

(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2005-505782

(P2005-505782A)

(43) 公表日 平成17年2月24日(2005.2.24)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53	GO 1 N 33/53 M	2 GO 5 4
GO 1 N 33/543	GO 1 N 33/543 5 7 5	
GO 1 N 37/00	GO 1 N 37/00 1 0 2	
// GO 1 N 21/78	GO 1 N 21/78 C	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 91 頁)

(21) 出願番号	特願2003-536779 (P2003-536779)	(71) 出願人	590000514
(86) (22) 出願日	平成14年10月16日 (2002.10.16)		コミツサリア タ レネルジー アトミー
(85) 翻訳文提出日	平成16年4月12日 (2004.4.12)		ク
(86) 国際出願番号	PCT/FR2002/003538		フランス国・75752・パリ・15エム
(87) 国際公開番号	W02003/034101		・リュ・ドゥ・ラ・フェデラシオン・31
(87) 国際公開日	平成15年4月24日 (2003.4.24)		-33
(31) 優先権主張番号	01/13432	(74) 代理人	100064908
(32) 優先日	平成13年10月18日 (2001.10.18)		弁理士 志賀 正武
(33) 優先権主張国	フランス (FR)	(74) 代理人	100089037
			弁理士 渡邊 隆
		(74) 代理人	100101465
			弁理士 青山 正和
		(74) 代理人	100108453
			弁理士 村山 靖彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 透明な有機フィルムで被覆された基体及び製造方法

(57) 【要約】

本発明は、透明な有機フィルムで被覆された基体と、その製造方法と、更にその使用に関する。フィルム被覆された基体は、前記フィルムが少なくとも1つの波長範囲内で透明な電気絶縁体有機ポリマーであること、及び前記フィルムが少なくとも前記波長範囲内で発光するマーカーと組み合わせられることを特徴とする。本発明は特に、対象の品質管理方法、遠心分離方法、及び認識方法における、化学種の検出のための手段、例えばバイオチップ等において応用可能である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

フィルムで被覆された基体であって、前記フィルムが少なくとも 1 つの波長範囲内で透明な電気絶縁体有機ポリマーであり、且つ前記フィルムが少なくとも前記波長範囲内で発光する標識と混合されることを特徴とする基板。

【請求項 2】

前記フィルムが、ビニルポリマーから選択される絶縁体ポリマーを含む、請求項 1 に記載のフィルムで被覆された基体。

【請求項 3】

前記フィルムが、アクリロニトリル、メタクリロニトリル、メチルメタクリレート、エチルメタクリレート、プロピルメタクリレート、ブチルメタクリレート、ヒドロキシエチルメタクリレート、ヒドロキシプロピルメタクリレート、シアノアクリレート、アクリル酸、メタクリル酸、スチレン、パラ-クロロスチレン、N-ビニルピロリドン、及びハロゲン化ビニルの架橋または非架橋ポリマーから選択される絶縁体ポリマーを含む、請求項 1 に記載のフィルムで被覆された基体。

10

【請求項 4】

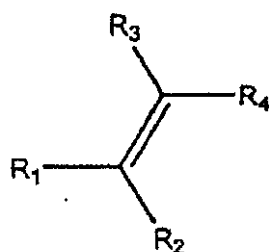
前記フィルムが、ポリアクリルアミド、イソプレンの、エチレンの、プロピレンの、エチレンオキシド及び歪んだ環を含む分子の、乳酸もしくはそのオリゴマーの、ラクトンの、
-カプロラクトンの、グリコール酸の、またはアスパラギン酸のポリマー、ポリアミド、
ポリウレタン、パリレン及び置換パリレンに基づくポリマー、オリゴペプチド及びタン
パク質、並びにこれらのポリマーに基づくプレポリマー、マクロマー、またはテレケリッ
ク、並びにこれらのポリマーのモノマーもしくはこれらのポリマー自身から形成可能なコ
ポリマー及び/またはブレンドから選択される、架橋または非架橋絶縁体ポリマーを含む
、請求項 1 に記載のフィルムで被覆された基体。

20

【請求項 5】

前記フィルムが、下式 (I) :

【化 1】



(I)

30

[式中、

R₁、R₂、R₃、及びR₄は、個別に、水素原子、または有機基、例えばアルカン、アルケン、
またはアルキンから選択される炭化水素；アミド、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、エ
ステル、酸ハロゲン化物、酸無水物、ニトリル、アミン、チオールまたはホスフェート、
エーテル、ホモ-またはヘテロ環芳香族、あるいはこれらの官能基を含むあらゆる環基、
並びにこれらの官能基の幾つかを担持するあらゆる基を表す]

40

のモノマーの、または前記式 (I) に相当する異なるモノマーの混合物の、重合によって
得られるビニルポリマーである、請求項 1 に記載のフィルムで被覆された基体。

【請求項 6】

前記フィルムが、ポリメタクリロニトリルの、またはポリ(メチルメタクリレート)のも
のである、請求項 1 に記載のフィルムで被覆された基体。

【請求項 7】

50

前記標識が、蛍光標識、燐光標識、または化学発光標識から選択される、請求項 1 に記載のフィルムで被覆された基体。

【請求項 8】

化学体の検出方法における、少なくとも 1 つの波長範囲内で発光する標識と混合した、前記波長範囲内で透明な電気絶縁体有機ポリマーのフィルムの使用。

【請求項 9】

絶縁体有機ポリマーのフィルムが、化学体のための認識分子で官能化されている、請求項 8 に記載の使用。

【請求項 10】

前記化学体が、DNA である、請求項 8 に記載の使用。

10

【請求項 11】

化学体の検出のための手段における、少なくとも 1 つの波長範囲内で発光する標識と混合した、前記波長範囲内で透明な電気絶縁体有機ポリマーのフィルムの使用。

【請求項 12】

前記検出手段が、バイオチップである、請求項 11 に記載の使用。

【請求項 13】

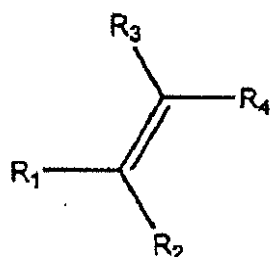
物質の品質管理方法、遠心分離方法、または識別方法から選択される方法における、少なくとも 1 つの波長範囲内で発光する標識と混合した、前記波長範囲内で透明な電気絶縁体有機ポリマーのフィルムの使用。

【請求項 14】

20

前記フィルムが、下式 (I) :

【化 2】



(I)

30

[式中、

R₁、R₂、R₃、及びR₄は、個別に、水素原子、または有機基、例えばアルカン、アルケン、またはアルキンから選択される炭化水素；アミド、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、エステル、酸ハロゲン化物、酸無水物、ニトリル、アミン、チオールまたはホスフェート、エーテル、ホモ-またはヘテロ環芳香族、あるいはこれらの官能基を含むあらゆる環基、並びにこれらの官能基の幾つかを担持するあらゆる基を表す]

のモノマーの、または前記式 (I) に相当する異なるモノマーの混合物の、重合によって得られるビニルポリマーである、請求項 8 乃至 13 のいずれか一項に記載の使用。

40

【請求項 15】

前記フィルムが、ポリメタクリロニトリルの、またはポリ(メチルメタクリレート)のものである、請求項 14 に記載の使用。

【請求項 16】

前記標識が、蛍光標識、燐光標識、または化学発光標識から選択される、請求項 14 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

本発明は、透明な有機フィルムで被覆された基体と、透明な有機フィルムで被覆された、この基体の製造方法と、更にその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

「透明なフィルム」なる語は、電磁気スペクトルの少なくとも1つの領域に亘る透明性の著しい特性（光学的吸収が無い、消光が無い等）、特に透明性について考慮される前記波長領域内で低い光学吸光度もしくは「係数k」を有するフィルムを意味する。光学吸光度係数は、例えば、偏光解析スペクトルによって、または分光測光法を使用して測定される。

【0003】

前記基体は、電気について絶縁性、導電性、または半導電性の基体であってよい。これは、透明な有機フィルムにとっての支持体を構成し、またこれは、本発明による透明な有機フィルムで被覆された基体の使用または目的によって選択される。

【0004】

本発明は、例えば、薄い透明フィルムで被覆された基体の品質管理、遠心分離、または識別の分野に応用を有する。

【0005】

これは、本発明の有機フィルムで被覆された基体の製造及び/または成り立ちを証明することが可能になるためであり、前記基体中または基体上には、既知の蛍光、燐光、または化学発光標識を、非常に少量で計画的に導入することが可能になる。本発明のこうした応用においては、基体はあらゆる物体である。

【0006】

これはまた、例えば、例えばDNAチップなどの化学もしくは生化学分析チップの蛍光による検出方法における、蛍光、燐光、または化学発光標識による、予め官能化された化学、生化学、または生物体の、透明な有機フィルム上または該フィルム中での化学吸収または物理吸収の検出の分野において、応用を有する。このタイプの応用においては、前記基体は、検出手段の支持体を構成する。

【0007】

例えば、バイオチップの場合には、前記基体は例えば、シリカから、金もしくは複合物、例えばAu/Si、Au/SiO₂、またはより一般的な金属/基体から形成可能であり、透明な有機フィルムは、基体の所定部分に生物学的プローブを付着させるための一片の手段の一つであって良い。

【0008】

バイオチップを、分析しようとするサンプルの溶液と接触させると、サンプルのDNAと基体に付着しているものとの間に対形成が起こる。この結合は、例えば、蛍光、燐光、または化学発光標識で予めサンプルのDNAを標識しておくことによって検出可能である。本発明によれば、前記フィルムは、この標識によって放出されるフォトン吸収をなるべく少量にするため、基体表面にてこれを非常に低濃度でも検出可能にするため、及び測定との干渉を最小にするために、使用する蛍光、燐光、または化学発光標識の発光波長において透明であるように選択される。シグナル/ノイズ比及びバイオチップ上での対形成の検出下限が、これによって改善されることがわかる。

【0009】

以下の説明において、括弧内の参照番号は、添付の参考文献のリストを示す。

【0010】

バイオチップの応用に関しては、文献FR-A-2787581(1998)、FR-A-2787582(1998)、及びUS 5810989(1998)には、導電性ポリマーの前駆体モノマー、例えばピロールの、認識分子によって官能化されたモノマー、特にオリゴヌクレオチドとの、シリカ基体上での電気共重合が開示されている。この技術は、バイオチップの区画への認識分子の局所的な結合のために現在最も広く使用されている技術の一つである。

【0011】

10

20

30

40

50

この技術においては、基体への導電性ポリピロールフィルムの接着が、認識分子のここへの結合を実行するために利用される。

【0012】

上述の文献中、及び文献FR-A-2784188(1998)及びFR-A-2784189(1998)に開示されているように、こうして官能化されたチップを、支持体の認識分子とカップリングすることのできる標的分子を含む、分析しようとするサンプルの溶液と接触させる。

【0013】

認識分子と標的分子との間のカップリングが存在する区画を選択的に検出するために、有利には、標的分子を、蛍光分子、例えば543nmにて吸光を580nmにて発光を示す、フルオレセインもしくはフィコエリトリンで「標識」することができ、その存在は、後に適切な光学装置を使用して検出可能である。

10

【0014】

残念ながら、ポリピロールは、使用される蛍光標識の発光波長領域において、無視できない吸収を有する。この欠点は、懸かる技術に関連する文献に広く記載されている。

【0015】

とりわけ、Arwinらは、参考文献[1]において、金の上の22nmの厚さを持つポリピロールフィルム上において、屈折率 $n=1.45$ については吸光係数 $k=0.3$ を測定しており；Kimらは、参考文献[2]において、47nmの厚さを持つポリピロールフィルムについて、 $\lambda=632.8\text{nm}$ での吸光係数 $k=0.3$ 及び屈折率 $n=1.6$ を測定しており；Kimらは、参考文献[3]において、酸化状態では54nmの厚さを持つポリピロールフィルム上で、吸光係数 $k=0.28$ について屈折率 $n=1.45$ を、還元状態では47nmの厚さを持つフィルム上で、吸光係数 $k=0.21$ について屈折率 $n=1.6$ を測定しており；Guedonらは、参考文献[4]において、金の上のポリピロールフィルム上において、該フィルムの厚さ7.5乃至20nmについて、吸光係数 $k=0.3$ について屈折率 $n=1.7$ を測定している。

20

【0016】

然るに、認識分子を結合するために使用したポリピロールは、カップリングした標的分子の蛍光シグナルの大部分を吸収する。これは、従って、検出方法の妨げとなる。

【0017】

さらに、標的分子及びこれらの標識がポリピロール中に含まれているので、特に認識分子が共重合によって結合しているという事実のために、この妨害吸収は、この方法によって達成可能な検出下限の値を増大させる。

30

【0018】

例えば、診断の分野においては、バイオチップの利点は全て、とりわけ標的分子が低濃度であること、すなわち蛍光標識の表面濃度が低いことにあるため、この欠点は大いに問題である。

【特許文献1】

FR-A-2787581

【特許文献1】

FR-A-2787582

【特許文献1】

40

US5810989

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0019】

本発明の目的は、特に、薄い透明フィルムで被覆された基体及び、このフィルムで被覆された基体の製造方法を提供することであり、これは、第一にバイオチップに関する従来技術において提示された技術的問題に対応し、第二にあらゆる物質の品質管理、遠心分離、及び識別の分野において、新規で強力な道具を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0020】

50

本発明のフィルムで被覆された基体は、前記フィルムが少なくとも1つの波長範囲内で透明な電気絶縁体有機ポリマーであること、及び前記フィルムが少なくとも前記波長範囲内で発光する標識と組み合わせられることを特徴とする。

【0021】

これは、発明者等が、予期せぬことに、電気伝導性の性質と高い光学吸光度とが関係していることを示したためである。

【0022】

従って、本発明によれば、「透明」なる語は、本発明によって使用される標識の検出波長において透明であることを意味する。

【0023】

本発明の第一の実施態様によれば、絶縁体ポリマーが本発明による透明でなければならない波長範囲は、例えば上記応用において使用される標識によって決定される。

【0024】

特に、いったん標識が、即ち標識の発光波長が選択されると、所望の波長での所定のポリマーの吸光の値を、例えば偏光解析スペクトルによって、または分光測光法を使用して決定すること、及び本発明によってこれが使用可能であるか試験することは容易である。

【0025】

本発明の第一の実施態様によれば、前記標識の関数として選択されるのは、然るに絶縁体ポリマーである。

【0026】

本発明の第2の実施態様によれば、絶縁体ポリマーを選択した後では、これが透明である波長範囲が決定され、そして、この波長範囲にしたがって、該ポリマーが透明な前記範囲内で発光する標識が選択される。

【0027】

本発明のこの第2の実施態様によれば、前記ポリマーの関数として選択されるのは、然るに標識である。

【0028】

本発明によれば、したがって、少なくとも1つの波長範囲に亘って透明なフィルムとして、あらゆる絶縁体ポリマーが使用可能である。

【0029】

これらの中では、非制限的な例示として、ビニルポリマー、ビニルコポリマー、及びこれらのブレンドであって架橋していてもしていなくてもよいもの、特にアクリロニトリル、メタクリロニトリル、メチルメタクリレート、エチルメタクリレート、プロピルメタクリレート、ブチルメタクリレート、ヒドロキシエチルメタクリレート、ヒドロキシプロピルメタクリレート、シアノアクリレート、アクリル酸、メタクリル酸、スチレン、パラ-クロロスチレン、N-ビニルピロリドン、ハロゲン化ビニル、塩化アクリロイル、または塩化メタクリロイルの、架橋していてもしていなくてもよいポリマー、コポリマー、及びこれらのブレンドを挙げて良い。

【0030】

非制限的な例としては、ポリアクリルアミド、イソプレンの、エチレンの、プロピレンの、エチレンオキシド及び歪んだ環を含む分子の、乳酸もしくはそのオリゴマーの、ラクトンの、 ϵ -カプロラクトンの、グリコール酸の、またはアスパラギン酸のポリマー、ポリアミド、ポリウレタン、パリレン及び置換パリレンに基づくポリマー、オリゴペプチド及びタンパク質、並びにこれらのポリマーに基づくプレポリマー、マクロマー、またはテレケリック、並びにこれらのポリマーのモノマーもしくはこれらのポリマー自身から形成可能なコポリマー及び/またはブレンドから選択される、架橋または非架橋絶縁体ポリマーも挙げて良い。

【0031】

例えば上述の絶縁体ポリマーの中からの、懸かる応用のために使用しようとする絶縁体ポリマーの選択は、物質の光学特性に厳密に関連したもの以外の検討により、続いて決定可

10

20

30

40

50

能である。

【0032】

したがって、本発明によれば、該ポリマーは、本発明により使用可能なポリマーの範囲内で、例えば基体に接着しうるポリマー、官能化されうるポリマー、熱弾性特性を有するポリマーなどから選択可能である。

【0033】

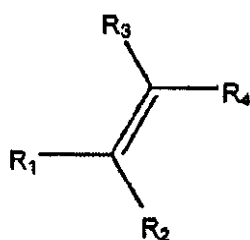
上記絶縁体ポリマーの中でも、本発明者らは、特にビニルポリマーに注意を向けてきた。なぜなら、これらは様々なタイプの反応、例えばイオン性またはラジカル反応によって、特に薄いフィルムとして容易に製造可能であるため、及びこれらはまた電気化学的経路によって得ることができ、また電気に関して伝導体もしくは半導体である表面に電着させることができるためである。

10

【0034】

ビニルポリマーは、以下の一般式(1)：

【化1】



(I)

20

[式中、

R_1 、 R_2 、 R_3 、及び R_4 は、個別に、水素原子、または有機基、例えばアルカン、アルケン、またはアルキンから選択される炭化水素；アミド、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、エステル、酸ハロゲン化物、酸無水物、ニトリル、アミン、チオールまたはホスフェート、エーテル、ホモ-またはヘテロ環芳香族、あるいはこれらの官能基を含むあらゆる環基、並びにこれらの官能基の幾つかを担持するあらゆる基を表す]

のモノマーの重合によって、または上記式(1)に相当する異なるモノマーの混合物の重合によって得られる。

30

【0035】

以下に記す本発明の実施の非限定的実施例において、ポリメタクリロニトリル(PMAN)($R_1 = R_2 = H$ 、 $R_3 = CH_3$ 及び $R_4 = CN$ のもの)及びポリ(メチルメタクリレート)(PMMA)($R_1 = R_2 = H$ 、 $R_3 = CH_3$ 及び $R_4 = C(=O)OCH_3$ のもの)の光学特性を試験した。これら2つのモノマーは、非プロトン性有機媒質中における電解還元によって、導電性表面に電着した絶縁体ポリマーを生じうる。

【0036】

本発明によれば、特定の応用においては、任意に選択的且つ局所的な方法で、ビニルモノマーを電気グラフト化することにより基体の導電性もしくは半導電性表面にビニルポリマーをグラフト化させることができ、このことは、前記ビニルポリマーに、バイオチップ応用におけるポリピロールの代替物としての利点を与える。

40

【0037】

これらポリマーは、薄いポリマーフィルムを付着させるための、当業者に既知の様々な方法、例えばスピンコーティング；浸液；超高压下での気化；CVD；表面化学重合(例えば特許US4421569、US5043226、またはUS5785791に開示されている通り)；表面へのポリマーの光化学グラフト化(例えば特許出願W0-A-9908717及びW0-A-9916907に開示されている通り)；粒子または光子の放射下におけるポリマーのグラフト化；酸化物または別のポリマーの表面への、直接的または化学カップリング剤(例えば、チオール、シラン等)を介する化学グラフト化；開始剤、特にラジカル開始剤によって起こる重合に続く付着(該

50

付着は電気化学により原位置で得られる)等の技術によって、本発明の応用に従うあらゆるタイプの表面上に付着させることができる。

【0038】

本発明の特定の実施態様によれば、例えば特にラジカル経路によって重合させることが可能なジアゾニウム塩及びモノマーを含む、溶液またはゲル中において導電性または半導電性表面を分極させることによって、透明なポリマーの付着を薄層として得ることが可能である。

【0039】

有利な実施態様によれば、こうしたポリマーフィルムは、特に薄いフィルムとして、すなわち1マイクロメートル未満、例えば1乃至100nmの厚さを有するものとして、基体表面にグラフト化される。

10

【0040】

添付のクレームに定義される通り、本発明の範疇における別の厚さも可能である。

【0041】

フィルムとしては、予め形成され、一つ以上の段階において、例えば化学的、電気化学的、または光化学的経路によって表面にグラフト化されたポリマーフィルム、または例えば化学的、電気化学的、または光化学的経路によって開始され、前駆体モノマーから表面上に直接構成されるフィルムのいずれもが可能である。

【0042】

本発明を利用する方法の物理化学的特徴によれば、このグラフト化は、電気に関して絶縁性、伝導性、または半伝導性である表面上で実行可能である。

20

【0043】

好ましい実施態様によれば、透明なポリマーの超薄フィルムは、例えば特許出願EP-A-038244に開示されるようにビニルモノマーの電気グラフト化によって、電気に関して絶縁性、伝導性、または半伝導性である表面上に得ることができる。

【0044】

本発明によれば、標識は、本発明に従う電気絶縁体有機ポリマーと組み合わせ可能である限りにおいてあらゆる標識であって良く、前記ポリマーは、少なくとも前記標識の発光波長において透明でなければならない。

【0045】

例えば、前記標識は、蛍光、燐光、または化学発光標識であって良い。

30

【0046】

これは、例えば、フルオレセインもしくは置換フルオレセイン、例えばフルオレセインジアセテート、5-及び6-カルボキシフルオレセイン、5-および6-カルボキシフルオレセインジアセテート、5-及び6-カルボキシフルオレセインのスクシンイミジルエステル等；ローダミン及び置換ローダミン；コエレンテラジン及び置換コエレンテラジン；エクオリン；ルシフェリン及び置換ルシフェリン；プロモクロロインドキシルホスフェート(BCIP)；ルミノール；ノニルアクリジンオレンジ(NAO)；5,5',6,6'-テトラクロロ-1,1',3,3'-テトラエチルベンズイミダゾリル-カルボシアニンクロライド；4-(4-ジテトラデシルアミノスチリル)-N-メチルピリジニウムヨード；1,1'-ジオクタデシル-3,3,3',3'-テトラメチルインドカルボシアニンペルクロレート；3,3'-ジヘキサデシルオキサカルボシアニンヒドロキシエタンスルホネート；ピス-(1,3-ジバルピツール酸)-トリメチンオクサノール；テトラゾリウム塩；カルシウム錯体、カリウム錯体；アントラキノン；アントラセン；ピレン；ドキシソルピシン；フィコエリトリン；ポルフィリン；フタロシアニン、及びより一般的な有機金属錯体；蛍光タンパク質、特にGFP類、緑色蛍光タンパク質(K. F. Sullivan, S. A. Kay, "Methods in Cell Biology: Volume 58: Green Fluorescent Proteins", Academic Press, 1999)；蛍光鉱物の塩(特にウラン塩)；及び蛍光体基を有するあらゆる分子から選択される標識であって良い。化学発光標識は、別の分子の存在下におかれた場合に蛍光放射する標識である。これらの標識は、当業者には既知であり、例えば、分子生物学において通常使用されるビオチン-アビジン対であってよい。

40

50

【0047】

標識の量は、組み合わせられる電気絶縁体有機ポリマーの選択に鑑みて非常に少量でも良い。例えば、標識は、ナノモルからマイクロモルのオーダーの濃度、例えば1nM乃至10 μ Mであってよい。

【0048】

本発明によれば、「組み合わせられた標識」なる語は、絶縁体有機ポリマーフィルムと混合された、またはモノマー、例えば予め官能化され、ポリマーフィルムの製造に使用されるモノマーと結合させた、またはフィルムの表面に直接的もしくは間接的に結合させた、または表面上でのポリマーフィルムの製造の間に前記ポリマーフィルム中に捕捉された、あるいはまた標識の溶液を使用して単にフィルム上に付着させた、標識を意味する。

10

【0049】

例えば、品質管理、遠心分離、または識別の応用に於いて、標識は、絶縁体有機ポリマーと混合させる、またはポリマーの付着の後に、標識を含むポリマーを膨潤させる溶媒溶液中に浸すことにより挿入する、または合成媒質中の標識の存在下で重合を行うことによって合成の間に挿入する、または化学的に官能化されたモノマーもしくはコモノマーと標識との重合を実行することにより合成の間に挿入する、または標識の溶液を使用してポリマー上に付着させることが可能である。

【0050】

例えば、バイオチップに関連する応用においては、標識は、フィルム上に直接グラフト化させること、または絶縁体有機ポリマーフィルムにグラフト化した認識分子上に間接的にグラフト化させることによって、組み合わせ可能である。

20

【0051】

従って、本発明は、例えば、バイオチップに関連する上述の従来技術の問題を、従来使用されているポリピロールを本発明による絶縁体ポリマー、例えばビニルポリマーで置き換えることによって解決することを可能にする。これは、以下に本発明の実施例に示されるように、これらの絶縁体ポリマーは、ポリピロール等の導電性ポリマーに比べて10分の1乃至100分の1の吸光度を有し、このことが、チップ、例えばバイオチップを使用する検出方法における標識による干渉を大幅に低減するためである。

【0052】

したがって、本発明は、例えばピロールまたは別の導電性ポリマーを使用するチップに対して、検出下限を低下させることによって、従来技術のものよりもずっと感度の高い検出チップの製造を可能にする。

30

【0053】

これらの検出チップは、基体上に付着させた導電性フィルムが本発明により選択された絶縁体フィルムによって置き換えられていなければならないこと以外は、あらゆる既知の手段によって製造可能である。

【0054】

本発明は、こうした薄い透明有機フィルムの使用にも関する。

【0055】

一般的に、こうした被覆は、その透明な範囲に対応する電磁気スペクトルの領域内で選択される標識、例えば蛍光、燐光、または化学発光標識を収容することができ、且つ、この標識が有機フィルム中または有機フィルム上に、特に非常に低濃度で存在している場合でさえもこの標識の検出を可能にすることができる。これは、選択される絶縁体有機ポリマーフィルムの光学透明性特性によるものである。

40

【0056】

したがって、本発明は、化学体の検出のための方法における、少なくとも1つの波長範囲において透明である電気絶縁体有機ポリマーのフィルムの、少なくとも前記波長範囲内で発光する標識と組み合わせた使用に関する。

【0057】

これは、本発明の絶縁体有機ポリマーのフィルムを、化学体、例えば核酸、タンパク質、

50

抗原、抗体、合成有機分子等に対する認識分子で官能化することができるためである。例えば、バイオチップによる検出方法において、前記化学体は、DNAであってよい。

【0058】

本発明の絶縁体有機ポリマーのフィルムは、分子、例えば生物活性分子、例えばその分子構造がこれらの分子に蛍光性を持たせるものであるような、ドキシソルピシン等の分子をカプセル封入するために使用することもできる。この応用においては、該分子は、これのみに属する2つの特性：その生物活性に関する特性及びその蛍光性の性質に関する特性を有する。

【0059】

より一般的には、本発明は、化学体の検出のための手段における、少なくとも1つの波長範囲内で透明な本発明の電気絶縁体有機ポリマーのフィルムの、少なくとも前記波長範囲内で発光する標識と組み合わせた使用に関する。

10

【0060】

上述のように、前記検出手段はバイオチップ、例えばDNAチップ、タンパク質チップ、化学プローブなどであってよい。

【0061】

本発明は、対象の品質管理方法、遠心分離方法、または識別方法から選択される方法における、少なくとも1つの波長範囲内で透明な本発明の電気絶縁体有機ポリマーのフィルムの、少なくとも前記波長範囲内で発光する標識と組み合わせた使用にも関する。

【0062】

薄い絶縁体ポリマーフィルムの付着のための工業的方法の品質管理においては、例えば、被覆の厚さを特徴付けできることが必須である。薄いフィルムについては、特にこれらのフィルムが100nm未満の厚さを有する場合、厚さの確かな測定を行うためには、例えば表面解析 (profilometry) または偏光解析などの高価且つ時間のかかる技術に頼る必要がある。さらに、高速の測定装置はしばしば、1ミクロンより大なる検出下限を有する。さらにまた、調べようとするサンプルが複雑な形状 (マイクロビーズ、メッシュ、パウダー等) である場合には、例えば表面解析または偏光解析による測定は困難である。

20

【0063】

本発明によれば、ポリマーフィルムと標識、例えば蛍光、燐光、または化学発光標識とを組み合わせることによって、非常に簡便な方法で、放射される蛍光の強度を測定することによるフィルムの厚さの間接的な測定を行うことが可能である。

30

【0064】

これは、例えば、その上に本発明による標識と組み合わせたポリマーフィルムを付着させてある対象を、そのスペクトルが少なくとも蛍光体の吸収波長を含む光源による照射に曝露することによって、更に蛍光体の発光波長に亘って放出される蛍光強度を測定することによって、実行可能である。

【0065】

このためには、予め検量線、または標準曲線を準備すれば十分である。その上には、蛍光標識と組み合わせたフィルムの蛍光強度が、懸案の工業的付着方法によるポリマーフィルムで被覆した様々な平坦なサンプルについて、表面解析または偏光解析によって測定された、フィルムの厚さの関数としてプロットされる。前記標識は、全サンプルについて別個に選択された濃度でフィルムと組み合わせられる。

40

【0066】

この標準曲線から、懸案の工業的方法により製造され、上述のサンプルと同一の選択された濃度で標識を含む、個別のポリマーフィルムによって発光される蛍光の強度を測定すれば、前記対象の領域の知識から、フィルムが必要とされる厚さを示すかどうか、即ち厚さに関しての特定に見合うか見合わないかを決定するためには十分である。

【0067】

この領域が未知であるならば、同一のプロトコルが、少なくとも、ポリマーフィルムの付着のための工業的方法の、再現性のイン・ラインモニターのための手段を提供する。

50

【0068】

本発明によるフィルムの厚さのモニターは、非常に短時間で標準曲線から行われなければならない。

【0069】

この品質管理応用に於いて、本発明は、蛍光体の関与による被覆の活性特性を利用する。

【0070】

本発明はまた、対象の遠心分離または認識においても使用可能である。このためには、前記対象の上に、本発明による少なくとも1つの波長範囲内で透明な電気絶縁体有機ポリマーのフィルムを、少なくとも前記波長範囲中で発光する標識と組み合わせて付着させれば十分である。

10

【0071】

したがって、単純な蛍光の測定により、前記対象が基準対象、即ち標識と組み合わされたフィルムを含むものであるか、あるいは前記対象の複製であるかを決定することが可能である。

【0072】

多くの方法は、処理する成分に関して、ポリマーフィルムと未処理成分の表面との間に構成される境界面の性質に関しての両方において異なっているため、侵害の立証はしばしば困難である。この境界面が、付着させたフィルムの下に埋まっているため、付着させたフィルムを通してこれを分析することが、特に該フィルムの厚さが10nmより大なる場合には困難になる。この場合、薄いフィルムの付着のための方法に関する知的財産権の所有者は、自ら製造したフィルムを、本発明により、その検出のために必要と上述されるような測定装置について、十分に低い濃度の標識、例えば蛍光、燐光、または化学発光標識で有利にラベルすることができる。

20

【0073】

上述の応用は、単に例示のためのものと見なされるべきであり、これらの応用も、フィルムを構成する絶縁体ポリマーが基体の表面上に付着させられる手順も、本発明の応用に制限を加えるべきではない。

【0074】

これは、当業者であれば、他の応用に対して、一つの波長範囲における低い光学吸光度を有する、一つ以上の電気絶縁体ポリマーの、一つ以上の有機被覆と、前記範囲内で発光する標識とを組み合わせることによる本発明の有効性を、どのように試すかが分かるであろうからである。

30

【0075】

本発明の別の利点及び特徴は、非制限的な例示のために与えられる下記の実施例を、添付の図面を参照して読むことにより、当業者にはより明らかになるであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【0076】

図1は、本発明による絶縁体ポリマーのフィルムの厚さを測定するために使用される回転偏光子偏光解析 (rotating polarizer ellipsometry) の原理を示す図である。

【0077】

図2及び3は、様々な入射の角度(°)についての、基体としての金の偏光解析測定スペクトルである： $\tan(\) = f(\text{nm})$ (図2) 及び $\cos(\) = f(\text{nm})$ (図3) ($\text{ } = \text{波長}(\text{nm})$)。

40

【0078】

図4は、金単独の基体(G)上で、及び有機フィルムで被覆された基体上で、300乃至800nmの全波長について75°の角度で測定して行われた、率(I)及び(N)と、光学吸光係数(E)及び(K)との測定を組み合わせたグラフである。

【0079】

図5及び6は、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲に亘って実行した測定で得られた、有機フィルム無しの白金基体の偏光解析スペクトルである：入射角75°にて $\tan(\$

50

) = f((nm)) (図 5) 及び入射角 75° にて $\cos() = f((nm))$ (図 6) 。

【 0 0 8 0 】

図 7 は、有機フィルム無しの白金基体上で、300乃至800nmの全波長について 75° の角度で測定して行われた、率 (I) 及び (N) と、光学吸光係数 (E) 及び (K) との測定を組み合わせたグラフであり、値は、"Handbook of Optical Constants of Solids"E.D.Palik編により与えられる。

【 0 0 8 1 】

図 8a)、9a)、10a)、及び 11a) は、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、 5° 毎に 55° 乃至 75° で実行した測定で得られた、PMANフィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す：それぞれサンプル AuMAN7、AuMAN24、Au2401、及び Au2301 について、 $\tan() = f((nm))$ 。 10

【 0 0 8 2 】

図 8b)、9b)、10b)、及び 11b) は、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、 5° 毎に 50° 乃至 75° で実行した測定で得られた、PMANフィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す：それぞれサンプル AuMAN7、AuMAN24、Au2401、及び Au2301 について、入射角 75° にて (図 5)、 $\cos() = f((nm))$ 。

【 0 0 8 3 】

図 1 2 は、本発明による様々な透明な電気絶縁性有機ポリマーフィルムで被覆した金基体を用いたサンプルの反射 (%) の、波長 (nm) の関数としての測定の図示である。

【 0 0 8 4 】

図 13a) 及び 13b) は、 5° 毎に 50° 乃至 75° で、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機ポリマーのフィルムで被覆した白金基体 (サンプル 01010Pt6) 上で、様々な入射の角度 ($^\circ$) について行われた偏光解析測定のスペクトルである： $\tan()$ 多数の角 = f((nm)) (図 13a) 及び $\cos()$ 多数の角 = f((nm)) (図 13b))。 20

【 0 0 8 5 】

図 14a) 及び b) は、 5° 毎に 50° 乃至 75° で、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機ポリマーのフィルムで被覆した白金基体 (サンプル 01010Pt14) 上で、様々な入射の角度 ($^\circ$) について行われた偏光解析測定のスペクトルである： $\tan()$ 多数の角 = f((nm)) (図 14a) 及び $\cos()$ 多数の角 = f((nm)) (図 14b))。 30

【 0 0 8 6 】

図 15 は、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機フィルムで被覆した白金のサンプル (サンプル 0101Pt6 及び 01010Pt14) の反射を測定することを企図する、基準波長を 560nm とする 400 乃至 800nm の範囲に亘る分光光度測定の結果を表す。

【 0 0 8 7 】

図 16 は、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機フィルムで被覆した白金のサンプル (サンプル 0101Pt6 及び 01010Pt14) の損失を測定することを企図する、基準波長を 560nm とする 400 乃至 800nm の範囲に亘る分光光度測定の結果を表す。

【 0 0 8 8 】

図 17 は、表面蛍光体の双極子モデル化のための図である：これは、双極子モーメント m が表面 x の上方に位置することを表している。3つの媒介物が特徴付けられている：双極子の周囲、率 n_1 の領域 1 (この場合にはスーパーstrate (superstrate) である) ; 薄い層の重なり、率 n_2 の領域 2 ; 及び基体、率 n_3 の領域 3。 40

【 0 0 8 9 】

図 18a) 及び 18b) は、有機フィルムの表面に対して平行 () (図 18a) 及び垂直 () (図 18b) の二方向に向かって該表面に位置する蛍光体双極子の蛍光シグナルのモデル化 (シグナル (ua) = f (ポリマーの厚さ) (nm)) を表す。これらの図では、ケース 1 : $n=1.5$ 及び $k=0.02$; ケース 2 : $n=1.5$ 及び $k=0.003$; ケース 3 : $n=1.5$ 及び $k=0.0$ (極値) ; ケース 4 はジアゾニウム塩から得られるもの等の典型的な導電性有機フィルムを成す： $n=1.5$ 及 50

び $k=0.4$ 。これらの図では、横座標の軸はポリマーフィルムの厚さ「 t 」を表し、縦座標の軸はシグナル「 s 」を表す。

【0090】

図19a)及び19b)は、一方では従来技術によりポリピロールのフィルムで被覆した(図19a)、他方では本発明により絶縁体有機ポリマーフィルムで被覆した(図19b)、金の基体を表す図である。

【0091】

図20a)は、金基体上に付着させたAmersham社製のCydctp(登録商標)発光体の液滴(1 μ , 溶液を0.5 μ l)の蛍光の、金領域のネガ(50倍の対物レンズ; 露出時間200ms)である。

【0092】

図20b)は、金基体上に付着させたポリピロールのフィルム上に付着させたAmersham社製のCydctp(登録商標)発光体の液滴(1 μ , 溶液を0.5 μ l)の蛍光の、ポリピロールに相当する領域のネガ(50倍の対物レンズ; 露出時間200ms)である。

【0093】

図20c)は、金基体上に付着させたポリメタクリロニトリル(MAN)のフィルム上に付着させたAmersham社製のCydctp(登録商標)発光体の液滴(1 μ , 溶液を0.5 μ l)の蛍光の、MANの付着物に相当する領域のネガ(50倍の対物レンズ; 露出時間200ms)である。

【実施例】

【0094】

(実施例1: サンプルの光学特性の測定及びモデル化の技術)

吸光測定を、分光偏光解析によって行う。これは、光の偏光に際して、率及び厚さの決定によって、物質が生み出す変化を用いて物質の薄い付着物を特徴付けすることを可能にする非破壊的光学技術である。

【0095】

光線がサンプルの表面で反射される場合、その偏光の状態は変化する。これは斜め入射にて光波の電場が、一方は入射の平面に対して垂直であり(波S)、他方はこの平面に対して平行(P)である、2つの特定の方向に散らされるためである。これらの2つの波は、別様にサンプルの表面と相互作用し、SまたはP波に関連するかによって振幅反射率 r_s 及び r_p を示す。

【0096】

S及びP波の振幅作用及び位相作用における相違から生じる偏光の状態の変化は、下記の等式1に従って によって特徴付けることができる。

【数1】

$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \tan(\Psi)e^{i\Delta}$$

$\tan(\Psi)$ は、振幅比を表し、 Δ はS及びP偏光の間の位相差を表す。

【0097】

使用される偏光測定器は、SOPRA社製のGESP5(登録商標)である。これは、パラメータ $\tan(\Psi)$ 及び $\cos(\Delta)$ を波長の関数として(「分光偏光解析」なる語の所以)、及び/または分析光線の入射角 θ の関数として、測定することを可能にする。使用される回転偏光子偏光解析器の操作原理を、図1に示す。

【0098】

この図において、Sは、光源を表し、s及びpは入射光の偏光ベクトルを表し、P及びAは回転偏光子を表し、Dは検出器を表す。

【0099】

サンプルをモデル化によって、偏光解析器によって与えられる測定値に回帰アルゴリズムを用いて、前記サンプルの特徴を算出することができる。

【0100】

サンプル、厚さ t 、率 n 、及び吸光 k を、複素平面における非線形回帰による補整ソフトウ

10

20

30

40

50

エアを使用し、非分散則で、その後ローレンツ振動子モデルで、偏光解析測定を回帰することによって特徴付けた。

結果に矛盾のないことを、分光測光測定で確認した。

【0101】

(実施例2：試験したサンプル)

前記測定は、8つの異なるサンプルで行った。これらの特徴を表1にまとめる。

3つの異なる系統のサンプルを分析した。

【0102】

・金に電着されたPMANフィルムの系統、厚さは9乃至150nmに亘る。これらのフィルムは、補助電極としての0.05Mテトラエチルアンモニウムペルクロレート (TEAP) の存在下で、無水アセトニトリル中のメタクリロニトリルの2.5M溶液の電解還元によって金電極上に得られる。前記電解還元は、表面積の大きな白金対向電極を備えた非分割区画中、100mV/sにて、-0.3乃至-2.6V/(Ag⁺/Ag)の電解条件下で起こる。電解走査の数を変化させることによって、様々な厚さが得られる。

【0103】

・一方は100nm厚さで、他方は厚い(厚さ>0.5μm)、金に電着させた2つのPMMAフィルム。これらのフィルムは、PMANフィルムについてと同様の条件下でのメチルメタクリレート溶液の電解還元によって得られる。

【0104】

・補助電極として5×10⁻²MのTEAPの存在下での、無水アセトニトリル中のパラニトロフェニルジアゾニウム (PNPD) テトラフルオロボレートの10⁻³M溶液の電解還元によって、白金電極上に得られる2つのフィルム。電位走査を、-200mV/sで+0.3V/(Ag⁺/Ag)乃至-2.9V/(Ag⁺/Ag)に行う。それぞれ厚さ3nm及び30nmの2つのフィルムが、このプロトコルによって得られる。

【0105】

最後の系統のサンプルは、PNPDの電着によって得られた有機フィルムは電気伝導性であるため、初め2つの系統のフィルムとの対照として選択した。さらに、偏光解析測定値も、導電性ポリマーとしてのポリピロールフィルムで得られたものと比較する。

【0106】

下記の表Iに挙げた様々なフィルムの厚さを、表面解析によって測定する。2つのチップ距離にしたがい、表面解析によって測定された算術粗さ (arithmetic roughness)、500μm及び2mmもまた、この表に列挙する。

【0107】

【表1】

表1：実施例中で使用したサンプルの品番及び特徴

名称	基体	被覆	厚さ (nm)	500μmでの Ra(nm)	2μmでの Ra(nm)
MANAu 15	金	ポリメタクリロニトリル	9	4	0.7
MANAu 24	金	ポリメタクリロニトリル	28	3.9	6.5
Au MAN 11	金	ポリメタクリロニトリル	50	2.9	2.9
Au MAN 7	金	ポリメタクリロニトリル	150	3.4	5.3
Au 2301	金	ポリメタクリロニトリル	100	—	—
Au 2401	金	ポリメチルメタクリレート	厚い	—	—
0101 Pt 14	Pt	ニトロベンゾエート	3	6.5	8.3
0101 Pt 6	Pt	ニトロベンゾエート	30	2.4	2.4

【0108】

この表において、ポリメタクリロニトリルまたはポリ(メチルメタクリレート)フィルムは絶縁性であり、ニトロベンゾエートフィルムは導電性である。

【0109】

基体上での偏光解析測定

金属(基体)の特徴

様々な入射の角度について、金の偏光解析スペクトルを測定する。こうして、5°毎に50°乃至75°の、これら様々な値について得られた結果の関数として、最終結果の品質を評価することが可能である。測定スペクトルは、5nm毎の測定で300乃至800nmに亘る。これらは、添付の図2及び3に表される。

【0110】

金の測定を、MANAu11サンプルで、反応混合物中に浸されていない部分であって、有機フィルムが付着していない部分で行った。

【0111】

目的は、この金属の率及び吸光の値を見出すことであり、ミクロンよりも大なるその厚さのため、これを基体として（偏光解析で）同一のカテゴリーに入れることが可能である。その後、金の n 及び k 係数を導き出すために、データの反転、等式解析が行われる。この操作は、各測定角度について行われる。75°の入射の角度で測定した率を、300乃至800nmの全波長について、添付の図4にまとめた。

10

【0112】

比較のため、グラフト化有機フィルムを備えたサンプルとは別個に、金単独の基体上で行った測定もまとめた。これにより、測定の安定性をモニターすることが可能になる。

【0113】

白金層（基体）の特徴

白金の偏光解析スペクトルを、金についてと同一条件下で測定する：測定角は5°毎に50°乃至75°であり、スペクトル範囲は、5nm毎に300乃至800nmに亘る。

20

【0114】

白金の測定を、0101Pt6サンプルで、反応混合物中に浸されていない部分であって、有機フィルムが付着していない部分で行った。

【0115】

図5 ($\tan(\) = f(\text{ (nm)})$ 、入射角75°)及び6 ($\cos(\) = f(\text{ (nm)})$ 、入射角75°)は、これらの測定に対して得られた結果の図示である。

【0116】

目的は、この白金層の率及び吸光の値を見出すことであり：1ミクロンよりも大なるその厚さのため、これは、偏光解析の観点から、基体として同一のカテゴリーに入れることが可能である。その後、これより n （率）及び k （吸光係数）を導き出すために、75°での測定のデータの反転が行われる。こうして得られた率（ I ）及び吸光（ E ）の結果を、図7にまとめる。"Handbook of Optical Constants of Solids"E.D.Palik編により与えられた値もまた、このグラフに表した。

30

【0117】

サンプルの特徴については、偏光解析測定により与えられた結果を、白金についての基準値として採用する。

【0118】

サンプルの偏光解析測定

測定を、300乃至800nmのスペクトル範囲に亘って、 $\theta = 60^\circ$ にて行った。

【0119】

金基体上のサンプルの偏光分析結果

結果に関してより正確を期するために、AuMAN7、MANAu24、Au2301、及びAu2401サンプルを様々な角度について測定した。

40

【0120】

行った測定により、AuMAN7については図8a)及びb)に、AuMAN24については図9a)及びb)に、Au2401については図10a)及びb)に、及びAu2301については図11a)及びb)に表したスペクトルをまとめることができた。a)図は $\tan(\)$ 多数角測定に相当し、b)図は $\cos(\)$ 多数角測定に相当する。

【0121】

金基体上のサンプルの分光測光結果

50

基準波長を560nmとして400乃至800nmの波長範囲に亘って、サンプルそれぞれの反射、透過、及び損失を決定するために、サンプルを、手動の「Lambda9m」（登録商標）分光測光器で測定した。

【0122】

金上の全サンプルが、560nmにて $72.5\% < R < 84.2\%$ 、 $T = 0$ 、及び $15.7\% < L < 27.5\%$ である同様のスペクトルを有することがわかる。これらの結果を、下記の表2に加える。

【0123】

【表2】

表2：金上のサンプルについて、560nmでの反射(R)、透過(T)、及び損失(L)

サンプル	560nmにて		
	R(%)	T(%)	L(%)
MANAu 11	72.55	0	27.46
MANAu 15	81.32	0.02	18.66
MANAu 24	75.45	0.03	24.51
Au MAN 7	79.96	0	20.05
Au 2301	77.54	0.0207	22.44
Au 2401	84.19	0.04	15.77

10

【0124】

添付の図12は、本発明による透明で且つ電気絶縁性の様々な有機ポリマーフィルムで被覆した金基体を含むこれらのサンプルで行った、波長(nm)の関数としての反射(%)の測定の図示である。

20

【0125】

金上の全サンプルが、560nmにて $72.5\% < R < 84.2\%$ 、 $T = 0$ 、及び $15.7\% < L < 27.5\%$ である同様のスペクトルを有することがわかる。特にこれら絶縁体フィルムが、広い波長範囲に亘ってほとんど損失を有しないことがわかる。この観察結果は、導電性のPNPDフィルムで得られた結果と比較するとより明確になるであろう。

【0126】

白金基体上のサンプルの偏光解析結果

図13a)及び13b)は、 5° 毎に50乃至 75° で、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、サンプル01010Pt6上で、入射の様々な角度($^\circ$)について記録した偏光解析測定のスペクトルを表す： $\tan(\theta)$ 多数角 = $f(\lambda)$ (nm) (図13a) 及び $\cos(\theta)$ 多数角 = $f(\lambda)$ (nm) (図13b)。

30

【0127】

図14a)及び14b)は、 5° 毎に50乃至 75° で、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、サンプル01010Pt14上で、入射の様々な角度($^\circ$)について記録した偏光解析測定のスペクトルを表す： $\tan(\theta)$ 多数角 = $f(\lambda)$ (nm) (図14a) 及び $\cos(\theta)$ 多数角 = $f(\lambda)$ (nm) (図14b)。

【0128】

白金基体上のサンプルの分光測光結果

基準波長を560nmとして400乃至800nmの波長範囲に亘って、サンプルそれぞれの反射、透過、及び損失を決定するために、サンプルを、手動の「Lambda9m」（登録商標）分光測光器で測定した。

40

【0129】

白金上のサンプルが、非常に様々なスペクトルを有することがわかる。反射、透過、及び損失を、以下の表3にまとめる。PNPD (PNPDは導電性ポリマー) フィルムにおける損失は、金基体上に形成される絶縁体フィルムの場合よりもずっと顕著であることが観察される。

【0130】

【表3】

表3：白金上のサンプルについて、560nmでの
反射(R)、透過(T)、及び損失(L)

サンプル	560nmにて		
	R(%)	T(%)	L(%)
0101 Pt 14	45.72	0.02	54.26
0101 Pt 6	57.32	0.02	42.66

【0131】

図15は、基準波長を560nmとして400乃至800nmの範囲に亘る、導電性ポリマーで被覆した白金サンプル0101Pt6及び01010Pt14の反射を表し、図16はこれらの損失を表す。

【0132】

サンプルの特徴づけ

サンプル(t、n、及びk)を特徴付けるために、SporX(登録商標)ソフトウェアを使用し、非分散則で、その後ローレンツ振動子で、偏光解析測定値に回帰を行った。一方では2つのモデルの間で、他方では分光測光測定値と、矛盾のない結果が得られた。

【0133】

これらの特徴の評価を、表4にまとめる。

【0134】

絶縁性ピニルフィルムについては非常に低い吸光係数($k < 0.02$)が測定され、一方では導電性PNPDは少なくとも10倍高い吸光を示した。

【0135】

比較のため、測定したサンプルと同様の厚さ(20nm)のポリピロールフィルムは、同一条件下で測定したところ、0.3乃至0.5の吸光係数を有する。

【0136】

【表4】

表4：サンプルの光学特性

サンプル	性質	t (表面解析) (nm)	t (偏光解析) (nm)	n	k
MANAu 15	絶縁性	9	5-6	1.5	0.02
MANAu 24	絶縁性	28	24	1.5	0
Au MAN 11	絶縁性	50	40-46	1.5-1.6	0.003
Au MAN 7	絶縁性	150	149	—	—
Au 2301	絶縁性	100	—	1.1	0.02
Au 2401	絶縁性	厚い	—	1	0
0101 Pt 6	導電性	3	—	1.9	0.1
0101 Pt 14	導電性	30	25-30	0.9	0.5

【0137】

ここでの目的は、フィルムの表面に吸着された蛍光体によって放出されるシグナルの特徴づけをすることである。

【0138】

まず第一に、吸光度が低いという事実の予期される利点が提示され、次に、簡単な試験で、同一厚さのポリピロールフィルムでよりも、金上のPMANフィルムの方が、蛍光収率がより有効に良好であることが示される。

【0139】

発光体は、図17に表されるように電気双極子、すなわち、電磁気理論の意味合いにおいて予想しうる小さな源としてモデル化される。問題とするグリーン関数は算出可能であり、より複雑ないかなる電磁気源、例えば塩基双極子の重ね合わせ等は再構築可能であるため、この工程は、扱う問題の一般的な応用にとって、全く有害ではない。さらにまた、電磁場は量子化されないと考えられる。レーザー共振器において蛍光及び発光をモデル化するための理論モデルの比較は、観点が従来のものであっても、量子的であって、ほぼ同様の結果を示した。

【0140】

表4の結果に基づき、以下のケースをシミュレーションする：ケース1： $n=1.5/k=0.02$ ；ケ

10

20

30

40

50

ース2: $n=1.5/k=0.003$; ケース3: $n=1.5/k=0$ (極値); 最後のケースは、例えばジアゾニウム塩から得られるフィルム (サンプル0101Pt6及び0101Pt14) もの等の典型的な導電性有機フィルムを形成する; ケース4: $n=1.5$ 及び $k=0.4$ 。

【0141】

使用した蛍光体は、フィコエリトリンであって、吸収 = 543nm及び放出 = 580nmであり、表面に対するその高さは10nmである。前記蛍光体は、液体環境中に浸される。

【0142】

双極子については2つの異なる方向が考慮されるが、表面に対して一方は並行であり、他方は垂直である。ポリマーの厚さを変化させ、発光体を囲む媒介物中に放出されるシグナルが算出される (蛍光の分析のための非常にオープンな顕微鏡の場合)。

10

【0143】

図17は、表面での蛍光体の双極子モデル化の図である: これは、双極子モーメント m が表面 x の上方に位置することを表している。3つの媒介物が特徴付けられている: 双極子の周囲、領域1 (この場合にはスーパーストレート (superstrate) である); 薄い層の重なり、領域2; 及び基体、領域3。 n_1 、 ϵ_1 ; n_2 、 ϵ_2 ; 及び n_3 、 ϵ_3 は、それぞれ、前記領域1、2、及び3の率及び誘電率である; d は双極子からポリマーの表面への距離を表し、 t はポリマーの厚さを表す。

【0144】

図18a)及び18b)は、有機フィルムの表面に対して平行 (図18a) 及び垂直 (図18b) の二方向に向かって該表面に位置する蛍光体双極子の蛍光シグナルのモデル化 (シグナル $(ua) = f$ (ポリマーの厚さ) (nm)) を表す。これらの図では、ケース1: $n=1.5$ 及び $k=0.02$; ケース2: $n=1.5$ 及び $k=0.003$; ケース3: $n=1.5$ 及び $k=0.0$ (極値); ケース4はジアゾニウム塩から得られるもの () サンプル0101Pt6及び0101Pt14) 等の典型的な導電性有機フィルムを成す: $n=1.5$ 及び $k=0.4$ 。

20

【0145】

添付の図18a)及び18b)中に表された結果に照らすと、光選択の現象のため最もありそうな、発光体が平行方向である "MAN" フィルムを使用した本発明では、前記シグナルに関しておよそ25の増加が観察され、垂直方向についてはおよそ100の増加が観察される。

【0146】

このモデルの予測を、ここに、金基体上に付着させたPMANのフィルム (サンプルAuMAN11) 上の蛍光標識の液滴の蛍光シグナルを検査することによって、及び金基体上に付着させた同一厚さのポリピロールフィルムに関する同一シグナルと比較することによって、単純な方法で試験する。使用した蛍光体は、 $1 \mu\text{M}$ の Cy_3dctp (登録商標) (Amersham) である。液滴の体積は、 $0.5 \mu\text{l}$ である。

30

【0147】

図19a)及び19b)は、一方ではポリピロールのフィルムで被覆した (図19a)、他方では本発明による絶縁体有機ポリマーフィルムで被覆した (ManAu11) (図19b)、金の基体の図示である。

【0148】

図20a)、b)、及びc)は、この実施例で得られる、金の領域 (20a))、ポリピロールのフィルム (20b))、及びポリメタクリロニトリル (MAN) のフィルム上の蛍光のネガ (50倍の対物レンズ; 露出時間200ms) である。

40

【0149】

3枚の写真上で高度に明るい点は、蛍光体の凝集あるいは蛍光塵のいずれかである。これらの点は、バイオチップではよくあることだが、表面に近い、すなわち表面から数nmの蛍光体には相当せず、数十乃至数百nmのボールに相当する。したがって、比較はこれらの光点に関してではなく、これらの点の周囲の「連続的背景」について行われねばならない。

【0150】

別個の露出時間で、同一感度の写真レセプター、同一光学で達成される同一倍率、及び、AuMAN11サンプルの場合には (ネガc))、標識が非常に低濃度 ($1 \mu\text{m}$) であるにも関わら

50

ず、表面と「直接」接触する蛍光体が「消光」しないことが観察され、一方でこれらは金の領域上（ネガa）及び導電性有機被覆の領域上（ネガb）では消光することが観察される。従って、この点において、これらの図20に示されるように、導電性フィルムに対するPMANの絶縁体フィルムの透明性の優れた特性が直接観察される。

【0151】

（実施例3：ジアゾニウム塩の存在下での電気開始（electroinitiation）によるポリメタクリロニトリルフィルムの付着物の製造）

ポリメタクリロニトリルフィルムの付着物を、実施例1のものと同様の金基体上に、ジアゾニウム塩から出発する電気開始によって製造する。これらのフィルムは、補助電極としての0.05Mテトラエチルアンモニウムペルクロレート（TEAP）及び 10^{-3} Mの4-ニトロフェニルジアゾニウムテトラフルオロボレートの存在下で、無水アセトニトリル中のメタクリロニトリルの2.5M溶液の電解還元によって金電極上に得られる。電解還元は、表面積の大きな白金対向電極を備えた非分割区画中、100mV/sにて、+0.3乃至-1.5V/(Ag⁺/Ag)の電解条件下で起こる。100nmのオーダーの厚さを有するフィルムが得られるように、走査数を調節する。

10

【0152】

直接電気グラフト化することにより得られるポリメタクリロニトリルフィルムで観察されるように、光学測定によって係数 $k < 0.02$ が示される。

【0153】

（実施例4：再現性をモニターするための操作）

フィコエリトリンを振りかけた様々な厚さのポリメタクリロニトリルフィルムを、完全に別個の金ストリップ上に製造する。このためには、金ストリップを、表面積の大きな白金対向電極を備えた非分割区画中、無水アセトニトリル中2.5Mのメタクリロニトリル、補助電極としての0.05Mテトラエチルアンモニウムペルクロレート（TEAP）、 10^{-3} Mの4-ニトロフェニルジアゾニウムテトラフルオロボレート、及び1 μ Mのフィコエリトリンを含む溶液中、100mV/sにて、+0.3乃至-1.0V/(Ag⁺/Ag)の電解条件下で分極させる。得られたフィルムの厚さを偏光解析により測定したところ、 50 ± 5 nm、すなわち10%の精度である。

20

【0154】

その後、各ストリップを543nmにて照射し、得られる蛍光強度を580nmで測定する。蛍光の個別強度を、15%未満の測定のばらつきをもって全ストリップ上で測定する。

30

【0155】

（実施例5：品質管理操作）

PMAN（ポリメタクリロニトリル）フィルムを、1cm²の金ストリップ上に実施例4の操作に従い、厚さを増大させて付着させる。5乃至150nmの様々な厚さが、電解走査の数を変化させることによって得られる。

【0156】

得られる被覆上での蛍光測定により、強度/cm²の関数としての厚さを示す検量線をプロットすることが可能になる。

【0157】

厚さ84nm（偏光解析による測定）を有するPMAN付着物を、その後5cm²の金表面に製造する。蛍光測定により、検量線から、75nmの厚さが示され、これによって直接厚さを測定することなく適当な制御を確認することが可能になる。

40

（参考文献）

[1] Arwin et al., *Synthetic Metals*, 6, 1983: "Dielectric Function of Thin Polypyrrole and Prussian Blue Films by Spectroscopic Ellipsometry".

[2] Kim et al., *Journal of the Electrochemical Society*, 138(11), 1991: "Real Time Spectroscopic Ellipsometry: In Situ Characterization of Pyrrole Electropolymerization".

[3] Kim et al., *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 17(8), 1996: "Polypyrrole Film Studied by Three-Parameter Ellipsometry".

10

[4] Guedon et al., *Analytical Chemistry*, 22, 6003-6009, 2000: "Characterization and Optimization of a Real-Time, Parallel, Label-Free, Polypyrrole-Based DNA Sensor by Surface Plasmon Resonance Imaging".

【図面の簡単な説明】

【0158】

20

【図1】図1は、本発明による絶縁体ポリマーのフィルムの厚さを測定するために使用される回転偏光子偏光解析の原理を示す図である。

【図2】図2は、様々な入射の角度(°)についての、基体としての金の偏光解析測定スペクトルである。

【図3】図3は、様々な入射の角度(°)についての、基体としての金の偏光解析測定スペクトルである。

【図4】図4は、金単独の基体(G)上で、及び有機フィルムで被覆された基体上で、300乃至800nmの全波長について75°の角度で測定して行われた、率(I)及び(N)と、光学吸光係数(E)及び(K)との測定を組み合わせたグラフである。

【図5】図5は、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲に亘って実行した測定で得られた、有機フィルム無しの白金基体の偏光解析スペクトルである。

30

【図6】図6は、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲に亘って実行した測定で得られた、有機フィルム無しの白金基体の偏光解析スペクトルである。

【図7】図7は、有機フィルム無しの白金基体上で、300乃至800nmの全波長について75°の角度で測定して行われた、率(I)及び(N)と、光学吸光係数(E)及び(K)との測定を組み合わせたグラフである。

【図8a】図8aは、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、5°毎に55乃至75°で実行した測定で得られた、PMANフィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す(サンプルAuMAN7)。

【図8b】図8bは、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、5°毎に50乃至75°で実行した測定で得られた、PMANフィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す(サンプルAuMAN7)。

40

【図9a】図9aは、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、5°毎に55乃至75°で実行した測定で得られた、PMANフィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す(サンプルAuMAN24)。

【図9b】図9bは、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、5°毎に50乃至75°で実行した測定で得られた、PMANフィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す(サンプルAuMAN24)。

【図10a】図10aは、5nm毎に300乃至800nmに広がるスペクトル範囲で、5°毎に55乃至75°で実行した測定で得られた、PMANフィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトル

50

を表す (サンプル Au2401) 。

【 図 1 0 b 】 図 10b) は、5nm 毎に 300 乃至 800nm に広がるスペクトル範囲で、5° 毎に 50 乃至 75° で実行した測定で得られた、PMAN フィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す (サンプル Au2401) 。

【 図 1 1 a 】 図 11a) は、5nm 毎に 300 乃至 800nm に広がるスペクトル範囲で、5° 毎に 55 乃至 75° で実行した測定で得られた、PMAN フィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す (サンプル Au2301) 。

【 図 1 1 b 】 図 11b) は、5nm 毎に 300 乃至 800nm に広がるスペクトル範囲で、5° 毎に 50 乃至 75° で実行した測定で得られた、PMAN フィルムで被覆した白金基体の偏光解析スペクトルを表す (サンプル Au2301) 。

【 図 1 2 】 図 12 は、本発明による様々な透明な電気絶縁性有機ポリマーフィルムで被覆した金基体を用いたサンプルの反射 (%) の、波長 (nm) の関数としての測定の図示である。

【 図 1 3 a 】 図 13a) は、5° 毎に 50 乃至 75° で、5nm 毎に 300 乃至 800nm に広がるスペクトル範囲で、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機ポリマーのフィルムで被覆した白金基体 (サンプル 01010Pt6) 上で、様々な入射の角度 (°) について行われた偏光解析測定のスペクトルである。

【 図 1 3 b 】 図 13b) は、5° 毎に 50 乃至 75° で、5nm 毎に 300 乃至 800nm に広がるスペクトル範囲で、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機ポリマーのフィルムで被覆した白金基体 (サンプル 01010Pt6) 上で、様々な入射の角度 (°) について行われた偏光解析測定のスペクトルである。

【 図 1 4 a 】 図 14a) は、5° 毎に 50 乃至 75° で、5nm 毎に 300 乃至 800nm に広がるスペクトル範囲で、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機ポリマーのフィルムで被覆した白金基体 (サンプル 01010Pt14) 上で、様々な入射の角度 (°) について行われた偏光解析測定のスペクトルである。

【 図 1 4 b 】 図 14b) は、5° 毎に 50 乃至 75° で、5nm 毎に 300 乃至 800nm に広がるスペクトル範囲で、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機ポリマーのフィルムで被覆した白金基体 (サンプル 01010Pt14) 上で、様々な入射の角度 (°) について行われた偏光解析測定のスペクトルである。

【 図 1 5 】 図 15 は、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機フィルムで被覆した白金のサンプル (サンプル 0101Pt6 及び 01010Pt14) の反射を測定することを企図する、基準波長を 560nm とする 400 乃至 800nm の範囲に亘る分光光度測定の結果を表す。

【 図 1 6 】 図 16 は、ジアゾニウム塩ベースの導電性有機フィルムで被覆した白金のサンプル (サンプル 0101Pt6 及び 01010Pt14) の損失を測定することを企図する、基準波長を 560nm とする 400 乃至 800nm の範囲に亘る分光光度測定の結果を表す。

【 図 1 7 】 図 17 は、表面蛍光体の双極子モデル化のための図である。

【 図 1 8 a 】 図 18a) は、有機フィルムの表面に対して平行方向に向かって該表面に位置する蛍光体双極子の蛍光シグナルのモデル化 (シグナル (ua) = f (ポリマーの厚さ) (nm)) を表す。

【 図 1 8 b 】 図 18b) は、有機フィルムの表面に対して垂直方向に向かって該表面に位置する蛍光体双極子の蛍光シグナルのモデル化 (シグナル (ua) = f (ポリマーの厚さ) (nm)) を表す。

【 図 1 9 a 】 図 19a) は、従来技術によりポリピロールのフィルムで被覆した金の基体を表す図である。

【 図 1 9 b 】 図 19b) は、本発明により絶縁体有機ポリマーフィルムで被覆した金の基体を表す図である。

【 図 2 0 a 】 図 20a) は、金基体上に付着させた発光体の液滴 (1 μ , 溶液を 0.5 μ l) の蛍光の、金領域のネガ (50 倍の対物レンズ ; 露出時間 200ms) である。

【 図 2 0 b 】 図 20b) は、金基体上に付着させたポリピロールのフィルム上に付着させた発光体の液滴 (1 μ , 溶液を 0.5 μ l) の蛍光の、ポリピロールに相当する領域のネガ (50 倍

10

20

30

40

50

の対物レンズ；露出時間200ms）である。

【図20c】図20cは、金基体上に付着させたポリメタクリロニトリル（MAN）のフィルム上に付着させた発光体の液滴（1 μ ，溶液を0.5 μ l）の蛍光の、MANの付着物に相当する領域のネガ（50倍の対物レンズ；露出時間200ms）である。

【国際公開パンフレット】

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
24 avril 2003 (24.04.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 03/034101 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : G02B 1/04, 1/10, C09D 4/00, H01B 3/30, G01N 21/00, B41M 3/00 (74) Mandataire : LEHU, Jean; Brevetome, 3, rue du Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR02/03538

(81) États désignés (national) : AE, AG, AI, 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, HK, 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, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international : 16 octobre 2002 (16.10.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LU, MC, NL, PT, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(30) Données relatives à la priorité : 01/13432 18 octobre 2001 (18.10.2001) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31/33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).

Publiée : avec rapport de recherche internationale avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications. sera republiée si des modifications sont reçues

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : BRENL-AUX, Francois [FR/FR]; 9, rue du Périgord, F-91300 Massy (FR). BUREAU, Christophe [FR/FR]; 24, rue de la Liberté, F-92150 Suresnes (FR). CHATON, Patrick [FR/FR]; Loutre, F-38570 Theys (FR). GETIN, Stéphane [FR/FR]; 41, rue des Eaux Claires, F-38100 Grenoble (FR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: SUBSTRATE COATED WITH A TRANSPARENT ORGANIC FILM AND METHOD FOR MAKING SAME

(54) Titre : SUBSTRAT REVÊTU D'UN FILM ORGANIQUE TRANSPARENT ET PROCÉDE DE FABRICATION

(57) Abstract: The invention concerns a substrate coated with a transparent organic film and a method for making same, and use thereof. The film-coated substrate is characterized in that the film is an electrically insulating organic polymer and transparent in at least a range of wavelengths, and in that the film is associated with a marker emitting at least in said wavelength range. The invention is in particular applicable in a means for detecting a chemical species, such as a biochip, in a quality control process, a certification process or an authentication process for an object.

(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à un substrat revêtu d'un film organique transparent, à un procédé de fabrication de ce substrat revêtu du film organique transparent, et à son utilisation. Le substrat revêtu d'un film est caractérisé en ce que le film est un polymère organique isolant électrique et transparent dans au moins une gamme de longueurs d'ondes, et en ce que ledit film est associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes. Elle présente une application notamment dans un moyen de détection d'une espèce chimique, par exemple une biopuce, dans un procédé de contrôle qualité, un procédé de certification ou un procédé d'authentification d'un objet.

WO 03/034101 A1

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

1

SUBSTRAT REVÊTU D'UN FILM ORGANIQUE TRANSPARENT ET
PROCEDE DE FABRICATION

DESCRIPTION

5 **Domaine technique**

La présente invention se rapporte à un substrat revêtu d'un film organique transparent, à un procédé de fabrication de ce substrat revêtu du film organique transparent, et à son utilisation.

10 Par film « transparent », on entend un film possédant des propriétés optiques de transparence remarquables (absence d'absorption optique, absence de "quenching", etc...) sur au moins un domaine du spectre électromagnétique, et notamment une faible extinction
15 optique ou « coefficient k » dans le domaine de longueurs d'onde considéré pour la transparence. Ce coefficient d'extinction optique est mesuré par exemple par ellipsométrie spectroscopique ou en spectrophotométrie.

20 Le substrat peut être un substrat isolant, conducteur ou semi-conducteur de l'électricité. Il constitue le support du film organique transparent, et il est choisi en fonction de l'utilisation ou de la destination du substrat revêtu du film organique
25 transparent conforme à la présente invention.

La présente invention trouve par exemple une application dans le domaine du contrôle qualité, de la certification ou de l'authentification de substrats revêtus de films minces transparents.

30 En effet, elle permet de prouver la fabrication et/ou l'origine du substrat revêtu du film organique de

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

2

la présente invention, dans ou sur lequel on aura pu insérer à dessein un marqueur fluorescent, phosphorescent ou chimiluminescent connu en très faibles quantités. Dans cette application de la présente invention, le substrat est un objet quelconque.

Elle trouve aussi une application, par exemple dans le domaine de la détection de la chimisorption ou de la physisorption sur ou dans le film organique transparent d'espèces chimiques, biochimiques ou biologiques préalablement fonctionnalisées par un marqueur fluorescent phosphorescent ou chimiluminescent, comme, par exemple, dans les procédés de détection par fluorescence des puces à analyse chimique ou biochimique, telles que les puces à ADN. Dans ce type d'application, le substrat constitue le support des moyens de détection.

Par exemple, dans le cas d'une biopuce, le substrat peut être par exemple un support de silice, d'or ou un composite tel que Au/Si, Au/SiO₂ ou plus généralement métal/substrat, et le film organique transparent un des moyens moléculaires de fixer les sondes biologiques sur certaines parties de la surface.

Lorsque la biopuce est mise au contact d'une solution d'échantillon à analyser, des appariements ont lieu entre les ADN de l'échantillon et ceux fixés sur le substrat. Cette fixation peut être, par exemple, détectée en ayant préalablement marqué les ADN de l'échantillon avec un marqueur fluorescent, phosphorescent ou chimiluminescent. Conformément à la présente invention, le film est choisi pour être

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

3

transparent à la longueur d'onde d'émission du marqueur fluorescent, phosphorescent ou chimiluminescent utilisé, de façon à absorber le moins possible les photons émis par ce marqueur, le rendre détectable à de très basses concentrations en surface du substrat, et minimiser l'interférence avec la mesure. Le rapport signal/bruit et les limites inférieures de détection des appariements sur la biopuces s'en trouvent ainsi améliorés.

10 Dans la description qui suit, les références entre crochets renvoient à la liste de références annexée.

Art antérieur

15 En ce qui concerne l'application biopuces, les documents FR-A-2 787 581 (1998), FR-A-2 787 582 (1998) et US 5 810 989 (1998), décrivent l'électro-copolymérisation sur un substrat de silice de monomères précurseurs de polymères conducteurs, comme le pyrrole, avec des monomères fonctionnalisés par des molécules de reconnaissance, en particulier des oligonucléotides. Cette technique est parmi les plus utilisées actuellement pour la fixation localisée de molécules de reconnaissances sur les plots d'une biopuce.

20 Dans cette technique, on exploite l'adhésion du film conducteur de polypyrrole sur le substrat de façon à y réaliser la fixation des molécules de reconnaissance.

25 Comme décrit dans les documents précités, ainsi que dans les documents FR-A-2 784 188 (1998) et FR-A-2 784 189 (1998), la puce ainsi fonctionnalisée

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

4

est mise en contact avec une solution échantillon à analyser contenant des molécules cibles susceptibles de venir se coupler avec les molécules de reconnaissance du support.

5 Afin de détecter sélectivement les plots sur lesquels il existe un couplage entre les molécules de reconnaissance et les molécules cibles, ces dernières peuvent avantageusement être « marquées » avec une molécule fluorescente, comme par exemple la
10 fluorescéine ou la phycoérythrine qui présente une absorption à 543 nm et une émission à 580 nm, dont la présence peut ensuite être détectée à l'aide d'un dispositif optique adéquat.

Malheureusement, le polypyrrole possède une
15 absorption non négligeable dans le domaine de longueurs d'onde d'émission du marqueur fluorescent utilisé. Cet inconvénient est largement décrit dans la littérature relative à la technique en cause.

En effet, Arwin et al., dans la référence [1],
20 mesurent sur un film de polypyrrole de 22 nm d'épaisseur sur or, un indice d'extinction $k = 0,3$, pour un indice de réfraction $n = 1,45$; Kim et al., dans la référence [2], mesurent une extinction $k = 0,3$ et un indice $n = 1,6$ à $\lambda = 632,8$ nm, pour un film de
25 polypyrrole de 47 nm d'épaisseur ; Kim et al., dans la référence [3], mesurent sur un film de polypyrrole de 54 nm à l'état oxydé un indice $n = 1,45$ pour une extinction $k = 0,28$, et sur un film de 47 nm à l'état réduit un indice $n = 1,6$ pour une extinction $k = 0,21$;
30 et Guedon et al., dans la référence [4], mesurent sur un film de polypyrrole sur or et pour des épaisseurs du

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

5

film comprises entre 7,5 et 20 nm, un indice $n = 1,7$
pour une extinction $k = 0,3$ à 633 nm.

En conséquence, le polypyrrole utilisé pour fixer
les molécules de reconnaissance absorbe une large
5 partie du signal de fluorescence des molécules cibles
couplées. Il interfère donc avec le mode de détection.

En outre, les molécules cibles et leurs marqueurs
étant inclus dans le polypyrrole, en particulier du
fait que les molécules de reconnaissance ont été fixées
par co-polymérisation, cette absorption parasite relève
10 la valeur de la limite inférieure de détection pouvant
être atteinte par ce procédé.

Dans le domaine du diagnostic par exemple, cet
inconvenient est très gênant, puisque c'est précisément
15 aux faibles concentrations en molécules cibles, donc
aux faibles concentrations surfaciques en marqueurs
fluorescents, que la biopuce présente tout son intérêt.

Exposé de l'invention

20 La présente invention a notamment pour but de
fournir un substrat revêtu d'un film mince transparent
et un procédé de fabrication de ce substrat revêtu du
film qui d'une part répond aux problèmes techniques
posés dans l'art antérieur concernant les biopuces, et
25 d'autre part fournit un nouvel outil puissant dans les
domaines du contrôle qualité, de la certification et de
l'authentification d'objets quelconques.

Le substrat revêtu d'un film de la présente
invention est caractérisé en ce que le film est un
30 polymère organique isolant électrique et transparent
dans au moins une gamme de longueurs d'ondes, et en ce

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

6

que ledit film est associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes.

En effet, les inventeurs ont mis en évidence que, de manière inattendue, le caractère de conducteur
5 électrique et la forte extinction optique sont reliés.

Ainsi, selon la présente invention, par « transparent », on entend transparent à la longueur d'onde de détection du marqueur utilisé conformément à la présente invention.

10 Selon un premier mode de réalisation de la présente invention, la gamme de longueur d'onde dans laquelle le polymère isolant doit être transparent selon la présente invention est déterminée en fonction du marqueur utilisé par exemple dans les applications
15 précitées.

En particulier, une fois le marqueur choisi, et donc la longueur d'onde d'émission du marqueur, il est aisé de déterminer la valeur de l'extinction de tel ou tel polymère à la longueur d'onde voulue, par exemple
20 par ellipsométrie spectroscopique ou en spectrophotométrie, et d'examiner s'il est utilisable selon l'invention.

Selon ce premier mode de réalisation de la présente invention, c'est donc le polymère isolant qui
25 est choisi en fonction du marqueur.

Selon un deuxième mode de réalisation de la présente invention, après avoir choisi un polymère isolant, la gamme de longueur d'onde dans laquelle il est transparent est déterminée, puis en fonction de
30 cette gamme de longueur d'onde, un marqueur émettant dans ladite gamme de transparence du polymère est

sélectionné.

Selon ce deuxième mode de réalisation de la présente invention, c'est donc le marqueur qui est choisi en fonction du polymère.

5 Selon la présente invention, tous les polymères isolants sont donc susceptibles d'être utilisés en tant que films transparents sur au moins une gamme de longueurs d'onde.

Parmi ceux-ci, on peut citer, à titre d'exemple
10 non limitatif, les polymères, co-polymères vinyliques et leurs mélanges, réticulés ou non réticulés, et notamment les polymères, co-polymères et leurs mélanges, réticulés ou non réticulés, de
15 l'acrylonitrile, du méthacrylonitrile, du méthyl méthacrylate, de l'éthyl méthacrylate, du propyl méthacrylate, du butyl méthacrylate, de l'hydroxyéthyl méthacrylate, de l'hydroxypropyl méthacrylate, du cyanoacrylate, de l'acide acrylique, de l'acide méthacrylique, du styrène, du parachloro styrène, de la
20 N-vinyl pyrrolidone, des halogénures de vinyle, du chlorure d'acryloyle, du chlorure de méthacryloyle.

On peut citer aussi, à titre d'exemple non limitatif, les polymères réticulés ou non réticulés choisis parmi les polyacrylamides, les polymères de
25 l'isoprène, de l'éthylène, du propylène, de l'oxyde d'éthylène et des molécules à cycles tendus, de l'acide lactique ou de ses oligomères, des lactones, de l'é-caprolactone, de l'acide glycolique, les polyamides, les polyuréthanes, le parylène et les polymères à base
30 parylène substitué, les oligopeptides et les protéines, ainsi que les pré-polymères, macromères ou

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

8

téléchéliques basés sur ces polymères, ainsi que les co-polymères et/ou mélanges pouvant être formés à partir des monomères de ces polymères ou de ces polymères eux-mêmes.

5 Le choix du polymère isolant à utiliser pour l'application considérée, par exemple parmi les polymères isolant précités, peut ensuite être déterminé par des considérations autres que celles strictement reliées aux propriétés optiques du matériau.

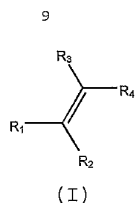
10 Ainsi, selon l'invention, le polymère peut être sélectionné, dans la gamme des polymères utilisables selon l'invention, par exemple parmi un polymère capable d'adhérer sur un substrat, un polymère capable d'être fonctionnalisé, un polymère ayant des propriétés
15 thermo-élastiques, etc.

Parmi les polymères isolants précités, les inventeurs ont porté leur attention plus spécialement sur les polymères vinyliques, du fait qu'ils peuvent facilement être fabriqués par différents types de
20 réactions, par exemple ioniques ou radicalaires, notamment en films minces, et qu'ils peuvent également être obtenus par voie électrochimique, et être électrogréffés sur des surfaces conductrices ou semi-conductrices de l'électricité.

25 Les polymères vinyliques sont obtenus par polymérisation de monomères de formule générique (I) suivante :

WO 03/034101

PCT/FR02/03538



dans laquelle R_1 , R_2 , R_3 et R_4 sont des atomes
5 d'hydrogène ou des groupements organiques de toute
nature, par exemple parmi les hydrocarbures choisis par
exemple parmi les alcanes, alcènes, alcynes ; par
exemple les amides, aldéhydes, cétones, acides
10 carboxyliques, esters, halogénures d'acide, anhydrides,
nitriles, amines, thiols, phosphates, les éthers, les
aromatiques homo- ou hétéro-cyclique ou tout groupement
cyclique comportant ces fonctions, ainsi que tout
groupement portant plusieurs de ces fonctions ;

ou par polymérisation d'un mélange de différents
15 monomères répondant à la formule (I) ci-dessus.

Dans les exemples non limitatifs de réalisation de
la présente invention exposés ci-dessous, les
propriétés optiques du polyméthacrylonitrile (PMAN)
avec $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = CH_3$ et $R_4 = CN$, et du
20 polyméthylméthacrylate (PMMA) avec $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = CH_3$
et $R_4 = C(=O)OCH_3$ ont été examinés. Ces deux monomères
peuvent conduire à des polymères isolants électro-
greffés sur des surfaces conductrices, par électro-
réduction en milieu organique aprotique.

25 Selon l'invention, dans une application
particulière, les polymères vinyliques peuvent être
greffés, éventuellement de façon sélective et

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

10

localisée, sur les surfaces conductrices ou semi-conductrices d'un substrat, par électro-greffage de monomères vinyliques, ce qui les rend intéressants comme substituts aux polypyrroles dans une application
5 biopuce.

Ces polymères peuvent être déposés sur tous types de surfaces suivant l'application de la présente invention, par les divers procédés connus de l'homme du métier pour déposer des film minces de polymères,
10 telles que les techniques de revêtement par centrifugation (« spin-coating ») ; de trempage («dipping») ; de vaporisation sous ultra-vide ; de dépôts CVD ; de polymérisation chimique de surface, comme décrit, par exemple, dans les brevets US4421569,
15 US5043226 ou encore US5785791 ; de greffage photochimique de polymères sur surfaces, comme décrit par exemple dans les demandes de brevets WO-A-9908717 et WO-A-9916907 ; de greffage de polymères sous irradiation de particules ou de photons ; de greffage
20 chimique sur une surface d'oxyde ou d'un autre polymère, soit directement, soit via des agents de couplage chimique (tels que les thiols, les silanes...etc.) ; de dépôts consécutifs à une polymérisation causée par des initiateurs, notamment
25 radicalaires, obtenus in situ par électrochimie ; ...etc.

Selon un mode de réalisation particulier de l'invention, on peut par exemple obtenir un dépôt de polymère transparent en couche mince en polarisant une surface conductrice ou semi-conductrice dans une
30 solution ou dans un gel contenant notamment des sels de diazonium et des monomères polymérisables par voie

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

11

radicalaire.

Selon un mode de réalisation avantageux, de tels films de polymères sont greffés sur la surface du substrat, notamment en films minces, c'est-à-dire avec des épaisseurs inférieures au micromètre, par exemple comprises entre 1 et 100 nm.

D'autres épaisseurs sont possibles dans le cadre de la présente invention telle qu'elle est définie dans les revendications annexées.

Il peut s'agir soit de films de polymères préformés greffés sur la surface par exemple par voie chimique, électrochimique ou encore photochimique, en une ou plusieurs étapes, soit de films construits directement sur la surface à partir de monomères précurseurs, initiés par exemple par voie chimique, électrochimique ou photochimique.

Ce greffage peut être opéré, selon les caractéristiques physico-chimiques du procédé utilisant la présente invention, sur des surfaces isolantes, conductrices ou semi-conductrices de l'électricité.

Selon un mode de réalisation privilégié, des films ultra-minces de polymères transparents peuvent être obtenus sur des surfaces conductrices ou semi-conductrices de l'électricité par électro-greffage de monomères vinyliques, par exemple tel que décrit dans la demande de brevet EP-A- 038 244.

Selon la présente invention, le marqueur peut être n'importe quel marqueur pourvu qu'il puisse être associé à un polymère organique isolant électrique, conformément à la présente invention, ledit polymère devant être transparent dans au moins la gamme de

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

12

longueurs d'ondes d'émission du marqueur.

Par exemple, le marqueur peut être un marqueur fluorescent, phosphorescent ou chimiluminescent.

Il peut s'agir par exemple d'un marqueur choisi
5 parmi la fluoescéine, les fluoescéines substituées
telles que la fluoescéine diacetate, les 5- et 6-
carboxyfluoescéines, les 5- et 6-carboxyfluoescéine
diacetate, l'ester de succinimidyle des 5- et 6-
carboxyfluoescéines...etc. ; la rhodamine et les
10 rhodamines substituées ; la coelenterazine et les
coelenterazines substituées ; l'aequorine ; la
luciférine et les luciférines substituées ; les bromo
chloro indoxyl phosphates (BCIP) ; le luminol ; la
Nonylacridine orange (NAO) ; le chlorure de 5, 5', 6 ,
15 6'-tetrachloro-1, 1', 3, 3'-tetraethyl-benzimidazolyl
carbocyanine ; l'iodure de 4-(4-
ditetradecylaminostyryl)-N-methylpyridinium,
le perchlorate de 1,1'-dioctadecyl-3,3',3'-tetramethyl
indocarbocyanine, l'hydroxyethanesulfonate de 3,3'-
20 dihexa decyloxa carbocyanine, le bis-(1,3-dibarbituric
acid)-trimethine oxanol, les sels de tétrazolium, les
complexes du calcium, du potassium, l'antraquinone,
l'antracène, le pyrène, la doxorubicine, la
phycoérythrine, les porphyrines, les phtalocyanines et
25 plus généralement les complexes organométalliques, les
protéines fluorescentes et en particulier les GFP,
Green Fluorescent Proteins (K.F. Sullivan, S.A. Kay,
« Methods in cell biology : Volume 58 : Green
fluorescent proteins », Academic Press, 1999), les sels
30 de minéraux fluorescents (et notamment les sels
d'uranium) ainsi que toute molécule possédant un

groupement fluorophore. Un marqueur chimiluminescent est un marqueur qui émet une fluorescence lorsqu'il qu'il est mis en présence d'une autre molécule. Ces marqueurs sont connus de l'homme du métier, il peut 5 s'agir par exemple du couple biotine-avidine couramment utilisé en biologie moléculaire.

La quantité de marqueurs peut être très faible compte tenu du choix du polymère organique isolant électrique associé. Par exemple, le marqueur peut être 10 à une concentration de l'ordre du nano- au µmolaire, par exemple de 1 nmolaire à 10 µM.

Selon l'invention, par « marqueur associé », on entend marqueur mélangé au film de polymère organique isolant, ou fixé sur le(s) monomère(s), par exemple 15 préalablement fonctionnalisé(s) servant à la fabrication du film de polymère, ou fixé à la surface du film directement ou indirectement, ou piégé dans le film de polymère lors de la fabrication de ce dernier sur la surface, ou simplement déposé sur le film au 20 moyen d'une solution du marqueur.

Par exemple dans les applications contrôle de qualité, certification ou authentification le marqueur peut être mélangé au polymère organique isolant, ou inséré après dépôt du polymère par trempage dans une 25 solution d'un solvant gonflant du polymère contenant le marqueur, ou inséré lors de la synthèse en effectuant la polymérisation en présence du marqueur dans le milieu de synthèse, ou inséré lors de la synthèse en effectuant la polymérisation avec des monomères ou co- 30 monomères chimiquement fonctionnalisés avec le marqueur, ou déposé sur le polymère au moyen d'une

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

14

solution de marqueurs.

Par exemple dans les applications relatives aux biopuces, le marqueur peut être associé par greffage directement sur le film, ou indirectement sur des
5 molécules de reconnaissance greffées sur le film de polymère organique isolant.

Ainsi, la présente invention permet, par exemple, de résoudre les problèmes de l'art antérieur précité concernant les biopuces, en substituant le polypyrrole couramment utilisé par un polymère isolant conformément à la présente invention, et exemple par un polymère
10 vinylique. En effet, comme démontré ci-après dans les exemples de réalisation de la présente invention, ces polymères isolants possèdent des extinctions 10 à 100
15 fois plus faibles que les polymères conducteurs tels que le polypyrrole, ce qui réduit considérablement leur interférence avec un marqueur dans les procédés de détection utilisant une puce, par exemple une biopuce.

En conséquence, la présente invention permet de
20 fabriquer des puces de détection beaucoup plus sensibles que celles de l'art antérieur, en abaissant la limite inférieure de détection par exemple par rapport aux puces utilisant le polypyrrole ou un autre polymère conducteur.

Ces puces de détection pourront être fabriquées par tous moyens connus, sauf que les films conducteurs déposés sur les substrats seront à remplacer par des
25 films isolants choisis conformément à la présente invention.

La présente invention porte également sur
30 l'utilisation de tels films minces organiques

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

15

transparentes.

De façon générale, un tel revêtement est capable d'héberger un marqueur, par exemple fluorescent, phosphorescent ou chimiluminescent choisi dans le domaine du spectre électromagnétique correspondant à sa zone de transparence, et d'autoriser la détection de ce marqueur même, et surtout, lorsque ce marqueur est présent à de très faibles concentrations dans ou sur le film organique, et ceci grâce aux propriétés de transparence optique du film polymère organique isolant choisi.

Ainsi, la présente invention se rapporte à l'utilisation d'un film de polymère organique isolant électrique et transparent dans au moins une gamme de longueurs d'ondes associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes dans un procédé de détection d'une espèce chimique.

Le film de polymère organique isolant de la présente invention peut en effet être fonctionnalisé avec des molécules de reconnaissance de l'espèce chimique telles que des acides nucléiques, des protéines, des antigènes, des anticorps, des molécules organiques de synthèse etc. Par exemple, dans un procédé de détection par biopuce, l'espèce chimique peut être de l'ADN.

Le film de polymère organique isolant de la présente invention peut aussi servir d'encapsulant de molécules, par exemple bioactives comme la doxorubicine, dont la structure moléculaire est telle que ces molécules sont fluorescentes. Dans cette application, la molécule possède deux propriétés à elle

seule : celle liée à sa bioactivité et celle liée à son caractère fluorescent.

De manière plus générale, la présente invention se rapporte à l'utilisation du film de polymère organique isolant électrique et transparent de la présente invention dans au moins une gamme de longueurs d'ondes associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes dans un moyen de détection d'une espèce chimique.

Comme exposé ci-dessus, le moyen de détection peut être une biopuce, telle qu'une puce à ADN, une puce à protéines, un capteur chimique etc.

La présente invention se rapporte également à l'utilisation du film de polymère organique isolant électrique et transparent de la présente invention dans au moins une gamme de longueurs d'ondes associé à un marqueur émettant dans ladite gamme de longueurs d'ondes dans un procédé choisi parmi un procédé de contrôle qualité, un procédé de certification ou un procédé d'authentification d'un objet.

Dans le contrôle qualité d'un procédé industriel de dépôt de films polymères isolants minces, par exemple, il est primordial de pouvoir caractériser l'épaisseur du revêtement. Sur des films minces, notamment lorsque ces films ont une épaisseur inférieure à 100 nm, il est nécessaire de recourir à des techniques coûteuses et lentes comme la profilométrie ou l'ellipsométrie pour obtenir des mesures fiables des épaisseurs. En outre, les appareils de mesure rapide ont souvent une limite inférieure de détection supérieure au micron. De plus, lorsque les

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

17

échantillons à qualifier sont de forme complexe (micro-billes, grillages, poudres...etc), les mesures, par exemple par profilométrie ou ellipsométrie, sont délicates.

5 En associant, selon la présente invention, un film polymère et un marqueur par exemple fluorescent, phosphorescent ou chimiluminescent, il est possible d'obtenir de manière très simple une mesure indirecte de l'épaisseur du film en mesurant l'intensité de
10 fluorescence émise.

Ceci peut être réalisé, par exemple, en soumettant l'objet sur lequel a été déposé le film de polymère associé au marqueur selon la présente invention à une irradiation par une source lumineuse dont le spectre
15 contient au moins la longueur d'onde d'absorption du fluorophore, et en mesurant l'intensité de la fluorescence émise, sur la longueur d'onde d'émission du fluorophore.

Il suffit pour cela de réaliser au préalable une
20 courbe de calibration, ou courbe étalon, sur laquelle on porte l'intensité de fluorescence d'un film associé à un marqueur fluorescent en fonction de l'épaisseur du film mesurée par profilométrie ou l'ellipsométrie pour différents échantillons plans recouverts du film
25 polymère selon le procédé industriel de dépôt en question, le marqueur étant associé au film à une concentration choisie et identique pour tous les échantillons.

A partir de cette courbe étalon, la mesure de
30 l'intensité de fluorescence émise par un même film polymère fabriqué par le procédé industriel en question

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

18

et comprenant la concentration choisie et identique aux échantillons précités en marqueur, suffit pour déterminer si le film présente l'épaisseur requise, c'est à dire s'il répond ou non au cahier des charges en termes d'épaisseur, à partir de la connaissance de l'aire dudit objet.

Si cette aire n'est pas connue, le même protocole fournit au moins un moyen de contrôle en ligne de la reproductibilité de la méthode industrielle de dépôt d'un film polymère.

Le contrôle de l'épaisseur des films selon la présente invention peut donc être réalisé en un temps très court à partir d'une courbe étalon.

Dans cette application contrôle qualité, la présente invention exploite les propriétés actives du revêtement du fait de l'intervention d'un fluorophore.

La présente invention peut également être utilisée dans la certification ou l'authentification d'un objet. Pour cela, il suffit de déposer sur ledit objet un film d'un polymère organique isolant électrique et transparent dans au moins une gamme de longueurs d'ondes, associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes selon la présente invention. Ainsi, par une simple mesure de fluorescence, il est possible de déterminer si l'objet est un objet authentique, c'est à dire comportant le film associé au marqueur, ou s'il s'agit d'une copie dudit objet.

L'établissement d'une contrefaçon est souvent délicat, puisque de nombreux procédés se différencient aussi bien sur la pièce traitée, que par la nature de

l'interface qui a été construite entre le film de polymère et la surface de la pièce non traitée. Cette interface étant enfouie sous le film qui a été déposé, il devient difficile de l'analyser au travers du film déposé, surtout lorsque son épaisseur est supérieure à 10 nm. Dans ce cas, un titulaire d'un titre de propriété industrielle relatif à un procédé de dépôt de films minces peut avantageusement marquer les films de sa fabrication par un marqueur, par exemple fluorescent, phosphorescent ou chimiluminescent, conformément à la présente invention, en concentration suffisamment faible pour qu'un appareil de mesure tel que celui décrit ci-dessus soit nécessaire à sa détection.

Les applications précitées ne sont à considérer qu'à titre d'illustration, et ni ces applications ni le mode opératoire par lequel les polymères isolant constituant le film sont déposés sur la surface des substrats ne sauraient constituer une limitation à l'application de la présente invention.

L'homme de l'art saura, en effet, mesurer, sur d'autres applications, l'importance de la présente invention en associant un ou des revêtement(s) organique(s) d'un ou de plusieurs polymères(s) isolant(s) électrique(s) ayant de faibles extinctions optiques dans une gamme de longueur d'onde et un marqueur émettant dans ladite gamme.

D'autres avantages et caractéristiques de la présente invention apparaîtront encore à l'homme du métier à la lecture des exemples ci-dessous donnés à titre illustratifs et non limitatifs en références au

figures annexées.

Brève description des figures

- La figure 1 est un schéma illustrant le principe
5 de l'ellipsométrie à polarisateur tournant utilisée
pour mesurer l'épaisseur des films de polymère isolant
selon la présente invention.

- Les figures 2 et 3 sont des spectres de mesures
ellipsométriques de l'or, en tant que substrat, pour
10 différents angles d'incidence en degrés :
 $\tan(\Psi) = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.2) et $\cos(\Delta) = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.3),
(λ = longueur d'onde en nm).

- La figure 4 est un graphique regroupant des
mesures d'indice (I) et (N) et de coefficient
15 d'extinction optique (E) et (K) effectuées sur un
substrat d'or seul (Or) et sur un substrat recouvert
d'un film organique, mesurés à un angle de 75° pour
toutes les longueurs d'onde entre 300 et 800 nm.

- Les figures 5 et 6 sont des spectres
20 ellipsométriques d'un substrat de platine sans film de
polymère organique obtenus à partir de mesures
effectuées sur une gamme spectrale s'étendant de 300 à
800 nm avec un pas de 5nm : $\tan(\Psi)=f(\lambda(\text{nm}))$ avec une
incidence de 75° (fig.5) et $\cos(\Delta) = f(\lambda(\text{nm}))$ avec une
25 incidence de 75° (fig.6).

- La figure 7 est un graphique regroupant des
mesures d'indice (I) et (N) et de coefficient
d'extinction optique (E) et (K) effectuées sur un
substrat de platine sans film organique, mesurés à un
30 angle de 75° pour toutes les longueurs d'onde entre
300 et 800 nm, ainsi que des valeurs données par le

« Handbook of Optical Constants of Solids » édité par E.D. Palik.

- Les figures 8a), 9a), 10a) et 11a) représentent des spectres ellipsométriques d'un substrat de platine recouvert d'un film de PMAN obtenus à partir de mesures effectuées entre 55 et 75° avec un pas de 5°, la gamme spectrale s'étendant de 300 à 800 nm avec un pas de 5nm : $\tan(\Psi) = f(\lambda(\text{nm}))$, respectivement pour les échantillons AuMAN7, AuMAN24, Au2401 et Au2301.

- Les figures 8b), 9b), 10b) et 11b) représentent des spectres ellipsométriques d'un substrat de platine recouvert d'un film de PMAN obtenus à partir de mesures effectuées entre 50 et 75° avec un pas de 5°, la gamme spectrale s'étendant de 300 à 800 nm avec un pas de 5nm : avec une incidence de 75° (fig.5) et $\cos(\Delta) = f(\lambda(\text{nm}))$, respectivement pour les échantillons AuMAN7, AuMAN24, Au2401 et Au2301.

- La figure 12 est une représentation graphique des mesures de la réflexion (en%) des échantillons à substrat d'or revêtus de différents films polymères organiques isolants électriques et transparents selon l'invention en fonction de la longueur d'onde (en nm).

- Les figures 13a) et 13b) sont des spectres de mesures ellipsométriques effectuées entre 50 et 75° avec un pas de 5°, la gamme spectrale s'étendant de 300 à 800 nm avec un pas de 5 nm, sur un substrat de platine revêtu d'un film de polymère organique conducteur à base de sels de diazonium (échantillon 0101Pt6), pour différents angles d'incidence en degrés : $\tan(\Psi)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.13a) et $\cos(\Delta)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.13b).

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

22

- Les figures 14a) et b) sont des spectres de mesures ellipsométriques effectuées entre 50 et 75° avec un pas de 5°, la gamme spectrale s'étendant de 300 à 800 nm avec un pas de 5 nm, sur un substrat de platine revêtu d'un film de polymère organique conducteur à base de sels de diazonium (échantillon 0101Pt14), pour différents angles d'incidence en degrés : $\tan(\Psi)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.14a)) et $\cos(\Delta)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.14b)).

10 - La figure 15 représente les résultats de mesures spectrophotométriques destinées à déterminer la réflexion d'un échantillon de platine revêtu d'un film organique conducteur à base de sels de diazonium (échantillons 0101Pt6 et 0101Pt14), sur la gamme 400 à 15 800 nm avec une longueur d'onde de référence de 560 nm.

- La figure 16 représente les résultats de mesures spectrophotométriques destinées à déterminer les pertes d'un échantillon de platine revêtu d'un film organique conducteur à base de sels de diazonium (échantillons 20 0101Pt6 et 0101Pt14), sur la gamme 400 à 800 nm avec une longueur d'onde de référence de 560 nm.

- La figure 17 est un schéma de modélisation dipolaire d'un fluorophore en surface : il représente un dipôle de moment dipolaire m placé au-dessus d'une 25 surface x . Trois milieux sont distingués, l'environnement du dipôle, la zone 1 d'indice n_1 , ici le superstrat ; un empilement de couches minces, la zone 2 d'indice n_2 ; et le substrat, la zone 3 d'indice n_3 .

30 - Les figures 18a) et 18b) représentent des modélisations (signal $(ua) = f(\text{épaisseur du polymère})$

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

23

(en nm) du signal de fluorescence d'un dipôle fluorophore placé en surface d'un film organique selon deux orientations, parallèle (//) (figure 18a) et perpendiculaire (⊥) (figure 18b) à la surface. Sur ces figures, cas 1 : $n = 1,5$ et $k = 0,02$; cas 2 : $n = 1,5$ et $k = 0,003$; cas 3 : $n = 1,5$ et $k = 0,0$ (valeur extrême) ; le cas 4 modélise un film organique conducteur typique, comme ceux obtenus à partir de sels de diazonium : $n = 1,5$ et $k = 0,4$. Sur ces figures, l'axe des abscisses représente « e » l'épaisseur du film de polymère, et l'axe des ordonnées « s » le signal.

- Les figures 19a) et 19b) sont des représentations schématiques de substrats d'or revêtus d'une part d'un film de polypyrrole (figure 19a) conformément à l'art antérieur, et d'autre part d'un film polymère organique isolant (ManAul1) (figure 19b) conformément à la présente invention.

- La figure 20a) est un cliché (objectif x50 - temps de pose : 200 ms) de la fluorescence d'une goutte (0,5 μl d'une solution 1 μM) de fluorophore Cydctp (marque de commerce) de la société Amersham déposée sur un substrat d'or, sur la zone d'or.

- La figure 20b) est un cliché (objectif x50 - temps de pose : 200 ms) de la fluorescence d'une goutte (0,5 μl d'une solution 1 μM) de fluorophore Cydctp (marque de commerce) de la société Amersham déposée sur un film de polypyrrole déposé sur un substrat d'or, sur la zone correspondante au polypyrrole.

- La figure 20c) est un cliché (objectif x50 - temps de pose : 200 ms) de la fluorescence d'une goutte

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

24

(0,5 μ l d'une solution 1 μ M) de fluorophore Cydctp (marque de commerce) de la société Amersham déposée sur un film de polyméthacrylonitrile (MAN) déposé sur un substrat d'or (échantillon AuMan11), sur la zone
5 correspondante au dépôt de MAN.

EXEMPLES

Exemple 1 : Techniques de mesures et de modélisation
10 des propriétés optiques de l'échantillon

Les mesures d'extinction sont effectuées par ellipsométrie spectroscopique. C'est une technique optique non destructive qui permet de caractériser par
15 détermination de l'indice et de l'épaisseur, des dépôts de matériaux minces en exploitant les modifications que ceux-ci font subir à la polarisation de la lumière.

Lorsqu'un faisceau est réfléchi à la surface d'un échantillon, son état de polarisation est modifié. En effet, en incidence oblique, le champ électrique d'une
20 onde lumineuse se décompose selon deux directions propres dont l'une est perpendiculaire au plan d'incidence (onde S) et l'autre parallèle à ce plan (P). Ces deux ondes interagissent différemment avec la surface de l'échantillon et font apparaître les
25 coefficients de réflexion, en amplitude, r_s et r_p selon qu'il s'agisse des ondes S ou P.

Le changement d'état de polarisation, qui résulte de la différence de comportement en amplitude et en phase des ondes S et P, peut alors être caractérisé par
30 p selon l'équation eq1 suivante :

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

25

$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \tan(\Psi)e^{i\Delta} \quad \text{eq1}$$

$\tan(\Psi)$ représente un rapport d'amplitude et Δ une différence de phase entre les polarisations S et P.

L'ellipsomètre utilisé est le GESPE5 (marque de commerce) de la société SOPRA. Il permet de mesurer les paramètres $\tan(\Psi)$ et $\cos(\Delta)$ en fonction de la longueur d'onde, d'où le terme « ellipsométrie spectroscopique », et/ou de l'angle d'incidence θ du faisceau lumineux d'analyse. Le principe de fonctionnement de l'ellipsomètre à polarisateur tournant utilisé est exposé sur la figure 1.

Sur cette figure, S représente une source lumineuse, s et p les vecteurs de polarisation de la lumière incidente, P et A des polariseurs tournants, et D un détecteur.

Au moyen d'une modélisation de l'échantillon, on peut calculer les caractéristiques de ce dernier à l'aide d'algorithmes de régression sur les mesures données par l'ellipsomètre.

Pour caractériser les échantillons, épaisseur e, indice n et extinction k, nous avons procédé par régression des mesures ellipsométriques à l'aide d'un logiciel de lissage par régression non linéaire dans le plan complexe avec une loi non dispersive, puis avec un modèle d'oscillateurs de Lorentz.

La cohérence des résultats a été vérifiée avec les mesures spectrophotométriques.

Exemple 2 : Echantillons examinés

Les mesures ont été effectuées sur huit

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

26

échantillons différents, dont les caractéristiques sont résumées dans le Tableau 1.

Trois séries distinctes d'échantillons ont été analysées :

5 - une série de films de PMAN électro-greffés sur or, d'épaisseur variant entre 9 et 150 nm. Ces films sont obtenus par électro-réduction d'une solution à 2,5 M de méthacrylonitrile dans l'acétonitrile anhydre sur électrode d'or, en présence de 5×10^{-3} M de perchlorate de tétra-éthylammonium (TEAP) comme électrolyte support. L'électro-réduction a lieu en conditions voltamétriques entre -0,3 et -2,6 V/(Ag⁺/Ag) à 100 mV/s, en compartiments non séparés, avec une contre-électrode de platine de grande surface. Les 10 différentes épaisseurs sont obtenues en variant le nombre de balayages voltamétriques ;

- deux films de PMMA électro-greffés sur or, l'un d'épaisseur 100 nm, l'autre épais (épaisseur > 0,5 µm). Ces films sont obtenus par électro-réduction d'une 20 solution de méthacrylate de méthyle, dans les mêmes conditions que pour les films de PMAN ;

- deux films obtenus par électro-réduction d'une solution à 10^{-3} M de tétrafluoroborate de para-nitrophényldiazonium (PNPD) dans l'acétonitrile anhydre 25 sur électrode de platine, en présence de 5×10^{-3} M de TEAP comme électrolyte support. Les balayages de potentiels sont appliqués de + 0,3 V/(Ag⁺/Ag) à -2,9 V/(Ag⁺/Ag), à -200 mV/s. Deux films, d'épaisseurs respectives 3 et 30 nm sont obtenus par ce protocole.

30 Cette dernière série d'échantillons a été choisie car les films organiques obtenus par électro-greffage

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

27

de PNPD sont conducteurs de l'électricité, contrairement aux films des deux premières séries. En outre, les mesures ellipsométriques seront également comparées à celles obtenues sur un film de polypyrrole en tant que polymère conducteur.

Les épaisseurs des différents films reportées dans le Tableau I ci-dessous sont mesurées par profilométrie. Dans ce tableau sont également reportées les rugosités arithmétiques, mesurées par profilométrie, selon deux parcours de pointe: 500 μm et 2 mm.

Tableau I : Références et caractéristiques des échantillons utilisés dans les exemples de réalisation

Nom	Substrat	Revêtement	Épaisseur (nm)	Ra à 500 μm (nm)	Ra à 2mm (nm)
MANAu 15	Or	Poly-méthacrylonitrile	9	4	0,7
MANAu 24	Or	Poly-méthacrylonitrile	28	3,9	6,5
Au MAN 11	Or	Poly-méthacrylonitrile	50	2,9	2,9
Au MAN 7	Or	Poly-méthacrylonitrile	150	3,4	5,3
Au 2301	Or	Poly-méthyl méthacrylate	100	-	-
Au 2401	Or	Poly-méthyl méthacrylate	Epais	-	-
0101 Pt 14	Pt	Nitro-benzoïque	3	6,5	8,3
0101 Pt 6	Pt	Nitro-benzoïque	30	2,4	2,4

15

Dans ce tableau, les films de polyméthacrylonitrile ou polyméthylméthacrylate sont isolants, et les films nitrobenzoïques sont

conducteurs.

MESURES ELLIPSOMETRIQUES DES SUBSTRATS.

Caractéristiques de la couche d'or (substrat).

5 Les spectres ellipsométriques de l'or sont mesurés pour différents angles d'incidence. Cette manière de procéder permet de juger la qualité du résultat final en fonction des résultats obtenus pour ces différentes valeurs, entre 50° et 75° avec un pas de 5°. Les spectres de mesure s'étalent entre 300 nm et 800 avec 10 un pas de mesure de 5 nm. Ils sont présentés sur les figures 2 et 3 annexées.

La mesure de l'Or a été effectuée sur l'échantillon MANAull, sur la partie non trempée dans 15 le mélange réactionnel et sur laquelle aucun film organique n'a été déposé.

Nous cherchons les valeurs d'indice et d'extinction de cette couche d'or, son épaisseur supérieure au micron permet de l'assimiler, 20 « ellipsométriquement » à un substrat. Nous procédons alors à une inversion, résolution d'équation, des données pour tirer le n et le k de l'or. Cette opération est effectuée pour chaque angle de mesure. On a reporté sur la Figure 4 annexée les indices mesurés à 25 un angle d'incidence de 75° pour toutes les longueurs d'onde entre 300 et 800 nm.

Pour comparaison, les mesures effectuées sur un substrat d'or seul ont également été reportées, indépendamment des échantillons portant un film 30 organique greffé, ce qui permet de contrôler la stabilité des mesures.

Caractéristiques de la couche de platine (substrat).

Les spectres ellipsométriques du Platine sont mesurés dans les mêmes conditions que pour l'Or, angle de mesure entre 50° et 75° avec un pas de 5° et la gamme spectrale s'étend de 300 à 800 nm avec un pas de 5 nm.

La mesure du Platine a été effectuée sur l'échantillon O101Pt6, sur la partie non trempée dans le mélange réactionnel et sur laquelle aucun film organique n'a été déposé.

Les figures 5 ($(\tan\Psi) = f(\lambda(\text{nm}))$, incidence 75°) et 6 ($(\text{Cos}\Delta) = f(\lambda(\text{nm}))$, incidence 75°) sont des représentations graphiques des résultats obtenus à partir de ces mesures.

Nous cherchons les valeurs d'indice et d'extinction de cette couche de Platine, son épaisseur supérieure au micron permet de l'assimiler, d'un point de vue ellipsométrique à un substrat. Nous procédons alors à une inversion des données de la mesure à 75° pour en tirer le n (indice) et le k (coefficient d'extinction). La figure 7 regroupe les résultats d'indice (I) et d'extinction (E) ainsi obtenus. Sur ce graphique, des valeurs données par le « Handbook of Optical Constants of Solids » édité par E.D. Palik ont également été représentées.

Pour les caractérisations des échantillons, nous prendrons comme valeurs de référence du Platine les résultats donnés par la mesure ellipsométrique.

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

30

MESURES ELLIPSOMETRIQUES DES ECHANTILLONS.

Les mesures sont effectuées sur la gamme spectrale 300-800 nm et à $\theta = 60^\circ$.

Résultats ellipsométriques des échantillons sur5 substrat d'or.

Afin d'être plus précis au niveau des résultats, les échantillons AuMAN7, MANAu24, Au2301 et Au2401 ont été mesurés pour des angles variables.

Les mesures effectuées ont permis de construire
10 les spectres représentés sur les figures 8a) et b) pour AuMAN7 ; sur les figures 9a) et b) pour AuMAN24 ; sur les figures 10a) et 10b) pour Au2401 ; et 11a) et b) pour Au2301. Les figures a) correspondent aux mesures $\tan(\Psi)$ multiangles, et les figures b) aux mesures
15 $\cos(\Delta)$ multiangles.

Résultats spectrophotométriques des échantillons sur substrat d'or.

Les échantillons ont été mesurés au
20 spectrophotomètre manuel « Lambda9m » (marque de commerce) afin de déterminer la Réflexion, la Transmission et les Pertes de chacun d'entre eux sur la gamme de longueur d'onde : 400-800 nm avec pour longueur d'onde de référence : 560 nm.

25 Nous constatons que tous les échantillons sur Or ont les mêmes spectres et qu'à 560 nm : $72,5\% < R < 84,2\%$; $T=0$ et $15\% < P < 27,5\%$. Ces résultats sont regroupés dans le tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2 : Réflexion (R), transmission (T) et pertes (P) à 560nm pour les échantillons sur or

Echantillon	à 560 nm		
	R (%)	T(%)	P(%)
MANAu 11	72,55	0	27,46
MANAu 15	81,32	0,02	18,66
MANAu 24	75,45	0,03	24,51
AUMAN 7	79,96	0	20,05
Au 2301	77,54	0,0207	22,44
Au 2401	84,19	0,04	15,77

5 La figure 12 annexée est une représentation graphique des mesures de la réflexion (en%) effectuées sur ces échantillons à substrat d'or revêtus de différents films polymères organiques isolants électriques et transparents selon l'invention en
10 fonction de la longueur d'onde (en nm).

Nous constatons que tous les échantillons sur or ont les mêmes spectres et qu'à 560 nm : $72,5\% < R < 84,2\%$; $T=0$ et $15,7\% < P < 27,5\%$. On constate en particulier, que ces films isolants ont peu
15 de pertes sur une large gamme de longueurs d'onde. Cette observation deviendra plus nette encore en comparant aux résultats obtenus avec les films de PNPD conducteurs.

Résultats ellipsométriques des échantillons sur substrat de platine.

Les figures 13a) et 13b) représentent les spectres des mesures ellipsométriques effectuées entre 50 et 75° avec un pas de 5°, la gamme spectrale s'étendant de 300 à 800 nm avec un pas de 5 nm, sur les échantillons 0101Pt6, pour différents angles d'incidence en degrés :
5 $\tan(\Psi)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.13a) et
 $\text{Cos}(\Delta)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.13b)).

Les figures 14a) et b) représentent les spectres des mesures ellipsométriques effectuées entre 50 et 75° avec un pas de 5°, la gamme spectrale s'étendant de 300 à 800 nm avec un pas de 5 nm, sur les échantillons 0101Pt14, pour différents angles d'incidence en degrés :
10 $\tan(\Psi)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.14a) et
15 $\text{Cos}(\Delta)_{\text{multiangles}} = f(\lambda(\text{nm}))$ (fig.14b)).

Résultats spectrophotométriques des échantillons sur substrat platine.

Les échantillons ont été mesurés au spectrophotomètre manuel « Lambda9m » (marque de commerce) afin de déterminer la Réflexion, la Transmission et les Pertes de chacun d'entre eux sur la gamme de longueur d'onde : 400-800 nm avec pour
20 longueur d'onde de référence : 560 nm.

Nous constatons que les échantillons sur platine ont des spectres très différents. Les réflexion, transmission et pertes sont résumées dans le Tableau 3 ci-dessous. On observe que les pertes dans les films de PNPd, polymères conducteurs ont un poids beaucoup plus important que dans le cas des films isolants
30

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

33

réalisés sur substrats d'or.

Tableau 3 : Réflexion (R), transmission (T) et pertes (P) à 560nm pour les échantillons sur platine

5

Echantillon	A 560 nm		
	R (%)	T (%)	P (%)
0101Pt14	45,72	0,02	54,26
0101Pt6	57,32	0,02	42,66

La figure 15 représente la réflexion et la figure 16 représente les pertes des échantillons de platine revêtus d'un polymère conducteur 0101Pt6 et 0101Pt14, sur la gamme 400 à 800 nm avec une longueur d'onde de référence de 560 nm.

10

CARACTERISATION DES ECHANTILLONS.

Pour caractériser les échantillons (e, n et k), nous avons procédé par régression des mesures ellipsométriques à l'aide du logiciel SporX (marque de commerce) avec une loi non dispersive, puis avec des oscillateurs de Lorentz. Des résultats cohérents ont été obtenus d'une part entre les deux modèles, et d'autre part avec les mesures spectrophotométriques.

20

Le bilan de ces caractérisations est résumé dans le Tableau 4.

On mesure des coefficients d'extinction très bas pour les films vinyliques isolants ($k < 0,02$), alors que les films de PNPD conducteurs donnent des extinctions au moins 10 fois plus élevées.

25

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

34

A titre de comparaison, les films de polypyrrole d'épaisseur voisine de celles des échantillons mesurés (20 nm) ont un coefficient d'extinction de 0,3 à 0,5, mesuré dans les mêmes conditions.

5

Tableau 4 : Caractéristiques optiques des échantillons

Echantillon	Caractère	ϵ (profil) nm	ϵ (ellipso) nm	N	k
MANAu5	isolant	9	5-6	1,5	0,02
MANAu24	isolant	28	24	1,5	0
AuMAN11	isolant	50	40-46	1,5-1,6	0,003
AuMAN7	isolant	150	149	-	-
Au2301	isolant	100	-	1,1	0,02
Au2401	isolant	(épais)	-	1	0
0101Pt6	conducteur	3	-	1,9	0,1
0101Pt14	conducteur	30	25-30	0,9	0,5

On cherche maintenant à caractériser le signal qui serait émis par un fluorophore adsorbé sur la surface du film.

On présente tout d'abord le bénéfice attendu du fait des faibles extinctions, puis on montre, sur un test simple, que le rendu de fluorescence est effectivement meilleur sur les films de PMAN sur or que sur un film de polypyrrole de même épaisseur.

On modélise le fluorophore comme étant un dipôle électrique, tel que représenté sur la figure 17, c'est à dire la plus petite source envisageable dans le cadre

de la théorie électromagnétique. Cette démarche ne nuit en rien à l'application générale de la question traitée, puisqu'on peut calculer la fonction de Green du problème et recomposer toute source électromagnétique plus complexe comme superposition de dipôles de base. On suppose, de plus, que les champs électromagnétiques ne seront pas quantifiés. La comparaison de modèles théoriques pour modéliser la fluorescence et la luminescence dans des cavités laser, ont montré des résultats quasi-similaires que le point de vue soit classique ou quantique.

Sur la base des résultats du Tableau 4, on simule les cas suivants: cas 1 : $n = 1,5/k=0,02$; cas 2 : $n = 1,5/k = 0,003$; cas 3 : $n = 1,5/k = 0$, (valeur extrême) ; le dernier cas modélise un film organique conducteur typique, comme par exemple les films obtenus à partir de sels de diazonium (échantillons 0101Pt6 et 0101Pt14) : cas 4 : $n = 1,5/k = 0,4$.

Le fluorophore utilisé est la phycoérythrine, absorption = 543 nm et émission = 580 nm, son altitude par rapport à la surface est de 10 nm. Le fluorophore baigne dans un environnement liquide.

On prend en compte deux orientations différentes pour les dipôles : l'une parallèle et l'autre perpendiculaire à la surface. On fait varier l'épaisseur du polymère et on calcule le signal émis dans le milieu ambiant du fluorophore (cas d'un microscope d'analyse de fluorescence très ouvert).

La figure 17 est un schéma de modélisation dipolaire d'un fluorophore en surface : il représente un dipôle de moment dipolaire m placé au-dessus d'une

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

36

surface x . Trois milieux sont distingués, l'environnement du dipôle, la zone 1, ici le superstrat ; un empilement de couche(s) mince(s), la zone 2 ; et le substrat, la zone 3. n_1, ϵ_1 ; n_2, ϵ_2 et n_3, ϵ_3 sont respectivement l'indice et la permittivité diélectrique des zones 1, 2 et 3 ; d représente la distance du dipôle à la surface du polymère et t représente l'épaisseur du polymère.

Les figures 18a) et 18b) représentent des modélisations (signal $(ua)=f(\text{épaisseur du polymère (en nm)})$ du signal de fluorescence d'un dipôle fluorophore placé en surface d'un film organique selon deux orientations, parallèle (figure 18a)) et perpendiculaire (figure 18b)) à la surface. Sur ces figures, cas 1 : $n = 1,5$ et $k = 0,02$; cas 2 : $n = 1,5$ et $k = 0,003$; cas 3 : $n = 1,5$ et $k = 0,0$ (valeur extrême) ; le cas 4 modélise un film organique conducteur typique, comme par exemple les films obtenus à partir de sels de diazonium (échantillons 0101Pt6 et 0101Pt14) : $n = 1,5$ et $k = 0,4$.

Au vu des résultats représentés sur les Figures 18a) et 18b) annexées, on observe un gain d'environ 25 sur le signal avec la présente invention utilisant un film « MAN » avec une orientation parallèle de fluorophores, le cas le plus probable à cause du phénomène de photo-sélection, et de 100 environ pour une orientation perpendiculaire.

Les prévisions de ce modèle sont maintenant testées de façon simple en examinant le signal de fluorescence d'une goutte de marqueur fluorescent sur un film de PMAN (échantillon AuMAN11) déposé sur un

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

37

substrat d'or et en le comparant au même signal sur un film de polypyrrole de même épaisseur déposé sur un substrat d'or. Le fluorophore employé est le Cy₃dctp (marque de commerce) (Amersham) à 1 μ M. Le volume des
5 gouttes est de 0,5 μ l.

Les figures 19a) et 19b) sont des représentations schématiques des substrats d'or revêtus d'une part d'un film de polypyrrole (figure 19a)), et d'autre part d'un film polymère organique isolant (ManAull) (figure 19b))
10 conformément à la présente invention.

Les figures 20a), b) et c) sont les clichés (objectif x50 - temps de pose : 200ms) de la fluorescence sur la zone d'or (figure 20a)), sur le film de polypyrrole (figure 20b)) et sur le film de
15 polyméthacrylonitrile (MAN) obtenus dans cet exemple.

Les points fortement lumineux sur les trois photographies sont soit des agglomérats de fluorophores, soit des poussières fluorescentes. Ces points ne correspondent pas à des fluorophores proches
20 de la surface, c'est à dire quelques nm, ce qui est le cas des biopuces par exemple, mais à des boules de quelques dizaines à quelques centaines de nm. Ça n'est donc pas sur ces points lumineux que la comparaison doit s'effectuer, mais sur le « fond continu » qui
25 entoure ces points.

On observe qu'avec des temps de pose identiques, des récepteurs photographiques de même sensibilité, les mêmes grossissements réalisés avec la même optique, et alors même que la concentration en marqueur est très
30 faible (1 μ m), les fluorophores qui sont en contact « direct » avec la surface ne sont pas « éteints » dans

le cas de l'échantillons AuMAN11 (cliché c)), alors qu'ils le sont sur les zones d'or (cliché a) et sur la zone du revêtement organique conducteur (cliché b)). On observe donc ici directement les propriétés de transparence supérieures des films de PMAN isolants sur les films conducteurs, telles qu'illustrées sur ces figures 20.

Exemple 3 : Obtention d'un dépôt de film de polyméthacrylonitrile par électro-initiation en présence de sels de diazonium

On réalise, sur les mêmes surfaces d'or que celles de l'exemple n°1, un dépôt de films de polyméthacrylonitrile par électro-initiation à partir de sels de diazonium. Ces films sont obtenus par électro-réduction d'une solution à 2,5 M de méthacrylonitrile dans l'acétonitrile anhydre en présence de 5×10^{-2} M de perchlorate de tétraéthylammonium (TEAP) comme électrolyte support et de 10^{-3} M de tétrafluoroborate de 4-nitrophényl diazonium. L'électro-réduction a lieu en conditions voltamétriques entre +0,3 et -1,5 V/(Ag⁺/Ag) à 100 mV/s, en compartiments non séparés, avec une contre-électrode de platine de grande surface. Le nombre de balayages est ajusté de façon à obtenir des films d'une épaisseur de l'ordre de 100 nm.

Les mesures optiques révèlent un coefficient $k < 0,02$, comme observé avec les films de polyméthacrylonitrile obtenus par électro-greffage direct. (cf tableau 4).

Exemple 4 : Procédure de contrôle de reproductibilité

Sur des lames d'or toutes identiques, on fabrique des films de polyméthacrylonitrile d'épaisseur variable truffés avec de la phycoéritrine. Pour cela, on polarise les lames d'or en conditions voltammétriques entre +0,3 et -1,0 V/(Ag⁺/Ag) à 100 mV/s, en compartiments non séparés, avec une contre-électrode de platine de grande surface, dans une solution contenant du méthacrylonitrile à 2,5 M dans l'acétonitrile anhydre, 5x10⁻² M de perchlorate de tétra-éthylammonium (TEAP) comme électrolyte support, et de 10⁻³ M de tétrafluoroborate de 4-nitrophényl diazonium et 1 µM de phycoéritrine. L'épaisseur des films obtenus, mesurée par ellipsométrie, est de 50±5 nm, soit une précision de 10%.

On irradie ensuite chaque lame à 543 nm, et on mesure l'intensité de fluorescence résultante à 580 nm. On mesure des intensités de fluorescence identiques sur toutes les lames, avec une dispersion des mesures inférieure à 15%.

Exemple 5 : Procédure de contrôle qualité

On réalise le dépôt de films de PMAN (polyméthacrylonitrile) d'épaisseur croissante selon la procédure de l'exemple 4 sur des lames d'or de 1 cm². Les différentes épaisseurs, comprises entre 5 et 150 nm sont obtenues en faisant varier le nombre de balayages voltammétriques.

La mesure de fluorescence des revêtements obtenus permet de tracer une courbe de calibration donnant l'épaisseur en fonction de l'intensité/cm².

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

40

On réalise ensuite un dépôt de PMAN de 84 nm (mesure par ellipsométrie) sur une surface d'or de 5 cm². La mesure de fluorescence indique, à partir de la courbe de calibration, une épaisseur de 75 nm, ce qui permet de valider un contrôle correct sans l'aide d'une mesure directe de l'épaisseur.

LISTE DE RÉFÉRENCES

- [1] Arwin et al., *Synthetic Metals* 6 1983 :
"Dielectric Function of Thin Polypyrrole and Prussian
5 Blue Films by Spectroscopic Ellipsometry .
- [2] Kim et al., *Journal of the Electrochemical
Society*, 138(11), 1991 : "Real Time Spectroscopic
Ellipsometry : In Situ Characterization of Pyrrole
Electropolymerization"
- 10 [3] Kim et al., *Bulletin of the Korean Chemical
Society*, 17(8), 1996 : "Polypyrrole Film Studied by
Three-Parameter Ellipsometry".
- [4] Guedon et al., *Analytical Chemistry*, 22,
6003-6009, 2000 : "Characterization and Optimization of
15 a Real-Time, Parallel, Label-Free, Polypyrrole-Based
DNA Sensor by Surface Plasmon Resonance Imaging".

20

25

REVENDICATIONS

1. Substrat revêtu d'un film caractérisé en ce que le film est un polymère organique isolant électrique et transparent dans au moins une gamme de longueurs d'ondes, et en ce que ledit film est associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes.
2. Substrat revêtu d'un film selon la revendication 1, dans lequel le film comprend un polymère isolant choisi parmi les polymères vinyliques.
3. Substrat revêtu d'un film selon la revendication 1, dans lequel le film comprend un polymère isolant choisi parmi les polymères réticulés ou non réticulés de l'acrylonitrile, du méthacrylonitrile, du méthyl méthacrylate, de l'éthyl méthacrylate, du propyl méthacrylate, du butyl méthacrylate, de l'hydroxyéthyl méthacrylate, de l'hydroxypropyl méthacrylate, du cyano acrylate, de l'acide acrylique, de l'acide méthacrylique, du styrène, du parachloro styrène, de la N-vinyl pyrrolidone, et des halogénures de vinyle.
4. Substrat revêtu d'un film selon la revendication 1, dans lequel le film comprend un polymère isolant réticulé ou non réticulé choisi parmi les polyacrylamides, les polymères de l'isoprène, de l'éthylène, du propylène, de l'oxyde d'éthylène et des molécules à cycles tendus, de l'acide lactique ou de

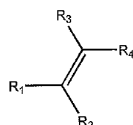
WO 03/034101

PCT/FR02/03538

43

ses oligomères, des lactones, de l' ϵ -caprolactone, de l'acide glycolique, de l'acide aspartique, les polyamides, les polyuréthanes, le parylène et les polymères à base parylène substitué, les oligopeptides et les protéines, ainsi que les pré-polymères, macromères ou téléchéliques basés sur ces polymères, ainsi que les co-polymères et/ou mélanges pouvant être formés à partir de ces polymères.

10 5. Substrat revêtu d'un film selon la revendication 1, dans lequel le film est un polymère vinylique obtenu par polymérisation d'un monomère de formule (I) suivante :



15

(I)

dans laquelle R₁, R₂, R₃ et R₄ sont indépendamment des atomes d'hydrogène ou des groupements organiques tels que les hydrocarbures choisis parmi les alcanes, alcènes, alcynes ; les amides, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques, esters, halogénures d'acide, anhydrides, nitriles, amines, thiols, phosphates, les éthers, les aromatiques homo- ou hétéro-cyclique ou tout groupement cyclique comportant ces fonctions, ainsi que tout groupement portant plusieurs de ces fonctions, ou d'un mélange de différents monomères répondant à ladite formule (I).

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

44

6. Substrat revêtu d'un film selon la revendication 1, dans lequel le film est du polyméthacrylonitrile ou du polyméthylméthacrylate.
- 5 7. Substrat revêtu d'un film selon la revendication 1, dans lequel le marqueur est choisi parmi un marqueur fluorescent, un marqueur phosphorescent ou un marqueur chimiluminescent.
- 10 8. Utilisation d'un film de polymère organique isolant électrique et transparent dans au moins une gamme de longueurs d'ondes associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes dans un procédé de détection d'une espèce
15 chimique.
9. Utilisation selon la revendication 8, dans laquelle le film de polymère organique isolant est fonctionnalisé avec des molécules de reconnaissance de
20 l'espèce chimique.
10. Utilisation selon la revendication 8, dans laquelle l'espèce chimique est de l'ADN.
- 25 11. Utilisation d'un film de polymère organique isolant électrique et transparent dans au moins une gamme de longueurs d'ondes associé à un marqueur émettant au moins dans ladite gamme de longueurs d'ondes dans un moyen de détection d'une espèce
30 chimique.

WO 03/034101

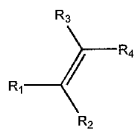
PCT/FR02/03538

45

12. Utilisation selon la revendication 11, dans laquelle le moyen de détection est une biopuce.

13. Utilisation d'un film de polymère organique isolant électrique et transparent dans au moins une gamme de longueurs d'ondes associé à un marqueur émettant dans ladite gamme de longueurs d'ondes dans un procédé choisi parmi un procédé de contrôle qualité, un procédé de certification ou un procédé d'authentification d'un objet.

14. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 8 à 13, dans laquelle le film est un polymère vinylique obtenu par polymérisation d'un monomère de formule (I) suivante :



(I)

20 dans laquelle R₁, R₂, R₃ et R₄ sont indépendamment des atomes d'hydrogène ou des groupements organiques tels que les hydrocarbures choisis parmi les alcanes, alcènes, alcynes ; les amides, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques, esters, nitriles, amines, thiols, phosphates, les éthers, les aromatiques homo- ou hétéro-cyclique ou tout groupement cyclique comportant ces fonctions, ainsi que tout groupement portant plusieurs de ces fonctions,

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

46

ou d'un mélange de différents monomères répondant à ladite formule (I).

15. Utilisation selon la revendication 14, dans
5 laquelle le film est du polyméthacrylonitrile ou du polyméthylméthacrylate.

16. Utilisation selon la revendication 14, dans
laquelle le marqueur est choisi parmi un marqueur
10 fluorescent, un marqueur phosphorescent ou un marqueur chimiluminescent.

1/13

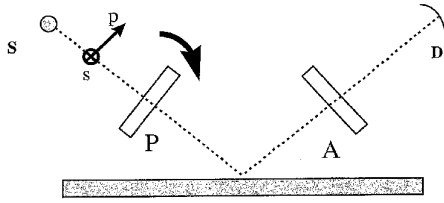


FIG. 1

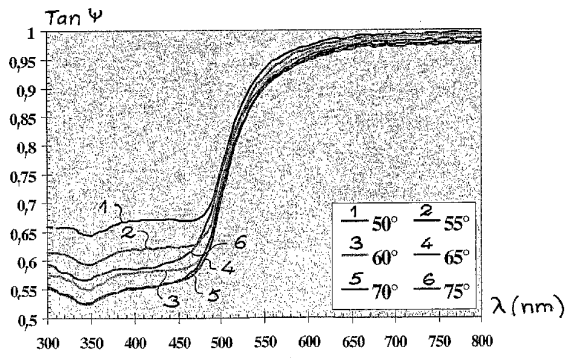


FIG. 2

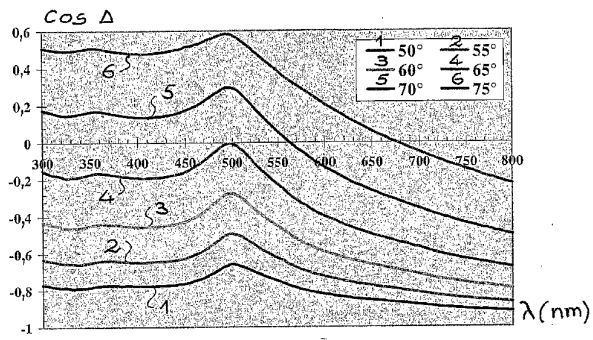


FIG. 3

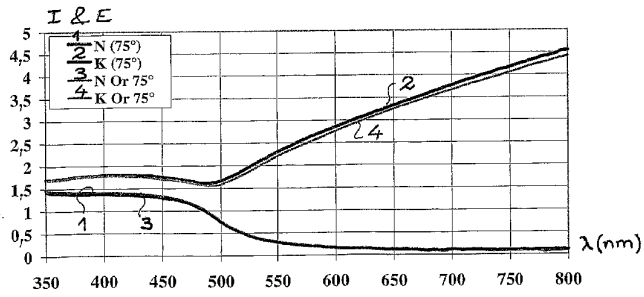


FIG. 4

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

3/13

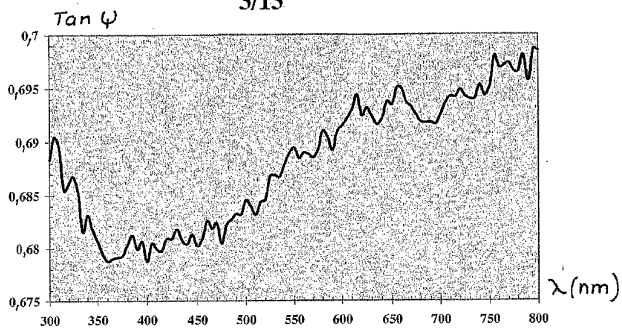


FIG. 5

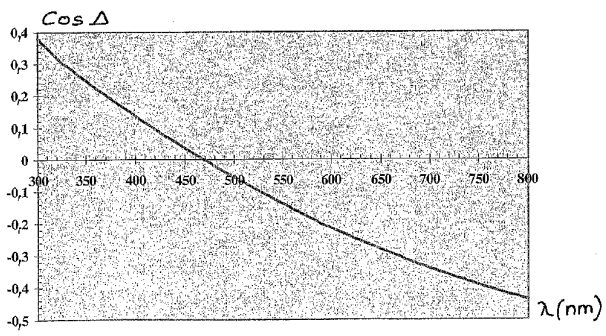


FIG. 6

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

4/13

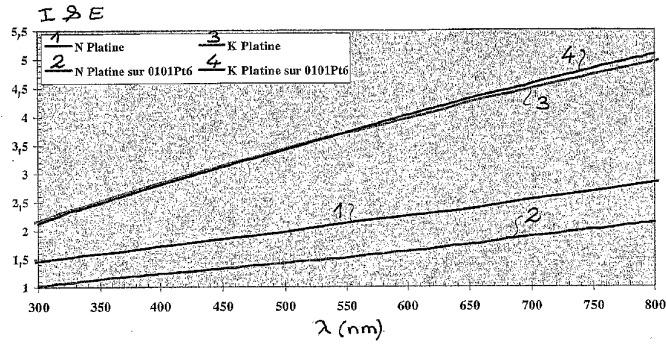


FIG. 7

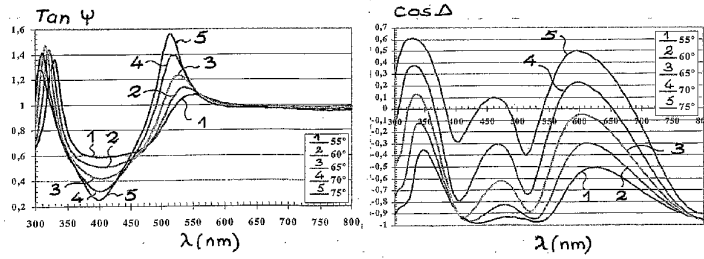


FIG. 8a

Fig. 8b

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

5/13

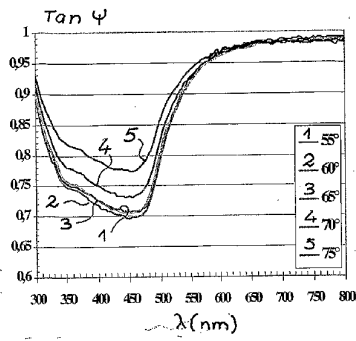


FIG. 9a

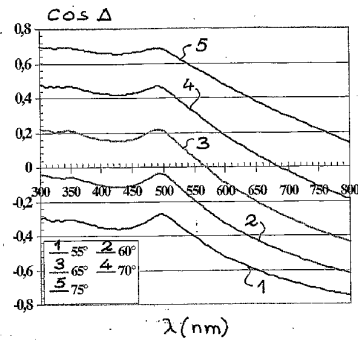


Fig.9b

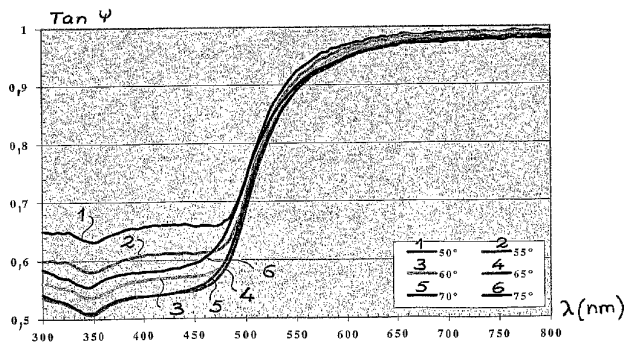


FIG. 10a

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

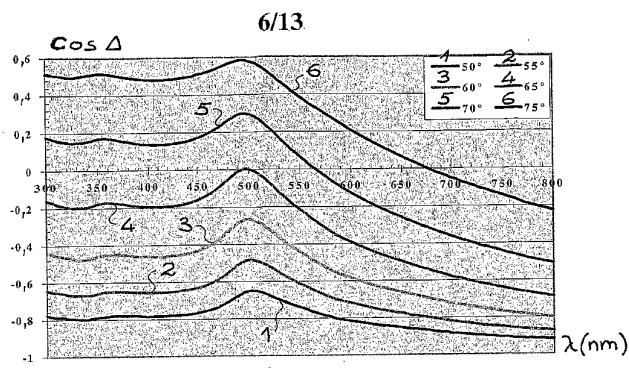


FIG. 10b

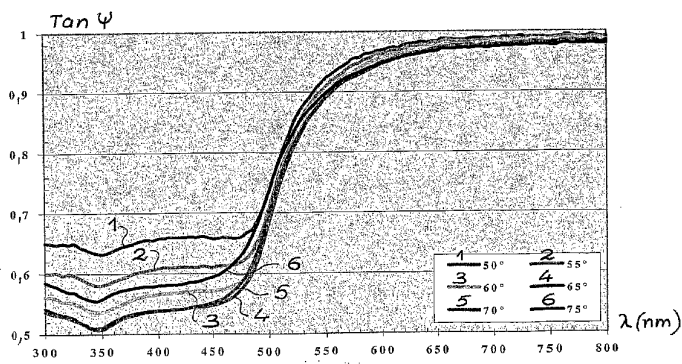


FIG. 11a

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

7/13

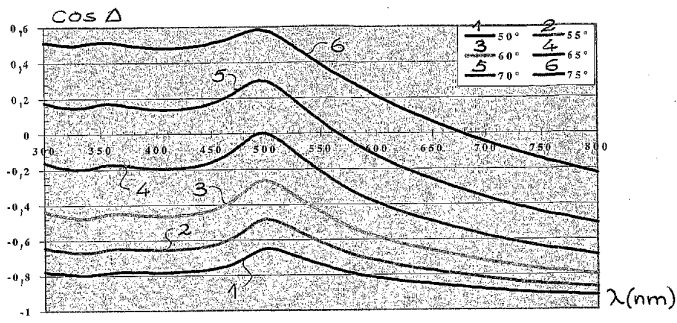


FIG 11b)

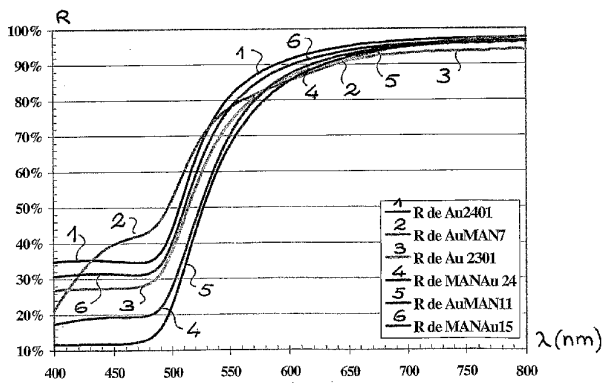


FIG 12

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

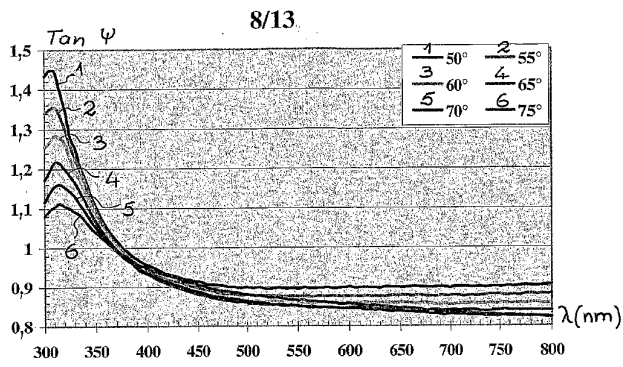


FIG 13a

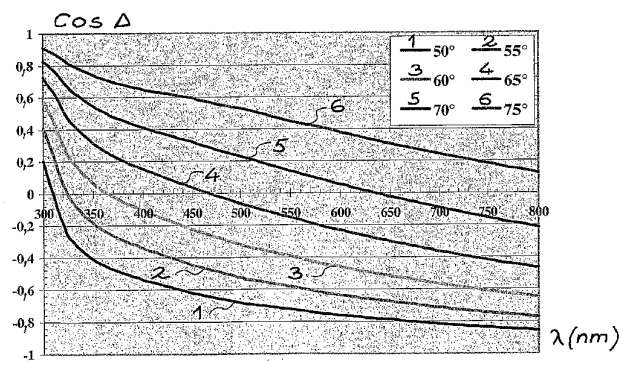


FIG 13b

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

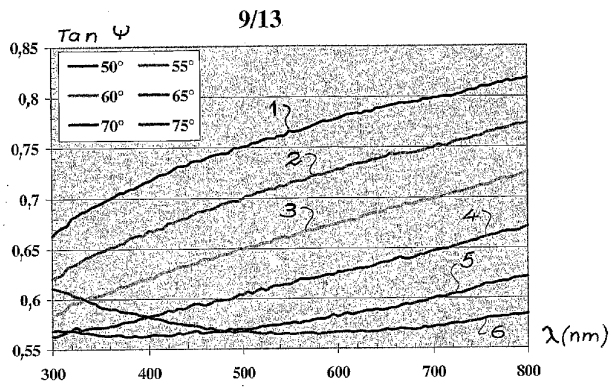


FIG 14a

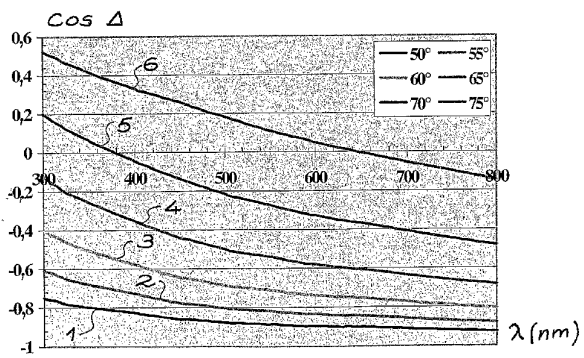


FIG 14b

10/13

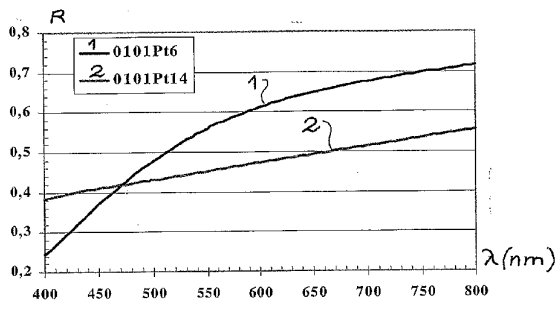


FIG 15

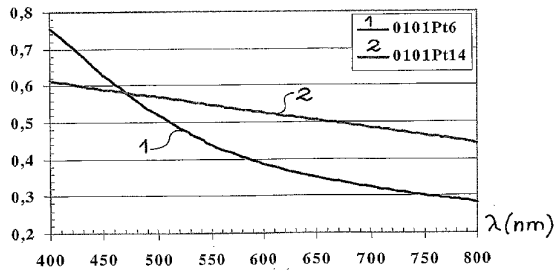


FIG 16

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

11/13

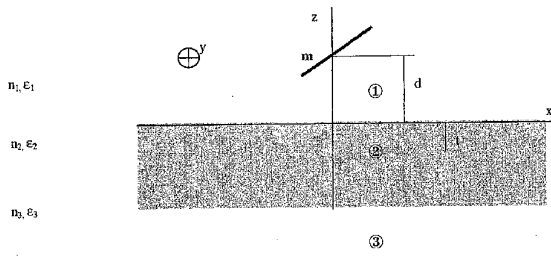


FIG 17

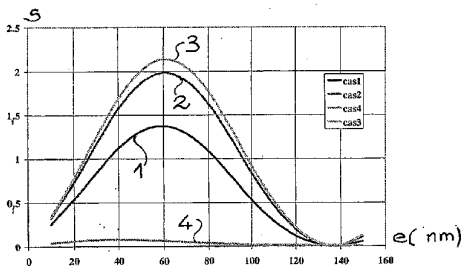


FIG 18a

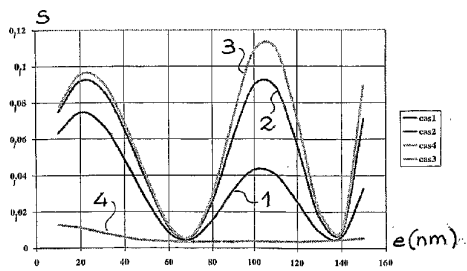


Fig. 18b

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

12/13

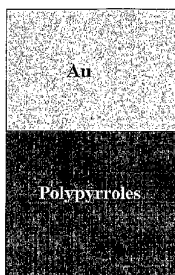


Fig.19a

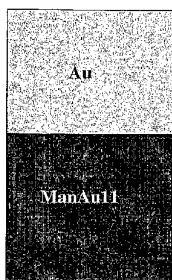


Fig.19b

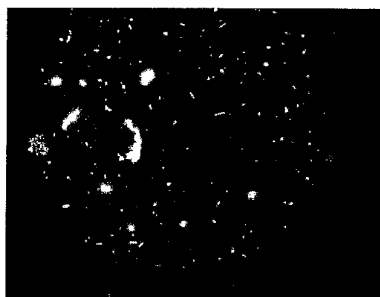


Fig. 20a

WO 03/034101

PCT/FR02/03538

13/13

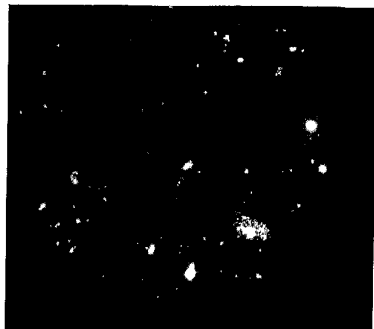


Fig. 20b

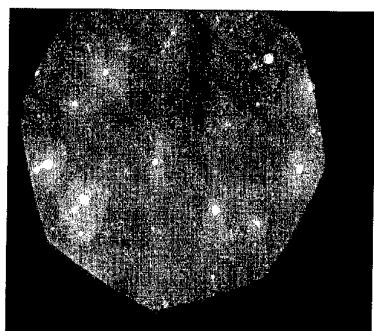


Fig. 20c

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/FR 02/03538
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G02B1/04 G02B1/10 C09D4/00 H01B3/30 G01N21/00 B41M3/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G02B C09D H01B G01N B41M		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 200 16 660 U (JACKSTÄDT GMBH) 30 November 2000 (2000-11-30) claims 1,6,12,22-28 page 3, paragraphs 1,2 page 7, paragraph 3 ---	1,5
X	US 5 139 813 A (YIRA JOSEPH H ET AL) 18 August 1992 (1992-08-18) claims 1,16,28 ---	1
X	WO 97 31051 A (DYMAX CORP) 28 August 1997 (1997-08-28) claims 1.9-11 page 5, line 18 - line 28 page 7, line 24 -page 8, line 6 page 15, line 8 -page 16, line 3 --- -/-	1
<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 referring 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 understand 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 *Y* 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. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 March 2003		Date of mailing of the international search report 18/03/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Depijper, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/FR 02/03538
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 328 120 A (SHINETSU CHEMICAL CO) 16 August 1989 (1989-08-16) claims 1-9	1
A	US 5 552 272 A (BOGART GREGORY R) 3 September 1996 (1996-09-03) claims 1-27 column 2, line 38 - line 63 column 3, line 12 - line 23	1
A	WO 01 40778 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ;BIOMERIEUX SA (FR); CHATON PATRICK) 7 June 2001 (2001-06-07) claims 1-10	1
A	FR 2 787 582 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 June 2000 (2000-06-23) cited in the application claims 1-18	1
A	WO 91 04491 A (BIOSTAR MED PROD) 4 April 1991 (1991-04-04) claims 1-11,21,30,32,44-46 page 5, line 17 - line 32	1
A	WO 01 03833 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ;AMINGUAL DANIEL (FR); CAILLAT PATRI) 18 January 2001 (2001-01-18) claim 1 page 4, line 9 - line 20 page 5, line 23 -page 6, line 22 page 11, line 14 - line 23	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/FR 02/03538

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 20016660	U 30-11-2000	DE 20016660 U1	30-11-2000
US 5139813	A 18-08-1992	IT 1251890 B JP 2660463 B2 JP 4283223 A	26-05-1995 08-10-1997 08-10-1992
WO 9731051	A 28-08-1997	US 6080450 A AU 2051597 A BR 9707670 A EP 0882086 A1 JP 3279575 B2 JP 11508637 T WO 9731051 A1	27-06-2000 10-09-1997 13-04-1999 09-12-1998 30-04-2002 27-07-1999 28-08-1997
EP 0328120	A 16-08-1989	JP 1204393 A JP 2095237 C JP 8006087 B AU 2975289 A CA 1316686 A1 DE 68922420 D1 DE 68922420 T2 EP 0328120 A2 KR 9703239 B1 US 4882517 A	16-08-1989 02-10-1996 24-01-1996 10-08-1989 27-04-1993 08-06-1995 19-10-1995 16-08-1989 15-03-1997 21-11-1989
US 5552272	A 03-09-1996	NONE	
WO 0140778	A 07-06-2001	FR 2801977 A1 AU 2181701 A EP 1234170 A1 WO 0140778 A1 US 2002171045 A1	08-06-2001 12-06-2001 28-08-2002 07-06-2001 21-11-2002
FR 2787582	A 23-06-2000	FR 2787582 A1 EP 1141391 A1 WO 0036145 A1 JP 2002532699 T	23-06-2000 10-10-2001 22-06-2000 02-10-2002
WO 9104491	A 04-04-1991	AT 149252 T AU 654262 B2 AU 6439890 A DE 69030004 D1 DE 69030004 T2 EP 0493484 A1 HK 1000736 A1 JP 2951300 B2 JP 10288616 A JP 2818292 B2 JP 5500567 T US 5541057 A US 5482830 A WO 9104491 A1 US 5639671 A US 5869272 A US 5629214 A US 5468606 A	15-03-1997 03-11-1994 18-04-1991 03-04-1997 12-06-1997 08-07-1992 24-04-1998 20-09-1999 27-10-1998 30-10-1998 04-02-1993 30-07-1996 09-01-1996 04-04-1991 17-06-1997 09-02-1999 13-05-1997 21-11-1995
WO 0103833	A 18-01-2001	FR 2797053 A1	02-02-2001

Form PCT/ISA210 (patent family annex) (July 1999)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No.
PCT/JP 02/03538

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0103833	A	WO 0103833 A1	18-01-2001

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE		Recherche internationale No PCT/FR 02/03538
A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 G02B1/04 G02B1/10 C09D4/00 H01B3/30 G01N21/00 B41M3/00		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 G02B C09D H01B G01N B41M		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	DE 200 16 660 U (JACKSTÄDT GMBH) 30 novembre 2000 (2000-11-30) revendications 1,6,12,22-28 page 3, alinéas 1,2 page 7, alinéa 3	1,5
X	US 5 139 813 A (YIRA JOSEPH H ET AL) 18 août 1992 (1992-08-18) revendications 1,16,28	1
X	WO 97 31051 A (DYMAX CORP) 28 août 1997 (1997-08-28) revendications 1.9-11 page 5, ligne 18 - ligne 28 page 7, ligne 24 -page 8, ligne 6 page 15, ligne 8 -page 16, ligne 3 -/-	1
<input checked="" type="checkbox"/>	Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	
<input checked="" type="checkbox"/>	Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe	
* Catégories spéciales de documents cités:		
A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent		*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour corroborer le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
E document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date		*X* document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré
L document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'intégrité)		*Y* document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
O document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens		*Z* document qui fait partie de la même famille de brevets
P document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 11 mars 2003		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 18/03/2003
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2240, Tx: SI 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Depijper, R

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE		Dr Internationale No PCL/FR 02/03538
C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 328 120 A (SHINETSU CHEMICAL CO) 16 août 1989 (1989-08-16) revendications 1-9	1
A	US 5 552 272 A (BOGART GREGORY R) 3 septembre 1996 (1996-09-03) revendications 1-27 colonne 2, ligne 38 - ligne 63 colonne 3, ligne 12 - ligne 23	1
A	WO 01 40778 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ;BIOMERIEUX SA (FR); CHATON PATRICK) 7 juin 2001 (2001-06-07) revendications 1-10	1
A	FR 2 787 582 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE) 23 juin 2000 (2000-06-23) cité dans la demande revendications 1-18	1
A	WO 91 04491 A (BIOSTAR MED PROD) 4 avril 1991 (1991-04-04) revendications 1-11,21,30,32,44-46 page 5, ligne 17 - ligne 32	1
A	WO 01 03833 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE ;AMINGUAL DANIEL (FR); CAILLAT PATRI) 18 janvier 2001 (2001-01-18) revendication 1 page 4, ligne 9 - ligne 20 page 5, ligne 23 -page 6, ligne 22 page 11, ligne 14 - ligne 23	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

D Internationale No
PCT/FR 02/03538

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets(s)	Date de publication
DE 20016660	U	30-11-2000	DE 20016660 U1	30-11-2000
US 5139813	A	18-08-1992	IT 1251890 B JP 2660463 B2 JP 4283223 A	26-05-1995 08-10-1997 08-10-1992
WO 9731051	A	28-08-1997	US 6080450 A AU 2051597 A BR 9707670 A EP 0882086 A1 JP 3279575 B2 JP 11508637 T WO 9731051 A1	27-06-2000 10-09-1997 13-04-1999 09-12-1998 30-04-2002 27-07-1999 28-08-1997
EP 0328120	A	16-08-1989	JP 1204393 A JP 2095237 C JP 8006087 B AU 2975289 A CA 1316686 A1 DE 68922420 D1 DE 68922420 T2 EP 0328120 A2 KR 9703239 B1 US 4882517 A	16-08-1989 02-10-1996 24-01-1996 10-08-1989 27-04-1993 08-06-1995 19-10-1995 16-08-1989 15-03-1997 21-11-1989
US 5552272	A	03-09-1996	AUCUN	
WO 0140778	A	07-06-2001	FR 2801977 A1 AU 2181701 A EP 1234170 A1 WO 0140778 A1 US 2002171045 A1	08-06-2001 12-06-2001 28-08-2002 07-06-2001 21-11-2002
FR 2787582	A	23-06-2000	FR 2787582 A1 EP 1141391 A1 WO 0036145 A1 JP 2002532699 T	23-06-2000 10-10-2001 22-06-2000 02-10-2002
WO 9104491	A	04-04-1991	AT 149252 T AU 654262 B2 AU 6439890 A DE 69030004 D1 DE 69030004 T2 EP 0493484 A1 HK 1000736 A1 JP 2951300 B2 JP 10288616 A JP 2818292 B2 JP 5500567 T US 5541057 A US 5482830 A WO 9104491 A1 US 5639671 A US 5869272 A US 5629214 A US 5468606 A	15-03-1997 03-11-1994 18-04-1991 03-04-1997 12-06-1997 08-07-1992 24-04-1998 20-09-1999 27-10-1998 30-10-1998 04-02-1993 30-07-1996 09-01-1996 04-04-1991 17-06-1997 09-02-1999 13-05-1997 21-11-1995
WO 0103833	A	16-01-2001	FR 2797053 A1	02-02-2001

Formulaire PCT/SAZI/C (annexe familles de brevets) (juillet 1992)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs  membres de familles de brevets

De internationale No
Pv/r/r 02/03538

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0103833	A	WO 0103833 A1	18-01-2001

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,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,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,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(72)発明者 フランソワ・ブレニオークス

フランス・F - 9 1 3 0 0 ・マッシー・リュ・デュ・ペリゴール・9

(72)発明者 クリストファ・ブリュー

フランス・F - 9 2 1 5 0 ・シュルヌ・リュ・ドゥ・ラ・リベルテ・2 4

(72)発明者 パトリック・シャトン

フランス・F - 3 8 5 7 0 ・テイス・ルートル・(番地なし)

(72)発明者 ステファン・ゲティン

フランス・F - 3 8 1 0 0 ・グレノーブル・リュ・デ・ゾー・クレール・4 1

Fターム(参考) 2G054 CA22 CE02 EA01 EA03 EA04 EB01 GB02 GE01 JA01 JA06

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2005505782A5	公开(公告)日	2009-04-16
申请号	JP2003536779	申请日	2002-10-16
[标]申请(专利权)人(译)	原子能委员会		
申请(专利权)人(译)	コミツサリア タ レネルジー アトミック		
[标]发明人	フランソワブレニオクス クリストファブリュー パトリックシャトン ステファンゲティン		
发明人	フランソワ・ブレニオクス クリストファ・ブリュー パトリック・シャトン ステファン・ゲティン		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N37/00 G01N21/78		
CPC分类号	H01B3/30 C09D4/00 G01N21/6428 G02B1/04		
FI分类号	G01N33/53.M G01N33/543.575 G01N37/00.102 G01N21/78.C		
F-TERM分类号	2G054/CA22 2G054/CE02 2G054/EA01 2G054/EA03 2G054/EA04 2G054/EB01 2G054/GB02 2G054/GE01 2G054/JA01 2G054/JA06		
代理人(译)	渡边 隆 正和青山 村山彦		
优先权	2001013432 2001-10-18 FR		
其他公开文献	JP2005505782A		

摘要(译)

本发明包括涂有透明有机膜的基板，和其制造方法，还涉及其用途。涂布的基材的膜，所述膜是在至少一个波长范围内的透明的电绝缘体的有机聚合物，该膜的特征在于，它与其中至少的波长范围内发光的标记物相结合。本发明特别，受试者的质量控制方法，离心分离法，并且在该识别方法，装置，用于物种检测，是适用的，例如，在生物芯片或类似物。