(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
25. Januar 2001 (25.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/06227 A3

(51) Internationale Patentklassifikation[7]: G01N 33/58, 33/96

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/06832

(22) Internationales Anmeldedatum:
17. Juli 2000 (17.07.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 33 104.9 15. Juli 1999 (15.07.1999) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US)*: **PRESENS PRECISION SENSING GMBH** [DE/DE]; Spitalplatz c 191, D-86633 Neuburg a.d. Donau (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: **KLIMANT, Ingo** [DE/DE]; Friedrich-Ebert-Strasse 32, D-93051 Regensburg (DE).

(74) Anwälte: **WEICKMANN, H.** usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(regional)*: ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:
— *mit internationalem Recherchenbericht*

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 19. Juli 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) **Title:** PRODUCTION AND USE OF LUMINESCENT MICROPARTICLES AND NANOPARTICLES

(54) **Bezeichnung:** HERSTELLUNG UND ANWENDUNG VON LUMINESZIERENDEN MIKRO- UND NANOPARTIKELN

(57) **Abstract:** The invention relates to the composition, production and use of luminescent microparticles and nanoparticles. These particles can either be used as internal standards for referencing fluorescence signals, or as markers for marking and detecting biomolecules. Luminescence dyes are incorporated, in inert form, into solid materials such that they are protected from the influence of chemical and biological compounds in aqueous sample constituents. In this incorporated form, the photophysical characteristics of the dyes (spectral characteristic, luminescence quantum efficiency, luminescence fading time and polarization) remain unaffected by sample parameters that vary. Compact inorganic materials or organic polymers are selected, in particular, as an incorporating matrix which, due to their structure, do not receive biomolecules, small neutral molecules as well as ionic compounds. In particular, the interfering influence of molecular oxygen, of an efficient luminescence quencher, on luminescence measurements is eliminated in this manner. The surface of the nanoparticles and microparticles can be provided with reactive surfaces in order to enable covalent coupling of biochemicals or to eliminate the aggregation of the particles.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft die Zusammensetzung, Herstellung und Verwendung von lumineszierenden Mikro- und Nanopartikeln. Diese Partikel können entweder als interne Standards zur Referenzierung von Fluoreszenzsignalen, oder als Marker zur Markierung und Detektion von Biomolekülen verwendet werden. Lumineszenzfarbstoffe werden in inerter Form in feste Materialien eingebaut, das heisst vom Einfluss von chemischen und biologischen Verbindungen in wässrigen Probenbestandteilen abgeschirmt. In dieser eingebauten Form bleiben die photophysikalischen Eigenschaften der Farbstoffe (spektrale Charakteristik, Lumineszenzquantenausbeute, Lumineszenzabklingzeit und Polarisation) von wechselnden Probenparametern unbeeinflusst. Als Einbaumatrix werden insbesondere dichte anorganische Materialien oder organische Polymere ausgewählt, die aufgrund ihrer Struktur die Aufnahme von Biomolekülen, kleinen neutralen Molekülen sowie ionischen Verbindungen ausschliessen. Insbesondere der störende Einfluss von molekularem Sauerstoff, einem effizienten Lumineszenzlöscher, auf Lumineszenzmessungen wird auf diese Weise eliminiert. Die Oberfläche der Nano- und Mikropartikel kann mit reaktiven Oberflächen versehen sein, um die kovalente Kopplung von Biomolekülen zu ermöglichen bzw. das Aggregieren der Partikel zu eliminieren.

WO 01/06227 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte .ional Application No
PCT/EP 00/06832

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N33/58 G01N33/96

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 G01N

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, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 06821 A (KLIMANT INGO) 11 February 1999 (1999-02-11) cited in the application page 8, line 18 -page 9, line 22 page 14, line 5 - line 17 ---	1-7, 11-13,22
X	WO 95 14928 A (SYNTEX INC) 1 June 1995 (1995-06-01) claims 1,3 ---	1-5, 8-10,14, 15, 19-21,23
X	GB 2 132 348 A (UNIV VIRGINIA) 4 July 1984 (1984-07-04) claims 5,9,11-14 --- -/--	1-5

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] 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	Date of mailing of the international search report
20 December 2000	23/01/2001

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Hart-Davis, J

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. ional Application No
PCT/EP 00/06832

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 011, no. 379 (C-463), 10 December 1987 (1987-12-10) & JP 62 148580 A (TOAGOSEI CHEM IND CO LTD;OTHERS: 01), 2 July 1987 (1987-07-02) abstract	1,2, 8-10,14, 19-21
P,X	HUBER, CHRISTIAN ET AL: "Optical sensor for seawater salinity" FRESENIUS' J. ANAL. CHEM. (2000), 368(2-3), 196-202 , XP000974975 the whole document	1-27
P,X	LIEBSCH, GREGOR ET AL: "Luminescence lifetime temperature sensing based on sol -gels and poly (acrylonitrile)s dyed with ruthenium metal-ligand complexes" ADV. MATER. (WEINHEIM, GER.) (1999), 11(15), 1296-1299 , XP000971460 the whole document	1-5,8-24
A	WO 96 21154 A (IGEN INC) 11 July 1996 (1996-07-11) page 16, line 9 -page 17, line 22; examples A,B	1-5

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inte .tional Application No
PCT/EP 00/06832

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9906821 A	11-02-1999	DE 19829657 A	04-02-1999
		EP 1000345 A	17-05-2000
WO 9514928 A	01-06-1995	US 5578498 A	26-11-1996
		CA 2177143 A	01-06-1995
		EP 0730738 A	11-09-1996
		JP 9505888 T	10-06-1997
		US 5536834 A	16-07-1996
		US 5811311 A	22-09-1998
		US 5780646 A	14-07-1998
GB 2132348 A	04-07-1984	CA 1261717 A	26-09-1989
		DE 3346810 A	26-07-1984
		FR 2538550 A	29-06-1984
		JP 1933506 C	26-05-1995
		JP 6043963 B	08-06-1994
		JP 59170748 A	27-09-1984
		US 5030420 A	09-07-1991
JP 62148580 A	02-07-1987	JP 5064671 B	16-09-1993
WO 9621154 A	11-07-1996	AU 4756296 A	24-07-1996

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. ionales Aktenzeichen
PCT/EP 00/06832

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G01N33/58 G01N33/96

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 99 06821 A (KLIMANT INGO) 11. Februar 1999 (1999-02-11) in der Anmeldung erwähnt Seite 8, Zeile 18 -Seite 9, Zeile 22 Seite 14, Zeile 5 - Zeile 17 ---	1-7, 11-13,22
X	WO 95 14928 A (SYNTEX INC) 1. Juni 1995 (1995-06-01) Ansprüche 1,3 ---	1-5, 8-10,14, 15, 19-21,23
X	GB 2 132 348 A (UNIV VIRGINIA) 4. Juli 1984 (1984-07-04) Ansprüche 5,9,11-14 --- -/--	1-5

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
20. Dezember 2000	23/01/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Hart-Davis, J

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. ...ionales Aktenzeichen
PCT/EP 00/06832

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 011, no. 379 (C-463), 10. Dezember 1987 (1987-12-10) & JP 62 148580 A (TOAGOSEI CHEM IND CO LTD;OTHERS: 01), 2. Juli 1987 (1987-07-02) Zusammenfassung	1,2, 8-10,14, 19-21
P,X	HUBER, CHRISTIAN ET AL: "Optical sensor for seawater salinity" FRESENIUS' J. ANAL. CHEM. (2000), 368(2-3), 196-202 , XP000974975 das ganze Dokument	1-27
P,X	LIEBSCH, GREGOR ET AL: "Luminescence lifetime temperature sensing based on sol -gels and poly (acrylonitrile)s dyed with ruthenium metal-ligand complexes" ADV. MATER. (WEINHEIM, GER.) (1999), 11(15), 1296-1299 , XP000971460 das ganze Dokument	1-5,8-24
A	WO 96 21154 A (IGEN INC) 11. Juli 1996 (1996-07-11) Seite 16, Zeile 9 -Seite 17, Zeile 22; Beispiele A,B	1-5

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 00/06832

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9906821 A	11-02-1999	DE 19829657 A	04-02-1999
		EP 1000345 A	17-05-2000
WO 9514928 A	01-06-1995	US 5578498 A	26-11-1996
		CA 2177143 A	01-06-1995
		EP 0730738 A	11-09-1996
		JP 9505888 T	10-06-1997
		US 5536834 A	16-07-1996
		US 5811311 A	22-09-1998
		US 5780646 A	14-07-1998
GB 2132348 A	04-07-1984	CA 1261717 A	26-09-1989
		DE 3346810 A	26-07-1984
		FR 2538550 A	29-06-1984
		JP 1933506 C	26-05-1995
		JP 6043963 B	08-06-1994
		JP 59170748 A	27-09-1984
		US 5030420 A	09-07-1991
JP 62148580 A	02-07-1987	JP 5064671 B	16-09-1993
WO 9621154 A	11-07-1996	AU 4756296 A	24-07-1996