

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
19. Januar 2012 (19.01.2012)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2012/006995 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 21/64 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE201 1/075041

(22) Internationales Anmeldedatum:
10. März 2011 (10.03.2011)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2010 036 344.8 12. Juli 2010 (12.07.2010) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): NANOSPOT GMBH [DE/DE]; Johann-Krane-Weg 42, 48149 Münster (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÖSE, Guido [DE/DE]; Johann-Krane-Weg 42, 48149 Münster (DE).

(74) Anwalt: APLEY & STRAUBE PARTNERSCHAFT; Krögen 12, 22523 Hamburg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY,

BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

— hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, die Priorität einer früheren Anmeldung zu beanspruchen (Regel 4.17 Ziffer iii)

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MICROSTRUCTURED MEASURING CHIP FOR OPTICALLY MEASURING PROPERTIES OF ARTIFICIAL OR BIOLOGICAL MEMBRANES, AND METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF

(54) Bezeichnung : MIKRO STRUKTURIERTER MESSCHIP ZUR OPTISCHEN MESSUNG VON EIGENSCHAFTEN KÜNSTLICHER ODER BIOLOGISCHER MEMBRANEN UND VERFAHREN ZU DESSEN HERSTELLUNG

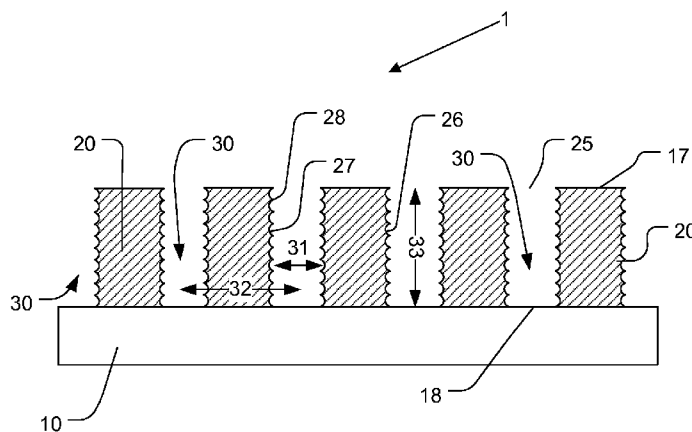


Fig. 1

(57) Abstract: The invention relates to a microstructured measuring chip (1) for optically measuring properties of artificial or biological membranes (40), comprising a lower translucent Substrate (10) and at least one non-translucent main layer (20) which lies on said Substrate and which has recesses (30) that are designed as measuring Chambers with an upper opening (25) and one or more inner lateral walls (26). The aim of the invention is to improve the measuring chip (1) such that biological Systems can be measured with greater measuring accuracy and higher throughput. This is achieved in that the lateral wall or the lateral walls (26) of the measuring Chambers (30) have recesses and/or elevations (28). The invention further relates to a support (20) for the measuring chip (1) and to a method for producing the measuring chip (1) from a Silicon wafer (300).

(57) Zusammenfassung:

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2012/006995 A1



Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz V)

Die Erfindung betrifft einen mikrostrukturierten Messchip (1) zur optischen Messung von Eigenschaften künstlicher oder biologischer Membranen (40) mit einer unteren, lichtdurchlässigen Trägerschicht (10) und mindestens einer darauf angeordneten lichtdurchlässigen Hauptschicht (20), welche als Messkammern ausgebildete Vertiefungen (30) mit einer oberen Öffnung (25) und einer oder mehrerer innerer Seitenwände (26) aufweist. Um Messchip (1) so zu verbessern, dass biologische Systeme mit höherer Messgenauigkeit und höherem Durchsatz gemessen werden können, wird vorgeschlagen, dass die Seitenwand oder die Seitenwände (26) der Messkammern (30) Vertiefungen und/oder Erhebungen (28) aufweisen. Die Erfindung betrifft weiterhin einen Halter (200) für die Messchips (1) sowie ein Verfahren zur Herstellung der Messchips (1) aus einem Silizium-Wafer (300).

Titel: Mikrostrukturierter Messchip zur optischen Messung von Eigenschaften künstlicher oder biologischer Membranen und Verfahren zu dessen Herstellung

5 Die Erfindung betrifft einen mikrostrukturierten Messchip zur optischen Messung von Eigenschaften künstlicher oder biologischer Membranen mit einer unteren, lichtdurchlässigen Trägerschicht und mindestens einer darauf angeordneten lichtundurchlässigen Hauptschicht, welche als Messkammern ausgebildete Vertiefungen mit einer oberen Öffnung und einer inneren Seitenwand oder
10 mehreren inneren Seitenwänden aufweist. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung des Messchips und einen Halter für diese Messchips.

Biologische Membranen separieren sowohl Zellen von einem äußeren Medium als auch einzelne Zellkompartimente innerhalb der Zellen. Membrantransportsysteme, wie z.B. Transportproteine, Kanalproteine, sekretorische Systeme und
15 Membranporen ermöglichen und steuern durch Veränderung der Membranpermeabilität selektiv den Stoffdurchlass durch diese Membranen. Rezeptoren dagegen vermitteln Signale, wie z.B. eine extrazelluläre Ligandenbindung, die intrazellulär zu sekundären Prozessen führt.

Funktionsstörungen der Transporter und Kanäle sind für zahlreiche, verbreitete
20 Krankheiten verantwortlich. Unter den 100 am meisten verkauften Arzneimitteln in den USA im Jahre 2004 waren am häufigsten die, deren pharmakologischer Wirkungsmechanismus auf Membrantransportsystemen beruht. Es sind mindestens 1.302 derartige Arzneimittel in den Portfolios von 326 Firmen weltweit vorhanden, und zwar sowohl eingeführte als auch noch in der Entwicklung sich
25 befindende. Insgesamt werden zurzeit mehr als 100 Membrantransportsysteme bei den Pharmafirmen erforscht, was zeigt, welche große wirtschaftliche Bedeutung diese haben.

Für die Entwicklung neuer Wirkstoffe werden Verfahren und Vorrichtungen benötigt, mit denen Eigenschaften wie die Transportraten von spezifischen
30 Substratmolekülen durch Membrantransportsysteme und der Einfluss von Wirkstoffkandidaten evaluiert werden können. Hierbei müssen

Membrantransportsysteme automatisiert im Hochdurchsatz charakterisiert werden, um so das Auffinden eines Wirkstoffkandidaten durch statistisch signifikanten Nachweis einer Änderung der Transportrate eines vorgegebenen Transportsubstrates durch das Target-Protein zu ermöglichen.

- 5 Die Membranpermeabilität ist beispielsweise entscheidend für die Verfügbarkeit von Wirkstoffen in Zellen, aber auch im Gehirn, da hierfür die Blut-Hirn-Schranke durchdrungen werden muss. In der Wirkstoffentwicklung ist die Verfügbarkeit am Zielort somit eine entscheidende Eigenschaft potentieller Wirkstoffe.

Eine effektive zelluläre Sekretion ist dagegen entscheidend für die Produktion von biopharmazeutischen Produkten wie Antikörpern, Proteinen und dergleichen
10 mittels Kulturen von produzierenden eukaryotischen und prokaryotischen Zellen, wie z.B. Säugerzellen, Ciliaten, Hefen und Bakterien. Da in solchen Kulturen trotz angestrebter Monoklonalität eine Divergenz der Produktionsraten der einzelnen Zellen auftritt, sind das Auffinden und die Selektion von hochproduzierenden
15 Zellen entscheidend für die Produktionsrate der Kultur. Der globale Markt für biopharmazeutische Produkte wird für 2010 auf 70 Milliarden Dollar geschätzt.

Membranrezeptoren spielen eine zentrale Rolle bei der Entstehung vieler volkswirtschaftlich bedeutender Krankheiten wie z.B. Allergien, neurologischen
Erkrankungen, Depressionen, Schmerzen, Entzündungen, Diabetes, Epilepsie,
20 Bluthochdruck oder Asthma. Unter den Membranrezeptoren ergab sich in 2002 alleine schon für die Untergruppe der Proteinkinasen ein Marktanteil von 12,7 Mrd. \$ und einem prognostizierten Anstieg auf 58,6 Mrd. \$ im Jahr 2010 (Biophoenix Consulting).

Rezeptorproteine wie G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (abgekürzt GPCR)
25 besitzen extrazelluläre Bereiche für die Ligandenbindung, transmembrane Bereiche und intrazelluläre Domänen, die der Weitervermittlung des Signals an zelluläre Signalkaskaden dienen. Für die Charakterisierung der Rezeptoraktivierung wird eine Detektion des Signals, also der Konformationsänderung der intrazellulären Domäne oder die Bildung der darauf
30 folgenden Komponenten der Signalkaskade benötigt.

Für die Analyse von Transportraten von Ionen und geladenen Teilchen wiederum können elektrische Messungen eingesetzt werden. Dieses Verfahren findet bereits eine Anwendung im höheren Durchsatz in der biotechnologischen und pharmazeutischen Forschung. Es ist jedoch auf Ionen beschränkt und wird daher
5 nur für die Gruppe der Ionenkanäle eingesetzt. Der Transport von Molekülen wie Aminosäuren, Peptiden, Zuckerverbindungen und Fettsäuren, aber auch biologischen Makromolekülen wie RNA, DNA und Proteinen kann nicht oder nur indirekt mit elektrischen Verfahren gemessen werden.

Für die Messung des Transports dieser Moleküle ist dagegen die
10 Fluoreszenzanalyse sehr gut geeignet. Erste Vorarbeiten dazu wurden von einer akademischen Gruppe für den Transport von Biomolekülen durch den Kernporenkomplex in Kernhüllen aus *Xenopus Laevis* durchgeführt. Es wurde auch für die Messung des Transports von Calcium-Ionen durch die α -Hämolyse-Pore angewendet, welche direkt in vorgefertigte, künstliche Lipidmembranen
15 inseriert wurde und sich dabei aus einer denaturierten Struktur in eine funktionale Form rückfaltet. In den Veröffentlichungen wurden dazu lichtdurchlässige Polycarbonatfilter oder Polycarbonatstrukturen eingesetzt, deren Vertiefungen für die Fluoreszenzmessung von Transportraten mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie genutzt wurden. Dies bedingt schlechte optische Eigenschaften, u.a.
20 auf Grund von Divergenzen in den Brechungsindices von Polycarbonat und Messpuffer.

Es sind weitere Messchips mit Messkammern in lichtdurchlässigem Material bekannt, deren Vertiefungen durch eine obere Membran oder Zellen oder Gewebe abdeckbar sind und so geschlossene Messkammern gebildet werden und der
25 Transport von Substratmolekülen über die Membran oder die Sekretion aus Zellen in die Messkammern gemessen werden kann. Dazu werden die Membran oder die Zellen über die Messkammern im Messchip aufgespannt, so dass diese verschlossen und abgedichtet werden. Der Messchip ist für die Analyse der Permeabilität durch künstliche oder biologische Membranen oder Zellen geeignet.
30 Durch optische Messungen wie Fluoreszenzmessungen können Substratmoleküle in den Messkammern nachgewiesen und quantifiziert werden. Dabei sollten

möglichst wenige Substratmoleküle außerhalb der Messkammern zur Fluoreszenz angeregt werden, um das Messergebnis nicht zu verfälschen.

Aus der Patentanmeldung US 2003/01 74992 A 1 ist ein nanostrukturierter Messchip für die Fluoreszenzanalyse biochemischer Vorgänge mit einem
5 lichtdurchlässigen Träger und einer darüber liegenden lichtundurchlässigen Metallschicht bekannt. Die Metallschicht enthält eine Messkammer mit viel geringerem Durchmesser als die Wellenlänge des von unten eingestrahlteten Anregungslichts und wirkt dadurch als sogenannter Zero-Mode Waveguide. Das Anregungslicht dringt also nicht in die Vertiefungen ein, wobei aber ein Teil der
10 Lichtenergie in die Messkammern gelangt. Oberhalb der Messkammern werden keine Substratmoleküle angeregt. Ein derartiger Messchip hat jedoch zahlreiche Nachteile. So ist das Volumen der Messkammer mit wenigen Zeptolitern aufgrund ihrer geringen Dimensionen sehr klein, so dass diese nicht für Transportvorgänge genutzt werden können. Zudem kann nur der untere Bereich der Messkammer
15 genutzt werden, da nur dort eine Anregung erfolgt. Dadurch ist das Signal-Rauschverhältnis der Messungen sehr schlecht und es wird eine aufwändige Messvorrichtung benötigt.

Aufgabe der Erfindung ist es, den einen Messchip bereitzustellen, mit dem die Eigenschaften von Membranen oder Transportsystemen mittels kommerziell
20 erhältlichen, üblichen Messvorrichtungen mit höherer Messgenauigkeit und höherem Durchsatz gemessen werden können.

Diese Aufgabe wird durch einen mikrostrukturierten Messchip mit einer unteren, lichtdurchlässigen Trägerschicht und mindestens einer darauf angeordneten, im Wesentlichen lichtundurchlässigen Hauptschicht, welche als Messkammern
25 ausgebildete Vertiefungen mit einer oberen Öffnung und einer inneren Seitenwand oder mehreren inneren Seitenwänden aufweist, dadurch gelöst, dass die Seitenwand oder die Seitenwände der Messkammern Vertiefungen und/oder Erhebungen aufweisen. Hierdurch kann das Anregungslicht von unten in die Messkammern mit Dimensionen über der Lichtwellenlänge zwar eindringen und
30 ein hohes Fluoreszenzsignal erzeugen, aber es gelangt nur stark abgeschwächt bis zur oberen Öffnung. Unter einer im Wesentlichen lichtdurchlässigen Schicht ist

im Sinne der Erfindung zu verstehen, dass die Schicht für Licht überwiegend durchlässig ist. Unter einer lichtundurchlässigen Schicht ist zu verstehen, dass diese für Licht durch Absorption oder Reflektion überwiegend oder vollständig undurchlässig ist. Unter Licht wird vorwiegend der sichtbare Bereich der

5 elektromagnetischen Strahlung von etwa 400 bis 700 nm verstanden; der Begriff ist hierauf aber nicht beschränkt, sondern kann auch die angrenzenden Bereiche der ultravioletten oder infraroten Strahlung umfassen. Für die optischen Messungen können übliche Fluoreszenzmikroskope mit dem nicht-kohärentem Licht einer Fluoreszenzlampe, aber auch Laser-Scanning-Mikroskope verwendet

10 werden. Die Messung erfolgt von unten durch die lichtdurchlässige Trägerschicht des Messchips. Deshalb ist diese für das Anregungslicht einer Fluoreszenzlampe durchlässig. Durch das Anregungslicht werden beispielsweise geeignete Substratmoleküle zur Fluoreszenz in der Messkammer bzw. den Messkammern angeregt. Diese Fluoreszenz wird dann mittels einer geeigneten Kamera, die in

15 die Optik des Fluoreszenzmikroskops eingekoppelt ist, gemessen und anschließend ausgewertet. Die mit dem Messchip erreichbare Messgenauigkeit hängt nun in erheblichem Maße davon ab, inwieweit Emissionslicht gemessen wird, das ausschließlich durch Fluoreszenzanregung innerhalb der Messkammer erzeugt wird. Werden nämlich zusätzlich Emissionen gemessen, die außerhalb

20 der Messkammer erzeugt werden, so sind dies Störemissionen, die das Messergebnis verschlechtern oder verfälschen. Beispielsweise können Substratmoleküle in der Membran oder der Messflüssigkeit oberhalb der Messkammern angeregt werden. Um diese Störemissionen zu vermindern, sind die Seitenwand oder die Seitenwände der Messkammern nicht glatt, sondern

25 weisen erfindungsgemäß Vertiefungen und/oder Erhebungen auf. Glatte spiegelnde Seitenflächen würden die Störemissionen von oberhalb der Messkammern weiter bis zur Kamera reflektieren, während die Vertiefungen und Erhebungen die Störemissionen streuen und somit eine Ausbreitung innerhalb der Messkammern minimieren. Außerdem wird eine Ausbreitung des

30 Anregungslichtes aus den Messkammern heraus in die darüber liegende Membran oder Messflüssigkeit vermindert. Insgesamt wird eine unerwünschte optische Detektion der Emissionen von Substratmolekülen innerhalb und oberhalb

der Membran minimiert und eine überwiegende Detektion der Emissionen von Substratmolekülen innerhalb der Messkammern erzielt. Dies ist auch mit herkömmlicher Fluoreszenzmikroskopie möglich.

Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen angegeben und
5 werden nachfolgend erläutert.

Eine weitere Verbesserung der Messgenauigkeit ist erreichbar, wenn die Vertiefungen und Erhebungen alternieren, also rinnenartig ausgebildet sind und die Rinnen in Richtung der Längsachse der Messkammern eine gewellte Oberflächenstruktur der Seitenwand oder der Seitenwände bilden.

10 In einer bevorzugten Ausführungsform weisen die alternierenden Vertiefungen bzw. Erhebungen bzw. Rinnen zueinander jeweils einen periodischen Abstand von 0,1 bis 0,6 μm auf. Der Abstand kann aber auch einige Nanometer bis mehrere Mikrometer betragen. Die Tiefe der Rinnen, d.h. der Abstand zwischen dem höchsten Punkt der Erhebungen und dem niedrigsten Punkt der Vertiefungen
15 beträgt 20 bis 110 nm, kann aber auch bis zu einigen Mikrometern betragen.

In einer bevorzugten Ausführungsform weisen die Messkammern jeweils die Grundform eines Kreiszyinders oder eines Kegelstumpfes auf. Da die Messkammern durch Vertiefungen in der Hauptschicht gebildet werden, weisen sie selbst keine äußere Form auf. Im Sinne der Erfindung ist unter der Grundform
20 der Messkammern deshalb deren Hohlvolumen zu verstehen, dass durch die Hauptschicht umgrenzt wird. In diesem Sinne wird die Seitenwand einer Messkammer durch die Mantelfläche eines Kreiszyinders oder eines Kegelstumpfes gebildet. Bei beiden Ausführungsformen umlaufen die die Rinnen bildenden Vertiefungen und Erhebungen die Seitenwand, d.h. sowohl die
25 Messkammern als auch die Rinnen sind im Schnitt senkrecht zur Längsachse der Messkammern annähernd kreisförmig. Eine solche gewellte Oberflächenstruktur kann durch das reaktive Silizium-Ionen-Tiefenätzen (DRIE, Bosch-Prozess) zur Tiefenätzung von Silizium erreicht werden. Dieses beinhaltet eine alternierende Folge von Ätzprozess und Passivierungsschritt und erzeugt dabei eine solche
30 Wellen- bzw. Kammstruktur der Seitenwände senkrecht zur Ätzrichtung. Form und

Abstände der Rinnen variiert je nach Prozesseinstellungen und Ätztiefe. Die Rinnen in den Seitenwänden aus undurchsichtigem, eher spiegelndem Material erzeugen eine Streuung sowohl des eingestrahltten Anregungslichtes als auch des Emissionslichtes in den Messkammern, während glatte Seitenwände eher eine Spiegelung von Licht längs durch die Messkammern und somit eine Weiterleitung wie in einem Lichtleiter ermöglichen würden. Hierdurch wird von der Unterseite des Messchips eingestrahlttes Anregungslicht von einem Austritt aus der oberen Öffnung der Messkammer besser abgeschirmt. Ebenso werden Störemissionen oberhalb der Messkammern besser von einem Durchtritt aus dem Boden der Messkammern bis zur Kamera abgeschirmt und die Messgenauigkeit insgesamt weiter verbessert.

Die untere, lichtdurchlässige Trägerschicht besteht z.B. aus Kunststoff oder aus Glas. Es hat sich gezeigt, dass insbesondere Borosilikatglas geeignet ist, welches nach dem Floatverfahren oder als polierter Wafer hergestellt ist.

Die lichtundurchlässige, mikrostrukturierte Hauptschicht mit den als Messkammern dienenden Vertiefungen weist Metall, Kunststoff oder Silizium auf. Der Begriff Silizium umfasst auch Siliziumverbindungen. Silizium hat den Vorteil, dass bei der Verarbeitung, also der Herstellung der Vertiefungen, zum Teil bekannte Verfahren aus dem Bereich elektronischer Mikrochips verwendet werden können.

Auf der Hauptschicht kann eine Deckschicht, vorzugsweise aus Siliziumdioxid und/oder Metall, angeordnet sein. Die Deckschicht weist dann Öffnungen auf, die über den Öffnungen der Messkammern angeordnet sind. Vorzugsweise ist jeweils eine Öffnung in der Deckschicht über der Öffnung einer Messkammer angeordnet. Die Apertur der Öffnungen der Deckschicht ist dabei kleiner als die Apertur der Öffnungen der Messkammern. Hierdurch werden durch die Deckschicht Blenden gebildet, die von der Unterseite des Messchips eingestrahlttes Anregungslicht beim Austritt aus der oberen Öffnung der Messkammer zum Teil abschirmen können. Ebenso werden Störemissionen oberhalb der Deckschicht abgeschirmt. Hierdurch wird die Messgenauigkeit weiter verbessert. Ein weiterer Vorteil liegt darin, dass die Ausführungsform des Messchips für biologische Membranen mit einer biologisch vorgegebenen Transporterdichte geeignet ist. Da sich die Zahl der

Transport-Proteine pro Fläche bei biologischen Membranen nicht ohne Weiteres verändern lässt, kann bei unverändertem Messkammervolumen die Apertur der Deckschichtöffnung so gewählt und optimiert werden, dass vorzugsweise nur ein oder nur wenige Transport-Proteine über der Deckschichtöffnung liegen. Dieses ermöglicht genauere Messungen mit einer verlängerten Messdauer.

Die Oberfläche des Messchips kann eine oder mehrere chemisch reaktive und/oder polare Beschichtungen insbesondere Poly-L-Lysin und/oder Propionsäure und/oder Carboxylgruppen und/oder Lipidderivate und/oder aminoreaktive Linkermoleküle aufweisen, um künstliche oder natürliche Membranendirekt oder indirekt, kovalent oder nichtkovalent an den Messchip zu binden.

Die Seitenwand oder die Seitenwände der Messkammern und/oder die der Trägerschicht aufliegende Unterseite der Hauptschicht und/oder die den Messkammern zugewandte Unterseite der Deckschicht und/oder die Oberseite der Hauptschicht können zusätzlich jeweils eine lichtundurchlässige Beschichtung aufweisen, vorzugsweise aus Metall, insbesondere aus Gold oder Titan. Dies erfolgt vorzugsweise mittels bekannter PVD-Verfahren (Abkürzung für „physical vapour deposition“). Die Beschichtung hat mehrere Vorteile. Sofern eine Restlichtdurchlässigkeit der Hauptschicht besteht, wird diese durch die Beschichtung vermieden. So ist Silizium für Wellenlängen des sichtbaren Lichts bis 600 nm im Wesentlichen undurchsichtig. Für tiefrotes und infrarotes Licht wird Silizium zunehmend durchlässiger. Dieses wäre dann störend, wenn das Anregungslicht oder Störemissionen in diesem Wellenlängenbereich liegen. Die zusätzliche lichtundurchlässige Beschichtung verbessert in diesen Fällen die Messgenauigkeit. Ein weiterer Vorteil ist, dass bei einer Beschichtung aus Gold diese kontaktiert und für elektrische Messungen oder Anregungen als Elektrode genutzt werden kann. Noch ein weiterer Vorteil ergibt sich in Kombination mit der oben genannten chemisch reaktiven oder polaren Beschichtung. An eine Beschichtung aus Gold an der Seitenwand der Messkammern können standardisiert Thiolverbindungen wie β -Mercaptoethanol oder Mercaptopropionsäure, aber auch Komponenten eines Detektionssystems der

Rezeptoraktivierung koppeln. Die Schicht aus Silizium oder Siliziumoxid bindet diese nicht und kann dadurch selektiv durch eine Silanisierung modifiziert werden. Dadurch wird eine unterschiedliche Modifikation der Messkammern und der Oberseite des Messchips ermöglicht, was für bestimmte Messaufgaben vorteilhaft ist.

Dadurch dass das Verhältnis von Tiefe zu Durchmesser der Messkammern größer als eins, vorzugsweise größer als fünf und besonders bevorzugt zehn bis fünfzig ist, kann sich nur im Wesentlichen der geringe Anteil des parallel zur Seitenwand der Messkammer eingestrahlt Anregungslichtes durch die obere Öffnung der Messkammer ausbreiten. Der Anteil des nicht parallel zur Seitenwand eingestrahlt Anregungslichts wird dagegen auf dem Weg durch die Messkammer an der Seitenwand gestreut oder absorbiert, regt aber im unteren Bereich der Messkammern die Fluoreszenz an. Dieser Effekt wird durch einen nach oben hin verkleinerten Durchmesser der Messkammer verstärkt. Dadurch wird die Messgenauigkeit zusätzlich verbessert.

Die Erfindung umfasst weiterhin einen Halter für den oben beschriebenen mikrostrukturierten Messchip. Der Halter umfasst eine Platte mit einer Oberseite, einer Unterseite und einem oder mehreren von der Oberseite mit Flüssigkeit befüllbaren Reservoir. Der Halter hat eine beispielsweise ähnliche quaderförmige Form wie handelsübliche Mikrotiterplatten und kann auch in ähnlicher Weise verwendet werden. In einer bevorzugten Ausführungsform hat er hinsichtlich Breite, Länge und/oder Höhe genormte Maße, die die ANSI Standards für Mikrotiterplatten oder Deckgläser erfüllen. Im Unterschied zu handelsüblichen Mikrotiterplatten sind die Reservoirs jedoch durchgehende Kanäle, d.h. sie weisen zunächst keinen Boden sondern eine untere Öffnung auf. Der Boden eines Reservoirs wird vielmehr erst durch einen an der Unterseite der Platte befestigten Messchip gebildet. Alle Messchips des Halters können auch erst auf einen dünnen Glasträger in Haltergröße geklebt werden und dann von unten in den Reservoirs versenkt werden, so dass der Glasträger unter den Halter geklebt wird.

Die Befestigung kann durch einen wasserfesten und -dichten Klebstoff erfolgen und zwar derart, dass die Messkammern in Richtung der Reservoir weisen. Beim

Befüllen der Reservoir mit Messflüssigkeit werden also auch die Messkammern des Messchips befüllt. Vorzugsweise wird der Chip mit einem UV-härtenden Kleber oder einem Klebefilm unter die untere Öffnung eines Reservoirs geklebt, wobei der Kleber nach einer Justierung durch Bestrahlung mit UV-Licht
5 ausgehärtet wird. Alternativ hat sich bei Verwendung eines zusätzlichen Glasträgers ein Silikonkleber, vorzugsweise Sylguard 184, zum Aufkleben der Messchips auf den Glasträger als geeignet erwiesen. Die Reservoirs bilden auf diese Weise für die mikrostrukturierten Messchips ein Behältnis für eine geeignete Messflüssigkeit. Die optische Messung erfolgt von der Unterseite des Halters
10 durch die lichtdurchlässige Trägerschicht der Messchips bzw. zusätzlich durch Glasträger und Kleber wie oben beschrieben.

Die Erfindung umfasst außerdem ein Verfahren zur Herstellung mikrostrukturierter Messchips, insbesondere mit den oben beschriebenen Merkmalen. Hierbei wird als Ausgangsmaterial bzw. als Substrat ein Silizium-Wafer verwendet, wie er in
15 der Mikroelektronik zur Produktion integrierter Schaltkreise benutzt wird. Der Vorteil ist, dass bekannte Verfahren zur Mikrostrukturierung wie etwa Photolithographie und Ätzen angewandt werden können.

Besonders geeignet ist ein „Silicon on Insulator-Wafer“ oder abgekürzt „SOI-Wafer“. Diese SOI-Wafer sind nach dem Stand der Technik bekannt und bestehen
20 aus drei Schichten: Eine untere Siliziumschicht, eine obere Siliziumschicht und eine dazwischen angeordnete, sogenannte begrabene Schicht (der englische Fachbegriff ist „buried layer“), die elektrisch isolierende Eigenschaften hat. Diese besteht beispielsweise aus Siliziumdioxid oder Siliziumnitrid. Elektrische Bauteile, die aus einem SOI-Wafer hergestellt sind, beispielsweise integrierte Schaltkreise,
25 haben kürzere Schaltzeiten und geringere Leistungsaufnahmen, weil durch die begrabene Schicht Leckströme vermindert werden.

Es hat sich überraschenderweise gezeigt, dass die Verwendung eines SOI-Wafers, insbesondere mit einer begrabenen Schicht aus Siliziumdioxid, Vorteile bei der Herstellung mikrostrukturierter Messchips hat.

30 Das Herstellungsverfahren umfasst im Einzelnen folgende Schritte:

Die Messkammern werden in die obere Siliziumschicht bis zur begrabenen Schicht des Silizium-Wafers geätzt. Mit Vorteil stoppt die begrabene Schicht dabei den Ätzprozess, wenn ein Ätzmittel verwendet wird, dass selektiv nur Silizium angreift und auflöst. Als Ätzmittel kann eine Säure oder ein Gas, vorzugsweise im
5 DRIE-Verfahren (Deep Reactive Ion Etching), verwendet werden.

Wenn es gewünscht wird, wird danach eine zusätzliche lichtundurchlässige Beschichtung, wie etwa Titan und/oder Gold, auf die obere Silizium-Schicht aufgebracht.

Die obere Siliziumschicht des Silizium-Wafers mit den eingeätzten Messkammern
10 wird dann mit der Trägerschicht, vorzugsweise durch anodisches Bonden, verbunden, wobei die vorherige Öffnung der Messkammer mit der Trägerschicht als Boden zu ihrer Unterseite wird.

Danach wird die untere Siliziumschicht des Silizium-Wafers entfernt, vorzugsweise durch Ätzen. Mit Vorteil stoppt auch bei diesem Verfahrensschritt die begrabene
15 Schicht den Ätzprozess, wenn ein Ätzmittel verwendet wird, dass selektiv nur Silizium angreift und auflöst.

Dann wird die begrabene Schicht vollständig oder teilweise entfernt, vorzugsweise durch Ätzen, wobei ein spezielles Ätzmittel verwendet wird, dass die begrabene Schicht angreift und auflöst, beispielsweise Flusssäure. Bei einer teilweisen
20 Entfernung wird die begrabene Schicht selektiv an den Stellen, an denen sie die Messkammeröffnungen bedeckt, photolithographisch strukturiert. Die begrabene Schicht bildet dann die Deckschicht mit den Deckschichtöffnungen des Messchips.

Zum Schluss werden die einzelnen, mikrostrukturierten Messchips aus dem Silizium-Wafer gesägt, insbesondere in Größen von 2 mal 2 mm bis 10 mal 10
25 mm. Eine besonders bevorzugte Größe ist 2,5 mal 2,5 mm. Die Messchips können einzeln verwendet oder insbesondere an den oben beschriebenen Halter geklebt werden.

Die Erfindung wird unter Bezugnahme auf eine Zeichnung beispielhaft beschrieben, wobei weitere vorteilhafte Einzelheiten den Figuren der Zeichnung zu entnehmen sind.

Funktionsmäßig gleiche Teile sind dabei mit denselben Bezugszeichen versehen.

5 Die Figuren der Zeichnung zeigen im Einzelnen:

Figur 1 einen Vertikalschnitt durch den Messchip in einer Teilansicht;

Figur 2 eine Detailansicht einer Messkammer einer anderen Ausführungsform des Messchips im Vertikalschnitt;

Figur 3 den Messchip aus Figur 1 mit einer Lipidmembran;

10 Figur 4 einen Vertikalschnitt durch eine andere Ausführungsform des Messchips mit einer Deckschicht in einer Teilansicht;

Figur 5 eine Detailansicht einer Messkammer mit Deckschicht und einer Beschichtung;

15 Figur 6 einen Vertikalschnitt durch eine weitere Ausführungsform des Messchips mit kegelstumpfförmigen Messkammern in einer Teilansicht;

Figur 7 eine Draufsicht des Messchips in einer Teilansicht;

Figur 8a einen Vertikalschnitt durch einen Halter;

Figur 8b eine Draufsicht des Halters aus Figur 8a;

20 Figur 9 einen Vertikalschnitt durch eine andere Ausführungsform des Halters;

Figur 10 einen Vertikalschnitt durch einen bekannten SOI-Wafer in einer Teilansicht;

- Figur 11 einen Vertikalschnitt durch einen SOI-Wafer wie in Figur 10 mit eingeätzten Messkammern;
- Figur 12 einen Vertikalschnitt durch einen SOI-Wafer wie in Figur 11 mit einer oberen, verbundenen Trägerschicht;
- 5 Figur 13 einen Vertikalschnitt durch einen SOI-Wafer wie in Figur 12 nach Entfernung der unteren Siliziumschicht;
- Figur 14 einen Vertikalschnitt durch einen SOI-Wafer wie in Figur 13 nach dem Umdrehen; und
- Figur 15 einen Vertikalschnitt durch einen SOI-Wafer wie in Figur 14 nach der
10 teilweisen Entfernung der verborgenen Schicht.

Figur 1 zeigt eine Teilansicht eines erfindungsgemäßen Messchips 1 im Vertikalschnitt. In einer (nicht gezeigten) Draufsicht ist er quadratisch und weist eine Gesamtfläche von 2,5 mal 2,5 Millimetern, also 6,25 Quadratmillimetern auf.

15 Der Messchip 1 besteht aus miteinander verbundenen Schichten bzw. Materialien. Als Basis weist er eine untere, lichtdurchlässige Trägerschicht 10 aus gefloatetem oder poliertem Borosilicatglas auf. Bewährt haben sich „Borofloat 30“ oder „Pyrex“. Die Dicke der Trägerschicht 10 liegt bei etwa 140-200 μm , obwohl sie auch dicker oder dünner sein kann. Die Trägerschicht 10 ist für Anregungslicht 80 oder

20 emittiertes Fluoreszenzlicht 81 durchlässig. Auf der Trägerschicht 10 ist eine im Wesentlichen lichtundurchlässige Hauptschicht 20 aus Silizium angeordnet, die die Oberseite 17 des Messchips 1 bildet. Es sei der Vollständigkeit halber angemerkt, dass die Hauptschicht 20 aus Silizium äußerlich an der Luft oxidiert und sich so eine oberflächliche, allerdings nur nanometerdicke

25 Siliziumdioxidschicht ausbildet.

Die Hauptschicht 20 ist durch anodisches Bonden mit der Trägerschicht 10 fest verbunden. Die Hauptschicht 20 weist kreiszylindrische, durchgehende Vertiefungen auf. Die Vertiefungen bilden also Messkammern 30 mit einem

kreisförmigen Hohlraum. Die eine, innere Seitenwand 26 der Messkammern 30 wird also gewissermaßen durch die Mantelfläche des Kreiszylinders gebildet und die kreisförmige, obere Öffnung 25 durch seine Deckfläche. Da die Hauptschicht 20 durchgehende Vertiefungen aufweist, wird der Boden 18 jeder Messkammer 30 von der Oberseite bzw. Oberfläche der lichtdurchlässigen Trägerschicht 10 gebildet. Die Messkammern 30 haben eine Tiefe 33 von 10 bis 30 μm , es sind aber auch Tiefen von einigen Nanometern bis Millimetern möglich. Der Durchmesser 31 der Messkammern 30 beträgt etwa 1 μm , es sind aber auch Durchmesser 31 von einigen Nanometern bis zu einem Millimeter möglich. Der Abstand 32 zwischen den Längsachsen der einzelnen Messkammern 30 beträgt 2,5 μm bis 4 μm ; es sind aber auch Abstände 32 von einigen Nanometern bis zu einem Millimeter möglich. Die Seitenwand 26 jeder Messkammer 30 ist nicht glatt, sondern weist alternierende Vertiefungen 27 und Erhebungen 28 auf, die eine gewellte bzw. geriffelte Oberflächenstruktur bilden. Die Periode der Wellen liegt in der Größenordnung von 100 - 600 nm, kann aber auch wenige Nanometer bis einige Mikrometer betragen.

Figur 2 zeigt eine Detailansicht einer Messkammer einer anderen Ausführungsform des Messchips 1 im Vertikalschnitt. Bei dieser Ausführungsform beträgt das Verhältnis von Tiefe 22 zu Durchmesser 31 der Messkammern 30 etwa 1 zu 10. Hierdurch kann sich nur im Wesentlichen parallel zur Messkammerseitenwand 26 eingestrahlt Anregungslicht 80 durch die Öffnung der Messkammer ausbreiten. Die Seitenwände 26 der Messkammern 30 weisen teilweise eine gewellte Oberflächenstruktur auf, die durch in Richtung der Mittelachse der Messkammern 30 sich wiederholende Rinnen 27, 28 gebildet wird. Glatte, spiegelnde Seitenflächen würden in die Messkammern 30 eingestrahlt Licht weiter nach oben reflektieren. Durch die gewellte Oberflächenstruktur wird dagegen eine unerwünschte Ausbreitung von Anregungslicht 80 oder von Störemissionen 82 (nicht gezeigt, siehe Figur 3) innerhalb der Messkammern 30 oder aus den Messkammern 30 heraus vermindert (dies ist deshalb unerwünscht, weil nur Substratmoleküle 60 innerhalb der Messkammern 30 angeregt und detektiert werden sollen). Verdeutlicht wird dieser Effekt durch das gerade von unten eingestrahlt, nicht kohärente Bündel aus Anregungslicht 80 einer (nicht

gezeigten) Fluoreszenzlampe, welches von den Vertiefungen 27 und Erhebungen 28 gestreut bzw. abgelenkt wird. Hierdurch wird eine Ausbreitung von Anregungslicht 80 durch die Messkammern 30 in eine darüber liegende Membran und Messflüssigkeit (nicht gezeigt, siehe Figur 3)) erheblich vermindert.

5 Figur 3 zeigt einen Ausschnitt eines Messchips wie in Figur 1. Zusätzlich ist eine Lipidmembran 40 gezeigt, die bei Messungen mit dem Messchip 1 verwendet wird. Die Lipidmembran 40 ist auf die Oberseite 17 des Messchips 1 aufgebracht, so dass zumindest einige der Messkammeröffnungen 25 durch die Lipidmembran abgedeckt und verschlossen werden. Die Membran 40 ist aus künstlichen Proteo-
10 Liposomen hergestellt worden, welche bei Zugabe spontan mit der Chipoberfläche fusionieren und so die Membran 40 ausbilden können. Die Membran 40 enthält für Transporter-Analysen einzelne Transport-Proteine 50, beispielsweise Kanalproteine. Oberhalb der Membran 40 werden optisch detektierbare Substratmoleküle 60 zugegeben, die entweder intrinsisch fluoreszieren oder mit
15 einem Fluoreszenzfarbstoff kovalent markiert sind. Der Transport 70 der Substratmoleküle 60 durch die in die Membran 40 eingebrachten Transport-Proteine 50 in die Messkammern 30 des Messchips 1 ist spezifisch für das Transport-Protein 50 und kann durch Detektion der Fluoreszenz in den Messkammern 30 gemessen werden. Dies ermöglicht Rückschlüsse auf
20 spezifische Parameter wie Transportraten und Durchlässigkeit und erlaubt beispielsweise die Evaluation von Wirkstoffkandidaten für Arzneimittel. Die Messung erfolgt in einem wässrigen Medium, d.h. Messkammern 30, Membranen 40, Proteine 50 und Substratmoleküle 60 sind von einer (nicht gezeigten) Messflüssigkeit umgeben, beispielsweise einer geeigneten salzhaltigen
25 Pufferlösung. Wird zur Messung ein Halter 200 (nicht gezeigt, siehe Figur 9) verwendet, wie er in gezeigt ist, dann bildet der Messchip 1 den Boden eines Reservoirs 203, das oberhalb des Messchips 1 mit Messflüssigkeit gefüllt ist.

Die Messung erfolgt beispielsweise durch ein Fluoreszenz-Mikroskop (nicht gezeigt), was sowohl eine Fluoreszenzlampe oder auch einen Laser für das
30 Anregungslicht 80 zur Anregung der Fluoreszenz der Substratmoleküle 60 als auch eine vergrößernde Optik bereitstellt. Dabei wird das Anregungslicht 80

(gestrichelt dargestellt) ungefähr orthogonal von unten durch die lichtdurchlässige Trägerschicht 10 in die Messkammern 30 gestrahlt, um die von der Oberseite des Messchips 1 durch die Membran 40 in die Messkammern 30 transportierten Substratmoleküle 60 zur Fluoreszenz anzuregen. Die von den angeregten Substratmolekülen 60 abgegebenen Fluoreszenzemissionen 81 (gepunktet dargestellt) strahlen von der Messkammer 30 durch die lichtdurchlässige Trägerschicht 10 und werden von einer geeigneten Kamera oder einem Detektor (nicht gezeigt) des Fluoreszenz-Mikroskops gemessen.

Wie in Figur 2 dargestellt, wird durch die gewellte Oberflächenstruktur eine unerwünschte Ausbreitung von Anregungslicht 80 aus den Messkammern 30 heraus vermindert. Sollte dennoch ein gewisser Restanteil des Anregungslichts 80 durch die Messkammer 30 und durch die Membran 40 hindurchstrahlen, dann werden unerwünschterweise auch die Substratmoleküle 60 oberhalb des Messchips 1, also außerhalb der Messkammern 30, die nicht über die Membran 40 in die Messkammern 30 transportiert wurden, angeregt und geben Störemissionen 82 ab. Durch die gewellte Oberflächenstruktur 27, 28 wird die Ausbreitung der Störemissionen 82 oberhalb des Messchips 1 durch die Messkammern 30 hindurch auf eine Kamera minimiert. Hierdurch ergibt sich eine wesentliche Verbesserung der Messgenauigkeit.

Figur 4 zeigt einen Vertikalschnitt durch eine andere, bevorzugte Ausführungsform des Messchips 1, die der in Figur 1 dargestellten im Wesentlichen entspricht, aber eine zusätzliche Deckschicht 12 aufweist. Die Deckschicht 12 ist auf der Hauptschicht 20 angeordnet. Die Deckschicht weist Öffnungen 14 auf, die über den Öffnungen 25 der Messkammern 30 angeordnet sind. Vorzugsweise ist jeweils eine Öffnung 14 in der Deckschicht 12 mittig über der Öffnung einer Messkammer 30 angeordnet. Die Apertur der Öffnungen 14 der Deckschicht 12 ist dabei kleiner als die Apertur der Öffnungen 25 der Messkammern 30. Der Vorteil liegt darin, dass die in Figur 4 dargestellte Ausführungsform des Messchips 1 besonders für biologische Membranen mit einer biologisch vorgegebenen Transporterdichte geeignet ist. Da sich die Zahl der Transport-Proteine 50 pro Fläche nicht wie bei künstlichen Membranen 40 verändern lässt, kann bei

unverändertem Volumen der Messkammer 30 die Apertur der Deckschichtöffnung 14 so gewählt und optimiert werden, dass vorzugsweise nur ein oder nur wenige Transport-Proteine 50 über der Deckschichtöffnung 14 liegen. Die Messgenauigkeit lässt sich durch die Deckschicht 12 erhöhen, weil weniger

5 Substratmoleküle pro Zeiteinheit in die Messkammer 30 transportiert werden und es lassen sich zeitaufgelöste Messungen durchführen, die wegen hohen Transportgeschwindigkeiten ohne Deckschichtöffnungen 14 nicht möglich wären.

Figur 5 zeigt im Vertikalschnitt eine Detailansicht einer weiteren Ausführungsform des Messchips 1 mit einer Messkammer 30 mit Deckschicht 12 aus Siliziumdioxid

10 und einer zusätzlichen lichtundurchlässigen Beschichtung 21 aus Titan und/oder Gold. Sofern Gold verwendet wird, dient Titan als Haftvermittler. Die Bestandteile des Messchips 1 mit Metallbeschichtung 21 sind in der Figur 6 durch fettere Linienstärken dargestellt. Dies sind die Seitenwände 26 der Messkammern 30, die der Messkammer 30 zugewandte Unterseite 16 der Deckschicht 12 und die der

15 Trägerschicht 10 aufliegende Unterseite 24 der Hauptschicht 20.

Die Metallbeschichtung 21 hat mehrere Vorteile. Zum einen kann als Deckschicht 12 lichtdurchlässiges Siliziumdioxid verwendet werden. Dies hat Vorteile bei der Herstellung des Messchips 1 (siehe unten). Die Hauptschicht 20 aus Silizium ist zwar für Wellenlängen des sichtbaren Lichts bis 600 nm im Wesentlichen

20 undurchsichtig. Für tiefrotes und infrarotes Licht wird Silizium jedoch zunehmend durchlässiger. Dieses wäre dann störend, wenn das Anregungslicht 80 oder Störemissionen 82 (nicht gezeigt) in diesem Wellenlängenbereich liegen. Titan und Gold sind jedoch weit bis in den infraroten Wellenlängenbereich lichtundurchlässig. Dadurch werden durch die beschichtete Deckschicht 12

25 Blenden gebildet, die von der Unterseite des Messchips 1 eingestrahktes Anregungslicht 80 (nicht gezeigt, siehe Figur 2) beim Austritt aus der Messkammer 30 zum Teil abschirmen. Ebenso werden Störemissionen oberhalb der Deckschicht 12 abgeschirmt. Die zusätzliche, lichtundurchlässige Metallbeschichtung 21 verbessert deshalb die Messgenauigkeit. Alternativ kann

30 der gleiche Effekt durch eine Metallbeschichtung oberhalb der Deckschicht 12 erreicht werden.

- Ein weiterer Vorteil ist, dass die Metallbeschichtung 21 kontaktiert und für elektrische Messungen oder Anregungen als Elektrode genutzt werden kann (nicht dargestellt). Die Metallbeschichtung 21 kann auf diese Weise zur Charakterisierung der elektrischen Eigenschaften von Membranen 40, Zellschichten oder von in der Membran befindlichen Transport-Systemen (nicht gezeigt) verwendet werden. Der Messchip 1 kann dabei so eingesetzt werden, dass die Impedanz einer über ihn gespannten Membran 40 oder Zellen (nicht gezeigt) gemessen werden kann. Hierdurch kann die Dichtigkeit von Membranen 40, Zell- oder Gewebeschichten bestimmt werden.
- Der Messchip 1 kann mittels der Goldbeschichtung 21 zusätzlich aber auch zur Erzeugung eines elektrischen Feldes verwendet werden, insbesondere zur Steuerung von spannungssensitiven Transport-Systemen. Dies sind beispielsweise spannungsabhängige Ionenkanäle, d.h. Ionenkanäle, die sich bei einem bestimmten Grenzwert der Membranspannung öffnen oder schließen.
- Durch Veränderung des angelegten elektrischen Feldes können so funktionelle Schaltvorgänge ausgelöst werden, die eine Veränderung des Transports 70 von Substratmolekülen 60 über eine Membran 40 zur Folge haben (nicht gezeigt). Die Substratmoleküle 60 können dann in den Messkammern 30 mittels Fluoreszenz detektiert werden.
- Eine weitere Anwendung des Messchips 1 besteht darin, dass die obere Deckschicht 12 des Messchips 1 mit einer Lipidmembran bedeckt ist, die Porenproteine, beispielsweise Ionenkanäle enthält. Für eine Messung wird an die als Goldbeschichtung 21 oder eine zusätzliche Metallisierung auf der Messchipoberseite 17 des Messchips wirkende Elektrode ein elektrisches Feld angelegt. Eine andere Elektrode in der Lösung oberhalb der Membran erzeugt ein Membranpotential. Die angelegte Spannung führt zur Aktivierung der Ionenkanäle.
- Die gezeigte Ausführungsform des Messchips 1 hat damit den Vorteil, dass biologische Transportsysteme elektrisch funktionell geschaltet und gleichzeitig der dadurch erzeugte Transport über die Membranen 40 optisch mittels Fluoreszenz gemessen werden kann.

Noch ein weiterer Vorteil ergibt sich in Kombination mit einer (nicht gezeigten) chemisch reaktiven oder polaren Beschichtung. An eine Goldbeschichtung 21 an der Seitenwand 26 der Messkammern 30 können standardisiert Thiolverbindungen wie β -Mercaptoethanol oder Mercaptopropionsäure aber auch
5 Komponenten eines Detektionssystems der Rezeptoraktivierung gebunden werden. Die Hauptschicht 20 aus Silizium oder die Deckschicht 12 aus Siliziumoxid bindet diese nicht und kann deshalb selektiv durch eine Silanisierung modifiziert werden. Dadurch wird eine unterschiedliche Modifikation der Seitenwände 26 der Messkammern 30 und der Oberseite 17 des Messchips 1
10 ermöglicht, was für bestimmte Messaufgaben vorteilhaft ist.

Die Figur 5 zeigt außerdem die Wirkung der Deckschicht 12. Über den Öffnungen 25 der Messkammern 30 sind mittig Öffnungen 14 der Deckschicht 12 angeordnet. Wird von unten ein Bündel aus Anregungslicht 80 eingestrahlt, dann wird es von der Deckschicht 12 zum Teil abgeblendet bzw. von der Goldbeschichtung 21 auf
15 der Unterseite 16 der Deckschicht 12 reflektiert und erreicht nur mit verminderter Intensität den Bereich oberhalb des Messchips 1, was die Messgenauigkeit erhöht. Störemissionen von oberhalb des Messchips 1 durchdringen bei der gezeigten Ausführungsform zwar die lichtdurchlässige Deckschicht 21 aus Siliziumdioxid, werden aber von der Goldbeschichtung 21 reflektiert.

20 Figur 6 zeigt einen Vertikalschnitt durch eine weitere Ausführungsform des Messchips 1 mit einer Hauptschicht 20 aus Silizium, welche kegelstumpfförmige Messkammern 30 aufweist. Unter kegelstumpfförmig ist zu verstehen, dass der untere Durchmesser 35 der Messkammern 30 vom Messkammerboden 18 der Trägerschicht 10 bis zur oberen Messkammeröffnung 25 hin abnimmt. Hierbei
25 wird von der Unterseite des Messchips 1 eingestrahktes Anregungslicht 80 gegen einen Austritt aus der oberen Öffnung 25 der Messkammer 30 besser abgeschirmt. Die Figur 6 zeigt, dass durch die gewellte Oberflächenstruktur der Seitenwände 26 in Verbindung mit der sich nach oben verjüngenden Messkammer 30 von unten eingestrahktes Anregungslicht 80 die Messkammeröffnung 25 zum
30 überwiegenden Teil nicht mehr verlässt. Ebenso werden Störemissionen 82 (nicht gezeigt) oberhalb der der Hauptschicht 20 durch die kleinere obere Öffnung 25

besser abgeschirmt. Durch die synergistische Wirkung beider Merkmale wird die mit dem Messchip 1 erzielbare Messgenauigkeit weiter erheblich erhöht.

Figur 7 zeigt eine Draufsicht auf den Messchip 1. Die Zeichnung gibt dabei in einer Teilansicht des Messchips 1 die Messkammern 30, 30' wieder, die in Form eines Arrays angeordnet sind. Die gezeigten Messkammern 30 haben einen Durchmesser d_1 von $1 \mu\text{m}$, möglich sind aber auch Ausführungsformen mit Durchmessern von wenigen Nanometern bis hin zu mehreren hundert Mikrometern. Der Abstand d_2 der Mittelpunkte der Messkammern beträgt $2,5 - 4 \mu\text{m}$, möglich sind aber auch wenige Nanometer.

Die Messkammern 30 haben die Grundform eines Kreiszyinders. Wie die Figur 8 zeigt, weist der Messchip 1 jedoch auch anders geformte, in der gezeigten Draufsicht und im Querschnitt ovale Messkammern 30' auf. Dabei ist periodisch nach einer gewählten Anzahl, im gezeigten Messchip elf, Messkammern 30 jeweils eine ovale Messkammer 30' vorgesehen, und zwar sowohl in Längs- als auch in Querrichtung des Arrays. Diese Messkammern 30' dienen als durch die Kamera erkennbare, optische Markierungen und ermöglichen eine vereinfachte, eindeutige Zuordnung der Position der Messkammern 30 sowie eine manuelle oder automatisierte Korrektur lateraler Verschiebungen des Messchips 1 während der Messungen.

Figur 8a zeigt einen Vertikalschnitt durch einen Halter 200 für den oben beschriebenen, mikrostrukturierten Messchip 1. Der Halter 200 umfasst eine quaderförmige Platte mit durch obere Öffnungen 205 befüllbaren Reservoirs 203, vorzugsweise ähnlich handelsüblichen Mikrotiterplatten, aber auch ähnliche Kammern in Länge und Breite passend zum Objektträgerformat. Der Halter 200 hat vorzugsweise auch die standardisierte Höhe einer Mikrotiterplatte. Im Unterschied zu herkömmlichen Mikrotiterplatten sind die Reservoirs 203 jedoch durchgehende Kanäle, d.h. sie weisen keinen Boden sondern eine untere Öffnung 210 auf. Der Boden der Reservoirs 203 wird erst durch einen an die Unterseite 203 der Platte beispielsweise mit einem UV-härtenden Kleber befestigten Messchip 1 gebildet, wobei der Kleber nach einer Justage des Messchips 1 mittels UV-Licht ausgehärtet wird. Die Reservoirs 203 bilden auf diese Weise mit den

mikrostrukturierten Messchips 1 eine Kammer, die mit einer gewünschten Messflüssigkeit befüllt werden kann.

Der Messchip 1 ist dabei so angeordnet, dass dessen Oberseite 17 mit den (nicht gezeigten) Messkammeröffnungen 25 zu den Reservoirs 203 weist, damit die
5 Messkammern 30 durch die Reservoirs 203 befüllt werden können. Die optische Messung erfolgt von der Unterseite 202 des Halters 200 durch die untere, lichtdurchlässige Trägerschicht 10 der Messchips 1.

Wie Fig. 8a außerdem zeigt, wird das Volumen der Reservoirs 203 dadurch erhöht, das sich deren Durchmesser in ihrem unteren Abschnitt nach oben hin
10 vergrößert, d.h. der Durchmesser der oberen Öffnung 205 der Reservoir 203 ist größer als der Durchmesser ihrer unteren Öffnung 210, der etwas kleiner ist als die Fläche der Messchips 1, damit diese unter die untere Öffnung 210 abdichtend festgeklebt werden können.

Figur 8b zeigt eine Draufsicht auf die Oberseite 201 des Halters 200 aus Figur 9.
15 Der Halter 200 hat die Länge und Breite eines handelsüblichen Objektträgers. Es sind beispielsweise 16 Reservoir 203 mit darunter geklebten Messchips 1 vorgesehen. Der Abstand der Mittelpunkte der oberen Öffnungen 205 beträgt 9 mm und der Durchmesser der oberen Öffnungen 205 6 mm, wobei sich der Durchmesser nach unten hin verjüngt, so dass die untere Öffnung 210 einen
20 Durchmesser von 2 mm aufweist. Unter die untere Öffnung 210 ist ein quadratischer Messchip 1 Seitenlängen von 3 mal 3 mm geklebt.

Figur 9 zeigt einen Vertikalschnitt durch eine weitere, bevorzugte Ausführungsform des Halters 200b. Der Halter 200b umfasst wie der in Figur 8a gezeigte eine quaderförmige Platte mit durch obere Öffnungen 205 befüllbaren Reservoirs 203.
25 Der Boden der Reservoirs 203 wird jedoch durch ein Deckglas 215 von etwa 50-200 μm Dicke gebildet. Hierzu werden zunächst alle Messchips 1 auf das Deckglas 215 mit einem nicht fluoreszierenden, transparenten Kleber, vorzugsweise einem Silikonkleber, besonders Sylguard 184 vollflächig aufgeklebt. Das gesamte Deckglas 215 wird dann unter den Halter 200b geklebt und dichtet
30 alle Reservoirs 203 ab, wobei die Messchips 1 in den Reservoirs 203 versenkt

werden. Die Reservoirs 203 bilden auf diese Weise mit dem Deckglas 215 eine Kammer, die mit einer gewünschten Messflüssigkeit befüllt werden kann. Damit die Messchips 1 in den unteren Öffnungen 210 Platz finden, ist die untere Öffnung 210 etwas größer als bei dem in Figur 8a gezeigten Halter 200. Das Deckglas 215 ist lichtdurchlässig, so dass die optische Messung von unten durch das Deckglas 215 hindurch erfolgen kann.

Figur 10 zeigt einen Vertikalschnitt durch einen nach dem Stand der Technik bekannten SOI-Wafer 300 in einer Teilansicht. Er wird nach dem Stand der Technik als Ausgangsmaterial bzw. Substrat zur Produktion elektronischer Bauteile und integrierter Schaltkreise benutzt. Bei der vorliegenden Erfindung dient er jedoch als Ausgangsmaterial bzw. Substrat für die Herstellung der mikrostrukturierten Messchips 1. Bei der erfindungsgemäßen Herstellung werden vorteilhafterweise bekannte Verfahren zur Herstellung elektronischer Bauteile wie Photolithographie und Ätzen verwendet.

Der bekannte SOI-Wafer 300 ist wie ein Sandwich aus drei miteinander fest verbundenen Schichten zusammengesetzt: Eine untere, dicke, lichtundurchlässige Siliziumschicht 311, eine obere, dünne, lichtundurchlässige Siliziumschicht 320 und eine dazwischen angeordnete, sehr dünne, sogenannte „begrabene“ Schicht 312 (der englische Fachbegriff ist „buried layer“), die elektrisch isolierende Eigenschaften hat und aus lichtdurchlässigem Siliziumdioxid besteht.

Das Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen mikrostrukturierten Messchips 1 aus dem in Figur 10 gezeigten SOI-Wafer 300 umfasst im Wesentlichen die folgenden Schritte, die nachfolgend anhand der Figuren 11 bis 15 erläutert werden.

In die obere, dünne, lichtundurchlässige Siliziumschicht 320 werden zuerst mittels Photolithographie und geeigneten Ätzverfahren wie DRIE (Deep Reactive Ion Etching, Bosch Prozess) oder nasschemischem Ätzen die später als Messkammern dienenden Vertiefungen 30 eingebracht.

Bei Verwendung des Bosch-Prozesses bilden sich durch die dabei üblichen abwechselnden Ätz- und Passivierungsschritte alternierenden Vertiefungen 27 und Erhebungen 28 in den Seitenwänden 26 aus, die eine im Wesentlichen gewellte bzw. geriffelte Oberflächenstruktur entstehen lassen.

- 5 Beim Ätzen werden Ätzmittel verwendet, die nur Silizium aber kein Siliziumdioxid auflösen. Daher erfolgt die Ätzung vorteilhafterweise nur bis zur vergrabenen Siliziumdioxidschicht 312, welche gewissermaßen als „Stoppschicht“ wirkt und den Ätzvorgang zum Stillstand kommen lässt. Figur 11 zeigt den SOI-Wafer 300 aus Figur 10 mit eingeätzten, geriffelten Messkammern 30 in der oberen
- 10 Siliziumschicht 320. Falls gewünscht kann jetzt eine Metallisierung beispielsweise aus Titan oder Gold auf die obere Siliziumschicht aufgebracht werden.

Wie Figur 12 zeigt, wird danach die lichtdurchlässige Trägerschicht 10 aus Borosilicatglas auf der oberen Siliziumschicht 320 durch anodisches Bonden befestigt.

- 15 Dann wird die untere Siliziumschicht 311 durch Ätzen entfernt, wie Figur 13 zeigt. Auch bei diesem Verfahrensschritt erfolgt die Ätzung vorteilhafterweise nur bis zur vergrabenen Siliziumdioxidschicht 312, welche den Ätzvorgang zum Stillstand kommen lässt.

- Figur 14 zeigt, dass der auf diese Weise bearbeitete SOI-Wafer 300 danach
- 20 umgedreht wird und sich in einer „upside down“-Position befindet. Dadurch wird die Trägerschicht 10 zur untersten Schicht und die obere Siliziumschicht 320 des SOI-Wafers 300 zur späteren Hauptschicht 20 der Messchips 1. Die ursprünglich begrabene Schicht 312 des SOI-Wafers 300 ist die oberste Schicht und bildet die spätere Deckschicht 12 der Messchips 1.

- 25 Danach wird die begrabene Schicht 312, die die Deckschicht 12 des Messchips 1 bildet, photolithographisch und mit geeigneten Ätzverfahren teilweise strukturiert oder vollständig entfernt, so dass die als Blenden wirkenden Öffnungen 14 gebildet werden, die vorzugsweise mittig über den Messkammern 30 angeordnet sind. Dies verdeutlicht die Figur 15, die der Figur 4 entspricht. Die begrabene

Schicht 312 kann auch vollständig entfernt werden, wodurch eine Ausführungsform des Messchips 1 hergestellt wird, wie sie in Figur 1 dargestellt ist.

5 Zuletzt werden einzelne Messchips 1 aus dem SOI-Wafer gesägt. Die Messchips 1 können einzeln verwendet oder unter den oben beschriebenen Halter 200 geklebt werden, wie in Figur 8 dargestellt ist.

Bezugszeichenliste

- 1 Messchip
- 5 Vesikel
- 10 Trägerschicht
- 12 Deckschicht
- 14 Deckschichtöffnung
- 15 Biologische Zelle
- 16 Deckschichtunterseite
- 17 Messchipoberseite
- 18 Messkammerboden
- 20 Hauptschicht
- 21 Beschichtung
- 24 Hauptschichtunterseite
- 25 Messkammeröffnung
- 26 Messkammerseitenwand
- 27 Vertiefungen
- 28 Erhebungen
- 30 Messkammer
- 30' Ovale Messkammer
- 31 Messkammerdurchmesser
- 32 Abstand benachbarter Messkammermittelpunkte
- 33 Messkammertiefe
- 35 Unterer Messkammerdurchmesser
- 40 Membran
- 50 Transportermolekül
- 60 Substratmolekül
- 70 Transport bzw. Diffusion durch Membran
- 80 Anregungslicht
- 81 Emission
- 82 Störemission
- 90 Membranrezeptor
- 100 Sekretiertes Protein
- 110 Sekretion
- 111 Nachweissystem
- 120 Fluoreszentes Molekül eines Nachweissystems
- 130 Ligand
- 140 Umwandlung in fluoreszentes Molekül durch Nachweissystem
- 200 Halter
- 201 Oberseite
- 202 Unterseite
- 203 Reservoir
- 205 Obere Reservoiröffnung
- 210 Untere Reservoiröffnung
- 215 Deckglas
- 230 Kontrollsubstrat
- 300 Silizium-Wafer
- 311 Untere Siliziumschicht
- 312 Begrabene Schicht
- 320 Obere Siliziumschicht

Patentansprüche

1. Mikrostrukturierter Messchip (1) zur optischen Messung von Eigenschaften künstlicher oder biologischer Membranen (40) mit einer unteren, lichtdurchlässigen Trägerschicht (10) und mindestens einer darauf angeordneten, im Wesentlichen lichtundurchlässigen Hauptschicht (20), welche als Messkammern ausgebildete Vertiefungen (30) mit einer oberen Öffnung (25) und einer inneren Seitenwand (26) oder mehreren inneren Seitenwänden (26) aufweist, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Seitenwand (26) oder die Seitenwände der Messkammern (30) Vertiefungen (27) und/oder Erhebungen (28) aufweisen.
2. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Vertiefungen (27) und Erhebungen (28) in Richtung der Längsachse der Messkammern (30) alternieren und die Seitenwand (26) oder die Seitenwände durch die so gebildeten Rinnen eine im Wesentlichen gewellte Oberflächenstruktur aufweisen.
3. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass die alternierenden Vertiefungen (27) bzw. Erhebungen (28) bzw. Rinnen einen Abstand von 0,1 bis 0,6 μm und/oder eine Tiefe von 20 bis 110 nm aufweisen.
4. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Messkammern (30) die Grundform eines Kreiszylinders oder eines Kegelstumpfes haben und die die Rinnen bildenden Vertiefungen (27) und Erhebungen (28) die Seitenwand (26) kreisförmig umlaufen.
5. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die untere, lichtdurchlässige Trägerschicht (10) aus Kunststoff oder aus Glas, insbesondere aus Borosilicatglas besteht, welches vorzugsweise nach dem Floatverfahren hergestellt ist.

6. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die lichtundurchlässige Hauptschicht (20) Silizium oder Metall oder Kunststoff aufweist.
7. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass auf der Hauptschicht (20) eine Deckschicht (12), vorzugsweise aus Siliziumdioxid oder Siliziumnitrid, angeordnet ist, die über den Öffnungen (25) der Messkammern (30) Deckschichtöffnungen (14) aufweist, deren Apertur kleiner ist als die der Öffnungen (25) der Messkammern.
8. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass dessen Oberfläche eine oder mehrere chemisch reaktive und/oder polare Beschichtungen insbesondere Poly-L-Lysin und/oder Propionsäure und/oder Carboxylgruppen und/oder Lipidderivate und/oder aminoreaktive Linkermoleküle aufweist, um geeignete Bestandteile einer Membran oder des Transportsystems kovalent oder nichtkovalent an den Messchip (1) zu binden.
9. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Seitenwand oder die Seitenwände (26) der Messkammern (30) und/oder die der Trägerschicht (10) zugewandte Unterseite der Hauptschicht (20) und/oder die den Messkammern (30) zugewandte Unterseite der Deckschicht (12) und/oder die Oberseite der Hauptschicht (20) jeweils eine zusätzliche, lichtundurchlässige Beschichtung (21) aufweisen, vorzugsweise aus Metall, insbesondere aus Gold oder Titan.
10. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Verhältnis von Tiefe (33) zu Durchmesser (31) der Messkammern (30) größer als eins, vorzugsweise größer als fünf und besonders bevorzugt zehn bis fünfzig ist.
11. Mikrostrukturierter Messchip (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Messkammern (30) als Array angeordnet sind und vorzugsweise optische Markierungen aufweisen,

- die insbesondere als oval geformte Messkammern (30') oder Messkammeröffnungen (25) ausgebildet sind.
12. Halter (200) für mikrostrukturierte Messchips (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Halter (200) eine Platte mit einer Oberseite (201), einer Unterseite (202) und einem oder mehreren von der Oberseite mit Flüssigkeit befüllbaren Reservoir (203) umfasst und der Boden jeweils eines Reservoirs (201) durch jeweils einen an der Unterseite (202) der Platte (200) befestigten Messchip oder ein Deckglas mit aufgeklebten Messchips (1) gebildet wird.
 13. Verfahren zur Herstellung mikrostrukturierter Messchips (1) zur optischen Messung von Eigenschaften künstlicher oder biologischer Membranen (40), vorzugsweise nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass als Substrat ein Wafer (300) verwendet wird, der Silizium aufweist.
 14. Verfahren nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass ein Silizium-Wafer verwendet wird, der eine untere Siliziumschicht (31 1), eine obere Siliziumschicht (320) und eine dazwischen angeordnete, begrabene Schicht (31 2) aufweist und insbesondere ein Silicon on Insulator-Wafer ist und die begrabene Schicht (312) vorzugsweise aus Siliziumdioxid oder Siliziumnitrid besteht.
 15. Verfahren nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Messkammern (30) in die obere Siliziumschicht (320) bis zur begrabenen Schicht (31 2) geätzt werden, vorzugsweise im DRIE-Verfahren.
 16. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, dass eine lichtundurchlässige Beschichtung (21), vorzugsweise gemäß Anspruch 8, auf den Silizium-Wafer (300) aufgebracht wird.
 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, **dadurch gekennzeichnet**, dass die obere Siliziumschicht (320) des Silizium-Wafers (300) mit den eingätzten Messkammern (30) mit der Trägerschicht (10) vorzugsweise durch anodisches Bonden verbunden wird.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 17, **dadurch gekennzeichnet**, dass die untere Siliziumschicht (31 1) des Silizium-Wafers (300) entfernt wird, vorzugsweise durch Ätzen.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 18, **dadurch gekennzeichnet**, dass die begrabene Schicht (31 2), vorzugsweise durch Ätzen, vollständig oder selektiv an den Stellen entfernt wird, die die Messkammern (30) bedecken, so dass Deckschichtöffnungen (14), vorzugsweise mit den Merkmalen nach Anspruch 7, gebildet werden.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 19, **dadurch gekennzeichnet**, dass einzelne, mikrostrukturierten Messchips (1) aus dem Silizium-Wafer (300) gesägt werden und insbesondere an den (200) Halter nach Anspruch 12 geklebt werden.

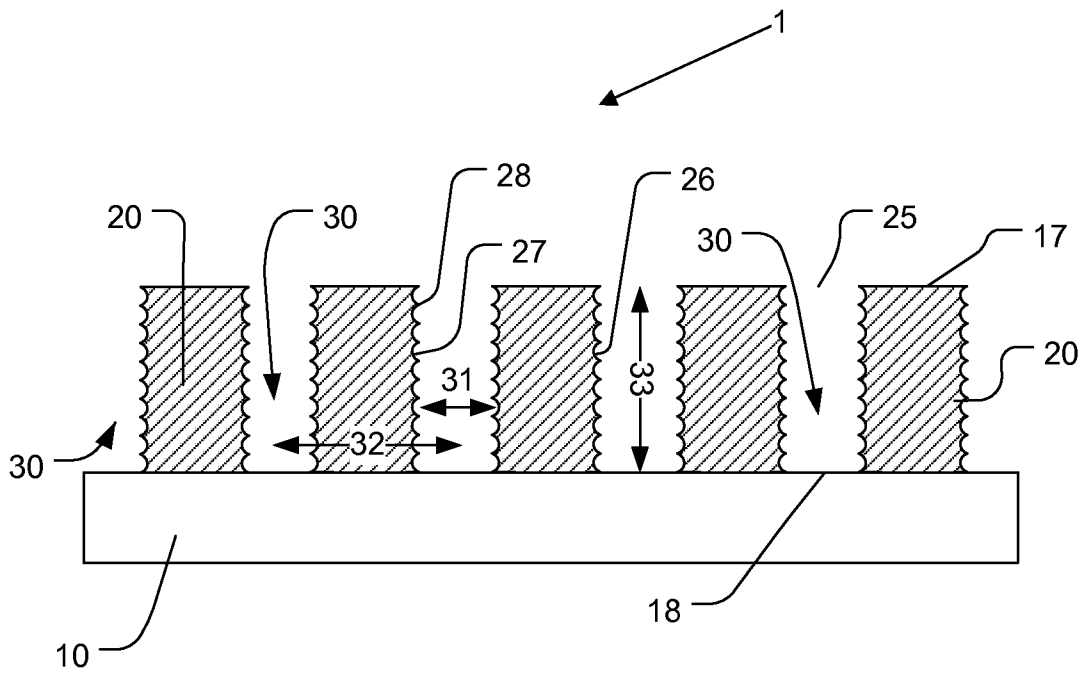


Fig. 1

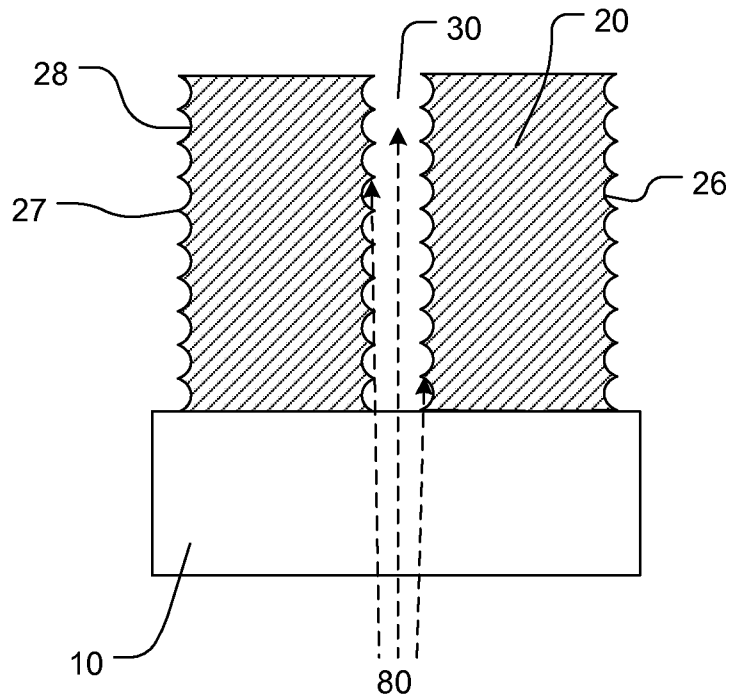


Fig. 2

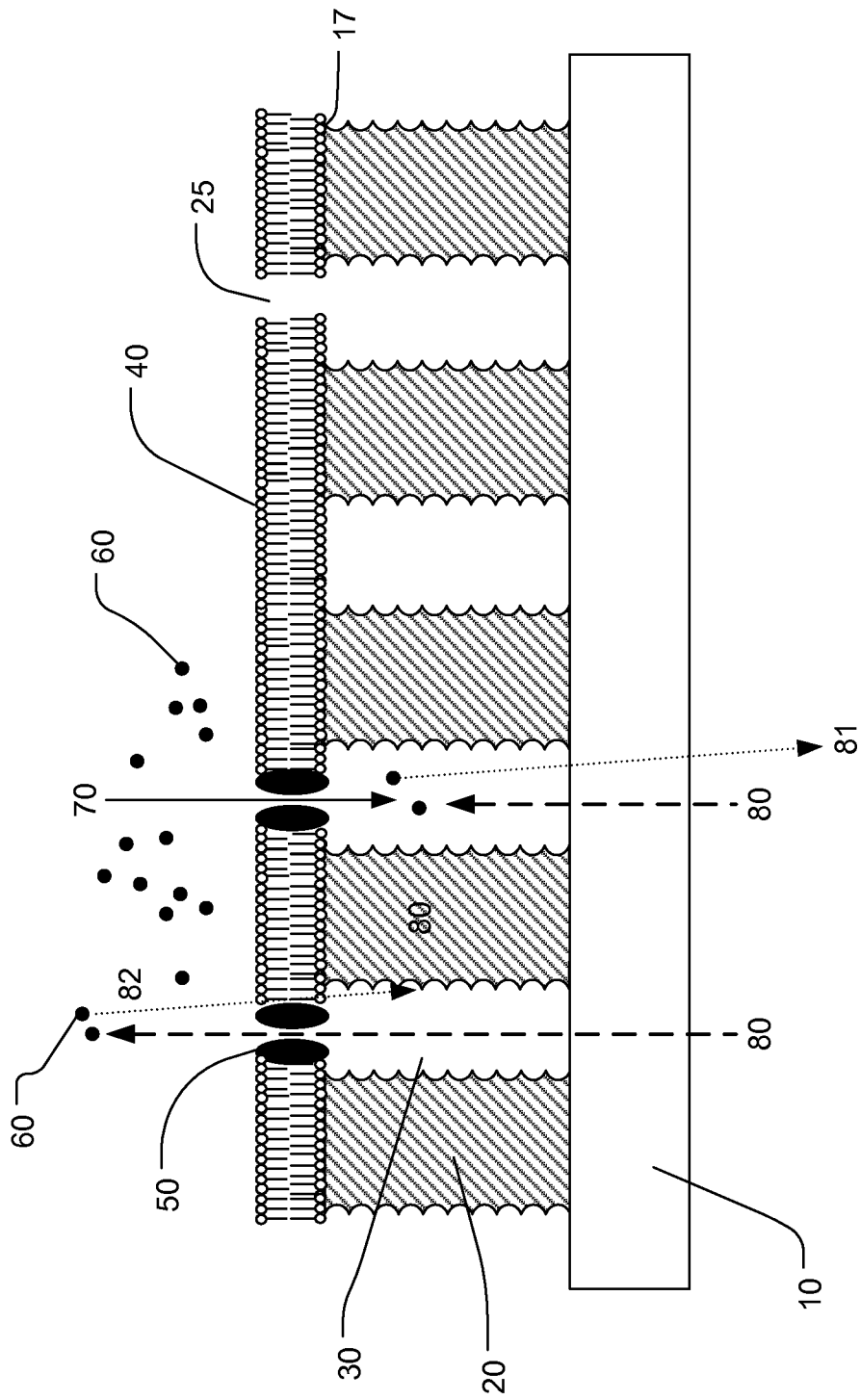


Fig. 3

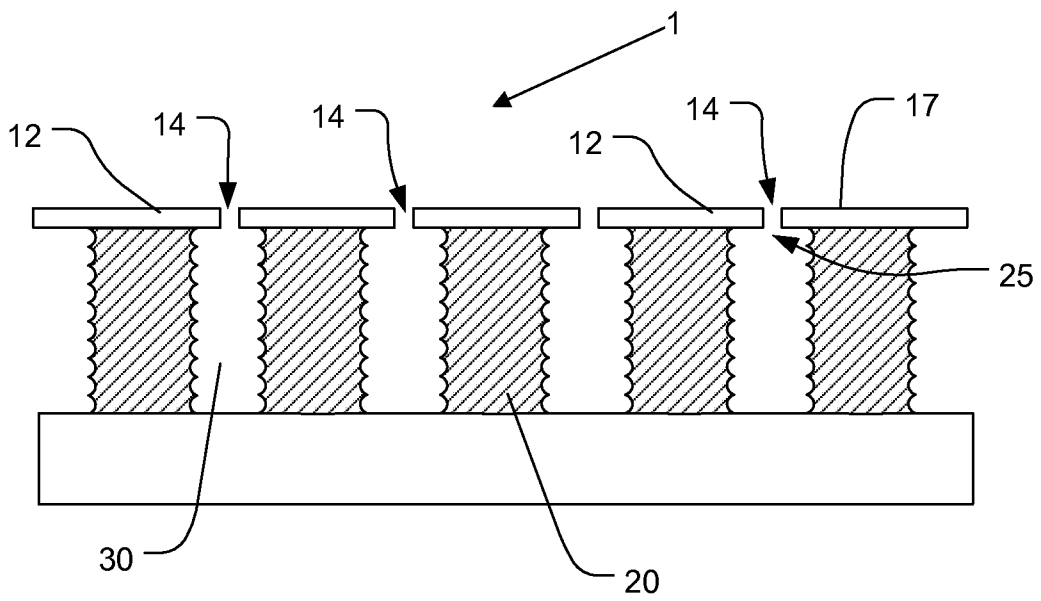


Fig. 4

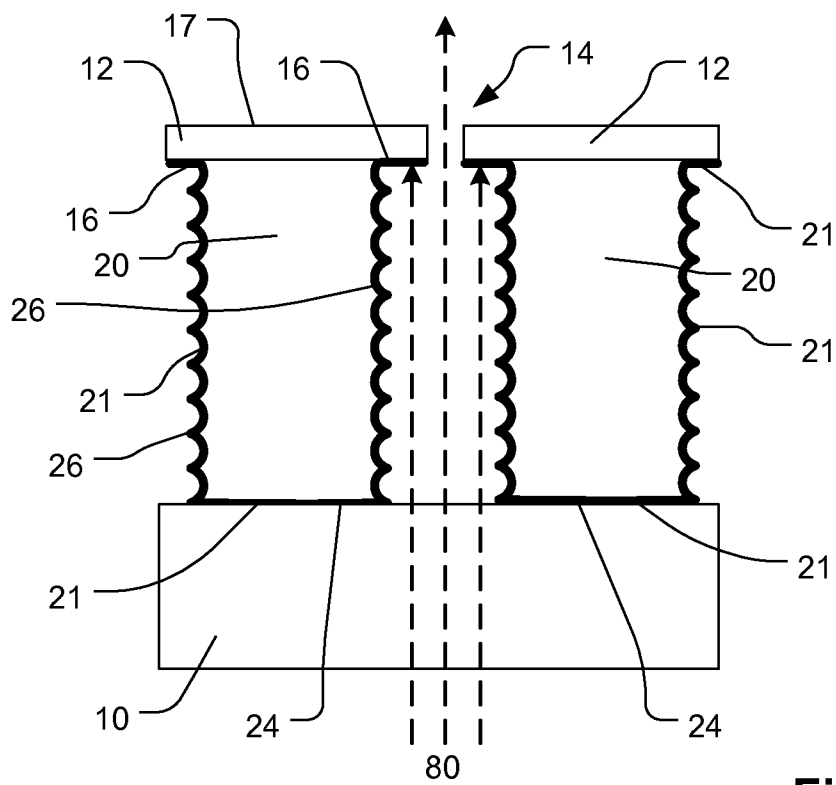


Fig. 5

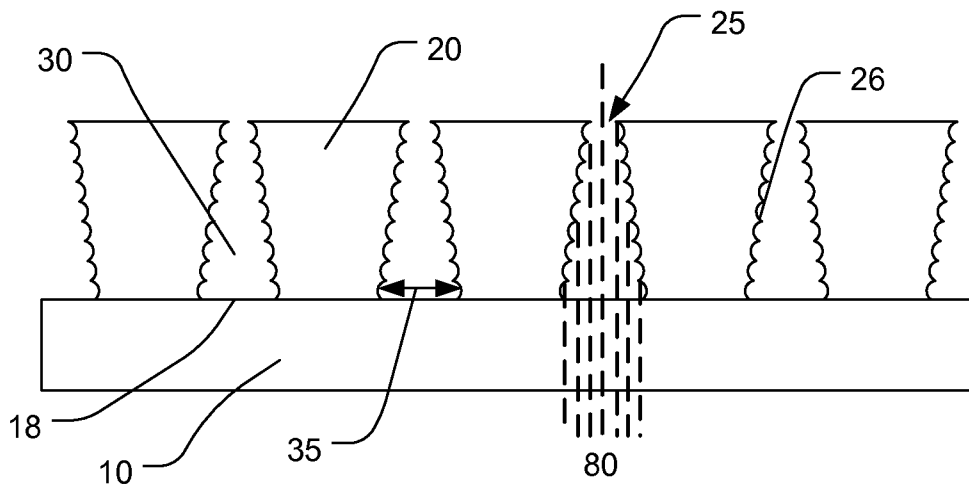


Fig. 6

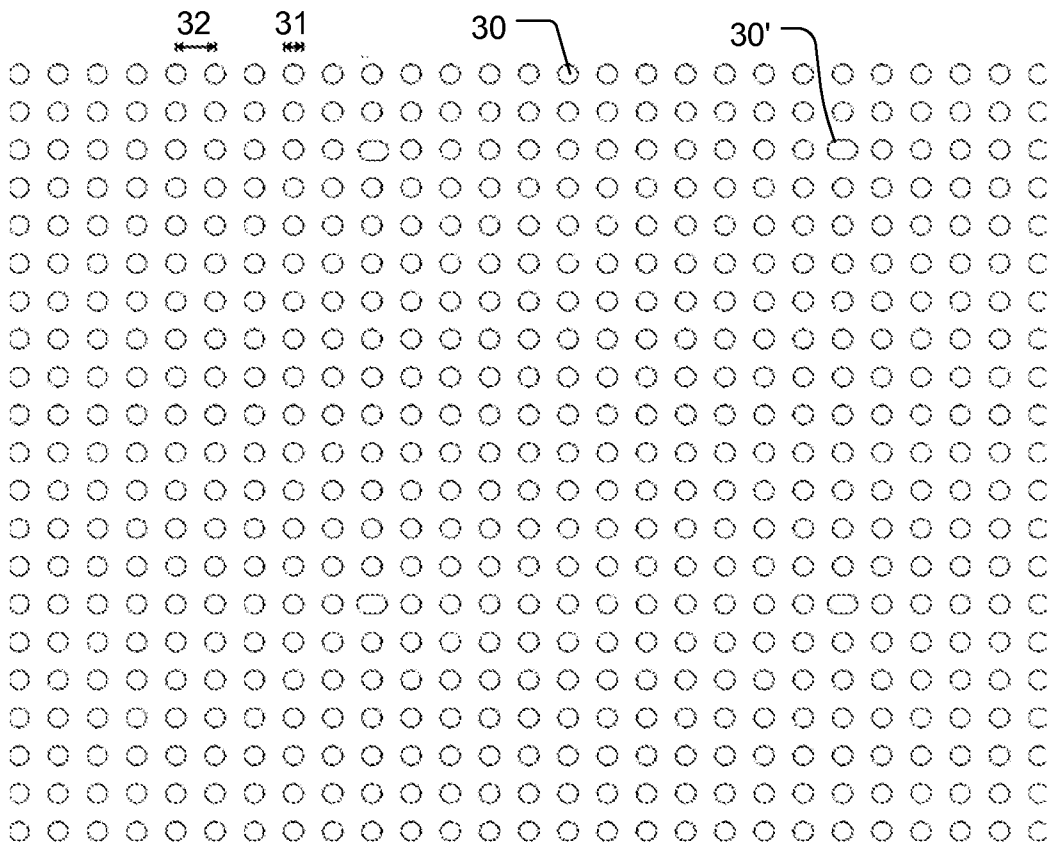


Fig. 7

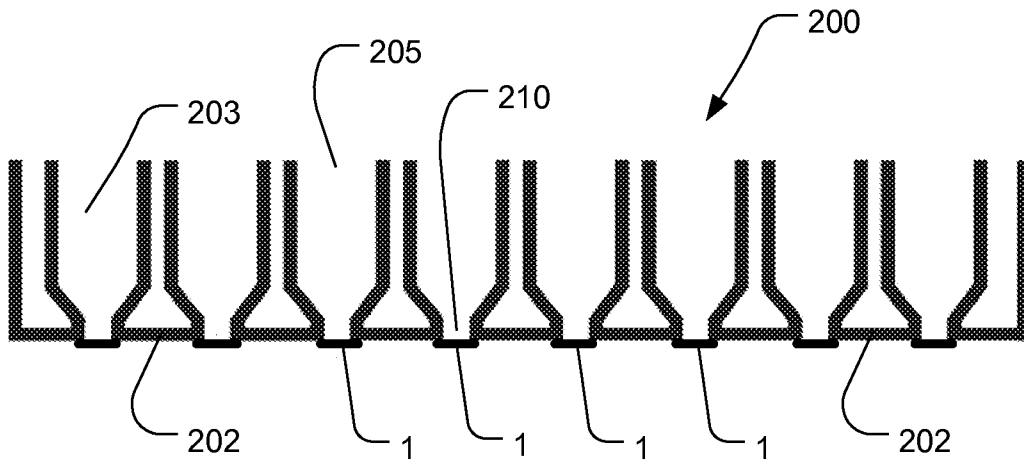


Fig. 8a

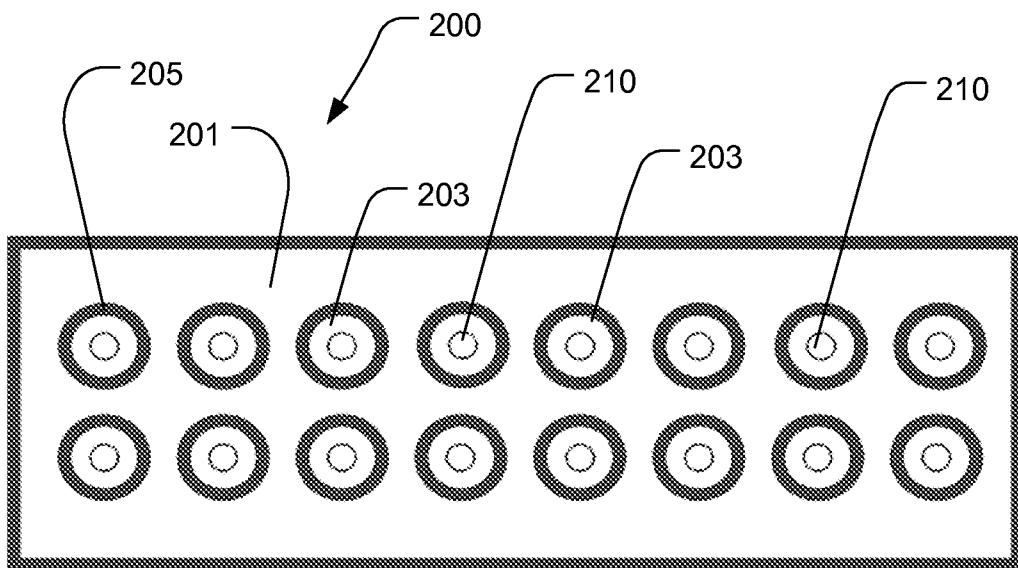


Fig. 8b

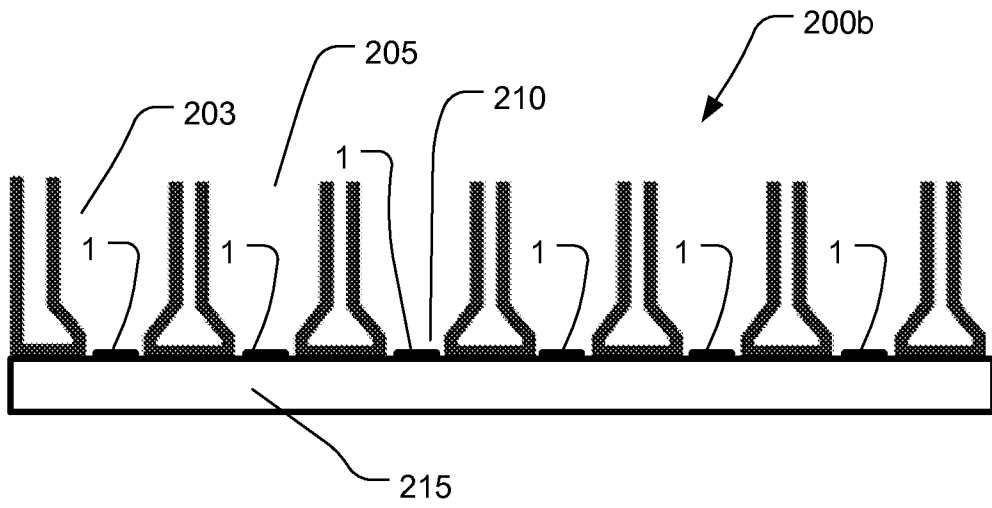


Fig. 9

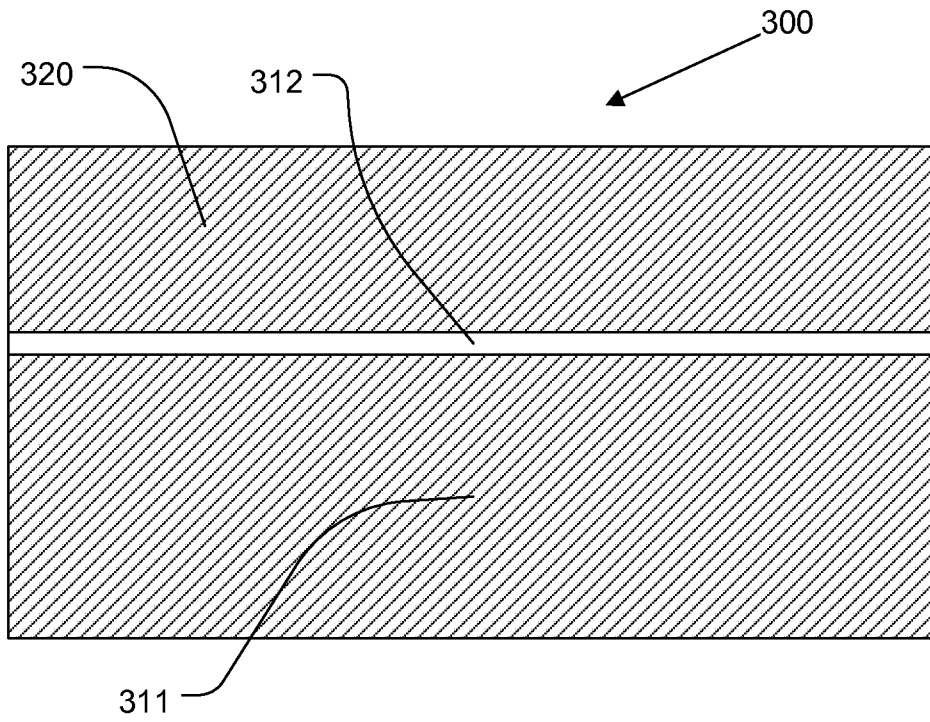


Fig. 10

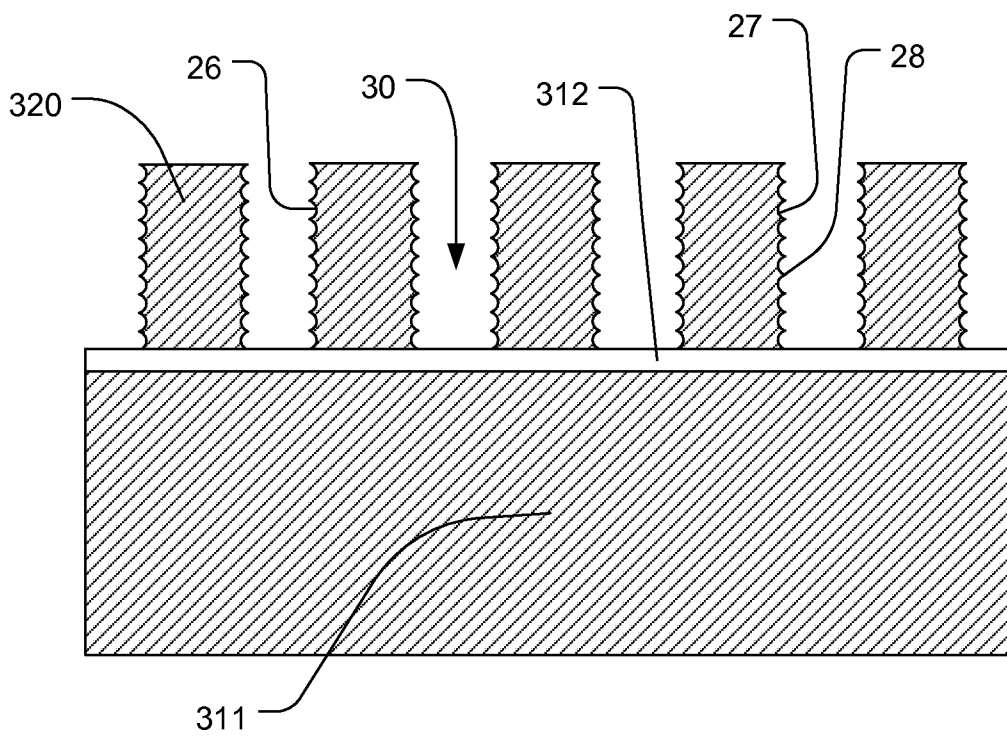


Fig. 11

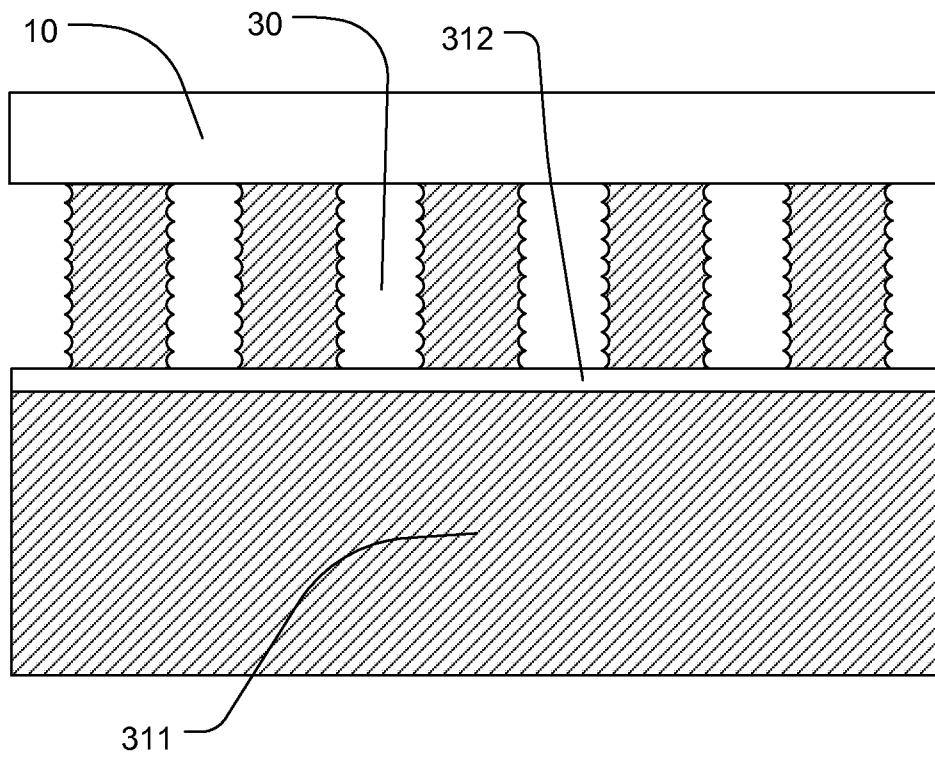


Fig. 12

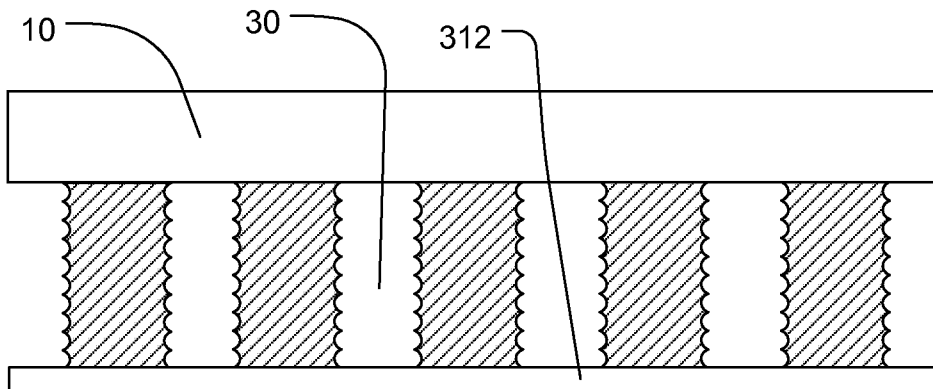


Fig. 13

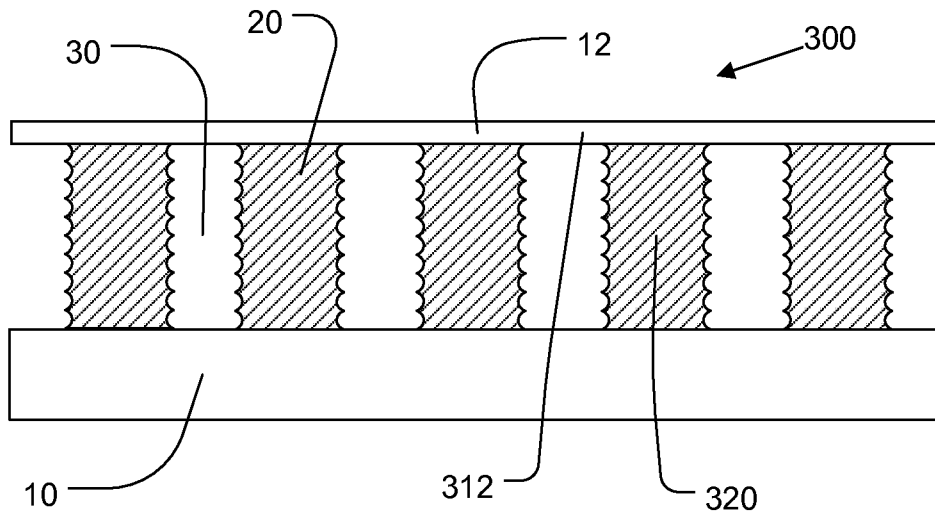


Fig. 14

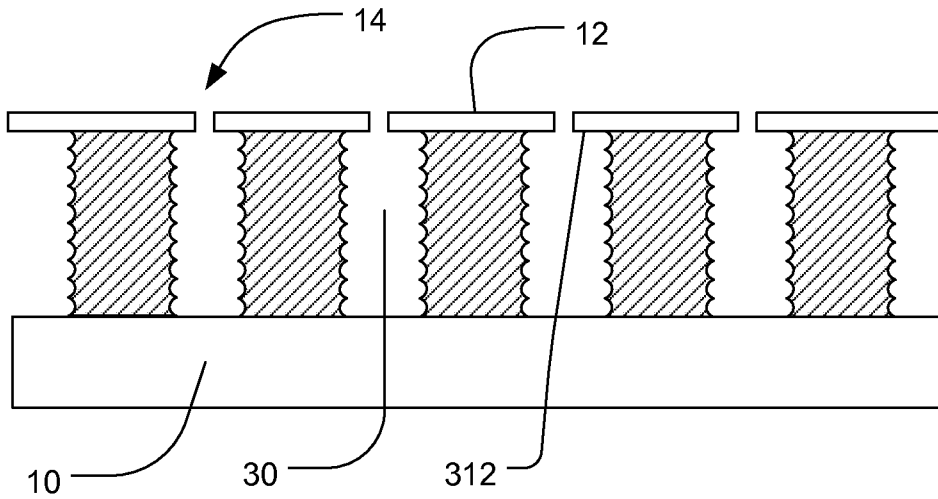


Fig. 15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/DE2011/075041
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N21/64
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national Classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (Classification System followed by Classification Symbols)
G01N B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal , INSPEC, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No.
X	<p>DE 102 00 541 AI (ZEISS CARL JENA GMBH [DE]) 24 July 2003 (2003-07-24) paragraphs [0001] - [0003] , [0006] , [0012] , [0014] paragraphs [0019] , [0023] , [0046] ; figures 1,2,3,13</p> <p style="text-align: center;">----- -/--</p>	<p>1,2,10, 11</p>

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

<p>"A" document defining the general State of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search 29 July 2011	Date of mailing of the international search report 08/08/2011
--	---

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Stadl meyer, R
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2011/075041

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No.
X	<p>ABGRALL P ET AL: "TOPICAL REVIEW; Lab-on-chip technologies: making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem-a review", JOURNAL OF MICROMECHANICS & MICROENGINEERING, INSTITUTE OF PHYSICS PUBLISHING, BRISTOL, GB, vol . 17, no. 5, 1 May 2007 (2007-05-01) , pages R15-R49 , XP020120110, ISSN: 0960-1317 , DOI : DOI : 10. 1088/0960-1317/17/5/R01 page R18 - page R19; figures 7,9 page R21; figure 15</p>	13 , 14, 17
A	<p>-----</p> <p>CADARSO V J ET AL: "Hollow waveguide-based full-field absorbance biosensor" , SENSORS AND ACTUATORS B, ELSEVIER SEQUOIA S.A. , LAUSANNE, CH, vol . 139, no. 1, 20 May 2009 (2009-05-20) , pages 143-149 , XP026095300, ISSN: 0925-4005 , DOI : DOI : 10. 1016/J .SNB.2008. 10.034 [retrieved on 2008-11-05] the whole document</p>	1, 13
A	<p>-----</p> <p>US 2006/275182 A1 (HUDSON GORDON S [US]) 7 December 2006 (2006-12-07) figure 11</p> <p>-----</p>	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DE2011/075041

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10200541	A I	NONE	

US 2006275182	A I	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 INV. G01N21/64
 ADD.
 Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE
 Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 G01N B01L

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
 EPO-Internal , INSPEC, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 102 00 541 AI (ZEISS CARL JENA GMBH [DE]) 24. Jul i 2003 (2003-07-24) Absätze [0001] - [0003] , [0006] , [0012] , [0014] Absätze [0019] , [0023] , [0046] ; Abteilungen 1, 2, 3, 13 ----- -/- .	1, 2, 10, 11

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
 "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
 "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
 "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
 "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
 "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
 "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
 "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
 "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
 "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
29. Jul i 2011	08/08/2011

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Stadl meyer, R
--	---

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>ABGRALL P ET AL: "TOPICAL REVIEW; Lab-on-chip technologies: making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem-a review", JOURNAL OF MICROMECHANICS & MICROENGINEERING, INSTITUTE OF PHYSICS PUBLISHING, BRISTOL, GB, Bd. 17, Nr. 5, 1. Mai 2007 (2007-05-01) , Seiten R15-R49 , XP020120110, ISSN: 0960-1317 , DOI : DOI : 10.1088/0960-1317/17/5/R01 Seite R18 - Seite R19; Abbildungen 7,9 Seite R21; Abbildung 15</p>	13, 14, 17
A	<p>----- CADARSO V J ET AL: "Hollow waveguide-based fiber-optic absorbance biosensor" , SENSORS AND ACTUATORS B, ELSEVIER SEQUOIA S.A. , LAUSANNE, CH, Bd. 139, Nr. 1, 20. Mai 2009 (2009-05-20) , Seiten 143-149 , XP026095300, ISSN: 0925-4005 , DOI : DOI : 10.1016/J .SNB.2008. 10.034 [gefunden am 2008-11-05] das ganze Dokument</p>	1, 13
A	<p>----- US 2006/275182 A1 (HUDSON GORDON S [US]) 7. Dezember 2006 (2006-12-07) Abbildung 11</p> <p>-----</p>	1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2011/075041

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 10200541	A I	24-07-2003	KEINE

US 2006275182	A I	07-12-2006	KEINE
