202328684

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202328684 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 07 月 16 日

(21)申請案號：111132362 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 08 月 26 日

(51)Int. Cl.： *G01N33/543 (2006.01)* *C12M1/34 (2006.01)*

(30)優先權：2021/08/27 日本 2021-139398

(71)申請人：國立大學法人神戶大學 (日本) NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION KOBE UNIVERSITY (JP)
日本

(72)發明人：竹內俊文 TAKEUCHI, TOSHIFUMI (JP) ；砂山博文 SUNAYAMA, HIROBUMI (JP) ；高野恵里 TAKANO, ERI (JP) ；堀川諒 HORIKAWA, RYO (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：12 共 141 頁

(54)名稱

於基板上使粒子不凝集而排列之技術

(57)摘要

本發明提供一種用以於製作分析用感測器時提供有利之基材之新穎技術。

本發明所提供之分析用感測器製作用基材藉由具有特定之特徵(例如單分散、單層或特定密度)，可製作穩定且能夠進行高精度分析之分析用感測器。本發明無需在基材上放置過量之微粒子後再去除多餘者，而改善固定於基材上之微粒子之密度之再現性，並且亦改善單分散性及單層性。

【發明摘要】

【中文發明名稱】

於基板上使粒子不凝集而排列之技術

【中文】

本發明提供一種用以於製作分析用感測器時提供有利之基材之新穎技術。

本發明所提供之分析用感測器製作用基材藉由具有特定之特徵(例如單分散、單層或特定密度)，可製作穩定且能夠進行高精度分析之分析用感測器。本發明無需在基材上放置過量之微粒子後再去除多餘者，而改善固定於基材上之微粒子之密度之再現性，並且亦改善單分散性及單層性。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

於基板上使粒子不凝集而排列之技術

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種用於測定技術之於基板上使粒子不凝集而排列之技術及其應用。更具體而言，本發明係關於一種供支架配置之檢測對象之分析用感測器製作用基材及其製造方法、檢測對象之分析用感測器及其製造方法、以及檢測對象之分析法。

【先前技術】

【0002】 胞外體等小細胞外囊泡(Small Extracellular Vesicles；sEVs)係從細胞釋出之內質網之一，且為直徑20～200 nm之脂質雙膜囊泡。小細胞外囊泡於其內部內包蛋白質、及miRNA、mRNA等核酸，並且於其表面亦具有蛋白質。由於小細胞外囊泡由此種物質賦予了特徵，故認為藉由對小細胞外囊泡之特徵進行解析，可推測所分泌之細胞為何種細胞。又，確認到小細胞外囊泡存在於各種體液中，能夠相對容易地採集。

【0003】 由癌細胞分泌之小細胞外囊泡包含來自腫瘤之物質。因此，期待可藉由對體液中之小細胞外囊泡所含之物質進行解析來診斷癌症。進而，小細胞外囊泡係由細胞主動地分泌者，因此，預測即便為癌症之早期階段，亦會呈現出某些特徵。

【發明內容】

[解決問題之技術手段]

【0004】 本發明提供一種用以於製作分析用感測器時提供有利之基材之新穎技術。若進一步進行特定，本發明中提供之分析用感測器製作用

基材藉由具有特定之特徵(例如單分散、單層或特定密度)，可製作穩定且能夠進行高精度分析之分析用感測器。本發明無需在基材上放置過量之微粒子後再去除多餘者，而改善固定於基材上之微粒子之密度之再現性，並且亦改善單分散性及單層性。於本發明之一較佳之實施方式中，藉由利用基材與粒子之靜電相互作用進行固定化、以及將粒子以單分散及/或單層配置於基材上，可再現性地獲得單分散微粒子固定化基材及/或單層微粒子固定化基材。

【0005】 本發明例如提供以下之項目。

【0006】 (項目A1)

一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材本體、及

B)以單分散配置於該基材本體之粒子。

(項目A2-1)

一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材本體、及

B)將粒子以1×10^3個/mm^2～1×10^8個/mm^2之密度配置於該基材本體之粒子。

(項目A2-2)

一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材本體、及

B)將粒子以1×10^3個/mm^2～1×10^{10}個/mm^2之密度配置於該基材本體之粒子。

(項目A2-3)

如上述項目中任一項記載之分析用感測器製作用基材，其中上述粒子包含分析用感測器所使用之物質。

(項目A3)

如上述項目中任一項記載之分析用感測器製作用基材，其中上述粒子包含與修飾物質一體化之粒子。

(項目A4)

如上述項目中任一項記載之分析用感測器製作用基材，其中上述基材進而包含C)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配對象之凹部；上述粒子配置於該凹部。

(項目B1A)

一種凸型分析用感測器，其包含：A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配對象之凹部，該粒子配置於該凹部；

C)配置於該粒子之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該粒子之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該粒子部以1×10^{3}個/mm^{2}～1×10^{8}個/mm^{2}之密度配置於該基材本體。

(項目B1B)

一種凸型分析用感測器，其包含：A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配對象之凹部，該粒子配置於該凹部；

C)配置於該粒子之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該粒子之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該粒子部以1×10^{3}個/mm^{2}～1×10^{10}個/mm^{2}之密度配置於該基材本體。

(項目B1C)

一種分析用感測器，其包含：A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配對象分子之凹部；

C)配置於該凹部之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該凹部之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該凹部以1×10^3個/mm^2～1×10^8個/mm^2之密度配置於該基材本體。

(項目B1D)

一種分析用感測器，其包含：A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配對象分子之凹部；

C)配置於該凹部之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該凹部之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該凹部以1×10^3個/mm^2～1×10^{10}個/mm^2之密度配置於該基材本體。

(項目B2)

如上述項目中任一項記載之分析用感測器，其中上述凹部以1×10^4個/mm^2～1×10^6個/mm^2之密度存在。

(項目C1A)

一種用於製造凸型分析用感測器製作用基材之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)按粒子以單分散配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；及

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟。

(項目C1)

一種用於製造分析用感測器製作用基材之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)按粒子以單分散配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及

E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟。

(項目C1-1)

如上述項目中任一項記載之方法，其中上述按以單分散配置之方式進行添加之步驟包含以基材每平方mm為1.0×10^{0}個/μL～2.5×10^{8}個/μL之濃度、或1.0×10^{0}個至2.5×10^{8}個之量添加粒子。

(項目C1-2)

如上述項目中任一項記載之方法，其中上述按以單分散配置之方式進行添加之步驟包含以基材每平方mm為1.0×10^{0}個/μL～1.0×10^{10}個/μL之濃度、或1.0×10^{0}個～1.0×10^{10}個之量添加粒子。

(項目C2A)

一種用於製造凸型分析用感測器之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)按粒子以單分散配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及

F)使分析所需之物質結合於上述粒子之步驟。

(項目C2)

一種用於製造分析用感測器之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)按粒子以單分散配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；

E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟；及

F)使分析所需之物質結合於上述凹部之步驟。

(項目C3A-1)

如上述項目中任一項記載之用於製造分析用感測器之方法，其係藉由形成2.0×10^{7}個/mm^{2}以下之密度之凹部，而以80%以上之比率製作變異係數為20%以下之上述分析用感測器。

(項目C3A-2)

如上述項目中任一項記載之用於製造分析用感測器之方法，其係藉由形成1.0×10^{10}個/mm^{2}以下之密度之凹部，而以80%以上之比率製作變異

係數為20%以下之上述分析用感測器。

(項目C3B)

如上述項目中任一項記載之用於製造分析用感測器之方法，其係藉由形成基材上之面積佔有率為最密填充以下之凹部，而以80%以上之比率製作變異係數為20%以下之上述分析用感測器。

(項目C4A)

如上述項目中任一項記載之方法，其中上述以單分散進行配置之步驟包含於基材上以1×10^3個/mm^2～1×10^8個/mm^2之密度配置上述粒子之步驟。

(項目C4B)

如上述項目中任一項記載之方法，其中上述以單分散進行配置之步驟包含於基材上以1×10^3個/mm^2～1×10^{10}個/mm^2之密度配置上述粒子之步驟。

(項目C5A)

如上述項目中任一項記載之方法，其中於上述形成凹部之步驟中，上述經單分散之凹部以1×10^3個/mm^2～1×10^8個/mm^2之密度存在。

(項目C5B)

如上述項目中任一項記載之方法，其中於上述形成凹部之步驟中，上述經單分散之凹部以1×10^3個/mm^2～1×10^{10}個/mm^2之密度存在。

(項目C6)

如上述項目中任一項記載之方法，其中上述配置粒子之步驟包含旋轉塗佈法、將粒子滴至基材上之方法、將基材浸漬於粒子分散液中之方法、自粒子分散液中提拉基材之方法、或將粒子分散液噴霧之方法。

(項目1)

一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材本體、及

B)以單層(Single Layer)之狀態配置於該基材本體之粒子。

(項目2)

如先前項目中任一項記載之分析用感測器製作用基材，其中上述粒子不凝集而配置。

(項目1A)

一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材本體、及

B)不凝集而配置於該基材本體之粒子。

(項目2A)

如先前項目中任一項記載之分析用感測器製作用基材，其中上述粒子為單層(Single Layer)之狀態。

(項目3)

如先前項目中任一項記載之分析用感測器製作用基材，其中上述粒子包含與修飾物質一體化之粒子。

(項目4)

如先前項目中任一項記載之分析用感測器製作用基材，其中上述基材進而包含C)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分、較佳為以作為分析用感測器發揮功能之含義適配上述對象之凹部，上述粒子配置於該凹部。

(項目5)

一種凸型分析用感測器，其包含：A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少

一部分適配檢測對象之凹部，該粒子不凝集而配置於該凹部；

C)配置於該粒子之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該粒子之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該粒子以1×10^{3}個/mm^{2}～1×10^{10}個/mm^{2}之密度配置於該基材本體。

(項目6)

一種分析用感測器，其包含：A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配檢測對象之凹部；

C)配置於該凹部之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該凹部之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該凹部以1×10^{3}個/mm^{2}～1×10^{10}個/mm^{2}之密度不凝集而配置於該基材本體。

(項目7)

如先前項目中任一項記載之分析用感測器，其中上述凹部以1×10^{4}個/mm^{2}～1×10^{6}個/mm^{2}之密度不凝集而存在。

(項目8)

一種用於製造凸型分析用感測器製作用基材之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；及

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有

該聚合物基質之基材之步驟。

(項目9)

一種用於製造分析用感測器製作用基材之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及

E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟。

(項目10)

如先前項目中任一項記載之方法，其中上述以不凝集而配置之方式進行添加之步驟包含以1.0×10^{0}個/μL～1.0×10^{10}個/μL之濃度、或相對於基材之表面積為1.0×10^{0}個/mm^2～1.0×10^{10}個/mm^2之量對基材添加粒子。

(項目11)

一種用於製造凸型分析用感測器之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及

E)使分析所需之物質結合於上述粒子之步驟。

(項目12)

一種用於製造分析用感測器之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；

E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟；及

F)使分析所需之物質結合於上述凹部之步驟。

(項目13)

如先前項目中任一項記載之用於製造分析用感測器之方法，其係藉由形成1.0×10^{10}個/mm^2以下之密度之凹部，而以80%以上之比率製作靶物質檢測中之相對螢光強度變化之變異係數為20%以下之上述分析用感測器。

(項目14)

如先前項目中任一項記載之用於製造分析用感測器之方法，其係藉由形成基材上之面積佔有率為最密填充以下之凹部，而以80%以上之比率製作靶物質檢測中之相對螢光強度變化之變異係數為20%以下之上述分析用感測器。

(項目15)

如先前項目中任一項記載之方法，其中上述不凝集而配置之步驟包含於基材上以1×10^{3}個/mm^2～1×10^{10}個/mm^2之密度配置上述粒子之步驟。

(項目16)

如先前項目中任一項記載之方法，其中上述粒子為單層(Single Layer)之狀態。

(項目17)

如先前項目中任一項記載之方法，其中於上述形成凹部之步驟中，上述凹部以1×10^3個/mm^2～1×10^{10}個/mm^2之密度存在。

(項目18)

如先前項目中任一項記載之方法，其中上述配置粒子之步驟包含旋轉塗佈法、將粒子滴至基材上之方法、將基材浸漬於粒子分散液中之方法、自粒子分散液中提拉基材之方法、或將粒子分散液噴霧之方法。

【0007】 於本發明中，意在上述一個或複數個特徵除了明示之組合以外，還能進一步組合來提供。關於本發明之進一步之實施方式及優點，業者只要視需要閱讀以下之詳細說明來理解便可掌握。

[發明之效果]

【0008】 藉由利用本發明之相關技術，於使用分子壓印技術之利用粒子製作靶分子之空孔的技術中，能夠於基材上形成單分散或單層之空孔，可提昇空孔形成之再現性。本發明之方法於用於製作均一之感測器基材之基礎技術方面佔據重要地位。

【圖式簡單說明】

【0009】 圖1-1表示聚合物E2之NMR圖。

圖1-2表示聚合物E3之NMR圖。

圖1-3表示聚合物E4之NMR圖。

圖1-4a)～1-4d)表示氧化矽粒子與各聚合物E2至E4一體化而成之粒

子之DLS測定結果。

圖1-5a)～1-5d)表示氧化矽粒子與各聚合物E2至E4一體化而成之粒子之Z-電位測定結果。

圖1-6表示氧化矽粒子與聚合物(E2-0)一體化而成之粒子之DLS測定結果及Z-電位測定結果。

圖2-1表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。

圖2-2表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之雜交細胞計數解析結果。

圖3-1表示氧化矽粒子與各聚合物E4一體化而成之粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。

圖3-2表示氧化矽粒子與各聚合物E3一體化而成之粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。

圖4表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。(玻璃基材)

圖5-1表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。(聚苯乙烯粒子)

圖5-2表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。(聚苯乙烯粒子)

圖5-3表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。(聚苯乙烯粒子)

圖5-4表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之雜交細胞計數解析結果。(聚苯乙烯粒子)

圖6-1表示實施例6之粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之觀察

圖像。

圖6-2表示實施例6之基材上之聚合物層聚合後利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。

圖6-3表示實施例6之基材之氧化矽奈米粒子去除後利用螢光顯微鏡獲得之觀察圖像。

圖6-4表示粒子固定化基材之利用螢光顯微鏡獲得之雜交細胞計數解析結果。

圖7表示His-標籤聚合物與氧化矽奈米粒子之複合體經固定化之基板之螢光顯微鏡圖像。

圖8表示陽離子氧化矽奈米粒子與陰離子聚合物Ex8之複合體經固定化之基板之螢光顯微鏡圖像及SEM圖像。

圖9表示使用生物降解性奈米粒子之粒子經固定化之基板之螢光顯微鏡圖像及SEM圖像。

圖10-1表示氧化矽奈米粒子與含有芳香族成分之陽離子聚合物E2P20之複合體經固定化之基板之螢光顯微鏡圖像及SEM圖像。

圖10-2表示聚苯乙烯奈米粒子與含有芳香族成分之陽離子聚合物E2P20之複合體經固定化之基板之螢光顯微鏡圖像。

圖11表示導入有His標籤與硫醇基之氧化矽奈米粒子經固定化之基板之螢光顯微鏡圖像及SEM圖像。

圖12表示未使用粒子而製作之感測器之基材表面之螢光強度變化。

【實施方式】

【0010】 以下，對本發明更詳細地進行說明。

【0011】 於本發明之整體中，應理解為單數形式之表達還包含其複

數形式之概念，除非另有特別提及。因此，應理解為單數形式之表達(例如英語中之「a」、「an」、「the」等)還包含其複數形式之概念，除非另有特別提及。又，於本說明書中，應理解，所使用之用語係以該領域中常用之含義使用，除非另有特別提及。因此，只要未作其他定義，則本說明書中所使用之全部專業用語及科學技術用語具有與本發明所屬之領域之從業者通常理解之含義相同。於產生矛盾之情形時，本發明(包括定義在內)優先。

【0012】(定義)

首先，對本說明書中使用之用語及一般技術進行說明。

【0013】於本說明書中，「基材」係指成為分析用感測器基礎之物質。基材之材料例如可為選自由金屬、金屬氧化物、玻璃、紙(纖維素)、布、二氧化矽、矽及樹脂以及該等之組合所組成之群中之材料。作為金屬，可例舉：金、銀、銅、鋁、鈦、鎢、及鉬等，但並不限定於該等。作為樹脂，可例舉：聚(甲基)丙烯酸酯、聚苯乙烯、ABS(丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物)、聚碳酸酯、聚酯、聚乙烯、聚丙烯、尼龍、聚胺基甲酸酯、矽酮樹脂、氟樹脂、甲基戊烯樹脂、酚樹脂、三聚氰胺樹脂、環氧樹脂、及氯乙烯樹脂等，但並不限定於該等。

【0014】於本說明書中，「單分散」係指分散系中分散相成為均勻大小者，當針對分析用感測器製作用基材等基材進行闡述時，「單分散」係指粒子實質上均勻地配置於基材上。於以單分散進行配置之情形時，有利的是不凝集而配置。作為用於實現單分散之密度，可依據最終之分析用感測器所意圖之目標來變動，較佳為約10^3個/mm^2～約10^8個/mm^2，更佳為約10^4個/mm^2～約10^7個/mm^2，進而較佳為約10^4個/mm^2～約10^6個

/mm^2。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^{7}個/mm^2、約9×10^{6}個/mm^2、約8×10^{6}個/mm^2、約7×10^{6}個/mm^2、約6×10^{6}個/mm^2、約5×10^{6}個/mm^2、約4×10^{6}個/mm^2、約3×10^{6}個/mm^2、約2×10^{6}個/mm^2、約1×10^{6}個/mm^{2}等，作為下限，例如可例舉約1×10^{3}個/mm^2、約2×10^{3}個/mm^2、約3×10^{3}個/mm^2、約4×10^{3}個/mm^2、約5×10^{3}個/mm^2、約6×10^{3}個/mm^2、約7×10^{3}個/mm^2、約8×10^{3}個/mm^2、約9×10^{3}個/mm^2、約1×約10^{4}個/mm^{2}等，或者較佳為約10^{3}個/mm^2～約10^{10}個/mm^2，更佳為約10^{4}個/mm^2～約10^{9}個/mm^2，進而較佳為約10^{4}個/mm^2～約10^{8}個/mm^2。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^{10}個/mm^2、約9×10^{9}個/mm^2、約8×10^{9}個/mm^2、約7×10^{9}個/mm^2、約6×10^{9}個/mm^2、約5×10^{9}個/mm^2、約4×10^{9}個/mm^2、約3×10^{9}個/mm^2、約2×10^{9}個/mm^2、約1×10^{9}個/mm^{2}等，作為下限，例如可例舉約1×10^{3}個/mm^2、約2×10^{3}個/mm^2、約3×10^{3}個/mm^2、約4×10^{3}個/mm^2、約5×10^{3}個/mm^2、約6×10^{3}個/mm^2、約7×10^{3}個/mm^2、約8×10^{3}個/mm^2、約9×10^{3}個/mm^2、約1×約10^{4}個/mm^{2}等。

【0015】於本說明書中，「單層」係指粒子不重疊而成為一層者。於以單層進行配置之情形時，有利的是不凝集而配置。作為用於實現單層之密度，可依據最終之分析用感測器所意圖之目標來變動，較佳為約10^{3}個/mm^2～約10^{8}個/mm^2，更佳為約10^{4}個/mm^2～約10^{7}個/mm^2，進而較佳為約10^{4}個/mm^2～約10^{6}個/mm^2。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^{7}個/mm^2、約9×10^{6}個/mm^2、約8×10^{6}個/mm^2、約7×10^{6}個/mm^2、約6×10^{6}個/mm^2、約5×10^{6}個/mm^2、約4×10^{6}個/mm^2、約3×10^{6}個/mm^2、約2×10^{6}個/mm^2、約1×10^{6}個/mm^{2}等，作為下限，例如可例舉約1×10^{3}個/mm^2、約2×10^{3}個/mm^2、約3×10^{3}個/mm^2、約4×10^{3}個/mm^2、約5×10^{3}個/mm^2、約

6×10^3個/mm^2、約7×10^3個/mm^2、約8×10^3個/mm^2、約9×10^3個/mm^2、約$1\times$約10^4個/mm^2等，或者較佳為約10^3個/mm^2～約10^{10}個/mm^2，更佳為約10^4個/mm^2～約10^9個/mm^2，進而較佳為約10^4個/mm^2～約10^8個/mm^2。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^{10}個/mm^2、約9×10^9個/mm^2、約8×10^9個/mm^2、約7×10^9個/mm^2、約6×10^9個/mm^2、約5×10^9個/mm^2、約4×10^9個/mm^2、約3×10^9個/mm^2、約2×10^9個/mm^2、約1×10^9個/mm^2等，作為下限，例如可例舉約1×10^3個/mm^2、約2×10^3個/mm^2、約3×10^3個/mm^2、約4×10^3個/mm^2、約5×10^3個/mm^2、約6×10^3個/mm^2、約7×10^3個/mm^2、約8×10^3個/mm^2、約9×10^3個/mm^2、約$1\times$約10^4個/mm^2等。

【0016】於本說明書中，所謂「凝集」，當針對粒子進行闡述時，係指複數個粒子藉由相互之引力而聚集，「不存在」「凝集」或「無凝集」係指以此種凝集狀態實質上(即，檢測極限以下)不存在之狀態存在粒子。關於無凝集，代表性地指實質上不存在於利用SEM進行測定時在任意方向上重疊並固定之部分，較佳係指整體之10%以下，更佳為5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1%以下。利用SEM之測定方法如下所述：將測定對象進行真空乾燥後實施金濺鍍，以達到2000倍以上之倍率之方式設定條件。於未能用SEM作出判斷之情形時，可利用原子力顯微鏡進行觀察。若使用本發明之技術，則可使粒子不凝集而配置於基板。

【0017】於本說明書中，「單層(Single Layer)」代表性地指實質上不存在於利用SEM進行測定時三維重疊並固定之部分，較佳係指整體之10%以下，更佳為5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1%以下。是否為單層較佳為藉由如下方式進行判定：取多處位置作為對象，將較佳為n＝5、更佳為n＝10或其以上之位置作為測定對象，並計算其等之平均

值。單層之判斷亦可將測定對象進行真空乾燥後實施金濺鍍，以達到2000倍以上之倍率之方式設定條件，關於單層之判斷，於未能用SEM作出判斷之情形時，亦可利用原子力顯微鏡進行觀察。若使用本發明之技術，則可將粒子以單層配置於基板。

【0018】 於本說明書中，「粒子」係指具有成為於分析用感測器中用於形成設置於基材之凹部之模板之結構的基本物質，可為包含生物體分子之物質，亦可為包含粒子核之物質(例如包含粒子核與修飾物質之物質)。各粒子通常包含分析用感測器所使用之物質。粒子核只要能夠用作分子壓印中之模板，便無特別限定，包括人工製造之無機粒子及有機粒子。於尺寸位於nm範圍之情形時，有時稱為粒子核，但本發明中未嚴格地區分，當稱為粒子核時，只要未意圖尤其限定尺寸來敍述，則理解為亦包括具有更大或更小之核結構者。例如作為無機粒子，可例舉：金屬、金屬之氧化物、氮化物、氟化物、硫化物、硼化物、及其等之複合化合物、以及氫氧磷灰石等，較佳為例舉二氧化矽(氧化矽)。又，作為有機粒子，可例舉：乳膠硬化物、葡聚糖、聚葡萄胺糖、聚乳酸、聚(甲基)丙烯酸、聚苯乙烯、聚伸乙基亞胺等，但並不限定於該等。又，亦可為於生物體分子或粒子核之表面結合有結合性官能基之粒子。作為粒子之尺寸，可依據最終之分析用感測器所意圖之目標來變動，可例舉約1 nm～約100 μm、約1 nm～約20 nm、約20 nm～約500 nm、約50 nm～約200 nm、約100 nm～約500 nm、約1 μm～約10 μm、約10 μm～約100 μm等，但並不限定於此。本發明中使用之粒子亦可為修飾物質與粒子核一體化而成之粒子。

【0019】 於本說明書中，「修飾物質」係具有直接或間接地對分析

用感測器或分析用感測器製造用基材賦予所意圖之功能之用途之物質，為了實現此種功能賦予，可包含各種官能基，或者形成結構內可包含各種官能基之結構。於本發明中，修飾物質有利的是能夠與粒子核相互作用之物質，較佳為利用能夠在不損傷基材之條件下分離之相互作用而可與粒子核一體化、及/或利用能夠在不損傷粒子核之條件下分離之相互作用而可與粒子核一體化的物質。以下物質為修飾物質之代表例，更詳細而言，可例舉本說明書之其他處所進行詳述之聚異丙基丙烯醯胺共聚物、聚(甲基)丙烯醯胺共聚物、聚乳酸衍生物、聚(甲基)丙烯酸共聚物、聚(甲基)丙烯酸甲酯共聚物、聚(甲基)丙烯酸羥基乙酯共聚物、葡萄胺糖衍生物、及聚離胺酸衍生物以及該等之組合等，但並不限定於該等。又，一種或複數種修飾物質亦可與粒子核一體化。

【0020】 於本說明書中，「一體化」通常係指物質彼此成為一個整體，當針對修飾物質及粒子核進行闡述時，只要在分析用感測器或分析用感測器製造用基材之製造時之環境下，處於只有在供於「能夠在不損傷粒子核之條件下分離」及/或「能夠在不損傷基材之條件下分離」之條件之情形時才會解離之狀態，則可藉由任何作用進行一體化。作為此種作用，可例舉共價鍵或非共價鍵。

【0021】 於本說明書中，「分析用感測器所使用之物質」係分析用感測器或其製作過程中直接或間接使用之物質，可例舉包含針對靶物質之特異性結合性分子之結合用基之物質、包含可逆性連結基之物質、訊號物質之結合用基等，但並不限定於該等。

【0022】 於本說明書中，「分析用感測器製作用基材」係指用於製作分析用感測器之任意之基材，形狀及材質只要適於分析用感測器，便可

使用任意者。較佳為，分析用感測器製作用基材係具有凹部之基材，此處，有利的是構成為，藉由對凹部進行特異性結合性分子之結合用基及訊號物質之結合用基修飾，使用者可簡便地對能夠感度更高地對檢測對象進行檢測之感測器進行自設定。於本說明書中，「分析用感測器製作用基材」亦被稱為「測定基材」。

【0023】 於本說明書中，「密度」係指每單位面積存在之物質之個數。例如個/mm^2係指每1 mm^2存在之物質之個數。密度之測定方法為任意，例如可根據利用螢光顯微鏡或電子顯微鏡觀察表面後得到之結果，使用測定裝置附帶之解析軟體或Image J(https：//imagej.nih.gov/ij/)等免費圖像解析軟體之粒子數計測功能來測定密度。

【0024】 於本說明書中，「修飾物質一體化粒子」係指修飾物質與粒子核一體化而成之粒子，且係指具有用以於分子壓印凹部內配置結合用基之基之物質與粒子一體化而成之粒子。

【0025】 於本說明書中，「基」除非有另外指定，否則係指一價基。作為不為一價基之例，可例舉伸烷基(二價)等。又，於本說明書使用時，有時省略用語「基」。

【0026】 於本說明書中，「可逆性連結基」係指切斷(斷鍵)及鍵結具可逆性之直接鍵或二價以上之基。具體例可例舉下述表1A之1-3中所示之基，但並不限定於該等。

【0027】 [表1A-1]

1-1	1-2	1-3	1-4
結合性官能基	對應之結合性官能基	可逆性連結基	可逆部分之鍵樣式
(針對靶分子之特異性結合性分子之結合用基)	(結合性基)	(可逆性連結基)	
(訊號物質之結合用基)	(結合性基)		
硫醇基、二硫基、吡啶二硫基	硫醇基、二硫基、吡啶二硫基	二硫基	共價鍵
二羥基硼基(boronyl)	糖基	硼酸環狀酯	共價鍵
二羥基硼基	順式二醇基	硼酸環狀酯	共價鍵
羰基、醛基	胺基	亞胺鍵基	共價鍵
胺基	羰基、醛基		
羧基	羥基	羧酸酯基	共價鍵
羥基	羧基/羧酸活性酯基		
羧基	硫醇基	羧酸硫酯基	共價鍵
硫醇基	羧基/羧酸活性酯基		
胺氧基	羧基、醛基	肟基	共價鍵
羰基、醛基	胺氧基		
羧基、醛基	羥基	縮醛基	共價鍵
羥基	羧基、醛基		

【0028】 [表1A-2]

金屬錯合物 (Ni-NTA(源自次氮基三乙酸鎳之基)等)	多組胺酸(His)標籤 (6×His、8×His、10×His等)	配位鍵	非共價鍵
鹼性基 (胺基、環狀二級胺基(例如吡咯啶基)、哌啶基、吡啶基、咪唑基、胍基等)	酸性基 (羧基/羧酸活性酯基等)	氫鍵	非共價鍵
羥基			
酸性基	鹼性基		非共價鍵
(羧基等)	(胺基、環狀二級胺基(例如吡咯啶基、哌啶基)、吡啶基、咪唑基、胍基等)、羥基		
芳香族基 (胺基苯基等苯基、胺基萘基等萘基、吡啶基等)	芳香族基 (胺基苯基等苯基、胺基萘基等萘基、吡啶基等)	疏水鍵	非共價鍵
醯肼	羰基、醛基	腙鍵基	共價鍵
羰基、醛基	醯肼		
抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)	生物素(生胞素、脫生物素)	抗生物素蛋白-生物素鍵	非共價鍵
生物素(生胞素、脫生物素)	抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)		
麩胱甘肽(GSH)	麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)	麩胱甘肽(GSH)-麩胱甘肽-S-轉移酶	非共價鍵

【0029】 [表1A-3]

麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)	麩胱甘肽(GSH)	(GST)鍵	
Phos標籤	磷酸根離子	配位鍵	非共價鍵
磷酸根離子	Phos標籤		

【0030】 於本說明書中，「聚合物基質」係指形成基質之聚合物，通常係指單體聚合所形成之物質。有利的是，基質只要在配置於本發明之分析用感測器或分析用感測器用基材時，具有適合感測器之形狀及結構，便可為任何形狀或結構。基質之形狀或結構例如為薄膜狀或球狀(粒子狀)。作為基質之較佳構成，為了儘可能抑制目標以外成分之吸附，基質

之主成分為生物相容性較高者。

【0031】 於本說明書中，「分子壓印聚合物」係指用於分子壓印技術之任意之聚合物(參照Takeuchi. T et. al. Chromatography, 2016, 37 (2), 43-64.)，較佳係指具有對如下靶物質之結合空間的物質識別材料，該靶物質係藉由利用共價鍵及/或非共價形成靶物質或其衍生物與功能性單體之複合體，與交聯劑一併進行聚合後再去除靶物質而獲得。

【0032】 於本說明書中，「有...至少一部分適配對象」係指具有如於用於分析用感測器之情形時能夠實質地進行對象分子之檢測或分析之形狀及/或結構，於用於本發明之分析用感測器之情形時，係指對象分子能夠於凹部內相互作用之形狀。若形成了聚合物基質，則理論上，最佳形狀之大小可能存在於與粒子核之高度之一半以下對應之膜厚範圍內，但不希望受理論限制。

【0033】 於本說明書中，「凹部」係指於用於本發明之分析用感測器之情形時旨在捕捉靶物質而形成之空隙或空孔，較佳係指於分析用感測器中形成之聚合物基質上形成之空孔部。

【0034】 於本說明書中，「結合用基」係指能夠與物質結合之基。例如於本說明書中，可使用訊號物質之結合用基及特異性結合性分子之結合用基等。

【0035】 於本說明書中，「訊號物質之結合用基」係指能夠修飾訊號物質之基。作為訊號物質，可例舉螢光分子、含放射性元素之物質、磁性物質等。基於檢測容易性等之觀點，訊號物質較佳為螢光物質。訊號物質之結合用基例如可例舉表2A之2-1中例舉之結合性官能基。

【0036】 [表2A-1]

2-1	2-2
結合性官能基	對應之結合性官能基
(針對靶分子之特異性結合性分子之結合用基)	(結合性基)
(訊號物質之結合用基結合性基)	(結合性基)
胺基(一價胺基、二價胺基等)	羧酸活性酯基 (使用N-羥基丁二醯亞胺、硝基苯酚、五氟苯酚等之活性酯基；NHS胺基甲酸酯等胺基甲酸活性酯基)；羧基；醛基；異氰酸基；異硫氰酸基；環氧基；馬來醯亞胺基等
胺基	羧基
羧基	胺基
糖基(順式二醇基)	二羥基硼基
二羥基硼基	糖基(順式二醇基)

【0037】 [表2A-2]

硫醇基	馬來醯亞胺基、丙烯酸酯基等缺電子之不飽和碳基；碘乙醯胺基；硫醇基；吡啶二硫基；自由基加成系點擊化學用途之烯烴(乙烯基碸)/炔烴基；用於天然化學連接法之硫酯基等
馬來醯亞胺基、丙烯酸酯基等缺電子之不飽和碳基；碘乙醯胺基；硫醇基；吡啶二硫基；自由基加成系點擊化學用途之烯烴(乙烯基碸)/炔烴基；用於天然化學連接法之硫酯基等	硫醇基
羰基、醛基	胺基
胺基	羰基、醛基
胺氧基	羰基、醛基
羰基、醛基	胺氧基
羰基、醛基	羥基
羥基	羰基、醛基
羥基、酚性羥基	羧酸活性酯基
金屬錯合物 (Ni-NTA(源自次氮基三乙酸鎳之基)等)	多組胺酸(His)標籤 (6×His、8×His、10×His)
醯肼基	羰基、醛基
羰基、醛基	醯肼
抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)	生物素(生胞素、脫生物素)
生物素(生胞素、脫生物素)	抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)
麩胱甘肽(GSH)	麩胱甘肽-S-轉移酶
麩胱甘肽-S-轉移酶	麩胱甘肽(GSH)

【0038】

於本說明書中，「特異性結合性分子之結合用基」係指可結合能夠對靶物質特異性結合之特異性結合性分子的基。針對靶物質之特異性結合性分子之結合用基例如可例舉表3A之2-1中例舉之結合性官能基。

【0039】 [表3A-1]

2-1	2-2
結合性官能基	對應之結合性官能基
(針對靶分子之特異性結合性分子之結合用基)	(結合性基)
(訊號物質之結合用基結合性基)	(結合性基)
胺基(一價胺基、二價胺基等)	羧酸活性酯基 (使用N-羥基丁二醯亞胺、硝基苯酚、五氟苯酚等之活性酯基；NHS胺基甲酸酯等胺基甲酸活性酯基)；羧基；醛基；異氰酸基；異硫氰酸基；環氧基；馬來醯亞胺基等
胺基	羧基
羧基	胺基
糖基(順式二醇基)	二羥基硼基
二羥基硼基	糖基(順式二醇基)
硫醇基	馬來醯亞胺基、丙烯酸酯基等缺電子之不飽和碳基；碘乙醯胺基；硫醇基；吡啶二硫基；自由基加成系點擊化學用途之烯烴(乙烯基碸)/炔烴基；用於天然化學連接法之硫酯基等
馬來醯亞胺基、丙烯酸酯基等缺電子之不飽和碳基；碘乙醯胺基；硫醇基；吡啶二硫基；自由基加成系點擊化學用途之烯烴(乙烯基碸)/炔烴基；用於天然化學連接法之硫酯基等	硫醇基

【0040】 [表3A-2]

羰基、醛基	胺基
胺基	羰基、醛基
胺氧基	羰基、醛基
羰基、醛基	胺氧基
羰基、醛基	羥基
羥基	羰基、醛基
羥基、酚性羥基	羧酸活性酯基
金屬錯合物 (Ni-NTA(源自次氮基三乙酸鎳之基)等)	多組胺酸(His)標籤(6×His、8×His、10×His)
醯肼基	羰基、醛基
羰基、醛基	醯肼
抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)	生物素(生胞素、脫生物素)
生物素(生胞素、脫生物素)	抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)
麩胱甘肽(GSH)	麩胱甘肽-S-轉移酶
麩胱甘肽-S-轉移酶	麩胱甘肽(GSH)

【0041】 於本說明書中，「聚合物基質之原料」係指可藉由反應而形成聚合物基質之原料。一般而言，為了形成聚合物基質，包含至少1種單體與至少1種之適當之聚合起始劑便充足，除該等以外，例如亦可包含追加之單體(可一部分聚合)、追加之聚合起始劑、交聯劑、RAFT(Reversible-addition fragmentation chain transfer，可逆-加成斷裂鏈轉移)劑、觸媒、還原劑或溶劑等。作為單體，可例舉：苯乙烯、N-異丙基丙烯醯胺、2-甲基丙烯醯氧基乙基磷酸膽鹼等，但並不限定於該等。作為聚合起始劑，可例舉：2,2'-偶氮雙(異丁腈)(AIBN)、α-溴異丁酸乙酯等，但並不限定於該等。交聯劑可例舉三聚氰胺化合物、胍胺化合物、甘脲化合物、N,N'-亞甲基雙丙烯醯胺、及(三、四、五、六、聚)乙二醇二甲基丙烯酸酯等，但並不限定於該等。作為RAFT劑，可例舉苯并二硫代酸苄酯、2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷等，但並不限定於該

等。觸媒可例舉$CuBr_2$等，但並不限定於該等。還原劑可例舉抗壞血酸等，但並不限定於該等。作為溶劑，可自通常已知作為溶劑者中無特別限制地選擇，例如可例舉純水、緩衝液、MeOH、EtOH、DMA(dimethyl acetamide，二甲基乙醯胺)及DMF(dimethyl formamide，二甲基甲醯胺)等，但並不限定於該等。

【0042】 於本說明書中，「聚合物基質(之原料)進行聚合」係指於存在聚合物基質之原料之情形時，使聚合物基質(之原料)進行聚合。

【0043】 於本說明書中，「粒子解離之條件」係指藉由對配置於基材上之粒子切斷基材與粒子之相互作用而可將基材與粒子剝離的條件。例如可例舉加溫、冷卻、pH值之調整(酸處理、鹼處理)、利用含有界面活性劑之溶液進行之洗淨、超音波照射、光照射、振盪、及還原處理。

【0044】 於本說明書中，「分析所需之物質」係指可捕捉靶物質並進行檢測之物質。例如可例舉捕捉劑、標識等。捕捉劑係指用以捕捉測定對象之任意之藥劑，例如可例舉抗體、抗體片段、抗體擬抗體、核酸適體(包括DNA、RNA、肽核酸、人工核酸)、磷脂識別蛋白、及凝集素。

【0045】 於本說明書中，「標識」係指用以自另外之渠道識別靶分子或物質之事物(例如物質、能量、電磁波等)。作為此種標識方法，可例舉RI(放射性同位素)法、螢光法、生物素法、化學發光法等。於本發明中，當利用複數種(2種以上)標記物或捕捉其之因子或方法、螢光法進行標記時，藉由螢光發光極大波長互不相同之螢光物質進行標記。螢光發光極大波長之差較佳為10 nm以上。當對配體進行標記時，只要不對功能造成影響，則可使用任意者，作為螢光物質，可例示Alexa™Fluor BODIPY、ATTO、量子點(QDot)及螢光蛋白(GFP(Green Fluorescent

Protein，綠色螢光蛋白)、YFP(Yellow Fluorescent Protein，黃色螢光蛋白)、mCherry等)。Alexa™Fluor係對香豆素、若丹明、螢光素、花青素等進行修飾而得之水溶性螢光色素，係與廣範圍之螢光波長對應之系列，與其他之所屬波長之螢光色素相比，非常穩定且明亮，又，pH敏感性較低。作為螢光極大波長為10 nm以上之螢光色素之組合，可例舉：Alexa™555與Alexa™633之組合、Alexa™488與Alexa™555之組合等。於對核酸進行標記之情形時，只要能與其鹼基部分結合，則可使用任意者，較佳為使用花青色素(例如CyDyeTM系列之Cy3、Cy5等)、若丹明6G試劑、2-乙醯胺基芴(AAF)、AAIF(AAF之碘衍生物)等。作為螢光發光極大波長之差為10 nm以上之螢光物質，例如可例舉Cy5與若丹明6G試劑之組合、Cy3與螢光素之組合、若丹明6G試劑與螢光素之組合等。於本發明中，可利用此種標識對目標對象進行改良以使目標對象能夠由所使用之檢測方法進行檢測。此種改良於該領域中為公知，業者可根據標識及目標對象適當實施此種方法。

【0046】 於本說明書中，「變異係數為XX以下」係指本發明之分析用感測器之靶物質檢測中之變異係數為定值。變異係數可基於標準偏差/平均值進行測定。本發明中，變異係數可為50%以下、40%以下、30%以下、20%以下或10%以下，20%以下可為一較佳之實施方式。變異係數可為基板內及/或基板間之數值，亦可滿足此兩者。

【0047】 於本說明書中，「以YY以上之比率」係指可以YY以上之比率製作具有某一數值以上之性能之本發明之分析用感測器。於本說明書中，性能例如可使用附帶螢光檢測器之自動分注裝置(SYSTEM INSTRUMENTS股份有限公司製造)進行測定，或者使用靶物質檢測中之

變異係數進行測定。於本發明中，較佳為可以80%以上之比率製作。

【0048】 於本說明書中，「基材上(之)XX～YY個/mm^2之密度」係指配置於基材上之粒子或凹部之密度位於XX～YY個/mm^2之範圍。於本說明書中，密度使用螢光顯微鏡或掃描式電子顯微鏡進行測定。

【0049】 於本說明書中，「旋轉塗佈法」係指如下方法：使用藉由使平滑之基材高速旋轉從而利用離心力構成薄膜之裝置，將使粒子分散於溶劑而得之粒子分散液添加於基板上，然後連同基材一併進行旋轉，藉此，將粒子塗佈於基材上。

【0050】 於本說明書中，「將粒子滴至基材上之方法」係指藉由將使粒子分散於溶劑而得之粒子分散液滴至基板上，從而將粒子塗佈於基材上之方法。

【0051】 於本說明書中，「將基材浸漬於粒子分散液中之方法」係指藉由使粒子分散於溶劑而得之粒子分散液浸潤於基板上，從而將粒子塗佈於基材上之方法。

【0052】 於本說明書中，「自粒子分散液中提拉基材之方法」係指藉由將基材自使粒子分散於溶劑而得之粒子分散液中垂直地提拉，從而將粒子塗佈於基材上之方法。

【0053】 於本說明書中，「將粒子分散液噴霧之方法」係指藉由將使粒子分散於溶劑而得之粒子分散液霧狀噴至基材，從而將粒子塗佈於基材上之方法。

【0054】 於本說明書中，「訊號物質」係指能夠檢測出靶物質之物質，可與「標識」含義相同地使用。例如可例舉螢光分子、含放射性元素之物質、磁性物質等。基於檢測容易性等之觀點，訊號物質較佳為螢光物

質。

【0055】 於本說明書中，所謂「特異性」，當針對親和性之方面闡述時，係指對靶分子以比其以外之物質高的親和性進行相互作用，較佳係指不與靶分子以外之物質進行相互作用，後者亦被稱為狹義上之特異性或具選擇性之特異性等。特異性可使用各種分子間相互作用解析裝置進行判定。例如，能夠利用使用表面電漿子共振(SPR)或等溫滴定量熱(ITC)、石英晶體微天平法(QCM)之各種分析裝置進行測定。

【0056】 (較佳之實施方式)

以下，對本發明之較佳之實施方式進行說明。以下提供之實施方式係為了更充分地理解本發明而提供，應理解，本發明之範圍不應限定於以下之記載。因此，業者明確，可參考本說明書中之記載而在本發明之範圍內適當進行改變。又，應理解，本發明之以下之實施方式可單獨使用或將其等組合使用。

【0057】 ＜分析用感測器製作用基材＞

於一態樣中，本發明提供一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材、及B)以單分散配置於該基材之粒子。藉由以具備以單分散配置於粒子之形態製造基材，該基材於穩定性、效率、性能、再現性等方面展現優異之性質。

【0058】 於一態樣中，本發明提供一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材、及B)不凝集而配置於該基材之粒子。藉由以具備不凝集而配置之粒子之形態製造基材，該基材於穩定性、效率、性能、再現性等方面展現優異之性質。

【0059】 於一態樣中，本發明提供一種分析用感測器製作用基材，

其包含A)基材、及B)以單層(Single Layer)之狀態配置於該基材之粒子。藉由以具備以單層(Single Layer)之狀態配置之粒子之形態製造基材，該基材於穩定性、效率、性能、再現性等方面展現優異之性質。

【0060】 於另一態樣中，本發明提供一種分析用感測器製作用基材，其包含A)基材、及B)將粒子以1×10^3個/mm^2～1×10^6個/mm^2之密度配置於該基材之粒子。藉由以具備以特定之密度配置之粒子之形態製造基材，該基材於穩定性、效率、性能、再現性等方面展現優異之性質。

【0061】 本發明中使用之基材之材料例如可為選自由金屬、金屬氧化物、玻璃、紙(纖維素)、布、二氧化矽、矽及樹脂以及該等之組合所組成之群中之材料。作為金屬，可例舉金、銀、銅、鋁、鈦、鎢、鉬等。作為樹脂，可例舉聚(甲基)丙烯酸酯、聚苯乙烯、(丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物)、聚碳酸酯、聚酯、聚乙烯、聚丙烯、尼龍、聚胺基甲酸酯、矽酮樹脂、氟樹脂、甲基戊烯樹脂、酚樹脂、三聚氰胺樹脂、環氧樹脂、氯乙烯樹脂等。

【0062】 本發明中使用之基材亦可為將選自上述材料中之複數種材料組合而形成者。例如，基材亦可為於玻璃或樹脂之表面設置有金屬膜者。又，基材之形狀為板狀及粒子狀均可。較佳例可例舉金基材、玻璃基材、金奈米粒子、二氧化矽粒子(氧化矽粒子、玻璃珠等)等。

【0063】 本發明中使用之粒子可為生物體分子，亦可為粒子核。粒子核只要能夠用作分子壓印中之模板，便無特別限定，可例舉人工製造之無機粒子及有機粒子。作為無機粒子，可例舉：金屬(金、銀、鉑、摻錫氧化銦(ITO)、摻銻氧化錫(ATO)等)、金屬氧化物(氧化鐵、氧化鋁、氧化銅、氧化鈦、氧化鋅、氧化鋯、氧化鈰、氧化鈷等)、石墨烯、氧化石墨

烯、奈米碳管、奈米金剛石、氮化物、氟化物、硫化物、硼化物、及該等之複合化合物、以及氫氧磷灰石等，較佳為例舉二氧化矽(氧化矽)。又，作為有機粒子，可例舉：乳膠硬化物、葡聚糖、聚葡萄胺糖、聚乳酸、聚(甲基)丙烯酸、聚甲基丙烯酸甲酯、PLGA(poly(lactic-co-glycolic acid)聚乳酸-乙醇酸共聚物)、聚苯乙烯、聚伸乙基亞胺等。又，亦可為於生物體分子或粒子核之表面結合有結合性官能基之粒子。

【0064】 存在於本發明之基材表面上之粒子密度能夠藉由適當調整配置粒子時之配置方法、使粒子分散之溶劑、粒子濃度、粒子分散液之量及粒子分散液之溫度等來進行控制。藉由控制存在於基材表面上之粒子密度，亦能夠控制分析感測器凹部之密度，可製作於穩定性、效率、性能等方面展現優異性質之分析用感測器。

【0065】 於一實施方式中，本發明之粒子以較佳為約10^3個/mm^2～約10^8個/mm^2、更佳為約10^4個/mm^2～約10^7個/mm^2、進而較佳為約10^4個/mm^2～約10^6個/mm^2之密度配置修飾物質一體化粒子。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^7個/mm^2、約9×10^6個/mm^2、約8×10^6個/mm^2、約7×10^6個/mm^2、約6×10^6個/mm^2、約5×10^6個/mm^2、約4×10^6個/mm^2、約3×10^6個/mm^2、約2×10^6個/mm^2、約1×10^6個/mm^2等，作為下限，例如可例舉約1×10^3個/mm^2、約2×10^3個/mm^2、約3×10^3個/mm^2、約4×10^3個/mm^2、約5×10^3個/mm^2、約6×10^3個/mm^2、約7×10^3個/mm^2、約8×10^3個/mm^2、約9×10^3個/mm^2、約1×10^4個/mm^2等，或者，以較佳為約10^3個/mm^2～約10^{10}個/mm^2、更佳為約10^4個/mm^2～約10^9個/mm^2、進而較佳為約10^4個/mm^2～約10^8個/mm^2之密度配置。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^{10}個/mm^2、約9×10^9個/mm^2、約8×10^9個/mm^2、約7×10^9個/mm^2、約6×10^9

個/mm^2、約5×10^9個/mm^2、約4×10^9個/mm^2、約3×10^9個/mm^2、約2×10^9個/mm^2、約1×10^9個/mm^2等，作為下限，例如可例舉約1×10^3個/mm^2、約2×10^3個/mm^2、約3×10^3個/mm^2、約4×10^3個/mm^2、約5×10^3個/mm^2、約6×10^3個/mm^2、約7×10^3個/mm^2、約8×10^3個/mm^2、約9×10^3個/mm^2、約1×10^4個/mm^2等。

【0066】 於一實施方式中，本發明中使用之粒子包含分析用感測器所使用之物質。分析用感測器所使用之物質可為測定所需之物質，係指能夠進行檢測之物質。例如可例舉捕捉劑、標識等。捕捉劑係指用以捕捉測定對象之任意之藥劑，例如可例舉抗體、抗體片段、抗體擬抗體、核酸適體(包括DNA、RNA、肽核酸、人工核酸)、磷脂識別蛋白、及凝集素。

【0067】 於較佳之實施方式中，粒子包含與修飾物質一體化之粒子。

【0068】 於另一態樣中，本發明除上述粒子及基材以外，還包含C)視需要之聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配對象之凹部，上述粒子配置於該凹部。應理解，該分析用感測器製作用基材可採用本說明中之其他處所、例如＜分析用感測器＞＜分析用感測器製作用基材製造法＞等項中記載之任意之實施方式。

【0069】 ＜分析用感測器＞

於另一態樣中，本發明提供一種分析用感測器，其包含：A)基材本體；B)視需要之聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配對象之凹部，該粒子配置於該凹部；C)配置於該粒子之訊號物質之結合用基；及D)配置於該粒子之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基。應理解，該感測器可採用本說明中之其他

處所、例如分析用感測器製作用基材等項中記載之任意之實施方式。

【0070】於一實施方式中，本發明中使用之粒子較佳為以10^3個/mm^2～10^8個/mm^2之密度配置於該基材本體。較佳為約10^3個/mm^2～約10^7個/mm^2，更佳為約10^4個/mm^2～約10^7個/mm^2，進而較佳為約10^5個/mm^2～約10^6個/mm^2。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^7個/mm^2、約9×10^6個/mm^2、約8×10^6個/mm^2、約7×10^6個/mm^2、約6×10^6個/mm^2、約5×10^6個/mm^2、約4×10^6個/mm^2、約3×10^6個/mm^2、約2×10^6個/mm^2、約1×10^6個/mm^2等，作為下限，例如可例舉約1×10^3個/mm^2、約2×10^3個/mm^2、約3×10^3個/mm^2、約4×10^3個/mm^2、約5×10^3個/mm^2、約6×10^3個/mm^2、約7×10^3個/mm^2、約8×10^3個/mm^2、約9×10^3個/mm^2、約1×10^4個/mm^2等，或者較佳為以10^{10}個/mm^2之密度配置於該基材本體。較佳為約10^3個/mm^2～約10^9個/mm^2，更佳為約10^4個/mm^2～約10^8個/mm^2，進而較佳為約10^5個/mm^2～約10^7個/mm^2。作為密度之上限，例如可例舉約1×10^{10}個/mm^2、約9×10^9個/mm^2、約8×10^9個/mm^2、約7×10^9個/mm^2、約6×10^9個/mm^2、約5×10^9個/mm^2、約4×10^9個/mm^2、約3×10^9個/mm^2、約2×10^9個/mm^2、約1×10^9個/mm^2等，作為下限，例如可例舉約1×10^3個/mm^2、約2×10^3個/mm^2、約3×10^3個/mm^2、約4×10^3個/mm^2、約5×10^3個/mm^2、約6×10^3個/mm^2、約7×10^3個/mm^2、約8×10^3個/mm^2、約9×10^3個/mm^2、約1×10^4個/mm^2等。於密度低於範圍之情形時，存在無法以足以檢測出檢測對象之充分之感度進行測定，於密度高於範圍之情形時，存在粒子會凝集，無法再現性良好地製作感測器之情形。作為單分散、或未凝集之凹部之較佳之密度，可例舉10^4個/mm^2～10^6個/mm^2。

【0071】＜分析用感測器製作用基材及分析用感測器製造法＞

於另一態樣中，本發明提供一種用於製造分析用感測器製作用基材之方法。該方法包含：A)提供本發明之粒子之步驟；B)按粒子以單分散配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；C)視需要，對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；D)視需要，藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟。

【0072】 於另一態樣中，本發明提供一種用於製造分析用感測器製作用基材之方法。該方法包含：A)提供本發明之粒子之步驟；B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；C)視需要，對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；D)視需要，藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟。

【0073】 於另一態樣中，本發明提供一種用於製造分析用感測器製作用基材之方法。該方法包含：A)提供本發明之粒子之步驟；B)按粒子以單分散配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；C)視需要，對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；D)視需要，藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟。

【0074】 於本發明中，按以單分散及/或不凝集而配置、及/或以單層配置之方式進行添加之步驟較佳為按以單分散及/或不凝集而配置、及/或以單層配置之粒子在使聚合物基質聚合後亦始終保持其狀態之方式進行

添加。藉由提供適當之修飾物質及/或設定適當之條件，而適當地維持或改變分散性，藉此，可於使聚合物基質聚合後亦始終保持其狀態，業者可基於本說明書中之實施例等中記載之內容來適當實施。

【0075】 具體而言，於本發明中，按以單分散及/或不凝集而配置、及/或以單層配置之方式進行添加之步驟包含：對基材以10×10^{0}個/μL～2.5×10^{10}個/μL之濃度、或相對於基材之表面積為1.0×10^{0}個/mm^2～2.5×10^{10}個/mm^2之量添加粒子。作為濃度之上限，例如可例舉：約1×10^{10}個/μL、約9×10^{9}個/μL、約8×10^{9}個/μL、約7×10^{9}個/μL、約6×10^{9}個/μL、約5×10^{9}個/μL、約4×10^{9}個/μL、約3×10^{9}個/μL、約2×10^{9}個/μL、約1×10^{9}個/μL、約9×10^{8}個/μL、約8×10^{8}個/μL、約7×10^{8}個/μL、約6×10^{8}個/μL、約5×10^{8}個/μL、約4×10^{8}個/μL、約3×10^{8}個/μL、約2×10^{8}個/μL、約1×10^{8}個/μL、約1×10^{8}個/μL、約9×10^{7}個/μL、約8×10^{7}個/μL、約7×10^{7}個/μL、約6×10^{7}個/μL、約5×10^{7}個/μL、約4×10^{7}個/μL、約3×10^{7}個/μL、約2×10^{7}個/μL、約1×10^{7}個/μL、約9×10^{6}個/μL、約8×10^{6}個/μL、約7×10^{6}個/μL、約6×10^{6}個/μL、約5×10^{6}個/μL、約4×10^{6}個/μL、約3×10^{6}個/μL、約2×10^{6}個/μL、約1×10^{6}個/μL、約9×10^{5}個/μL、約8×10^{5}個/μL、約7×10^{5}個/μL、約6×10^{5}個/μL、約5×10^{5}個/μL、約4×10^{5}個/μL、約3×10^{5}個/μL、約2×10^{5}個/μL、約1×10^{5}個/μL等，作為下限，例如可例舉：約1×10^{0}個/μL、約2×10^{0}個/μL、約3×10^{0}個/μL、約4×10^{0}個/μL、約5×10^{0}個/μL、約6×10^{0}個/μL、約7×10^{0}個/μL、約8×10^{0}個/μL、約9×10^{0}個/μL、約1×10^{1}個/μL、約2×10^{1}個/μL、約3×10^{1}個/μL、約4×10^{1}個/μL、約5×10^{1}個/μL、約6×10^{1}個/μL、約7×10^{1}個/μL、約8×10^{1}個/μL、約9×10^{1}個/μL、約1×10^{2}個/μL、約2×10^{2}個/μL、約3×10^{2}個/μL、約4×10^{2}個/μL、約5×10^{2}個/μL、約6×10^{2}個

/μL、約7×10^2個/μL、約8×10^2個/μL、約9×10^2個/μL、約1×10^3個/μL、約2×10^3個/μL、約3×10^3個/μL、約4×10^3個/μL、約5×10^3個/μL、約6×10^3個/μL、約7×10^3個/μL、約8×10^3個/μL、約9×10^3個/μL、約1×10^4個/μL、約2×10^4個/μL、約3×10^4個/μL、約4×10^4個/μL、約5×10^4個/μL、約6×10^4個/μL、約7×10^4個/μL、約8×10^4個/μL、約9×10^4個/μL、約1×10^5個/μL等。作為每單位mm^2之表面積之基材上之量之上限，例如可例舉：約1×10^{10}個/mm^2、約9×10^9個/mm^2、約8×10^9個/mm^2、約7×10^9個/mm^2、約6×10^9個/mm^2、約5×10^9個/mm^2、約4×10^9個/mm^2、約3×10^9個/mm^2、約2×10^9個/mm^2、約1×10^9個/mm^2、約9×10^8個/mm^2、約8×10^8個/mm^2、約7×10^8個/mm^2、約6×10^8個/mm^2、約5×10^8個/mm^2、約4×10^8個/mm^2、約3×10^8個/mm^2、約2×10^8個/mm^2、約1×10^8個/mm^2、約1×10^8個/mm^2、約9×10^7個/mm^2、約8×10^7個/mm^2、約7×10^7個/mm^2、約6×10^7個/mm^2、約5×10^7個/mm^2、約4×10^7個/mm^2、約3×10^7個/mm^2、約2×10^7個/mm^2、約1×10^7個/mm^2、約9×10^6個/mm^2、約8×10^6個/mm^2、約7×10^6個/mm^2、約6×10^6個/mm^2、約5×10^6個/mm^2、約4×10^6個/mm^2、約3×10^6個/mm^2、約2×10^6個/mm^2、約1×10^6個/mm^2、約9×10^5個/mm^2、約8×10^5個/mm^2、約7×10^5個/mm^2、約6×10^5個/mm^2、約5×10^5個/mm^2、約4×10^5個/mm^2、約3×10^5個/mm^2、約2×10^5個/mm^2、約1×10^5個/mm^2等，作為下限，例如可例舉：約1×10^0個/mm^2、約2×10^0個/mm^2、約3×10^0個/mm^2、約4×10^0個/mm^2、約5×10^0個/mm^2、約6×10^0個/mm^2、約7×10^0個/mm^2、約8×10^0個/mm^2、約9×10^0個/mm^2、約1×10^1個/mm^2、約2×10^1個/mm^2、約3×10^1個/mm^2、約4×10^1個/mm^2、約5×10^1個/mm^2、約6×10^1個/mm^2、約7×10^1個/mm^2、約8×10^1個/mm^2、約9×10^1個/mm^2、約1×10^2個/mm^2、約2×10^2個/mm^2、約

3×10^2個/mm^2、約4×10^2個/mm^2、約5×10^2個/mm^2、約6×10^2個/mm^2、約7×10^2個/mm^2、約8×10^2個/mm^2、約9×10^2個/mm^2、約1×10^3個/mm^2、約2×10^3個/mm^2、約3×10^3個/mm^2、約4×10^3個/mm^2、約5×10^3個/mm^2、約6×10^3個/mm^2、約7×10^3個/mm^2、約8×10^3個/mm^2、約9×10^3個/mm^2、約1×10^4個/mm^2、約2×10^4個/mm^2、約3×10^4個/mm^2、約4×10^4個/mm^2、約5×10^4個/mm^2、約6×10^4個/mm^2、約7×10^4個/mm^2、約8×10^4個/mm^2、約9×10^4個/mm^2、約1×10^5個/mm^2等。作為一實施方式，上限可為1.0×10^{10}個/(μL・mm^2)～1.0×10^4個/(μL・mm^2)，下限可為1.0×10^0個/(μL・mm^2)～1.0×10^4個/(μL・mm^2)。

【0076】於本發明中，將粒子配置於基材之步驟可利用任意之方法實施，例如藉由將本發明之粒子分散於溶液中，並滴至基材上，然後靜置或進行旋轉塗佈來配置。

【0077】於本發明中，對固定有粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟可利用任意之方法實施，例如可藉由添加聚合性單體，並提供粒子或源自功能性單體之聚合性官能基及聚合性單體作為基質來實施。

【0078】於本發明中，聚合物基質之原料只要為適於所欲進行之分析之材料，則亦可使用任何物質。一般而言，為了形成聚合物基質，聚合物基質之原料包含至少1種單體與至少1種之適當之聚合起始劑便充足，除該等以外，例如亦可包含追加之單體(可一部分聚合)、追加之聚合起始劑、交聯劑、RAFT劑、觸媒、還原劑或溶劑等。作為單體，可例舉：苯乙烯、N-異丙基丙烯醯胺、2-甲基丙烯醯氧基乙基磷酸膽鹼等，但並不限定於該等。作為聚合起始劑，可例舉：2,2'-偶氮雙(異丁腈)(AIBN)、α-溴異丁酸乙酯等，但並不限定於該等。交聯劑可例舉三聚氰胺化合物、胍胺

化合物、甘脲化合物、N,N'-亞甲基雙丙烯醯胺、及(三、四、五、六、聚)乙二醇二甲基丙烯酸酯等，但並不限定於該等。作為RAFT劑，可例舉苯并二硫代酸苄酯、2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷等，但並不限定於該等。觸媒可例舉$CuBr_2$等，但並不限定於該等。還原劑可例舉抗壞血酸等，但並不限定於該等。作為溶劑，可自通常已知作為溶劑者中無特別限制地選擇，例如可例舉純水、緩衝液、MeOH、EtOH、DMA及DMF等，但並不限定於該等。應理解，粒子、及將粒子以單分散及/或不凝集而配置、及/或以單層配置於基材之步驟可採用本說明中之其他處所、例如＜分析用感測器＞＜分析用感測器製作用基材製造法＞等項中記載之任意之實施方式。

【0079】 於本發明中，藉由將該基材供於聚合物基質進行聚合之條件而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟可利用任意之方法實施，例如添加聚合性單體，將粒子或源自功能性單體之聚合性官能基及聚合性單體作為基質，將聚合起始性基作為聚合性起始劑，而合成位於本發明之粒子之局部表面之分子壓印聚合物。藉此，可於基材表面形成具有凹部之聚合物基質。

【0080】 於本發明中，藉由供於該粒子自基材解離之條件而形成凹部之步驟可藉由任意之步驟來實施，例如可使可逆性連結基斷鍵，而將本發明之粒子去除。

於本發明之實施例中，以下之表中所示之例中之多個例得到了證實。

[表11A-1]

1-1	1-2	1-3	1-4
結合性官能基	對應之結合性官能基	可逆性連結基	可逆部分之鍵樣式
(針對靶分子之特異性結合性分子之結合用基)	(結合性基)	(可逆性連結基)	
(訊號物質之結合用基)	(結合性基)		
硫醇基、二硫基、吡啶二硫基	硫醇基、二硫基、吡啶二硫基	二硫基	共價鍵
二羥基硼基	糖基	硼酸環狀酯	共價鍵
二羥基硼基	順式二醇基	硼酸環狀酯	共價鍵
羰基、醛基	胺基	亞胺鍵基	共價鍵
胺基	羰基、醛基		
羧基	羥基	羧酸酯基	共價鍵
羥基	羧基/羧酸活性酯基		
羧基	硫醇基	羧酸硫酯基	共價鍵
硫醇基	羧基/羧酸活性酯基		
胺氧基	羧基、醛基	肟基	共價鍵
羰基、醛基	胺氧基		
羧基、醛基	羥基	縮醛基	共價鍵
羥基	羧基、醛基		

【0081】 [表11A-2]

金屬錯合物 (Ni-NTA(源自次氮基三乙酸鎳之基)等)	多組胺酸(His)標籤 (6×His、8×His、10×His等)	配位鍵	非共價鍵
鹼性基 (胺基、環狀二級胺基(例如吡咯啶基)、哌啶基、吡啶基、咪唑基、胍基等)	酸性基 (羧基/羧酸活性酯基等)	氫鍵	非共價鍵
羥基			
酸性基	鹼性基		非共價鍵
(羧基等)	(胺基、環狀二級胺基(例如吡咯啶基、哌啶基)、吡啶基、咪唑基、胍基等)、羥基		
芳香族基 (胺基苯基等苯基、胺基萘基等萘基、吡啶基等)	芳香族基 (胺基苯基等苯基、胺基萘基等萘基、吡啶基等)	疏水鍵	非共價鍵
醯肼	羰基、醛基	腙鍵基	共價鍵
羰基、醛基	醯肼		
抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)	生物素(生胞素、脫生物素)	抗生物素蛋白-生物素鍵	非共價鍵
生物素(生胞素、脫生物素)	抗生物素蛋白(中性抗生物素蛋白、鏈黴抗生物素蛋白)		
麩胱甘肽(GSH)	麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)	麩胱甘肽(GSH)-麩胱甘肽-S-轉移酶	非共價鍵

【0082】 [表11A-3]

麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)	麩胱甘肽(GSH)	(GST)鍵	
Phos標籤	磷酸根離子	配位鍵	非共價鍵
磷酸根離子	Phos標籤		

【0083】 於另一態樣中，本發明提供一種用於製造分析用感測器之方法。該方法包含：A)提供粒子之步驟；B)按粒子以單分散配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；C)視需要，對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；D)視需要，藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；E)藉由

供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟；及F)使分析所需之物質結合於上述凹部之步驟。應理解，粒子、將粒子以單分散配置於基材之步驟、聚合物基質進行聚合之條件、及粒子解離之條件可採用本說明中之其他處所、例如＜分析用感測器＞＜分析用感測器製作用基材＞等項中記載之任意之實施方式。

【0084】 於另一態樣中，本發明提供一種用於製造分析用感測器之方法。該方法包含：A)提供粒子之步驟；B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；C)視需要，對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；D)視需要，藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟；及F)使分析所需之物質結合於上述凹部之步驟。應理解，粒子、使粒子不凝集而配置於基材之步驟、聚合物基質進行聚合之條件、及粒子解離之條件可採用本說明中之其他處所、例如＜分析用感測器＞＜分析用感測器製作用基材＞等項中記載之任意之實施方式。

【0085】 於另一態樣中，本發明提供一種用於製造分析用感測器之方法。該方法包含：A)提供粒子之步驟；B)以將粒子以單層配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；C)視需要，對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；D)視需要，藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟；及F)使分析所需之物質結合於上述凹部之步驟。應理解，粒子、將粒子以單層配置於基材之步驟、聚合物基質進行聚合之條件、及粒子解離之條件可採用本說明中之其

他處所、例如＜分析用感測器＞＜分析用感測器製作用基材＞等項中記載之任意之實施方式。

【0086】 於一實施方式中，使分析所需之物質結合於上述凹部之步驟可利用任意之方法實施，例如可藉由對利用還原而於凹部內生成之斷鍵之可逆性連結基進行特異性結合性分子之結合用基及訊號物質之結合用基修飾來實施。

【0087】 於一實施方式中，本發明提供一種用於製造本發明之分析用感測器之方法，其係藉由形成2.0×10^{7}個/mm^2以下之密度之凹部，而製作變異係數為一定之基準值(例如20%)以下之上述分析用感測器。變異係數係存在於基板內及基板間之數值，至少任一位置之數值為20%以下即可，較佳為以其兩者為20%以下來製作。

【0088】 作為以單分散且不凝集而配置、及/或單層配置之步驟中之粒子密度，可為約10^{3}個/mm^2～約10^{8}個/mm^2，較佳為約10^{3}個/mm^2～約10^{7}個/mm^2，更佳為約10^{4}個/mm^2～約10^{7}個/mm^2，或者可為約10^{3}個/mm^2～約10^{10}個/mm^2，較佳為約10^{3}個/mm^2～約10^{9}個/mm^2，更佳為約10^{4}個/mm^2～約10^{8}個/mm^2。於一實施方式中，以單分散及/或不凝集而配置、及/或以單層進行配置之步驟包含於基材上以10^{3}個/mm^2～10^{10}個/mm^2之密度配置本發明之粒子之步驟。作為配置於基材上之粒子之較佳密度，可例舉10^{4}個/mm^2～10^{7}個/mm^2。此處之密度可基於利用螢光顯微鏡或掃描式電子顯微鏡之表面觀察來確認密度。

【0089】 於一實施方式中，提供一種於形成凹部之步驟中，以10^{3}個/mm^2～10^{10}個/mm^2之密度存在本發明之經單分散或未凝集之凹部的方法。作為配置於基材上之凹部之較佳密度，可例舉10^{3}個/mm^2～10^{7}個

/mm^2。又，此處之密度可基於利用螢光顯微鏡或掃描式電子顯微鏡之表面觀察來確認密度。

【0090】 於一實施方式中，以單分散及/或不凝集而配置、及/或以單層進行配置之步驟可利用任意之方法實施，例如包含：利用旋轉塗佈法、滴至基材上之方法、浸漬於粒子分散液中之方法、自粒子分散液中提拉基材之方法、以噴霧方式進行散佈(塗佈)之方法、或用噴墨印表機進行印刷之方法來配置粒子之步驟。

【0091】 (分析用感測器之製造例)

用於製造分析用感測器之步驟可以如下方式實施。藉由將本發明之粒子分散於溶液中，滴至基材上，然後靜置或進行旋轉塗佈來配置。添加聚合性單體，並提供粒子或源自功能性單體之聚合性官能基及聚合性單體作為基質。使用聚合起始性基作為聚合性起始劑，合成位於本發明之粒子之局部表面之分子壓印聚合物。藉此，於基材表面形成具有凹部之聚合物基質。藉由削弱(或解離)粒子核與修飾物質間之相互作用，而去除本發明之粒子。對存在(或露出)於凹部內之可逆性連結基進行特異性結合性分子之結合用基及訊號物質之結合用基修飾。

【0092】 (用途)

本發明之分析用感測器可用於檢測對象之感測。作為更具體之用途，可根據具特異性之結合性基之種類來決定，例如可用於基於腎功能、肝功能、炎症之有無或程度；腫瘤之有無或程度等的之診斷目的或治療監測等目的。

【0093】 本發明之分析用感測器可用於以下之用途。

【0094】 可利用於：測定對象之體內(in vivo)/體外(in vitro)成像或

治療用途、

人體或環境中之病毒感測、及

食品、農作物、家畜等之分析。

【0095】 以上，示出較佳之實施方式對本發明進行了說明以便容易理解。以下，基於實施例對本發明進行說明，但上述之說明及以下之實施例僅以例示之目的提供，並非以限定本發明之目的提供。因此，本發明之範圍既不受本說明書中具體記載之實施方式限定，亦不受實施例限定，而僅由申請專利範圍限定。

[實施例]

【0096】 本實施例中，對本發明之化合物之製造、用途相關之實施例進行說明。

再者，細胞之顯微鏡觀察使用CKX31(OLYMPUS, Tokyo, Japan)，離心分離器使用KUBOTA 2800(KUBOTA, Tokyo, Japan)，保溫箱使用水套式二氧化碳培養箱(CO2 WATER JACKETED INCUBATOR)(Thermo Fisher Scientific Inc, Massachusetts, USA)，高壓釜使用KS-243(TOMY SEIKO Co, Ltd., Tokyo, Japan)，清潔台使用無菌清潔台(ORIENTAL GIKEN INC, Tokyo, Japan)。胞外體濃度測定使用qNano Gold(Izon Science Ltd., Christchurch, New Zealand)。又，金基材之UV臭氧處理使用UV Ozone Cleaner(BioForce Nanosciences, Inc.)，螢光測定使用附帶SIC自動分注裝置(SYSTEM INSTRUMENTS Co., Ltd., Tokyo, Japan)之螢光顯微鏡(Olympus Corporation, Tokyo, Japan)及作為分光學軟體之Andor SOLIS(Andor Technology Ltd, Belfast, Northern Ireland)。

【0097】 又，MALDI-TOF-MS(Matrix Assisted Laser Desorption

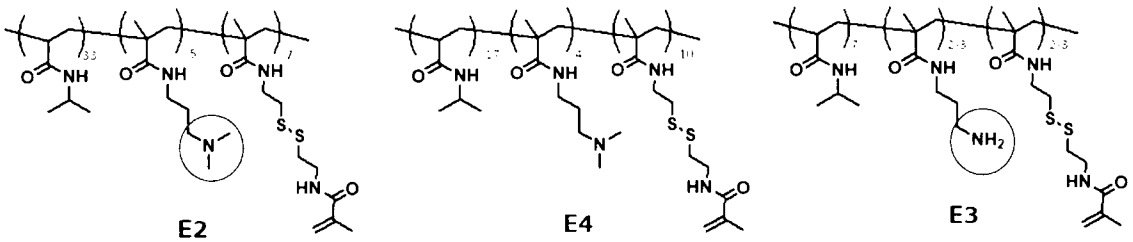
Ionization-Time of Flight-Mass Spectrometry，基質輔助雷射脫附/游離-飛行時間-質譜)使用MALDI-TOF/MS(MALDI-7090，島津製作所)，解析軟體使用(MALDI Solutions，島津製作所)，校準使用蛋白質校正標準I(protein calibration standard I)(Bruker公司)。基質使用芥子酸。CD光譜使用J-725型圓二色性分散計(日本分光, Tokyo, Japan)。為了製備緩衝液，利用桌上pH計F-52(HORIBA, Kyoto, JAPAN)測定pH值。螢光光譜測定使用日立高新技術製造之螢光分光光度計(Fluorescence spectrophotometer)F-2500(Tokyo, Japan)進行。用於超濾之超濾膜使用Amicon Ultra-4(10kDa)。吸收光譜測定使用Thermo ScientificTM Nano drop TM One超微量紫外可視分光光度計(Thermo Fisher)。所製作之粒子之平均粒徑及多分散指數(PDI)係利用ZETASIZER NANO-ZS MAL500735(Malvern, UK)藉由動態光散射法(Dynamic Light Scattering，DLS)進行測定，解析軟體使用Zetasizer軟體。TEM解析使用穿透式電子顯微鏡(JEM-1230，日本電子製造)。

【0098】(實施例1：修飾物質之合成)

1.實驗操作

1-1.聚合物之合成

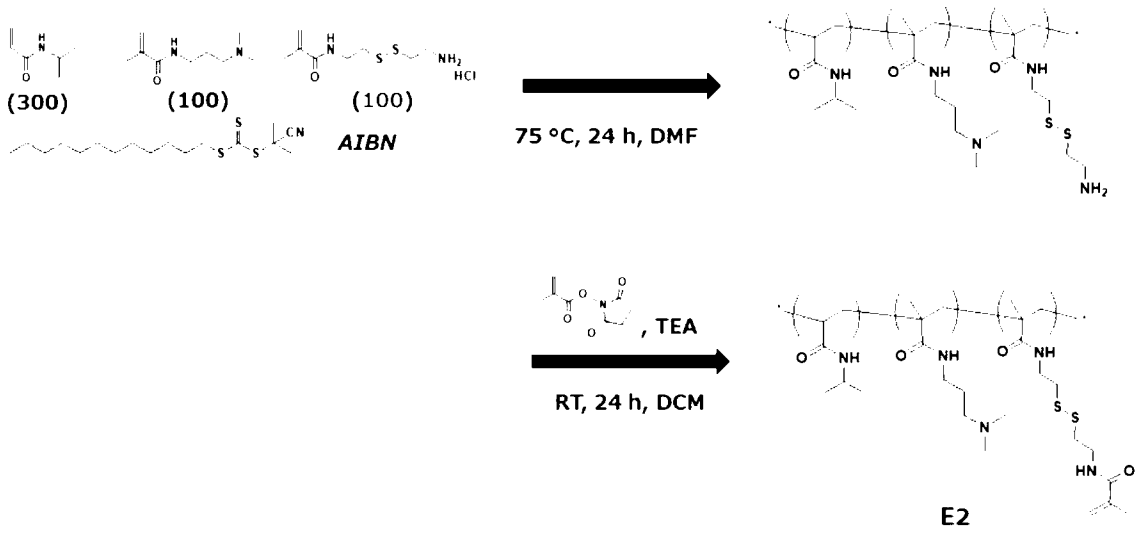
【0099】[化1]



合成之各種陽離子性聚合物

【0100】1-1-1.聚合物E2之合成

【0101】 [化2]



流程1.聚合物E2合成流程

【0102】 將表1-1所示之配方之試劑溶解於DMF(2 mL)，進行脫氣氬氣置換後，於油浴(75℃)中進行24小時聚合反應。將反應後之溶液冷卻，使之與空氣接觸，藉此使反應停止，然後將反應溶液滴至二乙醚中，藉此產生沈澱，並回收該沈澱。將該操作重複進行2次。對回收之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得聚合物(E2-0)。(產量：100 mg)

將所獲得之聚合物100 mg分散於二氯甲烷/二噁烷＝1/1(v/v)溶液(10 mL)中，向其中添加甲基丙烯酸N-丁二醯亞胺酯92 mg(0.5 mmol)、三乙胺(TEA)140 μL(1.0 mmol)，於室溫下攪拌24小時。將反應後之溶劑利用蒸發器減壓蒸餾去除，向殘渣中添加少量之二氯甲烷，進而添加過量之己烷而產生沈澱，回收由此產生之沈澱(進行2次該操作)。對所獲得之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得聚合物E2。(產量：101 mg)

基於^{1}H-NMR(DMSO-d6中)(AVANCE-500，Bruker)，對所獲得之聚合物E2推定組成。(圖1-1)

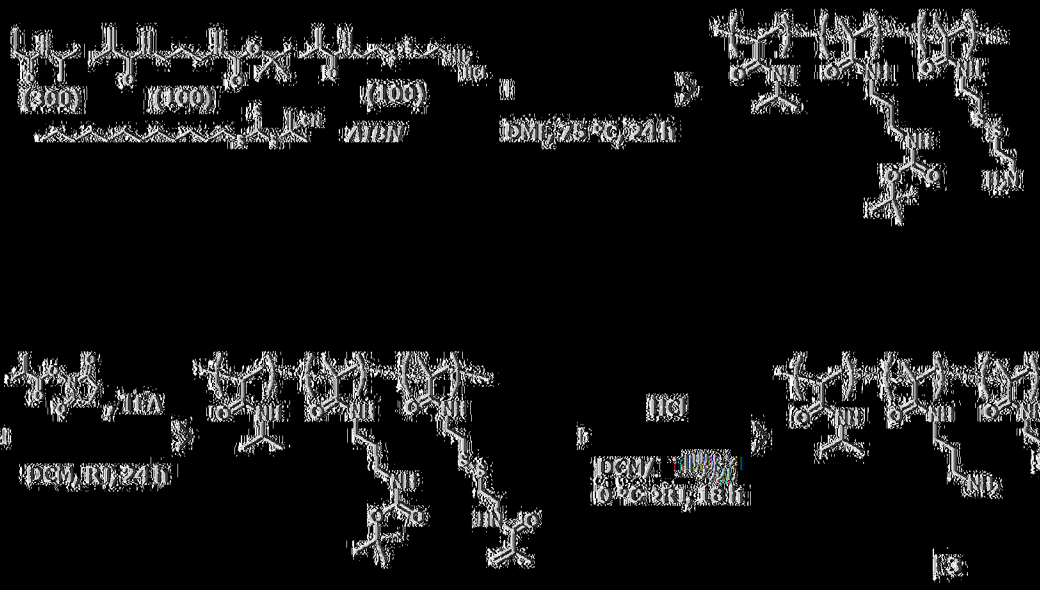
|(0103)| [表1-1]

表1-1聚合物E2合成配方

	試樣	濃度
主原料	N-異丙基丙烯醯胺(NIPAm)	300 mM
陽離子性部分	N-(3-二甲胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	100 mM
修飾部位	Cys-甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	100 mM
RAFT劑	2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	12.5 mM
起始劑	2,2'-偶氮雙(異丁腈)(AIBN)	6.25 mM
溶劑	DMF	2 mL

|(0104)| 1-1-2.聚合物E3之合成

|(0105)| [化3]



流程2.聚合物E3合成流程

|(0106)| 將表1-2所示之配方之試劑溶解於DMF(2 mL)，進行脫氣氬氣置換後，於油浴(75℃)中進行24小時聚合反應。將反應後之溶液冷卻，使之與空氣接觸，藉此使反應停止，然後將反應溶液滴至二乙醚中，藉此產生沈澱，並回收該沈澱。將該操作重複進行2次。對回收之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得聚合物。(產量：105 mg)

將該聚合物分散於二氯甲烷(10 mL)中，向其中添加甲基丙烯酸N-丁二醯亞胺酯110 mg(0.6 mmol)、三乙胺(TEA)140 μL(1.0 mmol)，於室溫

下攪拌24小時。向反應後之溶液中添加過量之己烷而產生沈澱，回收由此產生之沈澱(進行2次該操作)。對所獲得之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得聚合物E3。(產量：115 mg)將所獲得之聚合物分散於二氯甲烷(6 mL)中，向其中添加含4N HCl之二噁烷1.0 mL，於冰浴冷卻下攪拌2小時。其後於室溫下進而攪拌一夜。向反應後溶液中添加己烷而產生沈澱，回收所產生之沈澱。向回收之沈澱中添加少量之二氯甲烷，進而添加過量之己烷洗淨沈澱。對回收之沈澱進行真空乾燥。(產量：105 mg)

基於^{1}H-NMR(DMSO-d6中)(AVANCE-500，Bruker)，對所獲得之聚合物E3推定組成。(圖1-2)

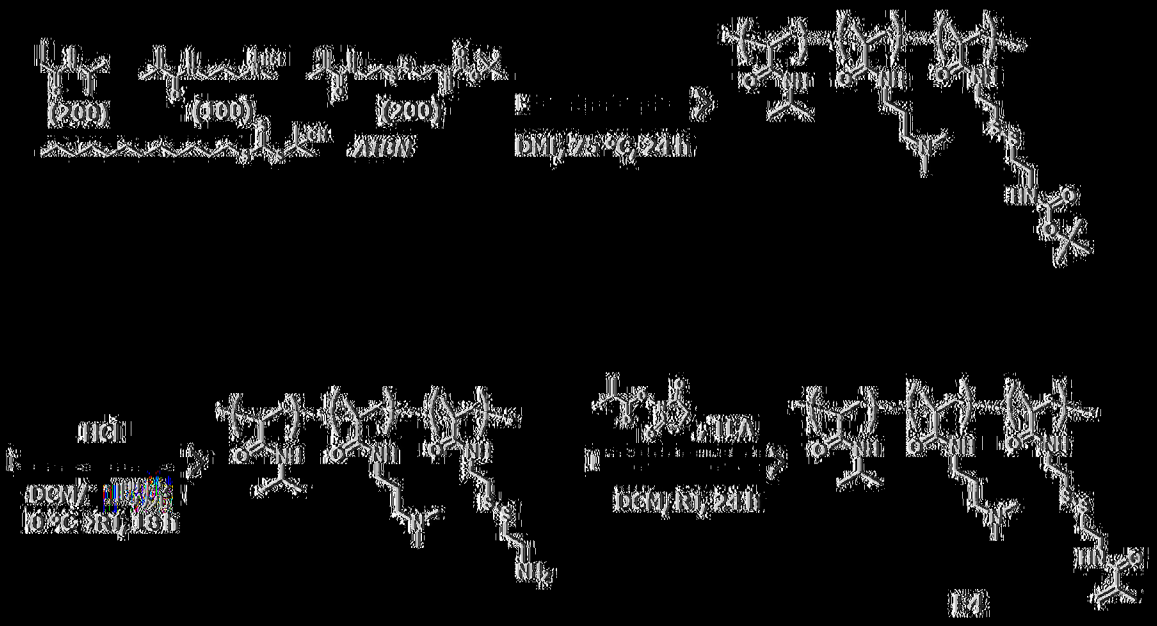
【0107】 [表1-2]

表1-2聚合物E3合成配方

	試樣	濃度
主原料	N-異丙基丙烯醯胺(NIPAm)	300 mM
陽離子性部位	N-Boc-(3-胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	100 mM
修飾部位	Cys-甲基丙烯醯胺	100 mM
RAFT劑	2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	12.5 mM
起始劑	2,2'-偶氮雙(異丁腈)(AIBN)	6.25 mM
溶劑	DMF	2 mL

【0108】 1-1-3.聚合物E4之合成

【0109】 [化4]



流程3.紫合物E4合成流程

[0110] 將表1-3所示之配方之試劑溶解於DMF(2 mL)，進行脫氣氬氣置換後，於油浴(75℃)中進行24小時紫合反應。將反應後之溶液冷卻，使之與空氣接觸，藉此使反應停止，然後將反應溶液滴至二乙醚中，藉此產生沈澱，並回收該沈澱。將該操作重複進行2次。對回收之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得紫合物。(產量：70 mg)

[0111] 將所獲得之紫合物分散於二氯甲烷(10 mL)中，向其中添加含4N HCl之二噁烷1.0 mL，於冰浴冷卻下攪拌2小時。其後於室溫下進而攪拌一夜。向反應後溶液中添加己烷而產生沈澱，回收所產生之沈澱。向回收之沈澱中添加少量之二氯甲烷，進而添加過量之己烷洗淨沈澱。對回收之沈澱進行真空乾燥。其後，將該紫合物分散於二氯甲烷(10 mL)中，向其中添加甲基丙烯酸N-[3-(二甲胺基)丙基]醯胺酐73 mg(0.4 mmol)、三乙胺(TEA)84 μL(0.6 mmol)，於室溫下攪拌24小時。向反應後之溶液中添加過量之己烷而產生沈澱，回收由此產生之沈澱(進行2次該操作)。對所獲得之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得E4。(產量：62 mg)

基於^{1}H-NMR(DMSO-d6中)(AVANCE-500，Bruker)，對所獲得之E4推定組成。(圖1-3)

【0112】 [表1-3]

表1-3聚合物E4合成配方

	試樣	濃度
主原料	N-異丙基丙烯醯胺(NIPAm)	200 mM
陽離子性部位	N-(3-二甲胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	100 mM
修飾部位	Cys-甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	200 mM
RAFT劑	2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	12.5 mM
起始劑	2,2'-偶氮雙(異丁腈)(AIBN)	6.25 mM
溶劑	DMF	2 mL

【0113】 1-2-1聚合物F1之合成

將表1-4所示之配方之試劑溶解於DMF(2 mL)，進行脫氣氬氣置換後，於油浴(75℃)中進行24小時聚合反應。將反應後之溶液冷卻，使之與空氣接觸，藉此使反應停止，然後將反應溶液滴至二乙醚中，藉此產生沈澱，並回收該沈澱。將該操作重複進行2次。對回收之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得聚合物。(產量：105.7 mg)

將所獲得之聚合物分散於二氯甲烷(5 mL)中，向其中添加甲基丙烯酸N-丁二醯亞胺酯34.1 mg(0.19 mmol)、三乙胺(TEA)38.9 μL(0.28 mmol)，於室溫下攪拌24小時。向反應後之溶液中添加過量之己烷而產生沈澱，回收由此產生之沈澱(進行2次該操作)。對所獲得之沈澱進行真空乾燥，藉此獲得F1。(產量：19.1 mg)

基於^{1}H-NMR(DMSO-d6中)(AVANCE-500，Bruker)，對所獲得之F1推定組成。

【0114】 [表1-4]

表.1-4螢光性聚合物F1合成配方

	試樣	濃度
主原料	N-異丙基丙烯醯胺(NIPAm)	275 mM
陽離子性部位	N-(3-二甲胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	100 mM
修飾部位	Cys-甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	100 mM
螢光部位	甲基丙烯醯氧基乙基硫基胺甲醯基若丹明B	25 mM
RAFT劑	2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	12.5 mM
起始劑	2,2'-偶氮雙(異丁腈)：V-60	6.25 mM
溶劑	DMF	2 mL

【0115】 聚合物(AN1)之合成

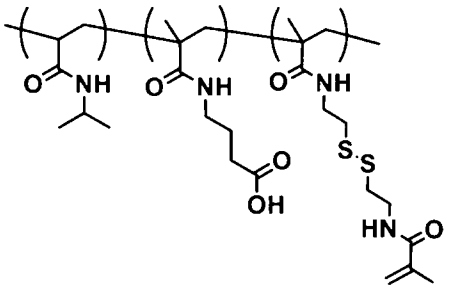
將Boc-胱胺甲基丙烯醯胺64 mg、丙烯酸第三丁酯29 μL、NIPAm 68 mg溶解於DMF 1.8 mL，最後添加溶解有RAFT劑(2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷)8.6 mg、起始劑(AIBN)2.1 mg之DMF 0.2 mL，進行脫氣氬氣置換，去除溶氧。其後，於設定為75℃之油浴中進行聚合反應(24 h)。反應後，將反應液滴至過量之二乙醚中，回收沈澱。(產量：51 mg)

將所獲得之聚合物溶解於二氯甲烷(5 mL)，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加三氟乙酸1.5 mL，於遮光下攪拌一夜。反應後添加二乙醚，回收產生之沈澱，利用二乙醚洗淨所獲得之沈澱。(產量：22 mg)

將所獲得之聚合物分散於二氯甲烷，向其中添加甲基丙烯酸N-丁二醯亞胺酯15 mg(0.08 mmol)、三乙胺17 μL(0.12 mmol)，於室溫下攪拌一夜。向反應液中添加二乙醚，回收所產生之沈澱。使該沈澱溶解於少量之二氯甲烷，向其中添加過量之己烷，藉此產生沈澱。將該操作重複進行2次，進行真空乾燥，藉此獲得目標聚合物(AN1)。(產量：16 mg)

【0116】 1-1.聚合物(E101)之合成

[化5]



聚合物配方：

[表A-1]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
4-[(2-甲基-1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]丁酸	171.19	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0117】將上述配方之化合物放入舒倫克(Schlenk)燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

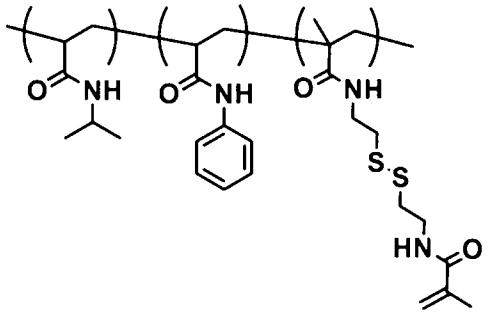
【0118】將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E101)。

【0119】1-2.聚合物(E101)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E101)水溶液(2 mg/mL)與表面具有鹼性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0120】 2-1.聚合物(E102)之合成

[化6]



聚合物配方：

[表A-2]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
N-苯基丙烯醯胺	147.17	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0121】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

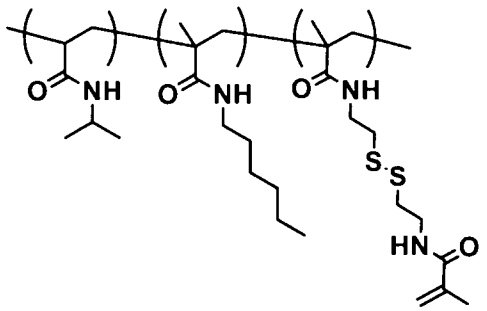
【0122】將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E102)。

【0123】2-2.聚合物(E102)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E102)水溶液(2 mg/mL)與表面具有苯環等疏水性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至僅經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇修飾、或其與十一烷基硫醇之混合SAM(Self-Assembly Monlayer，自組單分子膜)修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0124】3-1.聚合物(E103)之合成

[化7]



聚合物配方：

[表A-3]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
N-己基甲基丙烯醯胺	169.26	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0125】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

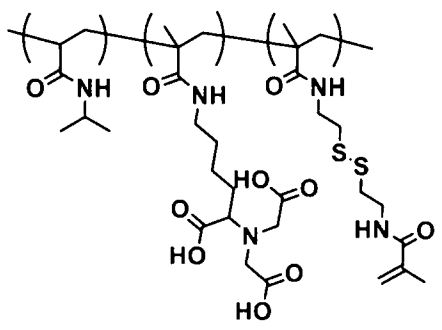
【0126】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E103)。

【0127】 3-2.聚合物(E103)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E103)水溶液(2 mg/mL)與表面具有苯環或烷基鏈等疏水性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至僅經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇修飾、或其與十一烷基硫醇之混合SAM修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0128】 4-1.聚合物(E104)之合成

[化8]



聚合物配方：

[表A-4]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
NTA單體(N2,N2-雙(羧甲基)-N6-(2-甲基-1-側氧基-2-丙烯-1-基)-L-離胺酸)	330.33	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0129】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

【0130】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E104)。

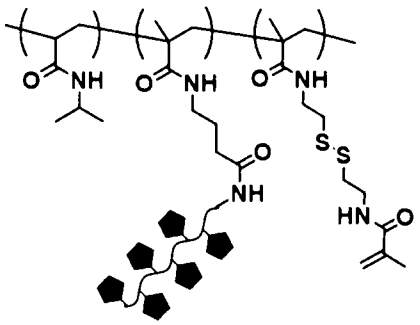
【0131】 4-2.聚合物(E104)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E104)水溶液(2 mg/mL)與表面具有His標籤等能夠配位鍵結之基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板浸漬於溶解有0.1 M EDC、0.05 M NHS之CH_2Cl_2中，並靜置1小

時。利用CH_2Cl_2洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E104)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0132】 5-1.聚合物(E105)之合成

[化9]



將聚合物(E101)100 mg、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 40 mg(0.2 mmol)、NHS 22 mg(0.2 mmol)，進而攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E101)-NHS(E112)。

將前項中製作之聚合物10 mg、TEA 28 μL溶解於DMF(1 mL)並進行攪拌。向其中添加合成肽(具有自N末端起結合有6個組胺酸、結合有3個甘胺酸，且於C末端結合有離胺酸者中C末端之羧基經醯胺化之結構)3 mg，並進而攪拌一夜。反應後添加少量之CH_2Cl_2，其後加入過量之正己烷而產生沈澱。回收沈澱，向其中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥，獲得聚合物(E105)。

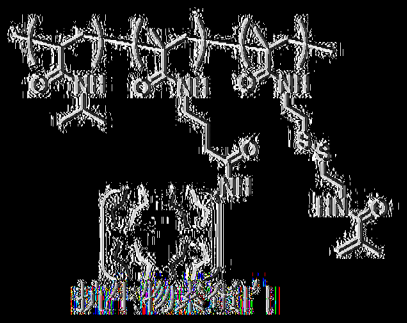
【0133】 5-2.聚合物(E105)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E105)水溶液(2 mg/mL)與表面具有NTA基等能夠配位鍵結之基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80

倍。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有1 mM之N-[5-(4-異硫氰基苯基)醯胺基-1-羧基戊基]亞胺基二乙酸之DMSO中，並靜置1小時。利用DMSO、EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加紫合物(E105)-粒子核酸合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

[0134] 6-1.紫合物(E106)之合成

[化10]



[0135] 將紫合物(E101)100 mg、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 40 mg(0.2 mmol)、NHS 22 mg(0.2 mmol)，進而攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得紫合物(E101)-NHS(E112)。

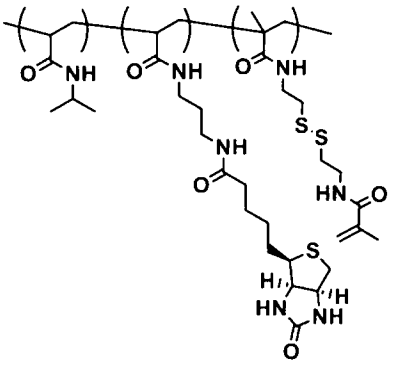
[0136] 將前項中製作之紫合物10 mg溶解於50 mM碳酸鹽緩衝液(pH值8.5)(1 mL)，並進行攪拌。向其中添加抗生物素蛋白3 mg，並進而攪拌一夜。將反應液裝入100 kDa對應之透析膜中，於磷酸鹽緩衝液(pH值7.4)中進行透析。透析後，利用超濾進行濃縮，獲得目標紫合物(E106)之溶液。

【0137】 6-2.聚合物(E106)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E106)水溶液(2 mg/mL)與表面具有生物素或其衍生物之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用磷酸鹽緩衝液適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有0.1 M EDC、0.05 M生物素之DMSO中，並靜置1小時。利用DMSO、EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E105)-粒子核混合溶液40 μL，並靜置1小時。其後，利用磷酸鹽緩衝液洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0138】 7-1.聚合物(E107)之合成

[化11]



聚合物配方：

[表A-5]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
生物素單體((3aS,4S,6aR)-六氫-2-側氧基-N-[3-[(1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]丙基]-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-戊醯胺)	354.47	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0139】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等

溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

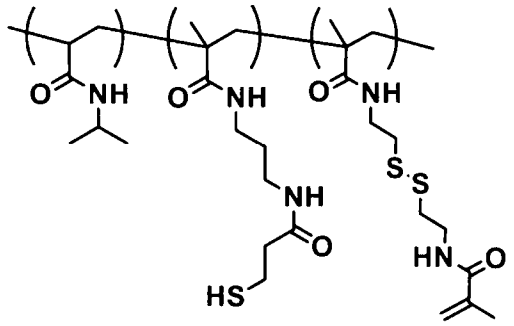
【0140】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E107)。

【0141】 7-2.聚合物(E107)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E107)水溶液(2 mg/mL)與表面經抗生物素蛋白修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用PBS(Phosphate Buffered Saline，磷酸鹽緩衝液)適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板浸漬於溶解有0.1 M EDC、0.05 M NHS之CH_2Cl_2中，並靜置1小時。利用CH_2Cl_2洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加1 mg/mL之抗生物素蛋白溶液，並靜置1小時。反應後利用磷酸鹽緩衝液洗淨基板。於該基板上滴加聚合物(E107)-粒子核混合溶液，並靜置1小時。其後，利用磷酸鹽緩衝液洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0142】 8-1.聚合物(E108)之合成

[化12]



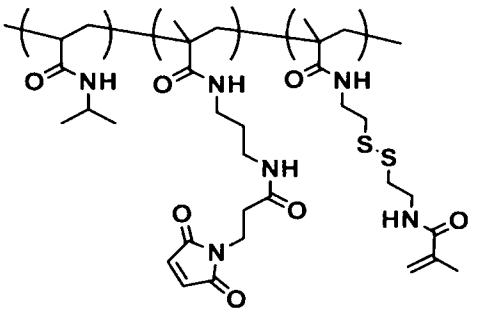
將聚合物(E3)100 mg、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 40 mg(0.2 mmol)、3-巰基丙酸22 mg(0.2 mmol)，進而攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E108)。

【0143】 8-2.聚合物(E106)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E108)水溶液(2 mg/mL)與表面具有馬來醯亞胺基、吡啶二硫基等硫醇反應活性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有0.1 M EDC、0.05 M之3-馬來醯亞胺丙酸或3-(2-吡啶基二硫代)丙酸之DMF中，並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E108)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0144】 9-1.聚合物(E109)之合成

[化13]



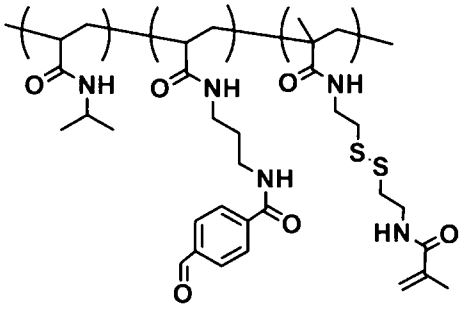
將聚合物(E3)100 mg、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 40 mg(0.2 mmol)、3-馬來醯亞胺丙酸34 mg(0.2 mmol)，進而攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E108)。

【0145】 9-2.聚合物(E109)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E109)水溶液(2 mg/mL)與表面具有硫醇基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有0.1 M EDC、0.05 M之3-巰基丙酸之DMF中，並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E109)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0146】 10-1.聚合物(E110)之合成

[化14]



聚合物配方：

[表A-6]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
醛單體(4-甲醯基-N-[2-[(1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]丙基]苯甲醯胺)	258.26	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0147】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

【0148】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E110)。

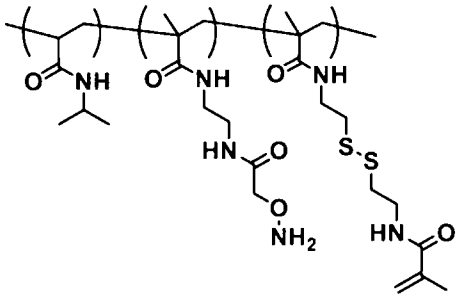
【0149】 10-2.聚合物(E110)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E110)水溶液(2 mg/mL)與表面經胺基修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF適當稀釋。於經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上滴加聚合物

(E110)-粒子核混合溶液，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0150】 11-1.聚合物(E111)之合成

[化15]



聚合物配方：

[表A-7]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
Boc-肟單體(11-甲基-5,10-二側氧基-3-氧雜-2,6,9-三氮雜十二碳-11-烯酸1,1-二甲基乙酯)	301.34	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0151】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

【0152】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺

酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱，進行真空乾燥。

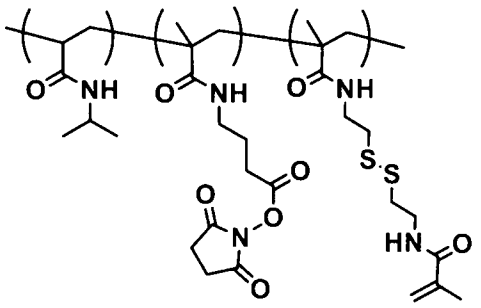
【0153】將所獲得之聚合物溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加含4 N HCl之二噁烷1 mL，進而攪拌一夜。向反應液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。向該沈澱中加入少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱，其後進行真空乾燥，獲得聚合物(E111)。

【0154】11-2.聚合物(E111)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E111)水溶液(2 mg/mL)與表面經醛基修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板浸漬於溶解有0.1 M EDC、0.05 M之4-甲醯基苯甲酸之DMF中，並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E111)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0155】12-1.聚合物(E112)之合成

[化16]



將聚合物(E101)100 mg、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於

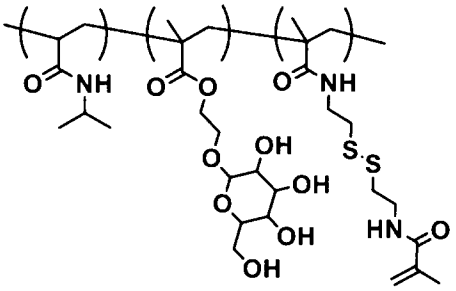
冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 40 mg(0.2 mmol)、NHS 22 mg(0.2 mmol)，進而攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E112)。

【0156】 12-2.聚合物(E112)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E112)水溶液(2 mg/mL)與表面具有胺基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液靜置一夜後，利用DMF稀釋至80倍。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與10-巰基-N,N,N-三甲基-氯化1-癸銨修飾之金基板上滴加聚合物(E112)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0157】 13-1.聚合物(E113)之合成

[化17]



聚合物配方：

[表A-8]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
GEMA	292.28	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0158】將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

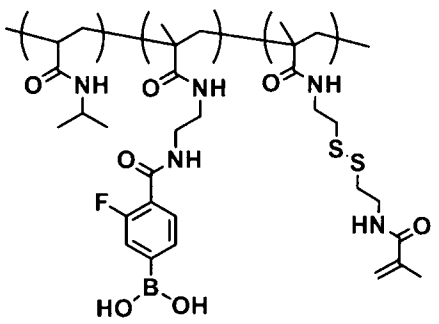
【0159】將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯27 mg(0.15 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E113)。

【0160】13-2.聚合物(E111)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E113)水溶液(2 mg/mL)與表面經苯基硼酸基修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有0.1 M EDC、0.05 M之4-羧基苯基硼酸(或3-氟-4-羧基苯基硼酸)之DMF中，並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E113)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0161】14-1.聚合物(E114)之合成

[化18]



聚合物配方：

[表A-9]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
4-(2-甲基丙烯醯胺基乙基胺甲醯基)-3-氟苯基硼酸	292.06	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0162】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

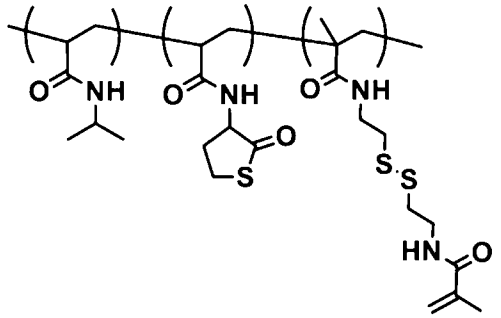
【0163】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯27 mg(0.15 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E114)。

【0164】 14-2.聚合物(E114)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E114)水溶液(2 mg/mL)與表面經具有順式二醇結構之基修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有TEA、α-D-吡喃甘露糖基苯基異硫氰酸酯之DMF中，並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E114)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0165】 15-1.聚合物(E115)之合成

[化19]



聚合物配方：

[表A-10]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
N-丙烯醯基高半胱胺酸硫內酯	171.22	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0166】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反

應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

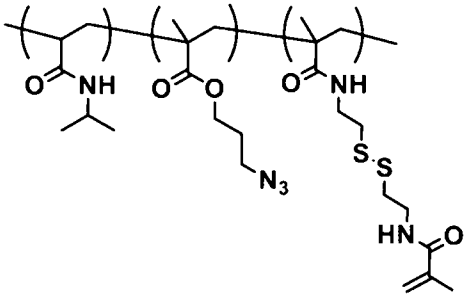
【0167】將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯27 mg(0.15 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E115)。

【0168】15-2.聚合物(E115)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E114)水溶液(2 mg/mL)與表面經胺基修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有EDC、3-(2-吡啶基二硫代)丙酸之DMF中，並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E115)-粒子核混合溶液4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0169】16-1.聚合物(E116)之合成

[化20]



聚合物配方：

[表A-11]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
胱胺單體(N-[2-[(2-胺基乙基)二硫基]乙基]-2-甲基-2-丙烯醯胺鹽酸鹽)	256.82	100	1
甲基丙烯酸3-疊氮基丙酯	169.18	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0170】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯27 mg(0.15 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E116)。

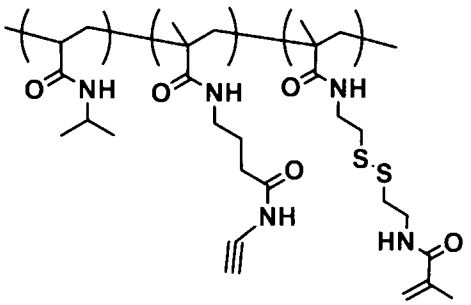
【0171】 16-2.聚合物(E116)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E116)水溶液(2 mg/mL)與表面經炔烴基修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。向其中添加硫酸銅、抗壞血酸鈉，並攪拌1小時。反應後利用離心分離將溶液置換為純水。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有EDC、4-(3-丁炔-1-基二硫基)丁酸之DMF中，

並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E116)-粒子核混合溶液(含硫酸銅及抗壞血酸)4 μL，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0172】 17-1.聚合物(E116)之合成

[化21]



將聚合物(E112)、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加炔丙胺11 mg(0.2 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E117)。

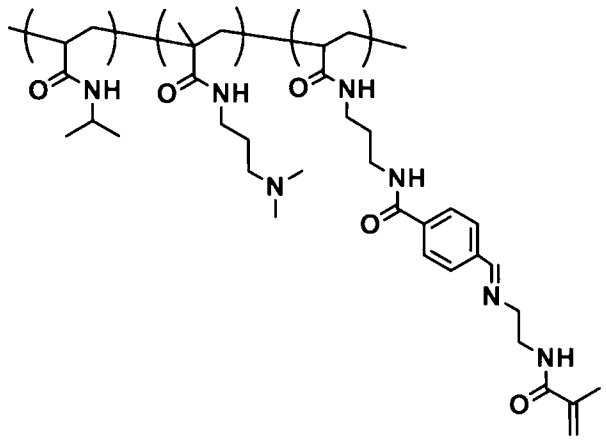
【0173】 17-2.聚合物(E117)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E117)水溶液(2 mg/mL)與表面經疊氮基修飾之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。向其中添加硫酸銅、抗壞血酸鈉，並攪拌1小時。反應後利用離心分離將溶液置換為純水。將該溶液利用DMF適當稀釋。將經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與胺基-EG6十一烷基硫醇鹽酸鹽修飾之金基板浸漬於溶解有EDC、3-[(2-疊氮基乙基)二硫代]丙酸之DMF中，並靜置1小時。利用EtOH洗淨反應後之基板，並用氮氣吹乾。於該基板上滴加聚合物(E117)-粒子核混合溶液(含硫酸銅及抗壞血酸)4 μL，並靜

置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0174】 18-1.聚合物(E201)之合成

[化22]



聚合物配方：

[表A-12]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
醛單體(4-甲醯基-N-[2-[(1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]丙基]苯甲醯胺)	258.26	100	1
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0175】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

【0176】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加N-(2-胺基乙基)甲基丙烯醯

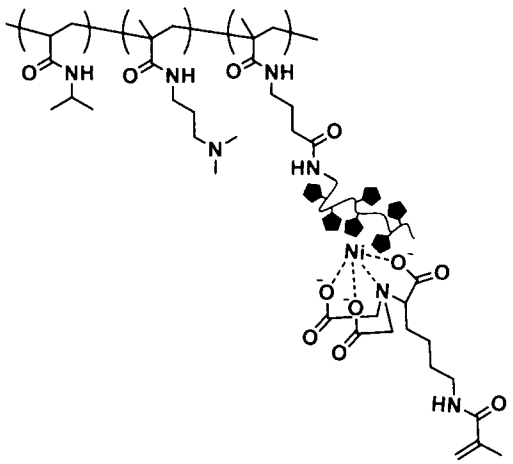
胺25 mg(0.2 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E201)。

【0177】 18-2.聚合物(E201)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E201)水溶液(2 mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0178】 19-1.聚合物(E202)之合成

[化23]



聚合物配方：

[表A-13]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
4-[(2-甲基-1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]丁酸	171.19	100	1
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0179】將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合(20 h)。聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

【0180】將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 40 mg(0.2 mmol)、NHS 22 mg(0.2 mmol)，進而攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱，進行真空乾燥。

【0181】將前項中製作之聚合物10 mg、TEA 28 μL溶解於DMF(1 mL)並進行攪拌。向其中添加合成肽(具有自N末端起結合有6個組胺酸、結合有3個甘胺酸，且於C末端結合有離胺酸者中C末端之羧基經醯胺化之結構)3 mg，並進而攪拌一夜。反應後添加少量之CH_2Cl_2，其後加入過量之正己烷而產生沈澱。回收沈澱，向其中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

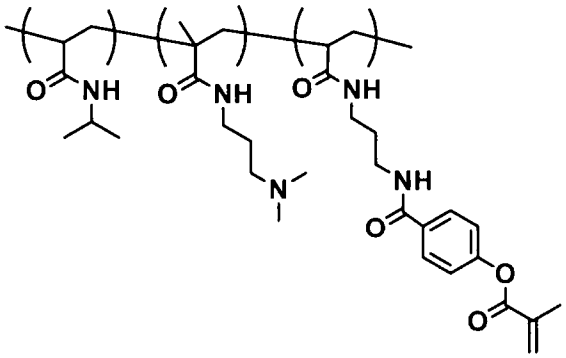
【0182】將前項中製作之聚合物溶解於MeOH中，向其中添加經Ni錯合物化之N2,N2-雙(羧甲基)-N6-(2-甲基-1-側氧基-2-丙烯-1-基)-L-離胺酸並進行攪拌。添加CH_2Cl_2而析出沈澱，回收所析出之沈澱，進行真空乾燥，獲得聚合物(E202)。

【0183】19-2.聚合物(E202)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E202)水溶液(2 mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0184】 20-1.聚合物(E203)之合成

[化24]



聚合物配方：

[表A-14]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
N-(3-胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	178.66	100	1
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0185】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

【0186】 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於

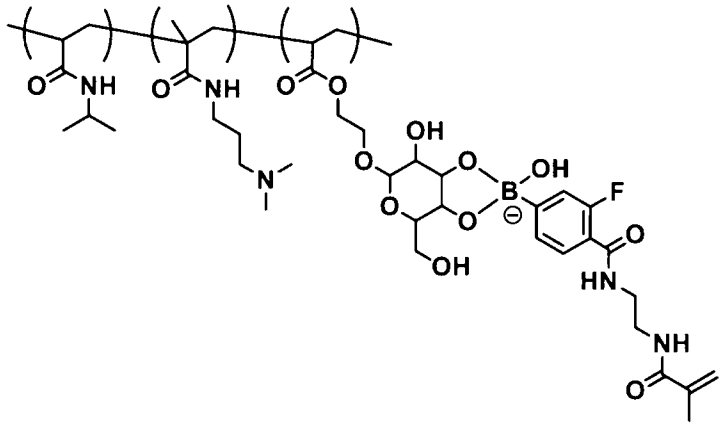
CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加4-甲基丙烯醯氧基苯甲酸40 mg(0.2 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E203)。

【0187】 20-2.聚合物(E203)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E203)水溶液(2 mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0188】 21-1.聚合物(E204)之合成

[化25]



聚合物配方：

[表A-15]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
GEMA	292.28	100	1
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0189】 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

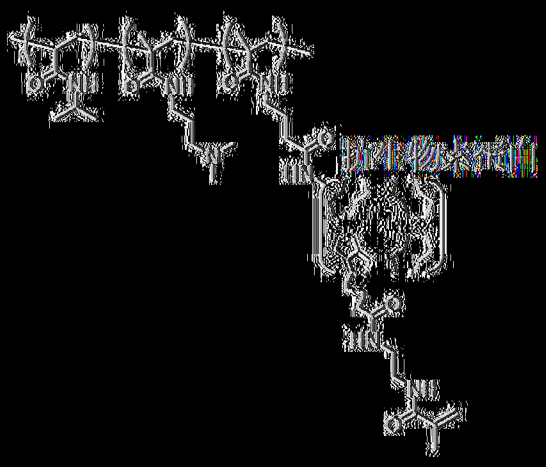
將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加4-(2-甲基丙烯醯胺基乙基胺甲醯基)-3-氟苯基硼酸59 mg(0.2 mmol)，並攪拌一夜(14 h)。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E204)。

【0190】 21-2.聚合物(E204)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E204)水溶液(2 mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0191】 22-1.聚合物(E205)之合成

[化26]



聚合物配方：

[表A-16]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
4-[(2-甲基-1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]-酸	171.19	100	1
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

[0192] 將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

[0193] 將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 40 mg(0.2 mmol)、NHS 22 mg(0.2 mmol)，進而攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱，進行真空乾燥。

[0194] 將前項中製作之聚合物10 mg溶解於50 mM碳酸鹽緩衝液

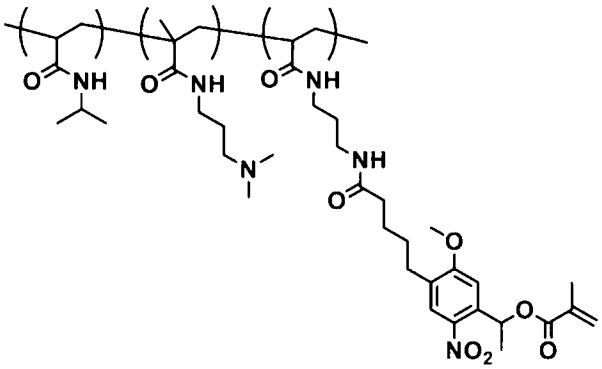
(pH值8.5)(1 mL)，並進行攪拌。向其中添加抗生物素蛋白3 mg，並進而攪拌一夜。將反應液裝入100 kDa對應之透析膜中，於磷酸鹽緩衝液(pH值7.4)中進行透析。透析後，利用超濾進行濃縮。其後，與生物素單體((3aS,4S,6aR)-六氫-2-側氧基-N-[3-[(1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]丙基]-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-戊醯胺)鍵結，藉此獲得目標聚合物(E205)。

【0195】 22-2.聚合物(E205)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E205)水溶液(2 mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0196】 23-1.聚合物(E206)之合成

[化27]



聚合物配方：

[表A-17]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
N-(3-胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	178.66	100	1
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0197】將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

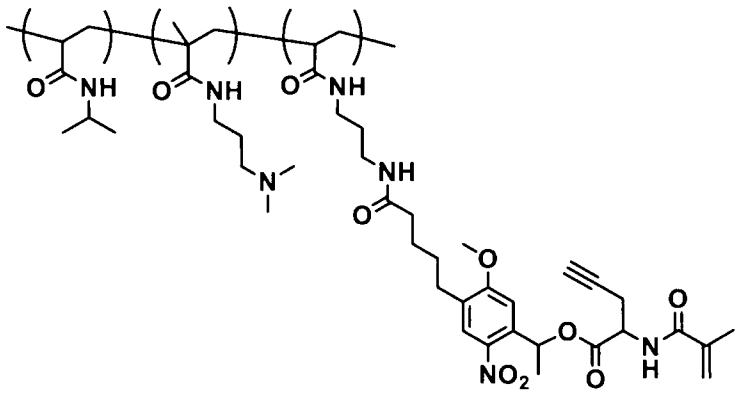
將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 38 mg(0.2 mmol)、4-[4-[1-(甲基丙烯醯氧基)乙基]-2-甲氧基-5-硝基苯氧基]丁酸73 mg(0.2 mmol)，於遮光下攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E206)。

【0198】23-2.聚合物(E206)-粒子核複合體之形成及基板上之固定化

將聚合物(E206)水溶液(2 mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，於遮光下靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

【0199】24-1.聚合物(E207)之合成

[化28]



聚合物配方：

[表A-18]

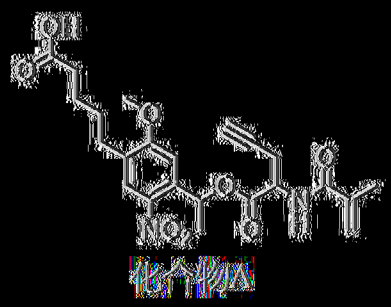
試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量(mL)
N-(3-胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	178.66	100	1
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0200】將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

將前項中製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加EDC 38 mg(0.2 mmol)、化合物A(參照下圖)92 mg(0.2 mmol)，於遮光下攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得聚合物(E207)。

[化29]

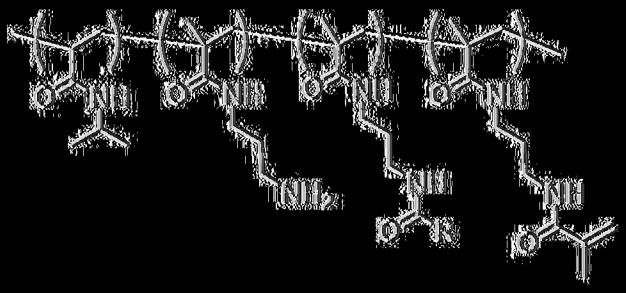


[0201] 24.2.聚合物(E207)粒子核複合體之形成及其板上之固定化

將聚合物(E207)水溶液(2 mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，於遮光下靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

[0202] 25.1.聚合物(E301-E312)之合成

[化30]



聚合物配方：

[表A-19]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)
N-(3-胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	178.66	100	1
N-(1-BOC-胺基丙基)甲基丙烯醯胺	242.31	100	1
NIPAm	113.16	300	1
2-氧基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙酸	345.63	12.5	1
AIBN	164.21	6.25	1

【0203】將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合。(20 h)。聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。向殘渣中添加少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱後，進行真空乾燥。

【0204】將所製作之聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯36 mg(0.2 mmol)，並攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱，進行真空乾燥。

【0205】使聚合物溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加含4 N HCl之二噁烷1 mL，進而攪拌一夜。向反應液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。向該沈澱中加入少量之CH_2Cl_2，進而添加過量之正己烷洗淨沈澱，其後進行真空乾燥。

【0206】將聚合物、TEA 140 μL(1.0 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌。向其中添加右表之任一化合物0.25 mmol、＊EDC 20 mg(0.1 mmol)，並攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得目標聚合物(E301-E312)。

＊E304-E309、E311-E312合成時使用

[表A-20]

	導入之官能基	化合物例
E301	羧基	
E302	羧酸 汙性酮基	
E303	含磷錯合物(NTA基)	
E304	硫醇基	
E305	吡啶二硫基	
E306	馬來醯亞胺基	
E307	鹵化乙醯胺基	
E308	聯氨基	
E309	炔烴基	
E310	順式二醇基(糖基)	
E311	二羥基硼基	

E312	硫內酯基	

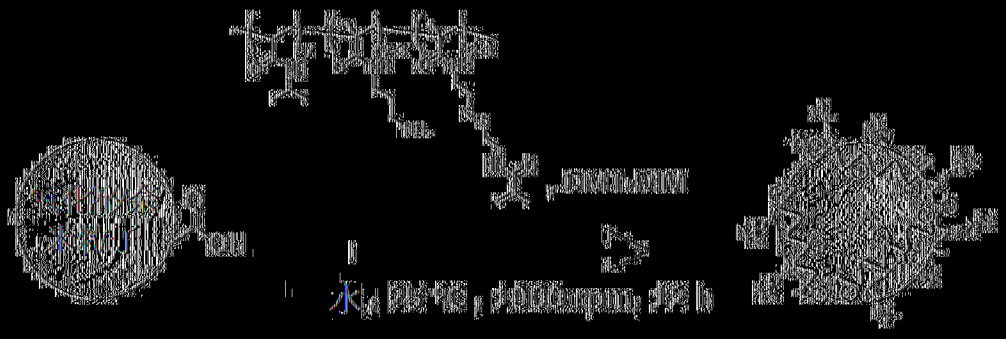
[0207] 25.2.聚合物(E301)-粒子核複合體之形成及其板上之固定化

將聚合物(E301)水溶液(2mg/mL)與表面具有酸性基之粒子核分散液以1/1(v/v)進行混合。將該溶液利用DMF稀釋至80倍。將該溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇修飾之金基板上，並靜置1小時。其後，利用EtOH洗淨基板，獲得粒子固定化基板。

[0208] (實施例1-2：聚合物於粒子上之結合(非共價鍵))

1-2-1.E3偶聯氧化矽NPs之合成

[0209] [化31]



流程4.聚合物E3偶聯氧化矽NP合成流程

[0210] 將氧化矽奈米粒子分散液(2.0×10^{12}個/mL)100 μL、聚合物E3水溶液(2.0 mg/mL)500 μL、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三吡-2-基)-4-甲基嗎啉鹽酸鹽(DMT-MM)水溶液(12.5 mM)400 μL進行混合，利用Thermo振盪器於25℃、1000 rpm之條件下攪拌12小時。反應後利用離心分離(25℃，10,000 g，15 min)×5去除溶液中之反應物。各上清液利用UV-vis測定(Nano Drop)進行確認。

[0211] 按照同樣之順序，使聚合物E2、聚合物E4與氧化矽粒子一一鍵化。

[0212] (結果)

1.2.2.DLS及ζ電位測定

將氧化矽奈米粒子分散液(2.0×10^{12}個/mL)20 μL、各種陽離子性聚合物水溶液(2.0 mg/mL)100 μL、純水80 μL進行混合，利用vortex充分攪拌。用純水將該溶液稀釋至100倍，作為DLS及ζ電位測定樣品。測定機器使用Zetasizer pro(Marvern Panalytical, UK)。

[0213] 根據由DLS獲得之粒徑測定結果(圖1-4及表1-5)與ζ電位測定結果(圖1-5及表1-5)表明，所製作之陽離子性聚合物與氧化矽奈米粒子呈粒子狀吸附，可從其表面特性帶負電之狀態變為帶正電之狀態。又，於使聚合物吸附於該氧化矽奈米粒子前後未觀察到粒徑有較大變化，因此，表明於聚合物吸附後，氧化矽奈米粒子亦維持單分散性。

[0214] [表1-5]

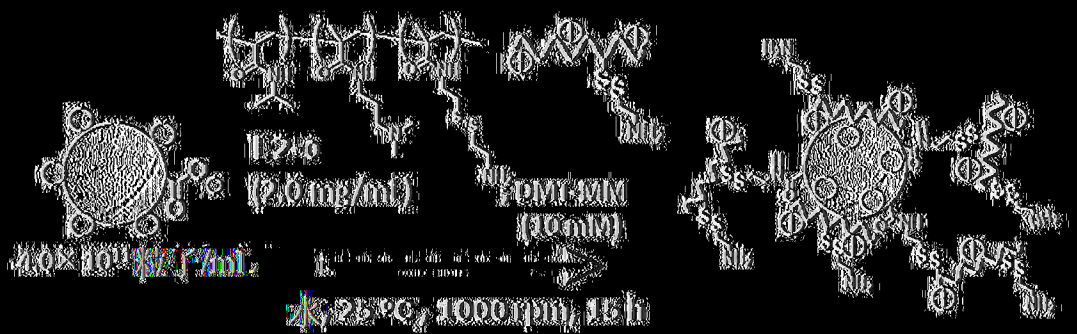
表1-5 各粒子之DLS測定及ζ電位測定

	平均粒徑(nm)	表面電荷(mV)
氧化矽奈米粒子	208	53.2
氧化矽奈米粒子-E2	216	56.2
氧化矽奈米粒子-E4	237	60.9
氧化矽奈米粒子-E3	220	40.5

[0215] (實施例1-3：聚合物於粒子上之結合)

聚合物(E2-0)-氧化矽奈米粒子複合體(RM)之合成

[化32]

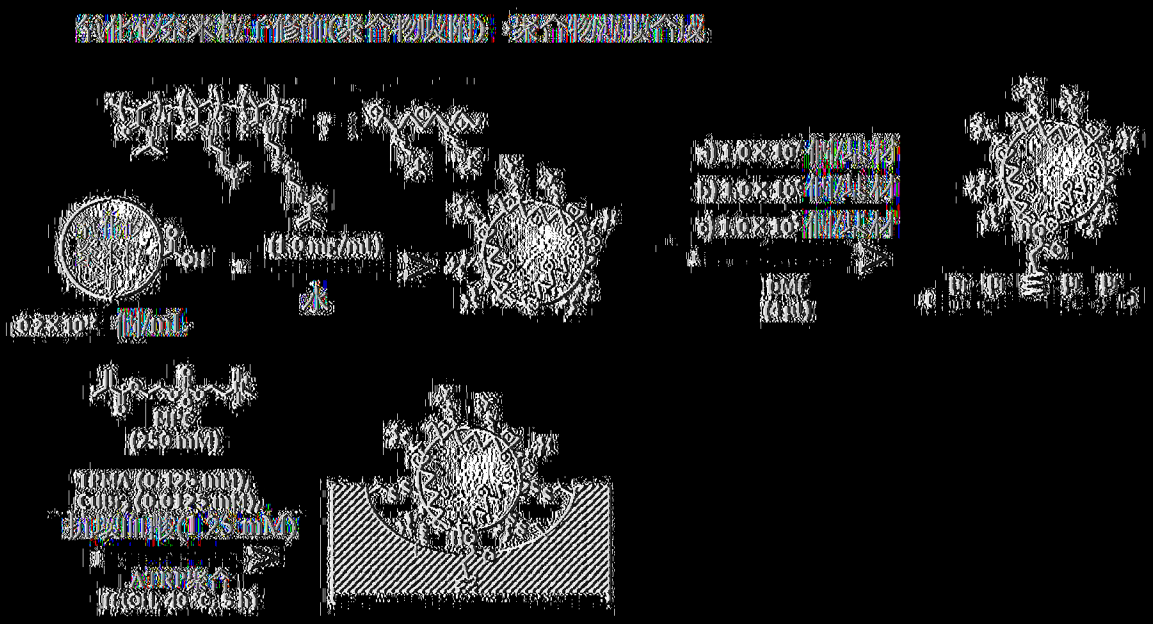


向純水(500 μL)中以氧化矽奈米粒子(200 nm，末端COOH)4.0×10^{11}粒子/mL、E2-0 2.0 mg/mL、DMT-MM 10 mM之方式進行混合，利用Thermo振盪器於25℃、1,000 rpm、15小時之條件下進行振盪。反應後加入純水500 μL，利用離心分離(25℃、1,000 rpm、15 min)使粒子沈澱，去除上清液900 μL。將該操作共進行5次，對粒子進行純化。對所獲得之粒子粒徑、表面電荷進行DLS測定，將結果示於圖1-6。

平均粒徑(Z-平均值)為232 nm(pdi：0.022)、表面電荷(Z-電位)為+55.3mV，故維持了粒子之單分散性，並且表面電荷大幅向正變化，因此，確認到聚合物經過修飾。

[0216] (實施例2：測定基材之製作)

[0217] [化33]



[0218] 2-1.實驗

2-1-1.金基材之表面修飾

利用EtOH沖洗金基材(9.8 mm×4.3 mm)後，實施UV-O3處理15 min，對基材表面進行淨化。於EtOH溶劑中以1：1混合2-(2-溴異丁醯氧

基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇，製備1 mM之EtOH溶液，將上述金基材浸漬於該溶液中。於30℃下靜置20小時後利用EtOH、純水洗淨基材，從而於金基材表面形成自組單分子膜(Self-Assembled Monolayer：SAM)。

2-1-2.粒子固定化基材之製作

將氧化矽奈米粒子分散液(粒徑200 nm、粒子濃度：2.0×10^{11}個/mL)與聚合物E2(1.0 mg/mL)以上述之終濃度於水中進行混合而形成複合體。

【0219】 利用DMF稀釋上述複合體溶液，以相對於待複合體固定化之基材面積成為表2-2所示之個數之方式進行滴加(4 μL)，於25℃下靜置1小時。依序利用DMF、EtOH、純水洗淨基材，獲得粒子固定化基材。

【0220】 基材之評價係利用螢光顯微鏡(KEYENCE，BZ-800)實施，使用軟體(雜交細胞計數)進行解析。將各測定條件示於表2-1。

【0221】 [表2-1]

表2-1實驗條件表

No.	個數 [個/4 μL]	螢光顯微鏡測定條件(曝光時間)		
		4倍物鏡	22.2倍物鏡	60倍物鏡
1	1×10^7	1.5 sec	0.25 sec	0.02 sec
2	3×10^6	↑	↑	↑
3	1×10^6	↑	↑	↑
4	3×10^5	2 sec	↑	↑
5	1×10^5	↑	0.5 sec	↑

【0222】 2-1-3.氧化矽奈米粒子壓印聚合物於粒子固定化基材上之合成

以表2-2所示之組成製作預聚物溶液，以冷凍脫氣之方式去除溶氧後，於手套式操作箱內在25℃下進行18小時聚合。將聚合後之基材用純水洗淨。

【0223】 將上述基材浸漬於100 mM三(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽溶液

(甲醇：純水＝1：1)，進行5min超音波處理，藉此去除氧化矽奈米粒子，從而於聚合物薄膜表層形成空孔。

【0224】 [表2-2]

表2-2預聚物溶液組成

	試樣	濃度
主原料	MPC(2-甲基丙烯醯氧基乙基磷酸膽鹼)	500 mM
起始劑	EBIB(α-溴異丁酸乙酯)	1.25 mM
配體	TPMA(三(2-吡啶基甲基)胺)	0.125 mM
觸媒	$CuBr_2$	0.0125 mM
還原劑	抗壞血酸	1.25 mM
溶劑	EtOH	270 μL

【0225】 2-2.結果

2-2-1.粒子固定化基材之製作

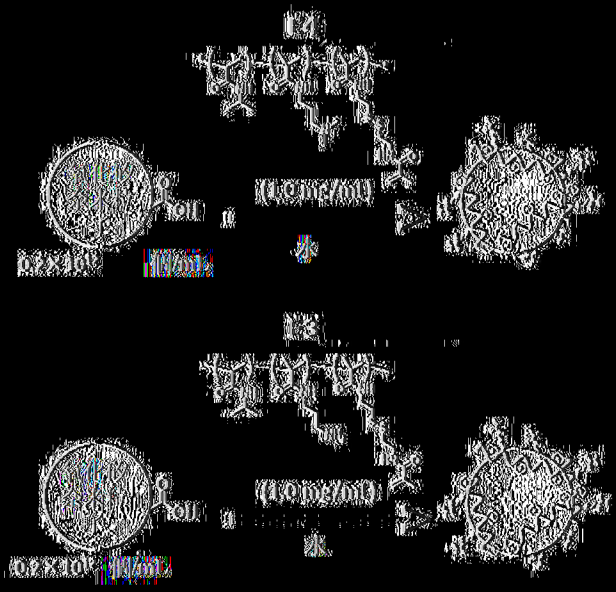
將利用螢光顯微鏡獲得之觀察結果示於圖2-1。於任一條件下，均於基材上成功確認到來自氧化矽奈米粒子之螢光，因此成功確認到於基材上固定化有氧化矽奈米粒子(聚合物複合體)。

又，使用利用60倍物鏡之螢光觀察及雜交細胞計數進行解析，將結果示於圖2-2。根據圖2-2得知，有隨著滴加個數之增多，基材上之氧化矽奈米粒子個數增加之傾向。又，於根據圖像可明確判斷為單分散、未凝集且為單層之圖No.4、No.5中，幾乎不存在亮點之面積超過2 μm^2者，故具有超過2 μm^2之亮點面積者可判斷為凝集體。藉由以該數值作為邊界值，當為產生超過邊界值2 μm^2之亮點之No.4(3×10^6個/4 μL)以上時，產生了凝集，當為No.5(1×10^6個/4 μL)以下時，未產生凝集，故能夠以數值之形式客觀地表現，又，能夠藉由滴至基材之個數來控制基板上之粒子樣態。

【0226】 (實施例3：測定基材之製作(陽離子聚合物))

3.使用氧化矽粒子之研究(陽離子聚合物組成之影響)

[化34]



[0227] 3-1.實驗

3-1-1.金基材之表面修飾

利用EtOH沖洗金基材(9.8 mm×4.3 mm)後，實施UV-O3處理15 min，對基材表面進行淨化。

[0228] 於EtOH溶劑中以1：1混合2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇，製備1 mM之EtOH溶液，將上述金基材浸漬於該溶液中。於30℃下靜置20小時後利用EtOH、純水洗淨基材，從而於金基材表面形成自組單分子膜(Self-Assembled Monolayer：SAM)。

3-1-2.粒子固定化基材之製作

將氧化矽奈米粒子分散液(粒徑200 nm、粒子濃度：2.0×10^{11}個/mL)與聚合物E4、E3(1.0mg/mL)以上述之終濃度分別於水中進行混合而形成複合體。

[0229] 利用DMF稀釋上述複合體溶液，以相對於待複合體固定化之基材面積成為表3-1或表3-2之方式將溶液(4 μL)滴至基材，於25℃下靜置1小時。

【0230】 依序利用DMF、EtOH、純水洗淨基材，獲得粒子固定化基材。

【0231】 基材之評價係利用螢光顯微鏡(KEYENCE，BZ-800)實施，使用軟體(雜交細胞計數)進行解析。將各測定條件示於表3-1與表3-2。

【0232】 [表3-1]

表3-1實驗條件表(聚合物E4)

No.	個數 [個/4 μL]	螢光顯微鏡測定條件(曝光時間)		
		4倍物鏡	22.2倍物鏡	60倍物鏡
1	1×10^7	1.5 sec	0.25 sec	0.02 sec
2	3×10^6	↑	↑	↑
3	1×10^6	↑	↑	↑
4	3×10^5	2 sec	↑	↑
5	1×10^5	↑	0.5 sec	↑

【0233】 [表3-2]

表3-2實驗條件表(聚合物E3)

No.	個數 [個/4 μL]	螢光顯微鏡測定條件(曝光時間)		
		4倍物鏡	22.2倍物鏡	60倍物鏡
1	1×10^7	1.5 sec	0.25 sec	0.02 sec
2	3×10^6	↑	↑	↑
3	1×10^6	↑	↑	↑
4	3×10^5	↑	0.5 sec	↑
5	1×10^5	↑	↑	↑

【0234】 3-2.結果

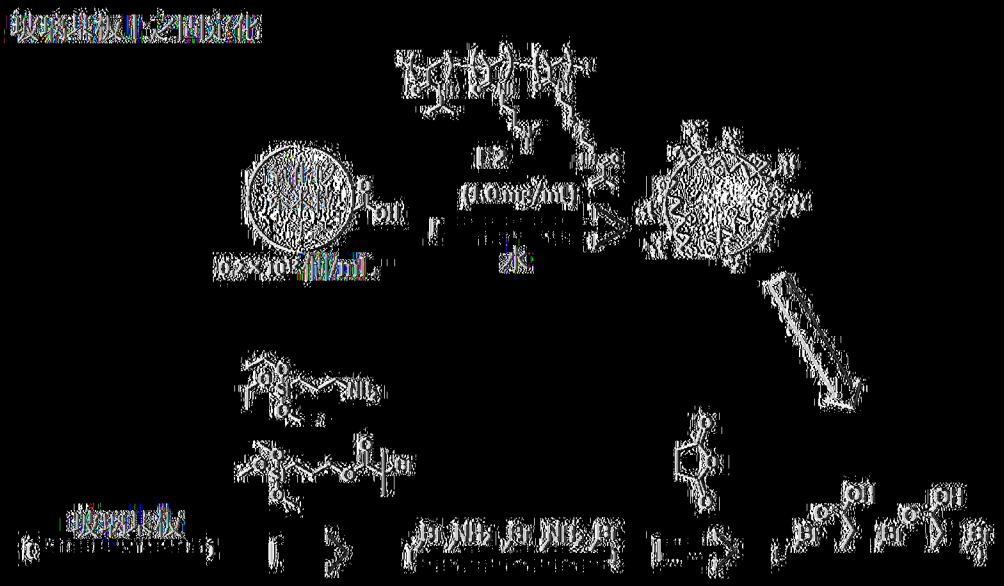
3-2-1.粒子固定化基材之製作

將利用螢光顯微鏡獲得之觀察結果示於圖3-1與圖3-2。根據該結果得知，即便為不同之聚合物組成，亦可藉由滴至基材之個數來控制基材上之粒子樣態。

【0235】 (實施例4：測定基材之製作(玻璃基材))

4.使用氧化矽粒子之研究(基材之影響)

【0236】 [化35]



[0237] 4-1-1.玻璃基材之表面修飾

利用EtOH沖洗金基材(9.8 mm×4.3 mm)後，實施UV-O3處理15 min，對基材表面進行淨化。

[0238] 於EtOH溶劑(1%純水)中將3-胺基丙基三乙氧基矽烷(ATPES)與2-溴-2-甲基丙酸3-(三甲氧基矽烷基)丙酯分別以1 vol%進行混合，將上述玻璃基材浸漬於該溶液。於25℃下靜置1小時後利用EtOH洗淨，於烘箱中以90℃乾燥2小時，藉此對玻璃基材表面導入胺基與ATRP起始基。

[0239] 製備5 mg/mL琥珀酸酐溶液(溶劑：THF：TEA=95：5)，將上述基材浸漬於其中。於25℃下靜置4小時後用純水洗淨，使玻璃基材表面之胺基之位置變為羧基。

[0240] 將基材浸漬於1 mM之2-溴異丁酸N-羥基丁二醯亞胺酯溶液(溶劑：DMF)中，於25℃下反應1小時後利用EtOH洗淨。藉此，獲得於表面具有ATRP起始基與羧基之玻璃基材。

4-1-2.粒子固定化基材之製作

將氧化矽奈米粒子分散液(粒徑200 nm、粒子濃度：2.0×10^{11}個/mL)

與聚合物E2(1.0 mg/mL)以上述之終濃度分別於水中進行混合而形成複合體。

【0241】 利用DMF稀釋上述複合體溶液，以相對於待複合體固定化之基材面積成為表4-1之方式將溶液(4 μL)滴至基材，於25℃下靜置1小時。

【0242】 依序利用DMF、EtOH、純水洗淨基材，獲得粒子固定化基材。

【0243】 基材之評價係利用螢光顯微鏡(KEYENCE，BZ-800)實施，使用軟體(雜交細胞計數)進行解析。將各測定條件示於表4-1。

表4-1實驗條件表

No.	個數 [個/4 μL]	螢光顯微鏡測定條件(曝光時間)
		60倍物鏡
1	3×10^7	?
2	1×10^7	↑
3	3×10^6	↑
4	1×10^6	↑
5	3×10^5	↑
6	1×10^5	↑
7	3×10^4	↑
8	1×10^4	↑

【0244】 4-2.結果

4-2-1.粒子固定化基材之製作

將利用螢光顯微鏡獲得之觀察結果示於圖4。根據該結果得知，即便為不同之基材，亦可藉由滴至基材之個數來控制基材上之粒子樣態。

【0245】 (實施例5：測定基材之製作(聚苯乙烯粒子))

5.使用聚苯乙烯粒子之研究

5-1.實驗

5-1-1.金基材之表面修飾

利用EtOH沖洗金基材(9.8 mm×4.3 mm)後，實施UV-O3處理15 min，對基材表面進行淨化。

【0246】 於EtOH溶劑中將2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇以1：1進行混合，製備1 mM之EtOH溶液，將上述金基材浸漬於該溶液中。於30℃下靜置20小時後利用EtOH、純水洗淨基材，從而於金基材表面形成自組單分子膜(Self-Assembled Monolayer：SAM)。

5-1-2.粒子固定化基材之製作

將聚苯乙烯粒子分散液(粒徑250 nm、粒子濃度：2.0×10^{11}個/mL)與聚合物E2(1.0 mg/mL)以上述之終濃度於水中進行混合而形成複合體。

【0247】 利用DMF稀釋上述複合體溶液，以相對於待複合體固定化之基材面積成為表5-1之方式進行滴加(4 μL)，於25℃下靜置1小時。

【0248】 依序利用DMF、EtOH、純水洗淨基材，獲得粒子固定化基材。

【0249】 基材之評價係利用螢光顯微鏡(KEYENCE，BZ-800)實施，使用軟體(雜交細胞計數)進行解析。將各測定條件示於表5-1。

【0250】 [表5-1]

表5-1實驗條件表

No.	個數 [個/4 μL]	螢光顯微鏡測定條件(曝光時間)		
		4倍物鏡	22.2倍物鏡	60倍物鏡
1	1×10^8	0.2 sec	0.05 sec	-
2	3×10^7	↑	↑	-
3	1×10^7	↑	↑	0.005 sec
4	3×10^6	1 sec	0.2 sec	↑
5	1×10^6	↑	↑	↑
6	3×10^5	↑	↑	↑
7	1×10^5	↑	↑	↑
8	3×10^4	↑	↑	-
9	1×10^4	↑	↑	-

【0251】 5-2.結果

5-2-1.粒子固定化基材之製作

將利用螢光顯微鏡獲得之觀察結果示於圖5-1與圖5-2。於任一條件下，均於基板上成功確認到來自聚苯乙烯粒子之螢光，因此成功確認到於基材上固定化有聚苯乙烯粒子(聚合物複合體)。

又，使用軟體(雜交細胞計數)對所獲得之螢光顯微鏡圖像進行解析，將結果示於表5-2。根據解析之結果得知，有隨著滴加粒子個數之增多，基材上之聚苯乙烯粒子個數增加之傾向，尤其是滴加個數較多之條件(No.1、No.2)下，亮點數比No.3減少，因此凝集體之個數增加。

進而，No.1(1×10^8個/4 μL)與No.2(3×10^7個/4 μL)中，基材上粒子之凝集程度較大，缺乏均一性，但另一方面，No.8(3×10^4個/4 μL)與No.9(1×10^4個/4 μL)中，聚苯乙烯粒子之固定化量極少。因此，為了對No.3(1×10^7個/4 μL)～No.7(1×10^5個/4 μL)進行詳細研究，利用60倍物鏡進行螢光觀察並使用雜交細胞計數進行解析，將結果分別示於圖5-3與圖5-4。

根據圖5-3得知，隨著滴加個數之增多，最大亮點面積增大，凝集規模變大。又，於根據圖像可明確判斷為單分散、未凝集且為單層之No.6、No.7中，亮點之面積為2 μm^2左右，故具有超過2 μm^2之亮點面積者可判斷為凝集體。將以該數值作為邊界值，確定為2 μm^2・4 μm^2・10 μm^2時之邊界值以上之亮點數示於圖5-4。根據該結果，當為產生超過邊界值2 μm^2之亮點之No.4(3×10^6個/4 μL)以上時，產生了凝集，當為No.5(1×10^6個/4 μL)以下時，未產生凝集，故能夠基於滴至基材之個數來控制基材上之粒子樣態。

【0252】 [表5-2]

表.5-2 使用以22.2倍物鏡拍攝之圖像之雜交細胞計數解析

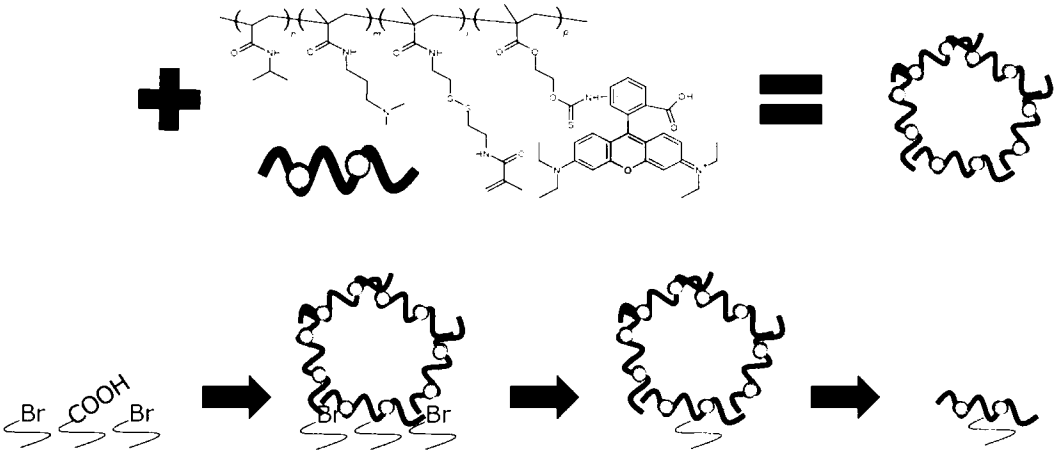
滴加濃度	總亮點數	單分散亮點數 ($\leqq$10 μm^2)	凝集體亮點數 (>10 μm^2)	最大亮點面積 [μm^2]	總亮點面積 [μm^2]
1×10^8	4059	3716	343	454.911	12072.21
3×10^7	9152	7648	1504	223	29613
1×10^7	16441	14889	1552	423	33967
3×10^6	8472	7364	1108	150	20317
1×10^6	4289	3377	912	39.029	20715.15
3×10^5	258	181	77	57	1145
1×10^5	61	37	24	20.412	191.914
3×10^4	30	26	4	15	89
1×10^4	12	9	3	22	66

【0253】 (實施例6：性能試驗(基材上之粒子密度評價))

6A基材上之凹部密度

使用螢光性陽離子聚合物之研究

【0254】 [化36]



【0255】 6-1.實驗

6-1-1.金基材之表面修飾

利用EtOH沖洗金基材(9.8 mm×4.3 mm)後，實施UV-O3處理15 min，對基材表面進行淨化。

【0256】 於EtOH溶劑中將2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇以1：1進行混合，製備1 mM之EtOH溶液，將上述金基

材浸漬於該溶液中。於30℃下靜置20小時後利用EtOH、純水洗淨基材，從而於金基材表面形成自組單分子膜(Self-Assembled Monolayer：SAM)。

6-1-2.粒子固定化基材之製作

將氧化矽奈米粒子分散液(粒徑200 nm、粒子濃度：2.0×10^{11}個/mL)與聚合物F1(1.0 mg/mL)以上述之終濃度於水中進行混合而形成複合體。

【0257】 利用DMF稀釋上述複合體溶液，以相對於待複合體固定化之基材面積成為表6-1之方式進行滴加(4 μL)，於25℃下靜置1小時。

【0258】 依序利用DMF、EtOH、純水洗淨基材，獲得粒子固定化基材。

【0259】 基材之評價係利用螢光顯微鏡(KEYENCE，BZ-800)實施，使用軟體(雜交細胞計數)進行解析。將各測定條件示於表6-1。

【0260】 [表6-1]

表6-1實驗條件表(聚合物FI)

No.	個數 [個/4 μL]	螢光顯微鏡測定條件(曝光時間)					
		綠			紅		
		粒子固定化後	聚合後	模板去除後	粒子固定化後	聚合後	模板去除後
1	1×10^7	0.1 sec	0.1 sec	0.2 sec	0.01 sec	0.01 sec	0.02 sec
2	3×10^6	↑	↑	↑	↑	↑	↑
3	1×10^6	↑	↑	0.5 sec	↑	↑	0.05 sec

【0261】 6-1-3. 氧化矽奈米粒子壓印聚合物於粒子固定化基材上之合成

以表6-2所示之組成製作預聚物溶液，以冷凍脫氣之方式去除溶氧後，於手套式操作箱內在25℃下進行18小時聚合。將聚合後之基材用純水洗淨。

【0262】 將上述基材浸漬於甲醇：純水＝1：1之溶液，進行0.5 min

超音波處理，藉此去除氧化矽奈米粒子，從而於聚合物薄膜表層形成空孔。

【0263】 [表6-2]

表.6-2預聚物溶液組成

	資料	濃度
主原料	MPC(2-甲基丙烯醯氧基乙基磷酸膽鹼)	500 mM
起始劑	EBIB(α-溴異丁酸乙酯)	1.25 mM
配體	TPMA(三(2-吡啶基甲基)胺)	0.125 mM
觸媒	$CuBr_2$	0.0125 mM
還原劑	抗壞血酸	1.25 mM
溶劑	EtOH	270 μL

【0264】 6-2.結果

6-2-1.粒子固定化基材之製作

關於氧化矽奈米粒子與螢光性陽離子聚合物F1之複合體，利用Zeta Sizer對粒徑、表面Z電位實施測定，將測定結果示於表.6-3。於複合體之形成前後，表面Z電位從負值變為正值，因此成功確認到氧化矽奈米粒子與螢光性陽離子聚合物F1形成了複合體，又，根據粒徑及PDI，成功確認到粒子未凝集，無損分散性。

【0265】 [表6-3]

表6-3利用Zeta Sizer之粒徑、表面Z電位測定結果

測定物	粒徑	PDI	表面Z電位
氧化矽奈米粒子	201.2 nm	0.01824	-29.97mV
氧化矽奈米粒子+F1複合體	225.8 nm	0.1005	57.94mV

【0266】 又，將利用螢光顯微鏡獲得之觀察結果示於圖6-1。於任意樣品中均成功確認到來自氧化矽奈米粒子之綠色螢光及來自螢光性陽離子聚合物之紅色螢光，因此，確認到氧化矽奈米粒子-螢光性陽離子聚合物複合體固定於基材上。

【0267】 6-2-2.氧化矽奈米粒子去除後之螢光性陽離子聚合物F1確

認

將氧化矽奈米粒子-螢光性陽離子聚合物複合體固定化後之基材上之聚合物層聚合後之利用螢光顯微鏡獲得之觀察結果、及聚合後之氧化矽奈米粒子去除後之利用螢光顯微鏡獲得之觀察結果分別示於圖6-2及圖6-3。

根據圖6-2，於聚合後亦在基材上成功確認到來自氧化矽奈米粒子與螢光性陽離子聚合物之螢光，但根據氧化矽奈米粒子去除後之圖6-3，無法確認到來自氧化矽奈米粒子之綠色螢光，但另一方面，成功確認到來自螢光性陽離子聚合物之紅色螢光。據此確認到，於藉由實驗操作去除了氧化矽奈米粒子後，螢光性陽離子聚合物仍殘存於基材上所製作之聚合物層(氧化矽奈米粒子去除後之空孔內)。

【0268】 又，於氧化矽粒子去除後殘存於基板上之紅色螢光來自於氧化矽粒子去除後之空孔內存在之陽離子聚合物，據此，以該紅色螢光之亮點數＝空孔數，算出基板上之空孔密度。結果得知，本實驗條件下，形成於基板上之空孔密度與滴加至基材之氧化矽粒子之個數相關，位於10^3～10^6個/mm^2之範圍。據此得知，藉由滴至基材之個數除了能夠控制基材上之粒子樣態以外，亦可控制氧化矽粒子去除後之空孔密度。

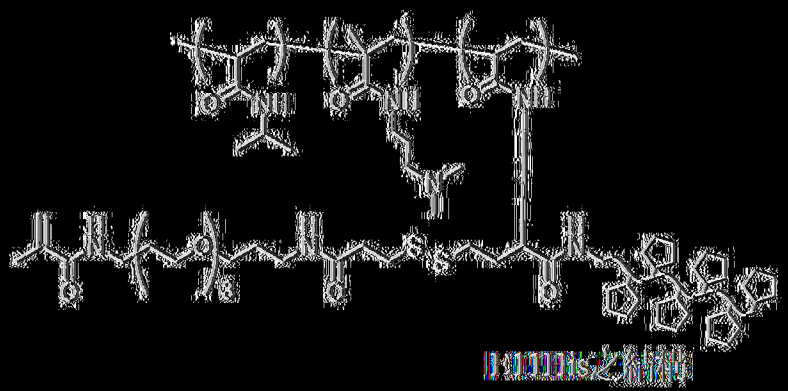
【0269】 6.B基材上之粒子密度

根據使用利用60倍物鏡之螢光觀察及雜交細胞計數對實施例2、3及5中獲得之測定基材上之粒子進行解析之結果即圖3-1、圖3-2及圖5-1得知，有隨著滴加個數之增多，基材上之氧化矽奈米粒子個數增加之傾向。又，於根據圖像可明確判斷為單分散、未凝集且為單層之No.4・No.5中，幾乎不存在亮點之面積超過2 μm^2者，故具有超過2 μm^2之亮點面積者可判斷為凝集體。藉由以該數值作為邊界值，當為產生超過邊界值2 μm^2

之亮點之No.4(3×10⁶個/4 μL)以上時，產生了凝集，當為No.5(1×10⁶個/4 μL)以下時，未產生凝集，故能夠以數值之形式客觀地表現，又，能夠基於滴至基材之個數來控制基材上之粒子樣態。將存在於測定基材上之粒子之解析結果彙總於圖6-4。於以未產生凝集之No.5(1×10⁶個/4 μL)以下之濃度散佈粒子之情形、以1×10⁵個/mm²以下之粒子密度存在於基材上之情形時，於基材上以單分散、未凝集且以單層配置有粒子。

[0270] (實施例7：His標籤聚合物與氧化矽奈米粒子之複合化)

[化37]



[表8]

試樣	Mw.	濃度 (mM)	最終液量 (mL)	重量 (mg)
N-丙烯醯基苯丙胺酸硫內酯	171.22	100	1	17
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	200	1	35
NIPAm	113.16	700	1	79
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙酸	345.63	10	1	3.5
AIBN	164.21	5	1	0.8

將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑。放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：70℃)中進行聚合(17 h)。(攪拌速度300 rpm)

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止。將反

應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。利用二乙醚洗淨沈澱，進行真空乾燥。

將所獲得之聚合物5 mg、His標籤(具有自N末端起結合有6個組胺酸、結合有3個甘胺酸，且於C末端結合有離胺酸者中C末端之羧基經醯胺化之結構者)4 mg、吡啶基二硫代乙基-PEG3-甲基丙烯醯胺3.5 mg、TEA 2.8 μL溶解於DMF(0.3 mL)，並攪拌9小時。向反應液中添加CH_2Cl_2、正己烷，回收所產生之沈澱，進行真空乾燥而獲得聚合物(E11His)。

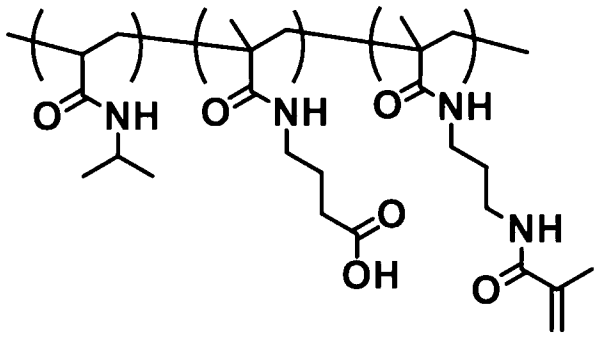
iii)E11His

於經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與NTA-SAM形成試劑(formation reagent)修飾之金基板上滴加4 mM $NiCl_2$水溶液後靜置(室溫，15 min)，然後用純水洗淨基板。將氧化矽奈米粒子(200 nm，COOH末端)與E11His水溶液之混合溶液(氧化矽濃度2.0×10^{11}粒子/mL、聚合物濃度1 mg/mL)利用DMF稀釋至4、400倍。將該等溶液4 μL滴至與$NiCl_2$反應後之金基板上，並靜置1小時。其後利用EtOH洗淨表面，用螢光顯微鏡進行觀察。將結果示於圖7。

【0271】(實施例8：陽離子氧化矽奈米粒子＋陰離子聚合物Ex8)

1.陰離子聚合物Ex8之合成方法

[化38]



將表C之配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於

DMF(最終液量：1 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑，放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：70℃)中進行聚合。(16 h)。

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止，將反應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。利用二乙醚洗淨所回收之沈澱後進行真空乾燥，獲得聚合物。

將所獲得之聚合物、TEA 70 μL(0.5 mmol)溶解於CH_2Cl_2，於冰浴冷卻下進行攪拌，向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯54 mg(0.3 mmol)，並攪拌一夜。其後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。使該沈澱再溶解於少量之CH_2Cl_2，添加過量之正己烷而產生沈澱，回收該沈澱進行真空乾燥，獲得目標聚合物(Ex8)。

產量：120 mg

[表C]

試樣	Mw.	濃度.(mM)	最終液量(mL)
N-(3-胺基丙基)甲基丙烯醯胺鹽酸鹽	178.66	100	1
4-[(2-甲基-1-側氧基-2-丙烯-1-基)胺基]丁酸	171.19	200	1
異丙基丙烯醯胺(NIPAm)	113.16	700	1
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	10	1
AIBN	164.21	5	1

2.氧化矽奈米粒子與聚合物之複合

將氧化矽(紅色，扁平，200 nm，50 mg/mL)1.98 mg(39.6 μL)與純水60.4 μL(共100 μL)進行混合，添加至預先裝在1.5 mL微量離心管中之EtOH 800 μL中，然後進而添加2 M之HCl 100 μL、APTES 15 μL，於25℃下利用Thermo振盪器以1000 rpm反應20 h。反應後利用乙醇進行離心洗淨(5000 rpm，10 min×3)。

將所製作之氧化矽奈米粒子分散液(NH_2末端，200 nm、4.0×10^{11}粒

子/mL、50 mM碳酸鹽緩衝液(pH值8.0))20 μL與Ex8碳酸鹽緩衝液溶液(2 mg/mL)20 μL進行混合，於25℃下靜置15分鐘。

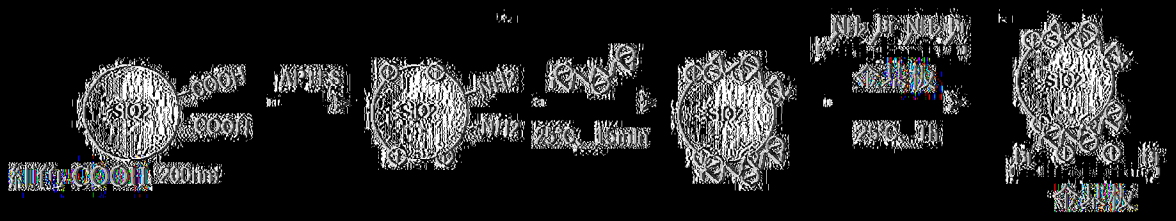
3.DLS測定

將2之複合體用純水稀釋100倍，使用DLS測定粒徑及ζ電位。

4.基板上之固定化

將2之複合體利用DMF稀釋至80倍。於經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇：胺基EG6十一烷基硫醇(1：1vol)修飾之金基板上滴加4 μL，在25℃下靜置1 h。其後，利用EtOH洗淨表面，用螢光顯微鏡及SEM觀察表面(圖8)。

[化39]



根據利用DLS獲得之粒徑測定結果及ζ電位測定之結果提示出，陰離子性紫合物吸附於氧化矽奈米粒子，從表面帶正電之狀態變為帶負電之狀態。又，粒徑未發生較大變化，據此表明，於紫合物吸附後亦保持了分散性。

[表D]

	氧化矽奈米粒子	Ex8複合後
粒徑(nm)	221.5	251.7
ζ電位(mV)	34.4	-14.4

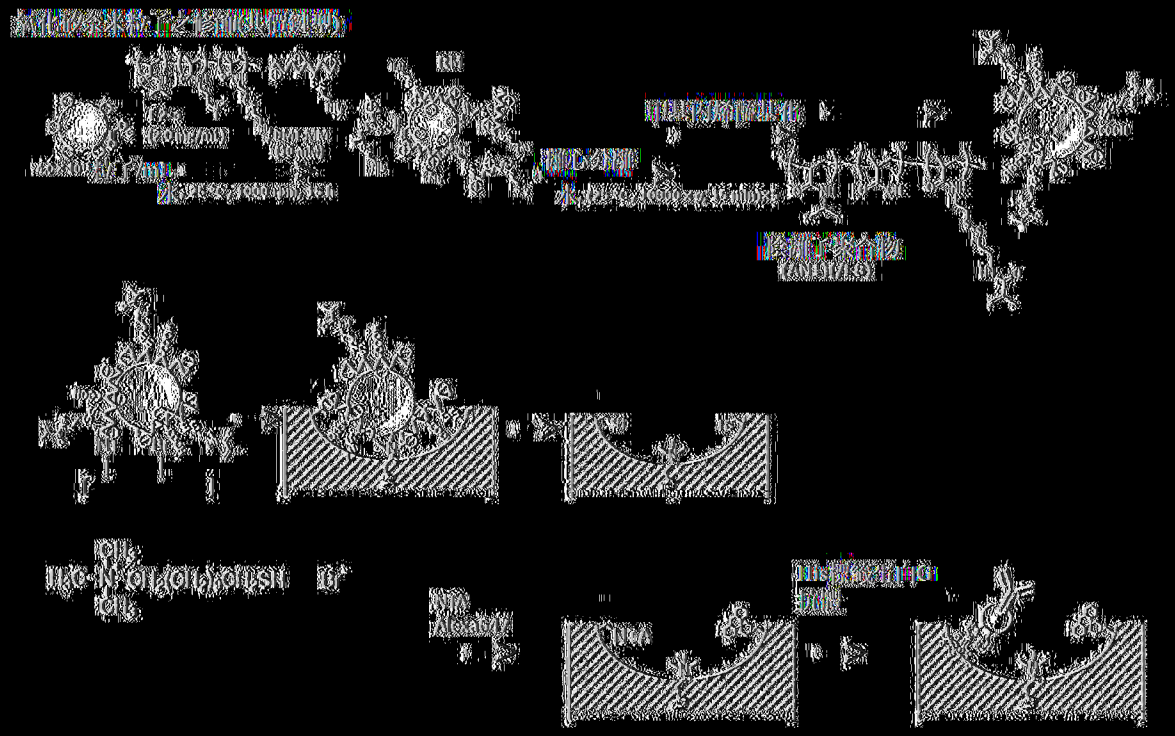
[0272] (結果)

根據圖8之觀察結果，觀察到來自氧化矽奈米粒子之螢光亮點單分散、未凝集且以單所進行分佈。據此表明，即便使陰離子紫合物Ex8與陽

離子氧化矽奈米粒子複合，亦與陽離子聚合物Ex8和陰離子氧化矽奈米粒子之情形相同，能夠以單分散、未凝集且單層地於基板固定粒子。

[0273] (實施例9：陽離子性奈米粒子-陰離子聚合物)

[化40]



[0274] (所使用之氧化矽奈米粒子)

・E2-0偶聯紅色-COOH氧化矽(RM)200 nm

4.0×10^{11}個/ml

[0275] (聚合物溶液)

・聚合物終濃度0.87 mg/mL(10 mM PB，pH值7.47)

[0276] (陰離子氧化矽)

・將氧化矽奈米粒子分散液與聚合物AN-1進行混合，形成複合體。(氧化矽終濃度1.0×10^{11}個/ml、聚合物終濃度0.435 mg/mL(5 mM PB))

將上述複合體溶液利用DMF稀釋4、40、400、4000倍，對於待複合

體固定化之基材滴加4 μL，於25℃下靜置1小時。利用乙醇洗淨基材，獲得粒子固定化基材。

【0277】(聚合物基質合成)

藉由ATRP形成薄膜(25℃，20 h)。

【0278】(粒子核之去除元)

將50%乙酸/MeOH 300 μL加入1.5 mL管中，逐個基板地進行浸漬，進行8分鐘超音波處理後，用純水洗淨。

【0279】(S-S還原切斷)

添加至50 mM之三(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽50%MeOH水溶液中，於40℃下反應1 h。將反應後之基材用純水洗淨。

【0280】(螢光色素之導入)

將50 μm之Alexa 647-C2-馬來醯亞胺、50 μm馬來醯亞胺-C3-NTA(5%DMSO 10 mM PB(7.4))溶液30 μL滴至基板，於25℃下靜置1 h進行反應，然後用純水洗淨。

安裝於深江化成製造之扁平型移液管吸頭內，利用附帶螢光顯微鏡之自動分注裝置測定基材表面之螢光強度變化。

順序

1.晶片安裝/PBS抽吸(150 μL)，獲取抗體固定化前之圖像

2.Ni錯合物之形成

抽吸4 mM之$NiCl_2$(水溶液)100 μL，反應5 min(25℃)

清洗　純水×4次，抽吸150 μL後噴出

3.蛋白G固定化

抽吸1 μm之His-蛋白G(PBS，abcam)100 μL，反應10 min(25℃)

清洗

0.01% tween(註冊商標)20 PBS×2次、PBS×2次

抽吸150 μL後噴出

4.抗體固定化

抽吸100 nM之抗CD9(市售品)(PBS)100 μL，反應10 min(25℃)

清洗

0.01% tween(註冊商標)20 PBS×2次、PBS×2次

抽吸150 μL後噴出

5.測定背景(F0：0.1%BSA，100 mM之PB(pH值7.0)，0.15 M之NaCl)5次

6.胞外體吸附

調整為0、3、30、300、1000 fM之SKBR3培養上清液胞外體(0.1%BSA，100 mM之PB(pH值7.0)，0.15 M之NaCl)

抽吸樣品(源自SKBR3之胞外體)100 μL，反應5 min(25℃)

圖像獲取

螢光顯微鏡

相機：Zyla4.2

濾光器：Cy5

(激發波長604-644 nm，螢光波長672-712 nm)

物鏡：×5

曝光時間：0.5 sec

光量：12%

光源：水銀燈

抽吸0.01% tween(註冊商標)20 PBS 150 μL後噴出

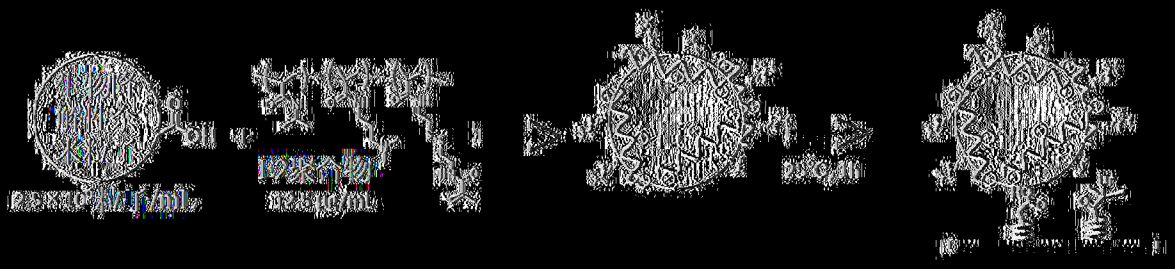
重複1～6

[0281] (結果)

針對於陽離子表面之基材使用陰離子聚合物修飾氧化矽粒子所製作之感測晶片，亦成功確認到藉由添加10 fM之源自SK-BR3細胞株之胞外體，有約5%之相對螢光強度變化。

[0282] (實施例10：生物降解性奈米粒子：聚乳酸/乙醇酸共聚物(PGLA))

[化41]



[0283] (SAM於基板上之形成)

將金基板浸漬於0.5 mM之2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇，0.5 mM之羧基-EG6十一烷基硫醇EtOH溶液中，形成SAM。(30℃，20 h)

[0284] (粒子之製備)

對螢光性羧基化PGLA奈米粒子(200 nm)水懸浮液進行1 min超音波(Lv2)後，以奈米粒子與E2聚合物水溶液之終濃度成為2×10^{11}粒子/mL與1 mg/mL之方式進行混合，利用EtOH稀釋80倍，將所得之溶液4 μL滴至基板(1.0×10^{7}粒子/4 μL)，於25℃下靜置1 h後，利用EtOH洗淨3次。

[0285] (SEM觀察、螢光觀察)

以E2聚合物水溶液成為1 mg/mL之方式進行混合後，利用EtOH進行稀釋，將所得之溶液4 μL滴至基材(1.0×10^{7}粒子/4 μL)，於25℃下靜置1 h

後，利用EtOH洗淨3次

於EtOH中進行基板上之螢光觀察(KEYENCE BZ-X800、激發波長470±20 nm/螢光波長525±25 nm)。其後，進行真空乾燥，金濺鍍後，觀察掃描式電子顯微鏡(SEM)圖像。(圖9)

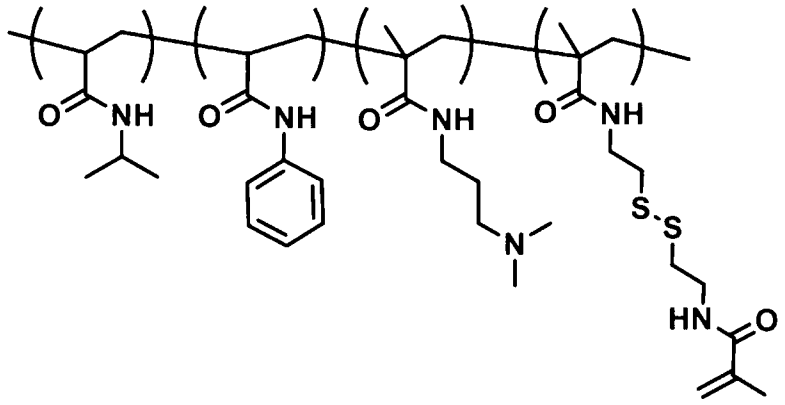
【0286】(結果)

展示出不遜於氧化矽奈米粒子或聚苯乙烯奈米粒子之樣態，得知該方法能夠應用於所有核粒子。

【0287】(實施例11：氧化矽奈米粒子＋含有芳香族成分之陽離子聚合物E2P20)

1.E2P20合成方法

[化42]



含有芳香族成分(苯基)之陽離子聚合物E2P20係以如下方式進行合成。

將上述配方之化合物放入舒倫克燒瓶(25 mL)中，使該等溶解於DMF(最終液量：2 mL)。最後添加RAFT劑及起始劑。放入攪拌棒後進行脫氣氬氣置換，於油浴(設定溫度：75℃)中進行聚合(24 h)。(攪拌速度300 rpm)

聚合後將舒倫克燒瓶冰浴冷卻，藉由送入空氣而使反應停止。將反

應溶液添加至大量之二乙醚中，回收所產生之沈澱。利用二乙醚洗淨沈澱，進行真空乾燥。

將前項中製作之聚合物、TEA 42 μL溶解(或分散)於CH_2Cl_2中，並進行攪拌。向其中添加甲基丙烯酸N-丁二烯亞胺酯37 mg並攪拌一夜。反應後，向反應溶液中添加正己烷，回收所產生之沈澱。向沈澱中加入MeOH、CH_2Cl_2、正己烷，回收所產生之沈澱，進行真空乾燥，獲得目標聚合物(E2P20)。

產量：110 mg

[表E]

試樣	Mw.	濃度(mM)	最終液量(mL)	重量(mg)	液量(μL)
Cys甲基丙烯醯胺	256.82	100	2	51.364	-
N-(3-(二甲胺基)丙基)甲基丙烯醯胺	170.25	100	2	34.050	36.223
N-苯基丙烯醯胺	147.18	100	2	29.436	
N-異丙基丙烯醯胺(NIPAm)	113.16	200	2	45.264	-
2-氰基-2-[(十二烷基硫基硫羰基)硫基]丙烷	345.63	12.5	2	8.641	-
AIBN	164.21	6.25	2	2.053	-

【0288】 2.氧化矽奈米粒子與聚合物之複合

將氧化矽奈米粒子水分散液(COOH末端，200 nm，Lot.0921940-03、4.0×10^{11}粒子/mL)40 μL與E2P20水溶液(2 mg/mL)40 μL進行混合，於25℃下靜置15分鐘，形成氧化矽奈米粒子與E2P20之複合體。

【0289】 3.DLS測定

將氧化矽奈米粒子與E2P20之複合體用純水稀釋100倍，使用DLS測定粒徑及Z-電位。

【0290】 4.基板上之固定化

將氧化矽奈米粒子與E2P20之複合體用DMF稀釋至80倍，於經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇：羧基-EG6十一烷基硫醇(1：1)修飾之金基

板上滴加14 μL，於25℃下靜置1 h。其後利用EtOH洗淨表面，利用螢光顯微鏡及SEM觀察表面。

根據利用DLS獲得之粒徑測定結果及ζ電位測定之結果提示出，陽離子性聚合物吸附於氧化矽奈米粒子，從表面帶負電之狀態變化為帶正電之狀態。又，粒徑未發生較大變化，據此表明，於聚合物吸附後亦保持了分散性。

[表F]

	氧化矽奈米粒子	E2P20複合後
粒徑(nm)	210.1	223.2
ζ電位(mV)	-41.2	15.8

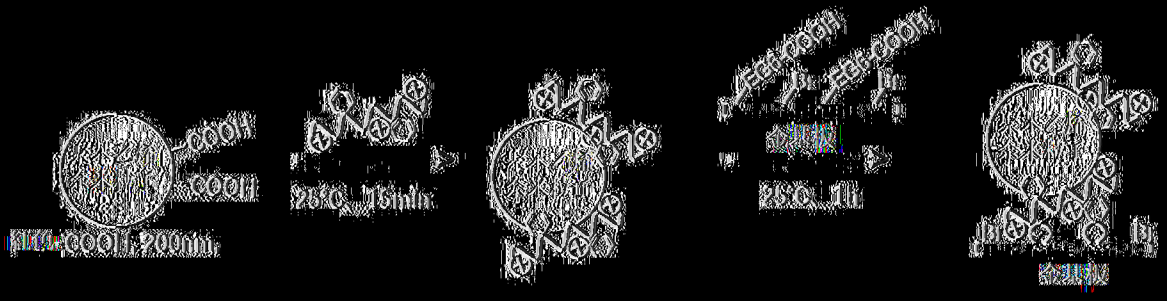
[0291] (結果)

根據圖10-1所示之觀察結果，觀察到來自氧化矽奈米粒子之螢光亮點單分散、未凝集且以單層進行分佈。據此表明，E2中導入有芳香族成分(苯基)之E2P20與E2之情形相同，當與氧化矽奈米粒子複合化而固定於基板上時，單分散且未凝集，能夠以單層固定於基板。

[0292] (實施例12：聚苯乙烯奈米粒子+含有芳香族成分之陽離子聚合物E2P20)

使用聚苯乙烯奈米粒子代替實施例11中之氧化矽奈米粒子，使之與含有芳香族成分之陽離子聚合物E2P20複合化。

[化43]



將聚苯乙烯(PS)奈米粒子(250 nm，COOH末端，2.0×10^{12}粒子/mL)20 μL與E2P20水溶液(2 mg/mL)20 μL進行混合，將該溶液利用DMF稀釋至40、400、4000、40000倍。將該等溶液4 μL滴至經2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG_6十一烷基硫醇修飾之金基板上，並靜置1小時。其後利用EtOH洗淨表面，並用螢光顯微鏡進行觀察。(圖10-2)

【0293】(結果)

觀察到與氧化矽奈米粒子之情形相同，即便使用聚苯乙烯奈米粒子，不論滴加之粒子數如何，螢光亮點單分散且未凝集，以單層進行了分佈。據此表明，即便於陽離子聚合物中導入芳香族成分，亦能夠以單分散、未凝集且單層地固定粒子。

【0294】(實施例13：性能試驗(感測器感度)、再現性之確認)

13-1.實驗

13-1-1.金基材之表面修飾

利用EtOH清洗金基材(9.8 mm×4.3 mm)後，實施UV-O3處理15 min，洗淨基材表面。

於EtOH溶劑中將2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG_6十一烷基硫醇以1：1進行混合，製備1 mM之EtOH溶液，將上述金基材浸漬於該溶液中。於30℃下靜置20小時後利用EtOH、純水洗淨基材，從而於金基材表面形成自組單分子膜(Self-Assembled Monolayer：SAM)。

13-1-2.粒子固定化基材之製作

將氧化矽奈米粒子水中分散液(末端官能基：COOH、粒徑200 nm、粒子濃度：4.0×10^{11}個/mL)與聚合物E2水溶液(2.0 mg/mL)以1/1(v/v)進行混合，形成複合體。

【0295】利用DMF稀釋上述合體溶液，以成為1×10^8、1×10^7、1×10^6、1×10^5個之方式對於待複合體固定化之基材進行滴加(4 μL)，於25℃下靜置1小時。依序利用DMF、EtOH洗淨基材，獲得粒子固定化基材。針對於各添加條件，各製作10片基材。

13-1-3.於粒子固定化基材上之聚合物基質及分析感測器之合成

以表7所示之組成製備預聚物溶液，以冷凍脫氣之方式去除溶氧後，在經氬氣置換之手套式操作箱內進行混合，於25℃下進行20小時聚合。將聚合後之基材用大量純水洗淨。

【0296】將聚合後之基材浸漬於AcOH/MeOH(1/1(v/v))液中進行超音波照射(5 min)。其後利用MeOH、純水洗淨基材，去除氧化矽奈米粒子，從而於聚合物薄膜形成凹部。

其後，將基材浸漬於50 mM三(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽溶液(甲醇/純水＝1/1(v/v))中，進行5 min超音波處理，藉此去除E2聚合物，使硫醇基露出。

【0297】[表7]

表7預聚物溶液組成

	試樣	濃度
主原料	MPC(2-甲基丙烯醯氧基乙基磷酸膽鹼)	500 mM
起始劑	EBIB(α-溴異丁酸乙酯)	1.25 mM
配體	TPMA(三(2-吡啶基甲基)胺)	0.125 mM
觸媒	$CuBr_2$	0.0125 mM
還原劑	抗壞血酸	1.25 mM
溶劑	EtOH	270 μL

【0298】於上述基材上滴加50 μM Alexa Fluor(R)647 C2馬來醯亞胺與50 μM馬來醯亞胺C3 NTA PBS溶液(30 μL)，於25℃下靜置1小時，從而於凹部內導入螢光分子及NTA基。利用MeOH、純水洗淨反應後之基材。

【0299】 於上述基材上滴加4 mM $NiCl_2$水溶液(30 μL)，於25℃下靜置30分鐘，形成Ni-NTA錯合物。用純水洗淨反應後之基材。其後，滴加1μM之經His標籤修飾之蛋白G PBS溶液(30 μL)，於25℃下靜置1小時，利用Ni-NTA與帶His標籤之複合體形成來導入蛋白G。最後滴加0.3 μM之抗CD9抗體PBS溶液(30 μL)，於25℃下靜置1小時，構建分析感測器。

13-1.4.吸附實驗

使用附帶自動分注裝置之螢光顯微鏡(SYSTEM INSTRUMENTS股份有限公司製造)，進行前列腺癌細胞(PC-3)胞外體捕捉實驗。將PC-3胞外體PBS(10 mM磷酸鹽，140 mM之NaCl，pH值7.4)溶液之濃度設為0、1.0 fM。關於螢光顯微鏡之測定條件，濾光器為Cy5(激發波長604-644 nm，螢光波長672-712 nm)，物鏡為5倍，曝光時間為0.2 sec，光量為12%，光源為水銀燈。於基材中心部之範圍內進行測定。關於自動分注裝置之順序，1.晶片安裝、2.樣品抽吸(100 μL)、3.反應(1 min，25℃)、4.全噴出、5.抽吸10 mM之PBS(140 mM之NaCl，pH值7.4) 150 μL、6.保持測定位置(以下重複2→6)。

對使用經固定化之粒子個數為1×10^8、1×10^7、1×10^6、1×10^5個之基材所製作之分析感測器各10片之初期螢光強度(F_0)及胞外體添加時之相對螢光強度變化進行測定。根據各分析感測器之相對螢光強度變化之平均值及標準偏差算出變異係數(＝標準偏差/平均值[%])，並觀察經固定化之粒子個數與所製作之分析感測器之變異係數之間之關聯，藉此對經固定化之粒子個數對再現性產生之影響進行研究。

【0300】 (比較例1：國際公開第2018/221271號及Toshifumi

Takeuchi et al., J. Am. Chem. Soc., 2020年03月10日 ，Vol.142，Page.6617-6624之條件下之氧化矽奈米粒子凝集固定化)

1.His標籤與硫醇基向氧化矽奈米粒子之導入

將螢光性氧化矽奈米粒子(紅色-COOH，200 nm，Lot.0442240-01)用水調整為25 mg/mL(3.0×10^{12}粒子/mL)。向氧化矽奈米粒子水懸浮液1 mL中添加50 mM之His標籤(具有自N末端起結合有6個組胺酸、結合有3個甘胺酸，且於C末端結合有離胺酸者中C末端之羧基經醯胺化之結構)水溶液10 μL與50 mM之2-胺基乙硫醇-HCl水溶液10 μL、50 mM之DMT-MM水溶液10 μL，使用Thermo振盪器，於25℃下以1000 rpm反應19小時，從而對氧化矽奈米粒子導入His標籤與硫醇基。

2.基板之製作

將金基板浸漬於0.5 mM之2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇、0.5 mM胺基-EG6十一烷基硫醇之EtOH溶液中，對基板表面導入胺基與溴基(30℃，20 h)。

3.於基板上導入NTA而形成鎳錯合物

對導入有胺基與溴基之基板滴加5 mM之異硫氰基苄基-NTA之DMSO溶液80 μL，於25℃下靜置2小時。分別利用DMSO洗淨2次、用純水洗淨2次，進行N_2乾燥。滴加4 mM之$NiCl_2$水溶液30 μL，於25℃下靜置15分鐘，用純水洗淨3次，形成NTA之Ni錯合物。

4.導入有His標籤與硫醇基之氧化矽奈米粒子之固定化

將導入有His標籤與硫醇基之氧化矽奈米粒子按照表中所示之濃度，以磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)作為溶劑，向上述基板滴加50 μL，於25℃下靜置1小時。利用PBS進行3次基板之洗淨，用螢光顯微鏡(Keyence BZ-

800)及SEM觀察其板表面。(圖11)

[表G]

操作	粒子濃度(mg/mL)	溶劑種類	滴加量(μL)	滴加粒子數
1.0 PBS	1.0	PBS	50	6.0×10^{9}粒子/50 μL
5.1 PBS	5.1	PBS	50	3.1×10^{10}粒子/50 μL

根據圖11之觀察結果，亦局部發現單個氧化矽粒子，但觀察到大部分凝集之情況。據此表明，當對氧化矽奈米粒子修飾His標籤後再固定於基板時，未能單分散且未凝集、以單層進行固定化。

[0301] (比較例2：於未使用粒子之情況下製作之感測器之感度)

[化44]



(SAM於基板上之形成)

對金基材(9.8 mm×4.3 mm)實施UV-O_3處理20 min，對基材表面進行淨化。於EtOH溶劑中將2-(2-溴異丁醯氧基)十一烷基硫醇與羧基-EG6十一烷基硫醇以1：1進行混合，製備1 mM之EtOH溶液，將上述金基材浸漬於該溶液中。於30℃下靜置20小時後利用EtOH洗淨基材，從而於金基材表面形成自組單分子膜(Self-Assembled Monolayer：SAM)。將聚合物E2水溶液(1 mg/mL)利用DMF稀釋80倍，對形成有SAM之基材滴加14 μL，於25℃下靜置1小時。用乙醇洗淨基材。

[0302] (聚合物基質合成)

製作預聚物溶液與抗壞血酸溶液，以冷凍脫氣之方式去除溶氧後，於手套式操作箱內進行混合，在25℃下進行20小時聚合。將聚合後之基材用純水洗淨。

[表H]

ATRP配方	
MPC	500 mM
α-溴異丁酸乙酯	1.25 mM
TPMA	0.125 mM
$CuBr_2$	0.0125 mM
L-抗壞血酸	1.25 mM
EtOH	270 μL

【0303】(乙酸處理)

放入50%MeOH-50%乙酸溶液中，進行5 min超音波處理後用純水洗淨。

【0304】(S-S還原切斷)

將0.5 mM之三(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽)水溶液添加至Thermo振盪器中，於40℃下預熱5 min後放入乙酸處理後之基材，於40℃下反應1 min。將反應後之基材用純水洗淨。

【0305】(螢光、NTA導入)

滴加含50 μ m之馬來醯亞胺-C3-NTA-50 μm Alexa 647-C2-馬來醯亞胺之20%DMSO之10 mM PB(pH值7.4)溶液30 μL，於25℃下靜置1 h進行反應，然後用DMSO與純水洗淨。

【0306】(His標籤蛋白G、抗體導入)

將4 mM之$NiCl_2$水溶液30 μL滴至基材上，然後靜置(25℃，15 min)。將反應後之基材用純水洗淨。滴加1 μm之帶His標籤之蛋白G(His-Protein G)之PBS溶液30 μL，於25℃下靜置1小時，藉此使His-蛋白G固定

化。將His-蛋白G固定化後之基材用PBS洗淨。

滴加0.1 μm之抗CD9之PBS溶液30 μL，於25℃下靜置1小時，藉此對基材導入抗體。將抗體導入後之基材用PBS洗淨。

安裝於深江化成製造之扁平型移液管吸頭內，利用附帶螢光顯微鏡之自動分注裝置測定基材表面之螢光強度變化。

將PC3胞外體粒子PBS溶液之濃度設為0.03、0.3、3、30 fM。

1.晶片安裝

2.抽吸PBS 150 μL，進行F0測定×5

3.抽吸樣品(源自PC3之胞外體)100 μL

4.反應5 min(25℃)

5.全噴出

6.抽吸10 mM PBS(140 mM之NaCl，pH值7.4)150 μL

7.自動測定

螢光顯微鏡

相機：Zyla4.2

濾光器：Cy5

(激發波長604-644 nm，螢光波長672-712 nm)

物鏡：×5

曝光時間：0.5 sec

光量：12%

光源：水銀燈

8.重複3～7

【0307】(結果)

將結果示於圖12。於未使用氧化矽粒子核之空孔未形成之基材中，未產生對於胞外體之應答。

【0308】 (實施例14：動物實驗)

於本實施例中展示基於動物實驗之實證例。

測定狗或貓之血液中之胞外體。該實驗係採集經獸醫確診之癌或內臟疾病之狗或貓之血液，測定胞外體。痊癒後再次測定胞外體，觀察其差異，藉此對是否能夠檢測狗或貓之癌或內臟疾病進行研究。

【0309】 能夠設想到上述用途以外之以下用途。

人以外之用途

1.包含寵物(貓、狗、鳥類等)動物之癌症之疾病之檢查

2.家畜(牛、馬、豬、雞等)所攜帶之感染症致病病毒或感染性蛋白質(朊病毒等)、其他病原性/感染性因子之檢測

3.有害動物(鳥類、蝙蝠、狐、貓鼬、浣熊等)所攜帶之感染症致病病毒或感染性蛋白質(朊病毒等)、其他病原性/感染性因子之檢測

4.水產品之品質或新鮮度檢查

5.農產品之品質或新鮮度檢查

6.植物或樹木等之病原菌、病毒檢查

(實施例15：臨床應用)

於本實施例中，如下所述，對於癌症診斷中之應用加以佐證。

【0310】 於得到臨床實驗施行醫院之臨床研究審查委員會核准之臨床研究中，在患者同意之基礎上，癌症檢測之有無係藉由觀察全摘除手術前後之感測器應答之差異，對能否利用本感測器檢測癌症進行研究。繼續進行觀察，對能否檢查癌症之轉移或復發進行研究。藥物療法之治療效果

係針對能否以給藥前後之感測器應答之差異進行評價來進行研究。生活習慣疾病係針對能否基於攝取食物與感測器應答之關係來診斷進行研究。又，對能否根據感測器應答推定癌細胞表面抗原之存在而進行伴隨式診斷進行研究。進而，對能否基於感測器應答對使用細胞之治療中之細胞實施品質管理進行研究。

【0311】 除上述以外，設想本發明之技術有以下之應用。

癌症之檢查

癌症手術時之摘除殘留檢查

癌症之轉移或復發之檢查

藥物療法之治療效果

生活習慣疾病之檢查

給藥目的之伴隨式診斷

細胞工學中之細胞品質管理

(附記)

如上所述，使用本發明之較佳實施方式對本發明進行了例示，但應理解，本發明僅由申請專利範圍來解釋其範圍。於本說明書中，關於所引用之專利、專利申請案及其他文獻，應理解，應與其內容本身被具體記載於本說明書中同樣地，將其內容作為本說明書之參考援引。

[產業上之可利用性]

【0312】 本發明中提供之技術能夠應用於採用檢查分析技術之所有領域(包含診斷)。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種分析用感測器製作用基材，其包含：

A)基材本體、及

B)以單層(Single Layer)之狀態配置於該基材本體之粒子。

【請求項2】

如請求項1之分析用感測器製作用基材，其中上述粒子不凝集而配置。

【請求項3】

如請求項1或2之分析用感測器製作用基材，其中上述粒子包含與修飾物質一體化之粒子。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之分析用感測器製作用基材，其中上述基材進而包含C)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配上述對象之凹部；上述粒子配置於該凹部。

【請求項5】

一種凸型分析用感測器，其包含：

A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配檢測對象之凹部，該粒子不凝集而配置於該凹部；

C)配置於該粒子之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該粒子之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該粒子以1×10^{3}個/mm^{2}～1×10^{10}個/mm^{2}之密度配置於

該基材本體。

【請求項6】

一種分析用感測器，其包含：

A)基材本體；

B)聚合物基質，其配置於該基材本體上，且該聚合物基質具有至少一部分適配檢測對象之凹部；

C)配置於該凹部之訊號物質之結合用基；及

D)配置於該凹部之與成為檢測對象之分子結合之特異性結合性分子之結合用基；此處，該凹部以1×10^{3}個/mm^{2}～1×10^{10}個/mm^{2}之密度不凝集而配置於該基材本體。

【請求項7】

如請求項6之分析用感測器，其中上述凹部以1×10^{4}個/mm^{2}～1×10^{6}個/mm^{2}之密度不凝集而存在。

【請求項8】

一種用於製造凸型分析用感測器製作用基材之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；及

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟。

【請求項9】

一種用於製造分析用感測器製作用基材之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及

E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟。

【請求項10】

如請求項8或9之方法，其中上述以不凝集而配置之方式進行添加之步驟包含：以1.0×10^{0}個/μL～1.0×10^{10}個/μL之濃度、或相對於基材之表面積為1.0×10^{0}個/mm^2～1.0×10^{10}個/mm^2之量對基材添加粒子。

【請求項11】

一種用於製造凸型分析用感測器之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；及

E)使分析所需之物質結合於上述粒子之步驟。

【請求項12】

一種用於製造分析用感測器之方法，其包含：

A)提供粒子之步驟；

B)以使粒子不凝集而配置於基材本體之方式對基材添加該粒子之步驟；

C)對固定有該粒子之該基材提供聚合物基質之原料之步驟；

D)藉由將該基材供於該聚合物基質進行聚合之條件，而形成配置有該聚合物基質之基材之步驟；

E)藉由供於該粒子自該基材解離之條件而形成凹部之步驟；及

F)使分析所需之物質結合於上述凹部之步驟。

【請求項13】

如請求項12之用於製造分析用感測器之方法，其係藉由形成1×10^{10}個/mm^2以下之密度之凹部，而以80%以上之比率製作靶物質檢測中之相對螢光強度變化之變異係數為20%以下之上述分析用感測器。

【請求項14】

如請求項12之用於製造分析用感測器之方法，其係藉由形成基材上之面積佔有率為最密填充以下之凹部，而以80%以上之比率製作靶物質檢測中之相對螢光強度變化之變異係數為20%以下之上述分析用感測器。

【請求項15】

如請求項8至14中任一項之方法，其中上述不凝集而配置之步驟包含於基材上以1×10^{3}個/mm^2～1×10^{10}個/mm^2之密度配置上述粒子之步驟。

【請求項16】

如請求項8至15中任一項之方法，其中上述粒子為單層(Single Layer)之狀態。

【請求項17】

如請求項9、12至14中任一項之方法，其中於上述形成凹部之步驟

中，上述凹部以1×10^{3}個/mm^{2}～1×10^{10}個/mm^{2}之密度存在。

【請求項18】

如請求項8至17中任一項之方法，其中上述配置粒子之步驟包含旋轉塗佈法、將粒子滴至基材上之方法、將基材浸漬於粒子分散液中之方法、自粒子分散液中提拉基材之方法、或將粒子分散液噴霧之方法。

(發明圖式)

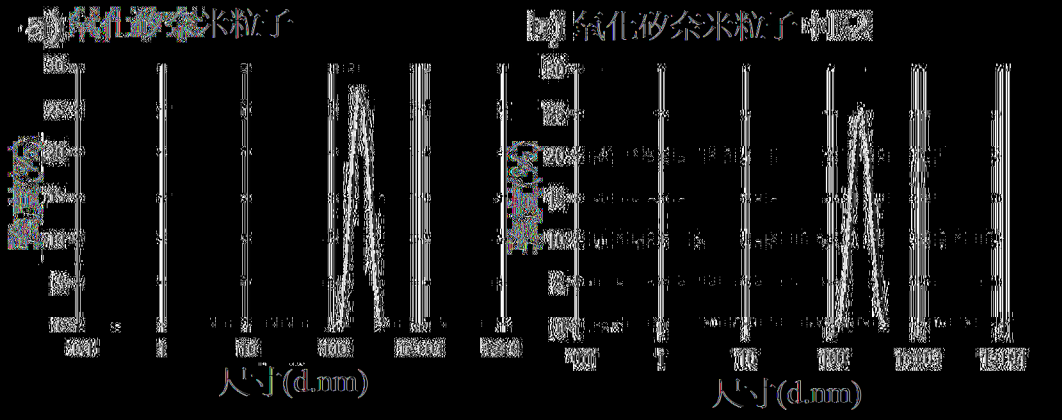


圖1.4.各粒子之DLS測定結果

(圖1.4)

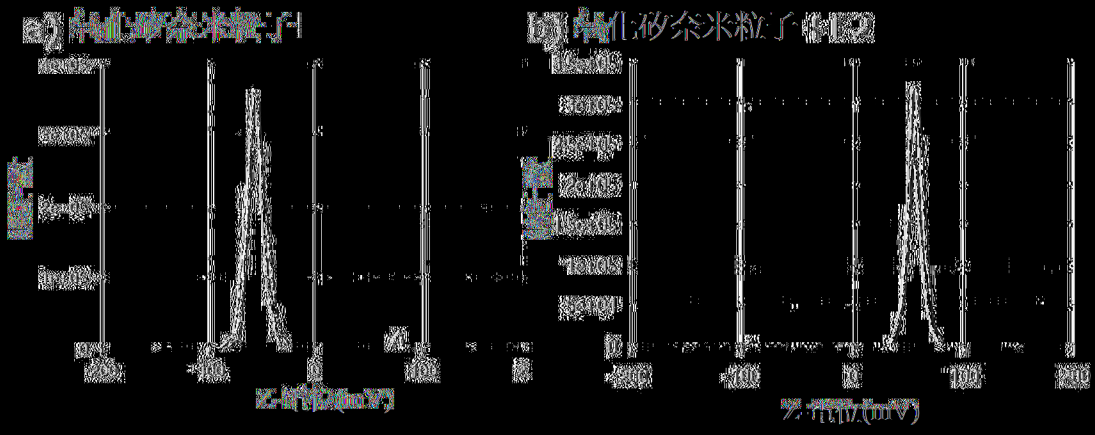
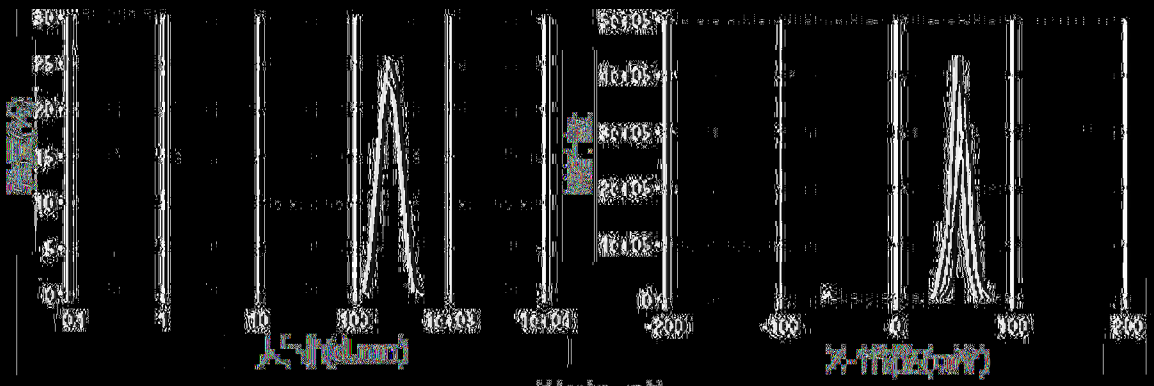


圖1.5.各粒子之Z-電位測定結果

(圖1.5)



[圖1-6]

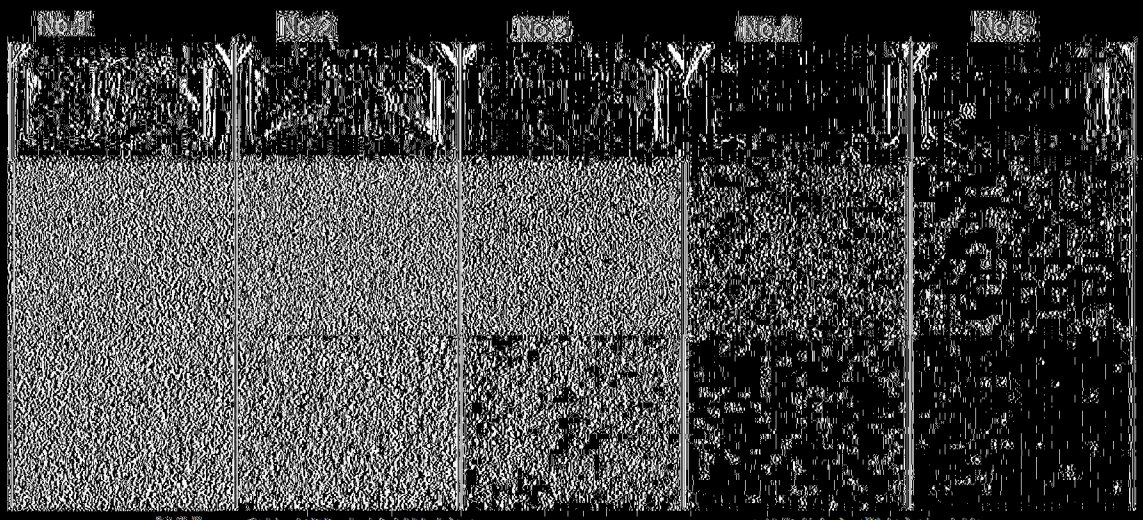


圖2-1 利用螢光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像
(上段：4倍物鏡，中段：22.2倍物鏡，下段：60倍物鏡)
(圖2-1)

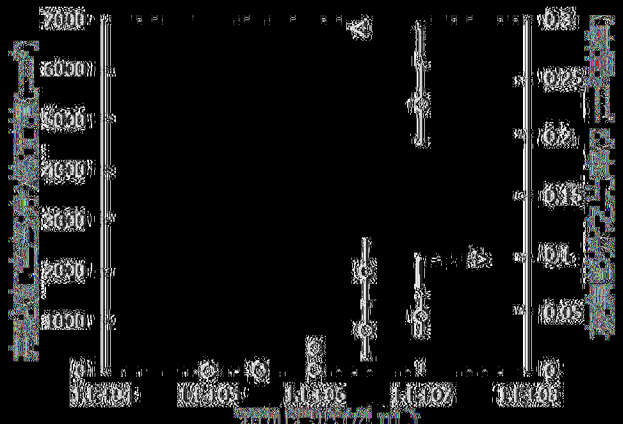


圖2-2 使用60倍物鏡下之螢光觀察結果之雜交細胞計數解析結果
(圖2-2)

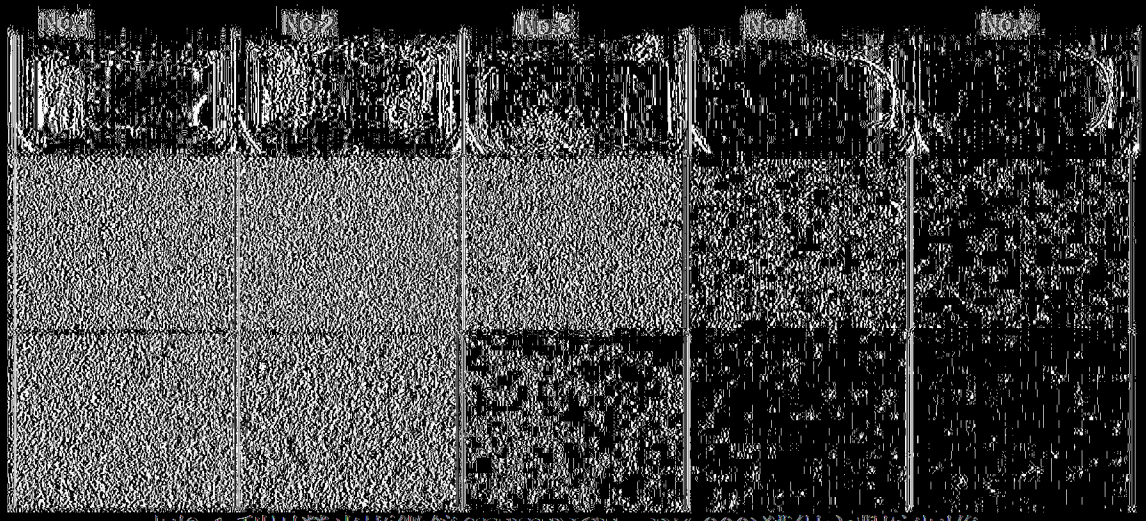


圖3-1 利用登光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像
(上段：4倍物鏡，中段：22.2倍物鏡，下段：60倍物鏡)
(圖3-1)

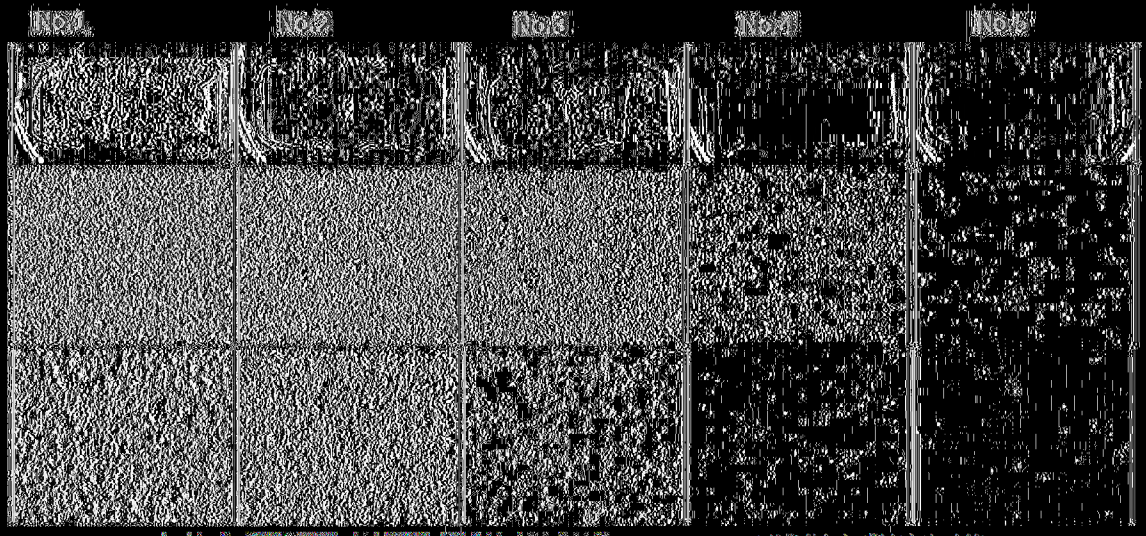


圖3-2 利用登光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像
(上段：4倍物鏡，中段：22.2倍物鏡，下段：60倍物鏡)
(圖3-2)

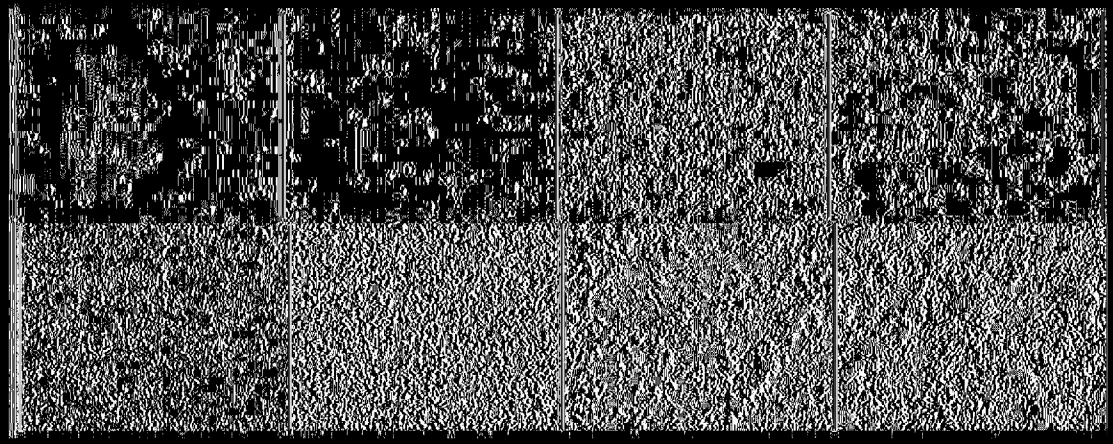


圖4 利用登光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像(60倍物鏡)
(圖4)

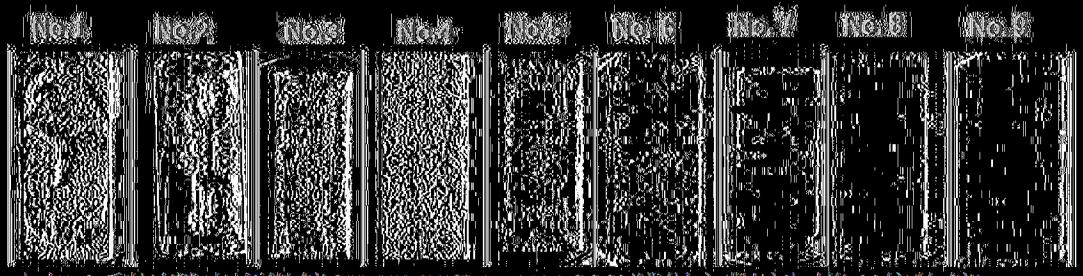


圖5-1 利用螢光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像(4倍物鏡)

(圖5-1)

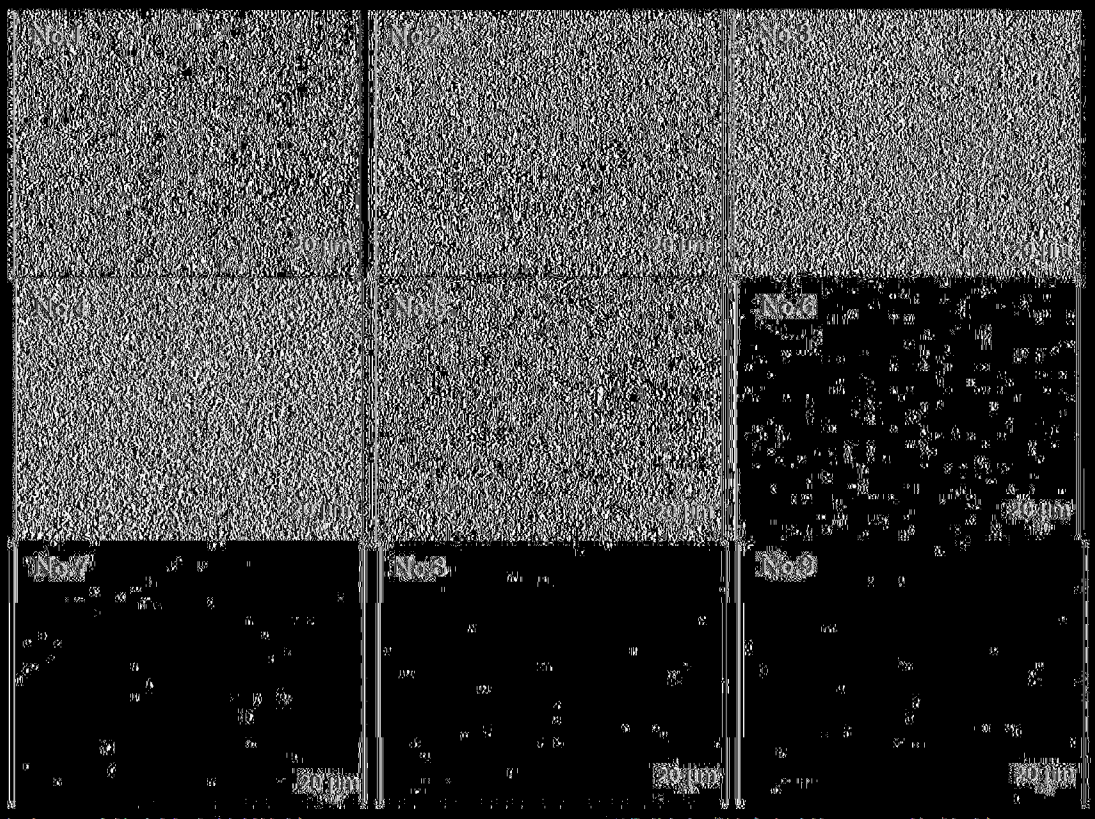


圖5-2 利用螢光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像(22.2倍物鏡)

(圖5-2)

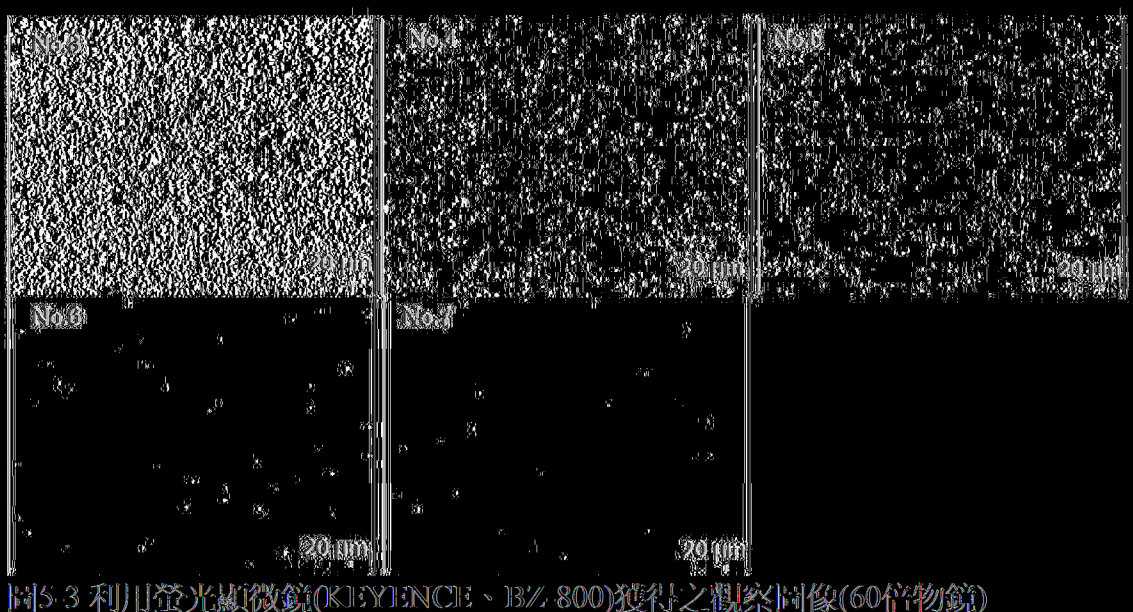


圖5-3 利用螢光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像(60倍物鏡)

(圖5-3)

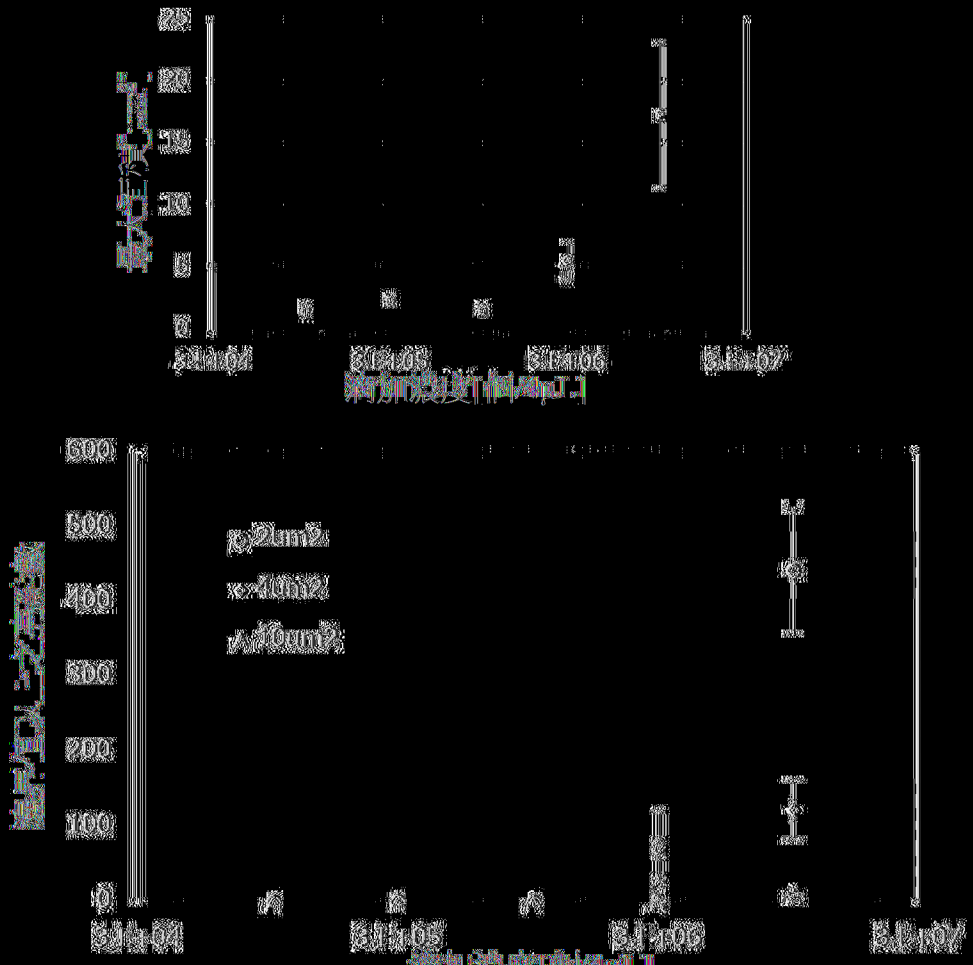


圖5-4 使用60倍物鏡下之螢光觀察結果之雜交細胞計數解析結果
(上段：螢光圖像內之最大亮點面積之變化，下：其於邊界值之凝集亮點數之變化)

|(圖5-4)|

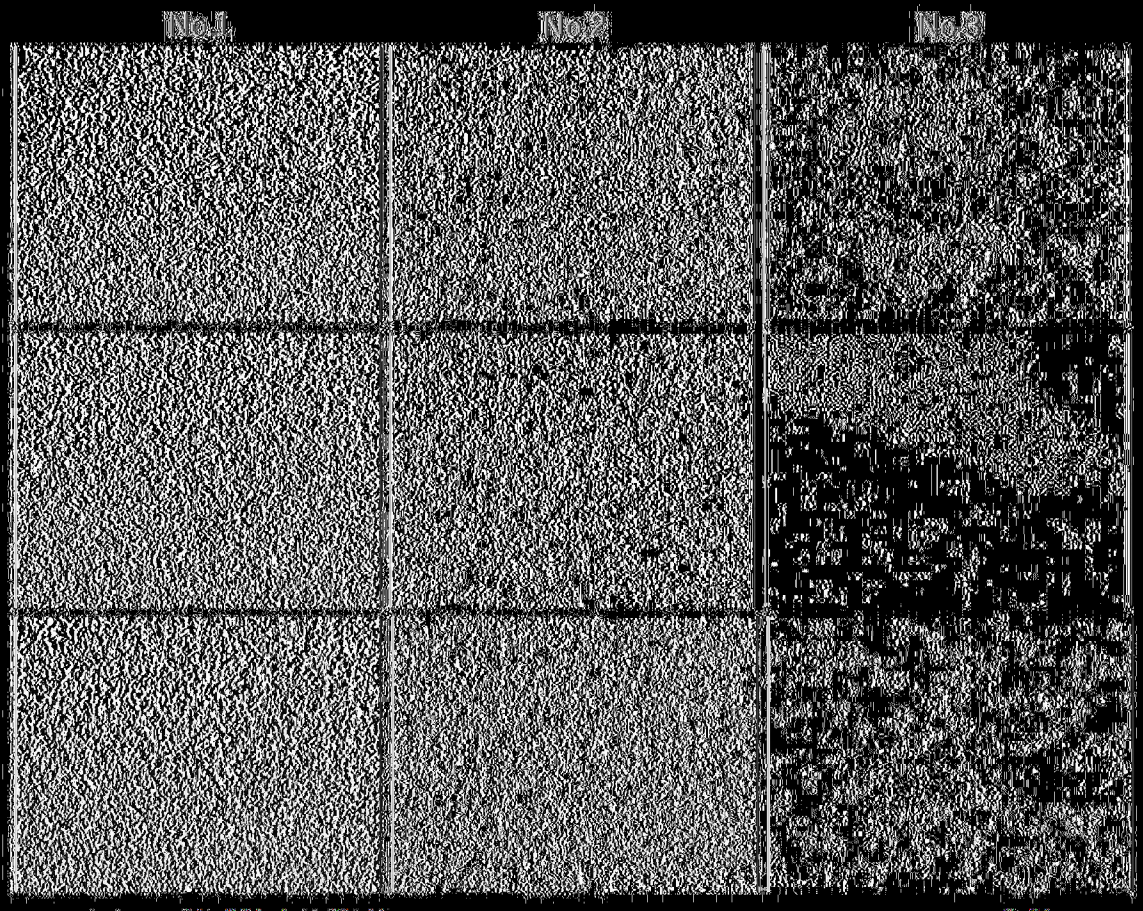


圖6-1 利用螢光顯微鏡(OLYMPUS，B∕800)獲得之觀察圖像(60倍物鏡)
(上段：氧化矽奈米粒子(綠)，中段：螢光性陽離子聚合物(紅)，下段：重疊)
|(圖6-1)|

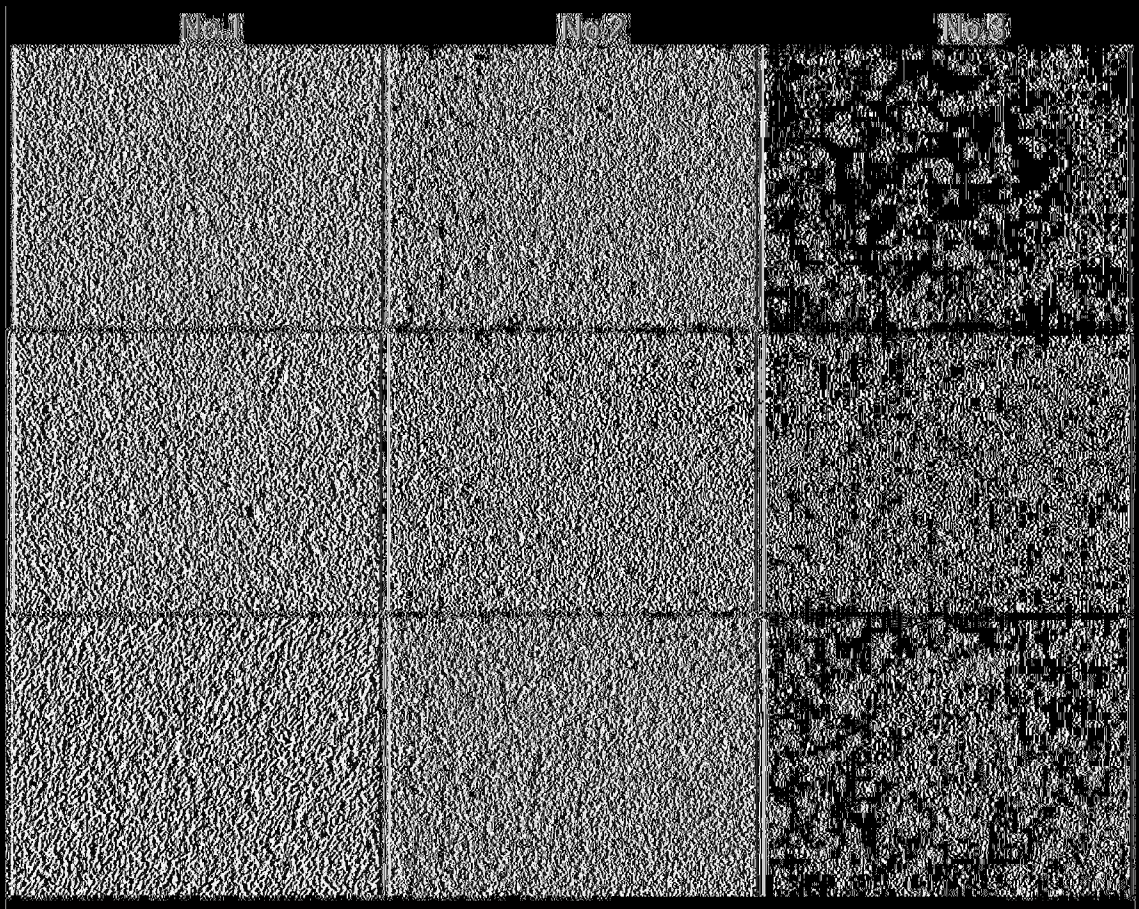


圖6-3.利用雷射顯微鏡(OLYMPUS、BX-300)獲得之觀察圖像(紫合物紫合劑)(上段：載體矽奈米粒子(綠)，中段：螢光性陽離子紫合物(紅)，下段：重疊)

|(圖6-2)|

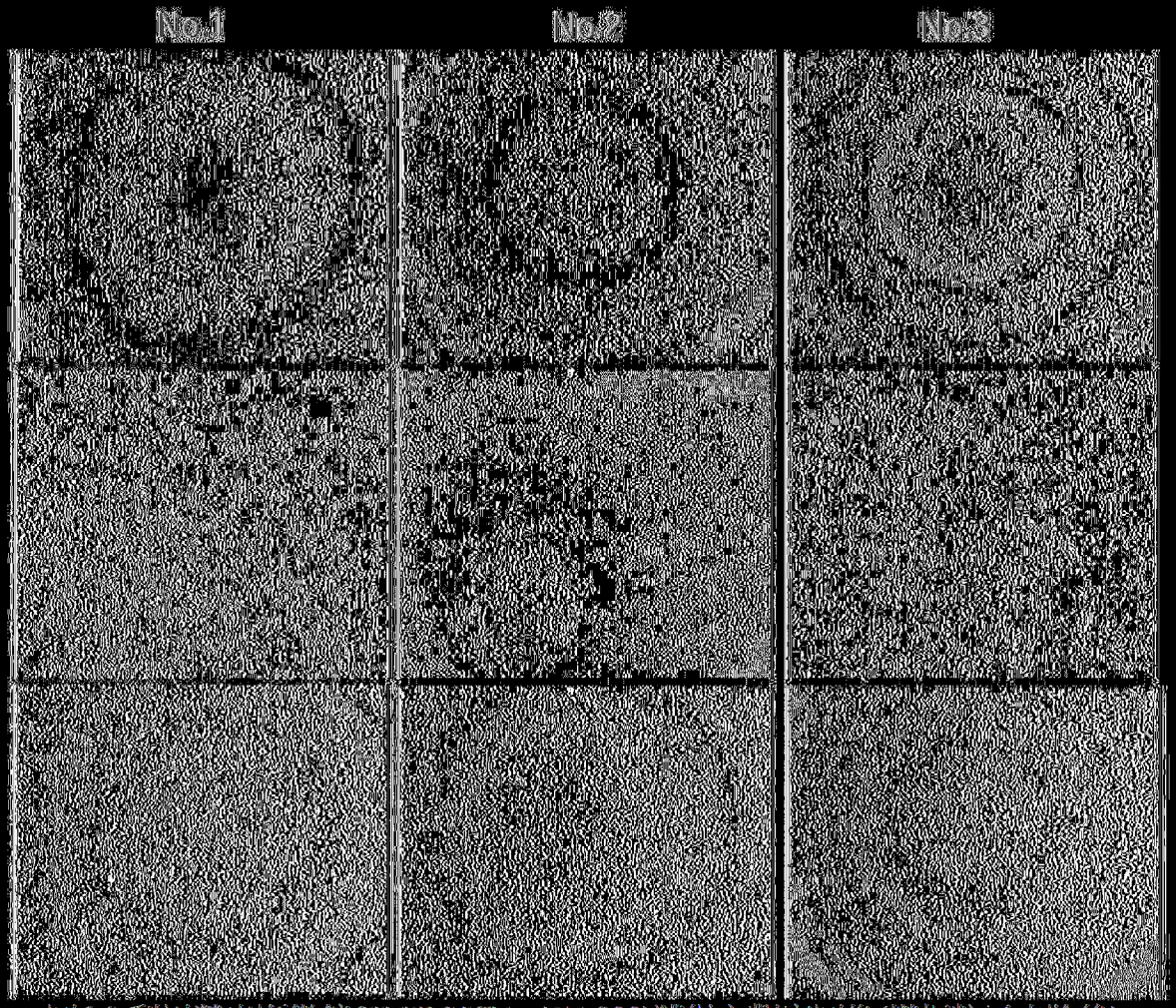
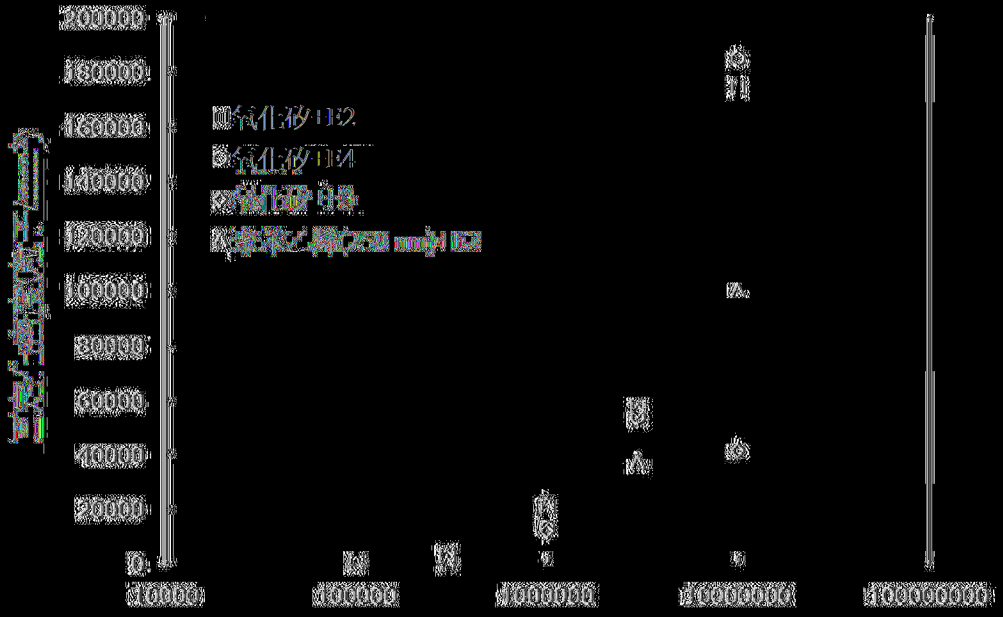


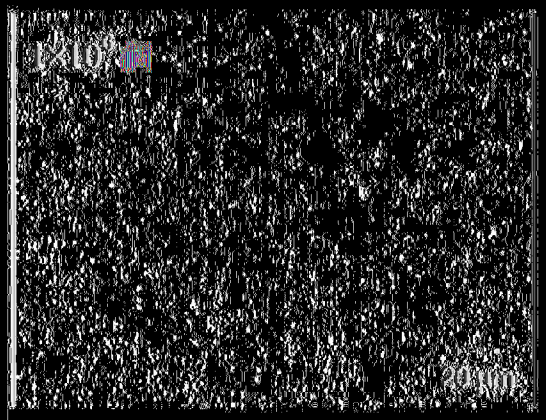
圖6-3 利用螢光顯微鏡(KEYENCE、BZ-800)獲得之觀察圖像(模板粒子去除後)
(上段：氧化矽奈米粒子(綠)，中段：螢光性陽離子染合物(紅)，下段：重疊)

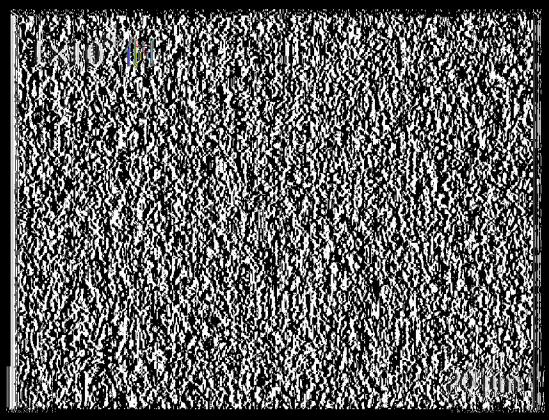
(圖6-3)



添加量(粒子/反材)

(圖6-4)

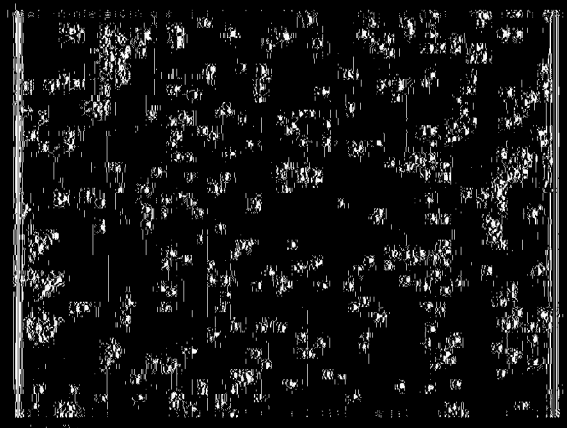




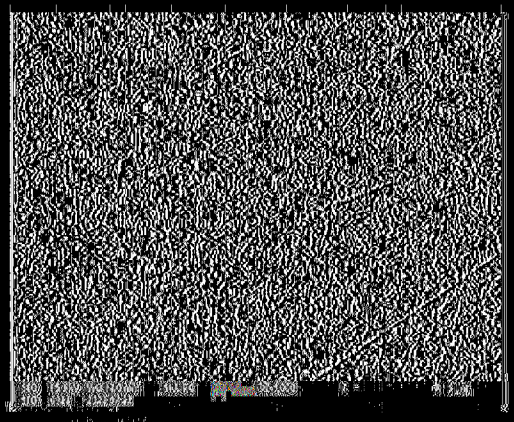
EDDis複合粒子固定化表面之螢光顯微鏡圖像

測定條件
測定裝置：Keyence BZ-800
濾光器：激發波長470±20 nm/螢光波長525±25 nm
透鏡：40×
模式：高感度
曝光時間：0.02 s

(圖7)

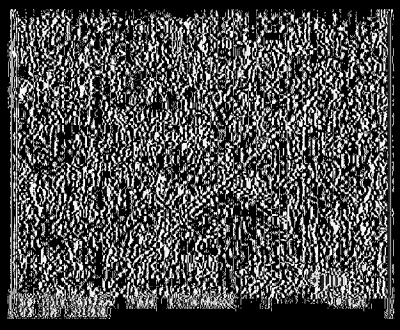


測定條件
測定裝置：Keyence BZ-800
濾光器：激發波長470±20 nm/螢光波長525±25 nm
透鏡：60×
模式：高感度
曝光時間：0.17 s

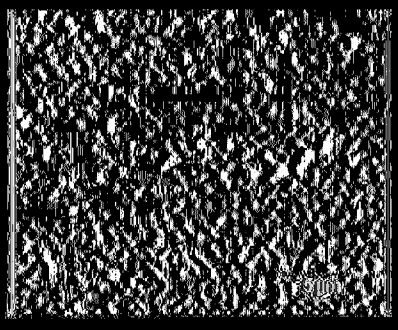


測定條件
SEM
模式：SEC
5000×、15 kV、高Vac

(圖8)

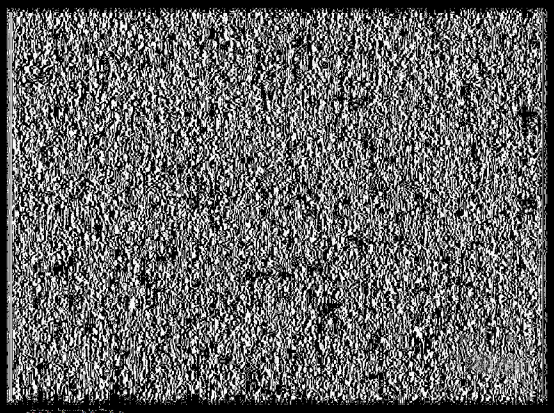


SEM圖像

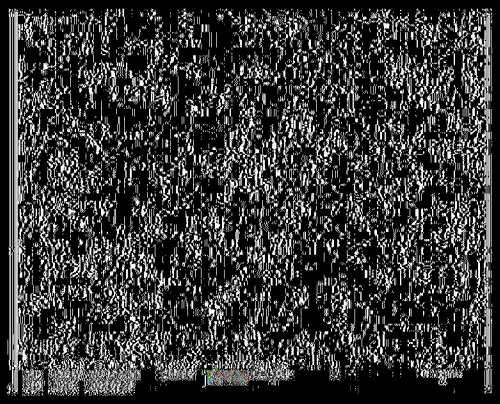


螢光圖像

(圖9)

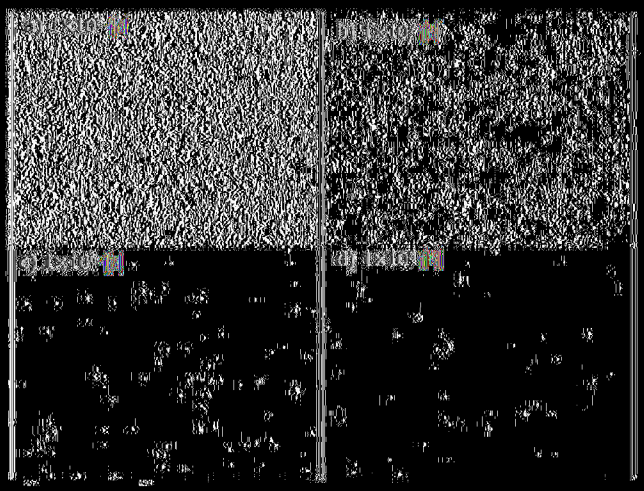


測定條件
測定裝置：Keyence BZ-800
濾光器：激發波長470±20 nm/螢光波長525±25 nm
透鏡：60×
模式：高感度
曝光時間：0.003 s



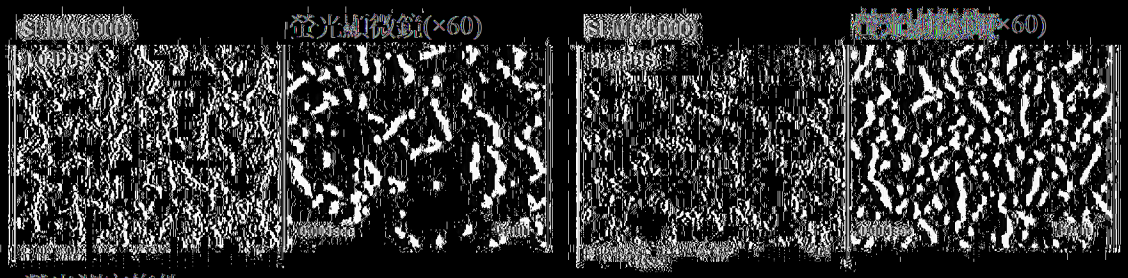
測定條件
SEM
模式：SEC
5000×、5 kV、高Vac

（圖10-1）



測定條件
測定裝置：Keyence BZ-800
濾光器：激發波長470±20 nm/螢光波長525±25 nm
透鏡：60×
模式：高感度
曝光時間：0.003 s

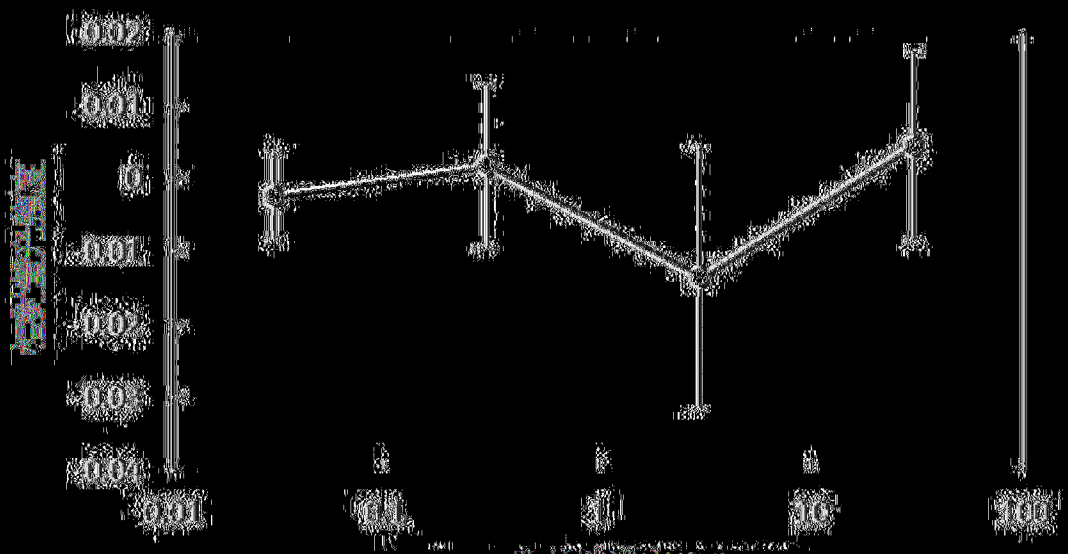
（圖10-2）



螢光測定條件
測定裝置：Keyence BZ-800
濾光器：激發波長470±20 nm/螢光波長525±25 nm
透鏡：60×
模式：高感度
曝光時間：0.003 s

SEM測定條件
模式：SEC
5000×、5 kV、高Vac

（圖11）



|(圖12)|