



# PATENTSCHRIFT 149 574

Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

Int. Cl.<sup>3</sup>

(11) 149 574 (44) 15.07.81 3(51) G 01 N 21/64  
(21) WP G 01 N / 219 885 (22) 25.03.80

---

(71) ZI für Krebsforschung der AdW der DDR, Berlin, DD  
(72) Karsten, Uwe, Dr. Dipl.-Biol., DD  
(73) siehe (72)  
(74) Akademie der Wissenschaften der DDR, Zentralinstitut für  
Molekularbiologie, AG Patent- und Neuererwesen, 1115 Berlin,  
Lindenberger Weg 70

---

(54) Anordnung für serienmäßige Fluoreszenzmessung

---

(57) Die Erfindung beinhaltet eine Anordnung, die es ermöglicht, Fluoreszenztests im Mikroliterbereich, die serienmäßig in Mikrottestplatten aus Polystyrol angesetzt werden, direkt in diesen Platten objektiv zu messen, ohne sie in spezielle Meßküvetten eines Fluorometers umfüllen zu müssen. Die erfindungsgemäße Lösung besteht in einer Auflicht-Fluoreszenz-Meßeinrichtung, einer besonderen Filteranordnung zur Beherrschung der Streulichtprobleme und in einer Vorrichtung zur mechanischen Führung der Testplatten.

Dr.  
Uwe Karsten

Anordnung für serienmäßige Fluoreszenzmessung

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf eine Anordnung, die es gestattet, fluorometrische Messungen direkt in Polystyrol-Testplatten vorzunehmen. Mit der erfindungsgemäßen Anordnung sind Fluoreszenzmessungen im Mikroliterbereich sowohl an Lösungen als auch an Suspensionen von Zellen oder anderen sedimentierenden Partikeln möglich. Hauptanwendungsgebiete sind Fluoreszenztests und serienmäßige Konzentrationsbestimmungen in der medizinisch-biologischen Forschung (Krebsforschung, Immunbiologie, Zellbiologie) und in der medizinischen Diagnostik.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Geräte zur quantitativen Messung fluoreszierender oder fluoreszenzmarkierter Substanzen (Fluorometer, Spektralfluorometer) sind in verschiedenen Ausführungen bekannt. Dabei werden flüssige Meßproben immer in Meßküvetten aus Quarz bzw. UV-durchlässigem Spezialglas umgefüllt. Das ist arbeitsaufwendig und erfordert Spülvorgänge. Die Messung von kleinen Volumina ( $< 1$  ml) erfordert besondere optische Anpassungen und Spezialküvetten, wodurch der Probenwechsel noch aufwendiger wird. Partikel- oder Zellsuspensionen lassen sich infolge der Sedimentation nur bedingt messen.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung ist es, die Messungen schneller und mit weniger Arbeitsaufwand durchführen zu können.

### Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Anordnung zu entwickeln, die es gestattet, fluorometrische Meßproben im Mikroliterbereich in Testplatten, in denen sie serienmäßig angesetzt werden, direkt zu messen, ohne sie in Meßküvetten umzufüllen.

Die Aufgabe wird mit einer Anordnung für serienmäßige Fluoreszenzmessung im Mikroliterbereich in einer Auflicht-Fluoreszenz-Meßeinrichtung erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß eine Testplatte in einer Führung über einem Meßspalt der Auflicht-Fluoreszenz-Meßeinrichtung horizontal beweglich angeordnet ist. Zur Beherrschung der durch die optischen Eigenschaften der Testplatte verursachten Streulichteffekte ist im Strahlengang des Anregungsteils mit Lichtquelle, Gittermonochromator und Umlenkspiegel ein Sperrfilter zwischen Gittermonochromator und Meßspalt angebracht. Dieses Sperrfilter ist undurchlässig für second-order-Licht des Gittermonochromators. Zur Eliminierung des von der Probe ausgehenden Tyndall-, Rayleigh- und Raman-Streulichtes ist im Strahlengang der im Winkel von  $< 90^\circ$  zum Anregungslicht angeordneten Analysatoroptik ein weiteres Sperrfilter zwischen Meßspalt und Analysator-Monochromator vorgesehen.

Als Testplatten werden vorteilhafterweise Polystyrol-Testplatten verwendet.

Die erfindungsgemäße Anordnung erlaubt, die Messung vieler Proben im Mikroliterbereich mit geringem Arbeitsaufwand, da das Umfüllen der Proben in Meßküvetten und deren Reinigung zwischen den Messungen entfällt. Außerdem können Suspensionen von Zellen oder sedimentierenden Partikeln gemessen werden.

### Ausführungsbeispiel

Fig. 1 zeigt ein Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Anordnung im Schema.

Eine Polystyrol-Testplatte 1, in deren Vertiefungen sich die zu messenden Proben befinden, ist in einer Halterung und Füh-

nung 2 über dem Meßspalt 3 in einem lichtdichten Gehäuse angebracht. Als Testplatten eignen sich handelsübliche Einweg-Polystyrol-Testplatten 9 x 13 cm mit 8 x 12 Vertiefungen (Flachboden oder U-Form). Sie sind für Anregungswellenlängen  $\geq 300$  nm geeignet. Der mechanische Vorschub erfolgt kontinuierlich oder schrittweise. Bei schrittweisem Vorschub können die Meßwerte - anstatt auf einem Schreiber - nach elektronischer Verarbeitung des Signals auch digital ausgedruckt werden. Aus dem Licht einer Xenon-Lampe 4 wird mittels eines Gittermonochromators 5 die gewünschte Anregungswellenlänge selektioniert. Ein Umlenkspiegel 6 lenkt das Anregungslicht auf den Meßspalt 3. Der Meßspalt 3 ist in seiner Dimensionierung der Größe der Vertiefungen in der Testplatte angepaßt. Mittels eines Sperrfilters 7, das im Strahlengang des Anregungsteiles zwischen Umlenkspiegel 6 und Meßspalt 3 angeordnet ist, wird längerwelliges Licht, vor allem die "second-order"-Strahlung des Gittermonochromators 5, eliminiert. Im Winkel von  $< 90^\circ$  zum Anregungslicht ist die Analysatoroptik angeordnet, wobei im Strahlengang zwischen Meßspalt 3 und Umlenkspiegel 6 ein Sperrfilter 8 zur Eliminierung von Tyndall-, Rayleigh- und Raman-Streulicht (durchlässig für die Fluoreszenzwellenlänge) angebracht ist. Es folgen Analysator-Monochromator 9 und Sekundärelektronenvervielfacher 10. Daran schließen sich Verstärker 11 und Schreiber 12 an.

Erfindungsanspruch

1. Anordnung für serienmäßige Fluoreszenzmessungen im Mikroliterbereich mittels einer Auflicht-Fluoreszenz-Meßeinrichtung, dadurch gekennzeichnet, daß eine Testplatte (1) in einer Führung (2) über einen Meßspalt (3) der Fluoreszenzeinrichtung, bestehend aus einem Anregungsteil mit Lichtquelle (4), Anregungs-Monochromator (5), Umlenkspiegel (6) und Sperrfilter (7), sowie einer im Winkel von  $< 90^\circ$  zum Anregungslicht angeordneten Analysatoroptik mit Sperrfilter (8), Analysator-Monochromator (9), Sekundärelektronenvervielfacher (10), Verstärker (11) und Schreiber (12), horizontal beweglich angebracht ist.
2. Anordnung nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Testplatte (1) eine Mikrottestplatte vorgesehen ist.
3. Anordnung nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Sperrfilter (7) undurchlässig für das second-order-Licht des Anregungs-Monochromators (5) ausgebildet ist.
4. Anordnung nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Sperrfilter (8) als undurchlässig für das von Probe und Testplatte (1) ausgehende Streulicht ausgeführt ist.

Hierzu 1 Seite Zeichnung

