(19) österreichisches patentamt

(10) **AT 500 669 B1 2007-02-15**

(12) # Patentschrift

(21) Anmeldenummer: A 1508/2001

(22) Anmeldetag: 2001-09-24

(43) Veröffentlicht am: 2007-02-15

(51) Int. Cl.[8]: ***G01N 33/544*** (2006.01)
G01N (2006.01)
G01N 33/536 (2006.01)
C07D 303/02 (2006.01)

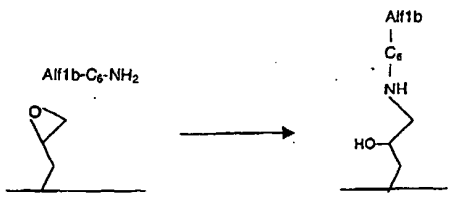
(56) Entgegenhaltungen:
WO 2001/067129A2

(73) Patentanmelder:
ÖSTERREICHISCHES FORSCHUNGSZENTRUM SEIBERSDORF GESELLSCHAFT M.B.H.
A-1010 WIEN (AT)

(54) **FESTER TRÄGER ZUR IMMOBILISIERUNG VON BIOMOLEKÜLEN**

(57) Fester Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen, der zumindeste bereichsweise mit einem Polymer beschichtet ist, wobei das Polymer ein Epoxyharz mit einer Funktionalität von 4 bis 15 ist sowie ein Verfahren zu dessen Herstellung werden zur Verfügung gestellt.

Fig.1



AT 500 669 B1 2007-02-15

Die vorliegende Anmeldung betrifft einen festen Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen, der zumindest bereichsweise mit einem Polymer beschichtet ist, sowie ein Verfahren zur Herstellung dieses Trägers und eine Verwendung eines Epoxyharzes.

Eine Reihe verschiedener fester Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen ist bereits bekannt, wobei im Stand der Technik die verschiedensten Formen und Zusammensetzungen beschrieben sind. Damit ein Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen geeignet ist, muss dieser entweder aus einem geeigneten Material hergestellt werden, oder - wie immer häufiger der Fall ist - ein fester Träger wird aus einem beliebigen Material hergestellt und dessen Oberfläche mit einem spezifisch ausgewählten, geeigneten Stoff beschichtet. Es sind eine Vielzahl von Stoffen zur Beschichtung von festen Trägern im Stand der Technik beschrieben:

Beispielsweise ist in der US 6 150 103 ein Array für Biomoleküle offenbart, wobei auf der Oberfläche des Arrays eine Schicht Polyethylenimin (PEI) über ein Kupplungsagents wie Tri (O-C_1-C_5-Alkyl) Silan auf einem Glasträger aufgebracht ist.

In der WO 94/00600 sind feste Träger für Nukleinsäuren-Hybridisierungs-Assays beschrieben, wobei der feste Träger mit einem Polymer, wie beispielsweise PEI, beschichtet ist.

In der Veröffentlichung von Adessi et al. (Nucleic Acid Research, 2000, vol. 28, no. 20, e87) werden Primer zur Durchführung einer Festphasen PCR an aminoderivatisierte Glasträger gebunden. Die Bindung erfolgt über beispielsweise S-MBS (m-mal-einimidobenzoyl-n-hydroxysulfo-subtinimidester).

In der US 5 962 136 wird ein fester Träger beschrieben, auf dem ein Polymer aufgebracht ist, wobei dieses Polymer u.a. aus Polyacryl, Polyester, Polyorethan, Silikon, Cellulose, Epoxy, Olefin, Fluorin, etc. aufgebaut ist. Auf dieser Polymerschicht werden Proteine oder Fragmente davon immobilisiert.

In der WO 01/67129 A2 werden hydrophile Epoxypolymere, wie Acryle, Acrylamide, Vinyle, Nylon, Polyurethane und Polyäther mit einer Funktionalität von mindestens 1 auf einen Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen aufgebracht.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Beschichtung für einen festen Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen zur Verfügung zu stellen, die keine Eigenfluoreszenz, eine hohe Immobilisierungskapazität und ein großes Signal-Rausch Verhältnis nach der Hybridisierung aufweist. Weiters soll das Material für die Beschichtung leicht und kostengünstig herstellbar sein, auf einfache Weise auf den festen Träger aufbringbar sein und sich für eine Reihe von verschiedenen Biomolekülen, sowohl auf DNA- als auch auch Protein-Ebene, eignen.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung wird durch den eingangs beschriebenen festen Träger gelöst, der dadurch gekennzeichnet ist, dass das Polymer ein Phenolharz mit einer Funktionalität von 6 bis 10, vorzugsweise 7 bis 9, besonders bevorzugt 8, ist. Es hat sich überraschenderweise herausgestellt, dass sich ein solches Polymer ausgezeichnet als Beschichtung für einen festen Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen eignet, eine geringe Autofluoreszenz, eine hohe Immobilisierungskapazität sowie ein sehr großes Signal-Rausch Verhältnis aufweist. Epoxyharze bzw. Phenolharze mit einer solchen Funktionalität sind bereits bekannt, jedoch wurden sie bisher auf dem Gebiet der Halbleiter sowie auch als Zusatz zu Feststoffen, Kunststoffen, Klebstoffen und weiteren Materialien, die hohe Temperaturen aushalten müssen, eingesetzt.

Es hat sich nun überraschenderweise herausgestellt, dass sich ein Epoxyharz, das auch ein Phenolharz ist, mit einer Funktionalität von 6 bis 10 optimal zur Immobilisierung von Biomolekülen sowohl auf DNA- als auch auf Protein-Ebene eignet. Epoxyharze, auch Epoxidharze oder Ethoxylinharze genannt, sind ganz allgemein oligomere Verbindungen mit *mehr als einer*

Epoxidgruppe/Molekül. Der Ausdruck "Funktionalität" wird in der Fachwelt für die Beschreibung der Reaktivität bzw. Anzahl der funktionellen Gruppen der das Polymer aufbauenden Moleküle verwendet. Im vorliegenden Fall betrifft die Funktionalität beispielsweise die Anzahl der Epoxygruppen pro Molekül. Dabei ist auf der einen Seite die hohe Funktionalität des Polymers ausgesprochen günstig, da dadurch die Bindungskapazität des Polymers erhöht wird. Auf der anderen Seite ist bei dem erfindungsgemäßen Polymer die Funktionalität nicht zu hoch, dass sie störend wirken würde. Im Falle einer zu hohen Funktionalität besteht beispielsweise die Gefahr, dass die reaktiven Gruppen miteinander reagieren und somit die Struktur des Polymers nachteilig beeinflusst wird. Dadurch würde sich die Konsistenz des Polymers bei einer zu hohen Funktionalität nachteilig verändern. Aus diesem Grund sind die obigen Funktionalitäten optimal für die Beschichtung eines festen Trägers zur Immobilisierung von Biomolekülen, insbesondere für anschließende Analyseverfahren mit hohen Temperaturen, für die sich derartige Epoxyharze bestens eignen.

Unter dem Begriff "fester Träger" sind im Rahmen der vorliegenden Anmeldung alle dem Fachmann bekannten, festen Träger jeglicher Form, Größe und aus jeglichem geeigneten Material zu verstehen. So kommen beispielsweise Mikrotiterplatten, Microarrays, Filter, Säulen, Membrane, etc. in Frage.

Vorzugsweise weist das Epoxyharz eine Funktionalität von 6 bis 10, besonders bevorzugt 7 bis 9, am meisten bevorzugt 8, auf. Diese eignen sich ausgesprochen gut als Beschichtungsmittel für feste Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen, da einerseits eine hohe Reaktivität gegeben ist, ohne jedoch die Nachteile, insbesondere hinsichtlich der Struktur und Konsistenz des Polymers, eines Polymers mit höherer Funktionalität aufzuweisen.

Erfindungsgemäß ist das Polymer ein Phenolharz. Aufgrund der hohen Festigkeit, Steifheit, Zähigkeit, Wärmebeständigkeit und Härte eignen sich Phenolharze ausgesprochen gut als Polymer zur Beschichtung von festen Trägern zu Immobilisierung von Biomolekülen. Weiters weisen Phenolharze eine geringe Kriechneigung und einen niedrigen Wärmeausdehnungskoeffizienten auf. Feste Träger mit Epoxy-Phenolharzen mit einer oben definierten Funktionalität sind besonders günstig im Hinblick auf die Eigenfluoreszenz und das Signal-Rausch Verhältnis nach der Hybridisierung.

Ein weiterer günstiger fester Träger ist dadurch gekennzeichnet, dass das Polymer ein Novolak ist. Novolake sind Phenolharze, deren aromatische Ringe über Methylenbrücken verknüpft sind. Sie können nach Zusatz von Härtungsmitteln, etwa Formaldehyd bei erhöhter Temperatur unter Vernetzung gehärtet werden. Novolake sind säurekatalytisch hergestellte Polykondensationsprodukte aus Formaldehyden und Phenolen und enthalten keine Methylol-Gruppen. Novolak-Beschichtungen mit der oben definierten Funktionalität haben sich überraschenderweise als ausgesprochen günstig im Hinblick auf die Immobilisierungskapazität herausgestellt.

Vorzugsweise ist das Polymer aus Bisphenol A Gruppen aufgebaut. Bisphenol A ist ein 2,2-Bis (4-hydroxyphenyl) Propan ($C_{15}H_{16}O_2$) mit einer Schmelztemperatur von 155-156 °C. Ein Polymer aufgebaut aus Bisphenol A Gruppen mit einer Epoxy-Funktionalität von 6 bis 10 weist alle notwendigen Eigenschaften einer Beschichtung für feste Träger zur Immobiliserung von Biomolekülen auf:

- keine Eigenfluoreszenz, wodurch die Eigenfluoreszenz der des leeren Trägers entspricht, so dass die Wahl der Qualität des festen Trägers die Autofluoreszenz des Trägers bestimmt.

- Weiters ist die Immobilisierungskapazität nach Blockierung der reaktiven Gruppen ausgesprochen hoch, beispielsweise liegt sie bei mindestens 60%.

- Weiters ist das Signal-Rausch Verhältnis nach der Hybridisierung sehr groß.

Als Beispiel eines solchen Polymers ist Epon Resin SU-8 der Firma Shell (entspricht dem Epikote 157 der Firma Resolution) zu nennen. Epikote 157 ist ein polymerisches festes Epoxyharz mit einem durchschnittlichen Epoxidgruppen-Funktionalitätsmittelwert von 8 und basiert auf Bisphenol A. Die Viskosität beträgt bei 130 °C 1 bis 6 Pa.st. Die Epoxy-Molargewicht beträgt 195 bis 230 g/eq und der Epoxygruppengehalt beträgt 4348 bis 5128 mmol/kg. Der Schmelzpunkt liegt um 82 °C, die Dichte bei 1,2 kg/L. Dieser Stoff hat sich als optimal als Beschichtung eines festen Trägers zur Immobilisierung von Biomolekülen erwiesen.

Vorzugsweise ist der Träger eine Mikrotitoplatte. In diesem Fall wird die Beschichtung in jedem Well vorgesehen, so dass pro Well bestimmte Biomoleküle immobilisiert werden können.

Günstig ist es weiters, wenn der Träger ein Mikroarray ist. Dieser Mikroarray kann jegliche Form oder Größe aufweisen, beispielsweise in Form einer Glasplatte oder eines Wells vorgesehen sein. Hierbei werden die Biomoleküle in einer hohen Dichte immobilisiert, so dass sich solche Mikroarrays für Detektions- und Analyseverfahren im hohen Ausmaße eignen. Solche Mikroarrays sind im Stand der Technik wohl bekannt und der Fachmann kann je nach Biomolekül und Menge der zu detektierenden Proben den für ihn optimalen Mikroarray selektieren.

Vorzugsweise ist das Polymer in Spots auf dem Träger beschichtet. Diese Spots sind lokalisierte Bereiche mit gegebenem Durchmesser. Dadurch wird ein fester Träger zur Verfügung gestellt, der nur in den Spots Biomoleküle immobilisieren kann, so dass ein genaues und reproduzierbares Ergebnis bei Analyseverfahren mit mehreren Proben erhalten wird. Weiters sind die notwendigen Probemengen begrenzt.

Ein vorteilhafter Träger ist weiters dadurch gekennzeichnet, dass Biomoleküle am Polymer immobilisiert sind. Dadurch wird bereits ein Träger mit immobilisierten Biomolekülen zur Verfügung gestellt, wodurch zusätzliche Vorbereitungsschritte zur Aufbereitung des Trägers nicht notwendig sind und dadurch ein durchzuführendes Analyseverfahren vereinfachen.

Vorzugsweise sind die Biomoleküle in Spots am Polymer immobilisiert. Auch hier werden unter "Spots" wiederum lokalisierte Bereiche mit einem bestimmten Durchmesser verstanden, wobei günstigerweise pro Spot gleichartige bzw. identische Biomoleküle immobilisiert werden. Auf diese Weise können eine Reihe von verschiedenen Biomolekülen auf einem festen Träger, der auch auf seiner gesamten Oberfläche mit Polymer beschichtet sein kann, gleichzeitig analysiert oder detektiert werden.

Besonders bevorzugt sind die Biomoleküle ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Oligonukleotiden, Proteinen, Pepetiden, Antigenen und Antikörpern. Unter "Oligonukleotiden" werden dabei sowohl DNA als auch RNA Moleküle jeglicher Größe verstanden mit oder ohne künstlichen Modifizierungen. Die Biomoleküle reagieren mit den Epoxygruppen, wodurch sie am Polymer immobilisiert werden. Somit können solche festen Träger beispielsweise für Festphasen PCRs, Hybridisierungsreaktionen, die Detektion von Antigenen bzw. Antikörpern, enzymatische Reaktion usw. verwendet werden.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung eines Phenolharzes mit einer Funktionalität von 6 bis 10, vorzugsweise 7 bis 9, besonders bevorzugt 8, als Beschichtung auf einem festen Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen. Auch hier gelten wiederum die oben angegebenen Definitionen und bevorzugten Ausführungsformen. Ein Phenolharz mit einer solchen Funktionalität wurde bislang noch nicht als Beschichtungsmittel für einen festen Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen verwendet. Es hat sich nun herausgestellt, dass ein Phenolharz mit einer Funktionalität von 6 bis 10 sich dafür aber besonders gut eignet und insbesondere im Hinblick auf die Bindungskapazität, das Signal-Rausch Verhältnis und die Autofluoreszenz optimale Ergebnisse liefert.

Vorzugsweise weist das Phenolharz eine Funktionalität von 6 bis 10, besonders bevorzugt 7 bis

9, am meisten bevorzugt 8, auf.

Besonders bevorzugt ist das Phenolharz, ein Novolak und am meisten bevorzugt ein Polymer, das auf Bisphenol A Gruppen aufgebaut ist.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Trägers wie oben beschrieben, wobei eine Schicht Phenolharz mit einer Funktionalität von 6 bis 10, vorzugsweise 7 bis 9, besonders bevorzugt 8, insbesondere in Spots, auf den Träger aufgebracht wird. Dies kann nach jedem bekannten Verfahren durchgeführt werden, die dem Fachmann auch dem Gebiet der Biochemie bekannt sind.

Die vorliegende Erfindung wird anhand der nachfolgenden Beispielen und Figuren, auf die sie jedoch nicht beschränkt sein soll, weiter erläutert, wobei in Fig. 1 der Reaktionsmechanismus des erfindungsgemäßen Trägers gezeigt ist; Fig. 2 die Signalintensität gezeigt ist; in Fig. 3 die Hybridisierungsgenetik auf dem erfindungsgemäßen Träger dargestellt ist; in Fig. 4 die Hybridisierungseffizienz von Biomolekülen auf kommerziellen und auf erfinderischen Trägern dargestellt ist; in Fig. 5 ist das Spotter-Prinzip gezeigt und in Fig. 6 ist das Signal-Rausch Verhältnis verschiedener Träger gezeigt.

Beispiel 1

Herstellung von Epoxyharz-Trägern für Oligoarrays

Die Glasobjektträger werden durch Eintauchen in 2% Epoxyharz (Funktionalität 8) (Shell Chemicals)/Toluollösung unter N_2 beschichtet (in der Folge "SU-8 Träger" genannt).

SU-8 Träger enthalten Epoxy-Funktionen, die mit nucleophilen Gruppen, wie z.B. Aminogruppen unter Ringöffnung zu sekundären Aminen reagieren. Der Reaktionsmechanismus ist in Fig. 1 angeführt.

Beispiel 2

Hybridisierungsprotokoll

Nach dem Aufspotten von amino-modifizierten Oligonukleotiden werden die SU-8 Träger auf ein feuchtes Papiertuch in eine Plastikpetrischale gelegt, mit Parafilm verschlossen und über Nacht bei 50 °C in den Trockenschrank gegeben. In der Feuchteatmosphäre quellen die Spots auf, können mit der reaktiven Oberfläche reagieren und kovalent an die Oberfläche gebunden werden. Nach Inkubation im Trockenschrank können die Träger ein paar Tage abliegen, bevor mit der Blockierung und Hybridisierung begonnen wird.

Um die reaktiven Epoxy-Gruppen am Träger zu blockieren, werden die Träger mit einer Lösung aus 50mM Ethanolamin, 0,1 M Tris, pH 9 und 0,1% SDS 15 Min bei 50 °C geschüttelt, und wiederum zwei Mal in H_2O gewaschen, und schließlich mit Pressluft trocken geblasen. Es ist günstig, wenn pro Träger mindestens 10 ml Lösung verwendet werden, und die Träger beim Wechsel der Waschlösung nicht antrocknen. Zur Hybridisierung am Chip wird die mit Cy5 oder Cy3 markierte Probe in 20 mM Tris, pH 7,4; 0,9 M NaCl, 0,01% SDS und Formamid aufgenommen, bei 95 °C (5 Min) denaturiert und danach sofort auf Eis gestellt. 20 µl werden auf den Array Träger getropft, mit einem 1,5 x 1,5 cm Deckplättchen bedeckt und bei 50 °C hybridisiert.

Abhängigkeit der Reaktivität von der Polymer Konzentration

Leere Glasträger wurden mit 2%, 5% und 10% SU-8 Lösungen in Toluol beschichtet, mit 20 pM/µl Alf1b-C6-NH2 (5'CGTTCGYTCTGAGC-CAG, 5'amino) bespottet und nach dem Blockieren der reaktiven Gruppen mit Ethanolamin mit 2 ng/µl Cy5-Rhizobium Fredii hybridisiert.

Es wurden keine Unterschiede in der Hybridisierungseffizienz und im Signal-Rausch Verhältnis gefunden.

Abhängigkeit der Hybridisierungseffizenz von der Sondenkonzentration

20, 30, 50 und 100 pM/µl Alf1b-C6-NH2 wurde auf die SU-8 Träger gespottet und wie oben beschrieben hybridisiert. Es konnte keine Abhängigkeit der Hybridisierungseffizienz (Fluoreszenzsignal) von der Sondenkonzentration gefunden werden.

Abhängigkeit der Hybridisierungseffizienz von der Probenkonzentration

Alf1b (17-mer) und dTAlf1b (50-mer) Oligonukleotidarrays wurden mit 0,1; 1, und 5 ng/µl Cy5 markiertem Rhizobium Fredii auf 2% SU-8 Träger hybridisiert. Fig. 2 zeigt die nach der Hybridisierung gemessene Fluoreszenz (fl) als Funktion der Konzentration von Cy5-Rhiz. Fredii. Es wurden je 3 SU-8 Träger mit 0,1 und 1 ng/µl, und 4 Träger mit 5 ng/µl bespottet. Jeder Träger enthält je 1 Block von 3x3 Spots bestehend aus 20, 30, 50 und 100 pM/µl Alf1b bzw. dTAlf1b in 0,1 N Phosphatpuffer, pH 8. Die Fluoreszenz, Maß für die Hybridisierungseffizienz, bleibt bei unterschiedlichen Cy5-Rhiz.Fredii Konzentrationen nahezu unverändert.

Abhängigkeit der Hybridisierungseffizienz von der Hybridisierungszeit

Die Hybridisierungszeiten wurden von 1 bis 7 h variiert. In Fig. 3 ist die Fluoreszenz (fl) des Hybridisierungssignals als Funktion der Zeit dargestellt. Eine Hybridisierungszeit von 2 h ist für ein eindeutiges Hybridisierungsergebnis ausreichend. Die Fluoreszenzintensitäten nach 2- und 4-stündiger Hybridisierung liegen innerhalb der Standardabweichung.

Abhängigkeit der Hybridisierungseffizienz vom Spotvolumen

Die Hybridisierungseffizienz war für 0,35 und 1 nl Spots gleich. Die Fluoreszenzintensitäten änderten sich nicht.

Beispiel 3

Immobilisierungskapazität

Um die Immobilisierungskapazität K zu bestimmen, wurden mit Cy5 markierte 17-mer Oligonukleotide auf SU-8 Träger immobilisiert und die Fluoreszenzintensität I nach dem Spotten, Blockieren und Hybridisieren gemessen. Die Immobilisierungskapazität ist als

$$K=100 I_{\text{nach Blockierung bzw. Hybridisierung}}/I_{\text{nach spotten}} \quad (1)$$

definiert. In Fig. 4 wird die Immobilisierungskapazität auf SU-8 der auf aminosilanisierten (a), Nitrocellulose- (N), Aldehyd- (A), bekannten Epoxy-Trägern (E) und SU-8-Trägern (SU) gegenübergestellt. Die SU-8 Träger zeigten die höchsten Immobilisierungskapazitäten, wobei hier jedoch zu beachten ist, dass lediglich bei den bekannten Epoxy-Trägern und die SU-8 Träger das gleiche Blockierungsreagens verwendet wurde.

Beispiel 4

Abhängigkeit der Immobilisierungskapazität und der Hybridisierungseffizienz vom Spotvolumen

0,35; 1, und 2 nl Cy5 markierte Oligonukleotide wurden auf SU-8 Träger gespottet. Der durchschnittliche Spotdurchmesser eines 350 pl Spots ist 100 µm. Der Spotdurchmesser nimmt mit dem Spotvolumen zu. Je größer der Spot ist, umso mehr Oligonukleotid kann immobilisiert werden. Die Fluoreszenzintensität ändert sich mit der Spotgröße nicht. Es wird angenommen,

dass durch das Übereinanderspotten von drei Tropfen für einen 1 nl Spot der Spot zwar etwas größer - nur etwas größer, da die SU-8 Oberfläche hydrophop ist - wird, aber nur ein Bruchteil der aufgebrachten Menge zur SU-8 Oberfläche gelangt und immobilisiert werden kann (siehe Fig. 5). Diese Annahme wird auch durch Hybridisierungen von 0,35 nl und 1 nl Alf1b-Spots bestätigt: Die Hybridisierungseffizienz ist in beiden Fällen gleich. Abgesehen davon ist die Fluoreszenzintensität dem Lambert-Beer Gesetz zur Folge von der Konzentration, nicht aber von der Menge abhängig.

Beispiel 5

Signal-Rausch Verhältnis

Der Fluoreszenzhintergrund (Background) auf SU-8 Träger beträgt durchschnittlich 5-10%. In Fig. 6 ist ein Vergleich des Signal-Rausch Verhältnisses (HG, Hintergrund) in % gezeigt, wobei aminosilanisierten (a), Nitrocellulose- (N), Aldehyd- (A), bekannten Epoxy-Träger (E) und SU-8-Träger (SU Sigma Screen) miteinander verglichen wurden. Die SU-8 Träger zeigten ein sehr gutes Signal-Rausch Verhältnis im Vergleich zu den bekannten Träger.

Durch diese Beispiele ist gezeigt, dass die erfindungsgemäßen Träger zu Immobilisierung von Biomolekülen besonders effizient im Vergleich mit bekannten Trägern sind und besonders gute Ergebnisse im Hinblick auf die Bindungskapazität, Eigenfluoreszenz und Hintergrundrauschen ergeben.

Patentansprüche:

1. Fester Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen, der zumindest bereichsweise mit einem Polymer beschichtet ist, *dadurch gekennzeichnet*, dass das Polymer ein Phenolharz mit einer Funktionalität von 6 bis 10, vorzugsweise 7 bis 9, besonders bevorzugt 8, ist.

2. Fester Träger nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet*, dass das Polymer ein Novolak ist.

3. Fester Träger nach Anspruch 2, *dadurch gekennzeichnet*, dass das Polymer aus Bisphenol A-Gruppen aufgebaut ist.

4. Fester Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 3, *dadurch gekennzeichnet*, dass der Träger eine Mikrotiterplatte ist.

5. Fester Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 3, *dadurch gekennzeichnet*, dass der Träger ein Mikroarray ist.

6. Fester Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 5, *dadurch gekennzeichnet*, dass das Polymer in Spots auf dem Träger beschichtet ist.

7. Fester Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 6, *dadurch gekennzeichnet*, dass Biomoleküle am Polymer immobilisiert sind.

8. Fester Träger nach Anspruch 7, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Biomoleküle in Spots am Polymer immobilisiert sind.

9. Fester Träger nach Anspruch 7 oder 8, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Biomoleküle ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Oligonukleotiden, Proteinen, Peptiden, Antigenen und Antikörpern.

10. Verwendung eines Phenolharzes mit einer Funktionalität von 6 bis 10, vorzugsweise 7 bis 9, besonders bevorzugt 8, als Beschichtung auf einem festen Träger zur Immobilisierung von Biomolekülen.

11. Verwendung nach Anspruch 10, *dadurch gekennzeichnet*, dass das Polymer ein Novolak ist.

12. Verwendung nach Anspruch 11, *dadurch gekennzeichnet*, dass das Polymer aus Bisphenol A-Gruppen aufgebaut ist.

13. Verfahren zur Herstellung eines Trägers nach einem der Ansprüche 1 bis 9, *dadurch gekennzeichnet*, dass eine Schicht Phenolharz mit einer Funktionalität von 6 bis 10, vorzugsweise 7 bis 9, besonders bevorzugt 8, insbesondere in Spots, auf den Träger aufgebracht wird.

Hiezu 2 Blatt Zeichnungen

Int. Cl.[8]: ***G01N 33/544*** (2006.01)
G01N (2006.01)
G01N 33/536 (2006.01)
C07D 303/02 (2006.01)

Fig.1

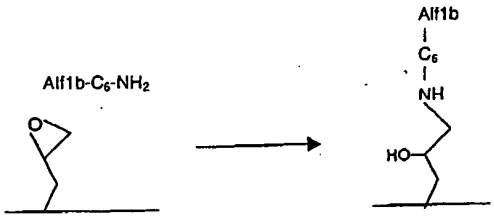


Fig.2

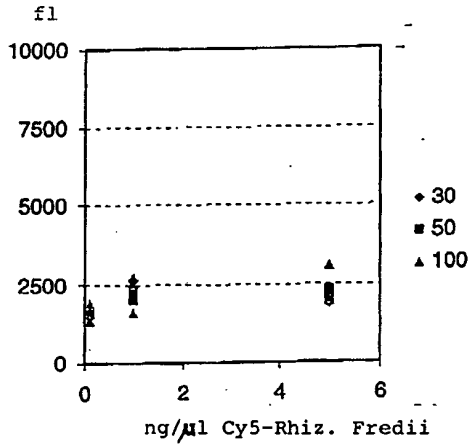
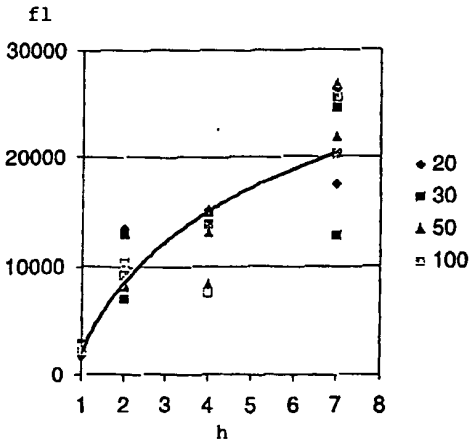


Fig.3



Int. Cl.[8]: ***G01N 33/544*** (2006.01)
G01N (2006.01)
G01N 33/536 (2006.01)
C07D 303/02 (2006.01)

Fig.4

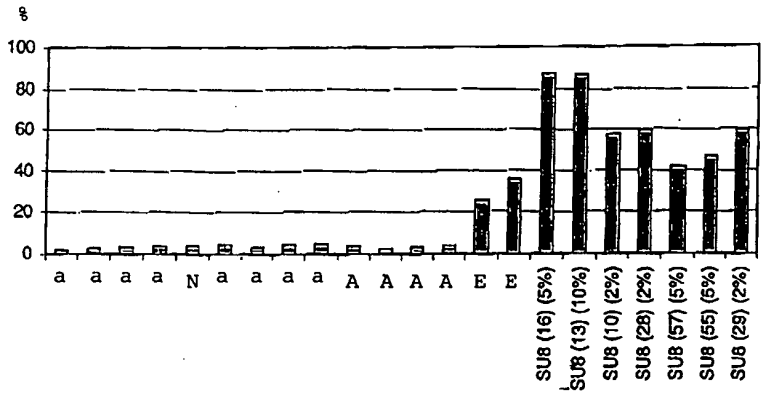


Fig.5

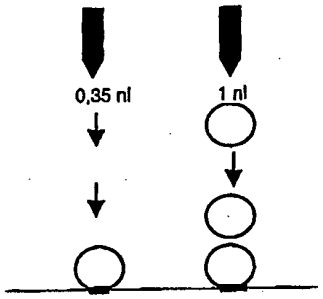


Fig.6

