



(19)  
 Bundesrepublik Deutschland  
 Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2008 001 322 A1** 2009.10.29

(12)

## Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2008 001 322.6**

(22) Anmeldetag: **22.04.2008**

(43) Offenlegungstag: **29.10.2009**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **G01N 21/62** (2006.01)

**G01N 21/64** (2006.01)

**G01N 33/483** (2006.01)

(71) Anmelder:

**LINOS Photonics GmbH & Co. KG, 80469 München, DE**

(74) Vertreter:

**Taresch, G., Dipl.-Phys. (Univ.) Dr. rer. nat., Pat.-Anw., 80337 München**

(72) Erfinder:

**Bürckner-Koydl, Dieter, 86415 Mering, DE**

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

**DE 102 27 962 A1**

**DE 10 2005 038256 A1**

**DE 198 46 928 A1**

**WO 2006/0 52 682 A2**

**US 60 15 674 A**

**US 55 89 351 A**

**DE 101 31 687 A1**

**EP 09 02 271 A2**

**WO 02/0 59 592 A2**

**DE 10 2006 036171 A1**

**WO 01/96 837 A1**

**WO 2006/1 19 277 A2**

**DE 10 2005 061674 A1**

**WO 01/97 902 A2**

**WO 02/0 77 287 A1**

**WO 2005/0 85 810 A1**

**EP 15 79 914 A2**

**EP 15 81 558 A2**

**US 53 55 215 A**

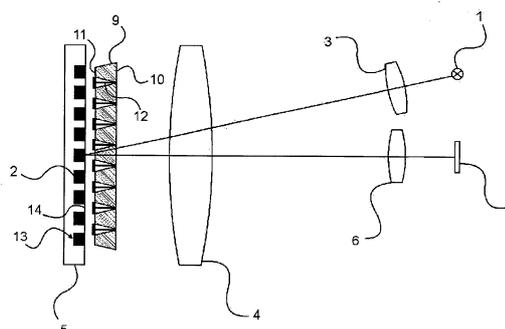
**WO 2008/094 794 A1** (ältere Anmeldung)

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

(54) Bezeichnung: **System zur optischen Analyse von Probenarrays**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung geht aus von einem System zur optischen Analyse von Probenarrays mit einer Lichtquelle (1) zum gleichzeitigen Beleuchten einer Vielzahl von in den Aufnahmen (13) einer Probenplatte (5) nebeneinander angeordneten Proben (2) mit Anregungslicht und mit einem Detektorarray (7) zum Erfassen der von den Proben (2) ausgesandten Lumineszenzstrahlung. Erfindungsgemäß ist vor der Probenplatte (5) ein Lichtleiterarray (8) angeordnet zum Leiten des Anregungslichts auf die Proben (2).



**Beschreibung**

**[0001]** Die Erfindung betrifft ein System zur optischen Analyse von Probenarrays nach dem Oberbegriff von Anspruch 1.

**[0002]** Derartige Systeme werden beispielsweise im High-Throughput Screening (HTS), eine vor allem in der Pharma-Forschung angewendete automatisierte Methode zum Durchführen von Millionen biochemischer, genetischer oder pharmakologischer Tests im hohen Durchsatz, verwendet. Hierbei werden auf sog. Mikrotiterplatten, Glas- oder Kunststoffplatten mit voneinander isolierten Nöpfchen oder Wells, eine Vielzahl von Probesubstanzen untersucht. Die Mikrotiterplatten weisen üblicherweise zwischen 96 und 1536 derartiger Wells auf, welche gleichzeitig analysiert werden.

**[0003]** Für die Analyse von Proben sind grundsätzlich verschiedene Messmethoden bekannt. Weit verbreitet ist die Markierung der zu untersuchenden Substanz mit Enzymen oder Fluoreszenzfarbstoffen. Bei der Analyse werden in dem hier relevanten Fall der optischen Analyse, die Proben mit Anregungslicht beleuchtet, die Proben werden dadurch zur Aussendung von Lumineszenz- oder Fluoreszenzstrahlung angeregt und diese von ihnen abgegebene Strahlung wird anschließend aufgenommen und ausgewertet. Üblicherweise wird hierzu ein System verwendet, welches alle auf einer Mikrotiterplatte angeordneten Proben oder Assays mit Anregungslicht einer bestimmten Wellenlänge gleichzeitig beleuchtet und das einen Detektor aufweist, mit dem das von den Proben oder Assays ausgesandte Licht, einer etwas unterschiedlichen Wellenlänge, detektiert werden kann. Die Wellenlängen von Anregungs- und aufgenommener Strahlung werden über Filter soweit möglich getrennt, was jedoch nicht vollständig möglich ist. Im Detail gibt es für den Aufbau derartiger Analysesysteme verschiedene Vorschläge.

**[0004]** Aus der EP 1 581 558 B1 ist beispielsweise ein Analysesystem bekannt, bei dem die Proben auf der Mikrotiterplatte mit einer weißen Lichtquelle, beispielsweise einer Gasentladungslampe, über eine Feldlinse beleuchtet werden und das von den Proben emittierte Licht über dieselbe Feldlinse auf ein Abbildungssystem und über dieses auf einen Wandler abgebildet wird. Um Anregungslicht und Lumineszenz- bzw. Fluoreszenzlicht zu trennen, ist die Anregungsoptik mit einem Anregungsfilter versehen, der aus dem Beleuchtungslicht alle Frequenzen herausfiltert, welche mit der Fluoreszenz- bzw. Lumineszenzstrahlung überlappen können. Ebenso weist das Abbildungssystem einen Abbildungsfilter auf, der idealerweise nur das Licht der Fluoreszenz- oder Lumineszenzstrahlung passieren lässt. Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang liegen in kleinem Winkel zueinander nebeneinander angeordnet, möglichst nahe

beieinander, um dieselbe Feldlinse effizient von derselben Seite nutzen zu können, so dass die Proben optimal beleuchtet werden können und auch das von ihnen ausgesandte Licht optimal aufgenommen werden kann.

**[0005]** Bei einigen Analyseverfahren hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die Mikrotiterplatten von der Unterseite her zu beleuchten und zu analysieren. So ist beispielsweise aus der US 5,355,215 ein Fluoreszenzleser bekannt, bei dem eine am Boden der Wells transparente Mikrotiterplatte von der Unterseite her angeregt und die von den Proben ausgesandte Fluoreszenzstrahlung ebenfalls von einem an der Unterseite der Platte angeordneten Detektor detektiert wird. Grundsätzlich ist das System für Beleuchtung und Detektion ähnlich aufgebaut, wie das zuvor beschriebene.

**[0006]** Darüber hinaus sind Systeme bekannt, welche den Anregungs- und Abbildungsstrahlengang jeweils durch teildurchlässige Spiegel trennen, so dass beide parallel durch die Feldlinse hindurchtreten.

**[0007]** Grundsätzlich besteht bei all diesen Systemen die Problematik, dass das Anregungslicht der Beleuchtungslichtquelle um mehrere Dimensionen stärker ist, als das von den Proben ausgesandte, zu detektierende Fluoreszenzlicht und deren Wellenlängen darüber hinaus noch sehr nahe beieinander liegen. Gerade wenn man mit einem sehr hohen Durchsatz arbeiten will, ist es deshalb wesentlich, so viel Beleuchtungslicht wie möglich auf die Proben zu bekommen, gleichzeitig aber zu verhindern, dass ein hoher Anteil von Störlicht auf den Detektor auftrifft.

**[0008]** Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein System zur optischen Analyse von Probenarrays mit einer möglichst effizienten Beleuchtung auszustatten, dabei aber das Signal zu Rauschverhältnis der Analysestrahlung nicht zu verschlechtern.

**[0009]** Gelöst wird die Aufgabe gemäß der Erfindung, durch ein System zur optischen Analyse von Probenarrays mit den Merkmalen von Anspruch 1.

**[0010]** In einem optischen Analysesystem für Proben, welche in einer Vielzahl nebeneinander in Probenplatten angeordnet sind und bei dem die Proben mit Anregungslicht beleuchtet werden, welches von einer Anregungslichtquelle ausgesandt und über eine Abbildungsoptik auf die Proben abgebildet wird, um diese zum Aussenden von Fluoreszenz- oder Lumineszenzstrahlung zu veranlassen, wird erfindungsgemäß im Beleuchtungsstrahlengang vor der Probenplatte, unter- oder oberhalb dieser, ein Lichtleiterarray angeordnet, durch den das Anregungslicht auf die Proben geleitet wird. Im Beleuchtungsstrahlengang des Anregungslichts ist also nahe der Probenplatte, zwischen der Abbildungsoptik der Be-

leuchtung und der Probenplatte, parallel zur Probenplatte, ein Lichtleiterarray angeordnet, über den das Anregungslicht über Totalreflexion an den Wänden der Lichtleiter, d. h. nahezu verlustfrei, gezielt auf die Proben geleitet wird. Dadurch kann eine deutlich effizientere Lichteinkopplung in die Probe erfolgen, wobei gleichzeitig das Störlicht reduziert werden kann.

**[0011]** Vorzugsweise ist jeder Aufnahme der Probenplatte, in der sich eine zu analysierende Probe befinden kann, wenigstens ein Lichtleiter zugeordnet, durch den das Anregungslicht in diese Probe eingekoppelt wird. Dadurch kann das Anregungslicht, welches auf eine bestimmte Fläche auftrifft, jeweils gezielt über je einen einzelnen Lichtleiter in eine Probe geleitet werden. Besonders wichtig ist aber, dass bei Analysesystemen, bei denen sich der Detektor auf derselben Seite der Probenplatte befindet, wie die anregende Lichtquelle und somit auch das aufzunehmende Licht der Lumineszenzstrahlung, welches von den Proben ausgesandt wird, durch denselben Lichtleiterarray zurückgeführt werden muss, eine optimale Trennung der, jeweils einzelnen Proben zugeordneten, Lichtleiter möglich ist, wodurch ein Übersprechen von einer Probe zur anderen nahezu ausgeschlossen werden kann.

**[0012]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform sind die Lichtein- und -austrittsflächen der Lichtleiter plan und jeweils so ausgerichtet, dass das an ihnen reflektierte Anregungslicht der Beleuchtungsquelle nicht auf den Detektor reflektiert werden kann. Sie sind also geneigt zur Winkelhalbierenden, zwischen Lichtquelle und Sensor angeordnet. Dadurch ist nahezu ausgeschlossen, dass Licht, das an den Lichteintritts- und -austrittsflächen der Lichtleiter reflektiert wird, auf den Detektor fällt und das Signal zu Rauschverhältnis des aufzunehmenden Fluoreszenz- oder Lumineszenzlicht der Proben negativ beeinträchtigt. Bei einer gekrümmten Oberfläche, welche zusätzlich fokussieren könnte, gäbe es nämlich immer einen Bereich, bei dem das Beleuchtungslicht auf den Detektor reflektiert wird und damit zur Störstrahlung beiträgt.

**[0013]** Bevorzugt ist die Fläche des Lichtleiters, welche als Lichtaustrittsfläche für das Anregungslicht dient und der Probe gegenüber angeordnet ist, in der Form an die Querschnittsfläche der Aufnahme an der Lichteintrittsposition zur Anregung der Proben angepasst. Das heißt bei runden Proben ist die Lichtaustrittsfläche des Lichtleiters ebenfalls rund, während sie für eckige Aufnahmen eckig ausgebildet ist. Dadurch kann die volle Fläche der Aufnahmen zur Lichteinkopplung genutzt werden, die Effizienz ist sehr hoch.

**[0014]** Besonders vorteilhaft ist das System, wenn die Lichtleiter des Lichtleiterarrays so geformt sind, dass die Lichteintrittsfläche der Anregungsstrahlung, welche der Lichtquelle zugewandt ist, größer ist, als

die Lichtaustrittsfläche, die den Proben gegenüber liegt. Damit dient der Lichtleiter als Querschnittswandler und kann die, von der Lichtquelle ausgesandte Strahlung, welche der Anregung der Proben dienen soll, direkt zu den Aufnahmen hin lenken. Durch den Einsatz des Lichtleiters als Querschnittswandler kann gewährleistet werden, dass deutlich mehr Anregungslicht auf die Proben gelenkt wird, gleichzeitig wird vermieden, dass Anregungslicht auf die Bereiche der Probenplatte fällt, an denen sich keine Aufnahmen befinden. Dadurch wird zum einen die Effizienz des Systems deutlich erhöht, indem mehr Anregungslicht zur Beleuchtung der Proben verwendet wird, gleichzeitig wird das Signal zu Rauschverhältnis verbessert, da vermieden wird, dass Anregungslicht auf Stege der Bodenplatte fallen kann, von wo aus sie diffus irgendwohin gestrahlt wird und dabei auch auf den Detektor gelangen kann. Je nach gewünschter Lichtleitung und Form der Aufnahme der Proben kann der Lichtleiter vorzugsweise konisch als gerader oder schiefer Kegelstumpf oder pyramidenförmig in ähnlicher Ausführungsform aufgebaut sein.

**[0015]** In einer bevorzugten Ausführungsform sind die Lichtleiter an ihrer Lichteintrittsfläche für das Anregungslicht so groß, dass sie nebeneinander angeordnet in dem Lichtleiterarray die gesamte Fläche der Probenplatte, an der sich Probenaufnahmen befinden, überdecken, so dass all das von der Lichtquelle auf die Probenplatte ausgesandte Anregungslicht von ihnen zu den Proben geleitet werden kann. Ihre Lichteintrittsfläche ist dabei so geformt, dass die einzelnen Lichtleiter möglichst dicht beieinander liegen. So können sie vorzugsweise selbst dann eine rechteckige oder auch sechseckige Lichteintrittsfläche haben, wenn die Lichtaustrittsfläche rund ist, weil die Probenaufnahme rund ist. Indem Lichtleiter verwendet werden, ist es also nicht nur möglich, den Querschnitt von Lichteintritts- zu Lichtaustrittsfläche zu wandeln, sondern auch die jeweils zum Sammeln des Lichts und auf den anderen Seite zum Einkoppeln des Lichts in die Proben ideale Flächenform zu verwenden und im Lichtleiter zu wandeln. Dadurch ist eine optimale Ausnutzung der Beleuchtungsstrahlung möglich. Dies wieder ermöglicht auch den Einsatz billiger Lichtquellen wie von LED, ohne den Probendurchsatz zu verringern.

**[0016]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wächst die Querschnittsfläche der Lichtleiter mit wachsendem Abstand der Lichtleiter zur Beleuchtungseinheit. Um Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang zu trennen, sind bei derartigen Systemen die Lichtquellen im Allgemeinen leicht schräg zur Flächennormalen auf die Probenplatte angeordnet. Deshalb trifft das Licht schräg auf den Lichtleiterarray auf. Dadurch gibt es Lichtleiter, die näher an der Lichtquelle sind als andere. Diese erhalten damit pro Flächeneinheit mehr Licht und können damit

mehr Licht auf die Proben leiten. Ziel ist es jedoch, die Proben möglichst gleichmäßig zu beleuchten, um das Ergebnis nicht zu verfälschen. Deshalb wird der Lichtleiterarray so aufgebaut, dass die weiter von der Lichtquelle entfernten Lichtleiter eine größere Licht eintrittsfläche für das Anregungslicht und damit eine größere Sammelkapazität haben, so dass sie mehr von dem, an dieser Stelle weniger intensiven Licht, auf sammeln können und somit bei entsprechender Wahl der Größe der Lichtleiter insgesamt gleich viel Licht auf die Proben fällt. Damit kann ganz ohne zusätzliche, das Licht harmonisierende, Einrichtung, wie beispielsweise eine Feldlinse, eine gleichmäßige Beleuchtung der Proben bewirkt werden. Durch den Verzicht auf die Feldlinse kann ein weitaus kostengünstigeres Auslesesystem erzeugt werden.

**[0017]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform beträgt der Abstand zwischen Lichtleiter und Lichteintrittsfläche der Probenaufnahme zwischen 0,2 und 0,3 mal den Durchmesser der Lichteintrittsfläche. Für gängige Mikrotiterplatten würde der Abstand vorzugsweise bei etwa 2 mm liegen. Damit kann die optimale Einkopplung von Licht gewährleistet werden.

**[0018]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist an der Lichtaustrittsfläche für das Anregungslicht, welche den Proben zugewandt ist, an jedem Lichtleiter bzw. in dessen naher Umgebung eine Heizeinrichtung angeordnet. Da der Abstand zwischen Lichtleiterarray und Proben sehr klein ist, um möglichst viel Licht in die Proben zu bekommen, kann es passieren, dass Probensubstanz an den Lichtleiter gelangt. Tröpfchen, die sich an der Lichtaustrittsfläche des Lichtleiters absetzen, könnten dort ankommendes Anregungslicht reflektieren und direkt auf den Detektor zurück streuen. Dadurch würde das Ergebnis maßgeblich verfälscht. Um dies zu verhindern, wird vorgeschlagen die Lichtaustrittsfläche der Lichtleiter zu beheizen, um so das störende Material zu verdampfen und die Lichtleiterfläche sauber zu halten. Hierdurch kann Störstrahlung vermieden werden. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird eine Heizeinrichtung, die zur Beheizung der Proben oder deren Abdeckung vorgesehen ist so angeordnet, dass sie die Lichtaustrittsflächen der Lichtleiter mit beheizen kann.

**[0019]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist der Lichtleiter als Kunststoffspritzgussteil hergestellt. Der ganze Lichtleiterarray kann so idealerweise als ein Spritzgussteil geformt sein. Als Kunststoff wird bevorzugt ein optisch hochwertiger Kunststoff, wie beispielsweise PC oder Zeonex verwendet. Gerade wenn die Lichtleiter als Querschnittswandler ausgebildet sind, ist die Herstellung eines Spritzgussteils besonders vorteilhaft, da die Entformung aus dem Werkzeug aufgrund der Verjüngung der Form des Lichtleiters besonders einfach ist.

**[0020]** In einer vorteilhaften Ausführungsform sind Lichtquelle und Detektorarray, welcher vorzugsweise hoch auflösend ausgebildet ist, auf derselben Seite der Bodenplatte angeordnet. Dadurch ist die Trennung von Beleuchtungslicht und der aufzunehmenden Analysestrahlung einfacher als wenn von einer Seite beleuchtet und von der anderen Seite aufgenommen werden würde.

**[0021]** Um zu verhindern, dass das von einer Probe ausgesandte Lumineszenz- oder Fluoreszenzlicht in den Aufnahmestrahengang einer anderen Probe gelangt, was ein sogenanntes Übersprechen verursachen würde und die Auswertung der Probenanalyse stark verfälschen könnte, werden die einzelnen Lichtleiter des Lichtleiterarrays, welche vorzugsweise jeweils einer Probe zugeordnet sind, optisch voneinander getrennt. Vorzugsweise sind hierfür schwarze Trennwände zwischen den Lichtleitern angeordnet. Die Trennwände sind insbesondere im Lichteintrittsbereich der Anregungsstrahlung möglichst schmal, so dass sie nur einen sehr geringen Anteil der Oberfläche des Lichtleiterarrays einnehmen, so dass möglichst wenig Anregungslicht von ihnen abgefangen wird. Vorzugsweise nehmen sie nicht mehr als fünf Prozent der Oberfläche ein.

**[0022]** In einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform sind die Beleuchtung, der Detektor und auch der Lichtleiterarray auf der Unterseite der Probenplatte angeordnet. Die Probenplatte ist in diesem Fall im Bereich der Proben transparent, so dass sowohl das Anregungslicht als auch das von den Proben ausgesandte Lumineszenz- oder Fluoreszenzlicht durch die Probenplatte hindurch auf die Lichtleiter und über diese in den Detektor gelangen kann. Ein großer Vorteil dieser Ausführungsform ist, dass der Lichtleiterarray durch den Boden der Bodenplatte selbst gegen die Probensubstanz abgeschirmt ist, so dass diese nicht an den Lichtleiter gelangen kann. Somit kann auf eine Heizung oder andere Maßnahme zur Reinigung des Lichtleiterarrays verzichtet werden.

**[0023]** Um zu vermeiden, dass eventuelle Kratzer an der Unterseite der Probenplatte die Qualität der Aufnahme beeinträchtigen, indem sie das Licht streuen, wird in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform an der Unterseite der Probenplatte eine Emulsionsschicht angeordnet.

**[0024]** Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus den Unteransprüchen im Zusammenhang mit der Beschreibung eines Ausführungsbeispiels, das anhand der Zeichnungen eingehend erläutert wird.

**[0025]** Es zeigen:

**[0026]** [Fig. 1](#) die schematische Schnittdarstellung eines Systems zum Anregen und Auslesen von Pro-

ben nach dem Stand der Technik,

[0027] **Fig. 2** ein System wie in **Fig. 1**, nur mit einem Lichtleiterarray zum effizienteren Nutzen der Anregungsstrahlung,

[0028] **Fig. 3** ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Systems mit unterschiedlich großen Eintrittsflächen der Lichtleiter,

[0029] **Fig. 4** ein weiteres Ausführungsbeispiel eines solchen Systems, bei dem von der Unterseite der Proben angeregt und ausgelesen wird mit einem erfindungsgemäßen Lichtleiterarray,

[0030] **Fig. 5** die Detaildarstellung eines vor einer Probe angeordneten Lichtleiters schematisch mit Parameterangaben,

[0031] **Fig. 6** ein Diagramm für den Abstand des Lichtleiters zur Probe in Abhängigkeit der Lichtleiterflächen und

[0032] **Fig. 7** eine Darstellung des Abstands des Lichtleiters von der Probe unter Berücksichtigung der Flächen des Lichtleiters und der Eintrittsfläche in die Probe.

[0033] **Fig. 1** zeigt schematisch einen Fluoreszenzleser, wie er heutzutage üblich ist. Eine Lichtquelle 1 sendet Licht zum Anregen von Proben 2 aus. Bei der Lichtquelle kann es sich beispielsweise um eine Halogenlampe oder Ähnliches handeln, heutzutage werden an dieser Stelle auch LED in Betracht gezogen. Das Licht der Lichtquelle 1 wird über einen nicht dargestellten Filter so gefiltert, dass vor allem das für die Anregung der Proben 2 optimale Anregungslicht des Spektrums auf die Proben 2 gelangt, während das Licht, welches nur Störstrahlung verursachen würde, abgeblockt wird. Das Licht der Lichtquelle 1 wird über eine Abbildungsoptik der Beleuchtungseinrichtung 3 gelenkt, so dass es gut auf die Proben 2 abgebildet wird. Über eine Feldlinse 4 wird dieses Licht vor der Probenplatte 5 der Proben 2 homogenisiert, so dass auf jede der Proben 2 annähernd gleich viel Licht der Lichtquelle 1 gelangt. Mit diesem von der Lichtquelle 1 ausgesandten Anregungslicht wird die in den Proben 2 befindliche Substanz angeregt und gegebenenfalls zum Aussenden von Fluoreszenzlicht oder Lumineszenzlicht veranlasst. Diese Auswertstrahlung wird wiederum über die Feldlinse 4 und eine Abbildungsoptik der Aufnahmeeinrichtung 6 auf einen Detektor 7 abgebildet. Bei dem Detektor 7 handelt es sich um einen hoch auflösenden Sensor, beispielsweise einem CCD-Sensor, welcher ein detailliertes Bild jeder Probe aufnehmen kann. Mit einer derartigen Fluoreszenzleseeinrichtung können bereits sehr viele Proben 2 im Schnelldurchsatz untersucht werden. Dennoch ist es wünschenswert, die Effizienz weiter zu steigern, um mit weniger lichtstarken

Lichtquellen 1, wie beispielsweise LED aus zukommen oder einen noch schnelleren Durchsatz der Proben 2 zu ermöglichen.

[0034] Aus diesem Grund wird in der erfindungsgemäßen Leseeinrichtung, welche in der **Fig. 2** dargestellt ist, vorgeschlagen, einen Lichtleiterarray 8 vor der Probenplatte 5 anzuordnen. Der Lichtleiterarray 8 weist einzelne Lichtleiter 9, welche das an ihrer Lichteintrittsfläche 10 eintretende Anregungslicht über Totalreflexion zur Lichtaustrittsfläche 11 weiterleiten, auf. Für den Strahlengang des Fluoreszenz- bzw. Lumineszenzlichts wird die Lichteintrittsfläche 10 zur Lichtaustrittsfläche und umgekehrt. Der Einfachheit halber werden diese Flächen aber in Richtung des Strahlengangs des Anregungslichts bezeichnet. Zwischen diesen Lichtleitern 9 sind schwarze Trennflächen 12 angeordnet, über die die einzelnen Lichtleiter 9 optisch getrennt werden. Über die Lichtleiter 9 des Lichtleiterarrays 8 wird das Anregungslicht der Lichtquelle 1 jeweils auf eine der Proben 2 gelenkt, wobei die als Querschnittswandler ausgebildeten Lichtleiter 9 das Licht über nahezu die gesamte beleuchtete Fläche aufnehmen, aber nicht auf die gesamte Probenplatte 5, sondern nur in die mit Proben 2 gefüllten Aufnahmen 13 leiten. Durch diese Umlenkung des Lichts von der gesamten Lichteintrittsfläche 10 auf den relativ schmalen Bereich der Lichtaustrittsfläche 11 wird vermieden, dass die zwischen den Aufnahmen 13 liegenden Stege 14 der Probenplatte 5, welche nicht mit Proben 2 gefüllt sind, unnötig beleuchtet werden. Hierdurch wird zum einen Lichtverlust vermieden, welcher durch die Beleuchtung der Stege 14 zustande käme, zum anderen wird aber auch vermieden, dass durch Reflexion an diesen Stegen 14 zusätzlich Störstrahlung auf den Detektor 7 fallen würde. Am Detektor 7 ist zwar, ebenso wie nach der Lichtquelle 1, ein Filter angeordnet, durch den Anregungslicht und Aufnahmelicht, welches von den Proben 2 ausgesandt wird, möglichst gut getrennt werden sollen, eine vollständige Trennung dieser Strahlungen ist jedoch über Filterung allein nicht möglich, da die Wellenlängen von Anregungslicht und Aufnahmelicht zu nahe beieinander liegen. Durch die Anordnung jeweils eines Lichtleiters 9 vor jeweils einer Probe 2 kann somit das Licht der Lichtquelle 1, welches der Anregung der Proben 2 dient, auf nur die Bereiche bei denen es der Anregung dienen kann gelenkt werden und dadurch deutlich effizienter genutzt werden. Zum anderen kann das Signalrauschverhältnis des Aufnahmesignals deutlich verbessert werden, da an den Stegen 14 weniger Licht ankommt, welches Störstrahlung am Detektor 7 verursachen könnte. Des Weiteren ist vor den Lichtleitern 9, also an der den Proben 2 gegenüberliegenden Lichtaustrittsfläche 11 oder nahe bei ihr, eine Heizung 15 angeordnet, welche die Luft vor der Lichtaustrittsfläche 11 so stark erwärmt, dass Probensubstanz, welche aufgrund der relativ nahen Anordnung der Lichtleiter 9 an der Probe 2 auf die Lichtaustrittsflä-

che **11** der Lichtleiter **9** gelangen kann, von diesen wieder verdampft wird, so dass die Lichtaustrittsfläche **11** sauber bleibt und das Licht der Lichtquelle **1** und auch das von den Proben **2** ausgesandte Licht ungehindert durchtreten kann. Die Feldlinse **4** ist auch bei dieser Fluoreszenzleseeinrichtung vorteilhaft zum Homogenisieren des Anregungslichts, sie ist jedoch nicht zwingend notwendig. Da das Beleuchtungslicht bei dieser Anordnung über den Lichtleiterarray **8** ohnehin sehr effizient ausgenutzt wird, könnte auf eine vorherige Homogenisierung verzichtet werden. In diesem Fall müsste nur eine Kalibrierung der Aufnahmeeinrichtung erfolgen, so dass die ungleichmäßige Beleuchtung bei der Auswertung berücksichtigt werden kann. Um auch ohne Feldlinse **4** annähernd gleich viel Licht in alle Proben **2** zu bekommen und damit ein möglichst unverfälschtes Ergebnis zu erhalten, kann beispielsweise der in [Fig. 3](#) gezeigte Aufbau realisiert werden. Hier sind insbesondere die Lichteintrittsflächen **10** der Lichtleiter **9** unterschiedlich groß, so dass die Lichtleiter **9** jeweils unterschiedlich viel der von der Lichtquelle **1** ausgesandten Strahlung zur Anregung der Proben **2** auf diese lenken. Dadurch wird dem Rechnung getragen, dass pro Flächeneinheit unterschiedlich viel Licht der Lichtquelle **1** auf der Lichteintrittsfläche **10** der Lichtleiter **9** ankommt, je nach dem ob sich der Lichtleiter **9** im Zentrum oder am Rand des Strahlengangs der Lichtquelle **1** befindet. Da beispielsweise im Zentrum des Strahlengangs pro Flächeneinheit am meisten Anregungsenergie auf der Lichteintrittsfläche **10** des Lichtleiters **9** ankommt, ist hier die Lichteintrittsfläche **10** am kleinsten, während sie zum Rand hin fortlaufend zunimmt. Die Größe der Lichteintrittsflächen **10** der Lichtleiter **9** ist also an das Profil der Anregungsstrahlung im Bereich der Lichteintrittsfläche **10** angepasst.

**[0035]** In einem weiteren Ausführungsbeispiel ist sowohl die Lichtquelle **1** mit ihrer Abbildungseinheit **3**, wie auch der Detektor **7** mit seiner Abbildungseinheit **6**, an der Unterseite der Probenplatte **5** angeordnet. Auch der Lichtleiterarray **8** ist in diesem Ausführungsbeispiel an der Unterseite der Probenplatte **5** angeordnet, so dass sowohl Anregungslicht als auch Abbildungslicht durch ihn geleitet wird. Er könnte sogar in einer weiteren Ausführungsform integrativer Bestandteil der Probenplatte **5** sein, jedoch würde dies eine komplexere Produktionsanlage für die Probenplatte **5** voraussetzen. Vorteil dieser Anordnung ist, dass trotz geringen Abstandes der Lichtleiter **9** zur Probe **2**, keine Substanz aus der Probe **2** an den Lichtleiter **9** gelangen kann. Nachteilig ist, dass es bei Unreinheiten oder Verkratzungen an der Unterseite der Probenplatte **5** zu erhöhter Störstrahlung bei der Aufnahme kommen kann. Um dies zu vermeiden, wird vorgeschlagen, eine Emulsionsschicht, wie beispielsweise Wasser, bei der Aufnahme an der Probenplatte **5** aufzubringen, so dass eine gleichmäßige Oberfläche entsteht. Auch bei diesem Ausführungsbeispiel

könnte zur Homogenisierung der Anregungsstrahlung entweder mit einer Feldlinse gearbeitet werden oder mit ungleichgroßen Lichteintrittsflächen **10** der Lichtleiter **9**.

**[0036]** Bei dem Einsatz von Lichtleitern **9** zum Sammeln und Leiten, vor allem des Anregungslichts auf die Proben **2**, ist es von besonderer Bedeutung, den Abstand  $d$  zwischen der Oberfläche der Probenplatte **5** und der Lichtaustrittsfläche **11** des Lichtleiters **9** so zu wählen, dass möglichst viel Anregungslicht in die Proben **2** gelenkt wird. Um den günstigsten Abstand  $d$  zu ermitteln, müssen die Durchmesser  $D_1$  der Lichteintrittsfläche **10**,  $D_2$  der Lichtaustrittsfläche **11** und  $D_3$  der Lichteintrittsfläche in die Probe **2**, unter Berücksichtigung des Lichteinfallswinkels  $\alpha_1$  auf den Lichtleiter **9** und Lichtaustrittswinkel  $\alpha_2$  zwischen Lichtleiter **9** und Probe gebildet werden. Setzt man diese ins Verhältnis, so gilt:

$$d = \frac{D_3 - D_2}{2 \cdot \tan(\arcsin(\frac{\sin \alpha_1}{D_2/D_1}))}$$

wobei alle angegebenen Größen anhand von [Fig. 5](#) angegeben sind. Für eine Optimierung des Abstandes  $d$  wurde eine Parametrisierung für eine Lichteintrittsfläche  $D_1$  von 1 mm, einem Lichteinfallswinkel von  $12^\circ$  und einer Ausnahmenfläche  $D_3$  von 0.6 bis 0.8 und einem Verhältnis der Flächen  $D_1/D_3$  von 0.25 bis 0.7 durchgeführt. Das Ergebnis dieser Überlegungen ist beispielhaft in den [Fig. 6](#) und [Fig. 7](#) dargestellt. Anhand des sich dabei ergebenden Zusammenhangs kann jeder bevorzugte Abstand, abhängig von der Größe der Aufnahmen der zu analysierenden Proben **2** nach der angegebenen Formel ermittelt werden.

#### Bezugszeichenliste

<b>1</b>	Lichtquelle
<b>2</b>	Probe
<b>3</b>	Abbildungsoptik der Beleuchtungseinrichtung
<b>4</b>	Feldlinse
<b>5</b>	Probenplatte
<b>6</b>	Abbildungsoptik der Aufnahmeeinrichtung
<b>7</b>	Detektor
<b>8</b>	Lichtleiterarray
<b>9</b>	Lichtleiter
<b>10</b>	Lichteintrittsfläche
<b>11</b>	Lichtaustrittsfläche
<b>12</b>	Trennfläche
<b>13</b>	Aufnahmen
<b>14</b>	Stege
<b>15</b>	Heizung
<b>16</b>	Emulsionsschicht

**ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG**

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

**Zitierte Patentliteratur**

- EP 1581558 B1 [\[0004\]](#)
- US 5355215 [\[0005\]](#)

### Patentansprüche

1. System zur optischen Analyse von Probenarrays mit einer Lichtquelle (1) zum gleichzeitigen Beleuchten einer Vielzahl von, in den Aufnahmen (13) einer Probenplatte (5), nebeneinander, angeordneten Proben (2) mit Anregungslicht und mit einem Detektorarray (7) zum Erfassen der von den Proben (2) ausgesandten Lumineszenzstrahlung, **dadurch gekennzeichnet**, dass vor der Probenplatte (5) ein Lichtleiterarray (8) angeordnet ist, zum Leiten des Anregungslichts auf die Proben (2).

2. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Anzahl der Lichtleiter (9) des Lichtleiterarrays (8) wenigstens der Anzahl der Aufnahmen (13) der Probenplatte (5) entspricht.

3. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass jeweils ein Lichtleiter (9) vor einer Aufnahme (13) angeordnet ist.

4. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die der Probenplatte (5) zugewandte Lichtaustrittsfläche (11) des Lichtleiters (9) und die von der Probenplatte (5) abgewandte Lichteintrittsfläche (10) des Lichtleiters (9) plan sind.

5. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Form der, der Probenplatte (5) zugewandten, Lichtaustrittsfläche (11) des Lichtleiters (9) der Form der Lichteintrittsfläche der Aufnahme (13) entspricht.

6. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die, der Probenplatte (5) abgewandte Lichteintrittsfläche (10) der Lichtleiter (9) größer ist als die, der Probenplatte (5) zugewandte Lichtaustrittsfläche (11).

7. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Lichtleiter (9) konisch oder pyramidenförmig geformt ist.

8. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchmesser der Lichteintrittsflächen (10) von Lichtleitern (9), die von der Probenplatte (5) abgewandt sind, dem Abstand der Mittelpunkte der Aufnahmen (13) für die Proben (2) entspricht.

9. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 6, 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Größe der Lichteintrittsfläche (10)

nebeneinander liegender Lichtleiter (9) eines Lichtleiterarrays (8) um so größer gewählt ist, je kleiner die Flächenintensität des auf die Lichteintrittsfläche (10) auftreffenden Anregungslichts ist.

10. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach einem der Ansprüche 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Form der Lichteintrittsfläche (10) eckig ist, zum Flächenfüllenden nebeneinander anordnen der Lichtleiter (9), die Form der Lichtaustrittsfläche (11) entspricht der Form der Lichteintrittsfläche der Aufnahmen (13) der Proben (2).

11. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass für den Abstand zwischen Lichtleiter (9) und Probenplatte (5) d gilt:

$$d = \frac{D_3 - D_2}{2 \cdot \tan(\arcsin(\frac{\sin \alpha_1}{D_2 / D_1}))},$$

wobei D1 der Durchmesser der Lichteintrittsfläche (10), D2 der Durchmesser der Lichtaustrittsfläche (11) und D3 der Durchmesser der Lichteintrittsfläche in die Probe (2), sowie  $\alpha_1$  der Lichteinfallswinkels auf den Lichtleiter (9) sind.

12. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass der Abstand d zwischen Lichtleiter (9) und Probenplatte (5) bei einem Lichteinfallswinkel  $\alpha_1$  von 12° zwischen 2 und 3 mm beträgt.

13. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach einem der Ansprüche 3 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtleiter (9) des Lichtleiterarrays (8) an ihrer der Probenplatte (5) zugewandten Lichtaustrittsfläche (11) mit einer Heizeinrichtung (15) ausgestattet sind.

14. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Lichtleiterarray (8) als Spritzgussteil aus einem optisch hochwertigen Kunststoff geformt ist.

15. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Lichtquelle (1) und Detektorarray (7) auf einer Seite der Probenplatte (5) angeordnet sind.

16. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtleiter (9) des Lichtleiterarrays (8) optisch getrennt sind.

17. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet,

dass zwischen den Lichtleitern (9) des Lichtleiterarrays (8) Trennflächen (12) angeordnet sind.

18. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 15, 16 oder 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Lichtleiterarray (8) an der Unterseite der Probenplatte (5) angeordnet ist und die Probenplatte (5) an der Unterseite der Aufnahmen (13) transparent ist.

19. System zur optischen Analyse von Probenarrays nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass unterhalb der Probenplatte (5) eine Emulsionsschicht (16) aufgebracht ist.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Fig. 1

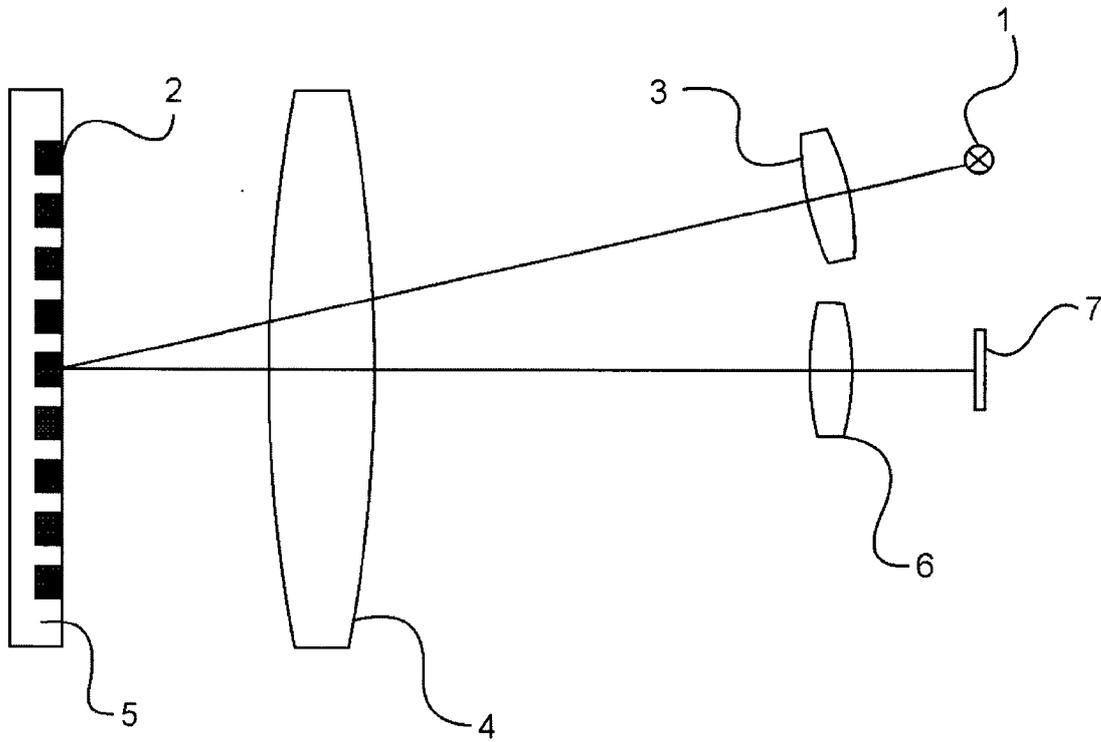


Fig. 2

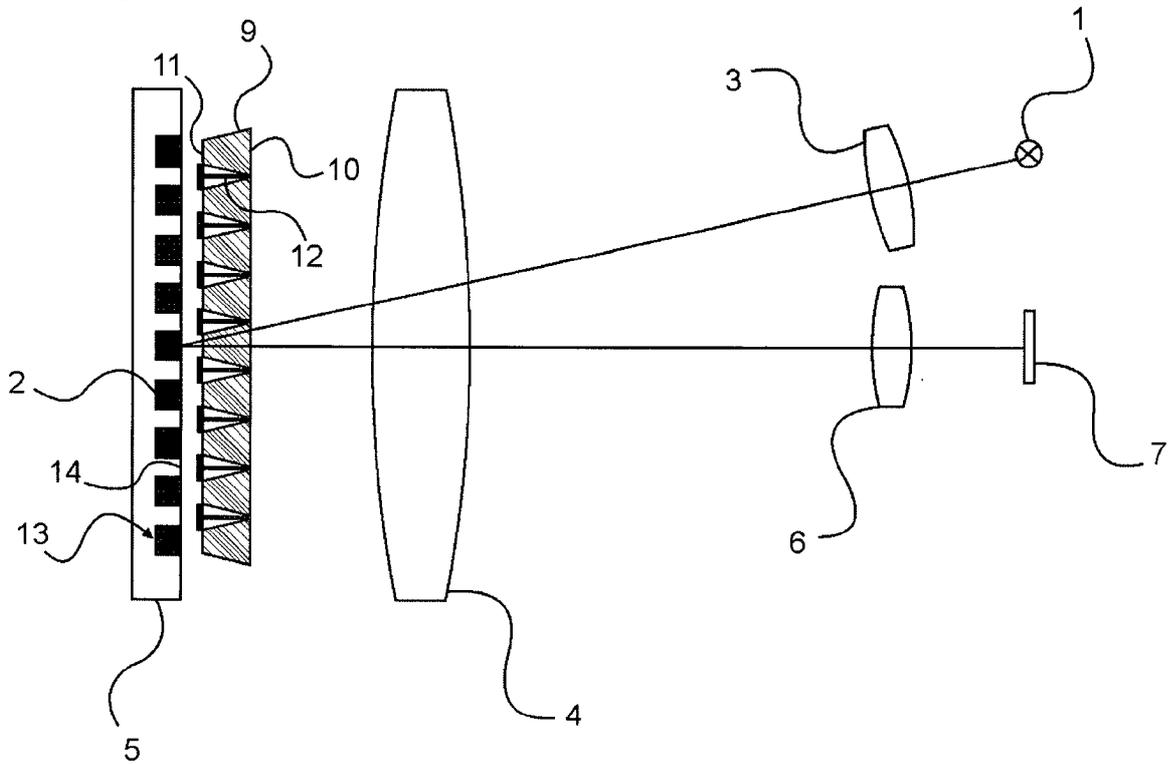


Fig. 3

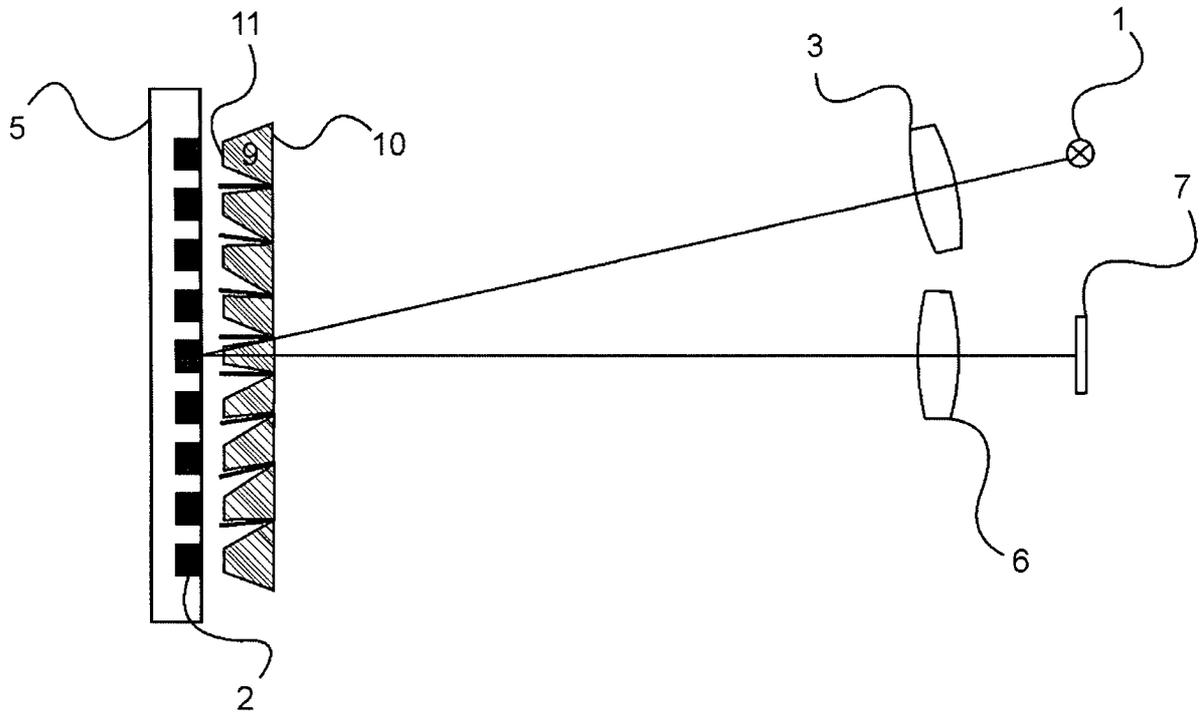


Fig. 4

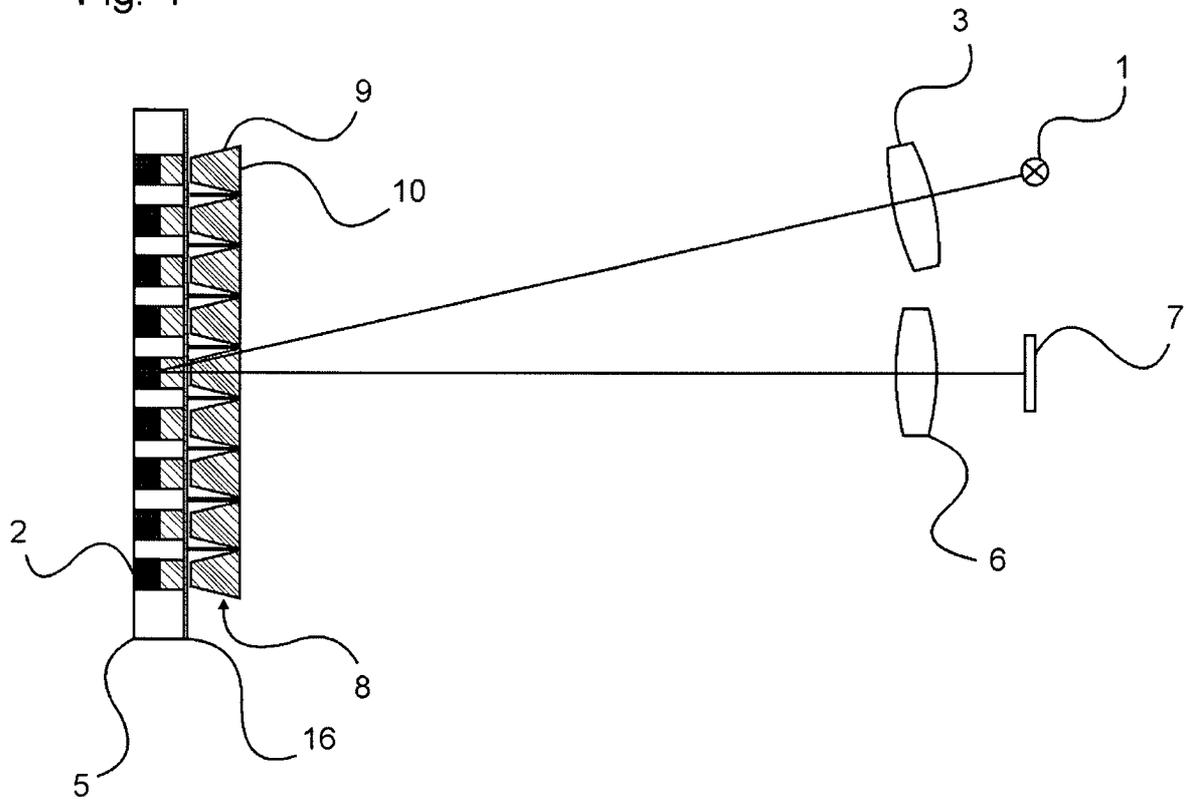


Fig. 5

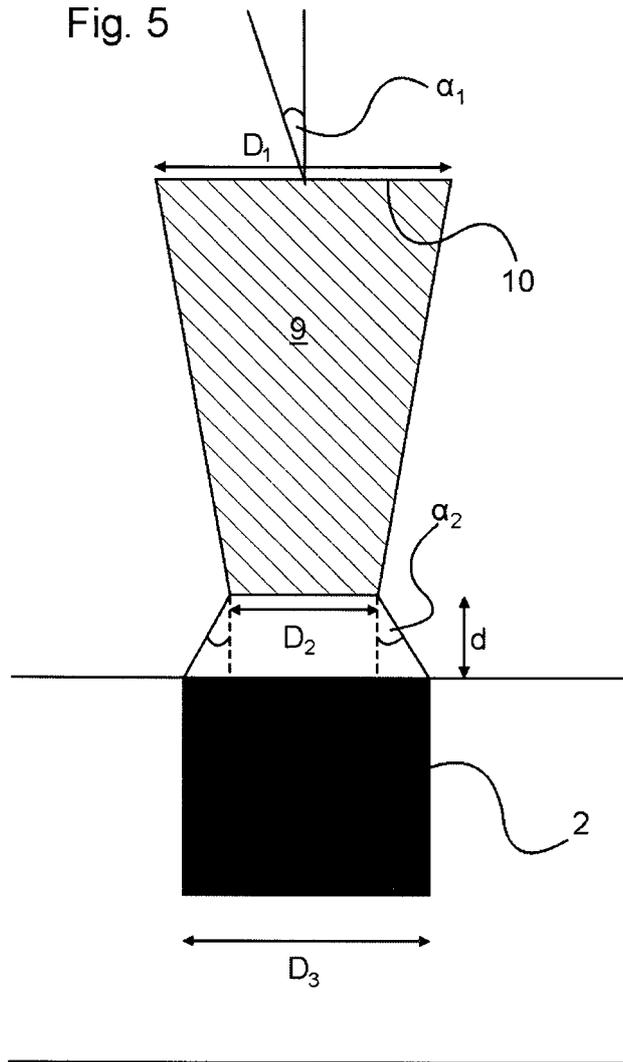


Fig. 6

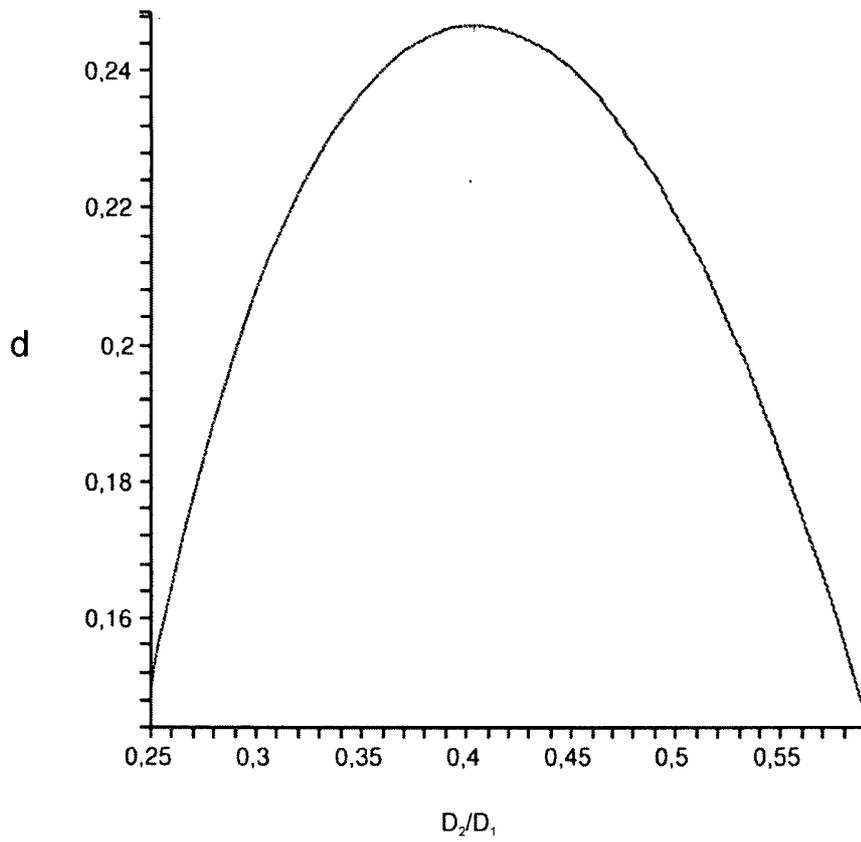


Fig. 7

