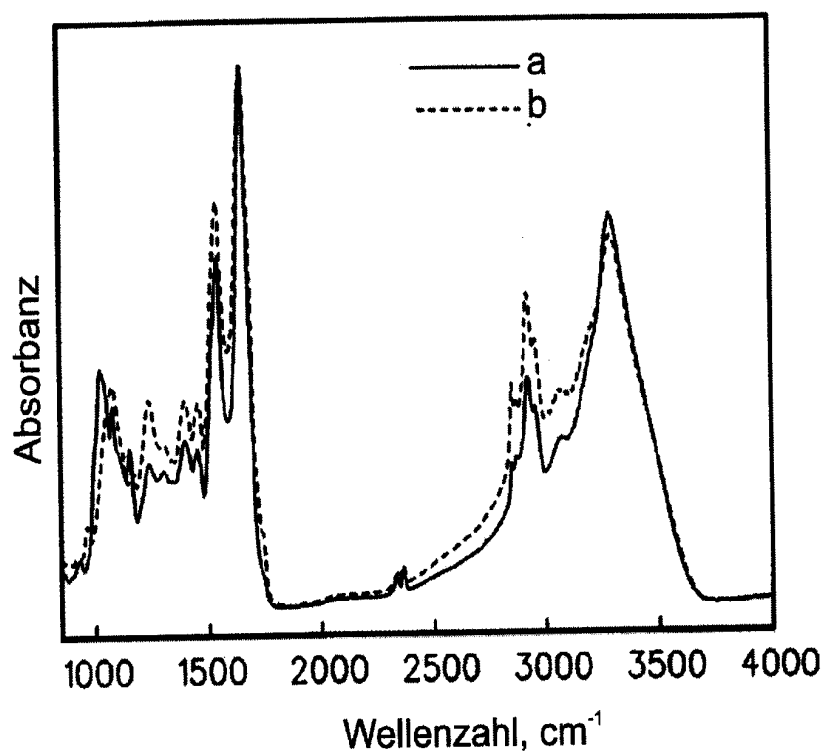
- n: antisymmetrische CH_2 -Streckschwingungen
- o: Caki-1
- p: MDCK
- q: symmetrische CH_2 -Streckschwingungen

Ansprüche

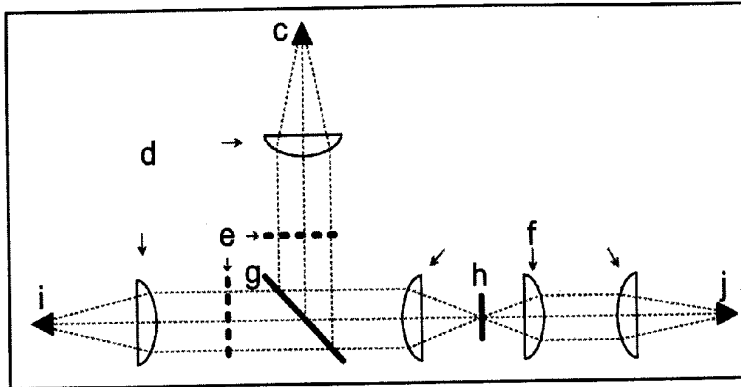
1. Vorrichtung zur Identifizierung von Zellen in einer Probe durch Messung des Infrarot-Absorptionsvermögens der Probe bei zumindest zwei Wellenlängen, wobei die Vorrichtung Folgendes umfasst:
eine Lichtquelle, die Infrarotstrahlung bei den zumindest zwei Wellenlängen emittiert und zumindest eine Leuchtdiode (LED) (c, i) umfasst,
eine im Strahlengang der Lichtquelle angeordnete Probenhalterung (h),
eine Photodiode (j) als Detektor,
eine Optik (d, f) zur Parallelrichtung des von der Lichtquelle emittierten Lichtstrahls zur Fokussierung desselben auf die Probe sowie des aus der Probe austretenden Lichtstrahls auf den Detektor (j) und
eine mit dem Detektor (j) verbundene Recheneinheit zur Aufnahme, Speicherung, Umrechnung und Ausgabe der gemessenen bzw. umgerechneten Daten.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Lichtquelle zumindest zwei LEDs (c, i) umfasst, deren Emissionsmaxima bei den zumindest zwei Wellenlängen liegen.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Lichtquelle zumindest eine LED (c, i) mit zumindest zwei austauschbar im Strahlengang derselben angeordneten Schmalband-Passfiltern (NBPs) (e) umfasst, deren Transmissionsmaxima bei den zumindest zwei Wellenlängen liegen.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Lichtquelle zumindest zwei LEDs (c, i) umfasst und die Optik (d, f) weiters einen oder mehrere Strahlteiler (g) zur Fokussierung der von den weiteren LEDs (c) emittierten Lichtstrahlen auf denselben Punkt der Probe wie den aus der ersten LED (i) emittierten Lichtstrahl umfasst.
5. Vorrichtung nach Anspruch 3 oder 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass zumindest zwei NBPs (e) auf jeweils einem Filterrad vorgesehen sind.
6. Vorrichtung nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Filterrad zum Austausch des NBP (e) im Strahlengang der zugehörigen LED (c, i) manuell oder mittels eines Elektromotors rotierbar ist.
7. Vorrichtung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zumindest eine LED (c, i) pulsierend betreibbar ist.
8. Vorrichtung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zumindest eine LED (c, i) mit einer Pulsdauer im Bereich von Mikrosekunden pulsierend betreibbar ist.
9. Vorrichtung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zumindest eine LED (c, i) und/oder die Photodiode (j) in einem eigenen Gehäuse untergebracht sind/ist.
10. Vorrichtung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass zwischen dem Detektor und der Recheneinheit zusätzlich ein Verstärker des Detektorsignals vorgesehen ist.
11. Vorrichtung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass zusätzlich zumindest ein Kühlelement zum Kühlen von Bauteilen der Vorrichtung vorgesehen ist.
12. Vorrichtung nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass ein Kühlelement am oder im Gehäuse zumindest einer LED (c, i) und/oder der Photodiode (j) untergebracht ist.
13. Vorrichtung nach Anspruch 11 oder 12, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Kühlelement aus thermoelektrischen Kühlern, Wärmerohren (Heatpipes) und Ventilatoren ausgewählt ist.

14. Vorrichtung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass zusätzlich ein mit der Recheneinheit verbundenes Anzeigeelement vorgesehen ist.
15. Vorrichtung nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Anzeigeelement ein LCD-Display ist.
16. Vorrichtung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass zusätzlich ein mit der Recheneinheit verbundenes Speicherelement vorgesehen ist.
17. Vorrichtung nach Anspruch 16, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Speicherelement ein Halbleiterspeicher ist.
18. Vorrichtung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Halbleiterspeicher aus einem Speicherchip und einer Solid State Disk (SSD) ausgewählt ist.

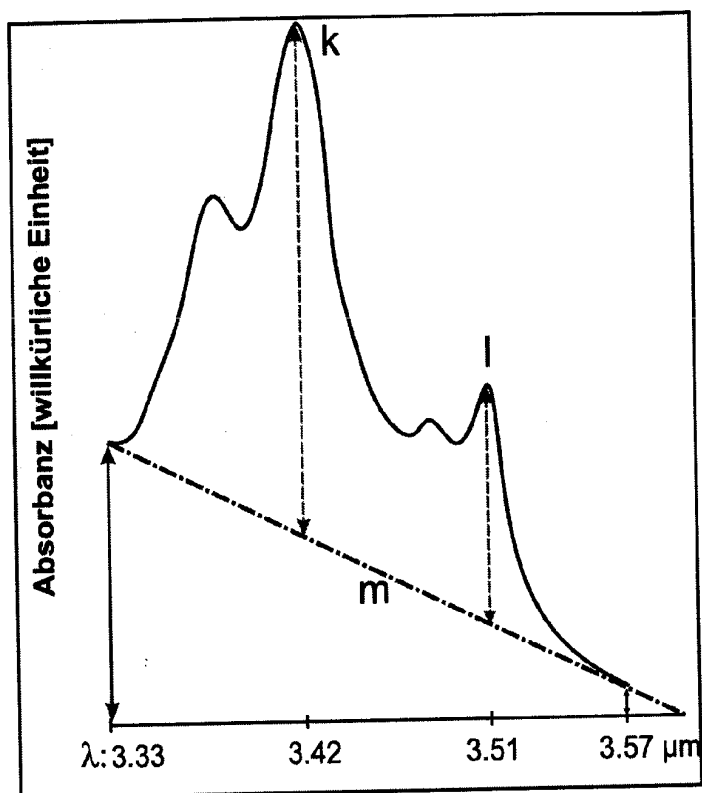
Hierzu 4 Blatt Zeichnungen



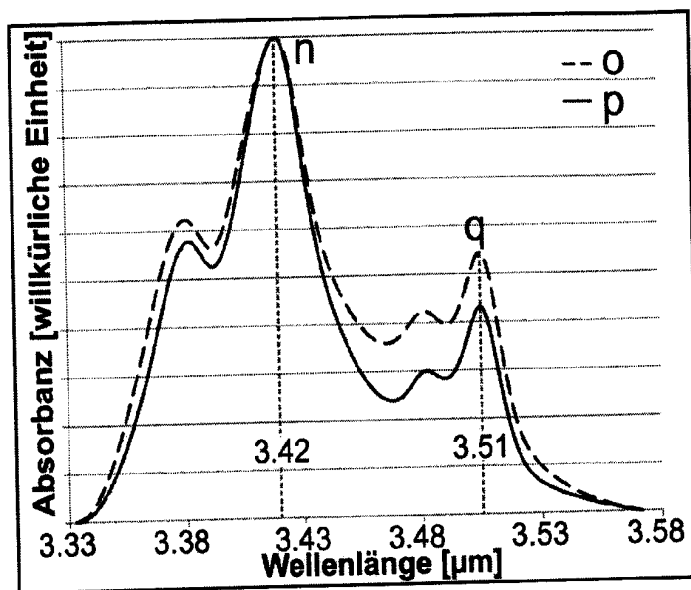
Figur 1



Figur 2



Figur 3



Figur 4

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC ⁸ : G01N 33/569 (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß ECLA: G01N 33/569		
Recherchierter Prüfstoß (Klassifikation):		
Konsultierte Online-Datenbank: WPI, EPODOC		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 18. Jänner 2010 eingereichten Ansprüchen erstellt.		
Die in der Gebrauchsmusterschrift veröffentlichten Ansprüche könnten im Verfahren geändert worden sein (§ 19 Abs. 4 GMG), sodass die Angaben im Recherchenbericht, wie Bezugnahme auf bestimmte Ansprüche, Angabe von Kategorien (X, Y, A), nicht mehr zutreffend sein müssen. In die dem Recherchenbericht zugrunde liegende Fassung der Ansprüche kann beim Österreichischen Patentamt während der Amtsstunden Einsicht genommen werden.		
Kategorie ¹⁾	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
A	US 2003 170613 A1 (Straus) 11. September 2003 (11.09.2003) Zusammenfassung; Fig. 3; Anspruch 1	1
A	WO 2005/040739 A2 (Visser et al.) 5. Juni 2005 (05.06.2005) Zusammenfassung; Ansprüche 1, 20, 38	1
A	DE 102004007953 A1 (Baschaut und Gatzmanga) 1. September 2005 (01.09.2005) Zusammenfassung; Anspruch 1	1
¹⁾ Kategorien der angeführten Dokumente: X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: der Anmeldungsgegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. Y Veröffentlichung von Bedeutung: der Anmeldungsgegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist. A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. P Dokument, das von Bedeutung ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde. E Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), aus dem ein älteres Recht hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). & Veröffentlichung, die Mitglied der selben Patentfamilie ist.		
Datum der Beendigung der Recherche: 9. Juni 2010		☐ Fortsetzung siehe Folgeblatt Prüfer(in): Dr. GRÖSSING