



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102939073 A

(43) 申请公布日 2013.02.20

(21) 申请号 201180029119.6

代理人 刘维升 林森

(22) 申请日 2011.06.09

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61K 9/00 (2006.01)

12/815,007 2010.06.14 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012.12.13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/039825 2011.06.09

(87) PCT申请的公布数据

W02011/159548 EN 2011.12.22

(71) 申请人 西门子医疗保健诊断公司

地址 美国伊利诺伊州

(72) 发明人 B. 莱勒 P. 辛格 R. 巴茨

J. A. 克洛格

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

权利要求书 6 页 说明书 31 页 附图 3 页

(54) 发明名称

用作化验试剂的组合物

(57) 摘要

用作化验试剂的组合物,其包括固体载体,该固体载体包括信号产生系统的成分和合成共聚物的包衣。该合成共聚物包括第一聚合单体和第二聚合单体,第一聚合单体包括包含活性官能团或活性官能团衍生物的侧基部分,第二聚合单体包括包含至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的侧基部分。在一些实施方案中,所述共聚物包括聚乙烯型主链,该聚乙烯型主链包括包含活性官能团或活性官能团衍生物的侧基部分和包括至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的侧基部分。

1. 用作化验试剂的组合物,该组合物包括:

固体载体,其包括信号产生系统的成分和合成共聚物的包衣,其中该合成共聚物包括第一共聚单体和第二共聚单体,第一共聚单体包括包含活性官能团或衍生的活性官能团的侧基部分,且第二共聚单体包括包含至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的侧基部分。

2. 权利要求 1 的组合物,其中所述固体载体是颗粒。

3. 权利要求 2 的组合物,其中所述颗粒是胶乳颗粒。

4. 权利要求 1 的组合物,其中所述信号产生系统的成分选自感光剂和化学发光化合物。

5. 权利要求 1 的组合物,其中所述共聚物包括聚乙烯型主链,该聚乙烯型主链包括(i)包含活性官能团或衍生的活性官能团的侧基部分和(ii)包含至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的侧基部分。

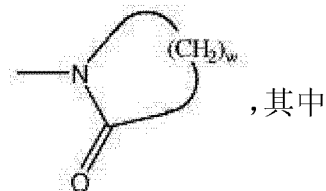
6. 权利要求 1 的组合物,其中第一共聚单体的侧基部分是  $-C(O)-A-(CH_2)_n-G$ ,其中 A 是 O 或  $NR^1$ ,其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基; n 是 1-10;且其中 G 是  $CHO$ ;  $CH(OR^8)_2$ ,其中  $R^8$  是 1-6 个碳原子的烷基;  $COOH$  或其衍生物;  $NR^1$ ,其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基, OH; 或特异结合对的成分。

7. 权利要求 1 的组合物,其中第二共聚单体的包括至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的所述侧基部分包括选自以下的一个或多个基团:羟基、羧基、胺基团、酰胺基团、酯基团、聚氧乙烯基团、聚氧丙烯基团、硫酸盐(酯)基团、亚硫酸盐(酯)基团、磷酸盐(酯)基团、亚磷酸盐(酯)基团、磷脂酰胆碱基团、甜菜碱基团和磺基甜菜碱基团。

8. 权利要求 1 的组合物,其中包括至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的所述侧基部分具有下式:

(i)  $-COOR^{10}$ ,其中  $R^{10}$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

(ii)



w 是 2-4;或

(iii)  $-C(O)-X-(CH_2)_p-(Y)_q-(CH_2)_r-Z$ ,

其中:

X 是 O 或  $NR^2$ ,其中  $R^2$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

Y 是  $-(CH_2O)_m-$ ,其中 m 例如是 1-1500;或  $N^{\oplus}(R^3R^4)$ ,其中  $R^3$  和  $R^4$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

p 是 0-10,且当 Y 是  $N^{\oplus}(R^3R^4)$  时,至少为 1;

q 是 0 或 1;

r 是 0-10,且当 Y 是  $N^{\oplus}(R^3R^4)$  时,至少为 1;且

Z 是  $SO_3^-$ ; 1-6 个碳原子的烷基;  $-(CHOH)_t(CH_2)_uCH_3$ ,其中 t 是 1-5 且 u 是 0-10。

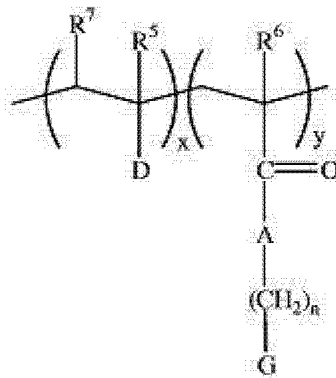
9. 权利要求 1 的组合物,其中特异结合对的成分与所述固体载体缔合。

10. 测定样品中分析物的存在和 / 或含量的方法,该方法包括:

- (a) 在介质中提供以下的组合：
  - (i) 样品；和
  - (ii) 权利要求 9 的组合物，其中所述特异结合对 (sbp) 的成分结合到分析物或第二 sbp 成分上形成复合体，而该复合体与分析物的存在相关联；
- (b) 使该组合经受用于使分析物结合到所述组合物上以形成复合体的条件；和
- (c) 激活所述信号产生系统的成分并检测该复合体的量，该复合体的量与样品中分析物的存在和 / 或含量相关联。

11. 测定样品中分析物的存在和 / 或含量的方法，该方法包括：

- (a) 在介质中提供以下的组合：
  - (i) 样品；和
  - (ii) 组合物，该组合物包括：
    - 颗粒，该颗粒包括：
      - (A) 信号产生系统的成分；
      - (B) 特异结合对的成分，其结合到分析物或第二 sbp 成分上形成复合体，而该复合体与分析物的存在相关联；和
      - (C) 下式所示共聚物的包衣：

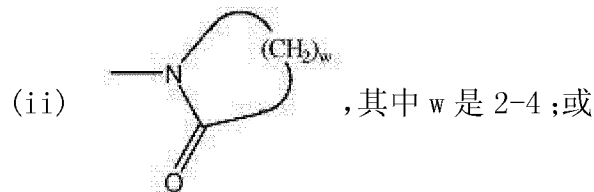


其中：

- A 是 O 或 NR<sup>1</sup>，其中 R<sup>1</sup> 是 H 或 1-6 个碳原子的烷基；
- n 是 1-10；
- G 是 CHO；CH(OR<sup>8</sup>)<sub>2</sub>，其中 R<sup>8</sup> 是 1-6 个碳原子的烷基；COOH 或其衍生物；NR<sup>1</sup>，其中 R<sup>1</sup> 是 H 或 1-6 个碳原子的烷基；OH；或特异结合对的成分；

D 是

- (i) -COOR<sup>10</sup>，其中 R<sup>10</sup> 是 H 或 1-6 个碳原子的烷基；



- (iii) -C(O)-X-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(Y)<sub>q</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Z，

其中：

- X 是 O 或 NR<sup>2</sup>，其中 R<sup>2</sup> 是 H 或 1-6 个碳原子的烷基；

Y 是  $-(\text{CH}_2\text{O})_m-$ , 其中 m 是 1-1500 ; 或  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ , 其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

p 是 0-10, 且当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时, 至少为 1 ;

q 是 0 或 1 ;

r 是 0-10, 且当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时, 至少为 1 ; 且

Z 是  $\text{SO}_3^-$  ; 1-6 个碳原子的烷基 ;  $-(\text{CHOH})_t(\text{CH}_2)_u\text{CH}_3$ , 其中 t 是 1-5 且 u 是 0-10 ;

$\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$  和  $\text{R}^7$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ; 且

x 和 y 独立地为 1-1000 ;

(b) 使该组合经受用于使特异结合对的成分结合到分析物或第二特异结合对成分上以形成复合体的条件 ; 和

(c) 激活所述信号产生系统的成分并检测该复合体的量, 该复合体的量与样品中分析物的存在和 / 或含量相关联。

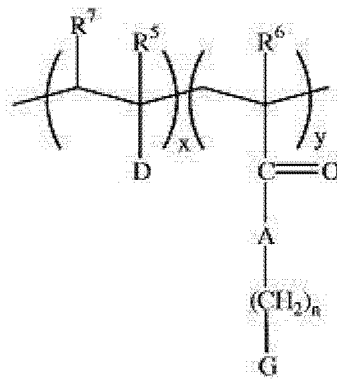
12. 权利要求 11 的方法, 其中所述信号产生系统的成分选自感光剂和化学发光化合物。

13. 权利要求 11 的方法, 其中所述信号产生系统的成分引入到所述颗粒中。

14. 权利要求 11 的方法, 其中所述信号产生系统的成分是光敏剂, 且所述组合还包括化学发光试剂 ; 或者其中所述信号产生系统的成分是化学发光化合物, 且所述组合还包括光敏试剂。

15. 权利要求 14 的方法, 其中所述化学发光试剂或光敏试剂包括 :

包含下式所示共聚物的包衣的颗粒 :



其中 :

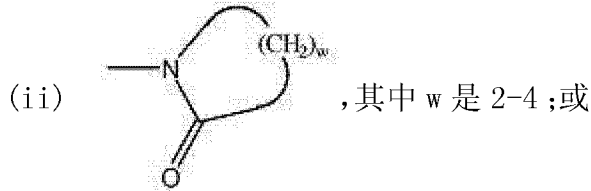
A 是 O 或  $\text{NR}^1$ , 其中  $\text{R}^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

n 是 1-10 ;

G 是  $\text{CHO}$  ;  $\text{CH}(\text{OR}^8)_2$ , 其中  $\text{R}^8$  是 1-6 个碳原子的烷基 ;  $\text{COOH}$  或其衍生物 ;  $\text{NR}^1$ , 其中  $\text{R}^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;  $\text{OH}$  ; 或特异结合对的成分 ;

D 是

(i)  $-\text{COOR}^{10}$ , 其中  $\text{R}^{10}$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;



其中 :

X 是 O 或  $NR^2$  ,其中  $R^2$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

Y 是  $-(CH_2O)_m-$  ,其中 m 是 1-1500 ;或  $N^{\oplus}(R^3R^4)$  ,其中  $R^3$  和  $R^4$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

p 是 0-10 ,且当 Y 是  $N^{\oplus}(R^3R^4)$  时 ,至少为 1 ;

q 是 0 或 1 ;

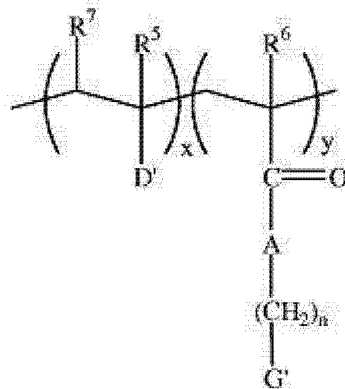
r 是 0-10 ,且当 Y 是  $N^{\oplus}(R^3R^4)$  时 ,至少为 1 ;且

Z 是  $SO_3^-$  ;1-6 个碳原子的烷基 ; $-(CHOH)_t(CH_2)_uCH_3$  ,其中 t 是 1-5 且 u 是 0-10 ;

$R^5$ 、 $R^6$  和  $R^7$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;且

x 和 y 独立地为 1-1000。

16. 共聚物,其具有下式 :



其中 :

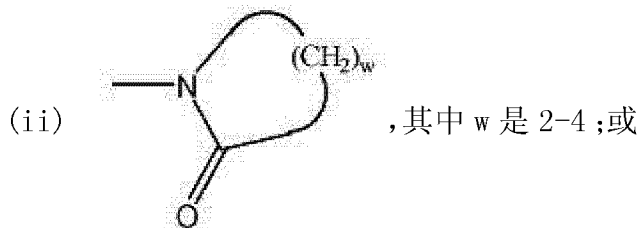
A 是 O 或  $NR^1$  ,其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

n 是 1-10 ;

$G'$  是  $CHO$  ; $CH(OR^8)_2$  ,其中  $R^8$  是 1-6 个碳原子的烷基 ;特异结合对的成分 ;

$D'$  是

(i)  $-COOR^{10}$  ,其中  $R^{10}$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;



其中 :

X 是 O 或  $\text{NR}^2$ , 其中  $\text{R}^2$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

Y 是  $-(\text{CH}_2)_m-$ , 其中 m 是 1-1500; 或  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ , 其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

p 是 0-10, 且当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时, 至少为 1;

q 是 0 或 1;

r 是 0-10, 且当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时, 至少为 1; 且

Z' 是  $\text{SO}_3^-$ ; 或 1-6 个碳原子的烷基;

$\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$  和  $\text{R}^7$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基; 且

x 和 y 独立地为 1 至约 1000。

17. 权利要求 16 的共聚物, 其中:

A 是  $\text{NR}^1$ , 其中  $\text{R}^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

n 是 1-10;

G' 是  $\text{CHO}$ ;  $\text{CH}(\text{OR}^8)_2$ , 其中  $\text{R}^8$  是 1-6 个碳原子的烷基; 或特异结合对的成分;

D' 是  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}'$ , 其中:

X 是 0;

Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ , 其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

p 是 1-10;

q 是 1;

r 是 1-10;

Z' 是  $\text{SO}_3^-$ ;

$\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$  和  $\text{R}^7$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基; 且

x 和 y 独立地为 1-1000。

18. 权利要求 17 的共聚物, 其中:

A 是  $\text{NH}$ ;

n 是 1;

G' 是  $\text{CHO}$ ;  $\text{CH}(\text{OR}^8)_2$ , 其中  $\text{R}^8$  是甲基; 或特异结合对的成分;

D' 是  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}'$ , 其中:

X 是 0;

Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ , 其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  都是甲基;

p 是 2;

q 是 1;

r 是 3;

Z' 是  $\text{SO}_3^-$ ;

$\text{R}^5$  和  $\text{R}^6$  独立地为 H 或甲基,  $\text{R}^7$  是 H; 且

x 和 y 独立地为 1-1000。

19. 权利要求 16 的共聚物, 其中:

A 是  $\text{NR}^1$ , 其中  $\text{R}^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

n 是 1-10;

G' 是 CHO ;CH(OR<sup>8</sup>)<sub>2</sub>, 其中 R<sup>8</sup> 是 1-6 个碳原子的烷基 ;或特异结合对的成分 ;

D' 是 -C(O)-X-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(Y)<sub>q</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Z', 其中 :

X 是 0 ;

Y 是 -(CH<sub>2</sub>O)<sub>m</sub>-, 其中 m 是 1-1500 ;

p 是 0 ;

q 是 1 ;

r 是 0 ;

Z' 是甲基 ;

R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup> 和 R<sup>7</sup> 独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;且

x 和 y 独立地为 1-1000。

20. 权利要求 19 的共聚物, 其中 :

A 是 NH ;

n 是 1 ;

G' 是 CHO ;CH(OR<sup>8</sup>)<sub>2</sub>, 其中 R<sup>8</sup> 是甲基 ;或特异结合对的成分 ;

D' 是 -C(O)-X-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(Y)<sub>q</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Z', 其中 :

X 是 0 ;

Y 是 -(CH<sub>2</sub>O)<sub>m</sub>-, 其中 m 是 1100 或 300 ;

p 是 0 ;

q 是 1 ;

r 是 0 ;

Z' 是甲基 ;

R<sup>5</sup> 和 R<sup>6</sup> 独立地为 H 或甲基, R<sup>7</sup> 是 H ;且

x 和 y 独立地为 1-1000。

## 用作化验试剂的组合物

### 背景技术

[0001] 本发明总体涉及可用作化验 (assay) 中的信号产生组分的组合物。

[0002] 在特定化验试剂上的葡聚糖包衣已经用于提供用于耦合到结构部分 (moiety) 如生物结构部分 (例如抗体) 上的官能团。然而, 取决于其来源, 葡聚糖的化学组成具有显著的变化性。

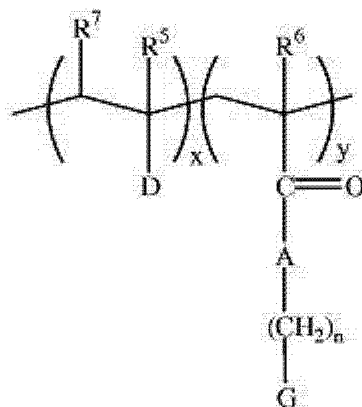
[0003] 需要具有可靠的化学组成的包衣来用在颗粒表面上, 用于将各种结构部分连接到该颗粒上。

### [0004] 发明概述

本发明的一种实施方案是包括固体载体的组合物, 该固体载体包括信号产生系统 (sps) 的成分 (member) 和合成共聚物的包衣。该合成共聚物包括第一共聚单体 (copolymerized monomer) 和第二共聚单体, 第一共聚单体包括包含活性官能团或衍生的活性官能团的侧基部分, 第二共聚单体包括包含至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的侧基部分。在一些实施方案中, 该包含活性官能团或衍生的活性官能团的侧基部分是包含醛或醛衍生物的侧基部分。

[0005] 本发明的另一实施方案是测定样品中分析物的存在和含量中的一者或两者的方法。该方法包括在介质中提供该样品和前述组合物的组合, 其还包括与所述固体载体缔合的 (associated) 特异结合对 (sbp) 的成分, 其中该特异结合对的成分结合到所述分析物或第二 sbp 成分上以形成与所述分析物的存在相关的复合体。使该组合经受用于将分析物结合到所述组合物上以形成复合体的条件。激活所述信号产生系统的成分并检测该复合体的量。该复合体的量与样品中分析物的存在和含量中的一者或两者相关。

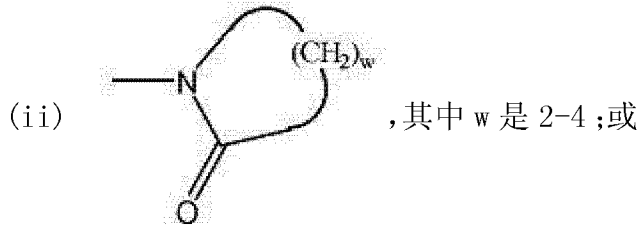
[0006] 本发明的另一实施方案是测定样品中分析物的存在和含量中的一者或两者的方法。在介质中提供包括样品和包含颗粒的组合物的组合, 该颗粒包含 sps 成分、sbp 成分和共聚物包衣, 该 sbp 成分与分析物或第二 sbp 成分结合形成复合体, 而该复合体与分析物的存在相关。所述共聚物具有下式:



其中 :D 是

(i)  $-\text{COOR}^{10}$ , 其中  $\text{R}^{10}$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;





其中 :

A 是 O 或  $NR^1$  ,其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

n 是 1-10 ;

G 是  $CHO$  ; $CH(OR^8)_2$  ,其中  $R^8$  是 1-6 个碳原子的烷基 ; $COOH$  或其衍生物 ; $NR^1$  其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基且 n 是 1-10 ; $OH$  ;或特异结合对的成分 ;

X 是 O 或  $NR^2$  ,其中  $R^2$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

Y 是  $-(CH_2O)_m-$  ,其中 m 是 1-1500 ;或  $\text{>N}^\oplus(R^3R^4)$  ,其中  $R^3$  和  $R^4$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

p 是 0-10, 当 Y 是  $\text{>N}^\oplus(R^3R^4)$  时, 至少为 1 ;

q 是 0 或 1 ;

r 是 0-10, 当 Y 是  $\text{>N}^\oplus(R^3R^4)$  时, 至少为 1 ;且

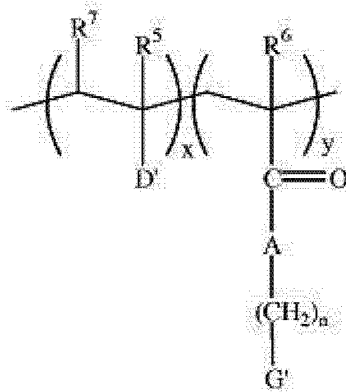
Z 是  $SO_3^-$  ;1-6 个碳原子的烷基 ; $-(CHOH)_t(CH_2)_uCH_3$  ,其中 t 是 1-5 且 u 是 0-10 ;

$R^5$ 、 $R^6$  和  $R^7$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;且

x 和 y 独立地为 1-1000。

[0007] 使该组合经受用于将 sbp 成分结合到分析物上或第二 sbp 成分上以形成复合体的条件。激活所述 sps 成分并检测该复合体的量。该复合体的量与样品中分析物的存在和含量中的一者或两者相关。

[0008] 本发明的另一实施方案是下式的共聚物 :



其中 :

A 是 O 或  $NR^1$  ,其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ;

n 是 1-10 ;

G' 是  $CHO$  ; $CH(OR^8)_2$  ,其中  $R^8$  是 1-6 个碳原子的烷基 ;特异结合对的成分 ;

D' 是

(i)  $-\text{COOR}^{10}$ , 其中  $\text{R}^{10}$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;



(iii)  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}'$ ,

其中:

X 是 O 或  $\text{NR}^2$ , 其中  $\text{R}^2$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

Y 是  $-(\text{CH}_2\text{O})_m-$ , 其中 m 是 1-1500 ; 或  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ , 其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

p 是 0-10, 当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时, 至少为 1 ;

q 是 0 或 1 ;

r 是 0-10, 当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时, 至少为 1 ; 且

Z' 是  $\text{SO}_3^-$ ; 1-6 个碳原子的烷基;

$\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$  和  $\text{R}^7$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基 ; 且

x 和 y 独立地为 1 至约 1000。

[0009] 附图简述

图 1 是 MAMDMA 合成的示意图。

[0010] 图 2 是依照本发明的共聚物的实施方案在缩醛保护基团水解之后的结构列表图示。图 2 还包括了在所图示的共聚物的合成中所用的亲水性单体的进料比。

[0011] 特别实施方案的详细描述

组合物

在一些实施方案中, 本发明的共聚物是无规共聚物, 其中共聚物的单体单元之一包括用于耦合到所关注的分子, 例如颗粒和 sbp 成分, 上的活性官能团, 且共聚物的另一单体单元经官能化以使所得到的共聚物具有亲水性。在一些实施方案中, 该共聚物包括例如两种不同的单体单元或三种不同的单体单元或四种不同的单体单元或五种不同的单体单元。在一些实施方案中, 第一单体单元包括活性官能团或活性官能团的衍生物。第二单元包括亲水结构部分。在一些实施方案中, 可以使用另外的单体 (例如第三、第四和第五单体), 该单体包括与另一单体的活性官能团或活性官能团衍生物不同的活性官能团或活性官能团衍生物, 或者包括与另一单体的亲水性结构部分不同的亲水性结构部分。

[0012] 在无规共聚物中, 共聚单体的分布可以为使得在聚合物链中的任意点上第一共聚单体和第二共聚单体可以交替或可以与嵌段共聚物不同的方式重复。

[0013] 在一些实施方案中, 在官能化聚合物的制备过程中通过控制在聚合物制备中使用的各单体单元的摩尔浓度来控制共聚物中各不同的共聚单体的数量。从而控制最终的官能化共聚物中各共聚单体的数量 (下式中的 x 和 y)。该共聚物可以定制 (tailored), 例如, 以适于一种或多种具体载体、包括这类载体的组合物以及这类组合物的应用。

[0014] 术语“单体”或“单体单元”表示能够发生聚合生成聚合物的分子; 该分子包括可聚合的官能团。单体单元的数量取决于, 例如, 单体单元链中的原子数和单体单元的组成之

中的一个或多个。

[0015] 如上所述,用于制备化验试剂或用作化验试剂的组合物包括固体载体,该固体载体包括 sps 成分和合成共聚物的包衣。该合成共聚物包括至少两种共聚生成该聚合物的单体。一种共聚单体包括聚合物主链和包含至少一种活性官能团或至少一种活性官能团衍生物的侧基部分。另一共聚单体包括亲水结构部分,该亲水结构部分包含至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子。在一些实施方案中,该共聚物包括聚乙烯型主链,该聚乙烯型主链包括包含活性官能团或衍生的活性官能团的侧基部分,和包含至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子、或至少 4 个碳原子和至少 3 个杂原子、或至少 4 个碳原子和至少 2 个杂原子、或至少 8 个碳原子和至少 7 个杂原子的侧基部分。共聚的单体包括包含碳原子链的聚合物主链,一种或多种含活性官能团的结构部分或含活性官能团衍生物的结构部分作为该碳原子链的侧基,且一种或多种亲水性结构部分作为共聚物主链的链上的侧基。

[0016] 在一些实施方案中,包括亲水性结构部分的所述另一共聚单体包括 1 至约 15 个碳原子和 1 至约 10 个杂原子。共聚的单体包括包含碳原子链的聚合物主链,一种或多种含活性官能团的结构部分或含活性官能团衍生物的结构部分作为该碳原子链的侧基,且一种或多种亲水性结构部分作为共聚物主链的链上的侧基。

[0017] 共聚物主链的链中的碳原子数取决于例如各共聚单体单元的数量和性质,例如各单体单元的可聚合官能团中的碳原子数,和该共聚物的分子量。例如,单体单元的可聚合官能团中的碳原子数可以为 2 至约 20,或 2 至约 15,或 2 至约 10,或 2 至约 5,或 2 至约 4,或 2-3,或 3 至约 20,或 3 至约 15,或 3 至约 10,或 3 至约 5,或 3-4。包含含活性官能团的侧基部分或含活性官能团衍生物的侧基部分的单体(本文简称为第一共聚单体)中的碳原子数为至少约 3,或至少约 4,或至少约 5,或至少约 6,或至少约 7,或至少约 8,或至少约 9,或至少约 10,且可以在约 3 至约 15,或约 3 至约 10,或约 3 至约 9,或约 3 至约 8,或约 3 至约 7,或约 3 至约 6,或约 3 至约 5 或 3-4 的范围。共聚物中第一共聚单体的数量取决于用于结合到 sbp 成分上的需要和用于结合到载体表面上的需要中的一个或多个。例如,共聚物中第一共聚单体的数量为 1 至约 1000,或 1 至约 750,或 1 至约 500,或 1 至约 250,或 1 至约 100,或 1 至约 50,或 2 至约 1000,或 2 至约 750,或 2 至约 500,或 2 至约 250,或 2 至约 100,或 2 至约 50,或 5 至约 1000,或 5 至约 750,或 5 至约 500,或 5 至约 250,或 5 至约 100,或 5 至约 50,或 10 至约 1000,或 10 至约 750,或 10 至约 500,或 10 至约 250,或 10 至约 100,或 10 至约 50,或 100 至约 1000,或 100 至约 750,或 100 至约 500,或 100 至约 250。

[0018] 术语“可聚合(的)官能团”表示单体单元的一部分,其与该单体的另一分子的一部分或不同单体的分子的一部分反应,包括例如一个或多个双键或三键的结构部分,例如烯丙基、乙烯基、丙烯酸酯基团、甲基丙烯酸酯基团、丙烯酰胺基团和甲基丙烯酰胺基团。

[0019] 术语“活性官能团”是能够与另一分子上的相应活性官能团反应生成共价键的官能团。作为举例而非限制,这种活性官能团包括例如醛、羧基、氨基、亚氨基、巯基和羟基。在一些实施方案中,该活性官能团是醛,且第一共聚单体包括醛结构部分。

[0020] 术语“活性官能团(的)衍生物”表示一种结构部分,其由活性官能团与包括可与该活性官能团反应的官能团的另一结构部分反应形成共价键而生成,该共价键将两个分子连接在一起而形成所述衍生物。例如,活性官能团的衍生物可以包括缩醛、羧基酯、酰胺、醚或硫醚。在一些实施方案中,活性官能团的衍生物可以是活性官能团与特异结合对成分

(sbp 成分)的活性官能团的反应产物,由此使 sbp 成分共价结合到共聚物上。Sbp 成分上的官能团可以天然地存在于该 sbp 成分上或者可以通过合成引入到该 sbp 成分上。这种官能团包括例如胺基团、羟基、巯基和羧基。在一些实施方案中,活性官能团的衍生物可以是活性官能团与颗粒的活性官能团的反应产物,由此使共聚物共价结合到该颗粒上,从而在该颗粒的表面上提供共聚物包衣。颗粒上的官能团可以天然地存在于颗粒上或者可以通过合成引入到颗粒表面上。这种官能团包括例如胺基团、羟基、叠氮基团和羧基。在一些实施方案中,活性官能团的衍生物是醛衍生物。

[0021] 术语“醛衍生物”表示一种结构部分,其由醛基团与包括可与醛基团反应的官能团的另一结构部分反应生成。该醛衍生物可以是由两个醇官能团与醛的羰基氧反应得到的缩醛。该醛衍生物可以是醛基团与特异结合对成分(sbp 成分)的反应产物,其通过该醛与该 sbp 成分的官能团的反应得到。Sbp 成分上的官能团可以天然地存在于该 sbp 成分上或者可以通过合成引入到该 sbp 成分上。这种官能团包括例如胺基团。醛基团与 sbp 成分之间的反应可以通过例如 sbp 成分的烷基胺或芳基胺与醛基团之间的 Schiff' s 碱生成反应来进行。该反应可以通过醛基团和 sbp 成分的胺基团参与的还原胺化反应来进行。在其他实施方案中,醛衍生物包括例如缩醛和亚硫酸氢盐加成化合物。在一些实施方案中,醛官能团可以与颗粒表面上的相应胺基团反应,由此使颗粒共价结合到共聚物上,从而在颗粒表面上提供共聚物包衣。颗粒上的官能团可以天然地存在于颗粒上或者可以通过合成引入到颗粒表面上。

[0022] 共聚物的另一共聚单体(亲水性单体或本文简称作第二共聚单体)包括可共聚的官能团,该官能团包括例如至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 1 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 1 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 2 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 2 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 2 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 3 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 3 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 4 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 4 个碳原子和至少 4 个杂原子。如上所述,共聚的单体形成了包括碳原子链的聚合物主链,一个或多个侧基部分从该链上垂下。第二单体单元的可聚合官能团中的碳原子数可以为例如 2 至约 20,或 2 至约 15,或 2 至约 10,或 2 至约 5,或 2 至约 4,或 2-3,或 3 至约 20,或 3 至约 15,或 3 至约 10,或 3 至约 5,或 3-4。

[0023] 在一些实施方案中,共聚物的第二共聚单体包括可聚合的官能团和侧基部分,该侧基部分包括例如 1 至约 15 个碳原子和 1 至约 10 个杂原子,或 1 至约 10 个碳原子和 1 至约 10 个杂原子,或 1 至约 10 个碳原子和 1 至约 8 个杂原子,或 1 至约 10 个碳原子和 1 至约 6 个杂原子,或 1 至约 10 个碳原子和 1 至约 5 个杂原子,或 1 至约 8 个碳原子和 1 至约 8 个杂原子,或 1 至约 8 个碳原子和 1 至约 7 个杂原子,或 1 至约 8 个碳原子和 1 至约 7 个杂原子,或 1 至约 8 个碳原子和 1 至约 6 个杂原子,或 4 至约 8 个碳原子和 3 至约 7 个杂原子。

[0024] 侧基亲水性结构部分的碳原子数为例如至少 1,或至少约 2,或至少约 3,或至少约 4,或至少约 5,或至少约 10,或至少约 20,或至少约 40,或至少约 60,或至少约 80,或至少约 100,或至少约 150,或至少约 200,或至少约 300,或至少约 400;且不超过约 2500,或不超过约 2000,或不超过约 1500,或不超过约 1100。在一些实施方案中,侧基部分的碳原子数例如在以下范围内:1 至约 2500,或 1 至约 2000,或 1 至约 1500,或 1 至约 1200,或 1 至约 1100,

或 1 至约 1000, 或 1 至约 750, 或 1 至约 500, 或 1 至约 400, 或 1 至约 300, 或 1 至约 200, 或 1 至约 100, 或 1 至约 80, 或 1 至约 60, 或 1 至约 40, 或 1 至约 20, 或 1 至约 10, 或 2 至约 2500, 或 2 至约 2000, 或 2 至约 1500, 或 2 至约 1200, 或 2 至约 1100, 或 2 至约 1000, 或 2 至约 750, 或 2 至约 500, 或 2 至约 400, 或 2 至约 300, 或 2 至约 200, 或 2 至约 100, 或 2 至约 80, 或 2 至约 60, 或 2 至约 40, 或 2 至约 20, 或 2 至约 10, 或 3 至约 2500, 或 3 至约 2000, 或 3 至约 1500, 或 3 至约 1200, 或 3 至约 1100, 或 3 至约 1000, 或 3 至约 750, 或 3 至约 500, 或 3 至约 400, 或 3 至约 300, 或 3 至约 200, 或 3 至约 100, 或 3 至约 80, 或 3 至约 60, 或 3 至约 40, 或 3 至约 20, 或 3 至约 10, 或 4 至约 2500, 或 4 至约 2000, 或 4 至约 1500, 或 4 至约 1200, 或 4 至约 1100, 或 4 至约 1000, 或 4 至约 750, 或 4 至约 500, 或 4 至约 400, 或 4 至约 300, 或 4 至约 200, 或 4 至约 100, 或 4 至约 80, 或 4 至约 60, 或 4 至约 40, 或 4 至约 20, 或 4 至约 10, 或 5 至约 2500, 或 5 至约 2000, 或 5 至约 1500, 或 5 至约 1200, 或 5 至约 1100, 或 5 至约 1000, 或 5 至约 750, 或 5 至约 500, 或 5 至约 400, 或 5 至约 300, 或 5 至约 200, 或 5 至约 100, 或 5 至约 80, 或 5 至约 60, 或 5 至约 40, 或 5 至约 20, 或 5 至约 10。

[0025] 共聚物中第二共聚单体的分子数为例如 1 至约 1000, 或 1 至约 750, 或 1 至约 500, 或 1 至约 250, 或 1 至约 100, 或 1 至约 50, 或 2 至约 1000, 或 2 至约 750, 或 2 至约 500, 或 2 至约 250, 或 2 至约 100, 或 2 至约 50, 或 5 至约 1000, 或 5 至约 750, 或 5 至约 500, 或 5 至约 250, 或 5 至约 100, 或 5 至约 50, 或 10 至约 1000, 或 10 至约 750, 或 10 至约 500, 或 10 至约 250, 或 10 至约 100, 或 10 至约 50, 或 100 至约 1000, 或 100 至约 750, 或 100 至约 500, 或 100 至约 250。

[0026] 第二共聚单体的包括至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的侧基亲水性结构部分的杂原子数为足以使共聚物具有亲水性的数量。术语“亲水性”表示分子为极性且因此更倾向 (prefer) 中性分子或极性分子且更倾向极性溶剂的性质。相比疏水性结构部分, 亲水性分子对其他亲水性结构部分具有亲和性。杂原子的数量取决于多种因素, 例如侧基部分中的碳原子数、载体性质和醛衍生物, 如果存在的话, 的性质等。

[0027] 侧基亲水性结构部分的杂原子数为例如至少约 2, 或至少约 3, 或至少约 4, 或至少约 5, 或至少约 6, 或至少约 7, 或至少约 8, 或至少约 9, 或至少约 10, 或至少约 20, 或至少约 30, 或至少约 40, 或至少约 50, 或至少约 60, 或至少约 70, 或至少约 80, 或至少约 90, 或至少约 100, 或至少约 150; 且不超过约 1500, 或不超过约 1200, 或不超过约 1100, 或不超过约 1000。在一些实施方案中, 杂原子数例如在以下范围内: 2 至约 1500, 或 2 至约 1250, 或 2 至约 1000, 或 2 至约 750, 或 2 至约 500, 或 2 至约 250, 或 2 至约 100, 或 2 至约 80, 或 2 至约 60, 或 2 至约 40, 或 2 至约 20, 或 2 至约 10, 或 3 至约 1500, 或 3 至约 1250, 或 3 至约 1000, 或 3 至约 750, 或 3 至约 500, 或 3 至约 250, 或 3 至约 100, 或 3 至约 80, 或 3 至约 60, 或 3 至约 40, 或 3 至约 20, 或 3 至约 10, 或 5 至约 1500, 或 5 至约 1250, 或 5 至约 1000, 或 5 至约 750, 或 5 至约 500, 或 5 至约 250, 或 5 至约 100, 或 5 至约 80, 或 5 至约 60, 或 5 至约 40, 或 5 至约 20, 或 5 至约 10, 或 7 至约 1500, 或 7 至约 1250, 或 7 至约 1000, 或 7 至约 750, 或 7 至约 500, 或 7 至约 250, 或 7 至约 100, 或 7 至约 80, 或 7 至约 60, 或 7 至约 40, 或 7 至约 20, 或 7 至约 10。

[0028] 可以通过共聚物中杂原子 (和包含杂原子的官能团) 的数量来控制共聚物的亲水性。共聚物中杂原子的数量取决于各第二共聚单体中的杂原子数量, 以及与包括包含活性

官能团或活性官能团衍生物的侧基部分的共聚单体的数量相比包括杂原子的共聚单体的数量。在一些实施方案中,例如每约 3 个碳原子有 1 个杂原子,或每约 6 个碳原子有 1 个杂原子,或每约 10 个碳原子有 1 个杂原子,或每约 12 个碳原子有 1 个杂原子,或每约 15 个碳原子有 1 个杂原子,或每约 1 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 2 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 3 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 4 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 6 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 10 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 12 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 15 个碳原子有 2 个杂原子,或每约 4 个碳原子有 3 个杂原子,或每约 6 个碳原子有 3 个杂原子,或每约 10 个碳原子有 3 个杂原子,或每约 12 个碳原子有 3 个杂原子,或每约 15 个碳原子有 3 个杂原子,或每约 4 个碳原子有 4 个杂原子,或每约 6 个碳原子有 4 个杂原子,或每约 10 个碳原子有 4 个杂原子,或每约 12 个碳原子有 4 个杂原子,或每约 15 个碳原子有 4 个杂原子,或每约 4 个碳原子有 5 个杂原子,或每约 6 个碳原子有 5 个杂原子,或每约 10 个碳原子有 5 个杂原子,或每约 12 个碳原子有 5 个杂原子,或每约 15 个碳原子有 5 个杂原子,或每约 5 个碳原子有 6 个杂原子,或每约 6 个碳原子有 6 个杂原子,或每约 10 个碳原子有 6 个杂原子,或每约 12 个碳原子有 6 个杂原子,或每约 15 个碳原子有 6 个杂原子,或每约 7 个碳原子有 7 个杂原子,或每约 8 个碳原子有 7 个杂原子,或每约 10 个碳原子有 7 个杂原子,或每约 12 个碳原子有 7 个杂原子,或每约 15 个碳原子有 7 个杂原子。

[0029] 在一些实施方案中,第二共聚单体(亲水性单体)的侧基部分可以包括例如至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 1 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 1 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 2 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 2 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 2 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 3 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 3 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 4 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 4 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 4 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 4 个碳原子和至少 5 个杂原子,或至少 5 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 5 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 5 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 5 个碳原子和至少 5 个杂原子,或至少 5 个碳原子和至少 6 个杂原子,或至少 6 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 6 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 6 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 6 个碳原子和至少 5 个杂原子,或至少 6 个碳原子和至少 6 个杂原子,或至少 6 个碳原子和至少 7 个杂原子,或至少 7 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 7 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 7 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 7 个碳原子和至少 5 个杂原子,或至少 7 个碳原子和至少 6 个杂原子,或至少 7 个碳原子和至少 7 个杂原子,或至少 7 个碳原子和至少 8 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 2 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 3 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 4 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 5 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 6 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 7 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 8 个杂原子,或至少 8 个碳原子和至少 9 个杂原子。

[0030] 可以通过聚合过程中各单体的进料比来控制与包括含活性官能团或活性官能团衍生物的侧基部分的共聚单体的数量相比包含杂原子的共聚单体的数量。因此,在聚合过程中,可以将包括含活性官能团或活性官能团衍生物的侧基部分的单体(第一可共聚单体)的进料比提高到高于亲水性单体(第二可共聚单体)的进料比。聚合过程中第二可共聚单体与第一可共聚单体的比例可以为例如 1:1,或 1:1.5,或 1:2,或 1:2.5,或 1:3,或 1:3.5,或 1:4,或 1:4.5,或 1:5,或 1:5.5,或 1:6。进料比控制下式中的 x 和 y 值。此外,能够调节第

二可共聚单体与第一可共聚单体的比例以控制由包括信号产生系统(sps)成分和合成共聚物包衣的固体载体得到的信号量。通过具有更多的包括含活性官能团的侧基部分的第一可共聚单体,能够在固体载体上得到更大量的衍生的活性官能团。以此方式能够平衡所得到的涂覆有合成共聚物的固体载体的亲水性质和衍生的活性官能团的数量,以适应广泛而多样的化验和信号产生系统。

[0031] 侧基亲水性结构部分的杂原子包括例如氧、硫、氮和磷,以及氧、硫、氮和磷的组合。杂原子可以与另一杂原子或其它原子,例如氢和碳中的一个或多个,组合以一种或多种亲水性基团的形式存在。在一些实施方案中,氧可以作为与氢、碳、硫、氮和磷中的一个或多个键合的氧络(oxo)或氧代(oxy)的形式存在;氮可以与氢、碳、氧、硫和磷中的一个或多个键合形成例如偶氮、氰基、异氰基、硝基、亚硝基、酰氨基或氨基;硫与如上所述的氧类似;磷可以与氢、碳、硫、氧和氮中的一个或多个键合形成例如磷酸或磷酸单酯或二酯基团。

[0032] 侧基亲水性结构部分中亲水基团的数量可以为例如 2 至约 1,500,或 2 至约 1,250,或 2 至约 1,000,或 2 至约 750,或 2 至约 500,或 2 至约 250,或 2 至约 125,或 2 至约 100,或 2 至约 80,或 2 至约 60,或 2 至约 40,或 2 至约 20,或 2 至约 10,或 2 至约 5,或 3 至约 1,500,或 3 至约 1,250,或 3 至约 1,000,或 3 至约 750,或 3 至约 500,或 3 至约 250,或 3 至约 125,或 3 至约 100,或 3 至约 80,或 3 至约 60,或 3 至约 40,或 3 至约 20,或 3 至约 10,或 3 至约 5,或 4 至约 1,500,或 4 至约 1,250,或 4 至约 1,000,或 4 至约 750,或 4 至约 500,或 4 至约 250,或 4 至约 125,或 4 至约 100,或 4 至约 80,或 4 至约 60,或 4 至约 40,或 4 至约 20,或 4 至约 10,或 4-5;亲水性基团可以独立地为下述基团中的一种或多种。

[0033] 在一些实施方案中,作为示例而非限制,侧基亲水性结构部分的亲水性基团或多个亲水性基团可以选自:胺基团(伯胺、仲胺、叔胺或季胺)、酰胺基团、羟基、酯基团、醚基团、聚醚基团(例如聚氧乙烯基团和聚氧丙烯基团)、环氧基团、硫醚基团、聚硫醚基团、硫酸盐(酯)基团、亚硫酸盐(酯)基团、磷酸盐(酯)基团、亚磷酸盐(酯)基团、磷脂酰胆碱基团、甜菜碱基团、磺基甜菜碱基团、腈基团、异腈基团、氰酸盐(酯)基团、异氰酸盐(酯)基团、硫氰酸盐(酯)基团、异硫氰酸盐(酯)基团、叠氮基团、硫醇基团、硫醇盐基团、硫化物基团、亚磺酸盐(酯)基团、磺酸盐(酯)基团、酚盐基团、羰基、羧酸盐(酯)基团、膦基团、氧化膦基团、膦酸基团和磷酰胺基团,以及这些基团的组合和混合物。在一些实施方案中,作为示例而非限制,所述亲水性基团或多个亲水性基团可以选自由以下构成的组:胺基团(伯胺、仲胺、叔胺或季胺)、酰胺基团、羟基、酯基团、醚基团、聚醚基团、硫醚基团、硫酸盐(酯)基团、亚硫酸盐(酯)基团、磷酸盐(酯)基团、亚磷酸盐(酯)基团、磷脂酰胆碱基团、甜菜碱基团和磺基甜菜碱基团。

[0034] 在一些实施方案中,共聚物的分子量(道尔顿, Da)为例如约 300 至约 10,000,000 或更高,或约 500 至约 10,000,000,或约 1,000 至约 10,000,000,或约 10,000 至约 10,000,000,或约 100,000 至约 10,000,000,或 300 至约 5,000,000 或更高,或约 500 至约 5,000,000,或约 1,000 至约 5,000,000,或约 10,000 至约 5,000,000,或约 100,000 至约 5,000,000,或 300 至约 1,000,000 或更高,或约 500 至约 1,000,000,或约 1,000 至约 1,000,000,或约 10,000 至约 1,000,000,或约 100,000 至约 1,000,000,或约 100 至约 750,000,或约 500 至约 750,000,或约 1,000 至约 750,000,或约 10,000 至约 750,000,或约 100,000 至约 750,000,或约 100 至约 500,000,或约 200 至约 500,000,或约 1,000 至约

500,000,或约 10,000 至约 500,000,或约 100,000 至约 500,000。

[0035] 在一些实施方案中,共聚物包括聚乙烯型主链,一种或多种含活性官能团的结构部分或含活性官能团衍生物的结构部分,例如一种或多种含醛的结构部分或含醛衍生物的结构部分,和一种或多种包含至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的结构部分作为该主链的侧基。聚乙烯型主链包含由包括双键的单体形成的亚乙基直链,即  $-(CHR-CHR)-$  基团(其中 R 是烷基或氢)。取决于单体的性质也包括其它类型的聚合物主链。作为示例而非限制,形成共聚物的单体包括:乙烯基单体、烯丙基单体、烯炔和包含至少一个不饱和度的任何小分子,以及上述单体中两种或更多种的混合物,其中可聚合官能团是碳碳双键或碳碳三键。除可聚合官能团之外,单体还包含活性官能团或活性官能团衍生物或者至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的适当取代。乙烯基单体的种类包括但不限于:甲基丙烯酸、甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酰胺、N-取代的和 N,N-二取代的甲基丙烯酰胺、乙烯基芳族单体、卤代乙烯、羧酸的乙烯酯(例如乙酸乙烯酯)、氧化乙烯的丙烯酸酯、二丙烯酸酯和二甲基丙烯酸酯。

[0036] 甲基丙烯酸酯的实例包括适当取代有依照本发明的侧基部分的甲基丙烯酸酯,其中作为示例而非限制,甲基丙烯酸酯包括例如甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸丙酯、甲基丙烯酸异丙酯、甲基丙烯酸正丁酯、甲基丙烯酸异丁酯和甲基丙烯酸叔丁酯。例如,可以使用的乙烯基芳族单体的实例包括但不限于适当取代的苯乙烯、苯乙烯-丁二烯、p-氯甲基苯乙烯和二乙烯基苯。可以使用的卤代乙烯包括但不限于适当取代的氯乙烯和偏氟乙烯。可以使用的羧酸乙烯酯包括但不限于适当取代的乙酸乙烯酯、丁酸乙烯酯、3,4-二甲氧基苯甲酸乙烯酯、苹果酸乙烯酯和苯甲酸乙烯酯。

[0037] 共聚物是依照用于无规共聚物合成的标准聚合物化学,使用上述适当的单体单元合成的。在一些实施方案中,可以在单一聚合步骤中将包括一种或多种可聚合官能团的多单体单体相结合。如上所述,在上一聚合方法中,可以通过控制各单体单元的摩尔浓度来控制共聚物中各共聚单体的数量。

[0038] 无规共聚物可以通过用于制备无规共聚物的任意聚合技术制备。聚合技术包括例如:自由基聚合、原子转移自由基聚合、可逆加成断裂和链转移聚合、氮氧调控聚合等。聚合条件,例如温度、反应介质、pH 值、持续时间和试剂的添加顺序,取决于例如所用的聚合类型、所用的包括任意可聚合官能团的单体试剂的性质和所用的任何催化剂的性质中的一个或多个。这种条件通常是已知的,因为能够使用的聚合技术的类型都是本领域公知的。

[0039] 如上所述,依照本发明某些实施方式的组合物包括固体载体,该固体载体包括 sps 成分和合成共聚物的包衣。该固体载体可以由有机或无机的、不溶于水的材料制成,其可以是透明或部分透明的。该固体载体具有疏水表面且能够具有诸多形状中的任意形状,例如粒状包括小珠和颗粒、薄膜状、膜状、管状、井状(well)、条状、杆状,和平坦平面如板状。取决于化验的类型,固体载体在其应用的介质中可以是可悬浮的或是不可悬浮的。可悬浮的固体载体的实例包括聚合材料例如胶乳颗粒和磁性颗粒。其他固体载体组合物包括例如聚合物,如聚氯乙烯、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸酯、聚乙烯、聚丙烯、聚(4-甲基丁烯)、聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸酯、聚对苯二甲酸乙二醇酯、尼龙和聚丁酸乙烯酯;它们可单独使用或与其他材料结合使用。

[0040] 在一些实施方案中,固体载体是颗粒。该颗粒通常具有例如约 0.02 至约 100 微米,或约 0.05 至约 100 微米,或约 0.1 至约 100 微米,或约 0.5 至约 100 微米,或约 0.02 至约



50 微米,或约 0.05 至约 50 微米,或约 0.1 至约 50 微米,或约 0.5 至约 50 微米,或约 0.02 至约 20 微米,或约 0.05 至约 20 微米,或约 0.1 至约 20 微米,或约 0.5 至约 20 微米的平均直径。在一些实施方案中,该颗粒具有例如约 0.05 至约 20 微米或约 0.3 至约 10 微米,或约 0.3 至约 5 微米的平均直径。在一些实施方案中,该颗粒是胶乳颗粒或铬颗粒。

[0041] 胶乳颗粒是颗粒状的可悬浮于水中但不溶于水的聚合物材料。在一些实施方案中,该胶乳是取代的聚乙烯,例如聚苯乙烯-丁二烯、聚丙烯酰胺聚苯乙烯、具有氨基的聚苯乙烯、聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸、丙烯腈-丁二烯、苯乙烯共聚物、聚乙酸乙烯酯-丙烯酸酯、聚乙烯吡啶、氯乙烯-丙烯酸酯共聚物等。

[0042] 聚合物颗粒能够由加成或缩合聚合物形成。该颗粒容易分散在水性介质中且能够官能化从而能够结合到例如本文所述的共聚物、信号产生系统(sps)成分和特异结合对(sbp)成分中的一个或多个上。该颗粒也能够由天然材料、合成改性的天然材料和合成材料得到。在一些实施方案中,该颗粒具有天然存在的或合成引入的活性官能团例如胺基团,其可与共聚物的相应活性官能团,如醛基团,反应。

[0043] 如上所述,共聚物是载体上的包衣。用共聚物涂覆载体可以多种方式实现。可以将共聚物共价附连到载体表面上。在一些实施方案中,可以通过共聚物的一些活性官能团例如醛基团与载体表面上的官能团以类似于以上对醛衍生物所论述的方式发生反应来实现共价附连。如上所述,在一些实施方案中,取决于载体的性质,在载体表面上可能已经存在有适合的官能团,或者官能团可以通过合成引入到表面上。剩余的活性官能团,例如醛基团,可用于与例如适当官能化的 sbp 成分反应。

[0044] 在一些实施方案中,共聚物在载体上的涂覆量取决于例如以下中的一个或多个:载体的性质、共聚物的性质、sps 成分的性质、是否借助带(bearing)醛的位点将共聚物附连到载体上,以及 sbp 成分是否附连到带醛的位点。在某些实施方案中,共聚物在载体上的涂覆量(wt%)为例如约 0.1 至约 10%,或约 0.1 至约 9%,或约 0.1 至约 8%,或约 0.1 至约 7%,或约 0.1 至约 6%,或约 0.1 至约 5%,或约 0.1 至约 4%,或约 0.1 至约 3%,或约 0.1 至约 2%,或约 0.1 至约 1%,或约 0.1 至约 0.5%,或约 1 至约 10%,或约 1 至约 9%,或约 1 至约 8%,或约 1 至约 7%,或约 1 至约 6%,或约 1 至约 5%,或约 1 至约 4%,或约 1 至约 3%,或约 1 至约 2%,或约 0.05 至约 0.5%,或约 0.06 至约 0.5%,或约 0.07 至约 0.5%,或约 0.08 至约 0.5%,或约 0.09 至约 0.5%,或约 0.1 至约 0.5%,或约 0.05 至约 0.4%,或约 0.06 至约 0.4%,或约 0.07 至约 0.4%,或约 0.08 至约 0.4%,或约 0.09 至约 0.4%,或约 0.1 至约 0.4%,或约 0.05 至约 0.3%,或约 0.06 至约 0.3%,或约 0.07 至约 0.3%,或约 0.08 至约 0.3%,或约 0.09 至约 0.3%,或约 0.1 至约 0.3%,或约 0.05 至约 0.2%,或约 0.06 至约 0.2%,或约 0.07 至约 0.2%,或约 0.08 至约 0.2%,或约 0.09 至约 0.2%,或约 0.1 至约 0.2%。

[0045] 用于包括信号产生系统成分的颗粒的共聚物包衣的选择取决于诸多因素中的一个或多个,例如化验类型、信号产生系统成分的性质、分析物的预期浓度范围、抗体的物理特征和来源、有效抗体涂覆密度的变化、最终反应混合物的 pH 值、最终反应混合物的离子浓度。取决于这些因素,在任何具体应用中,一种共聚物包衣可能比另一种共聚物包衣更优选。例如,当特定的抗体与特定的共聚物包衣结合时,有效抗体涂覆密度可能对于信号产生系统是最佳的。可以通过例如调节共聚过程中第一和第二可共聚单体的进料比来控制信号量。

[0046] 如上所述,组合物还包括 sps 成分。Sps 成分的性质取决于可以使用本发明组合物的实施方案的化验类型。这种化验包括,例如,用于检测抗体复合体的免疫沉淀和凝集方法和相应的光散射技术,例如浊度法和比浊法;和标记分析(例如标记免疫测定),例如诱导发光(发光氧通道作用)测定、荧光氧通道作用测定、酶标记测定、荧光偏振分析、放射性标记分析和抑制分析。

[0047] Sps 成分可以是标记物,它是信号产生系统的一部分。标记物的性质取决于以上论述的具体化验形式。信号产生系统可以包括一种或多种组分,至少一种组分是可检测的标记物,它产生与结合和未结合的标记物的量,即结合或未结合到待检测的分析物上或反映待检测的分析物量的试剂上的标记物的量,中的一者或两者相关联的可检测信号。标记物是产生或能被诱发产生信号的任何分子,并且可以为例如荧光剂、放射性示踪剂、酶、化学发光剂或光敏剂。因此,根据情况可以通过检测例如酶活性、冷光(luminescence)、光吸光或放射性来检测和/或测量信号。

[0048] 作为示例而非限制,适合的标记物包括例如:酶,例如碱性磷酸酶、葡萄糖-6-磷酸酯脱氢酶(“G6PDH”)和辣根过氧化物酶;核酶;用于复制酶如 QB 复制酶的底物;启动子(promoter);染料;荧光剂,例如荧光素、异硫氰酸盐、若丹明化合物、藻红蛋白、藻青蛋白、别藻蓝蛋白、o-酞醛和荧光胺;复合体,例如由称作量子点的半导体纳米晶体中存在的 CdSe 和 ZnS 制备的那些;化学发光剂,例如异鲁米诺;敏化剂(sensitizer),包括光敏剂;辅酶;酶底物;放射性示踪剂,例如  $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{57}\text{Co}$  和  $^{75}\text{Ce}$ ;颗粒,例如胶乳颗粒、碳颗粒、金属颗粒包括磁性颗粒,例如二氧化铬( $\text{CrO}_2$ )颗粒等;金属溶胶;微晶;脂质体;核苷酸和细胞,其可以用染料、催化剂或其他可检测的基团进一步标记。

[0049] 标记物能够直接产生信号并由此不需要其他组分来产生信号。众多有机分子如荧光剂能够吸收紫外光和可见光,其中吸收的光将能量传递给这些分子并将它们提升到激发能态。然后这种吸收的能量通过发射第二波长的光而散发出来。其他直接产生信号的标记物包括放射性同位素和染料。

[0050] 可选择地,标记物可能需要其他组分来产生信号,则该信号产生系统包括产生可检测信号所需的所有组分。这种其他组分可以包括例如底物、辅酶、增强子、其他酶、与酶产物反应的物质、催化剂、活化剂、辅助因子、抑制剂、清除剂、金属离子和信号产生物质结合所需的特定结合物质。

[0051] 如上所述,在本发明组合物中, sps 成分与载体缔合。Sps 成分与固体载体的缔合方式取决于例如以下中的一个或多个:载体的性质、sps 成分的性质、载体的表面积和孔隙率、和所用的任何溶剂的性质。该缔合可以通过以下方式进行:载体对 sps 成分的吸附、sps 成分到载体上的共价结合、sps 成分在固体载体中的溶解或分散;sps 成分借助结合对成分(例如抗生物素蛋白-生物素和用于地高辛的地高辛-抗体)到载体上的非共价结合。Sps 成分以这种方式与固体载体“缔合”。

[0052] 此处所用的表述“缔合”包括例如:一结构部分通过直接的化学键或经由间隔基团共价结合到另一结构部分上;一结构部分直接地或借助结合到该结构部分上的特异结合对成分非共价结合到另一结构部分上;通过例如将一结构部分溶解在另一结构部分中或者通过合成将一结构部分引入另一结构部分中;和将一结构部分涂覆到另一结构部分上。

[0053] Sps 成分,例如敏化剂或化学发光化合物,与胶乳颗粒的缔合可以包括例如在颗粒

形成过程中通过聚合引入或者引入到预成型的颗粒上,例如通过非共价溶解到该颗粒中。在一些方法中,使用 sps 成分的溶液。可以使用的溶剂包括例如:醇,包括例如乙醇、乙氧基乙醇、甲氧基乙醇、乙二醇和苯甲醇;酰胺,例如二甲基甲酰胺、甲酰胺、乙酰胺和四甲基脲;亚砷,例如二甲基亚砷和环丁砷;和醚,例如卡必醇、乙基卡必醇和二甲氧基乙烷;和水;以及上述的两种或更多种的混合物。使用颗粒不溶于其中的具有高沸点的溶剂使得能够使用升高的温度来促进化合物到颗粒中的溶解,并且是特别适合的。溶剂可以单独或结合使用。溶剂应当选择为不会由于其固有性质或从颗粒上脱除的能力而干扰 sps 成分的信号产生能力。在一些实施方案中,可以使用芳族溶剂,例如酞酸二丁酯、苯甲腈、萘甲腈、对苯二甲酸二辛酯、二氯苯、二苯基醚和二甲氧基苯。

[0054] 通常,该工序中使用的温度的选择为使得 sps 成分颗粒发出的信号量最大,条件是颗粒在选定温度下不会熔化或聚集。在一些实施方案中,使用升高的温度。该工序的温度可以在约 20°C 至约 200°C 或约 50°C 至约 170°C 范围。观察到一些在室温下几乎不溶的化合物在例如升高的温度下可溶于例如低分子量的醇,例如乙醇和乙二醇。羧基化改性的胶乳颗粒已经显示出在这种温度下可耐受低分子量的醇。

[0055] 在本发明组合物的一些实施方案中,sps 成分选自敏化剂包括光敏剂,和化学发光化合物,下面将对其作更详细描述。

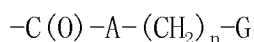
[0056] 化学发光化合物(化学发光剂)是可化学活化且作为这种活化的结果会发出特定波长的光的化合物。作为示例而非限制,化学发光剂的示例包括例如:能够与单线态氧或过氧化物反应生成能够分解成酮或羧酸衍生物的氢过氧化物或二氧环丁烷(dioxetane)的烯烃;能够被光的作用分解的稳定二氧环丁烷;能够与单线态氧反应生成二酮的炔类;能够生成偶氮化合物或偶氮羰基化合物的脞或酰肼,例如鲁米诺;和能够生成内过氧化物的芳族化合物。作为活化反应的结果,化学发光剂直接或间接导致发光。

[0057] 敏化剂是用于产生用于活化化学发光化合物的活性中间产物,例如单线态氧,的分子,通常是化合物。在本发明组合物的一些实施方案中,敏化剂是光敏剂。作为示例而非限制,能够化学活化(例如通过酶和金属盐)的其他敏化剂包括例如:借助外部光源的活化或较不优选地不借助外部光源的活化而能够产生单线态氧的其他物质和组合物。例如,某些化合物已经显示为催化过氧化氢到单线态氧和水的转化。光敏剂的范围内还包括不是真的敏化剂但是在热、光、电离辐射或化学活化的激发下会释放出单线态氧分子的化合物。这类化合物中最公知的成分包括内过氧化物,例如 1,4-二羧基乙基-1,4-萘内过氧化物、9,10-二苯基蒽-9,10-内过氧化物和 5,6,11,12-四苯基萘-5,12-内过氧化物。加热或这些化合物直接吸收光都会释放单线态氧。

[0058] 光敏剂是用于通过例如用光激发产生单线态氧而活化光敏化合物的敏化剂。光敏剂是可光活化的,且包括例如染料和芳族化合物,且通常是由共价键合的原子构成的化合物,通常具有多个共轭的双键或三键。化合物应当吸收在 200-1100nm 或 300-1000nm 或 450-950nm 波长范围内的光,在激发波长时,其最大吸光率时的消光系数大于  $500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , 或大于  $5,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , 或大于  $50,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 。光敏剂应当是较为光稳定的,且优选不与单线态氧发生有效反应。作为示例而非限制,光敏剂的示例包括例如丙酮、二苯甲酮、9-噻吨酮、曙红、9,10-二溴蒽、亚甲基蓝、金属卟啉如血卟啉、酞菁、叶绿素、玫瑰红和巴克敏斯特富勒烯以及这些化合物的衍生物。

[0059] 美国专利号 5,340,716 (Ullman 等) 中提出了可以用于本发明组合物的实施方案中的化学发光化合物和光敏剂的实例,其公开内容的相关部分通过引用并入本文。

[0060] 在一些实施方案中,包括醛或醛衍生物的聚合单体(第一聚合单体)的侧基部分为:



其中:

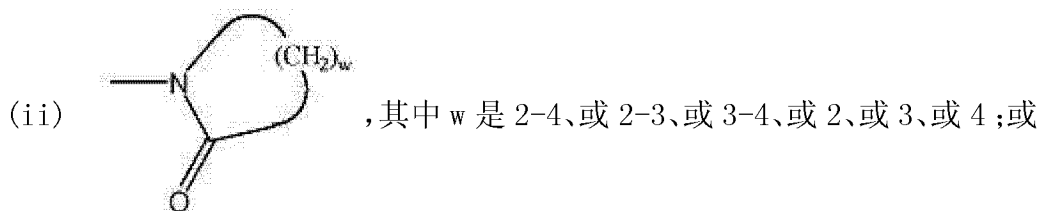
A 是 O 或  $NR^1$ , 其中  $R^1$  是 H 或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基;

n 为例如 1-10, 或 1-9, 或 1-8, 或 1-7, 或 1-6, 或 1-5, 或 1-4, 或 1-3, 或 1-2, 或 2-10, 或 2-9, 或 2-8, 或 2-7, 或 2-6, 或 2-5, 或 2-4, 或 2-3, 或 3-10, 或 3-9, 或 3-8, 或 3-7, 或 3-6, 或 3-5, 或 3-4, 或 4-10, 或 4-9, 或 4-8, 或 4-7, 或 4-6, 或 4-5, 或 5-10, 或 5-9, 或 5-8, 或 5-7, 或 5-6, 或 6-10, 或 6-9, 或 6-8, 或 6-7, 或 7-10, 或 7-9, 或 7-8, 或 8-10, 或 8-9, 或 9-10; 且

G 是 CHO;  $CH(OR^8)_2$ , 其中  $R^8$  是例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基; COOH 或其衍生物, 如酯或酰胺;  $NR^1$ , 其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基; 特异结合对的成分。

[0061] 在一些实施方案中,包括至少 1 个碳原子和至少 2 个杂原子的聚合单体的侧基部分具有下式:

(i)  $-COOR^{10}$ , 其中  $R^{10}$  是 H 或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基;



其中:

X 是 O 或  $NR^2$ , 其中  $R^2$  是 H 或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基;

Y 是  $-(CH_2O)_m-$ , 其中 m 是例如 1-100、或 2-100、或 3-100、或 4-100、或 1-90、或 1-80、或 1-70、或 1-60、或 1-50、或 1-40、或 1-30、或 1-20、或 1-10、或 1-5、或 5-100、或 5-90、或 5-80、或 5-70、或 5-60、或 5-50、或 5-40、或 5-30、或 5-20、或 5-10、或 10-100、或 10-90、或 10-80、或 10-70、或 10-60、或 10-50、或 10-40、或 10-30、或 10-20; 或  $N^{\oplus}(R^3R^4)$ , 其中  $R^3$  和  $R^4$  独立地为 H 或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基;

p 是例如 0-10、或 0-9、或 0-8、或 0-7、或 0-6、或 0-5、或 0-4、或 0-3、或 0-2、或 0-1、或 1-10、或 1-9、或 1-8、或 1-7、或 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-10、或 2-9、或 2-8、或 2-7、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-10、或 3-9、或 3-8、或 3-7、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-10、或 4-9、或 4-8、或 4-7、或 4-6、或 4-5、或 5-10、或 5-9、或 5-8、或 5-7、或 5-6、或 6-10、或 6-9、或 6-8、或 6-7、或 7-10、或 7-9、或 7-8、或 8-10、或 8-9、或 9-10, 当 Y 是  $N^{\oplus}(R^3R^4)$  时,

至少为 1；

q 是 0 或 1；

r 是例如 0-10、或 0-9、或 0-8、或 0-7、或 0-6、或 0-5、或 0-4、或 0-3、或 0-2、或 0-1、或 1-10、或 1-9、或 1-8、或 1-7、或 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-10、或 2-9、或 2-8、或 2-7、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-10、或 3-9、或 3-8、或 3-7、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-10、或 4-9、或 4-8、或 4-7、或 4-6、或 4-5、或 5-10、或 5-9、或 5-8、或 5-7、或 5-6、或 6-10、或 6-9、或 6-8、或 6-7、或 7-10、或 7-9、或 7-8、或 8-10、或 8-9、或 9-10，当 Y 是  $N^{\oplus}(R^{\oplus}R^{\oplus})$  时，至少为 1；

Z 是  $SO_3^-$ ；例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基； $-(CHOH)_t(CH_2)_uCH_3$ ，其中 t 是例如 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-5、或 3-4、或 4-5；且 u 是例如 0-10、或 0-9、或 0-8、或 0-7、或 0-6、或 0-5、或 0-4、或 0-3、或 0-2、或 0-1、或 1-10、或 1-9、或 1-8、或 1-7、或 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-10、或 2-9、或 2-8、或 2-7、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-10、或 3-9、或 3-8、或 3-7、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-10、或 4-9、或 4-8、或 4-7、或 4-6、或 4-5、或 5-10、或 5-9、或 5-8、或 5-7、或 5-6、或 6-10、或 6-9、或 6-8、或 6-7、或 7-10、或 7-9、或 7-8、或 8-10、或 8-9、或 9-10。

[0062] 在一些实施方案中，侧基部分包括约 4 个碳原子和约 3 个杂原子。在一些实施方案中，侧基部分包括约 8 个碳原子和约 7 个杂原子。在一些实施方案中，侧基部分包括约 4 个碳原子和约 2 个杂原子。在一些实施方案中，侧基部分包括 1 个碳原子和约 2 个杂原子。

[0063] 可以使用本发明组合物的化验的综述

以下论述仅是示例性的而非限制性的。本发明组合物可以用于任何采用颗粒试剂的化验中。本发明组合物特别适用于在未涂覆颗粒具有疏水表面的情况下使用聚合物涂覆的颗粒的化验。该化验能够在不分离(均质)或分离(非均质)任意的化验组分或产物的情况下进行。非均质化验通常包括一个或多个分离步骤，且能够是竞争性的或非竞争性的。

[0064] 免疫测定可以包括标记或未标记的试剂。采用未标记的试剂的免疫测定通常包括形成包括一个或多个抗体的较大的复合物。这种化验包括例如用于检测抗体复合物的免疫沉淀和凝集方法和相应的光散射技术，例如浊度法和比浊法。标记的免疫测定包括化学发光免疫测定、酶免疫测定、荧光极化免疫测定、放射性免疫测定、抑制分析、诱导发光、荧光氧通道作用分析等。

[0065] 可以使用本发明组合物的实施方案来测定样品中分析物的存在和 / 或含量的一大类免疫测定包括使用有限浓度的一种化验试剂的免疫测定。另一类免疫测定包括使用过量的一种或多种主要试剂。另一类免疫测定是无分离的均质化验，其中一旦本发明组合物和样品中的分析物结合标记的试剂就会调制标记信号。

[0066] 在典型的竞争性非均质化验中，使包括能与分析物结合的 sbp 成分的本发明组合物的实施方案与包含怀疑含有分析物的介质接触，该分析物辄合到标记物，而该标记物可与本发明组合物的 sps 成分或与该 sps 成分的活化产物反应。如果存在分析物，那么本发明组合物上的 sps 成分的活化由所述标记物产生信号，该信号由常规技术测定并与样品中分析物的含量相关联。

[0067] 在典型的非竞争性夹心法分析中，在分析介质中形成免疫夹心复合体。该复合体

包括分析物、本发明组合物的 sbp 成分(第一 sbp 成分)和与分析物或第一 sbp 成分结合的第二 sbp 成分。然后,检测免疫夹心复合体,其与样品中分析物的含量相关。借助本发明组合物的一种或多种标记物和第二 sbp 成分的标记物在复合体中的存在来检测免疫夹心复合体。

[0068] 一些已知的化验利用采用第一和第二 sps 成分的信号产生系统。这些 Sps 成分的关联可在于一种 sps 成分的活化产生导致另一 sps 成分活化的产物,例如光。

[0069] 在夹心法分析的一种方法中,本发明组合物的第一培育物与包含怀疑含有分析物的样品的介质接触。在洗涤分离步骤之后,本发明组合物的载体与包含第二 sbp 成分的介质接触用于第二培育期,该第二 sbp 成分例如用于分析物的抗体,且包含标记物例如酶。标记物的关联在于如果介质中存在分析物则一种标记物的活化激活另一标记物。再次洗涤该载体并将其从介质中分离出来,检测介质或载体中信号的存在。信号的存在和量与分析物的存在或含量相关联。

[0070] 在上述夹心法分析的变型中,使位于适当介质中的怀疑包含分析物的样品与标记的用于分析物的抗体接触并培育一段时间。然后,使该介质与本发明组合物接触,本发明组合物包括与上述标记抗体的标记物相关联的标记物。在培育期之后,将载体从介质中分离出来并洗涤以除去未结合的试剂。检测载体或介质中信号的存在,该信号与分析物的存在或含量相关联。在以上的另一变型中,将样品、本发明组合物和标记抗体混合在介质中并在单一培育步骤中培育。分离、洗涤步骤和检测信号如上所述。

[0071] 在已知化验的一些实施方案中, sps 成分包括敏化剂如光敏剂,和化学发光组合物,其中敏化剂的活化产生激活该化学发光组合物的产物。第二 sps 成分通常产生与结合和 / 或未结合的 sps 成分的量,即结合或未结合到待检测分析物或反映待检测分析物的含量的试剂上的 sps 成分的量,相关联的可检测信号。依照本发明的实施方案,本发明组合物可以包括敏化试剂或化学发光试剂中任一。

[0072] 在这种化验的实施方案中,可以使用诱导发光免疫测定,其中该测定使用依照本实施方案的组合物,其包括敏化剂或化学发光组合物作为组合物的 sps 成分。诱导发光免疫测定参见美国专利号 5, 340, 716 (Ullman), 其公开内容通过引用并入本文。在依照本实施方案的一种方法中,该测定使用涂覆有依照本发明实施方案的共聚物且缔合有光敏剂和第一 sbp 成分的颗粒。化学发光试剂包括第二 sbp 成分。Sbp 成分与分析物结合形成复合体,或者第一 sbp 成分与第二 sbp 成分结合形成复合体,该复合体与介质中分析物的存在相关联。如果存在分析物,那么光敏剂和化学发光化合物通过基于该分析物的存在的结合而变得紧密接近。当两种标记物紧密接近时,光敏剂产生单线态氧并激活化学发光试剂。激活的化学发光试剂随后产生光。所产生光的量与形成的复合体的量相关联,形成的复合体的量又与分析物的含量相关联。

[0073] 在诱导发光测定的一些实施方案中,使用与抗生物素蛋白或抗生蛋白链菌素轭合的光敏剂。还使用与分析物结合的生物素化的 sbp 成分。使用本发明组合物的实施方案,其中 sps 成分是化学发光剂且使用与分析物结合的 sbp 成分作为检测系统的一部分。培育反应介质使光敏剂颗粒通过抗生物素蛋白和生物素之间的结合结合到生物素化的 sbp 成分上并使作为本发明组合物一部分的用于分析物的结合伴侣结合到该分析物上。然后,用光照射介质以激发光敏剂,该光敏剂在其激发态时能够将氧气活化到单线态。因为化学发

光剂现在借助分析物的存在而与光敏剂紧密接近,因此它被单线态氧激活并化学发光。然后检测介质中发出的冷光或光的存在和/或量,其存在与分析物的存在和/或含量相关联。

[0074] 可以化验的分析物的浓度通常在约  $10^{-5}$  至约  $10^{-17}$ M 或约  $10^{-6}$  至约  $10^{-14}$ M 范围内变化。多种考虑因素,例如该化验是定性的、半定性的还是定量的(关于样品中分析物的含量),具体的检测技术和分析物的预期浓度通常决定了各种试剂的浓度。

[0075] 化验介质中各种试剂的浓度通常由相关分析物的浓度范围、化验性质等因素决定。然而,各试剂的最终浓度通常是经验确定的以优化该化验在整个范围内的敏感性。即,重要的分析物的浓度变化应当提供可精确测量的信号差别。多种考虑因素,例如信号产生系统的性质和分析物的性质,决定了各种试剂的浓度。

[0076] 如上所述,将样品和试剂结合提供在介质中。尽管到介质中的添加顺序可以变化,但对于本文所述的化验形式的一些实施方案有某些倾向。最简单的添加顺序当然是如均质化验中那样同时添加所有物料并测定化验介质对信号的影响。可选择地,能够将各种试剂或各组试剂按顺序混合。在一些实施方案中,可以在如上所述的各添加之后包括培育步骤。在非均质化验中,在一个或多个培育步骤之后也可以采用洗涤步骤。

[0077] 使用本发明组合物的实施方案的化验方法

如上所述,本发明的实施方案是测定样品中分析物的存在和含量中的一个或多个的方法。分析物是所关注的物质或待检测和/或定量的化合物或组合物。分析物包括例如药物、代谢产物、杀虫剂和污染物。作为示例而非限制,代表性的分析物包括生物碱、类固醇、内酰胺、氨基烷基苯、苯并杂环(benzheterocyclics)、嘌呤、源自大麻的药物、激素、多肽包括蛋白质在内、免疫抑制剂、维生素、前列腺素、三环抗抑郁药、抗肿瘤药、核苷和核苷酸包括多核苷和多核苷酸在内、各种个人药品包括美沙酮、眠尔通、血清素、哌替啶、利多卡因、普鲁卡因胺、乙酰基普鲁卡因胺、心得安、灰黄霉素、丙戊酸、类丙甲酮、抗组胺剂、氯霉素、抗胆碱能药和上述所有的代谢产物和衍生物。还包括与疾病状态有关的代谢产物,胺基糖甙如庆大霉素、卡那霉素、托普霉素和丁胺卡那霉素,和杀虫剂如多卤代联苯、膦酸酯、硫代磷酸盐、氨基甲酸盐和多卤代亚磺酰胺,及它们的代谢产物和衍生物。术语分析物还包括多肽和蛋白质、多糖和核酸中的两种或多种的组合。这种组合包括例如:细菌、病毒、染色体、基因、线粒体、细胞核和细胞膜的组分。蛋白质分析物包括例如免疫球蛋白、细胞因子、酶、激素、癌抗原、营养标记物和组织特异性抗原。作为示例而非限制,这种蛋白质包括精蛋白、组蛋白、清蛋白、球蛋白、硬蛋白、磷蛋白、粘蛋白、色蛋白、脂蛋白、核蛋白、糖蛋白、T 细胞受体、蛋白聚糖、HLA、未分类的蛋白质例如生长激素、催乳激素、胰岛素、胃蛋白酶、人血浆中发现的蛋白质、凝血因子、蛋白激素例如促卵泡激素、黄体化激素、催乳激素、促乳素、绒膜促性腺激素、组织激素、细胞因子、肿瘤抗原例如 PSA、CEA、 $\alpha$ -胎蛋白、酸性磷酸酶、CA19.9、CA15.3 和 CA125、组织特异性抗原例如碱性磷酸酶、肌红蛋白、CPK-MB 和降钙素、和肽激素。其他所关注的聚物质为粘多糖和多糖。如上所示,术语分析物还包括寡核苷酸和多核苷酸分析物,例如 m-RNA、r-RNA、t-RNA、DNA 和 DNA-RNA 双链体。

[0078] 待测试样品可以是非生物或生物的。“非生物样品”是不涉及生物材料的那些,且包括例如土壤样品、水样品和矿物样品。术语“生物样品”表示任何生物材料,例如获自哺乳动物身体的体液、组织等。体液包括例如全血、血浆、血清、胞间液、汗液、唾液、尿液、精液、疱液、炎性渗出物、大便、痰液、脑脊髓液、泪液、粘液、淋巴液、腔粘液等。生物组织包括

获自主体的器官或其他身体部分的离体组织,例如组织活体检查样、头发和皮肤等。

[0079] 所述方法包括将可以经过或未经过预处理的样品和包括与载体缔合的 sbp 成分的本发明组合物的实施方案组合提供在介质中。该 sbp 成分与分析物或第二 sbp 成分结合形成与分析物的存在相关联的复合体。Sbp 成分是两种不同分子之一,该分子在表面上或空腔内具有与另一分子的特定空间和极性构造特异结合并由此定义为其互补体的区域。Sbp 成分通常是免疫对如抗原-抗体的成分,尽管其他特异结合对例如生物素-抗生物素蛋白、激素-激素受体、酶-底物、核酸双链体、IgG-蛋白 A、多核苷酸对如 DNA-DNA、DNA-RNA 不是免疫对,但也包括在术语 sbp 成分的范围之内。在一些实施方案中,取决于下面将更详细论述的待进行的化验的性质,在介质中也包括其他试剂,例如其他 sbp 成分和其他 sps 成分。

[0080] 样品可以制备在任意方便的介质中。例如,样品可以制备在化验介质中,下面将对该介质作更详细论述。在一些情况中,可以对样品进行预处理,例如以溶解血细胞。这种预处理通常是在不干扰后续化验的介质中进行的。预处理优选使用水性介质。

[0081] Sbp 成分与组合物的载体缔合。在一些实施方案中, sbp 成分共价连接到固体载体上涂覆的共聚物上。在一些实施方案中,共聚物共价连接到固体载体的共聚物包衣上的带醛的位点。

[0082] 化验介质在一些情况下是温和 pH 值的水性缓冲介质,其通常是提供最佳化验灵敏度的介质。该水性介质可以仅为水,或者可以包括 0.1 至约 40vol% 的共溶剂,例如可与水互溶的有机溶剂,例如醇、醚和酰胺。该介质的 pH 值通常在例如约 4 至约 11 范围内,或约 5 至约 10 范围内,或在约 6.5 至约 9.5 范围内。所用的 pH 值通常是任意特异结合对的结合成分的最佳结合与其他化验试剂,如信号产生系统的成分,的最佳 pH 值之间的折衷结果。可以使用各种缓冲试剂用于实现所需的 pH 值并在检测过程中维持该 pH 值。示例的缓冲试剂包括硼酸盐、磷酸盐、碳酸盐、tris、巴比妥、PIPES、HEPES、MES、ACES、MOPS、BICINE 等。所用的具体缓冲试剂并不关键,但在个别实验中可能优选使用一种或另一种缓冲剂。

[0083] 在化验方法中可以使用各种辅助物料。例如,除缓冲试剂之外,所述介质还可以包括用于该介质和所用试剂的稳定剂。在一些实施方案中,除这些添加剂之外,该介质还可以包括蛋白质如清蛋白;有机溶剂如甲酰胺;季铵盐;聚阴离子如硫酸葡聚糖;结合强化剂如聚烷二醇;多糖如葡聚糖、海藻糖等。该介质还可以包括用于防止形成血栓的试剂。这种试剂是现有技术中公知的,包括例如 EDTA、EGTA、柠檬酸盐和肝磷脂。该介质还可以包括本领域中已知的一种或多种防腐剂,例如叠氮化钠、新霉素硫酸盐、PEOCLIN® 300 和链霉素。任意以上材料,如果使用,以足以实现所需效果或作用的浓度或含量存在。

[0084] 如上所述,取决于所用化验的性质,该介质可以进一步包括一种或多种组分,例如小分子、其他颗粒、与作为本发明组合物一部分的那些不同的其他 sps 成分和其他结合剂,例如一种或多种 sbp 成分(例如抗体)。此外,取决于所用化验的性质,其他试剂也可以包括在初始组合中或随后添加。

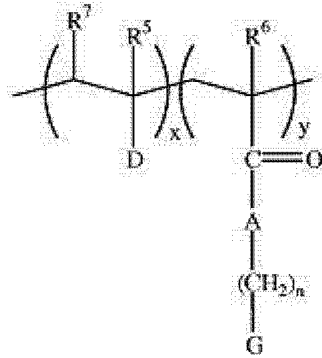
[0085] 使该组合经受用于使分析物结合到该组合物上以形成复合体的条件。这种条件可以包括可以一种或多种时间间隔施加到介质上的一个或多个培育期,所述时间间隔包括化验中使用的包括上述那些试剂的各种试剂的添加之间的任何时间间隔,所述试剂的一些或全部可以位于初始组合中。通常将介质在足以发生所述试剂的各种组分的结合以及互补的 sbp 成分,例如分析物和互补的 sbp 成分或者第一和第二 sbp 成分,之间的结合的温度和时



间下培育。通常使用温和的温度实施该方法,并且在测量期间通常温度恒定,优选室温。在一些实施方案中,培育温度范围例如约5°C至约99°C,或约15°C至约70°C,或约20°C至约45°C。培育时间例如约0.2秒至约24小时,或约1秒至约6小时,或约2秒至约1小时,或约1分钟至约15分钟。时间长度取决于介质的温度和各种试剂的结合速率,这由例如缔合速率常数、浓度、结合常数和离解速率常数中的一个或多个决定。

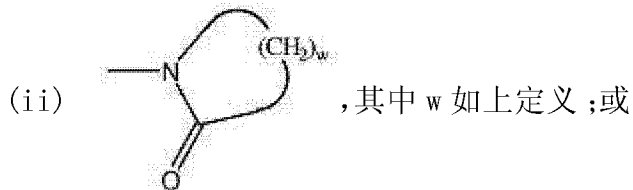
[0086] 在上述培育周期之后,如果存在,使sps成分活化并且检测分析物与sbp成分之间或sbp成分与sbp成分之间形成的指示该分析物的复合体的量。复合体的量与样品中分析物的存在和含量中的一者或两者相关联。复合体的检测取决于例如所进行化验的性质、sps成分的性质和sbp成分的性质。

[0087] 在实施方案中,本发明是测定样品中分析物的存在和含量中的一个或多个的方法。在介质中提供组合。该组合包括样品和包含颗粒的组合物,该颗粒包含信号产生系统的成分、特异结合对的成分和共聚物包衣,该特异结合对成分与分析物或第二sbp成分结合形成复合体,而该复合体与分析物的存在相关联。该共聚物具有下式:



其中:D是

(i)  $-\text{COOR}^{10}$ , 其中  $\text{R}^{10}$  是H或例如1-6、或1-5、或1-4、或1-3、或1-2、或2-6、或2-5、或2-4、或2-3、或3-6、或3-5、或3-4、或4-6、或4-5、或5-6个碳原子的烷基;



(iii)  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}$ ,

其中:

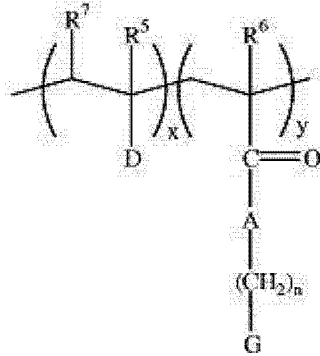
A、 $\text{R}^1$ 、n、G、 $\text{R}^8$ 、X、 $\text{R}^2$ 、Y、m、 $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$ 、p、q、r、Z、t和u如上定义;

$\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 和 $\text{R}^7$ 独立地为H或例如1-6、或1-5、或1-4、或1-3、或1-2、或2-6、或2-5、或2-4、或2-3、或3-6、或3-5、或3-4、或4-6、或4-5、或5-6个碳原子的烷基;

x和y独立地例如1至约1000,或1至约800,或1至约600,或1至约400,或1至约200,或1至约100,或约5至约1000,或约5至约800,或约5至约600,或约5至约400,或约5至约200,或约5至约100,或约10至约1000,或约10至约800,或约10至约600,或约10至约400,或约10至约200,或约10至约100,或约50至约1000,或约50至约800,或约50至约600,或约50至约400,或约50至约200,或约50至约100,或约100至约1000,或约100至约800,或约100至约600,或约100至约400,或约100至约200。

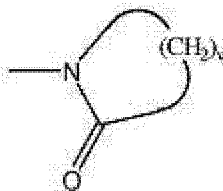
[0088] 使该组合经受用于使特定组合对的成分结合到分析物或第二特定组合对成分上以形成复合体的条件。激活信号产生系统的成分,并检测复合体的量。复合体的量与样品中分析物的存在和含量中的一个或多个相关联。

[0089] 在上述方法的一些实施方案中,本发明组合物的信号产生系统成分是光敏剂,且所述组合还包括包含颗粒的化学发光试剂,该颗粒具有与之缔合的化学发光化合物且具有下式所示共聚物的包衣:



其中 :D 是

(i)  $-COOR^{10}$ , 其中  $R^{10}$  如上定义;

(ii) , 其中 w 如上定义;或

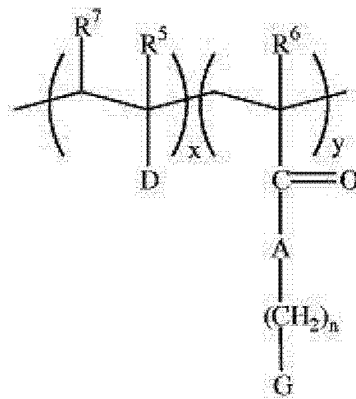
(iii)  $-C(O)-X-(CH_2)_p-(Y)_q-(CH_2)_r-Z'$ ,

其中:

A、 $R^1$ 、n、G、 $R^8$ 、X、 $R^2$ 、Y、m、 $R^3$ 、 $R^4$ 、p、q、r、t、u、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、x 和 y 如上定义;且

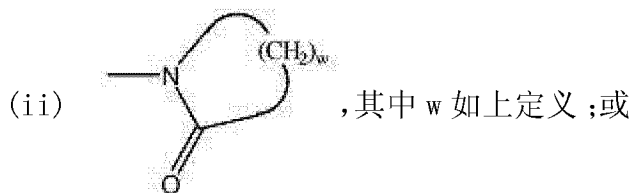
Z' 是  $SO_3^-$ ;或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基。

[0090] 在上述方法的一些实施方案中,本发明组合物的信号产生系统的成分是化学发光化合物,且所述组合还包括包含颗粒的光敏试剂,该颗粒具有与之缔合的光敏剂且具有下式所示共聚物的包衣:



其中 :D 是

(i)  $-COOR^{10}$ , 其中  $R^{10}$  如上定义;



其中 :

A、R<sup>1</sup>、n、G、R<sup>8</sup>、X、R<sup>2</sup>、Y、m、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、p、q、r、t、u、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、x 和 y 如上定义 ;

Z' 是 SO<sub>3</sub><sup>-</sup> ;或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基。

#### [0091] 检验步骤

在化验方法的下一步中,检验介质中包含分析物的复合体的存在。复合体的存在和含量中的一者或两者指示了样品中分析物的存在和含量中的一者或两者。

[0092] 术语“测量分析物的含量”表示分析物的定量、半定量和定性测定。定量、半定量和定性的方法以及所有其他测定分析物的方法都视为测量分析物的含量的方法。例如,仅检测怀疑包含分析物的样品中分析物的存在与否的方法视为包括在可采用本发明组合物的化验的范围内。术语“检测”和“测定”以及测量的其他常用同义词都预期在化验方法的范围内。

[0093] 在很多实施方案中,介质的检验包括检测来自介质的信号。信号的存在和量中的一者或两者与样品中分析物的存在和含量中的一者或两者相关联。具体的检测方式取决于信号产生系统的性质。如上所述,信号产生系统的标记物能够通过很多方法产生可被外部装置检测到的信号。信号产生系统的激活取决于信号产生系统成分的性质。

[0094] 测量过程中的温度通常在例如约 10°C 至约 70°C,或约 20°C 至约 45°C,或约 20°C 至约 25°C 范围内。在一种方法中,使用已知的分析物浓度形成标准曲线。也可以使用校准样和其他对照。

[0095] 任意标记物产生的冷光或光能够通过目测法、照相机、光量法、分光光度法测量或通过任何其他便利的手段测量以测定其含量,而其含量与介质中分析物的含量相关。检验信号的存在和含量中的一者或两者还包括信号的检测,它通常只是读取信号的步骤。通常使用仪器读取信号,仪器的性质取决于信号的性质。该仪器可以是例如分光光度计、荧光计、吸收光谱仪、照度计或化学光度计。

#### [0096] 用于进行化验的包括试剂的试剂盒

本发明组合物和用于进行特定的分析物化验的其他试剂可以位于成套工具中,该成套工具可用于方便地进行用于分析物测定的化验。在一些实施方案中,成套工具在包装的组合中包括依照本发明实施方案的组合,其中 sbp 成分是由于分析物的抗体,sps 成分是光敏剂或化学发光化合物。在一些实施方案中,取决于本发明组合物的 sps 成分,该成套工具还包括与用于分析物的 sbp 成分缔合的光敏剂或化学发光化合物。该成套工具还可以包括用于进行化验的其他试剂,该试剂的性质取决于具体的化验形式。

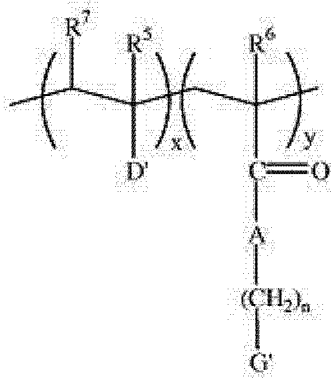
[0097] 取决于试剂的交叉反应性和稳定性,各试剂可以各自位于分开的容器中,或者各种试剂可以合并在一个或多个容器中。该成套工具还能够包括其他分开包装的用于进行化验的试剂,例如其他的 sbp 成分、sps 成分和助剂。

[0098] 试剂盒中各种试剂的相对含量能够广泛变化以提供特定的试剂浓度,该试剂浓度大大优化了需要在本发明方法过程中发生的反应并进一步大大优化了化验灵敏度。在适当情况下,该试剂盒中的一种或多种试剂能够作为包含赋形剂的通常为冻干的干粉提供,其通过溶解会提供具有适当浓度的试剂溶液,该浓度适于实施使用本发明组合物的实施方案的方法或化验。该试剂盒还能够包括如上所述方法的说明书。

[0099] 共聚物的实施方案

共聚物的以下实施方案是示例的而非限制的。

[0100] 在一些实施方案中,共聚物具有下式:



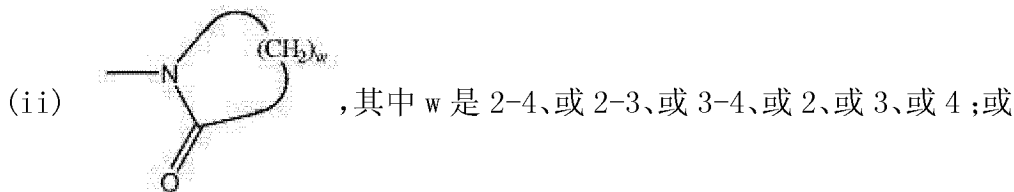
其中:A是O或NR<sup>1</sup>,其中R<sup>1</sup>是H或例如1-6、或1-5、或1-4、或1-3、或1-2、或2-6、或2-5、或2-4、或2-3、或3-6、或3-5、或3-4、或4-6、或4-5、或5-6个碳原子的烷基;

n为例如1-10,或1-9,或1-8,或1-7,或1-6,或1-5,或1-4,或1-3,或1-2,或2-10,或2-9,或2-8,或2-7,或2-6,或2-5,或2-4,或2-3,或3-10,或3-9,或3-8,或3-7,或3-6,或3-5,或3-4,或4-10,或4-9,或4-8,或4-7,或4-6,或4-5,或5-10,或5-9,或5-8,或5-7,或5-6,或6-10,或6-9,或6-8,或6-7,或7-10,或7-9,或7-8,或8-10,或8-9,或9-10;且

G'是CHO;CH(OR<sup>8</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>8</sup>是例如1-6、或1-5、或1-4、或1-3、或1-2、或2-6、或2-5、或2-4、或2-3、或3-6、或3-5、或3-4、或4-6、或4-5、或5-6个碳原子的烷基;特异结合对的成分;

D'是:

(i) -COOR<sup>10</sup>,其中R<sup>10</sup>是H或例如1-6、或1-5、或1-4、或1-3、或1-2、或2-6、或2-5、或2-4、或2-3、或3-6、或3-5、或3-4、或4-6、或4-5、或5-6个碳原子的烷基;



(iii) -C(O)-X-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(Y)<sub>q</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-Z',

其中:

X是O或NR<sup>2</sup>,其中R<sup>2</sup>是H或例如1-6、或1-5、或1-4、或1-3、或1-2、或2-6、或2-5、或2-4、或2-3、或3-6、或3-5、或3-4、或4-6、或4-5、或5-6个碳原子的烷基;

Y是-(CH<sub>2</sub>O)<sub>m</sub>-,其中m是例如1-100、或2-100、或3-100、或4-100、或1-90、或1-80、或1-70、或1-60、或1-50、或1-40、或1-30、或1-20、或1-10、或1-5、或5-100、或5-90、或

5-80、或 5-70、或 5-60、或 5-50、或 5-40、或 5-30、或 5-20、或 5-10、或 10-100、或 10-90、或 10-80、或 10-70、或 10-60、或 10-50、或 10-40、或 10-30、或 10-20；或  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ ，其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  独立地为 H 或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基；

p 是例如 0-10、或 0-9、或 0-8、或 0-7、或 0-6、或 0-5、或 0-4、或 0-3、或 0-2、或 0-1、或 1-10、或 1-9、或 1-8、或 1-7、或 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-10、或 2-9、或 2-8、或 2-7、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-10、或 3-9、或 3-8、或 3-7、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-10、或 4-9、或 4-8、或 4-7、或 4-6、或 4-5、或 5-10、或 5-9、或 5-8、或 5-7、或 5-6、或 6-10、或 6-9、或 6-8、或 6-7、或 7-10、或 7-9、或 7-8、或 8-10、或 8-9、或 9-10，当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时，至少为 1；

q 是 0 或 1；

r 是例如 0-10、或 0-9、或 0-8、或 0-7、或 0-6、或 0-5、或 0-4、或 0-3、或 0-2、或 0-1、或 1-10、或 1-9、或 1-8、或 1-7、或 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-10、或 2-9、或 2-8、或 2-7、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-10、或 3-9、或 3-8、或 3-7、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-10、或 4-9、或 4-8、或 4-7、或 4-6、或 4-5、或 5-10、或 5-9、或 5-8、或 5-7、或 5-6、或 6-10、或 6-9、或 6-8、或 6-7、或 7-10、或 7-9、或 7-8、或 8-10、或 8-9、或 9-10，当 Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$  时，至少为 1；

Z' 是  $\text{SO}_3^-$ ；例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基；

$\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$  和  $\text{R}^7$  独立地为 H 或例如 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-6、或 4-5、或 5-6 个碳原子的烷基；且

x 和 y 独立地为例如 1 至约 1000，或 1 至约 800，或 1 至约 600，或 1 至约 400，或 1 至约 200，或 1 至约 100，或约 5 至约 1000，或约 5 至约 800，或约 5 至约 600，或约 5 至约 400，或约 5 至约 200，或约 5 至约 100，或约 10 至约 1000，或约 10 至约 800，或约 10 至约 600，或约 10 至约 400，或约 10 至约 200，或约 10 至约 100，或约 50 至约 1000，或约 50 至约 800，或约 50 至约 600，或约 50 至约 400，或约 50 至约 200，或约 50 至约 100，或约 100 至约 1000，或约 100 至约 800，或约 100 至约 600，或约 100 至约 400，或约 100 至约 200。

[0101] 在上述共聚物的一些实施方案中，

A 是  $\text{NR}^1$ ，其中  $\text{R}^1$  如上定义；

n、G、 $\text{R}^8$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、 $\text{R}^7$ 、x 和 y 如上定义；

D' 是  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}'$ ，其中：

X 是 0；

Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ ，其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  如上定义；

p 是例如 1-10、或 1-9、或 1-8、或 1-7、或 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-10、或 2-9、或 2-8、或 2-7、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-10、或 3-9、或 3-8、或 3-7、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-10、或 4-9、或 4-8、或 4-7、或 4-6、或 4-5、或 5-10、或 5-9、或 5-8、或 5-7、或 5-6、或 6-10、或 6-9、或 6-8、或 6-7、或 7-10、或 7-9、或 7-8、或 8-10、或 8-9、或 9-10；

q 是 1；

r 是例如 1-10、或 1-9、或 1-8、或 1-7、或 1-6、或 1-5、或 1-4、或 1-3、或 1-2、或 2-10、或 2-9、或 2-8、或 2-7、或 2-6、或 2-5、或 2-4、或 2-3、或 3-10、或 3-9、或 3-8、或 3-7、或 3-6、或 3-5、或 3-4、或 4-10、或 4-9、或 4-8、或 4-7、或 4-6、或 4-5、或 5-10、或 5-9、或 5-8、或 5-7、或 5-6、或 6-10、或 6-9、或 6-8、或 6-7、或 7-10、或 7-9、或 7-8、或 8-10、或 8-9、或 9-10；且

Z' 是  $\text{SO}_3^-$ 。

[0102] 在上述共聚物的一些实施方案中：

A 是 NH；

n 是 1；

G 是  $\text{CHO}$ ； $\text{CH}(\text{OR}^8)_2$ ，其中  $\text{R}^8$  是甲基；特异结合对的成分；

D' 是  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}'$ ，其中：

X 是 0；

Y 是  $\text{N}^{\oplus}(\text{R}^3\text{R}^4)$ ，其中  $\text{R}^3$  和  $\text{R}^4$  均为甲基；

p 是 2；

q 是 1；

r 是 3；

Z' 是  $\text{SO}_3^-$ ；

$\text{R}^5$  和  $\text{R}^6$  独立地为 H 或甲基， $\text{R}^7$  是 H；和

x 和 y 如上定义。

[0103] 在上述共聚物的一些实施方案中：

A 是  $\text{NR}^1$ ，其中  $\text{R}^1$  如上定义；

n、G、 $\text{R}^8$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、 $\text{R}^7$ 、x 和 y 如上定义；

D' 是  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}'$ ，其中：

X 是 0；

Y 是  $-(\text{CH}_2\text{O})_m-$ ，其中 m 如上定义；

p 是 0；

q 是 1；

r 是 0；且

Z' 是甲基。

[0104] 在上述共聚物的一些实施方案中：

A 是 NH；

n 是 1；

G 是  $\text{CHO}$ ； $\text{CH}(\text{OR}^8)_2$ ，其中  $\text{R}^8$  是甲基；特异结合对的成分；

D' 是  $-\text{C}(\text{O})-\text{X}-(\text{CH}_2)_p-(\text{Y})_q-(\text{CH}_2)_r-\text{Z}'$ ，其中：

X 是 0；

Y 是  $-(\text{CH}_2\text{O})_m-$ ，其中 m 如上定义；

p 是 0；

q 是 1；

r 是 0；

Z' 是甲基；

$R^5$  和  $R^6$  独立地为 H 或甲基,  $R^7$  是 H; 和  
x 和 y 如上定义。

[0105] 在上述共聚物的一些实施方案中:

A 是  $NR^1$ , 其中  $R^1$  是 H 或 1-6 个碳原子的烷基;

n 是 1-10;

$G'$  是  $CHO; CH(OR^8)_2$ , 其中  $R^8$  是 1-6 个碳原子的烷基; 或特异结合对的成分;

$D'$  是  $-COOH$ ;

$R^5$ 、 $R^6$  和  $R^7$  独立地为 H 或 1-6 个碳原子的烷基; 和

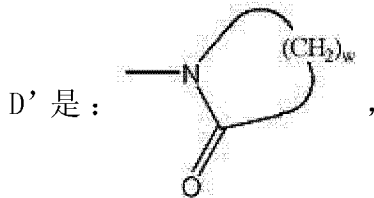
x 和 y 独立地为 1-1000。

[0106] 在上述共聚物的一些实施方案中,

A 是 NH;

n 是 1;

$G'$  是  $CHO; CH(OR^8)_2$ , 其中  $R^8$  是甲基; 或特异结合对的成分;



其中 w 是 3;

$R^5$  和  $R^6$  独立地为 H 或甲基;  $R^7$  为 H; 且

x 和 y 独立地为 1-1000。

[0107] 定义

对上文未明确定义的术语和表述给出如下的定义。

[0108] 本文所用的术语“至少”表示所指定对象的数量可以等于或大于所记载的数值。

[0109] 本文所用的术语“约”表示所记载的数值可以偏差  $\pm 10\%$ , 例如“约 5”表示 4.5-5.5 的范围。

[0110] 编号“第一”和“第二”仅用于区分两个对象的目的, 例如“第一 sps 成分”和“第二 sps 成分”或“第一共聚单体”和“第二共聚单体”, 并不意味着例如暗示一个对象相对于另一对象的任何序列或顺序或者重要性或者任何添加顺序。

[0111] 以下实施例进一步通过示例而非限制的方式描述了本发明的具体实施方案, 并意于描述而非限制本发明的范围。本文公开的份数和百分比除非有其它表示都以体积计。

## 实施例

[0112] 材料:

除非有其它表示, 试剂均购自 Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI), 且除非有其它表示均原样使用。

[0113] 缩略语:

cTnI

心肌肌钙蛋白 I

cTnI flex

获自 Siemens 的 FLEX® 市售 cTnI 化验盒

BSA

牛血清清蛋白

LOCI	发光氧通道作用免疫测定
HEPES	羟乙基哌嗪 - 乙磺酸
洗涤缓冲液	50mM HEPES, pH 8.0
BSA 洗涤缓冲液	50mM HEPES-1.0mg/mL BSA, pH 8.0
HPMA	N-2- 羟丙基甲基丙烯酰胺
DMSO	二甲基亚砷
AIBN	偶氮双 ( 异丁腈 )
PEG	聚乙二醇
NaCNBH <sub>3</sub>	氰基硼氢化钠
MAMDMA	甲基丙烯酰胺基乙醛缩二甲醇
THF	四氢呋喃
HCl	盐酸
NaOH	氢氧化钠
TAPS	N- 三 - ( 羟甲基 ) 甲基 -3- 氨基丙磺酸
TAPS 缓冲液	TAPS 钠盐缓冲液, 50mM, pH 9.0
MES	2- ( N- 吗啉基 ) 乙磺酸
MES 缓冲液	50mM MES 缓冲液, pH 5.0
STUT	N, N, N', N' - 四甲基 -0- ( N- 琥珀酰亚胺基 ) 四氟硼酸脲
DMF	二甲基甲酰胺
DMAP	4-N, N- 二甲基氨基 - 吡啶
MA. Act1	甲基丙烯酰胺基乙醛
NHA	4, 4, 5, 5, 6, 6- 七氟 -1- ( 萘 -2- 基 ) 己烷 -1, 3- 二酮
DPP	4, 7- 二苯基 -1, 10- 二氮杂菲
C-28 二甲基噻吩	如美国专利号 6, 406, 667 中所述制备的 C-28 二甲基噻吩、取代的 N- 苯基噻吩和附连到 9, 10- 双 ( 苯基乙炔基 ) 蒽 ( BPEA ) 的二甲基噻吩, 其相关内容通过引用并入本文
hr	小时
min	分钟
DI	去离子的
w/w	重量比
rpm	转 / 分
mL	毫升
mg	毫克
g	克
mM	毫摩尔
Sensibead	使用与美国专利号 6, 153, 442、7, 022, 529、7, 229, 842 和美国专利申请公开号 20050118727A 中所述类似的方法制备的包括光敏染料 ( 双 - ( 三己基 ) - 硅 - 叔丁基 - 酞菁 ) 的胶乳颗粒, 通过引用将它们的相关内容并入本文
Chemibead	以例如美国专利号 5, 811, 311 中所述的方式制备的包括



化学发光化合物(铈 NHA DPP 和 C-28 二甲基噻吩的混合物)的胶乳颗粒,通过引用将它们的相关内容并入本文。

#### [0114] 试剂的制备

合成 MAMDMA (图 1):将甲基丙烯酸(9.0g,0.1 摩尔)和 N- 羟基琥珀酰亚胺(11.5g,0.1 摩尔)加入圆底烧瓶中,并溶解在 300mL THF 中。将溶液在冰浴中冷却。添加溶解在 50mL THF 中的二环己基碳二亚胺(21.0g,0.1 摩尔)。反应混合物在冰浴中搅拌 2 小时。添加氨基乙醛缩二甲醇(15.0g,0.1 摩尔)和三乙胺(15.0g,0.15 摩尔)。由于该添加,反应混合物固化为饼并变得难以搅动。再添加 300mL THF。将反应混合物升温到室温并搅拌 3 天。过滤反应混合物以除去沉淀的固体。将澄清溶液减压浓缩。得到粘稠液体形式的 MAMDMA。产量:20.0g,90%。<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>):5.4 δ 1H、5.6 δ 1H (双键质子)、3.5 δ 6H (缩醛质子)、3.1 δ 1H (-CH-(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)、2.5 δ 2H (-CH<sub>2</sub>-CH-)、2.3 δ 1H (-NH-)、1.8 δ 3H (=C-CH<sub>3</sub>)。

用多种亲水性单体聚合 MAMDMA 的过程(图 2):在配备有氩气出入口的圆底烧瓶中,将 MAMDMA(0.01M)、亲水性单体(0.01 摩尔)和 AIBN(0.0001 摩尔)([单体]/[AIBN]=200)溶解在 30mL DMSO 中。将氩气在室温吹扫通过 DMSO 溶液 30 分钟。将包含单体溶液的烧瓶浸没在预加热到 80°C 的油浴中。在 80°C 在氩气吹扫下进行聚合 16 小时。将 DMSO 溶液倾入 700mL 二乙醚中使聚合物沉淀。将聚合物溶解在 100mL 水中并使用截留分子量为 5,000 道尔顿的超滤膜浓缩到 10-15mL。

水解缩醛基团以得到含醛的合成共聚物的过程:将包含 2-3g 上述合成的共聚物的水溶液(100mL)加入 Erlenmeyer 烧瓶中。向其中添加 100mL 1N HCl。将酸溶液在室温搅拌 2 天,添加浓 NaOH 将溶液的 pH 值调节到 5.0。通过 purpald 化验(Dickinson, R. G.; Jacobsen, N. W., Chemical Communications, p. 1719 (1970))定性确认了共聚物中存在醛基团。使用截留分子量为 5,000 道尔顿的超滤膜将共聚物溶液浓缩到 10mL。将聚合物水溶液(100-150mg 固体/mL)储存在 4°C。

制备涂覆有含醛的合成共聚物的 Sensibead 的过程:将含醛共聚物的水溶液(5mL, pH 5.0, 100-150mg 固体/mL)加入 Falcon 管中。将溶液的 pH 值调节到 8.5。在溶液中添加 1mL 涂覆有酰肼的染色的 Sensibead 的悬浮液(25mg/mL 固体, pH 9.0)。以类似于下文针对用酰肼涂覆 Chemibead 所述的方式在 STUT 存在下在 pH 9.0 通过珠粒(bead)与酰肼的反应来用酰肼涂覆该珠粒。将反应混合物在轻微晃动的情况下在 50°C 培育 72 小时。将涂覆有聚合物的珠粒通过在 15°C 以 15,000rpm 离心 30min 来用水洗涤两次,然后悬浮在新鲜水中。将涂覆有聚合物的珠粒悬浮在 2mL pH 值为 5.0 的 0.1M 乙酸盐缓冲液中。向其中添加抗生蛋白链菌素(7.0mg)并在室温培育 30min。向其中添加 NaCNBH<sub>3</sub> (40mg),并在 37°C 在轻微晃动下培育 72 小时。将涂覆有抗生蛋白链菌素的珠粒(Sensibead)通过在 15°C 以 15,000rpm 离心 30min 来用 BSA 洗涤缓冲液洗涤两次,然后再次悬浮在缓冲液中。通过在 4°C 使用探针超声发生器(sonicator)超声 2 分钟来悬浮经洗涤的 sensibead。测定 sensibead 的固含量并调节到 10mg/mL。在用固定浓度的生物素-荧光素轭合物培育不同浓度的颗粒时,由荧光的损耗来测定抗生蛋白链菌素数量/颗粒。将 sensibead 以 10mg/mL 浓度储存在 4°C 直至进一步使用。结果示于表 1 中。

#### [0118] 表 1

Sensibead 编号	抗生蛋白链菌素数
<b>SB1</b> 聚(HPMA-共聚-MA-ActI) (1:1)	<b>1150</b>
<b>SB2</b> 聚(HPMA-共聚-MA-ActI) (1:2)	<b>5313</b>
<b>SB3</b> 聚(HPMA-共聚-MA-ActI) (1:4)	<b>3713</b>
<b>SB4</b> 聚(磺基甜菜碱-共聚-MA-ActI) (1:1)	<b>6274</b>
<b>SB5</b> 聚(MPEG <sub>1100</sub> -MA-共聚-MA-ActI) (1:1)	<b>1477</b>
<b>SB6</b> 聚(AA-共聚-MA-ActI) (1:1)	<b>3211</b>
<b>SB7</b> 聚(MPEG <sub>300</sub> -MA-共聚-MA-ActI) (1:1)	<b>2188</b>
<b>SB8</b> 聚(NVP-共聚-MA-ActI) (1:1)	<b>ND</b>

[0119] 涂覆有合成共聚物的 chemibead 的制备

步骤 1:制备涂覆有酰肼的染色 chemibead:将 chemibead 悬浮液 (15mL, 1.046g 颗粒) 加入圆底烧瓶中。向其中添加 37mL pH 值为 9.0 的 300mM TAPS 缓冲液以得到 20mg/mL 的颗粒悬浮液。添加酰肼 (0.1mL), 将 pH 电极浸入颗粒悬浮液中并室温搅拌。向其中添加 100mg STUT (新溶解在 1mL DMF 中), 然后添加 0.25mL DMAP 的 DMF 溶液 (100mg/mL)。将反应混合物搅拌 10min, 添加 5N NaOH 将 pH 值调节到 9.0。STUT 和 DMAP 的添加重复 4 次, 将颗粒悬浮液再搅拌 1hr。将涂覆有酰肼的染色 chemibead 通过在 10°C 以 15,000rpm 离心 30min 用 pH 值为 9.0 的 1mM TAPS 缓冲液洗涤两次, 然后重新悬浮在缓冲液中。将洗涤后的溶液悬浮在 17mL pH 值为 9.0 的 1mM TAPS 缓冲液中。固含量为 41.23mg/mL。

[0120] 步骤 2:制备涂覆有聚 (HPMA-共聚-MA-ActI (1:2)) 的染色 chemibead:将上述涂覆有酰肼的 chemibead 悬浮液 (0.6mL, 25mg 珠粒) 加入 15mL Falcon 管中。在另一管中添加聚 (HPMA-共聚-MA-ActI) (1:2, 图 2) (3mL, pH 5.0, 固含量 24.7mg/mL), 将 pH 值调节到 8.8。将 pH 8.8 的聚合物溶液和 pH 9.0 的涂覆有酰肼的珠粒悬浮液混合在一起, 以轻微的晃动在 37°C 培育 50 小时。将涂覆有聚合物的珠粒 (CB 2) 通过在 10°C 以 15,000rpm 离心 30min 用 pH 值为 6.0 的 50mM MES 缓冲液洗涤两次, 然后重新悬浮在 MES 缓冲液中。通过使用探针超声发生器超声将经洗涤的珠粒重新悬浮在 0.25mL MES 缓冲液中。

[0121] 步骤 3:制备涂覆有俘获抗体的 chemibead:用包含 0.2% TWEEN 20® 的 pH 7.0 的 10mM PO<sub>4</sub> - 300mM NaCl 对 cTnI 俘获抗体进行缓冲交换。经缓冲交换的抗体的浓度为 7.7mg/mL。将 cTnI 俘获抗体溶液 (1mL, 7.7mg 抗体)、涂覆有聚 (HPMA-共聚-MA-ActI (1:2)) 的 chemibead (0.25mL, 25mg 珠粒)、乙酸 (0.4 μL) 在 4°C 混合在一起。混合物具有 5.7 的 pH 值。添加 NaCNBH<sub>3</sub> (12 μL, 25mg/mL), 将悬浮液以轻微的晃动在 4°C 培育 16hr。然后将颗粒在 37°C 培育 24hr。将涂覆有抗体的 chemibead 通过在 10°C 以 15,000rpm 离心 30min 用洗涤缓冲液 (pH 8.0) 洗涤两次, 然后重新悬浮在洗涤缓冲液中。通过使用探针超声发生器超

声将经洗涤的颗粒重新悬浮在 1mL BSA 洗涤缓冲液 (pH 8.0) 中。固含量为 13.37mg/mL。

[0122] 含醛的合成共聚物的分子量表征:通过与光散射耦合的尺寸排除色谱法表征聚合物。得到的数据总结在表 2 中。所有合成聚合物都是通过已知用于制备具有大的多分散性的聚合物的常规自由基聚合合成的。表 2 中的数据还显示含醛的共聚物是多分散的。表 2 中对聚合物提及的峰值不是严格的双峰而是由使用软件 Astra (Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara CA) 从光散射检测器测得的各聚合物存在的宽 Gaussian 峰解卷积得到的。取决于各单体的结构和其可聚合性, 聚合物样品中主要峰的分子量在 25kDa-3300kDa 范围内变化。

[0123] 表 2

含醛的共聚物的分子量表征

SB 编号	聚合物	峰 1 MW (Da) 多分散指数 质量%	峰 2 MW (Da) 多分散指数 质量%
1	聚(HPMA-共聚-MA-ActI) (1:1)	120,200 1.13 29.6	40,330 1.10 73.1
2	聚(HPMA-共聚-MA-ActI) (1:2)	68,070 1.08 27.1	26,940 1.09 72.9
3	聚(HPMA-共聚-MA-ActI) (1:4)	未测定。在进行分析之前聚合物胶凝	
4	聚(磺基甜菜碱-共聚-MA-ActI) (1:1)	467,000 1.44 64.5	89,560 1.09 35.5
5	聚(MPEG <sub>1100</sub> -MA-共聚-MA-ActI) (1:1)	3,353,000 2.12 100	- - -
6	聚(AA-共聚-MA-ActI) (1:1)	47,980 1.13 21.4	14,200 1.17 78.6
7	聚(MPEG <sub>300</sub> -MA-共聚-MA-ActI) (1:1)	1,447,000 1.062 100	- - -
8	聚(NVP-共聚-MA-ActI) (1:1)	399,200 2.18 26.8	38,340 1.09 73.2

[0124] 化验

使用涂覆有本发明共聚物的实施方案的 sensibead 进行 cTnI 化验的一般程序:所有化验都在 DIMENSION® VISTA® 仪器 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark DE) (Siemens) 上进行。简而言之, 将市售 cTnI flex 盒 (Siemens Healthcare Diagnostics 目录编号 #K6421) 的 #8 孔上的盖子刺穿。市售 cTnI 产品使用 LOCI 技术和试剂。将该市售产品的涂覆有葡聚糖的 sensibead 悬浮液吸出并将涂覆有共聚物的 sensibead 悬浮液

(0.7mL, 1.5mg sensibead/mL BSA 洗涤缓冲液) 添加到经清洁的孔中。然后依照与产品一起提供的制造商的使用说明使用校准样作为样品进行 cTnI 化验。对仪器参数、缓冲液制剂或所用试剂的浓度都不进行优化。化验结果总结于下表 3 (SB 1)、表 4 (SB 2)、表 5 (SB 3)、表 6 (SB 4)、表 7 (SB 5)、表 8 (SB 6)、表 9 (SB 7) 和表 10 (SB 8) 中。

[0125] 表 3

使用 SB1 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	6.67	6.69	6.61	6.66	0.04	0.6%
L2	0.48	19.96	20.15	19.68	19.93	0.24	1.2%
L3	4.30	185.09	182.21	182.22	183.17	1.66	0.9%
L4	8.40	418.64	421.13	423.99	421.25	2.68	0.6%
L5	20.70	1339.66	1313.21	1334.42	1329.16	14.08	1.1%
L6	42.90	2848.55	2825.92	2854.27	2842.91	14.99	0.5%

[0126] 表 4

使用 SB2 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	3.46	3.46	3.31	3.41	0.09	2.5%
L2	0.48	16.18	16.17	16.14	16.16	0.02	0.1%
L3	4.30	168.59	168.17	168.73	168.50	0.29	0.2%
L4	8.40	381.76	383.77	387.01	384.18	2.65	0.7%
L5	20.70	1191.47	1188.01	1193.07	1190.85	2.59	0.2%
L6	42.90	2580.13	2556.88	2557.88	2564.96	13.14	0.5%

[0127] 表 5

使用 SB3 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	20.6	20.47	20.24	20.44	0.18	0.9%
L2	0.48	57.25	61.08	55.35	57.89	2.92	5.0%
L3	4.30	427.97	417.57	419.15	421.56	5.60	1.3%
L4	8.40	875.66	870.74	879.83	875.41	4.55	0.5%
L5	20.70	2153.91	2157.21	2162.87	2158.00	4.53	0.2%
L6	42.90	3655.09	3603.63	3639.14	3632.62	26.34	0.7%

[0128] 表 6

使用 SB4 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	3.5	3.12	3.09	3.24	0.23	7.1%
L2	0.48	8.87	8.72	9.02	8.87	0.15	1.7%
L3	4.30	74.68	73.61	73.33	73.87	0.71	1.0%
L4	8.40	167.6	170.81	167.73	168.71	1.82	1.1%
L5	20.70	538.68	533.22	538.89	536.93	3.21	0.6%
L6	42.90	1254.19	1241.71	1232.78	1242.89	10.75	0.9%

[0129] 表 7

使用 SB5 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	5.96	5.98	5.7	5.88	0.16	2.7%
L2	0.48	6.2	6.35	6.2	6.25	0.09	1.4%
L3	4.30	12.79	12.52	12.42	12.58	0.19	1.5%
L4	8.40	20.32	20.72	20.52	20.52	0.20	1.0%
L5	20.70	52.09	52.97	52.27	52.44	0.46	0.9%
L6	42.90	121.84	121.2	121.73	121.59	0.34	0.3%

[0130] 表 8

使用 SB6 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	19.59	19.79	18.24	19.21	0.84	4.4%
L2	0.48	26.82	24.69	26.71	26.07	1.20	4.6%
L3	4.30	81.16	83.34	79.84	81.45	1.77	2.2%
L4	8.40	153.17	142.64	144.11	146.64	5.70	3.9%
L5	20.70	367.98	370.68	329.42	356.03	23.08	6.5%
L6	42.90	685	625.57	677.17	662.58	32.29	4.9%

[0131] 表 9

使用 SB7 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	4.25	4.29	4.72	4.42	0.26	5.9%
L2	0.48	5.37	5.73	5.51	5.54	0.18	3.3%
L3	4.30	19.8	19.47	19.91	19.73	0.23	1.2%
L4	8.40	40.74	40.55	41.37	40.89	0.43	1.0%
L5	20.70	126.38	125.28	123.42	125.03	1.50	1.2%
L6	42.90	317.63	316.73	319.54	317.97	1.43	0.5%

[0132] 表 10

使用 SB8 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	3.55	3.45	3.8	3.60	0.18	5.0%
L2	0.48	9.06	9.07	8.61	8.91	0.26	2.9%
L3	4.30	66.07	65.5	66.3	65.96	0.41	0.6%
L4	8.40	144.2	146	145.83	145.34	0.99	0.7%
L5	20.70	386.51	390.04	383.37	386.64	3.34	0.9%
L6	42.90	727.9	740.82	730	732.91	6.93	0.9%

[0133] 使用 SB 2 和 CB 2 进行 cTnI 化验的一般程序:所有化验都在 DIMENSION® VISTA® 仪器(Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark DE) (Siemens)上进行。简而言之,将市售 cTnI flex 盒的 #8 孔上的盖子刺穿。将涂覆有葡聚糖的 sensibead 悬浮液吸出并将 SB 2 悬浮液(0.7mL, 1.5mg SB 2/mL BSA 洗涤缓冲液)添加到经清洁的孔中。此外,用 CB 2 (0.9mL, 0.19mg CB 2/mL BSA 洗涤缓冲液)替换市售 cTnI 产品的 chemibead。然后依照与产品一起提供的制造商的使用说明使用校准样作为样品进行 cTnI 化验。对仪器参数、缓冲液制剂和所用试剂的浓度都不进行优化。化验结果总结于下表 11 中。

[0134] 表 11

使用 SB 2 和 CB 2 的化验

LOCI 信号(k 计数)

校准样	ng/mL	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	SD	%CV
L1	0.00	15.84	15.86	16.11	15.94	0.15	0.9%
L2	0.48	17.8	17.3	17.91	17.67	0.33	1.8%
L3	4.30	39.62	40.2	39.35	39.72	0.43	1.1%
L4	8.40	70.01	68.5	66.93	68.48	1.54	2.2%
L5	20.70	176.42	177.26	178.42	177.37	1.00	0.6%
L6	42.90	370.14	379.3	381.45	376.96	6.01	1.6%

[0135] 本说明书中引用的所有公开文件和专利申请都通过引用并入本文,如同各单独的公开文件或专利申请明确地且单独地表示通过引用并入一样。

[0136] 尽管已经以说明和示例的方式描述了前述发明的一些细节以用于清楚理解,但是在本发明的教导下对于本领域技术人员而言显而易见地,在不脱离后附权利要求的精神和范围的情况下可以对该发明作出某些改变和更改。此外,前述说明书,为了解释的目的,使用了特定的术语来提供对本发明的彻底理解。然而,对于本领域技术人员而言显而易见地,为了实践本发明并不需要这些特定的细节。因此,前文对本发明的特定实施方案的描述仅呈现用于示例和说明的目的,其并不意于穷举或将本发明限制到所公开的精确形式。结合上述教导可以作出很多改动和变化。实施方案的选择和描述用于解释本发明的构思及其实际应用,从而使本领域技术人员能够使用本发明。

## MAMDMA的合成

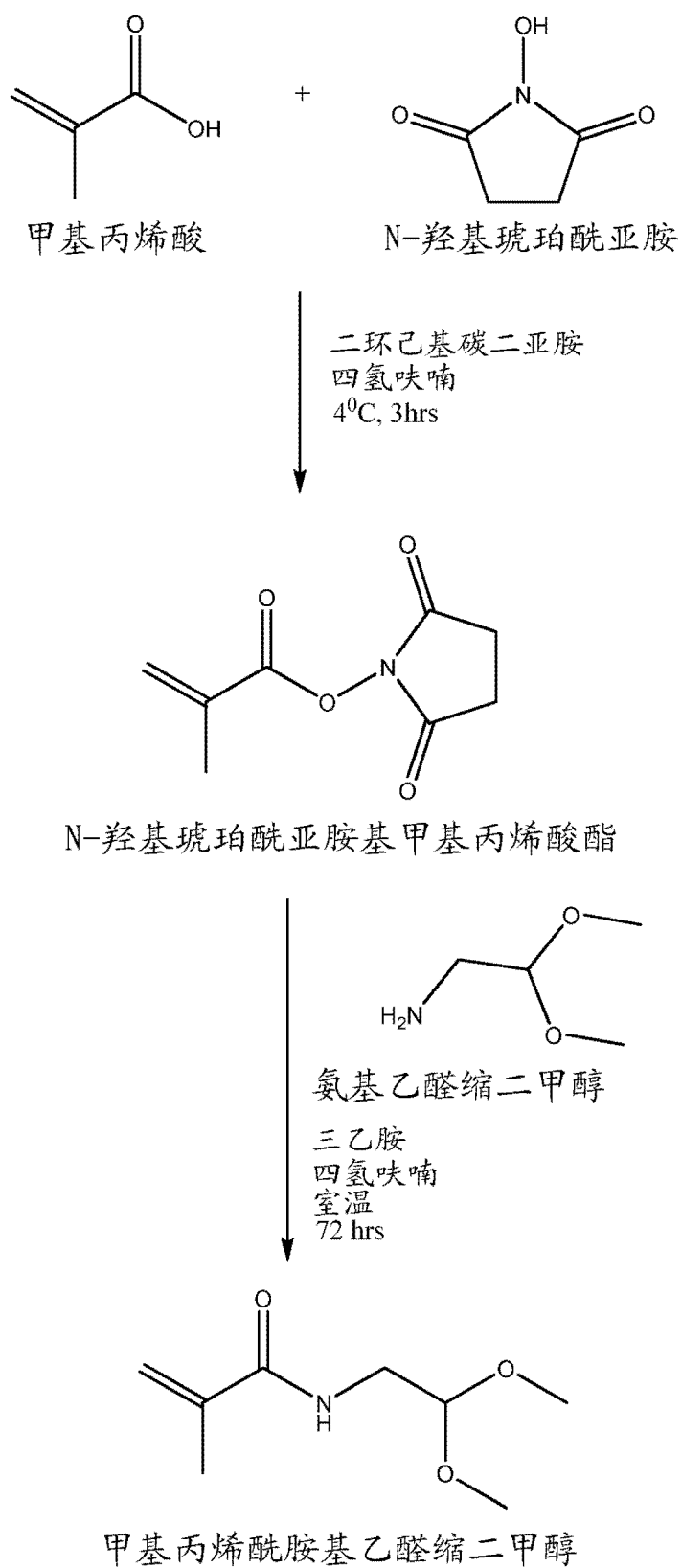


图 1

亲水性单体的进料比: MAMDMA和共聚物结构

SB编号	聚合物	结构
1	聚(HPMA-共聚-MA-Act1) (1:1) <b>HPMA</b> = N-2-羟丙基甲基丙烯酰胺 <b>MA-Act1</b> = 甲基丙烯酰胺基乙醛	
2	聚(HPMA-共聚-MA-Act1) (1:2)	除单体比例之外与1相同
3	聚(HPMA-共聚-MA-Act1) (1:4)	除单体比例之外与1相同
4	聚(磺基甜菜碱-共聚-MA-Act1) (1:1) 磺基甜菜碱=[2-甲基丙烯酰氧基乙基]- 二甲基(3-磺丙基)氢氧化铵	
5	聚(MPEG <sub>1100</sub> -MA-共聚-MA-Act1) (1:2) <b>MPEG<sub>1100</sub></b> = 甲氧基-聚乙二醇 <sub>1100</sub> -甲基丙烯酸酯	
6	聚(AA-共聚-MA-Act1) (1:1) <b>AA</b> = 丙烯酸	

图 2



亲水性单体的进料比: MAMDMA和共聚物结构

SB编号	聚合物 (进料比)	结构
7	聚(MPEG <sub>300</sub> -MA-共聚-MA-Act1) (1:1) <b>MPEG<sub>300</sub>-MA</b> = 甲氧基聚乙二醇 <sub>300</sub> - 甲基丙烯酸酯	
8	聚(NVP-共聚-MA-Act1) (1:1) <b>NVP</b> = N-乙烯基-2-吡咯烷酮	

图 2 续