



**República Federativa do Brasil**  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0410782-9 B1**

**(22) Data do Depósito:** 18/05/2004

**(45) Data de Concessão:** 01/03/2016  
**(RPI 2356)**



---

**(54) Título:** SUPORTE DE MICRO ARRANJO POLIMÉRICO, MÉTODO DE FORMAÇÃO DE MICRO CARACTERÍSTICAS E UMA DISPOSIÇÃO DE ENSAIO ÓTICO

**(51) Int.Cl.:** G01N 33/53; G01N 21/17; C12Q 1/00

**(30) Prioridade Unionista:** 20/05/2003 SE 0301470-1

**(73) Titular(es):** AMIC AB

**(72) Inventor(es):** LINDSTRÖM, TOMAS, ÖHMAN, OVE

" SUPORTE DE MICRO ARRANJO POLIMÉRICO, MÉTODO DE  
FORMAÇÃO DE MICRO CARACTERÍSTICAS E UMA DISPOSIÇÃO  
DE ENSAIO ÓTICO "

5 CAMPO TÉCNICO DA PRESENTE INVENÇÃO

A presente invenção se refere a um suporte de micro  
arranjo (microarray) polimérico aperfeiçoado para uma  
disposição de ensaio (de análise, de teste) ótico, o  
suporte de micro arranjo estando proporcionado com micro  
10 características (micro relevos ou micro sulcos)  
(microfeatures) compreendendo um padrão de ampliação de  
superfície. A presente invenção igualmente se refere a uma  
disposição de ensaio ótico compreendendo um suporte de  
micro arranjo polimérico aperfeiçoado proporcionado com  
15 micro características compreendendo um padrão de ampliação  
de superfície, e bem como a um método de formação de micro  
características compreendendo um padrão de ampliação de  
superfície em um suporte de micro arranjo polimérico para  
uma disposição de ensaio ótico.

20

PANORAMA DO ESTADO DA TÉCNICA DA PRESENTE INVENÇÃO

Diversos campos de pesquisa, tais como a genômica  
funcional, a pesquisa básica de ciências da vida, a  
descoberta de drogas e os diagnósticos clínicos, requerem  
25 estudos dos mecanismos moleculares de uma amostra, por  
exemplo, o monitoramento de diferentes aspectos dos  
oligonucleotídeos, do *cdna* ou da interação de proteína. De  
maneira a estudar os mecanismos moleculares, um suporte  
fundamentado em micro arranjo pode ser utilizado, por  
30 exemplo, um ensaio ótico, tal como um ensaio de ligação de

fluorescência ou um ensaio de ligação de fosforescência.

Um ensaio pode ser desempenhado por um micro arranjo de pontos (de manchas, de marcas) de moléculas sonda atadas para localizações distintas sobre uma lâmina (de microscópio) formando um suporte, os pontos de moléculas sonda proporcionando sítios de ligação para as moléculas alvo da amostra a ser analisada. O diâmetro dos pontos sobre o suporte de micro arranjo está tipicamente entre **50 micrômetros** e **300 micrômetros** e normalmente entre **100 micrômetros - 150 micrômetros**, e a espessura dos pontos é normalmente somente de uns poucos **micrômetros** e é usualmente de menos do que **10 micrômetros**. Quando uma amostra contendo, por exemplo, alvos marcados (rotulados) fluorescentes, é colocada em contato com os pontos sobre o suporte de micro arranjo, as moléculas alvo na amostra são possibilitadas para hibridização com as moléculas sonda dos pontos. Em um ensaio fluorescente, o suporte de micro arranjo é iluminado por uma fonte de luz de excitação e a posição e a intensidade da luz fluorescente emitida é detectada. A coloração do fluoróforo utilizado serve como um marcador indicando que uma reação aconteceu entre as moléculas alvo da amostra e as moléculas sonda dos pontos. O recurso ótico para a iluminação do suporte e a detecção da luz emitida a partir do suporte de micro arranjo pode incluir um *scanner* de micro arranjo ou um delineador de imagem de micro arranjo.

Um *scanner* compreende uma fonte de luz de excitação de banda estreita, por exemplo, um *laser*, e, por exemplo, um **PMT** (*photomultiplier tube* - tubo foto multiplicador) para a detecção de luz emitida. Um delineador de imagem compreende

uma fonte de luz de excitação de banda larga, por exemplo, uma lâmpada de xenônio, filtros de comprimento de onda para proporcionar luz monocromática, e um detector para a luz emitida, por exemplo, um **CCD** (*Charged-Coupled Device* -  
5 Dispositivo de Carga Acoplada).

Em tecnologia de micro arranjo, existem diversos benefícios pelo fato de se empregar lâminas poliméricas para a manufatura de um suporte de micro arranjo ao invés de lâminas de vidro. Um dos benefícios é o de que as  
10 lâminas poliméricas podem possuir uma densidade mais alta de grupos de silanol de superfície, o que reforça o número de grupos reativos participando no processo de ligação da sonda para a lâmina, resultando em uma cobertura de superfície mais alta de sítios de ligação. Adicionalmente,  
15 os polímeros exibem um espectro mais abrangente de propriedades e são mais fáceis para serem modificados, por intermédio disso se conseguindo uma capacidade de ligação mais alta. Também, a ligação não específica sobre as lâminas de polímero é normalmente mais baixa do que sobre  
20 as lâminas de vidro. Adicionalmente, um grau mais alto de imobilização é possível sobre lâminas de polímero, até mesmo sem ligação cruzada de **UV** ou bloqueio, não requerendo pré-hibridização.

Entretanto, uma desvantagem com a utilização de  
25 lâminas de polímero é a de que um sinal de fundo mais alto ocorre a partir da autofluorescência em comparação com as lâminas de vidro.

O estado da técnica no campo de suportes de micro arranjo está apresentado no pedido de patente internacional  
30 número **WO 01/94032**, descrevendo a ampliação da superfície

de um suporte por se proporcionar denteamentos piramidais ou cônicos no mesmo, conseguindo uma superfície disponível aumentada para a sonda. Conseqüentemente, um número aumentado de sítios de ligação pode ser proporcionado, por  
5 intermédio disso se aumentando a proporção sinal - ruído. Pelos padrões de ampliação de superfície, um aumento da área de superfície disponível por um fator de 2 ou de 3 é facilmente obtido, em comparação com suportes planares.

O pedido de patente norte americano número **US**  
10 **2002/0028451** descreve um aparelho de detecção compreendendo um substrato de suporte polimérico proporcionado com ranhuras micro estruturadas, em cima do qual um material de cristal líquido é aplicado. O tamanho das ranhuras é selecionado para provocar que o material de cristal líquido  
15 venha a adotar uma orientação uniforme, de uma maneira tal que a aderência de partículas irá ser óticamente detectável por se provocar uma ruptura da orientação uniforme.

O estado da técnica adicional se referindo para os suportes poliméricos proporcionados com micro  
20 características de alta precisão está apresentado, por exemplo, no pedido de patente europeu número **EP 0.714.742**.

Entretanto, na medida em que existe uma necessidade para o aperfeiçoamento adicional de ensaios óticos fundamentados em micro arranjo, um objetivo desta presente  
25 invenção é proporcionar um suporte de micro arranjo polimérico aperfeiçoado, conseguindo um desempenho aperfeiçoado adicional de ensaios óticos em comparação com o estado da técnica, por exemplo, com respeito para a proporção sinal - ruído.

**DESCRIÇÃO DA PRESENTE INVENÇÃO**

O objetivo anteriormente mencionado é conseguido pelo suporte de micro arranjo polimérico para uma disposição de ensaio ótico, bem como pela disposição de ensaio ótico compreendendo o suporte de micro arranjo polimérico e ainda adicionalmente pelo método de formação de micro características sobre um suporte de micro arranjo polimérico para uma disposição de ensaio ótico, em concordância com as **reivindicações de patente** acompanhantes, que estão aqui incorporadas em sua integridade.

O objetivo anteriormente mencionado é conseguido pelo suporte de micro arranjo polimérico para uma disposição de ensaio ótico que compreende recurso ótico possuindo uma profundidade de foco para a detecção de luz emitida a partir do suporte. A espessura do referido suporte varia além da área de superfície por um valor de variação de espessura, e o suporte está proporcionado com micro características selecionadas compreendendo um padrão de ampliação de superfície. O padrão de ampliação de superfície compreende ranhuras dispostas para possuir uma profundidade selecionada adaptada para a referida profundidade de foco do recurso ótico e para o referido valor de variação de espessura do suporte. Pela adaptação da profundidade das ranhuras de uma maneira tal que a soma da referida profundidade e do referido valor de variação de espessura substancialmente corresponde para a referida profundidade de foco do recurso ótico, um desempenho aperfeiçoado do ensaio ótico pode ser conseguido, por exemplo, uma proporção sinal - ruído aumentada. O aumento

da proporção sinal - ruído é complementado tanto pelo aumento do sinal devido para a ampliação da área de superfície de suporte provocada pelas ranhuras, resultando em mais sítios de ligação, e quanto pela proporção  
5 ruído/sinal de fundo reduzida devido para o fato do volume reduzido de material dentro da profundidade de foco.

As ranhuras podem possuir um ângulo de inclinação selecionado ( $\alpha$ ) relativo para a superfície de suporte, o referido ângulo de inclinação selecionado ( $\alpha$ ) estando  
10 adaptado para o índice de refração do material de suporte de maneira que proporciona uma reflexividade desejada da superfície de suporte, tanto em termos de intensidade e quanto em termos de propriedades angulares.

As ranhuras podem possuir bordas retas ou bordas arredondadas, e podem estar proporcionadas em mais do que  
15 uma direção sobre a superfície de suporte.

A distância entre as ranhuras individuais pode ser constante ou pode ser variada além da área de superfície do suporte.

20 As micro características do suporte podem adicionalmente compreender uma camada adicional selecionada para proporcionar uma transparência desejada ou uma reflexividade desejada do suporte. A camada adicional pode ser de um material metálico, de um material semicondutor ou  
25 de um material dielétrico, e pode estar localizada sobre o topo do substrato ou no fundo do substrato.

As micro características do suporte podem adicionalmente compreender um espelho dielétrico, localizado sobre o topo do substrato ou no fundo do  
30 substrato.

As micro características do suporte podem adicionalmente compreender uma grade de difração superposta sobre pelo menos parte do padrão de ampliação de superfície do suporte.

5 As micro características do suporte podem adicionalmente compreender pigmentos de absorção de luz.

O suporte pode compreender ranhuras formando pilares, por exemplo, cilindricamente configuradas, que podem estar proporcionadas com uma camada adicional possuindo um índice  
10 de refração maior do que o índice de refração do material de suporte para conseguir um guia de onda ótico.

Partículas, por exemplo, sólidas ou porosas, podem estar proporcionadas entre os pilares, o que adicionalmente aumenta a proporção sinal - ruído.

15 No método de formação de micro características compreendendo ranhuras em um suporte de micro arranjo polimérico de uma disposição de ensaio ótico compreendendo recurso ótico possuindo uma profundidade de foco para a detecção de luz emitida a partir do referido suporte, a  
20 espessura do referido suporte varia além da área de superfície do suporte por um valor de variação de espessura. A profundidade das referidas ranhuras está adaptada para a referida profundidade de foco e para o referido valor de variação de espessura pela profundidade  
25 sendo selecionada de uma maneira tal que a soma da referida profundidade selecionada e do referido valor de variação de espessura do suporte substancialmente corresponde para a referida profundidade de foco, conseqüentemente, provocando um desempenho aperfeiçoado.

30 O ângulo de inclinação ( $\alpha$ ) das referidas ranhuras, em

relação para a superfície de suporte, pode ser adaptado para o índice de refração do material de suporte para proporcionar uma reflexividade desejada da superfície de suporte.

- 5        Uma vantagem adicional com estas ranhuras de ampliação de superfície é a vantagem da habilidade para a manutenção de um fluxo de capilaridade de fluidos.

Outras características e outras vantagens adicionais da presente invenção irão se tornar aparentes a partir da descrição e do exemplo não limitativo posteriormente, e bem como a partir das **reivindicações de patente** acompanhantes.

#### **BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS DA PRESENTE INVENÇÃO**

- 15        A presente invenção irá ser descrita em maiores detalhes posteriormente, de uma maneira não limitante, com referência para o exemplo e para os **desenhos** acompanhantes nos quais:

20        A **Figura 1** ilustra uma lâmina formando um suporte de micro arranjo compreendendo ranhuras configuradas em **(V)** com uma profundidade selecionada e um ângulo de inclinação selecionado **( $\alpha$ )** relativo para a superfície de suporte;

A **Figura 2** ilustra uma disposição de ensaio ótico de scanner compreendendo um suporte de micro arranjo; e

- 25        A **Figura 3** ilustra uma comparação entre a fluorescência de fundo a partir de lâminas planas e a partir de lâminas proporcionadas com ranhuras configuradas como pirâmides.

As **Figuras** são somente representações esquemáticas e a presente invenção não está limitada para estas concretizações.

5        **DESCRIÇÃO DAS CONCRETIZAÇÕES PREFERIDAS DA PRESENTE INVENÇÃO**

Os termos utilizados e as expressões utilizadas na presente invenção, no presente **relatório descritivo** e nas presentes **reivindicações de patente** e no presente **resumo**  
10 têm o sentido de possuir o significado normalmente utilizado por uma pessoa especializada no estado da técnica.

Em concordância com esta presente invenção, um  
15 desempenho aperfeiçoado de suportes de micro arranjo poliméricos em ensaios óticos é conseguido pela incorporação de micro características selecionadas no suporte de micro arranjo polimérico, as micro características compreendendo ranhuras dispostas para  
20 possuir uma profundidade selecionada. O conceito em concordância com a presente invenção é o de aperfeiçoar o desempenho, por exemplo, para aumentar a proporção sinal - ruído, de um suporte de micro arranjo em uma disposição de ensaio ótico compreendendo recursos óticos, pelo controle  
25 das modificações em amplitude (isto é, em intensidade) e/ou em frequência (isto é, em comprimento de onda) de luz absorvida, refletida ou transmitida. Isto é complementado por se proporcionar o suporte de micro arranjo com micro características compreendendo ranhuras possuindo uma  
30 profundidade adaptada para a profundidade de foco do

recurso ótico da disposição de ensaio ótico, bem como para a variação da espessura do suporte, de uma maneira tal que a soma da profundidade selecionada das ranhuras e das variações de espessura do suporte substancialmente  
5 corresponde para a profundidade de foco do recurso ótico. Preferivelmente, a soma da profundidade selecionada das ranhuras e das variações de espessura do suporte irá ser igual para a profundidade de foco do recurso ótico. Entretanto, a profundidade de foco pode eventualmente ser  
10 ligeiramente maior do que ou menor do que a referida soma, dependendo da qualidade da lâmina de suporte.

A presente invenção pode ser aplicada, por exemplo, em ensaios de ligação fluorescentes ou em ensaios de ligação fosforescentes, e as micro características selecionadas do  
15 suporte de micro arranjo polimérico possuem a habilidade para influenciar o desempenho dos ensaios de diversas maneiras. O suporte de micro arranjo compreende um substrato proporcionado com um revestimento de superfície quimicamente modificado, e o substrato é manufaturado a  
20 partir de uma lâmina polimérica. A espessura do suporte varia além da área de superfície do suporte, e a variação da espessura é tipicamente de menos do que **15 micrômetros - 20 micrômetros**, dependendo da qualidade da lâmina de suporte, resultando a partir do método de manufaturação. As  
25 micro características em concordância com a presente invenção aumentam a capacidade de excitação, em comparação com suportes planares, devido para um aumento do número de fótons no revestimento de superfície onde as marcas (os rótulos) fluorescentes ou as marcas fosforescentes estão  
30 localizadas. Quando as marcas são fluorescentes, a

capacidade de emissão do suporte é aumentada devido para o fato de um aumento do número de fótons emitidos a partir do corante fluorescente alcançando o sistema de detecção ótico, e uma redução do ruído é conseguida por se evitar  
5 fluorescência de fundo indesejada pela redução do número de fótons alcançando dentro e/ou fora do substrato do suporte.

Por consequência, a presente invenção serve para aumentar a proporção sinal - ruído de ensaios óticos pela utilização de micro características selecionadas  
10 compreendendo um padrão de ampliação de superfície proporcionado no suporte de micro arranjo polimérico, as micro características estando selecionadas e adaptadas para conseguir um efeito desejado das propriedades óticas da disposição de ensaio, da qual as propriedades óticas podem  
15 ser descritas em termos de ótica geométrica e/ou de ótica física. A ótica geométrica trata a propagação de luz como um fenômeno de raios, enquanto que a ótica física, por outro lado, utiliza a natureza de onda das ondas eletromagnéticas. Em ótica geométrica os caminhos de luz  
20 são raios longitudinais (ao longo), enquanto que, em ótica física, o fenômeno de difração e o fenômeno de interferência estão presentes. Em ótica geométrica, o comprimento de onda da luz é substancialmente menor do que o tamanho de micro características de superfície, enquanto  
25 que, em ótica física, o comprimento de onda da luz corresponde para o tamanho das micro características de superfície.

Em concordância com a presente invenção, o recurso ótico preferivelmente compreende um scanner de micro  
30 arranjo, que pode incluir ótica confocal somente coletando

luz emitida na profundidade de foco das lentes objetivas, por exemplo, pelo bloqueamento de luz indesejada por um pontinho preto e por intermédio disso reduzindo o ruído detectado.

5        A **Figura 2** está intencionada para ilustrar uma concretização de uma disposição de ensaio ótico de scanner (2), compreendendo um suporte de micro arranjo (1) e recursos óticos (3, 4, 6). Os recursos óticos (3, 4, 6) compreendem um laser (3) para direcionamento de luz de  
10    excitação em cima do suporte de micro arranjo (1), um **PMT** (*Photo Multiplying Tube* - Tubo de Foto Multiplicação) (4) para a detecção de luz emitida a partir dos sítios de ligação do suporte de micro arranjo (1), e um pontinho preto (6) para a redução de ruído.

15        A **Figura 3** ilustra graficamente uma comparação entre o ruído contribuindo com a fluorescência de fundo como mensurada em um scanner (conforme a **Figura 2**) a partir de lâminas planas e a partir de lâminas proporcionadas com ranhuras configuradas como pirâmides (piramidicamente). A  
20    comparação é desempenhada em **dois** diferentes comprimentos de onda de excitação, em **543 nm (Cy3)** e em **633 nm (Cy5)** e com poliestireno (**PS**) como os materiais de suporte, e a emissão ilustrada é uma média de valor sobre a lâmina. O (**Cy3**) é excitado em **543 nm** e a emissão é mensurada em **570**  
25    **nm**, e o (**Cy5**) é excitado em **633 nm** e a emissão é mensurada em **670 nm**. Uma lâmina plana é simbolizada por (**Plana**), e uma superfície revestida pelas pirâmides é simbolizada por (**Pirâmide**), e uma redução significativa da fluorescência de fundo é conseguida com as pirâmides em comparação com as  
30    lâminas planas.

As micro características do suporte de micro arranjo em concordância com a presente invenção compreendem ranhuras possuindo uma profundidade selecionada em relação para a profundidade de foco do recurso ótico e para a  
5 variação na espessura do suporte. As ranhuras podem possuir bordas retas ou bordas arredondadas, e podem, por exemplo, ser configuradas em (V), configuradas sinusoidais, configuradas triangulares, configuradas trapezoidais ou configuradas binárias, ou configuradas como pilares. As  
10 ranhuras podem também ser estruturas em mais do que uma direção sobre a superfície de suporte. Por exemplo, ranhuras piramídicas podem ser formadas por **duas** ranhuras adjacentes, configuradas em (V), estruturadas com um ângulo de  $90^{\circ}$  entre a direção das referidas ranhuras.

15 A distância entre as ranhuras individuais pode ser constante ou pode ser variada além da área de superfície do suporte. Os tamanhos das ranhuras são substancialmente maiores do que o comprimento de onda da luz de excitação, e uma ranhura pode tipicamente possuir uma profundidade entre  
20 **5 micrômetros e 10 micrômetros**, ou até mesmo acima de **20 micrômetros**, e pode possuir um ângulo de inclinação de, por exemplo,  $55^{\circ}$ , dependendo dos recursos óticos e das propriedades óticas geométricas desejadas do suporte.

A **Figura 1** ilustra uma vista lateral de uma  
25 concretização do suporte de micro arranjo **(1)** em concordância com a presente invenção com uma espessura **(7)**, que varia além da área de superfície do suporte com um valor de variação de espessura (não indicado na **Figura 1**) que é igual para a diferença entre a espessura a maior de  
30 todas e a espessura a menor de todas do suporte, e depende

da qualidade da lâmina. O suporte de micro arranjo (1) está proporcionado com micro características compreendendo um padrão de ampliação de superfície (5), o referido padrão de ampliação de superfície (5) compreendendo ranhuras configuradas em (V), possuindo uma profundidade selecionada (8), e um ângulo de inclinação selecionado, ( $\alpha$ ), relativo para a superfície do suporte. O suporte pode possuir uma área de, por exemplo, 25 mm x 75 mm, e a planaridade limitada da lâmina provoca determinadas variações na espessura (7) além da área de superfície do suporte, as referidas variações tipicamente sendo de menos do que 15 micrômetros - 20 micrômetros, dependendo do método de manufaturação. O suporte de micro arranjo (1) pode ser manufaturado por diversos métodos, e preferivelmente pela replicação de polímero formado a partir de uma estrutura principal (master), por exemplo, pela moldagem de injeção, pela modelagem (pela fundição) e pela modelagem em relevo. A estrutura principal da ranhura é tipicamente feita em silício ou em vidro, por exemplo, pela gravação à água forte química úmida ou seca, pela litografia fotoresistiva ou pela pautação mecânica (*mechanical ruling*) (por exemplo, pelo esmerilhamento ou pelo torneamento).

Em concordância com uma primeira concretização da presente invenção, as ranhuras do suporte compreendem um padrão de ampliação de superfície, por exemplo, ranhuras configuradas em (V), a profundidade das referidas ranhuras estando adaptada para a profundidade de foco dos recursos óticos da disposição de ensaio, de uma maneira tal que a soma da profundidade selecionada das ranhuras e da variação na espessura do suporte substancialmente corresponde para a

profundidade de foco.

Em concordância com uma concretização exemplificante da presente invenção, as ranhuras são piramidicamente configuradas, a estrutura principal de ranhuras sendo anisotropicamente gravada à água forte em silício (100),  
5 resultando em um ângulo de inclinação de  $55^{\circ}$ . Se a profundidade de foco do recurso ótico é de **20 micrômetros - 30 micrômetros** e a qualidade da lâmina de suporte limita as variações na espessura de suporte para **10 micrômetros - 15 micrômetros**,  
10 **micrômetros**, a profundidade das ranhuras, pode ser selecionada para ser, por exemplo, de **5 micrômetros - 10 micrômetros**. Por intermédio disso, a soma da profundidade das ranhuras e da variação na espessura além da área de superfície da lâmina de suporte irá ser de **15 micrômetros - 25 micrômetros**.  
15

Conseqüentemente, a soma irá estar bem dentro da referida profundidade de foco e também substancialmente correspondendo para a profundidade de foco. A profundidade das ranhuras pode alternativamente ser selecionada para  
20 ser, por exemplo, de **10 micrômetros - 15 micrômetros**, resultando em que a soma da profundidade das ranhuras e do valor de variação de espessura é de **20 micrômetros - 30 micrômetros**, isto é, também substancialmente correspondendo para a referida profundidade de foco.

25 Como um resultado, o sinal é aumentado pela ampliação da área de superfície de suporte provocada pelas ranhuras, resultando em mais sítios de ligação e, conseqüentemente, em um sinal de fluorescência mais alto. Ao mesmo tempo, a proporção ruído/sinal de fundo é diminuída devido para o  
30 fato de que o volume do material autofluorescente é

reduzido dentro da profundidade de foco.

A estrutura ranhurada também resulta em um comportamento hidrofóbico aumentado, na medida em que o ângulo de umedecimento é mais alto para um polímero  
5 estruturado em comparação com um polímero planar, facilitando a impressão de micro arranjos de alta densidade de pontos sobre o suporte.

Dependendo das dimensões das ranhuras, estas referidas ranhuras podem também ter a capacidade de manutenção de um  
10 fluxo de capilaridade de fluidos.

O ângulo de inclinação das ranhuras em um suporte irá influenciar o ângulo de entrada de luz incidente sobre o suporte e modificar a reflexão de superfície do suporte, devido para o comportamento de *Brewster*. A reflexão de  
15 superfície pode, por intermédio disso, ser controlada pela seleção de um ângulo de inclinação apropriado da ranhura, considerando o índice de refração do material de suporte. Por exemplo, aproximadamente **4 %** da luz circularmente polarizada incidente sobre uma superfície de polímero plana  
20 é refletida se o polímero possui um índice de refração de **1,5**; e aproximadamente **17 %** da luz é refletida se o ângulo de entrada da luz incidente é de **70 graus**, isto é, a reflexividade é aumentada por um fator de **4**. A reflexividade de superfície aumentada irá, em combinação  
25 com as ranhuras, também facilitar a luz incidente a ser refletida em pelo menos **duas** vezes sobre a superfície, e, conseqüentemente, excitar fluoróforos sobre **duas** localizações distintas.

Pela seleção de um ângulo de inclinação apropriado das  
30 ranhuras, considerando as constantes óticas tanto do

substrato e quanto do material de revestimento de superfície, a direção da luz especularmente refletida a partir da superfície pode ser modificada para assegurar que o caminho ótico da luz emitida não venha a seguir o caminho  
5 ótico da luz de excitação. Isto é vantajoso na medida em que a energia de excitação é substancialmente maior do que a energia de emissão e os detectores do *scanner* de micro arranjo, conseqüentemente, podem ser saturados no caso em que os caminhos óticos venham a coincidir.

10 Em concordância com uma segunda concretização da presente invenção, o desempenho do suporte é adicionalmente aumentado por se proporcionar uma camada de reflexão feita de um material metálico, de um material semiconductor ou de um material dielétrico. Para a luz visível, uma camada de  
15 prata, de platina, de paládio ou de ouro é benéfica. A espessura da camada está preferivelmente adaptada para a transparência desejada do suporte, e a camada pode estar localizada sobre a superfície de topo do substrato de suporte ou no fundo do substrato de suporte. Por exemplo,  
20 uma película de ouro de **20 nm** de espessura transmite aproximadamente **50 %** da luz vermelha. Uma vantagem com uma camada adicional, metálica é a de que a química de superfície é mais fácil para se admitir sobre uma camada metálica do que sobre uma superfície polimérica. Uma  
25 vantagem adicional é a da possibilidade para se utilizar as propriedades de semi-transmissão da camada, isto é, pela utilização das regiões de comprimento de onda específicas de absorção verificadas em metais, em semicondutores e em dielétricos para fazer com que a camada venha a transmitir  
30 determinados comprimentos de onda e venha a refletir os

outros comprimentos de onda.

Em concordância com uma terceira concretização da presente invenção, o suporte compreende ranhuras formando micro pilares, isto é, pilares cilíndricos. Em concordância  
5 com uma concretização exemplificante da presente invenção, os pilares estão proporcionados com uma camada adicional possuindo um índice de refração maior do que o índice de refração do material de suporte, por intermédio disso conseguindo um guia de onda ótico. Em concordância com uma  
10 concretização exemplificante adicional da presente invenção, partículas de tamanho adequado, isto é, partículas de tamanho tipicamente na faixa entre **0,1 micrômetro e 50 micrômetros**, estão localizadas entre os referidos pilares, o que aperfeiçoa a proporção sinal -  
15 ruído.

Em concordância com uma quarta concretização da presente invenção, o suporte está proporcionado com um espelho dielétrico, compreendendo uma estrutura de camada de interferência consistindo de diversas camadas. As  
20 camadas podem possuir uma espessura de **um quarto** de um comprimento de onda, compreendendo óxidos se alternando, por exemplo, dióxido de silício ou dióxido de titânio, com os índices de refração comparativamente baixos e altos, respectivamente. O espelho dielétrico pode estar localizado  
25 sobre a superfície de topo do substrato de suporte ou no fundo do substrato de suporte. Pela estrutura de camada de interferência, a reflectância em determinados intervalos de comprimentos de onda pode ser controlada, complementando a filtração de comprimento de onda. Por uma reflectância de  
30 superfície aumentada, o ruído devido para o fato da

fluorescência de fundo é reduzido, na medida em que menos luz é transmitida para o substrato do suporte e excitando a autofluorescência no mesmo.

Em concordância com uma quinta concretização da presente invenção, o suporte está proporcionado com uma grade de difração superposta em cima das ranhuras. A altura das ranhuras de grade de difração e a distância entre as ranhuras individuais da estrutura de grade é do mesmo tamanho como o comprimento de onda da luz de sondagem, isto é, na faixa de várias centenas de nanômetros. Pela grade de difração, uma ampliação de área de superfície aumentada adicionalmente é conseguida, bem como uma possibilidade para a reflexão/para a transmissão dos comprimentos de onda selecionados para determinadas direções. A grade de difração pode também compreender uma estrutura anti-reflexiva adaptada para reduzir a reflectância de superfície da luz incidente, de excitação, ou compreender uma estrutura de reforço reflexiva adaptada para aumentar a reflectância de superfície. A grade de difração pode ser produzida, por exemplo, pela litografia de feixe de elétron (e-beam), e a estrutura de ranhura de grade pode, por exemplo, ser sinusoidal, triangular, trapezoidal ou binária. As ranhuras da grade podem possuir bordas retas ou bordas arredondadas, e a distância entre as ranhuras individuais da grade pode ser constante ou pode ser variada além da grade.

Em concordância com uma sexta concretização da presente invenção, a absorção de substrato do suporte está adaptada para os comprimentos de onda de excitação e/ou de emissão da fonte de luz de excitação de maneira a tornar o

material "oticamente morto". Uma maneira de conseguir isto é fazer a coloração do polímero com pigmentos de absorção de luz pequenos de uma maneira tal que o substrato se torna absolutamente preto, isto é, altamente absorvente, para o  
5 comprimento de onda de interesse. Uma outra maneira de conseguir isto é através de um corante solvente. Também, pela mistura de partículas, por exemplo, feitas de quartos (quartz), no material de suporte polimérico, o comportamento fluorescente do suporte pode ser reduzido.

10 Em concordância com uma sétima concretização da presente invenção, o suporte é formado tanto para transmitir ou quanto para absorver para o comprimento de onda de luz de excitação e para absorver o comprimento de onda dos fluoróforos utilizados. Por intermédio disso, a  
15 autofluorescência irá ser prevenida para ser emitida a partir do suporte e para adicionar para o ruído.

20 Embora a presente invenção tenha sido descrita com referência para concretizações específicas, deverá ser observado por aqueles especializados no estado da técnica que a presente invenção não é para ser considerada como estando limitada para as concretizações ilustrativas  
25 descritas anteriormente, mas certamente, um número de variações e de modificações são conceptíveis dentro do escopo de proteção das subsequentes **reivindicações de patente independentes** e das suas correspondentes **reivindicações de patente dependentes** posteriormente.

## REIVINDICAÇÕES

1. Suporte de micro arranjo polimérico (1) para uma disposição de ensaio ótico (2), a referida disposição de ensaio ótico (2) compreendendo instrumentos de detecção ótica (3, 4, 5 6) possuindo uma profundidade de foco conhecida para a detecção de luz emitida a partir do referido suporte (1), o suporte de micro arranjo (1) apresentando uma espessura (7) variando ao longo da área de superfície do referido suporte (1) em um valor de variação de espessura, o referido suporte (1) apresentando 10 um padrão de ampliação de superfície (5) de micro características formadas compreendendo ranhuras dispostas de modo a apresentar uma profundidade selecionada (8) no momento da formação, a referida profundidade (8) da ranhura sendo selecionada com base na profundidade de foco dos referidos 15 instrumentos de detecção ótica (3, 4, 6) e na espessura (7) do suporte (1), caracterizado pelo fato de que a soma da profundidade (8) das ranhuras e do valor de variação de espessura substancialmente corresponde a referida profundidade de foco dos referidos recursos óticos (3, 4, 6) 20 de modo a reduzir o ruído, a espessura (7) é definida com sendo uma espessura do suporte (1) medida na ausência das ranhuras, e o valor de variação de espessura é igual a diferença entre a maior e a menor espessura (7) do suporte (1).

2. Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com 25 a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as referidas ranhuras possuem um ângulo de inclinação selecionado ( $\alpha$ ) relativo para a superfície de suporte, o referido ângulo de inclinação selecionado ( $\alpha$ ) estando adaptado para o índice de

refração do material de suporte para proporcionar uma reflexividade desejada da superfície de suporte.

**3.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que pelo menos algumas das ranhuras possuem bordas retas.

**4.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que pelo menos algumas das ranhuras são arredondadas.

**5.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que as referidas ranhuras estão proporcionadas em mais do que uma direção sobre a superfície do suporte (1).

**6.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a distância entre as ranhuras individuais é constante além da área de superfície do suporte (1).

**7.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a distância entre as ranhuras individuais varia além da área de superfície do suporte (1).

**8.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que as micro características do suporte (1) ainda compreendem uma camada adicional.

**9.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a espessura da camada adicional é selecionada para proporcionar uma transparência desejada do suporte (1).

**10.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a

espessura da camada adicional é selecionada para proporcionar uma reflexividade desejada do suporte (1).

5       **11.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que as micro características do suporte (1) ainda compreendem um espelho dielétrico.

10       **12.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que as micro características do suporte (1) ainda compreendem uma grade de difração superposta sobre pelo menos parte do padrão de ampliação de superfície do suporte (1).

15       **13.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que o referido suporte (1) é dotado de pigmentos de absorção de luz.

**14.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que as referidas ranhuras formam pilares.

20       **15.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que os referidos pilares são dotados de uma camada adicional, o índice de refração da referida camada sendo maior do que o índice de refração do material do suporte (1) de modo a obter um guia de onda ótico.

25       **16.** Suporte de micro arranjo polimérico (1), de acordo com a reivindicação 14 ou 15, caracterizado pelo fato de que partículas estão localizadas entre os referidos pilares.

30       **17.** Método de formação de um suporte de micro arranjo (1) para uma disposição de ensaio ótico (2), o referido suporte (1) sendo feito de um polímero e a referida disposição de ensaio

ótico (2) compreendendo instrumentos de detecção ótica (3, 4, 6) possuindo uma profundidade de foco para a detecção de luz emitida a partir do referido suporte (1), sendo que o suporte de micro arranjo polimérico (1) compreende uma superfície de suporte polimérica, onde a espessura (7) da superfície suporte (1) varia ao longo da área da superfície do suporte (1) em um valor de variação de espessura, o método de formação compreendo as etapas de determinar a profundidade de foco dos instrumentos de detecção ótica (3, 4, 6), determinação da espessura do suporte e o valor de variação de espessura, formar um padrão de ampliação de superfície (5) no suporte (1) com micro características compreendendo ranhuras, selecionar a profundidade (8) das ranhuras na superfície do suporte (1) na profundidade de foco determinada dos instrumentos de detecção ótica (3, 4, 6) e espessura (7) do suporte (1), caracterizado pelo fato de que a soma da profundidade (8) das ranhuras e do valor de variação de espessura do suporte (1) substancialmente corresponde a referida profundidade de foco dos referidos recursos óticos (3, 4, 6) de modo a reduzir ruído, para a etapa de seleção a espessura (7) do suporte (1) é medida antes a seleção da profundidade (8) das ranhuras, a espessura (7) é definida com sendo uma espessura do suporte (1) medida na ausência das ranhuras, e o valor de variação de espessura é igual a diferença entre a maior e a menor espessura (7) do suporte (1).

18. Método de formação de micro características, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o referido método compreende adicionalmente a etapa de adaptação das ranhuras em um ângulo de inclinação ( $\alpha$ ), o ângulo de inclinação ( $\alpha$ ) das referidas ranhuras sendo definido em relação

a superfície de suporte (1) e em relação ao índice de refração do material de suporte (1) para proporcionar uma reflexividade desejada da superfície de suporte (1).

## DESENHOS

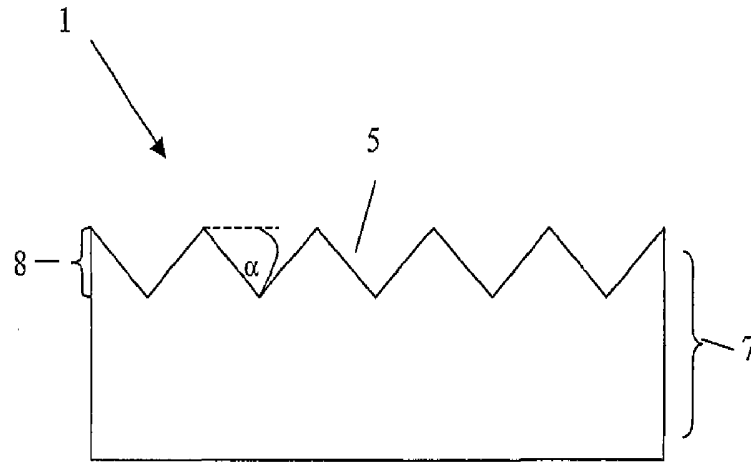


Fig. 1

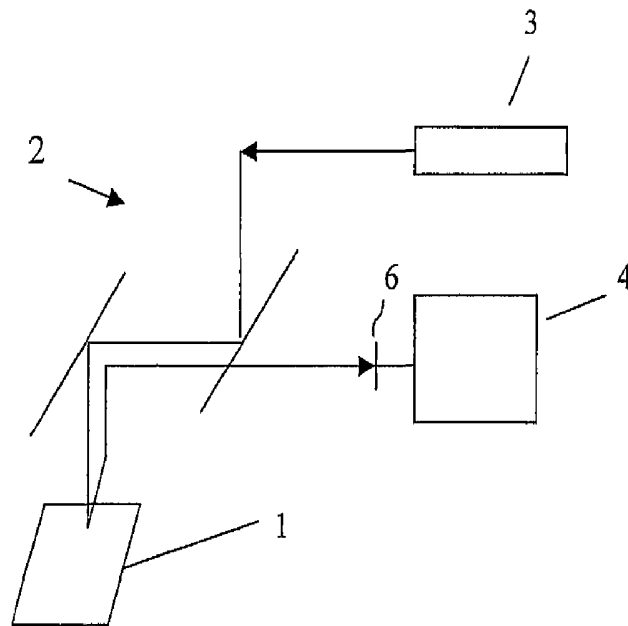


Fig. 2

Fluorescência de fundo

em Unidades de Fluorescência Relativa, RFU

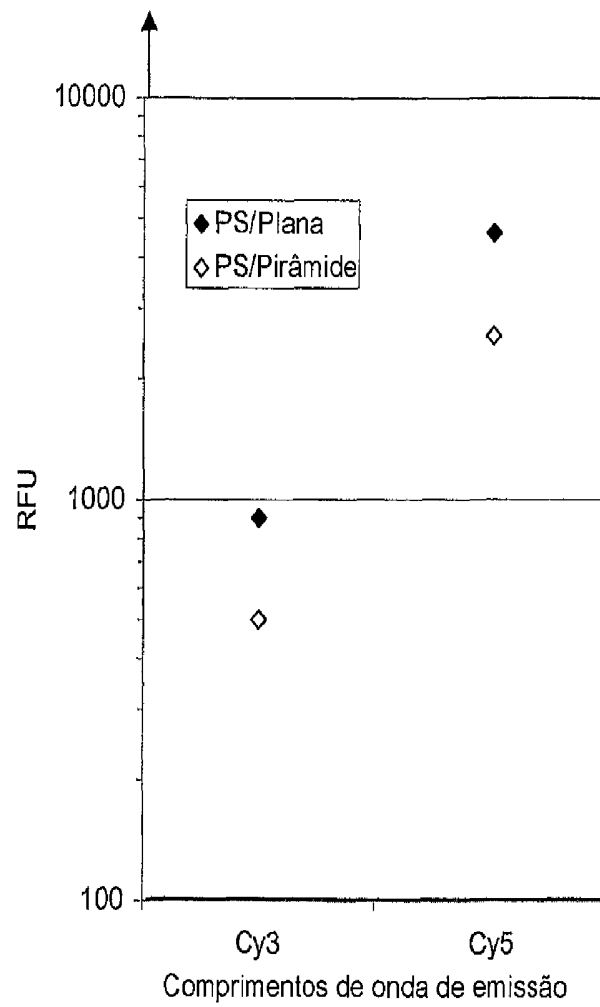


Fig. 3

## RESUMO

" SUPORTE DE MICRO ARRANJO POLIMÉRICO, MÉTODO DE  
FORMAÇÃO DE MICRO CARACTERÍSTICAS E UMA DISPOSIÇÃO  
DE ENSAIO ÓTICO "

A presente invenção se refere a um suporte de micro  
arranjo (microarray) polimérico (1) para uma disposição de  
ensaio (de análise, de teste) ótico (2) compreendendo  
10 recursos óticos (3, 4, 6) para a detecção de luz emitida a  
partir do referido suporte (1). O referido suporte de micro  
arranjo polimérico (1) está proporcionado com micro  
características (micro relevos ou micro sulcos)  
(microfeatures) compreendendo um padrão de ampliação de  
15 superfície (5), isto é, ranhuras possuindo uma profundidade  
selecionada (8).

Em concordância com a presente invenção, o referido  
suporte de micro arranjo polimérico (1) está **caracterizado  
pelo fato** de que o referido padrão de ampliação de  
20 superfície (5) compreende ranhuras dispostas para possuir  
uma profundidade que é selecionada de uma maneira tal que a  
soma da profundidade selecionada (8) e das variações na  
espessura (7) do referido suporte (1) corresponde  
substancialmente para a profundidade de foco dos referidos  
25 recursos óticos (3, 4, 6).

A presente invenção igualmente se refere a uma  
disposição de ensaio ótico (2) compreendendo um suporte de  
micro arranjo polimérico (1) e bem como a um método de  
formação de micro características compreendendo ranhuras em  
30 um suporte de micro arranjo polimérico (1) de uma  
disposição de ensaio ótico (2).