

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-529349

(P2004-529349A)

(43) 公表日 平成16年9月24日(2004.9.24)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 21/03	GO 1 N 21/03	Z 2GO43
GO 1 N 21/64	GO 1 N 21/64	F 2GO45
GO 1 N 33/53	GO 1 N 21/64	G 2GO57
GO 1 N 33/58	GO 1 N 33/53	M
	GO 1 N 33/58	A

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 68 頁)

(21) 出願番号	特願2002-585940 (P2002-585940)	(71) 出願人	503393478 ジェネティック アイディー アメリカ合衆国 アイオワ 52556, フェアフィールド, デミニック ドラ イブ 501
(86) (22) 出願日	平成14年4月26日 (2002. 4. 26)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成15年10月27日 (2003. 10. 27)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/013395	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 国際公開番号	W02002/088686	(72) 発明者	フェーガン, ジョン アメリカ合衆国 アイオワ 52556, フェアフィールド, フル ムーン レ ーン 103
(87) 国際公開日	平成14年11月7日 (2002. 11. 7)		
(31) 優先権主張番号	60/287, 038		
(32) 優先日	平成13年4月27日 (2001. 4. 27)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 導波管およびアッセイ

## (57) 【要約】

流体導波管であって、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該流体は、該容器の壁の屈折率よりも大きい屈折率を有し、ここで、該流体は、電磁放射線と接触したとき、導波管として作用できる、導波管が開示される。対応する流体光導体は、複合導波管および光導体として機能する装置と共に、記述されている。この導波管を、生化学分析物、化学分析物または他の種類の分析に利用するアッセイもまた、開示されている。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

流体導波管であって、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該流体は、該容器の壁の屈折率よりも大きい屈折率を有し、ここで、該流体は、電磁放射線と接触したとき、導波管として作用する、流体導波管。

## 【請求項 2】

さらに、プローブを含む、請求項 1 に記載の流体導波管。

## 【請求項 3】

前記プローブが、前記容器の前記壁の内面に付着されている、請求項 2 に記載の流体導波管。 10

## 【請求項 4】

前記プローブが、前記容器を満たす前記流体の溶液中にある、請求項 2 に記載の流体導波管。

## 【請求項 5】

前記プローブが、前記容器の空洞に存在している固形物に付着されている、請求項 2 に記載の流体導波管。

## 【請求項 6】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素である、請求項 2 ~ 5 に記載の流体導波管。 20

## 【請求項 7】

さらに、レポーター分子を含む、請求項 1 に記載の流体導波管。

## 【請求項 8】

前記レポーター分子が、蛍光体、および蛍光体を生成できる試薬からなる群から選択される要素である、請求項 7 に記載の流体導波管。

## 【請求項 9】

さらに、プローブおよび 1 種またはそれ以上のレポーター分子を含み、該レポーター分子が、該プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する、請求項 1 に記載の流体導波管。

## 【請求項 10】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素であり、そして前記レポーター分子が、蛍光体、および該プローブが分析物と接触したときに蛍光体を生成できる試薬からなる群から選択される要素である、請求項 9 に記載の流体導波管。 30

## 【請求項 11】

前記レポーター分子が、前記容器の前記内面に付着されている、請求項 9 に記載の流体導波管。

## 【請求項 12】

前記レポーター分子が、量子ドットである、請求項 9 に記載の流体導波管。

## 【請求項 13】

流体導波管であって、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該容器の内面は、オプティカルコーティング要素で覆われ、該流体は、該オプティカルコーティング要素の屈折率よりも大きい屈折率を有し、ここで、該流体は、電磁放射線と接触したとき、導波管として作用する、流体導波管。 40

## 【請求項 14】

前記コーティングが、少なくとも 100 オングストロームの幅を有する、請求項 13 に記載の流体導波管。

## 【請求項 15】

前記コーティングが、少なくとも 100 オングストロームであるが 1 マイクロメートル以 50

下の幅を有する、請求項 13 に記載の流体導波管。

【請求項 16】

前記コーティングが、少なくとも 500 オングストロームであるが 1 マイクロメートル以下の幅を有する、請求項 13 に記載の流体導波管。

【請求項 17】

前記コーティングが、少なくとも 0.1 マイクロメートルであるが 1 マイクロメートル以下の幅を有する、請求項 13 に記載の流体導波管。

【請求項 18】

前記コーティングが、少なくとも 1 マイクロメートルの幅を有する、請求項 13 に記載の流体導波管。

10

【請求項 19】

さらに、プローブを含む、請求項 13 ~ 18 に記載の流体導波管。

【請求項 20】

前記プローブが、前記容器の前記壁の内面に付着されている、請求項 19 に記載の流体導波管。

【請求項 21】

前記プローブが、前記容器を満たす前記流体の溶液中にある、請求項 19 に記載の流体導波管。

【請求項 22】

前記プローブが、前記容器の空洞に存在している固形物に付着されている、請求項 19 に記載の流体導波管。

20

【請求項 23】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素である、請求項 19 ~ 22 に記載の流体導波管。

【請求項 24】

さらに、レポーター分子を含む、請求項 13 に記載の流体導波管。

【請求項 25】

前記レポーター分子が、蛍光体、および蛍光体を生成できる試薬からなる群から選択される要素である、請求項 24 に記載の流体導波管。

【請求項 26】

さらに、プローブおよび 1 種またはそれ以上のレポーター分子を含み、該レポーター分子が、該プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する、請求項 13 に記載の流体導波管。

30

【請求項 27】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素であり、そして前記レポーター分子が、蛍光体、および該プローブが分析物と接触したときに蛍光体を生成する試薬からなる群から選択される要素である、請求項 26 に記載の流体導波管。

【請求項 28】

前記レポーター分子が、前記容器の前記内面に付着されている、請求項 26 に記載の流体導波管。

40

【請求項 29】

前記レポーター分子が、量子ドットである、請求項 26 に記載の流体導波管。

【請求項 30】

流体導波管であって、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該流体は、該容器の壁の屈折率に等しいかそれより小さい屈折率を有し、ここで、該容器の外面は、外部媒体で覆われ、ここで、該容器の壁は、該媒体の屈折率よりも大きい屈折率を有し、それにより、該流体および該容器は、励起電磁放射線と接触したとき、複合導波管として作用する、流体導波管。

50

## 【請求項 3 1】

さらに、プローブを含む、請求項 3 0 に記載の流体導波管。

## 【請求項 3 2】

前記プローブが、前記容器の前記壁の内面に付着されている、請求項 3 1 に記載の流体導波管。

## 【請求項 3 3】

前記プローブが、前記容器を満たす前記流体の溶液中にある、請求項 3 1 に記載の流体導波管。

## 【請求項 3 4】

前記プローブが、前記容器の空洞に存在している固形物に付着されている、請求項 3 1 に記載の流体導波管。 10

## 【請求項 3 5】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素である、請求項 3 1 ~ 3 4 に記載の流体導波管。

## 【請求項 3 6】

さらに、レポーター分子を含む、請求項 3 0 に記載の流体導波管。

## 【請求項 3 7】

前記レポーター分子が、蛍光体、および蛍光体を生成できる試薬からなる群から選択される要素である、請求項 3 6 に記載の流体導波管。

## 【請求項 3 8】

さらに、プローブおよび 1 種またはそれ以上のレポーター分子を含み、該レポーター分子が、該プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する、請求項 3 0 に記載の流体導波管。 20

## 【請求項 3 9】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素であり、そして前記レポーター分子が、蛍光体、および該プローブが分析物と接触したときに蛍光体を生成する試薬からなる群から選択される要素である、請求項 3 8 に記載の流体導波管。

## 【請求項 4 0】

前記レポーター分子が、前記容器の前記内面に付着されている、請求項 3 6 ~ 3 9 に記載の流体導波管。 30

## 【請求項 4 1】

前記レポーター分子が、量子ドットである、請求項 3 6 ~ 3 9 に記載の流体導波管。

## 【請求項 4 2】

請求項 1 ~ 4 1 に記載の異なる流体光導体を一体化したマニホルド。

## 【請求項 4 3】

前記マニホルドが、携帯型である、請求項 4 2 に記載のマニホルド。

## 【請求項 4 4】

前記流体が、液体である、請求項 1 ~ 4 3 に記載の流体導波管。

## 【請求項 4 5】

前記流体が、ゲルである、請求項 1 ~ 4 3 に記載の流体導波管。 40

## 【請求項 4 6】

流体光導体であって、該流体光導体は、容器および流体および内反射コーティング要素を含み、該流体は、該容器を満たし、そして該内反射コーティング要素は、該容器の外面を覆い、ここで、該容器は、電磁放射線と接触したとき、光導体として機能する、流体光導体。

## 【請求項 4 7】

さらに、プローブを含む、請求項 4 6 に記載の流体光導体。

## 【請求項 4 8】

前記プローブが、前記容器の前記壁の内面に付着されている、請求項 4 7 に記載の流体光 50

導体。

【請求項 4 9】

前記プローブが、前記容器を満たす前記流体の溶液中にある、請求項 4 7 に記載の流体光導体。

【請求項 5 0】

前記プローブが、前記容器の空洞に存在している固形物に付着されている、請求項 4 7 に記載の流体光導体。

【請求項 5 1】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素である、請求項 4 7 ~ 5 0 に記載の流体光導体。

10

【請求項 5 2】

さらに、レポーター分子を含む、請求項 4 7 に記載の流体光導体。

【請求項 5 3】

前記レポーター分子が、蛍光体、および蛍光体を生成できる試薬からなる群から選択される要素である、請求項 5 2 に記載の流体光導体。

【請求項 5 4】

さらに、プローブおよび 1 種またはそれ以上のレポーター分子を含み、該レポーター分子が、該プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する、請求項 4 7 に記載の流体光導体。

20

【請求項 5 5】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素からなる群から選択される要素であり、そして前記レポーター分子が、蛍光体、および該プローブが分析物と接触したときに蛍光体を生成する試薬からなる群から選択される要素である、請求項 5 4 に記載の流体光導体。

【請求項 5 6】

前記レポーター分子が、前記容器の前記壁の内面に付着されている、請求項 5 2 ~ 5 5 に記載の流体光導体。

【請求項 5 7】

前記レポーター分子が、量子ドットである、請求項 5 2 ~ 5 5 に記載の流体光導体。

【請求項 5 8】

請求項 4 7 ~ 5 7 に記載の異なる流体光導体を一体化したマニホルド。

30

【請求項 5 9】

前記マニホルドが、携帯型である、請求項 5 8 に記載のマニホルド。

【請求項 6 0】

前記流体が、液体である、請求項 4 7 ~ 5 9 に記載の流体光導体。

【請求項 6 1】

前記流体が、ゲルである、請求項 4 7 ~ 5 9 に記載の流体光導体。

【請求項 6 2】

試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を請求項 1 ~ 4 5 に記載の導波管と接触させる工程、該導波管を電磁放射線と接触させる工程および信号を検出する工程を包含し、ここで、該信号は、該試料中の該分析物の存在を示し、それにより、該試料中の該分析物を測定する、方法。

40

【請求項 6 3】

前記導波管が請求項 1 3 ~ 2 9 に記載の流体導波管である場合、前記オプティカルコーティング要素が、前記電磁放射線の 1 波長よりも厚い、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記電磁放射線源が、レーザーである、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記電磁放射線源が、白色光源である、請求項 6 2 に記載の方法。

50

## 【請求項 6 6】

前記信号の強度が、前記試料中の前記分析物の量と比例している、請求項 6 2 に記載の方法。

## 【請求項 6 7】

前記信号を検出する工程が、電磁放射線を検出する工程を包含する、請求項 6 2 に記載の方法。

## 【請求項 6 8】

前記信号が、蛍光分子により発生する、請求項 6 2 に記載の方法。

## 【請求項 6 9】

試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を請求項 1 ~ 4 5 に記載の導波管と接触させる工程、該導波管を電磁放射線と接触させる工程および蛍光信号を検出して該分析物を測定する工程を包含し、ここで、該分析物は、レポーター分子を含有し、該レポーター分子は、前記プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する、方法。 10

## 【請求項 7 0】

前記導波管が請求項 1 2 に記載の流体導波管である場合、前記オプティカルコーティング要素が、前記電磁放射線の 1 波長よりも厚い、請求項 6 9 に記載の方法。

## 【請求項 7 1】

前記電磁放射線源が、レーザーである、請求項 6 9 に記載の方法。

## 【請求項 7 2】

前記電磁放射線源が、白色光源である、請求項 6 9 に記載の方法。 20

## 【請求項 7 3】

前記信号の強度が、前記試料中の前記分析物の量と比例している、請求項 6 9 に記載の方法。

## 【請求項 7 4】

前記信号を検出する工程が、電磁放射線を検出する工程を包含する、請求項 6 9 に記載の方法。

## 【請求項 7 5】

前記信号が、蛍光分子により発生する、請求項 6 9 に記載の方法。

## 【請求項 7 6】

試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を請求項 4 6 ~ 6 1 に記載の光導体と接触させる工程、該光導体を電磁放射線と接触させる工程および信号を検出する工程を包含し、ここで、該信号は、該試料中の該分析物の存在を示し、それにより、該試料中の該分析物を測定する、方法。 30

## 【請求項 7 7】

前記電磁放射線源が、レーザーである、請求項 7 6 に記載の方法。

## 【請求項 7 8】

前記電磁放射線源が、白色光源である、請求項 7 6 に記載の方法。

## 【請求項 7 9】

前記信号の強度が、前記試料中の前記分析物の量と比例している、請求項 7 6 に記載の方法。 40

## 【請求項 8 0】

前記信号を検出する工程が、電磁放射線を検出する工程を包含する、請求項 7 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 1】

前記信号が、蛍光分子により発生する、請求項 7 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 2】

試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を請求項 4 6 ~ 6 1 に記載の光導体と接触させる工程、該光導体を電磁放射線と接触させる工程および蛍光信号を検 50

出して該分析物を測定する工程を包含し、ここで、該分析物は、レポーター分子を含有し、該レポーター分子は、前記プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する、方法。

【請求項 8 3】

前記電磁放射線源が、レーザーである、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記電磁放射線源が、白色光源である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記信号の強度が、前記試料中の前記分析物の量と比例している、請求項 8 2 に記載の方法。

10

【請求項 8 6】

前記信号を検出する工程が、電磁放射線を検出する工程を包含する、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記信号が、蛍光分子により発生する、請求項 8 2 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2001年4月27日に出版された米国仮特許出願第60/287,038号(その開示は、その全体を本明細書中で参考として援用されている)から優先権を主張している。

20

【0002】

(発明の分野)

本発明は、導波管の分野に関し、また、生化学種、化学種および他の種類の分析にこのような導波管を使用するアッセイに関する。

【背景技術】

【0003】

(発明の背景)

当該技術分野では、広範囲のアッセイが利用でき、これには、ポリヌクレオチド、タンパク質、生物体、または他の分子種などの存在もしくは非存在または量を検定するアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0004】

最近、このようなアッセイを実施する際に、導波管技術を使用する試みがなされている。分析する物質(「分析物」)の存在および/もしくは非存在ならびに/または量は、レポーターとして機能する蛍光物質を使用することにより決定され、この蛍光物質は、このアッセイ中に励起され、その蛍光物質から放射された光は、導波管を使用することにより、検出器に向けられる。

【0005】

このような一例には、オプトロードがある(参考文献1~3を参照)。オプトロードとは、その遠位末端に固定化されたプローブ分子(典型的には、抗体)を有する光ファイバーである。このファイバーを通して、そのプローブ-標的レポーター複合体(これは、そのファイバーの末端で形成される)に、励起光が送達される。得られる蛍光放射は、このファイバーを光学システムに導波バックアップし、この光学システムは、放射した光を、光電子増倍管または他の検出器に送達する。このセンサでのファイバーの重要な役割は、励起光および放射光の両方が、全内反射(TIR)現象により、非常に効率的に、このファイバーを通して指向されることにある。光ファイバーは、そのファイバーの屈折率( $n_f$ )がファイバーを覆う物質の屈折率( $n_c$ )よりも大きいように、特別に設計されている。任意の光源からファイバーに導入された光は、ファイバーコーティング界面に当たるとき、その入射角が以下で定義する臨界角( $\theta_c$ )未満である限り、TIR現象のために、本質的に100%の効率で反射される：

40

50

$$\theta_c = \sin^{-1} (n_c / n_f)。$$

## 【0006】

このようなセンサの感度は、光がTIRによりセンサのプローブ誘導体化表面からファイバーを通して検出器に案内される効率により、非常に高められる。

## 【0007】

最近では、この基本的なアプローチは、単一光ファイバーの遠位面で小スポットとして数個のプローブが適用されるマニホールドを開発するために、拡大されている。プローブと標的との間の相互作用を個々に評価するために、光学システムが設計された。類似しているがより強力なシステムが考案され、このシステムでは、マニホールドとして、ミクロン規模の光ファイバーが設置され、このマニホールドの末端にあるくぼみは、異なる色の小ビーズを収容し、それらの各々は、異なるオリゴヌクレオチドプローブで誘導体化され、そして、そこに、対応する標的およびレポーターが結合される(4)。このシステムは、再使用可能な光ファイバーマニホールドを提供し、これは、それらの各個のプローブに対する任意セットの標的のハイブリダイゼーションを評価するのに使用できる。

10

## 【0008】

オプトローブは、多くの領域での応用が見出だされているが、プローブ分子がカップリングできる領域に限定されているという著しい制約がある。これにより、そのセンサの感度が限られる。他の制約には、そのファイバーの感知末端近傍に位置している任意の分子から放射された蛍光が、このファイバーにより捕捉されて、これが、著しいレベルのバックグラウンドノイズに寄与することがある。

20

## 【0009】

他のセンサには、エバネセント波ベースのセンサがある(1、5、6)。光は、光ファイバーと周囲の媒体(これは、それより屈折率が小さい)との間の界面に当たるとき、全内反射を受ける。しかしながら、その光の電磁成分は、この界面を通り、周囲の媒体を通過して、このファイバーと平行な方向で伝播される。これは、エバネセント波と呼ばれている。それは、このファイバーを取り囲む媒体へと短い距離(使用する光の波長の分数)を貫通するにすぎず、その光の波長の関数として、指数関数的に減衰する。しかしながら、この波は、そのファイバー表面近くに位置している蛍光化合物を効果的に励起できる。

## 【0010】

他の設計が考案されているものの(7)、エバネセント波ベースのセンサの最も一般的な設計は、そのファイバーの壁(遠位末端ではない)にプローブ分子を固定化することである。このファイバーの表面に形成されたプローブ-標的-レポーター複合体は、そのエバネセント波がレポーター蛍光分子を励起したときに検出されるが、これらの分子は、蛍光を発生し、そのファイバー壁に適当な角度で当たったとき、このファイバーに入り、ファイバーから検出器へと導波される。

30

## 【0011】

この設計は、エバネセント波がバルク溶液相にはあまり伝播しないので、そのファイバーを取り囲むバルク溶液中の蛍光分子が励起されないオプトロードよりも有利である。そのファイバー壁も約0.5波長以内にたまたま位置している遊離の蛍光体だけが励起される。これにより、このファイバーを取り囲むバルク溶液で捕捉されるバックグラウンド蛍光が少なくなる。

40

## 【0012】

このアプローチの欠点は、このエバネセント波のパワーがファイバー内の励起光のパワーのせいぜい2%であることにある。それゆえ、このプローブ-標的-レポーター複合体を効果的に励起することは、難題であり得る。同様に、プローブ-標的-レポーター複合体により放射された蛍光の大部分は、そのシステムの形状が好ましくないために、このファイバーにはカップリングしない。これらの両方の特徴により、エバネセント波センサの感度および有用性が制限される。

## 【0013】

他のセンサは、非エバネセント波ベースの光ファイバーシステムの使用を伴う(8)。エ

50

エバネセント波ベースのセンサに伴う限界は、励起光がファイバーからプローブ-標的-レポーター層に伝播される非効率性、および蛍光がファイバーに戻ってカップリングして検出器に導波される非効率性である。これらの効率を高める試みにおいて、他の機構が使用されている。例えば、そのプローブ層の屈折率をファイバーの屈折率と一致させる試みがなされている。この設計の意図は、励起光の大部分がプローブ-標的-レポーター複合体に達するように、そして、放射された蛍光の大部分が導波管にカップリングされるように、このプローブ層を導波管内に含めることである。実験的な証拠から、この原理に基づいて構成されたファイバーは、エバネセント波ベースのセンサと比較して、ある程度向上した効率で作用することを示す。

【0014】

さらに他の例には、表面プラズモン共鳴ベースのセンサがある(1、9、10)。表面プラズモン共鳴現象に基づいたセンサは、プローブに標的を結合することから、その光学システムの表面での屈折率の変化を直接的に検出するという利点がある。それゆえ、この方法には、蛍光分子または他のレポーター分子を使用する必要がない。

【0015】

この光学システムは、最も簡単な形状のプリズムにあり、その1表面は、薄い金属膜(通常、金または銀)で被覆されている。この金属膜の外面には、プローブ分子が付着され、これはまた、目的の分析物または標的を含有し得る溶液と接触している。

【0016】

このプリズム-金属界面に特定の入射角(これは、共鳴角またはSPR角と称する)で入射(imping)する光により発生するエバネセント波は、この金属膜の遊離電子プラズマとカップリングしてそしてそれを励起する。すなわち、この金属膜の遊離電子と、このプリズム内でSPR角で全内反射を受ける光のエバネセント波との間で、電磁カップリング(electromagnetic coupling)が起こる。これにより、共鳴波が発生し、これは、その金属の表面に沿って伝播する。この金属膜内の散逸プロセスにより、この共鳴波のエネルギーの一部が吸収される。結果として、このプリズム-金属界面にSPR角で入射する光は、強度が減衰して、反射される。言い換えれば、このSPR角では、光のエネルギーは、この金属内にて、散逸表面プラズモンに変換される。これは、このプリズムにおける全内反射の減衰として観察される。

【0017】

このSPR角は、この金属膜の特性だけでなく、その金属膜の他面にすぐ隣接した(1波長の分数内)媒体の誘電率(および、従って、屈折率)にも依存している。この理由は、そのSPR波のエバネセント場と金属膜にすぐ隣接した媒体との間の相互作用のせいである。この金属膜の表面に結合する物質は、その領域での誘電率(および屈折率)を変え、そのSPR角を変化させる。これは、全内反射が減衰する角度の変化として、観察される。

【0018】

このSPR角の変化は、その金属表面に結合する敏感な指標であり、金属表面を浸す溶液中に存在している特定の分子種(標的分子)用のセンサとして、作用し得る。これを達成するために、プローブ分子は、この金属膜に結合される。この金属膜を浸す溶液中に標的分子が存在しているとき、それらは、固定化したプローブと複合体を形成する。これは、その金属表面にすぐ隣接した屈折率を変え、それは、次に、このSPR角を変化させる。SPR角の変化は、直接測定され得る。正しい較正を使って、このようなシステムは、プローブ-標的複合体の形成を直接かつ定量的に測定するのに使用され得る。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0019】

(発明の要旨)

1局面では、本発明は、流体導波管に関し、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該流体は、該容器の壁の屈折率よりも大きい屈折率を

10

20

30

40

50

有し、ここで、該流体は、電磁放射線と接触したとき、導波管として作用する。

【0020】

他の局面では、本発明は、流体導波管に関し、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該容器の内面は、オプティカルコーティング要素で覆われ、該流体は、該コーティング要素の屈折率よりも大きい屈折率を有し、ここで、該流体は、電磁放射線と接触したとき、導波管として作用する。

【0021】

本発明の好ましい実施態様では、前記オプティカルコーティングは、少なくとも100オングストロームの幅または厚さ、好ましくは、少なくとも100オングストロームであるが1マイクロメートルを超えない幅または厚さ、最も好ましくは、少なくとも500オングストロームであるが1マイクロメートルを超えない幅または厚さ、特に、少なくとも0.1マイクロメートルであるが1マイクロメートルを超えない幅または厚さ、最も特定すると、少なくとも1マイクロメートルの幅または厚さを有する。

10

【0022】

さらに他の局面では、本発明は、流体導波管に関し、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該流体は、該容器の壁の屈折率に等しいかそれより小さい屈折率を有し、ここで、該容器の外面は、外部媒体で覆われ、ここで、該容器の壁は、該媒体の屈折率よりも大きい屈折率を有し、それにより、該流体および該容器は、励起電磁放射線と接触したとき、複合導波管として共に機能する。

【0023】

なおさらなる局面では、本発明は、流体光導体に関し、該流体光導体は、容器および流体および内反射コーティング要素を含み、該流体は、該容器を満たし、そして該内反射コーティング要素は、該容器の外面を覆い、ここで、該容器は、電磁放射線と接触したとき、光導体として機能する。

20

【0024】

好ましい実施態様では、本発明の流体導波管および/または光導体は、複合材料であるとなかろうと、プローブを含み得る。そのさらなる実施態様では、該プローブは、前記容器の前記壁の内面に付着されているか、または該容器を満たす前記液体の溶液中にあるか、または該容器の空洞に存在している固形物に付着され得る。

【0025】

他の好ましい実施態様では、前記プローブは、オリゴヌクレオチド、抗体、アプタマー、触媒および酵素の1種またはそれ以上であり得る。

30

【0026】

さらなる好ましい実施態様では、本発明の流体導波管および/または光導体は、レポーター分子を含み得、特に、該レポーター分子は、蛍光体、および蛍光体を生成できる試薬からなる群から選択される要素である。

【0027】

本発明の流体導波管および/または光導体のなおさらなる好ましい実施態様は、これらがプローブおよび1種またはそれ以上のレポーター分子を含む場合を包含し、該レポーター分子は、該プローブが分析物と接触するとき、特に、該プローブが前記容器の前記内面に付着されている場合、信号を発生する。このような好ましい1実施態様では、該レポーター分子は、量子ドットである。

40

【0028】

本発明はまた、異なる流体光導体および/または光導体を一体化したマニホルドに関し、これには、本明細書中で開示するように、導波管および光導体の両方のマニホルドが挙げられる。好ましい実施態様では、該マニホルドは、携帯型である。

【0029】

本発明の導波管、光導体およびマニホルドのさらに好ましい実施態様では、前記容器中の流体は、液体、またはおそらく、ゲルである。

【0030】

50

本発明はまた、試料中の分析物を決定する方法に関し、該方法は、該分析物を本発明の導波管または光導体（これらのマニホールドを含む）と接触させる工程、該導波管または光導体を電磁放射線と接触させる工程および信号を検出する工程を包含し、ここで、該信号は、該試料中の該分析物の存在を示し、それにより、該試料中の該分析物を決定する。

【0031】

前記導波管がオプティカルコーティングを含むとき、該オプティカルコーティングは、前記電磁放射線の1波長、好ましくは、2波長よりも厚い。

【0032】

本発明の方法の好ましい実施態様では、前記電磁放射線源は、レーザーまたは白色光源である。

【0033】

さらに好ましい実施態様では、前記信号の強度は、前記試料中の前記分析物の量と比例しているか、および/または前記信号を検出する工程は、電磁放射線を検出する工程を包含する。好ましい1実施態様では、前記信号は、蛍光分子により発生する。

【0034】

本発明の方法の他の好ましい実施態様では、前記分析物は、レポーター分子を含有し、該レポーター分子は、前記プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する。

【0035】

（発明の詳細な説明）

1局面では、本発明は、流体（好ましくは、液体だけでなく、おそらく、ゲル）を容器（これは、チャンネル、チューブ、または他の中空構造体の形状にある）に導入することから生じる流体導波管に関し、ここで、該流体の屈折率は、該容器の壁の屈折率よりも大きい。この容器中の該流体（好ましくは、液体）は、この流体に向かう光が、そのシステムに対する臨界角未満の角度で、この流体と容器との間の界面での全内反射を受けるという意味で、導波管として機能する。

【0036】

他の局面では、本発明は、上で定義したように、放射した蛍光を蛍光体から光検出器へと送達する流体導波管に関し、これは、容器（これは、チャンネル、チューブ、または他の中空構造体の形状にある）から構成され、この容器は、流体（好ましくは、液体だけでなく、ゲルでもあり得る）を含有し、この容器は、さらに、（その容器の液体内および/または壁上に）蛍光体を含み、ここで、この流体（好ましくは、液体）の屈折率は、その容器の壁の屈折率よりも大きい。この溶液中の流体（好ましくは、液体）は、この蛍光体から発した光を光検出器に向ける導波管として機能する。

【0037】

それゆえ、本発明は、流体導波管に関し、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該流体は、該容器の壁の屈折率よりも大きい屈折率を有し、ここで、該流体は、電磁放射線と接触したとき、導波管（wave guide）として作用する。

【0038】

この流体（好ましくは、液体）用の容器は、有利には、チャンネル、チューブ、または他の中空構造体であり、これは、数ミクロン～数ミリメートルの直径範囲であり、好ましくは、1ミリメートル～数センチメートルの長さ範囲であるが、より大きい寸法またはより小さい寸法のいずれかであり得、「容器」との用語は、本明細書中で全てのこのような構造体を包含すると理解されている。

【0039】

この容器の内腔内の流体（好ましくは、液体）は、溶解した固体を含有し得、そして、1種、2種またはそれ以上の流体から構成され得る。それゆえ、「流体」との用語は、「気体」、「ゲル」、「液体」を包含し、後者は、「溶液」を包含する。この流体はまた、懸濁液を包含できる。

【0040】

10

20

30

40

50

この容器の内腔または開放部は、流体に加えて、固体を含有し得る。このような場合、その液体および固体の屈折率は、互いに、事実上、等しくするべきである。

【0041】

好ましい実施態様では、この容器の内部または内腔は、事実上、流体または液体と固体の組合せで満たされ、この場合、この液体および固体は、事実上、等しい屈折率を有する。

【0042】

本発明の他の局面によれば、分析物用のアッセイで使用する流体導波管が提供され、これは、そのアッセイ用のレポーター物質として、蛍光物質を使用し、ここで、このアッセイの全部または一部を実行する容器、および/またはその容器内の流体は、放射した光を、この蛍光レポーターから光検出器へと伝達する導波管として機能し、このような放射した光は、分析物を測定するために、このアッセイの読み出しとして使用される。

10

【0043】

この流体用の容器は、上記のように、チューブの形状で存在し得る。

【0044】

そのアッセイ試薬は、分析物、プローブ、またはプローブシステム、およびレポーターを含有し、これは、蛍光物質、あるいは物理的プロセス、化学的プロセスまたは生化学的プロセスによって蛍光性となる物質の形状である。

【0045】

このプローブまたはプローブシステムは、分析物と相互作用する物質（これは、この分析物と結合または反応するか、その分析物の化学的転位を触媒する）を含有し、さらに、分析物を検出するかそれと相互作用する物質と相互作用する物質と相互作用する1種またはそれ以上の物質、または分析物とその分析物に相互作用する物質との間の相互作用によって生じる物質との相互作用によって生成する物質と相互作用する1種またはそれ以上の物質を含有し得る。

20

【0046】

このレポーターは、最初は、これらのアッセイ試薬内に存在し得るか、そのアッセイ中に生成してアッセイ試薬の一部となり得る。あるいは、このレポーターは、このプローブまたはプローブシステムに化学的に結合され得る。

【0047】

1実施態様では、この容器内の管腔または開口部は、毛細管の形状であり得るが、その流体に加えて固体を含有し、このような固体は、このプローブまたはプローブシステムの全部または一部の支持体として、作用する。この固体は、そのチューブ内の開口部が液体だけでなく固体も含有できるように、好ましくは、多孔性またはゲル様である。この上で示したように、この管腔内の固体および流体（好ましくは、液体）の屈折率は、事実上、互いに等しいべきであり、それにより、この管腔内の固体および流体（好ましくは、液体）は、複合導波管として作用する。

30

【0048】

好ましい実施態様では、このプローブまたはプローブシステムの全部または一部は、その容器の壁に付着され得る。この容器の壁でのプローブのコーティングはまた、レポーター分子または基またはレポーター部分を含有し得る。この容器の壁に付着したプローブ物質には、蛍光物質またはレポーターが結合または付着され得る。あるいは、このレポーターは、この容器の管腔内に存在している流体中に存在し得る。

40

【0049】

それゆえ、本発明は、流体導波管に関し、該流体導波管は、容器および流体を含み、該流体は、該容器を満たし、ここで、該容器の内面は、オプティカルコーティング要素で覆われ、該流体は、該コーティング要素の屈折率よりも大きい屈折率を有し、ここで、該流体は、電磁放射線と接触したとき、導波管として作用する。本明細書中で使用する「オプティカルコーティング要素」との用語は、そのシステムの光学特性を変えるように作用するコーティング（例えば、屈折コーティング）を意味する。

【0050】

50

本発明の好ましい実施態様では、前記コーティングは、少なくとも100オングストロームの幅、好ましくは、少なくとも100オングストロームであるが1マイクロメートル以下の幅、最も好ましくは、少なくとも500オングストロームであるが1マイクロメートル以下の幅、特に、少なくとも0.1マイクロメートルであるが1マイクロメートル以下の幅、最も特定すると、少なくとも1マイクロメートルの幅を有する。

【0051】

本発明による装置は、以下の部分を含む：

1. 容器であって、該容器は、好ましくは、チューブ、チャンネル、または他の中空構造体であり、これらは、全て、「チューブ」または「管状センサ要素」との用語に包含される。

10

【0052】

a. この管状センサ要素は、その管状センサ要素が全体的分析プロセスの中心分析事象が起こる部位であるという点で、全体として、その分析装置の流体システムで使用され得る、他の管状要素またはチャンネル様要素から区別される。特に、この管状センサ要素は、単に流体要素であるだけでなく、光学単位としても機能し、また、導波管として作用する点で化学単位としても機能でき、その容器を通る分析物と相互作用するプローブまたはプローブ分子を含有し得る。

【0053】

b. このチューブは、ガラスまたはそれに関連した材料、プラスチック、半導体材料などから作製できる。

20

【0054】

c. このチューブは、円筒形または円錐形、または最適な光学機能および流体機能を達成する他の形状であり得る。

【0055】

d. このチューブの組成、形状、化学特性および光学特性、ならびに他の特性は、以下により、検出される：

i. このシステムの光学設計。

【0056】

ii. このシステム流体設計。

【0057】

iii. その分析プロセスおよび分析物または標的分子の化学的性質。

30

【0058】

iv. このプローブ分子およびレポーターシステムの化学的性質。

【0059】

v. この分析システムの他の関連した特性。

【0060】

2. 流体または微小流体システム。

【0061】

a. この流体システムは、この装置の管状センサ要素と一体化できるか、そこに装着できる。

40

【0062】

b. この流体システムは、この検出器チューブを通してそこへの流体の送達、除去および移動を達成するように機能できる。

【0063】

c. このシステムはまた、その分析試料が管状センサ要素に送達される前に、それを分別、処理または他に変性するように機能でき、また、一定範囲の機能要素を含有でき、これには、電気泳動要素、濾過要素、サイズ選別要素、ポンプおよび他のものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0064】

d. 流体機能は、毛管作用を利用する非常に簡単な手動手順または他の簡単なプロセスに

50

より達成できるか、または複雑な流体システム、電気システム、電子システムまたは機械システムにより、達成できる。

【0065】

3. この管状センサ要素の管腔を満たす流体（好ましくは、液体）であって、その物理特性、化学特性および光学特性は、以下に依存している：

- a. このシステムの光学設計、
- b. このシステムの流体設計、
- c. この分析物の物理的性質および化学的性質、
- d. その検出システム（プローブおよびレポーター）の物理的性質および化学的性質。

【0066】

4. プローブ分子。

【0067】

a. そのプローブ分子の物理的性質、化学的性質および生物的性質、およびその分析システムでのそれらの位置は、以下に依存している：

- i. このシステムの光学設計。

【0068】

i i. このシステムの流体設計。

【0069】

i i i. その分析プロセス、レポーターシステムおよび分析物または標的分子の化学的性質。

【0070】

i v. この分析システムの他の関連した特性。

【0071】

b. プローブは：

- i. この管状センサ要素の内壁に付着されるか被覆され得る、
- i i. このチューブの管腔に含まれる液体中の溶液で存在し得る、
- i i i. この管状センサ要素の管腔に位置している固体物質に付着され得る。

【0072】

c. これらのプローブ分子が、このチューブの内壁またはチューブの管腔内に位置している固体物質上に被覆または固定化されるなら、これは、これらのプローブ分子の化学活性および物理活性およびそれらが分析物または対象標的に向かう特異性を維持するプロセスにより、達成される。

【0073】

d. プローブと分析物との間の分子認識プロセスは、以下の非限定的な形状で、起こり得る：

- i. ある場合には、このプロセスは、簡単な結合反応であり、ここで、分析物とプローブとの間で、分子間複合体が形成される。この複合体が形成されると、この分析物は、その管状センサ要素の管腔の内壁または固体物質に固定化される。固定化されたプローブ - 分析物複合体は、次いで、種々の機構（例えば、その複合体の構造に特異的な染料の結合、または蛍光標識した抗体、核酸、またはその分析物もしくは分析物 - プローブ複合体のいずれかを認識する他の分子の結合）により機能し得るレポーターシステムによって、検出される。

【0074】

i i. ある場合には、このプローブ - 標的認識システムは、その分析物へのプローブの結合が分析物の分子転位を触媒するか他の様式でもたらし得、直接的または連鎖反応のいずれかにより、蛍光性生成物を発生するように設計される。

【0075】

e. プローブ分子の非網羅的な例は、以下である：

- i. 核酸または核酸類似物の一本鎖オリゴマーまたはポリマーであって、これらは、そのプローブと分析物核酸分子との間の配列相同性に基づいて、分析物核酸分子と特異的に相

10

20

30

40

50

相互作用および結合できる。この相互作用により、主に、これらの2本の核酸鎖のヌクレオチド間での水素結合ベースの相互作用により、起こる。

【0076】

i i . 抗体およびアプタマーであって、これらは、広範囲の分子および分子複合体と特異的に相互作用し結合できる。可能な標的には、以下が挙げられるが、これらに限定されない：小有機分子、生物学的に重要なポリマー（例えば、タンパク質、核酸および炭水化物）、他の人造ポリマー/分子、および複雑な生物構造体（例えば、膜-タンパク質複合体、レセプタ-標的複合体、抗体-抗原複合体、細胞表面マーカー、任意の生物の細胞など）；

i i i . 酵素であって、これは、多様な範囲の分子種の化学変換を触媒し相互作用できる；

i v . 他の生体分子、分子複合体、およびそれより大きい生物学的分子、および有機または無機分子種（天然または合成のいずれか）であって、これらは、この管状センサ要素で運ばれる分析物に（a）結合できるか、（b）それと化学的に反応できるか、または（c）その変換を触媒できる。

【0077】

5 . 光学システム

a . この光学システムは、分析目的および/または化学目的のために、そのレポーター分子に励起光を効率的に送達するように、また、このレポーターからの蛍光放射光を集めるように設計されている。

【0078】

b . この光学システムの特徴は、以下に依存している：

i . この分析プロセス、レポーターシステム（蛍光染料）、分析物または標的分子の物理的性質および化学的性質、

i i . この管状センサ要素およびそのチューブの管腔内に含まれる流体（および多孔性固体）の物理特性および光学特性、

i i i . このシステムの流体設計、

i v . このシステムの他の関連した特性。

【0079】

c . その機能要素が以下を含み得る流体導波管を経由してプローブ表面には、光が送達される：

i . この流体（好ましくは、液体）相であって、これは、単独で、または多孔性固相と組み合わせて、そのチューブの管腔内に含まれる液体の屈折率と合致する、

i i . この管状センサ要素の内壁にあるプローブコーティング、

i i i . このチューブの内壁にあるオプティカルコーティング、

i v . そのチューブ壁それ自体、

v . この管状センサ要素の外面に塗布されたオプティカルコーティングおよびクラディング。

【0080】

d . 以下の要素の屈折率は、目的の特定の用途に対して、このシステムの所望の光学特性を達成するように調整される：

i . この管状センサ要素、

i i . このチューブの管腔内の物質（流体（好ましくは、液体）および固体）、

i i i . このチューブの内面のオプティカルコーティングおよび処理（もし適用するならば、そのプローブ分子層のものを含めて）、

i v . このチューブの外面のオプティカルコーティングおよび処理（もし、このような表面が存在するならば）。

【0081】

e . この流体導波管に加えて、この光学システムの主要要素には、以下が挙げられるが、これらに限定されない：

10

20

30

40

50

i . 光源、

i i . 放射した蛍光の検出器、

i i i . レンズ、フィルター、回折格子、モノクロメーター、ビームスプリッタ、コーティング、および励起光や放射光を制御、変性および変調する他の装置、

i v . 全ての部品は、その光学信号の最大感度、整合性および品質を達成するように、最適化される。

【0082】

6 . コーティング - この装置は、このシステムに所望の光学特性、化学特性および物理特性を与えるために、このチューブまたは他の要素（例えば、チューブの管腔内に含まれる多孔性固体）の内面および外面の種々のコーティング、処理、変性を含み得る。

10

【0083】

a . コーティングは、化学プロセス、物理プロセスまたは他のプロセスであれ、いずれかのプロセスにより、堆積できる。

【0084】

b . コーティングは、所望の光学特性、化学特性および物理特性を達成するために適当な、任意の順序で、堆積できる。

【0085】

c . 他のコーティングに対するプローブ表面の配置の順序は、変えることができる。

【0086】

d . このチューブ（これは、プローブおよび他のアッセイ試薬を含有し得る）の内壁にあるコーティングは、複合導波管として、そのチューブの管腔内にある液体と共に、機能し得る。あるいは、このコーティングの厚さは、放射した光の1波長未満であるように制御され得、それにより、事実上、その流体（好ましくは、液体）だけが、放射した光の導波管として、機能する。

20

【0087】

好ましい実施態様では、このチューブの管腔内の流体（好ましくは、液体）相は、そのアッセイ試薬（例えば、分析物）の一部を含有するが、そのチューブの内壁の屈折率（ $n_w$ ）よりも大きい屈折率（ $n_l$ ）を有する。この管腔内の流体（好ましくは、液体）相に晒されるチューブの内壁上のコーティングの屈折率は、この流体（好ましくは、液体）相の屈折率に等しいかそれより大きいか、ある場合には、それ未満の屈折率（ $n_c$ ）を有する

30

【0088】

この実施態様では、この流体（好ましくは、液体）相は、単独で、導波管として機能するか、または好ましくは、流体（好ましくは、液相）相と、そのチューブの内壁に塗布されたアッセイ試薬コーティングとは、複合導波管を構成する。屈折率の所望の構成は、そのチューブまたはチューブ内部コーティング用の材料（これは、 $n$ が低い）および流体（好ましくは、液体）用の材料（これは、 $n$ が高い）を選択することにより、達成される。例えば、1.35程度に $n$ が低いウレタンポリマーが存在するのに対して、スクロースのようなさらに一般的な溶質は、水溶液の $n$ を1.35よりずっと高く上昇させる。このチューブの $n$ を低くするのに使用するコーティングは、厚さが放射光の1波長、好ましくは、2波長以上の厚さでなければならないことに注目すべきである。管腔の流体（好ましくは、液体）を補強するのに使用される溶質は、以下の2つの主要な規準に基づいて選択される：（1）それらは、高い屈折率を有する；および（2）それらは、そのプローブ - 分析物 - レポーター認識プロセスに関与している化学的性質を阻害または妨害せず、それを高め得る。高い $n$ は、そのプローブコーティングにおいて、このチューブを上回って層の $n_c$ を高めるのに十分なプローブ密度を達成するために、その付着の化学的性質を調整することにより、達成できる。他のストラテジーもまた、使用され得る。TIRは、このプローブのコーティングとチューブの壁との間の界面、または流体（例えば、液体）とコーティングとの間の界面で、これらの要素の屈折率に依存して、また、これらのコーティングの厚さに依存して、起こる。

40

50

## 【0089】

レーザー源または白色光源からの電磁放射線（例えば、励起光）は、必要に応じてこの導波管の一部であるを通して、その導波管のプローブ - 分析物 - レポーター複合体部分へと送達される。アッセイ試薬コーティングと容器の壁または流体（好ましくは、液体）との間の界面に対するTIRの臨界角未満の角度で放射される蛍光は、この管腔 - プローブ - コーティング複合体または流体（好ましくは、液体）を通して、検出器へと導波される。この検出器の方向で放射された光は、直接的に、この検出器に送達されるのに対して、このチューブの対向末端に向かって放射された光は、そのチューブの末端に伝播し、この末端で、この検出器の方へと反射する反射面に遭遇する。

## 【0090】

TIRの臨界角よりも大きい角度で放射された蛍光は、このチューブの内壁を通り、その壁を通して、失われる。あるいは、この光をチューブ壁に戻して反射するために、反射物質のコーティングが塗布でき、この場合で、それは、直接的または間接的に、この検出器の方へと伝播できる。この光は、このような反射面の非効率の原因で、低い効率で回収されるが、光 / 信号の回収の全体的な効率を高めるのに寄与する。

## 【0091】

別の好ましい実施態様では、このチューブの内壁は、非常に反射性の物質（これにより、励起波長および放射波長の両方の効率的な反射が可能となる）で被覆される。この容器の壁は、この設計において、支持体として働くが、このシステムの光学機器では、機能的な役割を果たさない。この実施態様では、この容器（例えば、チューブ）の管腔内にある流体（好ましくは、液体）の屈折率は、そのコーティングが分析システムで使用される励起光の波長と比較して薄い限り、その分析システムの機能に重要ではなく、また、そのプローブコーティングの機能にも重要ではない。これらの条件下にて、このチューブの管腔にある流体（好ましくは、液体）とプローブコーティングとは、複合光導体として機能する。

## 【0092】

この実施態様では、例えば、レーザー光源または白色光源からの電磁放射線（例えば、励起光）は、この複合光導体を通して、プローブ - 分析物複合体（これは、この光導体に吊され、実際には、その一体化部分である）に送達される。全ての角度で放射された蛍光は、この容器の一端または他端に向かって反射される。検出器の方向で放射されるものは、この検出器に直接的に案内されるのに対して、この容器の対向末端に向かって放射される光は、その容器のその末端に伝播して、この末端で、それは、この検出器の方へと反射する反射面に遭遇する。

## 【0093】

他の実施態様とは異なり、この構成で検出器に光を案内するのに使用される反射プロセスは、全内反射（TIR）プロセスよりも効率が低い。TIRは、光が屈折率が高い物質から屈折率が低い物質へと移動し、異なる屈折率の2種の物質間の界面に衝突し、この界面で、この光が反射されて屈折率の高い物質に戻るときにのみ起こる。この特定の実施態様の光導体は、TIRにより機能しないので、光強度は、その光導体に沿って複数の反射によって伝播するにつれて、次第に減少し、一部の放射は、完全に弱まって、それにより、消失する。その低下の程度は、いくつかの要因に依存しており、これには、この光がチューブ壁に当たる角度（その角度が大きい程、その光がチューブを移動して検出器に当たるのに必要な反射が多くなり、信号強度の損失が大きくなる）、その反射コーティングの特性（異なるコーティングは、異なる反射効率を与えるので）、および光の波長（異なる表面に対する反射効率は、異なる波長の入射光に対して、変わるので）が挙げられる。

## 【0094】

別の好ましい実施態様では、この管腔流体（好ましくは、液体）の $n$ は、その内壁上のコーティング（プローブ分子のコーティングを含めて）の $n$ 、このチューブ壁の $n$ に等しいかそれより小さく、また、このチューブ壁の $n$ は、それを取り囲む媒体の $n$ より大きい。この場合、このチューブ、内部コーティング、および管腔流体は、全て、単一の複合光導

10

20

30

40

50

波管として機能する。電磁放射線（例えば、励起光）は、そのチューブの管腔に含まれる流体およびチューブの壁の両方を介してチューブの内面に付着する、このプローブ - 分析物 - レポーター複合体に送達される。

【0095】

固定化されたプローブ - 分析物 - レポーター複合体により放射された蛍光は、この複合導波管の断面を横切って集められ、これは、管腔内の流体およびそのチューブの壁を含むだけでなく、このチューブの壁にて、光を透過できる任意のコーティングを含む。非常に小さい角度だけが、反射または屈折することなく、この管腔を通して検出器へと直接的に、送達される。その光の残りは、このチューブの壁に衝突し、その壁に入り、そして屈折して外壁に当たる。その光の一部（その外壁表面からTIRの臨界角に等しいかそれより小さい角度で、この壁の外面に衝突するもの）は、TIRを受け、複合導波管により、この検出器または導波管の対向末端のいずれかに案内され、この対向末端において、それは、この検出器の方に戻って反射される。

10

【0096】

TIRの臨界角よりも大きい角度で壁の外面に当たる光は、このチューブの壁を通して失われる。あるいは、TIRの角度よりも大きい入射角を有する光を反射してこの複合導波管に戻すために、このチューブの外壁には、反射物質のコーティングが塗布でき、この場合、それは、直接的または間接的に、この検出器に伝播できる。この光は、このような反射面が非効率であることから、より低い効率で回収されるが、光 / 信号の回収の全体的な効率を高めるのに寄与する。

20

【0097】

モデルプローブとしてチューブの内壁にビオチン分子を固定化しそのチューブに溶液（これは、蛍光的に標的化したストレプトアビジンを含有する）を導入した装置が記述されている（11）。その装置では、電磁放射線は、このチューブと垂直の光源から送達され、放射した蛍光のうちチューブの壁にカップリングした部分は、このチューブ壁からの光だけを捕捉する光学システムにより、検出された。

【0098】

対照的に、本発明の流体導波管センサの基礎となる重要な概念は、チューブまたは容器に含まれる流体を、単独で、またはそのシステムの他の部品と併用して、いずれかで、導波管または複合導波管として使用することにある。複合流体導波管を形成できる要素または部品には、このチャンバまたはチューブに含まれる流体に加えて、プローブ層、チューブ壁ならびにそのチューブまたはチャンバの内面および外面にあるコーティングが挙げられる。これらの要素の種々の組合せおよび順列は、複合流体導波管を形成するのに使用できる。この設計の利点は、放射した光の実質的に大きい割合が捕捉され検出器に案内されて、高い効率および感度が得られることにある。

30

【0099】

チューブはまた、バイオセンサで使用されており（1、12、13）、ここで、蛍光レポーター分子は、プローブ分子に予め結合されており、これは、次に、このチューブの壁に付着される。このシステムを通して標的分子が輸送されるとき、それらは、これらの蛍光レポーター分子の位置をずらす。これらは、このチューブを通して、下流蛍光検出器へとフラッシュされ、この場所で、それらは、定量される。このシステムは、この検出システムの光学機器において導波管の原理を使用しない点、また、そのチューブまたはその中に含まれる流体をセンサ設計に光学的に一体化せず、このチューブを分析プロセスの化学 / 生化学成分用の反応容器として使用する点で、本発明の流体導波管センサとは明らかに異なる。

40

【0100】

本明細書中で記述した発明は、検出または定量できる化合物、生体分子または生体物質の種類に関して、制約されない。しかしながら、これらの全ては、以下の段落で記述したプローブ - 標的 - レポーターモデルに関連して、理解され記述できる。

【0101】

50

分子間での相互作用は、非常に特異的であり得る。このような相互作用は、検出システムの基礎として働くことができる。例えば、もし、分子Aが、非常に特異的な様式で、分子Bと相互作用するならば、また、もし、その相互作用を検出するシステムを利用可能であるならば、しばしば、分子B用の検出器として分子Aを使用するシステムかその逆のシステムを設計することが可能となる。

【0102】

このようなシステムは、3個の基本要素から成る：

1. このプローブ分子。これは、この分析システムで機能的な役割を果たすように選択された分子相互作用の成分または関与物質である。

【0103】

2. この標的分子または分析物。これは、この分子相互作用の他の関与物質、すなわち、その分析システムが検出または定量するように設計された関与物質である。

【0104】

3. その指標またはレポーター分子またはシステム。これは、第三の分子または化学/物理システムであって、その分析システムの一部としての機能は、標的分子がプローブ分子と相互作用し得るか、そしてどの程度まで相互作用し得るかを表示または「報告」することにある。

【0105】

以下の実施態様は、本発明のアッセイおよびアッセイ産物で使用され得る異なるプローブ-標的-レポーターシステムの非限定的で代表的な例を提供する。全ての場合において、プローブと標的との相互作用は、流体導波管内で起こるか、または他の容器で起こり、引き続いて、流体導波管に導入される。このレポーターシステムは、プローブと標的分子との分子相互作用を光学信号に変換するように設計され、これは、次いで、このシステムの光検出器に案内される。それに加えて、これらの段落に記載された1システムの要素は、第二システムにおいて、交換可能に使用できる場合がある。例えば、蛍光的に標識したアプタマーは、抗体に結合した抗原から成るプローブ-標的複合体の形成を検出する表示システムとして、使用できる。

【0106】

好ましい実施態様では、核酸分子（またはそれらの類似物）は、合成オリゴヌクレオチド、PCRアンプリコンおよびcDNA分子（これは、対象となる標的核酸分子と配列が対応している）を含めて、このプローブとして機能する。このプローブに相補的な核酸分子は、主に水素結合に頼る機構によって相互作用するが、この標的または分析物として機能する。

【0107】

このようなプローブ-標的の対を使って有用なレポーターには、以下が挙げられる：

A. 二本鎖DNAに特異的に結合するインターカレート染料は、二本鎖DNAに結合したときには、溶液中に遊離しているときよりもずっと大きい程度まで蛍光するが、このシステムにおいて、そのレポーターとして機能できる。このような染料は、プローブと標的核酸分子との間の複合体形成の指示薬として働く。有用な染料は、当該技術分野で周知であり、これには、エチジウムブロマイドのような物質が挙げられ得る。

【0108】

B. 染料はそれ自体、直接的に、これらの標的核酸分子に取り込まれることができ、プローブとの標的の相互作用は、その管状センサ要素の壁の内面での染料分子の蓄積により、達成される。

【0109】

C. 第三核酸分子は、蛍光染料で標識されており、標的分子のうち、そのプローブ核酸分子がハイブリダイズする部位に近接している領域にハイブリダイズできるが、プローブ-標的複合体を間接的に標識するのに使用できる。

【0110】

別の実施態様には、対象となる1分子または複数の分子の種類を認識する抗体がある。こ

10

20

30

40

50

ここで、対象となるタンパク質または他の生体分子または合成分子は、その抗体プローブ用の分析物または標的として働く。

【0111】

このようなプローブ-標的の組合せで有用なレポーターには、以下が挙げられる：

A. プローブと標的との間の複合体形成の指示薬として使用できるように、その標的分子を認識し蛍光染料で直接的に標識された二次抗体。

【0112】

B. 標的分子を認識し、また、この標的分子の認識および結合に加えて第二の機能を実行するように変性された二次抗体。この第二の機能は、その分析システムで測定できる蛍光生成物または着色生成物を発生するように働き、プローブと標的との間の複合体形成の指示薬として供される。

10

【0113】

第三型の実施態様は、対象の1分子または複数の分子の種類を分析により認識するアプタマーである。これらの標的は、タンパク質、核酸、および他の生体分子および合成分子（これらは、このアプタマーにより認識され、それに結合できる）であり得る。第二のアプタマーである指示薬アプタマーは、このシステムにおいて、そのレポーターとして機能する。この指示薬アプタマーは、その標的分子の他の領域に結合するか、または固定化したアプタマー-標的分子複合体に結合する。この指示薬アプタマーは、染料分子を運ぶように変性されなければならないか、触媒要素（これは、このアプタマーがプローブ-標的複合体に結合している間に、指示物質（蛍光）を発生できる）に結合されなければならない。

20

【0114】

別の実施態様は、抗原に特異的なIgE抗体の存在を検出するための血清のプローブとして使用される抗原である。このようなプローブは、血清ドナーがその抗原にアレルギー性である指示薬として機能する。抗体（典型的には、IgE）は、このプローブ抗原により認識されるが、この標的として機能する。そのレポーターは、ヒトIgEに特異的な二次抗体であり、これは、蛍光染料で標識される。

【0115】

他の例には、別の生物学的分子または合成分子に高い特異性および高い親和性で結合するレセプタ（例えば、ホルモンレセプタ）または他のタンパク質（例えば、アビジン）がある。このプローブにより認識される分子種または複合体は、標的として機能し、適当なレポーターの例は、以下のとおりである：

30

A. その標的分子と同じか類似した分子種は、蛍光染料で標識される。その管状センサ要素の壁に付着されたプローブ分子は、この標識された分子種で飽和される。そのシステムに、標的分子を含有する未知のものが導入されたとき、これらの標的分子は、蛍光標識した指示分子の位置をずらし、これは、このセンサからフラッシュされて、この検出器により測定される蛍光信号を低下させる。

【0116】

B. あるいは、その管状センサ要素の壁から、このセンサチューブの管腔内に存在している溶液へと位置をずらされた蛍光は、直接的に、光学機器（これは、このチューブの管腔内の溶液中で遊離した蛍光と管状センサ要素の壁に固定化された蛍光とを区別できる）を使用して、測定できる。

40

【0117】

1つの追加型の実施態様は、その標的化合物に特異的な酵素である。対象分析物は、このプローブにより高い特異性で認識されるが、標的として機能する。このプローブ酵素は、標的分析物の第二化合物への変換を触媒する。ある場合には、この化合物は、それ自体、蛍光性であり得、それゆえ、このセンサシステムの光学機器を使用して、直接的に検出可能であり得る。あるいは、その初期反応により発生する化合物は、蛍光化合物を発生する第二酵素反応の基質として働き得る。この第二酵素は、この管状センサ要素の壁に結合できるか、その容器の管腔内の溶液中に存在できるか、いずれかであり得る。例には、以

50

下がある：酵素であるルシフェラーゼは、この容器の壁に付着できる。この酵素は、ATP依存性反応またはルシフェリン依存性反応を触媒して、光を発生する。このセンサに導入すると、ルシフェリンで補強された未知組成の試料は、その未知物中にATPが存在しているなら、その場合に限り、光を発生する。光が発生する程度は、存在しているATPの量に比例している。それゆえ、このシステムは、生物学的物質中のATPレベルを定量するのに使用できる。

【0118】

この流体導波管技術は、バイオセンサ分野における重大な要求、すなわち、流体システムに容易に一体化できる感受性かつ汎用性の分析要素または検出器要素またはモジュールに対する要求を検討する。他の要素またはモジュール（例えば、その試料に追加試薬を配合して混合するモジュール、および生物学的分子または細胞の複雑な混合物を分別できるモジュール）もまた、非常に重要である。しかしながら、流体システム用の広範囲の検出器システムは、非常に必要とされている。この流体導波管は、この要求を満たす新規で強力な種類の分析要素を構成する。

10

【0119】

前述のことに従って、本発明は、試料中の分析物を測定する方法に関し、該方法は、該分析物を本発明の導波管または光導体（これらのマニホールドを含めて）と接触させる工程、該導波管または光導体を電磁放射線と接触させる工程および信号を検出する工程を包含し、ここで、該信号は、該試料中の該分析物の存在を示し、それにより、該試料中の該分析物を測定する。

20

【0120】

前記導波管がオプティカルコーティングを含むとき、該オプティカルコーティング要素は、前記電磁放射線の1波長（好ましくは、2波長）よりも厚い。

【0121】

本発明の方法の好ましい実施態様では、前記電磁放射線源は、レーザーまたは白色光源である。

【0122】

さらなる好ましい実施態様では、前記信号の強度は、前記試料中の前記分析物の量と比例しているか、および/または該信号を検出する工程は、電磁放射線を検出する工程を包含する。好ましい1実施態様では、該信号は、蛍光分子により発生する。

30

【0123】

本発明の方法の別の好ましい実施態様では、前記分析物は、レポーター分子を含有し、該レポーター分子は、前記プローブが分析物と接触するとき、信号を発生する。

【0124】

別の実施態様では、プローブおよび/または標的（分析物）および/またはレポーターは、他の容器にて、生化学プロセスおよび/または化学プロセスおよび/または物理プロセスを受け、ここで、該プロセスは、該プローブ、標的（分析物）およびレポーターから、蛍光複合体および/または誘導体を発生し、そして該複合体および/または誘導体は、流体導波管に輸送され、その中に導入され、ここで、該蛍光複合体および/または誘導体の検出が起こる。

40

【0125】

例えば、この導波管または光導体は、プローブと共にまたはそれなしで、レポーター分子を含有し得る。それゆえ、この導波管または光導体は、定量的または定性的のいずれかの検出での使用に利用でき、プローブなしでは、化学反応のような反応の発生を検出での使用に利用でき、それにより、その生成物は、この導波管の流体に入ることができ、この場所で、このレポーターは、該生成物と接触されて、このような反応の発生またはその程度を表示する信号を生じる。このレポーター分子は、該生成物の1種またはそれ以上と反応し得、そして蛍光分子または他の標識を含有し得る。このレポーターはまた、配合または反応して例えば蛍光標識（これは、次に、適当な検出可能信号を生じる）を形成する試薬を含有し得る。この反応の生成物は、それ自体、レポーター分子（例えば、蛍光標識）を

50

含有し得る。このような全ての実施態様は、本明細書中で開示した装置および方法に基づいて、本発明で詳細に考慮され、本明細書中の開示と調和する他の実施態様は、それ自体、疑いなしに、当業者に連想される。

【 0 1 2 6 】

( 参考文献 )

【 0 1 2 7 】

【 数 1 】

1. Rabbany, S. Y., Donner, B. L., and Ligler, F. S. (1994) *Crit Rev Biomed Eng* **22**, 307-346 10
2. Gunasingham, H., and Tan, C. H. (1992) *Biosens Bioelectron* **7**, 353-359
3. Schaffar, B. P., and Wolfbeis, O. S. (1990) *Biosens Bioelectron* **5**, 137-148
4. Yeakley, J. M., Fan, J. B., Doucet, D., Luo, L., Wickham, E., Ye, Z., Chee, M. S., and Fu, X. D. (2002) *Nat Biotechnol* **20**, 353-358.
5. Plowman, T. E., Durstchi, J. D., Wang, H. K., Christensen, D. A., Herron, J. N., and Reichert, W. M. (1999) *Anal Chem* **71**, 4344-4352 20
6. Golden, J. P., Anderson, G. P., Rabbany, S. Y., and Ligler, F. S. (1994) *IEEE Trans Biomed Eng* **41**, 585-591
7. Deacon, J. K., Thomson, A. M., Page, A. L., Stops, J. E., Roberts, P. R., Whiteley, S. C., Attridge, J. W., Love, C. A., Robinson, G. A., and Davidson, G. P. (1991) *Biosens Bioelectron* **6**, 193-199
8. Piunno, P. A., Krull, U. J., Hudson, R. H., Damha, M. J., and Cohen, H. (1995) *Anal Chem* **67**, 2635-2643 30
9. Pollard-Knight, D., Hawkins, E., Yeung, D., Pashby, D. P., Simpson, M., McDougall, A., Buckle, P., and Charles, S. A. (1990) *Ann Biol Clin (Paris)* **48**, 642-646
10. Quinn, J. G., O'Neill, S., Doyle, A., McAtamney, C., Diamond, D., MacCraith, B. D., and O'Kennedy, R. (2000) *Anal Biochem* **281**, 135-143
11. Misiakos, K., and Kakabakos, S. E. (1998) *Biosens Bioelectron* **13**, 825-830 40
12. Wemhoff, G. A., Rabbany, S. Y., Kusterbeck, A. W., Ogert, R. A., Bredehorst, R., and Ligler, F. S. (1992) *J Immunol Methods* **156**, 223-230

13. Kusterbeck, A. W., Wemhoff, G. A., Charles, P. T., Yeager, D. A., Bredehorst, R., Vogel, C. W., and Ligler, F. S. (1990) *J Immunol Methods* **135**, 191-197

## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
7 November 2002 (07.11.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/088686 A1

- (51) International Patent Classification: G01N 21/64, G02B 6/20, G01N 21/77
- (21) International Application Number: PCT/US02/13395
- (22) International Filing Date: 26 April 2002 (26.04.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/287,038 27 April 2001 (27.04.2001) US
- (71) Applicant: GENETIC ID [US/US]; 501 Dimick Drive, Fairfield, IA 52556 (US).
- (72) Inventor: FAGAN, John; 103 Full Moon Lane, Fairfield, IA 52556 (US).
- (74) Agents: GRANT, Alan, J. et al.; Carella, Byrne, Bain, Gillilan, Cecchi, Stewart & Olstein, 6 Becker Farm Road, Roseland, NJ 07068 (US).
- (81) Designated States (national): AI, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, GR, GU, HN, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).
- Published: — with international search report before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/088686 A1

(54) Title: WAVEGUIDE AND ASSAY

(57) Abstract: A fluidic waveguide comprising a container and a fluid that fills said container, wherein said fluid has a refractive index greater than the refractive index of the wall of the said container and wherein said fluid can act as a waveguide for electromagnetic radiation when contacted therewith is disclosed. A corresponding fluidic lightguide along with devices that function as composite waveguides and lightguides are described. Assays utilizing this waveguide for biochemical, chemical, and other kinds of analyses are also disclosed.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

## WAVEGUIDE AND ASSAY

5

This application claims priority of U.S. Provisional Application Serial No. 60/287,038, filed 27 April 2001, the disclosure of which is hereby incorporated by reference in its entirety.

10

### FIELD OF THE INVENTION

This invention relates to the field of waveguides and to assays that use such waveguides for biochemical, chemical, and other kinds of analyses.

15

### BACKGROUND OF THE INVENTION

20

There are a wide variety of assays available in the art, including, but not limited to, those that assay for the presence or absence or amount of a polynucleotide, protein, organism, or other molecular species and the like.

25

Recent efforts have attempted to employ waveguide technology in performing such assays. The presence and/or absence and/or quantity of a material to be analyzed (the "analyte") is determined by use of fluorescent material that functions as a reporter with the fluorescent material being excited during the assay and the light emitted from the fluorescent material being directed to a detector by the use of a waveguide.

30

WO 02/088686

PCT/US02/13395

One such example is an optrode. (see refs. 1-3). The optrode is an optical fiber having probe molecules, typically antibodies, immobilized at its distal ends. Excitation light is delivered through the fiber to the probe-target-reporter complexes that form at the end of the fiber. The resultant fluorescent emission is wave-guided back up the fiber to an optical system that delivers the emitted light to a photomultiplier tube or other detector. The key role of the fiber in this sensor is that both excitation and emission light is guided through the fiber very efficiently due to the phenomenon of total internal reflection (TIR). Optical fibers are specially designed so that the index of refraction of the fiber ( $n_i$ ) is greater than the index of refraction of the material cladding the fiber ( $n_c$ ). When light, introduced into the fiber from any source, strikes the fiber-cladding interface, it will be reflected with essentially 100% efficiency, due to the phenomenon of TIR, as long as the angle of incidence is less than the critical angle ( $\theta_c$ ), which is defined as

15

$$\theta_c = \sin^{-1} (n_c / n_i).$$

Sensitivity of such sensors is greatly enhanced by the efficiency with which light is guided via TIR from the probe-derivatized surface of the sensor, through the fiber, to the detector.

20

Recently this basic approach has been expanded upon to develop manifolds in which several probes are applied as small spots on the distal surface of a single fiber optic. Optical systems were designed to assess interactions between probes and targets individually. A similar, but more powerful system has been devised in which micron-scale optical fibers are configured as a manifold in which indentations at the end of the manifold receive small beads of different colors, each of which is derivatized with a different oligonucleotide probe, and to which the corresponding target and reporter are bound (4). This system provides a reusable fiber-optical manifold that can be used to assess hybridization of any set of targets to their respective probes.

30

WO 02/088686

PCT/US02/13395

Optrodes have found applications in a number of areas, but have significant limitations in that the area is limited to which probe molecules can be coupled. This limits the sensitivity of the sensor. Another limitation is that fluorescence emitted from any molecule located in the vicinity of the sensing terminus of the fiber will be picked up by the fiber, which contributes significant levels of background noise.

Another sensor is an evanescent wave-based sensor (1,5,6). When light strikes the interface between the optical fiber and the surrounding medium, which is of lower index of refraction, it undergoes total internal reflection. However, an electromagnetic component of the light passes through the interface, and is propagated through the surrounding medium in a direction parallel to the fiber. This is called the evanescent wave. It penetrates only a short distance (a fraction of the wavelength of the light used) into the medium surrounding the fiber, decaying exponentially as a function of the wavelength of the light. However, this wave can effectively excite fluorescent compounds located close to the fiber surface.

Although other designs have been devised (7), the most common design for evanescent wave-based sensors is to immobilize probe molecules on the walls (not the distal end) of the fiber. Probe-target-reporter complexes formed on the surface of the fiber are detected when the evanescent wave excites the reporter fluor molecules, which emit fluorescence, and which when it strikes the fiber wall at appropriate angles will enter the fiber and be wave-guided up the fiber to the detector.

This design has the advantage over the optrode that fluor molecules in the bulk solution surrounding the fiber are not excited because the evanescent wave does not propagate significantly into the bulk solution phase. Only free fluors that happen to be located within about 0.5 wavelength of the fiber wall will be excited. This reduces background fluorescence that is picked up by the bulk solution surrounding the fiber.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

The disadvantage of this approach is that the power of the evanescent wave is at most 2% of the power of the excitation light within the fiber. Thus, effective excitation of the probe-target-reporter complexes can be challenging.

5 Similarly, a large proportion of the fluorescence emitted by probe-target-reporter complexes fails to be coupled into the fiber, because of the unfavorable geometry of the system. Both of these features limit the sensitivity and utility of evanescent wave sensors.

10 Another sensor involves the use of non-evanescent-wave-based fiber optic systems (8). The limitation with evanescent wave-based sensors is the inefficiency with which excitation light can be transmitted out of the fiber to the probe-target-reporter layer, and the inefficiency with which fluorescence is coupled back into the fiber to be waveguided to the detector. Other  
15 mechanisms have been used in attempts to increase these efficiencies. For instance, attempts have been made to match the index of refraction of the probe layer with that of the fiber. The intention in this design is to include the probe layer within the waveguide so that a larger portion of the exciting light reaches probe-target-reporter complexes, and a larger portion of emitted  
20 fluorescence is coupled into the waveguide. Empirical evidence indicates that fibers constructed based on this principle function with somewhat improved efficiency compared to evanescent wave-based sensors.

A further example is a surface plasmon resonance-based sensor  
25 (1,9,10). Sensors based on the surface plasmon resonance phenomenon have the advantage that they directly detect changes in index of refraction at the surface of the optical system due to binding of target to probe. Thus, this method does not require the use of fluorescent or other reporter molecules.

30 This optical system consists in simplest form of a prism, one surface of which is coated with a thin metal film (usually gold or silver). Probe molecules

WO 02/088686

PCT/US02/13395

are attached to the other surface of the metal film, which is also in contact with a solution that may contain the analyte or target of interest.

5 The evanescent wave generated by light impinging on the prism-metal interface at a certain incident angle, termed the resonant angle or SPR angle, will couple with and excite the free-electron plasma of the metal film. That is, electromagnetic coupling occurs between the free electrons of the metal film and the evanescent wave of the light that undergoes total internal reflection at the SPR angle within the prism. This generates a resonant wave that  
10 propagates along the surface of the metal. Dissipative processes within the metal film absorb some of the energy of this resonant wave. As a result, the light incident upon the prism-metal interface at the SPR angle is reflected with attenuated intensity. In other words, at the SPR angle, light energy is transformed into dissipative surface plasmons within the metal. This is  
15 observed as attenuation of the total internal reflection in the prism.

The SPR angle depends not only on the properties of the metal film but also on the dielectric constant (and thus the index of refraction) of the medium immediately adjacent (within a fraction of one wavelength) to the other surface  
20 of the metal film. This is because of interaction between the evanescent field of the SPR wave and the medium immediately adjacent to the metal film. Materials that bind to the surface of the metal film alter the dielectric constant (and index of refraction) in that zone, altering the SPR angle. This is observed as a change in the angle at which total internal reflection is attenuated.

25 This change in the SPR angle is a sensitive indicator of binding to the metal surface, and can act as a sensor for specific molecular species (target molecules) present in a solution that bathes the metal surface. To accomplish this, probe molecules are bound to the metal film. When target molecules are  
30 present in the solution bathing the metal film, they form complexes with the immobilized probe. This changes the index of refraction immediately adjacent to the metal surface, which, in turn, alters the SPR angle. The change in SPR

WO 02/088686

PCT/US02/13395

angle can be directly measured. With proper calibration, such a system can be used to directly and quantitatively measure the formation of probe-target complexes.

5

**BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION**

In one aspect, the present invention relates to a fluidic waveguide comprising a container and a fluid that fills said container, wherein said fluid  
10 has a refractive index greater than the refractive index of the wall of said container and wherein said fluid acts as a waveguide when contacted with electromagnetic radiation.

In another aspect, the present invention relates to a fluidic waveguide  
15 comprising a container and a fluid that fills said container, wherein the interior surface of said container is covered by an optical coating element and said fluid has a refractive index higher than the refractive index of said coating element and wherein said fluid acts as a waveguide when contacted with electromagnetic radiation.

20

In preferred embodiments of this invention, said optical coating has a width or thickness of at least 100 Angstroms, preferably a width or thickness of at least 100 Angstroms but not more than one micrometer, most preferably a width or thickness of at least 500 Angstroms but not more than one  
25 micrometer, especially a width or thickness of at least 0.1 micrometer but not more than one micrometer, most especially a width or thickness of at least one micrometer

In a further aspect, the present invention relates to a fluidic waveguide,  
30 comprising a container and a fluid that fills said container, wherein said fluid has a refractive index less than or equal to the refractive index of the wall of said container, wherein the outer surface of said container is covered by an

WO 02/088686

PCT/US02/13395

external medium wherein the wall of said container has a refractive index greater than the refractive index of said medium and whereby said fluid and said container function together as a composite waveguide when contacted with excitatory electromagnetic radiation.

5

In a still further aspect, the present invention relates to a fluidic lightguide comprising a container and a fluid that fills said container, and an internally reflective coating element covering the outer surface of said container wherein said container functions as a lightguide when contacted with electromagnetic radiation.

10

In preferred embodiments, the fluidic waveguides and/or lightguides of the invention, whether composite or otherwise, may comprise a probe. In further embodiments thereof, said probe is attached to the inner surface of the wall of the container or is in solution in the liquid filling said container or may be attached to solids present in the cavity of the container.

15

In other preferred embodiments, the probe may be one or more of an oligonucleotide, an antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme.

20

In further preferred embodiments, the waveguides and/or lightguides of the invention may comprise a reporter molecule, especially where said reporter molecule is a member selected from the group consisting of a fluorophore and reagents capable of producing a fluorophore.

25

Still further preferred embodiments of the waveguides and/or lightguides of the present invention includes cases where these comprise a probe and one or more reporter molecules that generate a signal when said probe is contacted with an analyte, especially where the probe is attached to the inner surface of the wall of said container. In one such preferred embodiment, the reporter molecule is a quantum dot.

30

WO 02/088686

PCT/US02/13395

The present invention also relates to a manifold of integrated non-identical fluidic lightguides and/or lightguides, including manifolds of both waveguides and lightguides, as disclosed herein. In a preferred embodiment, said manifold is portable.

5

In additional preferred embodiments of the waveguides, lightguides and manifolds of the invention, the fluid in the container is a liquid, or possibly a gel.

10 The present invention also relates to a method of determining an analyte in a sample comprising contacting said analyte with a waveguide or lightguide of the invention, including manifolds of these, contacting said waveguide or lightguide with electromagnetic radiation and detecting a signal wherein said signal indicates the presence of said analyte in said sample,  
15 thereby determining said analyte in said sample.

When said waveguide comprises an optical coating, said optical coating is thicker than one wavelength, preferably more than two wavelengths, of said electromagnetic radiation.

20

In preferred embodiments of the methods of the invention, the source of electromagnetic radiation is a laser or a white light source.

25 In additional preferred embodiments, the intensity of said signal is proportional to the amount of said analyte in said sample and/or wherein said detection of a signal comprises detecting electromagnetic radiation. In one preferred embodiment, the signal is produced by a fluorescent molecule.

In another preferred embodiment of the methods of the invention, the analyte comprises a reporter molecule that generates a signal when the probe  
30 is contacted with the analyte.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

**DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION**

In one aspect, the present invention relates to fluidic a waveguide that results from introduction of a fluid, preferably a liquid, but also possibly a gel, into a container that is in the form of a channel, tube, or other hollow structure, wherein the refractive index of said fluid is greater than the refractive index of the wall of the container. Said fluid, preferably a liquid, in the container functions as a waveguide in the sense that light directed into the fluid at angles less than the critical angle for the system undergoes total internal reflection at the interface between the fluid and container.

In another aspect, the present invention relates to a fluidic waveguide, as defined above, for delivering emitted fluorescent light from a fluorophore to a light detector that is comprised of a container that is in the form of a channel, tube, or other hollow structure that contains a fluid, preferably a liquid, but could also be a gel, with the container further including a fluorophore (in the liquid and/or on a wall of the container) wherein the refractive index of the fluid, preferably a liquid, is greater than the refractive index of the wall of the container. The fluid, preferably a liquid, in the container functions as a waveguide to direct light emitted from the fluorophore to a light detector.

Thus, the present invention relates to a fluidic waveguide comprising a container and a fluid that fills said container, wherein said fluid has a refractive index greater than the refractive index of the wall of said container and wherein said fluid acts as a waveguide when contacted with electromagnetic radiation.

The container for the fluid, preferably a liquid, is advantageously a channel, tube, or other hollow structure, ranging in diameter from a few microns to a few millimeters, and preferably from a millimeter to a few

WO 02/088686

PCT/US02/13395

centimeters in length, but could be of either larger or smaller dimensions and the term "container" is understood herein to encompass all such structures.

5 The fluid, preferably a liquid, in the lumen of the container may include dissolved solids and may be comprised of one, two or more fluids. Thus, the term "fluid" encompasses "gas," "gel," "liquid," and the latter encompasses a "solution." The fluid could also include a suspension.

10 The lumen or open portion of the container may include a solid in addition to a fluid. In such a case, the refractive index of the liquid and the solid should be essentially equal to each other.

15 In a preferred embodiment, the interior or lumen of the container is essentially filled with fluid, or a combination of liquid and solid, in which case the liquid and solid have essentially equal refractive indexes.

20 In accordance with another aspect of the present invention, there is provided a fluidic wave guide for use in an assay for an analyte that uses a fluorescent material as the reporter material for the assay, wherein the container in which all or a portion of the assay is performed, and/or fluid in the container, functions as a waveguide to transmit emitted light from the fluorescent reporter to a light detector, with such emitted light being used as a read-out of the assay for determining analyte.

25 The container for the fluid can be in the form of a tube, as described above.

30 The assay reagents include an analyte, a probe, or a probe system, and a reporter in the form of fluorescent material or material that becomes fluorescent through physical, chemical or biochemical processes.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

The probe, or probe system, includes a material that interacts with analyte (binds to or reacts with the analyte, or catalyzes the chemical transformation of the analyte) and may further include one or more materials that interact with a material that interacts with the material that detects, or  
5 interacts with, the analyte or with a material produced by interaction with a material produced by the interaction between the analyte and the material that interacts with the analyte.

The reporter may be originally present in the assay reagents or may be  
10 produced and become part of the assay reagents during the assay. Alternatively, the reporter may be chemically linked to the probe or probe system.

In one embodiment, the lumen or opening in the container, which may  
15 be in the form of a capillary tube, includes a solid in addition to the fluid, with such solid functioning as a support for all or a portion of the probe, or probe system. The solid is preferably porous or gel-like so that the opening in the tube can include liquid as well as the solid. As hereinabove indicated, the refractive index of the solid in the lumen and the fluid, preferably a liquid, in  
20 the lumen should be essentially equal to each other whereby the solid and fluid, preferably a liquid, in the lumen function as a composite waveguide.

In a preferred embodiment, all or a portion of the probe, or probe system, may be attached to the wall of the container. This coating of probe on  
25 the wall of the container may also include a reporter molecule or group or reporter moiety. Fluorescent material and the reporter may be attached or linked to a probe material attached to the container wall. Alternatively, the reporter may reside in the fluid present in the lumen of the container.

30 Thus, the present invention relates to a fluidic waveguide comprising a container and a fluid that fills said container, wherein the interior surface of said container is covered by an optical coating element and said fluid has a

WO 02/088686

PCT/US02/13395

refractive index higher than the refractive index of said coating element and wherein said fluid acts as a waveguide when contacted with electromagnetic radiation. As used herein, the term "optical coating element" refers to a coating that acts to alter the optical properties of the system, such as a  
5 refractive coating.

In preferred embodiments of this invention, said coating has a width of at least 100 Angstroms, preferably a width of at least 100 Angstroms but not more than one micrometer, most preferably a width of at least 500 Angstroms  
10 but not more than one micrometer, especially a width of at least 0.1 micrometer but not more than one micrometer, most especially a width of at least one micrometer

A device in accordance with the invention includes:

- 15 1. A container, which is preferably a tube, channel, or other hollow structure, all encompassed in the term "tube," or "tubular sensor element."
- 20 a. The tubular sensor element is to be distinguished from other tubular or channel-like elements that may be used in a fluidics system of the analytical device as a whole, in that the tubular sensor element is the site where the core analytical events of the over-all analytical process take place. In particular, the tubular sensor element is not merely a fluidic element but  
25 functions as an optical unit and can also function as a chemical unit in that it acts as a waveguide and may include a probe or probe molecules to interact with an analyte passing through the container.
- b. The tube can be made of glass or related materials, plastics, semiconductor materials, and the like.
- 30 c. The tube can be cylindrical or conical or of other geometry selected to achieve optimal optical and fluidic function.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

- d. The composition, shape, chemistry, and optical, as well as other characteristics of the tube are dictated by the following:
- i. The optical design of the system.
  - ii. The fluidic design of the system.
  - 5 iii. The chemistry of the analytical process and of the analyte or target molecule.
  - iv. The chemistry of the probe molecule and reporter system.
  - v. Other relevant characteristics of the analytical system.
- 10 2. A fluidics or microfluidics system.
- a. The fluidics system can be integrated into, or it can be attached to, the tubular sensor element of the device.
  - b. The fluidics system can function to accomplish the delivery, removal, and movement of fluids to and through the detector
  - 15 tube.
  - c. This system can also function to fractionate, process, or otherwise modify the analytical sample before it is delivered to the tubular sensor element, and can include a range of functional elements including but not limited to electrophoretic
  - 20 elements, filtering elements, size-sorting elements, pumps, and others.
  - d. Fluidics functions can be accomplished by very simple manual procedures that make use of capillary action or other simple processes, or by complex fluidic, electrical, electronic, or
  - 25 mechanical systems.
3. A fluid, preferably a liquid, that fills the lumen of the tubular sensor element, whose physical, chemical, and optical characteristics depend on the following:
- a. The optical design of the system,
  - 30 b. The fluidic design of the system,
  - c. The physics and chemistry of the analyte,

WO 02/088686

PCT/US02/13395

- d. The physics and chemistry of the detection system (probe and reporter).
4. Probe molecules.
- 5 a. The physical, chemical, and biological properties of the probe molecules, and their location within the analytical system will be dependent on the following:
- 10 i. The optical design of the system.  
ii. The fluidic design of the system.  
iii. The chemistry of the analytical process, the reporter system, and the analyte or target molecule.  
iv. Other relevant characteristics of the analytical system.
- 15 b. Probes may be
- i. Attached to or coated on the inner wall of the tubular sensor element,  
ii. Present in solution in the liquid contained in the lumen of the tube,  
iii. Attached to solid material located in the lumen of the tubular sensor element.
- 20 c. If the probe molecules are coated onto, or immobilized to the inner walls of the tube or to a solid material located in the lumen of the tube, then this is accomplished by processes that preserve the chemical and physical activity and specificity of the probe molecules towards the analytes or targets of interest.
- 25 d. The molecular recognition process between probe and analyte may take the following non-limiting forms:
- 30 i. In some cases, this process is a simple binding reaction, in which an intermolecular complex is formed between analyte and probe. The formation of this complex immobilizes the analyte to the inner wall or to the solid material in the lumen of the tubular sensor element. The immobilized probe-analyte complex is then detected by a reporter system that may function via a variety of

WO 02/088686

PCT/US02/13395

- mechanisms, such as the binding of dyes specific for the structure of that complex, or the binding of fluorescently labeled antibodies, nucleic acid molecules, or other molecules that recognize either the analyte or the analyte-probe complex.
- 5
- ii. In some cases, the probe-target recognition system is designed such that binding of the probe to the analyte may catalyze or otherwise bring about molecular transformations of the analyte, generating fluorescent products either directly or via linked reactions.
- 10
- e. Non-exhaustive examples of probe molecules are as follows:
- i. Single stranded oligomers or polymers of nucleic acid or nucleic acid analogues, which can specifically interact with and bind to analyte nucleic acid molecules based on sequence homology between the probe and analyte nucleic acid molecules. This interaction occurs primarily via hydrogen bond-based interactions between the nucleotides of the two nucleic acid strands;
- 15
- ii. Antibodies and aptamers, which can specifically interact with and bind to a wide variety of molecules and molecular complexes. Potential targets include, but are not limited to, the following: small organic molecules, biologically important polymers such as proteins, nucleic acids, and carbohydrates, other man made polymers/molecules, and complex biological structures such as membrane-protein complexes, receptor-target complexes, antibody-antigen complexes, cell surface markers, cells of any organism, and the like.;
- 20
- 25
- iii. Enzymes, which can interact with, and catalyze the chemical transformation of, a diverse range of molecular species;
- 30

WO 02/088686

PCT/US02/13395

- iv. Other biological molecules, molecular complexes, and larger biological entities, and organic or inorganic molecular species, either natural or synthetic, that can (a) bind to, (b) chemically react with, or (c) catalyze the transformation of analytes carried in the tubular sensor element.
- 5
5. Optical system
- a. The optical system will be designed to efficiently deliver excitation light to the reporter molecules for analytical and/or chemical purposes and to collect fluorescence emitted light from the reporter.
- 10
- b. The characteristics of the optical system will be dependent on the following:
- i. The physics and chemistry of the analytical process, the reporter system (fluorescent dyes), and the analyte or target molecule,
- 15
- ii. The physical and optical characteristics of the tubular sensor element and the fluid (and porous solid) contained in the lumen of the tube,
- 20
- iii. The fluidic design of the system,
- iv. Other relevant characteristics of the system.
- c. Light will be delivered to the probe surface via a fluidic waveguide whose functional elements can include the following:
- i. The fluid, preferably a liquid, phase alone or in combination with a porous solid phase that matches the refractive index of the liquid contained in the lumen of the tube,
- 25
- ii. A probe coating on the inner wall of the tubular sensor element,
- 30
- iii. Optical coatings on the inner wall of the tube,
- iv. The tube wall, itself,

WO 02/088686

PCT/US02/13395

- v. Optical coatings and cladding applied to the outer surface of the tubular sensor element.
- d. The indexes of refraction of the following elements will be adjusted to achieve the desired optical characteristics of the system for the particular application of interest:
- 5
- i. The tubular sensor element,
  - ii. The material (fluid, preferably a liquid, and solid) in the lumen of the tube.
  - 10
  - iii. The optical coatings and treatments of the inner surface of the tube. (including that of the probe molecule layer, if applicable).
  - iv. The optical coatings and treatments of the outer surface of the tube, if such surface exists.
- e. In addition to the fluidic waveguide, the primary elements of the optical system will include but are not restricted to the following:
- 15
- i. Light source or sources,
  - ii. Detector for emitted fluorescence,
  - 20
  - iii. Lenses, filters, gratings, monochrometers, beam splitters, coatings, and other devices to control, modify, and modulate the excitation and emission light,
  - iv. All components will be optimized to achieve the maximum sensitivity, consistency, and quality of the optical signal.
6. Coatings—The device may include a variety of coatings, treatments, modifications of the inner and outer surfaces of the tube or other elements, such as porous solids contained in the lumen of the tube, to confer desired optical, chemical, and physical properties to the system.
- 25
- a. Coatings can be deposited by any process, whether chemical, physical, or other.
  - 30
  - b. Coatings can be deposited in any order appropriate to achieve the desired optical, chemical and physical properties.
  - c. The order of placement of the probe surface with respect to other coatings can vary.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

5 d. The coating on the inner wall of the tube, which may include probe and other assay reagents, may function in conjunction with the liquid in the lumen of the tube as a composite waveguide. Alternatively the thickness of the coating may be controlled such that it is less than one wavelength of the emitted light, whereby essentially only the fluid, preferably a liquid, functions as a wave guide for the emitted light.

10 In a preferred embodiment, the fluid, preferably a liquid, phase in the lumen of the tube, which includes a portion of the assay reagents (for example, the analyte), has an index of refraction ( $n_i$ ) that is greater than the index of refraction of the inner wall of the tube ( $n_w$ ). The index of refraction of the coating on the inner wall of the tube that is exposed to the fluid, preferably a liquid, phase in the lumen has an index of refraction ( $n_c$ ) that is equal to or  
15 greater than or in some cases less than the index of refraction of the fluid, preferably a liquid, phase.

In this embodiment, the fluid, preferably a liquid, phase alone functions as a waveguide, or the fluid, preferably a liquid, phase and the assay reagent  
20 coating applied to the inner wall of the tube constitute a composite waveguide. The desired configuration of indexes of refraction is achieved by selecting materials for the tube, or inner coatings of the tube, that are of low  $n$ , and for the fluid, preferably a liquid, that are of high  $n$ . For instance there are urethane polymers that have  $n$  as low as 1.35, while even common solutes  
25 such as sucrose increase the  $n$  of aqueous solutions well above 1.35. It should be noted that coatings used to lower the  $n$  of the tube must be greater in thickness than 1 wavelength of the emission light and preferably 2 or more wavelengths thick. Solutes used to fortify the luminal fluid, preferably a liquid, are selected on the basis of two primary criteria: (1) they have a high index of  
30 refraction, and (2) they do not inhibit or interfere with, but may even enhance, the chemistry involved in the probe-analyte-reporter recognition process. High  $n$  can be achieved in the probe coating by adjusting the attachment chemistry

WO 02/088686

PCT/US02/13395

to achieve probe densities that are sufficient to increase  $n_c$  of the layer above that of the tube. Other strategies can also be used. TIR occurs at the interface between the probe coating and the tube wall or at the interface between the fluid, preferably a liquid, and the coating, depending on the indexes of refraction of these elements and depending upon the thickness of the coatings.

Electromagnetic radiation, such as excitatory light, for example, from a laser or a white light source, is delivered through the waveguide to probe-analyte-reporter complexes optionally part of the waveguide. Fluorescence emitted at angles below the critical angle for TIR for the interface between an assay reagent coating and the container wall or fluid, preferably a liquid, will be waveguided through the lumen-probe-coating composite or the fluid, preferably a liquid, to a detector. Light emitted in the direction of the detector will be delivered directly to the detector, while light emitted toward the opposite end of the tube will propagate to that end of the tube, where it will encounter a reflective surface that will reflect it toward the detector.

Fluorescence emitted at angles greater than the critical angle for TIR will pass through the inner wall of the tube, and will be lost through the wall. Alternatively, a coating of reflective material can be applied to reflect this light back into the tube wall, where it can propagate directly or indirectly towards the detector. This light will be recovered with lower efficiency, due to the inefficiency of such reflective surfaces, but contributes to increasing the overall efficiency of light/signal recovery.

In another preferred embodiment, the inner wall of the tube is coated with a highly reflective material that allows efficient reflection of both the excitation and emission wavelengths. The container wall serves as a support in this design, but does not serve a functional role in the optics of this system. In this embodiment, the index of refraction of the fluid, preferably a liquid, in the lumen of the container, such as a tube, is not critical to the functioning of

WO 02/088686

PCT/US02/13395

the analytical system, nor is that of the probe coating, as long as that coating is thin in comparison with the wavelength of the excitation light used in the analytical system. Under these conditions, the fluid, preferably a liquid, in the lumen of the tube and the probe coating function as a composite light guide.

5

In this embodiment electromagnetic radiation, such as excitatory light, for example, from a laser or a white light source, is delivered through this composite light guide to probe-analyte complexes that are suspended in and are actually an integral part of the lightguide. Fluorescence emitted at all angles will be reflected toward one end of the container or the other. That which is emitted in the direction of a detector will be guided directly to the detector, while light emitted toward the opposite end of the container propagates to that end of the container, where it will encounter a reflective surface that will deflect it toward the detector.

15

Unlike the other embodiments, the reflective process used in this configuration to guide light to a detector is less efficient than the total internal reflection (TIR) process. TIR occurs only when light impinges upon an interface between two materials of different indexes of refraction, traveling from the material of greater index of refraction to the material of lower index of refraction, where the light is reflected back into the material of higher refractive index. Because the light guide in this particular embodiment does not function by TIR, light intensity will be progressively reduced as it propagates via multiple reflections along the light guide, with some emissions being completely dampened and thus extinguished. The degree of reduction depend on several factors, including the angle at which the light strikes the tube wall (the higher the angle the more reflections will be required for the light to traverse the length of the tube and strike the detector, and the greater the loss of signal intensity), the characteristics of the reflective coating (because different coatings confer different efficiencies of reflection), and the wavelength of light (because efficiency of reflection for different surfaces varies for different wavelengths of incident light).

30

WO 02/088686

PCT/US02/13395

In another preferred embodiment the  $n$  of the luminal fluid, preferably a liquid, is less than or equal to the  $n$  of coatings on the inner wall (including the coating of probe molecules), the  $n$  of the tube wall, and the  $n$  of the tube wall will be greater than  $n$  of the surrounding medium. In this case, the tube, inner coatings, and luminal fluid will all function as a single composite optical waveguide. Electromagnetic radiation, such as excitatory light, will be delivered to the probe-analyte-reporter complexes attached to the inner surface of the tube both via the fluid contained in the lumen of the tube and via the walls of the tube.

Fluorescence emitted by the immobilized probe-analyte-reporter complexes will be collected across the whole cross-section of the composite waveguide, which includes the fluid within the lumen and the wall of the tube, as well as any coatings on the walls of the tube that are capable of transmitting light. Only very low angles will be delivered directly, without reflection or refraction through the lumen to the detector. The remainder of the light will impinge upon the wall of the tube, will enter the wall and will be refracted and strike the outer wall. Some of that light, that which impinges on the outer surface of the wall at angles less than or equal to the critical angle for TIR from the outer wall surface, will undergo TIR and will be guided by the composite wave guide either to the detector, or to the opposite end of the wave guide where it will be reflected back toward the detector.

Light that strikes the outer surface of the wall at angles greater than the critical angle for TIR will be lost through the wall of the tube. Alternatively, a coating of reflective material can be applied to the outer wall of the tube to reflect light having incident angles greater than the angle of TIR back into the composite waveguide, where it can propagate directly or indirectly to the detector. This light will be recovered with lower efficiency, due to the inefficiency of such reflective surfaces, but will contribute to increasing the overall efficiency of light/signal recovery.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

5 A device in which biotin molecules were immobilized to the inner wall of a tube as a model probe, and a solution was introduced into the tube, which contained fluorescently tagged streptavidin as a model target molecule has been described (11). In that device, electromagnetic radiation was delivered from a source perpendicular to the tube, and that portion of the emitted fluorescence that happened to be coupled into the wall of the tube was detected by an optical system that captured light only from the tube wall.

10 In contrast, the core concept underlying the fluidic waveguide sensor of the present invention is the use of the fluid contained in a tube or container, either alone or in conjunction with other components of the system, as a waveguide or composite waveguide. The elements or components that can form composite fluidic waveguides include, in addition to the fluid contained in  
15 the chamber or tube, the probe layer, the tube wall, and coatings on the inner and outer surfaces of the tube or chamber. Various combinations and permutations of these elements can be employed to form composite fluidic waveguides. The advantage of this design is that it allows a substantially larger fraction of emitted light to be captured and guided to the detector,  
20 thereby resulting in greater efficiency and sensitivity.

Tubes have also been used in biosensors (1,12,13), wherein fluorescent reporter molecules are pre-bound to a probe molecule, which is in turn attached to the wall of the tube. When target molecules are transported  
25 through the system, they displace the fluorescent reporter molecules. These are flushed through the tube to a downstream fluorescence detector, where they are quantified. This system clearly differs from the fluidic waveguide sensor of the present invention in that it does not employ waveguide principles in the optics of the detection system and does not integrate the  
30 tube, or the fluid contained therein, optically into the sensor design, but uses the tube only as a reaction vessel for the chemical/biochemical components of the analytical process.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

The invention described herein is not restricted as to the kinds of compounds, bio-molecules or biological entities that it can detect or quantify. However, all of these can be understood and described within the context of the probe-target-reporter model described in the following paragraphs.

Interactions between molecules can be highly specific. Such interactions can serve as the basis for a detection system. For instance, if Molecule A interacts with Molecule B in a highly specific manner, and if one has available a system for detecting that interaction, then it is often possible to design a system that uses Molecule A as a detector for Molecule B or visa versa.

Such systems consist of three basic elements:

1. The probe molecule. This is that component or participant in the molecular interaction that has been chosen to play a functional role in the analytical system.
2. The target molecule or analyte. This is the other participant in the molecular interaction, the participant that the analytical system is designed to detect or quantify.
3. The indicator or reporter molecule or system. This is a third molecule or chemical/physical system whose function, as part of the analytical system, is to indicate or "report" whether or not, and to what extent, target molecules may have interacted with probe molecules.

The following embodiments provide non-limiting representative examples of different probe-target-reporter systems that may be used in the assay and assay product of the present invention. In all cases, interaction of probe and target takes place within a fluidic waveguide or in another vessel and is subsequently introduced into a fluidic waveguide. The reporter system is designed to transduce the molecular interaction between probe and target

WO 02/088686

PCT/US02/13395

molecules into an optical signal, which is then guided to the optical detector of the system. In addition, there are instances in which elements of one system described in these paragraphs can be used interchangeably in a second system. For instance, fluorescently labeled aptamers could be used as the indicator system for detection of the formation of probe-target complexes consisting of an antigen bound to an antibody.

In a preferred embodiment, nucleic acid molecules (or analogs thereof), including synthetic oligonucleotides, PCR amplicons, and cDNA molecules that correspond in sequence to the target nucleic acid molecules of interest, will function as the probe. Nucleic acid molecules complementary to the probe, which interact with it through mechanisms that rely primarily on hydrogen bonding, will function as the target or analyte.

Reporters useful with such probe-target pairs include:

- A. An intercalating dye that binds specifically to double stranded DNA, which fluoresces to a much greater degree when bound to double stranded DNA than when free in solution, can function as the reporter in this system. Such a dye will serve as an indicator of the formation of complexes between probe and target nucleic acid molecules. Useful dyes are well known in the art and may include such entities as ethidium bromide.
- B. Dyes can be incorporated directly into the target nucleic acid molecules, themselves, such that interaction of target with probe is accompanied by accumulation of dye molecules at the inner surface of the wall of the tubular sensor element.
- C. A third nucleic acid molecule, which is labeled with a fluorescent dye, and can hybridize to a region of the target molecule that is in close proximity to the site where the probe nucleic acid molecule hybridizes, can be used to indirectly label probe-target complexes.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

Another embodiment is an antibody that recognizes a molecule or class of molecules of interest. Here, a protein or other biological or synthetic molecule of interest serves as the analyte or target for the antibody probe.

5 Reporters useful with the such probe-target combinations include:

A. A second antibody that recognizes the target molecule and that is labeled directly with a fluorescent dye, such that it can be used as an indicator of the formation of complexes between probe and target.

10 B. A second antibody that recognizes the target molecule and that has been modified to carry out a second function in addition to recognition and binding of the target molecule. This second function serves to generate a fluorescent or colored product that can be measured by the analytical system, serving as an indicator of the formation of complexes between probe and target.

15

A third type of embodiment is an aptamer that recognizes a molecule or class of molecules that is of interest analytically. The targets can be proteins, nucleic acids, and other biomolecules and synthetic molecules that are recognized by, and can bind to, the aptamer. A second aptamer, the indicator aptamer, functions as the reporter in this system. The indicator aptamer binds to another region of the target molecule, or binds to the immobilized aptamer-target molecular complex. The indicator aptamer must be modified to carry a dye molecule or be linked to a catalytic element that can generate an indicator substance (fluorescent) while this aptamer is bound to the probe-target complex.

20

25

Another embodiment is an antigen used as a probe of sera to detect the presence of IgE antibodies specific for that antigen. Such a probe functions as an indicator that the serum donor is allergic to that antigen. An antibody, typically IgE, recognized by the probe antigen, functions as the target. The reporter is a second antibody specific for human IgE, which has been labeled with a fluorescent dye.

30

WO 02/088686

PCT/US02/13395

Other examples are receptors, such as hormone receptors, or other proteins, such as avidin, that bind with high specificity and high affinity to another biomolecule or synthetic molecule. Molecular species or complex  
5 recognized by the probe function as target, and examples of appropriate reporters are as follows:

- 10 A. A molecular species identical with or similar to the target molecule will be labeled with fluorescent dye. The probe molecules attached to the wall of the tubular sensor element will be saturated with this labeled molecular species. When an unknown that contains target molecules is introduced into the system the target molecules will displace the fluorescently labeled indicator molecules, which will be flushed from the sensor, reducing the fluorescent signal measured by the detector.
- 15 B. Alternatively, the fluorescence displaced from the walls of the tubular sensor element into the solution present in the lumen of the sensor tube could be measured directly using optics that can differentiate between fluorescence free in solution in the lumen of the tube and fluorescence immobilized to the walls of the tubular  
20 sensor element.

One additional type of embodiment is an enzyme specific for the target compound. An analyte of interest, which is recognized with high specificity by the probe, functions as target. The probe enzyme catalyzes the conversion of  
25 target analyte to a second compound. In some cases, this compound might, itself, be fluorescent and thus be directly detectable using the optics of the sensor system. Alternatively, the compound generated by the initial reaction could serve as a substrate for a second enzymatic reaction that would generate a fluorescent compound. The second enzyme could be either bound  
30 to the wall of the tubular sensor element or present in solution in the lumen of the container. Example: The enzyme luciferase could be attached to the container walls. This enzyme catalyzes an ATP- and luciferin-dependent

WO 02/088686

PCT/US02/13395

reaction, generating light. Introducing into the sensor a sample of unknown composition that has been fortified with luciferin will lead to the generation of light if and only if ATP is present in the unknown. The extent of light production will be proportional to the amount of ATP present. Thus, this system can be used to quantify ATP levels in biological materials.

The fluidic waveguide technology addresses a critical need in the biosensor field, namely the need for sensitive and versatile analytical or detector elements or modules that can be readily integrated into fluidic systems. Other elements or modules are also very important, such as modules that combine and mix additional reagents with the sample, and modules that can fractionate complex mixtures of biological molecules or cells. However, an expanded range of detector systems for fluidic systems is a critical need. The fluidic waveguide constitutes a new and powerful class of analytical elements that fulfills this need.

In accordance with the foregoing, the present invention relates to a method of determining an analyte in a sample comprising contacting said analyte with a waveguide or lightguide of the invention, including manifolds of these, contacting said waveguide or lightguide with electromagnetic radiation and detecting a signal wherein said signal indicates the presence of said analyte in said sample, thereby determining said analyte in said sample.

When said waveguide comprises an optical coating, said optical coating element is thicker than one wavelength, preferably more than two wavelengths, of said electromagnetic radiation.

In preferred embodiments of the methods of the invention, the source of electromagnetic radiation is a laser or a white light source.

In additional preferred embodiments, the intensity of said signal is proportional to the amount of said analyte in said sample and/or wherein said

WO 02/088686

PCT/US02/13395

detecting a signal comprises detecting electromagnetic radiation. In one preferred embodiment, the signal is produced by a fluorescent molecule.

In another preferred embodiment of the methods of the invention, the analyte comprises a reporter molecule that generates a signal when the probe is contacted with the analyte.

In another embodiment, probes, and/or targets (analytes), and/or reporters undergo biochemical, and/or chemical, and/or physical processes in another container, wherein said processes generate fluorescent complexes and/or derivatives from said probes, targets (analytes), and reporters, and said complexes and/or derivatives are transported to, and introduced into, a fluidic waveguide, in which detection of said fluorescent complexes and/or derivatives takes place.

For example, the waveguide or lightguide may comprise a reporter molecule, with or without a probe. Thus, the waveguide or lightguide is available for use in detection, either qualitative or quantitative, and without a probe, of the occurrence of a reaction, such as a chemical reaction, whereby the products are permitted to enter the fluid of the waveguide where the reporter is contacted with said products to provide a signal indicating the occurrence or extent of such reaction. The reporter molecule may react with one or more of said products and may include a fluorescent molecule or other label. The reporter may also comprise reagents that combine or otherwise react to form, for example, a fluorescent label that internally provides the appropriate detectable signal. The products of the reaction may themselves comprise a reporter molecule, such as a fluorescent label. All such embodiments, based on the devices and methods disclosed herein, are specifically contemplated by the present invention and other embodiments in keeping with the disclosure herein will no doubt suggest themselves to those of skill in the art.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

## REFERENCES:

1. Rabbany, S. Y., Donner, B. L., and Ligler, F. S. (1994) *Crit Rev Biomed Eng* **22**, 307-346
- 5 2. Gunasingham, H., and Tan, C. H. (1992) *Biosens Bioelectron* **7**, 353-359
3. Schaffar, B. P., and Wolfbeis, O. S. (1990) *Biosens Bioelectron* **5**, 137-148
4. Yeakley, J. M., Fan, J. B., Doucet, D., Luo, L., Wickham, E., Ye, Z.,  
10 Chee, M. S., and Fu, X. D. (2002) *Nat Biotechnol* **20**, 353-358.
5. Plowman, T. E., Durstchi, J. D., Wang, H. K., Christensen, D. A.,  
Herron, J. N., and Reichert, W. M. (1999) *Anal Chem* **71**, 4344-4352
6. Golden, J. P., Anderson, G. P., Rabbany, S. Y., and Ligler, F. S. (1994)  
*IEEE Trans Biomed Eng* **41**, 585-591
- 15 7. Deacon, J. K., Thomson, A. M., Page, A. L., Stops, J. E., Roberts, P.  
R., Whiteley, S. C., Attridge, J. W., Love, C. A., Robinson, G. A., and  
Davidson, G. P. (1991) *Biosens Bioelectron* **6**, 193-199
8. Piunno, P. A., Krull, U. J., Hudson, R. H., Damha, M. J., and Cohen, H.  
(1995) *Anal Chem* **67**, 2635-2643
- 20 9. Pollard-Knight, D., Hawkins, E., Yeung, D., Pashby, D. P., Simpson,  
M., McDougall, A., Buckle, P., and Charles, S. A. (1990) *Ann Biol Clin  
(Paris)* **48**, 642-646
10. Quinn, J. G., O'Neill, S., Doyle, A., McAtamney, C., Diamond, D.,  
MacCraith, B. D., and O'Kennedy, R. (2000) *Anal Biochem* **281**, 135-  
25 143
11. Misiakos, K., and Kakabakos, S. E. (1998) *Biosens Bioelectron* **13**,  
825-830
12. Wemhoff, G. A., Rabbany, S. Y., Kusterbeck, A. W., Ogert, R. A.,  
Breddehorst, R., and Ligler, F. S. (1992) *J Immunol Methods* **156**, 223-  
30 230

WO 02/088686

PCT/US02/13395

13. Kusterbeck, A. W., Wemhoff, G. A., Charles, P. T., Yeager, D. A., Bredehorst, R., Vogel, C. W., and Ligler, F. S. (1990) *J Immunol Methods* **135**, 191-197

5

WO 02/088686

PCT/US02/13395

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A fluidic waveguide comprising a container and a fluid that fills said container, wherein said fluid has a refractive index greater than the refractive index of the wall of said container and wherein said fluid acts as a waveguide when contacted with electromagnetic radiation.
2. The fluidic waveguide of claim 1 further comprising a probe.
3. The fluidic waveguide of claim 2 wherein said probe is attached to the inner surface of the wall of the container.
4. The fluidic waveguide of claim 2 wherein said probe is in solution in the fluid that fills said container.
5. The fluidic waveguide of claim 2 wherein said probe is attached to a solid present in the cavity of the container.
6. The fluidic waveguide of claim 2-5 wherein said probe is a member selected from the group consisting of an oligonucleotide, an antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme.
7. The fluidic waveguide of claim 1 further comprising a reporter molecule.
8. The fluidic waveguide of claim 7 wherein said reporter molecule is a member selected from the group consisting of a fluorophore and reagents capable of producing a fluorophore.
9. The fluidic waveguide of claim 1 further comprising a probe and one or more reporter molecules that generate a signal when said probe is contacted with an analyte.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

10. The fluidic waveguide of claim 9 wherein said probe is a member selected from the group consisting of an oligonucleotide, an antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme and said reporter molecule is a member selected from the group consisting of a fluorophore and reagents that produce a fluorophore when said probe is contacted with an analyte

11. The fluidic waveguide of claim 9 wherein said reporter molecule is attached to the inner surface of said container.

12. The fluidic waveguide of claim 9 wherein said reporter molecule is a quantum dot.

13. A fluidic waveguide comprising a container and a fluid that fills said container, wherein the interior surface of said container is covered by an optical coating element and said fluid has a refractive index higher than the refractive index of said optical coating element and wherein said fluid acts as a waveguide when contacted with electromagnetic radiation.

14. The fluidic waveguide of claim 13 wherein said coating has a width of at least 100 Angstroms.

15. The fluidic waveguide of claim 13 wherein said coating has a width of at least 100 Angstroms but not more than one micrometer.

16. The fluidic waveguide of claim 13 wherein said coating has a width of at least 500 Angstroms but not more than one micrometer

17. The fluidic waveguide of claim 13 wherein said coating has a width of at least 0.1 micrometer but not more than one micrometer

18. The fluidic waveguide of claim 13 wherein said coating has a width of at least one micrometer

WO 02/088686

PCT/US02/13395

19. The fluidic waveguide of claim 13 to 18 further comprising a probe.
20. The fluidic waveguide of claim 19 wherein said probe is attached to  
5 the inner surface of the wall of the container.
21. The fluidic waveguide of claim 19 wherein said probe is in solution  
in the fluid that fills said container.
- 10 22. The fluidic waveguide of claim 19 wherein said probe is attached to  
a solid present in the cavity of the container.
23. The fluidic waveguide of claim 19-22 wherein said probe is a  
member selected from the group consisting of an oligonucleotide, an  
15 antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme.
24. The fluidic waveguide of claim 13 further comprising a reporter  
molecule.
- 20 25. The fluidic waveguide of claim 24 wherein said reporter molecule is  
a member selected from the group consisting of a fluorophore and reagents  
capable of producing a fluorophore.
26. The fluidic waveguide of claim 13 further comprising a probe and  
25 one or more reporter molecules that generate a signal when said probe is  
contacted with an analyte.
27. The fluidic waveguide of claim 26 wherein said probe is a member  
selected from the group consisting of an oligonucleotide, an antibody, an  
30 aptamer, a catalyst and an enzyme and said reporter molecule is a member  
selected from the group consisting of a fluorophore and reagents that produce  
a fluorophore when said probe is contacted with an analyte

WO 02/088686

PCT/US02/13395

28. The fluidic waveguide of claim 26 wherein said reporter molecule is attached to the inner surface of said container.

5 29. The fluidic waveguide of claim 26 wherein said reporter molecule is a quantum dot.

10 30. A fluidic waveguide, comprising a container and a fluid that fills said container, wherein said fluid has a refractive index less than or equal to the refractive index of the wall of said container, wherein the outer surface of said container is covered by an external medium wherein the wall of said container has a refractive index greater than the refractive index of said medium and whereby said fluid and said container function together as a composite waveguide when contacted with excitatory electromagnetic radiation.

15 31. The fluidic waveguide of claim 30 further comprising a probe.

32. The fluidic waveguide of claim 31 wherein said probe is attached to the inner surface of the wall of the container.

20 33. The fluidic waveguide of claim 31 wherein said probe is in solution in the fluid that fills said container.

25 34. The fluidic waveguide of claim 31 wherein said probe is attached to a solid present in the cavity of the container.

30 35. The fluidic waveguide of claim 31-34 wherein said probe is a member selected from the group consisting of an oligonucleotide, an antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme.

36. The fluidic waveguide of claim 30 further comprising a reporter molecule.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

37. The fluidic waveguide of claim 36 wherein said reporter molecule is a member selected from the group consisting of a fluorophore and reagents capable of producing a fluorophore.
- 5
38. The fluidic waveguide of claim 30 further comprising a probe and one or more reporter molecules that generate a signal when said probe is contacted with an analyte.
- 10
39. The fluidic waveguide of claim 38 wherein said probe is a member selected from the group consisting of an oligonucleotide, an antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme and said reporter molecule is a member selected from the group consisting of a fluorophore and reagents that produce a fluorophore when said probe is contacted with an analyte
- 15
40. The fluidic waveguide of claim 36-39 wherein said reporter molecule is attached to the inner surface of said container.
41. The fluidic waveguide of claim 36-39 wherein said reporter molecule is a quantum dot.
- 20
42. A manifold of integrated non-identical fluidic waveguides of claims 1-41.
- 25
43. The manifold of claim 42 wherein said manifold is portable.
44. The fluidic waveguide of claims 1-43 wherein said fluid is a liquid.
45. The fluidic waveguide of claims 1-43 wherein said fluid is a gel.
- 30
46. A fluidic lightguide comprising a container and a fluid that fills said container, and an internally reflective coating element covering the outer

WO 02/088686

PCT/US02/13395

surface of said container wherein said container functions as a lightguide when contacted with electromagnetic radiation.

- 5 47. The fluidic lightguide of claim 46 further comprising a probe.
48. The fluidic lightguide of claim 47 wherein said probe is attached to the inner surface of the wall of the container.
- 10 49. The fluidic lightguide of claim 47 wherein said probe is in solution in the liquid filling said container.
50. The fluidic lightguide of claim 47 wherein said probe is attached to solids present in the cavity of the container.
- 15 51. The fluidic lightguide of claim 47-50 wherein said probe is a member selected from the group consisting of an oligonucleotide, an antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme.
- 20 52. The fluidic lightguide of claim 47 further comprising a reporter molecule.
- 25 53. The fluidic lightguide of claim 52 wherein said reporter molecule is a member selected from the group consisting of a fluorophore and reagents capable of producing a fluorophore.
- 30 54. The fluidic lightguide of claim 47 further comprising a probe and one or more reporter molecules that generate a signal when said probe is contacted with an analyte.
55. The fluidic lightguide of claim 54 wherein said probe is a member selected from the group consisting of an oligonucleotide, an antibody, an aptamer, a catalyst and an enzyme and said reporter molecule is a member

WO 02/088686

PCT/US02/13395

selected from the group consisting of a fluorophore and reagents that produce a fluorophore when said probe is contacted with an analyte

56. The fluidic lightguide of claim 52-55 wherein said reporter molecule is attached to the inner surface of the wall of said container.

57. The fluidic lightguide of claim 52-55 wherein said reporter molecule is a quantum dot.

10 58. A manifold of integrated non-identical fluidic lightguides of claims 47-57.

59. The manifold of claim 58 wherein said manifold is portable.

15 60. The fluidic lightguide of claims 47-59 wherein said fluid is a liquid.

61. The fluidic lightguide of claims 47-59 wherein said fluid is a gel.

20 62. A method of determining an analyte in a sample comprising contacting said analyte with a waveguide of claim 1-45, contacting said waveguide with electromagnetic radiation and detecting a signal wherein said signal indicates the presence of said analyte in said sample, thereby determining said analyte in said sample.

25 63. The method of claim 62 wherein, if said waveguide is the fluidic waveguide of claim 13-29 said optical coating element is thicker than one wavelength of said electromagnetic radiation.

30 64. The method of claim 62 wherein the source of electromagnetic radiation is a laser.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

65. The method of claim 62 wherein the source of electromagnetic radiation is a white light source.

5 66. The method of claim 62 wherein the intensity of said signal is proportional to the amount of said analyte in said sample.

67. The method of claim 62 wherein said detecting a signal comprises detecting electromagnetic radiation.

10 68. The method of claim 62 wherein said signal is produced by a fluorescent molecule.

15 69. A method of determining an analyte in a sample comprising contacting said analyte with a waveguide of claim 1-45, wherein said analyte comprises a reporter molecule that generates a signal when said probe is contacted with said analyte, contacting said waveguide with electromagnetic radiation and detecting a fluorescent signal, thereby determining said analyte.

20 70. The method of claim 69 wherein, if said waveguide is the fluidic waveguide of claim 12, said optical coating element is thicker than one wavelength of said electromagnetic radiation.

71. The method of claim 69 wherein the source of electromagnetic radiation is a laser.

25 72. The method of claim 69 wherein the source of electromagnetic radiation is a white light source.

73. The method of claim 69 wherein the intensity of said signal is proportional to the amount of said analyte in said sample.

30 74. The method of claim 69 wherein said detecting a signal comprises detecting electromagnetic radiation.

WO 02/088686

PCT/US02/13395

75. The method of claim 69 wherein said signal is produced by a fluorescent molecule.

5 76. A method of determining an analyte in a sample comprising contacting said analyte with a lightguide of claim 46-61, contacting said lightguide with electromagnetic radiation and detecting a signal wherein said signal indicates the presence of said analyte in said sample, thereby determining said analyte in said sample.

10

77. The method of claim 76 wherein the source of electromagnetic radiation is a laser.

15 78. The method of claim 76 wherein the source of electromagnetic radiation is a white light source.

79. The method of claim 76 wherein the intensity of said signal is proportional to the amount of said analyte in said sample.

20

80. The method of claim 76 wherein said detecting a signal comprises detecting electromagnetic radiation.

81. The method of claim 76 wherein said signal is produced by a fluorescent molecule.

25

82. A method of determining an analyte in a sample comprising contacting said analyte with a lightguide of claim 46-61, wherein said analyte comprises a reporter molecule that generates a signal when said probe is contacted with said analyte, contacting said lightguide with electromagnetic radiation and detecting a fluorescent signal, thereby determining said analyte.

30

WO 02/088686

PCT/US02/13395

83. The method of claim 82 wherein the source of electromagnetic radiation is a laser.

84. The method of claim 82 wherein the source of electromagnetic radiation is a white light source.

85. The method of claim 82 wherein the intensity of said signal is proportional to the amount of said analyte in said sample.

86. The method of claim 82 wherein said detecting a signal comprises detecting electromagnetic radiation.

87. The method of claim 82 wherein said signal is produced by a fluorescent molecule.

15

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PC/US 02/13395
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 G01N21/64 G02B6/20 G01N21/77		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N G02B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that each document is included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
MPI Data, PAJ, EPO-Internal, INSPEC		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 020 207 A (LIU SU YI) 1 February 2000 (2000-02-01)  column 2, line 5 - line 39 column 2, line 61 - column 4, line 14 column 5, line 29 - line 62 column 7, line 6 - column 8, line 16 claim 1; figures	30-32, 35-40, 44, 46-48, 51-55, 60, 62, 64, 66-69, 71, 73-77, 79-83, 85-87
Y	-/-	3, 6-11, 19, 20,
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of box C.	<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to underscore the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone ** document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *S* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
23 September 2002		01/10/2002
Name and mailing address of the ISA: European Patent Office, P.B. 5616 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2000, Tx. 81 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Krametz, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCI/US 02/13395
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>-----</p> <p>US 6 011 882 A (DASGUPTA PURNENDU K ET AL) 4 January 2000 (2000-01-04)</p> <p>column 4, line 29 -column 5, line 10 column 5, line 39 - line 50 figure 1</p>	<p>23-28</p> <p>1,2,4, 44,62, 67-69, 74,75</p>
Y		3,6-11
X	<p>-----</p> <p>WO 00 10044 A (DEV CORP ENTERPRISE) 24 February 2000 (2000-02-24) page 5, paragraph 5 page 13, paragraph 4 -page 14, paragraph 1 claims 1,2</p>	<p>13,14, 44,45</p>
Y		19,20, 23-28
X	<p>-----</p> <p>US 5 570 447 A (LIU SU-YI) 29 October 1996 (1996-10-29) column 3, line 46 - line 51 claim 1</p>	30,44,46
A	<p>-----</p> <p>US 5 881 200 A (BURT MICHAEL GRAHAM) 9 March 1999 (1999-03-09) column 1, line 41 - line 47 -----</p>	<p>12,29, 41,57</p>

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
 Information on patent family members

 International Application No.  
 PCT/US 02/13395

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6020207	A	01-02-2000	NONE
US 6011882	A	04-01-2000	EP 0909946 A2 US 6016372 A
WO 0010044	A	24-02-2000	AU 5477299 A EP 1119786 A1 JP 2002522814 T WO 0010044 A1
US 5570447	A	29-10-1996	DE 69619317 D1 EP 0759567 A2
US 5881200	A	09-03-1999	CA 2199506 A1 DE 69519384 D1 DE 69519384 T2 EP 0783784 A1 ES 2153495 T3 WO 9610282 A1 JP 10506502 T

## フロントページの続き

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 2G043 AA01 BA16 DA02 DA06 EA01 GA07 GB01 GB02 GB16 HA05  
KA09  
2G045 AA35 DA12 DA13 FA11 FB02 FB07 FB12 GC15 JA07  
2G057 AA04 AB04 AB08 BA01 BA10 CB01 DA03

专利名称(译)	波导和分析		
公开(公告)号	<a href="#">JP2004529349A</a>	公开(公告)日	2004-09-24
申请号	JP2002585940	申请日	2002-04-26
[标]申请(专利权)人(译)	遗传眼迪伊		
申请(专利权)人(译)	遗传爱迪		
[标]发明人	フェーガンジョン		
发明人	フェーガン, ジョン		
IPC分类号	C12Q1/68 C12Q1/6816 G01N21/03 G01N21/64 G01N21/77 G01N33/53 G01N33/58 G02B6/00 G02B6/38		
CPC分类号	G02B6/00 C12Q1/6816 G01N21/0303 G01N21/05 G01N21/6489 G01N21/7703 G01N2021/0346 G01N2021/6439 G01N2021/6482 G01N2021/7786 G02B6/032 G02B6/3839 Y10S435/808 Y10S436/805 C12Q2563/173		
FI分类号	G01N21/03.Z G01N21/64.F G01N21/64.G G01N33/53.M G01N33/58.A		
F-TERM分类号	2G043/AA01 2G043/BA16 2G043/DA02 2G043/DA06 2G043/EA01 2G043/GA07 2G043/GB01 2G043/GB02 2G043/GB16 2G043/HA05 2G043/KA09 2G045/AA35 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/FA11 2G045/FB02 2G045/FB07 2G045/FB12 2G045/GC15 2G045/JA07 2G057/AA04 2G057/AB04 2G057/AB08 2G057/BA01 2G057/BA10 2G057/CB01 2G057/DA03		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	60/287038 2001-04-27 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

一种流体波导，包括容器和填充所述容器的流体，其中所述流体的折射率大于所述容器壁的折射率，并且其中所述流体在与其接触时可用作电磁辐射的波导。描述了相应的流体光导以及用作复合波导和光导的装置。还公开了利用该波导进行生物化学，化学和其他类型分析的测定。

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau

(42) International Publication Date  
7 November 2002 (07.11.2002)

(51) International Patent Classification: **G01N 21/64**  
G02B 6/20, G01N 21/77

(21) International Application Number: **PCT/US02/13395**

(22) International Filing Date: 26 April 2002 (26.04.2002)

(25) Filing Language: English


(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/287,038 27 April 2001 (27.04.2001) US

(71) Applicant: **GENETIC ID** (US/US); 501 Dunck Devoe, Fairfield, IA 52556 (US).

(72) Inventor: **FAGAN, John**; 103 Full Moon Lane, Fairfield, IA 52556 (US).

(74) Agents: **GRANT, Alan, J. et al.**; Currella, Byrne, Babin, Gillilan, Co., Ltd. Stewart & Obatac, 9 Tucker Farm Road, Roseland, NJ 07068 (US).




(10) International Publication Number  
**WO 02/088686 A1**

(81) Designated States (national): AU, AG, AI, AM, AL, AT, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GR, HR, HU, ID, IL, IN, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TD, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, NG, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, NL, PL, SE, SI), OAPI patent (BF, BI, CF, CE, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).

Published with international search report before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments.

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



88686 A1

(54) Title: WAVEGUIDE AND ASSAY