



(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 474/95

(51) Int.Cl.⁶ : G01N 21/64

(22) Anmeldetag: 17. 3.1995

(42) Beginn der Patentdauer: 15.11.1997

(45) Ausgabetag: 27. 7.1998

(56) Entgegenhaltungen:

DE 4210970A1 EP 0177813A1 GB 2243683A

(73) Patentinhaber:

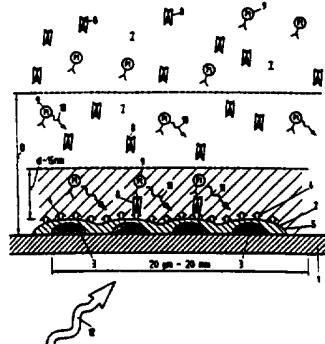
AVL GESELLSCHAFT FÜR VERBRENNUNGSKRAFTMASCHINEN
UND MESSTECHNIK MBH. PROF.DR.DR.H.C. HANS LIST
A-8020 GRAZ, STEIERMARK (AT).

(72) Erfinder:

SCHALKHAMMER THOMAS MAG. DR.
KASTEN, NIEDERÖSTERREICH (AT).
PITTNER FRITZ DR.
WIEN (AT).
LEITNER ALFRED DR.
GRAZ, STEIERMARK (AT).
AUSSENEGG FRANZ DR.
GRAZ, STEIERMARK (AT).
BRUNNER HARALD DIPLO.ING.
GRAZ, STEIERMARK (AT).

(54) OPTOCHEMISCHES MESSSYSTEM MIT EINEM FLUORESENZSENSOR

(57) Ein optochemisches Meßsystem mit einem Fluoreszenzsensor mit einer biorekognitiven Schicht (4) zur Messung der Konzentration zumindest eines Analyten (8) in einer Probe weist zumindest eine auf ein Substrat (1) des Sensors aufgetragene Inselschicht (2) auf. Deren Insel (3) bestehen aus einem elektrisch leitenden Material und weisen einen Durchmesser kleiner 300 nm auf, wobei die biorekognitive Schicht (4) auf oder mittels einer Spacerschicht (5) an der Inselschicht (2) angeordnet ist. Weiters ist ein der Probe zusetzbares analytpezifisches, fluoreszierendes System (9) vorgesehen. Die biorekognitive Schicht (4) vermag den zu messenden Analyten (8) zumindest direkt oder mittels analytbindender Moleküle zu binden, wobei die Quantenausbeute des fluoreszierenden Systems (9) klein ist und sich in der Nähe der Inselschicht (2) stark erhöht.



B
AT 403 961
AT

Die Erfindung betrifft ein optochemisches Meßsystem mit einem Fluoreszenzsensor mit einer biorekognitiven Schicht zur Messung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer Probe.

Optochemische Sensoren bzw. Meßsysteme basieren darauf, daß eine chemische Reaktion zwischen dem Sensormaterial und dem Analyten zu einer Veränderung der optischen Eigenschaften des Sensors führt. Eine Veränderung der optischen Eigenschaften kann beispielsweise in einer Änderung der Absorptions- bzw. der Fluoreszenzeigenschaften liegen, so daß die Reaktion in der Folge durch spektroskopische Methoden nachweisbar wird.

Optochemische Sensoren zur Messung chemischer Stoffkonzentrationen gewinnen zunehmend an Interesse, da sie gegenüber herkömmlichen Meßeinrichtungen wesentlich kürzere Ansprechzeit, eine größere mechanische Robustheit und eine Unempfindlichkeit gegenüber elektromagnetischen Einstreuungen sowie weitere Vorteile aufweisen. Wesentlich für derartige optochemische Sensoren ist allerdings, daß das Sensormaterial dem Angriff des Analyten entsprechend ausgesetzt ist, um eine kurze Ansprechzeit zu gewährleisten.

Aus der GB-A 2 243 683 ist ein optochemischer Sensor bekannt, welcher am Ende einer Fiberoptik eine biorekognitive Schicht aufweist, die mit einem Analyten einer Probe in Kontakt treten kann. Die biorekognitive Schicht weist an Antikörpern gebundene fluoreszenzmarkierte Antigene auf, welche bei Probenkontakt durch den Analyten ersetzt werden. Die abnehmende Fluoreszenz wird als Maß für die Analytkonzentration detektiert.

Aus der DE-A1 42 10 970 ist ein Verfahren zur optischen qualitativen und quantitativen Erfassung von Biomolekülen, toxischen Substanzen, Polymeren und pharmazeutischen Wirkstoffen mittels Laserspektroskopie bekannt. Dabei werden Fluoreszenzfarbstoffe an die zu messenden Moleküle gekoppelt und über die vom markierten Molekül unbeeinflußte Fluoreszenzabklingzeit detektiert. Als Fluoreszenzfarbstoffe finden unter anderem Fluoresceine und Rhodamine Verwendung.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein optochemisches Meßsystem mit einem Sensor der eingangs genannten Art zu schaffen, mit welchem insbesondere Stoffkonzentrationen, von beispielsweise Antikörpern oder Enzymen, in besonders einfacher und reproduzierbarer Weise erfaßt werden können, wobei auf die Verwendung von Elektroden verzichtet werden kann, und das Meßergebnis auch bei überaus geringen Änderungen der zu messenden Stoffkonzentrationen mit hoher Präzision und kurzer Meßzeit deutlich ablesbar ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß der Sensor zumindest eine auf ein Substrat aufgetragene Inselschicht aufweist, deren Inseln aus elektrisch leitendem Material bestehen und einen Durchmesser kleiner 300 nm aufweisen, wobei die biorekognitive Schicht auf oder mittels einer Spacerschicht an der Inselschicht angeordnet ist, daß das Meßsystem ein der Probe zusetzbares analytpezifisches, fluoreszierendes System umfaßt, dessen Quantenausbeute klein ist und sich in der Nähe der Inselschicht stark erhöht, sowie daß die biorekognitive Schicht den zu messenden Analyten direkt oder mittels analytbindender Moleküle zu binden vermag.

Ein erfindungsgemäßes Meßsystem besteht somit im wesentlichen darin, daß

1. eine Schicht aus einer Mehrzahl von nanometrischen Partikeln (= Inseln) aus elektrisch leitendem Material, insbesondere Metall, auf der Oberfläche eines Substrates,
2. eine biorekognitive Schicht auf oder über der genannten Inselschicht und
3. mit schwachen oder mäßigen Fluorophoren markierte biorekognitive Moleküle vorgesehen sind, wobei der Durchmesser der Inseln kleiner ist als die Wellenlänge des für die Betrachtung bzw. Auswertung verwendeten Lichtes.

Erfindungsgemäß ist vorgesehen, daß das analytpezifische, fluoreszierende System ein fluoreszenzmarkiertes biorekognitives Molekül ist, welches den Analyten zu binden vermag bzw. daß das analytpezifische fluoreszierende System ein fluoreszenzmarkiertes Analytanalogon ist, welches die biorekognitive Schicht zu binden vermag. Bei einem derartigen Sensor wird die Eigenschaft der biorekognitiven Schicht über der Inselschicht ausgenutzt, um entweder:

- nach dem Kontakt mit dem Analyten diesen und ein daran gebundenes, einen Fluoreszenzlabel tragendes, analyterkennendes Molekül als "molekularen Sandwich" zu binden oder
- nach kompetitiver Verdrängung eines, einen Fluoreszenzlabel tragenden Analytanalogon durch den Analyten jenes zu binden.

Eine derartige biorekognitive Bindung führt bei dem erfindungsgemäßen optochemischen Meßsystem zu einer Veränderung der optischen Eigenschaften, insbesondere zu einer starken Steigerung der Quantenausbeute (Fluoreszenzverstärkung) von Fluorophoren im Bereich 0 bis 20 nm über der Inselschicht.

In konventionellen Fluoreszenzsensoren müssen Fluorophore mit hoher Quantenausbeute eingesetzt werden, um die nötige Empfindlichkeit des Sensors zu gewährleisten. Dabei bewirken jedoch gelöste fluoreszierende Moleküle in der Umgebung des Sensors einen starken, die Empfindlichkeit des Meßsy-

stems begrenzenden, Signalhintergrund. Daher muß, um ein gutes Signal zu Rauschverhältnis zu erhalten, der Überschuß an gelöstem Fluorophor vor der Messung vom Sensor entfernt werden. Erfindungsgemäß zeigt der neue Typ des optochemischen Fluoreszenssensors diesen Nachteil nicht, da die gelösten Moleküle eine sehr geringe Eigenfluorszenz aufweisen und deren Fluoreszenz erst nach der Bindung an der biorekognitiven Schicht stark erhöht wird. Dadurch wird es - im Gegensatz zu konventionellen Fluoreszenssensoren - erst möglich, ohne Abtrennung der Analytlösung sofort die biorekognitive Bindung selektiv an der Oberfläche des Sensors zu messen.

Es kann somit mit relativ kurzer Ansprechzeit eine Änderung der optischen Eigenschaften, z. B. der Fluoreszenzintensität oder des Fluoresenzspektrums, beobachtet werden. Es hat sich überraschenderweise gezeigt, daß bei einer derartigen Struktur die charakteristischen Meßeffekte nur im Bereich der energetischen Kopplung (weniger als etwa 20 nm Abstand) der optisch aktiven Moleküle (z. B. Fluorophore) mit der Inselschicht auftreten. Die Ansprechzeit des Sensors ist wie bei allen Sensoren durch die Diffusionszeit des zu messenden Stoffes bis zum Sensormaterial bestimmt, und durch die erfindungsgemäß Ausgestaltung mit überaus dünnen Schichten kann ein entsprechend kurzer Diffusionsweg vorgegeben werden. Mit konventionellen interferometrischen oder Surface Plasmon Resonance Methoden lassen sich aber geringfügige chemische Änderung in dünnen Schichten nur mit großem meßtechnischem Aufwand erfassen. Überraschenderweise hat sich nun gezeigt, daß dann, wenn die Inselschicht auf einer transparenten Oberfläche aufgebracht zur Einkopplung des Meßstrahls (z. B. Laser oder LED) verwendet wird, der Meßaufbau weitaus einfacher und die Sensitivität des Sensors weitaus größer ist.

Metallische Inselfilme mit einem Durchmesser der Inseln kleiner als die Wellenlänge des für die Betrachtung bzw. Auswertung verwendeten Lichtes zeigen eine starke Absorption, und als deren Folge zeigt das beschriebene System ein ausgeprägtes spektrales Reflexionsmaximum. Fluorophore mit einer Emissionswellenlänge im Inselspektrum, welche eine geringe Quantenausbeute aufweisen, erhöhen ihre Quantenausbeute sehr stark, wenn sie in eine dünne Schicht von etwa 20 nm über die Inselschicht gebracht werden.

Vorteilhafterweise können die Inseln der Inselschicht des Sensors aus Gold oder Silber bestehen. Prinzipiell eignen sich auch andere Metalle, wie beispielsweise Aluminium, für die Ausbildung der Inselschicht. Derartige andere Metalle sind jedoch dem chemischen Angriff in höherem Maße ausgesetzt als die erfindungsgemäß bevorzugt eingesetzte Inselschicht aus Gold oder Silber. Gold und Silber zeichnen sich darüber hinaus durch besonders vorteilhafte Absorptionseigenschaften, damit durch starke Erhöhung der Quantenausbeute und folglich durch hohe Analytempfindlichkeit aus. Grundsätzlich gewinnt ein Fluorophor im Kontakt mit der Inselschicht umso mehr an Quantenausbeute, je niedriger seine Quantenausbeute per se ist. In diesem Punkt unterscheidet sich das erfindungsgemäß Verfahren von allen bekannten Fluoreszenssensoren, bei denen die Analytempfindlichkeit proportional zur Quantenausbeute des jeweils verwendeten Fluorophors ist.

Die Meßgeometrie des optischen Biosensors implementiert die Einstrahlung des Anregungslichts von der probenabgewandten, transparenten Seite des Sensors und die Messung der emittierten Fluoreszenzphotonen in maximalem Raumwinkel auf derselben Seite.

Als Lichtquelle können alle thermischen Emittier, sowie Leuchtdioden und Laser (z. B. frequenzverdoppelter Halbleiterlaser), zur Photonenmessung Photomultipler oder Photohalbleiter (schlechtere Nachweissgrenze) eingesetzt werden.

Eine besonders starke Fluoreszenzverstärkung wird dann beobachtet, wenn die Inseln einen Durchmesser aufweisen, welcher wesentlich kleiner als die Wellenlänge des für die Betrachtung bzw. Auswertung verwendeten Lichtes ist und das Absorptionsminimum mit jenem des Emissionsmaximum des Fluorophors überlappt. Bevorzugt wird hierbei die Ausgestaltung so getroffen, daß die Inseln einen Durchmesser von kleiner 100 nm, vorzugsweise kleiner 60 nm, bei Verwendung von sichtbarem Licht zur Auswertung aufweisen.

Erfindungsgemäß ist vorgesehen, daß die biorekognitive Schicht an oder über der Inselschicht aus Proteinen, Lipiden, Nukleinsäuren oder artifiziellen Liganden besteht.

Bevorzugt werden dabei Proteine, wie Antikörper, Antigene und Lektine sowie Hormone, DNA und RNA eingesetzt. Derartige biorekognitive Systeme zeichnen sich durch selektive Bindung des Analyten aus, wobei es genügt, einen derartigen Sensor in Kontakt mit einer Lösung zu bringen, deren Konzentration bestimmt werden soll.

Das analytische, fluoreszierende System kann bevorzugt Proteine, wie Antikörper, Antigene und Lektine sowie Hormone, Lipide, DNA und RNA aufweisen, wobei jedoch diese Moleküle mit einem Fluorophor konjugiert sind. Derartige biorekognitive Systeme zeichnen sich ebenfalls durch selektive Bindung des Analyten aus, wobei es genügt, sie in Lösung mit dem Analyten in Kontakt zu bringen.

Bedingt durch die Dünnschicht und damit kurze Ansprechzeit läßt sich die Erhöhung der Fluoreszenzintensität rasch und sicher erkennen. Gleichzeitig läßt sich aufgrund des relativ einfachen Aufbaus des optochemischen Sensors ein hohes Maß an mechanischer Stabilität gewährleisten. Um eine hinreichend rasche Ansprechzeit zu gewährleisten und gleichzeitig auch ausgeprägte Erhöhung der Fluoreszenzintensität des Schichtsystems zu gewährleisten, wird mit Vorteil die Ausbildung so getroffen, daß die Dicke der immobilisierten biorekognitiven Schicht kleiner als 20 nm, insbesondere kleiner als 15 nm gewählt wird. Zur Erhöhung der Fluoreszenzausbeute soll die Dicke jedoch nicht unter 3 bis 5 nm betragen und es sind prinzipiell Schichtdicken von 5 bis 15 nm optimal realisierbar.

Um die erfindungsgemäß gewünschte hohe Absorption bei gleichzeitig guter Permeabilität bzw. Durchlässigkeit für die Diffusion des zu analysierenden Stoffes aufrecht zu erhalten, ist mit Vorteil die Ausbildung so getroffen, daß eine Inselschicht aus z. B. Gold oder Silber, eine Massendicke kleiner 20 nm, vorzugsweise weniger als 15 nm aufweist, wobei mit Vorteil für besonders hohe Empfindlichkeit die Inselschicht eine Absorption zwischen 40 und 60% für die jeweils verwendete Wellenlänge des Lichtes aufweist.

Erfindungsgemäß kann der Sensor des optochemischen Meßsystems in einfacher Weise so hergestellt werden, daß auf das Substrat der Inselfilm direkt langsam aufgedampft, aufgesputtert oder durch elektronenstrahlolithographische Verfahren hergestellt wird. Durch ein derartiges Aufdampfen lassen sich die erfindungsgemäß geforderten überaus geringen Massendicke und die Ausbildung voneinander getrennter Inseln sicherstellen, welche zu den charakteristischen spektralen Eigenschaften des Systems führen. Alternativ kann so vorgegangen werden, daß der Inselfilm durch Anlagerung von metallischen Partikeln bzw. Inseln an das Substrat erzeugt oder verändert wird, oder daß die Inseln durch Abtragen von überschüssigem Metall auf der Substratschicht erzeugt werden oder deren Zahl oder Größe verändert wird, wodurch die jeweils gewünschte Massendicke exakt eingestellt werden kann.

Um einen optochemischen Sensor aufzubauen, kann mit Vorteil die Herstellung so durchgeführt werden, daß an der Inselschicht direkt oder nach Aufbringen einer dünnen (kleiner 10 nm) Zwischenschicht oder Spacerschicht eine biorekognitive Schicht immobilisiert wird. Auf diese Weise kann bei einer biorekognitiven Bindung der Analyt in seiner Konzentration unmittelbar *in situ* erfaßt werden, wobei je Analytmolekül zumindest ein Molekül des fluoreszenzmarkierten Systems gebunden ist.

Mit Vorteil kann die Reaktion der biorekognitiven Schicht und des analytpezifischen fluoreszierenden Systems in einem Schritt am und über dem Sensor vorgenommen werden. Dabei ist es von Vorteil, für das analytpezifische fluoreszierende System zumindest einen Fluorophor aus der Gruppe der Fuchsine, Eryrosine, Rhodamine oder ähnliche Moleküle, welche mit einem biorekognitiven Molekül vernetzt sind, einzusetzen.

Es können jedoch auch anlayspezifische Systme aus zwei energetisch gekoppelten Fluorophoren mit guter Quantenausbeute eingesetzt werden, wobei die Quantenausbeute des primären Fluorophors durch den Energietransfer zum zweiten Fluorophor stark verringert wird. Der Energietransfer wird in unmittelbarer Nähe zur Inselschicht zu den Inseln umgeleitet; der erste Fluorophor zeigt dann eine starke Fluoreszenzemission. Der zweite Fluorophor kann auch durch ein anderes quenchendes, nicht fluoreszierendes Molekül ersetzt werden.

Weiters können jedoch auch Fluorophore mit hoher Quantenausbeute eingesetzt werden, wobei die Quantenausbeute je Fluorophor durch die Bildung von Molekülclustern durch strahlungslose Desaktivierung verringert wird. Diese strahlungslose Desaktivierung wird in unmittelbarer Nähe zur Inselschicht aufgehoben; der Fluorophor zeigt dann eine starke Fluoreszenzemission.

Wesentlich für die erfindungsgemäße Ausbildung ist somit, wie bereits eingangs erwähnt, die überaus dünne Struktur, bei welcher mit wesentlich größeren Ansprechgeschwindigkeiten und kürzeren Ansprechzeiten gerechnet werden kann. Für das charakteristische optische Verhalten ist die anormale Absorption von Inselfilmen, insbesondere eine Absorption im sichtbaren Bereich, wesentliche Voraussetzung, welche damit erklärt wird, daß die Elektronen in Teilchen mit nanometrischem Ausmaß begrenzt beweglich sind, im Gegensatz zu zusammenhängenden Metallschichten, wo metallische Reflexion beobachtet wird.

Prinzipiell kann mit verschiedenen Inselschichtdichten und verschiedenen Fluorophoren jeweils ein Optimum für die Erfassung der Analyten aufgefunden werden. In Versuchen konnte gezeigt werden, daß eine Oberflächenbelegung von z. B. 1/4000 mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern für eine optimale Empfindlichkeit des Systems notwendig und auch erreichbar ist.

Alle Veränderungen der Bindung von Fluorophoren können *in situ* und unmittelbar am Sensor zu einer optischen Anzeige ausgenutzt werden.

Neben mit bifunktionellen Agenzien immobilisierten biorekognitiven Systemen eignen sich auch fotoaktivierbare Agenzien zur Bindung der biorekognitiven Schicht an oder über der Inselschicht.

Schließlich lassen sich die Inseln auch durch Anlagerung von mikrokolloidalen metallischen Partikel erzeugen.

Neben dieser irreversiblen Verwendung des optischen Sensors sind naturgemäß auch optochemische Sensoren- bzw. Meßsysteme von Interesse, welche nach einmaliger Verwendung neuerlich verwendet werden können. Derartige optochemische Sensoren können reversible chemische oder biochemicale Bindungsreaktionen ausnutzen, wobei beispielsweise die Goldinselschicht durch eine semipermeable Membran überzogen ist, welche nur für kleine Analytmoleküle frei durchgängig ist.

Schließlich können mit einem in solcher Weise modifizierten Sensor beispielsweise Glucose, Laktat od. dgl., durch direkte Reaktion des Analyten und eines kompetitierenden fluoreszierenden Analytanalogs mit dem biorekogniven System gemessen werden.

Die Erfindung wird im folgenden anhand von schematischen Zeichnungen näher erläutert.

Es zeigen Fig. 1 ein erfindungsgemäßes Meßsystem in schematischer Darstellung sowie die Fig. 2 bis 4 Ausführungsvarianten des erfindungsgemäßen Meßsystems.

Fig. 1 zeigt einen optochemischen Fluoreszensensor mit einem Substrat 1 auf welchen eine Inselschicht 2, bestehend aus einer Vielzahl elektrisch leitender Inseln 3 aufgebracht ist. Die Inseln 3 bestehen vorzugsweise aus Gold oder Silber und weisen einen Durchmesser kleiner 300 nm auf und können beispielsweise durch Aufdampfen auf das Substrat hergestellt werden. Eine biorekognitive Schicht 4 kann entweder direkt auf die Inselschicht 2 aufgetragen oder wie in Fig. 1 gezeigt, über eine Spacerschicht 5 gebunden sein. Die biorekognitive Schicht kontaktiert entweder indirekt oder über eine analytpermeable Membran 6 (siehe Fig. 4) die Probe 7.

Neben dem Analyten 8 beinhaltet die Probe auch ein analytpezifisches fluoreszierendes System 9 des Meßsystems, welches der Probe 7 vor der eigentlichen Messung zugesetzt wird. In Fig. 1 besteht das analytpezifische fluoreszierende System 9 aus einem fluoreszenzmarkierten biorekognitiven Molekül, welches ursprünglich mit geringer Quantenausbeute, beispielsweise kleiner 30%, fluoresziert (siehe Pfeile 10). Das biorekognitive Molekül mit dem Fluorophor F₁ ist in der Lage, an den Analyten 8 anzukoppeln, welcher seinerseits durch die biorekognitive Schicht 4 auf der Inselschicht 2 gebunden werden kann. In der Nähe der Inselschicht 2, innerhalb einer Distanz d von ca. 15 nm (Bereich der Fluorophor/Insel-Kopplung) erhöht sich die Quantenausbeute des analytpezifischen fluoreszierenden Systems 9 stark. Die Erhöhung der Fluoreszenzstrahlung (siehe Pfeil 11) ist eine Funktion der Konzentration des Analyten 8. Mit der Distanz D wird die Eindringtiefe der evaneszenten Welle der Anregungsstrahlung 12 dargestellt.

Die Fig. 2 bis 4 zeigen im wesentlichen dieselbe Grundstruktur des Fluoreszensensors nach Fig. 1, wobei beispielsweise in Fig. 2 das analytpezifische fluoreszierende System 9 aus zwei gekoppelten Fluorophor F₁ und F₂ besteht. Die Quantenausbeute des ersten Fluorophors F₁ wird durch Energietransferprozesse zum zweiten Fluorophor F₂ gequenched. In der Nähe der Inselschicht 2 wird die Kopplung zwischen den zwei Fluorophoren aufgehoben sodaß die Intensität der Fluoreszenzstrahlung des Fluorophors F₁ stark ansteigt (siehe Pfeil 11). F₂ kann auch ein nicht fluoreszierendes Molekül sein, welches die Fluoreszenzstrahlung von F₁ quencht.

In Fig. 3 besteht das analytpezifische fluoreszierende System 9 aus einer Vielzahl von Fluorophoren F₁, welche eine räumliche Dichte aufweisen, die zu starker Eigenquenchung führt. Auch hier wird die Eigenquenchung innerhalb der Distanz d (Bereich der Fluorophor/Insel-Kopplung) aufgehoben, sodaß die Intensität der Fluoreszenzstrahlung ansteigt.

Schließlich zeigt Fig. 4 ein Beispiel, bei welchem das analytpezifische fluoreszierende System 9 aus einem fluoreszenzmarkierten Analytanalogen besteht, welches mit dem Analyten 8 eine kompetitive Bindung an der biorekognitiven Schicht 4 eingehen kann.

45

Patentansprüche

1. Optochemisches Meßsystem mit einem Fluoreszensensor mit einer biorekognitiven Schicht (4) zur Messung der Konzentration zumindest eines Analyten (8) in einer Probe, dadurch gekennzeichnet, daß der Sensor zumindest eine auf ein Substrat (1) aufgetragene Inselschicht (2) aufweist, deren Inseln (3) aus elektrisch leitendem Material bestehen und einen Durchmesser kleiner 300 nm aufweisen, wobei die biorekognitive Schicht (4) auf oder mittels einer Spacerschicht (5) an der Inselschicht (2) angeordnet ist, daß das Meßsystem ein der Probe zusetzbares analytpezifisches, fluoreszierendes System (9) umfaßt, dessen Quantenausbeute klein ist und sich in der Nähe der Inselschicht (2) stark erhöht, sowie daß die biorekognitive Schicht (4) den zu messenden Analyten (8) direkt oder mittels analytbindender Moleküle zu binden vermag.

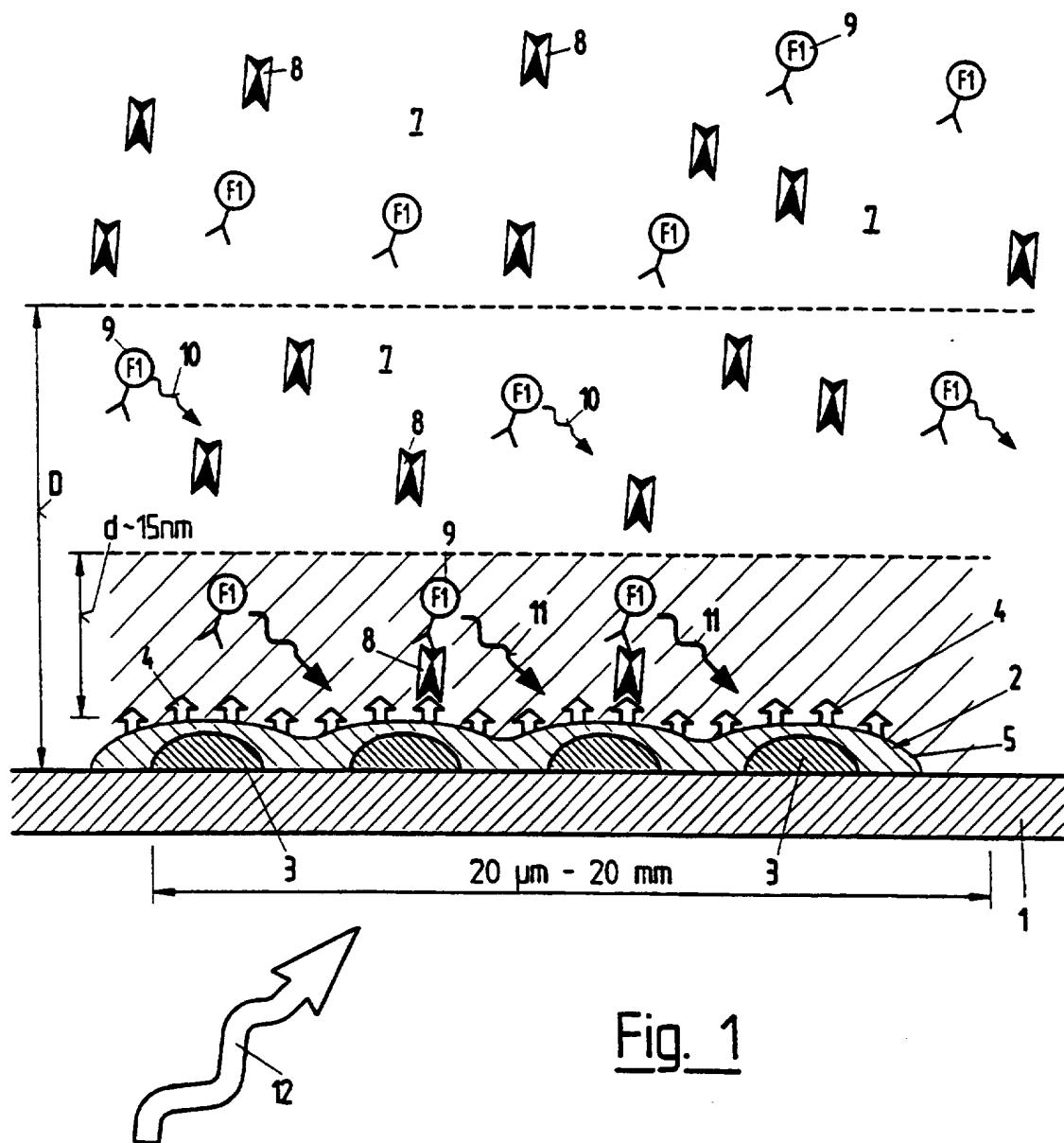
2. Meßsystem nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das analyt spezifische, fluoreszierende System (9) ein fluoreszenzmarkiertes biorekognitives Molekül ist, welches den Analyten (8) zu binden vermag.
- 5 3. Meßsystem nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das analyt spezifische fluoreszierende System (9) ein fluoreszenzmarkiertes Analytanalogon ist, welches die biorekognitive Schicht (4) zu binden vermag.
- 10 4. Meßsystem nach Anspruch 2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Fluorophor des analyt spezifischen fluoreszierenden Systems (9) eine Quantenausbeute kleiner 30% aufweist.
- 15 5. Meßsystem nach Anspruch 2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß das analyt spezifische fluoreszierende System (9) zwei gekoppelte Moleküle aufweist, von welchen zumindest eines ein Fluorophor ist, wobei die räumliche Nähe zum zweiten quenchenden Molekül die Quantenausbeute des Fluorophors verringert.
6. Meßsystem nach Anspruch 2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Moleküle des Fluorophors des analyt spezifischen fluoreszierenden Systems (9) eine räumliche Dichte aufweisen, welche zu starker Eigenquenchung führt.
- 20 7. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Inseln (3) der Inseleinheit (2) aus Gold oder Silber bestehen.
8. Meßsystem nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Inseln (3) einen Durchmesser kleiner 100 nm, vorzugsweise kleiner 60 nm aufweisen.
- 25 9. Meßsystem nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die biorekognitive Schicht (4) an oder über der Inseleinheit (2) aus Proteinen, Lipiden, Nukleinsäuren oder artifiziellen Liganden besteht.
- 30 10. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Inseleinheit (2) eine Dicke kleiner 25 nm, vorzugsweise kleiner 15 nm aufweist.
11. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß das analyt spezifische fluoreszierende System (9) zumindest einen Fluorophor aus der Gruppe der Fuchsine, Erytrosine oder Rhodamine aufweist.
- 35 12. Meßsystem nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Fluorophor ein Fluorescein ist.
13. Meßsystem nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Fluorophor ein Fluorescein oder ein Rhodamin ist.

Hiezu 4 Blatt Zeichnungen

45

50

55



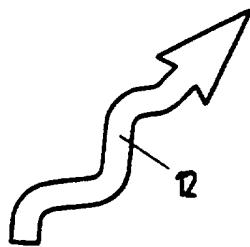
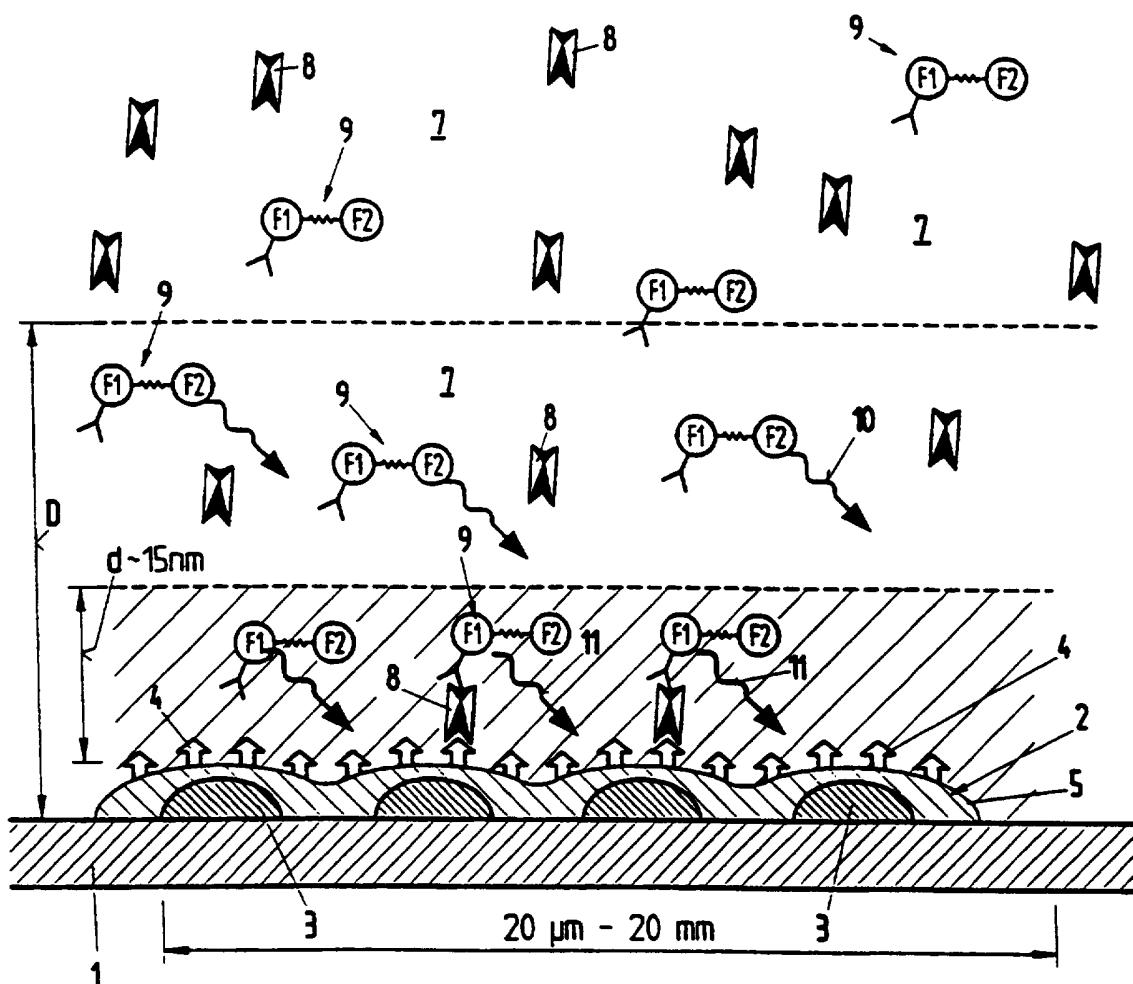


Fig. 2

