



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 102 29 210 A1** 2004.01.29

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **102 29 210.8**

(22) Anmeldetag: **28.06.2002**

(43) Offenlegungstag: **29.01.2004**

(51) Int Cl.7: **G01N 27/327**

(71) Anmelder:
**november Aktiengesellschaft Gesellschaft für
Molekulare Medizin, 91056 Erlangen, DE**

(74) Vertreter:
Dr. Gassner & Partner, 91052 Erlangen

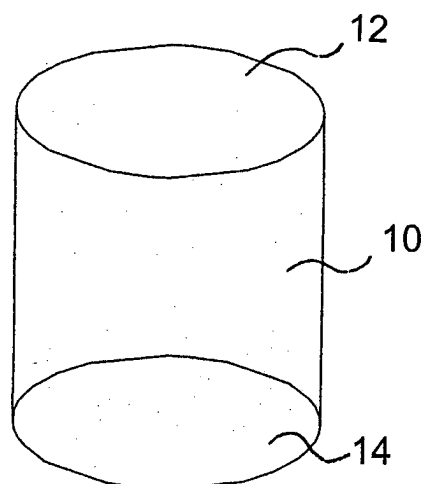
(72) Erfinder:
**Schülein, Jürgen, 91080 Spardorf, DE; Kugler,
Christine, 91080 Spardorf, DE; Meric, Burcu,
91052 Erlangen, DE; Kosak, Hans, Dr., 53123
Bonn, DE; Hassmann, Jörg, Dr., 91052 Erlangen,
DE; Graßl, Björn, 90411 Nürnberg, DE; Kuhlmeier,
Dirk Dr., 90419 Nürnberg, DE**

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung zur Detektion eines Analyten**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Detektion 17 eines Analyten in einer Flüssigkeit mit auf einer ersten Seite 12 einer elektrisch nicht leitenden und für die Flüssigkeit undurchlässigen Platte 10 angeordneten voneinander isolierten Elektroden 15, wobei die Elektroden 15 zumindest teilweise eine Analyt-spezifische Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle aufweisen und über die Platte 10 durchspannende elektrische Leiter von einer zweiten Seite 14 der Platte her elektrisch kontaktierbar oder elektrisch kontaktiert sind.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Detektion eines in einer Flüssigkeit enthaltenen Analyten. Der Analyt kann gelöst oder suspendiert vorliegen. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung und elektrischen Kontaktierung der Vorrichtung. Darüber hinaus betrifft die Erfindung eine Verwendung der Vorrichtung zur Detektion eines Analyten.

[0002] Aus Sosnowsky et al., (1997) Proc. Natl. Acad. Sci USA, 94, Seiten 1119 bis 1123 ist ein Silizium-Chip mit einer Anordnung von Elektroden zum Nachweis einer Nukleinsäure in einer Lösung bekannt. Auf den Elektroden sind über eine Zwischenschicht Fänger-Moleküle immobilisiert, die Analyten spezifisch binden. Die Elektroden werden durch Leitungen auf der Oberfläche des Chips elektrisch kontaktiert. Die Leitungen sind durch eine Siliziumnitrid-Schicht isoliert. Durch Anlegen eines negativen oder positiven Potentials an die Elektroden können geladene Analyte zu den Elektroden mit den Fänger-Molekülen gezogen werden und an die Fänger-Moleküle binden. Ungebundene oder unspezifisch gebundene Analyten können durch Umpolen wieder von dem Bereich der Elektroden entfernt werden. Die Detektion des spezifisch gebundenen Analyten erfolgt mittels Fluoreszenz.

[0003] Weiterhin ist von der Firma Motorola ein unter der Bezeichnung eSensor™ vertriebener Biochip bekannt, bei dem auf der Oberfläche Goldelektroden angeordnet sind. Die Goldelektroden sind seitlich auf der Oberfläche des Biochips kontaktiert. An den Elektroden sind über eine Zwischenschicht Fänger-Moleküle immobilisiert. Der Nachweis eines über die Fänger-Moleküle an eine Elektrode gebundenen Analyten erfolgt mittels Reporter-Molekülen, welche an den gebundenen Analyten binden und elektrochemisch detektierbare Marker aufweisen. Die Bindung dieser Reportermoleküle wird elektrochemisch nachgewiesen.

[0004] Die genannten Elektrodenanordnungen sind aufwändig herzustellen. Sie erfordern z.B. lithografische Techniken. Um den Kontakt der elektrischen Leitungen zu den Elektroden mit einer den Analyten enthaltenden Lösung zu verhindern, muss eine Schutzschicht auf die Leitungen aufgetragen werden. Weiterhin ist es für bestimmte Anwendungen, z.B. als Boden einer Mikrofluidkammer, erforderlich ist, dass der Biochip eine glatte Oberfläche aufweist. Um die durch die Leitungen bedingten Unebenheiten auszugleichen muss daher eine Ausgleichsschicht aufgetragen werden.

[0005] Aufgabe der Erfindung ist es, die Nachteile nach dem Stand der Technik zu vermeiden. Insbesondere soll eine Vorrichtung mit Elektroden zur Detektion eines Analyten bereitgestellt werden, die einfach herzustellen ist.

[0006] Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der Ansprüche 1, 19, 21, 32 und 35 gelöst. Zweckmäßige Ausgestaltungen ergeben sich aus den Merkmalen der Ansprüche 2 bis 18, 20, 22 bis 31, 33, 34 und 36 bis 48.

[0007] Erfindungsgemäß ist eine Vorrichtung zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit auf einer ersten Seite einer elektrisch nicht leitenden und für die Flüssigkeit undurchlässigen Platte angeordneten voneinander isolierten Elektroden vorgesehen, wobei die Elektroden zumindest teilweise eine Analyt-spezifische Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle aufweisen und über die Platte durchspannende elektrische Leiter von einer zweiten Seite der Platte her elektrisch kontaktierbar oder elektrisch kontaktiert sind: Die elektrischen Leiter können dabei mit der Platte und den Elektroden verbunden sein. Die Elektroden können aber auch dadurch von der zweiten Seite her kontaktierbar sein, dass die Platte aus einem weichen Material besteht, dass zum Kontaktieren von elektrischen Leitern bis zu den Elektroden durchstochen werden kann. Unter Platte wird hier ein beliebiger, insbesondere flacher, eine erste und eine zweite Seite aufweisender Grundkörper verstanden. "Teilweise" bedeutet hier und im Folgenden, dass sowohl ein Teil einer einzelnen Elektrode als auch ein Teil der insgesamt vorhandenen Elektroden das jeweilige Merkmal aufweisen kann. "Analyt-spezifisch" bedeutet, dass die Beschichtung oder die Moleküle eine spezifische Affinität oder eine sonstige selektive Eigenschaft für den Analyten oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz, z.B. ein Abbauprodukt des Analyten, aufweisen.

[0008] Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist einfach herzustellen. Es ist nicht erforderlich eine Schutzschicht aufzutragen, um einen Kontakt der Flüssigkeit mit Elektrodenzuleitungen zu verhindern. Weiterhin ist es nicht erforderlich, eine Ausgleichsschicht aufzutragen, um eine ebene Oberfläche der Platte herzustellen. Durch das Entfallen der seitlichen Ableitungen ist es sehr kostengünstig möglich ist, die Vorrichtung in dem Bereich außerhalb der Elektroden völlig plan auszuformen. Dadurch kann die Vorrichtung gut als Boden einer Flüssigkeit aufnehmenden Kammer verwendet werden, ohne dass eine flüssigkeitsdichte Abdichtung dabei problematisch wäre. Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Vorrichtung besteht darin, dass eine höhere Elektrodendichte als mit seitlich abgeleiteten Elektroden möglich ist, weil zwischen den Elektroden kein Raum für die Leitungen freigelassen werden muss.

[0009] Ein weiterer Vorteil der Erfindung besteht darin, dass die Kontaktierung von der zweiten Seite der Platte her kurze Leitungswege ermöglicht. Dadurch kann ein durch die verhältnismäßig langen Leitungswege bei seitlicher Ableitung der Elektroden verursachtes elektrisches Rauschen vermieden werden. Das elektrische Rauschen kann die Detektion eines Analyten verhindern.

[0010] Bei einer vorteilhaften Ausgestaltung sind die elektrischen Leiter zusammen mit den Elektroden ein-

stöckig ausgebildet. Die Elektroden und die Leiter können aus demselben Material bestehen. Das ermöglicht eine gute Kontaktierbarkeit von der zweiten Seite her und eine sehr kostengünstige Herstellung. Es ist nicht erforderlich auf der ersten Seite der Platte einen elektrischen Kontakt zwischen den Elektroden und den elektrischen Leitern herzustellen.

[0011] Die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle an den Elektroden können jeweils unterschiedlich sein, so dass sich verschiedene Elektroden dadurch voneinander unterscheiden. Die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle können, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle umfassen. Fänger-Moleküle sind dabei Moleküle, an die der Analyt oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz, z.B. ein Abbauprodukt des Analyten, aus der Flüssigkeit heraus bindet. Bei den Fänger-Molekülen kann es sich um, insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher handeln. Die Fänger-Moleküle können kovalent und/oder gerichtet an die Elektroden gebunden sein. Der Vorteil der kovalenten Bindung besteht darin, dass die Fänger-Moleküle nicht von den Elektroden abdiffundieren können. Bei den mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung möglichen sehr kleinen Abständen zwischen den Elektroden kann bereits eine geringe Abdiffusion von Fänger-Molekülen zu einer Störung einer Nachweisreaktion führen. Unter einer gerichteten Bindung ist zu verstehen, dass die Fänger-Moleküle jeweils mit einer bestimmten Stelle des Fänger-Moleküls, z.B. mit einem Ende des Moleküls, an die Elektroden gebunden sind. Dadurch kann gewährleistet werden, dass die für das Binden des Analyten verantwortliche Stelle der Fänger-Moleküle durch deren Bindung an die Elektroden nicht beeinflusst wird. Die Fänger-Moleküle können, zumindest teilweise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an die Elektroden gebunden sein. Diese Zwischenschicht kann aus Silan gebildet sein.

[0012] Bei einer bevorzugten Ausgestaltung umfasst die Beschichtung mindestens einen semipermeablen Überzug der Elektroden. Die semipermeablen Überzüge können jeweils eine unterschiedliche Durchlässigkeit aufweisen, so dass die Überzüge verschiedener Elektroden unterschiedlich durchlässig sein können. Die Überzüge können selektiv für Moleküle bis zu einer bestimmten Größe durchlässig sein. Es kann sich dabei um eine polymere Matrix mit Molekularsieb-Wirkung handeln. Dadurch ist es möglich, nur kleine Moleküle, welche z.B. durch einen spezifischen Abbau eines Analyten entstehen, zu den Elektroden durchdringen zu lassen, so dass spezifisch nur diese nachgewiesen werden. Eine solche erfindungsgemäße Vorrichtung kann bei einer Prozesssteuerung zur Verfolgung von in einem Reaktor stattfindenden Umsetzungen eingesetzt werden.

[0013] Die elektrischen Leiter können in Durchbrüchen der Platte angeordnet sein, welche sich von der zweiten Seite der Platte her, insbesondere konisch, zur ersten Seite hin verjüngen. Dabei kann der elektrische Leiter nur am verjüngten Abschnitt der durch die sich verjüngende Form des Durchbruchs gebildeten Ausnehmung angeordnet sein. Er kann aber auch frei in die Ausnehmung hinein ragen. Die sich verjüngende Form der Ausnehmung erleichtert die elektrische Kontaktierung von der zweiten Seite her, weil ein zur Kontaktierung in Richtung der Elektrode geführter Leiter auch dann an die Elektrode herangeführt wird, wenn er zunächst nur in die Ausnehmung trifft.

[0014] Die Platte kann auf dem Boden einer Mikrofluidkammer angeordnet sein oder den Boden einer Mikrofluidkammer bilden. Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist wegen der Möglichkeit der besonders ebenen Ausführung und der damit einher gehenden guten Abdichtbarkeit dazu gut geeignet.

[0015] Bei der Vorrichtung kann es sich auch um einen Chip handeln. Darunter wird hier eine nicht notwendigerweise aus Halbleitermaterial bestehende kleine Platte mit elektronischen Mikrostrukturen verstanden.

[0016] Die Platte kann mehr als 10, vorzugsweise mehr als 100, besonders bevorzugt mehr als 1000, insbesondere mehr als 10000, Elektroden pro cm^2 aufweisen. Die Elektroden können zumindest teilweise aus Partikeln gebildet sein. Die Partikel können mit Analyt-spezifischer Beschichtung versehen sein oder Analyt-spezifische Moleküle enthalten.

[0017] Weiterhin können die Elektroden, zumindest teilweise, aus einem nichtmetallischen Leiter, insbesondere Kohlenstoff, gebildet sein. Kohlenstoff enthaltende Elektroden sind besonders gut zum Nachweis von Biomolekülen geeignet. Bei den Elektroden kann es sich, zumindest teilweise; um Pencil-, Glassy-Carbon-, Kohlenstofffasern enthaltende, Kohlenstoff-Paste- oder Kunststoff-Komposit-Elektroden, vorzugsweise Graphit enthaltende Polycarbonat-Elektroden, handeln.

[0018] Bevorzugt umfassen die Elektroden mindestens eine Referenz- und mindestens eine Gegenelektrode sowie einer Vielzahl an Arbeitselektroden. Die Elektroden sind dabei elektrisch mit einem Potentiostaten zur Erzeugung eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode verbunden; wobei jeder der Arbeitselektroden ein Strom-Spannungskonverter nachgeschaltet ist. Die Strom-Spannungskonverter halten dabei sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potential. Weiterhin ist ein Mittel zum Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme vorhanden. Dabei ist lediglich ein einziger Potentiostat zur Erzeugung eines an sämtliche Arbeitselektroden gleichzeitig angelegten identischen vorgegebenen Spannungsverlaufs erforderlich. Indem sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potential gehalten werden, ist es beispielsweise möglich, die durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme parallel zu messen. Dazu kann jede der Arbeitselektroden über einen Stromfolger zur individuellen Auswertung der Sig-

nale virtuell an der Schaltungsmasse anliegen.

[0019] Die Erfindung betrifft darüber hinaus ein Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit folgenden Schritten:

- a) Herstellen eines Verbunds von im Wesentlichen parallel angeordnetem länglichem Elektrodenmaterial und das Elektrodenmaterial umgebendem Isoliermaterial und
- b) Trennen des Verbundes im Wesentlichen senkrecht zur Längsrichtung des Elektrodenmaterials.

[0020] Das Trennen kann dabei durch Schneiden, Sägen oder mittels einer Trennscheibe erfolgen. Darüber hinaus kann das Isoliermaterial als Stapel von Platten vorliegen, welcher nach dem Einführen oder Einfüllen eines, insbesondere pastösen, Elektrodenmaterials auseinander genommen wird.

[0021] Der Verbund wird vorzugsweise hergestellt mittels Umgießen eines festen Elektrodenmaterials mit einem aushärtenden Isoliermaterial. Bei dem festen Elektrodenmaterial kann es sich beispielsweise um mehrere parallel angeordnete Bleistiftminen handeln, die mit Epoxydharz umgossen werden. Weiterhin kann der Verbund hergestellt werden durch Einführen eines festen Elektrodenmaterials in im Wesentlichen parallele Ausnehmungen oder Durchbrüche eines festen Isoliermaterials oder in ein plastisch verformbares Isoliermaterial. Das plastisch verformbare Isoliermaterial kann sich der Form des Elektrodenmaterials beim Einführen anpassen und/oder daran nach dem Einführen durch Zusammenpressen angepasst werden. Dadurch ist ein flüssigkeitsdichter Abschluss gewährleistet.

[0022] Weiterhin kann der Verbund hergestellt werden mittels Einfüllen von pastösem oder flüssigem, insbesondere aushärtendem, Elektrodenmaterial in im Wesentlichen parallele Ausnehmungen oder Durchbrüche eines festen einstückigen, insbesondere durch ein Spritzguss-Verfahren hergestellten, Isoliermaterials oder eines gestapelten plattenförmigen Isoliermaterials mit sich deckend angeordneten Durchbrüchen. Die Durchbrüche sind dabei so angeordnet, dass Elektrodenmaterial, welches auf einer Seite des gestapelten Isoliermaterials eingefüllt wird, alle Durchbrüche füllt. Das Elektrodenmaterial kann in die Durchbrüche z.B. durch Extrusion hineingepresst werden. Das dazu verwendete Verfahren kann ein aus der Herstellung von Bleistiftminen bekanntes Verfahren sein.

[0023] Der Verbund kann auch hergestellt werden durch Verbinden von Elektrodenmaterial, welches eine aus Isoliermaterial bestehende Ummantelung aufweist, insbesondere durch Verschmelzen, Vergießen oder Verkleben der Ummantelung. Das Verschmelzen kann durch Erhitzen oder chemisch erfolgen.

[0024] Ferner kann der Verbund hergestellt werden mittels Extrudieren eines Verbunds aus von Isoliermaterial umgebenem Elektrodenmaterial. Dabei ist sowohl das leitfähige Elektrodenmaterial als auch das Isoliermaterial plastisch so verformbar, dass beide Materialien gemeinsam als Verbund extrudiert werden können. Das ermöglicht eine sehr kostengünstige Herstellung.

[0025] Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit folgenden Schritten:

- a) Bereitstellen einer elektrisch nichtleitenden Platte mit Durchbrüchen,
- b) Aufbringen eines pastösen, insbesondere aushärtenden, Elektrodenmaterials auf eine erste Seite der Platte,
- c) Hineindrücken des Elektrodenmaterials in die Durchbrüche und
- d) Entfernen des zwischen den Durchbrüchen vorhandenen Elektrodenmaterials so weit dieses Elektrodenmaterial das in den Durchbrüchen vorhandene Elektrodenmaterial elektrisch leitend verbindet.

[0026] Das Aushärten kann z.B. durch Polymerisieren oder durch Abkühlen erfolgen. Schritt lit. c kann gleichzeitig mit dem Aufbringen gemäß Schritt lit. b oder danach durchgeführt werden. Das Verfahren kann in der Art eines Siebdruckverfahren durchgeführt werden, wobei statt der Farbe das Elektrodenmaterial aufgebracht wird. Vor dem Schritt lit. b kann auf die erste Seite der Platte eine Lochmaske mit den Durchbrüchen, zumindest teilweise, entsprechenden Löchern so aufgelegt werden, dass sich die Löcher mit den Durchbrüchen der Platte, zumindest teilweise, decken. Beim Schritt lit. b wird dann das Elektrodenmaterial auf die Lochmaske statt auf die Platte aufgebracht und beim Schritt lit. c in die Durchbrüche hinein gedrückt. Lit. d kann dann durchgeführt werden, indem die Lochmaske von der Platte abgenommen wird. Das Verfahren hat den Vorteil, dass Schritt lit. d deutlich vereinfacht wird und es eine größere Elektrodenoberfläche ermöglicht, weil die Elektroden auf der ersten Seite der Platte, bedingt durch die Höhe der Lochmaske, erhaben sind. Indem bei derselben Platte durch die Lochmaske bei wiederholt durchgeführten Schritten lit. b bis lit. d verschiedene Durchbrüche abgedeckt und offen gelassen werden, kann in die Durchbrüche unterschiedliches Elektrodenmaterial hineingedrückt werden. Insbesondere kann das Elektrodenmaterial unterschiedliche Analytspezifische Moleküle aufweisen.

[0027] Auf das Elektrodenmaterial kann eine, insbesondere Analytspezifische, Beschichtung aufgebracht werden. Es können auch Analyt-spezifische Moleküle in das Elektrodenmaterial eingebracht werden. Beide Vorgänge können vor, nach oder während jedem der genannten Schritte durchgeführt werden. Elektrodenmaterial im Sinne der Erfindung umfasst sowohl das zur Herstellung der Elektroden dienende Material als auch

die daraus gebildeten Elektroden. Als Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle können, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle aufgebracht oder in das Elektrodenmaterial eingebracht werden. Auf die Elektroden bzw. das Elektrodenmaterial können jeweils unterschiedliche Beschichtungen aufgebracht werden. In das Elektrodenmaterial können jeweils unterschiedliche Analyt-spezifische Moleküle eingebracht werden. Als Fänger-Moleküle können insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher verwendet werden. Die Fänger-Moleküle können kovalent und/oder gerichtet an das Elektrodenmaterial gebunden oder auf dem Elektrodenmaterial synthetisiert oder elektrochemisch abgeschieden werden. Bevorzugt werden die Fänger-Moleküle, zumindest teilweise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an das Elektrodenmaterial gebunden oder auf der Zwischenschicht synthetisiert. Vorzugsweise wird die Zwischenschicht aus Silan gebildet. Das Elektrodenmaterial kann mit mindestens einem semipermeablen Überzug beschichtet werden. Das kann auch zusätzlich zur Beschichtung mit Fänger-Molekülen erfolgen. Das Elektrodenmaterial bzw. die Elektroden können jeweils mit unterschiedlich durchlässigen semipermeablen Überzügen beschichtet werden. Jede aus dem Elektrodenmaterial gebildete Elektrode kann einen anderen Überzug aufweisen.

[0028] Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zum elektrischen Kontaktieren einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, wobei eine Mehrzahl einzeln ableitbarer elektrischer Leiter mit der zweiten Seite der Platte der Vorrichtung so in Kontakt gebracht werden, dass die Leiter dabei, zumindest teilweise, die Elektroden derart kontaktieren, dass die Elektroden einzeln elektrisch ableitbar sind. Bevorzugt sind die Leiter einfederbar gelagert und werden mit der zweiten Seite der Platte so in Kontakt gebracht, dass sie dabei Einfedern. Dazu kann z.B. eine Kontaktplatte mit Federstiften dienen. Das elektrische Kontaktieren kann auch über einen Elastomer-Verbinder, insbesondere einen ZEBRA®-Elastomer-Verbinder, erfolgen. Elastomer-Verbinder bestehen aus sich abwechselnden Schichten von elektrisch leitendem und elektrisch nicht leitendem Elastomer, insbesondere Silikon-Elastomer. Die Elastomer-Verbinder können flächig ausgebildet sein, wobei die Schichten senkrecht zu einer Oberfläche verlaufen. Die elektrisch leitende Schicht ist mit leitfähigen Partikeln, z.B. aus Silber, Gold oder Kohlenstoff, versetzt. ZEBRA®-Elastomer-Verbinder werden von der Firma Fujipoly America Corporation, 900 Millik Street P.O. Box 119, Carteret, NJ 07008, USA vertrieben. Durch Anlegen des ZEBRA®-Elastomer-Verbinders an der zweiten Seite der Platte und Ausüben eines leichten Drucks auf die Kontaktfläche zwischen der Platte und dem ZEBRA®-Elastomer-Verbinder kommen die Elektroden mit den leitfähigen Schichten in Kontakt. Die elektrische Ableitung der Elektroden kann durch die Kontaktierung der leitfähigen Schichten mit einer elektrischen Auswerteeinheit erfolgen.

[0029] Ferner betrifft die Erfindung die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Nachweis mindestens eines Analyten in einer Flüssigkeit, wobei die Flüssigkeit mit Elektroden auf der ersten Seite der Platte der Vorrichtung in Kontakt gebracht wird und die Elektroden von deren zweiter Seite her elektrisch kontaktiert werden. Die Flüssigkeit wird dabei vorzugsweise unter Bedingungen mit den Elektroden in Kontakt gebracht, unter denen der Analyt oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz, z.B. ein Abbauprodukt des Analyten, an an den Elektroden vorhandene Fänger-Moleküle bindet. Der an die Fänger-Moleküle gebundene Analyt oder die Substanz kann elektrisch, z.B. durch Leitfähigkeitsmessung, elektrochemisch oder optisch nachgewiesen werden. Beim elektrochemischen Nachweis ist es vorteilhaft, wenn ein direkter Kontakt des Analyten oder der Substanz mit der Elektrode ermöglicht wird. Beim optischen Nachweis kann ein optisches Signal, wie z.B. Fluoreszenz, an den Elektroden gemessen werden. Die Identifizierung des Analyten oder der Substanz erfolgt dabei beispielsweise dadurch, dass diejenige Elektrode durch optische Detektion identifiziert wird, an welche ein fluoreszierender Analyt oder eine fluoreszierende Substanz spezifisch über die Fänger-Moleküle gebunden ist. Dadurch, dass die Elektrode einem spezifischen Fänger-Molekül zugeordnet werden kann, kann der Analyt oder die Substanz identifiziert werden. Die Elektroden dienen bei diesem Nachweisverfahren der elektrischen Anziehung und/oder Abstossung von geladenen Analyten oder Substanzen. Durch das Anlegen eines entsprechenden Potentials an eine Elektrode können die geladenen Analyten oder die geladenen Substanzen elektrisch in den Bereich der Fänger-Moleküle transportiert werden. Durch eine erhöhte Konzentration der Analyten oder Substanzen im Bereich der Fänger-Moleküle kann die Bindung der Analyten oder Substanzen daran beschleunigt werden. Nicht oder schwach und unspezifisch gebundene Analyten oder Substanzen können durch das Anlegen eines abstoßenden Potentials an die Elektrode davon entfernt werden. Dabei ist es vorteilhaft, wenn die Fänger-Moleküle über eine Analyt- oder Substanzundurchlässige Zwischenschicht an den Elektroden immobilisiert sind. Dadurch wird verhindert, dass der Analyt oder die Substanz bei einem direkten Kontakt mit der Elektrode elektrochemisch umgesetzt wird. Dies ermöglicht das Anlegen von hohen Potentialen für einen schnellen Transport der Analyten oder der Substanzen zu den Fänger-Molekülen.

[0030] Die Elektroden können mit einem semipermeablen Überzug beschichtet sein. Dadurch kann es ermöglicht werden, dass selektiv nur die Analyten, Abbauprodukte der Analyten oder die Substanzen elektrisch, elektrochemisch oder optisch nachgewiesen werden, welche den Überzug durchdringen. Vorzugsweise sind die Elektroden jeweils mit unterschiedlich durchlässigen semipermeablen Überzügen beschichtet.

[0031] Der Analyt kann ein Biomolekül, insbesondere eine Nukleinsäure, ein Protein, ein Antigen, ein Zucker, ein Lipid, eine Zelle oder ein Virus, sein. Er kann eine Markierungssubstanz aufweisen. Bei der Markierungssubstanz kann es sich z.B. um ein Enzym oder um eine redoxaktive Markierung handeln. Bei der Verwendung der Vorrichtung kann eine Redox-Reaktion oder eine katalytische Wasserstoff-Entwicklung elektrochemisch detektiert werden. Das elektrochemische Detektieren kann mittels Differenzieller Puls-Voltammetrie (DPV), Chronopotentiometrischer Stripping-Analyse (CPSR) oder des Nachweises einer Widerstands- oder Impedanzänderung erfolgen.

[0032] Das elektrochemische Detektieren kann folgende Schritte umfassen:

- a) Bereitstellen einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, wobei die Vorrichtung mindestens eine Gegen- und eine Referenzelektrode sowie eine Vielzahl von Arbeitselektroden aufweist,
- b) Inkontaktbringen der Flüssigkeit mit den Arbeits-, Gegen- und Referenzelektroden,
- c) gleichzeitiges Anlegen eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode und
- d) Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme, wobei während der Messung sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potential gehalten werden.

[0033] Zum elektrochemischen Detektieren wird vorzugsweise ein Potentialintervall zur Messung gewählt, in welchem im Wesentlichen nur der Analyt oder die Substanz ein Signal verursacht.

[0034] Bevorzugt werden die, insbesondere Kohlenstoff enthaltenden, Elektroden vor dem Nachweisen des Analyten mit einem Detergenz behandelt. Das kann bevor oder während die den Analyten enthaltende Flüssigkeit mit den Elektroden in Kontakt steht erfolgen. Die Behandlung mit Detergenz kann eine elektrochemische Konditionierung ersetzen. Sie ist einfacher, schneller und kostengünstiger als eine elektrochemische Konditionierung. Die Elektroden können in einer Detergenz enthaltenden Flüssigkeit aufbewahrt und darin z.B. vertrieben werden. Vorzugsweise ist das Detergenz ein ionisches Detergenz. Günstigerweise liegt das Detergenz in einer Konzentration von 0,1 % bis 10 % vor. Bevorzugt weist das Detergenz in Wasser eine kritische Mizellkonzentration unter 10 mmol/l, insbesondere unter 5 mmol/l, vorzugsweise unter 3 mmol/l, auf. Das Detergenz kann Natriumdodezylsulfat sein.

[0035] Ausführungsbeispiele der Erfindung werden anhand der Zeichnung näher erläutert. Hierin zeigen:

[0036] **Fig. 1a–e** eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung der erfindungsgemäßen Vorrichtung,

[0037] **Fig. 2a–b** eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mittels Durchtrennen eines Verbunds aus Elektrodenmaterial und Isoliermaterial,

[0038] **Fig. 3a–d** eine schematische Darstellung eines Verfahrens zum Herstellen eines Verbunds aus parallel angeordnetem länglichem Elektrodenmaterial und Isoliermaterial,

[0039] **Fig. 4a–d** eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Detektion mittels Extrusion und Durchtrennen eines dadurch hergestellten Verbunds,

[0040] **Fig. 5a–c** eine Grundplatte zur Herstellung einer Vorrichtung zur Detektion,

[0041] **Fig. 6a–d** eine schematische Darstellung eines siebdruckartigen Verfahrens zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung,

[0042] **Fig. 7a–b** eine schematische Darstellung eines Verfahrens und einer Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Detektion,

[0043] **Fig. 8a–b** eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung eines Chips mit 4x4 Elektroden,

[0044] **Fig. 9** eine Abbildung des Chips,

[0045] **Fig. 10** das Ergebnis zweier parallel mit dem Chip durchgeführter DPV-Messungen von Heringssperma-DNA und

[0046] **Fig. 11a–c** eine schematische Darstellung einer Mikrofluidkammer mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Detektion.

[0047] **Fig. 1a** zeigt einen plastisch verformbaren elektrisch isolierenden Grundkörper **10** mit einer ersten Seite **12** und einer zweiten Seite **14**. **Fig. 1b** zeigt vier aus Bleistiftminen gebildete Elektroden **15**. In **Fig. 1c** ist der Grundkörper **10** mit darin durch mechanischen Druck eingeführten Elektroden **15** dargestellt. Das Einführen der Elektroden erfolgt dabei derart, dass jede Elektrode auf der ersten Seite **12** und der zweiten Seite **14** herausragt. Nach dem Einführen der Elektroden **15** kann der Grundkörper **10** ausgehärtet werden. **Fig. 1d** zeigt die entstandene Vorrichtung zur Detektion **17** in der Aufsicht, **Fig. 1e** in der Seitenansicht. Die Vorrichtung **17** kann, wie in **Fig. 2a** dargestellt, senkrecht entlang der Linien **16** mehrfach durchtrennt und dadurch in die in **Fig. 2b** dargestellten scheibenförmigen erfindungsgemäßen Vorrichtungen **17** zerlegt werden. Jede der Elektroden **15** besitzt dabei Kontakt zur jeweiligen Ober- und Unterseite der Scheiben.

[0048] Eine Elektrode **15** mit einer aus Isoliermaterial bestehenden Ummantelung **18** ist in **Fig. 3a** im Querschnitt und in **Fig. 3b** in der Aufsicht dargestellt. **Fig. 3c** und **Fig. 3d** zeigen einen durch Verbinden der Ummantelungen **18** entstandenen Verbund solcher Elektroden im Querschnitt und in der Aufsicht. Die Pfeile **20**

zeigen Positionen an, an denen der Verbund durchtrennt werden kann, um daraus scheibenförmige erfindungsgemäße Vorrichtungen **17** herzustellen.

[0049] **Fig. 4a** zeigt einen elektrisch isolierenden Grundkörper **10** mit vier parallelen ersten Durchbrüchen **22**. Der Grundkörper **10** kann beispielsweise aus einem Kunststoff bestehen und durch ein Spritzguss-Verfahren hergestellt sein. In die ersten Durchbrüche **22** des Grundkörpers **10** kann eine Masse aus einem elektrisch leitfähigen Elektrodenmaterial **15** eingepresst werden. Das kann beispielsweise durch ein Extrusionsverfahren erfolgen, wie es üblicherweise zur Herstellung von Bleistiftminen verwendet wird. Bei dem Elektrodenmaterial **15** kann es sich um ein Material zur Herstellung von Bleistiftminen handeln. Der Grundkörper **10** kann, auch schon vor einer Aushärtung des Elektrodenmaterials **15**, an den durch die Pfeile **20** angedeuteten Stellen senkrecht zu den mit Elektrodenmaterial **15** verfüllten ersten Durchbrüchen **22** durchtrennt werden. Dadurch entstehen die in **Fig. 4c** perspektivisch und in **Fig. 4d** in der Aufsicht dargestellten scheibenförmigen erfindungsgemäßen Vorrichtungen **17**. Alternativ zu dem mechanischen Durchtrennen des Verbunds aus Elektrodenmaterial **15** und Grundkörper **10** kann ein Stapel scheibenförmiger Grundkörper **10** mit ersten Durchbrüchen so übereinander gestapelt werden, dass sich die ersten Durchbrüche **22** decken. Beim Einfüllen des Elektrodenmaterials **15** an einem Ende des Stapels werden dann sämtliche der ersten Durchbrüche **22** der scheibenförmigen Grundkörper **10** gefüllt. Danach kann der Stapel noch vor einem Aushärten des Elektrodenmaterials auseinandergenommen werden.

[0050] **Fig. 5c** zeigt einen plattenförmigen Grundkörper **10** mit einer ersten Seite **12** und einer zweiten Seite **14** im Querschnitt. **Fig. 5b** zeigt diesen Grundkörper **10** in der Aufsicht von der zweiten Seite **14** und **Fig. 5a** in der Aufsicht von der ersten Seite **12**. Der Grundkörper **10** weist konische sich von der ersten Seite **12** zu der zweiten Seite **14** erweiternde Durchbrüche **22** auf. In **Fig. 6a** ist der plattenförmige Grundkörper **10** auf der ersten Seite **12** mit einer Lochmaske **24** belegt, welche Löcher **26** aufweist, die sich mit den Durchbrüchen **22** auf der ersten Seite **12** decken. **Fig. 6b** zeigt auf die Lochmaske **24** aufgebrachtes elektrisch leitfähiges pastöses Elektrodenmaterial **15**. **Fig. 6c** zeigt das Elektrodenmaterial **15** nachdem es in einem siebdruckartigen Verfahren in die Löcher **26** und die Durchbrüche **22** hinein gepresst worden ist. In **Fig. 6d** ist die erfindungsgemäße Vorrichtung **17** nach Entfernen der Lochmaske **24** dargestellt.

[0051] **Fig. 7a** und **7b** zeigen eine Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren **36** einer Vorrichtung zur Detektion **17**. Die Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren **36** besteht dabei aus einer elastischen Matrix **28** aus einem elektrisch isolierenden Material. In dieser Matrix **28** sind parallel elektrisch leitfähige Stifte **30** angeordnet, welche elektrisch mit Kontakten **34** auf der Unterseite der Matrix verbunden sind. Die Stifte werden durch eine Feder **32** aus der elastischen Matrix herausgedrückt. Bevorzugt sind die Stifte **30** an der zur Kontaktierung vorgesehenen Seite spitz zulaufend. Das in **Fig. 7b** dargestellte Kontaktieren der Vorrichtung zur Detektion **17** durch die Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren **36** erfolgt durch Aneinanderdrücken der beiden Vorrichtungen **17**, **36**. Dabei kommen die Stifte **30** mit den Elektroden **15** in Kontakt. Die elastische Matrix **28** wird dabei gestaucht. Dadurch können die Stifte **30** in die sich zur ersten Seite **12** hin verjüngenden Durchbrüche **22** der Vorrichtung **17** zum Detektieren eindringen und dabei die Elektroden **15** kontaktieren. Durch die spitz zulaufende Form der Stifte **30**, die sich verjüngenden Durchbrüche **22** und die Form der Elektroden **15** wird eine vergrößerte Kontaktfläche der Stifte **30** mit den Elektroden **15** bereitgestellt.

[0052] Eine Anordnung von Verschaltungen **39** und einer Elektrodenhalterung **40** zum Umgießen der Elektroden **15** mit einem isolierenden Material, wie beispielsweise Epoxidharz, ist in **Fig. 8a** vor und in **Fig. 8b** nach dem Zusammenbau schematisch dargestellt. Eine der Verschaltungen **39** weist eine Öffnung **41** zum Einfüllen des isolierenden Materials auf. Der durch die Polymerisation des Isoliermaterials entstehende Verbund aus Elektroden und Isoliermaterial kann durchtrennt werden, so dass scheibenförmige Vorrichtungen **17** zur Detektion als Chips mit 4×4 Elektroden entstehen. Eine solche Vorrichtung **17** ist in **Fig. 9** gezeigt. Dabei dienen Bleistiftminen als Elektrodenmaterial. Die Elektroden eines der Chips sind elektrochemisch für 1 min mit 1,2 V in 0,1 M Natriumacetat-Puffer, pH 4,6 behandelt bzw. konditioniert worden. Die Elektroden eines anderen der Chips sind für 1 min mit 10% SDS behandelt worden. Zur Silanisierung der Elektroden wurden die Chips für 1 h bei Raumtemperatur unter leichtem Schütteln in einer Lösung aus 1% (v/v) 3-(Glycidylxypropyl)-trimethoxysilan (Fa. Fluka), 1% (v/v) entionisiertem Wasser (Fa. Millipore) und 98% (v/v) Ethanol (Fa. Merck) inkubiert. Anschließend wurden sie für 30 min bei 80 °C getrocknet.

[0053] Das Oligonukleotids TNF2 mit der Sequenz 5' cct icc cca atc cct tta tt 3' – Aminolink (SEQ ID NO: 1 – Aminolink), wobei i einen Inosin-Rest darstellt, wurde als Fänger-Molekül an die silanisierten Elektroden gekoppelt. Bei dem Oligonukleotid handelt es sich um eine mit einem Aminolink versehene Sequenz aus der c-DNA des humanen Tumor Nekrose Faktor α -Gens. Zur Kopplung wurde je ein Tropfen einer 150 pmol/ml Oligonukleotid in 0,1 M Na_2CO_3 , pH 9,5 enthaltenden Lösung auf jede der Elektroden der Chips gesetzt. Die Chips wurden dann für eine Stunde bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert. Dabei gehen die freien Aminogruppen der Oligonukleotide mit dem Silan eine kovalente Bindung ein. Zur Abtrennung nicht kovalent gebundener Oligonukleotide wurden die Chips für eine Stunde in 2 ml 10% SDS bei RT inkubiert. Zur Absättigung noch vorhandener Bindungsstellen wurden die Chips eine Stunde bei RT in 1% Rinder-Serum-Albumin (BSA) oder Ethanolamin in Phosphat-gepufferter-Saline (PBS) inkubiert.

[0054] Um den Einfluss einer Elektrodenbehandlung auf die Sensitivität und Reproduzierbarkeit der elektrochemischen Nukleinsäuredetektion zu untersuchen, sind die Chips in einer Lösung von 10 nmol/ml der komplementären Nukleinsäure TNF2k (SEQ ID NO: 2) in Detergenz-haltigem Hybridisierungs-Puffer (Fa. Roche) inkubiert und die gebundene Nukleinsäure TNF2k mittels DPV bestimmt worden. Jeweils zehn Messungen wurden mit den elektrochemisch bzw. mit Detergenz behandelten Elektroden durchgeführt. Die Detergenz-Behandlung führte zu einer Sensitivitätssteigerung von mehr als 10% gegenüber der elektrochemischen Behandlung. Weiterhin war die Reproduzierbarkeit der Messungen mit Detergenz-behandelten Elektroden verbessert. Die Standardabweichung der Messungen Detergenz-behandelter Elektroden war um Faktor 3 geringer als bei einer elektrochemischen Behandlung.

[0055] Fig. 10 zeigt zwei Voltammogramme, welche mittels parallel mit der in Fig. 9 gezeigten Vorrichtung 17 durchgeführten DPV-Messungen von Heringssperma-DNA ermittelt worden sind. Dazu wurde das Elektrodenmaterial der Vorrichtung 17 von dessen zweiter Seite mittels Federkontaktstiften mit einer elektronischen Auswerteeinheit verbunden. Eine der Elektroden ist als Referenzelektrode geschaltet worden. Auf die erste Seite der Vorrichtung wurden 100 µl einer 2 µg/µl Heringssperma-DNA-Lösung in TE-Puffer (10 mM TrisCl, 1 mM EDTA, pH 8) aufgebracht und für 10 min inkubiert. Die DNA wurde parallel an mehreren Elektroden mittels DPV anhand der Oxidation von Guanin und Adenin nachgewiesen. Dabei sind in ihrer Position deckungsgleiche signifikante Guanin- und Adenin-Oxidations-Peaks gemessen worden.

[0056] Fig. 11a zeigt schematisch eine Aufsicht auf eine zusammengesetzte Mikrofluidkammer 42 mit einer Vielzahl von Elektroden 15 und der Ausnehmung 46 für den Flüssigkeitsdurchtritt. Fig. 11b zeigt eine Aufsicht auf den Oberteil 44 der Mikrofluidkammer 42 und Fig. 11c auf den durch die erfindungsgemäße Vorrichtung 17 gebildeten Unterteil dieser Kammer.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> november Aktiengesellschaft Gesellschaft für Molekulare Medizin

<120> Vorrichtung zur Detektion eines Analyten

<130> 422215EH

<140>

<141>

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> modified_base

<222> (4)

<223> i

<400> 1

cctncccaa tccctttatt

20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

aataaagga ttggggcagg

20

Patentansprüche

1. Vorrichtung (17) zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit auf einer ersten Seite (12) einer elektrisch nicht leitenden und für die Flüssigkeit undurchlässigen Platte (10) angeordneten voneinander isolierten Elektroden (15), wobei die Elektroden (15) zumindest teilweise eine Analyt-spezifische Beschichtung oder

Analyt-spezifische Moleküle aufweisen und über die Platte (10) durchspannende elektrische Leiter von einer zweiten Seite (14) der Platte her elektrisch kontaktierbar oder elektrisch kontaktiert sind.

2. Vorrichtung (17) nach Anspruch 1, wobei die elektrischen Leiter zusammen mit den Elektroden (15) einstückig ausgebildet sind.

3. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle an den Elektroden (15) jeweils unterschiedlich ist/sind.

4. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle umfassen.

5. Vorrichtung (17) nach Anspruch 4, wobei die Fänger-Moleküle, insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher sind.

6. Vorrichtung (17) nach Anspruch 4 oder 5, wobei die Fänger-Moleküle kovalent und/oder gerichtet an die Elektroden (15) gebunden sind.

7. Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 4 bis 6, wobei die Fänger-Moleküle, zumindest teilweise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an die Elektroden (15) gebunden sind.

8. Vorrichtung (17) nach Anspruch 7, wobei die Zwischenschicht aus Silan gebildet ist.

9. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Beschichtung mindestens einen semipermeablen Überzug der Elektroden (15) umfasst.

10. Vorrichtung (17) nach Anspruch 9, wobei die semipermeablen Überzüge jeweils eine unterschiedliche Durchlässigkeit aufweisen.

11. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die elektrischen Leiter in Durchbrüche (22) der Platte (10) angeordnet sind, welche sich von der zweiten Seite (14) der Platte (10) her, insbesondere konisch, zur ersten Seite (12) hin verjüngen.

12. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Platte (10) auf dem Boden einer Mikrofluidkammer (42) angeordnet ist oder den Boden einer Mikrofluidkammer bildet.

13. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Platte (10) ein Chip ist.

14. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Platte (10) mehr als 10, vorzugsweise mehr als 100, besonders bevorzugt mehr als 1000, insbesondere mehr als 10000, Elektroden pro cm² aufweist.

15. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Elektroden (15), zumindest teilweise, aus Partikeln gebildet sind.

16. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Elektroden (15), zumindest teilweise, aus einem nichtmetallischen Leiter, insbesondere Kohlenstoff, gebildet sind.

17. Vorrichtung (17) nach Anspruch 16, wobei die Elektroden (15), zumindest teilweise, Pencil-, Glas- Carbon-, Kohlenstofffasern enthaltende, Kohlenstoff-Paste- oder Kunststoff-Composit-Elektroden, vorzugsweise Graphit enthaltende Polycarbonat-Elektroden, sind.

18. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche; wobei die Elektroden (15) mindestens eine Referenz- und mindestens eine Gegenelektrode sowie einer Vielzahl an Arbeitselektroden umfassen und die Elektroden (15) elektrisch mit einem Potentiostaten zur Erzeugung eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode verbunden sind, wobei jeder der Arbeitselektroden ein Strom-Spannungskonverter nachgeschaltet ist, wobei die Strom-Spannungskonverter sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potential halten, und weiterhin ein Mittel zum Messen der durch die Arbeitse-

lektroden fließenden Ströme vorhanden ist.

19. Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung (17) zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit folgenden Schritten:

- a) Herstellen eines Verbunds von im Wesentlichen parallel angeordnetem länglichem Elektrodenmaterial (15) und das Elektrodenmaterial (15) umgebendem Isoliermaterial und
- b) Trennen des Verbunds im Wesentlichen senkrecht zur Längsrichtung des Elektrodenmaterials (15).

20. Verfahren nach Anspruch 19, wobei der Verbund hergestellt wird mittels

- a) Umgießen eines festen Elektrodenmaterials (15) mit einem aushärtenden Isoliermaterial,
- b) Einführen eines festen Elektrodenmaterials (15) in im Wesentlichen parallele Ausnehmungen oder Durchbrüche (22) eines festen Isoliermaterials oder in ein plastisch verformbares Isoliermaterial,
- c) Einfüllen von pastösem oder flüssigem, insbesondere aushärtendem, Elektrodenmaterial (15) in im Wesentlichen parallele Ausnehmungen oder Durchbrüche (22) eines festen einstöckigen, insbesondere durch ein Spritzguss-Verfahren hergestellten, Isoliermaterials oder eines gestapelten plattenförmigen Isoliermaterials mit sich deckend angeordneten Durchbrüchen (22),
- d) Verbinden von Elektrodenmaterial (15), welches eine aus Isoliermaterial bestehende Ummantelung (18) aufweist, insbesondere durch Verschmelzen, Vergießen oder Verkleben der Ummantelung (18) oder
- e) Extrudieren eines Verbunds aus von Isoliermaterial (18) umgebenem Elektrodenmaterial (15).

21. Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung (17) zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit folgenden Schritten:

- a) Bereitstellen einer elektrisch nicht leitenden Platte (10) mit Durchbrüchen (22),
- b) Aufbringen eines pastösen, insbesondere aushärtenden, Elektrodenmaterials (15) auf eine erste Seite (12) der Platte (10),
- c) Hineindrücken des Elektrodenmaterials (15) in die Durchbrüche (22) und
- d) Entfernen des zwischen den Durchbrüchen (22) vorhandenen Elektrodenmaterials (15) so weit dieses Elektrodenmaterial (15) das in den Durchbrüchen vorhandene Elektrodenmaterial (15) elektrisch leitend verbindet.

22. Verfahren nach Anspruch 21, wobei vor Schritt lit. b auf die erste Seite (12) der Platte (10) eine Lochmaske (24) mit den Durchbrüchen (22), zumindest teilweise, entsprechenden Löchern (26) so aufgelegt wird, dass sich die Löcher (26) mit den Durchbrüchen (22) der Platte (10), zumindest teilweise, decken, wobei beim Schritt lit. b das Elektrodenmaterial (15) auf die Lochmaske (24) statt auf die Platte (10) aufgebracht und beim Schritt lit. c in die Durchbrüche (22) hinein gedrückt wird und wobei Schritt lit. d durchgeführt wird, indem die Lochmaske (24) von der Platte (10) abgenommen wird.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 bis 22, wobei auf das Elektrodenmaterial (15) eine, insbesondere Analytspezifische, Beschichtung aufgebracht wird oder Analytspezifische Moleküle in das Elektrodenmaterial (15) eingebracht werden.

24. Verfahren nach Anspruch 23, wobei als Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle aufgebracht oder eingebracht werden.

25. Verfahren nach Anspruch 23 oder 24, wobei auf das Elektrodenmaterial (15) jeweils unterschiedliche Beschichtungen aufgebracht oder in das Elektrodenmaterial (15) jeweils unterschiedliche Analyt-spezifische Moleküle eingebracht werden.

26. Verfahren nach Anspruch 24 oder 25, wobei als Fänger-Moleküle, insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher verwendet werden.

27. Verfahren nach einem der Ansprüche 24 bis 26, wobei die Fänger-Moleküle kovalent und/oder gerichtet an das Elektrodenmaterial (15) gebunden oder auf dem Elektrodenmaterial (15) synthetisiert oder elektrochemisch abgeschieden werden.

28. Verfahren nach einem der Ansprüche 24 bis 27, wobei die Fänger-Moleküle, zumindest teilweise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an das Elektrodenmaterial (15) gebunden oder auf der Zwischenschicht synthetisiert werden.

29. Verfahren nach Anspruch 28, wobei die Zwischenschicht aus Silan gebildet wird.

30. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 bis 29, wobei das Elektrodenmaterial (15) mit mindestens einem semipermeablen Überzug beschichtet wird.
31. Verfahren nach Anspruch 30, wobei das Elektrodenmaterial (15) jeweils mit unterschiedlich durchlässigen semipermeablen Überzügen beschichtet wird.
32. Verfahren zum elektrischen Kontaktieren einer Vorrichtung (17) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18, wobei eine Mehrzahl einzeln ableitbarer elektrischer Leiter (30) mit der zweiten Seite (14) der Platte (10) der Vorrichtung (17) so in Kontakt gebracht werden, dass die Leiter (30) dabei, zumindest teilweise, die Elektroden (15) so kontaktieren, dass die Elektroden (15) einzeln elektrisch ableitbar sind.
33. Verfahren nach Anspruch 32, wobei die Leiter (30) einfederbar gelagert sind und mit der zweiten Seite (14) der Platte (10) so in Kontakt gebracht werden, dass sie dabei einfedern.
34. Verfahren nach Anspruch 32, wobei das elektrische Kontaktieren über einen Elastomer-Verbinder, insbesondere einen ZEBRA®-Elastomer-Verbinder, erfolgt.
35. Verwendung einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 1 bis 18 zum Nachweis mindestens eines Analyten in einer Flüssigkeit, wobei die Flüssigkeit mit Elektroden (15) auf der ersten Seite (12) der Platte (10) der Vorrichtung (17) in Kontakt gebracht wird und die Elektroden (15) von deren zweiter Seite (14) her elektrisch kontaktiert werden.
36. Verwendung nach Anspruch 35, wobei die Flüssigkeit unter Bedingungen mit den Elektroden (15) in Kontakt gebracht wird, unter denen der Analyt oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz an an den Elektroden (15) vorhandene Fänger-Moleküle bindet und der an die Fänger-Moleküle gebundene Analyt oder die daran gebundene Substanz elektrisch, elektrochemisch oder optisch nachgewiesen wird.
37. Verwendung nach Anspruch 35 oder 36, wobei mindestens eine Elektrode (15) mit einem semipermeablen Überzug beschichtet ist und selektiv nur solche Analyten, Abbauprodukte von Analyten oder Substanzen elektrisch, elektrochemisch oder optisch nachgewiesen werden, welche den Überzug durchdringen.
38. Verwendung nach einem der Ansprüche 35 bis 37, wobei der Analyt ein Biomolekül, insbesondere eine Nukleinsäure, ein Protein, ein Antigen, ein Zucker, ein Lipid, eine Zelle oder ein Virus, ist.
39. Verwendung nach einem der Ansprüche 35 bis 38, wobei der Analyt eine Markierungssubstanz aufweist.
40. Verwendung nach einem der Ansprüche 35 bis 39, wobei eine Redox-Reaktion oder eine katalytische Wasserstoffentwicklung elektrochemisch detektiert wird.
41. Verwendung nach einem der Ansprüche 35 bis 40, wobei das elektrochemische Detektieren mittels Differenzieller Puls-Voltammetrie (DPV), Chronopotentiometrischer Stripping Analyse (CPSA) oder des Nachweises einer Widerstands- oder Impedanzänderung erfolgt.
42. Verwendung nach einem der Ansprüche 35 bis 41, wobei das elektrochemische Detektieren folgende Schritte umfasst:
- a) Bereitstellen einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 1 bis 18, wobei die Vorrichtung (17) mindestens eine Gegen- und eine Referenzelektrode sowie eine Vielzahl von Arbeitselektroden aufweist,
 - b) Inkontaktbringen der Flüssigkeit mit den Arbeits-, Gegen- und Referenzelektroden,
 - c) gleichzeitiges Anlegen eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode und
 - d) Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme, wobei während der Messung sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potential gehalten werden.
43. Verwendung nach einem der Ansprüche 35 bis 42, wobei zum elektrochemischen Detektieren ein Potentialintervall zur Messung gewählt wird, in welchem im Wesentlichen nur der Analyt oder die Substanz ein Signal verursacht.
44. Verwendung nach einem der Ansprüche 35 bis 43, wobei die, insbesondere Kohlenstoff enthaltenden, Elektroden (15) vor dem Nachweisen des Analyten mit einem Detergenz behandelt werden.

DE 102 29 210 A1 2004.01.29

45. Verwendung nach Anspruch 44, wobei das Detergenz ein ionisches Detergenz ist.
46. Verwendung nach Anspruch 44 oder 45, wobei das Detergenz in einer Konzentration von 0,1% bis 10% vorliegt.
47. Verwendung nach einem der Ansprüche 44 bis 46, wobei das Detergenz in Wasser eine kritische micellare Konzentration unter 10 mmol/l, insbesondere unter 5 mmol/l, vorzugsweise unter 3 mmol/l, aufweist.
48. Verwendung nach einem der Ansprüche 44 bis 47, wobei das Detergenz Natriumdodezylsulfat ist.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

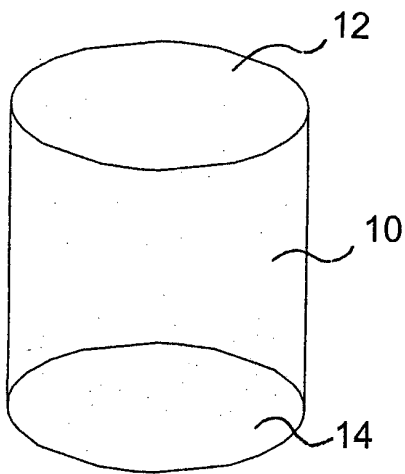


Fig. 1a

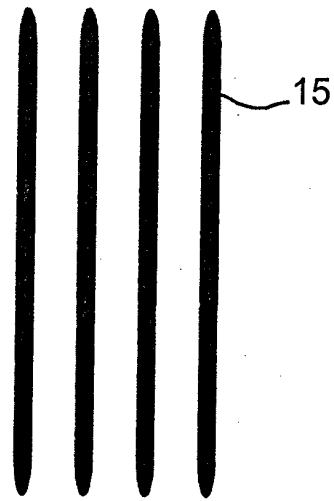


Fig. 1b

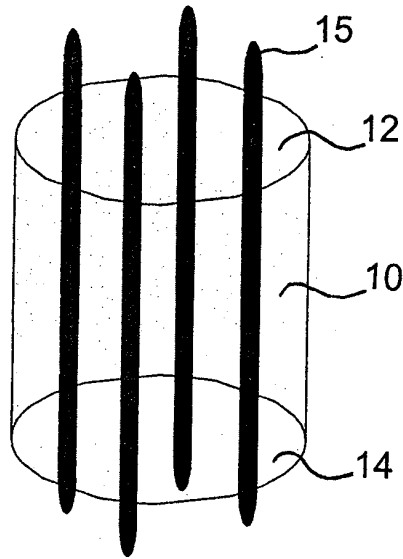


Fig. 1c

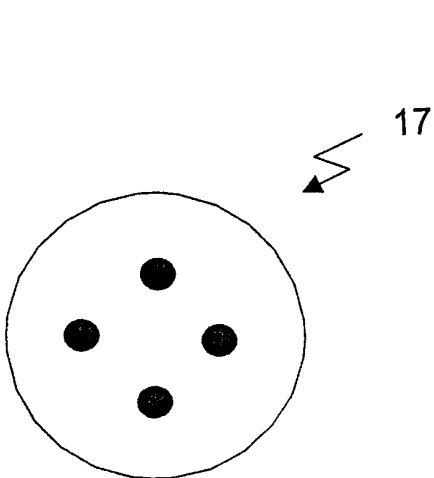


Fig. 1d

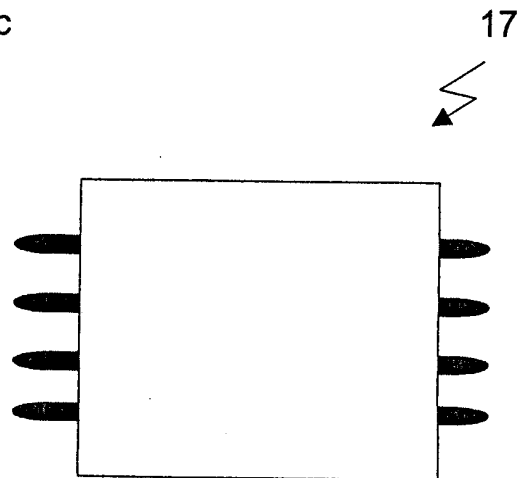


Fig. 1e

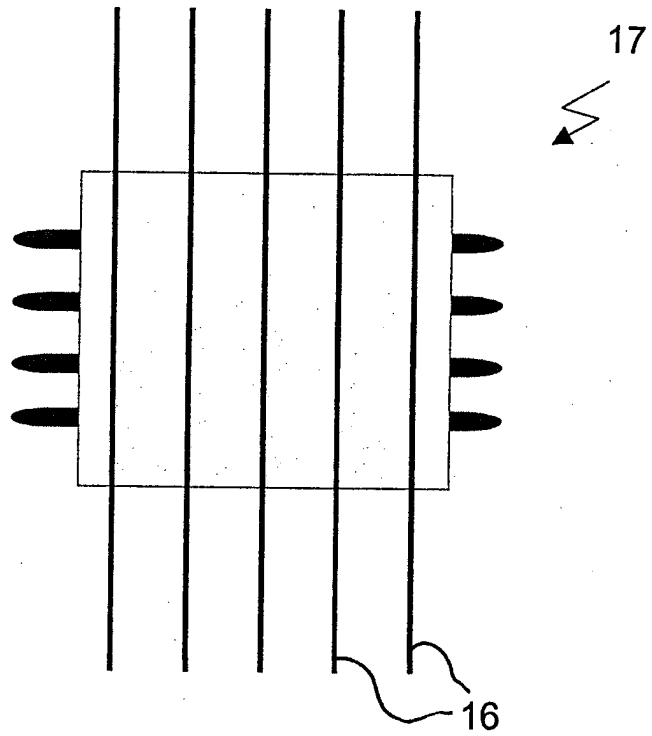


Fig. 2a

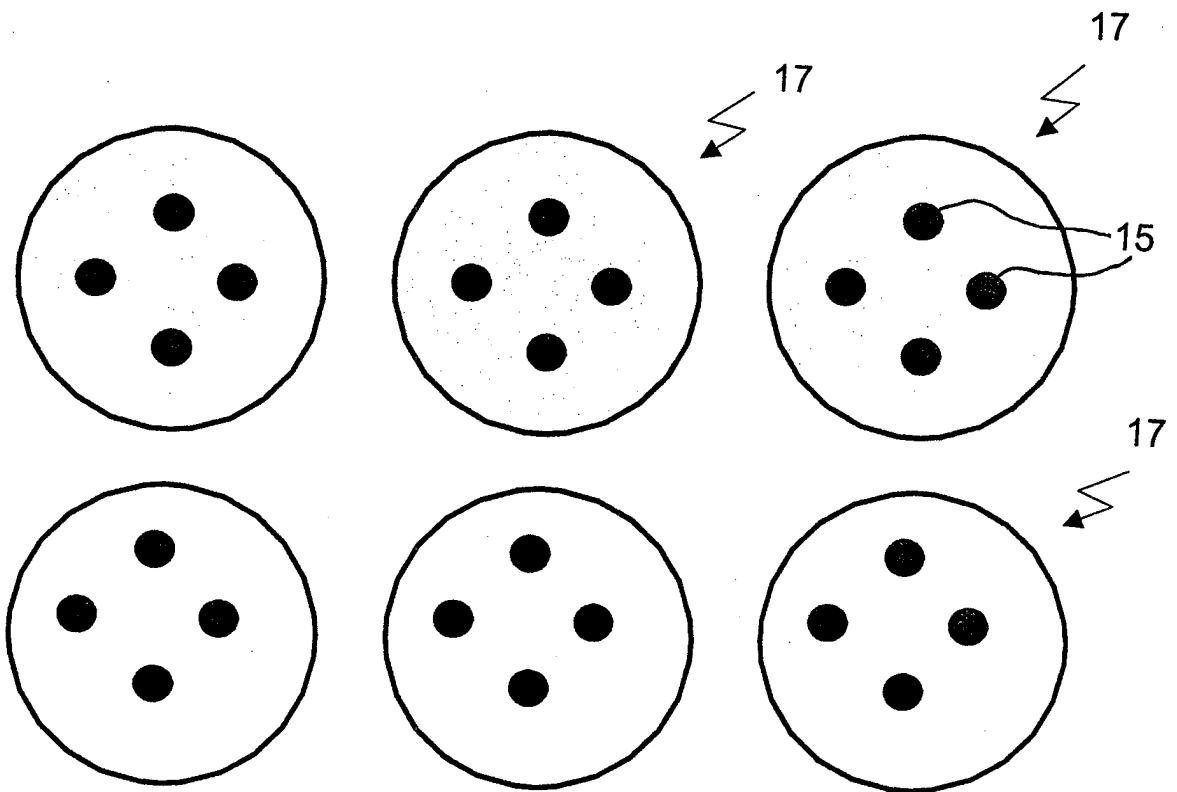


Fig. 2b

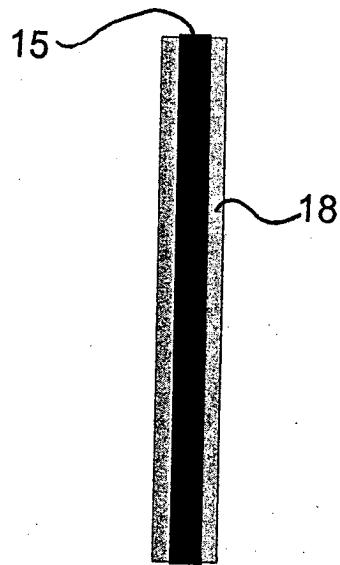


Fig. 3a

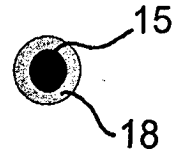


Fig. 3b

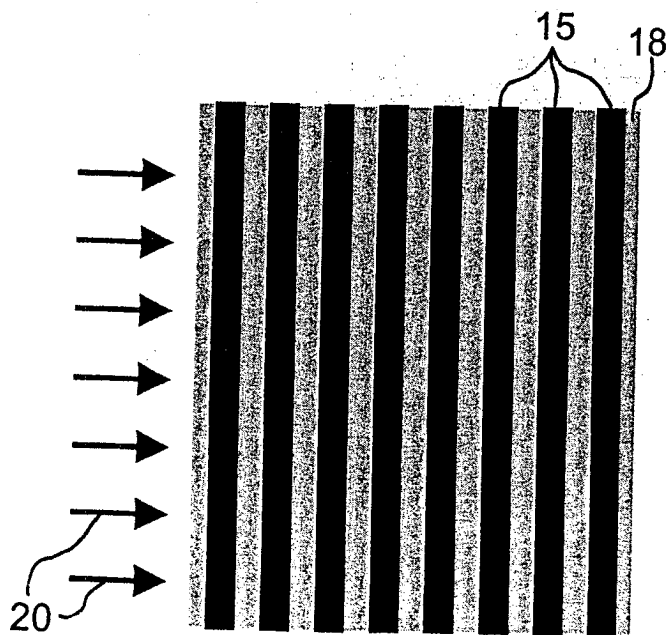


Fig. 3c

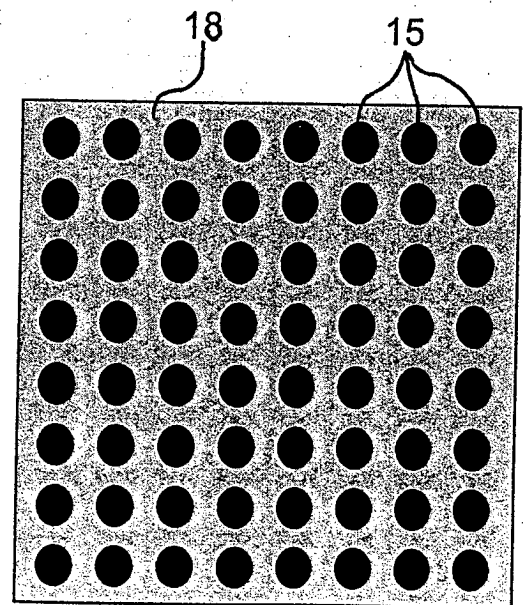


Fig. 3d

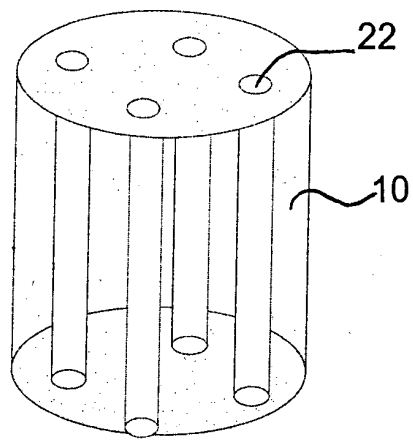


Fig. 4a

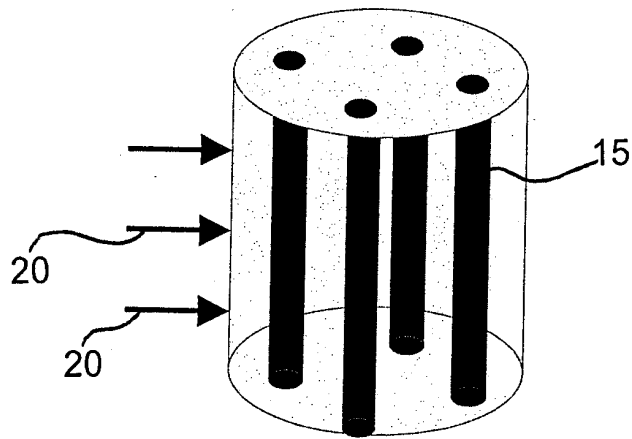


Fig. 4b

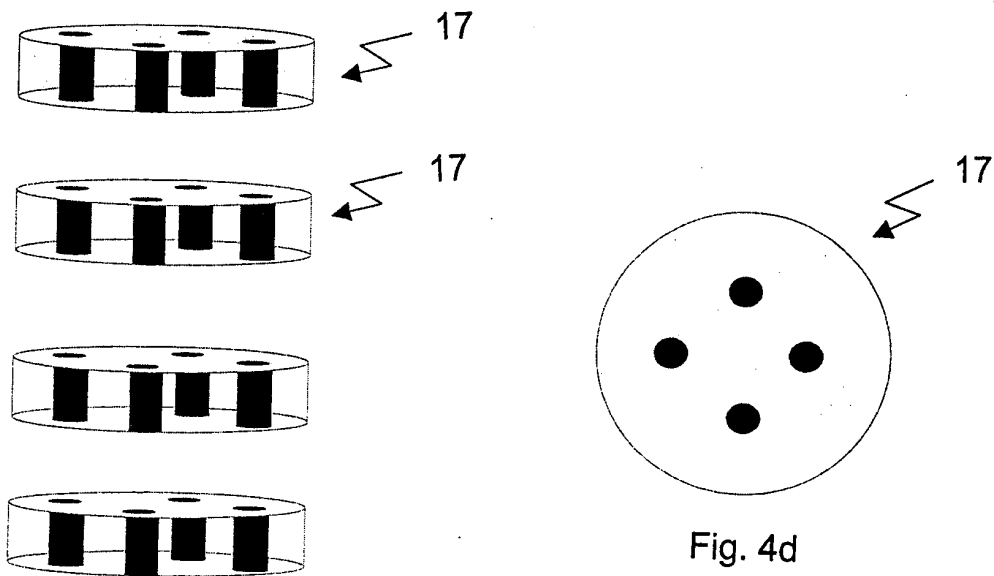


Fig. 4c

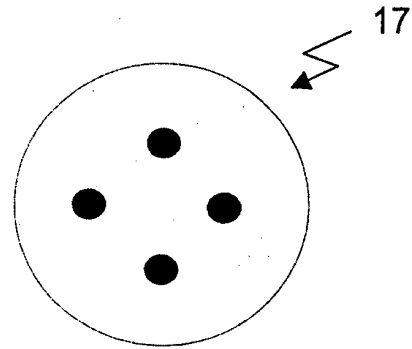


Fig. 4d

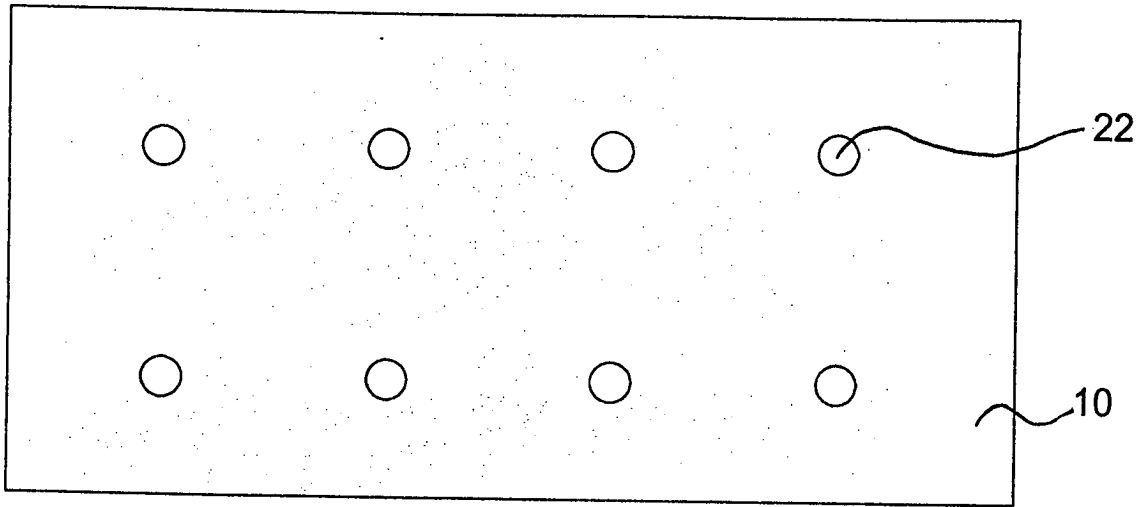


Fig. 5a

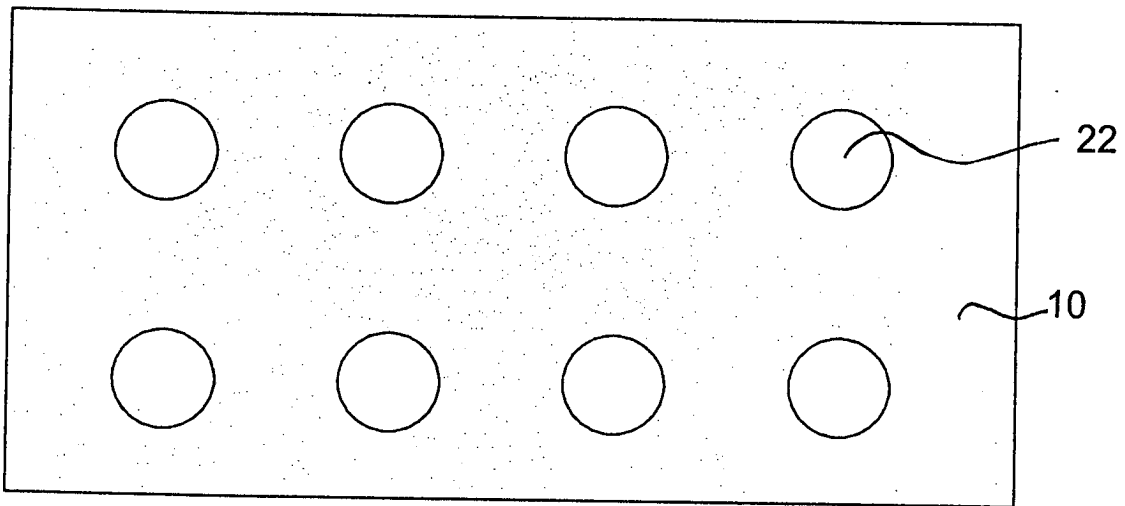


Fig. 5b

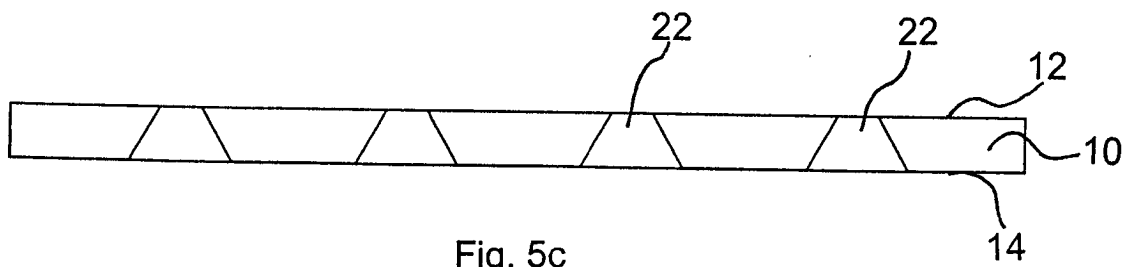
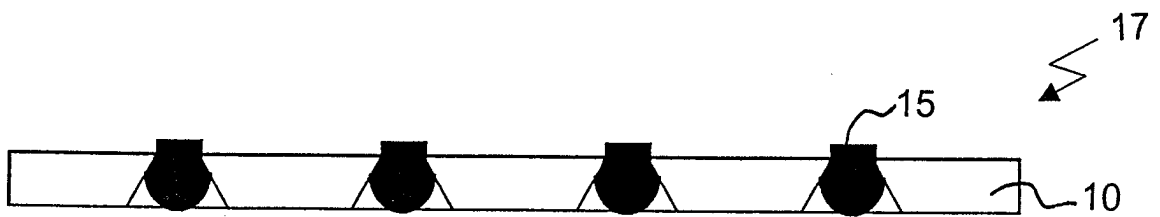
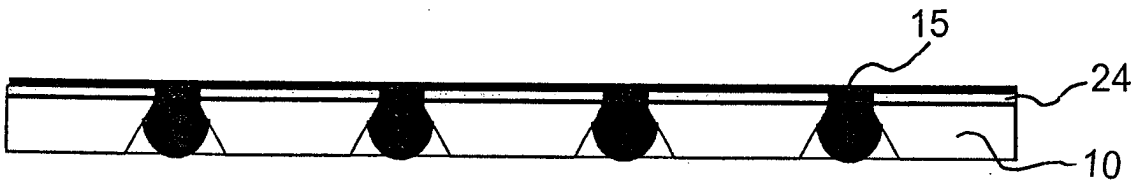
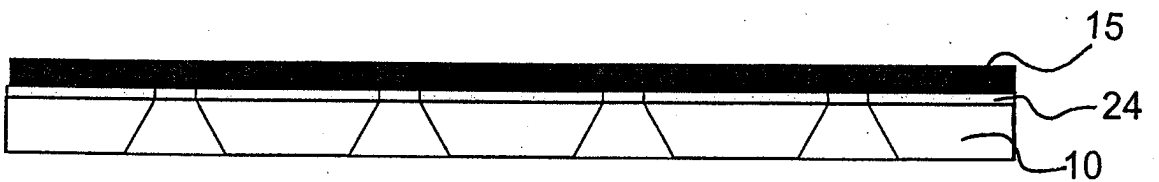
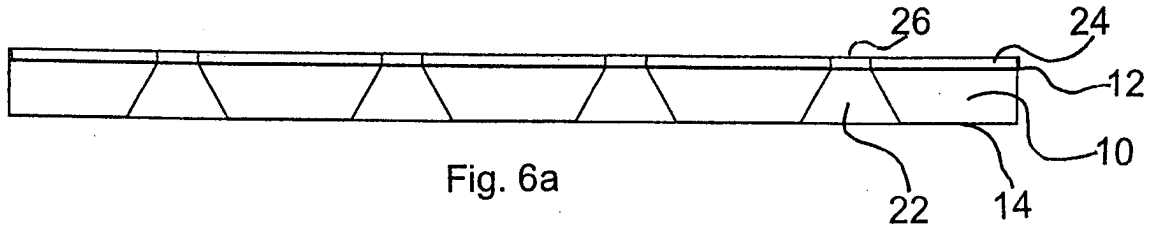


Fig. 5c



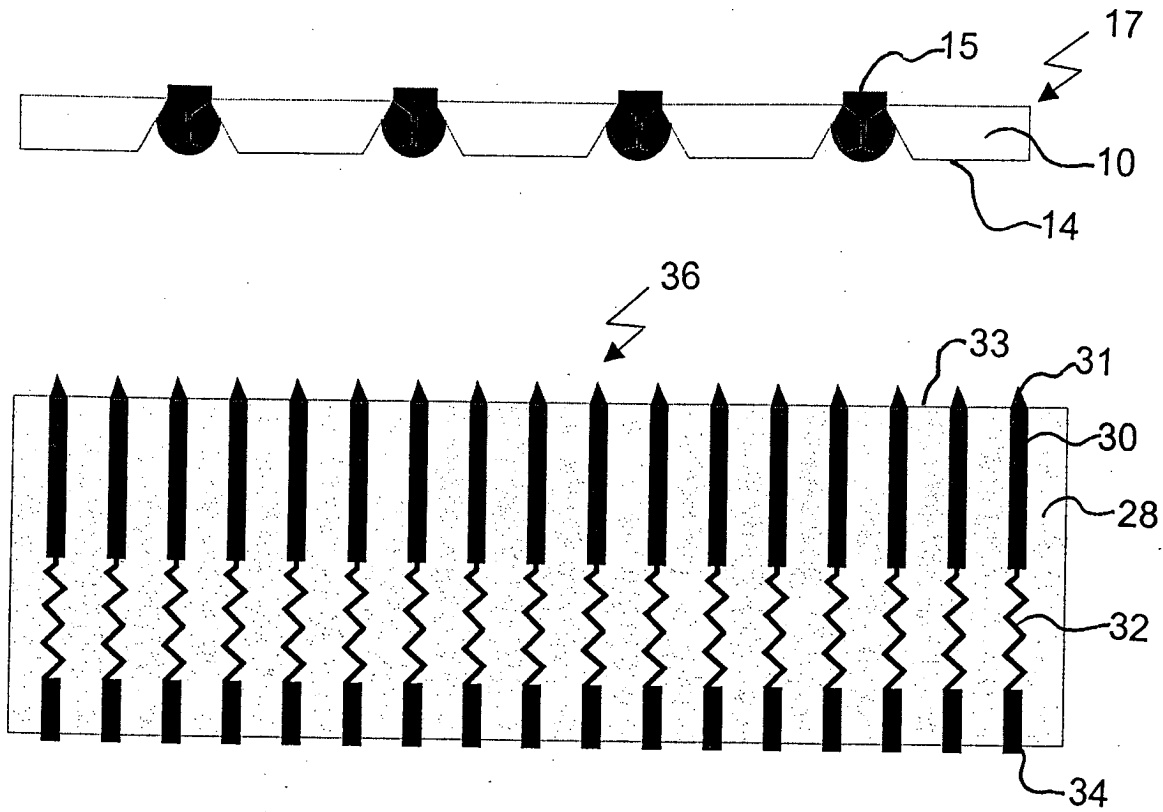


Fig. 7a

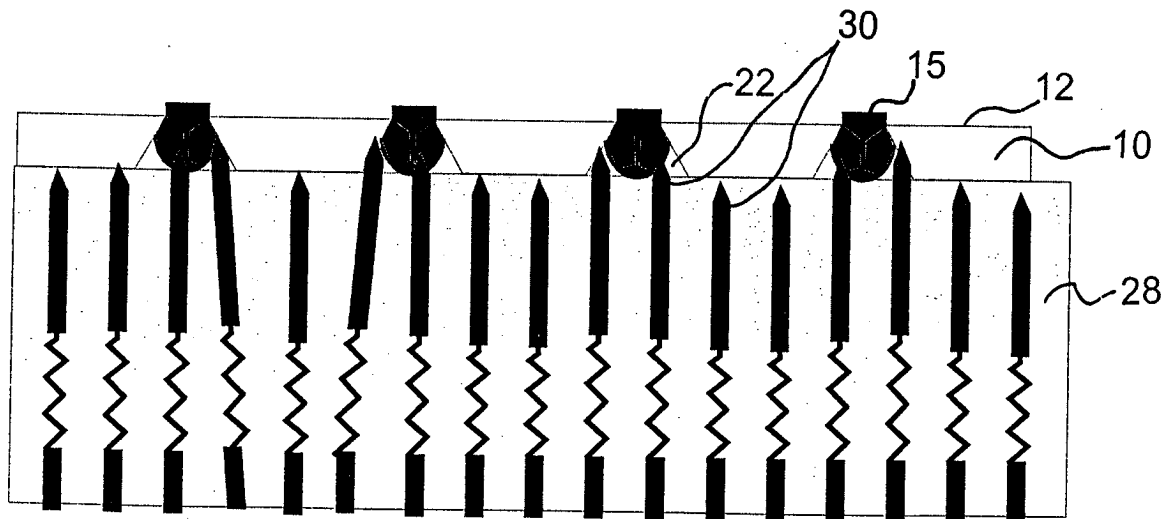


Fig. 7b

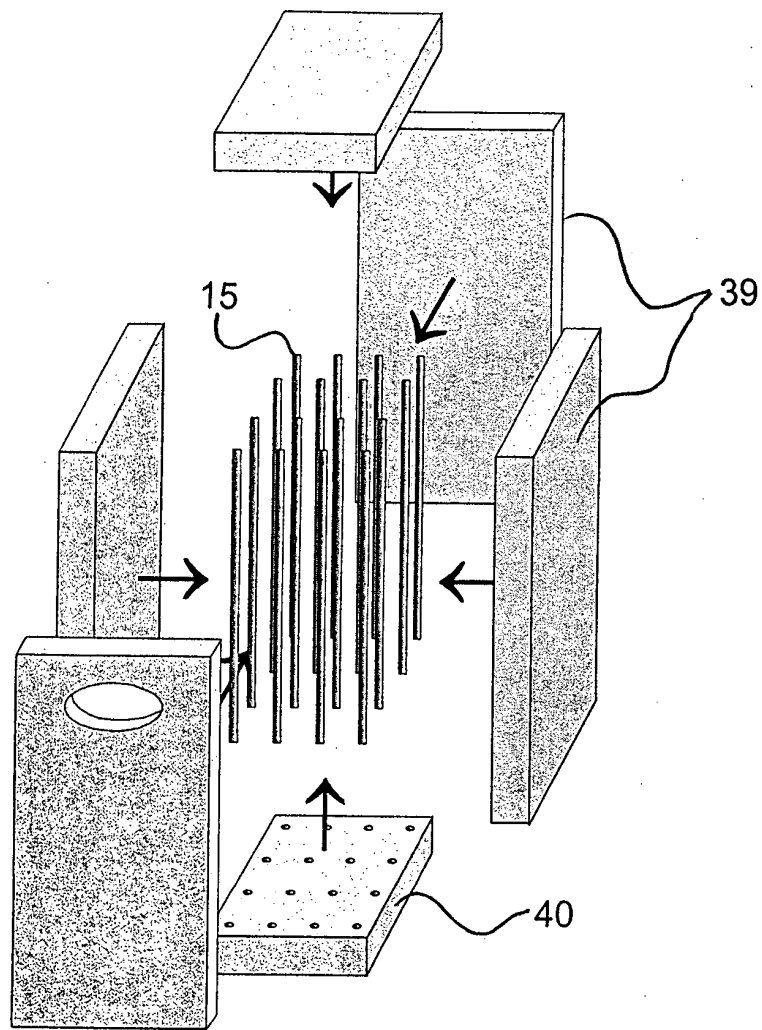


Fig. 8a

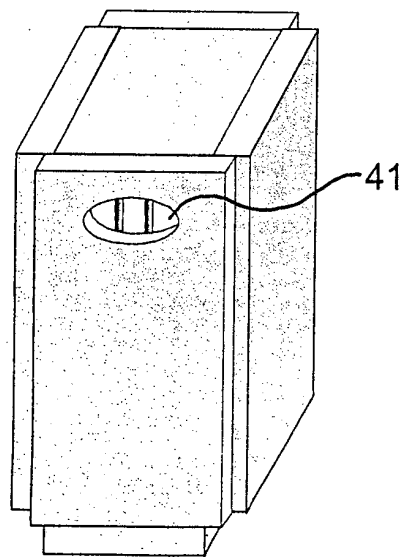


Fig. 8b

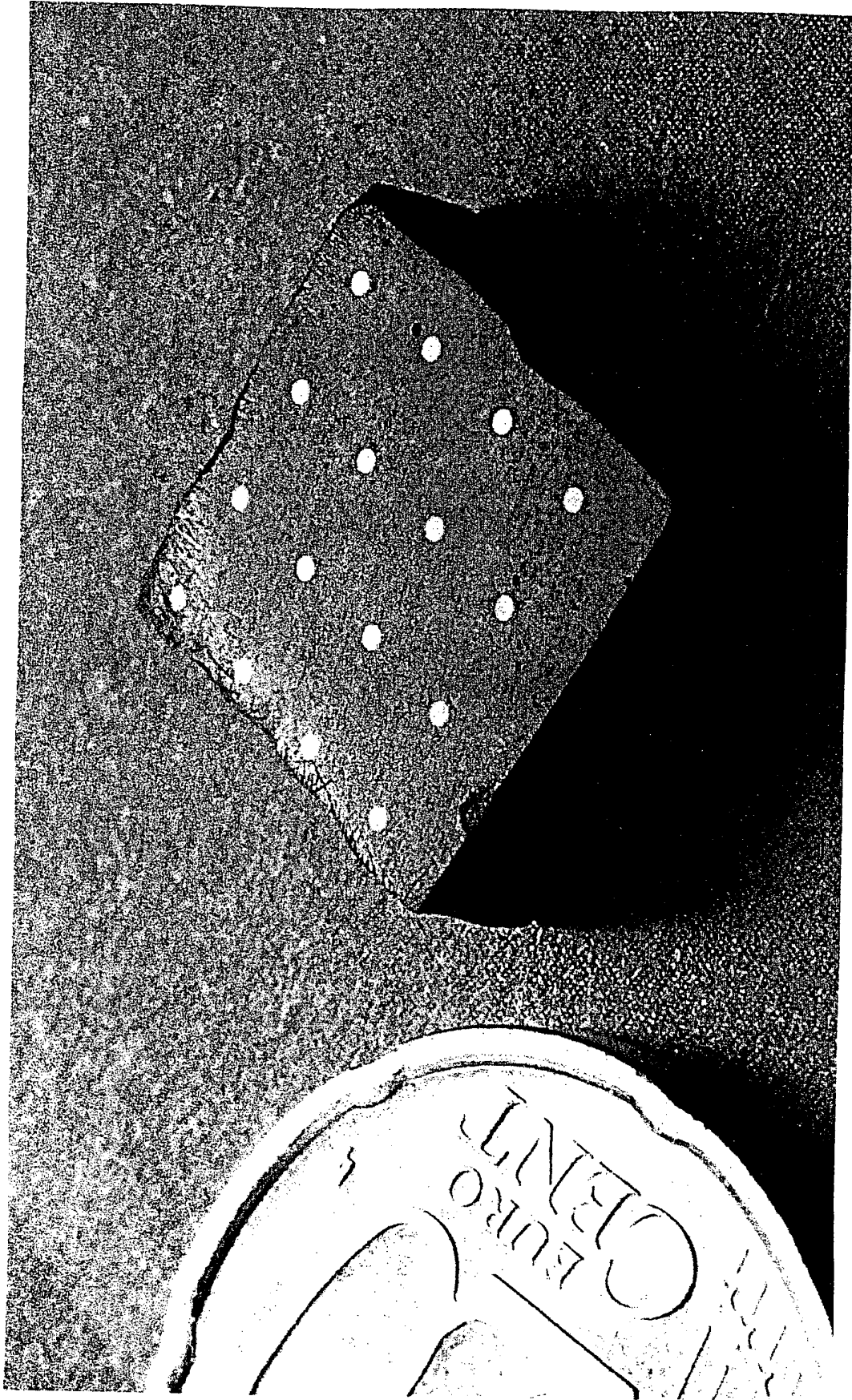


Fig. 9

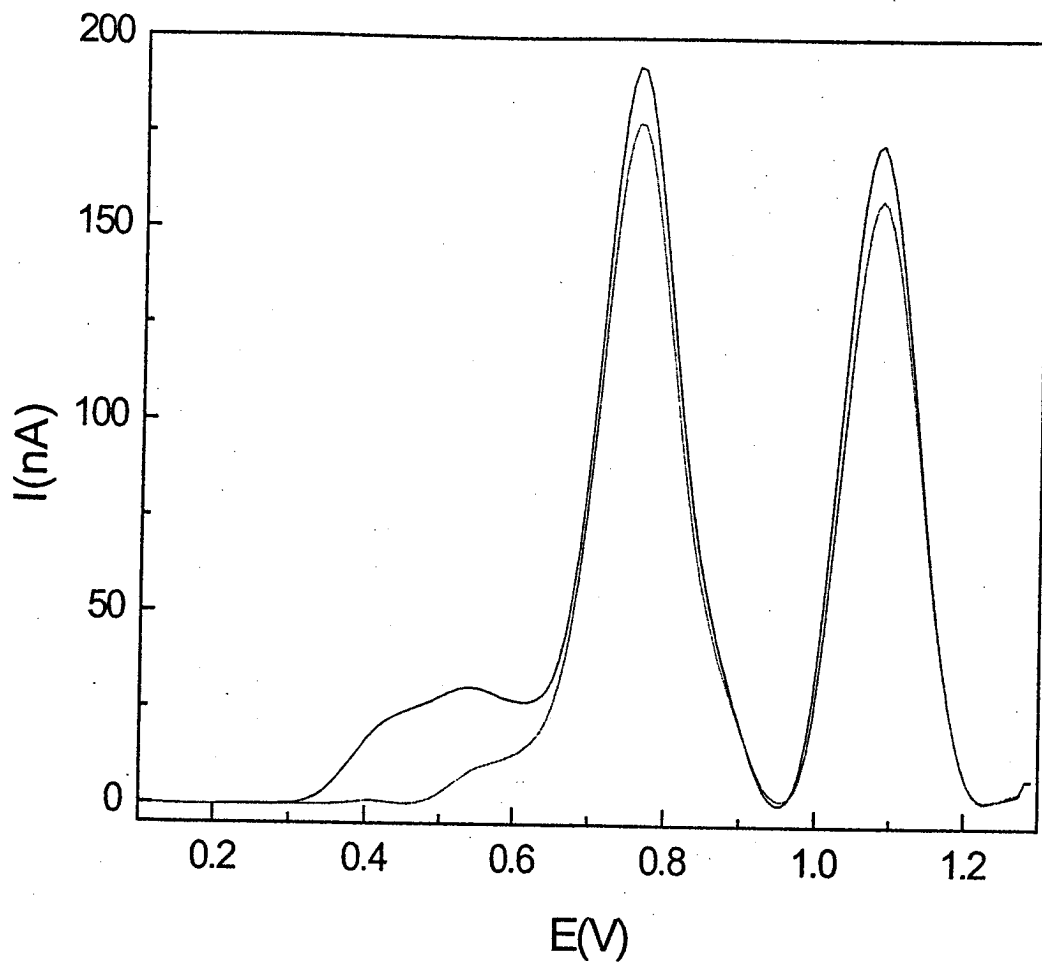


Fig. 10

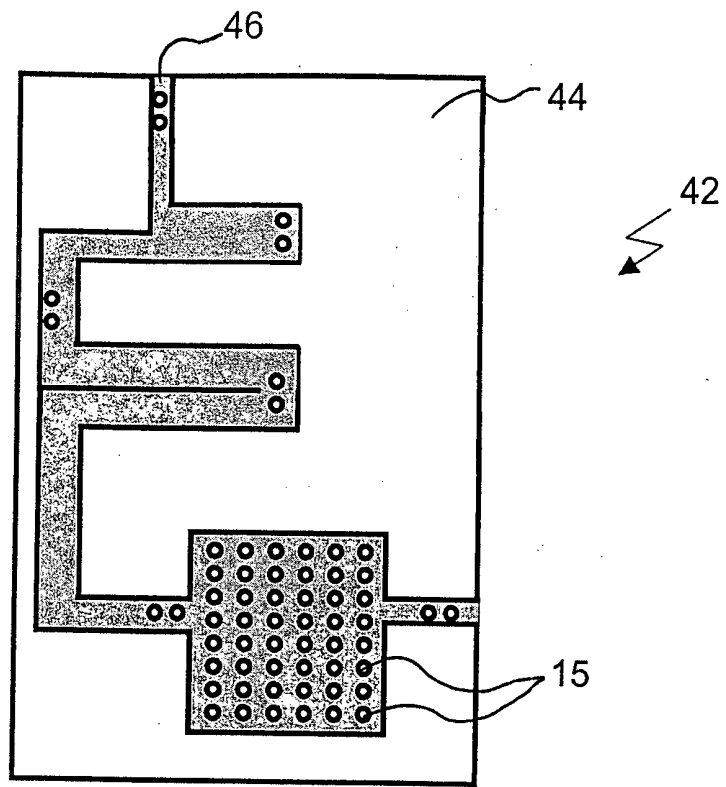


Fig. 11a

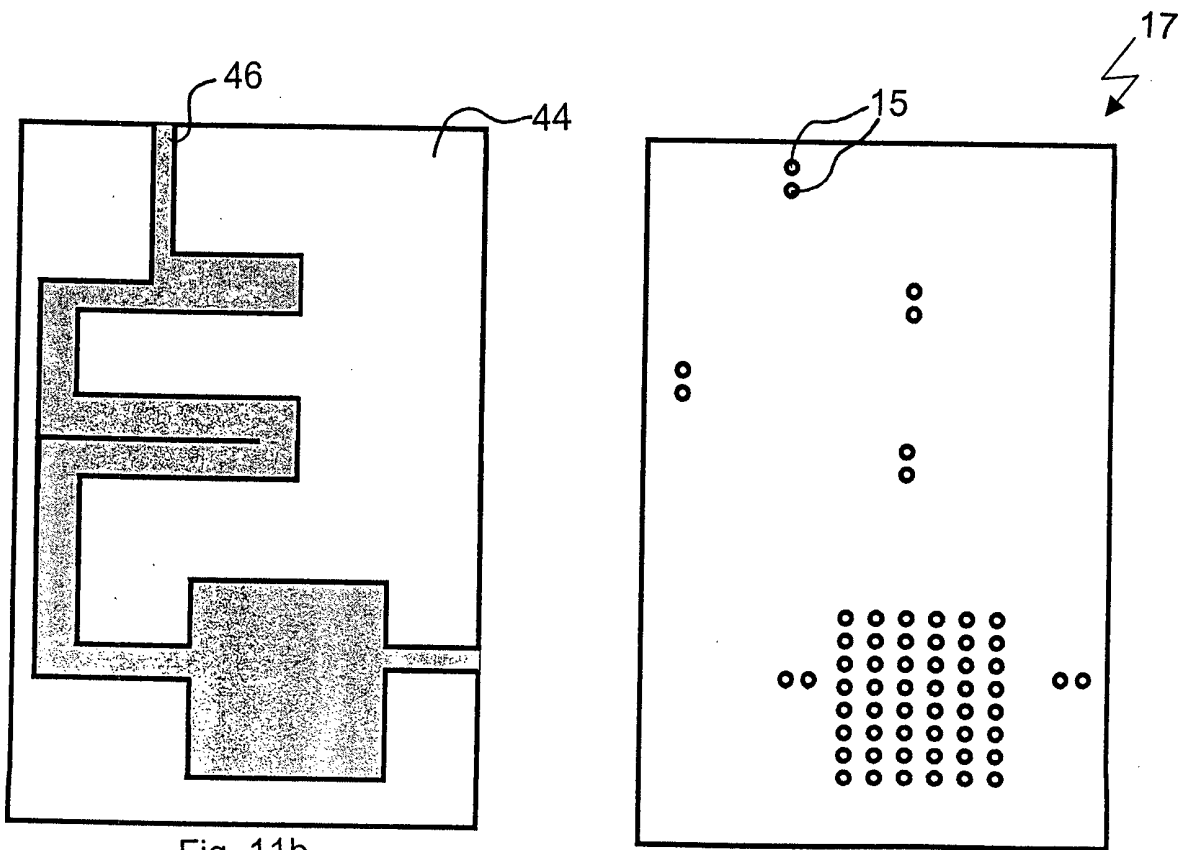


Fig. 11b

Fig. 11c