



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107428918 B

(45) 授权公告日 2021.07.30

(21) 申请号 201680010226.7

(22) 申请日 2016.03.02

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107428918 A

(43) 申请公布日 2017.12.01

(30) 优先权数据
62/132,449 2015.03.12 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.08.14

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/020515 2016.03.02

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/144653 EN 2016.09.15

(73) 专利权人 贝克顿·迪金森公司
地址 美国新泽西州

(72) 发明人 梁永超 弗兰克·P·尤科特
格伦·P·巴塞洛缪
巴里·E·伦纳德
布伦特·S·盖洛德

(74) 专利代理机构 北京弘权知识产权代理有限公司 11363

代理人 郭放 许伟群

(51) Int.Cl.
C08G 61/12 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)

(56) 对比文件
JP 特表2010-540885 A, 2010.12.24
JP 特表2013-517374 A, 2013.05.16

审查员 李曦

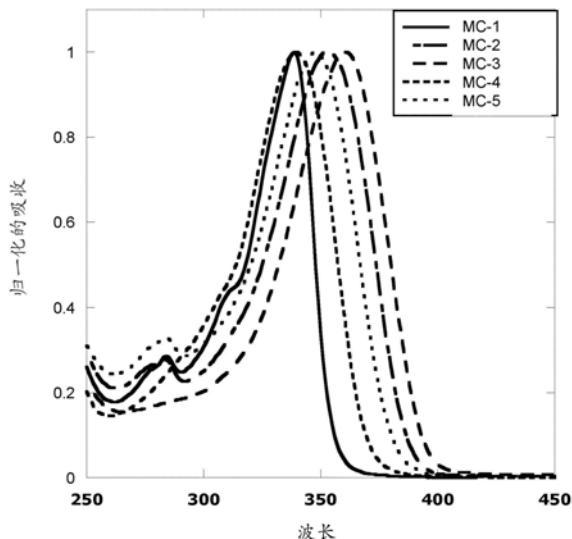
权利要求书5页 说明书57页 附图2页

(54) 发明名称

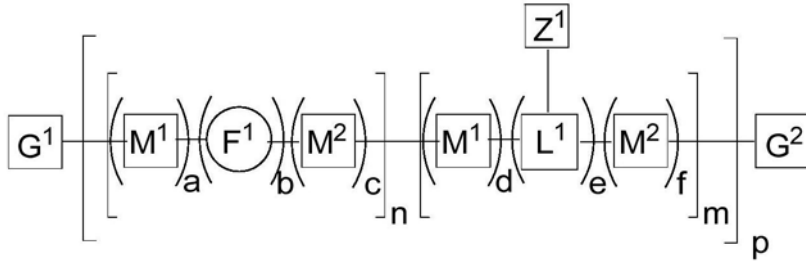
紫外线吸收聚合物染料及其使用方法

(57) 摘要

提供了具有紫外线吸收最大值的水溶性集光多发色团。在一些实施例中,多发色团包括如下的共轭链段,其包括稠合的6-5-6三环共聚单体和UV吸光度修饰共聚单体。多发色团可以包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团。在一些实施例中,特异性结合成员与多发色团共价连接。还提供了针对靶分析物的存在对样品进行评估的方法和使用包括集光多发色团的组合物标记靶分子的方法。还提供了用于实践主题方法的试剂盒和系统。



1. 一种包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团, 该共轭链段包含:
 稠合的6-5-6三环共聚单体; 和
 UV吸光度修饰共聚单体;
 其中该多发色团具有紫外线吸收最大值,
 其中:
 所述水溶性集光多发色团由化学式 (I) 描述:

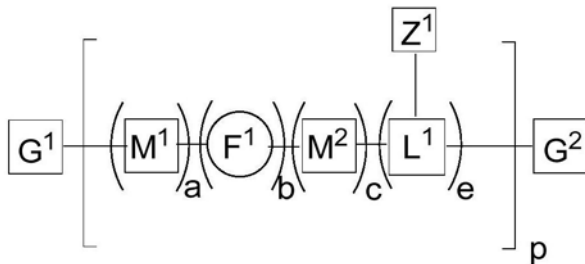


(I)

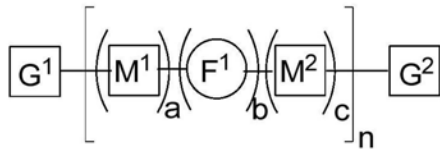
其中:

- F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体;
 每个 M^1 和 M^2 各自独立地是经取代的芳基或者经取代或未取代的杂芳基UV吸光度修饰共聚单体;
 b 是1或2;
 a、c、d和f各自独立地是0或1, 并且e是1, 其中 $a+c+d+f \geq 1$;
 L^1 是包含化学选择性标签 Z^1 的连接共聚单体;
 n 是从1至10,000的整数;
 m 是0或从1至10,000的整数;
 p 是从1至100,000的整数; 并且
 G^1 和 G^2 各自独立地选自下组, 该组由以下各项组成: 端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。

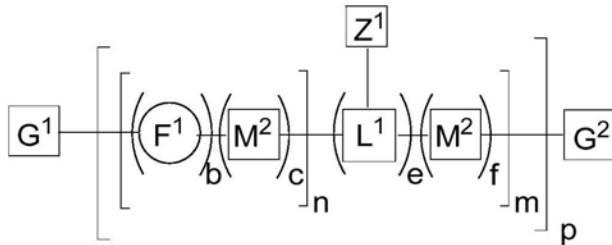
2. 根据权利要求1所述的多发色团, 其中该多发色团由化学式 (II) - (IV) 之一描述:



(II)



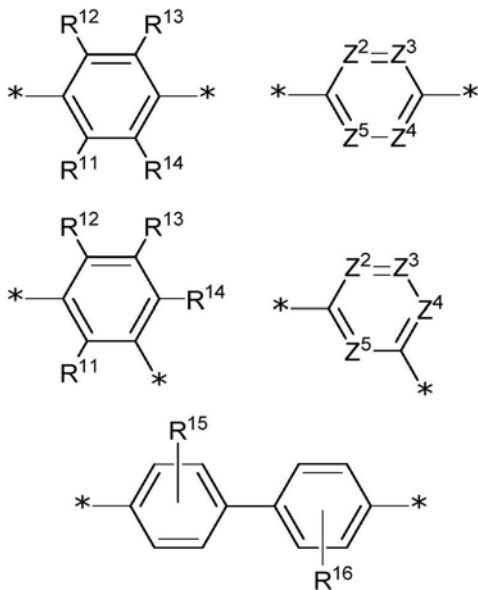
(III) 或



(IV)。

3. 根据权利要求1所述的多发色团,其中该UV吸光度修饰共聚单体是经取代的芳基共聚单体或者经取代或未取代的杂芳基共聚单体。

4. 根据权利要求3所述的多发色团,其中所述经取代的芳基共聚单体或者所述经取代或未取代的杂芳基共聚单体选自以下项之一:

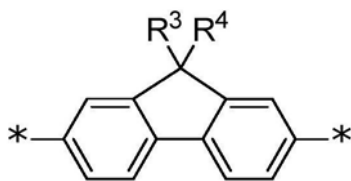


其中:

Z^2-Z^5 各自独立地是CR或N,其中至少一个 Z^2-Z^5 是N;并且

每个R和 $R^{11}-R^{16}$ 独立地选自下组,该组由以下各项组成:氢、卤素、氰基、烷氧基、经取代的烷氧基、烷基和经取代的烷基。

5. 根据权利要求1所述的多发色团,其中 L^1 由以下结构描述:

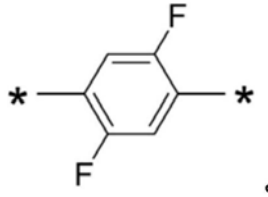


其中：

R^3 是包含水增溶基团的经取代的烷基；

R^4 是 L^2-Z^2 ，其中 L^2 是接头，并且 Z^2 是化学选择性标签。

6. 根据权利要求1所述的多发色团，其中 M^1 和 M^2 不具有如下结构：



7. 一种聚合物串联染料，该聚合物串联染料包含：

包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团，该共轭链段包含：

稠合的6-5-6三环共聚单体；和

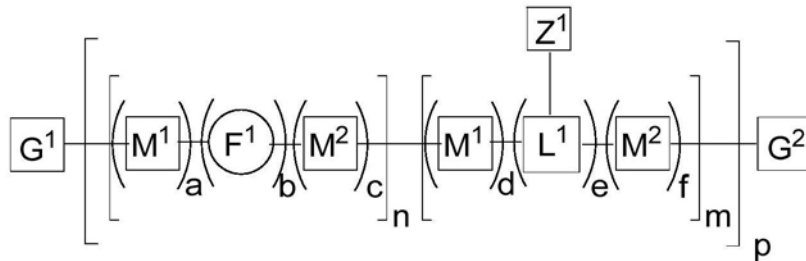
UV吸光度修饰共聚单体；

其中该多发色团具有紫外线吸收最大值；以及

在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团，

其中：

所述水溶性集光多发色团由化学式(I)描述：



(I)

其中：

F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体；

每个 M^1 和 M^2 各自独立地是经取代的芳基或者经取代或未取代的杂芳基UV吸光度修饰共聚单体；

b是1或2；

a、c、d和f各自独立地是0或1，并且e是1，其中 $a+c+d+f \geq 1$ ；

L^1 是与 Z^1 连接的连接共聚单体，其中 Z^1 是化学选择性标签或受体发色团；

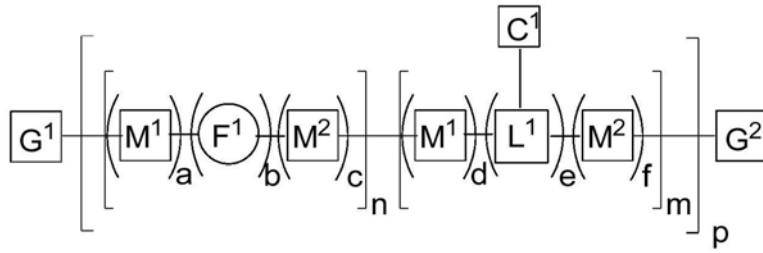
n是从1至10,000的整数；

m是0或从1至10,000的整数；

p是从1至100,000的整数；并且

G^1 和 G^2 各自独立地选自下组，该组由以下各项组成：端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。

8. 根据权利要求7所述的染料，其中该多发色团由化学式(V)描述：



(V)

其中：

F¹是稠合的6-5-6三环共聚单体；

每个M¹和M²各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体；

b是1或2；

a、c、d和f各自独立地是0或1，其中a+c+d+f ≥ 1；

e是1；

L¹是与受体发色团-C¹连接的连接共聚单体；

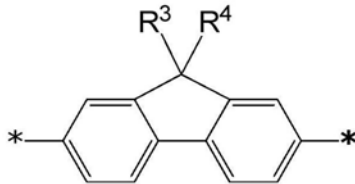
n是从1至10,000的整数；

m是从1至10,000的整数；

p是从1至100,000的整数；并且

G¹和G²各自独立地选自下组，该组由以下各项组成：端基、π共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。

9. 根据权利要求8所述的染料，其中L¹由以下结构描述：



其中：

R³是包含水增溶基团的取代基；

R⁴是L²-Z²，其中L²是接头，并且Z²是该受体发色团。

10. 根据权利要求8所述的染料，其中G¹和G²中的至少一个是-L³-Z，其中L³是接头，并且Z是特异性结合成员。

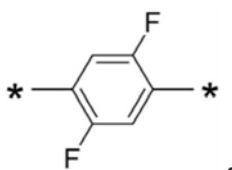
11. 权利要求10所述的染料，其中Z是抗体。

12. 根据权利要求10所述的染料，其中Z是抗体片段或其结合衍生物。

13. 根据权利要求8所述的染料，其中：

C¹选自下组，该组由以下各项组成：通过任意的接头与L¹连接的花青染料、咕吨染料、香豆素染料、噻嗪染料和吡啶染料。

14. 根据权利要求7所述的染料，其中M¹和M²不具有如下结构：



15. 一种针对靶分析物的存在对样品进行评估的方法,该方法包括:

(a) 使该样品与特异性地结合该靶分析物的聚合物染料共轭物接触以产生标记组合物接触过的样品,其中该聚合物染料共轭物包含:

(i) 包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,该共轭链段包含:

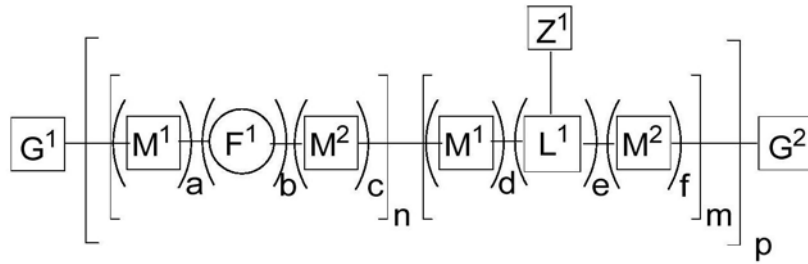
稠合的6-5-6三环共聚单体;和

UV吸光度修饰共聚单体;

其中该多发色团具有紫外线吸收最大值,

其中:

所述水溶性集光多发色团由化学式(I)描述:



(I)

其中:

F¹是稠合的6-5-6三环共聚单体;

每个M¹和M²各自独立地是经取代的芳基或者经取代或未取代的杂芳基UV吸光度修饰共聚单体;

b是1或2;

a、c、d和f各自独立地是0或1,并且e是1,其中a+c+d+f ≥ 1;

L¹是包含化学选择性标签-Z¹的连接共聚单体;

n是从1至10,000的整数;

m是0或从1至10,000的整数;

p是从1至100,000的整数;并且

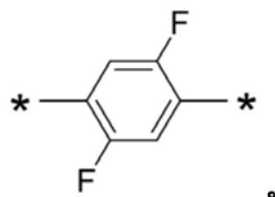
G¹和G²各自独立地选自下组,该组由以下各项组成:端基、π共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员;以及

(i) 特异性结合成员;并且

(b) 针对聚合物染料共轭物-靶分析物结合复合物的存在对该标记组合物接触过的样品进行测定,以评估该样品中是否存在该靶分析物。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中该靶分析物与细胞相关。

17. 根据权利要求15所述的方法,其中M¹和M²不具有如下结构:



紫外线吸收聚合物染料及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 根据35 U.S.C. §119 (e), 本申请要求2015年3月12日提交的美国临时专利申请序号62/132,449的申请日的优先权, 将该申请的披露内容通过引用结合在此。

[0003] 引言

[0004] 荧光染料是当被它们所吸收的波长的光照射时发射(通常)不同波长的光的化合物。荧光染料可用于生物化学、生物学和医学中的多种应用, 例如在诊断试剂盒、显微术或药物筛选中。荧光染料的特征在于允许使用者根据所希望的目的选择合适的染料的许多参数。感兴趣的参数包括激发波长最大值、发射波长最大值、斯托克斯位移、消光系数、荧光量子产率和荧光寿命。可以根据感兴趣的应用来选择染料, 以便例如允许激发辐射穿透到生物样品中, 以使背景荧光最小化和/或达到高的信噪比。

[0005] 分子识别涉及两个分子的特异性结合。对靶生物分子具有结合特异性的分子可用于多种研究和诊断应用, 如分析物的标记和分离、流式细胞术、原位杂交、酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹分析、磁性细胞分离和色谱。靶生物分子可以通过用荧光染料标记来检测。

发明内容

[0006] 提供了具有紫外线吸收最大值的水溶性集光多发色团。在一些实施例中, 多发色团包括如下的共轭链段, 其包括稠合的6-5-6三环共聚单体和UV吸光度修饰共聚单体。多发色团可以包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团。在一些实施例中, 特异性结合成员与多发色团共价连接。还提供了针对靶分析物的存在对样品进行评估的方法和使用包括集光多发色团的组合物标记靶分子的方法。还提供了用于实践主题方法的试剂盒和系统。

附图说明

[0007] 应理解的是下述附图仅为说明目的。附图并不旨在以任何方式限制本传授内容的范围。

[0008] 图1示出了基于连接到多种不同的受体发色团的本披露的示例性多发色团核心结构的多种聚合物串联染料的荧光发射谱。

[0009] 图2示出了感兴趣的多种多发色团MC-1至MC-5的UV吸收光谱。

[0010] 定义

[0011] 在更详细地描述示例性实施例之前, 阐述了以下定义以便说明和定义本说明书中所使用的术语的含义和范围。

[0012] 除非另外定义, 在此所使用的所有技术术语和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的含义相同的含义。Singleton, et al., DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY, 2D ED., John Wiley and Sons, New York (1994) [Singleton等人, 微生物学和分子生物学词典, 第2版, 约翰·威利父子出版公司, 纽约(1994)] 和Hale &

Markham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY, Harper Perennial, N.Y. (1991) [Hale&Markham, 哈珀柯林斯生物学词典, 哈珀永久出版社, 纽约(1991)]为技术人员提供了在此使用的许多术语的一般含义。但是,为了清楚起见和易于参考,某些术语如下定义。

[0013] 必须指出的是,如在此和所附权利要求书中使用的,单数形式“一个/一种(a/an)”和“该(the)”包括复数指代物,除非上下文另外清晰地指示。例如,术语“一个引物”是指一个或多个引物,即单个引物和多个引物。另外应指出的是,权利要求书可以撰写以排除任何任意的要素。这样,本声明旨在充当对于此类与权利要求要素的叙述相结合的排除性术语如“单独地”、“仅”等的使用,或“否定型”限制的使用的先行基础。

[0014] 如在此使用的,术语“样品”涉及材料或材料的混合物(在一些情况下,处于液体形式),其含有一种或多种感兴趣的分析物。在一些实施例中,在其最广泛的意义上使用的该术语是指含有细胞或产生细胞代谢物的任何植物、动物或细菌材料,例如像从个体分离的组织或液体(包括但不限于血浆、血清、脑脊髓液、淋巴、泪液、唾液和组织切片)或从体外细胞培养成分分离的组织或液体,以及来自环境的样品。术语“样品”也可以指“生物样品”。如在此使用的,术语“生物样品”是指整个生物体或其组织、细胞或组成部分的子集(例如体液,包括但不限于血液、粘液、淋巴液、滑液、脑脊髓液、唾液、羊水、羊膜脐带血、尿液、阴道液和精液)。“生物样品”还可以指从整个生物体或其组织、细胞或组成部分的子集、或其级分或部分制备的匀浆、裂解物或提取物,包括但不限于血浆、血清、脊髓液、淋巴液、皮肤的外部部分、呼吸道、肠道和泌尿生殖道、泪液、唾液、乳汁、血细胞、肿瘤和器官。在某些实施例中,样品已经从动物或植物中取出。生物样品可以包括细胞。术语“细胞”以其常规意义使用,指的是至少具有细胞核和细胞膜的真核生物和原核生物的基本结构单元。在某些实施例中,细胞包括原核细胞,如来自细菌。在其他实施例中,细胞包括真核细胞,如从来自动物、植物或真菌的生物样品获得的细胞。

[0015] 如在此使用的,术语“亲和力(affinity)”和“亲合力(avidity)”具有相同的含义并且可以在此互换使用。“亲和力”是指结合的程度,增加的结合亲和力与更低的Kd相关。

[0016] 如在此使用的,术语“测定(determining)”、“测量(measuring)”和“评估(assessing)”和“测定(assaying)”可互换使用,并且包括定量和定性测定。

[0017] 如在此使用的,术语“支持体结合”和“与支持体连接”可互换使用,并且是指与感兴趣的支持体共价或非共价连接的部分(例如,特异性结合成员)。共价连接可以涉及两个相容官能团(例如,两个化学选择性官能团、亲电体和亲核体等)的化学反应,以在这两个感兴趣的部分(例如支持体和特异性结合成员)之间形成共价键。在一些情况下,非共价连接可以涉及两个感兴趣的部分(例如,两个亲和部分,如半抗原和抗体或生物素部分和链霉亲和素等)之间的特异性结合。在某些情况下,非共价连接可以涉及对底物的吸收。

[0018] 如在此使用的,术语“生物分子”是指天然存在的分子类别的有机分子或大分子或其衍生物。生物分子意在包括多肽(例如,肽、抗体或抗体片段)、多核苷酸、碳水化合物(例如,糖)和脂质。在一些情况下,生物分子是特异性结合成员(例如,如在此所述的)。

[0019] 如在此使用的,术语“多肽”是指任何长度的氨基酸的聚合形式,包括长度范围为2-50个氨基酸的肽和长度大于50个氨基酸的多肽。术语“多肽”和“蛋白质”在此可互换使用。术语“多肽”包括编码的和非编码的氨基酸的聚合物、化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸、以及具有修饰的肽骨架的多肽,其中的常规骨架已被非天然存在或合成的骨架替代。

多肽可以具有任何方便的长度,例如2个或更多个氨基酸,如4个或更多个氨基酸、10个或更多个氨基酸、20个或更多个氨基酸、50个或更多个氨基酸、100个或更多个氨基酸、300个或更多个氨基酸,如多达500个或1000个或更多个氨基酸。“肽”可以是2个或更多个氨基酸,如4个或更多个氨基酸、10个或更多个氨基酸、20个或更多个氨基酸,如多达50个氨基酸。在一些实施例中,肽的长度在5个和30个氨基酸之间。

[0020] 如在此使用的,术语“分离的”是指如下的感兴趣的部分,其至少60%脱离、至少75%脱离、至少90%脱离、至少95%脱离、至少98%脱离、以及甚至至少99%脱离纯化前和该部分关联的其他组分。

[0021] “多个”含有至少2个成员。在某些情况下,多个可以具有10个或更多个,如100个或更多个、1000个或更多个、10,000个或更多个、100,000个或更多个、 10^6 个或更多个、 10^7 个或更多个、 10^8 个或更多个或 10^9 个或更多个成员。

[0022] 数值范围包括定义该范围的数字。

[0023] 如在此使用的,术语“分离”是指两种元素的物理分离(例如,通过尺寸或亲和力等)以及一种元素的降解(另一种元素保持完整)。

[0024] 如在此使用的,术语“特异性结合”是指捕获剂(或特异性结合对的第一成员)优先结合存在于例如不同分析物的均匀混合物中的特定分析物(或特异性结合对的第二成员)的能力。在一些实例中,特异性结合相互作用将以超过针对不令人希望的分析物10倍或更多(如100倍或更多或1000倍或更多)的针对令人希望的分析物的特异性区分样品中令人希望的分析物和不令人希望的分析物。在一些情况下,当以捕获剂/分析物复合物特异性地结合时,捕获剂和分析物之间的亲和力为至少 10^{-8} M、至少 10^{-9} M,如高达 10^{-10} M。

[0025] 在此描述的方法包括多个步骤。如所希望的,可以在步骤之间经过预定量的时间之后执行每个步骤。这样,执行每个步骤之间的时间可以是1秒或更多、10秒或更多、30秒或更多、60秒或更多、5分钟或更多、10分钟或更多、60分钟或更多,并且包括5小时或更多。在某些实施例中,每个后续步骤在前一步骤完成之后立即执行。在其他实施例中,一个步骤可以在完成前一步骤后在一个孵育或等待时间后执行,例如在几分钟至隔夜等待时间之后执行。

[0026] 如在此使用的,术语“接头”或“键联”是指连接两个基团并具有长度为100个原子或更少的骨架的连接部分。接头或键联可以是连接两个基团的共价键或长度在1个和100个原子之间的链(例如长度在1、2、3、4、5、6、8、10、12、14、16、18、20或更多个碳原子的链),其中接头可以是直链的、支链的、环状的或是单个原子。在一些情况下,接头是指代连接三个或更多个基团的连接部分的分支接头。在某些情况下,接头骨架的一个、两个、三个、四个或五个或更多个碳原子可以任选地被硫、氮或氧杂原子取代。骨架原子之间的键可以是饱和的或不饱和的,并且在一些情况下不超过一个、两个或三个不饱和键存在于接头骨架中。接头可以包括一个或多个取代基基团,例如被烷基、芳基或烯基基团取代。接头可以包括但不限于聚乙二醇;醚;硫醚;叔胺;烷基(其可以是直链的或支链的),例如甲基、乙基、正丙基、1-甲基乙基(异丙基)、正丁基、正戊基、1,1-二甲基乙基(叔丁基)等。接头骨架可以包括环状基团,例如芳基、杂环或环烷基基团,其中环状基团的2个或更多个原子,例如2个、3个或4个原子,被包括在骨架中。接头可以是可裂解的或不可裂解的。

[0027] 如在此使用的,术语“聚环氧乙烷”、“PEO”、“聚乙二醇”、“PEG部分”和“PEG”可互换

使用,并且是指包括由化学式 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-)_n-$ 描述的链的聚合物基团或其衍生物。在一些实施例中,“n”是5000或更少,如1000或更少、500或更少、200或更少、100或更少、50或更少、40或更少、30或更少、20或更少、15或更少,如3至15或10至15。应理解的是,PEG聚合物基团可以具有任何方便的长度,并且可以包括多个端基和/或另外的取代基基团,包括但不限于烷基、芳基、羟基、氨基、酰基、酰氧基和酰胺基端基和/或取代基基团。可被适配用于在主题多发色团中使用的PEG基团包括由S.Zalipsky在“Functionalized poly(ethylene glycol) for preparation of biologically relevant conjugates”,*Bioconjugate Chemistry* 1995,6(2),150-165[“用于制备生物相关的共轭物的功能化聚(乙二醇)”,*生物共轭化学*,1995,6(2),150-165]中;和由Zhu等人在“Water-Soluble Conjugated Polymers for Imaging,Diagnosis,and Therapy”,*Chem.Rev.*,2012,112(8),pp 4687-4735[“用于成像、诊断和治疗的水溶性共轭聚合物”,*化学评论*,2012,112(8),第4687-4735页]中描述的那些PEG。

[0028] 如在此使用的,术语“烷基”本身或作为另一个取代基的一部分是指通过从母体烷烃的单个碳原子上去除一个氢原子而得到的饱和的支链的或直链的单价烃基。感兴趣的烷基基团包括但不限于甲基;乙基、丙基(如丙-1-基或丙-2-基);和丁基(如丁-1-基、丁-2-基、2-甲基-丙-1-基或2-甲基-丙-2-基)。在一些实施例中,烷基基团包括从1至20个碳原子。在一些实施例中,烷基基团包括从1至10个碳原子。在某些实施例中,烷基基团包括从1至6个碳原子,如从1至4个碳原子。通过举例,这一术语包括直链的和支链的烃基基团,如甲基(CH_3-)、乙基(CH_3CH_2-)、正丙基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丙基($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$)、正丁基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、异丁基($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$)、仲丁基($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$)、叔丁基($(\text{CH}_3)_3\text{C}-$)、正戊基($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)和新戊基($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-$)。

[0029] 术语“经取代的烷基”是指如在此定义的烷基基团,其中烷基链中的一个或多个碳原子已经任选地被以下替代:杂原子(如-O-、-N-、-S-), $-\text{S}(\text{O})_n-$ (其中n是0至2), $-\text{NR}-$ (其中R是氢或烷基),并且具有从1至5个选自下组的取代基,该组由以下各项组成:烷氧基、经取代的烷氧基、环烷基、经取代的环烷基、环烯基、经取代的环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨酰基、氨基酰氧基、氧氨基酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代、硫酮(thioketo)、羧基、羧烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、经取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、 $-\text{SO}-$ 烷基、 $-\text{SO}-$ 芳基、 $-\text{SO}-$ 杂芳基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基、 $-\text{SO}_2-$ 芳基、 $-\text{SO}_2-$ 杂芳基和 NR^aR^b ,其中 R' 和 R'' 可以是相同的或不同的并且选自氢,经任选取代的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、芳基、杂芳基和杂环。

[0030] “烷氧基”是指基团-O-烷基,其中烷基是如在此所定义的。通过举例,烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基等。术语“烷氧基”还指基团烯基-O-、环烷基-O-、环烯基-O-和炔基-O-,其中烯基、环烷基、环烯基和炔基是如在此所定义的。

[0031] 术语“经取代的烷氧基”是指基团经取代的烷基-O-、经取代的烯基-O-、经取代的环烷基-O-、经取代的环烯基-O-和经取代的炔基-O-,其中经取代的烷基、经取代的烯基、经取代的环烷基、经取代的环烯基和经取代的炔基是如在此所定义的。

[0032] 术语“炔基”和“炔烃”是指直链的或支链的单价烃基基团,该烃基基团具有从2至6

(O)₂O⁻、-S(O)₂OH、-S(O)₂R⁶⁰、-OS(O)₂O⁻、-OS(O)₂R⁶⁰、-P(O)(O⁻)₂、-P(O)(OR⁶⁰)(O⁻)、-OP(O)(OR⁶⁰)(OR⁶¹)、-C(O)R⁶⁰、-C(S)R⁶⁰、-C(O)OR⁶⁰、-C(O)NR⁶⁰R⁶¹、-C(O)O⁻、-C(S)OR⁶⁰、-NR⁶²C(O)NR⁶⁰R⁶¹、-NR⁶²C(S)NR⁶⁰R⁶¹、-NR⁶²C(NR⁶³)NR⁶⁰R⁶¹和-C(NR⁶²)NR⁶⁰R⁶¹，其中M是卤素；R⁶⁰、R⁶¹、R⁶²和R⁶³独立地是氢、烷基、经取代的烷基、烷氧基、经取代的烷氧基、环烷基、经取代的环烷基、杂环烷基、经取代的杂环烷基、芳基、经取代的芳基、杂芳基或经取代的杂芳基，或任选地R⁶⁰和R⁶¹连同它们所结合的氮原子一起形成环杂烷基或经取代的环杂烷基的环；并且R⁶⁴和R⁶⁵独立地是氢、烷基、经取代的烷基、芳基、环烷基、经取代的环烷基、杂环烷基、经取代的杂环烷基、芳基、经取代的芳基、杂芳基或经取代的杂芳基，或任选地R⁶⁴和R⁶⁵连同它们所结合的氮原子一起形成环杂烷基或经取代的环杂烷基的环。在某些实施例中，取代基包括-M、-R⁶⁰、=O、-OR⁶⁰、-SR⁶⁰、-S⁻、=S、-NR⁶⁰R⁶¹、=NR⁶⁰、-CF₃、-CN、-OCN、-SCN、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、-S(O)₂R⁶⁰、-OS(O)₂O⁻、-OS(O)₂R⁶⁰、-P(O)(O⁻)₂、-P(O)(OR⁶⁰)(O⁻)、-OP(O)(OR⁶⁰)(OR⁶¹)、-C(O)R⁶⁰、-C(S)R⁶⁰、-C(O)OR⁶⁰、-C(O)NR⁶⁰R⁶¹、-C(O)O⁻、-NR⁶²C(O)NR⁶⁰R⁶¹。在某些实施例中，取代基包括-M、-R⁶⁰、=O、-OR⁶⁰、-SR⁶⁰、-NR⁶⁰R⁶¹、CF₃、-CN、-NO₂、-S(O)₂R⁶⁰、-P(O)(OR⁶⁰)(O⁻)、-OP(O)(OR⁶⁰)(OR⁶¹)、-C(O)R⁶⁰、-C(O)OR⁶⁰、-C(O)NR⁶⁰R⁶¹、-C(O)O⁻。在某些实施例中，取代基包括-M、-R⁶⁰、=O、-OR⁶⁰、-SR⁶⁰NR⁶⁰R⁶¹、-CF₃、-CN、-NO₂、-S(O)₂R⁶⁰、-P(O)(OR⁶⁰)(OR⁶¹)、-C(O)R⁶⁰、-C(O)OR⁶⁰、-C(O)O⁻，其中R⁶⁰、R⁶¹和R⁶²是如上所定义的。例如，经取代的基团可以具有亚甲基二氧基取代基或一个、两个、或三个选自卤素原子、(1-4C)烷基基团和(1-4C)烷氧基基团的取代基。当被取代的基团是芳基或杂芳基基团时，这一个或多个取代基(例如，如在此所述的)可以被称为“一个或多个芳基取代基”。

[0039] 术语的其他定义可以在整个说明书中出现。

具体实施方式

[0040] 如上所概述的，提供了水溶性集光多发色团。在一些实施例中，多发色团包括如下的共轭链段，其包括稠合的6-5-6三环共聚单体和UV吸光度修饰共聚单体，其中多发色团具有紫外线吸收最大值。多发色团可以包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团。在一些实施例中，特异性结合成员与多发色团共价连接。还提供了针对靶分析物的存在对样品进行评估的方法和使用包括集光多发色团的组合物标记靶分子的方法。还提供了用于实践主题方法的试剂盒和系统。

[0041] 在更详细地描述各实施例之前，应当理解的是本披露的传授内容并不限于所描述的具体实施例，因为这些当然可以改变。还应当理解的是，因为本传授内容的范围将仅由所附权利要求书限制，所以在此所使用的术语仅是出于描述具体实施例的目的，而不旨在是限制性的。

[0042] 在此所使用的章节标题仅是出于组织的目的并且不应当解释为以任何方式限制所描述的主题。虽然结合各实施例描述了本传授内容，但并不旨在本传授内容限于这些实施例。相反，如将为本领域的普通技术人员所理解的是，本传授内容涵盖各种替代方案、修改以及等效物。

[0043] 除非另外定义，在此所使用的所有技术术语和科学术语具有与本披露所属领域的技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管类似于或等同于在此所描述的方法和材料的任何方法和材料也可以用于对本传授内容的实践或测试，但是现在将对一些示例方法和材料

进行描述。

[0044] 对任何出版物的引用是针对其在申请日之前的公开,并且不应当解释为承认本权利要求书因为先前发明而不能获得比这种出版物更早的申请日。另外,所提供的出版物的日期可以不同于实际公开日期,所述实际公开日期可被独立确认。

[0045] 在阅读本披露之后,如对于本领域的普通技术人员将显而易见的是,在此所描述和说明的单独实施例中的每个实施例具有不连续的组成部分和特征,所述组成部分和特征可以在不偏离本传授内容的范围或精神的情况下易于与任何其他若干实施例的特征分离或组合。可以按所叙述的事件的顺序或按逻辑上可能的任何其他顺序来执行所叙述的任何方法。

[0046] 在此提到的全部专利和出版物,包括这些专利和出版物内披露的所有序列在内,均明确地通过引用而结合。

[0047] 在进一步描述本发明时,首先更详细地描述了集光多发色团。接下来,描述了包括主题多发色团的串联染料及其共轭物。然后,综述了在其中使用包括主题多发色团的组合物的感兴趣的方法。还描述了可用于实践本发明的方法的系统和试剂盒。

[0048] 集光多发色团

[0049] 如上所概述的,本披露提供了具有紫外线吸收最大值的集光多发色团。在一些实施例中,多发色团包括如下的共轭链段,其具有:稠合的6-5-6三环共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中多发色团具有紫外线吸收最大值。如在此使用的,术语“紫外线吸收最大值”是指在电磁光谱的UV区域中的吸收最大波长,例如400nm或更小的波长,如在10nm至400nm范围内的吸收最大波长。

[0050] 如在此使用的,术语“集光多发色团”、“聚合物染料”和“共轭聚合物”可互换使用,并且是指具有能够收集特定吸收最大波长的光并将其转换为更长发射最大波长的发射光的结构的共轭聚合物。在一些情况下,集光多发色团本身是荧光的。共轭聚合物(CP)的特征在于离域电子结构,并且可以具有基本上短于聚合物链长度的有效共轭长度,因为骨架可以含有大量紧密接近的共轭链段。在一些情况下,共轭聚合物对于集光是有效的,并且通过Forster能量转移到受体来提供光学放大。

[0051] 如在此使用的,术语“单元”是指聚合物的结构亚单元。术语单元意在包括单体、共聚单体、共嵌段、共轭链段、重复单元等。“重复单元”是聚合物的亚单元,其由被认为是单体的单元所需的最小数量的不同结构特征定义,使得当该单元重复n次时,所得结构描述该聚合物或其嵌段。在一些情况下,聚合物可以包括两个或更多个不同的重复单元,例如当聚合物是多嵌段聚合物时,每个嵌段可以定义不同的重复单元。在一些情况下,聚合物的重复单元包括单个单体基团。在某些实例中,聚合物的重复单元包括两个或更多个单体基团,即共聚单体基团,例如两个、三个、四个或更多个共聚单体基团。如在此使用的,术语“共聚单体”或“共聚单体基团”是指聚合物的结构单元,其本身可以是聚合物的重复单元的一部分。在一些实施例中,共轭聚合物包括由聚合单体嵌段组成的嵌段共聚物。在这种情况下,嵌段共聚物可以被描述为具有不同的重复单元,各自对应于聚合物的不同共嵌段。在一些情况下,聚合物是含有两个不同共嵌段的二嵌段共聚物。在这种情况下,聚合物可以被描述为包括共嵌段,其中每个共嵌段可以由共聚单体组成,如一个、两个、三个或更多个共聚单体。

[0052] 如在此使用的,术语“UV吸光度修饰共聚单体”是指为多发色团赋予如下的吸光度

最大值的共聚单体,其相对于对照多发色团(例如,UV吸光度修饰共聚单体不存在于重复单元中的共轭聚合物)的吸光度最大值朝向处于紫外线区域的较短波长偏移(例如,朝向400nm或更小的波长偏移)。在一些情况下,对照多发色团是聚茚多发色团。在一些情况下,对照多发色团是聚咪唑多发色团。

[0053] 任何方便的集光多发色团都可被适配为包括吸光度修饰共聚单体,以便提供具有紫外线吸收最大值(例如,在400nm或更小的波长的吸收最大值)的多发色团。可以被修饰以包括吸光度修饰共聚单体的感兴趣的集光多发色团包括但不限于如下描述的那些多发色团,即Gaylord等人于美国公开号20040142344、20080293164、20080064042、20100136702、20110256549、20120028828、20120252986和20130190193以及美国专利号8,575,303和8,802450,将这些公开和专利的披露内容通过引用以其整体结合在此;和Gaylord et al., J. Am. Chem. Soc., 2001, 123 (26), pp 6417-6418 [Gaylord等人, 美国化学学会杂志, 2001, 123 (26), 第6417-6418页]; Feng et al., Chem. Soc. Rev., 2010, 39, 2411-2419 [Feng等人, 化学学会评论, 2010, 39, 2411-2419]; 以及 Traina et al., J. Am. Chem. Soc., 2011, 133 (32), pp 12600-12607 [Traina等人, 美国化学学会杂志, 2011, 133 (32), 第12600-12607页], 将其披露内容通过引用以其整体结合在此。

[0054] 在一些实施例中,多发色团包括形成共轭系统的多个第一光学活性单元,该共轭系统具有第一光学活性单元吸收光以形成激发态的吸收波长(例如,如在此所述的)。在某些实例中,多发色团包括共轭聚合物链段或低聚结构,其包括降低带隙的n-共轭重复单元。

[0055] 主题多发色团可以是水溶性的。任何方便的水增溶基团可以被包括在多发色团中以提供增加的水溶性。虽然溶解度的增加可能变化,但在一些实例中,增加(与没有这一个或多个WSG的化合物相比)是2倍或更多,例如5倍、10倍、25倍、50倍、100倍或更多。术语“水增溶基团”(WSG)是指在水性环境中(例如,在生理条件下)很好地溶剂化且为与其附接的分子赋予改进的水溶性的基团。在一些实施例中,与缺乏WSG的对照多发色团相比,WSG增加多发色团在主要为水性的溶液中的溶解度。水增溶基团可以是在水性环境中很好溶剂化的任何方便的亲水基团。在一些情况下,亲水性水增溶基团是带电的,例如带正电荷或带负电荷。在某些情况下,亲水性水增溶基团是中性亲水基团。在一些实施例中,WSG是亲水性聚合物,例如聚乙二醇、纤维素、壳聚糖或其衍生物。感兴趣的水增溶基团包括但不限于羧酸盐、膦酸盐、磷酸盐、磺酸盐、硫酸盐、亚磺酸盐、脞、酯、聚乙二醇(PEG)和改性PEG、羟基、胺、铵、胍鎓、吡啶鎓、多胺和脞、多元醇、直链或环状糖类、伯胺、仲胺、叔胺或季胺和多胺、膦酸盐基团、次膦酸盐基团、抗坏血酸盐基团、二醇(包括聚醚、 $-\text{COOM}'$ 、 $-\text{SO}_3\text{M}'$ 、 $-\text{PO}_3\text{M}'$ 、 $-\text{NR}_3^+$ 、 Y' 、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{R}$)及其混合物,其中 Y' 可以是任何卤素、硫酸根、磺酸根或含氧阴离子,p可以是1至500,每个R可以独立地是H或烷基(如甲基),并且 M' 可以是阳离子平衡离子或氢、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{yy}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{XR}^{yy}$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{yy}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}-$ 、 $-X(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{yy}\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、二醇和聚乙二醇,其中yy选自1至1000,X选自O、S和 NR^{zz} ,并且 R^{zz} 和 R^{yy} 独立地选自H和 C_{1-3} 烷基。

[0056] 多个WSG可以通过分支接头被包括在主题多发色团中的单个位置处。在某些实施例中,分支接头是被水增溶基团进一步二取代的芳烷基取代基。这样,在一些情况下,分支接头基团是多发色团的取代基,其将多发色团与两个或更多个水增溶基团连接。在一些情况下,通过分支接头并入多个WSG为多发色团赋予令人希望的溶解度。

[0057] 在一些实施例中,多发色团包括选自烷基、芳烷基和杂环基团的一个或多个取代

基,每个基团进一步被亲水性聚合物基团如聚乙二醇(PEG)(例如,2-20个单元的PEG)取代。

[0058] 在一些实施例中,多发色团是包括如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,其包括:芴共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中多发色团具有紫外线吸收最大值。在一些实施例中,多发色团是包括如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,其包括:咔唑共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中多发色团具有紫外线吸收最大值。在某些实施例中,多发色团具有400nm或更小的吸收最大波长,如在10nm至400nm、100nm至400nm、200nm至400nm、300nm至400nm、300nm至390nm、300nm至380nm、300nm至370nm、300nm至360nm、300nm至350nm、300nm至340nm、300nm至330nm或300nm至325nm范围内的波长。在某些实施例中,多发色团仅吸收UV光,即仅400nm或更小的光,并且不吸收波长大于400nm的光。在某些实例中,多发色团具有300nm至400nm的吸收最大波长。在一些实例中,多发色团具有在300至400nm的范围内(如在300nm至390nm、300nm至380nm、300nm至370nm、300nm至360nm或300nm至325nm的范围内)的吸收最大波长和在375nm至900nm的范围内(如在380nm至900nm、390nm至900nm、或400nm至900nm的范围内)的发射最大波长。在某些情况下,多发色团不吸收可见光,例如在大于400nm的波长(如405nm或更大的波长)下无吸收。在某些实例中,多发色团具有如下的吸收光谱,其中在400nm或更小的波长下,积分吸收强度(即,吸收线下面积)的80%或更多,如85%或更多、90%或更多、95%或更多、98%或更多或者99%或更多处于UV区域。

[0059] 多发色团可以具有任何方便的长度。在一些情况下,多发色团的单体重复单元或链段的具体数量可以落在2至500,000的范围内,如2至100,000、2至30,000、2至10,000、2至3,000或2至1,000个单元或链段,或如5至100,000、10至100,000、100至100,000、200至100,000、或500至50,000个单元或链段。在一些实例中,多发色团的单体重复单元或链段的具体数量可以落在2至1,000的范围内,如2至500、2至100、3至100、4至100、5至100、6至100、7至100、8至100、9至100或10至100个单元或链段。

[0060] 多发色团可以具有任何方便的分子量(MW)。在一些情况下,多发色团的MW可以表示为平均分子量。在一些实例中,聚合物染料具有从500至500,000,如从1,000至100,000、从2,000至100,000、从10,000至100,000的平均分子量,或甚至从50,000至100,000的平均分子量。

[0061] 在一些实施例中,UV吸光度修饰共聚单体构成多发色团的按摩尔浓度计25%或更多,如30%或更多、40%或更多、45%或更多、50%或更多、60%或更多、70%或更多,或多发色团的按摩尔浓度计甚至更多。在这种情况下,多发色团可以包括5个或更多个重复单元,如10个或更多、20个或更多、30个或更多、40个或更多、50个或更多、60个或更多、70个或更多、80个或更多、90个或更多、100个或更多、200个或更多、500个或更多、1000个或更多、10,000个或更多、或甚至更多的重复单元。在这种情况下,多发色团可以包括5个或更多个共聚单体单元,如10个或更多、20个或更多、30个或更多、40个或更多、50个或更多、60个或更多、70个或更多、80个或更多、90个或更多、100个或更多、200个或更多、500个或更多、1000个或更多、10,000个或更多、或甚至更多的共聚单体单元。在某些实施例中,UV吸光度修饰共聚单体构成多发色团的按摩尔浓度计25%或更多,如30%或更多、40%或更多、45%或更多、50%或更多,或多发色团的按摩尔浓度计甚至更多,其包括5个或更多个重复单元,如10个或更多、20个或更多、30个或更多、40个或更多、50个或更多、60个或更多、70个或更多、80个

或更多、90个或更多、100个或更多的重复单元。

[0062] 主题多发色团可以具有一种或多种令人希望的光谱特性,如特定的吸收最大波长、特定的发射最大波长、消光系数、量子产率等。在一些实施例中,多发色团具有在300至900nm范围内的发射最大波长,如350至850nm、350至600nm、360至500nm、370至500nm、380至500nm、390至500nm或400至500nm,其中感兴趣的发射极大值的具体实例包括但不限于:395nm±5nm、460nm±5nm、490nm±5nm、550nm±5nm、560nm±5nm、605nm±5nm、650nm±5nm、680nm±5nm、700nm±5nm、805nm±5nm。在某些实例中,多发色团具有选自395nm、460nm、490nm、550nm、560nm、605nm、650nm、680nm、700nm和805nm的发射最大波长。在某些实例中,多发色团具有395nm±5nm的发射最大波长。

[0063] 在一些实例中,多发色团具有 $5 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大的消光系数,如 $6 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $7 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $8 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $9 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大,如 $1 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $1.5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $2 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $2.5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $3 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $4 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $6 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $7 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、或 $8 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大。在这种情况下,多发色团可以具有5个或更多个重复单元,如6个或更多、7个或更多、8个或更多、9个或更多、10个或更多、或甚至更多的重复单元。在一些实施例中,多发色团具有 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 或更大的摩尔消光系数。在某些实例中,多发色团具有 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 或更大的摩尔消光系数。

[0064] 在一些实例中,多发色团具有40,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大的消光系数,如45,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、50,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、55,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、60,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、70,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、80,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、90,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、100,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大、或甚至更大。在一些实例中,在此所述的40,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /重复单元或更大是平均消光系数。在某些实例中,多发色团的重复单元可以包括单个单体、两个共聚单体或三个或更多个共聚单体。在一些实例中,多发色团具有40,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大的消光系数,如45,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、50,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、55,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、60,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、70,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、80,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、90,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、100,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大、或甚至更大。在一些实例中,40,000 $\text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ /共聚单体或更大是平均消光系数。

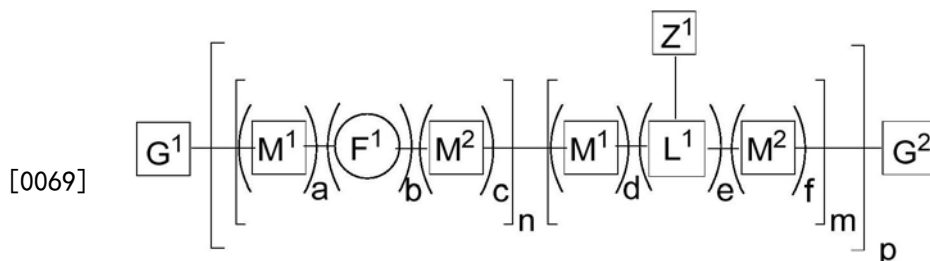
[0065] 在某些情况下,多发色团不吸收可见光,例如在大于400nm(如405nm或更大)下的光。在某些实例中,多发色团在大于400nm的波长下不具有显著吸收,例如在大于400nm(如405nm或更大,例如405nm)的波长下具有 $1 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小,如 $9 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $8 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $7 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $6 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $5 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $4 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $3 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $2 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $1 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $5 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、 $1 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更小、或甚至更小的消光系数。

[0066] 在某些实例中,多发色团是具有0.3或更大的量子产率的聚合物染料,如0.35或更大、0.4或更大、0.45或更大、0.5或更大、0.55或更大、0.6或更大、0.65或更大、0.7或更大、或甚至更大。在某些情况下,多发色团具有0.4或更大的量子产率。在某些实例中,聚合物染料具有0.5或更大的量子产率。

[0067] 应当理解的是,在一些情况下,主题多发色团可以包括共嵌段(例如,n和m个共嵌

段)。主题多发色团在整个聚合物的结构内可以包括具有各种长度的n和m个共嵌段的任何方便的线性排列。此外,多发色团在这n和/或m个共嵌段内可以包括共聚单体的任何方便的排列。在制备主题多发色团中,可以利用多种聚合物合成方法来制备感兴趣的共聚单体和共嵌段。应当理解的是,在一些情况下,聚合方法可以产生包括共轭聚合物群体的组合物,其包括相对于存在于群体的每个CP中的特定长度和/或端基(即,末端基团)的一些变化。在此描绘的化学式可以指单个化合物或者聚合化合物的群体或亚群。

[0068] 在一些实例中,多发色团由化学式(I)描述:



[0070] 其中:

[0071] F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体;

[0072] 每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体;

[0073] b是1或2;

[0074] a、c、d、e和f各自独立地是0或1,其中 $a+c+d+f \geq 1$;

[0075] L^1 是包含化学选择性标签- Z^1 的连接共聚单体;

[0076] 每个n是从1至100,000的整数;

[0077] 每个m是0或从1至10,000的整数;

[0078] p是从1至100,000的整数;并且

[0079] G^1 和 G^2 各自独立地选自端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。

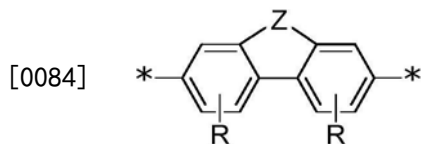
[0080] 在化学式(I)的一些实例中, F^1 是茈共聚单体。在化学式(I)的一些实例中, F^1 是咪唑共聚单体。在化学式(I)的一些情况下, L^1 是茈共聚单体。在化学式(I)的某些实施例中, L^1 是咪唑共聚单体。

[0081] 在化学式(I)的一些实施例中,b是1。在化学式(I)的某些实施例中,b是2。在化学式(I)的一些实例中,a是0。在化学式(I)的一些情况下,c是0。在化学式(I)的某些实施例中,d是0。在化学式(I)的某些实例中,e是0。在化学式(I)的某些情况下,f是0。在化学式(I)的一些实施例中, $a+c+d+f=1$ (即,a是1,c是1,d是1或f是1)。在化学式(I)的一些实施例中, $a+c+d+f=2$ 。在化学式(I)的一些实施例中, $a+c+d+f=3$ 。在化学式(I)的一些实施例中, $a+c+d+f=4$ 。在化学式(I)的一些实施例中,f是1。在化学式(I)的某些实施例中,e是1,并且d或f是1,使得 $d+e+f=2$ 。在化学式(I)的某些实例中,e是1,并且d和f各自是0。

[0082] 在化学式(I)的某些实施例中,e是0,并且d、f和m各自是0。在某些实例中,e是1, $d+f \leq 1$,并且 $m \geq 1$ 。在某些实例中,e是1,d和f各自是0,并且 $m \geq 1$ 。在某些实例中,e是1; $d+f=1$,并且 $m \geq 1$ 。在一些情况下,d是1,并且f是0。在一些情况下,d是0,并且f是1。在化学式(I)的一些实施例中,选择n、m和p,使得多发色团共计包括2至100,000个重复单元(即,单体重

复单元),其中多发色团可以包括多种不同的单体重复单元。在一些实例中,当m是0时,p是1,并且n是2至100,000。在化学式(I)的一些实施例中, L^1 是苄共聚单体。

[0083] 稠合的6-5-6三环共聚单体是包括具有三个稠环的三环芳香族基团的共聚单体,其构型为6-5-6,即与中心5元环稠合的两个苯并环。5元环可以是碳环或杂环,并且可以另外包括环原子上的侧链取代基,其不与苯并环稠合。在某些实例中,稠合的6-5-6三环共聚单体由以下结构描述:



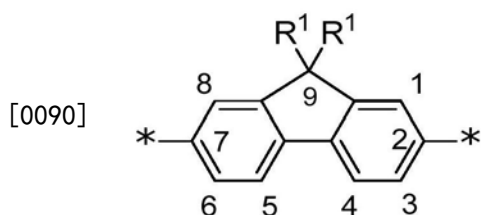
[0085] 其中:

[0086] Z是 $-C(R^1)_2-$ 或 $-N(R^1)-$;

[0087] 每个R独立地是H或一个或多个芳基取代基;并且

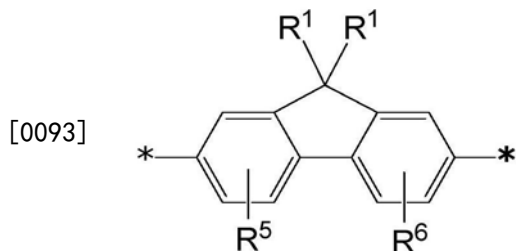
[0088] 每个 R^1 独立地选自烷基、经取代的烷基、芳烷基、经取代的芳烷基、PEG部分和 $-L^1-Z^1$,其中 L^1 是接头,并且 Z^1 是化学选择性标签(例如,包括化学选择性官能团的标签)或WSG。如在于此所述的任何化学式中所使用的,*表示用于共价附接到共轭聚合物的不饱和骨架或末端基团上的位点。在一些实施例中,当Z为 $-N(R^1)-$ 时,稠合的6-5-6三环共聚单体是咪唑共聚单体。可在主题多发色团中利用任何方便的咪唑共聚单体。在一些实施例中,当Z为 $-C(R^1)_2-$ 时,稠合的6-5-6三环共聚单体是苄共聚单体。可在主题多发色团中利用任何方便的苄共聚单体。在稠合的6-5-6三环共聚单体的某些实例中,每个 R^1 选自被一个、两个或更多个PEG部分取代的苄基基团或被两个或更多个PEG部分取代的烷基基团。

[0089] 苄共聚单体是包括具有9H-苄核心结构的芳香族基团的共聚单体,该核心结构在位置9处被一个或多个任何方便的侧链取代基取代。在一些情况下,苄共聚单体是9,9-二取代的苄。苄共聚单体通过苄核心结构的任何方便的位置与相邻的聚合物骨架基团共轭,如位置1-8中的任何两个位置(参见下面的编号方案)。在一些实施例中,苄核心结构通过2位和7位连接到聚合物骨架的相邻基团。在某些实例中,苄共聚单体由以下结构描述:



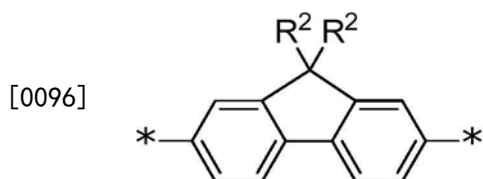
[0091] 其中:每个 R^1 独立地选自烷基、经取代的烷基、芳烷基、经取代的芳烷基、PEG部分和 $-L^1-Z^1$,其中 L^1 是接头,并且 Z^1 是化学选择性标签(例如,包括化学选择性官能团的标签)或WSG。在苄共聚单体的某些实例中,每个 R^1 选自被一个、两个或更多个PEG部分取代的苄基基团或被两个或更多个PEG部分取代的烷基基团。 Z^1 官能团可用于将多发色团与受体发色团(例如,如在此所述的)共价连接。在某些实例中, Z^1 包括用于共价连接到受体发色团的氨基基团。在某些实例中, Z^1 包括用于共价连接到受体发色团的羧酸基团或其衍生物。在某些实例中, L^1 是连接到两个或更多个 Z^1 基团(例如,WSG)的支链接头。在某些实例中,苄共聚单体进一步被位于选自位置1、3、4、5、6和8中的一个、两个或更多个位置处的 R^5 和/或 R^6 取代基取代,其中 R^5 和 R^6 独立地选自水增溶基团(WSG)和芳基取代基(例如,如在此所述的)。

[0092] 在某些实例中, 苋共聚单体由以下结构描述:



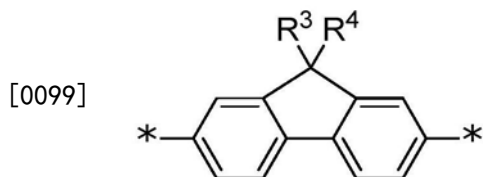
[0094] 其中: 每个 R^1 是如上所定义的; 并且 R^5 和 R^6 独立地选自H、水增溶基团或芳基取代基(例如, 如在此所述的)。

[0095] 在一些实例中, 苋共聚单体由以下结构描述:

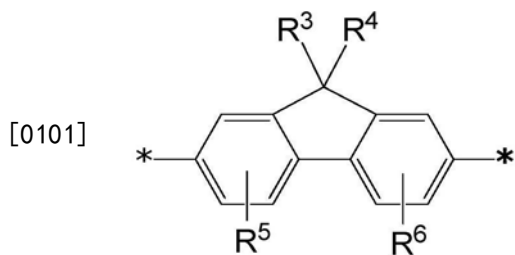


[0097] 其中每个 R^2 是被水增溶基团取代的烷基, 或与两个或更多个水增溶基团(例如, PEG-二取代的苋基或PEG取代的烷基)连接的支链接头。在苋共聚单体的某些实例中, 每个 R^2 是被一个、两个或三个PEG部分(例如, $-O(CH_2CH_2O)_nR'$, 其中 R' 是H或烷基, 并且 n 是1-20, 例如3-16, 如 n 是8-16)取代的苋基基团。在苋共聚单体的某些实例中, 每个 R^2 是被一个 $-O(CH_2CH_2O)_nR'$ 基团取代(例如, 在2,3或4位)的苋基基团, 其中 R' 是H或烷基, 并且 n 是1-20, 例如3-16, 如 n 是8-16。在苋共聚单体的某些实例中, 每个 R^2 是被两个 $-O(CH_2CH_2O)_nR'$ 基团取代(例如, 在2,4-、3,4-或3,5-位)的苋基基团, 其中每个 R' 独立地是H或烷基, 并且每个 n 独立地是1-20, 例如3-16, 如 n 是8-16。在苋共聚单体的某些实例中, 每个 R^2 是被三个 $-O(CH_2CH_2O)_nR'$ 基团取代(例如, 在2,4,6-、2,4,5-或3,4,5-位)的苋基基团, 其中每个 R' 独立地是H或烷基, 并且每个 n 独立地是1-20, 例如3-16, 如 n 是8-16。在苋共聚单体的某些实例中, 每个 R^2 是被三价分支基团取代的低级烷基基团, 每个分支基团被两个PEG部分取代(例如, $-CO-NR''_2$ 或 $-O(CH_2R'')_2$ 三价分支基团), 其中每个 R'' 独立地是PEG部分(例如, $-O(CH_2CH_2O)_nR'$, 其中 R' 是H或烷基, 并且 n 是1-20, 例如3-16, 如 n 是8-16)。

[0098] 在某些实例中, 苋共聚单体由以下结构描述:



[0100] 其中 R^3 是被水增溶基团(例如, PEG取代的烷基)取代的烷基, 并且 R^4 是 L^2-Z^2 , 其中 L^2 是接头, 并且 Z^2 是化学选择性标签(例如, 用于与受体发色团共轭)。在一些实例中, 苋共聚单体由以下结构描述:



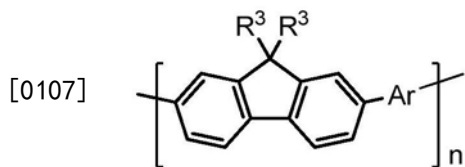
[0102] 其中：

[0103] R^3 是包含水增溶基团(例如,如在此所述的)的取代基；

[0104] R^4 是 L^2-Z^2 ,其中 L^2 是接头,并且 Z^2 是化学选择性标签(例如,用于与受体发色团共轭);并且

[0105] R^5 和 R^6 独立地选自H、水增溶基团和芳基取代基(例如,烷基、经取代的烷基、烷氧基、经取代的烷氧基、卤素或硝基)。在芴共聚单体的某些实例中, R^3 是被三价分支基团取代的低级烷基基团,每个分支基团被两个PEG部分取代(例如, $-CO-NR''_2$ 或 $-O(CH_2R'')_2$ 三价分支基团),其中每个 R'' 是PEG部分(例如, $-O(CH_2CH_2O)_nR'$,其中 R' 是H或烷基,并且 n 是1-20,例如3-16,如 n 是8-16)。

[0106] 可在主题多发色团(例如,具有化学式(I)-(IV)的多发色团)中利用上述任一种芴共聚单体。在一些情况下,多发色团包括作为聚合物骨架的一部分的以下结构之一：



[0108] 其中每个 R^3 独立地是经由任选的接头连接的水增溶基团,或经任选取代的烷基、芳烷基或芳基基团;Ar是经任选取代的芳基或杂芳基基团;并且 n 是从1至100,000的整数。在某些实施例中,每个 R^3 独立地是经取代的烷基基团。在某些实施例中,每个 R^3 独立地是经取代的芳烷基基团。在一些情况下,每个 R^3 和每个Ar被水增溶基团、受体发色团、化学选择性官能团或特异性结合部分独立地取代(通过任选的接头)。

[0109] 如在此使用的,术语“化学选择性官能团”和“化学选择性标签”可互换使用,并且是指可以选择性地与另一相容官能团反应以形成共价键的官能团(在一些情况下,在任选地活化这些官能团之一后)。感兴趣的化学选择性官能团包括但不限于硫醇和马来酰亚胺或碘乙酰胺、胺和羧酸或其活性酯,以及可以通过点击化学(Click chemistry)彼此反应的基团,例如叠氮化物 and 炔烃基团(例如,环辛炔基团),以及羟基、酰肼基、肼基、醛、酮、叠氮基、炔烃、磷化氢、环氧化物等。

[0110] 可以将任何方便的连接共聚单体(L^1)并入到主题多发色团中,以提供可以附接任何方便的感兴趣的部分的连接基团。感兴趣的连接共聚单体包括但不限于芴共聚单体、亚苯基亚乙烯基共聚单体、亚苯基亚乙炔基共聚单体、咪唑共聚单体、 C_2-C_{12} 炔烃共聚单体、亚芳基-亚乙炔基共聚单体、杂亚芳基-亚乙炔基共聚单体、亚芳基共聚单体和杂亚芳基共聚单体。

[0111] 主题多发色团中(例如,在 $-Z^1$ 处)可以包括任何方便的化学选择性官能团,包括但不限于羧酸、活性酯(例如,NHS或磺基-NHS酯)、氨基、羟基、硫醇、马来酰亚胺、碘乙酰基、酰

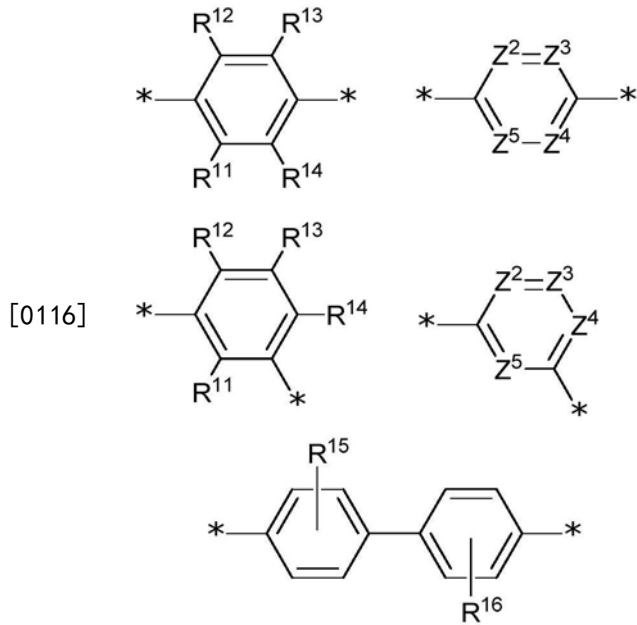
肼基、肼基、醛、酮、叠氨基、炔烃、磷化氢、环氧化物等。

[0112] 在某些情况下,连接共聚单体是经取代的或未经取代的1,4-苯基、经取代的或未经取代的1,3-苯基、经取代的或未经取代的4,4'-联苯基、经取代的或未经取代的2,5-吡啶基和经取代的或未经取代的2,6-吡啶基。在一些实例中,连接共聚单体是苄共聚单体。在某些实例中,连接共聚单体是UV吸光度修饰共聚单体(例如,如在此所述的)。

[0113] 可在主题多发色团的末端利用任何方便的末端基团(例如, G^1 和 G^2)。感兴趣的 G^1 和 G^2 基团包括但不限于末端封端基团、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。在一些实施例中,末端封端基团是在聚合后共轭至多发色团的骨架的单价基团。在某些实例中,末端封端基团是芳基、经取代的芳基、杂芳基、经取代的杂芳基、烷基或经取代的烷基。在某些情况下,末端封端基团是衍生自在聚合方法中使用的单体的基团,例如能够经历进一步共轭的端基,如卤素(例如,Br)、硼酸或硼酸酯。在一些实例中, G^1 和/或 G^2 是 π 共轭链段。如在此使用的, π 共轭链段是指多发色团可以共轭(即,允许 π 电子跨越相邻单元离域)的共轭聚合物的任何方便的链段。在某些实施例中, G^1 和/或 G^2 是接头,如包括适于与特异性结合部分共轭的官能团的接头。应当理解的是,可以选择位于多发色团的 G^1 和/或 G^2 位置的接头以便与可能存在于多发色团的侧链上(例如,在 Z^1 处)的任何其他接头(包括化学选择性标签)正交。在某些实施例中,氨基官能团或其衍生物被包括在 G^1 和/或 G^2 处,并且羧酸官能团或其衍生物被包括在 Z^1 处。在某些实施例中,羧酸官能团或其衍生物被包括在 G^1 和/或 G^2 处,并且氨基官能团或其衍生物被包括在 Z^1 处。

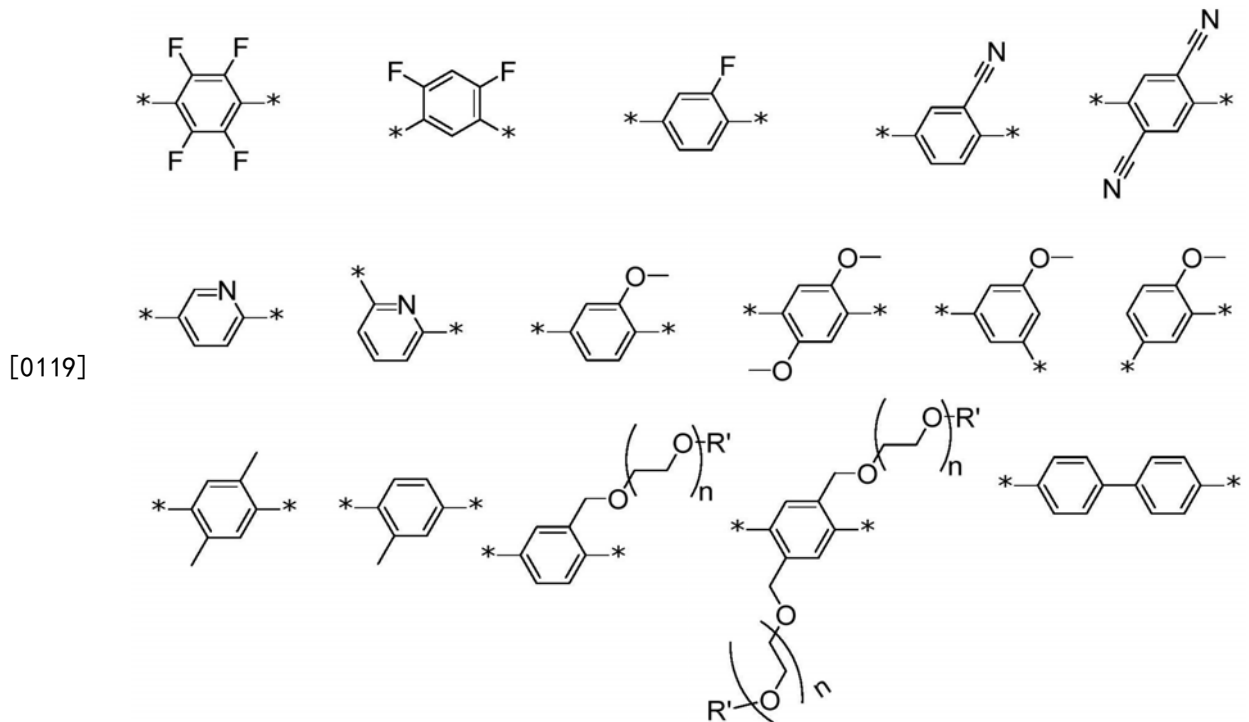
[0114] 可以将任何方便的UV吸光度修饰共聚单体并入主题多发色团中,以为多发色团赋予UV吸收最大值。在一些实施例中,UV吸光度修饰共聚单体具有350nm或更小的吸收最大值,如340nm或更小、330nm或更小、320nm或更小、310nm或更小、300nm或更小、290nm或更小、280nm或更小、270nm或更小、260nm或更小、250nm或更小、240nm或更小、230nm或更小、220nm或更小、210nm或更小、或200nm或更小。

[0115] 在一些实施例中,UV吸光度修饰共聚单体是经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体。在某些实例中,UV吸光度修饰共聚单体是经取代的或未经取代的苯基、联苯基或吡啶基共聚单体。在某些实例中,UV吸光度修饰共聚单体是选自以下项的经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体:经取代的或未经取代的1,4-苯基、经取代的或未经取代的1,3-苯基、经取代的或未经取代的4,4'-联苯基、经取代的或未经取代的2,5-吡啶基和经取代的或未经取代的2,6-吡啶基。在某些实例中,UV吸光度修饰共聚单体是选自以下结构之一的经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体:



[0117] 其中 Z^2-Z^5 各自独立地是CR或N,其中至少一个 Z^2-Z^5 是N;并且每个R和每个 $R^{11}-R^{16}$ 独立地选自氢、水增溶基团、卤素、氰基、烷氧基、经取代的烷氧基、烷基和经取代的烷基。在某些实施例中, Z^2-Z^5 中的一个并且仅一个是N。在某些实施例中, Z^2-Z^5 中的两个并且仅两个是N。在某些实施例中, R^{11} 、 R^{12} 和 R^{14} 各自是H。在一些实例中, R^{12} 和 R^{14} 各自是H。在一些实例中, R^{11} 和 R^{13} 各自是H。在一些情况下, R^{15} 和 R^{16} 各自是H。在一些实例中,卤素是氟。在某些实例中, $R^{11}-R^{14}$ 中的一个并且仅一个是烷基或经取代的烷基,并且 $R^{11}-R^{14}$ 中的其他三个各自是H。在某些实例中, R^{11} 和 R^{13} 各自是烷基或经取代的烷基,并且 R^{12} 和 R^{14} 各自是H。

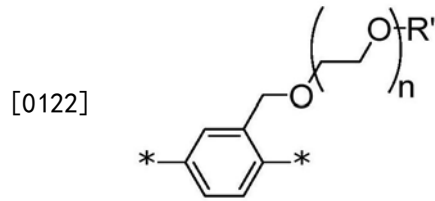
[0118] 在一些情况下,UV吸光度修饰共聚单体是选自以下项之一的经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体:



[0120] 其中n是1-20,并且R'是H或低级烷基。在经取代的芳基或杂芳基共聚单体结构的

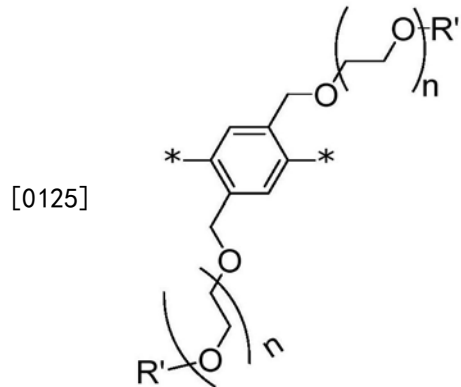
一些实施例中, n 是从 3 至 20 的整数。

[0121] 在一些实施例中, 多发色团包括由以下结构描述的经取代的芳基共聚单体:

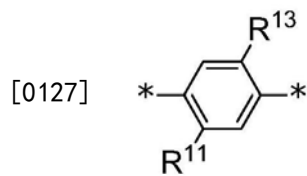


[0123] 其中 n 是 1-20, 并且 R' 是 H 或低级烷基。在某些实例中, n 是 3 至 12。

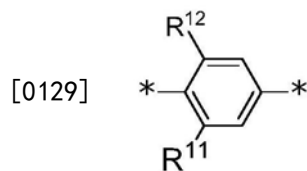
[0124] 在一些实施例中, 多发色团包括由以下结构描述的经取代的芳基共聚单体:



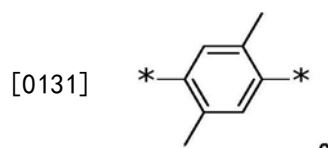
[0126] 其中每个 n 独立地是 1-20, 并且每个 R' 独立地是 H 或低级烷基。在以上显示的经取代的芳基或杂芳基共聚单体结构的某些实施例中, n 是 3。在某些实例中, R' 是甲基。在某些实例中, R' 是氢。在一些实施例中, 多发色团包括由以下结构描述的经取代的芳基共聚单体:



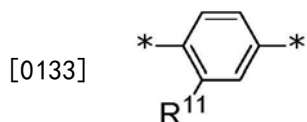
[0128] 其中 R^{11} 和 R^{13} 各自独立地是烷基或经取代的烷基, 如低级烷基或经取代的低级烷基 (例如, 经取代的甲基, 如三氟甲基、二氟甲基或单氟甲基)。在一些实施例中, 多发色团包括由以下结构描述的经取代的芳基共聚单体:



[0130] 其中 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地是烷基或经取代的烷基, 如低级烷基或经取代的低级烷基 (例如, 经取代的甲基, 如三氟甲基、二氟甲基或单氟甲基)。在一些实施例中, 多发色团包括由以下结构描述的经取代的芳基共聚单体:

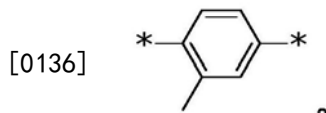


[0132] 在一些实施例中,多发色团包括由以下结构描述的经取代的芳基共聚单体:



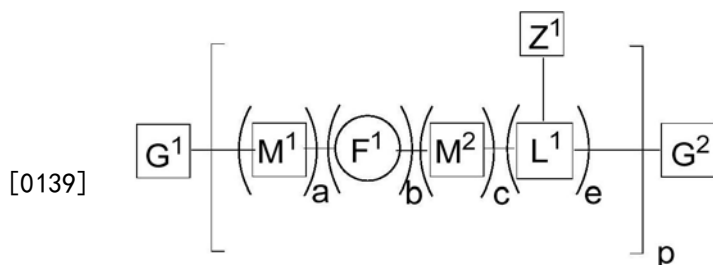
[0134] 其中R¹¹是烷基或经取代的烷基,如低级烷基或经取代的低级烷基(例如,经取代的甲基,如三氟甲基、二氟甲基或单氟甲基)。

[0135] 在一些实施例中,多发色团包括由以下结构描述的经取代的芳基共聚单体:



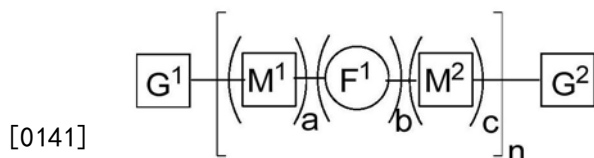
[0137] 可在主题多发色团(例如,具有化学式(I)-(IV)的多发色团)中利用上述任一种UV吸光度修饰共聚单体。

[0138] 在一些实施例中,多发色团由化学式(II)描述:



(II)

[0140] 其中F¹、M¹、M²、a、b、c、e、L¹、Z¹、p、G¹和G²是如针对化学式(I)所述的。在化学式(II)的一些实例中,F¹是茈共聚单体。在化学式(II)的某些实例中,F¹是咪唑共聚单体。在化学式(II)的一些实例中,L¹是茈共聚单体。在化学式(II)的某些实例中,L¹是咪唑共聚单体。在某些实例中,多发色团由化学式(III)描述:

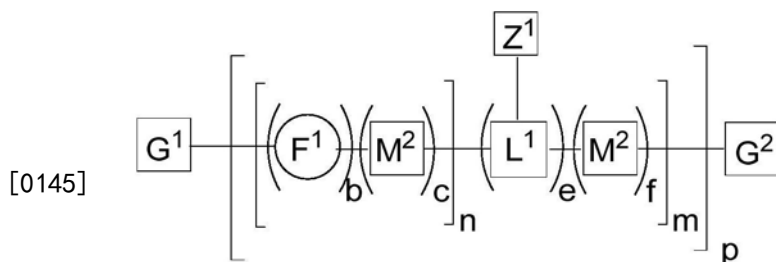


(III)

[0142] 其中F¹、M¹、M²、a、b、c、n、G¹和G²是如针对化学式(I)所述的。在化学式(III)的一些实例中,F¹是茈共聚单体。在化学式(III)的某些实例中,F¹是咪唑共聚单体。

[0143] 在化学式(II)和(III)的一些实例中,b是1,并且a+c≥1。在化学式(II)和(III)的某些实例中,a+c=1(例如,a是1且c是0或a是0且c是1)。在化学式(II)和(III)的某些实例中,a+c=2。在化学式(II)和(III)的一些实例中,G¹是端基;并且G²是端基、接头或所连接的特异性结合成员。在某些情况下,G²是所连接的特异性结合成员。在一些情况下,G²是接头,其中该接头可以包括化学选择性标签。

[0144] 在一些实例中,多发色团由化学式(IV)描述:

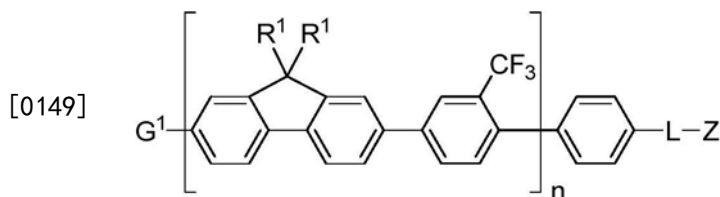


(IV)

[0146] 其中 F^1 、 M^2 、 b 、 c 、 e 、 f 、 L^1 、 Z^1 、 n 、 m 、 p 、 G^1 和 G^2 是如针对化学式(I)所述的。在化学式(IV)的一些实例中, F^1 是茈共聚单体。在化学式(IV)的某些实例中, F^1 是咪唑共聚单体。

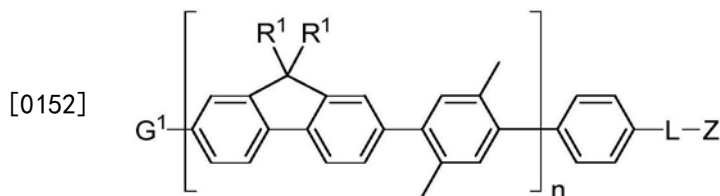
[0147] 在化学式(IV)的一些实施例中, b 是1; c 是0或1; e 和 f 各自是0或1,其中 $e+f \geq 1$; G^1 是端基;并且 G^2 是端基、接头或所连接的特异性结合成员。在化学式(IV)的某些实例中, c 是1。在化学式(IV)的某些情况下, c 是0。在化学式(IV)的某些实例中, e 是1。在化学式(IV)的某些情况下, e 是0。在化学式(IV)的某些实例中, f 是1。在化学式(IV)的某些情况下, f 是0。在某些情况下, G^2 是所连接的特异性结合成员。在一些情况下, G^2 是接头,其中该接头可以包括化学选择性标签。在化学式(IV)的一些实施例中, L^1 是茈共聚单体。在化学式(IV)的一些实施例中, L^1 是咪唑共聚单体。

[0148] 在一些实施例中,多发色团由以下结构描述:



[0150] 其中:每个 R^1 独立地是被WSG取代的烷基或被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团; L 是接头,并且 Z 是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员; G^1 是末端基团;并且 n 是从1至100,000的整数。在一些实例中, G^1 是芳基末端基团。在一些情况下, G^1 是苯基。在某些实例中, Z 选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中, Z 是所连接的特异性结合成员。在一些实例中, L 是烷基-羧酸,如 $-(CH_2)_3COOH$ 。在某些实例中,每个 R^1 基团是被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团。在某些实例中,分支基团是经取代的芳烷基,如经取代的苄基基团,其被两个PEG基团取代。

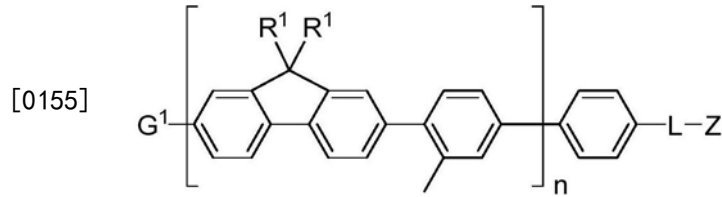
[0151] 在一些实施例中,多发色团由以下结构描述:



[0153] 其中:每个 R^1 独立地是被WSG取代的烷基或被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团; L 是接头,并且 Z 是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员; G^1 是末端基团;并且 n 是从1至100,000的整数。在一些实例中, G^1 是芳基末端基团。在一些情况下, G^1 是苯基。在某些实例中, Z 选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中, Z 是所连接的特异性结合成员。

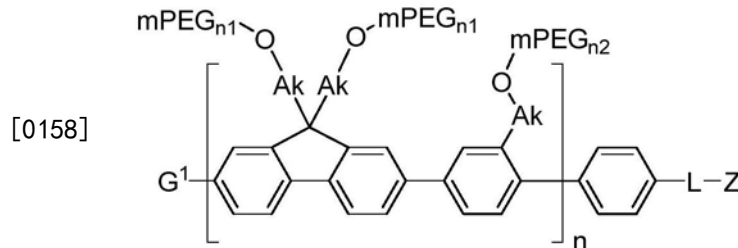
在一些实施例中,L是烷基-羧酸,如 $-(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ 。在某些实施例中,每个 R^1 基团是被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团。在某些实施例中,分支基团是经取代的芳烷基,如经取代的苄基基团,其被两个PEG基团取代。

[0154] 在一些实施例中,多发色团由以下结构描述:



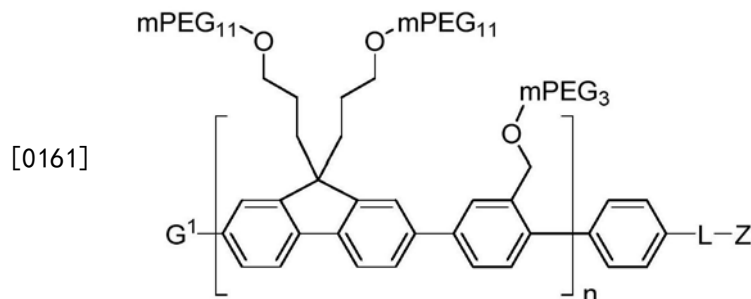
[0156] 其中:每个 R^1 独立地是被WSG取代的烷基或被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团;L是接头,并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员; G^1 是末端基团;并且n是从1至100,000的整数。在一些实施例中, G^1 是芳基末端基团。在一些情况下, G^1 是苯基。在某些实施例中,Z选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实施例中,Z是所连接的特异性结合成员。在一些实施例中,L是烷基-羧酸,如 $-(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ 。在某些实施例中,每个 R^1 基团是被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团。在某些实施例中,分支基团是经取代的芳烷基,如经取代的苄基基团,其被两个PEG基团取代。

[0157] 在一些实施例中,多发色团由以下结构描述:



[0159] 其中每个Ak独立地是烷基;mPEG是甲基封端的PEG基团,其中每个n1和n2独立地是3至20;L是接头,并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员; G^1 是末端基团;并且n是从1至100,000的整数。在一些情况下, G^1 是苯基。在某些实施例中,Z选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实施例中,Z是所连接的特异性结合成员。在一些实施例中,L是烷基-羧酸,如 $-(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ 。在一些实施例中,Ak是C1-6烷基。在某些实施例中,每个n1是5至15。在某些实施例中,n2是3至12,如3。

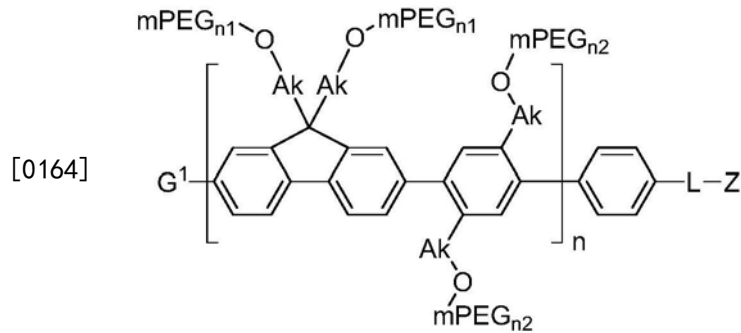
[0160] 在一些实施例中,多发色团由以下结构描述:



[0162] 其中mPEG是甲基封端的PEG基团;L是接头,并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员; G^1 是末端基团;并且n是从1至100,000的整数。在一些情况下, G^1 是苯基。在某些实施例中,Z选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实施例中,Z是所连接的特异性结合成员。

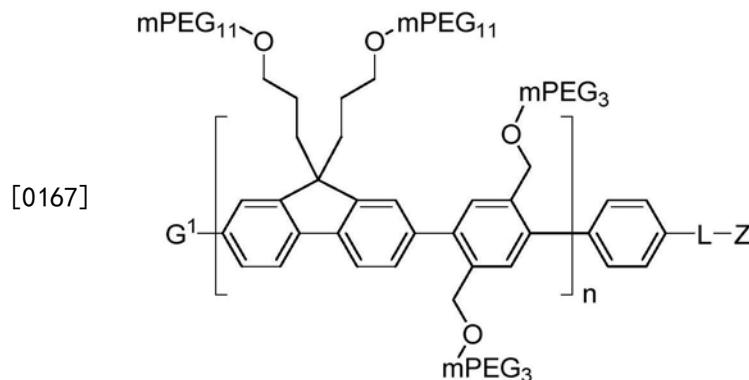
在一些实例中,L是烷基-羧酸,如-(CH₂)₃COOH。

[0163] 在一些实例中,多发色团由以下结构描述:



[0165] 其中每个Ak独立地是烷基;mPEG是甲基封端的PEG基团,其中每个n1和每个n2独立地是3至20;L是接头,并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员;G¹是末端基团;并且n是从1至100,000的整数。在一些情况下,G¹是苯基。在某些实例中,Z选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中,Z是所连接的特异性结合成员。在一些实例中,L是烷基-羧酸,如-(CH₂)₃COOH。在一些实例中,Ak是C1-6烷基。在某些实例中,每个n1是5至15。在某些实例中,每个n2是3至12,如3。

[0166] 在一些实例中,多发色团由以下结构描述:



[0168] 其中mPEG是甲基封端的PEG基团;L是接头,并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员;G¹是末端基团;并且n是从1至100,000的整数。在一些情况下,G¹是苯基。在某些实例中,Z选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中,Z是所连接的特异性结合成员。在一些实例中,L是烷基-羧酸,如-(CH₂)₃COOH。在一些情况下,应当理解的是,于在此所述的任何多发色团结构中,所描绘的茚共聚单体可以被结构中相应的咪唑共聚单体如包括附接到咪唑共聚单体的N原子上的单侧链基团R¹的咪唑共聚单体替代。

[0169] 聚合物串联染料

[0170] 在一些实例中,集光多发色团是聚合物串联染料。聚合物串联染料包括两个共价连接的部分:供体集光多发色团(例如,如在此所述的)和受体发色团。在某些实例中,聚合物串联染料包括:包括如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,其包括:稠合的6-5-6三环共聚单体(例如,如在此所述的);和UV吸光度修饰共聚单体(例如,如在此所述的);其中多发色团具有紫外线吸收最大值(例如,如在此所述的);以及在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团。在一些实例中,受体发色团是淬灭剂。在某些实例中,受体发色团是荧光染料。如在此使用的,术语“受体发色团”是指能够接收或吸收从多发色团转

移的能量的光吸收分子。在一些情况下,受体发色团既能以光发射从多发色团接收的能量,也能以热量消散该能量。应当理解的是,除非另有规定,在于此描述的结构和化学式中,标记“染料”是指“受体发色团”。如在此使用的,术语“淬灭剂”是指从多发色团吸收能量并且不发射光而能以热量消散该能量的受体发色团。

[0171] 在一些实施例中,聚合物串联染料可以在供体多发色团的吸收最大波长处在UV区域中被激发,并且可以在受体发色团的发射波长处发射光。在一些情况下,集光多发色团可以将能量转移到能量接收附近的受体发色团种类。能量转移机制包括例如共振能量转移(例如,Forster(或荧光)共振能量转移,FRET)、量子电荷交换(Dexter能量转移)等。在一些实例中,这些能量转移机制是相对较短的范围;也就是说,集光多发色团系统与受体发色团的紧密接近提供了有效的能量转移。在一些实例中,在有效能量转移的条件下,当集光多发色团系统中各发色团的数量较大时,从受体发色团的发射发生放大;也就是说,相比当信号传导发色团直接被泵浦光激发时,入射光(“泵浦光”)处于被集光多发色团吸收的波长时,从信号传导发色团的发射更强烈。

[0172] “有效”能量转移意指所收集的能量的30%或更多被转移到受体。当受体发色团是荧光染料时,术语有效能量转移是指0.3或更大(如0.4或更大、0.5或更大、或甚至更大)的荧光量子产率。“放大”意指与被等效强度的入射光直接激发相比,被集光发色团激发时来自受体发色团的信号是1.5倍或更大。可以使用任何方便的方法测量信号。在一些情况下,1.5倍或更大的信号是指发射光的强度。在某些情况下,1.5倍或更大的信号是指增加的信噪比。在聚合物串联染料的某些实施例中,与受体发色团被入射光直接激发相比,被多发色团激发时受体发色团发射大1.5倍或更多。

[0173] 在一些实例中,聚合物串联染料具有 $5 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大的消光系数,如 $6 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $7 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $8 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $9 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大,如 $1 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $1.5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $2 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $2.5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $3 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $4 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $5 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $6 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、 $7 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大、或 $8 \times 10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ 或更大。在一些实施例中,聚合物串联染料具有 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 或更大的摩尔消光系数。在某些实施例中,聚合物串联染料具有 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 或更大的摩尔消光系数。

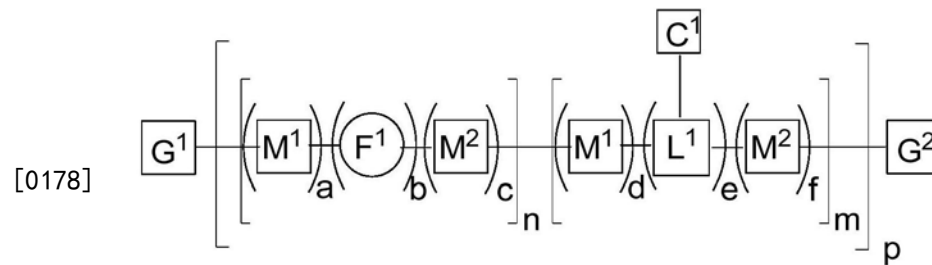
[0174] 在某些实施例中,聚合物串联染料具有0.3或更大的量子产率,如0.35或更大、0.4或更大、0.45或更大、0.5或更大、0.55或更大、0.6或更大、0.65或更大、0.7或更大、或甚至更大。在某些情况下,聚合物串联染料具有0.4或更大的量子产率。在某些实例中,聚合物串联染料具有0.5或更大的量子产率。

[0175] 可在聚合物串联染料中利用任何方便的荧光染料作为受体发色团。术语“荧光染料”和“荧光团”在此可互换使用。在一些实施例中,受体发色团是花青染料、咕吨染料、香豆素染料、噻嗪染料或吡啶染料。感兴趣的荧光染料包括但不限于荧光素、6-FAM、罗丹明、Texas Red、四甲基罗丹明、羧基罗丹明、羧基罗丹明6G、羧基对甲氨基酚(carboxyrhodol)、羧基罗丹明110、Cascade Blue、Cascade Yellow、香豆素、Cy2、Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy-Chrome、藻红蛋白、PerCP(多甲藻黄素叶绿素a蛋白)、PerCP-Cy5.5、JOE(6-羧基-4',5'-二氯-2',7'-二甲氧基荧光素)、NED、ROX(5-(和-6)-羧基-X-罗丹明)、HEX、Lucifer Yellow、Marina Blue、Oregon Green 488、Oregon Green 500、Oregon Green 514、Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa

Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680、Alexa Fluor 700、7-氨基-4-甲基香豆素-3-乙酸、BODIPY FL、BODIPY FL-Br.sub.2、BODIPY 530/550、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665、BODIPY R6G、BODIPY TMR、BODIPY TR，其共轭物，及其组合。感兴趣的镧系元素螯合物包括但不限于铈螯合物、铽螯合物和钐螯合物。在一些实施例中，聚合物串联染料包括与选自Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、Alexa488、Alexa 647和Alexa 700的受体荧光团连接的聚合物染料。在某些实施例中，聚合物串联染料包括与选自Dyomics染料(如DY 431、DY 485XL、DY 500XL、DY 530、DY 610、DY 633、DY 640、DY 651、DY 654、DY 682、DY 700、DY 701、DY 704、DY 730、DY 731、DY 732、DY 734、DY 752、DY 754、DY 778、DY 782、DY 800或DY 831)、Biotium CF 555、Cy 3.5、和二乙氨基香豆素的受体荧光团连接的聚合物染料。

[0176] 在一些实施例中，聚合物串联染料具有在300至400nm范围内的吸收最大波长以及在375至900nm范围内的发射最大波长。在某些实施例中，聚合物串联染料包括具有如下的共轭链段的水溶性集光多发色团，其包括：稠合的6-5-6三环共聚单体和UV吸光度修饰共聚单体。在一些实例中，UV吸光度修饰共聚单体在聚合物串联染料中是按摩尔浓度计以25%或更多存在，其中多发色团是包括5个或更多个单体重复单元的共轭聚合物。

[0177] 在一些实例中，聚合物串联染料由化学式(V)描述：



(V)

[0179] 其中：

[0180] F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体(例如，如在此所述的)；

[0181] 每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体(例如，如在此所述的)；

[0182] b是1或2；

[0183] a、c、d和f各自独立地是0或1，其中 $a+c+d+f \geq 1$ ；

[0184] e是1或2；

[0185] L^1 是与受体发色团- C^1 连接的连接共聚单体；

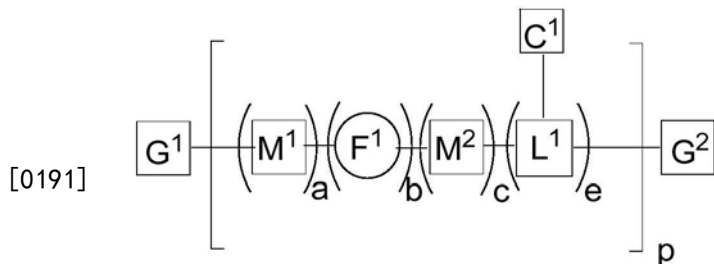
[0186] n是从1至10,000的整数；

[0187] m是从1至10,000的整数；

[0188] p是从1至100,000的整数；并且

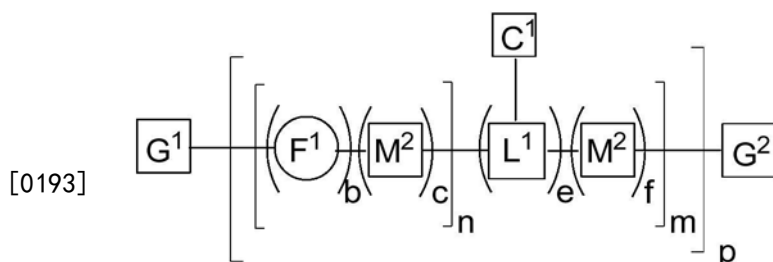
[0189] G^1 和 G^2 各自独立地选自端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。在化学式(V)的某些实施例中，e是1。在化学式(V)的一些实例中， $d+f \leq 1$ (即，d是1且f是0或d是0且f是1)，并且 $m \geq 1$ 。在化学式(V)的一些实例中， F^1 是芴共聚单体。在化学式(V)的某些实例中， F^1 是咔唑共聚单体。

[0190] 在一些实施例中,聚合物串联染料由化学式(VI)描述:



(VI)

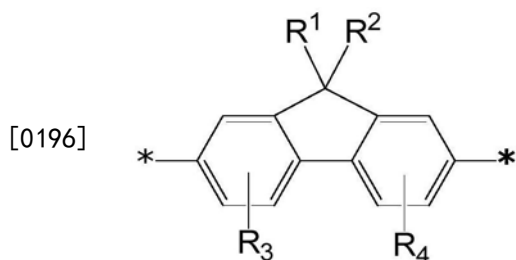
[0192] 其中F¹、M¹、M²、a、b、c、e、L¹、C¹、p、G¹和G²是如针对化学式(V)所述的。在化学式(VI)的一些实例中,F¹是茈共聚单体。在化学式(VI)的某些实例中,F¹是咪唑共聚单体。在一些实施例中,聚合物串联染料由化学式(VII)描述:



(VII)

[0194] 其中F¹、M²、b、c、e、f、n、m、L¹、C¹、p、G¹和G²是如针对化学式(V)所述的。在化学式(VII)的一些实例中,F¹是茈共聚单体。在化学式(VII)的某些实例中,F¹是咪唑共聚单体。在化学式(VII)的某些实例中,b是1;c是0或1;e是1;并且f是0或1。在化学式(VIII)的一些情况下,c是1。在化学式(VIII)的一些实施例中,c是0。在化学式(VIII)的一些实例中,f是1。在化学式(VIII)的某些实例中,f是0。在化学式(VII)的某些情况下,G¹是端基并且G²是端基、接头或所连接的特异性结合成员。在一些实例中,G²是包括化学选择性标签的接头。在一些情况下,G²是所连接的特异性结合成员。

[0195] 可以在具有化学式(V)至(VII)的聚合物串联染料中利用任何方便的茈共聚单体(例如,如在此所述的)。可以在具有化学式(V)至(VII)的聚合物串联染料中利用任何方便的咪唑共聚单体。可以在具有化学式(V)至(VII)的聚合物串联染料中利用任何方便的UV吸光度修饰共聚单体(例如,如在此所述的)。可以在具有化学式(V)至(VII)的聚合物串联染料中利用任何方便的连接共聚单体(例如,如在此所述的)。在化学式(V)至(VII)的某些实施例中,L¹是茈共聚单体。在化学式(V)至(VII)的某些实施例中,L¹是咪唑共聚单体。在化学式(V)至(VII)的一些实例中,L¹由以下结构描述:



[0197] 其中：

[0198] R^1 是包括水增溶基团(例如,经PEG取代的烷基)的取代基；

[0199] R^2 是 L^2-Z^2 ,其中 L^2 是接头,并且 Z^2 是受体发色团;并且

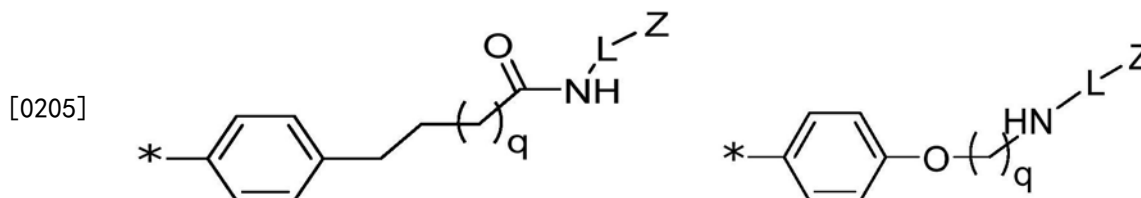
[0200] R^3 和 R^4 独立地选自H、水增溶基团、烷基、经取代的烷基、烷氧基、经取代的烷

[0201] 氧基、卤素和硝基。在某些实例中, R^3 和 R^4 各自是氢。

[0202] 在化学式(V)至(VIII)的一些实施例中, G^1 和 G^2 中的至少一个是 $-L^3-Z$,其中 L^3 是接头(例如,如在此所述的),并且 Z 是特异性结合成员(例如,如在此所述的)。在化学式(I)至(VIII)的一些实施例中, G^1 和 G^2 中的至少一个是 $-L^3-Z$,其中 L^3 是接头(例如,如在此所述的),并且 Z 是化学选择性标签(例如,如在此所述的)。在一些实例中, Z 选自羧酸、活性酯(例如,N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS)或磺基-NHS)、氨基、马来酰亚胺、碘乙酰基和硫醇。在化学式(I)至(VIII)的某些实施例中, G^1 和 G^2 中的至少一个由以下结构描述：

[0203] $*-Ar-L-Z$

[0204] 其中Ar是 π -共轭芳基基团,L是接头,并且 Z 是化学选择性标签或特异性结合成员。在化学式(I)至(VIII)的某些实施例中, G^1 和 G^2 中的至少一个由以下结构之一描述：

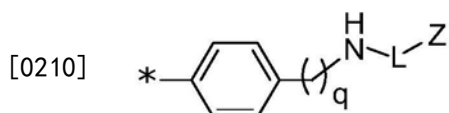


[0206] 其中：

[0207] q 是0或从1-12的整数；

[0208] L 是任选的接头;并且

[0209] Z 是化学选择性标签或特异性结合成员。在化学式(I)至(VIII)的某些实施例中,至少一个 L^2 基团由以下结构描述：

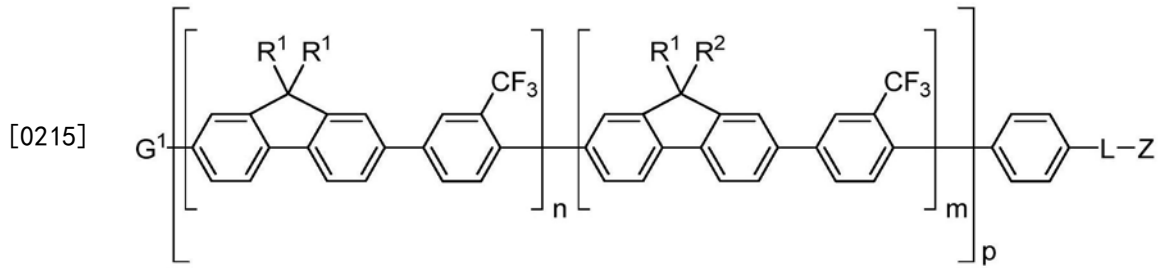


[0211] 其中 q 是0或从1-12的整数; L 是任选的接头;并且 Z 是化学选择性标签或特异性结合成员。在某些实例中, $-NH-L-Z$ 包括到化学选择性标签或特异性结合成员的酰胺键。

[0212] 在某些实施例中, Z 是生物分子。在某些实例中, Z 是抗体。在一些实例中, Z 是抗体片段或其结合衍生物。在一些情况下,抗体片段或其结合衍生物选自Fab片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv、双抗体和三抗体。

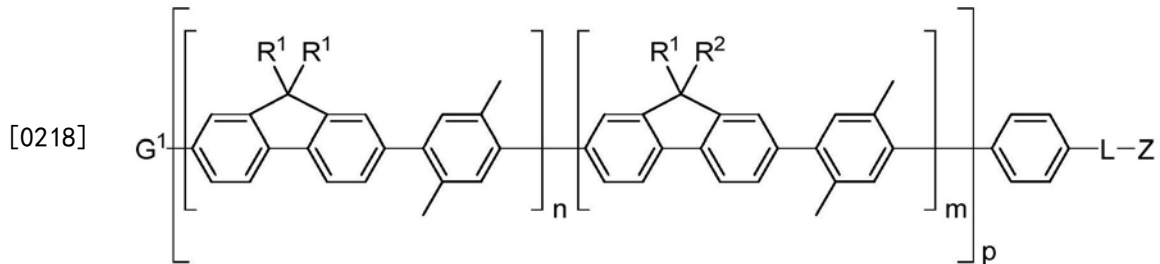
[0213] 在化学式(V)至(VII)的一些实施例中, C^1 选自通过任选的接头与 L^1 连接的花青染料、咕吨染料、香豆素染料、噻嗪染料和吡啶染料。在某些情况下,接头选自烷基、经取代的烷基、烷基-酰胺基、烷基-酰胺基-烷基和PEG部分。在化学式(V)至(VII)的某些实施例中,受体发色团 C^1 选自DY 431、DY 485XL、DY 500XL、DY 610、DY 640、DY 654、DY 682、DY 700、DY 701、DY 704、DY 730、DY 731、DY 732、DY 734、DY 752、DY 778、DY 782、DY 800、DY 831、Biotium CF 555、Cy 3.5和二乙基氨基香豆素。

[0214] 在一些实施例中,聚合物串联染料由以下结构描述：



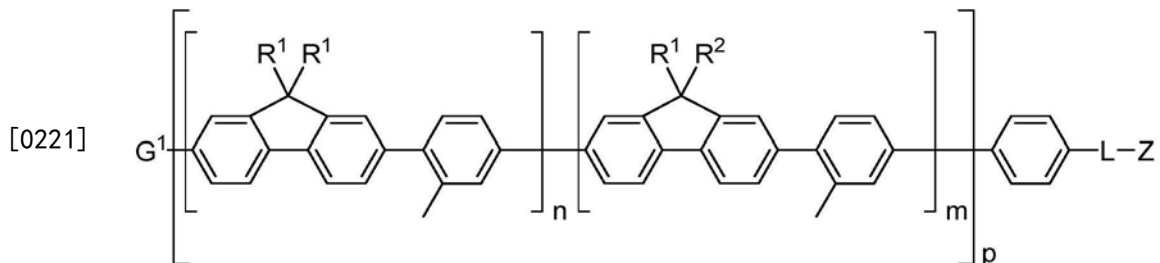
[0216] 其中：每个 R^1 独立地是被WSG取代的烷基或被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团； R^2 是 L^2-Z^2 ，其中 L^2 是接头，并且 Z^2 是受体发色团；L是接头，并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员； G^1 是末端基团；并且n、m和p各自独立地是从1至100,000的整数。在一些实例中， G^1 是芳基末端基团。在一些情况下， G^1 是苯基。在某些实施例中，Z选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中，Z是所连接的特异性结合成员。在一些实例中，L是烷基-羧酸，如 $-(CH_2)_3COOH$ 。在某些实施例中， R^1 基团中的一个或多个是被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团。在某些实例中，分支基团是经取代的芳烷基，如经取代的苄基基团，其被两个PEG基团二取代。

[0217] 在一些实施例中，多发色团由以下结构描述：



[0219] 其中：每个 R^1 独立地是被WSG取代的烷基或被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团； R^2 是 L^2-Z^2 ，其中 L^2 是接头，并且 Z^2 是受体发色团；L是接头，并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员； G^1 是末端基团；并且n、m和p各自独立地是从1至100,000的整数。在一些实例中， G^1 是芳基末端基团。在一些情况下， G^1 是苯基。在某些实施例中，Z选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中，Z是所连接的特异性结合成员。在一些实例中，L是烷基-羧酸，如 $-(CH_2)_3COOH$ 。在某些实施例中， R^1 基团中的一个或多个是被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团。在某些实例中，分支基团是经取代的芳烷基，如经取代的苄基基团，其被两个PEG基团二取代。

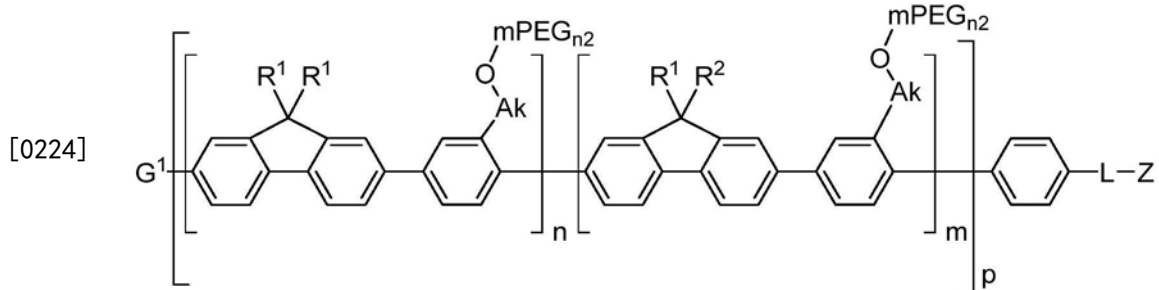
[0220] 在一些实施例中，多发色团由以下结构描述：



[0222] 其中：每个 R^1 独立地是被WSG取代的烷基或被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团； R^2 是 L^2-Z^2 ，其中 L^2 是接头，并且 Z^2 是受体发色团；L是接头，并且Z是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员； G^1 是末端基团；并且n是从1至100,000的整数。在一些实例中， G^1

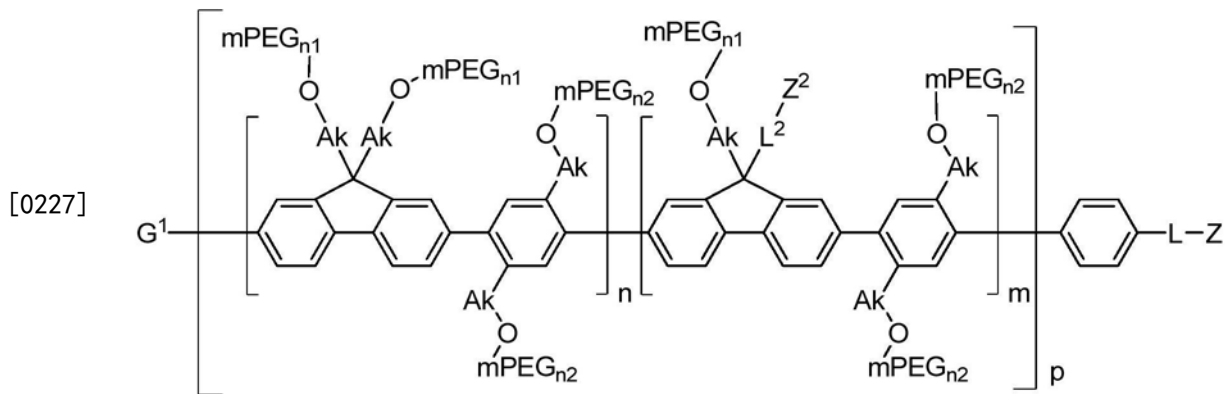
是芳基末端基团。在一些情况下, G^1 是苯基。在某些实施例中, Z 选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中, Z 是所连接的特异性结合成员。在一些实例中, L 是烷基-羧酸, 如 $-(CH_2)_3COOH$ 。在某些实施例中, R^1 基团中的一个或多个是被两个或更多个 WSG 进一步取代的分支基团。在某些实例中, 分支基团是经取代的芳烷基, 如经取代的苄基基团, 其被两个 PEG 基团取代。

[0223] 在一些实施例中, 多发色团由以下结构描述:



[0225] 其中每个 R^1 独立地选自被 WSG 取代的烷基、被两个或更多个 WSG 进一步取代的分支基团和 $-Ak-O-mPEG_{n1}$; 每个 Ak 独立地是烷基; $mPEG$ 是甲基封端的 PEG 基团, 其中每个 $n1$ 和 $n2$ 独立地是 3 至 20; R^2 是 L^2-Z^2 , 其中 L^2 是接头, 并且 Z^2 是受体发色团 L 是接头, 并且 Z 是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员; G^1 是末端基团; 并且 n 是从 1 至 100,000 的整数。在一些情况下, G^1 是苯基。在某些实施例中, Z 选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中, Z 是所连接的特异性结合成员。在一些实例中, L 是烷基-羧酸, 如 $-(CH_2)_3COOH$ 。在某些实施例中, Ak 是 C_{1-6} 烷基。在某些实例中, 每个 Ak 是 $-CH_2-$ 。在某些情况下, 每个 R^1 是 $-丙基-O-mPEG_{11}$ 。在某些实例中, 每个 $n1$ 是 5 至 15。在某些实例中, $n2$ 是 3 至 12, 如 3。

[0226] 在一些实施例中, 多发色团由以下结构描述:



[0228] 其中每个 Ak 独立地是烷基; $mPEG$ 是甲基封端的 PEG 基团, 其中每个 $n1$ 和每个 $n2$ 独立地是 3 至 20; 其中 L^2 是接头, 并且 Z^2 是受体发色团; L 是接头, 并且 Z 是化学选择性标签或所连接的特异性结合成员; G^1 是末端基团; 并且 n 是从 1 至 100,000 的整数。在某些情况下, G^1 是苯基。在某些实施例中, Z 选自羧酸、氨基或马来酰亚胺。在某些实例中, Z 是所连接的特异性结合成员。在某些实例中, L 是烷基-羧酸, 如 $-(CH_2)_3COOH$ 。在某些实施例中, Ak 是 C_{1-6} 烷基。在某些实例中, 每个 $n1$ 是 5 至 15。在某些实例中, 每个 $n2$ 是 3 至 12, 如 3。在某些实例中, UV 修饰共聚单体的 Ak 是 $-CH_2-$ 。在某些实例中, 苄基共聚单体的每个 Ak 是 $-(CH_2)_3-$ 。

[0229] 对于在此描绘的任何结构和化学式, 应当理解的是, 在主题多发色团的一些情况下, 所描绘的末端基团可以位于所示的那些的对端处, 例如末端基团 G^1 和 $-Ph-L-Z$ 可以交

换。

[0230] 经标记的特异性结合成员

[0231] 本披露的方面包括经标记的特异性结合成员。经标记的特异性结合成员是主题多发色团(例如,如在此所述的)和特异性结合成员的共轭物。多发色团可以是聚合物染料。多发色团可以是聚合物串联染料。在此所述的任何多发色团都可以与特异性结合成员共轭。特异性结合成员和多发色团可以经由任选的接头,通过多发色团的任何方便的位置彼此共轭(例如,共价连接)。

[0232] 如在此使用的,术语“特异性结合成员”是指对于彼此具有结合特异性的一对分子的一个成员。这对分子中的一个成员可以在其表面上或腔中具有这样一个区域,其特异性地结合到这对分子的另一个成员的表面上或腔中的区域。因此,这对的成员具有与彼此特异性地结合以产生结合复合物的特性。在一些实施例中,结合复合物中特异性结合成员之间的亲和力的特征在于 10^{-6} M或更小的 K_d (解离常数),如 10^{-7} M或更小,包括 10^{-8} M或更小,例如 10^{-9} M或更小、 10^{-10} M或更小、 10^{-11} M或更小、 10^{-12} M或更小、 10^{-13} M或更小、 10^{-14} M或更小,包括 10^{-15} M或更小。在一些实施例中,特异性结合成员以高亲合力特异性地结合。高亲合力意指结合成员以特征在于如下的表观亲和力特异性地结合,即 10×10^{-9} M或更小的表观 K_d ,如 1×10^{-9} M或更小、 3×10^{-10} M或更小、 1×10^{-10} M或更小、 3×10^{-11} M或更小、 1×10^{-11} M或更小、 3×10^{-12} M或更小或 1×10^{-12} M或更小。

[0233] 如在此使用的,术语“蛋白质的”是指由氨基酸残基组成的部分(例如,特异性结合成员)。蛋白质的部分可以是多肽。在一些实施例中,特异性结合成员是蛋白质的。在某些情况下,蛋白质的特异性结合成员是抗体。在某些实施例中,蛋白质的特异性结合成员是抗体片段,例如特异性结合聚合物染料的抗体的结合片段。如在此使用的,术语“抗体”和“抗体分子”可互换使用,并且是指由基本上由全部或部分公认的免疫球蛋白基因编码的一种或多种多肽组成的蛋白质。公认的免疫球蛋白基因,例如在人类中,包括 κ (k)、 λ (I)和重链遗传基因座,它们共同构成无数可变区基因,以及分别编码IgM、IgD、IgG、IgE和IgA同种型的恒定区基因 μ (u)、 δ (d)、 γ (g)、 σ (e)和 α (a)。免疫球蛋白轻链或重链可变区由被三个高变区(也称为“互补决定区”或“CDR”)间断的“框架”区(FR)组成。框架区和CDR的范围已经被精确定义(参见“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”E.Kabat et al., U.S.Department of Health and Human Services, (1991) [“免疫学上感兴趣的蛋白质序列”,E.Kabat等人,美国健康与人类服务部, (1991)])。在此讨论的所有抗体氨基酸序列的编号符合Kabat系统。不同的轻链或重链的框架区的序列在物种内是相对保守的。抗体的框架区,即构成性轻链和重链的组合框架区,用于定位和比对CDR。CDR主要负责结合抗原的表位。

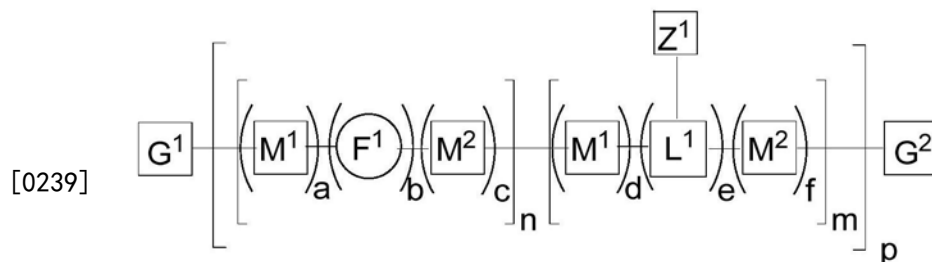
[0234] 术语抗体意在包括全长抗体,并且可以指用于实验、治疗或如下文进一步定义的其他目的来自任何生物的天然抗体、工程化抗体或重组产生的抗体。感兴趣的抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv或抗体的其他抗原结合子序列,通过修饰全抗体或使用重组DNA技术从头合成的那些产生。抗体可以是单克隆的或多克隆的,并且可以对细胞具有其他比活性(例如,拮抗剂、激动剂、中和抗体、抑制性抗体或刺激性抗体)。应当理解的是,抗体可以具有对抗原结合或其他抗体功能基本上没有影响的另外的保守氨基酸取代。

[0235] 在某些实施例中,特异性结合成员是抗体。在某些实施例中,特异性结合成员是Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、双抗体或三抗体。在一些情况下,特异性结合成员是鼠抗体或其结合片段。在某些实例中,特异性结合成员是重组抗体或其结合片段。

[0236] 在一些实施例中,经标记的特异性结合成员包括:包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,其包括:芴共聚单体(例如,如在此所述的);和UV吸光度修饰共聚单体(例如,如在此所述的);其中多发色团具有紫外线吸收最大值;以及与多发色团共价连接的特异性结合成员。在经标记的特异性结合成员的某些实施例中,多发色团具有在300至400nm范围内的吸收最大波长以及在375至900nm范围内的发射最大波长。在经标记的特异性结合成员的一些实例中,UV吸光度修饰共聚单体构成多发色团的按摩尔浓度计25%或更多;并且多发色团是包括5个或更多个重复单元的共轭聚合物。

[0237] 在经标记的特异性结合成员的某些实例中,多发色团具有 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 或更大(例如,如在此所述的)的摩尔消光系数。在经标记的特异性结合成员的某些情况下,多发色团具有0.3或更大(例如,如在此所述的)的量子产率。在一些实施例中,经标记的特异性结合成员另外包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团,例如,该多发色团是聚合物串联染料。在某些情况下,受体发色团是荧光团。在经标记的特异性结合成员的一些实施例中,与受体发色团被入射光直接激发相比,被多发色团激发时受体发色团发射大1.5倍或更多。

[0238] 在经标记的特异性结合成员的一些实例中,多发色团由化学式(VIII)描述:



[0240] 其中:

[0241] F¹是稠合的6-5-6三环共聚单体;

[0242] 每个M¹和M²各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体;

[0243] b是1或2;

[0244] a、c、d、e和f各自独立地是0或1,其中a+c+d+f ≥ 1;

[0245] L¹是与-Z¹连接的连接共聚单体,其中Z¹是化学选择性标签或受体发色团;

[0246] n是从1至10,000的整数;

[0247] m是从1至10,000的整数;

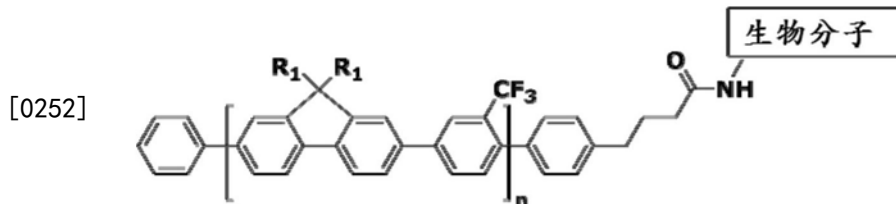
[0248] p是从1至100,000的整数;并且

[0249] G¹和G²各自独立地选自端基、π共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员,其中G¹和G²中的至少一个是所连接的特异性结合成员。在化学式(VIII)的一些实例中,F¹是芴共聚单体。在化学式(VIII)的某些实例中,F¹是咪唑共聚单体。

[0250] 在化学式(VIII)的某些实施例中,特异性结合成员是抗体。在化学式(VIII)的一

些实例中,特异性结合成员是抗体片段或其结合衍生物。在化学式(VIII)的一些情况下,特异性结合成员是选自Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、双抗体和三抗体的抗体片段或其结合衍生物。在化学式(VIII)的一些实例中,受体发色团选自花青染料、咕吨染料、香豆素染料、噻嗪染料和吡啶染料。在化学式(VIII)的某些实例中,受体发色团选自DY 431、DY 485XL、DY 500XL、DY 610、DY 640、DY 654、DY 682、DY 700、DY 701、DY 704、DY 730、DY 731、DY 732、DY 734、DY 752、DY 778、DY 782、DY 800、DY 831、Biotium CF 555、Cy 3.5和二乙基氨基香豆素。

[0251] 在一些实施例中,经标记的特异性结合成员由以下结构描述:



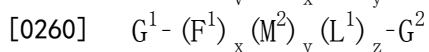
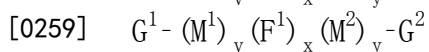
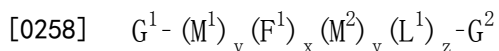
[0253] 其中每个R¹独立地是被WSG取代的烷基或被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团;

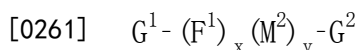
[0254] 特异性结合成员是生物分子;并且

[0255] n是从1至100,000的整数。在某些实施例中,每个R¹基团是被两个或更多个WSG进一步取代的分支基团。在某些实例中,分支基团是经取代的芳烷基,如经取代的苄基基团,其被两个PEG基团取代。

[0256] 在具有化学式(I) - (VIII)中任一项的芴共聚单体的某些实例中,每个R¹或R²侧链基团是被一个、两个或三个PEG部分(例如,-O(CH₂CH₂O)_nR',其中R'是H或烷基,并且n是1-20,例如3-16,如n是8-16)取代的苄基基团。在具有化学式(II) - (XII)中任一项的芴共聚单体的某些实例中,每个R¹或R²侧链基团是被一个-O(CH₂CH₂O)_nR'基团取代(例如,在2,3或4位)的苄基基团,其中R'是H或烷基,并且n是1-20,例如3-16,如n是8-16。在具有化学式(II) - (XII)中任一项的芴共聚单体的某些实例中,每个R¹或R²侧链基团是被两个-O(CH₂CH₂O)_nR'基团取代(例如,在2,4-、3,4-或3,5-位)的苄基基团,其中每个R'独立地是H或烷基,并且每个n独立地是1-20,例如3-16,如n是8-16。在具有化学式(II) - (XII)中任一项的芴共聚单体的某些实例中,每个R¹或R²侧链基团是被三个-O(CH₂CH₂O)_nR'基团取代(例如,在2,4,6-、2,4,5-或3,4,5-位)的苄基基团,其中每个R'独立地是H或烷基,并且每个n独立地是1-20,例如3-16,如n是8-16。在具有化学式(I) - (VIII)中任一项的芴共聚单体的某些实例中,每个R¹或R²侧链基团是被三价分支基团取代的低级烷基基团,每个分支基团被两个PEG部分取代(例如,-CO-NR''₂或-O(CH₂R'')₂三价分支基团),其中每个R''独立地是PEG部分(例如,-O(CH₂CH₂O)_nR',其中R'是H或烷基,并且n是1-20,例如3-16,如n是8-16)。

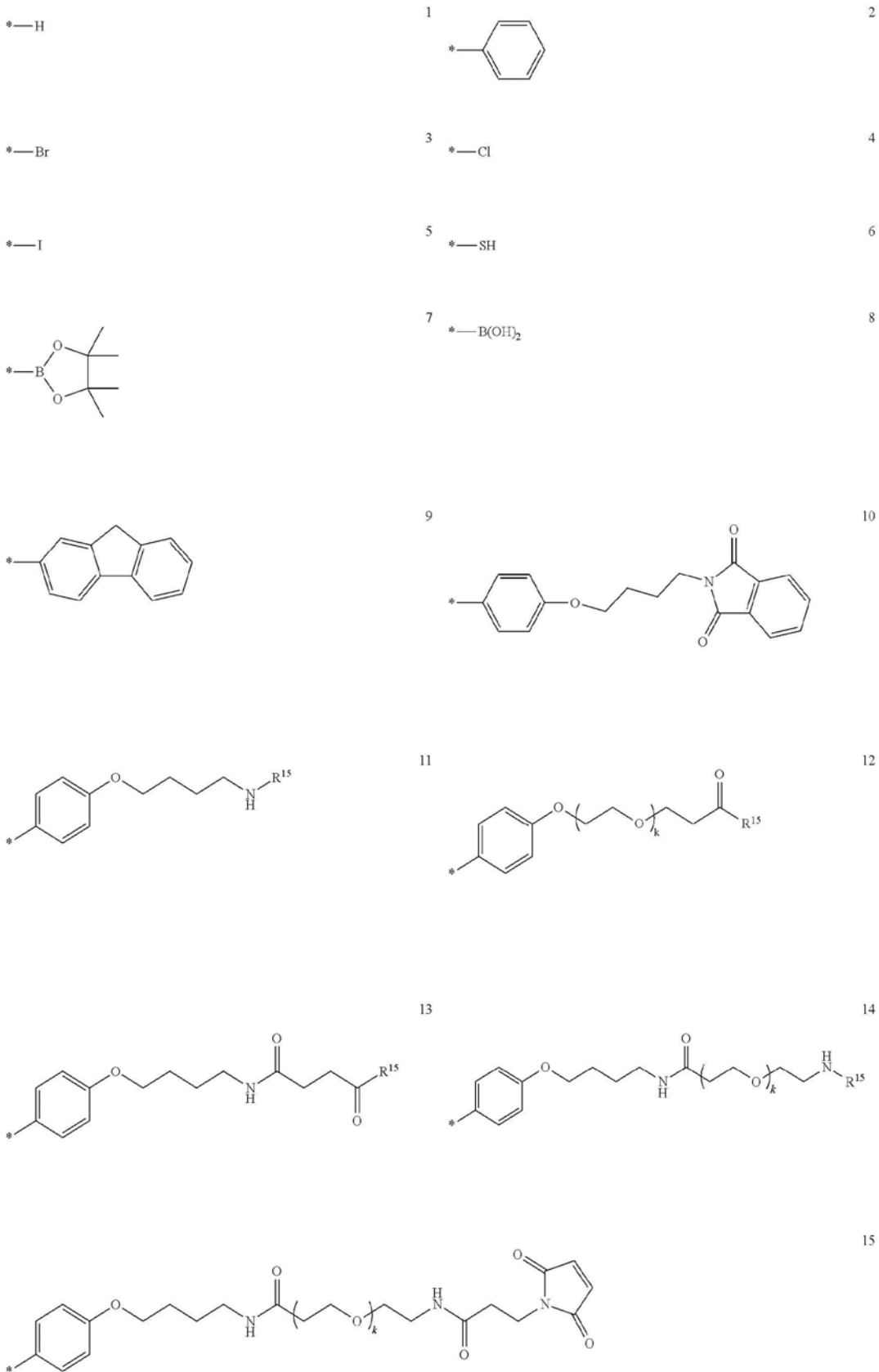
[0257] 应当理解的是,具有化学式(I) - (VIII)中任一项的聚合物串联染料可以可替代地由指示了每种共聚单体在聚合物中的mol%值的化学式表示。例如,在一些情况下,化学式(I) - (VIII)中的任一项可由以下化学式之一表示:



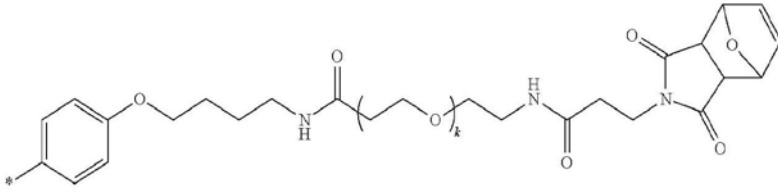


[0262] 其中v、x、y和z是共轭聚合物中共聚单体的mol%值,并且L¹可以与C¹或Z¹连接(例如,如此所述的)。在该化学式的一些实例中,v是1mol%或更大,如5mol%或更大、10mol%或更大、15mol%或更大、20mol%或更大、或25mol%或更大。在该化学式的一些实例中,v是25mol%或更小,如20mol%或更小、15mol%或更小、10mol%或更小、8mol%或更小、6mol%或更小、5mol%或更小、2mol%或更小、1mol%或更小、或甚至更小。在该化学式的一些实例中,x是1mol%或更大,如2mol%或更大、3mol%或更大、4mol%或更大、5mol%或更大、10mol%或更大、15mol%或更大、20mol%或更大、25mol%或更大、30mol%或更大、35mol%或更大、40mol%或更大、45mol%或更大、50mol%或更大、或甚至更大。在该化学式的某些实例中,x的范围是从1mol%至50mol%,如从5mol%至25mol%或从10mol%至25mol%;或如从5mol%至25mol%或从10mol%至25mol%;或如从1mol%至25mol%、从1mol%至10mol%、或从1mol%至5mol%。在该化学式的一些实例中,z是10mol%或更大,如15mol%或更大、20mol%或更大、25mol%或更大、30mol%或更大、35mol%或更大、40mol%或更大、45mol%或更大、50mol%或更大、或甚至更大。在该化学式的一些实例中,z是25mol%或更小,如20mol%或更小、15mol%或更小、10mol%或更小、8mol%或更小、6mol%或更小、5mol%或更小、2mol%或更小、1mol%或更小、或甚至更小。在该化学式的一些实例中,y是1mol%或更大,如5mol%或更大、10mol%或更大、15mol%或更大、20mol%或更大、或25mol%或更大。在该化学式的一些实例中,y是25mol%或更小,如20mol%或更小、15mol%或更小、10mol%或更小、8mol%或更小、6mol%或更小、5mol%或更小、2mol%或更小、1mol%或更小、或甚至更小。

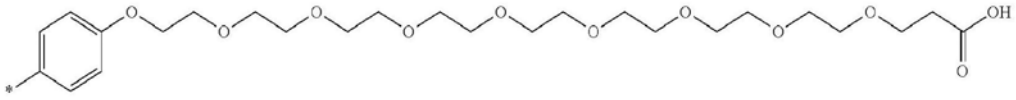
[0263] 对于在此描绘的任何结构和化学式,应当理解的是,在主题聚合物染料的一些情况下,所描绘的末端基团或端基可以位于所示的那些的对端处,例如这些末端基团可以交换。在于此所述的多发色团(例如,化学式(I)-(VIII))的一些实施例中,至少一个末端基团(例如,L、L²、G¹、G²、L-Z)选自以下结构1-33之一:



16



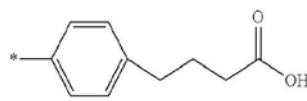
17



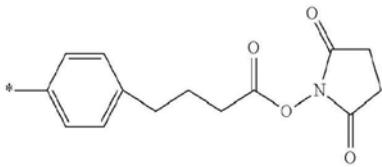
18



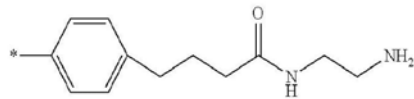
19



20

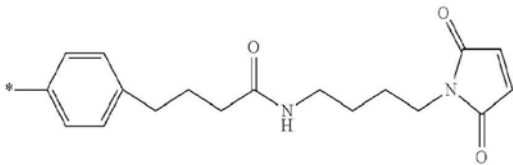


21

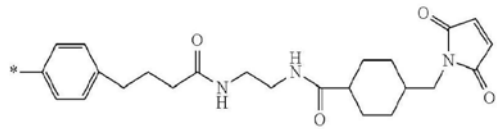


[0265]

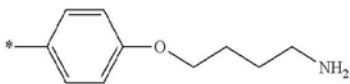
22



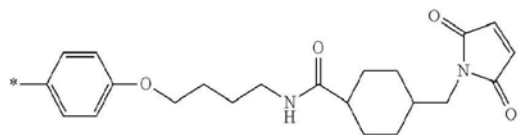
23



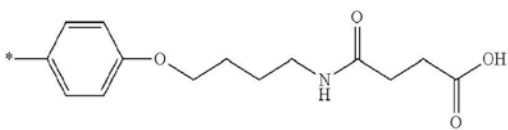
24



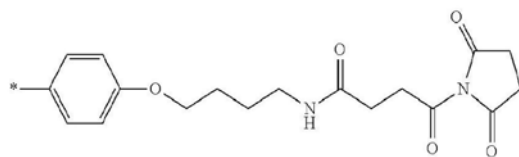
25

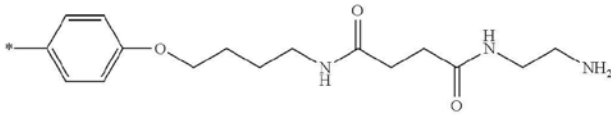


26

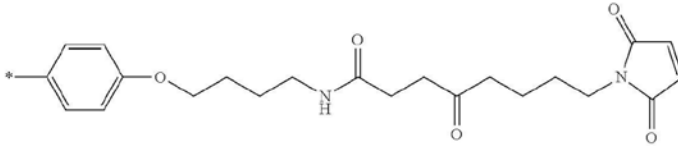


27



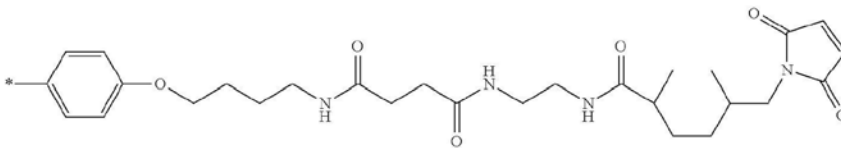


28

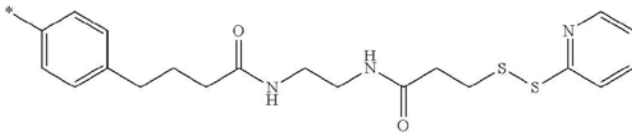


29

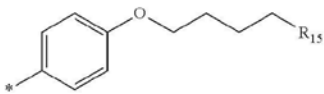
[0266]



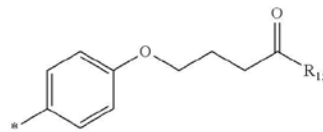
30



31



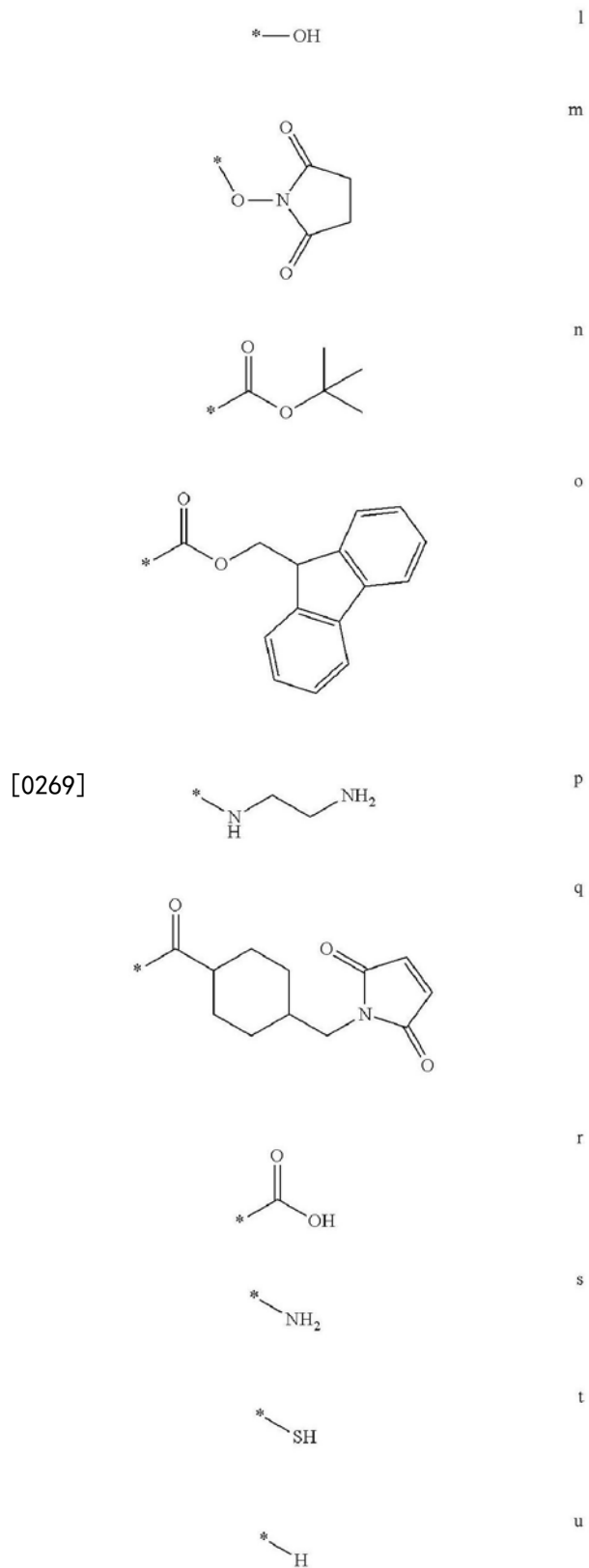
32



33

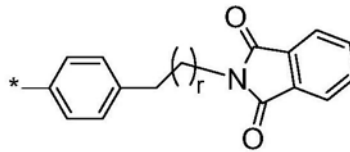
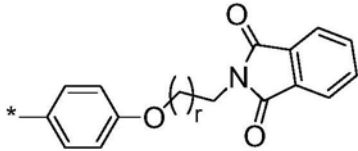
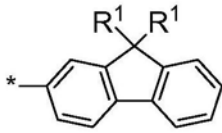
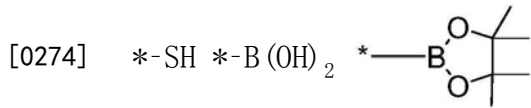
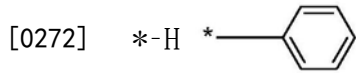
[0267] * = 用于共价附接到不饱和骨架的位点；

[0268] 其中R'独立地是H、卤素、C₁-C₁₂烷基、(C₁-C₁₂烷基)NH₂、C₂-C₁₂烯烃、C₂-C₁₂炔烃、C₃-C₁₂环烷基、C₁-C₁₂卤代烷基、C₂-C₁₈(杂)芳基、C₂-C₁₈(杂)芳基氨基、-[CH₂-CH₂]_r、-Z¹、或(C₁-C₁₂)烷氧基-X¹；并且其中Z¹是-OH或-COOH；X¹是-NH₂、-NHCOOH、-NHCOOC(CH₃)₃、-NHCOC(C3-C12)环烷基(C1-C4)烷基-N-马来酰亚胺；或-NHCO[CH₂-CH₂-O]_s、(CH₂)_sNH₂；r'是从1至20的整数；并且每个s'独立地是从1至20的整数，(CH₂)₃(OCH₂CH₂)_xOCH₃(其中x"独立地是从0至50的整数)，或任选地被一个或多个卤素、羟基、C₁-C₁₂烷氧基或(OCH₂CH₂)_yCH₃取代的苄基(其中每个y"独立地是从0至50的整数)，并且R'不同于R；其中k是2、4、8、12或24；其中R¹⁵选自具有以下结构的基团1-u：

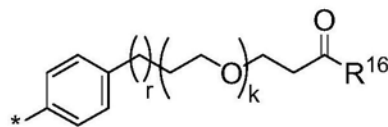
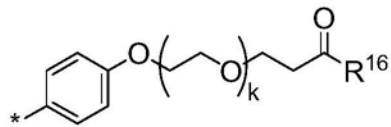
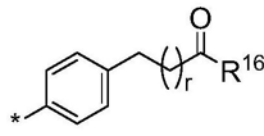
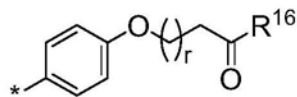
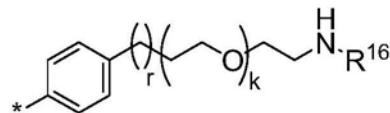
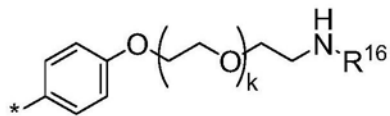
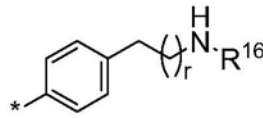
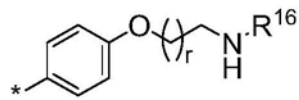


[0270] * = 用于共价附接到骨架的位点。

[0271] 在于此所述的多发色团 (例如, 化学式 (I) - (VIII)) 的一些实施例中, 至少一个末端基团 (例如, L、L²、G¹、G²、L-Z) 选自以下结构之一:



[0275]



[0276] 其中r是0或从1-50的整数(例如,1-20);k是0或从1-50的整数(例如,1-20);R¹是如针对在此所述的任何芴共聚单体所定义的;并且R¹⁶选自H、OH、NH₂、-NH(CH₂)_r-NH₂、以及-NH(CH₂)_r-COOH。

[0277] 方法

[0278] 如上所概述的,本发明的方面包括针对靶分析物的存在对样品进行评估的方法。在一些实施例中,该方法包括:(a)使该样品与特异性地结合靶分析物的聚合物染料共轭物接触以产生标记组合物接触过的样品,其中该聚合物染料共轭物包括:(i)包括如下的共轭链段的水溶性集光多发色团(例如,如在此所述的),其包括:耦合的6-5-6三环共聚单体(例如,如在此所述的);和UV吸光度修饰共聚单体(例如,如在此所述的);其中多发色团具有紫外线吸收最大值;以及(ii)特异性结合成员(例如,如在此所述的);并且(b)针对聚合物染料共轭物-靶分析物结合复合物的存在对标记组合物接触过的样品进行测定,以评估该样品中是否存在靶分析物。

[0279] 可以使用任何方便的方法使该样品与特异性地结合靶分析物的聚合物染料共轭物接触以产生标记组合物接触过的样品。如在此使用的,术语“聚合物染料共轭物”和“经标记的特异性结合成员”可互换使用。在一些实例中,在特异性结合成员特异性地结合靶分析物(如果存在)的条件下,使样品与聚合物染料共轭物接触。为了共轭物的特异性结合成员与靶分析物的特异性结合,可以使用维持样品组分和特异性结合成员的生物活性的适当的溶液。该溶液可以是平衡盐溶液,例如生理盐水、PBS、汉克平衡盐溶液等,其中方便地补充有胎牛血清、人血小板裂解物、或其他因子,结合处于低浓度,如从5-25mM的可接受的缓冲液。方便的缓冲液包括HEPES、磷酸盐缓冲液、乳酸盐缓冲液等。不同培养基是可商购的,并且可以根据靶分析物的性质进行使用,这些培养基包括dMEM、HBSS、dPBS、RPMI、伊斯科夫培养基(Iscove's medium)等,在一些情况下,其中补充有胎牛血清或人血小板裂解物。溶液的最终组分可以根据所包括的样品组分来选择。

[0280] 共轭物的特异性结合成员与靶分析物发生特异性结合的温度可以变化,并且在一些实例中可以在从5°C至50°C的范围内,如从10°C至40°C、15°C至40°C、20°C至40°C,例如20°C、25°C、30°C、35°C或37°C(例如,如上所述的)。在一些实例中,选择特异性结合发生的温度以与特异性结合成员和/或靶分析物的生物活性相容。在某些实例中,该温度是25°C、30°C、35°C或37°C。在某些情况下,特异性结合成员是抗体或其片段并且特异性结合发生的温度是室温(例如,25°C)、30°C、35°C或37°C。可以选择用于特异性结合的任何方便的孵育时间以允许形成令人希望量的结合复合物,并且在一些实例中可以为1分钟(min)或更多,如2min或更多、10min或更多、30min或更多、1小时或更多、2小时或更多、或甚至6小时或更多。

[0281] 可在共轭物中利用任何方便的特异性结合成员。感兴趣的特异性结合成员包括但不限于特异性地结合多种细胞类型的细胞表面蛋白的那些试剂,这些细胞类型包括但不限于干细胞(例如,多能干细胞、造血干细胞)、T细胞、T调节细胞、树突细胞、B细胞(例如,记忆B细胞、抗原特异性B细胞)、粒细胞、白血病细胞、淋巴瘤细胞、病毒细胞(例如,HIV细胞)NK细胞、巨噬细胞、单核细胞、成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞和红细胞。感兴趣的靶细胞包括可以通过方便的特异性结合成员共轭物捕获的具有方便的细胞表面标志物或抗原的细胞。在一些实施例中,靶细胞选自含有HIV的细胞,Treg细胞,抗原特异性T细胞群,肿瘤细胞或来自全血、骨髓或脐带血的造血祖细胞(CD34+)。在主题方法中,针对特异性结合聚合物染料共轭物可以靶向任何方便的细胞表面蛋白或细胞标志物。在一些实施例中,靶细胞包括选自细胞受体和细胞表面抗原的细胞表面标志物。在一些情况下,靶细胞可以包括细胞表面抗原,如CD11b、CD123、CD14、CD15、CD16、CD19、CD193、CD2、CD25、CD27、CD3、CD335、CD36、CD4、CD43、CD45RO、CD56、CD61、CD7、CD8、CD34、CD1c、CD23、CD304、CD235a、T细胞受体 α/β 、T细胞受体 γ/δ 、CD253、CD95、CD20、CD105、CD117、CD120b、Notch4、Lgr5(N-末端)、SSEA-3、TRA-1-60抗原、双唾液神经节苷脂GD2和CD71。

[0282] 可以选择任何方便的靶标利用主题方法来进行评估。感兴趣的靶标包括但不限于核酸如RNA、DNA、PNA、CNA、HNA、LNA或ANA分子,蛋白质如融合蛋白、改性蛋白(如磷酸化的、糖基化的、泛素化的、SUMO化的或乙酰化的蛋白),或抗体,肽,聚集的生物分子,细胞,小分子,维生素和药物分子。如在此使用的,术语“靶蛋白”是指靶家族的所有成员及其片段。靶蛋白可以是任何感兴趣的蛋白质,如治疗或诊断靶标,包括但不限于:激素、生长因子、受体、酶、细胞因子、成骨诱导因子、集落刺激因子和免疫球蛋白。术语“靶蛋白”旨在包括重组

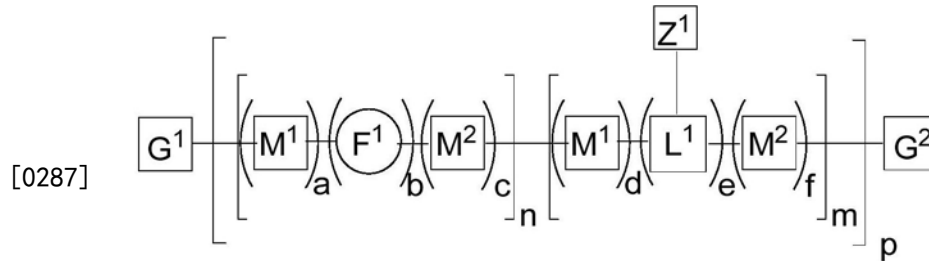
和合成分子,其可以使用任何方便的重组表达方法或使用任何方便的合成方法制备或商购。在一些实施例中,聚合物染料共轭物包括抗体或抗体片段。在主题方法中可以靶向特异性地结合感兴趣的抗体或抗体片段的任何方便的靶分析物。

[0283] 在一些实施例中,靶分析物与细胞相关。在某些实例中,靶分析物是细胞的细胞表面标志物。在某些情况下,细胞表面标志物选自细胞受体和细胞表面抗原。在一些实例中,靶分析物是胞内靶,并且该方法另外包括裂解细胞。

[0284] 在一些实施例中,样品可以包括从中分离靶细胞的异质细胞群体。在一些实例中,样品包括外周全血、在细胞分离之前红细胞已被裂解的外周全血、脐带血、骨髓、密度梯度纯化的外周血单核细胞或匀浆组织。在一些情况下,样品包括全血、骨髓或脐带血中的造血祖细胞(例如,CD34+细胞)。在某些实例中,样品包括外周血中的肿瘤细胞。在某些实例中,样品是包括(或怀疑包括)病毒细胞(例如,HIV)的样品。

[0285] 经标记的特异性结合成员可用在主题方法中,例如用聚合物染料或聚合物串联染料标记靶细胞、颗粒、靶标或分析物。例如,在流式细胞仪中,经标记的特异性结合成员可用于标记待处理(例如,检测、分析和/或分选)的细胞。经标记的特异性结合成员可以包括特异性地结合例如多种细胞类型(例如,如在此所述的)的细胞表面蛋白的抗体。经标记的特异性结合成员可用于研究多种生物(例如,细胞)特性或过程,如细胞周期、细胞增殖、细胞分化、DNA修复、T细胞信号传导、凋亡、细胞表面蛋白表达和/或呈递等。经标记的特异性结合成员可用在包括(或可能包括)细胞、颗粒或分析物的抗体介导的标记的任何应用中。

[0286] 在一些实施例中,聚合物染料共轭物包括聚合物串联染料(例如,如在此所述的)。这样,在一些实施例中,聚合物染料共轭物另外包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团。在某些实施例中,共轭物由化学式(IX)描述:



(IX)

[0288] 其中:

[0289] F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体;

[0290] 每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体;

[0291] b是1或2;

[0292] a、c、d、e和f各自独立地是0或1,其中 $a+c+d+f \geq 1$;

[0293] L^1 是与 Z^1 连接的连接共聚单体,其中 Z^1 是化学选择性标签或受体发色团;

[0294] n是从1至10,000的整数;

[0295] m是从1至10,000的整数;

[0296] p是从1至100,000的整数;并且

[0297] G^1 和 G^2 各自独立地选自端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员,其中

[0298] G^1 和 G^2 中的至少一个是所连接的特异性结合成员。在化学式 (IX) 的一些实例中，

[0299] F^1 是茈共聚单体。在化学式 (IX) 的某些实例中， F^1 是咪唑共聚单体。

[0300] 一旦样品已经与聚合物染料共轭物接触，可利用任何方便的方法来针对聚合物染料共轭物-靶分析物结合复合物的存在对所产生的标记组合物接触过的样品进行测定。聚合物染料共轭物-靶分析物结合复合物是这样的结合复合物，其在共轭物的特异性结合成员与靶分析物(如果存在)特异性结合时产生。测定标记组合物接触过的样品可包括检测来自结合复合物(如果存在)的荧光信号。在一些情况下，该测定包括分离步骤，在该步骤中靶分析物(如果存在)与样品分离。可以利用多种方法来从样品中分离靶分析物，例如通过固定在支持体上。感兴趣的测定方法包括但不限于任何方便的方法和测定形式，其中感兴趣的是特异性结合成员对，如可使用亲和素-生物素或半抗原-抗半抗原抗体。可被适配用于主题组合物的感兴趣的方法和测定形式包括但不限于流式细胞术方法、原位杂交方法、酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹分析、磁细胞分离测定和荧光染料纯化色谱。

[0301] 在某些实施例中，该方法另外包括使样品与特异性地结合靶分析物的第二特异性结合成员接触。在某些实例中，第二特异性结合成员是被支持体结合的。可以利用任何方便的支持体来固定主题方法的组分(例如，第二特异性结合成员)。在某些实例中，支持体是颗粒，如磁性颗粒。在一些实例中，第二特异性结合成员和聚合物染料共轭物产生夹心复合物，其可以使用任何方便的方法分离和检测(如果存在)。在一些实施例中，该方法另外包括以流式细胞术分析聚合物染料共轭物-靶分析物结合复合物，即荧光标记的靶分析物。测定聚合物染料共轭物-靶分析物结合复合物的存在可以提供可用于评估样品中靶分析物是否存在的测定结果(例如，定性或定量测定数据)。

[0302] 在主题方法中可以利用任何方便的支持体。感兴趣的支持体包括但不限于：固体基质，其中基质可以具有多种构型，例如片、珠或其他结构，如带孔的板；珠、聚合物、颗粒、纤维网格、水凝胶、多孔基体、针、微阵列表面、色谱支持体等。在一些实例中，支持体选自颗粒、平面固体基质、纤维网格、水凝胶、多孔基体、针、微阵列表面和色谱支持体。支持体可以并入到提供由任何方便的方法辅助的细胞分离的系统中，如手动操作的注射器、离心机或自动化液体处理系统。在一些情况下，支持体可用在用于细胞高通量分离自动化液体处理系统中，如流式细胞仪。

[0303] 在该方法的一些实施例中，分离步骤包括施加外部磁场以固定磁性颗粒。可以使用任何方便的磁体作为外部磁场(例如，磁场梯度)源。在一些情况下，外部磁场是由磁源产生的，例如通过永磁体或电磁体。在一些情况下，固定磁性颗粒意味着磁性颗粒在最接近磁场梯度源(即，磁体)的表面附近积聚。

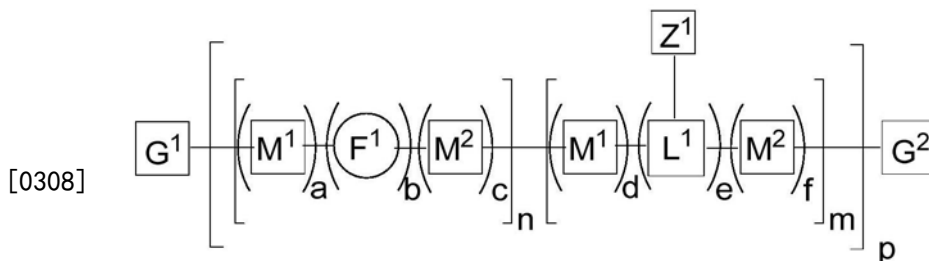
[0304] 分离可以另外包括一个或多个任选的洗涤步骤，以从支持体中除去样品的未结合材料。可以使用任何方便的洗涤方法，例如用生物相容的缓冲液洗涤固定的支持体，该缓冲液保留聚合物染料和特异性结合成员的特异性结合相互作用。从支持体中分离和任选地洗涤样品的未结合材料提供了靶细胞的富集群体，其中的不希望的细胞和材料可被除去。

[0305] 在某些实施例中，该方法另外包括检测经标记的靶标。检测经标记的靶标可以包括用一个或多个激光激发多发色团，并随后使用一个或多个光学检测器检测来自聚合物染料的荧光发射。

[0306] 还提供了标记靶分子的方法。主题聚合物染料(包括串联染料)可用于多种标记、

分离、检测和/或分析方法。在一些实施例中，该方法包括：使靶分子与聚合物染料接触以产生经标记的靶分子，其中该聚合物染料包括：包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团，其包含：芴共聚单体；和UV吸光度修饰共聚单体；其中多发色团具有紫外线吸收最大值；和共价连接到靶分子的共轭标签。

[0307] 在一些实施例中，聚合物染料是聚合物串联染料。这样，在一些情况下，聚合物染料另外包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团。在某些实例中，聚合物染料本身是荧光的。在一些实施例中，聚合物染料由化学式 (X) 描述：



[0309] 其中：

[0310] F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体；

[0311] 每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体；

[0312] b 是1或2；

[0313] a 、 c 、 d 、 e 和 f 各自独立地是0或1，其中 $a+c+d+f \geq 1$ ；

[0314] L^1 是连接共聚单体，并且 Z^1 是化学选择性标签或受体发色团；

[0315] n 是从1至10,000的整数；

[0316] m 是0或从1至10,000的整数；

[0317] p 是从1至100,000的整数；并且

[0318] G^1 和 G^2 中的一个为端基，并且 G^1 和 G^2 中的另一个为共轭标签。在某些实施例中， Z^1 是受体发色团。在某些实施例中， Z^1 是化学选择性标签。在某些情况下， e 是0。在化学式 (X) 的一些实例中， F^1 是芴共聚单体。在化学式 (X) 的某些实例中， F^1 是咪唑共聚单体。

[0319] 如在此使用的，术语“共轭标签”是指包括可以在任选的活化和/或脱保护后与靶分子的相容官能团共价连接的化学选择性官能团（例如，如在此所述的）的基团。在主题聚合物染料中可以利用任何方便的共轭标签，以将染料与感兴趣的靶分子共轭。在一些实施例中，共轭标签包括选自氨基、羧酸或其衍生物、硫醇、羟基、胍、酰胍、叠氮化物、炔烃和蛋白质反应性基团（例如氨基反应性、硫醇反应性、羟基反应性、咪唑基反应性或胍基反应性）的末端官能团。

[0320] 任何方便的方法和试剂都可被适配用于主题标记方法，以将共轭标签与靶分子共价连接。用于标记靶标的感兴趣的方法包括但不限于由 Hermanson, Bioconjugate Techniques, Third edition, Academic Press, 2013 [Hermanson, 生物共轭技术, 第三版, 学术出版社, 2013] 所述的那些方法和试剂。接触步骤可以在水溶液中执行。在一些实例中，共轭标签包括氨基官能团，并且靶分子包括经活化的酯官能团，如NHS酯或磺基-NHS酯，或反之亦然。在某些实例中，共轭标签包括马来酰亚胺官能团，并且靶分子包括硫醇官能团，或

反之亦然。

[0321] 可以选择任何方便的靶分子利用主题方法来进行标记。感兴趣的靶分子包括但不限于核酸如RNA、DNA、PNA、CNA、HNA、LNA或ANA分子,蛋白质如融合蛋白、改性蛋白(如磷酸化的、糖基化的、泛素化的、SUMO化的或乙酰化的蛋白),或抗体,肽,聚集的生物分子,细胞,小分子,维生素和药物分子。如在此使用的,术语“靶蛋白”是指靶家族的所有成员及其片段。靶蛋白可以是任何感兴趣的蛋白质,如治疗或诊断靶标,包括但不限于:激素、生长因子、受体、酶、细胞因子、成骨诱导因子、集落刺激因子和免疫球蛋白。术语“靶蛋白”旨在包括重组和合成分子,其可以使用任何方便的重组表达方法或使用任何方便的合成方法制备或商购。在一些实施例中,靶分子是特异性结合成员(例如,如在此所述的)。在某些实例中,特异性结合成员是抗体。在一些实例中,特异性结合成员是抗体片段或其结合衍生物。在一些情况下,抗体片段或其结合衍生物选自Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、双抗体和三抗体。

[0322] 在一些情况下,该方法包括分离步骤,在该步骤中经标记的靶分子与反应混合物(例如,过量的试剂或未标记的靶标)分离。可以利用多种方法来从样品中分离靶标,例如通过固定在支持体上、沉淀、色谱法等。

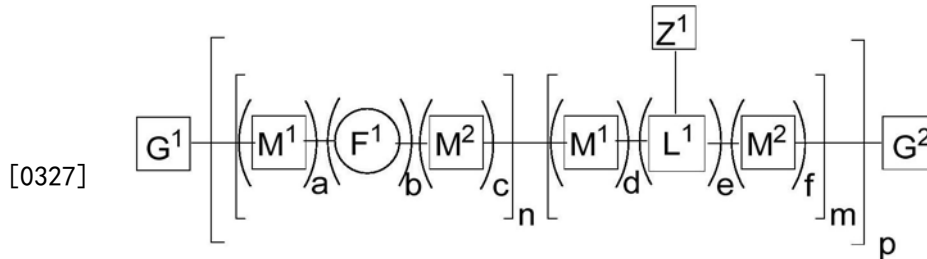
[0323] 在一些实例中,该方法另外包括检测和/或分析经标记的靶分子。在一些实例中,该方法另外包括荧光检测经标记的靶分子。结合主题方法和组合物,可以利用任何方便的方法来检测和/或分析经标记的靶分子。在主题方法中可用的分析感兴趣的靶标的方法包括但不限于流式细胞术、原位杂交、酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹分析、磁细胞分离测定和荧光染料纯化色谱。感兴趣的检测方法包括但不限于荧光光谱法、核酸测序、荧光原位杂交(FISH)、蛋白质质谱法、流式细胞术等。

[0324] 检测可以通过报告分子直接实现,或通过二级检测系统间接实现。后者可基于几种不同原理的任一种或组合,包括但不限于抗体标记的抗物种抗体和其他形式的免疫学或非免疫桥接和信号放大系统(例如,生物素-链霉亲和素技术、蛋白质-A和蛋白质-G介导的技术、或核酸探针/抗核酸探针等)。用于直接或间接检测的标记可以是任何可检测的报告分子。合适的报告分子可以是免疫细胞化学、分子生物学、光、荧光和电子显微术、细胞免疫表型分析、细胞分选、流式细胞术、细胞可视化、检测、枚举和/或信号输出定量领域中已知的那些。感兴趣的标记包括但不限于荧光团、发光标记、金属络合物、放射性同位素、生物素、链霉亲和素、酶或其他检测标记以及标记组合(如酶和发光底物)。感兴趣的酶及其底物包括碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶和荧光素酶等。可以将多于一种具有特异性和/或非特异性性质的抗体进行标记并同时或依次使用,以增强靶标检测、鉴定和/或分析。感兴趣的标记包括但不限于FITC(异硫氰酸荧光素)、AMCA(7-氨基-4-甲基香豆素-3-乙酸)、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 350、DyLight350、藻红蛋白、别藻蓝素和用于检测核的着色剂(如Hoechst 33342、LDS751、TO-PRO和DAPI)。

[0325] 系统

[0326] 本发明的方面另外包括用于在实践主题方法和组合物中使用的系统。样品分析系统可以包括装载有样品和经标记的特异性结合成员的流动通道。在一些实施例中,该系统是包括如下各项的流式细胞术系统:包括流路的流式细胞仪;流路中的组合物,其中该组合物包括:样品;和经标记的特异性结合成员(例如,如在此所述的)。在该系统的一些实例中,经标记的特异性结合成员包括:包括如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,其包含:稠合

的6-5-6三环共聚单体；和UV吸光度修饰共聚单体；其中多发色团具有紫外线吸收最大值；以及特异性结合成员，该特异性结合成员特异性地结合靶分析物并且共价连接到该多发色团。该多发色团可以是本身为荧光的聚合物染料。该多发色团可以是聚合物串联染料。在某些实例中，经标记的特异性结合成员另外包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团。在一些实施例中，经标记的特异性结合成员由化学式 (XI) 描述：



[0328] 其中：

[0329] F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体；

[0330] 每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体；

[0331] b 是1或2；

[0332] a 、 c 、 d 、 e 和 f 各自独立地是0或1，其中 $a+c+d+f \geq 1$ ；

[0333] L^1 是与 Z^1 连接的连接共聚单体，其中 Z^1 是化学选择性标签或受体发色团；

[0334] n 是从1至10,000的整数；

[0335] m 是从1至10,000的整数；

[0336] p 是从1至100,000的整数；并且

[0337] G^1 和 G^2 中的一个为端基，并且 G^1 和 G^2 中的另一个是所连接的特异性结合成员。在化学式 (XI) 的一些实例中， F^1 是茈共聚单体。在化学式 (XI) 的某些实例中， F^1 是咪唑共聚单体。

[0338] 在该系统的某些实施例中，组合物另外包括第二特异性结合成员，其被支持体结合并特异性地结合靶分析物。在一些情况下，支持体包括磁性颗粒。这样，在某些实例中，系统还可以包括被配置为应用到流动通道的测定区域的可控外部顺磁场。

[0339] 样品可以包括细胞。在一些情况下，样品是包含细胞的生物样品。在一些实例中，样品包括特异性地结合靶细胞的经标记的特异性结合成员。在某些实例中，由特异性结合成员特异性地结合的靶分析物是细胞的细胞表面标志物。在某些情况下，细胞表面标志物选自细胞受体和细胞表面抗原。

[0340] 在某些方面，系统还可以包括被配置为将光引导到流动通道的测定区域的光源。系统可以包括被配置为接收来自流动通道的测定区域的信号的检测器，其中该信号由荧光组合物提供。任选地进一步，样品分析系统可以包括用于检测一种或多种另外的信号的一个或多个另外的检测器和/或光源。

[0341] 在某些方面，系统可以另外包括被配置为检测荧光信号的存在基于计算机的系统。“基于计算机的系统”是指用于分析本发明的信息的硬件装置、软件装置和数据存储装置。本发明的基于计算机的系统的最小硬件包括中央处理单元 (CPU)、输入装置、输出装置和数据存储装置。技术人员可以容易地理解，目前可用的基于计算机的系统中的任一种都

适用于在主题系统中使用。数据存储装置可以包括任何含有以下项的产品：对如上所述的本发明信息的记录、或可以访问这种产品的存储访问装置。

[0342] 为了“记录”数据，计算机可读介质上的编程信息或其他信息是指存储信息的过程，使用如本领域已知的任何此类方法。基于用于访问存储信息的装置，可以选择任何方便的数据存储结构。多种数据处理器程序和格式可以用于存储，例如文字处理文本文件、数据库格式等。

[0343] “处理器”引用了将执行它所需要的功能的任何硬件和/或软件组合。例如，在此的任何处理器可以是可编程数字微处理器，如按以下形式可用：电子控制器、大型机、服务器或个人计算机（台式机或便携式计算机）。在处理器是可编程的情况下，适合的编程可以从远端位置传送至该处理器，或预先保存在计算机程序产品（如便携式或固定式计算机可读存储介质，无论是基于磁性的、光学的或固态的装置）中。例如，磁介质或光盘可以携带编程，并且可以由在其相应的基站与每一处理器连通的适合的读取器来读取。

[0344] 除了传感器装置和信号处理模块，例如，如以上所述，本发明的系统可以包括多个另外的部件，如数据输出装置（例如，监测器和/或扬声器）、数据输入装置（例如，接口端口、键盘等）、流体处理部件、电源等。

[0345] 在某些方面，系统包括流式细胞仪。感兴趣的流式细胞仪包括但不限于在以下美国专利号中描述的那些装置：4,704,891；4,727,029；4,745,285；4,867,908；5,342,790；5,620,842；5,627,037；5,701,012；5,895,922；和6,287,791；将其披露内容通过引用结合在此。

[0346] 其他系统可用于实践主题方法。在某些方面，系统可以是装载有具有在此所讨论的任何实施例的荧光组合物的样品的荧光计或显微镜。荧光计或显微镜可以包括被配置为将光引导到流动通道的测定区域的光源。荧光计或显微镜还可以包括被配置为接收来自流动通道的测定区域的信号的检测器，其中该信号由荧光组合物提供。

[0347] 试剂盒

[0348] 本发明的方面另外包括用于在实践主题方法和组合物中使用的试剂盒。本发明的组合物可以作为试剂被包括在试剂盒中，作为起始材料或提供用于例如在上述方法中使用。

[0349] 试剂盒可以包括：包括如下的共轭链段的水溶性集光多发色团，其包括：稠合的6-5-6三环共聚单体；和UV吸光度修饰共聚单体，其中多发色团具有紫外线吸收最大值；以及选自聚合物串联染料、荧光团、特异性结合成员、特异性结合成员共轭物、支持体结合的特异性结合成员、细胞、支持体、生物相容的水性洗脱缓冲液和使用说明书中的一种或多种组成部分。在该试剂盒的一些实施例中，多发色团与特异性结合成员共价连接。在一些实例中，特异性结合成员是抗体。在某些实例中，特异性结合成员是抗体片段或其结合衍生物。在某些情况下，抗体片段或其结合衍生物选自Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、双抗体和三抗体。该多发色团可以是本身为荧光的聚合物染料。该多发色团可以是聚合物串联染料。在一些情况下，多发色团另外包括在其能量接收附近与多发色团共价连接的受体发色团。

[0350] 在某些实施例中，该试剂盒可用于针对靶分析物（如胞内靶）的存在对样品进行评估。这样，在一些实例中，该试剂盒包括一种或多种适用于裂解细胞的组分。该试剂盒的一种或多种另外的组分可以在单独的容器（例如，单独的管、瓶或者多孔条或板中的单独的

孔)中提供。

[0351] 在某些方面,试剂盒另外包括用于执行流式细胞术测定的试剂。感兴趣的试剂包括但不限于用于重构和稀释的缓冲液、用于使细胞样品与多发色团接触的缓冲液、洗涤缓冲液、对照细胞、对照珠、用于流式细胞仪校准的荧光珠及其组合。该试剂盒还可以包括一种或多种细胞固定试剂,如多聚甲醛、戊二醛、甲醇、丙酮、福尔马林、或其任何组合或缓冲液。另外,该试剂盒可以包括细胞透化试剂,如甲醇、丙酮或洗涤剂(例如,曲通、NP-40、皂苷、吐温20、毛地黄皂苷、leucoperm),或其任何组合或缓冲液。技术人员熟悉的其他蛋白转运抑制剂、细胞固定试剂和细胞透化试剂在主题试剂盒的范围内。

[0352] 该试剂盒的组合物可以提供在液体组合物中,如任何合适的缓冲液。可替代地,该试剂盒的组合物能以干组合物提供(例如,可以冻干),并且该试剂盒可以任选地包括用于重构该干组合物的一种或多种缓冲液。在某些方面,该试剂盒可以包括提供在单独的容器(例如,单独的管、瓶或者多孔条或板中的单独的孔)中的组合物的等分试样。

[0353] 此外,一种或多种组分可以被并入单个容器,例如玻璃的或塑料的小瓶、管或瓶。在某些实例中,试剂盒可以另外包括其中存在所有组成部分(及其单独的容器)的容器(例如,如盒、袋、绝缘容器、瓶、管等)。该试剂盒可以另外包括与试剂盒容器分开或附着在试剂盒容器上并且上面打印有关于试剂盒、试剂盒的组成部分和/或试剂盒的使用说明书的信息的包装。

[0354] 除了以上组成部分之外,主题试剂盒还可以另外包括用于实践这些主题方法的说明书。这些说明书可以呈多种形式存在于主题试剂盒中,这些形式中的一种或多种可以存在于该试剂盒中。这些说明书可以存在的一种形式是打印在适合的介质或基底(例如,在其上打印信息的一张或多张纸)上、打印在试剂盒的包装中、打印在包装插入物等中的信息。又另一种手段可以是在其上已经记录有信息的计算机可读介质,例如磁盘、CD、DVD、便携闪存驱动器等。可以存在的又另一种手段是在远离的地方经由因特网来获取信息的网址。任何方便的手段可以存在于这些试剂盒中。

[0355] 实用性

[0356] 在此所述的组合物、方法和系统可用于多种应用,包括诊断和研究应用,其中令人希望的是感兴趣的靶标的标记检测和/或分析。这类应用包括如流式细胞术、显微术、免疫测定(例如竞争性或非竞争性)、游离分析物的评估、受体结合的配体的评估等的方法学。在此所述的组合物、系统和方法可用于分析多种样品中的任何一种,包括但不限于生物流体、细胞培养样品和组织样品。在某些方面,在此所述的组合物、系统和方法可用于使用荧光标记(在如荧光活化的细胞分选或分析、免疫测定、免疫染色等)检测样品中的分析物(如果存在)的方法。在某些实例中,这些组合物和方法可用于感兴趣的是针对靶分析物的存在对样品进行评估的应用。

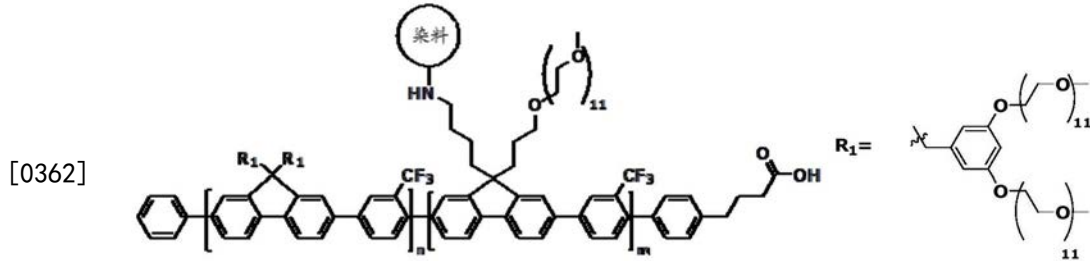
[0357] 在一些情况下,这些方法和组合物可用于感兴趣的是检测和/或分析来自样品的靶标的任何测定形式,包括但不限于流式细胞术、原位杂交、酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹分析、磁性细胞分离测定和荧光染料纯化色谱。在某些实例中,这些方法和组合物可用于感兴趣的是荧光标记靶分子的任何应用。主题组合物可被适配用于可使用特异性结合成员对(如生物素-链霉亲和素和半抗原-抗半抗原抗体)的任何方便的应用。

[0358] 通过说明的方式而不是通过限制的方式,提供以下实例。

[0359] 实验

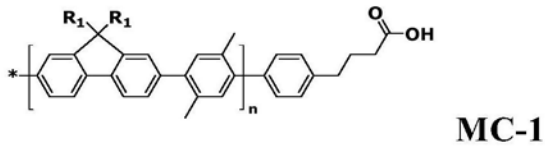
[0360] 实例1

[0361] 基于下文描绘的核心结构1制备一系列串联染料,包括一系列连接的荧光团。图1示出了基于连接到多种不同的受体发色团的多发色团核心结构1的多种聚合物串联染料的荧光发射谱。

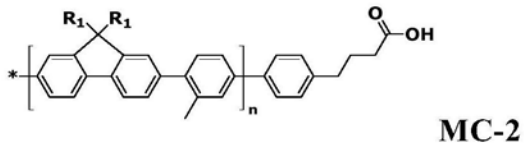


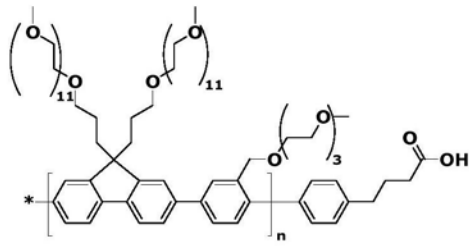
[0363] 其中该染料是Dyomics染料DY 431、DY 485XL、DY 610、DY 640、Cy3、Cy 3.5或二乙氨基香豆素 (DEAC)。

[0364] 制备并表征了第二系列的UV吸收聚合物染料。图2示出了感兴趣的多种多发色团MC-1至MC-5的UV吸收光谱。



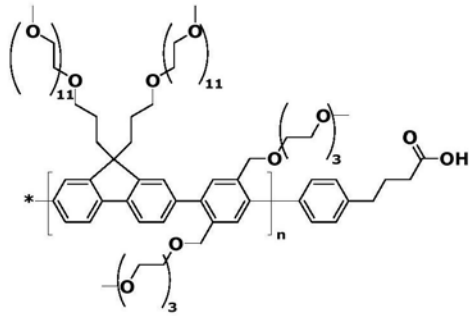
[0365]



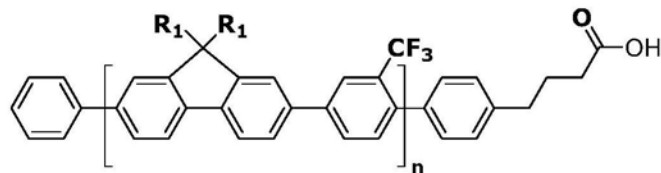


MC-3

[0366]

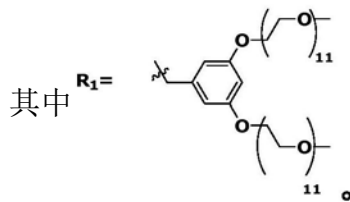


MC-4



MC-5

[0367]



[0368] 虽然有附加条款,但是还通过以下条款限定了在此阐述的披露内容:

[0369] 1. 一种包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,该共轭链段包含:稠合的6-5-6三环共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中该多发色团具有紫外线吸收最大值。

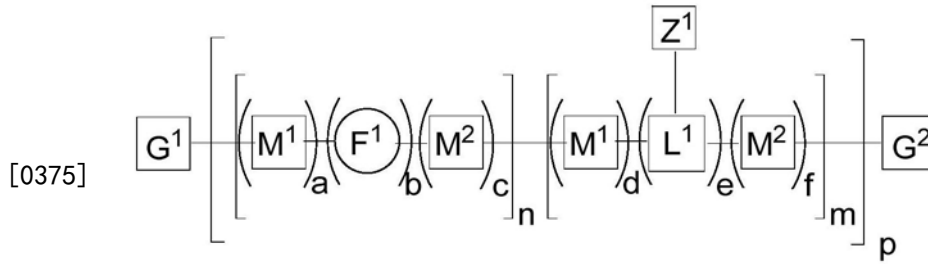
[0370] 2. 根据条款1所述的多发色团,其中该多发色团具有在300至400nm范围内的吸收最大波长以及在375至900nm范围内的发射最大波长。

[0371] 3. 根据前述条款中任一项所述的多发色团,其中:该多发色团包含按摩尔浓度计25%或更多的UV吸光度修饰共聚单体;并且该多发色团是包含5个或更多个单体重复单元的共轭聚合物。

[0372] 4. 根据前述条款中任一项所述的多发色团,其中该多发色团具有 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 或更大的摩尔消光系数。

[0373] 5. 根据前述条款中任一项所述的多发色团,其中该多发色团具有0.3或更大的量子产率。

[0374] 6. 根据前述条款中任一项所述的多发色团,其中该多发色团由化学式(I)描述:

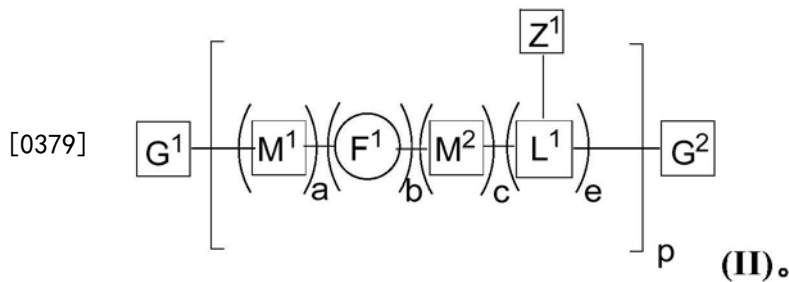


(I)

[0376] 其中 F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体;每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体; b 是1或2; a 、 c 、 d 、 e 和 f 各自独立地是0或1,其中 $a+c+d+f \geq 1$; L^1 是包含化学选择性标签 Z^1 的连接共聚单体; n 是从1至10,000的整数; m 是0或从1至10,000的整数; p 是从1至100,000的整数;并且 G^1 和 G^2 各自独立地选自下组,该组由以下各项组成:端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。

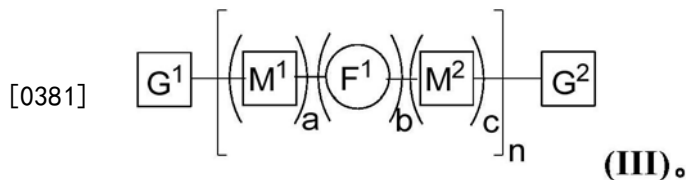
[0377] 7. 根据条款6所述的多发色团,其中当 e 是0时, d 、 f 和 m 各自是0;当 e 是1时, $d+f \leq 1$,并且 $m \geq 1$ 。

[0378] 8. 根据条款6所述的多发色团,其中该多发色团由化学式(II)描述:



(II)。

[0380] 9. 根据条款6所述的多发色团,其中该多发色团由化学式(III)描述:

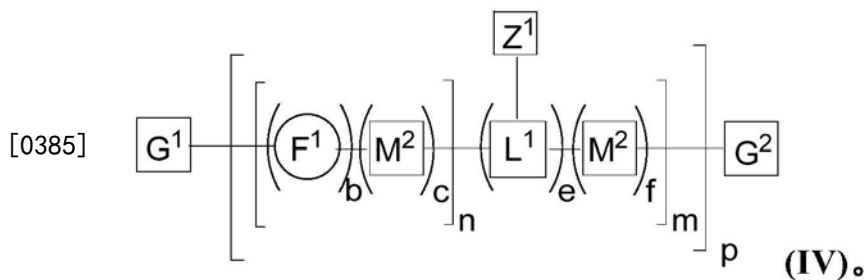


(III)。

[0382] 10. 根据条款8-9中任一项所述的多发色团,其中: b 是1,并且 $a+c \geq 1$; G^1 是端基;并且 G^2 是端基、接头或所连接的特异性结合成员。

[0383] 11. 根据条款8-10中任一项所述的多发色团,其中 $a+c=1$ 。

[0384] 12. 根据条款6所述的多发色团,其中该多发色团由化学式(IV)描述:



(IV)。

[0386] 13. 根据条款12所述的多发色团,其中: b 是1; c 是0或1; e 和 f 各自是0或1,其中 $e+f$

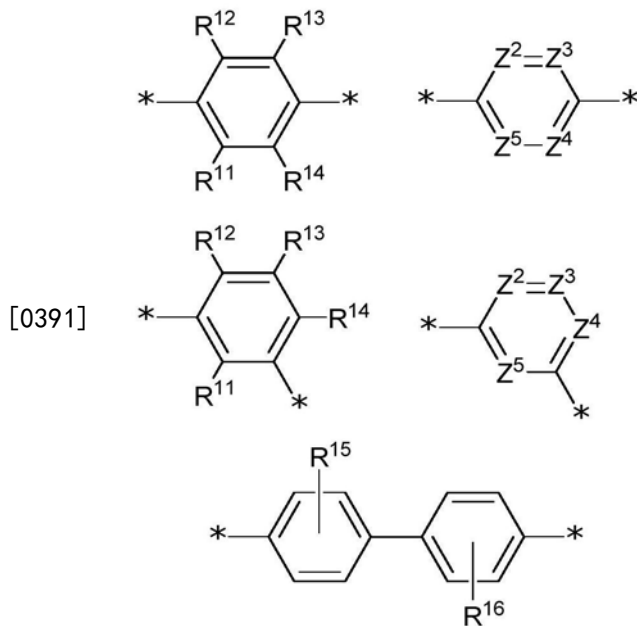
≥ 1 ; G^1 是端基; 并且 G^2 是端基、接头或所连接的特异性结合成员。

[0387] 14. 根据条款12-13中任一项所述的多发色团, 其中 c 是1。

[0388] 15. 根据前述条款中任一项所述的多发色团, 其中该UV吸光度修饰共聚单体是经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体。

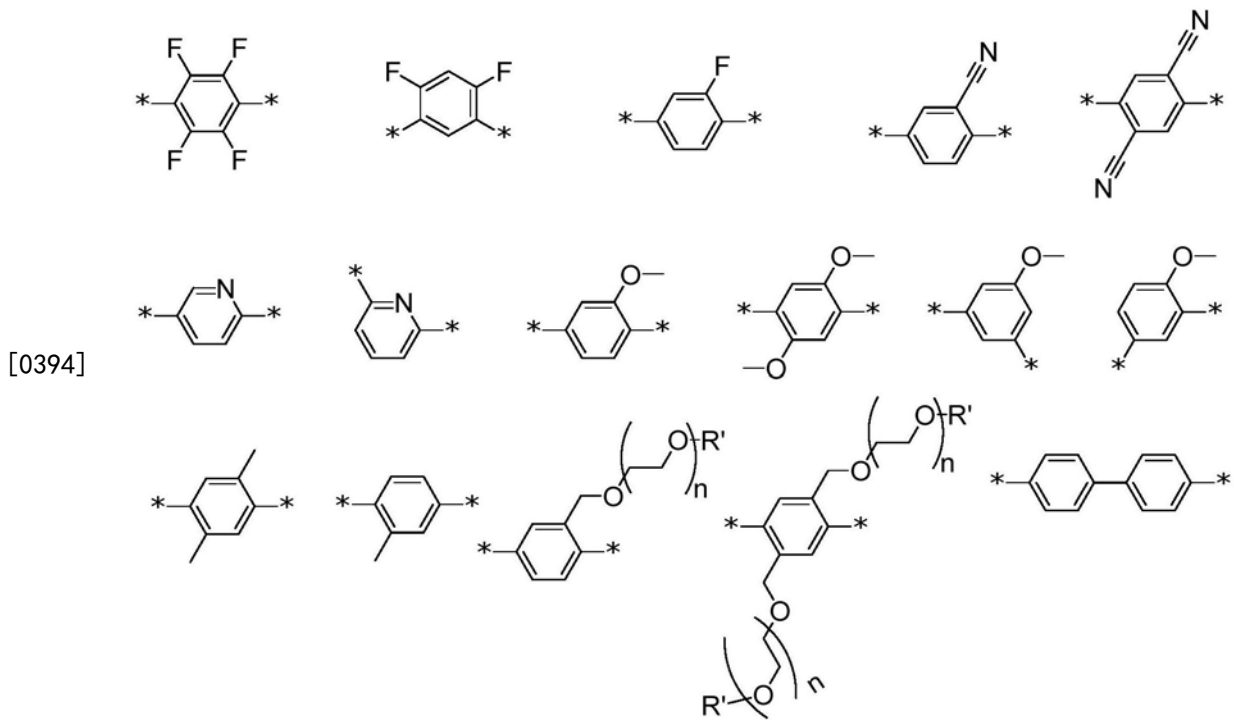
[0389] 16. 根据条款15所述的多发色团, 其中该经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体选自下组, 该组由以下各项组成: 经取代的或未经取代的1,4-苯基、经取代的或未经取代的1,3-苯基、经取代的或未经取代的4,4'-联苯基、经取代的或未经取代的2,5-吡啶基和经取代的或未经取代的2,6-吡啶基。

[0390] 17. 根据条款16所述的多发色团, 其中该经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体选自以下项之一:



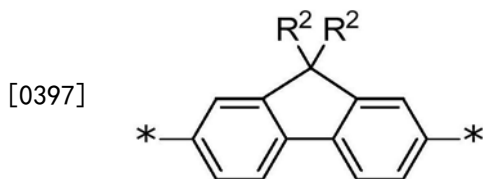
[0392] 其中: Z^2-Z^5 各自独立地是CR或N, 其中至少一个 Z^2-Z^5 是N; 并且每个R和 $R^{11}-R^{16}$ 独立地选自下组, 该组由以下各项组成: 氢、卤素、氰基、烷氧基、经取代的烷氧基、烷基和经取代的烷基。

[0393] 18. 根据条款17所述的多发色团, 其中该经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体选自以下项之一:



[0395] 其中n是1-20,并且R'是H或低级烷基。

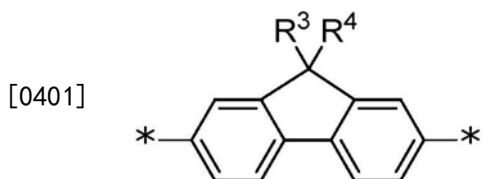
[0396] 19. 根据条款6-18中任一项所述的多发色团,其中F¹由以下结构描述:



[0398] 其中:每个R²是包含水增溶基团的经取代的烷基或包含水增溶基团的经取代的芳烷基。

[0399] 20. 根据条款6-19中任一项所述的多发色团,其中L¹是芴共聚单体。

[0400] 21. 根据条款6-20中任一项所述的多发色团,其中L¹由以下结构描述:



[0402] 其中:R³是包含水增溶基团的经取代的烷基;R⁴是L²-Z²,其中L²是接头,并且Z²是化学选择性标签。

[0403] 22. 一种包含以下项的聚合物串联染料:包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,该共轭链段包含:稠合的6-5-6三环共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中该多发色团具有紫外线吸收最大值;以及在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团。

[0404] 23. 根据条款22所述的染料,其中该多发色团具有在300至400nm范围内的吸收最大波长以及在375至900nm范围内的发射最大波长。

[0405] 24. 根据条款22-23中任一项所述的染料,其中:该UV吸光度修饰共聚单体构成该

多发色团的按摩尔浓度计25%或更多;并且该多发色团是包含5个或更多个重复单元的共轭聚合物。

[0406] 25. 根据条款22-24中任一项所述的染料,其中该多发色团具有 $5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 或更大的摩尔消光系数。

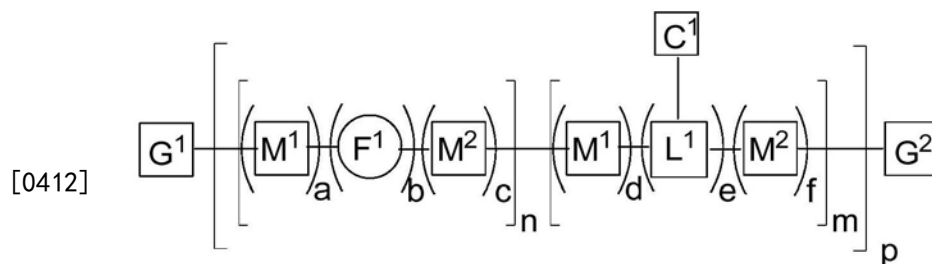
[0407] 26. 根据条款22-25中任一项所述的染料,其中该多发色团具有0.3或更大的量子产率。

[0408] 27. 根据条款22-26中任一项所述的染料,其中该受体发色团是荧光团。

[0409] 28. 根据条款22-26中任一项所述的染料,其中该受体发色团是淬灭剂。

[0410] 29. 根据条款27所述的染料,其中与该受体发色团被入射光直接激发相比,被该多发色团激发时该受体发色团发射大1.5倍或更多。

[0411] 30. 根据条款22-29中任一项所述的染料,其中该多发色团由化学式(V)描述:

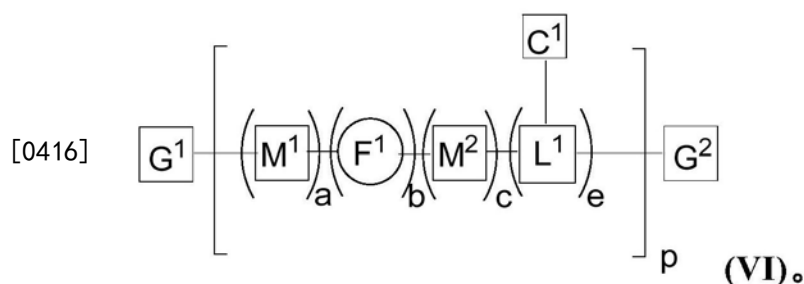


(V)

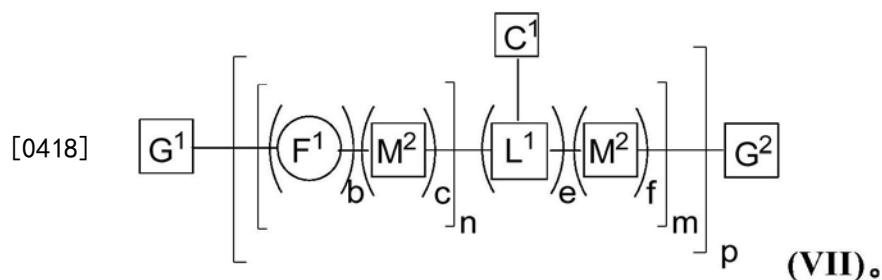
[0413] 其中 F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体;每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体; b 是1或2; a 、 c 、 d 和 f 各自独立地是0或1,其中 $a+c+d+f \geq 1$; e 是1或2; L^1 是与受体发色团- C^1 连接的连接共聚单体; n 是从1至10,000的整数; m 是从1至10,000的整数; p 是从1至100,000的整数;并且 G^1 和 G^2 各自独立地选自下组,该组由以下各项组成:端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员。

[0414] 31. 根据条款30所述的染料,其中 e 是1,并且 $d+f \leq 1$ 且 $m \geq 1$ 。

[0415] 32. 根据条款30所述的染料,其中该多发色团由化学式(VI)描述:



[0417] 33. 根据条款30所述的染料,其中该多发色团由化学式(VII)描述:



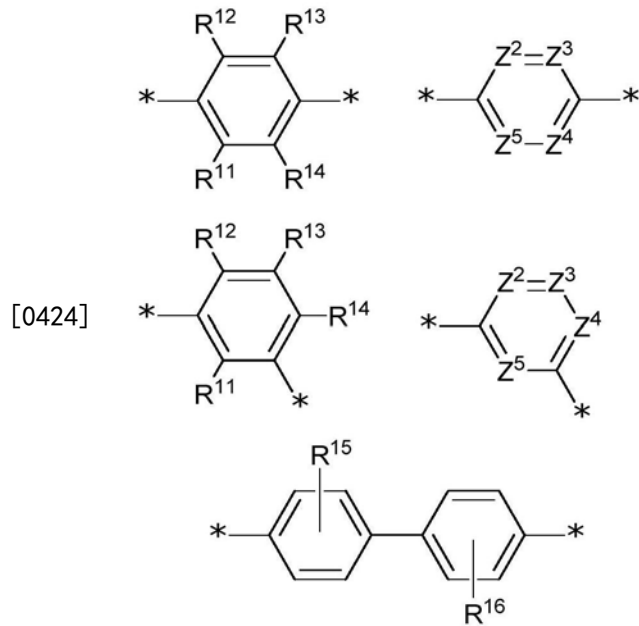
[0419] 34. 根据条款33所述的多发色团,其中:b是1;c是0或1;e是1;f是0或1; G^1 是端基;并且 G^2 是端基、接头或所连接的特异性结合成员。

[0420] 35. 根据条款33-34中任一项所述的染料,其中c是1。

[0421] 36. 根据条款22-35中任一项所述的染料,其中该UV吸光度修饰共聚单体是经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体。

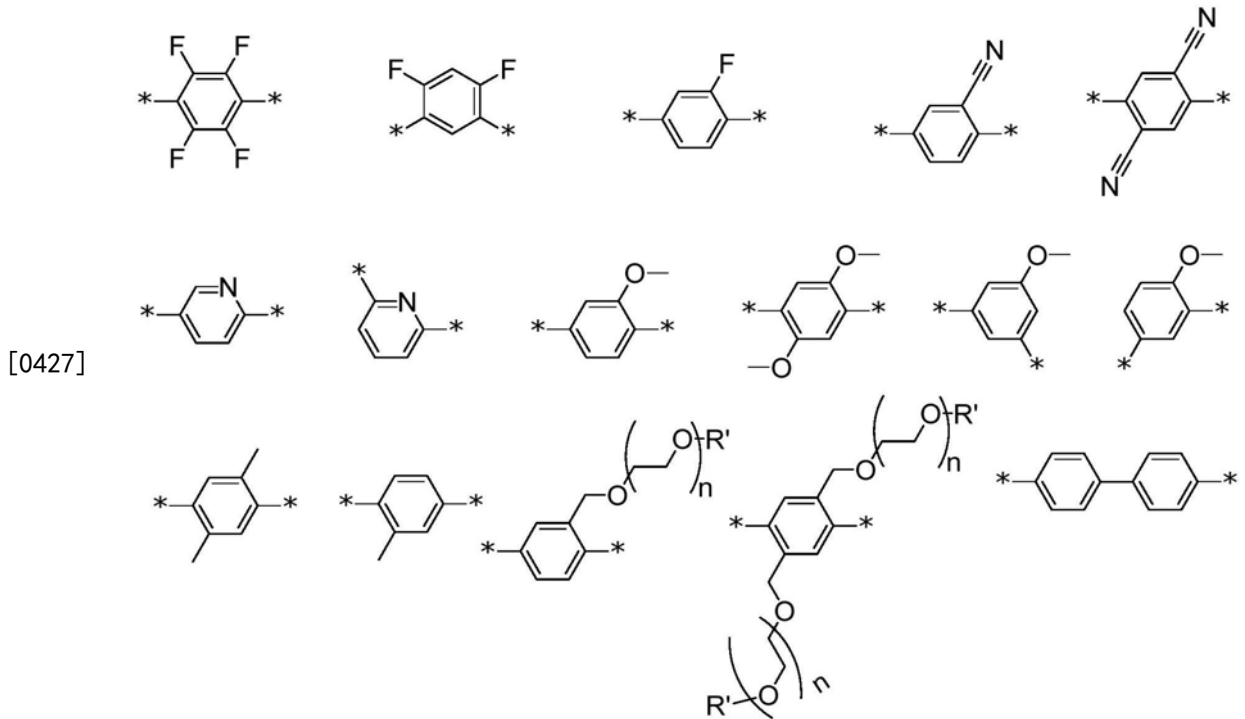
[0422] 37. 根据条款36所述的染料,其中该经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体选自下组,该组由以下各项组成:经取代的或未经取代的1,4-苯基、经取代的或未经取代的1,3-苯基、经取代的或未经取代的4,4'-联苯基、经取代的或未经取代的2,5-吡啶基和经取代的或未经取代的2,6-吡啶基。

[0423] 38. 根据36-37条中任一项所述的染料,其中该经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体选自以下项之一:



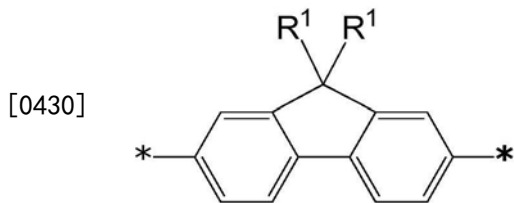
[0425] 其中: Z^2-Z^5 各自独立地是CR或N,其中至少一个 Z^2-Z^5 是N;并且每个R和R¹¹-R¹⁶独立地选自下组,该组由以下各项组成:氢、卤素、氰基、烷氧基、经取代的烷氧基、烷基和经取代的烷基。

[0426] 39. 根据36-38条中任一项所述的染料,其中该经任选取代的芳基或杂芳基共聚单体选自以下项之一:



[0428] 其中n是1-20,并且R'是H或低级烷基。

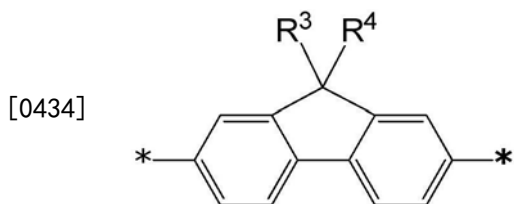
[0429] 40. 根据条款30-39中任一项所述的染料,其中F¹由以下结构描述:



[0431] 其中:每个R¹独立地选自下组,该组由以下各项组成:烷基、经取代的烷基、芳烷基、经取代的芳烷基、PEG部分和-L¹-Z¹,其中L¹是接头,并且Z¹是化学选择性标签或WSG。

[0432] 41. 根据条款30-40中任一项所述的染料,其中L¹是芴共聚单体。

[0433] 42. 根据条款30-41中任一项所述的染料,其中L¹由以下结构描述:

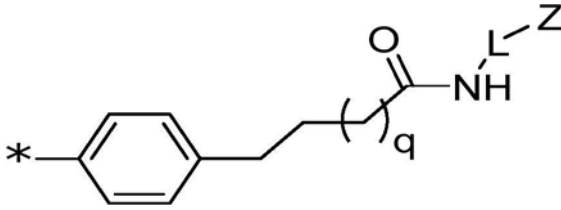


[0435] 其中:R³是包含水增溶基团的取代基;R⁴是L²-Z²,其中L²是接头,并且Z²是该受体发色团。

[0436] 43. 根据条款30-42中任一项所述的染料,其中G¹和G²中的至少一个是-L³-Z,其中L³是接头,并且Z是特异性结合成员。

[0437] 44. 根据条款30-43中任一项所述的染料,其中G¹和G²中的至少一个由以下结构描述:

[0438]



[0439] 其中:q是0或从1-12的整数;L是任选的接头;并且Z是化学选择性标签或特异性结合成员。

[0440] 45. 根据条款43-44中任一项所述的染料,其中Z是生物分子。

[0441] 46. 根据条款43-45中任一项所述的染料,其中Z是抗体。

[0442] 47. 根据条款43-45中任一项所述的染料,其中Z是抗体片段或其结合衍生物。

[0443] 48. 根据条款47所述的染料,其中该抗体片段或其结合衍生物选自下组,该组由以下各项组成:Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、双抗体和三抗体。

[0444] 49. 根据条款30-48中任一项所述的染料,其中:C¹选自下组,该组由以下各项组成:通过任选的接头与L¹连接的花青染料、咕吨染料、香豆素染料、噻嗪染料和吡啶染料。

[0445] 50. 根据条款49所述的染料,其中该接头选自下组,该组由以下各项组成:烷基、经取代的烷基、烷基-酰胺基、烷基-酰胺基-烷基和PEG部分。

[0446] 51. 根据条款22-50中任一项所述的染料,其中该受体发色团选自下组,该组由以下各项组成:DY 431、DY 485XL、DY 500XL、DY 610、DY 640、DY 654、DY 682、DY 700、DY 701、DY 704、DY 730、DY 731、DY 732、DY 734、DY 752、DY 778、DY 782、DY 800、DY 831、Biotium CF 555、Cy 3.5和二乙基氨基香豆素。

[0447] 52. 一种包含以下项的经标记的特异性结合成员:包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,该共轭链段包含:稠合的6-5-6三环共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中该多发色团具有紫外线吸收最大值;以及与该多发色团共价连接的特异性结合成员。

[0448] 53. 根据条款52所述的经标记的特异性结合成员,其中该多发色团具有在300至400nm范围内的吸收最大波长以及在375至900nm范围内的发射最大波长。

[0449] 54. 根据条款52-53中任一项所述的经标记的特异性结合成员,其中:该UV吸光度修饰共聚单体构成该多发色团的按摩尔浓度计25%或更多;并且该多发色团是包含5个或更多个重复单元的共轭聚合物。

[0450] 55. 根据条款52-53中任一项所述的经标记的特异性结合成员,其中该多发色团具有 $1 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 或更大的摩尔消光系数。

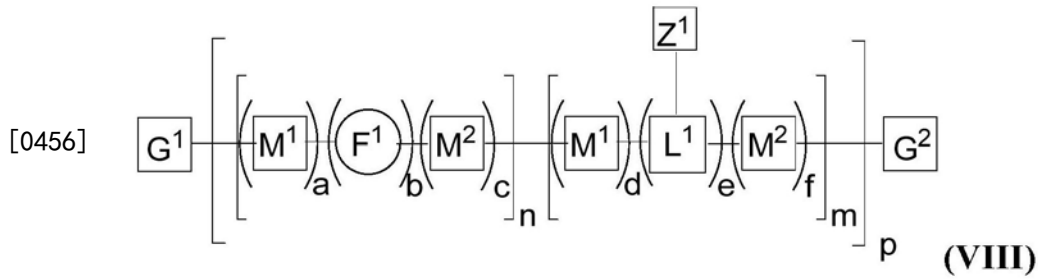
[0451] 56. 根据条款52-55中任一项所述的经标记的特异性结合成员,其中该多发色团具有0.3或更大的量子产率。

[0452] 57. 根据条款52-56中任一项所述的经标记的特异性结合成员,其中该经标记的特异性结合成员另外包含在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团。

[0453] 58. 根据条款57所述的经标记的特异性结合成员,其中该受体发色团是荧光团。

[0454] 59. 根据条款58所述的经标记的特异性结合成员,其中与该受体发色团被入射光直接激发相比,被该多发色团激发时该受体发色团发射大1.5倍或更多。

[0455] 60. 根据条款52-59中任一项所述的经标记的特异性结合成员,其中该多发色团由化学式(VIII)描述:



[0457] 其中 F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体；每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体； b 是1或2； a 、 c 、 d 、 e 和 f 各自独立地是0或1，其中 $a+c+d+f \geq 1$ ； L^1 是与 $-Z^1$ 连接的连接共聚单体，其中 Z^1 是化学选择性标签或受体发色团； n 是从1至10,000的整数； m 是从1至10,000的整数； p 是从1至100,000的整数；并且 G^1 和 G^2 各自独立地选自下组，该组由以下各项组成：端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员，其中 G^1 和 G^2 中的至少一个是所连接的特异性结合成员。

[0458] 61. 根据条款52-60中任一项所述的经标记的特异性结合成员，其中该特异性结合成员是抗体。

[0459] 62. 根据条款52-60中任一项所述的经标记的特异性结合成员，其中该特异性结合成员是抗体片段或其结合衍生物。

[0460] 63. 根据条款62所述的经标记的特异性结合成员，其中该抗体片段或其结合衍生物选自下组，该组由以下各项组成：Fab片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv、双抗体和三抗体。

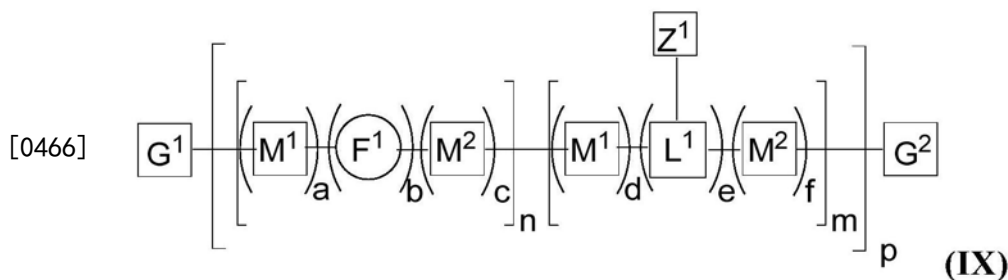
[0461] 64. 根据条款57-59中任一项所述的经标记的特异性结合成员，其中该受体发色团选自下组，该组由以下各项组成：花青染料、咕吨染料、香豆素染料、噻嗪染料或吡啶染料。

[0462] 65. 根据条款64所述的经标记的特异性结合成员，其中该受体发色团选自下组，该组由以下各项组成：Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、Alexa488、Alexa647和Alexa700。

[0463] 66. 一种针对靶分析物的存在对样品进行评估的方法，该方法包括：(a) 使该样品与特异性地结合该靶分析物的聚合物染料共轭物接触以产生标记组合物接触过的样品，其中该聚合物染料共轭物包含：(i) 包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团，该共轭链段包含：稠合的6-5-6三环共聚单体；和UV吸光度修饰共聚单体；其中该多发色团具有紫外线吸收最大值；和(ii) 特异性结合成员；并且(b) 针对聚合物染料共轭物-靶分析物结合复合物的存在对标记组合物接触过的样品进行测定，以评估该样品中是否存在靶分析物。

[0464] 67. 根据条款66所述的方法，其中该聚合物染料共轭物另外包含在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团。

[0465] 68. 根据条款66和67中任一项所述的方法，其中该共轭物由化学式(IX)描述：



[0467] 其中： F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体；每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体； b 是1或2； a 、 c 、 d 、 e 和 f 各自独立地是0或1，其中 $a+c+d+f \geq 1$ ； L^1 是与 $-Z^1$ 连接的连接共聚

聚单体,其中 Z^1 是化学选择性标签或受体发色团; n 是从1至10,000的整数; m 是从1至10,000的整数; p 是从1至100,000的整数;并且 G^1 和 G^2 各自独立地选自下组,该组由以下各项组成:端基、 π 共轭链段、接头和所连接的特异性结合成员,其中 G^1 和 G^2 中的至少一个是所连接的特异性结合成员。

[0468] 69. 根据条款66-68中任一项所述的方法,该方法另外包括使该样品与被支持体结合并特异性地结合该靶分析物的第二特异性结合成员接触。

[0469] 70. 根据条款69所述的方法,其中该支持体包含磁性颗粒。

[0470] 71. 根据条款66-70中任一项所述的方法,其中该靶分析物与细胞相关。

[0471] 72. 根据条款71所述的方法,其中该靶分析物是该细胞的细胞表面标志物。

[0472] 73. 根据条款72所述的方法,其中该细胞表面标志物选自下组,该组由以下各项组成:细胞受体和细胞表面抗原。

[0473] 74. 根据条款73所述的方法,其中该靶分析物是胞内靶,并且该方法另外包括裂解该细胞。

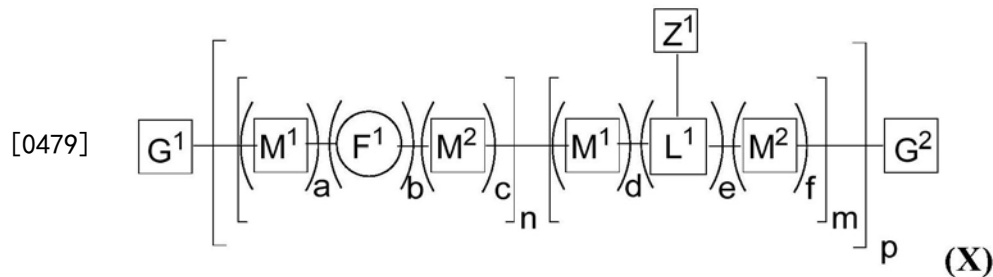
[0474] 75. 根据条款72-73中任一项所述的方法,其中该方法另外包括以流式细胞术分析该荧光标记的靶分析物。

[0475] 76. 一种标记靶分子的方法,该方法包括:使该靶分子与聚合物染料接触以产生经标记的靶分子,其中该聚合物染料包含:包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,该共轭链段包含:稠合的6-5-6三环共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中该多发色团具有紫外线吸收最大值;和共价连接到该靶分子的共轭标签。

[0476] 77. 根据条款76所述的方法,该方法另外包括荧光检测该经标记的靶分子。

[0477] 78. 根据条款76-77中任一项所述的方法,其中该聚合物染料另外包含在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团。

[0478] 79. 根据条款76-78中任一项所述的方法,其中该聚合物染料由化学式(X)描述:



[0480] 其中: F^1 是稠合的6-5-6三环共聚单体;每个 M^1 和 M^2 各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体; b 是1或2; a 、 c 、 d 、 e 和 f 各自独立地是0或1,其中 $a+c+d+f \geq 1$; L^1 是连接共聚单体,并且 Z^1 是化学选择性标签或受体发色团; n 是从1至10,000的整数; m 是0或从1至10,000的整数; p 是从1至100,000的整数;并且 G^1 和 G^2 中的一个为端基,并且 G^1 和 G^2 中的另一个是该共轭标签。

[0481] 80. 根据条款79所述的方法,其中 Z^1 是该受体发色团。

[0482] 81. 根据条款79-80中任一项所述的方法,其中该共轭标签包含选自氨基、硫醇、羧基、胍、酰胍、叠氮化物、炔烃和蛋白质反应性基团的末端官能团。

[0483] 82. 根据条款76-81中任一项所述的方法,其中该靶分子是特异性结合成员。

[0484] 83. 根据条款82所述的方法,其中该特异性结合成员是抗体。

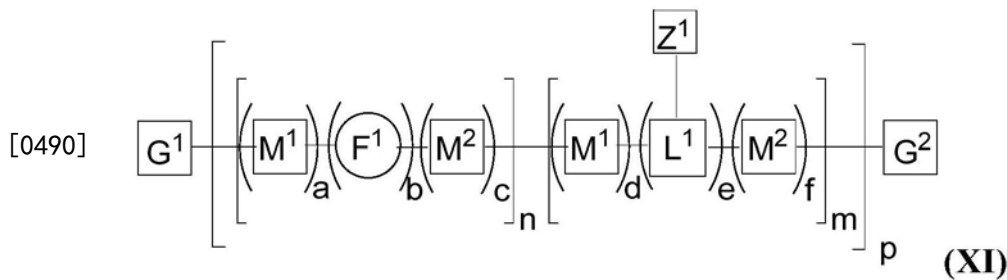
[0485] 84. 根据条款82所述的方法,其中该特异性结合成员是抗体片段或其结合衍生物。

[0486] 85. 根据条款84所述的方法,其中该抗体片段或其结合衍生物选自下组,该组由以下各项组成:Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、双抗体和三抗体。

[0487] 86. 一种包含以下项的流式细胞术系统:流式细胞仪,该流式细胞仪包含流路;该流路中的组合物,其中该组合物包含:样品;以及包含以下项的经标记的特异性结合成员:包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,该共轭链段包含:稠合的6-5-6三环共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体;其中该多发色团具有紫外线吸收最大值;以及特异性结合成员,该特异性结合成员特异性地结合靶分析物并且共价连接到该多发色团。

[0488] 87. 根据条款86所述的系统,其中该经标记的特异性结合成员另外包含在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团。

[0489] 88. 根据条款86-87中任一项所述的系统,其中该经标记的特异性结合成员由化学式(XI)描述:



[0491] 其中F¹是稠合的6-5-6三环共聚单体;每个M¹和M²各自独立地是UV吸光度修饰共聚单体;b是1或2;a、c、d、e和f各自独立地是0或1,其中a+c+d+f≥1;L¹是与-Z¹连接的连接共聚单体,其中Z¹是化学选择性标签或受体发色团;n是从1至10,000的整数;m是从1至10,000的整数;p是从1至100,000的整数;并且G¹和G²中的一个为端基,并且G¹和G²中的另一个是所连接的特异性结合成员。

[0492] 89. 根据条款86-88中任一项所述的系统,其中该组合物另外包含第二特异性结合成员,该第二特异性结合成员被支持体结合并特异性地结合该靶分析物。

[0493] 90. 根据条款89所述的系统,其中该支持体包含磁性颗粒。

[0494] 91. 根据条款86-90中任一项所述的系统,其中该样品包含细胞。

[0495] 92. 根据条款91所述的系统,其中该靶分析物是该细胞的细胞表面标志物。

[0496] 93. 根据条款92所述的系统,其中该细胞表面标志物选自下组,该组由以下各项组成:细胞受体和细胞表面抗原。

[0497] 94. 一种包含以下项的试剂盒:包含如下的共轭链段的水溶性集光多发色团,该共轭链段包含:稠合的6-5-6三环共聚单体;和UV吸光度修饰共聚单体,其中该多发色团具有紫外线吸收最大值;以及选自由聚合物串联染料、荧光团、特异性结合成员、特异性结合成员共轭物、支持体结合的特异性结合成员、细胞、支持体、生物相容的水性洗脱缓冲液和使用说明书组成的组的一种或多种组成部分。

[0498] 95. 根据条款94所述的试剂盒,其中该多发色团与特异性结合成员共价连接。

[0499] 96. 根据条款95所述的试剂盒,其中该特异性结合成员是抗体。

[0500] 97. 根据条款95所述的试剂盒,其中该特异性结合成员是抗体片段或其结合衍生物。

[0501] 98. 根据条款97所述的试剂盒,其中该抗体片段或其结合衍生物选自下组,该组由以下各项组成:Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、双抗体和三抗体。

[0502] 99. 根据条款94-98中任一项所述的试剂盒,其中该多发色团另外包含在其能量接收附近与该多发色团共价连接的受体发色团。

[0503] 尽管已经出于清楚理解的目的通过说明和实例的方式较为详细地描述了前述发明,但是本领域的技术人员根据本发明的教导很容易明白的是,在不偏离所附权利要求书的精神或范围的情况下,可以对其进行某些改变和修改。

[0504] 因此,前述内容仅说明了本发明的原理。应理解的是,本领域技术人员将能够设计不同的安排,所述不同的安排虽然没有在此明确地描述或显示,但体现本发明的原理并且被包括在其精神和范围之内。另外,在此叙述的所有实例和条件性语言主要旨在帮助读者理解诸位发明人所贡献的本发明的原理和概念以推动本领域发展,并且将被视为不限于这些具体叙述的实例和条件。并且,引用本发明的原理、方面、以及实施例的所有在此的陈述连同其具体实例旨在涵盖其结构和功能等效物两者。另外,预期此类等效物包括当前已知的等效物以及有朝一日开发的等效物两者,即不论结构而执行相同功能的开发的任何要素。因此,本发明的范围不是旨在受限于在此显示和描述的示例性实施例。因此,相反,本发明的范围和精神通过以下来具体化。

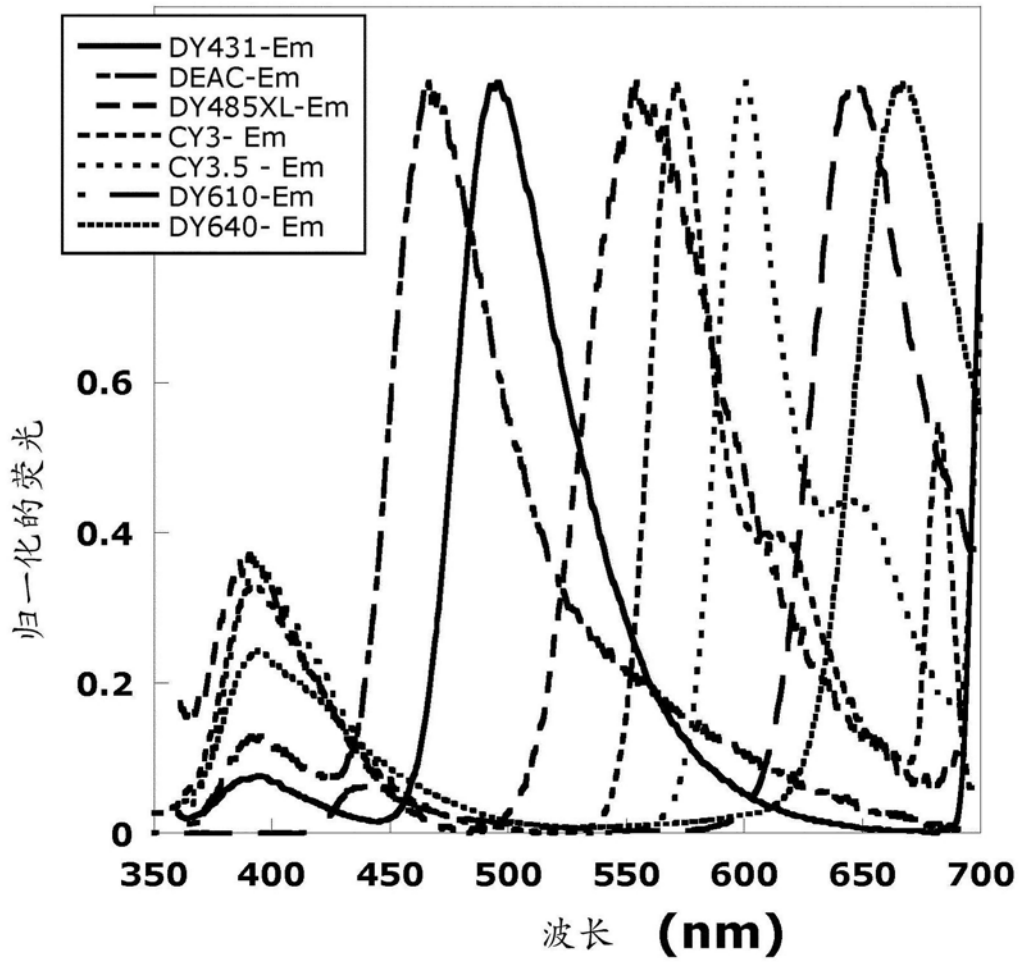


图1

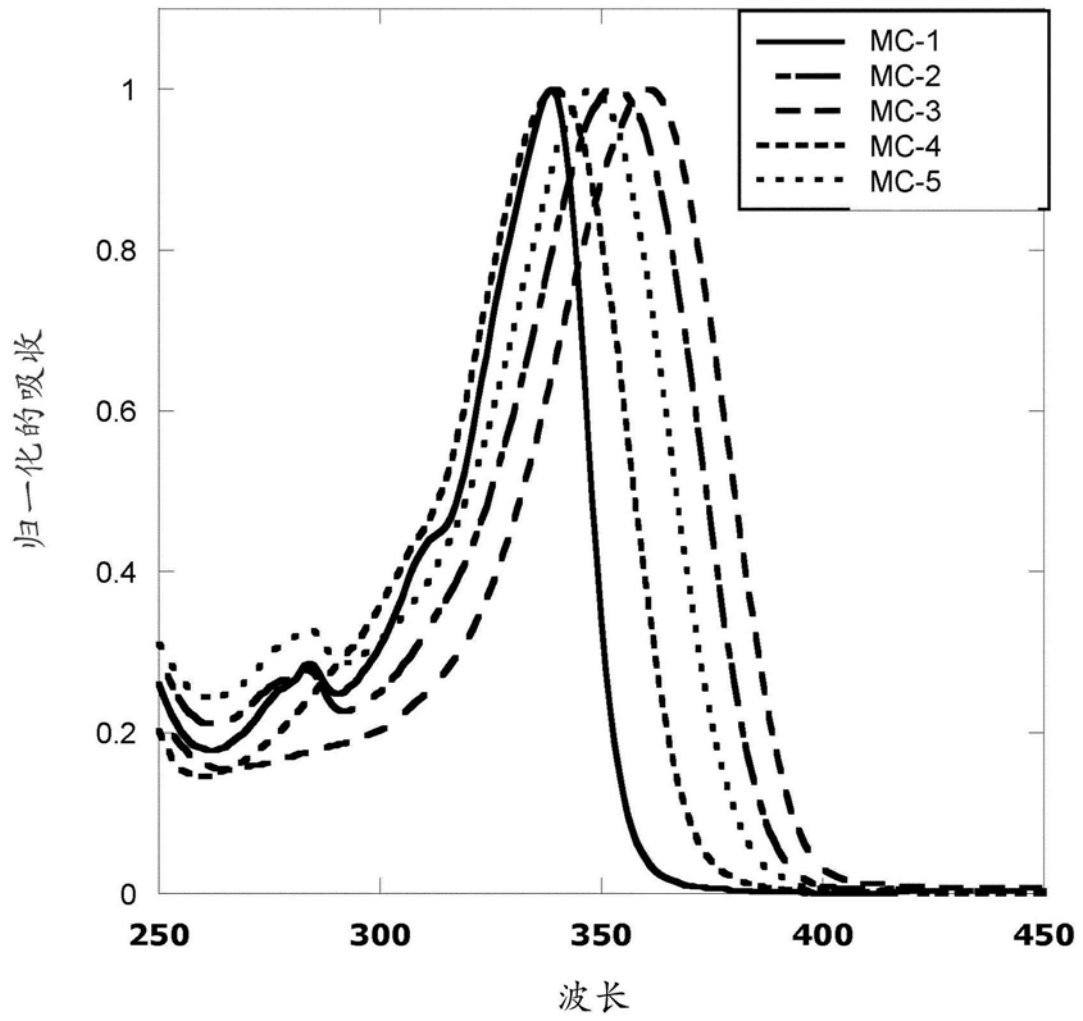


图2