



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 10 2008 009 826 A1 2009.08.20

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: 10 2008 009 826.4

(22) Anmeldetag: 19.02.2008

(43) Offenlegungstag: 20.08.2009

(51) Int Cl.⁸: C12M 1/34 (2006.01)
G01N 33/483 (2006.01)

(71) Anmelder:

Max-Planck-Gesellschaft, 80539 München, DE;
RAUMEDIC AG, 95213 Münchberg, DE

(74) Vertreter:

Rau, Schneck & Hübner Patent- und
Rechtsanwälte, 90402 Nürnberg

(72) Erfinder:

Tauber, Karsten, Dr., 95448 Bayreuth, DE;
Falkenhausen, Christian von, Dr., 53340
Meckenheim, DE; Zimmermann, Dirk, Dr., 60596
Frankfurt, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

DE 101 08 968 A1
DE 198 27 957 A1
DE 100 32 568 A1

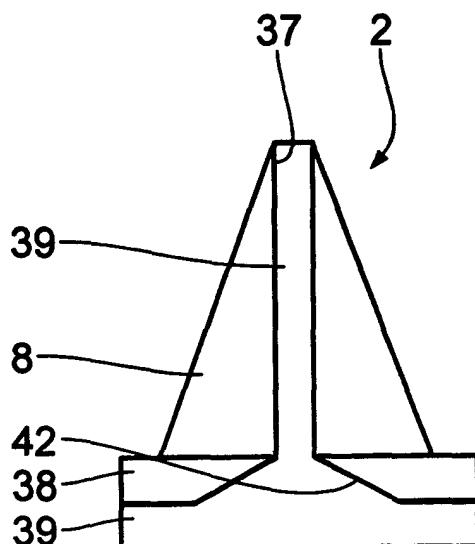
Fasching R. u.a.: AFM/EC Nano Probing of Single
Cells and Organelles In: Sensors, IEEE (2007)
699-702

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

(54) Bezeichnung: Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial, Verfahren zur Herstellung einer Messelektrode für eine derartige Vorrichtung sowie Verfahren zur Vermessung einer Zelle mithilfe einer derartigen Vorrichtung

(57) Zusammenfassung: Eine Vorrichtung dient zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial. Mindestens eine Messelektrode der Vorrichtung hat ein aus einer Isolatorschicht (2) heraustretendes freies Ende, das zur Durchdringung einer Zellmaterial-Wand gestaltet ist. Der Messelektrode ist mindestens eine Gegenelektrode zugeordnet. Ein Elektrodenkörper der Messelektrode bildet die Fortsetzung eines in der Isolatorschicht (2) ausgebildeten Elektrodenkanals (37). Es resultiert eine Vorrichtung, bei der die Herstellung der mindestens einen Messelektrode erleichtert ist.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial nach dem Oberbegriff des Anspruches 1. Ferner betrifft die Erfindung Verfahren zur Herstellung einer Messelektrode für eine derartige Vorrichtung sowie ein Verfahren zur Vermessung von Zellmaterial mithilfe einer derartigen Vorrichtung.

[0002] Eine Vorrichtung der eingangs genannten Art ist bekannt aus der WO 2007/003398 A2 sowie der WO 2007/003399 A2. Eine weitere Vorrichtung der eingangs benannten Art ist bekannt aus der US 2004/0146849 A1. Zur Durchführung der elektrophysiologischen Messungen muss eine Spannung zwischen der Messelektrode und der extrazellular positionierten Gegenelektrode angelegt werden. Hierbei kann es vorkommen, dass die Messelektrode teilweise freiliegt, was die Messung unerwünscht verfälscht.

[0003] Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Vorrichtung der eingangs genannten Art derart weiterzubilden, dass derartige Messverfälschungen zumindest erkannt, idealerweise aber wirkungsvoll verhindert sind.

[0004] Diese Aufgabe ist erfindungsgemäß gelöst durch eine Vorrichtung mit den Merkmalen nach Anspruch 1.

[0005] Erfindungsgemäß wurde erkannt, dass dann, wenn die Messelektrode die Fortsetzung eines in der Isolatorschicht ausgebildeten Elektrodenkanals darstellt, die für eine erfolgreiche Messung notwendige elektrische Isolation des freien, unisolierten Endes der Messelektrode gegenüber der äußeren Umgebung um das zu vermessende Zellmaterial effektiv gewährleistet werden kann. Als Isolierschicht kann beispielsweise ein insbesondere Photoresist-beschichteter Siliziumwafer oder ein Ormocer zum Einsatz kommen. Eine Messelektrode, bei der der Elektrodenkörper die Fortsetzung eines in der Isolatorschicht ausgebildeten Elektrodenkanals bildet, lässt sich zudem mit relativ geringem Aufwand herstellen. Das zu vermessende Zellmaterial kann eine Einzelzelle oder eine für die Messung hergestellte Fusionszelle sein. Auch Liposomen können vermessen werden.

[0006] Die Bereitstellung einer Messelektroden-Packung nach Anspruch 2 bietet die Möglichkeit des Erkennens einer Messverfälschung durch freiliegende Einzelelektroden. Es kann dann, die Möglichkeit eines unabhängigen elektrischen Abgriffs der einzelnen Messelektroden einer Messelektroden-Packung vorausgesetzt, beispielsweise bei der Messung der Potentialwert der verschiedenen Einzelelektroden der Messelektroden-Packung ermittelt werden. Die

Gesamtmeßung stellt eine Mitteilung über die Meßergebnisse der einzelnen Messelektroden dar, so dass Verfälschungen einzelner Messelektroden nicht ins Gewicht fallen. Bei einer Messelektroden-Packung können die einzelnen Messelektroden, wie dies vorstehend schon angesprochen wurde, so verschaltet sein, dass ein unabhängiger Abgriff der Messelektroden möglich ist. In diesem Fall liegt die Messelektroden-Packung in Form eines Elektrodenarrays vor. Alternativ ist es möglich, die Messelektroden-Packung als eine einzige Elektrode mit insbesondere nanostrukturierter Oberfläche zu gestalten, wobei diese Packungs-Elektrode dann über mehrere Spitzen am Ort der verschiedenen Messelektroden verfügt.

[0007] Messelektroden-Anzahlen nach Anspruch 3 haben sich zur Durchführung einer sicheren Messung als besonders geeignet herausgestellt.

[0008] Längen der Elektrodenkanäle nach Anspruch 4 sind vorteilhaft an die Dimensionen des zu vermessenden Zellmaterials angepasst.

[0009] Eine Länge der Elektrodenkanäle nach Anspruch 5 eignet sich besonders zum Einsatz im Zusammenhang mit Messelektroden-Packungen mit einer Vielzahl von Messelektroden, wobei dann alle Messelektroden der Messelektroden-Packung Längen in diesem Längenbereich haben. Neben dem bevorzugten Längenbereich zwischen 15 µm und 40 µm für den Elektrodenkanal existiert noch ein weiterer bevorzugter Längenbereich zwischen 1 µm und 7 µm für den Elektrodenkanal.

[0010] Eine Länge der Elektrodenkanäle nach Anspruch 6 eignet sich besonders zum Einsatz mit Messelektroden-Packungen mit bis zu 10 Messelektroden, wobei dann alle Messelektroden der Messelektroden-Packung Längen in diesem Längenbereich haben.

[0011] Dimensionen der Messelektroden bzw. der Elektrodenkanäle nach den Ansprüchen 7 bis 9 haben sich als für die Messung besonders gut geeignet herausgestellt.

[0012] Eine Messelektroden-Kreuzstruktur nach den Ansprüchen 10 und 11 führt zu einer erwünscht definierten Fixierung des Zellmaterials.

[0013] Ein sich trichterförmig erweiternder Elektrodenkanal nach Anspruch 12 bietet insbesondere bei einer galvanischen Befüllung des Elektrodenkanals Vorteile, da hierdurch auch längere Elektrodenkanäle gefüllt werden und damit längere Messelektroden hergestellt werden können.

[0014] Ein sich spitzenseitig verjüngender Elektrodenkanal nach Anspruch 13 ermöglicht die Herstel-

lung von Messelektroden mit an die jeweilige Anwendung angepasster Spitzenform. Ein bevorzugtes Beispiel für eine derartige Spitzenform ist eine sich konisch verjüngende Spitzte. Zur Herstellung einer derartigen Spitzenform ist dann der Elektrodenkanal spitzenseitig entsprechend konisch verjüngt ausgeführt.

[0015] Hohlelemente nach Anspruch 14 gewährleisten eine sichere elektrische Isolation der Basis-Isolatorschicht gegen die Zellmaterial-Wand, so dass nach dem Anheften des Zellmaterials das Vorliegen isolationsfreier Messelektroden-Abschnitte verhindert ist.

[0016] Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, ein Herstellungsverfahren für eine erfindungsgemäß gestaltete Messelektrode mit einem Elektrodenkanal anzugeben.

[0017] Diese Aufgabe ist erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 15.

[0018] Ein derartiges Verfahren ermöglicht eine hochpräzise und reproduzierbare Fertigung der Elektroden, die insbesondere für eine Serienfertigung geeignet ist. Die Messelektroden können insbesondere einfach und vollautomatisiert auf entsprechende Sensorchips appliziert werden. Alternativ zu einem Befüllen eines vorbereiteten Elektrodenkanals kann auch zunächst ein Elektrodenmaterial-Draht bereitgestellt werden, der anschließend mit Isolatormaterial umhüllt wird.

[0019] Ein Verfahren nach Anspruch 16 bietet besonders fertigungstechnische Vorteile, da hiermit eine Massenproduktion von Messelektroden möglich ist. Als fließfähiges Elektrodenmaterial können Metalle, zum Beispiel Gold, Silber oder Platin oder ihre Metallsalze oder auch leitfähige Polymere zum Einsatz kommen. Als Substrate können mikro- bzw. nanoporöse Polymerfolien zum Einsatz kommen.

[0020] Techniken zum Abtragen der Isolatorschicht nach den Ansprüchen 17 oder 18 weisen eine besonders gute Eignung für ihre Integration in einen Massenfertigungsprozess auf.

[0021] Für Elektrodenmaterialien, die nicht fließfähig sind, stellt das Verfahren nach Anspruch 19 eine Alternative zu dem nach Anspruch 16 dar.

[0022] Ein nach Anspruch 20 bereitgestelltes Substrat gewährleistet eine definierte Kanalgeometrie und eine definierte Verteilung bzw. Anordnung der Kanäle über das Substrat. Hierbei kann insbesondere als Bestrahlungstechnik die Zwei-Photonen-Polymerisation, insbesondere mithilfe von Laserimpulsen im nahen Infrarotbereich, zum Einsatz kommen. Diese

Technik kann sich Prinzipien bedienen, die aus der Stereolithografie bekannt sind.

[0023] Der Verfahrensschritt nach Anspruch 21 erlaubt den Einsatz von beispielsweise in Lösung vorliegenden Roh-Substraten, zum Beispiel von Ormoceren.

[0024] Insbesondere zum Herstellen von einzelnen Vorrichtungen, beispielsweise für Prototypen, eignet sich ein Herstellungsverfahren nach Anspruch 22.

[0025] Das Strukturiererverfahren mithilfe einer Strukturierstrahlung kann nicht nur, wie im Zusammenhang mit dem Anspruch 20 erläutert, zur Strukturierung der Kanäle, sondern auch zu einer direkten Strukturierung der Messelektroden selbst nach Anspruch 23 herangezogen werden.

[0026] Die Vorteile des Aushärteschritts nach Anspruch 24 entsprechen denen nach Anspruch 21.

[0027] Ein thermisches Behandeln nach Anspruch 25 verbessert die Isolationswirkung des Isolatormaterials.

[0028] Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, ein Messverfahren unter Einsatz der erfindungsgemäßen Messvorrichtung bereitzustellen.

[0029] Diese Aufgabe ist erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren nach Anspruch 26.

[0030] Die Vorteile des Verfahrens entsprechen denen, die vorstehend schon unter Bezug auf die Messvorrichtung erläutert wurden.

[0031] Ein Anheften nach Anspruch 27 nutzt elegant die Messelektroden, ohne dass es eines zusätzlichen Anheft-Hilfsmittels bedarf.

[0032] Ausführungsbeispiele der Erfindung werden nachfolgend anhand der Zeichnung näher erläutert, wobei die [Fig. 1](#) bis [Fig. 5](#) eine nicht erfindungsgemäße Anordnung zeigen, die zu Erläuterungszwecken beschrieben ist. In der Zeichnung zeigen:

[0033] [Fig. 1](#) schematisch eine Ansicht auf eine Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial mit insgesamt sieben hexagonal angeordneten Messelektroden;

[0034] [Fig. 2](#) gegenüber [Fig. 1](#) vergrößert einen Schnitt gemäß Linie II-II in [Fig. 1](#);

[0035] [Fig. 3](#) eine Ausschnittsvergrößerung aus [Fig. 2](#) im Bereich einer Messelektrode;

[0036] [Fig. 4](#) eine zu [Fig. 1](#) ähnliche Darstellung ei-

ner weiteren Ausführung einer Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial;

[0037] [Fig. 5](#) in einer gegenüber [Fig. 4](#) vergrößerten Darstellung einen Schnitt gemäß Linie V-V in [Fig. 4](#);

[0038] [Fig. 6](#) in einer zu [Fig. 1](#) ähnlichen Darstellung eine weitere Ausführungsform;

[0039] [Fig. 7](#) in einer gegenüber [Fig. 6](#) vergrößerten Darstellung einen Schnitt gemäß Linie VII-VII in [Fig. 6](#);

[0040] [Fig. 8](#) eine Ausschnittsvergrößerung aus [Fig. 7](#) im Bereich einer Messelektrode;

[0041] [Fig. 9](#) in einer zu [Fig. 1](#) ähnlichen Darstellung eine weitere Ausführungsform;

[0042] [Fig. 10](#) in einer gegenüber [Fig. 9](#) vergrößerten Darstellung einen Schnitt gemäß Linie X-X in [Fig. 9](#);

[0043] [Fig. 11](#) in einer zu [Fig. 1](#) ähnlichen Darstellung eine weitere Ausführungsform;

[0044] [Fig. 12](#) in einer [Fig. 11](#) vergrößerten Darstellung einen Schnitt gemäß Linie XII-XII in [Fig. 11](#);

[0045] [Fig. 13](#) eine Ausschnittsvergrößerung aus [Fig. 12](#) im Bereich einer Messelektrode, wobei in dieser Fig. zusätzlich eine vergrößerte Aufsicht einer Messelektrode dargestellt ist;

[0046] [Fig. 14](#) in einer zu [Fig. 1](#) ähnlichen Darstellung eine weitere Ausführungsform;

[0047] [Fig. 15](#) in einer gegenüber [Fig. 14](#) vergrößerten Darstellung einen Schnitt gemäß Linie XV-XV in [Fig. 14](#);

[0048] [Fig. 16](#) eine weitere Ausführung einer Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial in einer zu [Fig. 10](#) ähnlichen Schnittdarstellung, wobei im Vergleich zu [Fig. 10](#) zusätzliche Komponenten der Vorrichtung sowie eine zu vermessende Zelle dargestellt sind;

[0049] [Fig. 17](#) weitere Momentaufnahmen während des Betriebs der Vorrichtung nach [Fig. 16](#);

[0050] [Fig. 18](#) schematisch ein Fusionselektrodenpaar bei der Herstellung einer zu vermessenden Fusionszelle aus einer Mehrzahl von Einzelzellen;

[0051] [Fig. 19](#) perspektivisch ein Substrat, welches zur Herstellung einer Messelektrode für eine Vorrich-

tung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial zum Einsatz kommt;

[0052] [Fig. 20](#) eine Aufsicht auf das Substrat nach [Fig. 19](#);

[0053] [Fig. 21](#) eine mithilfe des Substrats nach [Fig. 19](#) hergestellte Messelektroden-Konfiguration;

[0054] [Fig. 22](#) ein Ablaufschema eines galvanischen Abscheideverfahrens, welches bei der Herstellung von Messelektroden für eine Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial zum Einsatz kommt;

[0055] [Fig. 23](#) und [Fig. 24](#) Momentaufnahmen bei einer galvanischen Befüllung eines Substrat-Kanals zur Herstellung einer Messelektrode für eine Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial; und

[0056] [Fig. 25](#) und [Fig. 26](#) in einer zu den [Fig. 23](#) und [Fig. 24](#) ähnlichen Darstellung Momentaufnahmen einer galvanischen Befüllung bei Verwendung einer weiteren Ausführung einer Substrat-Kanalkonfiguration.

[0057] Messelektroden einer ersten Ausführungsform einer Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial sind in den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) dargestellt. [Fig. 1](#) zeigt hierbei eine Aufsicht der Konfiguration von insgesamt sieben Messelektroden **1**. Jede der Messelektroden **1** hat ein aus einer Isolatorschicht **2** heraustretendes freies Ende **3**, welches zur Durchdringung einer Zellwand **4** (vgl. [Fig. 16](#) bis [Fig. 18](#)) einer zu vermessenden Einzelzelle **5** (vgl. [Fig. 18](#) links) bzw. einer zu vermessenden Fusionszelle **6** (vgl. [Fig. 18](#) rechts) gestaltet ist. Der Elektrodenkörper der Messelektrode **1** ist aus Gold. Die Isolatorschicht **2** kann eine Schichtdicke zwischen 10 µm und 100 µm, insbesondere zwischen 10 µm und 15 µm, haben. Auch größere Schichtdicken bis in den cm-Bereich sind möglich. Bei der Isolatorschicht **2** kann es sich beispielsweise um einen insbesondere Photoresist-beschichteten Siliziumwafer handeln. Für die Isolatorschicht **2** können auch Ormocere zum Einsatz kommen.

[0058] Die Messelektroden **1** sind in einer hexagonal dichten Packung angeordnet. Jeder Messelektrode **1** ist eine runde Isolations-Grundscheibe **7** zugeordnet. Letztere hat am Ort des freien Endes **3** einen Isolations-Hohlkegel **8**. Ein Elektrodenkörper der Messelektrode **1**, der das freie Ende **3** aufweist, durchtritt die Isolatorschicht **2** in der [Fig. 3](#) von unten her, durchtritt also einerseits die untere Lage der Isolations-Grundscheibe **7** und durchtritt andererseits

den inneren Hohlraum des Isolations-Hohlkegels **8**.

[0059] Der Isolation-Hohlkegel **8** hat an seinem Fuß, also dort, wo die Messelektrode **1** in die Isolation-Grundscheibe **7** übergeht, einen Durchmesser D_1 von 2 µm. Der Isolation-Hohlkegel **8** hat eine Höhe H_1 von 3 µm. Der Isolations-Hohlkegel **8** verjüngt sich zum freien Ende **3** hin. Dort, wo das freie Ende aus dem Isolations-Hohlkegel **8** austritt, hat der Isolation-Hohlkegel **8** einen Durchmesser D_2 von 1,5 µm. Das freie Ende **3** hat eine Höhe H_2 über dem Isolations-Hohlkegel **8** von 6 µm. An seinem vom Isolations-Hohlkegel **8** abgewandten Ende verjüngt sich das freie Ende **3** hin zu einer Spitze **9** mit einem spitzen Durchmesser von 100 nm.

[0060] Zwischen den Isolations-Grundscheiben **7** sind Gegenelektroden **10** angeordnet. Die Gegenelektroden **10** können mit Masse verbunden sein. Jeder der Messelektroden **1** ist eine Gegenelektrode **10** zugeordnet.

[0061] Die Isolations-Grundscheibe **7** hat beispielsweise eine Stärke von 10 µm. Der Elektrodenkörper jeder Messelektrode **1** durchtritt in der Isolatorschicht **2** daher einen Elektrodenkanal, dessen Länge sich aus der Summe der Stärke der Isolations-Grundscheibe **7** und der Höhe des Isolations-Hohlkegels **8** ergibt. Bei der Ausführung nach [Fig. 3](#) hat der Elektrodenkanal also eine Länge von 13 µm.

[0062] Die Länge des gesamten Elektrodenkörpers der Messelektrode **1** entspricht der Länge des Elektrodenkanals zuzüglich der Länge des freien Endes **3**. Im Falle der Ausführung nach [Fig. 3](#) hat der Elektrodenkörper der Messelektrode **1** eine Länge von 19 µm.

[0063] Die [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) zeigen eine weitere Ausführung von Messelektroden. Komponenten, die denjenigen entsprechen, die vorstehend schon unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) erläutert wurden, tragen die gleichen Bezugsziffern und werden nicht nochmals im Einzelnen diskutiert.

[0064] Im Unterschied zur Ausführung nach den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) liegen bei der Ausführung nach den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) keine Isolation-Grundscheiben konstanter Stärke vor. Die Isolations-Hohlkegel **8** von Messelektroden **11** der Ausführung nach den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) werden zunächst von runden Isolations-Scheibenabschnitten **12** umgeben. Letztere werden wiederum umgeben von Isolationswülsten **13** mit angenähert dreieckigem Wulstquerschnitt (vgl. [Fig. 5](#)). Bereiche maximaler Stärke der Isolationswülste **13** liegen höher als die Spitzen **9** der Messelektroden **11**. Zwischen den Isolationswülsten **13** benachbarter Messelektroden **11** liegen die Gegenelektroden **10**. Aufgrund der Form der Isolationsscheibenabschnitte **12** und der Isolationswülste **13** um die

Isolations-Hohlkegel **8** ergibt sich bei der Ausführung nach den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) eine wattenförmige Vertiefung **14** in der Isolatorschicht **2**, wobei im Zentrum der wattenförmigen Vertiefung **14** jeweils die Messelektrode **11** angeordnet ist. Ein Durchmesser D_w jeder wattenförmigen Vertiefung **14** beträgt etwa 20 µm und entspricht dem Durchmesser des zu vermessenden biologischen Zellmaterials. Soweit Einzelzellen vermessen werden sollen, ist bei einer entsprechenden weiteren Ausführungsform dieser Durchmesser der wattenförmigen Vertiefungen **14** kleiner. Die Gegenelektroden **10** sind benachbart zu den Isolationswülsten **13**, also benachbart zu einem Rand der wattenförmigen Vertiefung **14** angeordnet.

[0065] Der Aufbau der Elektrodenkörper entspricht bei der Ausführung nach den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) dem der Ausführung nach den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#).

[0066] Messelektroden **11** mit wattenförmigen Vertiefungen **14** entsprechend denen, die vorstehend im Zusammenhang mit den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) erläutert wurden, können auch zeilen- und spaltenweise rasterartig angeordnet und durch nach Art eines Gitternetzes angeordnete Gegenelektroden voneinander getrennt sein. Eine solche Rasteranordnung kann beispielsweise auf einem Wafer, insbesondere aus Silizium, aufgebracht sein. Die Anordnung der Messelektroden **11** entspricht dann der Anordnung von Chipstrukturen auf einem Wafer bei der Herstellung mikrostrukturierter Schaltkreise. Der Wafer hat beispielsweise einen Durchmesser von 4 Zoll, also von 10,16 cm.

[0067] [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#) zeigen eine weitere Ausführung von Messelektroden. Komponenten, die denjenigen entsprechen, die vorstehend schon unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) erläutert wurden, tragen die gleichen Bezugsziffern und werden nicht nochmals im Einzelnen diskutiert.

[0068] Anstelle eines einzelnen Elektrodenkörpers pro Isolations-Grundscheibe **7** liegen bei der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#) pro Isolations-Grundscheibe **7** jeweils sieben Elektrodenkörper als Messelektroden-Packung **15** in einer hexagonal dichten Anordnung vor. Jede Messelektroden-Packung **15** ist dabei mittig in der ihr zugeordneten Isolations-Grundscheibe **7** angeordnet. Sämtliche sieben Messelektroden **16** einer solchen Messelektroden-Packung **15** sind zur Durchdringung der gleichen Zellmaterial-Wand **4** vorgesehen. Bei der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 9](#) sind die Isolations-Hohlkegel **8** sowie die Elektrodenkörper der einzelnen Messelektroden **16** anders dimensioniert als bei der Ausführung nach den [Fig. 1](#) bis [Fig. 5](#). An seiner Basis hat der Isolations-Hohlkegel **8** bei der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#) einen Durchmesser D_1 von 2 µm. An seinem verjüngten freien Ende hat der Isolations-Hohlkegel **8** der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#)

eine größere Wandstärke als der Hohlkegel **8** nach den [Fig. 1](#) bis [Fig. 5](#), so dass der Durchmesser D_2 des austretenden freien Endes **3** des Elektrodenkörpers an dieser Stelle 1 µm beträgt. Der Isolation-Hohlkegel **8** hat bei der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#) eine Höhe von 3 µm. Das freie Ende **3** der Messelektrode **1** hat bei der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#) eine Höhe von 3 µm und verjüngt sich bis zu einer freien Spitze **9** mit einem Durchmesser von 100 nm.

[0069] Eine weitere Ausführung von Messelektroden ist in den [Fig. 9](#) und [Fig. 10](#) dargestellt. Komponenten, die denjenigen entsprechen, die vorstehend schon unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 8](#) erläutert wurden, tragen die gleichen Bezugsziffern und werden nicht nochmals im Einzelnen diskutiert.

[0070] Auch bei der Ausführung nach den [Fig. 9](#) und [Fig. 10](#) liegen Messelektroden-Packungen **15** wie bei der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#) vor. Die Messelektroden-Packungen **15** sind mittig in einem Isolations-Scheibenabschnitt **12**, wie bei der Ausführung nach den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#), angeordnet. Jeder Isolation-Scheibenabschnitt **12** ist wiederum von einer Isolationswulst **13** umgeben. Die Dimensionen der resultierenden wattenförmigen Vertiefung **14**, also Durchmesser und Tiefe, entsprechen wieder denjenigen der Ausführung nach den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#). Auch bei der Ausführung nach den [Fig. 9](#) und [Fig. 10](#) sind die Abschnitte maximaler Stärke der Isolationswülste **13** höher als die Messelektroden **16**. Die Elektrodenkörper sowie die Hohlkegel **8** sind bei der Ausführung nach den [Fig. 9](#) und [Fig. 10](#) genauso dimensioniert wie bei der Ausführung nach den [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#).

[0071] [Fig. 11](#) bis [Fig. 13](#) zeigen eine weitere Ausführung von Messelektroden. Komponenten, die denjenigen entsprechen, die vorstehend schon unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) erläutert wurden, tragen die gleichen Bezugsziffern und werden nicht nochmals im Einzelnen diskutiert.

[0072] Die Ausführung nach den [Fig. 11](#) bis [Fig. 13](#) unterscheidet sich von denjenigen nach den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) durch die Ausformung der Elektrodenkörper von Messelektroden **17** und durch die an diese angepasste Ausformung von in ihrer Funktion den Isolation-Hohlkegeln entsprechenden Isolations-Hohlelementen **18**.

[0073] Die Elektrodenkörper der Messelektroden **17** sowie die Isolations-Hohlelemente **18** sind in Aufsicht kreuzförmig. Freie Enden **19** der Elektrodenkörper haben entsprechend einen sich zur Spitze **9** hin verjüngenden kreuzförmigen Querschnitt. Beim freien Ende **19** liegen also vier kreuzförmig zueinander angeordnete Elektrodenkanten **20** vor. Auch innerhalb der Isolation-Hohlelemente **18** hat der Elektrodenkörper

per eine sich hin zu seiner von der Spitze **9** abgewandten Basis kontinuierlich weiterenkreuzförmigen Querschnitt. Das Isolation-Hohlelement **18** hat einen hierzu komplementären inneren Hohlraum und eine hierzu wiederum komplementäre äußere kreuzförmige Gestalt mit vier kreuzförmig zueinander angeordneten Hohlelementkanten **21**.

[0074] Die Elektrodenkanten **20** laufen in Graten mit einer typischen Dimension von 100 nm aus. Auch die Spitze **9** hat einen typischen Durchmesser von 100 nm.

[0075] Die maximale Querschnittserstreckung des Isolations-Hohlelements **18** an seiner in die Isolations-Grundscheibe **7** übergehenden Basis, also die Seitenlänge der Kreuzstruktur, beträgt $E_1 = 4,5 \mu\text{m}$. Die Höhe H_1 der Isolations-Hohlelemente **18** beträgt 3 µm. Die Höhe H_2 der freien Enden **19** beträgt 4 µm. Dort, wo das freie Ende **19** in das Isolations-Hohlelement **18** eintaucht, hat das freie Ende **19** eine maximale Seitenlängen-Erstreckung E_2 von 2 µm.

[0076] [Fig. 14](#) und [Fig. 15](#) zeigen eine weitere Ausführung von Messelektroden. Komponenten, die denjenigen entsprechen, die vorstehend unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 13](#) erläutert wurden, tragen die gleichen Bezugsziffern und werden nicht nochmals im Einzelnen diskutiert.

[0077] Die Ausführung nach den [Fig. 14](#) und [Fig. 15](#) hat die Messelektroden **17** entsprechend denen der Ausführung nach den [Fig. 11](#) bis [Fig. 13](#) kombiniert mit den wattenförmigen Vertiefung **14** der Ausführungen nach den [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) bzw. [Fig. 9](#) und [Fig. 10](#).

[0078] [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) zeigen weitere Details einer Vorrichtung zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial zusammen mit einer weiteren Ausführung einer Messelektroden-Packung. Komponenten, die denjenigen entsprechen, die vorstehend schon unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 15](#) erläutert wurden, tragen die gleichen Bezugsziffern und werden nicht nochmals im Einzelnen diskutiert.

[0079] Die Messelektroden-Packung **22** der Ausführung nach den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) ist ebenfalls in Form einer hexagonal dichten Packung ausgeführt, wobei im Schnitt nach den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#), der z. B. der Schnittebene der [Fig. 10](#) entspricht, fünf Messelektroden **23** sichtbar sind. Elektrodenkörper **24**, die aufgrund der Lage der Schnittebene in den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) vollständig dargestellt sind, durchtreten einen Isolation-Scheibenabschnitt **25**, der dem Isolation-Scheibenabschnitt **12** der Ausführung nach den [Fig. 5](#) und [Fig. 10](#) entspricht. Auf einer den freien Enden **3** abgewandten Seiten sind die Elektrodenkörper **24** der Messelektroden **23** mit einer

gemeinsamen Elektroden-Basisschicht **26** elektrisch leitend verbunden. Die typischen Dimensionen der Elektrodenkörper **24** entsprechen denen, die vorstehend schon unter Bezugnahme auf die Elektrodenkörper der Messelektroden der Ausführungen nach den [Fig. 1](#) bis [Fig. 15](#) erläutert wurden.

[0080] Eine wattenförmige Vertiefung **27**, die in ihrer Funktion der wattenförmigen Vertiefung **14** der Ausführungen nach den [Fig. 5](#) und [Fig. 10](#) entspricht, ist als Ausnehmung in der ansonsten eine größere und konstante Stärke aufweisenden Isolatorschicht **2** ausgeführt. Die Ausführung nach den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) hat also keine Isolationswülste **13** wie die Ausführungen nach den [Fig. 5](#), [Fig. 10](#) und [Fig. 15](#). Auch bei der Ausführung nach den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) sind Gegenelektroden **28** benachbart zu einem Rand der wattenförmigen Vertiefung **27** in diesem Fall auf dem starken Schichtabschnitt der Isolatorschicht **2** angeordnet.

[0081] Die Elektroden-Basisschicht **26** ist gleichzeitig Teil eines Fusionselektrodenpaars **29** zur Herstellung von Fusionszellen **6**. Eine zweite Fusionselektrode **30** des Fusionselektrodenpaars **29** ist, wie in den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) dargestellt, fluchtend oberhalb zur Elektroden-Basisschicht **26** in einem Abstand von etwa 100 µm angeordnet. Die Elektroden **26**, **30** des Fusionselektrodenpaars **29** stehen über eine Spannungsquelle **32** miteinander in Verbindung.

[0082] Anhand der [Fig. 16](#) bis [Fig. 18](#) wird nachfolgend ein Verfahren zur Vermessung einer Fusionszelle **6** mithilfe einer insgesamt in den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) dargestellten Messvorrichtung **31** zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial beschrieben. Anstelle der in den [Fig. 16](#) und [Fig. 17](#) dargestellten Mess- und Gegenelektrodenkonfiguration kann auch eine der Elektrodenkonfigurationen vorgesehen sein, die vorstehend unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 15](#) schon beschrieben wurde.

[0083] Zunächst wird eine Mehrzahl von Einzelzellen **5** zwischen den Elektroden **26**, **30** des Fusionselektrodenpaars **29** bereitgestellt.

[0084] Anschließend wird zwischen den Elektroden **26**, **30** ein modulierter Spannungsimpuls über die Spannungsquelle **32** angelegt. In der Folge kommt es zu einer Elektrofusion der Einzelzellen **5** zur Fusionszelle **6**. Zwischen den Messelektroden **23** und den Gegenelektroden **28** liegt ein inhomogenes elektrisches Feld **33** vor. Letzteres übt auf die Fusionszelle **6** eine dielektrophoretische Kraft aus, die die Fusionszelle **6** in Richtung auf die Messelektroden-Packung **22** zieht, wie in der [Fig. 16](#) durch einen Richtungspfeil **34** dargestellt. Als Folge dieser dielektrophoretischen Kraftwirkung werden spezifische Transportproteine **35** in der Zellwand bzw. Zellmem-

bran **4** hin zur Fusionselektrode **30** ausgerichtet. Unterstützend kann auch eine hydrostatische Kraft in Richtung der dielektrophoretischen Kraft **34** wirken. Nach dem Kontakt der Zellwand **4** mit den Spitzen der freien Enden **3** der Messelektroden **23** kommt es zunächst zu einer Deformation der Fusionszelle **6**. Anschließend kommt es zu einem Anheften der Fusionszelle **6** auf die Messelektroden **23**, so dass die gesamten isolationsfreien freien Enden **3** der Messelektroden **23** die Zellwand **4** der Fusionszelle **6** durchdringen, wie in der [Fig. 17](#) dargestellt.

[0085] Die Zellwand **4** liegt in dieser Anheft-Stellung dicht am durch die wattenförmige Vertiefung **27** gebildeten Boden der Isolatorschicht **2** an, was zur Ausbildung eines GΩ-Widerstand zwischen den Messelektroden **23** und den Gegenelektroden **28** führt. Nun kann das elektrische Potential zwischen den Messelektroden **23** und den Gegenelektroden **28** gemessen werden, welches vom zu bestimmenden elektrophysiologischen Parameter der Fusionszelle **6** abhängt.

[0086] Anstelle der Gegenelektroden **28** kann auch die Fusionselektrode **30** die Funktion einer Gegenelektrode für die Elektroden-Basisschicht **26** darstellen. In diesem Fall kann auf die Gegenelektroden **28** auch verzichtet werden.

[0087] Nachfolgend werden insbesondere unter Bezugnahme auf die [Fig. 19](#) bis [Fig. 26](#) Verfahren zur Herstellung von Messelektroden, also insbesondere zur Herstellung der Messelektroden **1**, **11**, **16**, **17** und **23** der Ausführung nach den [Fig. 1](#) bis [Fig. 17](#) erläutert.

[0088] Zunächst wird ein Substrat **36** bereitgestellt, das ausschnittsweise perspektivisch in der [Fig. 19](#) dargestellt ist. Das Substrat hat im Regelfall eine Vielzahl von Kanälen **37** senkrecht zu einer Substrat ebene. Das Substrat **36** ist aus isolierendem Material. Hierbei kann es sich um eine nanoporöse Polymerfolie handeln. Auf eine Seite des Substrats, die in der [Fig. 22](#) unten dargestellt ist, wird nun eine Sputterschicht **38** aufgetragen. Die Sputterschicht **38** bedeckt die Oberfläche des Substrats **36**, ohne die Kanäle **37** zu verschließen. Die Schicht **38** kann durch Physical Vapor Deposition (PVD) aufgebracht werden. Die Schicht **38** kann sich in der [Fig. 22](#) von unten her noch ein Stück weit in die Kanäle **37** hinein erstrecken.

[0089] Nun werden die Kanäle **37** mit Elektrodenmaterial **39** gefüllt, was beim Herstellungsbeispiel nach den [Fig. 19](#) bis [Fig. 26](#) durch Galvanisieren erfolgt. Fließfähiges Elektrodenmaterial **39** wird hierzu von der sputterschichtseitigen Seite des Substrats **36** her bereitgestellt. Ein initiales galvanisches Abscheiden des Elektrodenmaterials **39** in den Kanälen **37** kann durch Aufbringen einer den Kanal **37** auf der der Sputterschicht **38** abgewandten Seite verschließen-

den dünnen Metallschicht begünstigt werden, die nach dieser initialen galvanischen Abscheidung wieder entfernt wird. Nach dem galvanischen Befüllen der Kanäle **37** und Aushärten des Elektrodenmaterials **39** wird das Substrat auf der Seite, die der Sputterschicht **38** abgewandt ist, definiert abgetragen, bis die Isolatorschicht **2** in der Form entstanden ist, die vorstehend im Zusammenhang mit den [Fig. 1](#) bis [Fig. 17](#) erläutert wurde. Je nach Anzahl der Kanäle **37** ergibt sich dann eine der Messelektroden-Konfigurationen, die vorstehend unter Bezugnahme auf die [Fig. 1](#) bis [Fig. 17](#) erläutert wurden. Wenn sehr viele, dicht gepackte Kanäle **37** im Substrat **36** vorliegen, kann eine Messelektroden-Packung **40** mit entsprechend vielen, dicht gepackten einzelnen Messelektroden **41** resultieren, die in der [Fig. 22](#) unten dargestellt ist. Die Messelektroden **41** haben eine Länge zwischen 15 und 20 µm. Der Überstand $H_1 + H_2$ des freien Endes **3** über die Isolatorschicht **2** beträgt 6 µm.

[0090] Nach Bedarf kann das Substrat **36** auch vollständig abgetragen werden. In diesem Fall wird die Isolatorschicht **2** nach dem Abtragen des Substrats **36** aufgetragen.

[0091] Das Abtragen des Substrats **36** kann durch Laserablation und/oder durch chemisches Ätzen erfolgen.

[0092] Die Kanäle **37** haben einen Durchmesser, der in einem Bereich vorgeben kann zwischen 10 nm und 5 µm. Die Dichte der Kanäle **37** kann variiert werden zwischen einzelnen Kanälen **37** pro cm² und bis zu 10⁸ Kanälen **37** pro cm². Als fließfähiges Elektrodenmaterial **39** werden insbesondere die bekannten primär abscheidbaren Materialien, wie Metalle und elektrisch leitfähige Polymere eingesetzt. Als Metalle werden insbesondere Gold, Silber und Platin bzw. deren Metallsalze eingesetzt. Als leitfähige Polymere, also als Polymere mit intrinsischer elektrischer Leitfähigkeit kommen beispielsweise geeignet dotierte halbleitende Polymere zum Einsatz. Geeignet sind Polymere mit ausgedehntem π-Elektronensystem, z. B. Poly(acetylen), Poly(p-phenylen), Poly(thiophen) oder Poly(pyrrol). Sie können auch durch elektrochemische Polymerisation hergestellt werden, wie z. B. leitfähige Poly(pyrrol)-Folien, die durch anodische Polymerisation von Pyrrol in einer wässrigen Lösung von Leitsalzen gebildet werden. Beim Abtragen des Substrats **36** entstehen die Isolation-Hohlkegel bzw. Isolation-Hohlelemente, zum Beispiel die Isolation-Hohlkegel **8** nach [Fig. 3](#).

[0093] In den [Fig. 23](#) bis [Fig. 26](#) sind zwei verschiedene Galvanisierungs-Befülltechniken für die Kanäle **37** schematisch dargestellt. Bei dieser Darstellung sind in der Isolatorschicht **2** beispielsweise durch Abtragen bereits Hohlkegel **8** ausgebildet.

[0094] Bei der Ausführung nach den [Fig. 23](#) und [Fig. 24](#) ist der Auftrag der Sputterschicht **38** so, dass sich der Kanal **37** in der Sputterschicht **38** ohne nennenswerte Durchmesservariation fortsetzt. Beim Galvanisieren erreicht das fließfähige Elektrodenmaterial **39** nur etwa die halbe Höhe im Kanal **37**, so dass zur Schaffung eines freien Endes **3** einer Messelektrode der Isolations-Hohlkegel **8** noch weiter abgetragen werden muss.

[0095] Bei der Ausführung nach den [Fig. 25](#) und [Fig. 26](#) erweitert sich der Kanal **37** in der Sputterschicht **38** über einen Trichter-Kanalabschnitt **42**. Daher kann das Elektrodenmaterial beim Galvanisieren leichter in den Kanal **37** eindringen und den Kanal **37** bis zu seinem in der [Fig. 26](#) oberen Ende ausfüllen, was das Ausbilden des freien Endes **3** der Messelektrode erleichtert.

[0096] Der Elektrodenkanal **37** hat in der Ausführung nach den [Fig. 23](#) bis [Fig. 26](#) jeweils eine Höhe von etwa 35 bis 40 µm.

[0097] Bei der galvanischen Befüllung der Kanäle **37** kann das Substrat in einen Galvanikrahmen eingespant und in ein Galvanikbad eingebracht werden. Anschließend wird ein Stromfluss aktiviert und, ausgehend von einer geringen Stromstärke langsam hochgeregelt. Es kommt dann zur Abscheidung des fließfähigen Elektrodenmaterials **39**, also beispielsweise metallischen Goldes, im Kanal **37** in den [Fig. 23](#) bis [Fig. 26](#) von unten nach oben. Langsames Erhöhen der Stromstärke führt zu einem Wachstum des Elektrodenmaterials **39** im Kanal **37** weiter nach oben, so dass der Kanal zur Ausbildung von nadelförmigen Messelektroden ausgefüllt wird.

[0098] Der Elektrodenkanal **37** muss innerhalb des Isolation-Hohlkegels **8** nicht auf jeder Höhe den gleichen Durchmesser aufweisen. So ist es beispielsweise möglich, dass der Elektrodenkanal **37** dort, wo er im Bereich der Spitze des Isolation-Hohlkegels **8** aus diesem ausmündet, einen geringeren Durchmesser aufweist. Dies ist in der [Fig. 23](#) gestrichelt am Beispiel einer spitzenseitigen konischen Verjüngung **43** des Elektrodenkanals **37** dargestellt. Entsprechend dieser konischen Verjüngung **43** ist komplementär hierzu dann das in den derart ausgebildeten Elektrodenkanal **37** eingefüllte Elektrodenmaterial **39** geformt. Es resultiert eine auf diese Weise galvanisch hergestellte Messelektrode **1** mit einer sich konisch verjüngenden Spitze **9**, die vergleichbar zu derjenigen geformt ist, die in der [Fig. 3](#) dargestellt ist.

[0099] Auch alternative Verfahren zur Herstellung von Messelektroden, die in ihrer Funktion den Messelektroden **1**, **11**, **16**, **17**, **23** oder **41** entsprechen, sind möglich. Das Befüllen des Substrats **36** kann beispielsweise auch durch Einschieben eines dünnen, insbesondere nano- oder mikroskaligen Drahtes

aus Elektrodenmaterial in den Kanal **37** oder die Kanäle **37** erfolgen.

[0100] Das Substrat **36** kann auch hergestellt werden durch Bereitstellung eines für eine Strukturierstrahlung fotosensitiven Roh-Substrates aus isolierendem Material. Es erfolgt dann ein Bestrahlen einer der Form des mindestens einen Kanals **37** entsprechenden Struktur des Substrats mit der Strukturierstrahlung. Nach dem Bestrahlen wird die bestrahlte Struktur noch ggf. ausgehärtet.

[0101] Alternativ kann ein dem Substrat **36** entsprechendes Substrat auch hergestellt werden, indem ein Roh-Substrat aus isolierendem Material mechanisch bearbeitet wird, so dass der mindestens eine Kanal **37** mechanisch in das Substrat, zum Beispiel durch Bohren oder Fräsen eingearbeitet wird.

[0102] Bei einer weiteren Variante eines Herstellungsverfahrens zur Herstellung von Messelektroden, die in ihrer Funktion den vorstehend beschriebenen Messelektroden **1, 11, 16, 17, 23, 41** entsprechen, kann ein für eine Strukturierstrahlung fotosensitives Substrat aus Elektrodenmaterial bereitgestellt und es kann eine der Form der Messelektrode entsprechende Struktur dieses Substrates mit der Strukturierstrahlung bestrahlt werden, wonach die bestrahlte Struktur ggf. ausgehärtet wird. Anschließend wird eine Isolatorschicht auf die Struktur aufgebracht, so dass nur noch freie Enden der hergestellten Struktur, also die freien Enden der Messelektroden, über die Isolatorschicht überstehen.

[0103] Im Rahmen der Herstellung der vorstehend beschriebenen Messelektroden kann die Isolatorschicht **2** nach dem Einbringen der Elektrodenkörper noch thermisch behandelt werden, was die Isolation der Isolatorschicht **2** verbessert.

[0104] Eine solche Bestrahlungs-Strukturierung kann beispielsweise durch Zwei-Photonen-Polymerisation erfolgen. Dabei kommen Laserimpulse im nahen Infrarotbereich zum definiert strukturierten Aus härten eines beispielsweise in Lösung vorliegenden fotosensitiven Substrats, zum Beispiel eines Ormocers, zum Einsatz. Durch gezieltes, insbesondere schichtweises Aushärten kann dabei stufenweise der Aufbau dreidimensionaler Strukturen, also der Messelektroden-Konfiguration, erfolgen.

[0105] Auch Elektro-Plating kann zum Befüllen der Kanäle **37** zum Einsatz kommen.

[0106] Die verschiedenen vorstehend beschriebenen Formen von Messelektroden-Packungen können in Form jeweils zusammengefasster Fakir-Elektroden oder in Form von Elektrodenarrays elektrisch verschaltet sein. Bei einer Verschaltung als Fakir-Elektrode liegt die Messelektroden-Packung als

eine einzige Packungs-Elektrode mit nanostrukturierter Oberfläche vor, die über mehrere Spitzen **9** verfügt. Bei der Verschaltung als Elektrodenarray können die einzelnen Messelektroden **1** einer Messelektroden-Packung parallel, also unabhängig voneinander, elektrisch abgegriffen werden. Dieser parallele Abgriff ermöglicht die Messung von Potentialwerten der verschiedenen Einzelelektroden der Messelektroden-Packung, so dass eine Gesamtmessung erzeugt werden kann, die eine Mittelung über die Messergebnisse der einzelnen Messelektroden **1** der Messelektroden-Packung darstellt.

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- WO 2007/003398 A2 [\[0002\]](#)
- WO 2007/003399 A2 [\[0002\]](#)
- US 2004/0146849 A1 [\[0002\]](#)

Patentansprüche

1. Vorrichtung (31) zur Bestimmung eines elektrophysiologischen Parameters von biologischem Zellmaterial
 – mit mindestens einer Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41), die ein aus einer Isolatorschicht (2) heraustrgendes freies Ende (3) aufweist, das zur Durchdringung einer Zellmaterial-Wand (4) gestaltet ist,
 – mit mindestens einer der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) zugeordneten Gegenelektrode (10; 28), **dadurch gekennzeichnet**, dass ein Elektrodenkörper der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) die Fortsetzung eines in der Isolatorschicht (2) ausgebildeten Elektrodenkanals (37) bildet.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Messelektroden (1; 11; 16; 17; 23; 41) als Messelektroden-Packung (15; 22; 40) mit mindestens zwei Messelektroden (1; 11; 16; 17; 23; 41) dicht gepackt vorliegen, so dass sämtliche Messelektroden (1; 11; 16; 17; 23; 41) einer Messelektroden-Packung (15; 22; 40) zur Durchdringung der gleichen Zellmaterial-Wand (4) vorgesehen sind.

3. Vorrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Messelektroden-Packung (15; 22; 40) mindestens drei, bevorzugt mindestens vier, mehr bevorzugt mindestens fünf, noch mehr bevorzugt mindestens zehn Messelektroden (1; 11; 16; 17; 23; 41) aufweist.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal (37) eine Länge im Bereich zwischen 1 µm und 40 µm, insbesondere zwischen 15 µm und 40 µm hat.

5. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal eine Länge von 15 µm bis 20 µm hat.

6. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal eine Länge von 35 µm bis 40 µm hat.

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das freie Ende (3) der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) einen Überstand über die Isolatorschicht (2) im Bereich zwischen 6 µm und 8 µm hat.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal einen Durchmesser im Bereich zwischen 10 nm und 5 µm hat.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal (37) an einer Basis des freien Endes (3) der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) einen Durchmesser im

Bereich zwischen 1 µm und 4 µm, insbesondere einen Durchmesser von 3 µm hat.

10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal (37) im Querschnitt senkrecht zu ihrer Längserstreckung kreuzförmig ist.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Kreuzstruktur im Querschnitt senkrecht zur Längserstreckung der Messelektroden eine Seitenlänge im Bereich von 2 µm bis 10 µm hat.

12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal (37) sich auf einer dem freien Ende (3) der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) abgewandten Seite trichterförmig (42) erweitert.

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektrodenkanal (37) sich auf einer dem freien Ende (3) der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) zugewandten Seite verjüngt, insbesondere konisch verjüngt.

14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Isolatorschicht (2) benachbart zum freien Ende (3) der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) als Hohlelement (8; 18) ausgeführt ist, durch welches der Elektrodenkanal (37) verläuft und welches sich vom freien Ende (3) der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) hin zu einer Basis-Isolatorschicht erweitert.

15. Verfahren zur Herstellung einer Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) für eine Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14 mit folgenden Schritten:
 – Bereitstellen eines Substrats (36), welches mindestens einen Kanal (37) senkrecht zu einer Substratbene aufweist, insbesondere aus isolierendem Material,
 – Befüllen des Kanals (37) mit Elektrodenmaterial (39) und gegebenenfalls Abtragen des Substrats (36), bis das freie Ende (3) des Elektrodenmaterials (39) über die Isolatorschicht (2) übersteht.

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Befüllen des Kanals (37) folgendermaßen erfolgt:

- Aufbringen einer metallischen Beschichtung (38) auf dem Substrat (36), wobei die metallische Beschichtung (38) eine mit dem Kanal (37) fluchtende Öffnung aufweist,
- galvanisches Befüllen des Kanals (37) mit fließfähigem Elektrodenmaterial (39),
- Aushärten des Elektrodenmaterials (39),
- Abtragen der Isolatorschicht (2), bis das freie Ende (3) des Elektrodenmaterials (39) über die Isolatorschicht (2) übersteht.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Abtragen durch Laserablation erfolgt.

18. Verfahren nach Anspruch 16 oder 17, dadurch gekennzeichnet, dass das Abtragen durch chemisches Ätzen erfolgt.

19. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Befüllen des Substrats (36) erfolgt durch ein Einschieben eines Drahtes aus Elektrodenmaterial in den Kanal (37).

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat (36) folgendermaßen bereitgestellt wird:

- Bereitstellen eines für eine Strukturierstrahlung fotosensitiven Roh-Substrates, insbesondere aus isolierendem Material,
- Bestrahlen einer der Form des mindestens einen Kanals (37) entsprechenden Struktur des Substrates (36) mit der Strukturierstrahlung.

21. Verfahren nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass die bestrahlte Struktur nach dem Bestrahlen ausgehärtet wird.

22. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat (36) folgendermaßen bereitgestellt wird:

- Bereitstellen eines Roh-Substrates, insbesondere aus isolierendem Material,
- mechanisches Einarbeiten des mindestens einen Kanals (37) in das Substrat.

23. Verfahren zur Herstellung einer Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) für eine Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14 mit folgenden Schritten:

- Bereitstellen eines für eine Strukturierstrahlung fotosensitiven Substrates aus Elektrodenmaterial,
- Bestrahlen einer der Form der Messelektroden (1; 11; 16; 17; 23; 41) entsprechenden Struktur des Substrates mit der Strukturierstrahlung,
- Aufbringen einer Isolatorschicht (2) auf die Struktur, so dass ein freies Ende (3) der bestrahlten Struktur über die Isolatorschicht (2) übersteht.

24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem Bestrahlen der Struktur mit der Strukturierstrahlung die bestrahlte Struktur ausgehärtet wird.

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 24 unter Verwendung eines Substrats (36) aus Isolatormaterial, gekennzeichnet durch ein thermisches Behandeln des Isolatorschicht-Substrats nach dem Einbringen der Messelektroden (1; 11; 16; 17; 23; 41).

26. Verfahren zur Vermessung einer Zelle (5; 6)

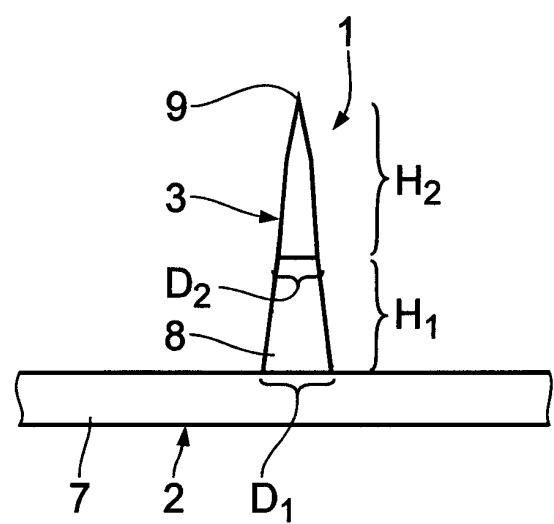
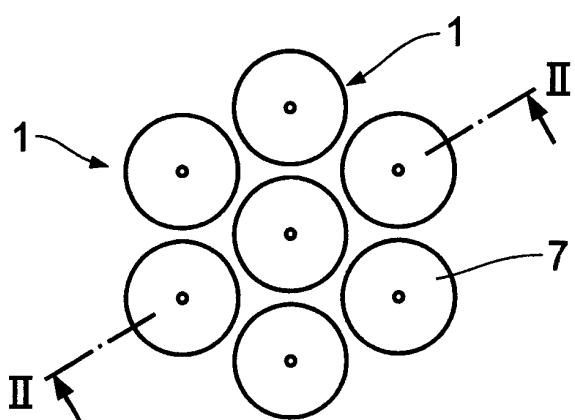
mithilfe einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14 mit folgenden Schritten:

- Anheften der Zelle (5; 6) auf die Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41), so dass die gesamten isolationsfreien Elektrodenspitzen (9) die Zellmaterial-Wand (4) durchdringen,
- Messen des elektrischen Potentials zwischen der Messelektrode (1; 11; 16; 17; 23; 41) und der Gegenelektrode (10; 28).

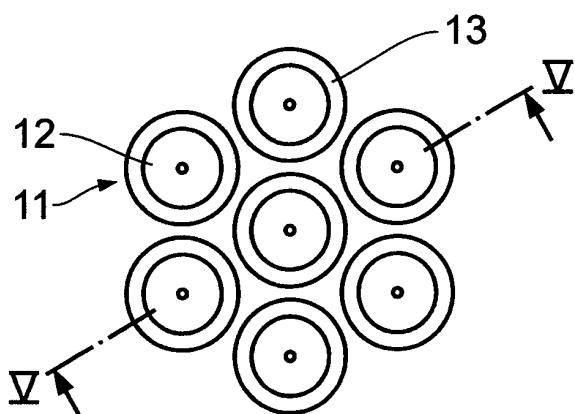
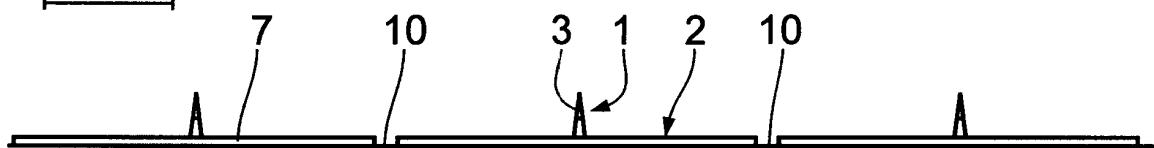
27. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass das Anheften erfolgt durch Erzeugung einer dielektrophoretischen Anziehungs- kraft (34) zwischen der Messelektrodenpackung (22) und der Zelle (5; 6).

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

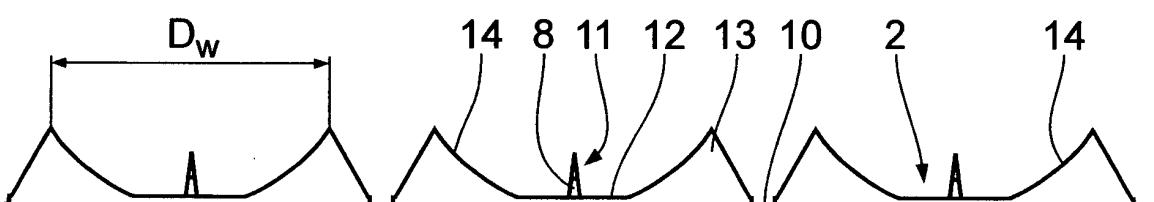
Anhängende Zeichnungen



10 µm



10 µm



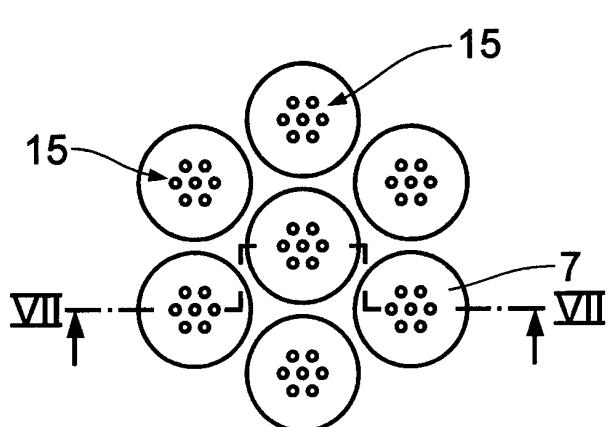


Fig. 6

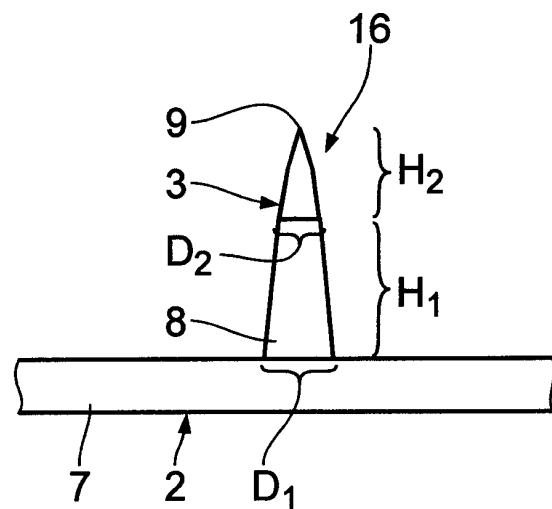


Fig. 8

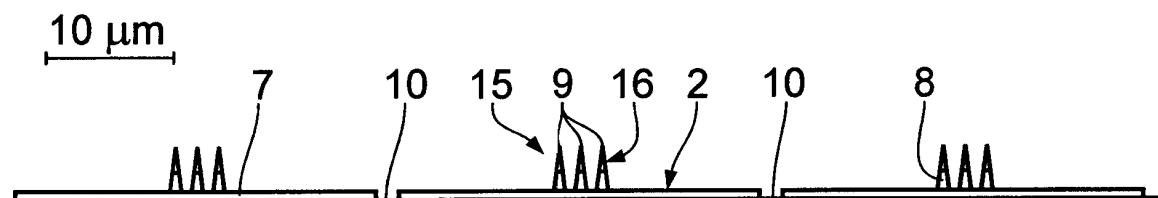


Fig. 7

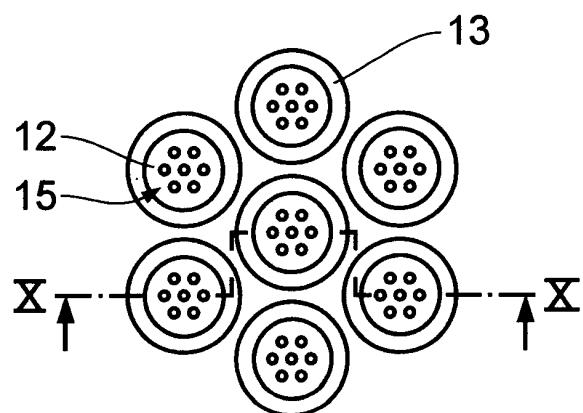


Fig. 9

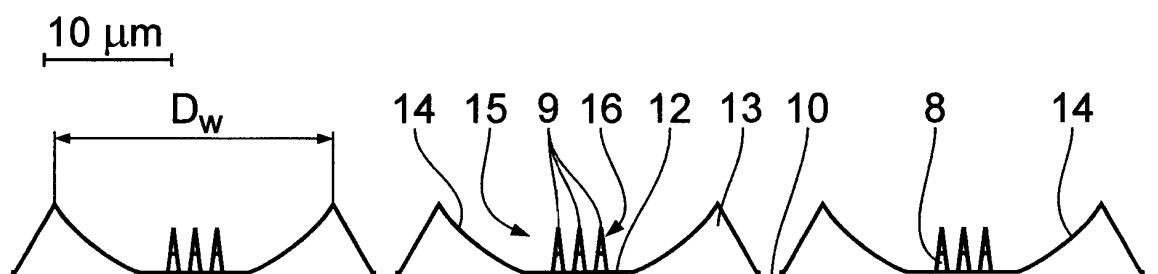


Fig. 10

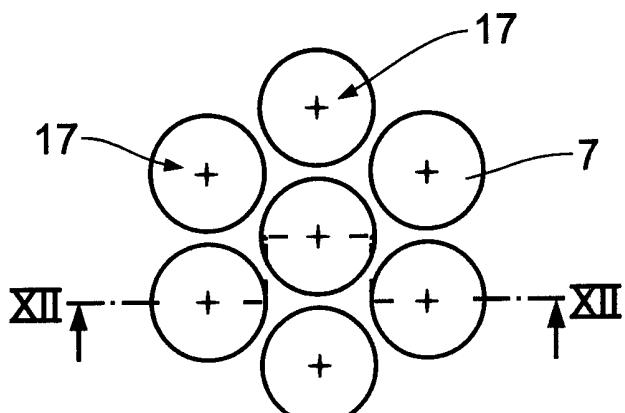


Fig. 11

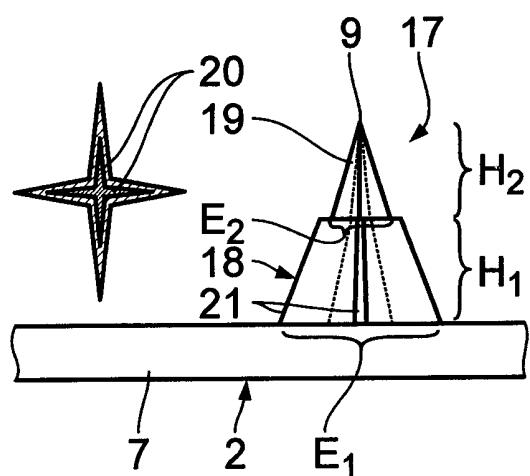


Fig. 13

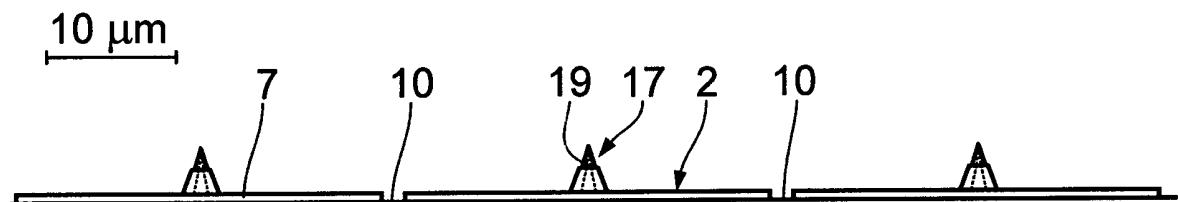


Fig. 12

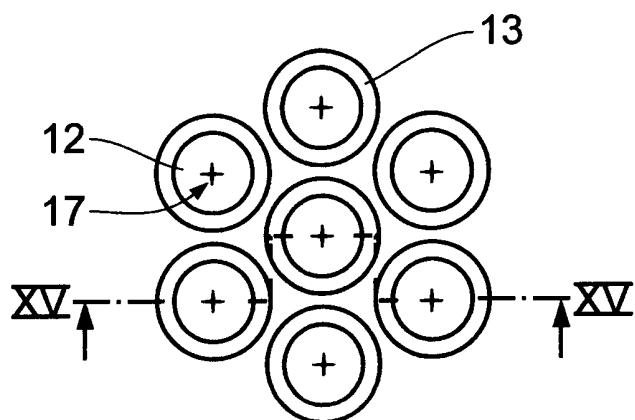


Fig. 14

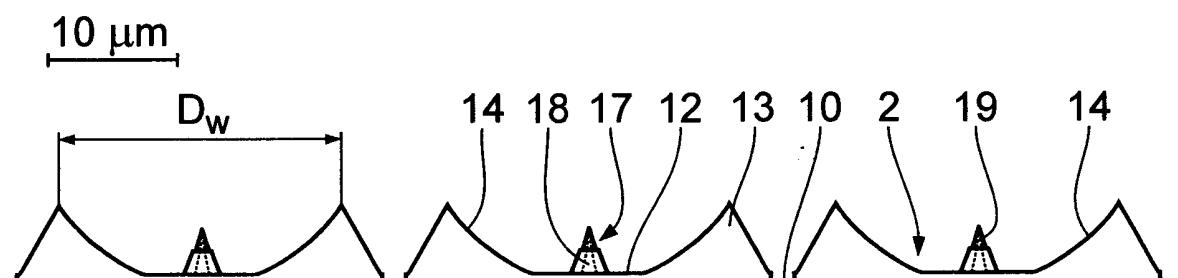


Fig. 15

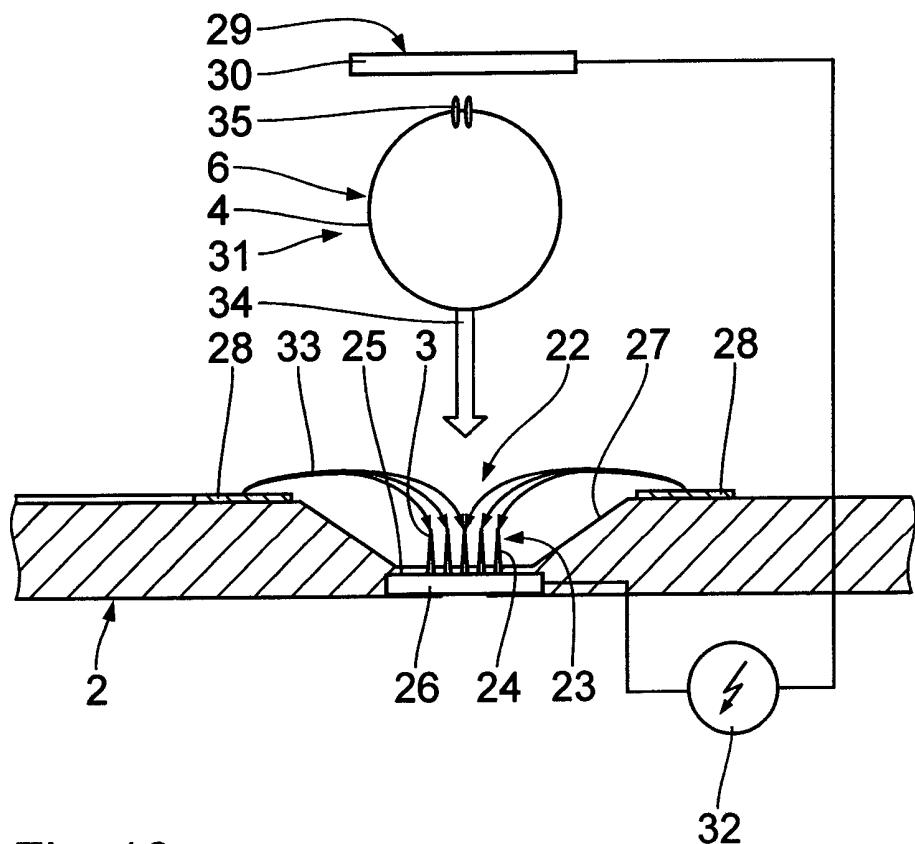


Fig. 16

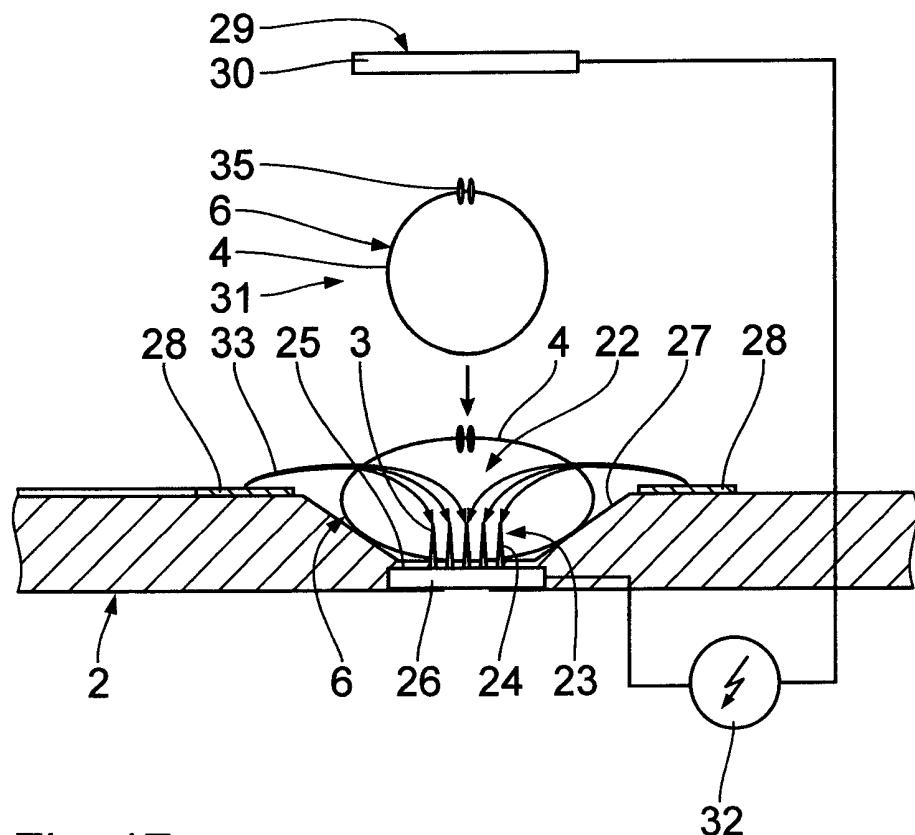


Fig. 17

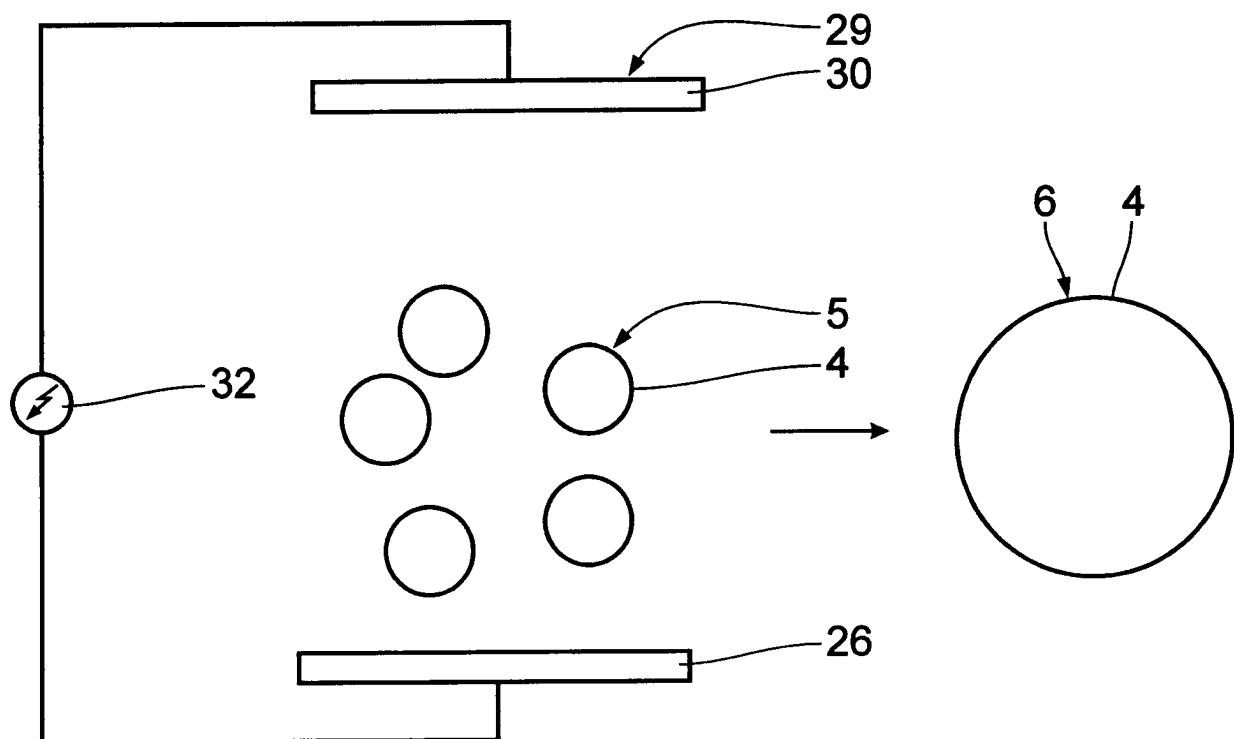


Fig. 18

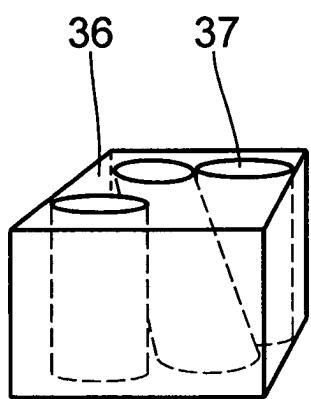


Fig. 19

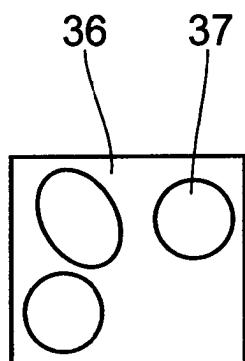


Fig. 20

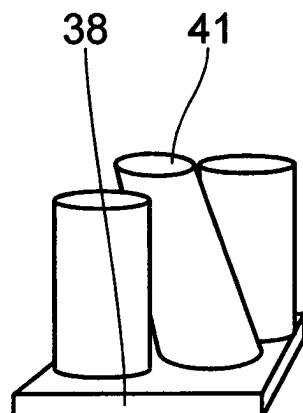


Fig. 21

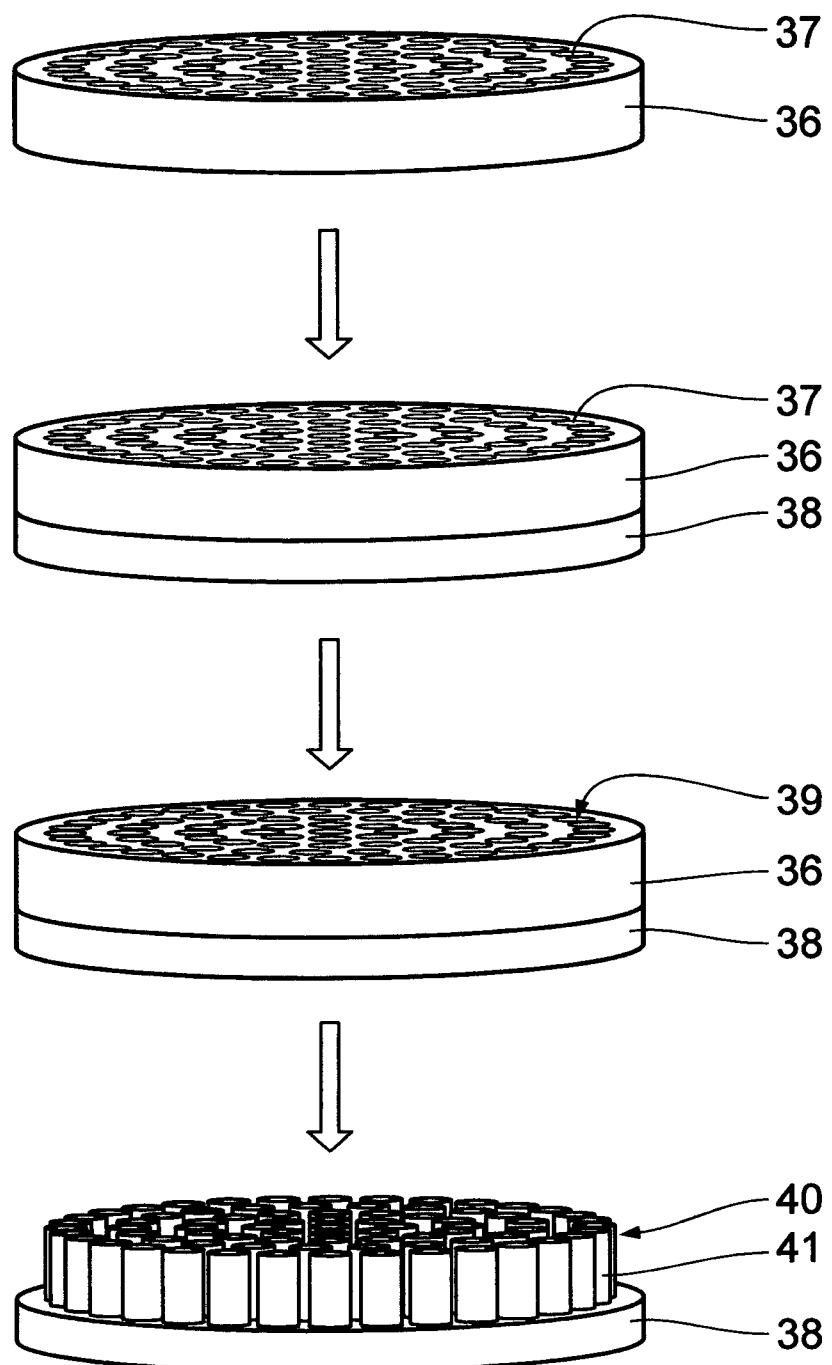


Fig. 22

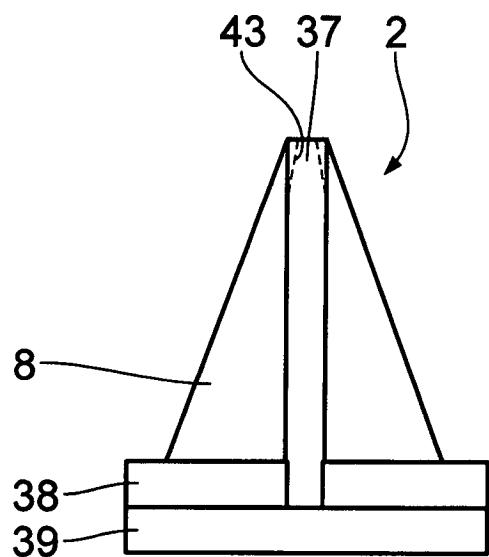


Fig. 23

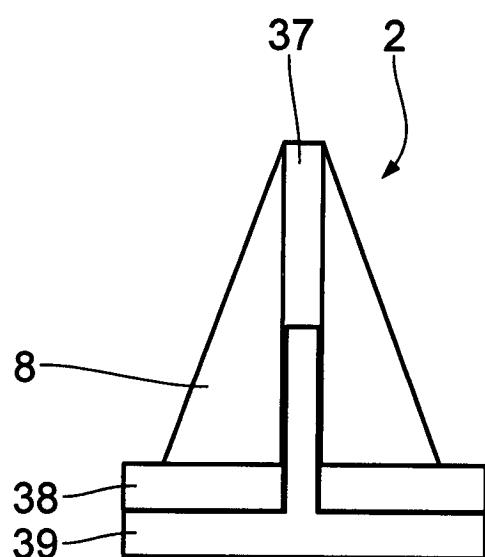


Fig. 24

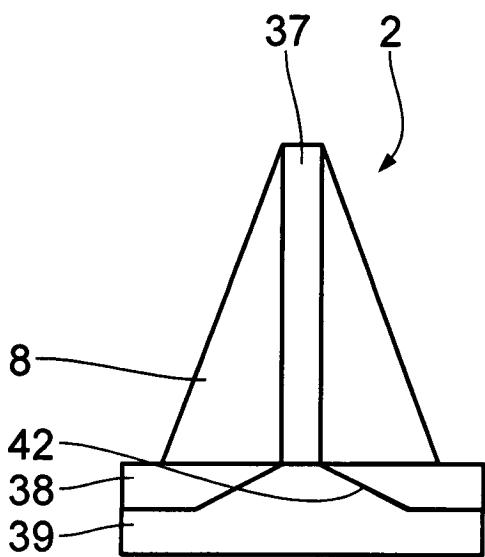


Fig. 25

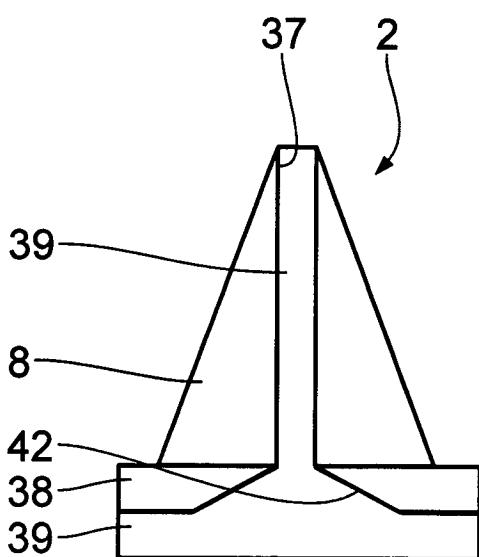


Fig. 26