

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-275640

(P2008-275640A)

(43) 公開日 平成20年11月13日(2008.11.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 21/64 (2006.01)</b>	GO 1 N 21/64 F	2 GO 4 3
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 21/64 G	
<b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 M	
	GO 1 N 33/543 5 9 5	
	GO 1 N 33/543 5 7 5	

審査請求 有 請求項の数 1 O L (全 22 頁)

(21) 出願番号	特願2008-166627 (P2008-166627)	(71) 出願人	503393478
(22) 出願日	平成20年6月25日 (2008. 6. 25)		ジェネティック アイディー
(62) 分割の表示	特願2002-585940 (P2002-585940) の分割		アメリカ合衆国 アイオワ 52556, フェアフィールド, ディミット ドラ イブ 501
原出願日	平成14年4月26日 (2002. 4. 26)	(74) 代理人	100078282
(31) 優先権主張番号	60/287, 038		弁理士 山本 秀策
(32) 優先日	平成13年4月27日 (2001. 4. 27)	(74) 代理人	100062409
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 安村 高明
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
		(72) 発明者	ジョン フェーガン
			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

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】

【課題】エバネセント波センサの感度および有用性を改善したセンサを提供することを、本発明の課題とする。

【解決手段】上記課題は、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、導波管を提供することによって解決された。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。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

明細書に記載の流体導波管。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本願は、2001年4月27日に出願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。

## 【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。

## 【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：

$$\theta_c = \sin^{-1} (n_c / n_f)。$$

## 【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

10

20

30

40

50

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プ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。

【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、プロープ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。

【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、周囲の媒体を通じて、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。

10

【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）にプロープ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プ-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。

20

【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。

【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、このプロープ-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、プロープ-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。

30

【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プ-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、そのプロープ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プ-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、このプロープ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。

40

【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、プロープに標的を結合することから、その光学

50

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（impinging）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）

本発明は、以下を提供する：

（項目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。

（項目2） さらに、プローブを含む、項目1に記載の流体導波管。

（項目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、項目2に記載の流体導波管。

（項目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、項目2に記載の流体導波管。

（項目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、項目2に記載の流体導波管。

（項目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、項目2～5に記載の流体導波管。

(項目7) さらに、レポーター分子を含む、項目1に記載の流体導波管。

(項目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、項目7に記載の流体導波管。

(項目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、項目1に記載の流体導波管。

(項目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、項目9に記載の流体導波管。

(項目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、項目9に記載の流体導波管。

(項目12) 前記レポーター分子が、量子ドットである、項目9に記載の流体導波管。

(項目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。

(項目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、項目13に記載の流体導波管。

(項目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下の幅を有する、項目13に記載の流体導波管。

(項目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、項目13に記載の流体導波管。

(項目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、項目13に記載の流体導波管。

(項目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、項目13に記載の流体導波管。

(項目19) さらに、プローブを含む、項目13~18に記載の流体導波管。

(項目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、項目19に記載の流体導波管。

(項目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、項目19に記載の流体導波管。

(項目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、項目19に記載の流体導波管。

(項目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、項目19~22に記載の流体導波管。

(項目24) さらに、レポーター分子を含む、項目13に記載の流体導波管。

(項目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、項目24に記載の流体導波管。

(項目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、項目13に記載の流体導波管。

(項目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、項目26に記載の流体導波管。

(項目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、項目26に記載の流体導波管。

(項目29) 前記レポーター分子が、量子ドットである、項目26に記載の流体導波管

10

20

30

40

50

°

(項目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。

(項目31) さらに、プローブを含む、項目30に記載の流体導波管。

(項目32) 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、項目31に記載の流体導波管。

(項目33) 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、項目31に記載の流体導波管。

(項目34) 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、項目31に記載の流体導波管。

(項目35) 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、項目31～34に記載の流体導波管。

(項目36) さらに、レポーター分子を含む、項目30に記載の流体導波管。

(項目37) 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、項目36に記載の流体導波管。

(項目38) 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、項目30に記載の流体導波管。

(項目39) 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、項目38に記載の流体導波管。

(項目40) 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、項目36～39に記載の流体導波管。

(項目41) 前記レポーター分子が、量子ドットである、項目36～39に記載の流体導波管。

(項目42) 項目1～41に記載の異なる流体光導体を一体化したマニホルド。

(項目43) 前記マニホルドが、携帯型である、項目42に記載のマニホルド。

(項目44) 前記流体が、液体である、項目1～43に記載の流体導波管。

(項目45) 前記流体が、ゲルである、項目1～43に記載の流体導波管。

(項目46) 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。

(項目47) さらに、プローブを含む、項目46に記載の流体光導体。

(項目48) 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、項目47に記載の流体光導体。

(項目49) 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、項目47に記載の流体光導体。

(項目50) 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、項目47に記載の流体光導体。

(項目51) 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、項目47～50に記載の流体光導体。

(項目52) さらに、レポーター分子を含む、項目47に記載の流体光導体。

(項目53) 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

10

20

30

40

50

群から選択される要素である、項目 5 2 に記載の流体光導体。

(項目 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、項目 4 7 に記載の流体光導体。

(項目 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、項目 5 4 に記載の流体光導体。

(項目 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、項目 5 2 ~ 5 5 に記載の流体光導体。

(項目 5 7) 前記レポーター分子が、量子ドットである、項目 5 2 ~ 5 5 に記載の流体光導体。

(項目 5 8) 項目 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ールド。

(項目 5 9) 前記マニホールドが、携帯型である、項目 5 8 に記載のマニホールド。

(項目 6 0) 前記流体が、液体である、項目 4 7 ~ 5 9 に記載の流体光導体。

(項目 6 1) 前記流体が、ゲルである、項目 4 7 ~ 5 9 に記載の流体光導体。

(項目 6 2) 試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を項目 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。

(項目 6 3) 前記導波管が項目 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、項目 6 2 に記載の方法。

(項目 6 4) 前記電磁放射線源が、レーザーである、項目 6 2 に記載の方法。

(項目 6 5) 前記電磁放射線源が、白色光源である、項目 6 2 に記載の方法。

(項目 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、項目 6 2 に記載の方法。

(項目 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、項目 6 2 に記載の方法。

(項目 6 8) 前記信号が、蛍光分子により発生する、項目 6 2 に記載の方法。

(項目 6 9) 試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を項目 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。

(項目 7 0) 前記導波管が項目 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、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 1) 前記電磁放射線源が、レーザーである、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 2) 前記電磁放射線源が、白色光源である、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 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、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 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、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 5) 前記信号が、蛍光分子により発生する、項目 6 9 に記載の方法。

(項目 7 6) 試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を項目 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、

10

20

30

40

50

方法。

(項目77) 前記電磁放射線源が、レーザーである、項目76に記載の方法。

(項目78) 前記電磁放射線源が、白色光源である、項目76に記載の方法。

(項目79) 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、項目76に記載の方法。

(項目80) 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、項目76に記載の方法。

(項目81) 前記信号が、蛍光分子により発生する、項目76に記載の方法。

(項目82) 試料中の分析物を測定する方法であって、該方法は、該分析物を項目46~61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。

(項目83) 前記電磁放射線源が、レーザーである、項目82に記載の方法。

(項目84) 前記電磁放射線源が、白色光源である、項目82に記載の方法。

(項目85) 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、項目82に記載の方法。

(項目86) 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、項目82に記載の方法。

(項目87) 前記信号が、蛍光分子により発生する、項目82に記載の方法。

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。

【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。

【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

10

20

30

40

50

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。

【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。

【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】

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

10

20

30

40

50

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。

10

【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。

20

【0040】

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。

30

【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。

40

【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。

【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

50

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、毛细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。

10

【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。

【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。

20

【0050】

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。

30

【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。

40

【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。

【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：

50

- i . このシステムの光学設計。  
【 0 0 5 6 】
- ii . このシステム流体設計。  
【 0 0 5 7 】
- 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。  
【 0 0 5 8 】
- 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。  
【 0 0 5 9 】
- v . この分析システムの他の関連した特性。  
【 0 0 6 0 】 10
- 2 . 流体または微小流体システム。  
【 0 0 6 1 】
- 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。  
【 0 0 6 2 】
- 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。  
【 0 0 6 3 】
- 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。  
【 0 0 6 4 】 20
- d . 流体機能は、毛管作用を利用する非常に簡単な手順または他の簡単なプロセスにより達成できるか、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。  
【 0 0 6 5 】
- 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：  
【 0 0 6 6 】 30
- 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。
- 【 0 0 6 6 】
- 4 . プローブ分子。  
【 0 0 6 7 】
- 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：  
【 0 0 6 8 】 40
- i . このシステムの光学設計。
- 【 0 0 6 8 】
- ii . このシステムの流体設計。  
【 0 0 6 9 】
- iii . 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。  
【 0 0 7 0 】
- iv . この分析システムの他の関連した特性。  
【 0 0 7 1 】
- b . プローブは：  
【 0 0 7 1 】 50
- 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、レセプター - 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性は、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

10

20

30

40

50

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經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、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）。

【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：

- 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。

【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。

【0087】

10

20

30

40

50

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（ $n_1$ ）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。

【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。

10

20

【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。

30

【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。

40

【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。

50

## 【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、この壁の外側に衝突するもの）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。

## 【0096】

TIRの臨界角よりも大きい角度で壁の外側に当たる光は、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。

## 【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

10

20

30

40

50

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。

10

【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時、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。

20

【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】

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、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、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がその逆のシステムを設計することが可能となる。

30

【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。

40

【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

50

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。

【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。

【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

10

20

30

40

50

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 I g E 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：

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。

【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、A T P 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 A T P 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 A T P 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 A T P レベルを定

【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。

【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。

【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

10

20

30

40

50

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。

【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。

10

【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。

20

【0126】

(参考文献)

30

【0127】

## 【数 1】

1. Rabbany, S. Y., Donner, B. L., and Ligler, F. S. (1994) *Crit Rev Biomed Eng* **22**, 307-346
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. 10
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
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 20
8. Piunno, P. A., Krull, U. J., Hudson, R. H., Damha, M. J., and Cohen, H. (1995) *Anal Chem* **67**, 2635-2643
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 30
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., Bredehorst, R., and Ligler, F. S. (1992) *J Immunol Methods* **156**, 223-230 40
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

フロントページの続き

Fターム(参考) 2G043 AA01 BA16 EA01 GA02 GB16 HA05 KA02 KA09 LA01

专利名称(译)	波导和分析		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008275640A</a>	公开(公告)日	2008-11-13
申请号	JP2008166627	申请日	2008-06-25
[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	ジョンフェーガン		
发明人	ジョン フェーガン		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/53 G01N33/543 C12Q1/68 C12Q1/6816 G01N21/03 G01N21/77 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	G01N21/64.F G01N21/64.G G01N33/53.M G01N33/543.595 G01N33/543.575		
F-TERM分类号	2G043/AA01 2G043/BA16 2G043/EA01 2G043/GA02 2G043/GB16 2G043/HA05 2G043/KA02 2G043/KA09 2G043/LA01		
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)

本发明要解决的问题本发明的一个目的是提供一种具有改进的渐逝波传感器的灵敏度和有用性的传感器。流体波导包括容器和流体，流体填充容器，其中流体与容器的壁接触具有大于折射率的折射率，其中当与电磁辐射接触时，流体可以用作波导。用复合波导和用作光导体的装置描述了相应的流体光导体。还公开了将该波导用于生物化学分析物，化学分析物或其他类型的测定的测定。【选择图】无

		特開2008-2 (P2008-2)	
		(43) 公開日 平成20年11月13日(2008.11.13)	
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード(参考)	
<b>GO 1 N 21/64 (2006.01)</b>	GO 1 N 21/64	F	2 G 0 4 3
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 21/64	G	
<b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53	M	
	GO 1 N 33/543	5 9 5	
	GO 1 N 33/543	5 7 5	
		審査請求 有 請求項の数 1 O L (全)	
(21) 出願番号	特願2008-166627 (P2008-166627)	(71) 出願人	503393478
(22) 出願日	平成20年6月25日(2008.6.25)		ジェネティック アイディー
(62) 分割の表示	特願2002-585940 (P2002-585940)の分割		アメリカ合衆国 アイオワ 525
			フェアフィールド、 アイミックス
			イブ 501
(31) 優先権主張番号	原出願日 平成14年4月26日(2002.4.26)	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	60/287,038		弁理士 山本 秀敏
(33) 優先権主張国	平成13年4月27日(2001.4.27)		100062409
	米国(US)		弁理士 安村 高明
			100113413
			弁理士 森下 夏樹
		(72) 発明者	ジョン フェーガン
			アメリカ合衆国 アイオワ 525
			フェアフィールド、 フルムー
			ン 103
		最終頁に!	