



(11) **EP 2 292 329 A1**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
09.03.2011 Patentblatt 2011/10

(51) Int Cl.:
B01L 3/00 ^(2006.01) **B41M 3/14** ^(2006.01)
G01N 21/03 ^(2006.01)

(21) Anmeldenummer: **09011507.2**

(22) Anmeldetag: **08.09.2009**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL
PT RO SE SI SK SM TR**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL BA RS

(71) Anmelder:
• **Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der
angewandten Forschung e.V.**
80686 München (DE)
• **Ibidi Gmbh**
82152 Martinsried (DE)

(72) Erfinder:
• **Fischer, Thomas**
10317 Berlin (DE)

• **Stumpe, Joachim**
14641 Nauen (DE)
• **Kahl, Valentin**
80797 München (DE)

(74) Vertreter: **Pfenning, Meinig & Partner GbR**
Patent- und Rechtsanwälte
Theresienhöhe 13
80339 München (DE)

Bemerkungen:

Geänderte Patentansprüche gemäss Regel 137(2)
EPÜ.

(54) **Polymersubstrat mit fluoreszierender Struktur, Verfahren zu dessen Herstellung und dessen Verwendung**

(57) Die Erfindung betrifft mit Fluoreszenzmerkmalen versehene Polymersubstrate, in denen durch UV-Bestrahlung photochemisch Fluoreszenzmerkmale, d.h. fluoreszierende Strukturen, erzeugt werden. So können in Polymersubstraten mit einer geringen Eigenfluoreszenz durch geeignete UV-Bestrahlung Fluorophore erzeugt werden, die bei Anregung mit Licht geeigneter Wellenlänge eine markante und detektierbare Emission zeigen. Wird eine derartige Bestrahlung strukturiert durch-

geführt, können auf diese Weise in Polymersubstraten Emissionsmuster erzeugt werden, die z.B. als Wiederfindungsgitter in der Fluoreszenz-Mikroskopie angewendet werden können. Ein weiteres Anwendungsfeld betrifft die Produkt-Authentifizierung, die durch die erfindungsgemäßen mit Fluoreszenzmerkmalen versehenen Polymersubstrate ermöglicht wird.

EP 2 292 329 A1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft mit Fluoreszenzmerkmalen versehene Polymersubstrate, in denen durch UV-Bestrahlung photochemisch Fluoreszenzmerkmale, d.h. fluoreszierende Strukturen, erzeugt werden. So können in Polymersubstraten mit einer geringen Eigenfluoreszenz durch geeignete UV-Bestrahlung Fluorophore erzeugt werden, die bei Anregung mit Licht geeigneter Wellenlänge eine markante und detektierbare Emission zeigen. Wird eine derartige Bestrahlung strukturiert durchgeführt, können auf diese Weise in Polymersubstraten Emissionsmuster erzeugt werden, die z.B. als Wiederfindungsgitter in der Fluoreszenz-Mikroskopie angewendet werden können. Ein weiteres Anwendungsfeld betrifft die Produkt-Authentifizierung, die durch die erfindungsgemäßen mit Fluoreszenzmerkmalen versehenen Polymersubstrate ermöglicht wird.

[0002] Auf dem Gebiet der Kultivierung von Zellen werden unterschiedlichste Probenkammern verwendet. Diese sind zumeist polymerbasiert und reichen von der Zellkulturflasche über Objektträger und μ -Slides der Firma ibidi bis hin zu Multiwellplatten.

[0003] Diese Probenkammern können zusammenhängende Flächen, auf denen Zellen wachsen, von 1 mm² bis 100 cm² aufweisen. Da Zellen typischerweise einen Durchmesser von 1 μ m bis 30 μ m aufweisen, ist das Wiederfinden einzelner Zellen in großflächigen Kammern ohne Wiederfindungsstrukturen fast unmöglich.

[0004] So ist aus der DE 100 04 135 ein Wiederfindungsgitter auf einer Kunststoffolie bekannt, wobei die Kunststoffolie in die Probenkammer integriert ist. Die EP 2 008 715 A1 beschreibt ebenfalls ein Wiederfindungsgitter, das als Teil des Kunststoffkörpers ausgebildet ist bzw. in den Kunststoffkörper eingebracht ist. Die hier beschriebenen Systeme basieren auf nicht-fluoreszierenden Wiederfindungsgittern.

[0005] Ein weiterer Bereich des Standes der Technik, der der vorliegenden Erfindung zugrunde liegt, betrifft die Authentifizierung von Produkten, insbesondere Konsumprodukten.

[0006] Die Authentifizierung von Produkten erfolgt derzeit im Stand der Technik durch das Aufbringen von fluoreszierendem Material auf Polymerfolien mittels diverser Druckverfahren. Andere Methoden zur Authentifizierung von Produkten sehen vor, dass eine Charakterisierung der Eigenfluoreszenz von Polymeren erfolgt, wobei bei der Herstellung der Polymere Fluoreszenzfarbstoffe als Dopanden beigefügt wurden (WO 2005/054830).

[0007] Weiterhin kann in Folien die Fluoreszenz strukturiert werden, indem eine bestehende Eigenfluoreszenz ausgeblendet wird.

[0008] Ebenso sind Verfahren zur Strukturierung von Fluoreszenz bekannt, bei denen Polymere eingesetzt werden, die kovalent gebundene Precursor enthalten oder denen solche als Dopanden zugesetzt werden müssen.

[0009] Ebenso sind komplexere Systeme bekannt, die

Fluoreszenz als Mittel der Authentifikation nutzen, wobei jedoch Formveränderungen der Folienkombinationen erforderlich sind (WO 2003/101755). Eine weitere Variante sieht vor, dass die Anisotropie von Fluoreszenz-Dopanden in gestreckten Folien ausgenutzt wird, um Authentifikationsmaterialien herzustellen (WO 2004/087795). All diesen Methoden zur Authentifikation von Produkten ist gemein, dass die Fluorophore flächig gleichmäßig im Material verteilt sind, so dass keine strukturierten Fluoreszenz-Bereiche vorliegen.

[0010] Ausgehend hiervon war es Aufgabe der vorliegenden Erfindung, mit Fluoreszenzmerkmalen versehene Polymersubstrate bereitzustellen, die einfach herzustellen sind und eine einfache Erkennung oder Detektion ermöglichen.

[0011] Diese Aufgabe wird durch das Polymersubstrat mit den Merkmalen des Anspruchs 1 und das Verfahren zu dessen Herstellung mit den Merkmalen des Anspruchs 17 gelöst. In den Ansprüchen 24 bis 28 werden erfindungsgemäße Verwendungen des Polymersubstrats aufgeführt. Ebenso wird eine Probenkammer gemäß Anspruch 7 bereitgestellt, die dieses Polymersubstrat aufweist. Die weiteren abhängigen Ansprüche zeigen vorteilhafte Weiterbildungen auf.

[0012] Erfindungsgemäß wird ein Polymersubstrat mit einer fluoreszierenden Struktur als integralen Bestandteil bereitgestellt, wobei in dem Polymersubstrat bereichsweise eine fluoreszierende Struktur photochemisch erzeugt wird. Bei den bevorzugten Polymersubstraten handelt es sich um Polymere mit einer geringen Eigenfluoreszenz, d.h. mit einer Eigenfluoreszenz in der Größenordnung eines Deckglases im Anregungs- und Emissionsbereich von 200 nm bis 1.000 nm. Dazu gehören insbesondere COC, COP, PMMA, aliphatische Polyester und Polyurethane sowie Polyether. Besonders gut sind Polymere ohne UV-Stabilisatoren geeignet. Für die optische Mikroskopie sind insbesondere Polymere mit einem Brechungsindex zwischen 1,4 und 1,6 insbesondere mit 1,51 und/oder einer Abbezahl über 50 und/oder mit einer geringen Doppelbrechung geeignet.

[0013] Unter einer fluoreszierenden Struktur werden dabei Strukturen bis hin zur optischen Auflösungsgrenze verstanden. Typischerweise werden aber Strukturen mit einer lateralen Auflösung von mehreren μ m verwendet. Bevorzugt soll die fluoreszierende Struktur mindestens eine doppelt so hohe Intensität wie die nicht fluoreszierende Struktur aufweisen. Für klassische Anwendungen soll die Struktur eine so hohe Intensität aufweisen, dass diese bereits bei Belichtungszeiten unter einer Sekunde mit handelsüblichen Forschungsfluoreszenzmikroskopen gut zu erkennen ist. Dies ist bei einem Faktor 10 bereits gegeben.

[0014] Erfindungsgemäß sind die erzeugten Fluorophore, die die fluoreszierende Struktur bilden, fest im dem Polymersubstrat gebunden und bilden mit ihm eine Einheit. Die fluoreszierenden Strukturen sind somit ein integraler Bestandteil des Trägers. Das so modifizierte Polymer zeichnet sich dadurch aus, das sowohl die fluo-

reszierenden Bereiche als auch die nicht fluoreszieren- den Bereiche aus dem identischen Ursprungsmaterial bestehen. Deshalb können die Fluorophore darüber hin- aus auch nicht diffundieren oder ausschwitzen. Diese Eigenschaften grenzen die erzeugten Strukturen z.B. deutlich von einer aufgedruckten, anderweitig aufge- brachten Struktur (z.B. einer eingepprägten oder eingela- serten Struktur) oder Farbstoffdotierten Polymersyste- men ab. Es müssen zudem keine, eventuell zelltoxi- schen, Fluoreszenzfarbstoffe verwendet werden, die auf das Polymer aufgebracht werden.

[0015] Erfindungsgemäß wird eine Strukturierung des Polymersubstrates mit fluoreszenten Bereichen erzeugt. Hierzu wird bevorzugt eine Maske oder eine lokal posi- tionierbare Strahlungsquelle eingesetzt. Wird die UV-Be- strahlung strukturiert vorgenommen, so fluoreszieren si- gnifikant nur die Bereiche, die bestrahlt wurden. In den unbestrahlten Bereichen jedoch wird keine wesentliche Erhöhung der Grundemission erzielt. Auf diese Weise können Muster erzeugt werden, die bei Anregung mit Licht geeigneter Wellenlänge sichtbar werden. Eine so erfolgte photochemische Strukturierung erzeugt muster- haft fluoreszierende Bereiche, die langzeitstabil und sta- bil gegenüber Umwelteinflüssen sind. Weiterhin zeich- nen sie sich dadurch aus, dass sie ihre Kantenschärfe nicht durch Diffusion oder ähnliche Prozesse verlieren. Außerdem lassen sich die so erzeugten Merkmale nicht spurenfrei entfernen. Vorzugsweise besteht die fluores- zierende Struktur im Polymersubstrat aus mehreren Ele- menten in Form von Strichen, Linien, Zeichen, Figuren, Interferenzmustern oder Kombinationen hiervon.

[0016] Wie oben beschrieben können fluoreszierende Strukturen mit nur durch die Substratgröße beschränkter Gesamtausdehnung des Musters erzeugt werden. Die laterale Auflösung der Elemente der fluoreszierenden Struktur wird nur von der Methode der Einbringung und der Lichtwellenlänge beschränkt. Die einzelnen Struktu- relelemente der Fluoreszenzmuster besitzen jedoch typi- scherweise eine laterale Ausdehnung von weniger als 100 µm, vorzugsweise weniger als 10 µm.

[0017] Erfindungsgemäß wird ebenso ein Verfahren zur Herstellung des zuvor beschriebenen Polymersub- strates bereitgestellt, bei dem ein Polymersubstrat zu- mindest bereichsweise einer Bestrahlung im Wellenlän- genbereich unterhalb von 300 nm zur Erzeugung von fluoreszierenden Strukturen unterzogen wird.

[0018] Gemäß einer erfindungsgemäßen Variante er- folgt dabei die Herstellung der fluoreszierenden Struktu- ren durch UV-Bestrahlung unter Verwendung von Mas- ken durch Abbildung oder Kontaktbelichtung.

[0019] Als Maske zur Strukturierung werden vorzugs- weise Platten verwendet, die eine musterhafte Variation von Bereichen, die für das verwendete Bestrahlungslicht entweder transparent oder nicht-transparent sind, auf- weisen. Bevorzugt werden metallische Platten einge- setzt, die musterhafte Durchbrechungen besitzen. Be- sonders bevorzugt werden Masken aus Chrom auf Kie- selglas.

[0020] Es können zur Strukturierung alternativ zu Mas- ken sowohl Strahlungsquellen mit kohärentem (Laser- Direktschreiben) als auch fokussiertem Strahl (Proben- positionierung) eingesetzt werden.

5 **[0021]** Als Strahlungsquellen werden vorzugsweise Strahlungsquellen mit Emissionswellenlängen oder Emissionswellenlängenbereichen im Bereich unterhalb von 300 nm eingesetzt. Hierzu zählen insbesondere Deuterium-Lampen, Excimer-Lampen (Xe), Excimer-La- 10 ser (F₂, ArF, KrF) oder Festkörper-Laser (Nd: YVO₄/YLF).

[0022] Als Polymersubstrat wird vorzugsweise eine Polymerfolie eingesetzt.

15 **[0023]** Die UV-generierte Erzeugung der Fluoropho- ren kann im Absorptionsspektrum des Polymersubstra- tes durch eine Zunahme der Extinktion im UV-Bereich verfolgt werden. Diese Veränderungen beeinträchtigen jedoch nicht wesentlich die optische Durchlässigkeit im für das menschliche Auge sichtbaren Bereich des Lich- 20 tes. Die Polymersubstrate können beschädigungsfrei auf der Vorder- oder Rückseite mit Fluoreszenzmerkmalen versehen werden. Ihre Erzeugung erfordert keinen Aus- schluss vom Luftsauerstoff.

25 **[0024]** Aufgrund einer hohen Bandbreite von Absorp- tion und Emission der erzeugten Fluorophore können un- terschiedliche Fluoreszenzfarben entsprechend den An- regungsbedingungen generiert werden.

30 **[0025]** Die Fluoreszenzmerkmale zeichnen sich wei- terhin dadurch aus, dass sie direkt in Materialien erzeugt werden, die ohnehin für Produkte aus verschiedenen Be- reichen verwendet werden. Es sind keine zusätzlichen Beschichtungen, Bedruckungen oder anderes Aufbrin- gen von Fluorophoren, Fluoreszenz-Labeln oder deren Precursoren nötig. Dadurch, dass die Merkmale direkt 35 im verwendeten Material erzeugt werden, vereinfacht und verbilligt sich Herstellung dieser beträchtlich gegen- über anderen Verfahren. Darüber hinaus handelt es sich um einen voll-optischen Prozess, der keinerlei nasssche- mische Entwicklungsprozesse erfordert.

40 **[0026]** Solche Emissionsmuster können genutzt wer- den, um Substrate für die Fluoreszenz-Mikroskopie mit einem Wiederfindungsgitter zu versehen. Typischerwei- se sind die Wiederfindungsgitter als Gitterraster ausge- führt, das auch mit Zahlen oder Buchstaben versehen 45 ist. Diese Wiederfindungsgitter erleichtern das Wieder- finden bestimmter Probenareale dadurch, dass diese an- hand des Gitterrasters genau charakterisierbar sind. Die Wiederfindungsgitter beeinflussen biologische Prozesse nicht wesentlich und sind ausreichend stabil, um längere 50 Beobachtungen an biologischen und anderen Proben bei höherer Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit durch- führen zu können.

55 **[0027]** Die beschriebenen, photochemisch erzeugten Merkmale eignen sich aufgrund ihrer Absorptions- und Emissionseigenschaften sehr gut für typische Anre- gungsbedingungen bei der Fluoreszenzmikroskopie, sie sind in allen Fluoreszenzkanälen sichtbar (blau, grün, gelb und rot). Die laterale Auflösung bei derartig erzeug-

ten Merkmalen ist ausreichend hoch, um z.B. ein kartiertes Beobachten von Zellen verschiedenen Typs zu ermöglichen.

[0028] Kammern, in die solche Gitter eingebracht werden können, sind in der DE 100 04 135, der DE 101 05 711, der EP 02 777 215, der EP 05 041 563, der EP 06 015 167, der EP 07 012 400 und der EP 09 006 487 beschrieben.

[0029] Dabei handelt es sich im Wesentlichen um Kammern, die mindestens aus einem Oberteil und einem Unterteil bestehen. Dabei weist das Oberteil mindestens eine Aussparung auf. Durch das Verbinden mit dem Unterteil wird ein Reservoir gebildet. Je nach Geometrie der Aussparung des Oberteils ist das Reservoir dann als ein geschlossener Kanal/Röhre oder als nach oben offenes Behältnis ausgebildet.

[0030] Der durch das Unterteil gebildete Boden kann eine Folie oder ein beschichteter Glasträger sein. Der Boden hat eine bevorzugte Dicke von 50 µm bis 250 µm und/oder eine Abbe-Zahl größer 50 und/oder einen Brechungsindex zwischen 1,2 und 1,8 insbesondere zwischen 1,45 und 1,55. Diese Eigenschaften sind besonders gut für die (hochauflösende) Mikroskopie geeignet. Der Boden oder die Folie kann sowohl von der Seite, auf welcher später die Zellen kultiviert werden sollen, als auch von der entsprechend gegenüberliegenden Seite bestrahlt werden, um fluoreszierende Strukturen zu erzeugen. Bei Verwendung hochauflösender Mikroskopietechniken mit einer entsprechend geringen Tiefenschärfe (ca. unter 50 µm, typischerweise unter 10 µm) ist es vorteilhaft, die Seite fluoreszenzmarkieren, auf der später die wiederzufindenden Zellen wachsen werden. Dadurch befinden sich die Zellen und das Gitter gleichzeitig im optischen Fokus, wobei das fluoreszierende Element integraler Bestandteil des Polymerträgers ist.

[0031] Wird die gegenüberliegende Seite bestrahlt, können auch bereits gedeckelte mikrofluidische Analysekammern mit entsprechenden Merkmalen versehen werden.

[0032] Es können auch Verbundfolien aus verschiedenen Materialien verwendet werden, bei denen mindestens eine Komponente die gewünschten Eigenschaften besitzt.

[0033] Insbesondere können auch beschichtete Glasträger verwendet werden. So können z.B. Glasdeckgläser mit einer COP- oder COC-Schicht beschichtet werden, um dann in diese Schicht über das beschriebene Verfahren Fluoreszenzgitter einzubringen. Die Schicht kann z.B. durch Spincoaten etc. aufgebracht werden.

[0034] Ein weiteres Feld der Anwendung betrifft die Produkt-Authentifizierung. So können Label, Etiketten und Produkte aus Polymeren durch die strukturierte UV-Bestrahlung mit einem Merkmal versehen werden, das erst durch Anregung mit Licht geeigneter Wellenlänge und Intensität deutlich sichtbar wird. Auf diese Weise erhöht sich die Fälschungssicherheit des Produktes und es kann eine nicht-löschbare Produktindividualisierung zum Beispiel über Barcodes vorgenommen werden. Dies

kann durch ein Laserbeschriftungssystem realisiert werden, wobei das Merkmal auch elektronisch gelesen werden kann.

[0035] Anhand der nachfolgenden Figuren und Beispiele soll der anmeldungsgemäße Gegenstand näher erläutert werden, ohne diesen auf die hier gezeigten speziellen Ausführungsformen einschränken zu wollen.

[0036] Fig. 1 zeigt ein Emissionsspektrum eines erfindungsgemäßen Polymersubstrats vor und nach der Erzeugung von Fluoreszenzbereichen. Die Bestrahlung zur Erzeugung der Fluoreszenzbereiche erfolgte hier mit einem ArF-Excimer-Laser. Die Bestrahlungsdauer betrug 10 Sekunden. Durch die Bestrahlung ist eine deutliche Zunahme der Extinktion im Wellenlängenbereich unterhalb von 300 nm und starke Zunahme der Emission von 400 bis 600 nm festzustellen.

[0037] In Fig. 2 ist ein erfindungsgemäßes Polymer substrat dargestellt, das Zahlenmuster aufweist, die mit Hilfe einer Maske erzeugt wurden. Es handelt sich hierbei um eine fluoreszenzmikroskopische Aufnahme unter Anregung bei einer Wellenlänge von 365 nm und 200-facher Vergrößerung.

Beispiel 1

[0038] Auf eine COC-Folie wird eine Maske (musterhaft Chrom auf Kieselglas) befestigt, so dass die Maske mit der Chromseite schlüssig aufliegt. Es erfolgt eine Bestrahlung mit einer 30W Deuterium-Lampe für 3 Stunden. Anschließend wird die Maske entfernt und das Emissionsmuster kann durch Anregung bei 365 nm sichtbar gemacht.

Beispiel 2

[0039] Auf eine COC-Folie wird eine Maske (musterhaft Chrom auf Kieselglas) befestigt, so dass die Maske mit der Chromseite schlüssig aufliegt. Es erfolgt eine Bestrahlung mit einem ArF-Excimer-Laser (193 nm) für 10 Sekunden. Anschließend wird die Maske entfernt und das Emissionsmuster kann durch Anregung bei 365 nm, 436 nm oder 515 nm sichtbar gemacht werden.

Patentansprüche

1. Polymersubstrat mit einer fluoreszierenden Struktur als integralem Bestandteil, wobei die fluoreszierende Struktur photochemisch erzeugt ist.
2. Polymersubstrat nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Polymersubstrat vor der photochemischen Behandlung und die Ausgangsmaterialien für die Herstellung des Polymersubstrats im Wesentlichen keine Fluorophore oder Precursorien hiervon enthält.

3. Polymersubstrat nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Polymersubstrat fluoreszierende und nicht-fluoreszierende Bereiche aufweist, wobei die fluoreszierenden und nicht-fluoreszierenden Bereiche des Polymersubstrates aus den identischen Ausgangsmaterialien bestehen.
4. Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, die Intensität der Emission der fluoreszierenden Bereiche doppelt, insbesondere 10 mal so hoch wie die Intensität der Emission der nicht-fluoreszierenden Bereiche ist.
5. Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Polymersubstrat ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus cyclischen Olefin-Copolymeren (COC), cyclischen Olefin-Polymeren (COP), Polymethylmethacrylat (PMMA), aliphatischen Polyestern, Polyurethanen, Polyethern oder Verbunden hiervon.
6. Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die fluoreszierenden Strukturen aus mehreren Elementen in Form von Strichen, Linien, Zeichen, Interferenzmustern oder Kombinationen hiervon bestehen.
7. Polymersubstrat nach dem vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elemente eine für die Informationscodierung ausreichende Auflösung von 1 μm bis 1000 nm, bevorzugt von 1 μm bis 1 mm, besonders bevorzugt von 1 μm bis 100 μm besitzen.
8. Probenkammer enthaltend ein Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche.
9. Probenkammer nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die fluoreszierende Struktur des Polymersubstrates ein Wiederfindungsgitter darstellt.
10. Probenkammer nach Anspruch 8 oder 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** sich die fluoreszierende Struktur und die wiederzufindenden Objekte/Zellen in einer Fokusebene befinden.
11. Probenkammer nach einem der Ansprüche 8 bis 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** sich das Wiederfindungsgitter und die wiederzufindenden Objekte/Zellen in der Probenkammer räumlich voneinander getrennt sind.
12. Probenkammer nach einem der Ansprüche 8 bis 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Probenkammer eine Grundplatte und eine Abdeckplatte aufweist, wobei in der Grundplatte eine Vertiefung vorgesehen ist, so dass durch die Grundplatte und die Abdeckplatte ein Aufnahmebereich gebildet wird, wobei in der Abdeckplatte das Polymersubstrat vorgesehen ist.
13. Probenkammer nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vertiefung in der Grundplatte einen Grund aufweist, so dass durch die Abdeckplatte ein Hohlraum gebildet wird.
14. Probenkammer nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Grundplatte und/oder Abdeckplatte einen von außen in den Aufnahmebereich mündenden Kanal, insbesondere ein Durchgangsloch aufweist.
15. Probenkammer nach einem der Ansprüche 12 bis 14, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Abdeckplatte eine Dicke von 50 μm - 250 μm , insbesondere von 100 μm - 200 μm aufweist.
16. Probenkammer nach einem der Ansprüche 12 bis 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Abdeckplatte als Folie ausgebildet ist.
17. Probenkammer nach Anspruch 16, wobei die fluoreszierende Struktur in die Folie eingebracht ist.
18. Verfahren zur Herstellung eines Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7, bei dem ein Polymersubstrat zumindest bereichsweise einer Bestrahlung im Wellenlängenbereich unterhalb von 300 nm zur Erzeugung von fluoreszierenden Strukturen unterzogen wird.
19. Verfahren nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** fluoreszierenden Strukturen aus mehreren Elementen in Form von Strichen, Linien, Zeichen, Interferenzmustern oder Kombinationen hiervon erzeugt werden.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 oder 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elemente eine für die Informationscodierung ausreichende Auflösung von 1 μm bis 1000 nm, bevorzugt von 1 μm bis 1 mm, besonders bevorzugt von 1 μm bis 100 μm erzeugt werden.
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 bis 20, **dadurch gekennzeichnet, dass** durch UV-Bestrahlung unter Verwendung von Masken durch Abbildung oder Kontaktbelichtung fluoreszierende Strukturen erzeugt werden.
22. Verfahren nach Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Masken Platten mit einem Muster von transparenten und nicht-transparenten Bereichen verwendet werden.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 bis 20, **dadurch gekennzeichnet, dass** unter Verwendung von Positioniersystemen durch Bestrahlung mit kohärenten oder fokussierten Licht fluoreszierende Strukturen erzeugt werden. 5
24. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 bis 23, **dadurch gekennzeichnet, dass** zur strukturierten Erzeugung der fluoreszierenden Strukturen Strahlungsquellen mit Emissionswellenlängen oder Emissionsbereichen unterhalb von 300nm eingesetzt werden, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Deuterium-Lampen, Excimer-Lampen (Xe), Excimer-Laser (F₂, ArF, KrF) oder Festkörper-Laser (Nd: YVO₄/YLF). 10 15
25. Verwendung des Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7 in einer Probenkammer.
26. Verwendung des Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7 als Label oder Etiketten zur Produkt-Authentifizierung oder Produkt-Individualisierung. 20
27. Verwendung nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Fluoreszenzmerkmale Informationen zur Produkt-Authentifizierung oder/und Produkt-Individualisierung codiert oder uncodiert enthalten. 25 30
28. Verwendung des Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7, insbesondere in Form von Folien, Blister und Hohlkörpern, als Verpackungselemente.
29. Verwendung nach einem der Ansprüche 25 bis 28, wobei die Fluoreszenzmerkmale Informationen in maschinenlesbarer Form enthalten, insbesondere Barcodes und Punktmuster. 35 40

Geänderte Patentansprüche gemäss Regel 137(2) EPÜ.

1. Polymersubstrat mit einer fluoreszierenden Struktur als integralem Bestandteil, wobei die fluoreszierende Struktur ein photochemisch erzeugtes Wiederfindungsgitter ist. 45
2. Polymersubstrat nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Polymersubstrat vor der photochemischen Behandlung und die Ausgangsmaterialien für die Herstellung des Polymersubstrats im Wesentlichen keine Fluorophore oder Precursorien hiervon enthält. 50
3. Polymersubstrat nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Polymersubstrat fluoreszierende und nicht-fluoreszierende Bereiche aufweist, wobei die fluoreszierenden und nichtfluoreszierenden Bereiche des Polymersubstrates aus den identischen Ausgangsmaterialien bestehen. 55

weist, wobei die fluoreszierenden und nichtfluoreszierenden Bereiche des Polymersubstrates aus den identischen Ausgangsmaterialien bestehen.

4. Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Intensität der Emission der fluoreszierenden Bereiche doppelt, insbesondere 10 mal so hoch wie die Intensität der Emission der nicht-fluoreszierenden Bereiche ist.

5. Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Polymersubstrat ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus cyclischen Olefin-Copolymeren (COC), cyclischen Olefin-Polymeren (COP), Polymethylmethacrylat (PMMA), aliphatischen Polyestern, Polyurethanen, Polyethern oder Verbunden hiervon.

6. Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die fluoreszierenden Strukturen aus mehreren Elementen in Form von Strichen, Linien, Zeichen, Interferenzmustern oder Kombinationen hiervon bestehen.

7. Polymersubstrat nach dem vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elemente eine für die Informationscodierung ausreichende Auflösung von 1 µm bis 1000 nm, bevorzugt von 1 µm bis 1 mm, besonders bevorzugt von 1 µm bis 100 µm besitzen.

8. Probenkammer enthaltend ein Polymersubstrat nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

9. Probenkammer nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** sich die fluoreszierende Struktur und die wiederzufindenden Objekte/Zellen in einer Fokusebene befinden.

10. Probenkammer nach einem der Ansprüche 8 oder 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** sich das Wiederfindungsgitter und die wiederzufindenden Objekte/Zellen in der Probenkammer räumlich voneinander getrennt sind.

11. Probenkammer nach einem der Ansprüche 8 bis 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Probenkammer eine Grundplatte und eine Abdeckplatte aufweist, wobei in der Grundplatte eine Vertiefung vorgesehen ist, so dass durch die Grundplatte und die Abdeckplatte ein Aufnahmebereich gebildet wird, wobei in der Abdeckplatte das Polymersubstrat vorgesehen ist.

12. Probenkammer nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vertiefung in der Grundplatte einen Grund aufweist, so dass durch die Ab-

deckplatte ein Hohlraum gebildet wird.

13. Probenkammer nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Grundplatte und/oder Abdeckplatte einen von außen in den Aufnahmebereich mündenden Kanal, insbesondere ein Durchgangsloch aufweist. 5

14. Probenkammer nach einem der Ansprüche 11 bis 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Abdeckplatte eine Dicke von 50 µm - 250 mm, insbesondere von 100 µm - 200 µm aufweist. 10

15. Probenkammer nach einem der Ansprüche 11 bis 14, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Abdeckplatte als Folie ausgebildet ist. 15

16. Probenkammer nach Anspruch 15, wobei die fluoreszierende Struktur in die Folie eingebracht ist. 20

17. Verfahren zur Herstellung eines Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7, bei dem ein Polymersubstrat zumindest bereichsweise einer Bestrahlung im Wellenlängenbereich unterhalb von 300 nm zur Erzeugung von fluoreszierenden Strukturen unterzogen wird. 25

18. Verfahren nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** fluoreszierenden Strukturen aus mehreren Elementen in Form von Strichen, Linien, Zeichen, Interferenzmustern oder Kombinationen hiervon erzeugt werden. 30

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 17 oder 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elemente eine für die Informationscodierung ausreichende Auflösung von 1 µm bis 1000 nm, bevorzugt von 1 µm bis 1 mm, besonders bevorzugt von 1 µm bis 100 µm erzeugt werden. 35

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 17 bis 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** durch UV-Bestrahlung unter Verwendung von Masken durch Abbildung oder Kontaktbelichtung fluoreszierende Strukturen erzeugt werden. 40

21. Verfahren nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Masken Platten mit einem Muster von transparenten und nicht-transparenten Bereichen verwendet werden. 45

22. Verfahren nach einem der Ansprüche 17 bis 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** unter Verwendung von Positioniersystemen durch Bestrahlung mit kohärenten oder fokussierten Licht fluoreszierende Strukturen erzeugt werden. 50

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 17 bis 22,

dadurch gekennzeichnet, dass zur strukturierten Erzeugung der fluoreszierenden Strukturen Strahlungsquellen mit Emissionswellenlängen oder Emissionsbereichen unterhalb von 300 nm eingesetzt werden, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Deuterium-Lampen, Excimer-Lampen (Xe), Excimer-Laser (F₂, ArF, KrF) oder Festkörper-Laser (Nd: YVO₄/YLF).

24. Verwendung des Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7 in einer Probenkammer.

25. Verwendung des Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7 als Label oder Etiketten zur Produkt-Authentifizierung oder Produkt-Individualisierung.

26. Verwendung nach Anspruch 25, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Fluoreszenzmerkmale Informationen zur Produkt-Authentifizierung oder/und Produkt-Individualisierung codiert oder uncodiert enthalten.

27. Verwendung des Polymersubstrats nach einem der Ansprüche 1 bis 7, insbesondere in Form von Folien, Blister und Hohlkörpern, als Verpackungselemente.

28. Verwendung nach einem der Ansprüche 24 bis 27, wobei die Fluoreszenzmerkmale Informationen in maschinenlesbarer Form enthalten, insbesondere Barcodes und Punktmuster.

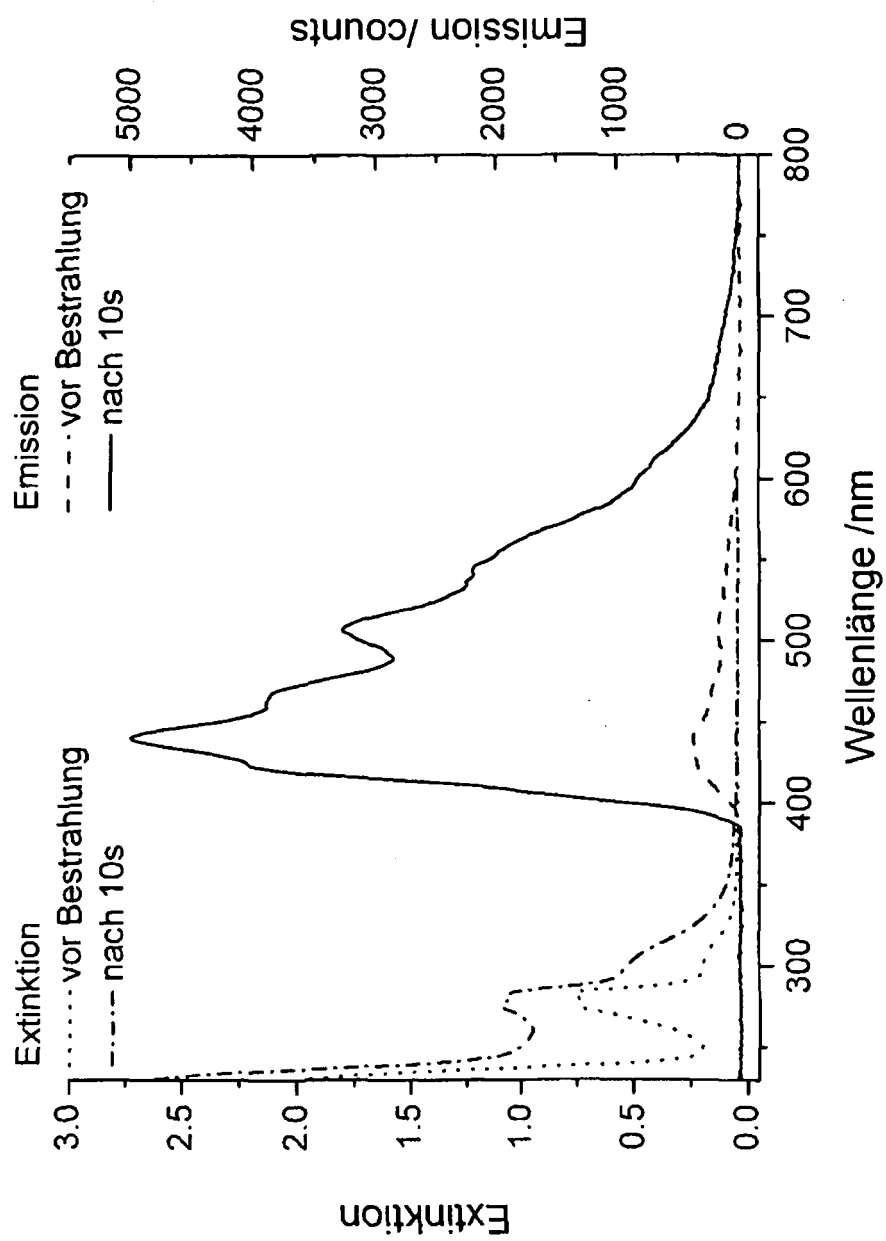
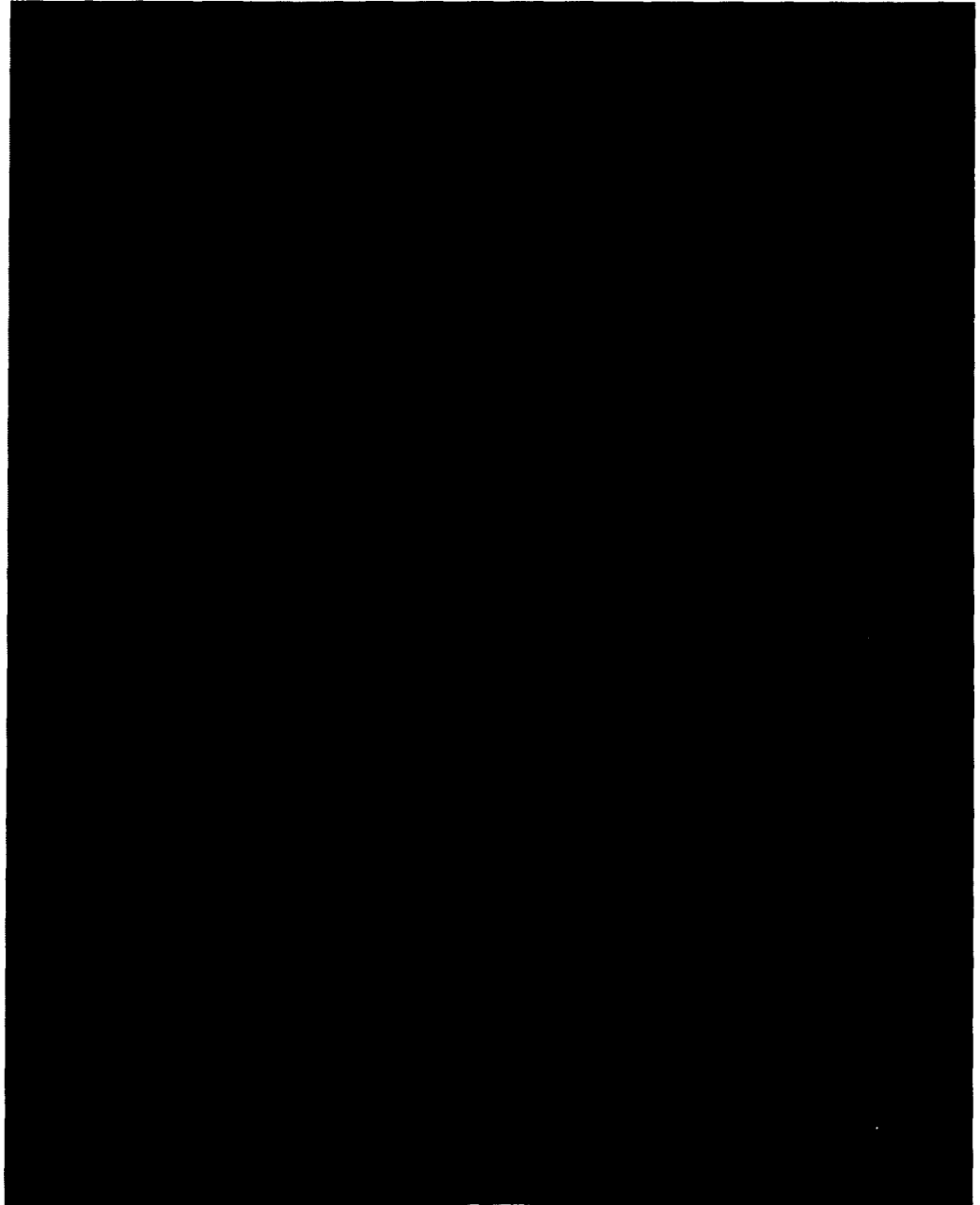


Fig. 1

Fig. 2





EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

 Nummer der Anmeldung
EP 09 01 1507

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	FR 2 755 902 A1 (SARL IND LASER PARTNER [FR]) 22. Mai 1998 (1998-05-22)	1-5,7, 18,20, 23,24,28	INV. B01L3/00 B41M3/14 G01N21/03
Y	* Anspruch 1 * * Seite 2, Zeilen 22-23 * * Seite 4, Zeilen 18-20 *	6,19,21, 22,29	
X	QIN C.-L. ET AL.: "Blue light emission from pulsed laser ablated polyethylene" OPTOELECTRONICS LETTERS, Bd. 4, Nr. 1, Januar 2008 (2008-01), XP002581835	1-4,6,7, 18-20, 23,24, 26-29	
Y	* Seite 23, Absatz 2 * * Seite 24, Absatz 3 * * Abbildungen 2,3 *	5,8-17, 25	
X	CARLSSON D.J. ET AL.: "Photooxidation of polypropylene films. V. Origin of preferential surface oxidation" MACROMOLECULES, Bd. 4, Nr. 2, 1971, Seiten 179-184, XP002581836	1,2,18	
	* Abbildung 2 * * Tabelle 1 *		RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) B41M B01L G01N
X	BAKER A.K. ET AL.: "Refractive-index modification of polymethylmethacrylate (PMMA) thin films by KrF-laser irradiation" APPLIED PHYSICS A (SOLIDS AND SURFACES), Bd. A57, Nr. 6, Dezember 1993 (1993-12), Seiten 543-544, XP002581837 Germany ISSN: 0721-7250 * Seite 543, Absatz 1 * * Seite 544, Absatz 3 *	1,2,5	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 11. Mai 2010	Prüfer Dardel, Blaise
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03.82 (PO4C03)



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

 Nummer der Anmeldung
EP 09 01 1507

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	US 2004/055492 A1 (VAN DEN ELSHOUT WIHELMUS H H A [NL] ET AL) 25. März 2004 (2004-03-25) * Ansprüche 1,7,19,20,22 *	1,4-7	
Y	EP 2 008 715 A1 (IBIDI GMBH [DE]) 31. Dezember 2008 (2008-12-31) * Ansprüche 1,17-21 * * Absätze [0024], [0025], [0028] * * Absätze [0036], [0038], [0039] *	5,8-17, 25	
Y	FR 2 909 922 A1 (ATT ADVANCED TRACK & TRACE SA [FR]; IMPULSION [FR]) 20. Juni 2008 (2008-06-20) * Ansprüche 1,3,4,6,7 * * Seite 4, Zeilen 14-19 *	6,19,21, 22,29	
X	WO 2004/087795 A1 (UCB SA [BE]; RASEBURN JOHN [GB]) 14. Oktober 2004 (2004-10-14) * Ansprüche 3,7 * * Seite 4, Zeilen 22-26 * * Seite 9, Zeilen 21-29,36 *	1,3,6,7, 26-29	
X	DE 42 41 663 A1 (BORUS SPEZIALVERFAHREN [DE]) 9. Juni 1994 (1994-06-09) * Spalte 2, Zeile 16; Ansprüche 1,2,5,6 *	1-4,6,7, 18-24, 26,27,29	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
Recherchenort		Abschlußdatum der Recherche	
Den Haag		11. Mai 2010	
Prüfer		Dardel, Blaise	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

 1
EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 09 01 1507

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am

Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

11-05-2010

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
FR 2755902 A1	22-05-1998	KEINE	
US 2004055492 A1	25-03-2004	AU 7284801 A	21-01-2002
		CN 1441728 A	10-09-2003
		EP 1299247 A1	09-04-2003
		JP 2004502576 T	29-01-2004
		WO 0204223 A1	17-01-2002
		NL 1015686 C2	15-01-2002
		TW 522100 B	01-03-2003
EP 2008715 A1	31-12-2008	US 2008314167 A1	25-12-2008
FR 2909922 A1	20-06-2008	EP 2132679 A2	16-12-2009
		WO 2008093006 A2	07-08-2008
WO 2004087795 A1	14-10-2004	KEINE	
DE 4241663 A1	09-06-1994	AT 181163 T	15-06-1999
		EP 0601679 A1	15-06-1994
		IL 107871 A	14-11-1996
		US 5401960 A	28-03-1995
		ZA 9309056 A	03-08-1994
		ZA 9309058 A	03-06-1995

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- DE 10004135 [0004] [0028]
- EP 2008715 A1 [0004]
- WO 2005054830 A [0006]
- WO 2003101755 A [0009]
- WO 2004087795 A [0009]
- DE 10105711 [0028]
- EP 02777215 A [0028]
- EP 05041563 A [0028]
- EP 06015167 A [0028]
- EP 07012400 A [0028]
- EP 09006487 A [0028]