

(12)

Patentschrift

(21) Anmeldenummer: A 498/2002

(51) Int. Cl.⁸: **G01N 33/50** (2006.01)
G01N 33/531 (2006.01)

(22) Anmeldetag: 2002-03-28

(43) Veröffentlicht am: 2007-07-15

(56) Entgegenhaltungen:

LANGER G, ET AL. "REFRACTIVE INDEX CHANGES IN POLYMERS INDUCED BY DEEP UV IRRADIATION AND SUBSEQUENT GAS PHASE MODIFICATION" MACROMOLECULAR CHEMISTRY AND PHYSICS, 2001, VOLUME 202, NO. 18, PAGES 3459 - 3467
KAVC T, ET AL. "PHASE GRATINGS IN PHOTOREACTIVE POLYMERS: A WAY TO OPTICALLY PUMPED ORGANIC LASERS", MONATSHFTE FÜR CHEMIE / CHEMICAL MONTHLY, VOLUME 132, ISSUE 4, APR 2001, PAGES 531 - 540
HUMMEL K, KERN W "PHOTOREACTIVE POLYMERS OF 4-VINYLBENZYL THIOCYANATE" EUROPEAN POLYMER JOURNAL, VOLUME 31, NUMBER 5, MAY 1995, PP. 437-443(7)

(73) Patentanmelder:

ARC SEIBERSDORF RESEARCH GMBH
A-1010 WIEN (AT)
KERN WOLFGANG DR.
A-8055 SEIERSBERG (AT)

(72) Erfinder:

KERN WOLFGANG DR.
SEIERSBERG (AT)
PREININGER CLAUDIA DR.
GRAZ (AT)

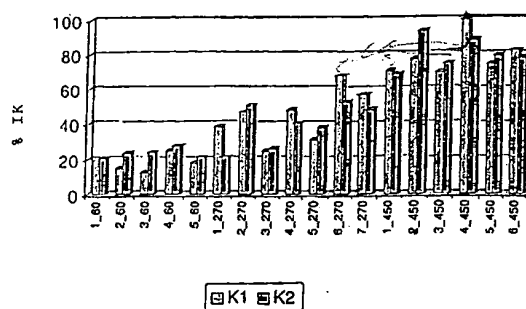
(56) Entgegenhaltungen:

AT 400842B (W.KERN), 25.03.1996
EP 1063301A2 (NISSHINBO INDUSTRIES, INC.) 27.12.2000
BEAUCAGE SL. "STRATEGIES IN THE PREPARATION OF DNA OLIGONUCLEOTIDE ARRAYS FOR DIAGNOSTIC APPLICATIONS. " CURR MED CHEM. 2001 AUG; 8 (10) :1213-44.

(54) **VERFAHREN ZUR AKTIVIERUNG EINER ZUSAMMENSETZUNG UMFASSEND VINYLBENZYLTHIOCYANAT UND/ODER VINYLBENZYLSELENOCYANAT**

(57) Es wird ein Verfahren zur Aktivierung einer Zusammensetzung umfassend Thiocyanat und/oder Selenocyanat aufweisende Monomereinheiten (TCM bzw. SCM), insbesondere Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, zur Verfügung gestellt, wobei die Zusammensetzung mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 400 und 600 mJ/cm², vorzugsweise zwischen 450 und 550 mJ/cm², bestrahlt wird, so dass eine aktivierte Zusammensetzung umfassend Isothiocyanat und/oder Isoselenocyanat aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylisothiocyanat und/oder Vinylbenzylisoselenocyanat gebildet wird.

FIG. 1



Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Aktivierung einer Zusammensetzung umfassend Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten (TCM bzw. SCM), insbesondere Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, ein Verfahren zur Immobilisierung von Biomolekülen auf einer Oberfläche sowie einen festen Träger, der auf seiner Oberfläche mit einer Zusammensetzung umfassend polymerisierte Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten (TCM bzw. SCM), insbesondere polymerisiertes Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, beschichtet ist.

In verschiedenen Analyse-, Detektions- und Produktionsverfahren werden Träger zur Immobilisierung von spezifischen Molekülen eingesetzt, wobei die Oberflächen der Träger vorzugsweise modifiziert und so an das jeweilige Verfahren angepasst werden. Auf diese Weise kann ein und derselbe Träger für eine Reihe verschiedener Verfahren verwendet werden, wobei eine sehr rasche Herstellung von hochspezifischen und individuell angepassten Trägern gewährleistet ist. Dabei kann einerseits die Oberfläche des Trägers an sich modifiziert werden oder auch mit einer geeigneten Zusammensetzung beschichtet werden.

Die WO 94/00600 betrifft feste Träger für Nukleinsäure-Hybridisierungsassays, wobei die Oberfläche mit einer Substanz umfassend ein Polymer, etwa PEI, beschichtet ist.

Im Artikel von Adessi et al. (Nucleic Acid Research, 2000, vol. 28, no. 20, e87) sind Glasträger beschrieben, die eine aminoderivatisierte Oberfläche aufweisen, auf der eine Schicht einer weiteren Zusammensetzung, beispielsweise umfassend S-MBS (m-maleinimidobenzoyl-n-hydroxysulfo-succinimidester) umfasst.

Die US 5 962 136 betrifft einen festen Träger, der auf seiner Oberfläche mit einer Schicht umfassend ein Polymer versehen ist, wobei das Polymer beispielsweise aus Polyacrylaten, Polyester, Polyurethan, Silikon, Zellulose, Epoxyolefin sowie Fluor-Polymeren aufgebaut ist. Diese Polymerschicht dient zur Immobilisierung von Proteinen oder Peptiden.

In Preininger, ASCOS 2000, Optical Sensors and Biosensors, Slovenia 9/2001, Überblicksvortrag zur Biochiptechnologie wird die Herstellung von Chips zur Immobilisierung von Oligonukleotiden beschrieben, wobei die Chips mit einer Schicht einer Polymerzusammensetzung versehen sind, auf der Crosslinker aufgetragen werden, um die Oligonukleotide zu immobilisieren. Als bifunktionelle Crosslinker kommen z.B. Glutarylaldehyd und β -Cyclodextrin in Frage. Weiters wird auch die Veränderung des Chips durch UV-reaktives Gas beschrieben, wodurch unterschiedliche funktionelle Gruppen in die Zusammensetzung eingebracht werden können, etwa $-\text{NH}_2$ -, $-\text{SO}_3\text{H}$ - oder $-\text{CN}$ -funktionelle Gruppen.

Die EP 1 063 301 A2 betrifft eine Zusammensetzung zur Immobilisierung von Nukleinsäuremolekülen, wobei die Zusammensetzung Isocyanatgruppen umfasst. Es werden jedoch in dieser Schrift weder Thio- noch Selenocyanatgruppen offenbart, noch wird die Bestrahlung mit einer Energiedosis von 400 bis 600 mJ/cm^2 beschrieben.

Die Veröffentlichungen Beaucage, Current Medicinal Chemistry 8, 2001, S. 1213-1244 und „Strategies for Attaching Oligonucleotides to solid Surfaces“, Technical Bulletins, August 2001 betreffen die Verwendung einer Zusammensetzung umfassend Isothiocyanat zur Immobilisierung von Biomolekülen. In beiden Schriften wird jedoch das Isothiocyanat als Crosslinker auf den Träger bereits in der Isoform aufgetragen. In beiden Dokumenten wird in Bezug auf die Herstellung der mit Crosslinker versehenen Träger auf die Publikation von Guo et al. (Nucleic Acid Res. 1994, Vol. 22(24), S. 5456-5465), verwiesen. Die Träger werden durch das Auftragen einer Lösung umfassend 1,4 Phenylendiisothiocyanat (PDC) hergestellt (s. S. 5457, Spalte 1, 3. Absatz von Guo et al.). Die PDC-Schicht kann hierbei in verschiedenen Mustern auf den Träger aufgetragen werden, etwa mit Hilfe einer gemusterten Vorlage. Auf Seite 5459, Spalte 1, Mitte von Guo et al. werden die einzelnen Schritte der Bearbeitung des Glasträgers aufgezählt:

a) Reaktion der Glasoberfläche mit Aminopropyltrimethoxysilan, um eine aminoderivatisierte Oberfläche herzustellen; b) Kuppeln der Aminogruppen mit einem Überschuss von PDC, um die Aminogruppen zu aminoreaktiven Phenylisothiocyanat-Gruppen zu überführen; und c) Immobilisieren der aminomodifizierten Oligonukleotide.

Der Nachteil der obigen Träger besteht darin, dass die gesamte Oberfläche modifiziert wird, so dass Moleküle an der gesamten Trägeroberfläche binden bzw. die Moleküle in Spots aufgetragen werden müssen, um die Moleküle lediglich in lokalisierten Bereichen zu immobilisieren. Eine Modifizierung der Trägeroberfläche in lokalisierten Bereichen bzw. Spots ist nur mit erheblichem Aufwand möglich.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht nun darin, eine Zusammensetzung zur Verfügung zu stellen, die Moleküle binden kann, wobei diese Zusammensetzung insbesondere als Beschichtung für einen Träger verwendet wird. Dabei soll gewährleistet werden, dass die Zusammensetzung bereichsweise aktivierbar ist, so dass die Zusammensetzung lediglich an bestimmten Stellen die Moleküle bindet. Auf diese Weise soll ein Träger zur Verfügung gestellt werden, der auf sehr rasche und sehr einfache Weise verändert werden kann, um lediglich bereichsweise, etwa in Spots, Moleküle zu binden.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung wird durch das eingangs beschriebene Verfahren gelöst, wobei die Zusammensetzung zumindest bereichsweise mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 400 und 600 mJ/cm², vorzugsweise mit UV-Licht zwischen 450 und 550 mJ/cm², bestrahlt wird, so dass eine aktivierte Zusammensetzung umfassend Isothiocyanatgruppen und/oder Isoselenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylisothiocyanat und/oder Vinylbenzylisosenocyanat gebildet wird. Es wurde überraschenderweise gefunden, dass Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten (TCM bzw. SCM), insbesondere Vinylbenzylthiocyanat (VBT) und Vinylbenzylselenocyanat (VBS), durch Bestrahlen mit UV-Licht mit dieser oben angegebenen bestimmten Energiedosis optimal aktiviert werden, d.h., dass Isothiocyanatgruppen und/oder Isoselenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylisothiocyanat bzw. Vinylbenzylisosenocyanat, gebildet werden, so dass an diese aktivierten Verbindungen Moleküle spezifisch und stabil gebunden werden können. Mit der Energiedosis zwischen 400 und 600 mJ/cm² (z.B. UV Stratalinker 2400, Stratagene, $\lambda=254$ nm) wird erreicht, dass einerseits eine ausreichende Menge an Isomeren gebildet wird, so dass eine hohe Bindungskapazität erzielt wird, und andererseits TCM bzw. SCM nicht zerstört bzw. so verändert werden, dass keine oder nur wenige Moleküle gebunden werden können. Es hat sich überraschenderweise herausgestellt, dass diese optimale Aktivierung mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 400 und 600 mJ/cm², vorzugsweise zwischen 450 und 550 mJ/cm² möglich ist. Darunter sind Energiedosen zu verstehen, die über 400 und unter 600 mJ/cm² liegen. Dabei wird unter UV-Licht eine elektromagnetische Strahlung, die zwischen dem sichtbaren Licht und der Röntgenstrahlung liegt, verstanden, d.h. eine Strahlung mit einer Wellenlänge zwischen 400 nm und 10 nm. Dabei wird insbesondere UVC (280 bis 200 nm) eingesetzt. Werden die Polymere mit z.B. Chrysen oder Anthracen sensibilisiert, so können auch Wellenlängen in höheren Bereichen, etwa UVA (400 bis 320 nm) oder UVB (320 bis 280 nm), eingesetzt werden.

TCM bzw. SCM sind im Rahmen der vorliegenden Anmeldung polymerisierte oder polymerisierbare Monomere, an die eine Thiocyanato- bzw. Selenocyanatogruppe so gebunden ist, dass unter Einwirkung von UV-Licht eine Isomerisierung zu Isothiocyanat bzw. Isoselenocyanat auftritt. Als Monomereinheiten können im Rahmen der vorliegenden Anmeldung insbesondere Derivate von Styrol, Vinylnaphthalin, Ester der Acrylsäure, Ester der Methacrylsäure und Vinylacetat verwendet werden. Im Allgemeinen kann die Zusammensetzung entweder die Monomereinheiten oder die Polymere umfassen. Im Fall der Polymere sind darunter Homo- aber auch Copolymere zu verstehen. Umfasst die Zusammensetzung die noch nicht polymerisierten Monomere, so kann diese beispielsweise zusätzlich einen (Photo-)Initiator umfassen, z.B. gelöst in einem Trägerpolymer oder Trärgel, wobei durch die UV-Bestrahlung eine Photopo-

lymerisation der Monomere zu einem Homo- oder Copolymer erfolgt.

Sind im Rahmen der vorliegenden Anmeldung nur die Polymere gemeint, so wird dies explizit durch Poly- oder P-TCM bzw. Poly- oder P-SCM definiert.

5 VBT und VBS sind an sich bekannt, insbesondere in polymerisierter Form, die beispielsweise zur Erzeugung von Ätzmasken bei der Produktion von integrierten Schaltkreisen eingesetzt werden können: In der AT 400 842 B wird beispielsweise die Verwendung der Polymere von VBT und VBS zur Herstellung von Negativresistbildern beschrieben, wobei diese Monomere
10 durch UV-Bestrahlung zwischen 230 und 260 nm mit einer Energiedosis von D_0 , die bei etwa 40 bis 60 mJ/cm² liegt, vernetzt werden. D_0 ist die die Geldosis, d.h. die Lichtenergie, die benötigt wird, um für ein Polymer bestimmter Molmasse die Gelbildung einzuleiten. Parallel zur Vernetzung läuft die Isomerisierung der SCN-Gruppen ab, wobei aus Benzylthio- und Benzylselenocyanateinheiten Benzylisothio- und Benzylisosenocyanateinheiten entstehen.

15 Der Artikel von Kern et al. (Eur. Polym. J., vol. 31, no. 5, 437-443, 1995) betrifft fotoreaktive Polymere von 4-Vinylbenzylthiocyanat (4-VBT) zur Herstellung von Negativresistbildern zur Verwendung in der Submikrolithographie. Hierbei wird in einem ersten Schritt ein VBT enthaltendes Polymer durch Bestrahlung vernetzt, wobei UV-Strahlung unterschiedlicher Energiedosen eingesetzt wird, u.a. 0; 4,7; 18; 29; 37; 39; 87; 147; 262 und 1200 mJ/cm². Dabei wurde
20 neben der Vernetzung auch eine Bildung der Isomerformen beobachtet.

Die Publikation von Kavc et al. ("Phase gratings in photoreactive polymers: A way to optically pumped organic lasers", Electroactive Materials, Special Edition of Chemical Monthly, vol. 132,
25 no. 4, 2001) betrifft Polymerisate von 4-VBT zur Herstellung von Zusammensetzungen zur Verwendung in Licht-emittierenden Dioden (LED), Licht-emittierenden elektrochemischen Zellen, Fotodetektoren, Feldeffekttransistoren, Solarzellen und Laser. Durch UV-Bestrahlung werden die VBT-Einheiten zu Vinylbenzylisothiocyanat-Einheiten isomerisiert, wobei nach einer Bestrahlungsdosis von 400 mJ/cm² (bei 254 nm) ca. 30% der ursprünglich vorhandenen Thiocyanatgruppen zu Isothiocyanatgruppen isomerisiert werden.
30

Der Artikel von Kern et al. (Macromol. Chem. Phys., 197, 329-341 (1996)) betrifft eine Studie hinsichtlich der Vernetzung von Copolymeren aus 4-VBS, 4-VBT und 4-Venylbenzylbromid durch UV-Bestrahlung.

35 Der Artikel von Kern et al. (Polymer, vol. 37, no. 11, 2055-2059, 1996) betrifft die Bestrahlung von Copolymeren aus Styrol mit 4-VBS, wobei die Vernetzung in Abhängigkeit der Strahlung getestet wurde. Hierbei wurden Strahlungen mit einer Energiedosis zwischen 4 und 400 mJ/cm² eingesetzt.
40

In dem Artikel von Kern et al. (Macromol. Chem. Phys. 202, Seiten 3459-3467 (2001)) wird auf die Erzielung von Brechindexunterschieden in Polymeren von 4-Vinylbenzylthiocyanat als Folge einer UV-Bestrahlung Bezug genommen. Es wird in diesem Artikel auch berichtet, dass bestrahlte Bereiche des Polymers mit gasförmigen Aminen (z.B. Ammoniak oder Hydrazin) umgesetzt werden können, um weitere Änderungen des Brechungsindex oder eine Zunahme der Schichtdicke des Polymerfilms zu erreichen.
45

Langer et al., Macromol. Chem.Phys., 202, 2001, S. 3459-3467 betrifft die Bestrahlung von Polymerbeschichtungen mit UV-Licht und anschließender Messung der Änderung des Brechungsindex. Weiters wurde auch die Änderung des Brechungsindex nach Behandlung der bestrahlten Schicht mit Amin-hältigen Molekülen beschrieben. Unter anderem wird als Zusammensetzung für die Beschichtung ein Polymer umfassend Poly(4-vinylbenzylthiocyanat) sowie Poly(styrol-co-4-vinylbenzylthiocyanat) eingesetzt. Die Bestrahlung erfolgt zwar mit UV-Licht, jedoch wird gemäß den Figuren 1 und 2 eine Energiedosis von 1000 mJ/cm² und gemäß
50 Figur 3 eine Energiedosis von 750 mJ/cm² eingesetzt. Weiters wird auch die Energiedosis
55

zwischen 0 und 2 J/cm² im Hinblick auf die Änderung des Brechungsindex untersucht, jedoch wird in der Schrift die Bestrahlung mit einer Energiedosis im ausgewählten Bereich zwischen 400 und 600 mJ/cm² nicht offenbart. Aus dieser Publikation ist nicht ersichtlich, dass eine Aktivierung der Zusammensetzung in diesem kleinen, spezifischen Bereich optimal erfolgt: Die
5 einzelnen ausgewählten Werte für die Energiedosis liegen weit außerhalb des erfindungsgemäßen Bereichs (bei 1000 und 750 mJ/cm²) und der untersuchte Bereich für Figur 4 ist ausgesprochen groß (zwischen 0 und 8000 mJ/cm²), so dass im Vergleich dazu der Bereich 400 bis 600 mJ/cm² als sehr klein anzusehen ist.

10 Keines dieser oben beschriebenen Verfahren verwendet jedoch eine spezifische Energiedosis >400 und <600 mJ/cm², um eine Zusammensetzung umfassend TCM und/oder SCM, insbesondere auf einer Oberfläche, zu aktivieren. Die Bestrahlung der Zusammensetzungen gemäß den oben genannten Dokumenten wird mit einer Reihe von Energiedosen durchgeführt, die von 0 bis 1200 mJ/cm² reichen, wobei die Vernetzung der Polymere der TCM bzw. SCM gegebenfalls mit anderen Monomeren beschrieben wird. Eine spezifische Aktivierung mit Hilfe von
15 UV-Licht mit einer ausgewählten Energiedosis in diesem kleinen, definierten Bereich von 401 bis 599 mJ/cm² war bislang nicht bekannt und wurde trotz zahlreicher Studien nicht untersucht oder erwähnt. Gerade diese spezifische Energiedosis ist jedoch optimal zur Aktivierung einer Zusammensetzung umfassend TCM bzw. SCM, wonach die Zusammensetzung eine ausgesprochen hohe Bindungskapazität aufweist. Beispielsweise wird eine Energiedosis von
20 450 mJ/cm² verwendet.

Durch die Aktivierung der Zusammensetzung wird gewährleistet, dass jegliche Moleküle, beispielsweise Crosslinker oder Biomoleküle, effizient und stabil gebunden werden können. Dabei
25 werden im Rahmen der vorliegenden Anmeldung unter dem Begriff "Moleküle" solche Moleküle verstanden, die direkt oder indirekt kovalent an die photochemisch erzeugten Isothiocyanat- oder Isoselenocyanatgruppen in der aktivierten Zusammensetzung binden. Bevorzugt erfolgt die kovalente Bindung durch eine Additionsreaktion einer im Molekül vorhandenen Aminogruppe, wodurch eine Anbindung über Thioharnstoff- bzw. Selenoharnstoffeinheiten erfolgt.

30 Im Rahmen der vorliegenden Anmeldung betrifft die "Zusammensetzung" eine Zusammensetzung jeglichen Aggregatzustandes, d.h. eine Zusammensetzung in z.B. flüssiger, gelartiger, fester, usw. Form, wobei der Aggregatzustand je nach Verwendungszweck ausgewählt wird.

35 VBT bzw. VBS eignen sich dabei besonders gut für das erfindungsgemäße Verfahren, da eine optimale Aktivierung erzielt wird. Im Rahmen der vorliegenden Anmeldung wird unter dem Begriff "VBT" und "VBS" allgemein das jeweilige Monomer oder auch Polymer, d.h. Homo- bzw. Copolymer, verstanden, wobei das Polymer zumindest aus dem jeweiligen Monomer unter Verwendung von Initiatoren oder durch energiereiche Strahlung hergestellt wird. Entsprechende
40 homologe Copolymere können natürlich auch durch polymeranaloge Umsetzungen (=Modifizierungen) von bestehenden Polymeren hergestellt werden. Ist nur die polymere Form von VBT bzw. VBS gemeint, wird dies in der vorliegenden Anmeldung explizit durch z.B. "P-VBT" oder "P-VBS" bzw. "Poly-" definiert.

45 Selbstverständlich kann die Zusammensetzung gemäß der vorliegenden Anmeldung weitere Monomere oder Polymere umfassen sowie jegliche Zusatzstoffe, die vom jeweiligen Verwendungszweck abhängen. Umfasse die Zusammensetzung einen Fotoinitiator, erfolgt durch die UV-Bestrahlung eine Fotopolymerisation der Monomere zu einem Homo- bzw. Copolymer und gleichzeitig oder während eines weiteren UV-Bestrahlungsschrittes die gewünschte Isomerisierung der SCN- zu NCS-Gruppen bzw. der SeCN- zu NCSe-Gruppen. Die Bestrahlung kann mit
50 jeglicher geeigneten Energiequelle erfolgen, beispielsweise können Excimerlaser oder Quecksilberlampen eingesetzt werden. Die Dauer der Bestrahlung hängt dabei von der Zusammensetzung ab, insbesondere deren Aufbau und Menge bzw. Schichtdicke, aber auch von der Wellenlänge des UV-Lichts, der Entfernung zwischen Lichtquelle und Zusammensetzung und dem gewünschten Aktivierungsgrad.
55

Vorzugsweise wird vor der Bestrahlung eine Oberfläche eines festen Trägers mit der Zusammensetzung beschichtet. Dabei kann die Oberfläche je nach Verwendungszweck der Zusammensetzung beispielsweise die Oberfläche eines festen Trägers, einer Chromatographiesäule, eines Filters, eines Implantats etc. sein. Dadurch ist gewährleistet, dass die Zusammensetzung leicht handhabbar und durch die flächenförmige Anordnung in ausgewählten definierten Bereichen aktivierbar ist. Vorzugsweise ist dabei die Zusammensetzung in dickflüssiger bzw. noch bevorzugter in gelförmiger, d.h. vernetzter Form auf der Oberfläche vorgesehen. Die Zusammensetzung kann beispielsweise in flüssiger Form auf die Oberfläche aufgetragen werden, wonach mit Hilfe eines Initiators eine Vernetzung ausgelöst werden kann, so dass die Zusammensetzung einen gelförmigen oder festen Zustand annimmt. Es ist jedoch auch möglich, eine bereits polymerisierte Zusammensetzung auf die Oberfläche aufzutragen, beispielsweise in Form eines Filmes.

Besonders günstig ist es im Rahmen der vorliegenden Anmeldung, wenn die Zusammensetzung auf einer reaktiven Oberfläche, z.B. einer aminomodifizierten Oberfläche, aufgetragen wird. Dadurch wird eine höhere Haftung der Zusammensetzung an der Oberfläche erreicht, da die Zusammensetzung nicht nur an ihrer Oberseite, sondern auch an ihrer Unterseite durch UV-Bestrahlung aktiviert wird, sofern sichergestellt ist, dass auch die Unterseite von der UV-Strahlung erreicht wird. Aus diesem Grund wird im Rahmen der vorliegenden Anmeldung unter "Träger" bzw. "Oberfläche" auch, aber nicht ausschließlich, eine modifizierte Oberfläche bzw. ein Träger mit einer solchen Oberfläche verstanden.

Besonders bevorzugt werden Moleküle, insbesondere Biomoleküle vor bzw. nach der Bestrahlung auf die Zusammensetzung aufgetragen, so dass diese nach Bestrahlung an die aktivierte Zusammensetzung binden. Andere Moleküle im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind etwa Crosslinker oder Spacermoleküle. Werden die Moleküle vor der Bestrahlung aufgetragen, erfolgt die Bindung an die Zusammensetzung praktisch gleichzeitig mit der Bestrahlung. Die Zusammensetzung kann aber auch zuerst bestrahlt werden und erst anschließend, etwa nach einer Lagerzeit, mit den Molekülen behandelt werden. Da Moleküle an die aktivierte Zusammensetzung binden, wird auf diese Weise ein Verfahren zur Immobilisierung von Molekülen an eine bestimmte Oberfläche zur Verfügung gestellt, wobei das Verfahren sehr einfach und kostengünstig ist, um spezifische Moleküle zu detektieren, analysieren, oder in sonstigen biochemischen und mikrobiologischen Verfahren zu verwenden.

Im Rahmen der vorliegenden Anmeldung werden unter Biomoleküle insbesondere Nukleinsäuremoleküle, Proteine und Peptide, Antikörper und Ähnliches verstanden, wobei diese Biomoleküle vorzugsweise eine Aminogruppe aufweisen. Selbstverständlich ist es jedoch auch möglich, Biomoleküle ohne Aminogruppen in einem Verfahren gemäß der vorliegenden Anmeldung zu immobilisieren, wobei die Zusammensetzung vor, während oder nach der Aktivierung durch Addierung von beispielsweise Aminen modifiziert wird.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Anmeldung betrifft demnach auch ein Verfahren zur Immobilisierung von Biomolekülen auf einer Oberfläche eines festen Trägers, das dadurch gekennzeichnet ist, dass es die Schritte umfasst:

- Zur-Verfügung-Stellen der Oberfläche,
 - Beschichten der Oberfläche mit einer Zusammensetzung umfassend Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten (TCM bzw. SCM), insbesondere Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat,
 - zumindest bereichsweises Bestrahlen der Zusammensetzung mit UV-Licht zur Aktivierung der Zusammensetzung durch photoinduzierte Isomerisierung, so dass Biomoleküle, die vor bzw. nach der Bestrahlung auf die Zusammensetzung aufgetragen wurden, an die aktivierte Zusammensetzung, nun umfassend Isothiocyanatgruppen und/oder Isoselenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylisothiocyanat und/oder Vinylbenzylisosele-
- nocyanat, binden und gegebenenfalls

- Waschen der Oberfläche. Wie oben bereits angeführt, wurden Polymere von VBT und VBS bereits in einer Reihe von Anwendungen eingesetzt, beispielsweise zur Herstellung von Negativresistbildern, für Dioden, etc. Die Verwendung dieser Substanzen zur Immobilisierung von Biomolekülen auf einer Oberfläche wurde jedoch bisher weder beschrieben noch durchgeführt.

5 Überraschenderweise eignen sich die Monomere bzw. Polymere der TCM bzw. SCM ausgezeichnet zur stabilen und spezifischen Immobilisierung von Biomolekülen, sobald sie durch Einwirkung von UV-Licht aktiviert worden sind.

Vorzugsweise wird die Oberfläche nach Bestrahlen der Zusammensetzung und Binden der Biomoleküle gewaschen, um nicht-gebundene und unspezifische Substanzen zu entfernen.

10 Dies kann beispielsweise mit jedem an sich bekannten Waschpuffer durchgeführt werden. Die oben beschriebenen Definitionen und bevorzugten Ausführungsformen gelten auch für diesen Aspekt.

Vorzugsweise wird die Zusammensetzung mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 270 und 650 mJ/cm², vorzugsweise zwischen 400 und 600 mJ/cm², bestrahlt. Besonders günstig ist eine Bestrahlung mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 450 und 550 mJ/cm². UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 270 und 650 mJ/cm² eignet sich ausgesprochen gut zur Aktivierung der Zusammensetzung gemäß der vorliegenden Anmeldung. Aufgrund dieser

15 optimalen Aktivierung binden Biomoleküle spezifisch, auf stabile Weise und rasch an die Zusammensetzung. Beispielsweise wird eine Energiedosis von 400 bis 600, insbesondere 450 mJ/cm², verwendet.

20

Ein vorteilhaftes Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass eine Zusammensetzung umfassend 4-Vinylbenzylthiocyanat (4-VBT) und/oder 4-Vinylbenzylselenocyanat (4-VBS) bestrahlt wird. 4-VBT und 4-VBS haben sich überraschenderweise als besonders günstig für eine effiziente und stabile Bindung mit hoher Bindungskapazität von Molekülen, insbesondere Biomolekülen, herausgestellt.

25

Gemäß einem bevorzugten Verfahren wird eine Zusammensetzung umfassend ein Homopolymer bestrahlt. Diese Zusammensetzung umfasst somit entweder Poly-TCM bzw. Poly-SCM, insbesondere Poly-4-VBT bzw. Poly-4-VBS. Selbstverständlich kann die Zusammensetzung jedoch auch weitere Stoffe umfassen, wie Pufferlösungen, Salze, Stabilisatoren, etc.

30

Ein weiteres bevorzugtes Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass eine Zusammensetzung umfassend ein Copolymer bestrahlt wird. Diese Zusammensetzung kann beispielsweise als Comonomere andere Monomere, etwa Derivate von Styrol, Vinylnaphthalin, Ester der Acrylsäure, Ester der Methacrylsäure, Vinylacetat und ähnliche Stoffe, umfassen. In diesem Fall weist das molare Verhältnis der Monomer-Einheiten (TCM oder SCM) zu den Comonomer-Einheiten

35 bevorzugte Werte von 5:95 bis 40:60 auf.

40

Vorzugsweise werden als Biomoleküle aminomodifizierte Oligonukleotide auf die Zusammensetzung aufgetragen. Damit müssen keine weiteren Modifizierungen der Zusammensetzung an sich durchgeführt werden, da die Aminogruppen der Oligonukleotide an die mit UV-Licht aktivierten Bereiche der Zusammensetzung binden. Die Oligonukleotide können je nach Verwendung unterschiedliche Längen aufweisen, wobei die Oligonukleotid-Moleküle sowohl DNA- als auch RNA-Moleküle sein können. Die Moleküle können weitere Modifizierungen aufweisen und eignen sich in immobilisierter Form besonders für Hybridisierungen und Amplifizierungsreaktionen, z.B. PCRs, als (Bio)Sensor, für Bindungsstudien, für high-through put-Techniken, zur

45 Detektion oder Quantifizierung einer Probe.

50

Besonders bevorzugt werden die Moleküle in Spots auf die Zusammensetzung aufgetragen. Dabei wird unter "Spots" ein definierter, vorzugsweise im Wesentlichen kreisförmiger, Bereich verstanden mit einem Durchmesser von beispielsweise einigen µm bis mehreren 100 µm, beispielsweise 100 bis 200 µm. Das Volumen eines solchen Spots kann beispielsweise im

55

picoliter- bis μ l-Bereich liegen. Dabei ist es möglich, die Moleküle lediglich im Bereich der Spots in Verbindung mit der Zusammensetzung zu bringen.

Vorzugsweise wird jedoch die Zusammensetzung in diskreten Bereichen, vorzugsweise Spots, bestrahlt. Dadurch sind die aktivierten Bereiche der Zusammensetzung bereits definiert und es ist nicht notwendig, die Moleküle lediglich in den Spots auf die Zusammensetzung aufzutragen, sondern die Moleküle können auf den gesamten Bereich der Zusammensetzung aufgetragen werden, da sie bevorzugt in den bestrahlten, aktivierten Bereichen der Zusammensetzung immobilisiert werden. Nach der Bindungsreaktion können die ungebundenen Moleküle von der Zusammensetzung gewaschen werden. Dadurch wird ein sehr einfaches und rasches Verfahren zur Immobilisierung von Molekülen zur Verfügung gestellt.

Unabhängig davon, ob die Moleküle lediglich in diskreten Bereichen aufgetragen werden, oder ob die Zusammensetzung in diskreten Bereichen bestrahlt wird, können zwei oder mehr verschiedene Moleküle auf einen Träger aufgebracht werden, wobei grundsätzlich in jedem diskreten Bereich identische Moleküle vorgesehen werden, jedoch auch verschiedene Moleküle in einem diskreten Bereich gebunden werden können. Auf diese Weise ist es möglich, mit einem einzigen Träger eine Reihe verschiedener Moleküle zu testen.

Besonders bevorzugt wird die Oberfläche eines festen Trägers mit der Zusammensetzung beschichtet. Der feste Träger ist dabei beispielsweise eine Mikrotiterplatte, eine Glasplatte, ein einziger Well, eine Küvette, eine optische Faser, ein Wafer, Beads oder Ähnliches. Auf diese Weise ist gewährleistet, dass Moleküle auf einem festen Träger immobilisiert werden, wobei der feste Träger selbst zur Immobilisierung nicht modifiziert werden muss, sondern auf seiner Oberfläche mit einer Zusammensetzung beschichtet wird, was die Wahl des festen Trägers vereinfacht.

Die Oberflächen können jedoch auch Oberflächen von Implantaten sein, wobei das Wachstum von Zellen an der Oberfläche des Trägers aufgrund der erfindungsgemäßen Zusammensetzung gewährleistet ist. Beispielsweise können als Biomoleküle Heparin oder ähnliche Stoffe über die Zusammensetzung auf das Implantat gebunden werden, um eine Blutgerinnung zu verhindern. Andere Oberflächen können insbesondere auch jene von Kathetern, Dialysezubehör, künstliche Venen, etc. sein.

Ein weiteres vorteilhaftes Verfahren wird dadurch zur Verfügung gestellt, dass die Zusammensetzung während bzw. nach der Bestrahlung einer Atmosphäre enthaltend Amine, Ammoniak und/oder Hydrazin ausgesetzt wird. Durch diese Aminomodifizierung der Substanz wird die Hydrophilie der Zusammensetzung erhöht. Durch diese Modifikation wird jedoch nicht nur die Hydrophilie erhöht, sondern die eingebauten Stickstoff-hältigen Gruppen fungieren auch als Anker bei der Bindung von beispielsweise DNA-Molekülen an die Zusammensetzung. Auf diese Weise können auch nicht-modifizierte DNA-Moleküle an die Zusammensetzung gebunden werden. Als Atmosphäre können beispielsweise Hydrazin, Ammoniak oder aliphatische Amine umfassende Medien verwendet werden. Ein solches Verfahren ist beispielsweise in Conference Proceedings, Oct. 8-10, 2001, Basel Schweiz, Rat Tech Europe, "Photochemical modification of polymer surfaces", Seiten 699-701, beschrieben.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft einen festen Träger, der auf seiner Oberfläche mit einer Zusammensetzung umfassend polymerisierte Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten (TCM bzw. SCM), insbesondere polymerisiertes Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, beschichtet ist, wobei die Zusammensetzung zumindest bereichsweise mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 400 und 600 mJ/cm^2 , vorzugsweise zwischen 450 und 550 mJ/cm^2 , bestrahlt wurde, so dass die Zusammensetzung zumindest bereichsweise durch photoinduzierte Isomerisierung aktiviert ist. Ein solcher fester Träger weist den Vorteil auf, dass er eine Zusammensetzung umfasst, die zumindest bereichsweise hochaktiviert ist, d.h., dass ein Prozentanteil von zumindest 5% der

ursprünglich vorhandenen Thiocyanatgruppen in Isothiocyanatgruppen (bzw. Selenocyanatgruppen in Isoselenocyanatgruppen) übergeführt worden ist, sodass eine gute Bindung von Molekülen an die Beschichtung des Trägers gewährleistet ist. Ein solcher fester Träger ist im Stand der Technik nicht beschrieben worden, da zwar Träger umfassend VBT und VBS bereits bekannt sind, die auch mit UV-Licht zur Vernetzung bestrahlt worden sind, jedoch wurde eine spezifische Aktivierung mit UV-Licht mit einer Energiedosis im ausgewählten Bereich >400 und <600 mJ/cm^2 weder beschrieben noch nahegelegt, so dass solche Träger, die zumindest bereichsweise eine hohe Bindungskapazität aufweisen, überraschend sind. Zwischen dem erfindungsgemäßen Träger und den bekannten Trägern, d.h. Träger, die eine mit einer anderen Energiedosis bestrahlte Zusammensetzung aufweisen, kann daher aufgrund des prozentualen Ausmaßes der Fotoisomerisierung unterschieden werden. Die charakteristische Infrarot-Bande der NCS-Gruppe bei ca. 2080 cm^{-1} ist um den Faktor 6 bis 8 intensiver als die Infrarot-Bande der SCN-Gruppe bei 2150 cm^{-1} , sodass das Fortschreiten der beschriebenen Fotoisomerisierung durch Infrarot-Spektroskopie bequem verfolgt werden kann. Für diesen Aspekt gelten die oben bereits beschriebenen Definitionen und Ausführungsformen.

Besonders bevorzugt sind Moleküle, insbesondere Biomoleküle, an die aktivierte Zusammensetzung gebunden. Wie oben bereits beschrieben werden unter Molekülen beispielsweise Crosslinker, Spacer, Nukleinsäuresequenzen, Proteine oder Peptide verstanden. Beispielsweise kann der Träger zur Bindung von Oligonukleotiden, spezifischen Proteinen bzw. Antikörpern für Analyse-, Detektions- und Produktionsverfahren verwendet werden. Der Träger kann aber auch in medizinischen Verfahren, insbesondere als Implantat, Katheter und Ähnliches eingesetzt werden, indem bestimmte biologische Vorgänge verhindert oder initiiert werden, bzw. das Wachstum von Geweben an der Zusammensetzung bzw. im festen Träger gefördert wird.

Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung einen festen Träger, der auf seiner Oberfläche mit einer zumindest bereichsweise aktivierten Zusammensetzung umfassend Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten (TCM bzw. SCM), insbesondere Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, beschichtet ist, wobei der Träger nach einem Verfahren wie oben beschrieben herstellbar ist und Biomoleküle an die aktivierte Zusammensetzung gebunden sind. Da die Verwendung von TCM bzw. SCM für die Bindung von Biomolekülen, insbesondere Nukleinsäure-Molekülen, Proteinen und Peptiden bislang noch nicht beschrieben worden ist, ist die Tatsache, dass sich eine aktivierte Zusammensetzung umfassend TCM bzw. SCM ausgesprochen gut für die Bindung von Biomolekülen eignet, überraschend. Auch für diesen Aspekt gelten die oben beschriebenen Definitionen und bevorzugten Ausführungsformen.

Ein besonders günstiger fester Träger weist eine Zusammensetzung auf, die mit UV-Licht mit einer Energiedosis von 270 bis 650 mJ/cm^2 , vorzugsweise zwischen 400 und 600 mJ/cm^2 , aktiviert wurde. Wie oben bereits beschrieben, binden Biomoleküle ausgesprochen gut an eine derart aktivierte Zusammensetzung, wodurch ein fester Träger zur Verfügung gestellt wird, der für die verschiedensten Anwendungen optimal geeignet ist. Besonders bevorzugt weist der Träger eine Zusammensetzung auf, die mit UV-Licht mit einer Energiedosis von 450 - 550 mJ/cm^2 aktiviert wurde.

Vorzugsweise sind die Biomoleküle aminomodifizierte Oligonukleotide. Auf diese Weise muss die Zusammensetzung nicht weiter, etwa mit Aminen, modifiziert werden, so dass die Biomoleküle direkt an die aktivierte Zusammensetzung binden können.

Besonders bevorzugt sind die Moleküle in Spots an die aktivierte Zusammensetzung gebunden. Auf diese Weise wird ein Träger zur Verfügung gestellt, der auch zwei oder mehr unterschiedliche Moleküle gebunden aufweist, wobei jedoch pro Spot im Allgemeinen identische Moleküle immobilisiert sind.

Ein besonders vorteilhafter Träger weist eine aktivierte Zusammensetzung auf, die in diskreten

Bereichen, vorzugsweise Spots, auf der Oberfläche vorgesehen ist. Wie bereits oben beschrieben, ist somit nicht die gesamte Zusammensetzung aktiviert, sondern eben nur diskrete Bereiche der Zusammensetzung, wobei die Moleküle auf den gesamten Träger aufgetragen werden können und nach einem Waschen der ungebundenen Moleküle lediglich die diskreten Bereiche gebundene Moleküle aufweisen. Somit ist ein fester Träger zur Verfügung gestellt, der besonders leicht zu handhaben ist und in einfachen Verfahren eingesetzt werden kann.

Besonders bevorzugt ist der feste Träger ausgewählt aus einer Gruppe bestehend aus einer Mikrotiterplatte, einer Membran, einer Glasplatte, einem Plastikträger, einer Küvette, einem Metall, einer optischen Faser, einem Wafer, einem Biochip und Beads. Dies sind klassische Träger und in der Literatur eingehend beschrieben, wobei der Fachmann den jeweiligen Träger, der sich am besten für die vorgesehene Verwendung eignet, auswählen wird. Dabei sind auch insbesondere Oberflächen mit Aminogruppen geeignet, wobei sich die Haftung der Beschichtung als Folge der UV-Reaktion verbessert.

Vorzugsweise sind zumindest zwei voneinander verschiedene Moleküle an die Zusammensetzung gebunden. Somit können mehrere Moleküle auf einem festen Träger untersucht bzw. eingesetzt werden. Dieser feste Träger eignet sich insbesondere für Analyse- oder Detektionstests.

Gemäß einer vorteilhaften Ausführungsform umfasst die Zusammensetzung ein Homopolymer bzw. ein Copolymer. Dabei kann das Copolymer, wie oben beschrieben, beispielsweise VBT zusammen mit einem anderen Comonomer umfassen, etwa Styrol, Vinylnaphthalin, Vinylacetat und verschiedene Ester, wobei die Zusammensetzung in Ansehung der jeweiligen Anwendung spezifisch ausgewählt werden kann.

Besonders bevorzugt ist die Zusammensetzung aminomodifiziert. Dies bedeutet, dass die Zusammensetzung zusätzlich Stickstoff-hältige Gruppen, insbesondere Aminogruppen, umfasst. Eine solche Zusammensetzung wird auf einfache Weise dadurch hergestellt, dass sie während bzw. nach der Bestrahlung einer Atmosphäre umfassend Stickstoff-hältige Moleküle - wie bereits oben beschrieben - ausgesetzt wird. Auf diese Weise wird ein fester Träger mit einer aminomodifizierten Zusammensetzung zur Verfügung gestellt, so dass die Zusammensetzung eine höhere Hydrophilie im Vergleich zur nicht-modifizierten Zusammensetzung aufweist, bzw. Stoff-hältige Gruppen, insbesondere Aminogruppen, umfasst. Eine solche Zusammensetzung wird auf einfache Weise dadurch hergestellt, dass sie während bzw. nach der Bestrahlung einer Atmosphäre umfassend Stickstoff-hältige Moleküle - wie bereits oben beschrieben - ausgesetzt wird. Auf diese Weise wird ein fester Träger mit einer aminomodifizierten Zusammensetzung zur Verfügung gestellt, so dass die Zusammensetzung eine höhere Hydrophilie im Vergleich zur nicht-modifizierten Zusammensetzung aufweist, bzw. Moleküle insbesondere Nukleinsäure-Moleküle, die keine Amine aufweisen, können ebenfalls ohne einen weiteren Modifikationsschritt an die Zusammensetzung gebunden werden.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung eines erfindungsgemäßen Trägers in einem in vitro Analyse-, Detektions- oder Produktions- Verfahren. Solche Verfahren sind beispielsweise Hybridisierungsreaktionen, PCR, die Herstellung bzw. das Einsetzen eines Implantats oder Katheters in einem Körper, etc. Aufgrund der oben beschriebenen Vorteile erzielt der erfindungsgemäße Träger optimale Ergebnisse und eignet sich besonders gut für diese Verfahren.

Die vorliegende Erfindung wird nun anhand der nachfolgenden Beispiele und Figuren näher erläutert, auf die sie jedoch nicht beschränkt sein soll, wobei

Fig. 1 die Immobilisierungskapazität von unterschiedlich bestrahlten Zusammensetzungen, Fig. 2 eine schematische Darstellung eines erfindungsgemäßen Trägers und Fig. 3 und 4 einen Scan zeigen.

*Beispiele :**Beispiel 1*

- 5 *Herstellung von Trägern, die mit einer Zusammensetzung umfassend Poly(4-Vinylbenzylthiocyanat-co-Styrol) beschichtet sind*

2 Gew.-% Poly(4-Vinylbenzylthiocyanat-co-Styrol) in Methylethylketon (M) oder Chloroform (C) wurde mit einem Filmziehrahmen (Erichsen) in einer Schichtdicke von 15 µm auf Glas-Slides
10 aufgetragen.

Die Probe umfassend H₂N-C₆-Alf 1b, eine aminomodifizierte 17-mer Sequenz der 16S rRNA wurde mit einer Konzentration von luft trockengeblasen.

15 *Beispiel 2*

Hybridisierung von Oligonukleotiden

5 ng/µl Probe umfassend Cy5 markierte amplifizierte Bakterien-DNA wurde in Hybridisierungspuffer (20 mM Tris; pH 7,4; 0,9 M NaCl; 0,01% SDS; 20% Formamid) gelöst, bei 95°C
20 5 min denaturiert und sofort auf Eis gestellt. Pro Slide (Herstellung siehe Beispiel 1) wurden 15 µl der Probe aufgebracht und mit je einem Deckplättchen (15 x 15 mm) abgedeckt. Die Slides wurden auf feuchtem Papier, in einer mit Parafilm verschlossenen Petrischale, 3 h bei 50°C hybridisiert.

25 Nach je zwei Waschgängen in 4x SSC und aqua dest. wurden die Slides mit Druckluft trockengeblasen.

Beispiel 3

30

Immobilisierungskapazität

Die Fluoreszenzintensität von Cy5 markierten, aminomodifizierten Oligonukleotiden wurde nach der UV-Aktivierung, nach dem Blockieren und nach dem Hybridisieren (Spotvolumen 0,35 nl)
35 gemessen. Die Immobilisierungskapazität K1 wurde als Prozent des Signals nach dem Blockieren, K2 als Prozent des Signals nach dem Hybridisieren bestimmt (%IK, s. Fig. 1).

K1=100 x I (nach Blockieren)/I (nach UV)

K2=100 x I (nach Hybridisieren)/I (nach UV)

40

Aus Fig. 1 ist ersichtlich, dass sowohl K1 als auch K2 nach der Bestrahlung mit einer Energiedosis von 450 mJ/cm² die höchsten Werte verglichen mit den anderen Bestrahlungsenergien erzielen.

45 *Beispiel 4*

Haftung des Polymers auf der Glasoberfläche

Um die Haftung des Polymers auf der Glasoberfläche zu erhöhen, wurden 2 Gew.-% Poly(4-Vinylbenzylthiocyanat-co-Styrol) in Chloroform auf aminosilanisierten Slides aufgezogen. Aminomodifizierte 16 S rRNA-Sequenzen wurden auf die so beschichteten Slides gespottet und bei 450 mJ/cm² kovalent an die VBT-Oberfläche gebunden. Durch die UV-Bestrahlung erfolgte gleichzeitig die Bindung des VBT-Polymers mit der aminosilanisierten Oberfläche, wodurch eine bessere Haftung erzielt wird (siehe Fig. 2, wobei "A" eine Aminoalkylsilan-Schicht, "G" den
55 Glasträger und "K" die kovalente Bindung sowohl an das aminosilanisierte Slide wie auch an die

aminomodifizierten Oligonukleotide "O" bedeuten). Fig. 3 zeigt einen Fluoreszenzscan eines Arrays auf einem P-VBT/aminosilanisierten Slide - der Fluoreszenzhintergrund (BG) ist mit $\leq 10\%$ sehr gering.

5 Beispiel 5

Spotdurchmesser und -dichte

Es wurden die Durchmesser und Dichten von Spots verschiedener aktiver Gruppen gemessen und miteinander verglichen:

Aufgrund der lipophilen Polymerbeschichtung ist der Spotdurchmesser im Vergleich zu anderen Chipoberflächen sehr klein, wodurch sehr große Spotdichten, die äußerst vorteilhaft für high-throughput-Anwendungen sind, erzielt werden können.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse gezeigt, wobei in Fig. 4 die dazugehörigen Spots abgebildet sind.

Tabelle

Produkt	Oberfläche/aktive Gruppe	Mittlerer Durchmesser in μm	Spotdichte (Spots/ cm^2)
Seibersdorf research (1)	Erfindungsgemäße Zusammensetzung	103	4271
Schleicher & Schuell (2)	Nitrocellulose	170	2066
Sigma (3)	Aminoalkylsilan	140	2770
Sigma (4)	Aminoalkylsilan	160	2267
Cel. Assoc. (Telechem) (5)	Aldehyde	220	1371
Motorola (6)	Epoxy	163	2163

35 Patentansprüche:

1. Verfahren zur Aktivierung einer Zusammensetzung umfassend Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, durch photoinduzierte Isomerisierung, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 400 und 600 mJ/cm^2 , vorzugsweise zwischen 450 und 550 mJ/cm^2 , bestrahlt wird, so dass eine aktivierte Zusammensetzung umfassend Isothiocyanatgruppen und/oder Isoselenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylisothiocyanat und/oder Vinylbenzylisoselenocyanat, gebildet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet*, dass vor der Bestrahlung eine Oberfläche eines festen Trägers mit der Zusammensetzung beschichtet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, *dadurch gekennzeichnet*, dass Moleküle, insbesondere Biomoleküle vor bzw. nach der Bestrahlung auf die Zusammensetzung aufgetragen werden, so dass diese nach Bestrahlung an die aktivierte Zusammensetzung binden.
4. Verfahren zur Immobilisierung von Biomolekülen auf einer Oberfläche eines festen Trägers, *dadurch gekennzeichnet*, dass es die Schritte umfasst:

- Zur-Verfügung-Stellen der Oberfläche,
- Beschichten der Oberfläche mit einer Zusammensetzung umfassend Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat,
- zumindest bereichsweises Bestrahlen der Zusammensetzung mit UV-Licht zur Aktivierung der Zusammensetzung durch photoinduzierte Isomerisierung, so dass Biomoleküle, die vor bzw. nach der Bestrahlung auf die Zusammensetzung aufgetragen wurden, an die aktivierte Zusammensetzung umfassend Isothiocyanatgruppen und/oder Isoselenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylisothiocyanat und/oder Vinylbenzyliselenocyanat, binden und gegebenenfalls
- Waschen der Oberfläche.

5. Verfahren nach Anspruch 4, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 270 und 650 mJ/cm², vorzugsweise zwischen 400 und 600 mJ/cm², bestrahlt wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, *dadurch gekennzeichnet*, dass eine Zusammensetzung umfassend 4-Vinylbenzylthiocyanat und/oder 4-Vinylbenzylselenocyanat bestrahlt wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, *dadurch gekennzeichnet*, dass eine Zusammensetzung umfassend ein Homopolymer bestrahlt wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, *dadurch gekennzeichnet*, dass eine Zusammensetzung umfassend ein Copolymer bestrahlt wird.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 8, *dadurch gekennzeichnet*, dass als Biomoleküle aminomodifizierte Oligonukleotide auf die Zusammensetzung aufgetragen werden.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 9, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Moleküle in Spots auf die Zusammensetzung aufgetragen werden.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 10, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung in diskreten Bereichen, vorzugsweise Spots, bestrahlt wird.
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 11, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Oberfläche eines festen Trägers mit der Zusammensetzung beschichtet wird.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung während bzw. nach der Bestrahlung einer Atmosphäre enthaltend Amine, Ammoniak und/oder Hydrazin ausgesetzt wird.
14. Fester Träger, der auf seiner Oberfläche mit einer Zusammensetzung umfassend polymerisierte Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufweisende Monomereinheiten, insbesondere polymerisiertes Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, beschichtet ist, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung zumindest bereichsweise mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 400 und 600 mJ/cm², vorzugsweise zwischen 450 und 550 mJ/cm², bestrahlt wurde, so dass die Zusammensetzung zumindest bereichsweise durch photoinduzierte Isomerisierung aktiviert ist.
15. Fester Träger nach Anspruch 14, *dadurch gekennzeichnet*, dass Moleküle, insbesondere Biomoleküle an die aktivierte Zusammensetzung gebunden sind.
16. Fester Träger, der auf seiner Oberfläche mit einer zumindest bereichsweise aktivierten Zusammensetzung umfassend Thiocyanatgruppen und/oder Selenocyanatgruppen aufwei-

sende Monomereinheiten, insbesondere Vinylbenzylthiocyanat und/oder Vinylbenzylselenocyanat, beschichtet ist, *dadurch gekennzeichnet*, dass der Träger nach einem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 4 bis 13 herstellbar ist und dass Biomoleküle an die aktivierte Zusammensetzung gebunden sind.

- 5 17. Fester Träger nach Anspruch 16, *dadurch gekennzeichnet*, dass der Träger nach einem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 4 bis 13 hergestellt ist und dass die Zusammensetzung mit UV-Licht mit einer Energiedosis zwischen 270 und 650 mJ/cm², vorzugsweise zwischen 400 und 600 mJ/cm², aktiviert wurde.
- 10 18. Fester Träger nach einem der Ansprüche 14 bis 17, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Biomoleküle aminomodifizierte Oligonukleotide sind.
- 15 19. Fester Träger nach einem der Ansprüche 14 bis 18, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Moleküle in Spots an die aktivierte Zusammensetzung gebunden sind.
- 20 20. Fester Träger nach einem der Ansprüche 14 bis 19, *dadurch gekennzeichnet*, dass die aktivierte Zusammensetzung in diskreten Bereichen, vorzugsweise Spots, auf der Oberfläche vorgesehen ist.
- 25 21. Fester Träger nach einem der Ansprüche 14 bis 20, *dadurch gekennzeichnet*, dass er ausgewählt ist aus einer Gruppe bestehend aus einer Mikrotiterplatte, einer Membran, einer Glasplatte, einem Plastikträger, einer Küvette, einem Metall, einer optischen Faser, einem Wafer, einem Biochip und Beads.
- 30 22. Fester Träger nach einem der Ansprüche 15 bis 21, *dadurch gekennzeichnet*, dass zumindest zwei voneinander verschiedene Biomoleküle an die Zusammensetzung gebunden sind.
- 35 23. Fester Träger nach einem der Ansprüche 14 bis 22, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung ein Homopolymer umfasst.
- 40 24. Fester Träger nach einem der Ansprüche 14 bis 23, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung ein Copolymer umfasst.
25. Fester Träger nach einem der Ansprüche 14 bis 24, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zusammensetzung aminomodifiziert ist.
26. Verwendung eines festen Trägers nach einem der Ansprüche 14 bis 25 in einem in vitro Analyse-, Detektions- oder Produktions-Verfahren.

Hiezu 3 Blatt Zeichnungen



FIG. 1

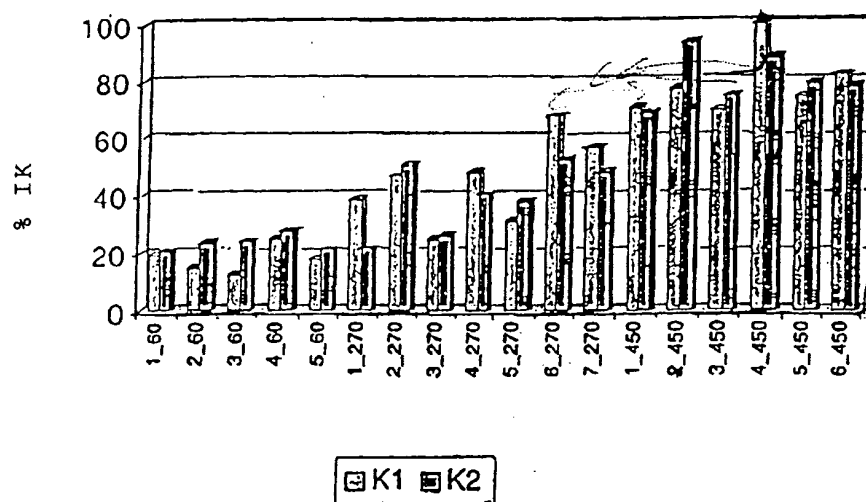




FIG. 2

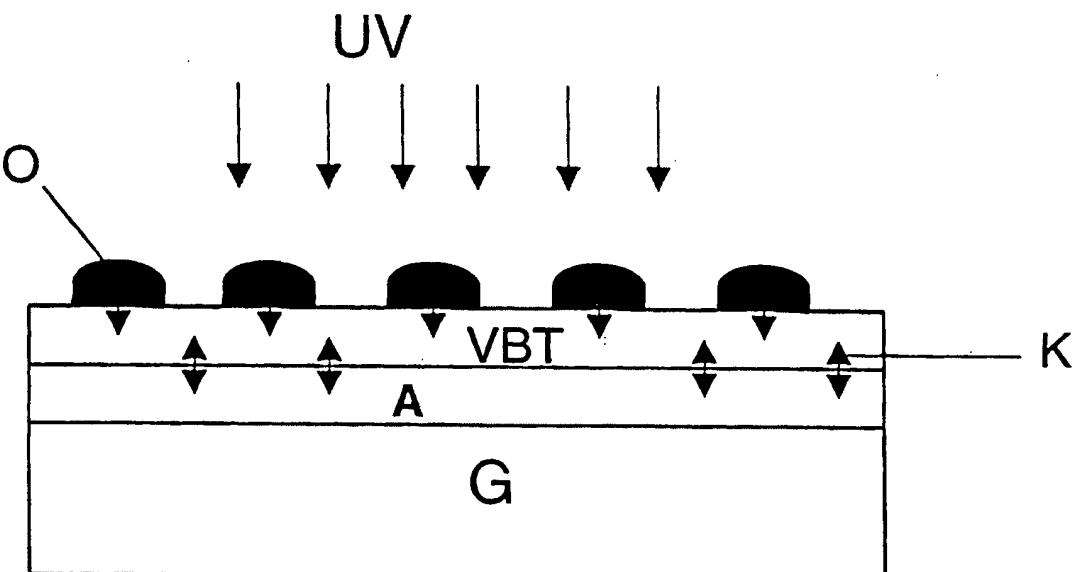


FIG. 3

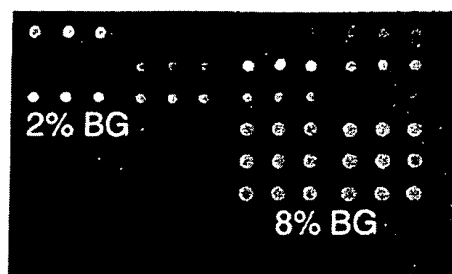


FIG. 4

