

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780016328.0

[51] Int. Cl.

C07K 17/02 (2006.01)
C07K 17/14 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)
C12N 11/02 (2006.01)
C12N 11/14 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)

[43] 公开日 2009年5月20日

[11] 公开号 CN 101437853A

[51] Int. Cl. (续)

C12Q 1/68 (2006.01)

[22] 申请日 2007.5.7

[21] 申请号 200780016328.0

[30] 优先权

[32] 2006.5.5 [33] EP [31] 06009343.2

[86] 国际申请 PCT/EP2007/004016 2007.5.7

[87] 国际公布 WO2007/128550 英 2007.11.15

[85] 进入国家阶段日期 2008.11.5

[71] 申请人 白血球保健股份有限公司

地址 德国慕尼黑

[72] 发明人 斯特凡·马格拉夫 马丁·肖尔茨

[74] 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司

代理人 丁香兰 谭辉

权利要求书6页 说明书31页 附图3页

[54] 发明名称

用于固定生物物质的生物相容性三维基体

[57] 摘要

本发明涉及一种制造携带有生物材料的固体涂布载体的方法。此外，本发明还涉及附着有生物材料的固体涂布载体以及所述固体涂布载体在制备医学产品中的用途。此外，本发明还提供了一种接触、过滤或清洁患者的血液、淋巴或脑脊髓液的方法、诊断疾病的方法以及诊断组合物。

1. 一种制造携带有生物材料的固体涂布载体的方法，所述方法包括以下步骤：

(a)将固体载体与包含至少一种硅烷的溶液温育，随后除去所述溶液，所述溶液中包含的所述至少一种硅烷以重量或体积计为 0.1%至 10%；

(b)通过将所述载体与包含所述生物材料的优选为缓冲的水溶液温育，随后除去所述水溶液，从而将所述生物材料附着至所述载体上；和

(c)在水溶液中温育所述载体，所述水溶液包含选自(多)肽、氨基酸、淀粉、糖、磷酸盐、多元醇、聚乙二醇(PEG)或其混合物中的一种或多种物质。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，所述方法进一步包括步骤(d)：

(d)将所述载体干燥至残留水含量<20 重量%。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法，所述方法进一步包括步骤(a')：

(a')将所述载体干燥至所述溶液的残留含量小于初始施用溶液的 10%。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法，所述方法进一步包括在所述步骤(b)之后且在步骤(c)之前的步骤(b')：

(b')在包含封闭剂的缓冲水溶液中温育所述载体，并除去所述水溶液。

5. 根据权利要求 1 至 3 任一项所述的方法，所述方法进一步包括在所述步骤(b)之后且在步骤(c)之前的步骤(b'')：

(b'')利用包含 0.5 重量%至 10 重量%的选自由以下物质组成的组中的物质的水溶液封闭未结合位点：(多)肽、羟乙基淀粉(HES)、甘露糖醇、山梨糖醇和聚乙二醇(PEG)、奶、来自于黄豆、小麦或蛋的蛋白质，并且可以在封闭后利用水溶液进行一次或多次洗涤步骤。

6. 根据权利要求 1 至 5 任一项所述的方法，其中步骤(c)中的所述载体在包含选自由以下物质组成的组中的一种或多种物质的水溶液中温

育：清蛋白、羟乙基淀粉(HES)、甘露糖醇、山梨糖醇和聚乙二醇(PEG)。

7. 根据权利要求1至6任一项所述的方法，其中所述载体的所述材料具有多孔性结构。

8. 根据权利要求7所述的方法，其中所述载体的所述材料的特征在于表面/气体容积比为 30 cm^{-1} 至 300 cm^{-1} 。

9. 根据权利要求7或8所述的方法，其中所述载体的所述材料的特征在于未压缩材料体积/压缩材料体积的比为4至40。

10. 根据权利要求8所述的方法，其中所述载体的所述材料具有中空纤维结构，优选具有如下特征：未压缩材料体积/压缩材料体积的比为1至10，和/或所述表面/气体容积比为 200 cm^{-1} 至 2000 cm^{-1} 。

11. 根据权利要求1至10任一项所述的方法，其中所述载体的所述材料选自由玻璃、聚氨酯、聚酯、聚砜、聚乙烯、聚丙烯、丙烯酸系聚合物、聚丙烯腈、聚酰胺、聚甲基丙烯酸甲酯、羊毛填料、开孔泡沫塑料或玻璃、网状塑料或玻璃、以及得自海绵动物(多孔动物)的结构体。

12. 根据权利要求1至11任一项所述的方法，其中步骤(a)中的所述溶液是水溶液。

13. 根据权利要求1至11任一项所述的方法，其中步骤(a)中的所述溶液是非水溶液。

14. 根据权利要求1至11任一项所述的方法，其中所述至少一种硅烷选自由烷氧基硅烷、有机官能性硅烷、氢硅(氧)烷、硅氧烷和包括具有其它官能团的甲硅烷基化合物在内的有机硅烷。

15. 根据权利要求1至14任一项所述的方法，其中所述生物材料选自由真核细胞、真核细胞碎片、原核生物、原核生物碎片、古细菌、古细菌碎片、病毒和病毒碎片组成的组。

16. 根据权利要求15所述的方法，其中所述真核细胞碎片、原核生物碎片、古细菌碎片或病毒碎片选自由(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖组成的组。

17. 根据权利要求1至14任一项所述的方法，其中所述生物材料选自由合成或半合成制得的(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖组成的组。

18. 根据权利要求 16 或 17 所述的方法, 其中所述(多)肽是受体。
19. 根据权利要求 18 所述的方法, 其中所述受体是抗体、抗体片段或抗体衍生物。
20. 根据权利要求 19 所述的方法, 其中所述抗体是单克隆抗体。
21. 根据权利要求 19 或 20 所述的方法, 其中所述抗体属于 IgG 组、IgY 组或 IgM 组。
22. 根据权利要求 1 至 21 任一项所述的方法, 其中所述生物材料通过共价键附着至步骤(b)中的所述载体上。
23. 根据权利要求 1 至 22 任一项所述的方法, 其中所述步骤(a)至步骤(c)在装有所述载体的转动的管体系中进行。
24. 根据权利要求 1 至 23 任一项所述的方法, 其中所述溶液通过泵在所述管体系中转动。
25. 根据权利要求 7 至 24 任一项所述的方法, 其中由具有多孔性结构的材料制成的所述载体包含至少一种其它材料。
26. 根据权利要求 25 所述的方法, 其中所述至少一种其它材料选自自由碳、二氧化硅、羟乙基淀粉和生物素组成的组。
27. 根据权利要求 1 至 26 任一项所述的方法, 其中步骤(a)至(c)中的所述溶液是包含 0.5 体积%至 10 体积%清蛋白和 0.5 体积%至 5 体积%甘露糖醇的水溶液。
28. 根据权利要求 1 至 26 任一项所述的方法, 其中步骤(a)中的所述溶液是含有 0.1 体积%至 10 体积%硅烷的醇, 步骤(b)中的所述溶液是包含所述生物材料的水溶液, 步骤(c)中的所述溶液是包含 0.5 体积%至 10 体积%清蛋白和 0.5 体积%至 5 体积%甘露糖醇的水溶液。
29. 根据权利要求 1 至 28 任一项所述的方法, 所述方法进一步包括对所述固体涂布载体进行灭菌的步骤(e)。
30. 根据权利要求 29 所述的方法, 其中通过环氧乙烷(EO)、 β 辐射、 γ 辐射、X 射线、热灭活、高压灭菌或等离子体灭菌对所述载体进行灭菌。
31. 一种能够由或者由权利要求 1 至 30 任一项所述的方法制造的

固体涂布载体。

32. 一种附着有生物材料的固体涂布载体，其中所述生物材料包埋到涂布基体中，该涂布基体由直接接触所述载体的至少一种硅烷第一层和覆盖所述第一层的第二层构成，所述第二层由选自由以下物质组成的组中的至少一种物质构成：至少一种(多)肽、至少一种氨基酸、淀粉、至少一种糖、至少一种磷酸盐、至少一种多元醇和聚乙二醇(PEG)或其混合物。

33. 根据权利要求 32 所述的载体，其中所述载体的所述材料具有多孔性结构。

34. 根据权利要求 32 或 33 所述的载体，其中所述载体的所述材料选自由玻璃、聚氨酯、聚酯、聚砜、聚乙烯、聚丙烯、丙烯酸系聚合物、聚丙烯腈、聚酰胺、聚甲基丙烯酸甲酯、羊毛填料、开孔泡沫塑料、网状塑料和得自海绵动物(多孔动物)的结构体组成的组。

35. 根据权利要求 32 至 34 任一项所述的载体，其中所述生物材料选自由真核细胞、真核细胞碎片、原核生物、原核生物碎片、古细菌、古细菌碎片、病毒和病毒碎片组成的组。

36. 根据权利要求 35 所述的载体，其中所述真核细胞碎片、原核生物碎片、古细菌碎片或病毒碎片选自由(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖组成的组。

37. 根据权利要求 32 至 34 任一项所述的载体，其中所述生物材料选自由合成或半合成或重组制得的(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖组成的组。

38. 根据权利要求 32 至 37 任一项所述的载体，其中所述第二层的至少一种(多)肽是清蛋白，所述第二层的所述淀粉是羟乙基淀粉(HES)，和/或所述第二层的所述至少一种糖是甘露糖醇或山梨糖醇。

39. 根据权利要求 32 至 38 任一项所述的方法，其中具有多孔性结构的所述载体的所述材料的特征在于表面/气体容积比为 30 cm^{-1} 至 300 cm^{-1} 。

40. 根据权利要求 33 至 39 任一项所述的载体，其中具有多孔性结

构的所述载体的所述材料的特征在于未压缩材料体积/压缩材料体积的比为 4 至 40。

41. 根据权利要求 33 至 39 任一项所述的载体, 其中所述载体的所述材料是中空纤维, 优选具有如下特征: 未压缩材料体积/压缩材料体积的比为 1 至 10, 和/或表面/气体容积比为 200 cm^{-1} 至 2000 cm^{-1} 。

42. 根据权利要求 32 至 41 任一项所述的载体, 其中所述第一层的所述至少一种硅烷选自烷氧基硅烷、有机官能性硅烷、氢硅(氧)烷、硅氧烷、包括具有其它官能团的甲硅烷基化合物在内的有机硅烷组成的组。

43. 根据权利要求 32 至 42 任一项所述的载体, 其中所述第二层是包含清蛋白和甘露糖醇的优选为干燥的混合物。

44. 根据权利要求 43 所述的载体, 其中所述第二层进一步包含聚乙二醇(PEG)。

45. 根据权利要求 32 至 44 任一项所述的载体, 其中所述生物材料通过共价键附着至所述载体。

46. 根据权利要求 36 至 45 任一项所述的载体, 其中所述(多)肽是受体。

47. 根据权利要求 46 所述的载体, 其中所述受体是抗体、抗体片段或抗体衍生物。

48. 根据权利要求 47 所述的载体, 其中所述抗体是单克隆抗体。

49. 根据权利要求 47 或 48 所述的载体, 其中所述抗体属于 IgG 组、IgY 组或 IgM 组。

50. 根据权利要求 32 至 49 任一项所述的载体, 其中所述载体包含至少一种其它材料。

51. 根据权利要求 50 所述的载体, 其中所述至少一种其它材料选自自由碳、二氧化硅、羟乙基淀粉和生物素组成的组。

52. 根据权利要求 32 至 51 任一项所述的载体, 其中所述载体通过 β 辐射或 γ 辐射进行灭菌。

53. 权利要求 32 至 52 任一项所述的固体涂布载体在制备用于接触、过滤或清洁患者的血液、淋巴或脑脊髓液的医学产品中的用途。

54. 一种控制患者的血液、淋巴或脑脊髓液的组成的方法，所述方法包括将所述血液、淋巴或脑脊髓液与权利要求 32 至 52 任一项所述的固体涂布载体接触。

55. 根据权利要求 53 所述的用途或权利要求 52 所述的方法，其中在包含所述固体涂布载体的间歇容器中进行患者的血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制。

56. 根据权利要求 53 所述的用途或权利要求 52 所述的方法，其中在包含所述固体涂布载体的连续容器中进行患者的血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制。

57. 一种诊断疾病的方法，所述方法包括以下步骤：

(a)使患者的体液与权利要求 46 至 52 任一项所述的固体涂布载体接触，所述接触在适宜使指示所述疾病的病原体或标记蛋白与所包埋的受体特异性结合的条件下进行；和

(b)检测用于指示疾病的所述病原体或标记蛋白是否已经结合至所包埋的受体。

58. 根据权利要求 57 所述的方法，其中所述受体是抗体、抗体片段或抗体衍生物。

59. 一种诊断组合物，所述诊断组合物包含权利要求 32 至 52 任一项所述的固体涂布载体。

60. 一种纯化化合物的方法，所述方法包括将包含待纯化的所述化合物的混合物与权利要求 32 至 52 任一项所述的固体涂布载体接触。

用于固定生物物质的生物相容性三维基体

技术领域

本发明涉及一种制造携带有生物材料的固体涂布载体。此外，本发明涉及一种附着有生物材料的固体涂布载体以及所述固体涂布载体用于制备医学产品的用途。此外，本发明提供了一种用于接触、过滤或清洁患者血液、淋巴或脑脊髓液或其部分的方法、用于诊断疾病的方法以及诊断组合物。

整个本说明书提到了多篇文献。此处以参考的方式引入包含生产手册在内的所述文献的全部公开内容。

背景技术

例如单克隆抗体或其它分子的系统应用对于治疗肿瘤患者、代谢失调、免疫疾病或其它疾病是重要且在不断发展的领域。然而，这些分子的系统应用是极其昂贵的，并且经常伴随着严重的副作用和高死亡率。此外，所注射的生物制剂的体内过程通常难以确定，并且不能预见在个体患者中的严重副作用。

新治疗方法应用的一种选择是使用具有经固定的抗体的(医学)装置。该方法优于利用抗体官能性的标准治疗，没有系统应用所可能存在的不良影响。因此，利用基于(医学)装置的该安全方法没有看到系统使用抗体经常观察到的严重副作用。该装置在血流中的暂时或永久应用目的在于用固定在确定表面上的高度确定量的生物材料(可以例如意味着在确定的体积内有确定密度的生物材料)控制生理机能、免疫系统、免疫细胞或其它血液成分、或流动的肿瘤细胞，这将可以避免某些药物系统应用的重荷载。

使用失活抗体如 Remicade[®]使 TNF α 失活的领域描述有各种治疗方法。然而，已知将该抗体简单地施用于患者会伴随着严重甚至是致命的

副作用(失明、休克和过敏反应等)。此外,完全抗体(full antibody)或其片段或衍生物的使用要求抗体的人源化和/或其它修饰,以减少或避免由于人类患者对抗体的免疫反应导致的抗体失活。

已知本领域描述的另一方法是名为“TheraSorb[®]”(Miltenyi Biotech GmbH, Bergisch-Gladbach, 德国)(参见 R. Bambauer 等, Ther Apher Dial. 2003, 7(4): 382-390 和 G. Wallukat 等, International Journal of Cardiology, 1996, 54(2): 191-195)。TheraSorb[®]用于除去 LDL-胆固醇、免疫球蛋白、抗原抗体复合物、免疫复合物、抗体片段或纤维蛋白原。该方法中利用的分离柱(apheresis column)包含结合有多克隆抗体的琼脂糖(sepharose)。该方法需要分离出细胞,以将血浆输送到所述柱子中。这是该系统的一个主要缺点,因为这是一种过度开支。流速较低,因此仅能处理少量的血浆。而且,该系统因其复杂性而非常昂贵。

上述讨论表明,迄今为止可用于治疗所述疾病的方法和系统伴随有严重副作用或者相当难以实现。因此,本发明所要解决的技术问题是提供能够用生物材料例如细胞和蛋白质治疗患者的手段和方法,这将改善所述情况。通过权利要求书中表征的实施方式可以解决该技术问题。

发明内容

因此,在第一实施方式中,本发明提供了一种制造携带有生物材料的固体涂布载体的方法,所述包括以下步骤:

(a)将固体载体与包含 0.1%至 10%(重量%或体积%)的至少一种硅烷的溶液温育,随后除去所述溶液;

(b)通过将所述载体与包含所述生物材料的优选为缓冲的水溶液温育,随后除去所述水溶液,将所述生物材料附着至所述载体上;和

(c)在水溶液中温育所述载体,所述水溶液包含选自(多)肽、氨基酸、淀粉、糖、磷酸盐、多元醇、聚乙二醇(PEG)或其混合物中的一种或多种物质。

按上述次序进行步骤(a)、(b)和(c)。

本发明上下文中的术语“固体载体”定义为固体材料的载体。所述

载体的材料可以是紧实结构或多孔性结构。如下文所述，优选所述载体是含选自以下材料组成的组中的材料的载体：玻璃、聚氨酯、聚酯、聚砜、聚乙烯、聚丙烯、丙烯酸系聚合物(polyacryl)、聚丙烯腈、聚酰胺、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、羊毛填料、开孔泡沫塑料或玻璃、网状塑料或玻璃和得自海绵动物(多孔动物)的结构体。

本发明术语“优选为缓冲的”是指优选为缓冲溶液。

本发明上下文中的术语“生物材料”是指从活的或死的生物体或其部分分离的材料、或能够在人造生物系统中产生的材料以及所述材料的化学修饰衍生物。人造生物系统的实例包括体外合成核酸分子或(多)肽或用重组 DNA 技术制备的手段。如下文所详细描述，该生物材料的实例包括真核细胞、真核细胞碎片、原核生物、原核生物碎片、古细菌、古细菌碎片、病毒和病毒碎片。真核细胞、原核生物、古细菌和病毒的所述碎片包括一种或更多种(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖或其任何组合。作为选择，术语生物材料还包括即使没有被发现存在天然对应物(counterpart)并且是例如(半)合成或重组制造的材料的多肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖(见下文)。

本文使用的术语“(多)肽”是指包括肽组以及多肽组的分子组。肽组由至多 30 个氨基酸分子组成，多肽组由超过 30 个氨基酸组成。根据本发明，“多肽”组包括“蛋白质”。此外，根据所述定义，术语“(多)肽”包括蛋白质片段。该术语定义进一步包括多肽，所述多肽为二聚物、三聚物和更多单体的低聚物，即由超过一条氨基酸分子链(经连接的氨基酸链)组成。如上所述，在从真核细胞、原核生物、古细菌和病毒分离所述蛋白质的情况下，蛋白质也被理解为真核细胞、原核生物、古细菌和病毒的碎片。该术语也适用于通过重组 DNA 技术制备的(多)肽或用制备所述化合物所用的细胞的其它技术制备的(多)肽。

本发明上下文中的术语“寡核苷酸”是指由至少 10 个到至多 30 个核苷酸组成的核酸分子。术语“多核苷酸”是指由超过 30 个核苷酸组成的核酸分子。本文所述的寡核苷酸和多核苷酸可以是 DNA、RNA 和 PNA 等。包括在多核苷酸内的分子组还包括完整的基因或染色体及其片段。

所述定义还包括载体，例如克隆载体和表达载体。

本发明上下文中的术语“多糖”定义为由两个以上的糖构成的聚合物，因此该术语包括本领域中已知为低聚糖的其它分子。所述多糖可以由支化或非支化糖链组成。

本发明上下文中使用的术语“硅烷”与国际纯化学和应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)的定义一致，包括一组由硅基体(matrix)和氢组成的化合物。按照该定义的硅烷可以是支化的(异硅烷和新硅烷)或非支化(正硅烷)的。

本发明上下文中术语“体液”定义为可从患者，优选从人类患者的样品获得的液体。该体液的实例包括血液、淋巴或脑脊髓液或其部分，例如血浆或包含清蛋白的液体部分，以及富集的白细胞(例如得自白细胞去除术)。

整个本发明使用的术语“患者”包括患病或生病的患者以及健康的受试对象。根据本发明，患者是任何接受医学护养、护理或治疗的人。人通常(但不一定)是生病或受伤的人，如果是生病或者受伤的人，则需要由医师或其它从医人员治疗。其它术语中，可以用术语“患者”代替可能生病或没有生病的“受试对象”。受试对象可以是动物，优选为哺乳动物，最优选的是人类。如上所述，患者还可以是例如针对疾病或健康状况进行急诊或常规诊断的健康人类。其它术语中，本发明可以用于确定患者是否患有某种疾病(或多种疾病的组合)和/或是否容易患上该疾病。

除去溶液可以理解为溶液的定性除去。因此，至少将溶液除去至一定程度，其中剩余溶液没有显著改变本发明方法随后步骤中使用的溶液的质量。可以例如通过吸取(例如通过利用可以连接移液管等的常规泵等)、压缩或吹动进行该除去。可选的是，这些步骤是结合进行的，并可以进一步结合空气干燥进行。优选的是，将该溶液除去至至少 95 体积%，例如至少 98 体积%或至少 99 体积%、至少 99.5 体积%或至少 99.8 体积%。

术语“温育”是指在使步骤(a)至(c)所述化合物能够附着至所述载体或步骤(a)和/或(b)提及的分子层的条件下进行的温育，所述温育可以通过间接结合进行。温育条件包括取决于所述步骤和温度，进行 20 分钟至 12

小时的温育。通常，在 37°C 温育抗体 1 小时，37°C 是 IgM 抗体稳定的最佳温度。可以温育 IgG 抗体至至高 50°C。温度范围可以是 4°C 至 50°C，优选为 20°C 至 37°C，这取决于所述步骤和温育时间。优选的是，在步骤(a)中，在室温下进行 20 分钟的温育，在步骤(b)中，在 37°C 进行 1 小时的温育，在步骤(c)中，在室温下进行 1 小时的温育。应当理解的是，为了加快该过程或为了改善结果，可以根据温育中使用的物质改变温育的时间和温度。例如，如果使用甲醇作为步骤(a)中的溶剂，应该保持约 20°C 的较低温度，例如约 15°C 至约 25°C，以使甲醇不发生蒸发。

本领域技术人员知道，术语“室温”可以指不同的温度，这取决于位置和室外温度。室温通常为 17°C 至 23°C。

本发明方法的步骤(a)中所述的溶液可以是水溶液或非水溶液。除了硅烷，本发明方法的步骤(a)中的水溶液可以还包含经稀释的蛋白质和其它经稀释的成分，例如糖或醇。在这方面，一种优选的蛋白质是清蛋白。根据本发明，清蛋白包括得自动物的清蛋白(优选为得自哺乳动物的清蛋白，更优选为得自人类的清蛋白)以及得自植物种子的清蛋白。清蛋白形成哺乳动物中血清的主要成分。本发明的其它清蛋白的实例是动物的 α -乳清蛋白和卵清蛋白、得自大豆的豆清蛋白、得自小麦、黑麦或大麦的麦清蛋白、或得自豆类的豆清蛋白。在可能的过敏原情况下，优选对清蛋白进行水解，特别是增强与人类或其它动物体的相容性。这也适用于步骤(a)的可选实施方式中的非水溶液。

在本发明上下文中，术语“水性溶剂”不局限于(但包括)水，而且包括可与水混合因此能形成均相的亲水性溶剂。

水性溶剂的实例包括但是不限于水、甲醇、乙醇或高级醇或其混合物。非水溶剂的实例包括但是不限于二甲亚砜(DMSO)、苯、甲苯、二甲苯和乙基苯，或脂肪族溶剂，如戊烷、己烷、庚烷或其混合物。

优选的是，步骤(a)中的溶液的溶剂是水、甲醇、乙醇或其混合物、二甲亚砜(DMSO)、苯、甲苯、二甲苯和乙基苯或戊烷、己烷、庚烷或其混合物。步骤(a)的溶液的最优选溶剂是甲醇或乙醇。因此，溶液是指包含溶剂的溶液，而水溶液是指包含亲水性溶剂的溶液。

根据本发明,所述方法的步骤(a)中的所述至少一种硅烷的浓度为0.1%至10%(重量%或体积%),其中,该范围同时限定了所述溶液中的全部硅烷的浓度。在其它术语中,如果使用一种以上的硅烷,则全部硅烷的总量为0.1%至10%(重量%或体积%)。优选的是,所述浓度为0.5%至5%(重量%或体积%)。

根据本发明方法的步骤(b),将生物材料附着至固体载体可以理解为在载体上固着(fixation)所述材料。可以通过将生物材料直接结合至固体载体进行该固着。作为选择,可以利用第三化合物,例如一种或更多种硅烷覆盖在固体载体上的层,通过间接结合进行该固着。根据本发明,术语“覆盖”包含固体载体的全部覆盖以及部分覆盖。在两种替代方案中,结合可以是通过共价或非共价键进行的结合。按照本发明,可以例如通过生物材料和载体材料之间的化学反应或硅烷(涂布载体材料)和生物材料之间的化学反应获得共价键。在后一情况中,硅烷用作分子桥。非共价键结合的实例包括弱键,例如范德华键或其它极性键的结合。例如在(多)肽和具有聚乙烯表面的固体载体之间存在所述非共价键。

优选的是,用于附着生物材料例如抗体的水溶液是缓冲溶液,并具有较低的盐含量。本发明所述的较低盐含量定义为0.9%(重量%)以下的盐浓度,优选低于0.2%(重量%)。通常(但不是绝对地),对于IgG和IgY,可以使用例如由在水中的15 mM碳酸钠和35 mM碳酸氢钠组成的另一碱性缓冲液(pH=9),但是对于附着IgM,优选使用更中性的缓冲液(pH 7.0至7.4),例如磷酸盐缓冲液(如PBS)。

根据本发明方法的步骤(c),由于所述载体(在水溶液中将步骤(b)中的生物材料附着至所述载体)的附着,生物材料包埋到涂布层/涂布基体中。通过包埋使生物材料的暴露表面最小化。

如上所述,步骤(c)的水溶液优选具有较低盐含量。所述水溶液可以是缓冲水溶液。

本发明方法的所述步骤可以分批进行,在所述批次中交换各相应的溶液。

本发明的方法提供了涂布有基体的固体载体,其中包埋有所述的生

物材料。示于图 1 方案中的剖面图例示了包含所包埋的生物材料的所述固体涂布载体的一个实施方式。

由本发明的方法制造的固体载体可以用于治疗和诊断。

所述治疗包括脱除体液的毒素，例如二噁英、肉毒杆菌毒素、破伤风毒素、脂多糖(LPS)、腐败毒等。该载体还可以用于治疗细菌或病毒疾病。本发明方法制造的载体一种可预计的替代性应用是用于需要刺激、消除或除去患者某些细胞的治疗。消除特定细胞群可以例如表示在治疗增殖性疾病(例如，一般在治疗癌症特别是治疗微量残留癌中)、自身免疫疾病或治疗器官移植前的疾病中消除特定细胞群。可以设想例如在疾病治疗中通过激活免疫系统细胞对特定细胞群进行激活，所述免疫系统细胞在激活后适于消除特定的病细胞群。另一治疗方法是利用其中包埋有遗传或操纵(例如通过与合成或天然化合物如细胞因子、丁酸、佛波醇肉豆蔻酸酯-乙酸酯(Phorbol myristate acetate)或全反式视黄酸温育而分化或通过物理操纵如热激、深低温保藏、离心而分化)重组体供体细胞或非操纵供体细胞的固体涂布载体。包埋细胞可以分泌化合物，例如能够减轻或治愈内分泌失调或代谢性失调的激素。以下将详细描述上述治疗方法的实例。该治疗方法可以包括在(医学)装置的情况下，本发明方法制造的载体的体内应用以及间接体内(ex vivo)应用。因此，可以将包含固体涂布载体的装置植入患者进行体内应用。对于间接体内应用，可以将包含固体涂布载体的装置与待处理的体液的循环连接。例如可以将得自患者动脉或静脉的血液引导通过该装置，随后导回到该患者中(与血流连接)。作为选择，可以将体液样品与载体进行体外温育。在后面治疗的随后步骤中，可以将体液再引入患者体内。

本发明方法制造的固体载体的诊断应用是例如需要检测体液中毒素或特定细胞群的诊断方法。利用本发明制造的固体涂布载体的诊断应用可以用于毒素或特定细胞群体的定量检测。在这些应用中，可以使用附着有单种类型的生物材料(例如抗体)的载体。温育所述载体和得自患者的确定体积的体液，将能够在通过样品中被附着的生物材料检测分析化合物的量之后，定量推算出患者全体的化合物的量。例如，使用附着有许

多不同类型生物材料的载体，对毒素或特定细胞群进行定性检测。将所述载体与得自患者的体液进行温育之后，本领域技术人员能够分析被样品中的附着生物材料特异性结合/检测到的是哪些毒素或细胞群。

上述治疗方法中，包埋的生物材料对血液、淋巴或脑脊髓液具有治疗作用，由于所述生物材料固着在固体载体上，因而没有将附着/固定的生物材料释放到体液中。优选没有大量的附着/固定的生物材料释放到体液中。因此，治疗或诊断用的生物材料的所需量得以最小化。由于固定治疗或诊断用的生物材料，还可以使因循环活性生物材料引起的药物代谢动力学问题降到最少。

本发明方法可以制造出载体表面包埋有清楚确定密度的生物材料的载体。因此，可以清楚和可再现地限定包埋所产生载体的基体的生物材料的效率。此外，利用本发明方法制造的载体的治疗可以例如通过连接包含所述载体的(医学)装置与体液循环来限定治疗的起始，并且例如通过断开所述装置与体液循环来限定治疗的终止。

本发明方法制造的载体的另一个优异特征是，与通常制造的材料相比，包埋的生物材料的稳定性(保存期限)得到改善。尽管本申请人不希望受任何理论的约束，但是据信通过提供涂布基体可以实现所述改善，该涂布基体减少了生物材料的变质过程所需的暴露表面。根据这一理解，利用所包围的涂布基体，可以保护包埋的生物材料并将负载在所述涂布基体的结构中。例如，在涂布之后，抗体受到保护并被稳定化，由于在载体上施加有第二层，因此可以延迟或抑制涂布至本发明载体上的抗体的降解或分解。

本发明方法和所制造的涂布载体的另一优异特征是，施加有本发明方法步骤(c)中的载体的涂布层能够消毒所制造的载体。因此，本发明首次公开了一种制造涂布有通常比较不稳定和易发生变化的生物材料的固体涂布载体的方法，其中固体涂布载体可以是经过灭菌的，因此可以用于治疗患者或使用于需要无菌环境的方法中。如上所讨论的和所附实施例中所示的，除了促进生物材料的稳定性外，第二层或涂布基体还可以防止涂布到载体上的生物材料由于 β 射线辐射、 γ 射线辐射或X射线辐

射而发生的降解。

在本发明的优选实施方式中，所述方法在步骤(c)之后进一步包括步骤(d)：

(d)将所述载体干燥至残留水含量<20 重量%。

根据本发明的该优选实施方式，可以按已知的测定木材水含量的方式计算残留水含量。在木材的情况下，通过计算样品中的水质量(m_w)和含水木材样品的质量(m_u)之间的比例，再乘以 100，确定木材水含量的百分比(x)。可以通过从含水木材样品的质量(m_u)减去干燥之后该样品的质量，确定该样品的水质量(m_w)。因此，用下列公式计算木材水含量的百分比：

$$X(\%) = \frac{m_w}{m_u} \times 100$$

可以类似地确定制备载体的残留水含量，其中 m_w 是载体样品中的水质量，并且 m_u 是彻底干燥载体样品后载体样品的质量。在海绵状载体的情况下， m_w 在挤压孔隙中的过量水后进行确定。

在本发明的另一个优选实施方式中，所述方法在步骤(a)之后进一步包括步骤(a')：

(a')将所述载体至溶液的残留含量小于初始施用溶液的 10%，优选为低于 5%，更优选低于 2%，例如低于 1%、0.5%或 0.2%。优选的是，干燥方法如上所述。最优选的是采用风干法进行干燥。

本发明方法可以在步骤(b)之后且在步骤(c)之前进一步包括步骤(b')：

(b')在包含封闭剂的缓冲水溶液中温育所述载体，并除去所述水溶液。

封闭剂可以用于制造固体载体的所述方法中，以防止在该方法的后续步骤中加入的材料非特异性结合。在根据步骤(c)于水溶液中温育载体之前，该封闭还可以对生物材料的构象稳定性具有积极的作用。

根据本发明，封闭剂包括但是不局限于人类或动物血清和该血清的蛋白质(例如清蛋白)、奶、卵蛋白、植物源性(例如黄豆、小麦)蛋白，包括所述蛋白质的水解产物(例如明胶、胶原)。包含所述封闭剂的缓冲水溶液还可以包括氨基酸(优选为甘氨酸、天冬氨酸和/或谷氨酸、脯氨酸、精

氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、肉碱、鸟氨酸、羟脯氨酸、半胱氨酸、同型半胱氨酸、瓜氨酸、菊粉、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、组氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苏氨酸、色氨酸)或氨基酸的衍生物(例如正乙酰基-色氨酸、 β -丙氨酸、黑色素、多巴(DOPA))、糖(优选为葡萄糖、甘蔗糖(saccharose)、蔗糖)、多元醇(优选为山梨糖醇、甘露糖醇、丙三醇、木糖醇)、聚乙二醇(PEG)、羟乙基淀粉(HES)、磷酸盐(例如磷酸二氢钠、磷酸氢二钠)、两性物质(优选为清洁剂,如聚山醇酸酯、Triton X-100)、缓冲剂(优选 TRIS、HEPES)。

如上所述,优选包含封闭剂的水溶液是缓冲水溶液并具有较低盐含量。所附实施例中给出了本发明的包含封闭剂的缓冲水溶液的实例。优选在室温下进行封闭,通常封闭1至4小时,优选为1小时。

作为步骤(b')的一种选择,本发明方法包括在步骤(b)之后且在步骤(c)之前进行的步骤(b''):

(b'')利用包含0.5重量%至10重量%的选自由以下物质组成的组中的物质的水溶液封闭非结合的结合位点:(多)肽(例如清蛋白,明胶或胶原),羟乙基淀粉(HES)、甘露糖醇、山梨糖醇和聚乙二醇(PEG)、奶、来自于黄豆、小麦或蛋的蛋白质。

在一个更加优选的实施方式中,步骤(b')或(b'')进一步包括在封闭后,利用确定为适用于上述步骤(b)的水溶液进行一个或多个洗涤步骤。适用于该实施方式的水溶液是例如含有1%人清蛋白的PBS。进行所述一个或多个洗涤步骤,以除去过量的封闭剂。根据载体的表面,通常优选在室温下进行10秒至10分钟的所述洗涤。

在另一个优选的实施方式中,在包含选自由以下物质组成的组中的一种或多种物质的水溶液中温育步骤(c)中的载体:清蛋白、羟乙基淀粉(HES)、甘露糖醇、山梨糖醇和聚乙二醇(PEG)。

根据本发明,进一步优选的是由本发明方法制造的载体的材料具有多孔性结构。

为了获得用作(医学)产品的涂布载体的紧实设计,优选的是载体显示

出与其总体量度相比相对较大的表面。这可以例如利用具有开孔结构的泡沫、羊毛(填料)或利用许多平行小管或细丝的沉降物(setting), 例如类似于目前在血液透析中使用的多孔性中空纤维设计(参见例如 http://www.fmc-ag.com/internet/fmc/fmcag/agintpub.nsf/Content/Modern_hemodialysis_the_first_hollow-fiber_dialyzers_2004)来实现。该设计优选允许全血或上述其它体液自由流动, 并且优选的是利用流入物和流出物之间最小的压差并使设备内任一点的血液流速 <1 米/秒而在流变学上优化载体。优选的是没有“盲端”, 并且优化血液成分与基体的活性表面的接触。具有多孔性结构的载体的特定优点是增加载体能够与生物材料附着的表面。即, 通过增加每载体体积的载体表面, 增加生物材料可以附着/包埋载体上的量。

更优选的是, 载体材料的特征在于表面/气体容积比为 30 cm^{-1} 至 300 cm^{-1} 。载体的表面被理解为全部管束(trabeculae)表面的总和。气体容积被理解为具有多孔性结构的载体的全部管束中气体的体积的总和。

可以通过例如切割具有确定总体量度的泡沫小块来测定表面/气体容积比。对所述泡沫块的全部管束进行计数并通过显微镜进行测量。利用管束的平均长度和直径以及每 cm^3 的管束计数, 可以在数学上获得(假设管束的形状是圆形的)比表面($\text{xx cm}^2/\text{cm}^3$, 其是 cm^{-1} , 并表示确定体积的材料的内表面)。

优选的是, 具有多孔性结构的载体的材料的特征为未压缩材料体积/压缩材料体积的比为 4 至 40。

本发明上下文中的术语“材料体积比”理解为包含固体和气体成分的未压缩多孔性材料和压缩多孔性材料之间的比例。

在多孔性弹性泡沫例如 PU 泡沫的情况下, 例如可以按照如下所述原理测定该比例。将具有 20 ml 体积的圆柱形泡沫块(未压缩)放于具有 20 ml 体积的注射器中, 完全向下压迫活塞后, 可从注射器标记上读取压缩体积。用于压缩该材料(在 PU 多孔性泡沫的情况下)的力限定为至少 20 千克/平方厘米。将体积减少的端点定义为两倍压缩压力(在 PU 多孔性泡沫的情况下, 该压力是 40 千克/平方厘米)不能使体积进一步减少达 10%

的体积。可以重复该过程(两倍压力),直至材料的体积不再进一步减小达10%。

按照本发明方法而进一步优选的是,载体材料选自由玻璃、聚氨酯(PU)、聚酯、聚砜、聚乙烯、聚丙烯、丙烯酸系聚合物、聚丙烯腈、聚酰胺、聚甲基丙烯酸甲酯、羊毛填料、开孔泡沫塑料或玻璃、网状塑料或玻璃、和得自海绵动物(多孔动物)的结构体组成的组中的材料。例如,可以按照对来自 Pall, Dreieich(德国)的装置 LG6 的描述来使用聚酯羊毛(polyester fleece)。玻璃细丝的非限定性实例包括输血用生物过滤器膜,其装在 Nanjing Shuangwei Science & Technology Industries Co.LTD 经售的白细胞滤器(Leukocyte Removal Filter)上。合适的海绵动物的实例例如在 D. Green 等人的 Tissue Engineering.(2003)第 9 卷,第 6 期:第 1159~1166 页中有描述。

本发明方法中可以使用的材料可以具有中空纤维的结构。优选的中空纤维包装件优选具有这样的特征:未压缩材料体积/压缩材料体积的比为 1 至 10,和/或表面/气体容积比是 200 cm^{-1} 至 2000 cm^{-1} 。

在本发明方法的又一个优选实施方式中,步骤(a)中的溶液是水溶液。作为选择,在本发明方法的一个优选实施方式中,步骤(a)中溶液是非水溶液。前文已经说明相应溶液和优选溶液的实例。

按照本发明的方法,优选所述至少一种硅烷选自由烷氧基硅烷、有机官能性硅烷、氢硅(氧)烷、硅氧烷和包括具有其它官能团的甲硅烷基化合物在内的有机硅烷组成的组。

本发明上下文中使用的硅烷的所述组的实例包括:

N-[3-(三甲氧基甲硅烷基)丙基]乙二胺

N-环己基氨基甲基甲基二乙氧基硅烷

N-环己基氨基甲基三乙氧基硅烷

N-苯基氨基甲基三甲氧基硅烷

(甲基丙烯酰氧基甲基)甲基二甲氧基硅烷

甲基丙烯酰氧基甲基三甲氧基硅烷

(甲基丙烯酰氧基甲基)甲基二乙氧基硅烷

甲基丙烯酰氧基甲基三乙氧基硅烷
 (异氰酸基甲基)甲基二甲氧基硅烷
 N-三甲氧基甲硅烷基甲基-邻-甲基氨基甲酸酯
 N-二甲氧基(甲基)甲硅烷基甲基-邻-甲基-氨基甲酸酯
 N-环己基-3-氨基丙基三甲氧基硅烷
 3-氨基丙基三乙氧基硅烷
 N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基甲基二甲氧基硅烷
 3-氨基丙基三甲氧基硅烷
 3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷
 3-甲基丙烯酰氧基丙基三乙氧基硅烷
 3-异氰酸基丙基三甲氧基硅烷
 3-缩水甘油氧基丙基三甲氧基硅烷
 3-缩水甘油氧基丙基三乙氧基硅烷
 3-(三乙氧基甲硅烷基)丙基琥珀酸酐
 (3-(Triethoxysilyl)propylbernsteinsäureanhydrid)
 3-(氨基丙基)三[2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基]硅烷
 (3-氨基丙基)三(三甲基甲硅烷氧基)硅烷
 (4-甲氧基苯基)三(邻甲苯基)硅烷
 (4-苯氧基苯基)(苯基)(邻甲苯基)硅烷
 二环己基-甲基-硅烷
 二甲基(3-苯基丙基)硅烷
 二甲基双(2,3,4,5-四甲基-2,4-环戊二烯-1-基)硅烷
 二苯基(3-苯基丙基)硅烷
 二苯基(4-甲氧基苯基)硅烷
 二苯基(4-苯氧基苯基)硅烷
 二苯基(二苯基甲氧基)(二苯基甲基)硅烷
 二苯基(二苯基甲基)硅烷
 二苯基(间甲苯基)硅烷
 二苯基(邻甲苯基)(4-三甲基甲硅烷基)苯基)硅烷

二苯基(对甲苯基)硅烷
二苯基二(间甲苯基)硅烷
二苯基二(邻甲苯基)硅烷
二苯基甲基(邻甲苯基)硅烷
二苯基苯乙基(邻甲苯基)硅烷
十二烷基三(2-联苯基)硅烷
十二烷基三(2-环己基乙基)硅烷
十二烷基三(3-氟苯基)硅烷
十二烷基三(间甲苯基)硅烷
乙氧基三(邻甲苯基)硅烷
乙氧基三(2-甲氧基苯基)硅烷(1)
乙基-双-(2,4,6-三甲基苯基)-硅烷(1)
亚乙基双(三(癸基)硅烷)(1)
十六烷基硫基(sulfanyl)乙炔基-三甲基-硅烷
异丁基(三甲氧基)硅烷(2)
甲基-三(三甲基甲硅烷氧基)硅烷(1)
甲基苯基(4-(三甲基甲硅烷基甲基)苯基)硅烷(1)
甲基苯基(间甲苯基)硅烷(1)
甲基三(2-甲氧基乙氧基)硅烷
苯基(邻甲苯基)硅烷(1)
苯基-三(三甲基甲硅烷氧基)硅烷(1)
苯基三(间甲苯基)硅烷(1)
苯基三(邻甲苯基)硅烷(1)
苯基三(对甲苯基)硅烷
苯基三(2-环己基乙基)硅烷
苯基三(2-乙基己基)硅烷
苯基三(2-甲氧基乙氧基)硅烷
苯基三(4-(三甲基甲硅烷基)苯基)硅烷
苯基三(9-乙基-3-吡啶基)硅烷

三(邻甲苯基)硅烷
三乙酰氧基(乙基)硅烷
三乙酰氧基(甲基)硅烷
三乙酰氧基(乙烯基)硅烷
三乙氧基(1-苯基次乙基)硅烷
三乙氧基(3-异氰酸基丙基)硅烷
三乙氧基(3-硫代氰酸基丙基)硅烷
三乙氧基(4-甲氧基苯基)硅烷
三乙氧基[4-(三氟甲基)苯基]硅烷
三乙氧基(乙基)硅烷
三乙氧基(异丁基)硅烷
三乙氧基(辛基)硅烷
三乙基(硅烷-d)
三(十六烷基)(4-(三甲基甲硅烷基)苯基)硅烷
三甲氧基[2-(7-氧杂二环[4.1.0]庚-3-基)乙基]硅烷
三甲氧基(2-苯乙基)硅烷
三甲氧基[3-(甲基氨基)丙基]硅烷
三甲氧基[3-(苯基氨基)丙基]硅烷
三甲氧基(7-辛烯-1-基)硅烷
三甲氧基(十八烷基)硅烷
三甲氧基(辛基)硅烷
三甲氧基(丙基)硅烷
三甲氧基(乙烯基)硅烷
三甲基(1,2,3,4,5-五甲基-2,4-环戊二烯-1-基)硅烷
三甲基-(1-甲基-1-苯基丙氧基)-硅烷
三甲基(1-丙烯基)硅烷
三甲基(2,3,4,5-四甲基-2,4-环戊二烯-1-基)硅烷
三甲基(2-苯基-1,1-双(三甲基甲硅烷基)乙基)硅烷
三甲基-(4'-蔡次甲-1-基-联苯基-4-基)硅烷

三甲基-(4-硝基-苯基乙炔基)硅烷
三甲基(4-(三甲基甲硅烷基)丁氧基)硅烷
三甲基(甲硫基)硅烷
三甲基(苯氧基)硅烷
三甲基(苯基)硅烷
三甲基(苯基硒代甲基)硅烷
三甲基(苯硫基)硅烷
三甲基(苯硫基甲基)硅烷
三甲基(炔丙基)硅烷
三甲基(丙氧基)硅烷
三甲基(乙烯基)硅烷
三苯基(1,2,2-三苯基乙基)硅烷
三苯基(3-(三苯基甲锍烷基)丙基)硅烷
三苯基(三苯甲基)硅烷
三苯基(乙烯基)硅烷
三(1-萘基)硅烷
三(2-联苯基)硅烷
三(4-(三甲基甲硅烷基)苯基)硅烷
三(癸基)硅烷
三(十六烷基)硅烷
三(异丙硫基)硅烷
三(苯乙基)硅烷
三(三甲基甲硅烷氧基)硅烷
三(三甲基甲硅烷基)硅烷
三乙基硅烷
1-(二甲基甲硅烷基)-2-苯乙炔
3-(三乙氧基甲硅烷基)丙基异氰酸酯
3-(三甲氧基甲硅烷基)丙基甲基丙烯酸酯
3-[三(三甲基甲硅烷氧基)甲硅烷基]丙基甲基丙烯酸酯

烯丙基(4-甲氧基苯基)二甲基硅烷
二甲氧基-甲基-十八烷基硅烷
甲氧基聚乙二醇 5,000 三甲基甲硅烷基醚
N-[3-(三甲氧基甲硅烷基)丙基]苯胺
炔丙基三甲基硅烷
硅 2,3-萘酞菁双(三己基甲硅烷氧化物)
叔丁基二甲基甲硅烷基三氟甲烷磺酸酯
四烯丙基原硅酸酯
四烯丙基硅烷
四(二甲基甲硅烷基)原硅酸酯
四甲基-d12 原硅酸酯
三甲基甲硅烷基三氟甲烷磺酸酯
三(二甲基甲硅烷氧基)苯基硅烷
乙烯基三甲氧基硅烷
乙烯基三甲基硅烷
乙烯基三甲基硅烷
3-(2-氨基乙基氨基)丙基-二甲氧基甲基硅烷
[3-(2-氨基乙基氨基)丙基]三甲氧基硅烷
烯丙基三甲基硅烷, 和
甲基 2-(三甲基甲硅烷基)丙酸酯

根据本发明方法, 另外优选的是, 所述生物材料选自由真核细胞、真核细胞碎片、原核生物、原核生物碎片、古细菌、古细菌碎片、病毒和病毒碎片组成的组。真核细胞、原核生物、古细菌和病毒的所述碎片包括(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸、多糖和它们的组合物。

真核细胞组包括酵母细胞、低级植物和高级植物的细胞、昆虫细胞和高等动物细胞。优选的是, 高等动物的所述细胞是哺乳动物细胞, 更优选为人类细胞。

根据本发明, 真核细胞、原核生物和古细菌的碎片应理解为包括薄膜部分(膜泡)或细胞区室(例如来自真核细胞的细胞核或细胞器)或细菌细

胞壁的成分(例如脂多糖(LPS)、肽聚糖和脂磷壁酸)。真核细胞、原核生物和古细菌的碎片组还可以包括(多)肽,例如抗原性蛋白质(如菌毛、蛋白酶、热激蛋白、甲酰基-甲硫氨酰基肽和毒素)、Toll 样受体(TLR)、核苷酸结合低聚域蛋白(Nod)和 G-蛋白偶联受体、甲酰基-甲硫氨酰基肽受体、蛋白酶激活受体和糖蛋白。糖蛋白组包括免疫受体和配体。免疫受体和配体包括 MHC 复合物(负载有抗原性肽或单独的 MHC 分子)和共刺激分子。

根据本发明,病毒碎片的实例包括但是不限于诸如对于与宿主细胞膜的相互作用和融合具有重要作用的病毒外膜多肽(例如包膜蛋白)等分子。病毒碎片的其它实例还包括核病毒蛋白及其片段。

在本发明方法的替代性实施方式中,所述生物材料选自由通过合成或半合成或重组制得的(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖组成的组。本发明方法中使用的生物材料可以定义为包括没有天然对应物的(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖、以及自然存在的和人造的(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖的化学修饰衍生物。合成或半合成或重组制备(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖的方法在本领域中是已知的。

根据本发明,特别优选所述(多)肽是受体。相应受体的实例包括膜结合受体和胞内受体以及可溶性受体。这种受体的特别优选实施方式是抗体。本发明上下文中的受体被理解为与配体(受体的对应物;在抗体的情况下为抗原)发生特异性相互作用。功能性受体(优选为信号转导受体,与非转导性受体或截短受体相反)与其配体的相互作用可以导致信号级联的引发。该功能性受体的实例包括 T 细胞受体(TCR)和 B 细胞受体(BCR)或共刺激受体(例如 CD28),这些受体参与免疫系统细胞的激活。功能性受体与其配体的相互作用还可以导致不同细胞信号的引发,例如通过 Fas(CD95)或 TNF 超家族的其他受体(包括 TNF- α 受体家族)、TRAIL、死亡受体(Death Receptor)、Toll 样受体和 Fc-受体引起的细胞凋亡。此外,按照本发明,功能性受体与其配体的相互作用还可能导致抑制信号(例如通过 CTLA-4 的信号)的引发。

如上所述,进一步优选所述受体是抗体、抗体片段或抗体衍生物。

本发明上下文中描述的抗体能够与表位特异性结合/相互作用。该表位可以是多肽结构，以及不包含氨基酸的化合物。本发明使用的术语“特异性结合/相互作用”是指抗体或抗体片段不与或者基本上不与类似结构的表位交叉反应。例如可以通过评估受研究的一组抗体在常规条件下与所关注的表位的结合以及与多种或多或少(在结构上和/或功能上)紧密相关的表位的结合，来测试所述抗体组的交叉反应性。只有在所关注的表位的有关背景下(例如蛋白结构中的特定基序)与该表位结合，但不与或基本上不与其它表位结合的那些抗体才被认为是对所关注的表位具有特异性。相应方法在例如 Harlow 和 Lane 的 *Antibodies(抗体): A Laboratory Manual*((实验室操作指南), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988)或 Harlow 和 Lane 的 *Using Antibodies(抗体的使用): A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)中有描述。

抗体或抗体片段或抗体衍生物与抗原的构象表位或连续表位特异性结合/相互作用。构象表位或非连续表位对于多肽抗原的特征为存在两个或更多个离散的氨基酸残基，其在一级序列上是分开的，但是当多肽折叠为天然蛋白/抗原时聚集在分子表面上(Sela, (1969)*Science* 166, 1365; 和 Laver, (1990)*Cell* 61, 553-556)。构成表位的两个或更多个离散的氨基酸残基存在于一条或多条(多)肽链的不同区域上。当所述一条或多条(多)肽链折叠成三维结构以构成表位时，这些残基聚集在分子的表面上。相反，线性表位或连续表位由两个或多个离散的氨基酸残基构成，其中氨基酸残基存在于(多)肽链的单条线性节段中。

抗体可以是任何类别抗体的单克隆抗体或多克隆抗体。

术语“抗体”还包括仍保持有结合特异性的抗体衍生物或片段。本发明抗体还包括例如合成的、嵌合的、单链的和人源化的抗体以及抗体片段等实施方式。

术语“抗体片段”涉及诸如 Fab, F(ab₂)'或 Fv 片段等片段。本发明上下文中限定的术语“抗体衍生物”是指化学修饰抗体和抗体片段。这包括 scFv 片段、单域抗体等。因此，抗体衍生物通常是来自抗体分子的(多)肽和/或经化学/生物化学或分子生物学方法修饰的(多)肽。抗体片段

与其特异性抗原的特异性相互作用的最低要求是在允许抗体片段和表位配合的背景(context)中存在来自可变重链(VH)和母体抗体的可变轻链(VL)的一个或多个 CDR。可以利用合适的抗体骨架来提供所述背景。如本领域已知的,术语“骨架”在抗体或抗体衍生物的情形中是指氨基酸序列,其起到 CDR 之间的间隔子的作用,并延伸 CDR 的 N-末端和 C-末端,提供允许 CDR 形成抗原结合位点的结构。为例如改善结合亲合性而通过分子生物学方法对骨架或 CDR 序列进行的修饰可以包括利用本领域已知的传统技术对(多)肽进行的修饰,所述传统技术例如为单独使用或组合使用本领域已知的一个或多个氨基酸缺失、插入、取代、增加、和/或重组和/或任何其它修饰(例如翻译后修饰和化学修饰,如糖基化和磷酸化)。将所述修饰引入基于免疫球蛋白链氨基酸序列的 DNA 序列的方法对于本领域技术人员而言是已知的(参见例如 Sambrook 等人的 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 年第 2 版和 2001 年第 3 版; Gerhardt 等人的 *Methods for General and Molecular Bacteriology*, ASM Press, 1994; Lefkovits 的 *Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques*, Academic Press, 1997; 或 Golemis 的 *Protein-Protein Interactions: A Molecular Cloning Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002)。

如上所述,进一步优选抗体是单克隆抗体。

最优选的是所述(单克隆)抗体属于 IgG 组、IgM 组或 IgY 组。

按照本发明方法的另一个优选实施方式,步骤(b)中附着的生物材料共价结合到所述载体。本文已经描述了如何通过共价键实现生物材料与载体的附着的方法。

按照本发明方法的另一个优选实施方式,在装有载体的转动的管体系中进行步骤(a)至步骤(c)。

此外,按照本发明方法的另一个优选实施方式,通过泵在所述管体系中转动所述溶液。

在本发明方法的一个特别优选的实施方式中,由具有多孔性结构的材料制成的载体包含至少一种其它材料。例如,在本发明载体由

上述的提供一种或更多种化学实体的材料之一制成的情况下，可以加入一种或多种其它材料，以提供不同化学实体或改变载体性质。这在载体由两种、三种或更多种材料制成的情况下也是适用的。换言之，除以上所限定的物质之外，根据本发明用于涂布的载体还包括至少一种其它材料。在制造载体时，可以通过混合各成分或通过用所述一种或多种其它材料填充载体，将所述材料加工成载体。优选的是，所述至少一种其它材料选自由碳、二氧化硅(SiO_2)、羟乙基淀粉(HES)和生物素组成的组。包含一种其它材料的多孔性载体的实例包括例如来自 Kinetic Concepts Inc.(KCI, Texas, USA)的碳填充聚氨酯和聚醚泡沫。

按照本发明方法的另一个优选实施方式，步骤(a)至(c)中的所述溶液是包含 0.5 体积%至 10 体积%清蛋白和 0.5 体积%至 5 体积%甘露糖醇的水溶液。根据本发明特别优选的是，步骤(a)至(c)中的所述水溶液包含 0.6 体积%至 3 体积%的清蛋白。该水溶液优选包含 0.6 体积%至 3 体积%的糖(例如甘露糖醇)。

在一个替代性的实施方式中，步骤(a)中的所述溶液是含 0.1 体积%至 10 体积%硅烷的醇(alcohol)，步骤(b)中的所述溶液是包含生物材料(例如抗体)的水溶液，步骤(c)中的所述溶液是包含 0.5 体积%至 10 体积%清蛋白和 0.5 体积%至 5 体积%甘露糖醇的水溶液。根据本发明特别优选的是，步骤(a)至(c)中的所述水溶液包含 0.6 体积%至 3 体积%清蛋白。该水溶液优选包含 0.6 体积%至 3 体积%的糖(例如甘露糖醇)。

本发明方法可以进一步包括对所述固体涂布载体进行灭菌的步骤(e)。对本发明方法制造的固体涂布载体进行灭菌的能力尤其允许在非无菌或半无菌的条件下制造所述固体涂布载体，其中由此制造的载体仍然可以用于包括使固体涂布载体与体液的体内接触或间接体内接触的本发明方法。这代表了所述方法的又一个优异特征，因此由于具有这样的特征，与产生不能进行灭菌的载体的成本相比，本发明如此制造的载体可以减少固体载体的制造成本。这是因为在制造方法中，不需要无菌的条件。众所周知，常规制备的载体不适用于灭菌，因此必须在完全无菌的条件下制造。此外，对成本有利的特征是，所述载体在用后可以通过灭

菌而得以再生。该再生的载体可以随后用于进一步处理同一患者或不同患者，或者用于同样包括载体与体液的体内或间接体内接触的另一种诊断方法或同一诊断方法。

优选的是，根据载体材料，通过环氧乙烷(EO)、 β 辐射、 γ 辐射、X 射线、热灭活、高压灭菌或等离子体灭菌进行载体的灭菌或再生。最优选的是，通过 β 辐射或 γ 辐射进行载体灭菌。适用于该实施方式的是利用 10 MeV 的电子加速器，以 25 kgray 剂量进行 β 辐射。可以用环氧乙烷灭菌对本发明载体进行一定程度的灭菌。通常，所选择的灭菌方法必须不能伤害到涂布生物材料的所需活性。这种方法可以用于上述的细胞碎片、(多)肽(特别是抗体或受体)、多核苷酸或多糖或它们的复合物。迄今为止还未知对任何种类的细胞均适合的灭菌方法。因此，活细胞用作所述生物材料并且对载体进行灭菌的实施方式不是本发明的一部分。

在本发明的另一个实施方式中，提供了一种由或者可由本发明的方法制造的固体涂布载体。

在另一个替代性的实施方式中，本发明提供了一种附着有生物材料的固体涂布载体，其中生物材料包埋到涂布基体中，该基体由直接接触载体的至少一种硅烷第一层和覆盖所述第一层的第二层构成，其中第二层由选自以下物质组成的组中的至少一种物质构成：至少一种(多)肽、至少一种氨基酸、淀粉、至少一种糖、至少一种磷酸盐(酯)、至少一种多元醇和聚乙二醇(PEG)或其混合物。更优选的是，所述第二层的所述至少一种物质选自包括尤其是人或动物的血清和该血清的蛋白(例如清蛋白)、奶、卵蛋白、植物(例如黄豆、小麦)源性蛋白(包括所述蛋白的水解产物(例如凝胶、胶原))的组；包括氨基酸(优选为甘氨酸、天冬氨酸和/或谷氨酸、脯氨酸、精氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、肉碱、鸟氨酸、羟基脯氨酸、半胱氨酸、同型半胱氨酸、瓜氨酸、菊粉、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、组氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苏氨酸、色氨酸)或氨基酸衍生物(例如正乙酰基色氨酸、 β -丙氨酸、黑色素、多巴)的组；包括糖(优选葡萄糖、甘蔗糖、蔗糖)、多元醇(优选为山梨糖醇、甘露糖醇、丙三醇、木糖醇)、聚乙二醇(PEG)、

羟乙基淀粉(HES)的组；包括磷酸盐(例如磷酸二氢钠、磷酸氢二钠)或其混合物的组。

优选的是，根据本发明方法制造所述固体涂布载体。

根据本发明方法提供的载体、生物材料、生物材料和涂布基体材料的附着的定义和说明等可以比照用于本发明的固体涂布载体。

此外，本发明的固体涂布载体的特别优异的特征已经在上文中的本发明方法特征记述的内容中进行了描述。

如在本发明的制造固体涂布载体的方法部分中所述，还优选的是，载体材料选自由玻璃、聚氨酯、聚酯、聚砜、聚乙烯、聚丙烯、丙烯酸系聚合物、聚丙烯腈、聚酰胺、聚甲基丙烯酸甲酯、羊毛填料、开孔泡沫塑料、网状塑料和得自海绵动物(多孔动物)的结构体组成的组。

根据本发明的固体涂布载体的一个优选实施方式，生物材料选自由真核细胞、真核细胞碎片、原核生物、原核生物碎片、古细菌、古细菌碎片、病毒和病毒碎片组成的组。优选的是，真核细胞碎片、原核生物碎片、古细菌碎片或病毒碎片选自由(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖组成的组。

在本发明的固体涂布载体的一个替代性实施方式中，生物材料选自由通过合成或半合成或重组制得的(多)肽、寡核苷酸、多核苷酸和多糖。

在本发明载体的一个同样是优选的实施方式中，第二层的所述至少一种(多)肽是清蛋白，第二层的所述淀粉是羟乙基淀粉(HES)，和/或第二层的所述至少一种糖是甘露糖醇或山梨糖醇。

优选具有多孔性结构的载体材料的特征在于表面/气体容积比为 30 cm^{-1} 至 300 cm^{-1} 。

还优选的是，具有多孔性结构的载体材料的特征在于未压缩材料体积/压缩材料体积的比为 4 至 40。

在另一个优选的实施方式中，载体材料是中空纤维。中空纤维包装件优选具有如下特征：未压缩材料体积/压缩材料体积的比为 1 至 10，和/或表面/气体容积比为 200 cm^{-1} 至 2000 cm^{-1} 。

另外优选的是，所述第一层的所述至少一种硅烷选自由烷氧基硅烷、

有机官能性硅烷、氢硅(氧)烷、硅氧烷、有机硅烷(包括具有其它官能团的甲硅烷基化合物)组成的组。上述已经提供适当硅烷的实例。

按照本发明,所述载体的第二层可以是包含清蛋白和甘露糖醇的优选为干燥的混合物。优选的是,所述混合物进一步包含聚乙二醇(PEG)。特别是,根据本发明,将所述混合物以液体形式施用于所述载体,随后在本发明载体的表面上干燥。优选用风干法进行干燥。

在本发明的另一个优选实施方式中,生物材料共价结合至所述载体。上文和所附实施例2描述有实现生物材料与固体载体的共价结合的方法。

对于本发明的固体涂布载体而言进一步优选的是,(b)项中包埋涂布基体的(多)肽是受体。更优选的是,所述受体是抗体或抗体片段。根据本发明的一个进一步优选的实施方式特别想到的是,所述抗体是单克隆抗体。

包埋到本发明载体的涂布基体的(单克隆)抗体可以是任何抗体种类的抗体。优选的是,所述抗体属于IgG组、IgY组或IgM组。

特别优选的是,本发明载体包含至少一种其它材料。例如,在本发明载体由上述的提供一种或更多种化学实体的材料之一制成的情况下,可以加入一种或多种其它材料,以提供不同化学实体或改变载体性质。这在载体由两种、三种或更多种材料制成的情况下也是适用的。换言之,除以上所限定的物质之外,根据本发明用于涂布的载体还包括至少一种其它材料。在制造载体时,可以通过混合各成分或通过用所述一种或更多种其它材料填充载体,将所述材料加工成载体。优选的是,所述至少一种其它材料选自由碳、二氧化硅(SiO₂)、羟乙基淀粉(HES)和生物素组成的组。

在本发明的另一个优选实施方式中,通过 β 辐射或 γ 辐射对载体进行灭菌。适用于该实施方式的是利用10 MeV的电子加速器,以25 kgray剂量进行 β 辐射。

在本发明的另一个替代性实施方式中,提供了本发明的固体涂布载体在制备用于接触、过滤或清洁患者的血液、淋巴或脑脊髓液的(医学)设备中的用途。本发明上下文中的术语“(医学)设备”是指包括本发明的

固体涂布载体或用本发明方法制造的固体涂布载体的设备。以下举例说明了该设备的实例。该设备适于通过将其与患者体液循环连接而能够接触、过滤或清洁患者的血液、淋巴或脑脊髓液，从而治疗上文(制造固体涂布载体方法的上下文中)所述的患者。此外，所述(医学)设备可以适用于定性或定量检测患者体液样品中的化合物以及俘获某些细胞，例如干细胞(如部分上文所述)。干细胞包括多能性干细胞、专能性干细胞(multipotent)或全能性干细胞。通过利用适当涂布有一种或多种如上文所限定的生物材料的本发明载体，俘获某些细胞或一种或多种细胞群，可以从样品中除去至少一部分这些细胞或细胞群，所述生物材料通过在体液样品中进行接触，特异性地结合到这些细胞或细胞群。通常，可以用细胞表面上存在的不同抗原来区别不同的细胞系、细胞物种或细胞的发育阶段。通过用例如用于抗原的相应受体或直接抗所述抗原的抗体涂布本发明载体，可以选择性地俘获所需细胞。

在本申请全文中使用的术语“接触、过滤或清洁”是指从溶液除去一种或多种化合物的替代性手段。因此，术语“接触”可以是过滤和清洁的起始步骤。

所公开的优选的医学设备可用于包括从体液脱除毒素(例如二噁英、肉毒杆菌毒素、破伤风毒素、LPS、腐败毒等)的治疗中。此外，所述设备可用于治疗细菌性疾病或病毒性疾病，特别是病毒主要负载在血液或其它体液中的疾病(例如出血热、a型肝炎、b型肝炎、c型肝炎、d型肝炎、e型肝炎、HIV、登革热)或细菌主要负载在血液或替代性体液的疾病(例如带有脑膜炎球菌或肺炎球菌的败血症)。设想所公开医学设备的另一个替代性应用是用于需要刺激或除去患者某些细胞的治疗。除去特定细胞群是指在例如增值性疾病(例如微量残留癌)、自身免疫疾病的治疗或器官移植所引起的疾病的治疗中。刺激特定细胞群是指在例如通过激活免疫系统细胞可以治愈或减轻的疾病治疗中。激活细胞群适于消除特定的病细胞群。

此外，利用固着至固体载体的适当抗体(例如抗CD34或CD133)俘获干细胞是该设备的有用应用。俘获后，通过酶法释放、冷却液、机械力(振

动等)或这些技术的组合收获细胞。

图3和4示意地描述了所公开的(医学)设备的实施方式的实例。

(医学)设备的一种实施方式包括暂时性或永久性植入物,其特征为本身是本发明的固体涂布载体或本发明方法所制造的固体涂布载体的表面,或附着有本发明的固体涂布载体或本发明方法所制造的固体涂布载体的表面。这包括骨缝术设备、重建外科手术等使用的材料、以及新型支架。这种新型支架可以具有免疫催化特征(如上所述的刺激、抑制或消除特征)。

(医学)设备的另外的实施方式包括引入体外体系的导管、电路、设备,例如动脉滤器、氧合器、贮器、白细胞抑制模块(LIM)、白细胞刺激模块(LSM)、耐受诱导模块(Tolerance Induction Module)或人造淋巴结,其包含本发明的固体涂布载体,或者附着有本发明的固体涂布载体或根据本发明方法制造的固体涂布载体。所述模块已经由例如 Scholz M 等人描述(ASAIO J 2005; 51:144-147; Scholz M, Cinatl J Med Res Rev 2005; 25:331-342; Scholz M 等人, J Thorac Cardiovasc Surg 2004; 127:1735-1742; Moreno JB 等人, Perfusion 2004; 19:11-16)。

此外,(医学)设备的另一个替代性实施方式是内壁是固体涂布载体或附着有固体涂布载体的(医学)设备,包括间接体内疫苗接种容器,分离设备(apheresis device)、干细胞分离设备、泻设备、注射器和暂时性或永久性血液存储设备(例如血库,还有常规实验室或研究实验室中的实验室装置)。诊断(医学)设备的实例是 ELISA 板,其中板(或至少反应孔)的表面是固体涂布载体或附着有固体涂布载体。

上述所示表明疾病的实例包括具有多种起因的严重高脂血症、纯合子型家族性高胆固醇血症、杂合子型家族性高胆固醇血症、缺陷 Apo B-100 缺陷症、分离型脂蛋白(a)升高、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(Sjögren's syndrome)、混合性结缔组织病、扩张性心肌病(DCM)、与凝血因子抑制剂有关的疾病、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、血栓性血小板减少性紫癜(TTP)、自身免疫性溶血性贫血、高丙种球蛋白血症中的高粘滞综合征、重症肌无力、格林-巴利综合征、慢性炎性脱髓鞘性多发性

神经病(CIDP)、异常蛋白血症性多神经病、骨髓移植、内分泌眼眶病、I型糖尿病(IDDM)、肺出血-肺炎综合征(Goodpasture's syndrome)、由免疫球蛋白或免疫复合物沉着引起的肾病、冷球蛋白血症、天疱疮、特应性皮炎、移植物抗宿主(GvH)疾病、宿主抗移植物(HvG)疾病,和各种形式的血管炎。

本发明还提供了患者血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制的方法,所述方法包括将本发明的固体涂布载体与所述血液、淋巴或脑脊髓液接触。

术语体液的“组成控制”定义为影响体液或不同体液样品的特性的方法。这包括过滤或清洁液体。在这种情况下,载体上的生物材料,例如一种或多种受体将结合至体液的一种或多种成分上,并保持所述一种或多种成分。优选在上述生理条件下进行该步骤。该定义还包括诱导样品中包含的细胞的活化状态的变化,以及除去一种或多种特定细胞群。

根据本发明,可以在体内、间接体内或体外进行患者血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制。

在患者的血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制的方法的间接体内或体外实施方式的随后步骤中,在与固体涂布载体接触后,从所述载体上除去所述血液、淋巴或脑脊髓液。

在生物材料是细胞(例如供体细胞或遗传工程细胞/重组细胞)的实施方式中,包含包埋生物材料的载体的接触能够使包埋细胞产生的物质分泌到患者体液中。所分泌的物质是能够治疗患者疾病的有效物质。可以用该方法治疗的疾病包括例如糖尿病(利用岛细胞或分泌胰岛素的其它细胞)、内分泌疾病(例如利用来自甲状腺或松果体的细胞或其它分泌有助于治疗疾病的激素的细胞)。因此,本文所述的患者的血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制方法能够治疗患者且副作用风险最小。这是因为如果用于体外/间接体内的情况,供体或遗传工程细胞/重组细胞并没有进入患者。即使是体内应用(如上所述,其同样构成了本发明的实施方式),由于与固体载体附着的所述模式,这些细胞不能释放到血流或其它体液中。

优选的是,本发明的上述用途和方法的特征为血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制,其在包含固体涂布载体的间歇容器(batch container)中进

行。作为选择，在包含固体涂布载体的连续容器(flow through container)中进行血液、淋巴或脑脊髓液的组成控制。

在另一个实施方式中，本发明提供了一种诊断疾病的方法。该方法包括以下步骤：

(a)使患者的体液与本发明的其中包埋有受体的固体涂布载体接触，所述接触在适宜使指示所述疾病的病原体或标记蛋白与所包埋的受体特异性结合的条件下进行；和

(b)检测用于指示所述疾病的所述病原体或标记蛋白是否已经结合至所包埋的受体。

可以在体内、间接体内或体外进行所述方法。优选的是，所述受体是抗体或、抗体的片段或衍生物。最优选的是，所述抗体是单克隆抗体。

术语“本发明的其中包埋有受体的固体涂布载体”是指，根据本发明可由本发明方法制造的固体涂布载体或由本发明方法制造的固体涂布载体，其中所述方法的步骤(b)中的所述生物材料由所述受体构成或包含所述受体。

利用本发明诊断方法诊断的疾病的实例包括上文中的述及医学用途和本发明治疗方法的内容中所描述的疾病。可以利用例如抗体样抗p24(HIV)(参见例如 Schupbach 等, J Acquir Immune Defic Syndr 2005; 40: 250-256.)或抗gB(HCMV)(参见例如 Just-Nubling G 等, Infection 2003; 31: 318-323)来检测所述病原体或标记蛋白。

根据本发明，可以通过在生理条件下使患者体液样品与抗体覆盖表面接触，获得使用以指示所述疾病的病原体或标记蛋白与所附着的抗体特异性结合的适宜条件。

本发明的诊断方法可以包括在细胞培养条件下温育体液样品材料以富集病原体(如病毒、细菌或单细胞真核生物病原体)的步骤。

此外，本发明还提供了一种诊断组合物，所述诊断组合物包括本发明的固体涂布载体。本发明的诊断组合物将优选用于诊断疾病。

使用本发明的诊断组合物诊断的疾病的实例已在上文中进行了描述。

此外，本发明提供了一种纯化化合物的方法，所述方法包括使包含待纯化的化合物的混合物与本发明的固体涂布载体接触。根据附着或涂布至载体的分子以及与化合物的特异性结合，本发明方法可以用于纯化例如蛋白质、核酸、蛋白质复合物或生物学来源或无机物来源的其它分子。

本发明的所述方法还适合于利用本发明的所述涂布载体，分离具有不同磷酸化状态或具有不同的翻译后修饰的同类蛋白质，其中涂布至载体的分子特异性地识别这些状态或修饰中的一种状态或修饰。

本发明方法的原理对应于本领域通常已知的亲和纯化的原理。本领域技术人员应该理解到可使用不同形式来实施本发明的方法。例如，通常采用的形式是填充有亲和性材料的柱子，即本发明的涂布载体。

在本发明方法的一个优选实施方式中，附着至所述载体的分子例如是抗体(如上所述)。

附图展示了：

图 1：

固定生物材料的涂布程序的示意图。举例说明的是用于生物材料(例如抗体或细胞(或片段))的程序和它们在胁迫条件下的功能保持性。

图 2：

图示所附实施例 1 中所述的实验结果的流式细胞计数-斑点印迹分析。该分析说明 EO 灭菌后抗体介导的细胞凋亡诱导的保持。

图 3：

治疗性毒素陷阱(trap)(例如二噁英陷阱)的实施例的示意性设计。该例举设计允许低血流和预充容量。因此还可以用于不同的导管系统(例如 Sheldon 导管)，例如在危重症护理中的创伤、休克和败血症和其它情形之后/期间使用的导管系统。

图 4：

(医学)装置的实例的示意性图示，其中(医学)装置由聚氨酯泡沫带有被固定的抗体(例如抗 CD95)的塑料盒组成。通过涂布，嗜中性粒细胞可以暂时粘合至通过涂布而包埋的抗体上。抗体的结合可以引发嗜中性粒

细胞失活信号。

下列各实施例用于阐述本发明。

实施例 1:

利用本发明的固体涂布载体诱导细胞群中的细胞凋亡。

该试验性方法的目标是确定涂布程序在用环氧乙烷或 β 辐射消毒之后,在被固定的抗 Fas(CD95; APO-1)IgM-抗体的功能活性方面的保护作用。

NUNC 8 孔室玻片的涂布和抗 Fas IgM 的固定:

使用两个 8 孔室玻片进行涂布。在室温下,用 250 μ l 含有 4%(2%至 5%)N-[3-(三甲氧基甲硅烷基)丙基]乙二胺的甲醇对每个孔进行 30 分钟的处理。反向离心(inverse centrifugation)并在层流下干燥 10 分钟之后,在 37°C 和 90%湿度,用 200 μ l 含抗体的缓冲液(1:100 代表在 0.64 cm^2 上每孔有 1 μ g 抗体)对部分的孔进行 1 小时的温育。未处理孔用作对照。随后,用封闭溶液(含有 5%血清和 5%甘露糖醇的 PBS)处理各孔 30 分钟。用封闭溶液洗涤三次,并如上所述进行干燥。经涂布的孔可以在 4°C 保存数周。在 1.7 巴、45°C、180 分钟 6%EO、94%CO₂ 进行消毒,最高温度为 47°C。

用 Jurkat 细胞进行的分析:

于分裂后 3 至 5 天,在 2%血清的存在下,向每个所准备的孔(根据上述说明)中加入 1×10^5 Jurkat 细胞并温育过夜。48 小时后,将 8 μ l 碘化丙啶(PI)和 1 μ l 膜联蛋白 V 加入每个孔中。凋亡细胞结合膜联蛋白 V,而坏死细胞吸收 PI。15 分钟后,从各个孔中轻柔地除去细胞,并用流式细胞计(细胞凋亡: FL1; 坏死: FL2)测定荧光。

用 PBS 小心地洗涤各孔,并保存在 4°C,以测试较晚时间点涂布程序的保存期。

结果:

如图 2 中典型图示的,经历自然细胞凋亡(A)的 Jurkat 细胞的百分比是 6.9%(范围: 6%至 8%)。与在没有固定抗体的情况下经历消毒(B)的涂布孔接触的 Jurkat 细胞表现出稍微增强的细胞凋亡(17.9%; 范围: 16%至 20%)。根据上述涂布程序(C)固定的抗 Fas 诱导 54.7%细胞发生细胞凋亡

(范围：54%至 58%)。用环氧乙烷(EO)消毒后，Jurkat 细胞中抗体介导的细胞凋亡的诱导(D)是 43.1%(范围：40%至 44%)。因此，与未灭菌的对照(没有 EO 气体的程序)相比，EO 介导的抗体功能下降为约 25%。斑点印迹分析(图 2)显示了各种细胞群(FL1 = 细胞凋亡；FL2 = 坏死)的荧光分布。

实施例 2：白细胞抑制模块(LIM)的制造

为了制造 LIM，将泡沫浸泡在 98%甲醇和 2%(3-缩水甘油基-氧基丙基)三甲氧基硅烷(Sigma)的混合物中 20 分钟，然后干燥，随后在 37°C 在缓冲液中温育 100 μ g 抗体 2 小时，所述缓冲液由在水中的 15 mM 碳酸钠和 35 mM 碳酸氢钠组成(pH 9)。作为选择，PBS 可以用作抗体用缓冲液。然后，加入包含 2%人清蛋白的蛋白质浓度的等渗 NaCl 溶液，再进行 1 小时的温育。随后利用包含 1%人清蛋白的等渗氯化钠溶液进行 10 个洗涤循环。最后，用包含 5%人清蛋白和 5%甘露糖醇的等渗钠溶液温育 30 分钟后干燥。环氧乙烷杀菌使抗体活性(用 Jurkat 细胞测试)降低约 60%。利用 10 MeV 电子加速器以 25 kGray 剂量进行 β 辐射后，与没有灭菌的活性相比，抗体活性保留约 70%。作为选择，可以利用 γ 辐射(例如利用 Co^{60} 源)进行灭菌。

图 4 图示了 LIM 的示意图。

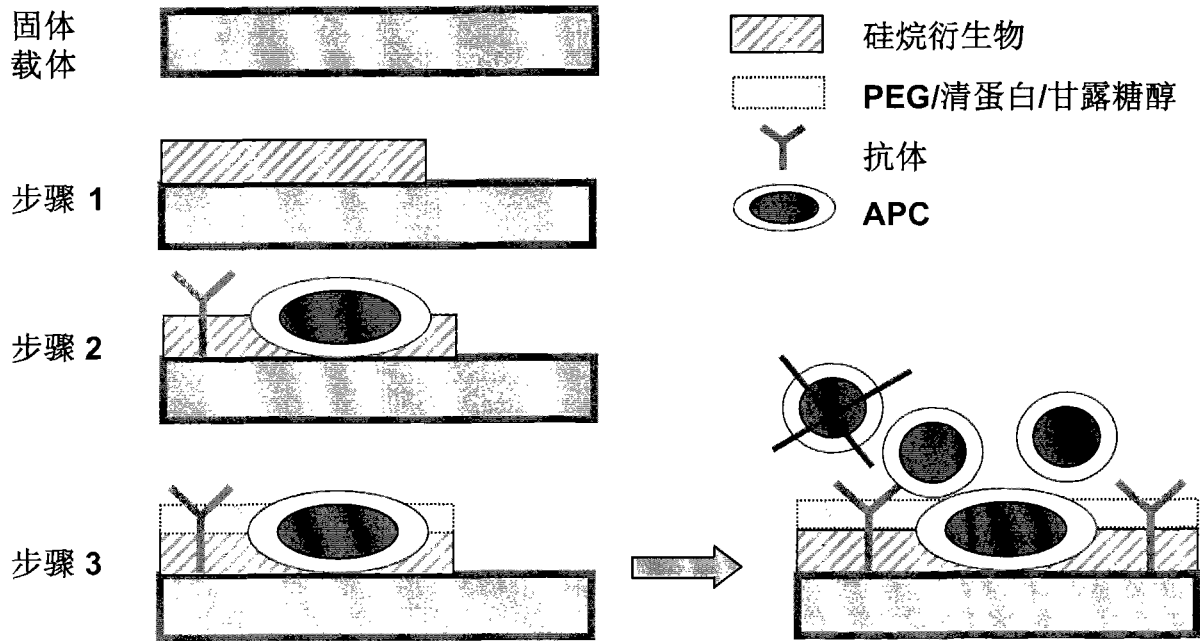


图1

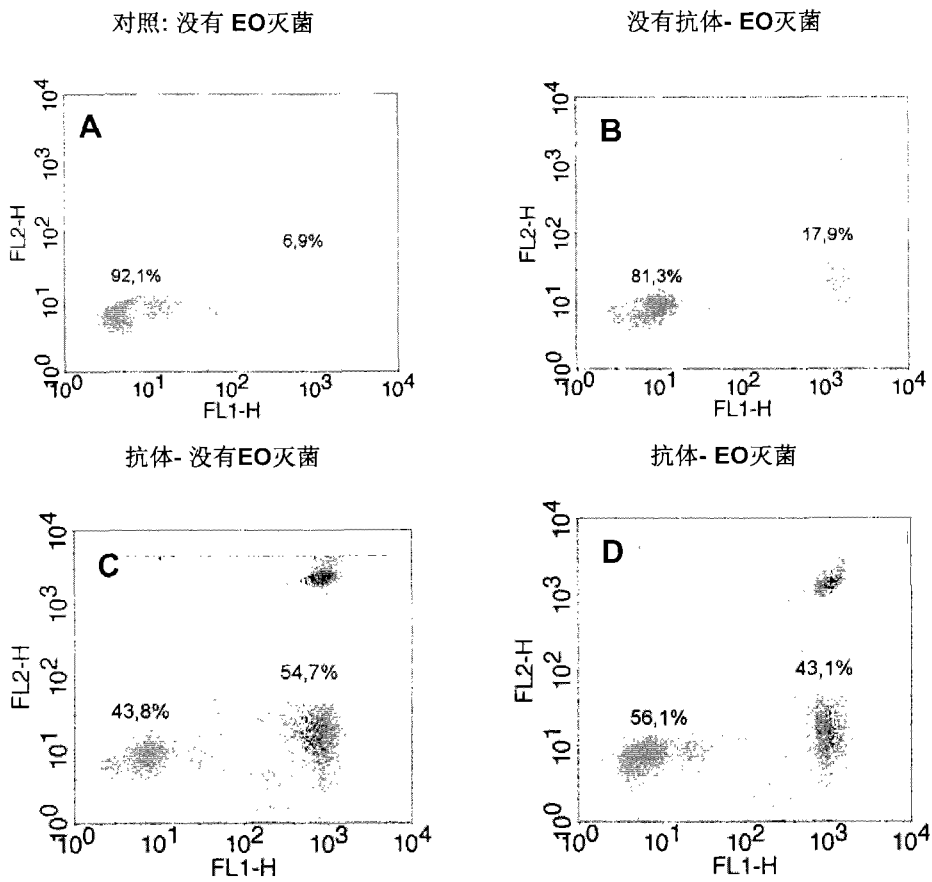


图2

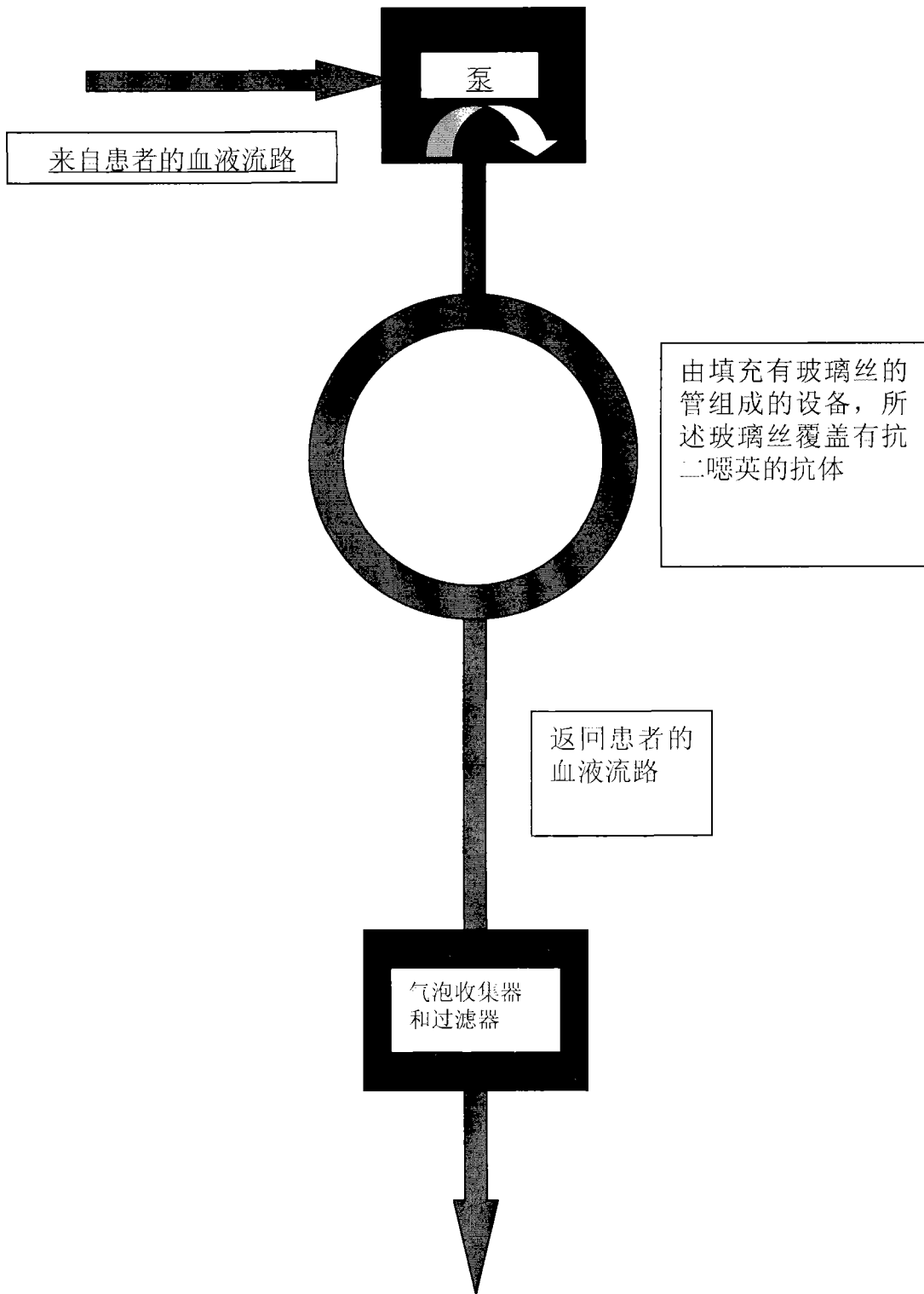


图3

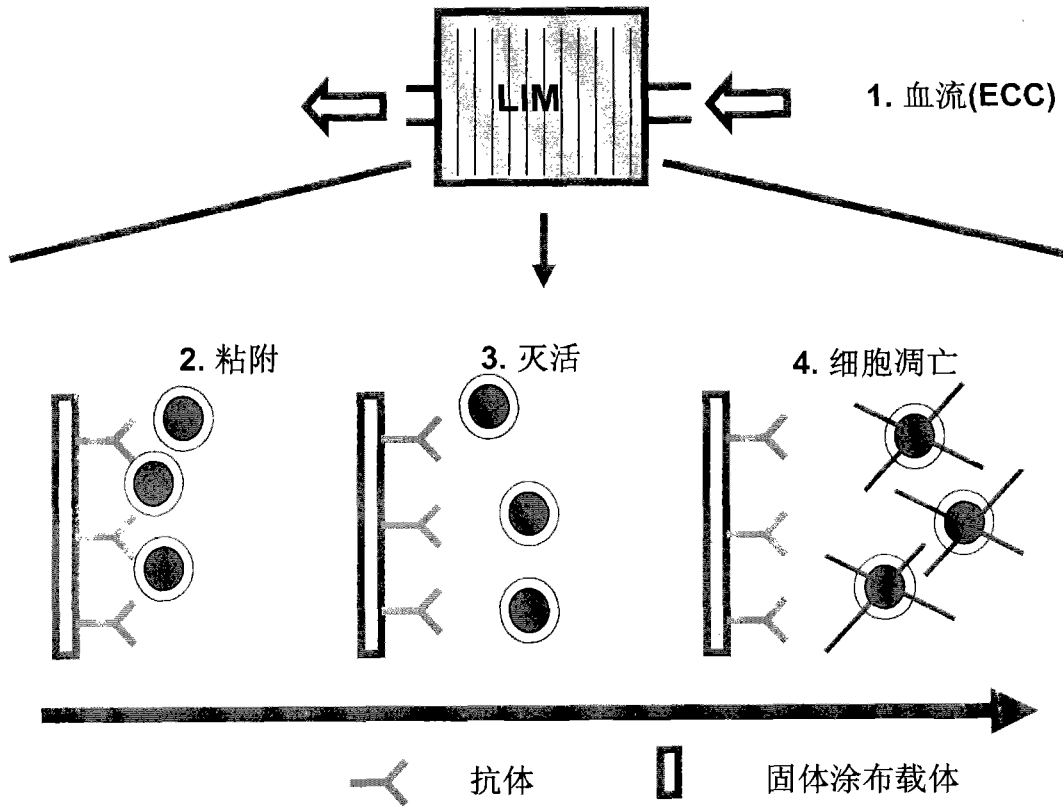


图 4